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

2015 年 8 月 18 日　第 23 卷　第 23 期　(Volume 23 Number 23)

www.wjgnet.com

二零一五年八月十八日　第二十三卷　第二十三期

23/2015

《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 2012年版)》和《中文核心期刊要目总览(2011年版)》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》和《Abstracts Journals》收录.

ISSN 1009-3079
23>
9 771009 307056

WCJD 世界华人消化杂志®

编辑委员会

2015-01-01/2017-12-31
wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员，由506位专家组成，分布在中国29个省市，自治区，特别行政区和美国．其中，上海市89位、北京市70位、广东省40位、江苏省31位、辽宁省29位、陕西省26位、黑龙江省24位、山东省20位、湖北省16位、吉林省15位、天津市13位、浙江省13位、福建省12位、贵州省11位、湖南省11位、四川省11位、河北省10位、新疆维吾尔自治区10位、广西壮族自治区8位、江西省8位、云南省8位、安徽省8位、重庆市6位、海南省4位、河南省4位、甘肃省3位、山西省3位、内蒙古自治区1位、香港特别行政区1位及美国1位．

总顾问
陈可冀教授
纪小龙教授
王苑本教授
杨春波教授
杨思凤教授

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
王俊平教授
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
柏愚副教授
蔡全才副教授
陈国忠主任医师
陈洪副教授
陈其奎教授
陈卫昌教授
陈卫刚教授
陈贻胜教授
程斌教授
迟宝荣教授
迟雁副教授
崔立红教授
戴菲副主任医师
丁士刚教授
董蕾教授
杜雅菊主任医师
杜奕奇副教授
段志军教授
樊冬梅副主任医师
樊晓明教授
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
黄杰安主任医师
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
蓝宇教授
李淑德教授
李瑜元教授
李兆申教授
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
刘亮明副教授
吕农华教授
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
欧希龙副教授
潘秀珍教授
潘阳林副教授
任粉玉教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈薇教授
施瑞华教授
宋军副教授
唐世刚教授
田宇彬教授
度必光教授
宛新建副教授
王承党教授
王良静研究员
王蔚虹教授
夏时海教授
徐灿副教授
徐可树教授
杨建民教授
姚定康教授
于珮主任医师
张国主任医师
张庆瑜教授
张小晋主任医师
郑培永研究员
郑鹏远教授
郑素军主任医师
郅敏副教授
周国雄主任医师
周力主任医师

消化外科学
白松主任医师
白雪副主任医师
白雪巍副主任医师
白玉作教授
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
陈龙奇主任医师
陈汝福教授
陈钟教授
程树群副教授
仇毓东教授
崔清波副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰主任医师
丁义涛教授
杜顺达副教授
傅红副教授
傅晓辉副教授
高毅主任医师
葛海燕教授
龚建平主任医师
顾国利副主任医师
顾晋教授
顾岩教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何向辉教授
胡安斌教授
黄成副主任医师
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
兰平教授
李富宇教授
李革副教授
李华教授
李华山主任医师
李胜研究员
李涛副主任医师
李小荣教授
李旭副教授
李汛教授
李正荣副教授
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
刘金钢教授
刘亮副主任医师
禄韶英副教授
吕云福教授
麻勇副研究员
齐清会教授
秦华东教授
秦建民主任医师
邱伟华主任医师
曲兴龙主任医师
任宁主任医师
施宝民教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋新明教授
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙星副教授
孙学英教授
谭晓冬教授
汤朝晖副主任医师
唐南洪教授
汪波主任医师
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
王晓锋副主任医师
王永兵主任医师
王悦华副主任医师
王振军教授
王征副主任医师
王铮副研究员
王忠裕教授
吴文溪教授
吴晓峰副主任医师
肖卫东副教授
谢敏主任医师
徐迅迪教授
徐泱副主任医师
许剑民教授
薛东波教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
殷正丰教授
于则利教授
禹正杨副教授
喻春钊教授
袁周副主任医师
张进祥副教授
张俊副研究员
张力为副教授
赵青川主任医师
郑建勇副教授
智绪亭教授
周伟平教授
周翔宇副主任医师
周志祥教授
朱建伟教授
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
陈茂伟教授
丁惠国教授
范学工教授
高润平教授
高泽立副教授
管世鹤教授
郭永红副主任医师
胡国信主任医师
靳雪源主任医师
兰英华副教授
林潮双主任医师
刘纯杰研究员
刘正稳教授
马丽娜主任医师
毛德文教授
彭亮副主任医师
钱林学主任医师
王凯教授
王怡主任医师
吴君主任医师
谢仕斌主任医师
宣世英教授
杨贵波教授
杨江华副教授
姚鹏主任医师
张明辉主任医师
张一教授
赵秀英副教授
周陶友副教授
朱传武教授
庄林主任医师

消化中医药学

杜群研究员
郭潮潭教授
李军祥教授
李康副教授
李晓波教授
李勇副教授
刘成海研究员
刘绍能主任医师
鲁玉辉副教授
马赟副教授
南极星教授
牛英才研究员
司富春教授
斯拉甫•艾白教授
谭周进教授
唐旭东主任医师
王富春教授
王来友副教授
王笑民主任医师
吴焕淦教授
徐庆教授
许玲教授
袁红霞研究员

消化肿瘤学

曹秀峰教授
曹志成院士
陈锦飞主任医师
崔杰峰副研究员
代智副研究员
侯凤刚副教授
江建新副主任医师
姜又红教授
蒋敬庭教授
李杰主任医师
李苏宜教授
梁国刚教授
刘宝瑞教授
刘炳亚研究员
刘云鹏教授
卢宁副主任医师
卢晓梅教授
陆斌副教授
朴龙镇副教授
沈克平主任医师
史颖弘副教授
王阁教授
肖文华主任医师
肖秀英副主任医师
徐建明主任医师
杨秋蒙副主任医师
伊力亚尔•夏合丁教授
袁媛教授
张凤春教授
张倜主任医师
郑丽端副教授
周建奖教授
朱永良副研究员

消化影像学

白彬主任医师
管樑主任医师
胡红杰主任医师
李健丁教授
龙学颖副主任医师
肖恩华教授
徐辉雄教授
严惟力副教授
杨薇副教授

消化内镜及介入治疗学

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
吴灵飞教授
余日胜主任医师
张火俊副教授
钟良主任医师
诸葛宇征主任医师

消化中西医结合学

陈泽雄主任医师
杜业勤主任医师
唐文富教授
王学美研究员
袁建业副研究员
张春虎副教授
赵岩教授

消化基础研究

曾柱教授
陈敬贤教授
崔莲花教授
邓安梅教授
邓庆副研究员
董玉兰副教授
段义农教授
高国全教授
高英堂研究员
郭俊明教授
郭长江研究员
黄河副教授
黄昆教授
黄文林教授
姜宏教授
黎观红教授
李东辉教授
李瀚旻教授
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
李铮教授
刘克辛教授
刘起胜副教授
刘长征副教授
宁钧宇副研究员
彭宗根副研究员
任浩副教授
沈东炎副教授
沈涛副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
汤静主管药师
田文静副教授
汪思应教授
王明荣研究员
王钦红教授
王书奎教授
王秀伶教授
魏继福研究员
文彬研究员
吴道澄教授
吴江锋教授
吴军研究员
吴俊华副教授
吴志强副教授
夏敏教授
杨金娥副教授
阴赖宏研究员
张红教授
张淑坤副研究员
赵铁建教授
周南进研究员
周晓武副主任医师
朱益民教授
朱争艳研究员

消化病理学

陈云昭副教授
樊祥山副主任医师
郭炜教授
季菊玲副教授
李慧副教授
林洁副教授
刘芳芳副主任医师
刘丽江教授
门秀丽教授
莫发荣副教授
潘兴华副主任医师
王娅兰教授
颜宏利教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵春玲副教授
郑建明教授
朱亮副教授

消化护理学

安力彬教授
成杰副主任护师
崔岩副主任护师
单信芝副主任护师
丁焕娟副主任护师
房辉副教授
高薇副主任护师
葛淑芝副主任护师
谷敏副主任护师
郭会敏主管护师
郭巧珍主管护师
赫玲玲主任护师
黄砚萍副主任护师
惠娜主管护师
吉建华副主任护师
江丽萍副主任护师
江萍主任护师
金凤娟副主任护师
金爽主任护师
靳雁副主任护师
孔德玲副主任护师
李金娜主任护师
李俊玲主任护师
李卡副主任护师
李丽副主任护师
李连红主任护师
李珑主任护师
李敏香副主任护师
李雯副主任护师
李秀芬副主任护师
李谆副主任护师
廖培娇副主任护师
刘慧萍主任护师
刘永宁副主任护师
龙晓英主任护师
卢根娣主任护师
罗凝香副主任护师
马久红副主任护师
马燕兰主任护师
孟志新副主任护师
潘爱红副主任护师
潘玉凤副主任护师
齐向秀主管护师
齐艳副主任护师
乔晓斐副主任护师
乔筱玲副主任护师
任珍主任护师
史铁英主任护师
宋江美副主任护师
宋艳燕副主任护师
孙丽娟副主任护师
孙莉副主任护师
孙晓美副主任护师
唐碧云副主任护师
陶然主管护师
滕莉副主任护师
田银娣主管护师
王春英副主任护师
王红副主任护师
王家香主任护师
王晓春副主任护师
王宇副主任护师
王玉娟主任护师
韦键主管护师
席惠君副主任护师
谢晓芬主管护师
许璧瑜副主任护师
薛海燕副主任护师
薛素梅主任护师
杨会副主任护师
杨云英主任护师
姚丽文副主任护师
叶海丹副主任护师
尹安春主任护师
俞静娴副主任护师
袁晓青副主任护师
张彩云主任护师
张洁副主任护师
张丽副主任护师
张丽燕主管护师
张琳琳副教授
张敏副主任护师
张善红副主任护师
赵艳伟副主任护师
郑粉善副主任护师
郑思琳主任护师
郑雪梅副主任护师
周文琴副主任护师
周谊霞副教授
朱秀琴副主任护师
朱颖副主任护师

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2015年8月18日 第23卷 第23期 (总第499期)

述评

3653 胃癌腹膜转移诊治的研究进展

李正荣, 李道江, 揭志刚

3663 微小RNA在胰腺癌诊断与治疗中价值的研究进展

孙诚谊, 喻超

基础研究

3670 CX3CR1对骨髓间充质干细胞修复受损肠上皮细胞的影响

曹毅, 刘涛, 尹明丽, 张博雅, 宋红丽

临床研究

3683 Ezrin蛋白通过上调YAP的表达促进胃癌的侵袭转移

单汉国, 黄昌浩, 黄笛鸣

3691 中国汉族人群*PNPLA3* rs738409(C>G)基因多态性与肝硬化病因学的相关性

王心怡, 李丹, 李异玲

3700 β-catenin和维生素D受体在结肠癌中表达的意义

张峥峥, 李娅, 王满, 徐峰

3706 Ⅱ-Ⅲ期直肠癌不同治疗策略疗效的差异

刘晓梅, 阿衣古丽•哈热, 再依努尔•阿不都外力, 张瑾熔, 伊斯刊达尔•阿布力米提

文献综述

3714 纳米抗体靶向治疗胃癌的研究进展

刘芳腾, 欧阳喜, 张官平, 罗洪亮

3720 炎症性肠病非药物治疗的进展

文韵玲, 牛俊坤, 缪应雷

3729 凋亡蛋白酶活化因子-1与肿瘤相关性的研究进展

贾明旭, 陈吉

3736 胰高血糖素样肽-2与肠道黏膜免疫

雷秋成, 王新颖

研究快报

3742 CRISPRi靶向调控HCV复制相关miR-122的表达

赵洪礼, 李洪运, 毛德华, 李桂玲, 黄勇

3749 上调miR-203表达对肝星状细胞增殖及胶原合成的影响

胡丹平, 胡益冰, 徐旺旺, 徐婷燕, 倪顺兰, 付荣泉

3755 FXR在高脂血症大鼠肝组织中的表达状况

张孟瑜, 王洁萍, 夏先明

临床经验

3761 不同年龄段胃镜检查应用异丙酚麻醉患者内脏镇痛效果的对比

陈晓洪, 罗会坚, 廖瑞红, 雷李培

3766 慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA载量与丙型肝炎抗体及抗核抗体的相关性

贾艳会, 范志娟, 郭华, 周淑芬, 刘树业

3771 综合护理干预对改善老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者的效果评价

邵吉红, 吴益群, 张佩翡

3775 慢性重型肝炎合并肠道真菌感染的临床分析42例

黄津

3781 DynaCT在原发性肝癌介入治疗的应用价值

艾宁, 李智岗, 李顺宗, 李博, 赵瑜

3789 核糖核苷酸还原酶M1在预测吉西他滨治疗胰腺癌患者疗效的Meta分析

黄龙, 黎功, 方子燕, 黄璟

3797 内脏假性动脉瘤的血管内栓塞治疗42例

陈鹏飞, 段旭华, 任建庄, 韩新巍, 梁惠民, 郑传胜

3804 医护一体化管理对剖宫产手术患者发生肠黏连的改善效果

刘俊华, 刘彦, 黄巧玲, 白雅娜

3809 综合护理在结肠癌并发肠梗阻患者中的应用效果

刘晓月

病例报告

3813 食管海绵状淋巴管瘤1例并文献复习

刘莲花, 刘模荣

附　　录

I－V 《世界华人消化杂志》投稿须知
I 2015年国内国际会议预告

志　　谢

I 志谢世界华人消化杂志编委

目次

消　　息

3662 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
3705 《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
3728 《世界华人消化杂志》参考文献要求
3735 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
3760 《世界华人消化杂志》外文字符标准
3765 《世界华人消化杂志》正文要求
3770 《世界华人消化杂志》修回稿须知
3788 《世界华人消化杂志》栏目设置

封面故事

《世界华人消化杂志》编委，李正荣，副教授，副主任医师，硕士生导师，医学博士，330006，江西省南昌市东湖区永外正街17号，南昌大学第一附属医院胃肠外科. 现主要从事外科学基础、普外科、胃肠外科胃肠肿瘤的临床与基础研究，主要专业特长为腹腔镜外科、胃肠外科、胃肠道肿瘤的微创治疗，对于外科肠内肠外营养的基础和临床研究亦有独到见解. 科研方向为胃癌腹膜转移的分子机制研究，主持承担了3项国家自然科学基金和多项省部级重点科研项目，在国家级刊物上发表论文20余篇，发表SCI论文10篇.

本期责任人

编务 李香；送审编辑 都珍珍，闫晋利；组版编辑 都珍珍；英文编辑 王天奇；责任编辑 于明茜；形式规范审核编辑部主任 郭鹏；最终清样审核总编辑 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 2015-08-18
原刊名 新消化病学杂志

期刊名称
世界华人消化杂志

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

主编
程英升, 教授, 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
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科
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, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑部
郭鹏, 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 Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
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 2012年版)》，《中文核心期刊要目总览(2011年版)》，《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》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、读者和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

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 23 Number 23 August 18, 2015

EDITORIAL

3653 Diagnosis and treatment of peritoneal metastasis of gastric cancer

Li ZR, Li DJ, Jie ZG

3663 Role of microRNAs in diagnosis and treatment of pancreatic cancer

Sun CY, Yu C

BASIC RESEARCH

3670 Role of CX3CR1 in repair of injured intestinal epithelial cells by bone marrow mesenchymal stem cells

Cao Y, Liu T, Yin ML, Zhang BY, Song HL

CLINICAL RESEARCH

3683 Ezrin promotes invasion and metastasis of gastric cancer by up-regulating YAP protein expression

Shan HG, Huang CH, Huang DM

3691 Association between patain-like phospholipase domain-containing protein 3 rs738409(C>G) single nucleotide polymorphism and etiology of liver cirrhosis in a Chinese Han population

Wang XY, Li D, Li YL

3700 Significance of β-catenin and vitamin D receptor expression in colorectal carcinoma

Zhang ZZ, Li Y, Wang M, Xu F

3706 Efficacy of different treatment strategies for stage Ⅱ-Ⅲ rectal cancer

Liu XM, Ayiguli•Hare, Zaiyinuer•Abuduwaili, Zhang JR, Yisikandaer•Abulimiti

REVIEW

3714 Nanobodies for targeted treatment of gastric cancer

Liu FT, Ou-Yang X, Zhang GP, Luo HL

3720 Non-drug treatment of inflammatory bowel disease

Wen YL, Niu JK, Miao YL

3729 Apoptotic protease activating factor-1 and tumors

Jia MX, Chen J

3736 Glucagon-like peptide-2 and intestinal mucosal immunity

Lei QC, Wang XY

RAPID COMMUNICATION

3742 Regulation of expression of HCV replication associated miR-122 by CRISPR interference

Zhao HL, Li HY, Mao DH, Li GL, Huang Y

3749 Impact of upregulation of miR-203 on cell proliferation and collagen synthesis in hepatic stellate cells

Hu DP, Hu YB, Xu WW, Xu TY, Ni SL, Fu RQ

3755 FXR expression in liver tissue of hyperlipidemia rats

Zhang MY, Wang JP, Xia XM

CLINICAL PRACTICE

3761 Effect of age on potency of propofol in inhibiting visceral pain during gastroscopy

Chen XH, Luo HJ, Liao RH, Lei LP

3766 Correlations between HCV RNA load and titers of anti-HCV antibody and anti-nuclear antibody in chronic hepatitis C patients

Jia YH, Fan ZJ, Guo H, Zhou SF, Liu SY

3771 Clinical effects of comprehensive nursing intervention in elderly liver cirrhosis patients with type 2 diabetes

Shao JH, Wu YQ, Zhang PF

3775 Clinical analysis of 42 patients with chronic severe hepatitis complicated with intestinal fungal infection

Huang J

3781 Application value of DynaCT in patients with hepatic carcinoma undergoing transcatheter arterial chemoembolization

Ai N, Li ZG, Li SZ, Li B, Zhao Y

3789 Predictive and prognostic roles of ribonucleotide reductase M1 in pancreatic cancer: A Meta-analysis

Huang L, Li G, Fang ZY, Huang J

3797 Endovascular treatment of visceral artery pseudoaneurysms: Analysis of 42 cases

Chen PF, Duan XH, Ren JZ, Han XW, Liang HM, Zheng CS

3804 Clinical effects of integrated health care in patients undergoing cesarean section

Liu JH, Liu Y, Huang QL, Bai YN

3809 Clinical effects of comprehensive nursing care in patients with colon cancer with intestinal obstruction

Liu XY

CASE REPORT

3813 Esophageal cavernous lymphangioma: A case report and literature review

Liu LH, Liu MR

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 23 Number 23 August 18, 2015

APPENDIX
Ⅰ－Ⅴ Instructions to authors
Ⅰ Calendar of meetings and events in 2015

ACKNOWLEDGMENT
Ⅰ Acknowledgments to reviewers for the *World Chinese Journal of Digestology*

COVER
Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Zheng-Rong Li, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Donghu District, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Indexed/Abstracted by
Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica and Abstract Journals.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE
Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Zhen-Zhen Du, Jin-Li Yan* Electronic Editor: *Zhen-Zhen Du*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Ming-Xi Yu* Proof Editor: *Peng Guo*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date August 18, 2015

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, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China
Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China
Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, 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, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL OFFICE
Peng Guo, 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 Inc
8226 Regency Drive, Pleasanton, CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.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
© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. 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 journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3653

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3653-3662
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

述评 EDITORIAL

胃癌腹膜转移诊治的研究进展

李正荣, 李道江, 揭志刚

李正荣, 李道江, 揭志刚, 南昌大学第一附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006
李正荣, 副教授, 主要从事胃肠肿瘤的基础及临床研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81360362, 30901429, 81160304
江西省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. CJJ13126
江西省青年科学家培养计划基金资助项目, No. 20133BCB23028
作者贡献分布: 本文综述由李道江与李正荣完成; 揭志刚审校.
通讯作者: 李正荣, 副教授, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院胃肠外科. lzr13@foxmail.com
电话: 0791-88692522
收稿日期: 2015-04-07 修回日期: 2015-06-26
接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-18

Diagnosis and treatment of peritoneal metastasis of gastric cancer

Zheng-Rong Li, Dao-Jiang Li, Zhi-Gang Jie

Zheng-Rong Li, Dao-Jiang Li, Zhi-Gang Jie, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81360362, 30901429 and 81160304; the Science and Technology Research Project of Education Department of Jiangxi Province, No. CJJ13126; Training Program for Young Scientists of Jiangxi Province, No. 20133BCB23028
Correspondence to: Zheng-Rong Li, Associate Professor, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizheng Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. lzr13@foxmail.com
Received: 2015-04-07 Revised: 2015-06-26
Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-18

Abstract

As the main reason of death in patients with gastric cancer, peritoneal metastasis is still a major problem to be solved. As we all know, peritoneal metastasis is the main form of advanced gastric cancer and gastric cancer recurrence, which involves a complex, multi-stage, multifactorial pathological process. The diagnosis and treatment of peritoneal metastasis of gastric cancer are particularly difficult. The good news is that through active exploration and clinical research, several important achievements have been made and gradually bring the gospel to clinical patients. This paper will review the recent progress in the diagnosis and treatment of peritoneal metastasis of gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Peritoneal metastasis; Laparoscopic staging; Bi-chemotherapy; Cytoreductive surgery

Li ZR, Li DJ, Jie ZG. Diagnosis and treatment of peritoneal metastasis of gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3653-3662 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3653.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3653

摘要

作为胃癌患者死亡的主要原因, 腹膜转移依旧是一个亟待解决的重大难题. 众所周知, 胃癌腹膜转移是进展期胃癌以及胃癌根治术后复发的主要形式, 他涉及多阶段、多因素的复杂病理过程, 诊断尤为困难、无标准的治疗策略. 欣慰的是, 通过积极的探索和临床研究, 取得了一系列的研究成果, 并开始逐步为临床患者带来福音, 本文就近年来相关的研究成果作一综述.

背景资料
我国是胃癌大国, 80%的患者确诊时已经属于进展期. 其中腹膜转移占相当比例. 胃癌腹膜转移诊断和治疗方法有限, 相当多的患者放弃了治疗, 一些新的腹膜癌治疗的研究进展给这些患者带来了一定的希望.

同行评议者
赵青川, 主任医师, 教授, 西京医院消化外科; 肖秀英, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属仁济医院; 吴文溪, 教授, 主任医师, 江苏省人民医院普外科; 南京医科大学第一附属医院

研发前沿
总体上转移性胃癌患者可以从腹腔内-全身新辅助化疗方案+肿瘤细胞减灭术治疗中获益, 贝伐单抗、卡妥索单抗、曲妥珠单抗等在临床的应用预示着分子靶向治疗巨大的潜力.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 腹膜转移; 腹腔镜分期; 双向化疗; 肿瘤细胞减灭术

核心提示: 诊断新技术逐步取代传统检查方式还需要大量的研究验证. 肿瘤细胞减灭术(cytoreductive surgery, CRS)+腹腔热灌注化疗(hyperthermic intraoperative intraperitoneal chemotherapy, HIPEC)、腹腔内-全身新辅助化疗方案(neoadjuvant intraperitoneal-systemic chemotherapy protocol, NIPS)+HIPEC、NIPS联合CRS+HIPEC及其他治疗方法的多模式治疗策略的开展、完善和成熟依旧值得我们期待; 而诸如Catumaxomab等分子靶向治疗药物进入临床, 个体化治疗的前景变得越来越明朗.

李正荣, 李道江, 揭志刚. 胃癌腹膜转移诊治的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3653-3662 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3653.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3653

0 引言

在世界范围内, 胃癌仍是发病率、病死率较高的消化系恶性肿瘤, 对人类的健康造成严重的危害[1]. 由于症状的不典型和隐匿性, 临床上患者就诊时多已是进展期, 15%已经发生了腹膜转移, 对于可切除局部进展期胃癌患者, 即使予以根治性手术治疗, 术后复发病例中也有高达50%的为腹膜种植转移[2], 而腹膜转移是导致患者死亡的主要原因, 因此更深入的转移机制研究、有效地预防、诊断和治疗策略在提高胃癌腹膜转移患者的疗效中都扮演着重要角色.

1 胃癌腹膜转移机制研究现状

1.1 *跨细胞转移* 无论是在分子水平或是细胞水平, 胃癌的腹膜转移都是一个复杂的多步骤级联反应过程, 包括若干阶段: 肿瘤细胞从原发肿瘤位置脱离; 脱离的癌细胞黏附在腹膜表面; 癌细胞侵袭入腹膜间皮下组织; 伴随血管的再生和间质组织的诱发, 肿瘤细胞在局部增殖. 此过程被称之为跨细胞转移[3,4]. 胃癌的腹膜转移主要涉及此过程, 原因在于胃癌腹膜转移过程中产生了众多的肿瘤转移相关基因, 而这正是此过程所必须的[3].

1.2 *跨淋巴转移* 最近, Yonemura等[3]研究发现腹膜下的淋巴管在腹膜癌的形成中扮演着重要角色, 对其他们称之为跨淋巴转移(translymphatic metastasis). 此过程中腹腔游离癌细胞通过腹膜间皮细胞裂孔转移至其下层的淋巴管, 先前研究[4-6]发现的大网膜乳斑参与胃癌腹膜微转移就是典型的跨淋巴转移. 正常的腹膜间皮细胞排列紧密, 能够防止癌细胞的侵入, 而网膜乳斑处则缺乏连续的间皮细胞并表达黏附相关的媒介分子, 其作为肿瘤特异的选择点, 有助于脱落的胃癌细胞种植[6]. 然而相对于大网膜, 隔腹膜、骨盆、结肠旁沟及环肝韧带则缺少这种乳斑, 此处游离癌细胞的转移依赖于一种类似乳斑的三重结构, 这种结构通过双酶染色法(double-enzyme staining method)验证. 这种三重结构所包含的间皮细胞裂孔、筛板的孔道及初始淋巴管是腹腔游离癌细胞定植转移必不可少的. 腹腔游离肿瘤细胞通过裂孔及筛板孔道转移至下层的初始淋巴管, 这些呈盲袢状的淋巴管道紧贴于筛板孔道下有助于游离癌细胞转移至下层的淋巴腔隙中增殖[3]. 同时这些平均大小约1.2 μm的间皮裂孔会随着细胞的回缩而扩大, 进而导致下层筛板裂孔的裸露, 其诱因正是腹腔游离的肿瘤细胞和某些炎性细胞[7]. 除了参与胃癌、结直肠癌等高级别癌瘤的腹膜转移外, 跨淋巴转移是某些不能通过经典跨细胞转移的低级别肿瘤的主要腹膜转移途径[7-9].

2 胃癌腹膜转移诊断研究现状

2.1 *临床表现* 在多数情况下, 早期的腹膜癌在临床上是没有特殊的症状表现的, 很多的病例是在手术过程中诊断, 恶性腹水的出现可能是渐进性腹膜播散的第一个特异症状; 另外, 腹膜癌患者可进展出现腹痛、麻痹性或机械性肠梗阻、腹部肿块等症状, 同时诸如全身体质衰退、体质量减轻、恶病质体征会伴随这些并发症出现[10]. 虽然后阶段腹膜癌确诊较易, 但此时患者的生活质量已减低, 治疗困难, 预后极差[11]. 因此早期及时的准确诊断胃癌腹膜转移显得尤其重要.

2.2 *诊断方法* 术前腹膜癌的诊断主要的影像学手段是超声(ultrasound, US)、计算机断层扫描(computed tomography, CT)、核磁共振(magnetic resonance imaging, MRI)和^{18}F-FDG

PET-CT显像[12]. 这些影像学共同的限制性在于低体积密度的腹膜癌结节, CT和MRI在评估不可切除的疾病和癌症分期上依旧扮演着重要角色, 相比来说, PET-CT仍是最佳的选择, 而弥散加权成像(diffusion weighted imaging, DWI)则可成为次要选择[13,14]. 在一项恶性肿瘤腹膜播散影像诊断的回顾性研究[14]中, 107例患者进行了PET-CT, 130例患者进行了MRI和增强CT, 结果显示无DWI的MRI有最低的敏感性(56%)相比其他方式(增强CT, 76%; MRI DWI, 84%; PET-CT, 89%). PET-CT病变的阳性检测率(93%)明显高于其他影像学手段(增强多排螺旋CT, 73%; MRI无DWI, 70%; MRI有DWI, 72%)[14]. 但PET-CT价格昂贵, 5 mm以下的癌结节也难以识别[15,16]. 总体上目前的影像学技术对直径≤5-8 mm的腹膜癌的检测率欠缺稳定, CT对直接<5 mm检测率的敏感性仅为11%, 而病变最难检测的部位就是小肠系膜上的转移结节, 只有低达8%的检测率[13,17].

考虑到影像学对腹膜癌的低精度诊断, 目前最主要用来评估腹膜癌的诊断手段是诊断性腹腔镜、剖腹探查及腹腔细胞学检查[15,18], 美国国立癌症综合网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)的胃癌治疗指南已经建议对影像学提示为T3或者N+患者行诊断性腹腔镜分期, 对接受过术前治疗的患者, 推荐行腹腔镜加腹膜灌洗细胞学检查[19]. 诊断性腹腔镜分期可以观察评估原发肿瘤部位、范围大小、淋巴结和腹膜转移的情况以及腹水和邻近组织的受累情况, 尤其对影像学难以诊断的小肠系膜微转移结节有比较精确的诊断[20]. 同时他能加速病检组织的获取和用于细胞学分析的腹腔液回收[21]. 除了进行准确的诊断和分期, 其有助于手术决策制定、化疗及估计治疗结果与预后, 避免不必要的剖腹探查. 其极低的并发症主要集中在腹腔内脏器的医源性损伤、出血和感染[20,21]. 但不争的事实是腹腔镜探查结合多种影像学检查可以增强分期的准确性, 研究[22]报道为89%-100%. 腹腔脱落癌细胞形成微转移灶是胃癌术后腹腔复发转移及降低预后的主要危险因素之一, 浆膜侵犯及腹腔淋巴结转移与腹腔脱落癌细胞呈正相关. 因此1998年日本学者将腹膜细胞学分析作为一项分期指标, 但因传统细胞学分析的低敏感性, 一直以来备受争议, 近来主要通过免疫染色、RT-PCR等分子学手段来修正这一具有临床实用性的检测方法, 从而提高其精确性[23-25]. 一项研究[26]发现, 在118例腹腔镜探查下无直视病变的腹膜癌变患者中, 腹腔冲洗液的PCR阳性结果显然高于传统的巴式(Papanicolaou staining)细胞学分析(24% *vs* 7%).

除上述诊断方式外, 也有学者在致力研究光动力学在腹膜癌诊断中的运用, 所谓光动力学即一种光敏化作用, 是一种特殊的物质经光照射后引起所含这种物质增多的细胞内的反应过程, 在医学上, 光动力学可用于光动力学治疗(photodynamic therapy, PDT)和光动力学诊断(photodynamic diagnosis, PDD)[27]. Almerie等[28]对2014-11前主要英文数据库中关于PDD检测腹膜癌文章进行了系统性评价, 其中临床研究发现PDD可成为一种安全无不良反应的的诊断方式. 相比单纯的白光, PDD提高了21%-34%的腹膜癌结节检出率, 敏感性和特异性分别83%-100%和95%-100%. 相似的动物性研究也支持了这一结论.

2.3 量化标准 对发生腹膜转移的患者进行仔细的评估和选择合适的治疗方案, 对患者的预后显得尤为重要[11], 为使患者的选择具有量化的标准, 国外的研究者为腹腔内原发或转移的肿瘤制定了多种评分系统[29], 主要为下列3种方式.

2.3.1 日本胃癌研究协会对胃癌腹膜癌病的P分期: 该分期的主要依据是是否有恶性肿瘤的种植和腹腔冲洗液癌细胞, 没有考虑癌结节的大小, 分P0/Cy0、P0/Cy1、P1三期, P0/Cy0表示没有肉眼病变及阳性的癌细胞冲洗液, P0/Cy1则出现了阳性的癌细胞冲洗液, P1则是有肉眼可见的腹膜癌病(peritoneal carcinomatosis, PC)[3,30].

2.3.2 Gilly癌病分期: 该方法也被称为里昂得分(Lyon score), 分期根据是癌结节的大小和其分布情况. 0期为无肉眼腹膜转移, 1期为转移结节直径<5 mm, 局限于腹膜1处, 2期为全腹广泛播散, 直径<0.5 cm的癌结节, 3期为局限或播散的转移癌结节直径5-20 mm, 4期为局限或播散的转移癌结节直径>20 mm. 该分期方式操作简单, 对评估实施完全(R0-R1)或者不完全(R2)减瘤术(cytoreduction, CC)是适

■相关报道
研究表明双向化疗方案即全身新辅助化疗方案, 可利用静脉和腹腔双向扩散梯度来降低腹膜癌病的指数.

同行评价
腹膜转移是胃癌相当晚期的表现, 治疗有难度与存在争议. 文章以胃癌腹膜转移的诊断与治疗为题, 涉及比较多的近期文献, 对于其诊断问题, 如何定性定量, 治疗的探索, 涉及温热腹膜腔化疗, 综合化疗, 腹膜切除手术等等, 为胃癌腹膜转移的研究者提供了有意义的信息, 为临床医生对晚期胃癌的诊治提供重要的参考.

用的, 但对彻底的R0切除的评估有困难. 同时其应用结果显示1、2期患者较3、4期患者的预后有显著性差异. Gilly分级方法的一个不足点是没有通过分级来表示出转移结节可切除性的大小[31].

2.3.3 Jacquet和Sugarbaker腹膜癌病指数: 腹膜癌病指数(peritoneal carcinomatosis index, PCI)分腹部为13个区, 对各个区域内的病症大小(lesion size, LS)分别进行评分, LS-0表示未发现种植病灶, LS-1表示种植病灶<0.5 cm, LS-2表示种植病灶<5.0 cm, LS-3表示种植病灶>5.0 cm. 各个区域的LS分值累计所加为PCI值, 范围为0-39分. 相比其他分类, 此法更显详细和精确. PCI在预测生存率、并发症、病死率及指导治疗方式方面极具价值. 目前国际上PCI已作为首选的量化标准[11,32,33].

3 胃癌腹膜转移治疗研究现状

目前就胃癌腹膜转移没有标准、规范化的治疗方案, 其极差的预后一直是临床肿瘤治疗中的重大难题. 以往由于欠缺对腹膜癌发生发展的生物学认识, 一直视其为广泛的癌转移、肿瘤终末期, 这类患者往往只能选择疗效非常有限的保守治疗或姑息性治疗. 近20年间, 已经逐步将腹膜癌定义为区域性疾病而非广泛性转移癌, 并由提出来一种新型的多模式治疗策略, 包括双向化疗[腹腔内-全身新辅助化疗方案(neoadjuvant intraperitoneal-systemic chemotherapy protocol, NIPS)]、腹膜切除、腹腔热灌注化疗(hyperthermic intraoperative intraperitoneal chemotherapy, HIPEC)、术后早期腹腔内化疗(early postoperative intraperitoneal chemotherapy, EP-IC)[15,34].

3.1 胃癌腹膜转移的综合治疗

3.1.1 肿瘤细胞减灭术: 为了改善PC的预后, Sugarbaker[35]于1989年首次提倡行腹膜切除术, 但是, 直到1995年作者详细描述了此手术方法, 才引起更多学者的重视. 现采用腹膜切除技术进行肿瘤细胞减灭术(cytoreductive surgery, CRS), 临床研究发现通过腹膜切除术, 能获得较高的完全减瘤率[36], CRS的最终目的就是清除所有肉眼可见的癌结节、包括原发肿瘤和区域性淋巴结. 胃癌中, 全胃切除并D2淋巴结清扫是这一技术中的必要环节[3]. 无论是联合NIPS、HIPEC或其他的治疗方式, CRS依旧以其显著的减瘤率在腹膜癌的治疗中占据重要位置. 但考虑到该手术的复杂性、激进性, 患者的仔细评估、操作者规范化的培训显得尤为重要[15,37,38].

3.1.2 HIPEC: HIPEC是应用腹腔内机械灌洗, 温热效应及联合化疗药物的一种综合疗法, 1980年Spratt等[39]初次介绍HIPEC, 而后30余年的发展, 该技术经历了一系列发展演变. 其具体的抗癌机制是多方面的[3], 现CRS+HIPEC已成为腹膜黏液瘤和阑尾肿瘤、部分的腹膜间皮瘤及结直肠癌腹膜转移患者的标准疗法, 卵巢癌患者也可以从该治疗策略中获益[37]. 另外因腹腔镜结合LHIPEC能改善腹腔的压力发挥更好的化疗效果、控制腹水、降低PCI等优势, 现已被推荐作为胃癌CRS前的新辅助化疗方案策略[40].

在胃癌中, CRS+HIPEC已成为近年来腹膜癌治疗的研究趋势[41], 在一项临床三期随机实验中, 多变量分析发现对胃癌腹膜转移患者, CCR 0-1、CRS+HIPEC、≥6次的系统化疗(丝裂霉素C 30 mg, 顺铂120 mg)、无严重的并发症是改善预后的独立指标. CRS+HIPEC的中位生存期(11.0 mo)优于CRS(6.5 mo)(P = 0.046)[38]. 另外一项前瞻性随机临床实验也得到了相似的结果, 对CCR 0及最初PCI≤15的患者更受益[42].

3.1.3 广泛的术中腹腔灌洗: 采用该治疗方法是消除减瘤术术前、术后腹腔游离癌细胞. 反复向腹腔灌注1 L的生理盐水并抽洗10次, 可导致腹腔癌游离癌细胞降低为之前的$1/10^{10}$[稀释理论(limiting dilution theory)], 研究[43]发现, 采用CRS加广泛的术中腹腔灌洗(extensive intraoperative peritoneal lavage, EIPL)治疗的P0/Cy1期的患者的生存率明显高于未进行EIPL的患者, 同时患者的复发率也减低, 因此针对P0/Cy1期的胃癌及胰腺癌患者, EIPL建议作为标准的预防性治疗策略. 在这项Kuramoto的前瞻性随机控制实验中, 有腹腔游离癌细胞但无明显腹膜转移(CY^+/P^-)的进展期胃癌患者被随机分成3个组, 结果显示, 广泛术中腹腔灌洗加腹腔内化疗(EIPL-IPC)的5年生存率(43.8%)显著高于IPC组(4.6%)和单纯的手术组(0%). 除了CY^+/P^-患者外, 一项三期随机实验正在探究EIPL在浆膜阳性根治性切除胃癌患者中的作用[44].

3.1.4 围手术期化疗: 围手术期化疗(perioperative chemotherapy, POC)是一个广泛的概率, 现包括新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NAC)、前述讨论的HIPEC和EP-IC[38], NAC可在术前降低肿瘤负荷, 提高手术切除率, 而POC则最大程度清除腹腔内的游离癌细胞和微转移灶, 结合手术的优势改善了胃癌腹膜癌患者的生存率[12,38]. 全身化疗通常用于NAC, 由于存在腹膜-血液屏障, 血液内仅有少量的药物能穿透这层屏障进入腹膜腔, 临床中, 单纯的静脉全身化疗对胃癌合并腹膜转移患者的疗效是欠佳的, 近来研究[45,46]表明替吉奥(S-1)联合多西他赛(Docetaxel)可改善该类患者的预后. 在日本S-1单药疗法依旧被建议作为局部晚期胃癌的标准治疗方式之一, 一项针对T4a/b胃癌的多中心的三期随机控制实验研究显示序贯紫杉醇、尿嘧啶替加氟(UFT)或者紫杉醇然后S-1并没有改善无病生存期, UFT也并不优于单一的S-1疗法[47]. 相比全身化疗, 腹腔内化疗(intraperitoneal chemotherapy, IPC)则显示了一定优势[48], 但总体上IPC的组织穿透力有限, 即使HIPEC, 其药物的有效深度也不过为2-3 mm, 因此近来有学者探索配合全身系统化疗可有效针对腹腔灌注化疗无法触及的微转移灶, 并有效控制腹腔内游离癌细胞, 即双向化疗方案NIPS, 可利用静脉和腹腔双向扩散梯度来降低PC腹膜癌的指数[41,49,50]. 但目前并没有统一的化疗方案, 包括紫杉醇联合S-1[51], 多西他赛和顺铂联合S-1[49], 静脉注射三联化疗(多西他赛、顺铂、5-氟尿嘧啶)联合丝裂霉素C和顺铂[50]等都显示了治疗胃癌腹膜癌的优势. 基于这些研究结果, 也有正在进行的治疗胃癌腹膜转移患者的III期研究(PHOENIX-GC研究)来对比其中的化疗方案[32]. 但总体上转移性胃癌患者可以从NIPS+CRS治疗中获益[32,49,51]. 鉴于残余癌细胞术后早期增殖活跃及腹膜, 表面尚未发生黏连纤维化, Kwon等[52]的研究显示EP-IC同样也能改善预后.

3.1.5 靶向治疗: 作为个体化治疗的重点, 基因分子靶向治疗现在也是胃癌腹膜转移治疗的研究热点, 其作为一种新颖的治疗手段在临床上扮演的角色越来越重要, 目前发现与之相关的治疗靶点有血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 抗人表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor-2, HER-2), 表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR), 成纤维细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR), 肝细胞生长因子受体原癌基因, 聚ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PAPR), 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR), 胰岛素样生长因子1受体(insulin 1ike growth factor 1 receptor, IGF-1R)等[53,54], 其中一些已经取得了重要的临床研究结果, 如VEGF与胃癌腹膜转移密切相关, Bilgic等[55]研究发现血清中VEGF的水平是侵袭性胃癌预后和术前评估的一项重要指标, 治疗中已经发现贝伐单抗能干预这一过程[56,57]. 雷莫芦单抗(Ramucirumab)特异性阻断VEGF受体2(VEGF receptor-2, VEGFR2)及下游血管生成相关通路的人源化单克隆抗体, 目前已经受美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)批准上市, 其作为一种新的抗体药物, 为癌症患者的治疗带来了巨大的希望[58]; 卡妥索单(Catumaxomab), 一种抗CD3和上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, EPCAM)的小鼠双特异性抗体, 在欧盟获得批准用于治疗EPCAM阳性肿瘤的恶性腹水患者[12,25]; 曲妥珠单抗(Trastuzumab)用于治疗HER2阳性的胃癌患者[59]; 近来同样也发现miRNAs参与胃癌腹膜转移的微环境调控, 其众多的调控网络提供了更多的治疗靶点[60]. 在胃癌肿瘤的治疗中, 依据肿瘤的分子标志物选择与其相应的的靶向药物是重要的研究方向之一, 个体化的合理用药, 才有可能延长患者的生存期, 使其真正受益.

3.2 涉及治疗的两个重要评分

3.2.1 以往手术评分: 在腹膜癌的治疗过程中, 除上述讨论的量化标准外, 还必须要考虑到治疗史, 这些以往操作可能破坏了无瘤腹膜的完整性, 增加了后期治疗的难度, 因此在行CRS和IPCH之前, 需评估既往干预的次数和手术的程度, Sugarbaker的团队创建了以往手术评分(previous surgical score, PSS)这一评分体系[61], PSS-0为未行手术治疗或仅作过活检者, PSS-1表示原手术只累及1个区, PSS-2表示以往曾清扫过2-5个区, PSS-3表示以往清扫区域超过5个.

3.2.2 肿瘤细胞减灭完整度评分: 为了对CRS描述的更精确, Sugarbaker报道了肿瘤细胞减灭完整度评分(completeness of cytoreduction score, CCR score), 以此来评定残留肿瘤量, 对胃癌所伴的腹膜肿瘤而言, CCR评分为预测术后生存率的主要指标. CCR-0为术后整个手术视野无肉眼可见的癌瘤结节, CCR-1为术后残留结节<2.5 mm(这种癌结节通常认为能被腹腔化疗穿透), CCR-2为残留癌结节直径2.5 mm-2.5 cm, CCR-3为>2.5 cm的癌结节或腹部及盆腔任何位置不可切除的融合性癌瘤.

3.3 胃癌腹膜转移治疗现状的总结 需要再次强调的是目前针对胃癌并腹膜转移的患者仍没有标准的治疗措施, 近年来虽然在治疗方面有很多新的尝试, 如前述的CRS加POC的新型多模式治疗方式、术中广泛的腹腔灌洗等, 但整体上对胃癌腹膜转移治疗的临床疗效差. 在一份Li等[37]关于第9届国际腹膜癌大会(2014-10)的报道中, 我们清晰地看到了以下信息: CRS+HIPEC虽然在部分胃癌并腹膜癌的临床实验中展示了一定的优势, 但就晚期胃癌腹膜转移患者还需要开展更多的研究以获得更多的证据, 而对是否开展NIPS联合CRS+HIPEC治疗, 更多的证据也是必须的. 不能实施该治疗方式的患者为肿瘤不能完全切除或接近完全切除, 或者由于共存疾病而不可能完全恢复. 另外一个不容忽视的问题是, 尽管越来越多的学者注意CRS+HIPEC的优势, 但鉴于该治疗策略的技术复杂性、治疗难度以及患者的特殊性, 其实施仍须遵从学习曲线和经过严格的技术培训, 对PC认识不足或治疗技术有限而不能实施CRS和安全实施POC的机构, 不能开展CRS+HIPEC治疗[10,15,37]. Bhagwandin等[62]关于CRC+HIPEC治疗后延迟并发症(delayed major complications)的研究中呈现了5.7%(8/136)的发生率, 该文章同时指出目前关于这方面的研究较少, 而进行CRS+HIPEC的患者多远离其居住地, 其术后的治疗同样应引人重视.

4 胃癌腹膜播散的预后及研究展望

相比结直肠癌、胃癌腹膜转移患者在接受CRS和POC治疗后的整体生存率并不乐观, CRS+HIPEC之后的5年生存率为12%-18%[3,9], 对CRS+HIPEC治疗胃癌并腹膜转移的英文电子数据库进行系统评估发现全面的生存期为7.9 mo(6.1-11.5 mo). CCR-0/1的患者为15 mo(9.5-43.4 mo), 1年生存率为43%(22%-68%), 5年生存率为13%, 治疗相关的死亡率为4.8%(19/467), 全面的死亡率为21.5%[63]. 低于阈值的PCI、CCR、PSS评分、术前无腹水、NAC后的病理反应都是决定预后的独立因素. 在这些预后因素中, CCR被认为是最重要的[11], 研究[64]发现相比单一的化疗, 那些减瘤术不彻底的患者生存率没有显著差别. PCI作为术前最最重要量化标准, 目前在各个临床研究中并没有确切的阈值指标, 被报道的有6[49]、12[65]、13[11]、15[42]、20[66].

目前国内PC治疗较欧美国家和日本仍有一定的差距, 但众多的病案数提供了强有力的研究潜力, 在充分认识腹膜癌的情况下接受全面的培训来实施CRS, 地区乃至全国数家科研单位及医院的强强联合, 集思广益, 运用循征医学, 制定标准化的临床研究方案, 扩大研究的样本量都显得尤为重要; 通过CRS结合POC的新型综合治疗策略仍需前瞻性、多中心、大样本、标准化的临床研究; NAC、HIPEC、LHIPEC、NIPS、EIPL、EP-IC等需要更有效的化疗药物、更合理的联合化疗方案及更合适的适用条件; 同时更深入的腹膜癌转移的基础及临床研究, 发展和完善新的个体化治疗诊断策略对PC患者来说都是大有裨益的.

5 结论

目前, 乳斑等跨淋巴转移途径的研究深入可为腹膜癌患者提供新的治疗契机; 胃癌腹膜转移的诊断及分期没有单一的金标准, 传统影像学、腹腔镜探查、腹腔灌洗细胞学分析及新技术互相弥补, 综合评判可能会提高诊断的精确性, 新技术逐步取代传统检查方式还需要大量的研究验证. CRS+HIPEC、NIPS+HIPEC、NIPS联合CRS+HIPEC及其他治疗方法的多模式治疗策略的开展、完善和成熟依旧值得我们期待; 而诸如Catumaxomab等分子靶向治疗药物进入临床, 个体化治疗的前景变得越来越明朗. 单从胃癌腹膜转移来说, 任何检查手段以及治疗方式改进对提高这类患者的整体生活质量和生存率都是欠缺满意的, 因此胃癌的预防、早期筛检及治疗、更深入的

癌症起病和癌细胞转移机制研究仍旧显得很重要.

6 参考文献

1 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9-29 [PMID: 24399786 DOI: 10.3322/caac.21208]

2 Maehara Y, Hasuda S, Koga T, Tokunaga E, Kakeji Y, Sugimachi K. Postoperative outcome and sites of recurrence in patients following curative resection of gastric cancer. *Br J Surg* 2000; 87: 353-357 [PMID: 10718807 DOI: 10.1046/j.1365-2168.2000.01358.x]

3 Yonemura Y, Canbay E, Endou Y, Ishibashi H, Mizumoto A, Miura M, Li Y, Liu Y, Takeshita K, Ichinose M, Takao N, Hirano M, Sako S, Tsukiyama G. Peritoneal cancer treatment. *Expert Opin Pharmacother* 2014; 15: 623-636 [PMID: 24617975 DOI: 10.1517/14656566.2014.879571]

4 Kusamura S, Baratti D, Zaffaroni N, Villa R, Laterza B, Balestra MR, Deraco M. Pathophysiology and biology of peritoneal carcinomatosis. *World J Gastrointest Oncol* 2010; 2: 12-18 [PMID: 21160812 DOI: 10.4251/wjgo.v2.i1.12]

5 Yonemura Y, Endo Y, Yamaguchi T, Fujimura T, Obata T, Kawamura T, Nojima N, Miyazaki I, Sasaki T. Mechanisms of the formation of the peritoneal dissemination in gastric cancer. *Int J Oncol* 1996; 8: 795-802 [PMID: 21544429 DOI: 10.3892/ijo.8.4.795]

6 Miao ZF, Wang ZN, Zhao TT, Xu YY, Gao J, Miao F, Xu HM. Peritoneal milky spots serve as a hypoxic niche and favor gastric cancer stem/progenitor cell peritoneal dissemination through hypoxia-inducible factor 1α. *Stem Cells* 2014; 32: 3062-3074 [PMID: 25142304 DOI: 10.1002/stem.1816]

7 Bettendorf U. Lymph flow mechanism of the subperitoneal diaphragmatic lymphatics. *Lymphology* 1978; 11: 111-116 [PMID: 745460]

8 Yonemura Y, Endou Y, Nojima M, Kawamura T, Fujita H, Kaji M, Ajisaka H, Bandou E, Sasaki T, Yamaguchi T, Harada S, Yamamoto H. A possible role of cytokines in the formation of peritoneal dissemination. *Int J Oncol* 1997; 11: 349-358 [PMID: 21528221 DOI: 10.3892/ijo.11.2.349]

9 Yonemura Y, Li Y, Sugarbaker PH, Piso P. Peritoneal metastases. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 695351 [PMID: 23008700 DOI: 10.1155/2012/695351]

10 Glockzin G, Piso P. Current status and future directions in gastric cancer with peritoneal dissemination. *Surg Oncol Clin N Am* 2012; 21: 625-633 [PMID: 23021720 DOI: 10.1016/j.soc.2012.07.002]

11 Yonemura Y, Bandou E, Kawamura T, Endou Y, Sasaki T. Quantitative prognostic indicators of peritoneal dissemination of gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 602-606 [PMID: 16617004 DOI: 10.1016/j.ejso.2006.03.003]

12 Montori G, Coccolini F, Ceresoli M, Catena F, Colaianni N, Poletti E, Ansaloni L. The treatment of peritoneal carcinomatosis in advanced gastric cancer: state of the art. *Int J Surg Oncol* 2014; 2014: 912418 [PMID: 24693422 DOI: 10.1155/2014/912418]

13 Yang QM, Bando E, Kawamura T, Tsukiyama G, Nemoto M, Yonemura Y, Furukawa H. The diagnostic value of PET-CT for peritoneal dissemination of abdominal malignancies. *Gan To Kagaku Ryoho* 2006; 33: 1817-1821 [PMID: 17212117]

14 Satoh Y, Ichikawa T, Motosugi U, Kimura K, Sou H, Sano K, Araki T. Diagnosis of peritoneal dissemination: comparison of 18F-FDG PET/CT, diffusion-weighted MRI, and contrast-enhanced MDCT. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: 447-453 [PMID: 21257899 DOI: 10.2214/ajr.10.4687]

15 Yonemura Y, Elnemr A, Endou Y, Hirano M, Mizumoto A, Takao N, Ichinose M, Miura M, Li Y. Multidisciplinary therapy for treatment of patients with peritoneal carcinomatosis from gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2010; 2: 85-97 [PMID: 21160926 DOI: 10.4251/wjgo.v2.i2.85]

16 Brücher BL, Piso P, Verwaal V, Esquivel J, Derraco M, Yonemura Y, Gonzalez-Moreno S, Pelz J, Königsrainer A, Ströhlein M, Levine EA, Morris D, Bartlett D, Glehen O, Garofalo A, Nissan A. Peritoneal carcinomatosis: cytoreductive surgery and HIPEC--overview and basics. *Cancer Invest* 2012; 30: 209-224 [PMID: 22360361 DOI: 10.3109/07357907.2012.654871]

17 Koh JL, Yan TD, Glenn D, Morris DL. Evaluation of preoperative computed tomography in estimating peritoneal cancer index in colorectal peritoneal carcinomatosis. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 327-333 [PMID: 19050972 DOI: 10.1245/s10434-008-0234-2]

18 Yoon H, Lee DH. New approaches to gastric cancer staging: beyond endoscopic ultrasound, computed tomography and positron emission tomography. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 13783-13790 [PMID: 25320516 DOI: 10.3748/wjg.v20.i38.13783]

19 Ajani JA, Bentrem DJ, Besh S, D'Amico TA, Das P, Denlinger C, Fakih MG, Fuchs CS, Gerdes H, Glasgow RE, Hayman JA, Hofstetter WL, Ilson DH, Keswani RN, Kleinberg LR, Korn WM, Lockhart AC, Meredith K, Mulcahy MF, Orringer MB, Posey JA, Sasson AR, Scott WJ, Strong VE, Varghese TK, Warren G, Washington MK, Willett C, Wright CD, McMillian NR, Sundar H. Gastric cancer, version 2.2013: featured updates to the NCCN Guidelines. *J Natl Compr Canc Netw* 2013; 11: 531-546 [PMID: 23667204]

20 Valle M, Garofalo A. Laparoscopic staging of peritoneal surface malignancies. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 625-627 [PMID: 16822641 DOI: 10.1016/j.ejso.2006.03.015]

21 Rausei S, Ruspi L, Mangano A, Lianos GD, Galli F, Boni L, Roukos DH, Dionigi G. Advantages of staging laparoscopy in gastric cancer: they are so obvious that they are not evident. *Future Oncol* 2015; 11: 369-372 [PMID: 25675119 DOI: 10.2217/fon.14.283]

22 Chang L, Stefanidis D, Richardson WS, Earle DB, Fanelli RD. The role of staging laparoscopy for intraabdominal cancers: an evidence-based review.

Surg Endosc 2009; 23: 231-241 [PMID: 18813972 DOI: 10.1007/s00464-008-0099-2]
23 De Andrade JP, Mezhir JJ. The critical role of peritoneal cytology in the staging of gastric cancer: an evidence-based review. *J Surg Oncol* 2014; 110: 291-297 [PMID: 24850538 DOI: 10.1002/jso.23632]
24 La Torre M, Rossi Del Monte S, Ferri M, Cosenza G, Mercantini P, Ziparo V. Peritoneal washing cytology in gastric cancer. How, when and who will get a benefit? A review. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2011; 57: 43-51 [PMID: 21372769]
25 Kagawa S, Shigeyasu K, Ishida M, Watanabe M, Tazawa H, Nagasaka T, Shirakawa Y, Fujiwara T. Molecular diagnosis and therapy for occult peritoneal metastasis in gastric cancer patients. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 17796-17803 [PMID: 25548478 DOI: 10.3748/wjg.v20.i47.17796]
26 Wong J, Kelly KJ, Mittra A, Gonen M, Allen P, Fong Y, Coit D. Rt-PCR increases detection of submicroscopic peritoneal metastases in gastric cancer and has prognostic significance. *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 889-896; discussion 896 [PMID: 22362071 DOI: 10.1007/s11605-012-1845-2]
27 Diamond I, Granelli SG, McDonagh AF, Nielsen S, Wilson CB, Jaenicke R. Photodynamic therapy of malignant tumours. *Lancet* 1972; 2: 1175-1177 [PMID: 4117595 DOI: 10.1016/S0140-6736(72)92596-2]
28 Almerie MQ, Gossedge G, Wright KE, Jayne DG. Photodynamic diagnosis for detection of peritoneal carcinomatosis. *J Surg Res* 2015; 195: 175-187 [PMID: 25682189 DOI: 10.1016/j.jss.2015.01.009]
29 Gilly FN, Cotte E, Brigand C, Monneuse O, Beaujard AC, Freyer G, Glehen O. Quantitative prognostic indices in peritoneal carcinomatosis. *Eur J Surg Oncol* 2006; 32: 597-601 [PMID: 16617003 DOI: 10.1016/j.ejso.2006.03.002]
30 Kajitani T. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. Part I. Clinical classification. *Jpn J Surg* 1981; 11: 127-139 [PMID: 7300058 DOI: 10.1007/BF02468883]
31 Glehen O, Mohamed F, Gilly FN. Peritoneal carcinomatosis from digestive tract cancer: new management by cytoreductive surgery and intraperitoneal chemohyperthermia. *Lancet Oncol* 2004; 5: 219-228 [PMID: 15050953 DOI: 10.1016/s1470-2045(04)01425-1]
32 Ishigami H, Kitayama J, Yamaguchi H, Emoto S, Watanabe T. [Multidisciplinary treatment strategy for gastric cancer with peritoneal metastasis]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2013; 40: 1269-1273 [PMID: 24105049]
33 Harmon RL, Sugarbaker PH. Prognostic indicators in peritoneal carcinomatosis from gastrointestinal cancer. *Int Semin Surg Oncol* 2005; 2: 3 [PMID: 15701175 DOI: 10.1186/1477-7800-2-3]
34 Yonemura Y, Endou Y, Sasaki T, Hirano M, Mizumoto A, Matsuda T, Takao N, Ichinose M, Miura M, Li Y. Surgical treatment for peritoneal carcinomatosis from gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 1131-1138 [PMID: 20933363 DOI: 10.1016/j.ejso.2010.09.006]
35 Sugarbaker PH. Peritonectomy procedures. *Ann Surg* 1995; 221: 29-42 [PMID: 7826158 DOI: 10.1097/00000658-199501000-00004]
36 Sugarbaker PH, Yonemura Y. Clinical pathway for the management of resectable gastric cancer with peritoneal seeding: best palliation with a ray of hope for cure. *Oncology* 2000; 58: 96-107 [PMID: 10705236]
37 Li Y, Yu Y, Liu Y. Report on the 9(th) International Congress on Peritoneal Surface Malignancies. *Cancer Biol Med* 2014; 11: 281-284 [PMID: 25610715 DOI: 10.7497/j.issn.2095-3941.2014.04.008]
38 Yang XJ, Huang CQ, Suo T, Mei LJ, Yang GL, Cheng FL, Zhou YF, Xiong B, Yonemura Y, Li Y. Cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal chemotherapy improves survival of patients with peritoneal carcinomatosis from gastric cancer: final results of a phase III randomized clinical trial. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1575-1581 [PMID: 21431408 DOI: 10.1245/s10434-011-1631-5]
39 Spratt JS, Adcock RA, Muskovin M, Sherrill W, McKeown J. Clinical delivery system for intraperitoneal hyperthermic chemotherapy. *Cancer Res* 1980; 40: 256-260 [PMID: 6766084]
40 Hirano M, Yonemura Y, Canbay E, Ichinose M, Togawa T, Matsuda T, Takao N, Mizumoto A. Laparoscopic Diagnosis and Laparoscopic Hyperthermic Intraoperative Intraperitoneal Chemotherapy for Pseudomyxoma Peritonei Detected by CT Examination. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 741202 [PMID: 22956941 DOI: 10.1155/2012/741202]
41 Canbay E, Yonemura Y, Brucher B, Baik SH, Sugarbaker PH. Intraperitoneal chemotherapy and its evolving role in management of gastric cancer with peritoneal metastases. *Chin J Cancer Res* 2014; 26: 1-3 [PMID: 24653620 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2014.02.06]
42 Rudloff U, Langan RC, Mullinax JE, Beane JD, Steinberg SM, Beresnev T, Webb CC, Walker M, Toomey MA, Schrump D, Pandalai P, Stojadinovic A, Avital I. Impact of maximal cytoreductive surgery plus regional heated intraperitoneal chemotherapy (HIPEC) on outcome of patients with peritoneal carcinomatosis of gastric origin: results of the GYMSSA trial. *J Surg Oncol* 2014; 110: 275-284 [PMID: 25042700 DOI: 10.1002/jso.23633]
43 Kuramoto M, Shimada S, Ikeshima S, Matsuo A, Yagi Y, Matsuda M, Yonemura Y, Baba H. Extensive intraoperative peritoneal lavage as a standard prophylactic strategy for peritoneal recurrence in patients with gastric carcinoma. *Ann Surg* 2009; 250: 242-246 [PMID: 19638909 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181b0c80e]
44 Misawa K, Mochizuki Y, Ohashi N, Matsui T, Nakayama H, Tsuboi K, Sakai M, Ito S, Morita S, Kodera Y. A randomized phase III trial exploring the prognostic value of extensive intraoperative peritoneal lavage in addition to standard treatment for resectable advanced gastric cancer: CCOG 1102 study. *Jpn J Clin Oncol* 2014; 44: 101-103 [PMID: 24287077 DOI: 10.1093/jjco/hyt157]

45 Koizumi W, Kim YH, Fujii M, Kim HK, Imamura H, Lee KH, Hara T, Chung HC, Satoh T, Cho JY, Hosaka H, Tsuji A, Takagane A, Inokuchi M, Tanabe K, Okuno T, Ogura M, Yoshida K, Takeuchi M, Nakajima T. Addition of docetaxel to S-1 without platinum prolongs survival of patients with advanced gastric cancer: a randomized study (START). *J Cancer Res Clin Oncol* 2014; 140: 319-328 [PMID: 24366758 DOI: 10.1007/s00432-013-1563-5]

46 Oki E, Emi Y, Kusumoto T, Sakaguchi Y, Yamamoto M, Sadanaga N, Shimokawa M, Yamanaka T, Saeki H, Morita M, Takahashi I, Hirabayashi N, Sakai K, Orita H, Aishima S, Kakeji Y, Yamaguchi K, Yoshida K, Baba H, Maehara Y. Phase II study of docetaxel and S-1 (DS) as neoadjuvant chemotherapy for clinical stage III resectable gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 2340-2346 [PMID: 24604583 DOI: 10.1245/s10434-014-3594-9]

47 Tsuburaya A, Yoshida K, Kobayashi M, Yoshino S, Takahashi M, Takiguchi N, Tanabe K, Takahashi N, Imamura H, Tatsumoto N, Hara A, Nishikawa K, Fukushima R, Nozaki I, Kojima H, Miyashita Y, Oba K, Buyse M, Morita S, Sakamoto J. Sequential paclitaxel followed by tegafur and uracil (UFT) or S-1 versus UFT or S-1 monotherapy as adjuvant chemotherapy for T4a/b gastric cancer (SAMIT): a phase 3 factorial randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2014; 15: 886-893 [PMID: 24954805 DOI: 10.1016/s1470-2045(14)70025-7]

48 de Bree E, Tsiftsis DD. Experimental and pharmacokinetic studies in intraperitoneal chemotherapy: from laboratory bench to bedside. *Recent Results Cancer Res* 2007; 169: 53-73 [PMID: 17506249 DOI: 10.1007/978-3-540-30760-0_5]

49 Yonemura Y, Elnemr A, Endou Y, Ishibashi H, Mizumoto A, Miura M, Li Y. Effects of neoadjuvant intraperitoneal/systemic chemotherapy (bidirectional chemotherapy) for the treatment of patients with peritoneal metastasis from gastric cancer. *Int J Surg Oncol* 2012; 2012: 148420 [PMID: 22900159 DOI: 10.1155/2012/148420]

50 Fujiwara Y, Takiguchi S, Nakajima K, Miyata H, Yamasaki M, Kurokawa Y, Okada K, Mori M, Doki Y. Neoadjuvant intraperitoneal and systemic chemotherapy for gastric cancer patients with peritoneal dissemination. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 3726-3731 [PMID: 21584835 DOI: 10.1245/s10434-011-1770-8]

51 Yamaguchi H, Kitayama J, Ishigami H, Emoto S, Yamashita H, Watanabe T. A phase 2 trial of intravenous and intraperitoneal paclitaxel combined with S-1 for treatment of gastric cancer with macroscopic peritoneal metastasis. *Cancer* 2013; 119: 3354-3358 [PMID: 23798046 DOI: 10.1002/cncr.28204]

52 Kwon OK, Chung HY, Yu W. Early postoperative intraperitoneal chemotherapy for macroscopically serosa-invading gastric cancer patients. *Cancer Res Treat* 2014; 46: 270-279 [PMID: 25038762 DOI: 10.4143/crt.2014.46.3.270]

53 Schinzari G, Cassano A, Orlandi A, Basso M, Barone C. Targeted therapy in advanced gastric carcinoma: the future is beginning. *Curr Med Chem* 2014; 21: 1026-1038 [PMID: 24304282 DOI: 10.2174/0929867321666131129124054]

54 Ngeow J, Tan IB, Choo SP. Targeted therapies in the treatment of gastric cancer. *Asia Pac J Clin Oncol* 2011; 7: 224-235 [PMID: 21884434 DOI: 10.1111/j.1743-7563.2011.01407.x]

55 Bilgiç CI, Tez M. Serum VEGF levels in gastric cancer patients: correlation with clinicopathological parameters. *Turk J Med Sci* 2015; 45: 112-117 [PMID: 25790539 DOI: 10.3906/sag-1401-154]

56 Aoyagi K, Kouhuji K, Miyagi M, Kizaki J, Isobe T, Hashimoto K, Shirouzu K. Molecular targeting therapy using bevacizumab for peritoneal metastasis from gastric cancer. *World J Crit Care Med* 2013; 2: 48-55 [PMID: 24701416 DOI: 10.5492/wjccm.v2.i4.48]

57 Fushida S, Oyama K, Kinoshita J, Yagi Y, Okamoto K, Tajima H, Ninomiya I, Fujimura T, Ohta T. VEGF is a target molecule for peritoneal metastasis and malignant ascites in gastric cancer: prognostic significance of VEGF in ascites and efficacy of anti-VEGF monoclonal antibody. *Onco Targets Ther* 2013; 6: 1445-1451 [PMID: 24204159 DOI: 10.2147/ott.s51916]

58 Javle M, Smyth EC, Chau I. Ramucirumab: successfully targeting angiogenesis in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2014; 20: 5875-5881 [PMID: 25281695 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-14-1071]

59 Imano M, Okuno K. Treatment strategies for gastric cancer patients with peritoneal metastasis. *Surg Today* 2014; 44: 399-404 [PMID: 23677598 DOI: 10.1007/s00595-013-0603-8]

60 Zhang Y, Yang P, Wang XF. Microenvironmental regulation of cancer metastasis by miRNAs. *Trends Cell Biol* 2014; 24: 153-160 [PMID: 24125906 DOI: 10.1016/j.tcb.2013.09.007]

61 Jacquet P, Sugarbaker PH. Clinical research methodologies in diagnosis and staging of patients with peritoneal carcinomatosis. *Cancer Treat Res* 1996; 82: 359-374 [PMID: 8849962 DOI: 10.1007/978-1-4613-1247-5_23]

62 Bhagwandin SB, Naffouje S, Salti G. Delayed presentation of major complications in patients undergoing cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy following hospital discharge. *J Surg Oncol* 2015; 111: 324-327 [PMID: 25557653 DOI: 10.1002/jso.23834]

63 Gill RS, Al-Adra DP, Nagendran J, Campbell S, Shi X, Haase E, Schiller D. Treatment of gastric cancer with peritoneal carcinomatosis by cytoreductive surgery and HIPEC: a systematic review of survival, mortality, and morbidity. *J Surg Oncol* 2011; 104: 692-698 [PMID: 21713780 DOI: 10.1002/jso.22017]

64 Yonemura Y, Endo Y, Obata T, Sasaki T. Recent advances in the treatment of peritoneal dissemination of gastrointestinal cancers by nucleoside antimetabolites. *Cancer Sci* 2007; 98: 11-18 [PMID: 17052255 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00350.x]

65 Glehen O, Schreiber V, Cotte E, Sayag-Beaujard AC, Osinsky D, Freyer G, François Y, Vignal J, Gilly FN. Cytoreductive surgery and intraperitoneal

chemohyperthermia for peritoneal carcinomatosis arising from gastric cancer. *Arch Surg* 2004; 139: 20-26 [PMID: 14718269 DOI: 10.1001/archsurg.139.1.20]

66 Huang CQ, Yang XJ, Yu Y, Wu HT, Liu Y, Yonemura Y, Li Y. Cytoreductive surgery plus hyperthermic intraperitoneal chemotherapy improves survival for patients with peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer: a phase II study from a Chinese center. *PLoS One* 2014; 9: e108509 [PMID: 25259574 DOI: 10.1371/journal.pone.0108509]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志》[国际标准刊号ISSN 1009-3079 (print), ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569, Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/*World Chinese Journal of Digestology*], 是一本由来自国内29个省、市、自治区、特别行政区和美国的506位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病学领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助.

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价.

《世界华人消化杂志》报道的内容包括食管、胃、肠、肝、胰肿瘤, 食管疾病、胃肠及十二指肠疾病、肝胆疾病、肝脏疾病、胰腺疾病、感染、内镜检查法、流行病学、遗传学、免疫学、微生物学, 以及胃肠道运动对神经的影响、传送、生长因素和受体、营养肥胖、成像及高科技技术.

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病学领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3663

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3663-3669
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

述评 EDITORIAL

微小RNA在胰腺癌诊断与治疗中价值的研究进展

孙诚谊, 喻 超

孙诚谊, 喻超, 贵州医科大学附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550004
孙诚谊, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肝胆胰脾基础与临床方面的研究.
国家国际科技合作专项基金资助项目, No. 2014DFA31420
作者贡献分布: 此课题由孙诚谊设计; 由孙诚谊与喻超共同收集资料和分析; 本论文写作由孙诚谊与喻超完成.
通讯作者: 孙诚谊, 教授, 主任医师, 550004, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵州医科大学附属医院肝胆外科.
sunchengyi2014@163.com
电话: 0851-86773083
收稿日期: 2015-04-20 修回日期: 2015-05-08
接受日期: 2015-05-19 在线出版日期: 2015-08-18

Role of microRNAs in diagnosis and treatment of pancreatic cancer

Cheng-Yi Sun, Chao Yu

Cheng-Yi Sun, Chao Yu, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China
Supported by: International Science & Technology Cooperation Program of China, No. 2014DFA31420
Correspondence to: Cheng-Yi Sun, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, 28 Guiyi Avenue, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. sunchengyi2014@163.com
Received: 2015-04-20 Revised: 2015-05-08
Accepted: 2015-05-19 Published online: 2015-08-18

Abstract

Pancreatic cancer is a malignant tumor of the digestive system. Due to its early metastatic nature, more than 80% of pancreatic cancer patients have invasive disease at the time of diagnosis, and only about 10%-20% of patients are suitable for radical surgery. For patients who have the opportunity to undergo radical resection of pancreatic cancer, most will develop postoperative recurrence, distant metastasis and resistance to chemotherapy. As a result, the 5-year survival rate is still less than 6%. Therefore, pancreatic cancer has become a serious threat to human health. Therefore, there is an urgent need to find new reliable tumor markers and molecular therapeutic targets. In recent years, microRNAs (miRNAs) have gradually become a hotspot in the research of tumors. Increasing data indicate that miRNAs are involved in tumor development and progression, diagnosis, treatment and so on. miRNAs are considered to be a new set of oncogenes or tumor suppressor genes, and they brought new hope to the diagnosis and treatment of pancreatic cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; MicroRNA; Diagnosis; Treatment

Sun CY, Yu C. Role of microRNAs in diagnosis and treatment of pancreatic cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3663-3669 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3663.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3663

摘要

胰腺癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, 由于胰腺癌早期易侵袭转移的特性, 确诊时超过80%已属晚期, 仅有约10%-20%患者能进行根治性手术, 对那些临床上有机会进行了根治性手术切除的胰腺癌患者, 术后也绝大多数因复发、远处转移和化疗耐药, 5年生存率仍不超过6%. 胰腺癌已成为严重威胁人类健康的疾病之一. 因此, 目前迫切需要探

背景资料
胰腺癌具有侵袭转移能力强、对化疗不敏感、术后容易复发、生存期短等临床特点; 微小RNA(microRNA, miRNA)在胰腺癌的上述临床特点中发挥重要作用, miRNAs通过对靶基因进行转录后调控发挥着癌基因或抑癌基因的作用.

同行评议者
袁周, 副主任医师, 上海交通大学附属第六人民医院

研发前沿
本文就miRNAs在胰腺癌诊断与治疗中价值作一述评, 指出今后的胰腺癌生物治疗方向之一是针对miRNAs的靶向治疗.

寻新的、可靠的肿瘤标志物和分子治疗靶点. 微小RNA(microRNA, miRNA)与肿瘤的关系成为近年来肿瘤学研究的热点, 大量研究表明很多miRNAs的表达水平与胰腺癌的发生与发展、诊断与治疗、预后等都有着密切关系, 被认为是一组新的癌基因或抑癌基因, 这给胰腺癌的诊断与治疗带来了新的希望.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺癌; 微小RNA; 诊断; 治疗

核心提示: 近年来微小RNA(microRNA, miRNA)是肿瘤领域的研究热点, miRNAs在肿瘤的标志物诊断和抑制肿瘤的增殖、增敏肿瘤细胞的化疗耐药、抑制肿瘤的侵袭转移能力等治疗方面有大量的文献报道, 本文就miRNAs在胰腺癌诊断与治疗中价值作一述评.

孙诚谊, 喻超. 微小RNA在胰腺癌诊断与治疗中价值的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3663-3669 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3663.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3663

0 引言

胰腺癌(pancreatic cancer)恶性程度很高, 根据美国的癌症研究协会调查(American Cancer Society)2015年在美国估计新发胰腺癌病例和死亡病例分别约为48960和40560例[1], 大大超过往年, 在我国, 胰腺癌也呈逐年上升趋势, 成为严重危害人类健康的杀手之一. 由于胰腺癌发生隐匿、发展迅速, 超过80%患者在确诊时已伴有局部和/或远处脏器的转移而丧失手术时机[2,3], 即使有机会进行了根治性切除的患者, 手术后也会很快复发和远处转移. 由于胰腺癌对现有的化疗药物严重耐药, 尽管针对胰腺癌患者的化疗和系统治疗方案不断改善, 但是其临床治疗效果并未明显提高, 患者5年生存率仍不足6%[4]. 胰腺癌早期诊断困难、易侵袭转移和多药耐药成为影响胰腺癌患者预后的罪魁祸首.

微小RNA(microRNA, miRNA)是由19-24个核苷酸组成的、非蛋白质编码的小RNA分子家族. miRNAs虽然不编码蛋白, 但是可以对其靶基因的功能进行调节, 通过降解或者抑制mRNA的翻译进而导致靶基因转录后沉默. miRNAs的表达与多种肿瘤相关, 不同的肿瘤组织甚至同一种肿瘤不同的发展时期, miRNAs的表达水平都是不一样的, 并通过多种途径调节肿瘤的发生发展和侵袭转移. 俄亥俄州立大学的研究人员在比较了人类胰腺癌组织、癌旁组织以及对照组中的miRNAs表达水平后发现有100余种miRNAs在胰腺癌组织的表达异常, 这种表达异常包括异常高表达和低表达[5], 可能扮演着癌基因或抑癌基因, 这给胰腺癌的诊断与治疗带来了新的希望.

1 miRNAs概述

1993年, 人类在线虫中发现第一个miRNA-lin-4, lin-4通过负向调控lin-4蛋白表达以调控秀丽隐杆线虫的发育[6], 第2个miRNA-let-7于2000年被发现, 后经证实为一段包含21个核苷酸的RNA[7]. 自lin-4和let-7发现以来, 来自全球不同地方的研究人员们通过不同的实验和方法陆续发现了更多的miRNAs. 到目前为止, miRBase数据库(miRbase; http://www.mirbase.org)中收录了223物种的28645个miRNAs序列, 其中, 收录了人miRNAs 1881个前体编码序列, 2588成熟态编码序列(miRBase 21, 2014-06). miRNAs主要依赖以下两种序列互补原则对靶基因起负性调控作用: 一种是miRNAs与靶基因mRNA完全互补, 此种miRNAs的结合位点通常在靶基因mRNA的编码区域或开放阅读框中, 此种结合引起靶基因mRNA的降解. 另一种是miRNAs与靶基因mRNA不完全互补, 该种miRNAs的结合位点通常在靶基因mRNA的3'端非翻译区(3' untranslated regions, 3'UTR), 从而在蛋白质翻译水平上抑制靶基因mRNA的表达, 抑或影响靶基因mRNA的稳定性, 后者为绝大多数哺乳动物中的miRNAs发挥调控作用途径[8,9]. 此外, Wu等[10]发现除了以上两种经典的调控方式外, miRNAs还能够促使靶mRNA多聚腺苷酸尾巴去除, 从而使其被3'核酸外切酶水解, 此项研究提示miRNAs与靶mRNA不完全互补后导致靶mRNA快速脱腺苷化进而被降解也是miRNAs调控基因表达的一种方式. 一个miRNA可调控多个靶基因, 而每个基因也可受多个miRNAs调控[11].

2 miRNAs与胰腺癌的诊断

确诊胰腺癌, 传统的方法是组织病理切片或超声引导下的细针穿刺活检. 血清胰腺及胃肠癌

抗原CA19.9是美国食品药品监督管理局(Food and Drug Aministration, FDA)认可的唯一诊断胰腺癌的肿瘤标志物[12], 但是其敏感性和特异性不高. 尽管目前对胰腺癌早期诊断的生物标志物进行了广泛的研究, 但仍没有创新性的发现. 由于miRNAs高度稳定性和组织特异性, 近年来越来越多关于胰腺癌组织、外周血及体液中miRNAs表达差异的研究, 其中有部分研究[13-15]已经发现某些miRNAs可能与胰腺癌的发生、进展, 化疗敏感性及淋巴结转移等密切相关, 这部分miRNAs可作为胰腺癌诊断与以后判断的标志物. Liu等[16]对197例胰腺癌患者与158例非癌对照组患者的血清miRNAs分析, 试图找出血清中能作为胰腺癌诊断和评判预后生物指标的miRNAs, 结果发现胰腺癌患者血清中有7种miRNAs水平存在显著变化(分别是miR-20a、miR-21、miR-24、miR-25、miR-99a、miR-185和miR-191), 同时, 对55例临床胰腺癌疑似病例进行诊断测试, 提出了血清7种miRNAs生物指标, 随访后得知准确率高达83.6%, 高于CA19.9的56.4%和癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)的36.4%, 认为这7种miRNAs可能成为胰腺癌早期诊断和术后的一个重要微创伤检测指标. Szafranska等[17]研究发现, miR-196a、miR-196b、miR-203、miR-210、miR-222、miR-216、miR-217、miR-375仅在胰腺癌中表达异常. Zhang等[18]在10个胰腺癌细胞株和17例胰腺癌组织中监测与肿瘤发生、发展相关的95个miRNAs的表达水平, 并将之与正常人类胰腺导管上皮细胞或对应癌旁组织进行比较, 研究结果发现8个miRNAs(miR-196a、miR-190、miR-186、miR-221、miR-222、miR-200b、miR-15b、miR-95)在大多数胰腺癌细胞株和组织中表达上调, 上调倍数达3-2018倍, 故认为胰腺癌细胞株/组织有独特的miRNAs表达谱. 鉴于miRNAs与胰腺癌存在密切关系, 故可以利用miRNAs作为胰腺癌的诊断指标.

2.1 miRNAs在胰腺癌早期诊断中价值 胰腺上皮内瘤变(pancreatic intraepithelial neoplasm lesions, PanINs)是指胰腺小导管内出现的微灶性、乳头状或扁平状、非浸润性生长过程, 细胞由立方状向柱状演变, 伴有不同程度的黏蛋白产生和细胞或组织结构的异型性变化, 属于胰腺癌的一种癌前病变. Habbe等[19]研究发现, 在15例PanINs的样本中, 有12种miRNAs表达异常, 并且miR-21和miR-155在正常组织和胰腺早期上皮内瘤变中表达存在显著差异. Ryu等[20]通过实时定量PCR及原位杂交的方法也证实miR-21和miR-155在PanINs组织及正常胰腺组织中表达存在明显差异. 这些研究结果均暗示miR-21和miR-155可考虑作为胰腺癌早期诊断的候选标志物, 但需要进一步的临床研究来证实. 此外, Szafranska等[21]研究发现, miR-196a在正常胰腺组织来源的细胞及胰腺组织中阴性表达, 而在PanINs组织、胰腺癌组织中不同程度的表达, 提示miR-196a与胰腺癌的发生密切有关, 也可以帮助早期诊断胰腺癌.

胰腺导管内乳头状黏液瘤(intraductal papillary mucinous neoplasm, IPMN)是一种由胰腺导管上皮细胞呈乳头状增殖形成的肿瘤, 被认为具有潜在恶性, Habbe等[19]同时也对IPMN组织及胰液中的miR-21和miR-155等的表达进行检测, 结果发现miR-21和miR-155在绝大部分IPMN组织病例中表达是升高的, 分别为83%和81%, 而miR-21和miR-155在IPMN病例胰液其表达量也是明显上调的. 上述的研究结果提示, miRNAs的异常表达可以早于胰腺癌的发生, 我们可以利用这类miRNAs的表达特点对胰腺癌进行早期筛查及诊断.

2.2 miRNAs在人体血液或排泄物中诊断价值 Weber等[22]经过研究发现在12种不同的人体体液中均有miRNAs的表达. 而多项研究发现肿瘤患者的血浆中有异常表达的miRNAs, 更有学者预测每一种血浆miRNAs的表达谱可能对应一种疾病, 包括肿瘤. 杨洪涛等[23]收集了37例胰腺癌患者血浆标本及临床资料, 以10例正常人血浆标本作为对照, 实时定量PCR方法检测miR-190、miR-196a、miR-221、miR-222在胰腺癌患者及正常人中的表达量, 并分析其与胰腺癌临床病理特征的关系, 结果发现胰腺癌患者血清miR-196a、miR-190、miR-221、miR-22的相对表达量均显著高于正常人, 其中miR-196a的高表达和胰腺癌临床分期呈正相关, 研究结果提示不仅可以通过血浆中miRNAs检测辅助诊断胰腺癌, 而且某些miRNAs的表达量还可以辅助确定癌症的分期. 潘峰等[24]通过对24例胰腺癌患者与对照组血浆miRNAs进行检测, 结果就发现miR-451和miR-409-3p的表达水平在胰腺癌组和对照组中有显

相关报道

近年来的研究发现胰腺癌干细胞在胰腺癌患者的治疗抵抗和术后复发等方面发挥重要作用, miRNAs与胰腺癌干细胞密切相关, 有报道认为miRNA通过调控"干性"相关基因和信号通路参与肿瘤干细胞的"干性"维持, 被称为干细胞miRNAs. 这些干细胞miRNAs可能在胰腺癌的术后复发以及治疗抵抗中发挥重要作用.

创新盘点
本文重点评述miRNAs在胰腺癌诊断与治疗中的价值, 为miRNAs在胰腺癌的转化医学提供初步探讨.

著的差别, 说明miR-451和miR-409-3p的表达水平可有效区分胰腺癌患者和健康个体.

由于胰腺癌源于胰腺上皮组织, 上皮组织更新极快, 这些更新的脱落细胞随胰液经过粪便排出体外, 因此检测这些脱落细胞的基因变化将有助于获得胰腺组织细胞基因变化的信息, 从而帮助临床诊断. Ren等[25]收集29例胰腺癌患者, 22例慢性胰腺炎患者以及13例正常对照的粪便标本miRNAs, 结果发现胰腺癌与正常对照相比, miR-181b和miR-210的表达显著升高, miR-181b与miR-210也许可能成为胰腺癌早期诊断的相关指标.

2.3 miRNAs在胰腺癌病理学诊断中的价值

miRNAs的表达有很强的组织特异性的, 故miRNAs的检测还可用于胰腺癌组织病理学的诊断. Habbe等[19]研究报道miR-155可作为胰腺乳突状癌的一个生物标志. Ryu等[26]研究发现miR-21的异常表达水平可以区别黏液癌性病变和非黏液癌性病变. 另外Roldo等[27]在比较了正常胰腺、胰腺内分泌肿瘤和胰腺腺泡癌的miRNAs表达后发现miR-103、miR-107的表达与miR-155的表达缺失可以将胰腺癌和对应癌旁组织区分, 而另外10个miRNAs(miR-99a、99b、100、125a、125b-1、125b-2、129-2、130a、132、342)的一个系列表达可以将胰腺内分泌肿瘤和胰腺腺泡癌区分开来. Volinia等[28]应用miRNAs芯片技术监测了胰腺、肺、乳腺、胃、前列腺和结肠6种肿瘤的363个组织标本和相应177个正常组织标本的228种miRNAs的表达情况, 结果发现在90%标本中有137种miRNAs的表达谱可以很好的区别肿瘤组织来源, 并且将miRNAs平均绝对表达值进行簇分析, 发现不管疾病状态的好坏, 这些miRNAs的表达谱都可以很好的区分不同的组织来源.

2.4 miRNAs在胰腺癌临床鉴别诊断中的价值

慢性胰腺炎与胰腺癌的鉴别诊断也常常是临床诊断的中的难点, 目前除了术后标本行组织学检查外仍缺乏理想的鉴别手段. Szafranska等[21]利用超声内镜引导下细针穿刺活检检测有潜力的miRNAs, 结果发现胰腺癌组织中miR-196a和miR-217共同表达率显著高于健康对照组和慢性胰腺炎组, 两者联合, 诊断胰腺癌的敏感性为90%, 特异性为100%. Kong等[29]收集了35例胰腺导管腺癌患者、15名慢性胰腺炎患者及15名健康志愿者的血清, 实时定量PCR检测发现miR-21、miR-155和miR-196a可以鉴别胰腺癌与慢性胰腺炎及正常成人. Hanoun等[30]发现miR-148a在胰腺癌中低表达, 进一步检测发现局部编码miR-148a的DNA发生超甲基化灭活而抑制miR-148a的表达, 这种现象不仅发生在胰腺癌, 也发生在PanIN中, 但在慢性胰腺炎中无此现象, 故低表达的miR-148a可以帮助鉴别胰腺癌和慢性胰腺炎. 可见, 临床上有望通过外周血或超声引导下穿刺病变部位对上述miRANs差异表达进行检测, 判断疾病性质, 明确诊断.

总之, miRNAs作为肿瘤诊断的分子标志物具有以下优势: (1)miRNAs是一种肿瘤相关基因, 具有组织和肿瘤的特异性; (2)某些miRNAs的异常表达可以早于肿瘤的发生; (3)某些miRNAs与患者对治疗的敏感性及预后相关; (4)miRNAs可作为微创检测的分子标志物, 对患者的损伤较小, 且重复性高.

3 miRNAs在胰腺癌治疗中的价值

手术治疗仍然是目前胰腺癌治疗的主要方法, 手术效果主要取决于诊断的时机和切除的彻底性. 放、化疗作为辅助治疗方法, 其临床疗效尚难令人满意. 随着生命科学与技术的飞速发展, 特别是近年来分子生物学相关理论及技术的快速发展, 使人类对疾病的认识不断深入, 很多研究已经进入了分子水平, 越来越多的证据表明肿瘤的发生发展与相关基因的结构或功能改变有关, 因此人们便萌生了在基因水平治疗肿瘤的想法, 基因治疗为肿瘤治疗开辟了一个新领域. 基因治疗主要是运用基因工程技术来修复缺陷基因, 或通过改善机体的免疫, 增强宿主的肿瘤杀伤能力治疗肿瘤.

近年来通过miRNAs表达谱芯片分析, 发现一些miRNAs在肿瘤组织中差异表达[31-34]. 一般认为, 在肿瘤组织中表达上调的miRNAs, 起到的作用类似于原癌基因, 而在肿瘤组织中表达下调的miRNAs, 起到的作用类似于抑癌基因, 他们通调控靶基因的表达参与肿瘤的发生与发展, 而靶向针对miRNAs是一种新的基因治疗方法, 针对表达上调的miRNAs, 那么就可以尝试采取基因干预技术来使这些充当癌基因作用的miRNAs在人体内含量下降, 常用的方法包括采用反义核酸、核酶或者干

扰RNA技术等抑制基因的表达; 针对在胰腺癌组织中低表达的miRNAs, 就可以通过构建miRNAs表达载体或miRNAs的纳米运载系统靶向运载到胰腺癌组织内, 对胰腺癌细胞发挥高效的抑癌作用[35-38].

此外, 更进一步的研究表明一些miRNAs与胰腺癌的化疗耐药相关. 例如: miR-21通过下调Bcl-2的表达增加胰腺癌的耐药性[39,40], miR-21与少量的sunitinib结合会导致一个强大和协同抗肿瘤效应[41]; miR-200b和miR-200c通过增加E-钙黏蛋白, 降低波形蛋白和ZEB1的表达增加胰腺癌细胞的吉西他滨化疗敏感性[42]. 低表达miR-33a诱导胰腺癌细胞对吉西他滨的耐药[43]. 进一步的研究[44]还表明许多microRNAs与胰腺癌的侵袭转移相关. 例如: miR-29c抑制胰腺癌细胞的侵袭转移和干细胞样特性. 这些研究结果说明针对miRNAs在胰腺癌治疗策略方面, 既可以采取增加胰腺癌细胞的化疗敏感性, 也可以抑制胰腺癌细胞的侵袭转移能力.

近年来, 随着表观遗传学的研究不断深入, 人们越来越多的发现其与miRNAs之间存在紧密的联系. Saito等[45]首先报道了表观遗传学的改变可以影响miRNAs的表达. 他们经过相关研究后发现DNA的去甲基化和组蛋白的脱乙酰基酶抑制可激活一些作为抑癌基因的miRNAs. 表观遗传的改变能够调控miRNAs的表达无疑给肿瘤的治疗带来了新的希望, 目前也有5-AzaC和5-Aza-CdR以及HDACi治疗疾病的报道[46,47], 且两者合用还有协同增效作用. 通过改变表观遗传而使失活的具有肿瘤抑制功能的miRNAs活化, 可能成为以后肿瘤研究的重要方向.

4 结论

胰腺癌近年来其发病率呈现逐年升高的趋势, 故胰腺癌的诊断及治疗方法的研究一直都受到各方的关注. 由于其发生发展是涉及多种基因、多步骤的复杂过程, 因此也给他的早期诊断和治疗带来的极大的困难. 随着各种医学科学理论和技术特别是分子生物学理论和技术的发展, 胰腺癌相关研究尤其是他的基因的研究不断取得进展. miRNAs与胰腺癌之间存在紧密关系已经毋庸置疑, 在胰腺癌的诊断与治疗中价值日益凸显, 越来越多的研究[48-50]表明, 大量的miRNAs参与胰腺癌细胞分化、增殖、侵袭转移、凋亡和放、化疗敏感性, 更进一步研究已经显示, 很多miRNAs在胰腺癌患者、具有潜在患癌风险的人群以及正常健康人群中存在差异表达, 可以作为早期诊断和判断其预后的生物标志物, 也可作为新的胰腺癌生物靶向治疗的靶点. 但遗憾的是目前就miRNAs在胰腺癌诊断与治疗中具体miRNAs差异表达谱仍缺乏大量的临床数据和系统、多中心的研究来支撑和证实, 如何将miRNAs从基础研究过渡到临床的研究, 再应用于临床胰腺癌的诊断与治疗还有一个漫长过程, 但相信不久的将来, miRNAs将广泛地应用到胰腺癌的预防、诊断和治疗中, 给胰腺癌的诊断与治疗带来新的希望.

■应用要点

本文系统的总结了评述miRNAs在胰腺癌诊断与治疗中的作用, 部分miRNAs可能应用于胰腺癌的诊断标志物, 部分miRNAs作为临床前的生物治疗靶点, 针对相关miRNAs, 设计疫苗可能在将来应用中大有前景.

5 参考文献

1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 5-29 [PMID: 25559415 DOI: 10.3322/caac.21254]

2 Sultana A, Tudur Smith C, Cunningham D, Starling N, Neoptolemos JP, Ghaneh P. Meta-analyses of chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic cancer: results of secondary end points analyses. *Br J Cancer* 2008; 99: 6-13 [PMID: 18577990 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604436]

3 Matsuno S, Egawa S, Fukuyama S, Motoi F, Sunamura M, Isaji S, Imaizumi T, Okada S, Kato H, Suda K, Nakao A, Hiraoka T, Hosotani R, Takeda K. Pancreatic Cancer Registry in Japan: 20 years of experience. *Pancreas* 2004; 28: 219-230 [PMID: 15084961]

4 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2013. *CA Cancer J Clin* 2013; 63: 11-30 [PMID: 23335087 DOI: 10.3322/caac.21166]

5 Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, Nuovo GJ, Lerner MR, Frankel WL, Morgan DL, Postier RG, Brackett DJ, Schmittgen TD. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1046-1054 [PMID: 17149698 DOI: 10.1002/ijc.22394]

6 Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621]

7 Pasquinelli AE, Reinhart BJ, Slack F, Martindale MQ, Kuroda MI, Maller B, Hayward DC, Ball EE, Degnan B, Müller P, Spring J, Srinivasan A, Fishman M, Finnerty J, Corbo J, Levine M, Leahy P, Davidson E, Ruvkun G. Conservation of the sequence and temporal expression of let-7 heterochronic regulatory RNA. *Nature* 2000; 408: 86-89 [PMID: 11081512 DOI: 10.1038/35040556]

8 Alvarez-Garcia I, Miska EA. MicroRNA functions in animal development and human disease. *Development* 2005; 132: 4653-4662 [PMID: 16224045 DOI: 10.1242/dev.02073]

名词解释

miRNAs: 是在真核生物中发现的一类内源性的具有调控功能的非编码RNA, 其大小长约20-25个核苷酸. 成熟的miRNAs是由较长的初级转录物经过一系列核酸酶的剪切加工而产生的, 随后组装进RNA诱导的沉默复合体, 通过碱基互补配对的方式识别靶mRNA, 并根据互补程度的不同指导沉默复合体降解靶mRNA或者阻遏靶mRNA的翻译.

9 Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438]

10 Wu L, Fan J, Belasco JG. MicroRNAs direct rapid deadenylation of mRNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 4034-4039 [PMID: 16495412 DOI: 10.1073/pnas.0510928103]

11 Miranda KC, Huynh T, Tay Y, Ang YS, Tam WL, Thomson AM, Lim B, Rigoutsos I. A pattern-based method for the identification of MicroRNA binding sites and their corresponding heteroduplexes. *Cell* 2006; 126: 1203-1217 [PMID: 16990141 DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.031]

12 Rachagani S, Macha MA, Heimann N, Seshacharyulu P, Haridas D, Chugh S, Batra SK. Clinical implications of miRNAs in the pathogenesis, diagnosis and therapy of pancreatic cancer. *Adv Drug Deliv Rev* 2015; 81: 16-33 [PMID: 25453266 DOI: 10.1016/j.addr.2014.10.020]

13 Yu J, Li A, Hong SM, Hruban RH, Goggins M. MicroRNA alterations of pancreatic intraepithelial neoplasias. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 981-992 [PMID: 22114139 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2347]

14 Ma J, Fang B, Zeng F, Ma C, Pang H, Cheng L, Shi Y, Wang H, Yin B, Xia J, Wang Z. Down-regulation of miR-223 reverses epithelial-mesenchymal transition in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Oncotarget* 2015; 6: 1740-1749 [PMID: 25638153]

15 Zhao C, Zhang J, Zhang S, Yu D, Chen Y, Liu Q, Shi M, Ni C, Zhu M. Diagnostic and biological significance of microRNA-192 in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncol Rep* 2013; 30: 276-284 [PMID: 23612862 DOI: 10.3892/or.2013.2420]

16 Liu R, Chen X, Du Y, Yao W, Shen L, Wang C, Hu Z, Zhuang R, Ning G, Zhang C, Yuan Y, Li Z, Zen K, Ba Y, Zhang CY. Serum microRNA expression profile as a biomarker in the diagnosis and prognosis of pancreatic cancer. *Clin Chem* 2012; 58: 610-618 [PMID: 22194634 DOI: 10.1373/clinchem.2011.172767]

17 Szafranska AE, Davison TS, John J, Cannon T, Sipos B, Maghnouj A, Labourier E, Hahn SA. MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene* 2007; 26: 4442-4452 [PMID: 17237814 DOI: 10.1038/sj.onc.1210228]

18 Zhang Y, Li M, Wang H, Fisher WE, Lin PH, Yao Q, Chen C. Profiling of 95 microRNAs in pancreatic cancer cell lines and surgical specimens by real-time PCR analysis. *World J Surg* 2009; 33: 698-709 [PMID: 19030927 DOI: 10.1007/s00268-008-9833-0]

19 Habbe N, Koorstra JB, Mendell JT, Offerhaus GJ, Ryu JK, Feldmann G, Mullendore ME, Goggins MG, Hong SM, Maitra A. MicroRNA miR-155 is a biomarker of early pancreatic neoplasia. *Cancer Biol Ther* 2009; 8: 340-346 [PMID: 19106647]

20 Ryu JK, Hong SM, Karikari CA, Hruban RH, Goggins MG, Maitra A. Aberrant MicroRNA-155 expression is an early event in the multistep progression of pancreatic adenocarcinoma. *Pancreatology* 2010; 10: 66-73 [PMID: 20332664 DOI: 10.1159/000231984]

21 Szafranska AE, Doleshal M, Edmunds HS, Gordon S, Luttges J, Munding JB, Barth RJ, Gutmann EJ, Suriawinata AA, Marc Pipas J, Tannapfel A, Korc M, Hahn SA, Labourier E, Tsongalis GJ. Analysis of microRNAs in pancreatic fine-needle aspirates can classify benign and malignant tissues. *Clin Chem* 2008; 54: 1716-1724 [PMID: 18719196 DOI: 10.1373/clinchem.2008.109603]

22 Weber JA, Baxter DH, Zhang S, Huang DY, Huang KH, Lee MJ, Galas DJ, Wang K. The microRNA spectrum in 12 body fluids. *Clin Chem* 2010; 56: 1733-1741 [PMID: 20847327 DOI: 10.1373/clinchem.2010.147405]

23 杨洪涛, 周细武, 于茜, 熊秋生, 陆才德. 微RNA在胰腺癌患者血浆中的表达及临床意义. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 813-815

24 潘峰, 闻洋, 马士杰, 曹维克, 董静, 赵杨, 胡志斌, 施瑞华. 血浆miRNA表达谱与胰腺癌相关性的研究. 南京医科大学学报(自然科学版) 2012; 32: 1541-1544

25 Ren Y, Gao J, Liu JQ, Wang XW, Gu JJ, Huang HJ, Gong YF, Li ZS. Differential signature of fecal microRNAs in patients with pancreatic cancer. *Mol Med Rep* 2012; 6: 201-209 [PMID: 22504911 DOI: 10.3892/mmr.2012.862]

26 Ryu JK, Matthaei H, Dal Molin M, Hong SM, Canto MI, Schulick RD, Wolfgang C, Goggins MG, Hruban RH, Cope L, Maitra A. Elevated microRNA miR-21 levels in pancreatic cyst fluid are predictive of mucinous precursor lesions of ductal adenocarcinoma. *Pancreatology* 2011; 11: 343-350 [PMID: 21757972 DOI: 10.1159/000329183]

27 Roldo C, Missiaglia E, Hagan JP, Falconi M, Capelli P, Bersani S, Calin GA, Volinia S, Liu CG, Scarpa A, Croce CM. MicroRNA expression abnormalities in pancreatic endocrine and acinar tumors are associated with distinctive pathologic features and clinical behavior. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4677-4684 [PMID: 16966691 DOI: 10.1200/JCO.2005.05.5194]

28 Volinia S, Calin GA, Liu CG, Ambs S, Cimmino A, Petrocca F, Visone R, Iorio M, Roldo C, Ferracin M, Prueitt RL, Yanaihara N, Lanza G, Scarpa A, Vecchione A, Negrini M, Harris CC, Croce CM. A microRNA expression signature of human solid tumors defines cancer gene targets. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 2257-2261 [PMID: 16461460 DOI: 10.1073/pnas.0510565103]

29 Kong X, Du Y, Wang G, Gao J, Gong Y, Li L, Zhang Z, Zhu J, Jing Q, Qin Y, Li Z. Detection of differentially expressed microRNAs in serum of pancreatic ductal adenocarcinoma patients: miR-196a could be a potential marker for poor prognosis. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 602-609 [PMID: 20614181 DOI: 10.1007/s10620-010-1285-3]

30 Hanoun N, Delpu Y, Suriawinata AA, Bournet B, Bureau C, Selves J, Tsongalis GJ, Dufresne M, Buscail L, Cordelier P, Torrisani J. The silencing of microRNA 148a production by DNA hypermethylation is an early event in pancreatic carcinogenesis. *Clin Chem* 2010; 56: 1107-1118 [PMID: 20431052 DOI: 10.1373/clinchem.2010.144709]

31 Hou B, Jian Z, Chen S, Ou Y, Li S, Ou J. [Expression of miR-216a in pancreatic cancer and its clinical significance]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2012; 32: 1628-1631 [PMID: 23174591]
32 Bader AG, Brown D, Stoudemire J, Lammers P. Developing therapeutic microRNAs for cancer. *Gene Ther* 2011; 18: 1121-1126 [PMID: 21633392 DOI: 10.1038/gt.2011.79]
33 Nair VS, Maeda LS, Ioannidis JP. Clinical outcome prediction by microRNAs in human cancer: a systematic review. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 528-540 [PMID: 22395642 DOI: 10.1093/jnci/djs027]
34 Radhakrishnan P, Mohr AM, Grandgenett PM, Steele MM, Batra SK, Hollingsworth MA. MicroRNA-200c modulates the expression of MUC4 and MUC16 by directly targeting their coding sequences in human pancreatic cancer. *PLoS One* 2013; 8: e73356 [PMID: 24204560 DOI: 10.1371/journal.pone.0073356]
35 Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, Volinia S, Alder H, Hagan JP, Liu CG, Bhatt D, Taccioli C, Croce CM. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *JAMA* 2007; 297: 1901-1908 [PMID: 17473300 DOI: 10.1001/jama.297.17.1901]
36 Xiao J, Peng F, Yu C, Wang M, Li X, Li Z, Jiang J, Sun C. microRNA-137 modulates pancreatic cancer cells tumor growth, invasion and sensitivity to chemotherapy. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 7442-7450 [PMID: 25550779]
37 Jiang J, Li Z, Yu C, Chen M, Tian S, Sun C. MiR-1181 inhibits stem cell-like phenotypes and suppresses SOX2 and STAT3 in human pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2015; 356: 962-970 [PMID: 25444909 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.11.007]
38 Li Z, Li X, Yu C, Wang M, Peng F, Xiao J, Tian R, Jiang J, Sun C. MicroRNA-100 regulates pancreatic cancer cells growth and sensitivity to chemotherapy through targeting FGFR3. *Tumour Biol* 2014; 35: 11751-11759 [PMID: 25344675 DOI: 10.1007/s13277-014-2271-8]
39 Dong J, Zhao YP, Zhou L, Zhang TP, Chen G. Bcl-2 upregulation induced by miR-21 via a direct interaction is associated with apoptosis and chemoresistance in MIA PaCa-2 pancreatic cancer cells. *Arch Med Res* 2011; 42: 8-14 [PMID: 21376256 DOI: 10.1016/j.arcmed.2011.01.006]
40 Hwang JH, Voortman J, Giovannetti E, Steinberg SM, Leon LG, Kim YT, Funel N, Park JK, Kim MA, Kang GH, Kim SW, Del Chiaro M, Peters GJ, Giaccone G. Identification of microRNA-21 as a biomarker for chemoresistance and clinical outcome following adjuvant therapy in resectable pancreatic cancer. *PLoS One* 2010; 5: e10630 [PMID: 20498843 DOI: 10.1371/journal.pone.0010630]
41 Passadouro M, Pedroso de Lima MC, Faneca H. MicroRNA modulation combined with sunitinib as a novel therapeutic strategy for pancreatic cancer. *Int J Nanomedicine* 2014; 9: 3203-3217 [PMID: 25061297 DOI: 10.2147/IJN.S64456]
42 Li Y, VandenBoom TG, Kong D, Wang Z, Ali S, Philip PA, Sarkar FH. Up-regulation of miR-200 and let-7 by natural agents leads to the reversal of epithelial-to-mesenchymal transition in gemcitabine-resistant pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2009; 69: 6704-6712 [PMID: 19654291 DOI: 10.1158/0008-5472]
43 梁晨, 王臻, 李影奕. 低表达miR-33a诱导胰腺癌细胞对吉西他滨的耐药. 中国癌症杂志 2015; 25: 87-94
44 Jiang J, Yu C, Chen M, Zhang H, Tian S, Sun C. Reduction of miR-29c enhances pancreatic cancer cell migration and stem cell-like phenotype. *Oncotarget* 2015; 6: 2767-2778 [PMID: 25605017]
45 Saito Y, Liang G, Egger G, Friedman JM, Chuang JC, Coetzee GA, Jones PA. Specific activation of microRNA-127 with downregulation of the proto-oncogene BCL6 by chromatin-modifying drugs in human cancer cells. *Cancer Cell* 2006; 9: 435-443 [PMID: 16766263 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.04.020]
46 Mack GS. Epigenetic cancer therapy makes headway. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 1443-1444 [PMID: 17047192 DOI: 10.1093/jnci/djj447]
47 Shaker S, Bernstein M, Momparler LF, Momparler RL. Preclinical evaluation of antineoplastic activity of inhibitors of DNA methylation (5-aza-2'-deoxycytidine) and histone deacetylation (trichostatin A, depsipeptide) in combination against myeloid leukemic cells. *Leuk Res* 2003; 27: 437-444 [PMID: 12620295]
48 Yu S, Lu Z, Liu C, Meng Y, Ma Y, Zhao W, Liu J, Yu J, Chen J. miRNA-96 suppresses KRAS and functions as a tumor suppressor gene in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2010; 70: 6015-6025 [PMID: 20610624 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4531]
49 Greither T, Grochola LF, Udelnow A, Lautenschläger C, Würl P, Taubert H. Elevated expression of microRNAs 155, 203, 210 and 222 in pancreatic tumors is associated with poorer survival. *Int J Cancer* 2010; 126: 73-80 [PMID: 19551852 DOI: 10.1002/ijc.24687]
50 Du J, Wang J, Tan G, Cai Z, Zhang L, Tang B, Wang Z. Aberrant elevated microRNA-146a in dendritic cells (DC) induced by human pancreatic cancer cell line BxPC-3-conditioned medium inhibits DC maturation and activation. *Med Oncol* 2012; 29: 2814-2823 [PMID: 22311263 DOI: 10.1007/s12032-012-0175-2]

同行评价

本文对miRNAs在胰腺癌诊断与治疗中的价值进行评述，认为miRNAs作为一类新的诊断分子标志物在胰腺癌诊断中具有重要作用，针对相关miRNAs，设计疫苗是未来包括胰腺癌等肿瘤的治疗策略之一，文章具有一定的临床科研指导意义.

编辑: 郭鹏　电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3670

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3670-3682
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

基础研究 BASIC RESEARCH

CX3CR1对骨髓间充质干细胞修复受损肠上皮细胞的影响

曹 毅, 刘 涛, 尹明丽, 张博雅, 宋红丽

背景资料
研究显示骨髓间充质干细胞(bone marrow-mesenchymal stem cells, BM-MSCs)具有促进小肠缺血再灌注损伤的修复和增生作用, 但单纯输注BM-MSCs存在到达受损部位数量及活性偏低等问题. 为提高受损组织内定向迁移BM-MSCs的数量、增强其对受损组织的保护作用, 本研究目的是探讨趋化因子CX3C亚族是否在BM-MSCs修复受损组织中发挥作用.

同行评议者
王阁, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

曹毅, 尹明丽, 张博雅, 天津医科大学一中心临床学院 天津市 300070
刘涛, 宋红丽, 天津市第一中心医院器官移植科 天津市器官移植重点实验室 天津市 300192
曹毅, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
国家自然基金面上基金资助项目, Nos. 81270528, 81441022
天津市应用基础及前沿技术研究计划(重点)基金资助项目, Nos. 11JCZDJC27800, 12JCZDJC25200
天津市卫生局科技基金(攻关)资助项目, No. 2011KY11
作者贡献分布: 此课题由宋红丽设计; 实验由曹毅完成, 刘涛、尹明丽及张博雅协助完成; 统计分析由曹毅完成; 论文撰写由曹毅完成; 论文审校由宋红丽完成.
通讯作者: 宋红丽, 教授, 主任医师, 300192, 天津市南开区复康路24号, 天津市第一中心医院器官移植科, 天津市器官移植重点实验室. hlsong26@163.com
电话: 022-23626928
收稿日期: 2015-05-04 修回日期: 2015-07-02
接受日期: 2015-07-13 在线出版日期: 2015-08-18

Role of CX3CR1 in repair of injured intestinal epithelial cells by bone marrow mesenchymal stem cells

Yi Cao, Tao Liu, Ming-Li Yin, Bo-Ya Zhang, Hong-Li Song

Yi Cao, Ming-Li Yin, Bo-Ya Zhang, the First Central Clinical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Tao Liu, Hong-Li Song, Department of Organ Transplantation, Tianjin the First Central Hospital; Tianjin Key Laboratory of Organ Transplantation, Tianjin 300192, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81270528, 81441022; Tianjin Application and Advanced Technology Research Program, Nos. 11JCZDJC27800, 12JCZDJC25200; Science and Technology Foundation of Tianjin Municipal Health Bureau, No. 2011KY11
Correspondence to: Hong-Li Song, Professor, Chief Physician, Department of Organ Transplantation, Tianjin the First Central Hospital; Tianjin Key Laboratory of Organ Transplantation, 24 Fukang Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. hlsong26@163.com
Received: 2015-05-04 Revised: 2015-07-02
Accepted: 2015-07-13 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To investigate the role of chemokine receptor CX3CR1 in the repair of injured intestinal epithelial cells by bone marrow mesenchymal stem cells (BM-MSCs).

METHODS: BM-MSCs were cultured and identified *in vitro*. Caco-2 cells were exposed to tumor necrosis factor alpha (TNF-α) to establish a cell model of injured intestinal epithelium. Cells were divided into six groups: BM-MSCs, Caco-2 cells, Caco-2 cells treated with TNF-α, co-cultured BM-MSCs and Caco-2 cells, co-cultured BM-MSCs and Caco-2 cells treated with TNF-α, and co-cultured BM-MSCs and Caco-2 cells treated with anti-CX3CR1 and TNF-α. The expression of tight junction proteins and mRNAs in Caco-2 cells, and CX3CR1 protein and mRNA in BM-MSCs was detected by immunofluorescence, Western blot and RT-PCR.

RESULTS: We selected 100 ng/mL TNF-α for 48 h to establish the injured model, because the expression of zonula occluden 1(ZO-1) and Occludin was reduced significantly at this time point ($P < 0.05$). The protein and mRNA levels of ZO-1, Occludin and CX3CR1 had no significant changes when BM-MSCs were co-cultured with untreated Caco-2 cells, but increased when BM-MSCs were co-cultured with injured Caco-2

cells ($P < 0.05$). When CX3CR1 was blocked, the protein and mRNA levels of ZO-1 and Occludin decreased significantly.

CONCLUSION: CX3CR1 participates in the repair of injured intestinal epithelial cells by BM-MSCs.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Bone marrow mesenchymal stem cells; CX3CR1; Caco-2; Tight junction protein; Chemokine receptor

Cao Y, Liu T, Yin ML, Zhang BY, Song HL. Role of CX3CR1 in repair of injured intestinal epithelial cells by bone marrow mesenchymal stem cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3670-3682 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3670.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3670

摘要

目的: 探讨趋化因子受体CX3CR1对骨髓间充质干细胞(bone marrow-mesenchymal stem cells, BM-MSCs)修复受损肠上皮细胞的影响.

方法: 体外分离培养、鉴定BM-MSCs. 采用肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor alpha, TNF-α)处理结肠癌上皮细胞(colon adenocarcinoma epithelial cell line, Caco-2)建立肠上皮损伤模型. 实验分为6组: (1)单纯BM-MSCs组; (2)单纯Caco-2组; (3)Caco-2+TNF-α组; (4)BM-MSCs+Caco-2组; (5)BM-MSCs+Caco-2+TNF-α组; (6)anti-CX3CR1-BM-MSCs+Caco-2+TNF-α组, 利用Transwell培养板将各组共培养, 通过免疫荧光、Western blot及荧光定量RT-PCR方法检测Caco-2上ZO-1(zonula occluden 1)、Occludin和BM-MSCs上CX3CR1蛋白及mRNA表达水平.

结果: 选择100 ng/mL TNF-α处理Caco-2细胞48 h建立损伤模型后, 检测ZO-1和Occludin表达水平明显降低(P<0.05). 在BM-MSCs与未受损的Caco-2共培养时ZO-1、Occludin和CX3CR1蛋白及mRNA的表达不受影响, 而在BM-MSCs与受损Caco-2共培养时, 其表达增加(P<0.05). 阻断CX3CR1后, ZO-1、Occludin蛋白及mRNA的表达与未阻断前相比明显减少(P<0.05).

结论: CX3CR1参与BM-MSCs对受损肠上皮的修复.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 骨髓间充质干细胞; CX3CR1; Caco-2; 紧密连接蛋白; 趋化因子受体

核心提示: 本文应用肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor alpha)处理结肠腺癌Caco-2细胞, 成功建立肠黏膜上皮细胞损伤模型, ZO-1(zonula occluden 1)和Occludin表达水平明显降低, 将BM-MSCs和受损Caco-2共培养, ZO-1、Occludin和CX3CR1蛋白及mRNA的表达水平增加, 阻断CX3CR1后, ZO-1、Occludin蛋白及mRNA的表达与未阻断前相比明显减少, 揭示了CX3CR1能够参与骨髓间充质干细胞对受损肠上皮的修复作用.

曹毅, 刘涛, 尹明丽, 张博雅, 宋红丽. CX3CR1对骨髓间充质干细胞修复受损肠上皮细胞的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3670-3682 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3670.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3670

0 引言

炎症性肠病、肝硬化、严重烧伤、缺血休克等疾病状态都会使肠道结构和功能遭到严重损害, 引发肠黏膜屏障功能障碍, 甚至全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征等严重并发症[1-4]. 而在这些疾病的治疗中, 对于肠道的保护尤为重要. 研究[5,6]表明, 骨髓间充质干细胞(bone marrow-mesenchymal stem cells, BM-MSCs)对受损肠上皮组织有修复、支持作用. 但其定向分化修复作用主要是在其到达受损位点的前提下发挥的. 由于受损部位释放细胞信号, 如趋化因子、选择素、整合蛋白和其他黏附分子可与间充质干细胞上的细胞信号受体结合, 促使其到达受损部位发挥治疗作用[7-12]. 其中趋化因子发挥重要作用. 趋化因子被分为C、CC、CXC、CX3C 4个亚家族, 其受体对应为CR、CCR、CXCR、CX3CR. 对于哪种趋化因子及其受体相互作用调控BM-MSCs迁移到受损肠道组织发挥作用目前尚不清楚. 大量研究[13-15]指出, 当肠道组织受到炎性刺激时, CC、CXC亚族趋化因子及其配体会参与其中. 但关于CX3C亚族及其配体是否发挥作用尚无报道. CX3C类目前只发现CX3CRl-CX3CLl存在, 而CX3CRl表达

研发前沿

BM-MSCs具有多向分化、免疫原性弱等优势, 已被广泛应用在组织修复、重建中, 但单纯输注BM-MSCs存在数量和活性偏低问题, 如何提高BM-MSCs修复受损组织的作用仍是目前研究的重点. 因此, 希望寻找特定基因能够增加受损组织内BM-MSCs的定向迁移能力.

相关报道
炎性介质导致肠黏膜间紧密连接处通透性增加的报道很多, 如肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor alpha, TNF-α)能够通过激活核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)通路抑制ZO-1(zonula occluden 1)和Occludin的表达等, BM-MSCs能够对异位肠道移植和肠道缺血灌注时造成的肠黏膜屏障损伤产生修复作用的研究也有报道, 但研究趋化因子在其中的作用较少.

在BM-MSCs表面, 故本实验旨在探讨CX3CRl在BM-MSCs修复受损肠上皮细胞过程中是否发挥作用.

1 材料和方法:

1.1 材料 实验动物选用SPF(Specific Pathogen Free)级健康、♂Wistar大鼠, 体质量60-80 g, 购自军事医学科学院实验动物中心. Caco-2细胞株购自美国模式生物典藏中心(American Type Culture Collection, ATCC). DMEM/F12培养基、L-DMEM/F12培养基、RPMI-1640培养基、胰蛋白酶/EDTA细胞消化液(Gibco, 美国)、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(PAA, 奥地利); DMSO(Sigma-Aldrich, 美国)、抗大鼠CD34-异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)、CD29-PE、CD45-PE、CD90-FITC、RT1A-PE、RT1B-FITC(Biolegend, 美国)、Transwell小室(CORNING, 美国)、FACSCalibur流式细胞仪(BD, 美国)、重组人类肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor alpha, TNF-α)(PeProTech, 美国)、兔抗Occludin抗体、兔抗CX3CR1抗体、兔抗GAPDH抗体、HRP标记山羊抗兔IgG(Abcam, 美国)、兔抗ZO-1(zonula occluden 1)抗体(Invitrogen, 美国)、Western blot相关试剂购自武汉博士德; 山羊血清(索莱宝, 中国), RNAiso Plus RNA等提取相关试剂、PrimeScriPt Ⅱ第一链cDNA合成试剂盒及SYBR Premix Ex Taq Ⅱ荧光定量PCR试剂盒(TaKaRa, 日本), 荧光定量PCR仪(APPlied Biosystems 7300, 美国).

1.2 方法

1.2.1 BM-MSCs体外分离、培养及流式鉴定: Wistar大鼠处死, 取股骨和胫骨、减去骨骺, 用含10%血清的DMEM/F12完全培养液反复冲洗骨髓腔, 制成单细胞悬液, 接种培养瓶中, 37 ℃、50 mL/L CO_2培养. 48 h换液, 去掉未贴壁细胞, 待细胞密度达到80%-90%融合时, 1∶2传代培养. 使用生长状况良好的第三代BM-MSCs进行后续实验.

取生长良好的第三代BM-MSCs, 消化成单细胞悬液, 调整细胞浓度为10^6/mL, 加入荧光标记CD29-PE、CD45-PE、RT1A-PE、CD34-FITC、CD90-FITC、RT1B-FITC, 避光孵育30 min, 洗涤, 流式细胞仪检测这些表面标记的表达.

1.2.2 BM-MSCs向脂肪细胞的诱导分化: 在100 mL含10%血清的L-DMEM/F12培养液中, 加入200 mmol/L吲哚美辛50 μL, 0.5 mol/L 1-甲基-3-异丁基黄嘌呤100 μL, 40 U/mL胰岛素550 μL, 1 mmol/L地塞米松100 μL, 配制成成脂诱导培养液. 将BM-MSCs接种在6孔板中培养. 待细胞生长稳定后, 更换为成脂诱导培养液培养, 每3 d换液. 8-12 d时, 用油红O染液染色, 显微镜下观察细胞浆内橘红脂滴着色.

1.2.3 BM-MSCs向成骨细胞的诱导分化: 在100 mL含10%血清的L-DMEM/F12培养液中, 加入1 mmol/L地塞米松10 μL, 1 mol/L甘油磷酸钠 1 mL, 100 mg/mL维生素C 50 μL混匀, 调整pH值在7.3-7.4, 配制成成骨诱导培养液. 将BM-MSCs接种在6孔板中培养. 待细胞生长稳定后, 更换为成骨诱导培养液培养, 每3 d换液. 14 d左右, 用Von Kossa染色试剂盒染色. 显微镜下观察黑色钙盐颗粒沉积.

1.2.4 肠黏膜上皮损伤模型的建立: 用含10%血清的RPMI-1640完全培养液, 37 ℃、50 mL/L CO_2培养Caco-2细胞. 隔天换液, 待细胞铺满80%以上瓶底时, 按1∶2传为二代细胞. 取状态良好的Caco-2细胞, 按5×10^5/孔接种于六孔板中, 培养24 h左右, 待细胞贴壁均匀、单层融合后, 分别加入终浓度为0、50、100和200 ng/mL的重组人TNF-α培养48 h, 以及使用100 ng/mL的重组人TNF-α分别培养0、12、24和48 h[16,17]. 利用免疫荧光检测紧密连接蛋白ZO-1形态及表达, RT-PCR及Western blot技术检测紧密连接蛋白ZO-1和Occludin的含量来判定肠黏膜上皮细胞的损伤程度. 探讨TNF-α的最佳处理浓度和处理时间. 不同批次细胞重复实验3次以上, 验证肠黏膜上皮损伤模型的建立.

1.2.5 Transwell小室BM-MSCs与Caco-2共培养: 上面实验证实100 ng/mL TNF-α处理48 h为最佳处理条件. 实验分为6组: (1)单纯BM-MSCs组; (2)单纯Caco-2组; (3)Caco-2+TNF-α组(损伤组); (4)BM-MSCs+Caco-2组(共培养组); (5)BM-MSCs+Caco-2+TNF-α组(损伤修复组); (6)anti-CX3CR1-BM-MSCs+Caco-2+TNF-α组(阻断组). 将Caco-2、TNF-α刺激后Caco-2以1×10^6个/孔分别置于六孔Transwell小室下层, BM-MSCs及预先以5 μg/mL anti-CX3CR1抗体室温孵育1 h的anti-CX3CR1-BM-MSCs 4×10^5

创新盘点
本文发现体外BM-MSCs对受损肠黏膜屏障具有修复作用, 其中趋化因子受体CX3CR1参与此作用.

表 1 荧光定量PCR引物序列

引物名称	序列(5'-3')	扩增大小(bp)
ZO-1	F: ACCTACCACCTCGTCGTCTG	128
	R: CACTCTGTCTCCAGGTCCTTC	
Occludin	F: GACAGATTTGATGGAGGAC	265
	R: GGCAATACCAAGCAGTTC	
CX3CR1	F: GTCAACATCCTGGGCTTCG	226
	R: CCCTCTTCATGCCACAACTAG	
Human-*β*-*actin*	F: CGTGACATTAAGGAGAAGCTG	501
	R: CTAGAAGCATTTGCGGTGGAC	
Rat-*β*-*actin*	F: GCGTGACATTAAAGAGAAGCTG	500
	R: AGAAGCATTTGCGGTGCAC	

F: 上游引物, R: 下游引物.

个/孔分别置于Transwell小室上层, 培养24 h收集细胞, 提取蛋白和RNA, 实验方法参照文献[18].

1.2.6 免疫荧光检测紧密连接蛋白ZO-1: 取接种了Caco-2细胞的玻片, PBS漂洗5 min×4次, 37 g/L甲醛固定15 min, PBS漂洗5 min×4次, 山羊血清封闭1 h, ZO-1(1∶50), 4 ℃湿盒过夜, PBS漂洗后加入FITC标记羊抗兔免疫荧光抗体, 37 ℃ 1 h, PBS漂洗, 甘油封片.

1.2.7 荧光定量RT-PCR检测紧密连接ZO-1、Occludin mRNA和趋化因子受体CX3CR1 mRNA的表达: 收集细胞, 按照试剂盒说明书提取总RNA, 逆转录试剂盒反转录得到cDNA. 取1 μL cDNA加入20 μL的实时定量PCR反应体系, 反应条件: 95 ℃预变性30 s; PCR扩增(重复40个循环): 95 ℃ 5 s, 58 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s; ZO-1和Occludin使用Human-β-actin, CX3CR1使用Rat-β-actin作为内参. 结果用$2^{-\triangle Ct}$值比较. 每组实验取不同批次细胞重复3次. PCR引物序列如表1.

1.2.8 Western blot技术检测紧密连接ZO-1、Occludin和趋化因子受体CX3CR1的蛋白含量: 收集共培养细胞, 提取蛋白, BCA法测定蛋白浓度. ZO-1采用8%SDS-PAGE, Occludin、CX3CR1和内参GAPDH采用10%SDS-PAGE电泳分离后湿转至NC膜, 5%脱脂奶粉封闭2 h, 一抗ZO-1(1∶400)、Occludin(1∶1500)、CX3CR1(1∶500)和GAPDH(1∶1000), 4 ℃孵育过夜, TBST洗膜, 二抗(1∶2000)室温孵育2 h, 洗膜, ECL曝光显色, 图像经AlPhaView分析软件进行灰度值测定. 通过计算每组样品的(目的蛋白条带亮度值-背景值)与对应(内参蛋白GAPDH条带亮度值-背景值)的比值, 得到校正后的目的蛋白的相对表达量. 以对照组的目的蛋白相对表达量为1, 比较各组间校正后的目的蛋白相对表达量的关系. 每组实验取不同批次细胞重复3次.

统计学处理 采用SPSS21.0统计软件分析, 数据以mean±SD的形式表示, 多组比较采用单因素方差分析, 而各组间的进一步两两比较采用*t*检验. $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 BM-MSCs的提取、培养及流式鉴定 提取的原代BM-MSCs细胞12 h后开始逐步贴壁, 随着换液和传代, 造血细胞等杂质细胞越来越少, 15 d左右传至第三代, 以均匀长梭形生长, 呈漩涡状或平行排列, 具有典型的MSCs形态特征(图1A, B).

流式结果表明: 95.5%的细胞表达CD90而不表达CD45, 99.4%的细胞表达CD29而不表达CD34, 95.0%的细胞表达RT1A而不表达RT1B, 这说明我们提取的原代细胞培养至三代获得纯的BM-MSCs(图2).

2.2 BM-MSCs向脂肪细胞和成骨细胞的诱导分化 作为一种多能干细胞, BM-MSCs具有向多种组织细胞分化的能力, 我们分离得到的BM-MSCs在成脂或成骨诱导培养液中能分化为脂肪细胞或成骨细胞, 脂肪细胞油红O染液染色, 显微镜下观察到细胞浆内出现橘红脂滴(图1C); 成骨细胞Von Kossa染色试剂盒染色, 显微镜下观察到黑色钙盐颗粒沉积(图1D).

应用要点

目前研究表明BM-MSCs虽然对损伤组织有修复作用, 但大多为其旁分泌发挥作用, 而其组织分化定向修复作用由于其只有少数到达受损部位而难以发挥, 本研究通过揭示趋化因子受体提高BM-MSCs对受损组织的保护作用, 为其应用临床治疗提供实验依据.

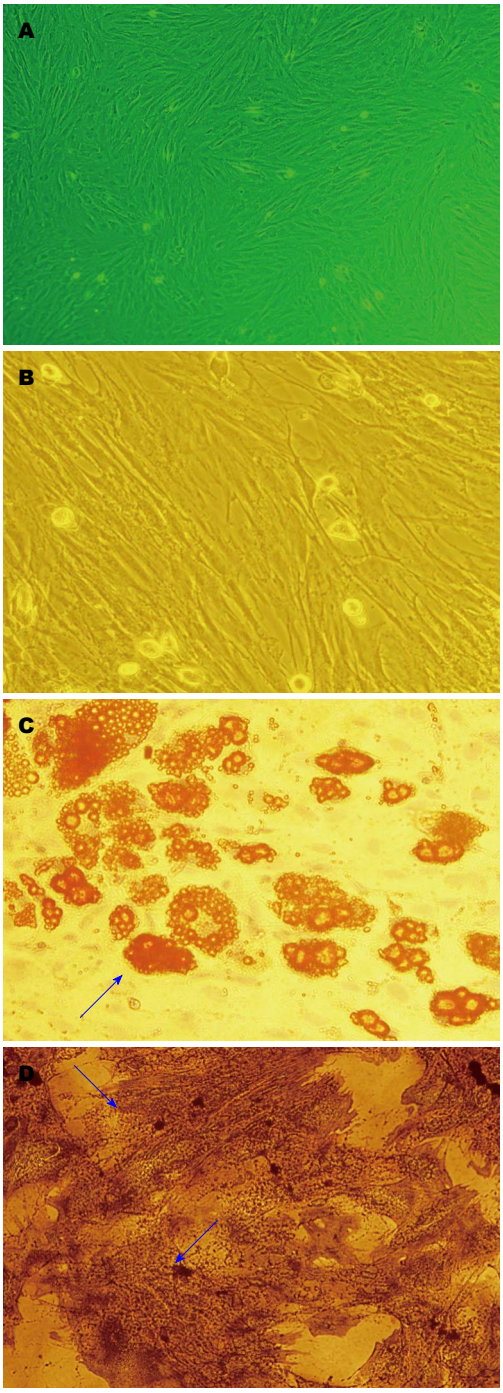

图 1 BM-MSCs形态及诱导分化. A: BM-MSCs形态(×100); B: 未诱导分化(×200); C: 成脂诱导(×200), 油红O染色示细胞浆内出现橘红脂滴(箭头所示); D: 成骨诱导(×200), Von Kossa染色见黑色钙盐颗粒沉积(箭头所示). BM-MSCs: 骨髓间充质干细胞.

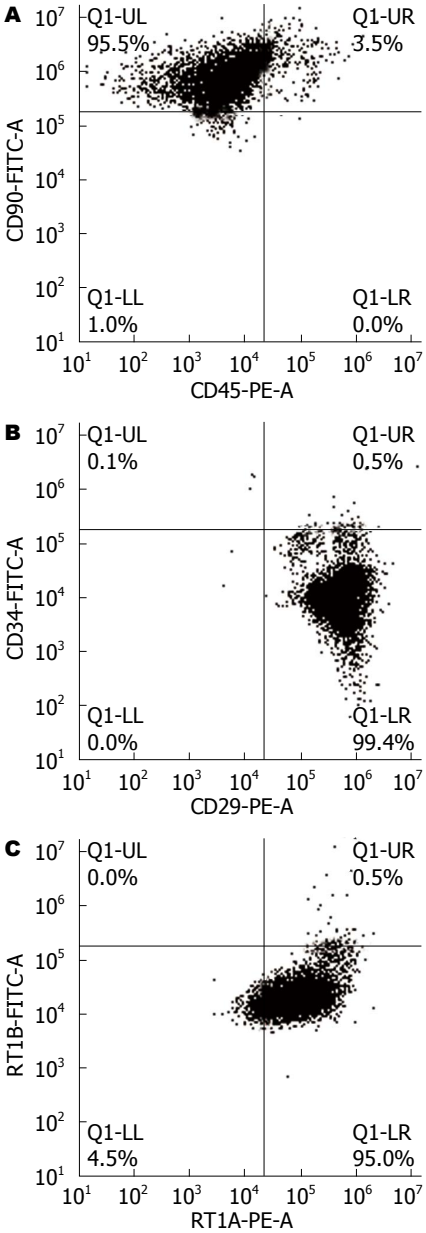

图 2 BM-MSCs表面标记检测. A: CD45-PE, CD90-FITC; B: CD29-PE, CD34-FITC; C: RT1A-PE, RT1B-FITC. BM-MSCs: 骨髓间充质干细胞.

2.3 采用TNF-α成功建立肠黏膜上皮损伤模型

2.3.1 不同浓度(0、50、100及200 ng/mL)TNF-α处理Caco-2细胞: 免疫荧光检测ZO-1蛋白表达, 显微镜下ZO-1蛋白定位在细胞膜上, 0 ng/mL TNF-α组ZO-1的绿色荧光比较明亮, 且连续完整, 细胞间构成蜘蛛网状形态. 随着50、100及200 ng/mL TNF-α浓度的增加, ZO-1荧光的亮度逐渐减弱, 且100和200 ng/mL TNF-α组出现细胞膜上ZO-1荧光的断裂及其完整性的破坏(图3). Western blot结果显示, 在225、59和37 kDa位置处依次出现ZO-1、Occludin和GAPDH条带. 50、100及200 ng/mL组与0 ng/mL组相比, ZO-1蛋白的表达量逐渐减少(F = 293.36, P<0.05)、Occludin 蛋白的表达量亦逐渐减低(F = 216.73, P<0.05), 呈浓度依赖. PCR结果显示, 50、100及200 ng/mL组较0 ng/mL组, ZO-1 mRNA的表达量逐渐减少(F =

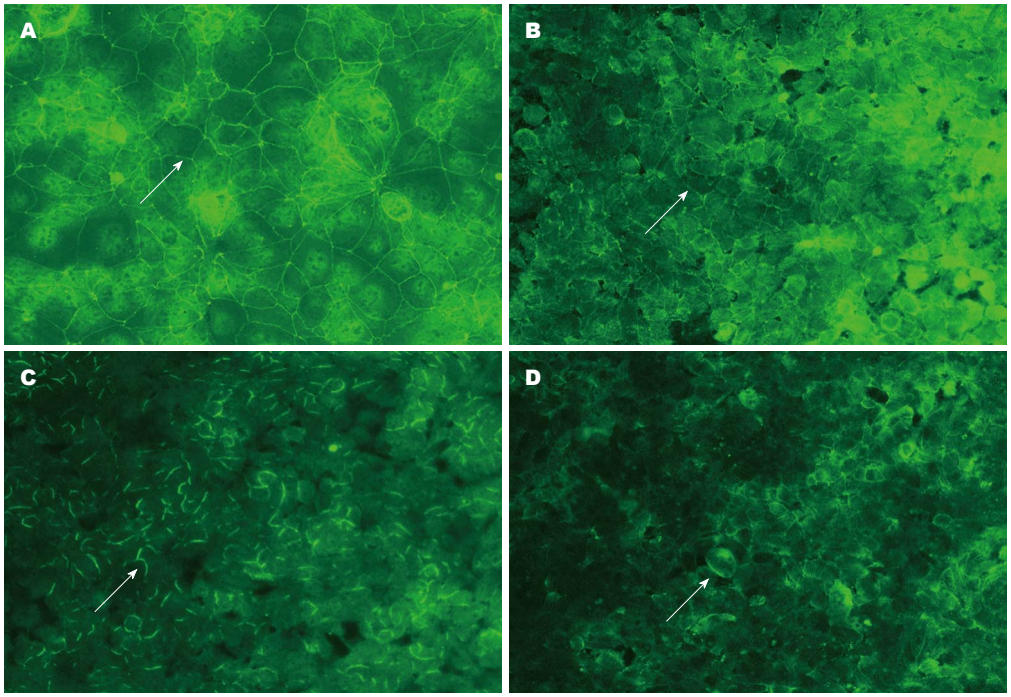

图 3　不同浓度TNF-α作用48 h时Caco-2细胞的ZO-1蛋白免疫荧光表达情况(×200). A: 0 ng/mL; B: 50 ng/mL; C: 100 ng/mL; D: 200 ng/mL. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α. 箭头示ZO-1蛋白.

名词解释

紧密连接蛋白ZO-1: 为第一个紧密连接相关蛋白, 属于跨膜蛋白, 可以连接咬合蛋白Occludin和肌动蛋白骨架的作用, 是构成肠黏膜上皮紧密连接的重要成分之一.

140.00, P<0.05)、Occludin mRNA的表达量也随之减少(F = 1196.65, P<0.05)(图4). mRNA与蛋白水平结果一致, 而100 ng/mL组与200 ng/mL组对紧密连接蛋白的影响两者间差异无统计学意义, 所以我们选用100 ng/mL为最终处理浓度.

2.3.2 不同时间(0、12、24和48 h)100 ng/mL TNF-α处理Caco-2细胞: 使用TNF-α 100 ng/mL处理Caco-2细胞12、24和48 h后, 随着处理时间的延长, ZO-1免疫荧光亮度依次减弱, 蜘蛛网状形态破坏逐渐严重, 细胞间紧密连接蛋白排列不规则甚至断裂(图5). Western blot证实, 100 ng/mL TNF-α处理12、24和48 h组与0 h组相比, ZO-1(F = 115.49, P<0.05)和Occludin蛋白(F = 86.12, P<0.05)的表达受抑制, 呈时间依赖. PCR检测结果提示, ZO-1(F = 35.73, P<0.05)和Occludin mRNA(F = 17050.91, P<0.05)的表达量均减少, 且处理时间越长减少越明显, 差异有统计学意义(图6). 这些结果表明肠黏膜上皮损伤模型建立成功, 而TNF-α 100 ng/mL处理48 h为我们选用的最佳处理条件.

2.4 观察BM-MSCs对受损Caco-2的影响 BM-MSCs与Caco-2共培养对ZO-1、Occludin的表达无影响. 而BM-MSCs与受损Caco-2共培养后, ZO-1、Occludin蛋白的表达量较受损Caco-2组均增加(t = 12.77, P<0.05; t = 14.71, P<0.05); ZO-1、Occludin mRNA的表达量也均增加(t = 7.40, P<0.05; t = 13.02, P<0.05). 该结果提示BM-MSCs对受损Caco-2有修复作用(图7).

2.5 观察趋化因子受体CX3CR1对BM-MSCs修复受损Caco-2的作用 与单纯BM-MSCs组比较, BM-MSCs与Caco-2共培养时, CX3CR1蛋白和mRNA的表达水平轻微增加, 但差异无统计学意义; 而BM-MSCs与受损Caco-2共培养后, CX3CR1蛋白表达增加(t = 19.81, P<0.05), CX3CR1 mRNA的表达水平也明显增加(t = 12.27, P<0.05). 结果提示CX3CR1参与BM-MSCs修复受损Caco-2的过程.

观察阻断CX3CR1的结果: Anti-CX3CR1-BM-MSCs与受损Caco-2共培养后, ZO-1、Occludin蛋白的表达量较阻断前相比减少(t = 4.98, P<0.05; t = 3.02, P<0.05), 但高于受损Caco-2组的表达量(t = 11.81, P<0.05; t = 14.92, P<0.05). 而ZO-1、Occludin mRNA的表达量较阻断前相比减少(t = 4.37, P<0.05; t = 10.55, P<0.05), 但高于受损Caco-2组的表达量(t = 4.89, P<0.05; t = 4.66, P<0.05). 这个结果说明阻断CX3CR1影响BM-MSCs对受损Caco-2的修复(图8).

同行评价

本文探讨趋化因子受体CX3CR1对BM-MSCs修复受损肠上皮细胞的影响，整个课题工作量大，具有一定创新性结果.

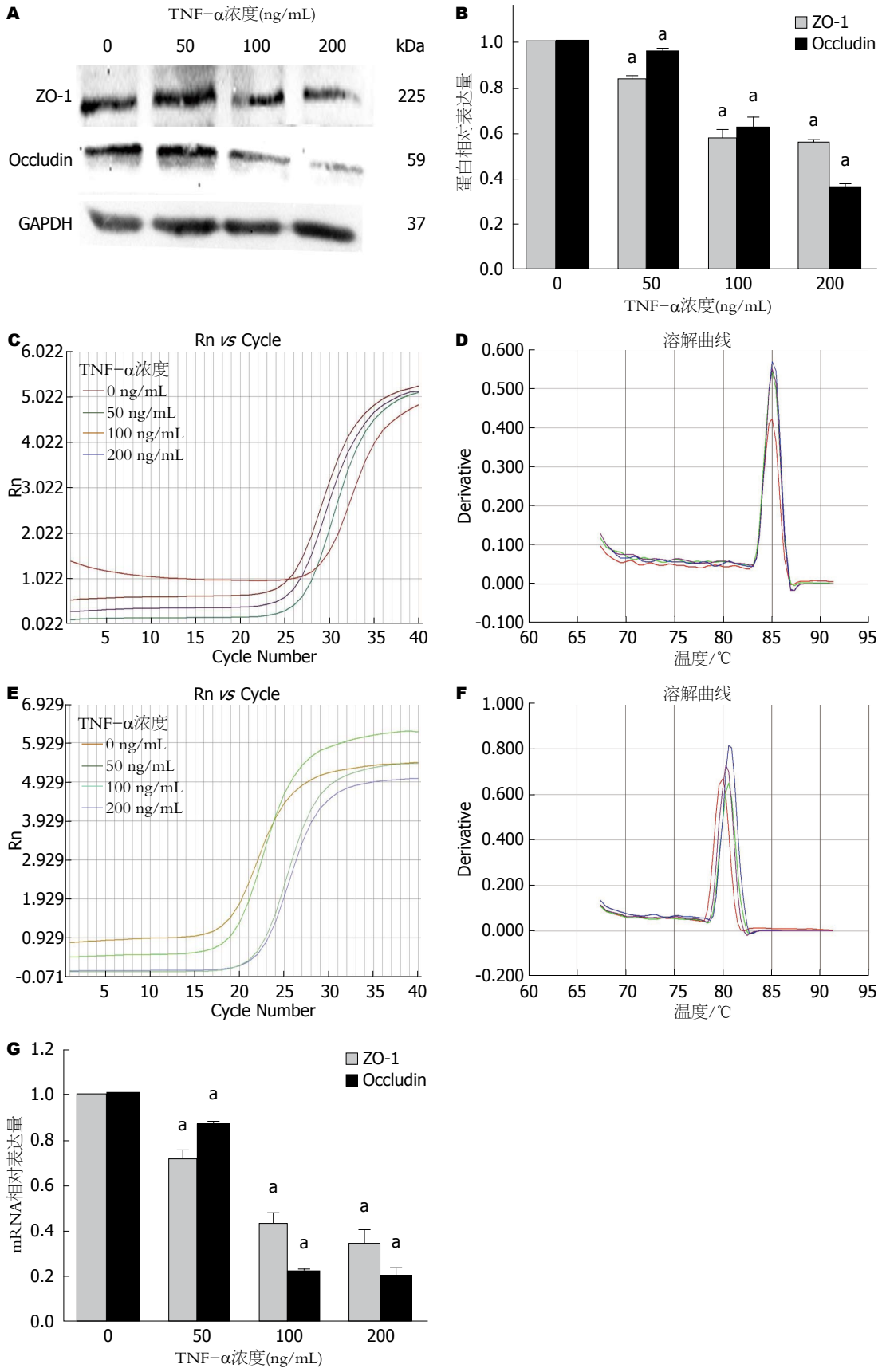

图 4　不同浓度TNF-α作用48 h下ZO-1和Occludin蛋白及mRNA的表达水平. A: ZO-1和Occludin的Western blot条带; B: ZO-1和Occludin蛋白的相对表达量; C: ZO-1 PCR扩增曲线; D: ZO-1 PCR溶解曲线; E: Occludin PCR扩增曲线; F: Occludin PCR溶解曲线; G: ZO-1和Occludin mRNA的相对表达量. $^aP<0.05$ *vs* 0 ng/mL组. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

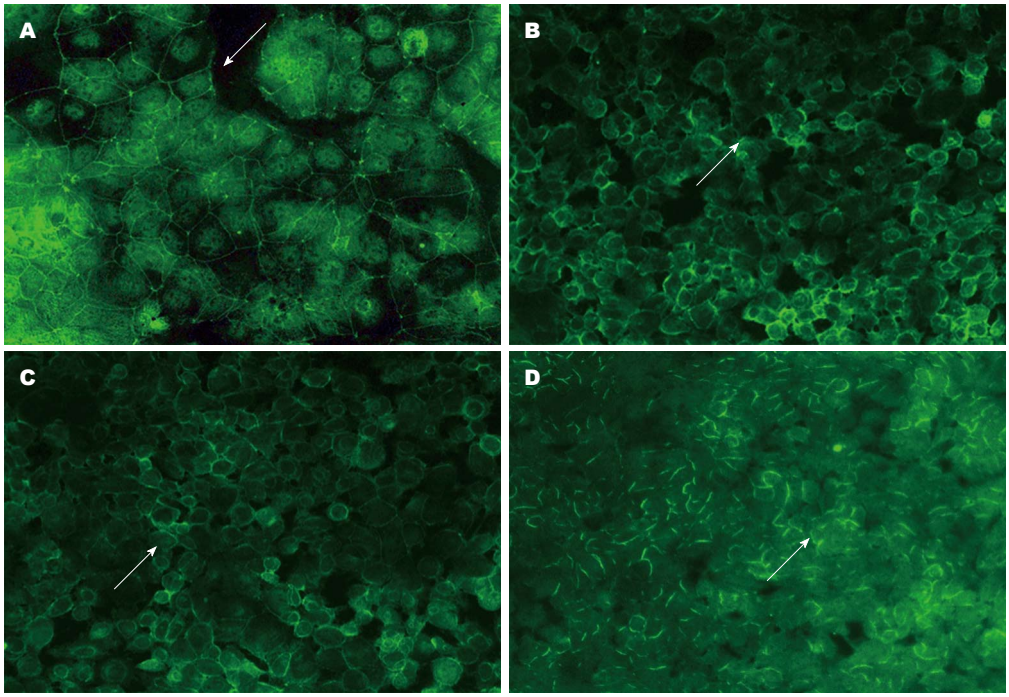

图 5　100 ng/mL TNF-α作用下不同时间点Caco-2细胞的ZO-1蛋白表达情况(×200). A: 0 h; B: 12 h; C: 24 h; D: 48 h. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α. 箭头所示为细胞ZO-1蛋白表达情况.

3 讨论

各种炎症、应激、缺血缺氧、肠道肿瘤放化疗处理都会导致肠上皮损伤, 肠上皮的损伤主要表现在肠黏膜屏障受损. 肠黏膜屏障由机械屏障、免疫屏障、化学屏障及生物屏障四部分构成. 其中机械屏障在维护肠道功能上起着至关重要的作用. 紧密连接是机械屏障的重要组成部分, 主要有ZO-1、Occludin、肌动蛋白β、咬合蛋白、钙黏蛋白等[17]. Caco-2细胞具有微绒毛和紧密连接结构, 类似于分化的人小肠黏膜上皮细胞, 被广泛用于肠道的功能研究[19].

研究[16,20]显示, 炎性介质TNF-α能够通过激活核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)引起MLCK肌球蛋白酶表达增加及其轻链磷酸化; 抑制ZO-1和Occludin mRNA表达, 导致肠黏膜间紧密连接处通透性增加. 本研究利用50、100及200 ng/mL TNF-α作用Caco-2细胞48 h以及100 ng/mL TNF-α作用Caco-2细胞0、12、24和48 h构建肠上皮损伤模型. 将紧密连接蛋白作为观察对象, 探讨TNF-α的最佳处理浓度和时间. 我们的结果提示随着TNF-α刺激时间的延长以及刺激浓度的增高, 紧密连接蛋白ZO-1和Occludin mRNA和蛋白表达降低, 荧光显示出明显断裂. 当100 ng/mL TNF-α刺激48 h时, 紧密连接蛋白的损伤已十分明显、且稳定, 并与200 ng/mL TNF-α刺激效果无明显差异, 所以我们选用100 ng/mL TNF-α处理48 h构建稳定的肠上皮细胞炎性损伤模型.

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是属于中胚层的一类具有高度自我更新和多向分化潜能的干细胞, 广泛分布于全身多种组织, 以骨髓中含量最高. BM-MSCs在病灶部位能定向分化为软骨细胞[21]、骨骼肌和心肌细胞[22]、神经细胞[23]、肝细胞[24,25]等, 在肝纤维化[26]、急性胰腺炎[27]等多系统疾病治疗中发挥作用. 有研究[6]表明, BM-MSCs可以对异位肠道移植和肠道缺血灌注时造成的肠黏膜屏障损伤产生修复作用. 但是BM-MSCs的定向分化修复作用是在其到达受损部位的前提下发挥的. 其中趋化因子及其受体的作用对于BM-MSCs的迁移至关重要[28-31]. 趋化因子是一类由蛋白质组成的小分子多肽, 目前已发现50余种趋化因子以及20种趋化因子受体[32]. CX3CR1作为一种趋化因子受体, 表达在BM-MSCs表面, 能够促使间充质干细胞迁移到受损脑组织、胰腺组织发挥作用[33,34]. 我们为研究CX3CR1在BM-MSCs修复受损肠上皮中所发挥的作用, 采用Transwell小室建立体外趋化迁移模型, 发现BM-MSCs与Caco-2共培

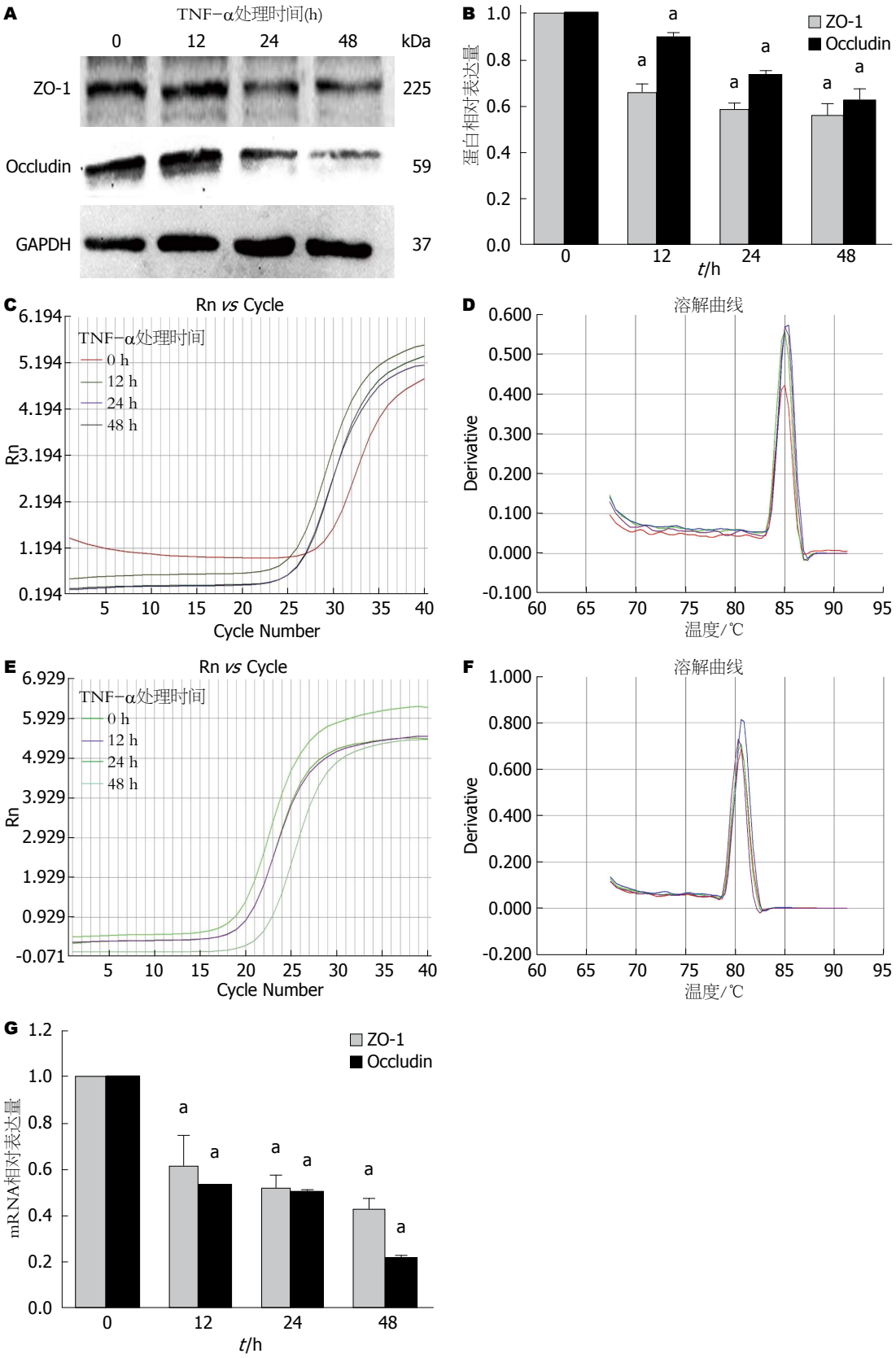

图 6　100 ng/mL TNF-α处理不同时间下的ZO-1和Occludin蛋白及mRNA的表达水平. A: ZO-1和Occludin的Western blot表达; B: ZO-1和Occludin蛋白的相对表达量; C: ZO-1 PCR扩增曲线; D: ZO-1 PCR溶解曲线; E: Occludin PCR扩增曲线; F: Occludin PCR溶解曲线; G: ZO-1和Occludin mRNA的相对表达量. $^aP<0.05$ *vs* 0 h组. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α.

养, 不会对Caco-2上ZO-1和Occludin的表达造成影响. 而BM-MSCs与受损Caco-2共培养后,

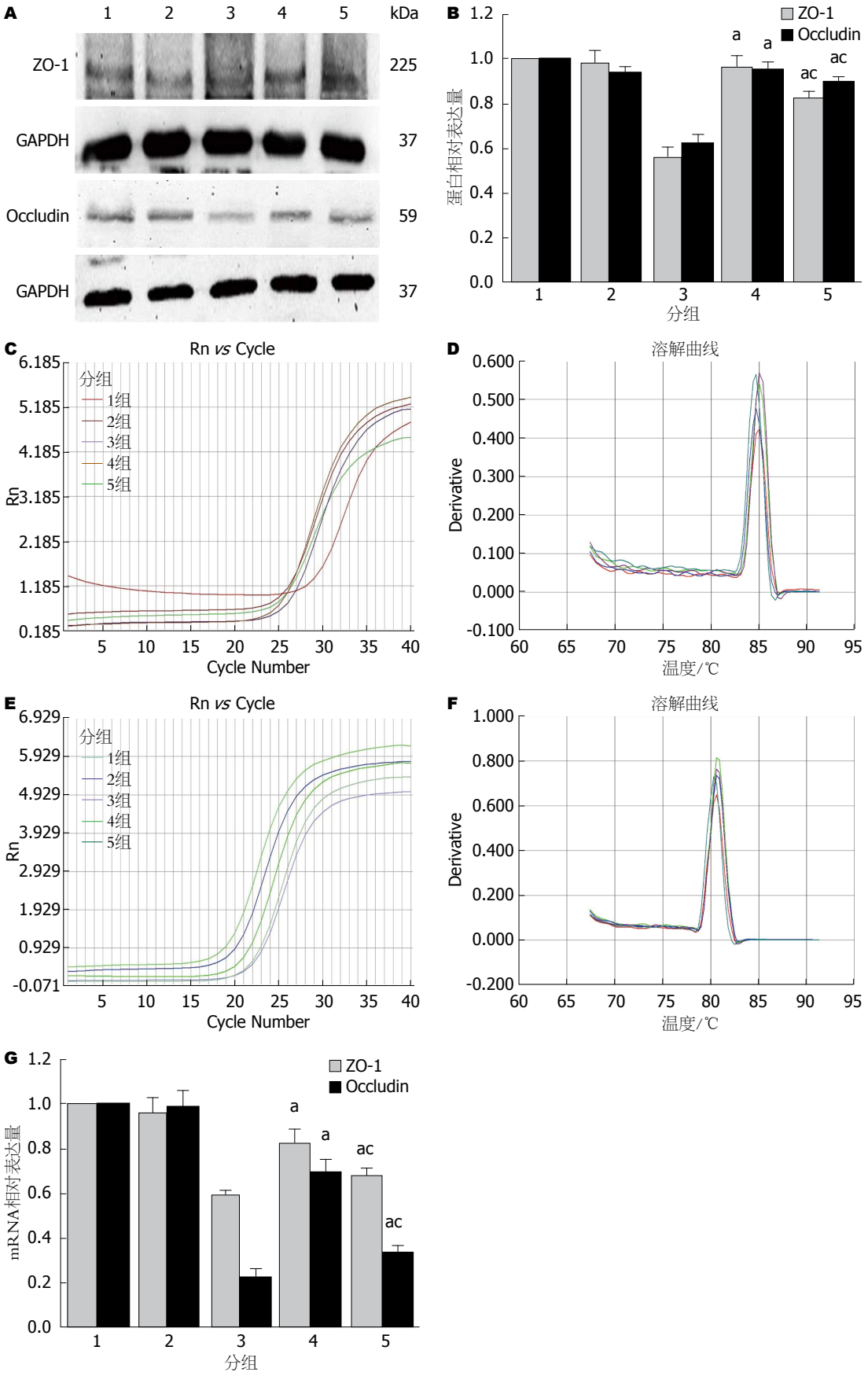

图 7　各个实验组中Caco-2细胞的ZO-1、Occludin蛋白和mRNA的表达. A: ZO-1和Occludin的Western blot条带; B: ZO-1和Occludin蛋白的相对表达量; C: ZO-1 PCR扩增曲线; D: ZO-1 PCR溶解曲线; E: Occludin PCR扩增曲线; F: Occludin PCR溶解曲线; G: ZO-1和Occludin mRNA的相对表达量. 1: Caco-2对照组; 2: Caco-2+BM-MSCs共培养组;

3: Caco-2+TNF-α损伤组; 4: Caco-2+TNF-α+BM-MSCs损伤修复组; 5: Caco-2+TNF-α+anti-CX3CR1-BM-MSCs阻断组. $^{a}P<0.05$ *vs* 损伤组; $^{c}P<0.05$ *vs* 损伤修复组. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; BM-MSCs: 骨髓间充质干细胞.

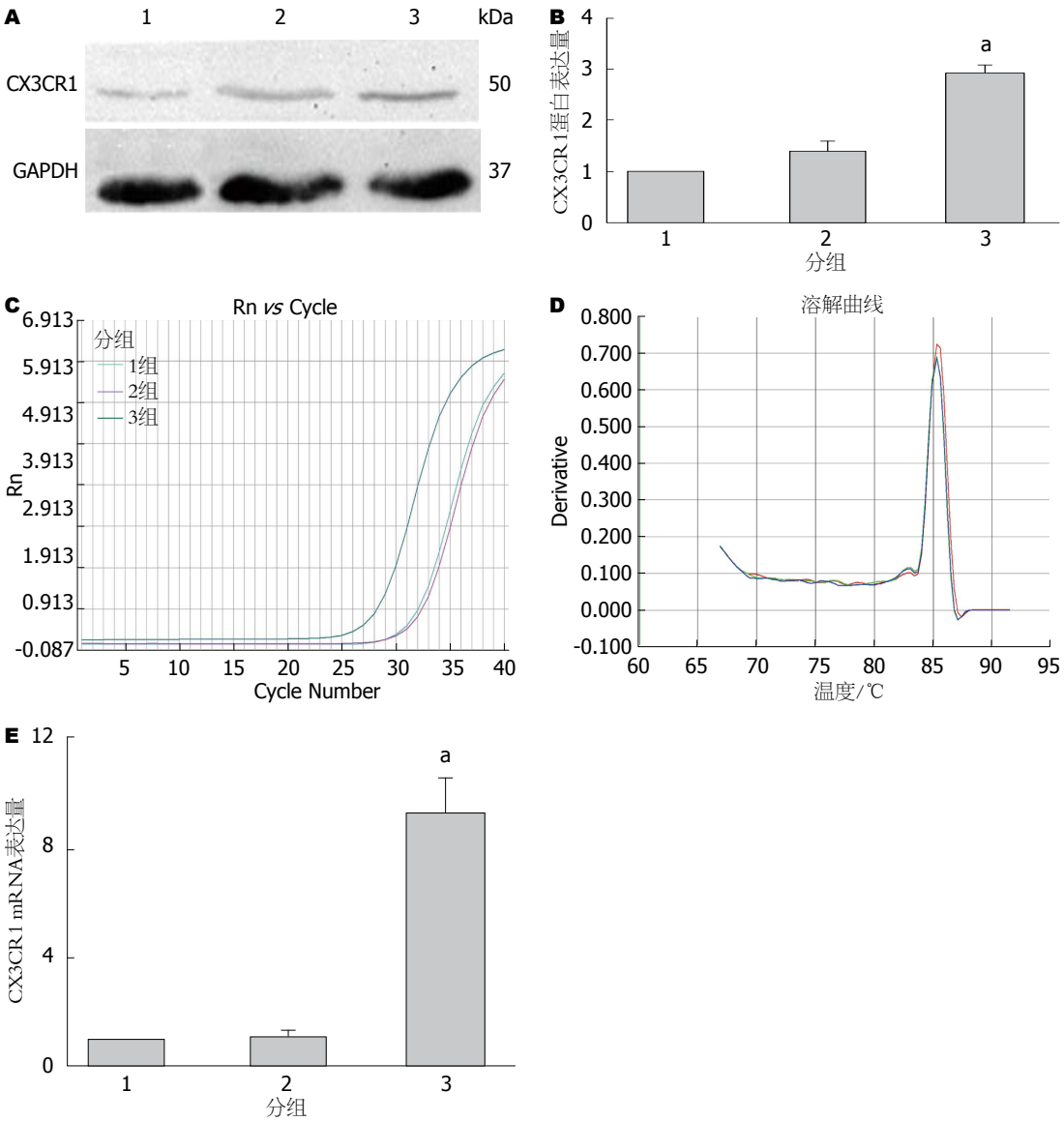

图 8 BM-MSCs表面趋化因子受体CX3CR1的表达水平. A: CX3CR1的Western blot条带; B: CX3CR1蛋白的相对表达量; C: CX3CR1 PCR扩增曲线; D: CX3CR1 PCR溶解曲线; E: CX3CR1 mRNA的相对表达量. 1: BM-MSCs对照组; 2: BM-MSCs+Caco-2共培养组; 3: BM-MSCs+Caco-2+TNF-α损伤修复组. $^{a}P<0.05$ *vs* 对照组. TNF-α: 肿瘤坏死因子-α; BM-MSCs: 骨髓间充质干细胞.

ZO-1和Occludin的表达增加, 提示BM-MSCs对受损Caco-2有修复作用. 对于CX3CR1, BM-MSCs与Caco-2共培养对其表达无影响. 而BM-MSCs与受损Caco-2共培养后, CX3CR1表达增加. 该结果提示CX3CR1参与BM-MSCs趋化迁移到受损肠上皮模型处发挥修复作用. 为进一步验证CX3CR1的作用, 我们使用anti-CX3CR1抗体预处理BM-MSCs后再与受损Caco-2共培养, 此时ZO-1和Occludin的表达较未封闭CX3CR1前减低, 进一步验证CX3CR1参与BM-MSCs趋化迁移修复受损肠道组织的过程. 但是本实验尚存在不足. CX3CR1被封闭后, ZO-1和Occludin的表达量仍比受损Caco-2组表达增加. 这个结果提示: (1)我们没有完全封闭BM-MSCs上CX3CR1的表达. 接下来我们将继续探讨CX3CR1的封闭浓度和时间; (2)由于封闭CX3CR1不能完全阻断BM-MSCs对受损肠上皮的修复, 提示尚存在其他细胞信号参与BM-MSCs对受损肠上皮的修复.

本研究发现CX3CR1在BM-MSCs体外修

复受损肠上皮模型中的作用, 为我们临床上促进移植BM-MSCs到达受损肠道组织从而提高治疗效果提供线索. 但在体内是否存在类似作用, 还有哪些细胞信号参与肠黏膜损伤下间充质的修复, 这将是我们接下来研究的方向.

志谢: 感谢天津市器官移植重点实验室为我提供科学研究的平台.

4 参考文献

1 Lee SH. Intestinal permeability regulation by tight junction: implication on inflammatory bowel diseases. *Intest Res* 2015; 13: 11-18 [PMID: 25691839 DOI: 10.5217/ir.2015.13.1.11]

2 Kalaitzakis E. Gastrointestinal dysfunction in liver cirrhosis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 14686-14695 [PMID: 25356031 DOI: 10.3748/wjg.v20.i40.14686]

3 Hu S, Lin ZL, Zhao ZK, Liu R, Ma L, Luo HM, Zhou FQ, Bai XD. Pyruvate Is Superior to Citrate in Oral Rehydration Solution in the Protection of Intestine via Hypoxia-Inducible Factor-1 Activation in Rats With Burn Injury. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2015 Mar 23. *[Epub ahead of print]* [PMID: 25802304 DOI: 10.1177/0148607115577817]

4 Yadav VR, Hussain A, Sahoo K, Awasthi V. Remediation of hemorrhagic shock-induced intestinal barrier dysfunction by treatment with diphenyldihaloketones EF24 and CLEFMA. *J Pharmacol Exp Ther* 2014; 351: 413-422 [PMID: 25204337 DOI: 10.1124/jpet.114.217331]

5 Shen ZY, Zhang J, Song HL, Zheng WP. Bone-marrow mesenchymal stem cells reduce rat intestinal ischemia-reperfusion injury, ZO-1 downregulation and tight junction disruption via a TNF-α-regulated mechanism. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3583-3595 [PMID: 23801859 DOI: 10.3748/wjg.v19.i23.3583]

6 Zhang W, Shen ZY, Song HL, Yang Y, Wu BJ, Fu NN, Liu T. Protective effect of bone marrow mesenchymal stem cells in intestinal barrier permeability after heterotopic intestinal transplantation. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 7442-7451 [PMID: 24966614 DOI: 10.3748/wjg.v20.i23.7442]

7 Chen J, Li Y, Wang L, Zhang Z, Lu D, Lu M, Chopp M. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Stroke* 2001; 32: 1005-1011 [PMID: 11283404]

8 Horwitz EM, Gordon PL, Koo WK, Marx JC, Neel MD, McNall RY, Muul L, Hofmann T. Isolated allogeneic bone marrow-derived mesenchymal cells engraft and stimulate growth in children with osteogenesis imperfecta: Implications for cell therapy of bone. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 8932-8937 [PMID: 12084934 DOI: 10.1073/pnas.132252399]

9 Wu GD, Nolta JA, Jin YS, Barr ML, Yu H, Starnes VA, Cramer DV. Migration of mesenchymal stem cells to heart allografts during chronic rejection. *Transplantation* 2003; 75: 679-685 [PMID: 12640309 DOI: 10.1097/01.TP.0000048488.35010.95]

10 Lawton B, Boyette JR, Hu M, Lian TS. Selectin blockade decreases postischemic recruitment of bone marrow stromal cells. *Laryngoscope* 2013; 123: 2993-2995 [PMID: 23712829 DOI: 10.1002/lary.24217]

11 王艳国, 赵岳, 李喜梅, 唐博, 褚亚男, 刘元林, 朱恒, 张毅. 细胞间粘附分子-1在小鼠间充质干细胞体外迁移中的作用及其机制. 中国实验血液学杂志 2014; 22: 479-484

12 Ji JF, He BP, Dheen ST, Tay SS. Interactions of chemokines and chemokine receptors mediate the migration of mesenchymal stem cells to the impaired site in the brain after hypoglossal nerve injury. *Stem Cells* 2004; 22: 415-427 [PMID: 15153618 DOI: 10.1634/stemcells.22-3-415]

13 Papadakis KA, Targan SR. The role of chemokines and chemokine receptors in mucosal inflammation. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 303-313 [PMID: 11149563]

14 Yang SK, Eckmann L, Panja A, Kagnoff MF. Differential and regulated expression of C-X-C, C-C, and C-chemokines by human colon epithelial cells. *Gastroenterology* 1997; 113: 1214-1223 [PMID: 9322516]

15 Kim JM, Kim JS, Jun HC, Oh YK, Song IS, Kim CY. Differential expression and polarized secretion of CXC and CC chemokines by human intestinal epithelial cancer cell lines in response to Clostridium difficile toxin A. *Microbiol Immunol* 2002; 46: 333-342 [PMID: 12139393]

16 宋红丽, 吕飒, 马力, 李颖, 刘沛. TNF-α影响肠黏膜上皮细胞间紧密连接蛋白的表达. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1303-1306

17 He F, Peng J, Deng XL, Yang LF, Camara AD, Omran A, Wang GL, Wu LW, Zhang CL, Yin F. Mechanisms of tumor necrosis factor-alpha-induced leaks in intestine epithelial barrier. *Cytokine* 2012; 59: 264-272 [PMID: 22583690 DOI: 10.1016/j.cyto.2012.04.008]

18 朱洁, 周华东. Fractalkine/CX3CR1参与骨髓间充质干细胞向缺血脑组织定向迁移的实验研究. 解放军医药杂志 2014; 26: 38-42

19 Lodemann U, Strahlendorf J, Schierack P, Klingspor S, Aschenbach JR, Martens H. Effects of the Probiotic Enterococcus faecium and Pathogenic Escherichia coli Strains in a Pig and Human Epithelial Intestinal Cell Model. *Scientifica* (Cairo) 2015; 2015: 235184 [PMID: 25883829 DOI: 10.1155/2015/235184]

20 Song HL, Lv S, Liu P. The roles of tumor necrosis factor-alpha in colon tight junction protein expression and intestinal mucosa structure in a mouse model of acute liver failure. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 70 [PMID: 19772664 DOI: 10.1186/1471-230X-9-70]

21 Snyder TN, Madhavan K, Intrator M, Dregalla RC, Park D. A fibrin/hyaluronic acid hydrogel for the delivery of mesenchymal stem cells and potential for articular cartilage repair. *J Biol Eng* 2014; 8: 10 [PMID: 25061479 DOI: 10.1186/1754-1611-8-10]

22 Galli D, Vitale M, Vaccarezza M. Bone marrow-derived mesenchymal cell differentiation toward

myogenic lineages: facts and perspectives. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 762695 [PMID: 25054145 DOI: 10.1155/2014/762695]

23 Huat TJ, Khan AA, Pati S, Mustafa Z, Abdullah JM, Jaafar H. IGF-1 enhances cell proliferation and survival during early differentiation of mesenchymal stem cells to neural progenitor-like cells. *BMC Neurosci* 2014; 15: 91 [PMID: 25047045 DOI: 10.1186/1471-2202-15-91]

24 Ahmadi-Ashtiani HR, Allameh A, Rastegar H, Mortaz E, Saraf Z. Immunoregulatory effects of glutathione during mesenchymal stem cell differentiation to hepatocyte-like cells. *Iran J Immunol* 2012; 9: 175-187 [PMID: 23023382]

25 An SY, Han J, Lim HJ, Park SY, Kim JH, Do BR, Kim JH. Valproic acid promotes differentiation of hepatocyte-like cells from whole human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells. *Tissue Cell* 2014; 46: 127-135 [PMID: 24472423 DOI: 10.1016/j.tice.2013.12.006]

26 Tu XH, Song JX, Xue XJ, Guo XW, Ma YX, Chen ZY, Zou ZD, Wang L. Role of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in a rat model of severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2270-2279 [PMID: 22611322 DOI: 10.3748/wjg.v18.i18.2270]

27 Zhao W, Li JJ, Cao DY, Li X, Zhang LY, He Y, Yue SQ, Wang DS, Dou KF. Intravenous injection of mesenchymal stem cells is effective in treating liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1048-1058 [PMID: 22416179 DOI: 10.3748/wjg.v18.i10.1048]

28 Wang Y, Fu W, Zhang S, He X, Liu Z, Gao D, Xu T. CXCR-7 receptor promotes SDF-1α-induced migration of bone marrow mesenchymal stem cells in the transient cerebral ischemia/reperfusion rat hippocampus. *Brain Res* 2014; 1575: 78-86 [PMID: 24924806 DOI: 10.1016/j.brainres.2014.05.035]

29 Naderi-Meshkin H, Matin MM, Heirani-Tabasi A, Mirahmadi M, Irfan-Maqsood M, Edalatmanesh MA, Shahriyari M, Ahmadiankia N, Moussavi NS, Bidkhori HR, Bahrami AR. Injectable hydrogel delivery plus preconditioning of mesenchymal stem cells: exploitation of SDF-1/CXCR4 axis towards enhancing the efficacy of stem cells' homing. *Cell Biol Int* 2015 Mar 31. *[Epub ahead of print]* [PMID: 25825165 DOI: 10.1002/cbin.10474]

30 Kamiya K. Inner ear cell therapy targeting hereditary deafness by activation of stem cell homing factors. *Front Pharmacol* 2015; 6: 2 [PMID: 25674062 DOI: 10.3389/fphar.2015.00002]

31 Hsu WT, Jui HY, Huang YH, Su MY, Wu YW, Tseng WY, Hsu MC, Chiang BL, Wu KK, Lee CM. CXCR4 Antagonist TG-0054 Mobilizes Mesenchymal Stem Cells, Attenuates Inflammation, and Preserves Cardiac Systolic Function in a Porcine Model of Myocardial Infarction. *Cell Transplant* 2015; 24: 1313-1328 [PMID: 24823505 DOI: 10.3727/096368914X681739]

32 Bromley SK, Mempel TR, Luster AD. Orchestrating the orchestrators: chemokines in control of T cell traffic. *Nat Immunol* 2008; 9: 970-980 [PMID: 18711434 DOI: 10.1038/ni.f.213]

33 Song CH, Honmou O, Furuoka H, Horiuchi M. Identification of chemoattractive factors involved in the migration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells to brain lesions caused by prions. *J Virol* 2011; 85: 11069-11078 [PMID: 21813601 DOI: 10.1128/JVI.05318-11]

34 Sordi V, Malosio ML, Marchesi F, Mercalli A, Melzi R, Giordano T, Belmonte N, Ferrari G, Leone BE, Bertuzzi F, Zerbini G, Allavena P, Bonifacio E, Piemonti L. Bone marrow mesenchymal stem cells express a restricted set of functionally active chemokine receptors capable of promoting migration to pancreatic islets. *Blood* 2005; 106: 419-427 [PMID: 15784733 DOI: 10.1182/blood-2004-09-3507]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3683

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3683-3690
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

Ezrin蛋白通过上调YAP的表达促进胃癌的侵袭转移

单汉国, 黄昌浩, 黄笛鸣

单汉国, 黄昌浩, 黄笛鸣, 中南大学湘雅医院胃肠外科 湖南省长沙市 410013
黄笛鸣, 南华大学附属第二医院胃肠外科 湖南省衡阳市 421001
单汉国, 副主任医师, 在读博士, 主要从事胃肠疾病的临床诊断及治疗研究.
作者贡献分布: 单汉国负责全文撰写; 黄昌浩负责统计及数据分析; 黄笛鸣负责图片及标本.
通讯作者: 单汉国, 副主任医师, 410013, 湖南省长沙市开福区湘雅路87号, 中南大学湘雅医院胃肠外科.
742976265@qq.com
电话: 0731-84327198
收稿日期: 2015-05-11 修回日期: 2015-06-23
接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-18

Ezrin promotes invasion and metastasis of gastric cancer by up-regulating YAP protein expression

Han-Guo Shan, Chang-Hao Huang, Di-Ming Huang

Han-Guo Shan, Chang-Hao Huang, Di-Ming Huang, Department of Gastrointestinal Surgery, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410013, Hu'nan Province, China
Di-Ming Huang, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of South China University, Hengyang 421001, Hu'nan Province, China
Correspondence to: Han-Guo Shan, Associate Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Xiangya Hospital of Central South University, 87 Xiangya Road, Kaifu District, Changsha 410013, Hu'nan Province, China. 742976265@qq.com
Received: 2015-05-11 Revised: 2015-06-23
Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To explore the interactions of Ezrin and Hippo/Yes-associated protein (YAP) in the invasion and metastasis of gastric cancer.

METHODS: Immunohistochemistry (IHC) was used to determine the protein expression of Ezrin and YAP in 209 gastric cancer tissues. MTT assay was carried out to evaluate the effect of Ezrin overexpression with or without siYAP treatment on cell proliferation. Transwell assays were implemented to assess the impact of Ezrin overexpression with or without siYAP on cell migration and invasion.

RESULTS: IHC staining showed that Ezrin and YAP expression was up-regulated in primary gastric cancer compared with their adjacent normal tissues and positively correlated with tumor occurrence, development and metastasis. MTT assay showed that overexpression of Ezrin increased cell proliferation, and knockdown of YAP inhibited cell proliferation. Transwell assays demonstrated that the ectopic expression of Ezrin in SGC7901 cells promoted cell migration and invasion, and knockdown of YAP inhibited cell migration and invasion.

CONCLUSION: Ezrin functions as an oncogene in gastric cancer and can increase YAP protein expression, which in turn up-regulates the expression of the downstream molecules of the Hippo pathway to promote invasion and metastasis of gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Ezrin; Yes-associated protein; Gastric cancer; Invasion; Metastasis

Shan HG, Huang CH, Huang DM. Ezrin promotes invasion and metastasis of gastric cancer by up-regulating YAP protein expression. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3683-3690 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3683.asp DOI:

背景资料
以往研究表明, Ezrin及YAP(Yes-associated protein)蛋白在多种肿瘤中高表达, 与肿瘤的发生发展、侵袭转移和预后等密切相关, 但对其双方是否有交互作用及其分子机制尚不明确.

同行评议者
杜雅菊, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

研发前沿
肿瘤的侵袭转移是导致患者不良预后和较高死亡率的重要因素, 但关于其发生机制一直困扰着研究者. 而与其侵袭转移相关的Ezrin蛋白和Hippo/YAP通路一直是生物学和医学领域中的研究热点、重点.

http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3683

摘要

目的: 探讨Ezrin与Hippo通路下游蛋白YAP (Yes-associated protein)在胃癌侵袭转移中的相互作用机制.

方法: 免疫组织化学检测209例胃癌组织中的Ezrin和YAP的蛋白表达水平. MTT法检测过表达Ezrin及同时干扰YAP后对细胞增殖的影响. Transwell法检测过表达Ezrin及同时干扰YAP后对细胞迁移和侵袭的影响.

结果: 免疫组织化学结果表明Ezrin及YAP在胃癌组织中高表达, 并与肿瘤的发生发展和转移相关, 且两者的表达水平呈正相关的关系. MTT检测结果表明过表达Ezrin后胃癌细胞生长增殖能力增加, 而同时干扰YAP后生长增殖能力受到抑制. Transwell结果表明过表达Ezrin后胃癌细胞迁移侵袭能力增加, 而同时干扰YAP后迁移侵袭能力受到抑制.

结论: Ezrin在胃癌中可能起类似癌基因的作用, 其可能通过上调Hippo通路的下游蛋白YAP促进胃癌的发生发展与侵袭转移.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: Ezrin; YAP; 胃癌; 侵袭; 转移

核心提示: 从患者病理组织切片的免疫组织化学分析及体外相关细胞实验, 证实Ezrin可能通过上调Hippo通路的下游蛋白YAP(Yes-associated protein)促进胃癌的发生、发展.

单汉国, 黄昌浩, 黄笛鸣. Ezrin蛋白通过上调YAP的表达促进胃癌的侵袭转移. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3683-3690
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3683.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3683

0 引言

胃癌是人类最常见的恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率在所有全球癌症中分别高居第4位和第3位[1]. 由于肿瘤本身的侵袭与淋巴结转移以及术后的复发转移现象, 都给常规治疗带来了极大的困难, 并直接导致了胃癌患者整体的不良预后和较高死亡率[2]. 近来的许多研究已经极大地改善了对胃癌发病机制的认识, 但影响其转移的关键因素还不是很清楚. 因此, 相关的潜在分子调控机制还亟需进一步深入研究, 而这无疑将会促进针对胃癌转移患者早期诊断和有效治疗的技术创新.

ERM(Ezrin-radixin-moesin)为细胞骨架连接蛋白, 对细胞黏附、生长、分化、信号转导等起重要的调节作用[3,4]. 其中Ezrin蛋白在肿瘤的转移中发挥重要作用[5,6]. 目前国内外多项研究[7-15]表明, Ezrin在骨肉瘤、胰腺癌、前列腺癌、皮肤癌、胃癌和乳腺癌等多种肿瘤中高表达, 与肿瘤的发生发展、侵袭转移和预后等密切相关. Hippo通路是近年来在果蝇体内发现的一条新的细胞信号通路, 在细胞增殖与凋亡、组织器官大小及肿瘤发生方面发挥重要作用. 研究[16-18]表明, Hippo通路在肺癌、胃癌、肝癌等多种肿瘤中受到抑制. 从果蝇到哺乳动物体, 大多数Hippo通路分子组成高度保守, 包括Mst、WW45、Mob、Lats、YAP(Yes-associated protein)/TAZ及TEAD[19]. YAP蛋白是Hippo通路中一个起关键作用的下游蛋白, 与转录因子TEAD结合后促进某些基因的表达, 发挥促进细胞生长和抑制细胞凋亡的作用, 最终影响器官的大小以及肿瘤的形成[20]. 虽然Ezrin蛋白及Hippo/YAP通路在胃癌的发生发展中都有重要作用, 但对其双方是否有交互作用及其分子机制尚不明确.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2010-01/2014-12南华大学附属第二医院胃癌患者经手术切除的组织样本209例, 其中高分化腺癌65例, 中分化腺癌93例, 低分化腺癌46例, 未分化腺癌5例; 男137例, 平均年龄48.7岁(32-79岁), 女72例, 平均年龄45.7岁(38-77岁). 临床分期根据第七版《AJCC肿瘤分期手册》的标准, Ⅰ期72例, Ⅱ期56例, Ⅲ期42例, Ⅳ期39例. 有淋巴结转移者98例. 所有患者手术治疗前未进行放疗或化疗, 组织取材避开癌块肿瘤中心坏死组织及深部结缔组织、肌组织. 标本临床资料完整并经病理医师诊断为胃癌. 研究经南华大学附属第二医院伦理委员会审核批准, 所有患者均签署知情同意书. 羊抗人Ezrin抗原特异性单克隆抗体购自CST公司; 鼠抗人YAP抗原特异性单克隆抗体购自Santa Cruz公司; SP免疫组织化学试剂盒及DAB显色试剂盒等购自福州迈新(Maixin)生物技术开发公司; 细胞培养基RPMI 1640购自

GIBCOBRL公司; 胎牛血清购自GIBCOBRL公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人胃癌细胞系SGC7901(购自上海中科院)贴壁培养于含10%胎牛血清、0.03%*L*-谷氨酰胺及青、链霉素(各为100000 U/L)的相应培养基中, 于37 ℃, 50 mL/L CO_2饱和湿度培养箱中培养, 隔天传代1次.

1.2.2 细胞转染: 转染前1 d, 接种1×10^5(取决于细胞的类型)细胞于35 mm皿上, 5 mL的培养基. 转染时细胞能覆盖率达40%-80%. 培养细胞24 h. 转染时, 利用Opti-MEM培养基稀释溶解于TE缓冲液(pH 7-8)的2 μg DNA, 最终的体积为200 μL. 加入5 μL转染试剂于DNA溶液中. 振荡混匀10 s. 室温下, 孵育15-30 min. 在复合物孵育的同时, 轻轻的吸弃细胞培养液, 用4 mL PBS洗涤1次. 加入2 mL完全培养基, 立即将转染复合物混匀并转入35 mm培养皿中. 培养孵育细胞和转染复合物6 h, 轻轻吸弃培养基, 用4 mL PBS洗涤1次. 加入新鲜的培养基. 培养48 h后, 检测转染细胞的表达.

1.2.3 逆转录聚合酶链反应: 用RNAiso™ Plus试剂提取细胞内总RNA, 再以RNA为模板逆转录生成单链cDNA. PCR仪设置反应程序为37 ℃, 15 min, 85 ℃, 5 s, -20 ℃保存. 随后以cDNA为模板进行荧光定量PCR(体系为: 95 ℃预变性10 min、95 ℃ 30 s、56 ℃ 20 s、72 ℃ 30 s, 共39个循环). 荧光定量PCR引物: RRM2上游引物: 5'-TGCCTGGCCTCACATTTTCT-3', 下游引物: 5'-TCCCAATGAGCTTCACAGGC-3'; GAPDH上游引物: 5'-ATGGGGAAGGTGAAGGTCGGAGT-3', 下游引物: 5'-TGACAAGCTTCCCGTTCTCAGCC-3'. 以*GAPDH*为阳性内参基因, 校正cDNA模板的细胞拷贝数, 计算相对量采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$方法, $\triangle Ct_{目标基因} = Ct_{目标基因}-Ct_{同一样本GAPDH}$; $\triangle\triangle Ct_{目标基因}$ = 处理组$\triangle Ct_{目标基因}$-对照组$\triangle Ct_{目标基因}$.

1.2.4 Western blot: 用PBS洗3次, 将细胞刮下, 加入100 μL Ripa裂解液. 冰浴20 min, 16000 r/min离心10 min. 取上清液, 采用蛋白质定量试剂盒(Bradford, BioRad)法定量蛋白质浓度. 加入上样缓冲液煮沸5 min. 10%SDS-PAGE电泳分离后转至硝酸纤维素膜上, 5%脱脂牛奶室温封闭2 h. 4 ℃一抗(1∶1000稀释)孵育过夜. TBST洗膜后加入二抗(1∶15000稀释)室温孵育1 h. 使用Odyssey®Infrared Imaging System进行检测.

1.2.5 MTT法: 于孵育结束前3-4 h, 每孔加入MTT液10 μL. 继续培养3-4 h后, 吸出上清100 μL, 加入二甲基亚砜(DMSO)100 μL. 震荡5 min后, 用酶标仪(BioRAD 450型微孔板判读仪)测吸光度*A*(测量波长570 nm, 参考波长655 nm).

1.2.6 Transwell实验: 在Transwell小室(Costar公司产品)的反面涂上FN(用PBS 1∶100稀释), 倒扣于操作台上; 3 h后于滤膜上包被30 μL Matrigel(购自BD Biosciences, 用培养基稀释1∶5后使用), 37 ℃饱和湿度温箱中聚合2 h(做Transwell迁移实验时不加Matrigel); 将状态良好的细胞计数后, 在Transwell小室的上室中加入200 μL细胞悬液(含2×10^5个细胞); 在Transwell小室的下室中加入600 μL含有10%FBS的RPMI 1640细胞培养液, 作为细胞迁移侵袭的趋化因子; 37 ℃、50 mL/L CO_2浓度、饱和湿度的温箱中培养48 h; 去除滤膜上的Matrigel胶和细胞, 4%多聚甲醛固定、结晶紫染色后, 100倍光镜下随机挑取5个视野计滤膜下表面细胞数, 取平均数代表细胞的迁移侵袭能力.

1.2.7 免疫组织化学检测: 采用链霉菌抗生物蛋白-过氧化物酶免疫组织化学法(S-P法)检测Ezrin与YAP的表达. 取石蜡包埋组织, 制作厚度4 μm组织切片, 经常规脱蜡、水化和抗原修复. 以H_2O_2阻断内源性过氧化物酶活性, 滴加1∶100稀释的Ezrin与YAP特异性抗体(一抗), 4 ℃过夜. 次日滴加SP标记二抗, 37 ℃孵育1 h, 依次加入DAB和苏木素染色, 并常规脱水和透明封片. 结果进行乘积法评分标准计数阳性细胞百分率: 每例标本选择10个含有阳性细胞的高倍视野(400×)分别计数100个肿瘤细胞, 取其平均值计算阳性细胞百分率. 0为无阳性细胞; 1为阳性细胞<25%; 2为阳性细胞25%-49%; 3为阳性细胞50%-74%; 4为阳性细胞≥75%. 染色强度: 0为阴性; 1为浅黄色; 2为黄色; 3为棕黄色或棕黑色. 染色指数为阳性细胞百分率和染色强度之积, 0-6分为阴性/低表达, 标记为"-", 7-12分为阳性/高表达, 标记为"+".

统计学处理 实验数据输入SPSS16.0或者Graphpad Prism 5.0统计软件进行统计学分析, 组间差异分析使用独立样本完全随机设计双尾*t*检验(Student's *t* test)和Pearson's相关性分析,

■相关报道

Jin等和Wang等分别从患者组织的免疫组织化学染色分析和体外细胞实验证实了Ezrin蛋白在胃癌的发生发展中起类似癌基因的作用, 其在转移性胃癌细胞中主要定位于细胞浆和细胞膜, 而在非癌细胞中主要定位于细胞浆.

应用要点
本研究表明Ezrin和YAP蛋白可能成为影响胃癌预后的新靶点, 同时为进一步探讨胃癌的发生发展和侵袭转移机制提供了实验和理论依据.

表 1 Ezrin与YAP在胃癌组织中的表达水平与病理临床特征之间的关系

临床资料	*n*	Ezrin			YAP		
		−	+	*P*值	−	+	*P*值
n	209	99	110		96	113	
性别				0.364			0.422
男	137	64	73		62	75	
女	72	35	37		34	36	
年龄(岁)				0.276			0.576
<65	95	54	41		46	49	
≥65	114	45	69		50	64	
分化程度				0.134			0.012
高分化	65	31	34		38	27	
中分化	93	42	51		48	45	
低分化	46	24	22		10	36	
未分化	5	2	3		0	5	
淋巴结转移				0.008			0.036
无	111	75	36		64	47	
有	98	24	74		32	66	
TNM分期				<0.001			<0.001
Ⅰ	72	43	29		38	34	
Ⅱ	56	31	25		35	21	
Ⅲ	42	19	23		21	21	
Ⅳ	39	6	33		2	37	
远端转移				<0.001			<0.001
无	170	93	77		94	76	
有	39	6	33		2	37	

多组样本差异分析采用单因素多变量方差分析(ANOVA), $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 Ezrin与YAP蛋白在胃癌组织中的表达及其临床意义 免疫组织化学结果显示, Ezrin蛋白在胃癌组织中高表达, 且主要定位于细胞浆(图1A, B), 其阳性表达与胃癌患者的淋巴结转移, TNM分期及肿瘤远端转移(表1). YAP蛋白在胃癌组织中高表达, 其主要定位于细胞核(图1C, D), 其阳性表达与胃癌患者的分化程度, 淋巴结转移, TNM分期及肿瘤远端转移(表1). 对Ezrin与YAP的蛋白表达水平进一步进行统计分析, 发现两者之间存在正相关的关系($P<0.05$)(图2).

2.2 Ezrin促进YAP的蛋白及mRNA水平上调 为了进一步验证Ezrin与YAP表达之间的关系并探索其潜在调控机制, 采用过表达和干扰Ezrin处理人胃癌细胞系SGC7901. Western blot和逆转录聚合酶链反应(Real-time PCR, RT-PCR)结果显示: 过表达Ezrin后YAP蛋白和mRNA表达水平上调(图3A, C), 干扰Ezrin后YAP蛋白和mRNA表达水平下调(图3B, C).

2.3 Ezrin通过上调YAP促进胃癌细胞的生长增殖 采用MTT法测定胃癌细胞SGC7901生长曲线来检测细胞生长增殖能力, 结果显示: 与对照组相比较, 过表达Ezrin后细胞的生长增殖能力明显升高, 而同时过表达Ezrin和干扰YAP组, 细胞的生长增殖能力较Ezrin组弱(图4).

2.4 Ezrin通过上调YAP促进胃癌细胞的迁移侵袭 通过Transwell迁移(未铺Matrigel)和侵袭(铺有Matrigel)实验进一步检测了Ezrin和YAP在细胞迁移侵袭中的作用, 结果显示Ezrin能够明显促进胃癌细胞的迁移侵袭能力, 而过表达Ezrin的同时干扰YAP, 其迁移侵袭能力较过表达Ezrin组受到抑制(图5).

3 讨论

侵袭和转移是恶性肿瘤的主要生物学特征, 是导致患者临床治疗失败和死亡的最主要原因. Ezrin是ERM蛋白家族的一份子, 位于染色体上6q25.2-q26, 总长3166 bp, 编码585种氨基酸. 研究[3,4,6]发现, Ezrin主要通过细胞信号份子和

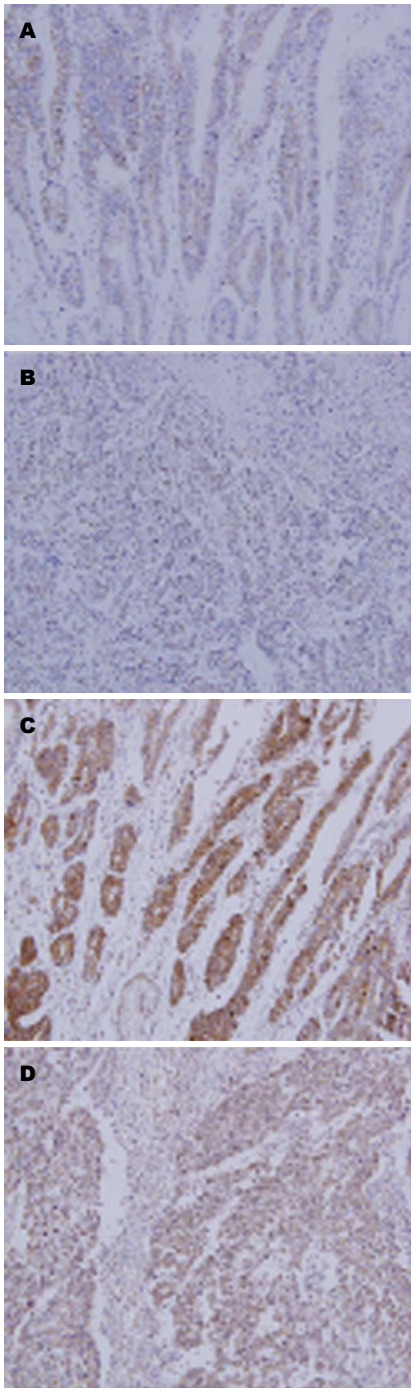

图 1　Ezrin与YAP在胃癌组织中的表达(×200). A: Ezrin在胃癌组织中阴性/低表达; B: Ezrin在胃癌组织中阳性/高表达; C: YAP在胃癌组织中阴性/低表达; D: YAP在胃癌组织中阳性/高表达.

跨膜信号转导通路调节细胞的黏附、生长、分化、信号转导等活动, 从而在肿瘤的发生发展和侵袭转移中扮演重要角色. Köbel等[9]研究结果表明, Ezrin的蛋白表达水平较高时, 肿瘤的侵袭和转移能力较强, 反之, 则肿瘤侵袭转移能力较弱. 以往的研究[12,14,21]表明, Ezrin能促进胃癌的发生发展和转移, Jin等[12]发现Ezrin蛋

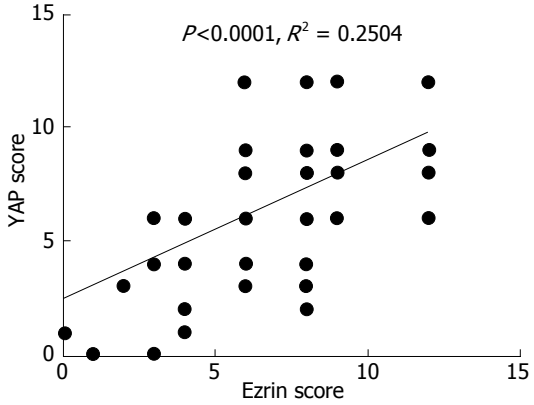

图 2　Ezrin与YAP在胃癌组织中表达的相关性.

同行评价

本研究发现Ezrin和YAP在胃癌组织中高表达, 与肿瘤的侵袭能力明显相关. 证实Ezrin可能通过上调Hippo通路的下游蛋白YAP促进胃癌的发生、发展. 实验设计合理, 结果可靠.

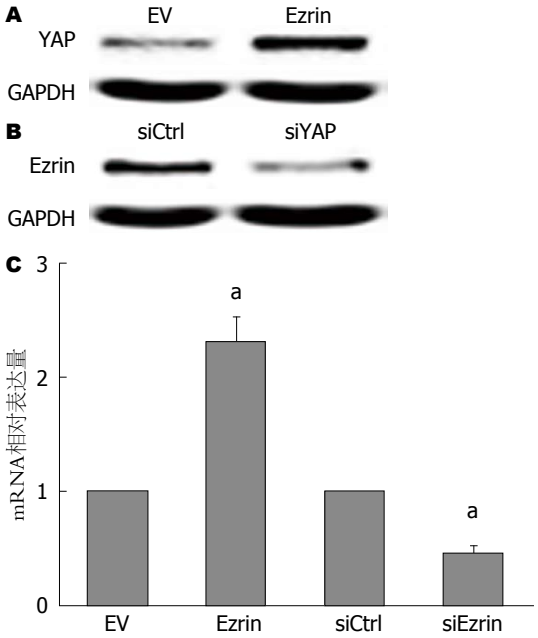

图 3　在SGC7901细胞中过表达和干扰Ezrin后YAP表达水平的变化. 过表达Ezrin后YAP蛋白水平变化; B: 干扰Ezrin后YAP蛋白水平变化; C: 过表达和干扰Ezrin后YAP mRNA水平变化, $^aP<0.05$ *vs* 阴性对照组. EV: 过表达Ezrin的阴性对照; siCtrl: siEzrin的阴性对照.

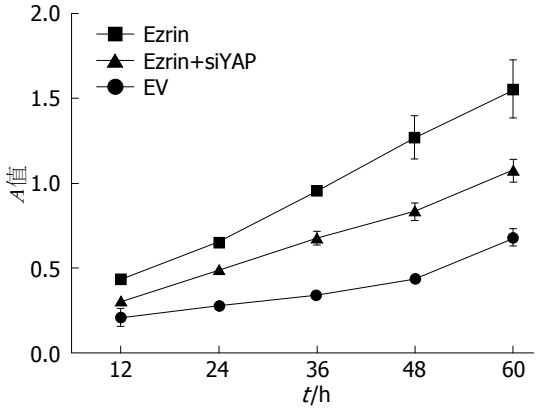

图 4　MTT法测不同时间点过表达Ezrin及同时过表达Ezrin和干扰YAP后细胞生长增殖能力. EV: 过表达Ezrin的阴性对照.

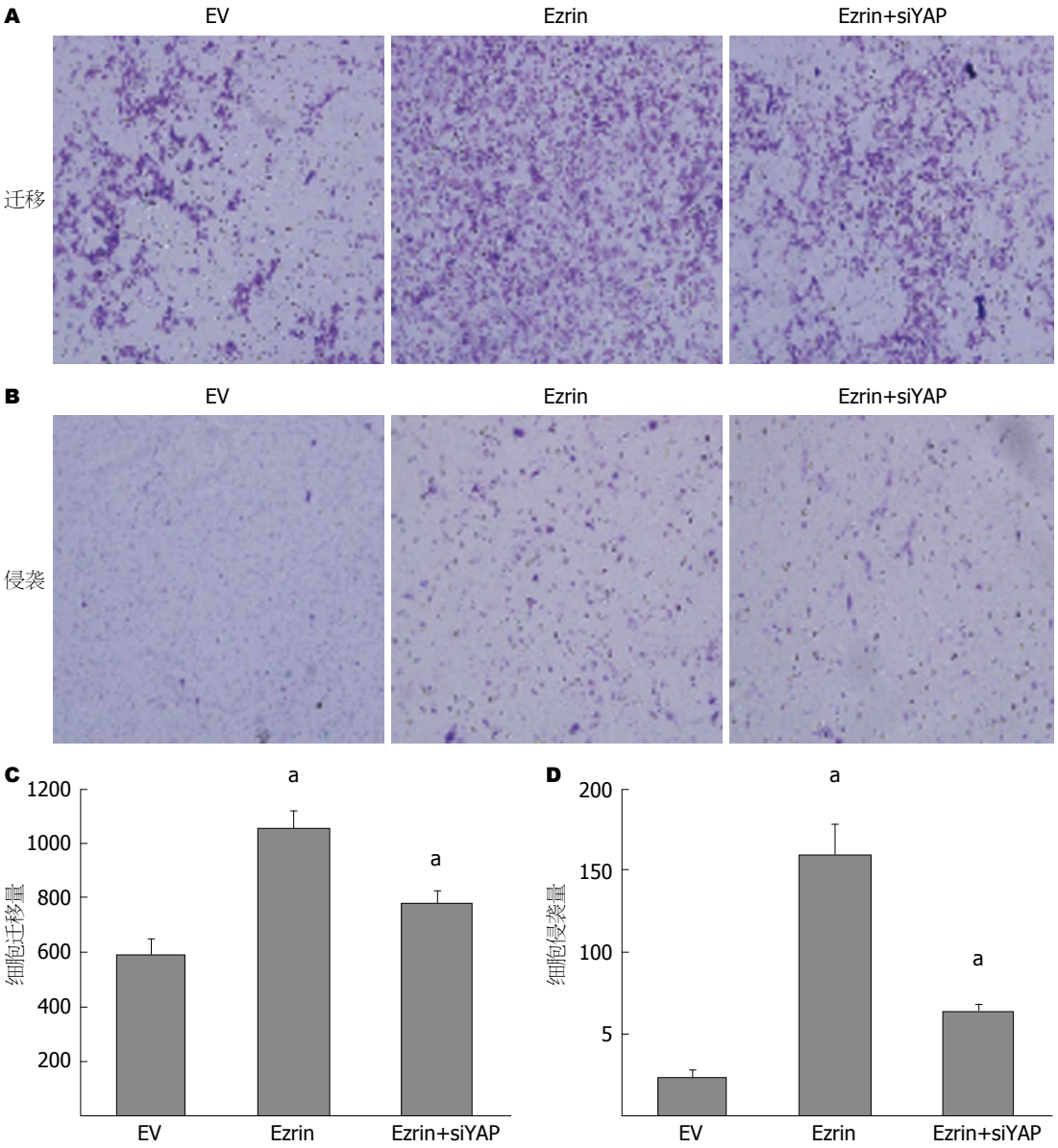

图 5　转染Ezrin及Ezrin+siYAP后SGC7901细胞的迁移侵袭情况. A, C: 转染Ezrin及Ezrin+siYAP后细胞迁移情况(×100); B, D: 转染Ezrin及Ezrin+siYAP后细胞侵袭情况(×200). $^aP<0.05$ *vs* Ezrin. EV: 过表达Ezrin的阴性对照.

白在胃癌组织中高表达, 其在转移性胃癌细胞中主要定位于细胞浆和细胞膜, 而在非癌细胞中主要定位于细胞浆. Ezrin蛋白的表达水平与胃癌的淋巴结转移和肿瘤临床分期正相关, 高表达的Ezrin将导致患者的不良预后. 与其相似的, 体外研究[22]结果表明, 在胃癌细胞株中抑制Ezrin的表达能够有效抑制细胞的迁移和侵袭能力. 但其对胃癌侵袭转移的具体调控机制报道的尚不多.

Hippo通路是最先在果蝇体内发现的一条新的细胞信号通路, 已有研究[16-18,23-25]表明, 其在抑制细胞增殖和促进细胞凋亡过程中发挥重要作用, 在多种癌症中起肿瘤抑制效果. YAP蛋白作为Hippo通路中一个关键的下游蛋白, 可以与转录因子TEAD结合诱导靶基因表达, 从而促进细胞增殖, 诱导细胞的癌变, 与肿瘤的发生发展密切相关[20,26-30]. 在Hippo通路中, YAP通过活化另一成员Mst, 再经过一系列的级联磷酸化反应磷酸化其他核心成员. 在没有Hippo相关刺激因子刺激的情况下, 非磷酸化状态的YAP入核与转录激活因子TEAD/TEF家族结合, 从而调节靶基因的表达[27]. 另外, Angus等[23]发现YAP蛋白在诱导细胞上皮间质转化中发挥着重要作用. 以往研究[16,25]表明, YAP在胃癌组织中高表达, 并与胃癌的发生发展正相关. 但关于Ezrin与Hippo/YAP之间是否

存在联系尚不清楚.

本研究首先检测了Ezrin和YAP蛋白在胃癌组织中的表达, 结果显示Ezrin和YAP蛋白在胃癌组织中高表达. Ezrin蛋白与胃癌患者的淋巴结转移, TNM分期及远端转移相关, YAP蛋白与胃癌患者的分化程度, 淋巴结转移, TNM分期及远端转移相关, 同时Ezrin与YAP蛋白之间存在正相关的关系. 为了进一步研究其相关调控分子机制, 研究组选取了人胃癌细胞系SGC7901进行下一步实验. 首先过表达和干扰Ezrin后, 发现YAP的蛋白和mRNA表达水平出现了相应的升高或降低. 随后通过MTT和Transwell检测发现, 过表达Ezrin后胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力增加, 而同时干扰YAP时, 其增殖、迁移和侵袭能力受到抑制. 这些结果提示Ezrin能促进胃癌细胞的增殖、迁移、侵袭和转移, 这与以往的研究[12,22]相似, 其对胃癌的恶性能力的影响可能是通过上调Hippo通路中YAP的表达来实现的, 但其与Hippo通路其他的核心组件之间的作用机制还有待进一步研究.

总之, Ezrin蛋白在胃癌中高表达, 其可能通过上调Hippo通路的下游蛋白YAP促进胃癌的发生发展与侵袭转移, 为进一步探讨胃癌的发生发展和侵袭转移机制提供了实验和理论依据.

4 参考文献

1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87-108 [PMID: 25651787 DOI: 10.3322/caac.21262]

2 Youn HG, An JY, Choi MG, Noh JH, Sohn TS, Kim S. Recurrence after curative resection of early gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 448-454 [PMID: 19904573 DOI: 10.1245/s10434-009-0772-2]

3 Louvet-Vallée S. ERM proteins: from cellular architecture to cell signaling. *Biol Cell* 2000; 92: 305-316 [PMID: 11071040]

4 Bretscher A, Edwards K, Fehon RG. ERM proteins and merlin: integrators at the cell cortex. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 586-599 [PMID: 12154370 DOI: 10.1038/nrm882]

5 Yu Y, Khan J, Khanna C, Helman L, Meltzer PS, Merlino G. Expression profiling identifies the cytoskeletal organizer ezrin and the developmental homeoprotein Six-1 as key metastatic regulators. *Nat Med* 2004; 10: 175-181 [PMID: 14704789 DOI: 10.1038/nm966]

6 Khanna C, Wan X, Bose S, Cassaday R, Olomu O, Mendoza A, Yeung C, Gorlick R, Hewitt SM, Helman LJ. The membrane-cytoskeleton linker ezrin is necessary for osteosarcoma metastasis. *Nat Med* 2004; 10: 182-186 [PMID: 14704791 DOI: 10.1038/nm982]

7 Hunter KW. Ezrin, a key component in tumor metastasis. *Trends Mol Med* 2004; 10: 201-204 [PMID: 15121044 DOI: 10.1016/j.molmed.2004.03.001]

8 Valdman A, Fang X, Pang ST, Nilsson B, Ekman P, Egevad L. Ezrin expression in prostate cancer and benign prostatic tissue. *Eur Urol* 2005; 48: 852-857 [PMID: 16230228 DOI: 10.1016/j.eururo.2005.03.013]

9 Köbel M, Gradhand E, Zeng K, Schmitt WD, Kriese K, Lantzsch T, Wolters M, Dittmer J, Strauss HG, Thomssen C, Hauptmann S. Ezrin promotes ovarian carcinoma cell invasion and its retained expression predicts poor prognosis in ovarian carcinoma. *Int J Gynecol Pathol* 2006; 25: 121-130 [PMID: 16633060 DOI: 10.1097/01.pgp.0000185410.39050.ac]

10 Fan LL, Chen DF, Lan CH, Liu KY, Fang DC. Knockdown of ezrin via RNA interference suppresses Helicobacter pylori-enhanced invasion of gastric cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2011; 11: 746-752 [PMID: 21282970]

11 Wu B, Li J, Huang D, Wang W, Chen Y, Liao Y, Tang X, Xie H, Tang F. Baicalein mediates inhibition of migration and invasiveness of skin carcinoma through Ezrin in A431 cells. *BMC Cancer* 2011; 11: 527 [PMID: 22204275 DOI: 10.1186/1471-2407-11-527]

12 Jin J, Jin T, Quan M, Piao Y, Lin Z. Ezrin overexpression predicts the poor prognosis of gastric adenocarcinoma. *Diagn Pathol* 2012; 7: 135 [PMID: 23039327 DOI: 10.1186/1746-1596-7-135]

13 Ghaffari A, Hoskin V, Szeto A, Hum M, Liaghati N, Nakatsu K, LeBrun D, Madarnas Y, SenGupta S, Elliott BE. Erratum to: "A novel role for ezrin in breast cancer angio/lymphangiogenesis". *Breast Cancer Res* 2015; 17: 9 [PMID: 25848816 DOI: 10.1186/s13058-014-0511-x]

14 Piao J, Liu S, Xu Y, Wang C, Lin Z, Qin Y, Liu S. Ezrin protein overexpression predicts the poor prognosis of pancreatic ductal adenocarcinomas. *Exp Mol Pathol* 2015; 98: 1-6 [PMID: 25445504 DOI: 10.1016/j.yexmp.2014.11.003]

15 Zhu J, Feng Y, Ke Z, Yang Z, Zhou J, Huang X, Wang L. Down-regulation of miR-183 promotes migration and invasion of osteosarcoma by targeting Ezrin. *Am J Pathol* 2012; 180: 2440-2451 [PMID: 22525461 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.02.023]

16 Zhou GX, Li XY, Zhang Q, Zhao K, Zhang CP, Xue CH, Yang K, Tian ZB. Effects of the hippo signaling pathway in human gastric cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 5199-5205 [PMID: 24175801]

17 You B, Yang YL, Xu Z, Dai Y, Liu S, Mao JH, Tetsu O, Li H, Jablons DM, You L. Inhibition of ERK1/2 down-regulates the Hippo/YAP signaling pathway in human NSCLC cells. *Oncotarget* 2015; 6: 4357-4368 [PMID: 25738359]

18 Li L, Wang J, Zhang Y, Zhang Y, Ma L, Weng W, Qiao Y, Xiao W, Wang H, Yu W, Pan Q, He Y, Sun F. MEK1 promotes YAP and their interaction is critical for tumorigenesis in liver cancer. *FEBS Lett* 2013; 587: 3921-3927 [PMID: 24211253 DOI: 10.1016/

j.febslet.2013.10.042]
19 Zheng T, Wang J, Jiang H, Liu L. Hippo signaling in oval cells and hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 2011; 302: 91-99 [PMID: 21247686 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.12.008]
20 Huang J, Wu S, Barrera J, Matthews K, Pan D. The Hippo signaling pathway coordinately regulates cell proliferation and apoptosis by inactivating Yorkie, the Drosophila Homolog of YAP. *Cell* 2005; 122: 421-434 [PMID: 16096061 DOI: 10.1016/j.cell.2005.06.007]
21 Li L, Wang YY, Zhao ZS, Ma J. Ezrin is associated with gastric cancer progression and prognosis. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 909-915 [PMID: 21717114 DOI: 10.1007/s12253-011-9402-y]
22 Wang HJ, Zhu JS, Zhang Q, Guo H, Dai YH, Xiong XP. RNAi-mediated silencing of ezrin gene reverses malignant behavior of human gastric cancer cell line SGC-7901. *J Dig Dis* 2009; 10: 258-264 [PMID: 19906104 DOI: 10.1111/j.1751- 2980.2009.00394.x]
23 Angus L, Moleirinho S, Herron L, Sinha A, Zhang X, Niestrata M, Dholakia K, Prystowsky MB, Harvey KF, Reynolds PA, Gunn-Moore FJ. Willin/FRMD6 expression activates the Hippo signaling pathway kinases in mammals and antagonizes oncogenic YAP. *Oncogene* 2012; 31: 238-250 [PMID: 21666719 DOI: 10.1038/onc.2011.224]
24 Yu FX, Zhang Y, Park HW, Jewell JL, Chen Q, Deng Y, Pan D, Taylor SS, Lai ZC, Guan KL. Protein kinase A activates the Hippo pathway to modulate cell proliferation and differentiation. *Genes Dev* 2013; 27: 1223-1232 [PMID: 23752589 DOI: 10.1101/gad.219402.113]
25 Xu ZP, Zhu JS, Zhang Q, Wang XY. A breakdown of the Hippo pathway in gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1611-1617 [PMID: 21940329 DOI: 10.5754/hge10669]
26 Dong J, Feldmann G, Huang J, Wu S, Zhang N, Comerford SA, Gayyed MF, Anders RA, Maitra A, Pan D. Elucidation of a universal size-control mechanism in Drosophila and mammals. *Cell* 2007; 130: 1120-1133 [PMID: 17889654 DOI: 10.1016/j.cell.2007.07.019]
27 Zhao B, Ye X, Yu J, Li L, Li W, Li S, Yu J, Lin JD, Wang CY, Chinnaiyan AM, Lai ZC, Guan KL. TEAD mediates YAP-dependent gene induction and growth control. *Genes Dev* 2008; 22: 1962-1971 [PMID: 18579750 DOI: 10.1101/gad.1664408]
28 Goulev Y, Fauny JD, Gonzalez-Marti B, Flagiello D, Silber J, Zider A. SCALLOPED interacts with YORKIE, the nuclear effector of the hippo tumor-suppressor pathway in Drosophila. *Curr Biol* 2008; 18: 435-441 [PMID: 18313299 DOI: 10.1016/j.cub.2008.02.034]
29 Wu S, Liu Y, Zheng Y, Dong J, Pan D. The TEAD/TEF family protein Scalloped mediates transcriptional output of the Hippo growth-regulatory pathway. *Dev Cell* 2008; 14: 388-398 [PMID: 18258486 DOI: 10.1016/j.devcel.2008.01.007]
30 Zhang L, Ren F, Zhang Q, Chen Y, Wang B, Jiang J. The TEAD/TEF family of transcription factor Scalloped mediates Hippo signaling in organ size control. *Dev Cell* 2008; 14: 377-387 [PMID: 18258485 DOI: 10.1016/j.devcel.2008.01.006]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3691

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3691-3699
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

临床研究 CLINICAL RESEARCH

中国汉族人群*PNPLA3* rs738409(C>G)基因多态性与肝硬化病因学的相关性

王心怡, 李 丹, 李异玲

王心怡, 李丹, 李异玲, 中国医科大学附属第一医院消化内科 辽宁省沈阳市 110001
王心怡, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
辽宁省科技厅基金资助项目, No. 2011225015
沈阳市科技厅基金资助项目, No. F13-220-9-61
作者贡献分布: 此课题由李异玲设计; 研究过程由王心怡与李丹操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由李异玲提供; 数据分析由王心怡完成; 本论文写作由王心怡完成.
通讯作者: 李异玲, 教授, 主任医师, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京街155号, 中国医科大学附属第一医院消化内科. lyl-72@163.com
电话: 021-52983057
收稿日期: 2015-06-06 修回日期: 2015-06-30
接受日期: 2015-07-06 在线出版日期: 2015-08-18

Association between patain-like phospholipase domain-containing protein 3 rs738409(C>G) single nucleotide polymorphism and etiology of liver cirrhosis in a Chinese Han population

Xin-Yi Wang, Dan Li, Yi-Ling Li

Xin-Yi Wang, Dan Li, Yi-Ling Li, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Supported by: Science and Technology Agency Foundation of Liaoning Province, No. 2011225015; Science and Technology Agency Foundation of Shenyang City, No. F13-220-9-61
Correspondence to: Yi-Ling Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Hospital of China Medical University, 155 Nanjing Street, Heping District, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. lyl-72@163.com
Received: 2015-06-06 Revised: 2015-06-30
Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To determine whether patain-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) rs738409 single nucleotide polymorphism (SNP) affects the severity of hepatic damage, susceptibility and prognosis of liver cirrhosis with various liver diseases.

METHODS: We enrolled 224 Chinese Han patients diagnosed with liver cirrhosis, of whom 88 had hepatitis B virus (HBV)-related cirrhosis, 83 had alcoholic liver cirrhosis and 53 had hepatitis C virus (HCV)-related cirrhosis. Two hundred healthy volunteers were enrolled as a control group. TaqMan genotyping assay was used to investigate the association of PNPLA3 SNPs (rs738409) with the risk of liver cirrhosis.

RESULTS: The G allele of the PNPLA3 I148M variant was significantly different between alcoholic liver cirrhosis and the control (OR = 1.902, $P < 0.001$), and was associated with HBV-related liver cirrhosis (OR = 1.452, $P = 0.047$). There was no significant association between PNPLA3 rs738409 genotype and HCV-related cirrhosis ($P = 0.056$). There was no correlation between PNPLA3 rs738409 genotype and liver cirrhosis with hepatocellular carcinoma ($P = 0.965$).

CONCLUSION: PNPLA3 rs738409 C>G is associated with alcoholic liver cirrhosis and HBV-related liver cirrhosis in a Chinese Han population.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Patain-like phospholipase domain-

背景资料
patatin样磷脂酶域3(patain-like phospholipase domain-containing protein 3, PNPLA3)又称为脂肪营养素. 大量研究显示PNPLA3 I148M rs738409与肝病脂肪变性及纤维化进程存在显著遗传特性. 与酒精性肝硬化易感性显著相关, 目前缺乏PNPLA3 I148M在中国汉族人群中与肝硬化病因学的相关性研究.

同行评议者
梁国刚, 教授, 大连医科大学附属第一医院

研发前沿
研究认为PNPLA3 I148M rs738409 C>G与中国汉族酒精性肝硬化易感性相关, 同时与乙型肝炎肝硬化易感性可能相关. 本研究是目前第1篇探究PNPLA3 I148M与中国汉族肝硬化病因学相关性的研究.

containing protein 3 I148M; Liver cirrhosis; Hepatocellular carcinoma

Wang XY, Li D, Li YL. Association between patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 rs738409(C>G) single nucleotide polymorphism and etiology of liver cirrhosis in a Chinese Han population. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3691-3699 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3691.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3691

摘要

目的: 探究在中国汉族人群中, 含patatin样磷脂酶域3(patatin-like phospholipase domain-containing protein 3, *PNPLA3*) I148M基因变异与酒精性肝硬化、慢性乙型病毒性肝炎肝硬化及慢性丙型病毒性肝炎肝硬化易感性及肝脏损伤程度、预后是否存在相关性.

方法: 本研究纳入224例中国汉族酒精性肝硬化、慢性丙型病毒性肝炎肝硬化、慢性乙型病毒性肝炎肝硬化患者, 其中, 慢性乙型病毒性肝炎肝硬化患者88例, 酒精性肝硬化患者83例, 慢性丙型病毒性肝炎肝硬化患者53例及200名健康人群作为对照组. 采用探针法基因分型检测PNPLA3 rs738409与肝硬化之间的相关性.

结果: PNPLA3 I148M rs738409 G等位基因型在酒精性肝硬化(OR = 1.902, P<0.001)及慢性乙型肝炎肝硬化(OR = 1.452, P = 0.047)与健康对照组中的频率分布存在显著差异; 丙型肝炎肝硬化与健康对照组中的等位基因频率分布差异无统计学意义(P = 0.056). 并未得出PNPLA3 I148M rs738409 C>G与肝硬化原发性肝细胞癌相关(P = 0.965).

结论: PNPLA3 rs738409 C>G在中国汉族人群中与酒精性肝硬化及慢性乙型肝炎肝硬化易感性存在相关性.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: patatin样磷脂酶域3 I148M; 肝硬化; 肝癌

核心提示: 在中国汉族人群中, patatin样磷脂酶域3(patatin-like phospholipase domain-containing protein 3, *PNPLA3*) I148M基因变异与酒精性肝硬化呈现显著相关, 同时与乙型肝炎肝硬化易感性可能相关, 并未得出PNPLA3 I148M与丙型肝炎肝硬化及原发性肝癌易感性存在相关性, 考虑样本量较少.

王心怡, 李丹, 李异玲. 中国汉族人群*PNPLA3* rs738409(C>G)基因多态性与肝硬化病因学的相关性. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3691-3699 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3691.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3691

0 引言

据2009年流行病学统计显示[1]: 中国目前病毒性肝炎发病率较高, 其中慢性乙型肝炎患者占全世界肝炎总数的80%左右, 其中演变为肝硬化为0.4%-14.2%; 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染后约80%将转变为慢性, 演变为肝硬化的比例更高; 除中年人外, 老年人酒精性肝硬化发病率也很高, 近年来肝硬化年发病率为17/10万, 已对国民经济发展和人们健康造成重大影响.

全基因组学研究[2,3]发现: 第22号染色体patatin样磷脂酶域3(patatin-like phospholipase domain-containing protein 3, *PNPLA3*)基因的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)(rs738409 C/G), 致148位异亮氨酸被蛋氨酸取代. PNPLA3主要表达于人体脂肪组织、肝、肌肉、骨骼、皮肤及巨噬细胞中, 尤其在肝组织中表达最高. 目前实验模型对PNPLA3-I148M变异的生物学功能提出如下假设: (1)PNPLA3-I148M变异降低了甘油三酯水解酶的活性; (2)PNPLA3-I148M变异阻碍了其他脂肪酶的活性; (3)该变异可以阻断甘油三酯稳态的某个必要因子; (4)PNPLA3-I148M变异可能产生一种抑制脂肪水解活性功能的新信号分子; (5)PNPLA3-I148M促进了甘油三酯的合成[4]. 目前关于PNPLA3在体内的生物学功能尚未明确.

自2008年, Romeo等[5]通过对“达拉斯心脏研究”(Dallas Heart Study, DHS)在西班牙人、非洲人及欧美人中展开全基因组分析显示: PNPLA3 I148M(rs738409)在西班牙人中与血清ALT水平存在明显相关性; 大量研究显示[6-15]: PNPLA3 I148M与酒精性肝硬化、慢性丙型病毒性肝炎肝硬化及肝细胞癌易感性存在相关性. 该基因变异在中国汉族人群中是否也存在与肝脏损伤、肝硬化及肝癌间的相关性, 目前仍缺乏研究证明.

1 材料和方法

1.1 材料 研究纳入224例常住于辽宁省地区, 符

合肝硬化诊断标准[16-18], 经由全腹计算机断层扫描(computed tomography, CT)或肝胆脾彩超证实, 自2012-01/2015-03于中国医科大学附属第一医院消化内科住院就诊的中国汉族患者, 纳入标准: 病例组的选择: 来源于中国医科大学附属第一医院消化内科就诊的肝硬化患者, 无血缘关系. 排除标准: (1)药物、毒物、长期胆汁淤积、肝淤血、遗传和代谢疾病、血吸虫病所致肝硬化; (2)非原发性肝癌(肝转移癌); 胆管细胞癌; (3)不同意进行基因学研究; (4)年龄未满18岁. 由肝硬化病因学分为3组: 慢性乙型病毒性肝炎肝硬化患者88例(并发原发性肝癌患者18例), 酒精性肝硬化患者83例, 慢性丙型病毒性肝炎肝硬化患者53例(并发原发性肝癌患者6例). 原发性肝癌由影像学诊断或术中病理诊断. 同时纳入200例中国汉族无血缘关系的健康对照组, 由中国医科大学附属第一医院体检中心纳入. 研究经过中国医科大学伦理委员会通过, 所有受试者均签署知情同意书.

材料: PCR引物及探针: TaqMan探针(Applied Biosystems, Foster City, CA, USA)、基因组DNA提取试剂盒(Promega, Madison, WI, USA).

1.2 方法

1.2.1 体格检查及生化学指标检测: 纳入病例均完善个人资料, 包括年龄、性别、饮酒史、既往疾病史. 均空腹8 h以上, 静脉采血前3 d低脂饮食, 肘静脉采血20 mL, 按临床实验室标准进行生化学检测, 测定血常规、总胆红素、血清门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平、血糖、血脂、血胰岛素水平.

1.2.2 DNA提取及基因分型(DNA聚类分析): 血样先行EDTA抗凝, 冻存于-20 ℃冰箱中, 应用DNA快速提取试剂盒进行DNA提取, 微量DNA检测仪检测DNA浓度, pH 7.5 TE稀释使DNA浓度保持在25-50 ng/mL. 通过$A_{260/280}$比值检测DNA纯度(1.6-1.8), 同时进行琼脂糖电泳进一步确认质量. 以上DNA经纯度鉴定后, 取2.5 mL置于384孔板中, 离心后加入反应混合液2.5 mL(包括Fam、Vic荧光标记的一对探针、一对引物、dNTP、Buffer、Taq polymerase), 反应总体积为5 mL, 应用ABI公司7900HT进行RT-PCR检测.

统计学处理 采用SPSS21.0版本进行统计学分析. 定量数据采用mean±SD或中位数描述, 连续变量采用曼-惠特尼*U*检验, 分类变量采用χ^2检验(如性别, 饮酒史等), χ^2检验同时用于检测基因分型是否符合Hardy-Weinberg定理. 组间比较采用方差分析, 组间多重比较采用*SNK*法(或*LSD*法); 二元逻辑回归模型用于估算相对危险度及矫正优势比. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 研究对象基本情况 研究对象的基本情况及生化学指标(表1). 研究对象的基因分型根据探针荧光标记的不同, 将检测结果分成3种基因型, 蓝色代表PNPLA3 GG基因型, 绿色代表PNPLA3 CG基因型, 红色代表PNPLA3 CC基因型(图1). 健康对照组的年龄均值明显低于病例组($P<0.001$). 同时, 病例组与健康对照组的ALT、AST、血清白蛋白(serum albumin, ALB)、血清总胆红素(serum total bilirubin, TBIL)也存在明显差异($P<0.001$). 健康对照组(n = 200)中C = 0.693, G = 0.308, C/C = 47%, C/G = 44.5%, G/G = 8.5%; 病例组(n = 224)中C = 0.58, G = 0.419, C/C = 34.3%, C/G = 47.3%, G/G = 18.3%. 以健康对照组C等位基因频率作为参照, 病例组G等位基因频率存在显著差异(OR = 1.628, 95%CI: 1.227-2.162, P = 0.001). 将健康对照组C/C基因型作为参照, 病例组G/G基因型存在显著差异(OR = 2.944, 95%CI: 1.551-5.587, P = 0.001). 对照组及病例组的基因型频率均符合Hardy-Weinberg平衡($P_{病例组}$ = 0.182, $P_{健康对照组}$ = 0.403). 比较在肝硬化病例组是否发生原发性肝细胞癌中的PNPLA3 rs738409等位基因频率, 结果示差异统计学意义(P = 0.965).

2.2 病例组中*PNPLA3* rs738409 C>G基因多态性的频率 检测PNPLA3 rs738409等位基因及基因型频率示: 酒精性肝硬化(n = 83)中C = 0.542, G = 0.458, C/C = 36.1%, C/G = 36.1%, G/G = 27.7%; 乙型肝炎肝硬化(n = 88)中C = 0.608, G = 0.392, C/C = 31.8%, C/G = 58.0%, G/G = 10.2%; 丙型肝炎肝硬化(n = 53)中C = 0.594, G = 0.406, C/C = 35.8%, C/G = 47.1%, G/G = 16.9%. 酒精性肝硬化病例组中的G等位基因及G/G基因分型频率明显高于病毒性肝炎肝硬化. 通过χ^2检验发现酒精性肝硬化及乙型

相关报道

Tong等首次研究PNPLA3 I148M在中国汉族人群与乙型肝炎肝硬化易感性的相关性; Guyot等通过长期随访研究发现: *PNPLA3* I148M rs738409基因多态性与酒精性肝硬化患者相关, 与丙型肝炎肝硬化易感性无关, 是肝细胞癌较高的一个危险因素.

创新盘点

本文首次在中国汉族肝硬化、肝细胞癌患者中观察*PNPLA3* I148M基因临床表型与病因学的相关性.

表 1 患者基本情况

参数	ALD(n = 83)	CHB(n = 88)	CHC(n = 53)	健康对照组(n = 200)
男/女	81/2	70/18	35/18	80/120
年龄	52.650 ± 9.577	55.090 ± 10.059	57.150 ± 8.994	41.880 ± 13.127
ALT(IU/L)	29.00(6.00–356.00)	33.50(4.00–612.00)	50.00(11.00–463.00)	15.00(6.00–73.00)
AST(IU/L)	50.00(10.00–439.00)	53.00(12.00–747.00)	65.00(14.00–391.00)	19.00(12.00–37.00)
TBIL(μmol/L)	28.90(4.10–335.00)	29.70(8.10–558.00)	23.10(4.90–115.50)	10.45(3.80–34.20)
ALB(g/L)	29.10(20.00–53.50)	29.10(19.00–52.00)	33.20(19.60–130.70)	67.00(23.00–152.00)

ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 门冬氨酸氨基转移酶; TBIL: 血清总胆红素; ALB: 血清白蛋白; ALD: 酒精性肝病; CHB: 慢性乙型病毒性肝炎; CHC: 慢性丙型病毒性肝炎.

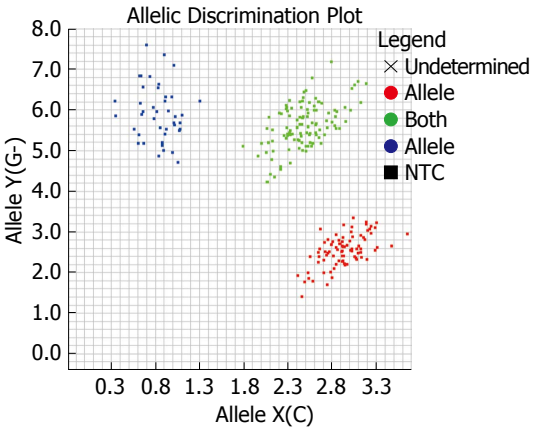

图 1 DNA聚类图.

肝炎肝硬化病例组的G等位基因频率与对照组间差异有统计学意义; 而慢性丙型肝炎肝硬化与对照组间无显著统计学差异(P_{ALD}<0.001, P_{CHB} = 0.047, P_{CHC} = 0.056). 以携带G等位基因分组, 将Child分级得分分为<7分组及≥7分组, 分别检测各病例组间Child分级是否存在统计学差异, 结果差异未见明显统计学意义(P_{ALD} = 0.341, P_{CHB} = 0.7, P_{CHC} = 0.911). 其余临床参数差异未见明显统计学意义(表2).

2.3 *PNPLA3* rs738409 C>G基因多态性与酒精性肝硬化的相关性 酒精性肝硬化病例组中PNPLA3 rs738409 C>G G/G基因型频率与健康对照组相比存在显著差异(OR = 4.239, 95%CI: 2.003-8.971, P<0.001). 酒精性肝硬化携带PNPLA3 G/G基因型与C/G基因型相比, ORGG明显大于ORCG.

2.4 *PNPLA3* rs738409 C>G基因多态性与慢性乙型肝炎肝硬化相关性 慢性乙型肝硬化病例组中PNPLA3 rs738409 C>G C/G基因型频率与健康对照组相比差异存在统计学意义(OR = 1.98, 95%CI: 1.115-3.516, P = 0.019). 但未在G/G基因型中观察到差异无统计学意义(P = 0.34). 考虑乙型肝炎肝硬化病例组中并未完全排除有饮酒史患者, 故以饮酒史进行分组, 分别进行G等位基因频率统计学分析差异未见明显统计学意义(P = 0.321). 对比饮酒组与非饮酒组各临床参数, 除ALB外, 其余差异均无统计学意义. 但二者并无相关(P = 0.057). TBIL在G等位基因携带中表现出统计学差异(P = 0.039), 但二者并未表现出明显相关性(P = 0.258, Spearman相关系数 = 0.122)(表3).

2.5 *PNPLA3* rs738409 C>G基因多态性与慢性丙型肝炎肝硬化相关性 慢性丙型肝炎肝硬化病例组中, G等位基因频率与健康对照组无明显差异, 考虑丙型肝炎肝硬化病例组中并未完全排除有饮酒史患者, 故以饮酒史进行分组, 分别进行G等位基因频率统计学分析, 无明显差异(P = 0.737). 对比饮酒组与非饮酒组各临床参数之间有差异无统计学意义(表3). 饮酒组与非饮酒组仅有TBIL存在统计学差异, 但其与饮酒仅为低度正相关(Spearman相关系数 = 0.328).

3 讨论

PNPLA3又称为脂肪营养素, 属于patatin样磷脂酶家族[19]. 关于体外重组人PNPLA3的研究[20]发现: PNPLA3通过酰基辅酶A通路参与酰基甘油酯转酰基作用及甘油三酯水解. 大量研究[6,10,21,22]显示PNPLA3 I148M rs738409与肝病脂肪变性及纤维化进程存在显著遗传特性. 此次试验着重探究了在中国汉族人群中rs738409变异与肝硬化的相关性.

实验研究发现: 在中国汉族人群中, *PNPLA3*

表 2　各病例组临床参数与G等位基因的关系比较

分组	参数	携带G等位基因者	非携带G等位基因者	*P*值
ALD	性别(男/女)	52/1	29/1	1.000[2]
	年龄	52.300±9.965	53.270±8.982	0.662
	ALT(IU/L)	25.00(8.00–356.00)	38.00(6.00–253.00)	0.702
	AST(IU/L)	52.00(16.00–439.00)	46.50(10.00–280.00)	0.754
	GGT(IU/L)	109.00(12.00–2263.00)	79.00(11.00–1587.00)	0.606
	TBIL(μmol/L)	31.40(8.30–335.00)	25.45(4.10–307.50)	0.696
	ALB(g/L)	28.30(20.00–53.50)	29.55(21.00–40.60)	0.872
	INR	1.410(0.890–2.430)	1.220(0.970–1.620)	0.052[1]
CHB	性别(男/女)	49/11	21/7	0.470[2]
	年龄	54.750±9.524	55.820±11.271	0.644
	ALT(IU/L)	34.00(8.00–612.00)	27.00(4.00–303.00)	0.399
	AST(IU/L)	64.00(14.00–747.00)	44.00(12.00–505.00)	0.669
	GGT(IU/L)	70.00(11.00–783.00)	50.00(14.00–338.00)	0.253
	TBIL(μmol/L)	29.70(8.30–558.00)	27.05(8.10–154.60)	0.039[1]
	ALB(g/L)	30.15(20.20–52.00)	27.40(19.00–42.60)	0.321
	INR	1.360(1.00–3.940)	1.330(0.920–1.820)	0.186
CHC	性别(男/女)	12/22	13/6	0.021[2]
	年龄	56.150±8.624	62.00±9.594	0.281
	ALT(IU/L)	46.00(11.00–463.00)	60.00(13.00–167.00)	0.425
	AST(IU/L)	65.00(14.00–391.00)	65.50(16.00–148.00)	0.254
	GGT(IU/L)	80.50(14.00–530.00)	42.00(11.00–854.00)	0.456
	TBIL(μmol/L)	25.05(4.90–115.50)	21.50(11.20–47.50)	0.076[1]
	ALB(g/L)	33.55(19.70–130.70)	33.20(19.60–42.60)	0.604
	INR	1.135(0.810–2.480)	1.220(0.970–1.620)	0.414[1]

[1]采用独立样本*t*检验; [2]采用卡方检验, 其余采用方差分析. ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 门冬氨酸氨基转移酶; GGT: γ–谷氨酰转移酶; TBIL: 血清总胆红素; ALB: 血清白蛋白; ALD: 酒精性肝病; CHB: 慢性乙型病毒性肝炎; CHC: 慢性丙型病毒性肝炎. INR: 国际标准化比值.

应用要点

是否可将PNPLA3 I148M纳入常规基因筛查, 协助肝硬化治疗及评估预后, 是否可考虑加用他汀类药物或减轻体质量以协助预防原发性肝癌发展, 还有待大样本实验证实.

I148M基因变异与酒精性肝硬化呈现显著相关. 此项结论已有大量研究先后在意大利人[7,8]、英国人[9]、德国人[10]、欧洲人[11,12,21]、欧美混血人群[13]、印度人[14]等种族中得到证实. 实验中发现, 酒精性肝硬化患者携带GG等位基因与携带CG型患者相比, OR值显著升高; 同时在Chamorro等[23]的Meta分析中得到证实, 尤其携带GG基因型的个体较CC基因型罹患酒精性肝硬化的危险度高出近乎4倍. Burza等[8]在对384例意大利酒精摄入危险量者(每日酒精摄入量为男性≥36 g; 女性≥24 g)的研究中发现: 在酒精摄入为危险量时, 同为*PNPLA3* I148M基因突变者中, 年长者(≥24岁)中酒精性肝硬化发病率高于年轻者(<24岁).

近期研究显示PNPLA3 I148M变异与慢性丙型病毒性肝炎肝硬化患者间存在显著相关[6,7,15], 但有趣的是, 这一结论在Nischalke等[11]、Guyot等[12]、Nakamura等[24]的研究中并未得到证实. 实验中发现中国汉族人群中慢性丙型肝炎肝硬化易感性与PNPLA3 I148M变异无明显相关. 考虑实验存在一定局限性, 样本量过少. Valenti等[25]研究发现适量但存在潜在危害的酒精摄入者中, *PNPLA3* I148M基因多态性对于肝脏脂肪样变性及肝损伤的直接影响取决于每日摄入的酒精量. 一些学者猜想PNPLA3基因型或许是由于酒精摄入而对肝损伤施以影响. 然实验中未发现*PNPLA3* I148M基因变异携带者中饮酒者与非饮酒者间存在显著差异, 考虑实验对象均无长期大量饮酒史(饮酒史>5年, 男≥40 g/d, 女≥20 g/d, 或2 wk内有大量饮酒史, 折合成乙醇量>80 g/d), 乙醇所致肝脏损伤可能不敏感. PNPLA3 I148M rs738409 C>G是否可以作为丙型肝炎肝硬化易感性的一个独立于其他变量的危险因素, 如酒精摄入, 还有待大样本实验证实.

本实验发现中国汉族乙型肝炎肝硬化易

同行评价

本文立题清晰, 结构合理, 尤其是以我国常见性危害性疾病"肝硬化"为研究对象, 具有深远的临床转化意义. 实验通过深层次的基因结构研究肝硬化的相关病因以及和原发性肝癌的因果关系, 实验方法设计合理, 具有一定的科学前景.

表 3 病毒性肝炎肝硬化饮酒组与非饮酒组临床各参数差异

参数	乙型肝炎肝硬化		*P*值	丙性肝炎肝硬化		*P*值
	饮酒组	非饮酒组		饮酒组	非饮酒组	
性别(男/女)	32/0	38/18	<0.001[2]	17/0	18/18	<0.001[2]
年龄	51.160 ± 6.648	57.340 ± 11.000	0.644	55.180 ± 7.876	58.080 ± 9.437	0.276
ALT(IU/L)	35.00 (12.00–295.00)	32.50 (4.00–612.00)	0.221[1]	78.00 (11.00–463.00)	45.50 (13.00–302.00)	0.094
AST(IU/L)	47.00 (17.00–505.00)	62.00 (12.00–747.00)	0.884	82.00 (26.00–391.00)	50.00 (14.00–273.00)	0.061[1]
GGT(IU/L)	83.00 (21.00–783.00)	52.00 (11.00–399.00)	0.086[1]	100.00 (11.00–854.00)	42.00 (14.00–461.00)	0.106[1]
TBIL(μmol/L)	34.00 (8.10–154.60)	27.90 (8.70–558.00)	0.114[1]	33.00 (9.90–115.50)	20.50 (4.90–85.60)	0.032
ALB(g/L)	27.65 (19.00–38.60)	30.00 (19.10–52.00)	0.032	32.70 (19.60–130.70)	34.20 (19.70–41.10)	0.523[1]
INR	1.400 (1.070–2.320)	1.325 (0.920–3.940)	0.967	1.270 (0.970–2.480)	1.120 (0.810–2.130)	0.081

[1]采用独立样本*t*检验; [2]采用卡方检验, 其余采用方差分析. ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 门冬氨酸氨基转移酶; GGT: γ–谷氨酰转移酶; TBIL: 血清总胆红素; ALB: 血清白蛋白; ALD: 酒精性肝病; CHB: 慢性乙型病毒性肝炎; CHC: 慢性丙型病毒性肝炎. INR: 国际标准化比值.

感性与PNPLA3 I148M存在相关性. 与Tong等[26]在对344例中国汉族乙型肝炎肝硬化的患者进行的研究中发现相反. 早在意大利人群实验中已得到PNPLA3与乙型肝炎肝硬化脂肪变性及肝纤维化进展间并无相关性[7]. 然而, Brouwer等[27]通过对531例进行有效肝活检的慢性乙型肝炎患者的研究中发现: *PNPLA3*基因多样性与肝脏脂肪样变性、脂肪性肝炎存在相关性, 且独立于种族、病毒作用; 与进行性肝纤维化不相关. 也有研究[28]显示PNPLA3与中国汉族慢性乙型病毒性肝炎的发生、发展存在相关性. 由于实验存在一定的局限性, 样本量过少, 且同时未完全排除有饮酒史的患者. PNPLA3对脂肪变性的影响受内环境调控[25], 且酒精也是肝脏损伤的独立危险因素之一. 故考虑实验结论可能为酒精对肝脏的作用叠加所致, 然而饮酒者与非饮酒者其G等位基因频率及临床各参数均无显著统计学差异. 近期研究[29-31]显示大约有1/3的慢性乙型肝炎患者同时发现患有NAFLD, 而10-29%的脂肪性肝炎患者可能于10年内进展为肝硬化[32]. 目前考虑PNPLA3 I148M与中国汉族人群乙型肝炎肝硬化存在相关性, 但PNPLA3 I148M与慢性乙型肝炎肝硬化易感性是否独立相关, PNPLA3 I148M是否仅与严重脂肪样变性且持续摄入酒精的慢性乙型肝炎肝硬化患者相关, 是否存在其他混杂因素导致该阳性结果, 还有待大样本实验证实.

实验并未得出PNPLA3 I148M rs738409 C>G与肝硬化原发性肝细胞癌相关, 考虑样本量过少. 目前*PNPLA3* I148M基因变异与肝细胞癌相关性的研究大部分仍为小样本的病例对照, 无法完全排除潜在偏移及混杂因素, 故无法得出确定结论. Guyot等[12]通过长期随访研究发现: *PNPLA3* I148M rs738409基因多态性与酒精性肝硬化患者相关, 是肝细胞癌的一个较高的危险因素. 但目前PNPLA3 I148M如何参与调控肝细胞癌的机制还尚不清楚. 研究显示[33]携带PNPLA3 I148M GG基因型的慢性乙型肝炎患者该基因变异与肝脏铁蛋白沉积独立相关; 而肝脏铁蛋白与肝脏疾病进展及肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发展相关[34,35]. 近来研究显示[36]: PNPLA3在肝星状细胞中参与调控视黄醇活性、胰岛素及与脂滴含量呈负相关; PNPLA3在体内及体外均表现出视黄基棕榈酸酯酶活性; 而I148M变异性则缺乏该酶活性. 同时体循环的视黄醇主要与RBP4相结合[37], RBP4的含量与体循环视黄醇显著相关[38]. 而148M等位基因的纯合子型相较148I, RBP4水平下降[36]. PNPLA3 148M蛋

白由于酶活性缺乏, 诱导细胞内视黄醇潴留. 视黄醇是由类维生素A在肠道内吸收并以视黄酯形式经由酯糜形式转运至肝细胞[39]水解而得[40]. 类维生素A除了参与调控细胞的增殖及分化[41,42], 同时还参与恶性肿瘤的治疗[42,43]及防治肝细胞癌[44,45]. 此研究明确了PNPLA3 I148M在类维生素代谢中的重要作用, 同时对于PNPLA3如何影响肝纤维化及参与肝细胞癌予以重要启示. 也有实验发现[46], 在适量加用他汀类药物并不会加重肝病患者肝损伤, 实验观察到他汀药物可降低HCC的风险(但仍需大样本实验及长期随访证实).

研究仍存在局限性. 样本量较少; 病毒性肝炎肝硬化实验样本纳入时, 并未完全排除有饮酒史的样本. 诊断肝硬化标准并未采用肝活检这一有创检查, 在选择样本纳入时, 可能存在选择偏移. 由于缺乏肝活检资料, 实验评估PNPLA3 I148M与肝损伤相关性时采用检测ALT、AST、TBIL、ALB、Child-Puge分级等指标, 评价损伤程度不够直观. 但就我们所知, 本研究是目前第一篇探究PNPLA3 I148M与中国汉族肝硬化病因学相关性的研究.

是否可将PNPLA3 I148M纳入常规基因筛查, 协助肝硬化治疗及评估预后, 是否可考虑加用他汀类药物或减轻体质量以协助预防原发性肝癌发展, 还有待大样本实验证实. 总之, 研究认为PNPLA3 I148M rs738409 C>G与中国汉族酒精性肝硬化易感性相关, 同时与乙型肝炎肝硬化易感性可能相关.

4 参考文献

1 于建国. 关注肝纤维化与肝硬化的防治研究. 中华医学会第十四次全国病毒性肝炎及肝病学术会议论文集, 2009: 232-235

2 Wilson PA, Gardner SD, Lambie NM, Commans SA, Crowther DJ. Characterization of the human patatin-like phospholipase family. *J Lipid Res* 2006; 47: 1940-1949 [PMID: 16799181 DOI: 10.1194/jlr.M600185-JLR200]

3 Huang Y, He S, Li JZ, Seo YK, Osborne TF, Cohen JC, Hobbs HH. A feed-forward loop amplifies nutritional regulation of PNPLA3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 7892-7897 [PMID: 20385813 DOI: 10.1073/pnas.1003585107]

4 Browning JD, Cohen JC, Hobbs HH. Patatin-like phospholipase domain-containing 3 and the pathogenesis and progression of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 1189-1192 [PMID: 20879029 DOI: 10.1002/hep.23946]

5 Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008; 40: 1461-1465 [PMID: 18820647 DOI: 10.1038/ng.257]

6 Valenti L, Rumi M, Galmozzi E, Aghemo A, Del Menico B, De Nicola S, Dongiovanni P, Maggioni M, Fracanzani AL, Rametta R, Colombo M, Fargion S. Patatin-like phospholipase domain-containing 3 I148M polymorphism, steatosis, and liver damage in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 53: 791-799 [PMID: 21319195 DOI: 10.1002/hep.24123]

7 Falleti E, Fabris C, Cmet S, Cussigh A, Bitetto D, Fontanini E, Fornasiere E, Bignulin S, Fumolo E, Bignulin E, Pirisi M, Toniutto P. PNPLA3 rs738409C/G polymorphism in cirrhosis: relationship with the aetiology of liver disease and hepatocellular carcinoma occurrence. *Liver Int* 2011; 31: 1137-1143 [PMID: 21745286 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02534.x]

8 Burza MA, Molinaro A, Attilia ML, Rotondo C, Attilia F, Ceccanti M, Ferri F, Maldarelli F, Maffongelli A, De Santis A, Attili AF, Romeo S, Ginanni Corradini S. PNPLA3 I148M (rs738409) genetic variant and age at onset of at-risk alcohol consumption are independent risk factors for alcoholic cirrhosis. *Liver Int* 2014; 34: 514-520 [PMID: 24102786 DOI: 10.1111/liv.12310]

9 Way MA. McQuillin HMD, Gurling MY, Morgan, UCL Molecular Psychiatry, UCL Institute for Liver & Digestive Health. The PNPA3 I148M mutation significantly increases the risk of developing alcohol-related cirrhosis in alcohol dependent individuals. *J Hepatol* 2013; 58: S563 [DOI: 10.1016/S0168-8278(13)61403-8]

10 Stickel F, Buch S, Lau K, Meyer zu Schwabedissen H, Berg T, Ridinger M, Rietschel M, Schafmayer C, Braun F, Hinrichsen H, Günther R, Arlt A, Seeger M, Müller S, Seitz HK, Soyka M, Lerch M, Lammert F, Sarrazin C, Kubitz R, Häussinger D, Hellerbrand C, Bröring D, Schreiber S, Kiefer F, Spanagel R, Mann K, Datz C, Krawczak M, Wodarz N, Völzke H, Hampe J. Genetic variation in the PNPLA3 gene is associated with alcoholic liver injury in caucasians. *Hepatology* 2011; 53: 86-95 [PMID: 21254164 DOI: 10.1002/hep.24017]

11 Nischalke HD, Berger C, Luda C, Berg T, Müller T, Grünhage F, Lammert F, Coenen M, Krämer B, Körner C, Vidovic N, Oldenburg J, Nattermann J, Sauerbruch T, Spengler U. The PNPLA3 rs738409 148M/M genotype is a risk factor for liver cancer in alcoholic cirrhosis but shows no or weak association in hepatitis C cirrhosis. *PLoS One* 2011; 6: e27087 [PMID: 22087248 DOI: 10.1371/journal.pone.0027087]

12 Guyot E, Sutton A, Rufat P, Laguillier C, Mansouri A, Moreau R, Ganne-Carrié N, Beaugrand M, Charnaux N, Trinchet JC, Nahon P. PNPLA3 rs738409, hepatocellular carcinoma occurrence and risk model prediction in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2013; 58: 312-318 [PMID: 23069476 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.09.036]

13 Tian C, Stokowski RP, Kershenobich D, Ballinger DG, Hinds DA. Variant in PNPLA3 is associated

with alcoholic liver disease. *Nat Genet* 2010; 42: 21-23 [PMID: 19946271 DOI: 10.1038/ng.488]
14 Dutta AK. Genetic factors affecting susceptibility to alcoholic liver disease in an Indian population. *Ann Hepatol* 2013; 12: 901-907 [PMID: 24114820]
15 Corradini SG, Burza MA, Molinaro A, Romeo S. Patatin-like phospholipase domain containing 3 sequence variant and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 53: 1776; author reply 1777 [PMID: 21351112]
16 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南(2010年修订版). 中华肝脏病杂志 2010; 18: 167-170
17 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版). 肝脏 2011; 16: 2-16
18 中华医学会肝病学分会, 中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. 深圳国际消化病论坛, 2005
19 Baulande S, Lasnier F, Lucas M, Pairault J. Adiponutrin, a transmembrane protein corresponding to a novel dietary- and obesity-linked mRNA specifically expressed in the adipose lineage. *J Biol Chem* 2001; 276: 33336-33344 [PMID: 11431482 DOI: 10.1074/jbc.M105193200]
20 Jenkins CM, Mancuso DJ, Yan W, Sims HF, Gibson B, Gross RW. Identification, cloning, expression, and purification of three novel human calcium-independent phospholipase A2 family members possessing triacylglycerol lipase and acylglycerol transacylase activities. *J Biol Chem* 2004; 279: 48968-48975 [PMID: 15364929 DOI: 10.1074/jbc.M407841200]
21 Trépo E, Gustot T, Degré D, Lemmers A, Verset L, Demetter P, Ouziel R, Quertinmont E, Vercruysse V, Amininejad L, Deltenre P, Le Moine O, Devière J, Franchimont D, Moreno C. Common polymorphism in the PNPLA3/adiponutrin gene confers higher risk of cirrhosis and liver damage in alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 906-912 [PMID: 21334404 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.01.028]
22 Trépo E, Pradat P, Potthoff A, Momozawa Y, Quertinmont E, Gustot T, Lemmers A, Berthillon P, Amininejad L, Chevallier M, Schlué J, Kreipe H, Devière J, Manns M, Trépo C, Sninsky J, Wedemeyer H, Franchimont D, Moreno C. Impact of patatin-like phospholipase-3 (rs738409 C& gt; G) polymorphism on fibrosis progression and steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 54: 60-69 [PMID: 21488075 DOI: 10.1002/hep.24350]
23 Chamorro AJ, Torres JL, Mirón-Canelo JA, González-Sarmiento R, Laso FJ, Marcos M. Systematic review with meta-analysis: the I148M variant of patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene (PNPLA3) is significantly associated with alcoholic liver cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2014; 40: 571-581 [PMID: 25060292 DOI: 10.1111/apt.12890]
24 Nakamura M, Kanda T, Nakamoto S, Miyamura T, Jiang X, Wu S, Yokosuka O. No correlation between PNPLA3 rs738409 genotype and fatty liver and hepatic cirrhosis in Japanese patients with HCV. *PLoS One* 2013; 8: e81312 [PMID: 24349054 DOI: 10.1371/journal.pone.0081312]
25 Valenti L, Colombo M, Fargion S. Modulation of the effect of PNPLA3 I148M mutation on steatosis and liver damage by alcohol intake in patients with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2011; 55: 1470-1471; author reply 1471-1472 [PMID: 22100032 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.04.032]
26 Tong J, Guo J, Hu J, Hou S, Zhang Y, Li Q. Correlation between patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 gene polymorphisms and liver cirrhosis in a chinese han population with chronic hepatitis B. *Hepat Mon* 2014; 14: e18943 [PMID: 25337145 DOI: 10.5812/hepatmon.18943]
27 Brouwer WP, van der Meer AJ, Boonstra A, Pas SD, de Knegt RJ, de Man RA, Hansen BE, ten Kate FJ, Janssen HL. The impact of PNPLA3 (rs738409 C>G) polymorphisms on liver histology and long-term clinical outcome in chronic hepatitis B patients. *Liver Int* 2015; 35: 438-447 [PMID: 25284145]
28 姜曼, 辛永宁, 王卫滨, 林中华, 张丁丁, 李长严, 姜相君, 宣世英. 青岛地区汉族人群PNPLA3基因rs738409(C→G)多态性与慢性乙型肝炎的相关性. 中华肝脏病杂志 2014; 22: 340-343
29 Bondini S, Kallman J, Wheeler A, Prakash S, Gramlich T, Jondle DM, Younossi ZM. Impact of non-alcoholic fatty liver disease on chronic hepatitis B. *Liver Int* 2007; 27: 607-611 [PMID: 17498244 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2007.01482.x]
30 Yun JW, Cho YK, Park JH, Kim HJ, Park DI, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Son BH, Shin JH. Hepatic steatosis and fibrosis in young men with treatment-naïve chronic hepatitis B. *Liver Int* 2009; 29: 878-883 [PMID: 19192167 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.01976.x]
31 Wong VW, Wong GL, Chu WC, Chim AM, Ong A, Yeung DK, Yiu KK, Chu SH, Chan HY, Woo J, Chan FK, Chan HL. Hepatitis B virus infection and fatty liver in the general population. *J Hepatol* 2012; 56: 533-540 [PMID: 22027575 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.09.013]
32 Cohen JC, Horton JD, Hobbs HH. Human fatty liver disease: old questions and new insights. *Science* 2011; 332: 1519-1523 [PMID: 21700865 DOI: 10.1126/science.1204265]
33 Kawaguchi T, Sumida Y, Umemura A, Matsuo K, Takahashi M, Takamura T, Yasui K, Saibara T, Hashimoto E, Kawanaka M, Watanabe S, Kawata S, Imai Y, Kokubo M, Shima T, Park H, Tanaka H, Tajima K, Yamada R, Matsuda F. Genetic polymorphisms of the human PNPLA3 gene are strongly associated with severity of non-alcoholic fatty liver disease in Japanese. *PLoS One* 2012; 7: e38322 [PMID: 22719876 DOI: 10.1371/journal.pone.0038322]
34 Kowdley KV. Iron, hemochromatosis, and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127: S79-S86 [PMID: 15508107 DOI: 10.1016/j.gastro.2004.09.019]
35 Lambrecht RW, Sterling RK, Naishadham D, Stoddard AM, Rogers T, Morishima C, Morgan TR, Bonkovsky HL. Iron levels in hepatocytes and portal tract cells predict progression and outcomes of patients with advanced chronic

hepatitis C. *Gastroenterology* 2011; 140: 1490-1500. e3 [PMID: 21335007]
36 Pirazzi C, Valenti L, Motta BM, Pingitore P, Hedfalk K, Mancina RM, Burza MA, Indiveri C, Ferro Y, Montalcini T, Maglio C, Dongiovanni P, Fargion S, Rametta R, Pujia A, Andersson L, Ghosal S, Levin M, Wiklund O, Iacovino M, Borén J, Romeo S. PNPLA3 has retinyl-palmitate lipase activity in human hepatic stellate cells. *Hum Mol Genet* 2014; 23: 4077-4085 [PMID: 24670599 DOI: 10.1093/hmg/ddu121]
37 Newcomer ME, Ong DE. Plasma retinol binding protein: structure and function of the prototypic lipocalin. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1482: 57-64 [PMID: 11058747 DOI: 10.1016/S0167-4838(00)00150-3]
38 Erikstrup C, Mortensen OH, Nielsen AR, Fischer CP, Plomgaard P, Petersen AM, Krogh-Madsen R, Lindegaard B, Erhardt JG, Ullum H, Benn CS, Pedersen BK. RBP-to-retinol ratio, but not total RBP, is elevated in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2009; 11: 204-212 [PMID: 19215278]
39 Goodman DW, Huang HS, Shiratori T. Tissue distribution and metabolism of newly absorbed vitamin a in the rat. *J Lipid Res* 1965; 6: 390-396 [PMID: 14336210]
40 Blomhoff R, Rasmussen M, Nilsson A, Norum KR, Berg T, Blaner WS, Kato M, Mertz JR, Goodman DS, Eriksson U. Hepatic retinol metabolism. Distribution of retinoids, enzymes, and binding proteins in isolated rat liver cells. *J Biol Chem* 1985; 260: 13560-13565 [PMID: 2997171]
41 Fields AL, Soprano DR, Soprano KJ. Retinoids in biological control and cancer. *J Cell Biochem* 2007; 102: 886-898 [PMID: 17902161 DOI: 10.1002/jcb.21530]
42 Mongan NP, Gudas LJ. Diverse actions of retinoid receptors in cancer prevention and treatment. *Differentiation* 2007; 75: 853-870 [PMID: 17634071]
43 Freemantle SJ, Spinella MJ, Dmitrovsky E. Retinoids in cancer therapy and chemoprevention: promise meets resistance. *Oncogene* 2003; 22: 7305-7315 [PMID: 14576840 DOI: 10.1038/sj.onc.1206936]
44 Muto Y, Moriwaki H, Ninomiya M, Adachi S, Saito A, Takasaki KT, Tanaka T, Tsurumi K, Okuno M, Tomita E, Nakamura T, Kojima T. Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid, polyprenoic acid, in patients with hepatocellular carcinoma. Hepatoma Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1996; 334: 1561-1567 [PMID: 8628336 DOI: 10.1056/NEJM199606133342402]
45 Muto Y, Moriwaki H, Saito A. Prevention of second primary tumors by an acyclic retinoid in patients with hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1999; 340: 1046-1047 [PMID: 10189289 DOI: 10.1056/NEJM199904013401315]
46 Siegel AB. An ounce of prevention is better than a pound of cure: a patient-centered approach to hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1499-1501 [PMID: 23509320 DOI: 10.1200/JCO.2012.48.5367]

编辑: 郭鹏　电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3700

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3700-3705
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

β-catenin和维生素D受体在结肠癌中表达的意义

张峥峥, 李 娅, 王 满, 徐 峰

背景资料
2014年全球恶性肿瘤发病率中, 结肠癌位于第3位. 大量研究表明, 维生素D通过与维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)结合, 在肿瘤的预防和治疗上发挥一定作用, 但发病机制尚未完全阐明.

张峥峥, 李娅, 徐峰, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052
王满, 郑州市第一人民医院消化内科 河南省郑州市 450000
张峥峥, 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: 本课题由李娅与张峥峥设计; 研究过程及统计分析由张峥峥与王满完成; 研究所用的材料由徐峰提供; 论文写作由张峥峥完成; 徐峰审阅.
通讯作者: 徐峰, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科.
xufengmd@sina.com
电话: 0371-66862082
收稿日期: 2015-06-14 修回日期: 2015-06-26
接受日期: 2015-07-13 在线出版日期: 2015-08-18

Significance of β-catenin and vitamin D receptor expression in colorectal carcinoma

Zheng-Zheng Zhang, Ya Li, Man Wang, Feng Xu

Zheng-Zheng Zhang, Ya Li, Feng Xu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China
Man Wang, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450000, He'nan Province, China
Correspondence to: Feng Xu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. xufengmd@sina.com
Received: 2015-06-14 Revised: 2015-06-26
Accepted: 2015-07-13 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To investigate the expression of β-catenin and vitamin D receptor (VDR) in colorectal carcinoma to explore their roles in colorectal carcinoma pathogenesis.

METHODS: The expression of β-catenin and VDR was detected by immunohistochemistry in 65 colorectal carcinoma specimens and 65 normal colorectal mucosa specimens.

RESULTS: The missing expression of β-catenin on the cell membrane and ectopic expression in colorectal carcinoma specimens and normal colorectal mucosa specimens had a significant difference ($P < 0.01$). The strongly positive expression of VDR in colorectal carcinoma specimens and normal colorectal mucosa specimens had a significant difference ($P < 0.01$). The abnormal expression of β-catenin was positively correlated with that of VDR in colorectal carcinoma ($r = 0.98$, $P < 0.01$), and both were found to be associated with lymph node metastasis and tumor invasion.

CONCLUSION: Lower expression of VDR may influence β-catenin and activate the Wnt signaling pathway in human colorectal carcinoma. Detecting the abnormal expression of β-catenin and VDR may be helpful for the diagnosis and evaluation of the prognosis of colorectal carcinoma.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: β-catenin; Vitamin D receptor; Wnt signaling pathway; Colorectal carcinoma

Zhang ZZ, Li Y, Wang M, Xu F. Significance of β-catenin and vitamin D receptor expression in colorectal carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3700-3705
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3700.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3700

同行评议者
卢宁, 副主任医师, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

摘要

目的: 分析β-catenin和维生素D受体(vitamin

D receptor, VDR)在结肠癌中表达的意义.

方法: 通过免疫组织化学法检测65例结肠腺癌组织和癌旁组织(距肿瘤边缘>5 cm)标本中β-catenin和VDR的表达情况, 探讨了β-catenin和VDR在结肠癌中表达的意义.

结果: β-catenin的膜表达缺失, 异位表达在结肠癌和癌旁组织中(P<0.01); VDR的强阳性表达在结肠癌和癌旁组织(P<0.01); β-catenin的异常表达与VDR的表达在结肠癌组织中表达呈正相关(r = 0.98, P<0.01), 并被发现与肿瘤的淋巴结转移和浆膜浸润有关.

结论: VDR表达的降低使得维生素D与VDR的复合物减少, 可能使得β-catenin改变, 激活Wnt通路, 在多种因素作用下导致结肠癌的发生; VDR和β-catenin的异常表达的检测对结肠癌的诊断和预后判断有提示意义.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: β-catenin; **维生素D受体**; Wnt**通路**; **结肠癌**

核心提示: 维生素D(vitamin D)通过与维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)结合, 在肿瘤的治疗和预防上发挥一定作用, 但相关机制尚未明确. VDR表达的降低使得维生素D与VDR的复合物减少, 可能使得β-catenin改变, 激活Wnt通路, 在多种因素作用下导致结肠癌的发生; VDR和β-catenin的异常表达的检测对结肠癌的诊断和预后判断有提示意义.

张峥峥, 李娅, 王满, 徐峰. β-catenin和维生素D受体在结肠癌中表达的意义. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3700-3705
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3700.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3700

0 引言

2014年全球结肠癌患者新发病例数近137万, 目前居恶性肿瘤发病率第3位[1]. 随着近几年我国居民生活习惯、饮食结构及环境的改变, 结肠癌的发病率不断上升[2]. 据2012中国肿瘤登记年报显示, 结肠癌的发病率较前升高, 跃居第2. 大量研究表明, 维生素D通过与维生素D受体(vitamin D receptor, VDR)结合, 在包括结肠癌[3,4]、胰腺癌[5]、食管癌[6]、肺癌[7]、肝癌[8]及卵巢癌[9]等肿瘤的预防和治疗上发挥一定作用, 但对于相关机制, 研究尚未明确. 本文通过检测65例结肠腺癌组织和癌旁组织标本中β-catenin和VDR的表达情况, 探讨了β-catenin和VDR在结肠癌中表达的意义.

研发前沿
维生素D为结肠癌的保护因素, 可抑制结肠内β-catenin相关基因表达, 从而在肿瘤的预防治疗中发挥作用.

1 材料和方法

1.1 材料 收集郑州大学第一附属医院手术切除的结肠腺癌组织65例和相应的癌旁组织织(距肿瘤边缘>5 cm); 所有患者既往无肠道相关疾病, 术前未进行放化疗和生物治疗; 其中男性36例, 女性29例; 年龄30-79岁, 中位年龄50岁; 有淋巴结转移54例, 无淋巴结转移11例; 按组织学分级, 高中分化19例, 低分化46例; 有浆膜浸润55例, 无浆膜浸润10例; 根据TNM分期, Ⅰ期10例、Ⅱ期1例、Ⅲ期48例、Ⅳ期6例; 鼠抗人β-catenin单克隆抗体(浓缩型)为英国Abcam公司产品; 鼠抗人VDR单克隆抗体(浓缩型)为美国Santa Cruz公司产品; 通用型SP试剂盒和DAB显色试剂盒为北京中山生物技术有限公司产品.

1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学检测: 取标本蜡块进行连续切片, 切片常规脱蜡, 采用链酶卵白素-生物素过氧化物酶法(streptavidin peroxidase, SP)染色. 0.01 mol/L的枸橼酸盐缓冲液微波修复抗原. 实验步骤按照试剂盒说明书进行, DAB染色, 苏木素复染, 中性树胶封固. PBS代替一抗作为阴性对照. 已知阳性片作为阳性对照.

1.2.2 结果判定: 免疫组织化学阳性信号为棕黄色颗粒. β-catenin染色结果判定标准按照Maruyama等[10]方法, 分别从细胞膜、胞浆、胞核三方面判断β-catenin在细胞内的分布: 细胞膜阳性表达细胞细胞率>70%为正常表达, 反之则为表达降低或缺失; 胞浆或胞核阳性表达细胞率>10%为异位表达. 细胞膜表达缺失与异位表达均属于异常表达.

VDR表达阳性结果判定标准按照缪玉娥等[11]方法: 每例随机测计10个高倍视野内阳性细胞的百分率, 结合染色强度进行评分. 以细胞质中出现棕黄色颗粒为阳性细胞: 阳性细胞比例≤5%计0分, 6%-10%计1分, 11%-30%计2分, >30%计3分. 胞质染色与周围间质几乎相同者计0分, 与周围间质可区分者计1分; 染色呈深棕黄色, 与间质明显区别者计3分, 介于两

相关报道
李悠然等指出近85%的结直肠癌均由Wnt经典信号通路的异常激活造成; Xu等通过外源性补充维生素D及类似物, 发现小鼠结肠息肉数目及肿瘤负荷明显降低, 提示维生素D可抑制结肠内β-catenin相关基因表达.

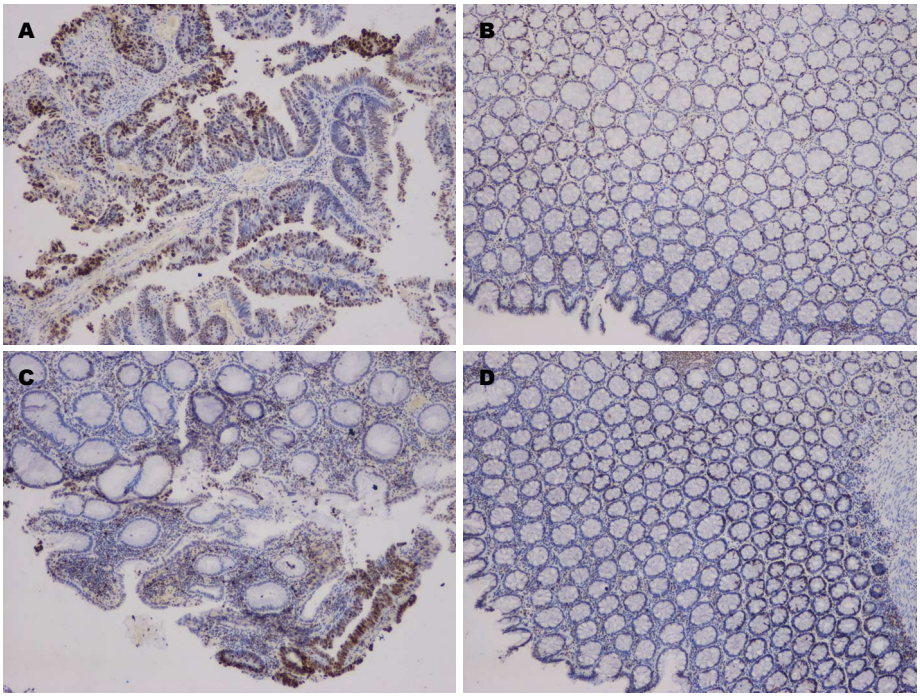

图 1 β-catenin及VDR在结肠癌组织及癌旁组织中的表达(SP×100). A: β-catenin在结肠癌组织中的表达; B: β-catenin在癌旁组织中的表达; C: VDR在结肠癌组织中的表达; D: VDR在癌旁组织中的表达. VDR: 维生素D受体.

者之间计2分. 两者相加后评分≤1分为阴性, 2-3分为+, 4-5分为++ , >5分为+++.

统计学处理 采用SPSS17.0统计学软件进行分析, 免疫组织化学结果相关性分析组间采用卡方检验, 不满足χ^2条件(理论频数<1)时选择Fisher精确检验; 指标间采用Spearman等级相关分析, 分析均采用双侧检验, 检验水准α = 0.05. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 β-catenin和VDR在结肠癌和癌旁组织中的表达 β-catenin在癌旁组织中表达于上皮细胞的细胞膜上, 而结肠癌组织中可见于部分细胞胞浆与胞核中表达(图1A, B), β-catenin在结肠癌和癌旁组织膜表达缺失分别为48、3例, 异位表达为56、1例, 异常表达为64、3例和正常表达1、62例(P<0.01).

癌旁组织中VDR强阳性表达, 表达的细胞主要为黏膜上皮细胞与腺管上皮细胞, 而在细胞中, VDR集中表达于细胞核; 结肠癌组织的细胞中VDR有不同程度的表达, 主要集中在癌巢(图1C, D); 本研究中, VDR的强阳性表达在结肠癌和癌旁组织中具有显著差异性(6 *vs* 23, P<0.01); VDR的非强阳性表达在结肠癌组织和癌旁组织中无显著差异性(中等阳性: 39 *vs* 31, 弱阳性: 20 *vs* 11, P>0.05).

2.2 β-catenin和VDR在结肠癌中的表达及与临床病理因素的关系 β-catenin的异常表达与结肠癌患者的年龄、性别及分化程度无关, 而与淋巴结转移和浆膜浸润有关; 而VDR的异常表达与结肠癌患者的性别、年龄无关, 而与分化程度、淋巴结转移及浆膜浸润有关(表1).

2.3 β-catenin的异常表达和VDR表达的相关性分析 结肠癌组织中β-catenin的异常表达与VDR表达的相关性分析中, 可知结肠癌组织中β-catenin的异常表达与VDR表达为正相关(r = 0.98, P<0.01); 癌旁组织中β-catenin的异常表达与VDR表达为正相关(r = 1.00, P<0.01).

3 讨论

结肠癌的发生是一个多级程序介导的过程[12]. 目前流行病学和基础研究[13-15]均认为维生素D为结直肠癌的保护因素; 维生素D可通过与靶细胞中的VDR结合形成复合物, 作用于靶基因上特定的DNA序列, 从而对结构基因的表达产生调节作用. 因此, 结直肠癌组织中VDR的表达水平很大程度上决定了维生素D起作用的程度.

VDR是核内生物大分子, 为类固醇激素/甲状腺激素受体超家族的成员. 人*VDR*基因位

表 1　β-catenin及VDR在结肠癌组织中的表达与临床病理因素的关系

因素	*n*	β-catenin		χ^2/(Fisher)值	*P*值	VDR		χ^2/(Fisher)值	*P*值
		正常表达	异常表达			+ / ++	+++		
性别				(Fisher)	0.55			0.02	0.89
男	36	1	35			23	13		
女	29	0	29			19	10		
年龄(岁)				0.52	0.47			0.19	0.67
<50	22	0	22			15	7		
≥50	43	1	42			27	16		
淋巴转移				4.99	0.03			(Fisher)	0.04
有	54	0	54			38	16		
无	11	1	10			4	7		
分化程度				2.46	0.12			34.35	<0.01
高中分化	19	1	18			2	17		
低分化	46	0	46			40	6		
浆膜浸润				5.59	0.02			(Fisher)	0.03
有	55	0	55			39	16		
无	10	1	9			3	7		

VDR: 维生素D受体.

创新盘点

既往关于VDR和β-catenin表达的相关性分析中, 多为动物实验; 本文通过免疫组织化学法检测65例患者结肠腺癌组织及癌旁组织(距肿瘤边缘>5 cm)标本中β-catenin及VDR的表达情况, 探讨了β-catenin和VDR在结肠癌中表达的意义.

于染色体12q13-14, 长约75 kb, 由9个外显子、8个内含子组成. 正常结肠黏膜有很强的VDR表达, 而结肠癌组织中VDR表达较弱, 有较多的细胞核着色淡且核中表达很不均匀. 在二甲肼诱癌实验中, 大鼠肠黏膜中的VDR表达在癌前病变时期已有显著下降, 是结肠肿瘤的发生发展过程中早期事件[16]; 有研究[17]证实缺乏VDR的小鼠, 结肠上皮细胞的增殖和氧化的DNA损伤增加, 预示VDR敲除鼠有发生结肠肿瘤的倾向; 在本研究中, VDR表达与结肠癌的分化程度、淋巴结转移及浆膜浸润密切相关, 检测VDR表达可作为结肠肿瘤预后的判断依据之一.

β-catenin是一种分子量为90 kDa多功能蛋白质, 他与E-黏附素(E-cadherin)的胞浆端相连构成E-cadherin/β-catenin复合物, 参与构成细胞间黏附连接, 对于维持上皮的极性和完整性有重要作用[18,19]. β-catenin又是Wnt信号途径的下游元件. 既往研究[20-22]表明, β-catenin的改变可激活Wnt信号通路, 这与结肠癌的始发密切相关. 李悠然等[23]指出85%遗传性和散发性的结直肠癌都是由于*APC*基因和*β-catenin*基因突变引起Wnt经典信号通路的异常激活造成. 在正常成熟细胞中, Wnt通路处于关闭状态[24], 胞质中的β-catenin大部分与突出胞膜表面的E-cadherin结合, 小部分形成蛋白多聚体, 多聚体在特定情况下可被识别降解. 而当Wnt通路被激活时, 蛋白多聚体中的β-catenin无法被降解. β-catenin在胞质中逐渐蓄积, 达到一定浓度时可转移至细胞核. 而胞核中β-catenin的积聚可启动转录, 调控相应的基因表达, 进一步介导了生长和发育信号的传递, 其过度转导和异常活化可能会引起细胞的恶性转化和肿瘤的发生[25]. 本研究中结肠腺癌中β-catenin明显异于正常大肠组织, 在胞质与胞核中异常表达也印证这一点.

有研究[26]表明, 在VDR缺失的Apcmin/+的小鼠模型中, 核内的β-catenin表达水平升高, WNT通路靶基因的表达也升高, 随之引起肿瘤的体积的增加; Guo等[27]发现, VDR可参与高血糖导致的β-catenin的核异位; 体外实验观察到的配体化的VDR与β-catenin的交互作用提示VDR的结合可以阻止β-catenin移位至核内的可能, 致使β-catenin被蛋白酶更大程度的降解. Xu等[28]通过每周3次注射1,25-羟基维生素D和类似物, 连续12 wk研究发现Apcmin/+小鼠的息肉数目和肿瘤负荷明显降低, 从而提示其与抑制小肠和结肠内β-catenin相关基因表达有关. Johnson等[29]人在体外实验中发现乳腺癌细胞中VDR的激活可以降低β-catenin

应用要点

本研究发现, β-catenin的异常表达与结肠癌淋巴结转移及浆膜浸润有关, 而VDR的异常表达与结肠癌分化程度、淋巴结转移及浆膜浸润有关, 提示VDR和β-catenin的异常表达对结肠癌的诊断有提示意义.

的活性, 从而导致WNT信号通路受到抑制; 同样, DeWitt等[30]认为在体外, 1,25-羟基维生素D可以通过增强VDR和β-catenin相互作用从而抑制β-catenin调节基因. 以上均证实VDR的改变可以影响β-catenin的表达. 本研究中, 通过对结肠癌与癌旁组织中VDR表达与β-catenin的异常表达相关分析, 可得出两者正相关, 可推测, VDR表达的降低使得维生素D与VDR的复合物减少, 从而使得β-catenin改变, 激活Wnt通路, 在多种因素作用下导致结肠癌的发生. 总之, VDR和β-catenin异常表达的检测对结肠癌的诊断有提示意义, 给结肠癌的预防和早期诊治提供新思路.

4 参考文献

1 王建平. 结直肠癌治疗临床研究新热点. 中华外科杂志 2014; 52: 801-802

2 邹艳芳, 田永, 徐峰. Bmi-1和Mel-18基因在大肠癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 397-402

3 Bikle DD. Vitamin D and cancer: the promise not yet fulfilled. *Endocrine* 2014; 46: 29-38 [PMID: 24402695 DOI: 10.1007/s12020-013-0146-1]

4 Byers SW, Rowlands T, Beildeck M, Bong YS. Mechanism of action of vitamin D and the vitamin D receptor in colorectal cancer prevention and treatment. *Rev Endocr Metab Disord* 2012; 13: 31-38 [PMID: 21861107 DOI: 10.1007/s11154-011-9196-y]

5 陈文浩, 杨明, 张艳桥. 维生素D及其受体在胰腺癌中的研究进展. 中国肿瘤 2015; 24: 307-313

6 李刚, 余敏, 蒋迎九. 维生素D与食管癌. 实用肿瘤杂志 2014; 29: 478-481

7 胡勇志, 周逸鹏, 黎书炜, 张锡彦, 张鹤美, 雷永良, 张增利, 童建, 李冰燕. 1,25-二羟基维生素D3增强卡铂对人肺癌A549细胞的杀伤效果. 肿瘤防治研究 2013; 40: 125-130

8 颜朗, 孔宪炳. Smo、Gli1在大鼠肝癌中的表达及维生素D3对Smo、Gli1的抑制. 中国癌症杂志 2011; 21: 36-40

9 薛昕, 叶纪诚, 贾宇臣, 李薇, 李存保. 维生素D受体mRNA在卵巢癌细胞增殖中的作用. 内蒙古医学院学报 2010; 32: 289-293

10 Maruyama K, Ochiai A, Akimoto S, Nakamura S, Baba S, Moriya Y, Hirohashi S. Cytoplasmic beta-catenin accumulation as a predictor of hematogenous metastasis in human colorectal cancer. *Oncology* 2000; 59: 302-309 [PMID: 11096342 DOI: 10.1159/000012187]

11 缪玉娥, 王钰, 王淄博. 胃癌及其癌旁黏膜中维生素D受体的表达. 山东大学学报(医学版) 2012; 50: 74-77

12 Klampfer L. Vitamin D and colon cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2014; 6: 430-437 [PMID: 25400874 DOI: 10.4251/wjgo.v6.i11.430]

13 Larriba MJ, González-Sancho JM, Barbáchano A, Niell N, Ferrer-Mayorga G, Muñoz A. Vitamin D Is a Multilevel Repressor of Wnt/b-Catenin Signaling in Cancer Cells. *Cancers* (Basel) 2013; 5: 1242-1260 [PMID: 24202444 DOI: 10.3390/cancers5041242]

14 于慧会, 魏立璇, 刘运泳, 邢晓静. 25-羟基维生素D与结肠癌关系的Meta分析. 肿瘤防治研究 2015; 42: 394-398

15 方莹, 宋皓军, 丁小云. 维生素D抗结肠癌的研究进展. 肿瘤 2014; 34: 1064-1068

16 唐伟军, 钟鸣, 王少华, 陈锦先, 王平治, 吴志勇. 直肠癌中维生素D受体表达的研究. 肿瘤 2001; 21: 114-116

17 康红, 郑维, 谢靖, 李洋, 张超杰, 唐梅徕, 范培芝. 维生素D受体在肠道肿瘤生长中与β-catenin通路之间的关系. 中华医师杂志 2011; 3: 577-580

18 Ahearn TU, Shaukat A, Flanders WD, Rutherford RE, Bostick RM. A randomized clinical trial of the effects of supplemental calcium and vitamin D3 on the APC/β-catenin pathway in the normal mucosa of colorectal adenoma patients. *Cancer Prev Res* (Phila) 2012; 5: 1247-1256 [PMID: 22964475 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0292]

19 汪洋, 林从尧, 周厦. 大肠癌中β-catenin表达及与COX-2、VEGF表达的关系. 肿瘤防治研究 2006; 33: 20-22

20 Rosenbluh J, Wang X, Hahn WC. Genomic insights into WNT/β-catenin signaling. *Trends Pharmacol Sci* 2014; 35: 103-109 [PMID: 24365576 DOI: 10.1016/j.tips.2013.11.007]

21 Song X, Wang S, Li L. New insights into the regulation of Axin function in canonical Wnt signaling pathway. *Protein Cell* 2014; 5: 186-193 [PMID: 24474204 DOI: 10.1007/s13238-014-0019-2]

22 顾国利, 魏学明, 石林, 任力, 郑爱民, 黄蓉蓉, 胡益云. 大肠癌E-cadherin, β-catenin, MMP-7表达及其临床意义. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1344-1345

23 李悠然, 侯毅, 谷云飞, 陈邑岐, 竺平, 王浩. Wnt/β-catenin信号通路在结直肠癌中的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23: 1930-1936

24 Beildeck ME, Gelmann EP, Byers SW. Cross-regulation of signaling pathways: an example of nuclear hormone receptors and the canonical Wnt pathway. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1763-1772 [PMID: 20138864 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.001]

25 Salim T, Sand-Dejmek J, Sjölander A. The inflammatory mediator leukotriene D4 induces subcellular β-catenin translocation and migration of colon cancer cells. *Exp Cell Res* 2014; 321: 255-266 [PMID: 24211746 DOI: 10.1016/j.yexcr.2013.10.021]

26 王科伟, 董明. 维生素D受体在结直肠癌肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3688-3694

27 Guo J, Xia N, Yang L, Zhou S, Zhang Q, Qiao Y, Liu Z. GSK-3β and vitamin D receptor are involved in β-catenin and snail signaling in high glucose-induced epithelial-mesenchymal transition of mouse podocytes. *Cell Physiol Biochem* 2014; 33: 1087-1096 [PMID: 24732862 DOI: 10.1159/000358678]

28 Xu H, Posner GH, Stevenson M, Campbell FC. Apc(MIN) modulation of vitamin D secosteroid growth control. *Carcinogenesis* 2010; 31: 1434-1441 [PMID: 20488884 DOI: 10.1093/carcin/bgq098]

29 Johnson AL, Zinser GM, Waltz SE. Vitamin D3-dependent VDR signaling delays ron-mediated breast tumorigenesis through suppression of

β-catenin activity. *Oncotarget* 2015; 6: 16304-16320 [PMID: 26008979]
30 DeWitt M, Johnson RL, Snyder P, Fleet JC. The effect of 1,25 dihydroxyvitamin D3 treatment on the mRNA levels of β catenin target genes in mice with colonic inactivation of both APC alleles. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2015; 148: 103-110 [PMID: 25597951 DOI: 10.1016/j.jsbmb.2015.01.009]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

同行评价
本研究目标明确, 设计尚合理, 研究方法较可信, 实验数据基本可靠, 具有一定的创新性.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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6448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3706

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3706-3713
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

Ⅱ–Ⅲ期直肠癌不同治疗策略疗效的差异

刘晓梅, 阿衣古丽•哈热, 再依努尔•阿不都外力, 张瑾熔, 伊斯刊达尔•阿布力米提

背景资料
近年来, 肿瘤的治疗转向个体化, 多学科治疗模式在直肠癌治疗中得到应用, 新辅助放化疗联合手术是Ⅱ-Ⅲ期直肠癌的标准治疗方案. 但是如何针对不同的直肠癌患者采取个体化的治疗模式仍是当前迫切需要解决的问题.

刘晓梅, 阿衣古丽•哈热, 再依努尔•阿不都外力, 张瑾熔, 伊斯刊达尔•阿布力米提, 新疆医科大学附属肿瘤医院胸腹放疗科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011
刘晓梅, 在读硕士, 主要从事胸腹放疗的研究.
作者贡献分布: 刘晓梅与阿衣古丽•哈热参与课题的设计及论文写作; 再依努尔•阿不都外力参与数据分析; 伊斯刊达尔•阿布力米提与张瑾熔参与整个研究过程.
通讯作者: 伊斯刊达尔•阿布力米提, 副教授, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市苏州东路789号, 新疆医科大学附属肿瘤医院胸腹放疗科. iskandara@126.com
电话: 0991–7819522
收稿日期: 2015–05–25 修回日期: 2015–06–25
接受日期: 2015–07–06 在线出版日期: 2015–08–18

Efficacy of different treatment strategies for stage Ⅱ-Ⅲ rectal cancer

Xiao-Mei Liu, Ayiguli•Hare, Zaiyinuer•Abuduwaili, Jin-Rong Zhang, Yisikandaer•Abulimiti

Xiao-Mei Liu, Ayiguli•Hare, Zaiyinuer•Abuduwaili, Jin-Rong Zhang, Yisikandaer•Abulimiti, Department of Thoracoabdominal Radiotherapy, Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China
Correspondence to: Yisikandaer•Abulimiti, Associate Professor, Department of Thoracoabdominal Radiotherapy, Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, 789 Suzhou East Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China. iskandara@126.com
Received: 2015-05-25 Revised: 2015-06-25
Accepted: 2015-07-06 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To compare the efficacy of four treatment strategies for stage Ⅱ-Ⅲ rectal cancer and analyze prognostic factors.

METHODS: A retrospective study was conducted on 230 patients who were pathologically diagnosed with stage Ⅱ-Ⅲ rectal cancer and underwent pelvic intensity modulated radiotherapy and concurrent fluorouracil based chemotherapy between January 2010 and December 2013 at Affiliated Tumor Hospital of Xinjiang Medical University, including 68 cases receiving neoadjuvant chemoradiotherapy combined with surgery (group A), 70 cases receiving postoperative chemoradiation (group B), 51 cases receiving neoadjuvant chemoradiotherapy without surgery (group C), and 41 cases receiving radical chemoradiation (group D). (Neo-) adjuvant radiotherapy was delivered at 50 Gy in 25 fractions, and radical radiotherapy was delivered at 60-66 Gy in 30-33 fractions. Surgical patients were treated by total mesorectal excision. Time interval between radiotherapy and surgery was 4-8 wk.

RESULTS: The follow-up rate was 93.4%, and 144 patients completed the 3-year follow-up. Local recurrence in 3 years was noted in 53 cases, and 44 cases had distant metastasis in the four groups; both the 3-year recurrence rate and distant metastasis rate had no statistical significance among different groups. The 3-year overall survival (OS) and disease-free survival (DFS) rates were statistically different (P = 0.001, 0.004). The rates of OS (86.76%) and DFS (76.27%) in group A were significantly higher than those in the other groups. Complete (R0) tumor resectability was 98.5% in group A and 78.5% in group B. Main toxicities were grade 1-2 adverse events. Multivariate analysis demonstrated that neoadjuvant chemoradiotherapy without surgery (P = 0.002), age (P = 0.021) and circumferential tumor (P = 0.029) were prognostic factors.

同行评议者
朱永良, 副研究员, 浙江大学医学院附属第二医院门诊楼1104室消化实验室

CONCLUSION: Neoadjuvant chemoradiotherapy combined with surgery can achieve a higher R0 resection rate and higher OS and DFS than other treatments, representing an effective method for stage Ⅱ-Ⅲ rectal cancer. Neoadjuvant chemoradiotherapy without surgery, age and circumferential tumor are prognostic factors.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Rectal neoplasms; Postoperative chemoradiotherapy; Radical radiotherapy; Neoadjuvant chemoradiotherapy

Liu XM, Ayiguli•Hare, Zaiyinuer•Abuduwaili, Zhang JR, Yisikandaer•Abulimiti. Efficacy of different treatment strategies for stage Ⅱ-Ⅲ rectal cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3706-3713 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3706.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3706

摘要

目的: 评估Ⅱ-Ⅲ期直肠癌4种治疗策略疗效的差异并行预后分析.

方法: 回顾性分析2010-01/2013-12以氟尿嘧啶为基础同步放化疗的Ⅱ-Ⅲ期直肠癌的230例患者临床资料, 其中新辅助放化疗联合手术68例(A组)、术后辅助放化疗70例(B组)、新辅助放化疗未手术51例(C组)、根治性放化疗41例(D组). (新)辅助放疗剂量50 Gy/25次, 根治性放疗剂量60-66 Gy/30-33次, 手术方式为全直肠系膜切除术, 放疗与手术的间期为4-8 wk.

结果: 全组随访率93.4%, 144例随访满3年. 局部复发53例, 远处转移44例(P值分别为0.602, 0.073); 3年总生存率(overall survival, OS)和无病生存率(disease-free survival, DFS)差异有统计学意义(P = 0.001和0.004), A组OS(86.76%)和DFS(76.27%)均高于其他3组. A组和B组肿瘤完全切除(R0)率为98.5%、78.5%. 全组急性不良反应多为1-2级. 多因素分析, 治疗方式中新辅助放化疗(P = 0.002)、年龄(P = 0.021)及全周肿瘤(P = 0.029)是预后因素.

结论: 新辅助放化疗联合手术R0切除率较高, 并且OS和DFS较高, 是Ⅱ-Ⅲ期直肠癌有效的治疗方法. 新辅助放化疗未手术、年龄及全周肿瘤是预后因素.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 直肠癌; 术后放化疗; 根治性放疗; 新辅助放化疗

核心提示: 本研究以新辅助放化疗联合手术、术后辅助放化疗、新辅助放化疗未手术、根治性放化疗将患者分为4组, 结果显示新辅助放化疗联合手术R0切除率较高, 并且总生存率(overall survival)和无病生存率(disease-free survival)较高, 是Ⅱ-Ⅲ期直肠癌有效的治疗方法.

刘晓梅, 阿衣古丽•哈热, 再依努尔•阿不都外力, 张瑾熔, 伊斯刊达尔•阿布力米提. Ⅱ–Ⅲ期直肠癌不同治疗策略疗效的差异. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3706–3713 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3706.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3706

研发前沿

本研究表明新辅助放化疗联合手术R0切除率较高, 并且总生存率(overall survival, OS)和无病生存率(disease-free survival, DFS)高于其他方法, 是Ⅱ-Ⅲ期直肠癌有效的治疗方法, 样本量较大, 有一定的临床指导意义, 但仍需继续随访以便观察患者3年后的生存差异.

0 引言

过去的20年直肠癌的治疗发生了很大变化, 手术、放疗、化疗相结合的多学科治疗模式得到重视[1], 目前许多临床随机对照研究[2-4]多是关于术前与术后放化疗的比较, 并且证实术前放化疗优于术后放化疗, 其中最经典的研究之一是2012年更新的德国CAO/ARO/AIO-94研究[4], 认为术前放化疗降低了局部复发率. 对于新辅助放化疗后未手术患者的预后情况, 目前的研究较少, 部分研究[5]也只是关于同步放化疗达到临床完全缓解后对其生存的影响; 而关于根治性放疗目前没有相关报道. 所以, 本研究对上述4种策略直肠癌患者的临床资料进行分析, 比较不同治疗策略对其生存的影响.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性纳入2010-01/2013-12新疆医科大学附属肿瘤医院230例经病理证实的Ⅱ-Ⅲ期直肠癌, 均接受了盆腔调强放疗及同步氟尿嘧啶为基础的化疗. 共4种治疗方式分为4组: 新辅助放化疗联合手术68例(A组)、术后辅助放化疗70例(B组)、新辅助放化疗未手术51例(C组)、根治性放化疗41例(D组). 全组男性141例, 女性89例; 年龄22-89岁, 中位年龄57岁; 汉族153例、维吾尔族65例、其他少数民族12例; Ⅱ期患者97例、Ⅲ期133例. 高位直肠癌(距肛缘>10 cm)17例、低位(距肛缘<5 cm)120例、中位(距肛缘5-10 cm)93例. 腺癌202例, 其他病理类型28例. 化疗分为单药(卡培他滨化疗80例)和联合化疗(XELOX方案94

相关报道
目前国内外许多研究是关于术前与术后治疗的比较, 但是关于未手术患者的生存情况, 国内外的报道都较少.

表 1 230例II–III期直肠癌人口统计数据和临床特征 *n*(%)

特征	A组(*n* = 68)	B组(*n* = 70)	C组(*n* = 51)	D组(*n* = 41)	χ^2值	*P*值
年龄(岁)					6.466	0.373
≥60	25(36.7)	27(38.6)	18(35.3)	20(48.8)		
50–59	22(32.4)	21(30.0)	10(19.6)	11(26.8)		
<50	21(30.9)	22(31.4)	23(45.1)	10(24.4)		
性别					4.203	0.240
男	41(60.3)	38(54.3)	37(72.5)	25(61.0)		
女	27(39.7)	32(45.7)	14(27.5)	16(39.0)		
民族					4.214	0.239
汉族	46(67.6)	50(71.4)	28(54.9)	29(70.7)		
少数民族	22(32.4)	20(28.6)	23(45.1)	12(29.3)		
分期					2.916	0.405
II	24(35.3)	31(44.3)	21(41.2)	12(29.3)		
III	44(64.7)	39(55.7)	30(58.8)	29(70.7)		
病理类型					4.231	0.238
腺癌	61(89.7)	65(92.9)	42(82.4)	34(82.9)		
非腺癌	7(10.3)	5(7.1)	9(17.6)	7(17.1)		
化疗方式					2.121	0.548
单药	25(36.8)	20(28.6)	18(35.3)	17(41.5)		
联合	43(63.2)	50(71.4)	33(64.7)	24(58.5)		
管腔受侵比例					5.309	0.151
全周(≥75%)	18(26.5)	13(18.6)	18(35.3)	14(34.1)		
非全周	50(73.5)	57(81.4)	33(64.7)	27(65.9)		
肿瘤位置					2.751	0.839
低位	31(45.6)	34(48.6)	29(56.9)	21(51.2)		
中位	32(47.0)	29(41.4)	20(39.2)	17(41.5)		
高位	5(7.4)	7(10.0)	2(3.9)	3(7.3)		

A组: 新辅助放化疗联合手术; B组: 术后辅助放化疗; C组: 新辅助放化疗未手术; D组: 根治性放化疗.

例, FOLFOX方案56例). 管腔受侵比例分为全周(管腔周径受侵≥75%)和非全周. 根据临床查体及影像学检查采用AJCC第7版的分期标准明确临床分期[6]影像学检查包括胸片、腹部超声、肠镜、盆腔电子计算机断层扫描技术(computerized tomography, CT)或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)等. 直肠癌放化疗过程中常见的不良反应包括骨髓抑制、消化道反应和直肠黏膜反应, 参照美国肿瘤放射治疗协作组织(Radiation Therapy Oncology Group, RTOG)急性放射损伤分级标准[7]. 4组患者基线一致(P>0.05)(表1).

1.2 方法

1.2.1 治疗: (1)调强放疗: 患者充盈膀胱仰卧于固定板上, 用腹部有孔体模固定, 螺旋CT增强扫描(层厚5 mm)并将图像传输至放疗计划系统, 由2名以上医师(1名主任医师)完成靶区和保护器官的勾画. 放疗靶区: 肉眼可见肿瘤靶区(gross tumor volume, GTV)为直肠肿瘤及转移淋巴结; 临床靶区(clinical target volume, CTV)为直肠肿瘤或瘤床区, 直肠系膜区, 肠周、骶前、髂内淋巴引流区及盆壁区; CTV外扩0.5-1.0 cm为计划靶区(planning target volume, PTV). 靶区上、下界分别为L5-S1椎体之间、闭孔下缘或肛门边缘. PTV至少达到95%处方剂量. 正常组织剂量限定: 双侧股骨头V_{50}<5%、膀胱V_{30}<50%、小肠V_{50}<5%. 放疗采用23EX或600CD直线加速器, 分为5-7个野, 辅助放疗2 Gy/次、5次/wk、总剂量50 Gy/25次; 根治性放疗2 Gy/次、5次/wk, 总剂量60-66 Gy/30-33次; (2)化疗: 单药卡培他滨825 mg/m^2, 1000-1500 mg, 口服, 2次/d, d1-14, 每3 wk重复, XELOX方案(卡培他滨1000 mg/m^2 *bid* d1-14+奥沙利铂130 mg/m^2 d1, 每3 wk重复). FOLFOX方案(奥沙利铂

表 2 3年总生存和无病生存情况

分组	总生存时间(mo)	总生存率[%(n1/n)]	无病生存时间(mo)	无病生存率[%(n1/n)]
A组	21.43	86.76(59/68)	5.22	76.27(45/59)
B组	24.65	77.14(54/70)	10.60	44.44(24/54)
C组	14.92	60.78(31/51)	8.94	51.61(16/31)
D组	16.73	75.61(31/41)	5.12	64.52(20/31)
χ^2值		23.590		13.125
*P*值		0.001		0.004

A组: 新辅助放化疗联合手术; B组: 术后辅助放化疗; C组: 新辅助放化疗未手术; D组: 根治性放化疗.

创新盘点
本研究是针对Ⅱ-Ⅲ期直肠癌的研究, 纳入了四种治疗策略, 并对各组间的局部复发率、远处转移率、总生存率、无瘤生存率以及预后影响因素进行了分析, 对临床中直肠癌的个体化治疗有一定的指导意义.

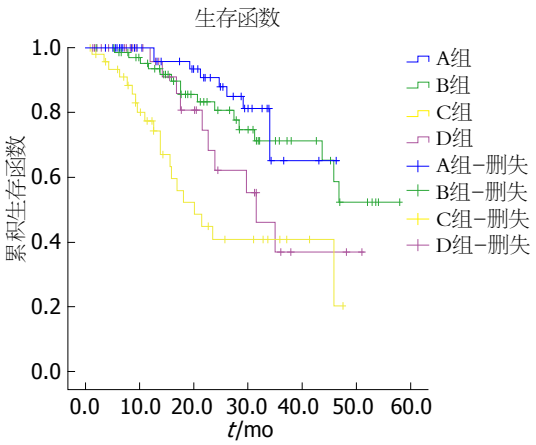

图 1 Kaplan-Meier法OS分析曲线. A组: 新辅助放化疗联合手术; B组: 术后辅助放化疗; C组: 新辅助放化疗未手术; D组: 根治性放化疗. P = 0.001.

85 mg/m^2 d1+亚叶酸钙200 mg/m^2 d1, 2+氟尿嘧啶400 mg/m^2 *iv* d1, 2+氟尿嘧啶600 mg/m^{2}持续泵入22 h, d1, 2); (3)手术方式为全直肠系膜切除术. 放疗与手术的间期为4-8 wk.

1.2.2 研究终点: 3年局部复发率、总体生存率(overall survival, OS)及无病生存率(disease-free survival, DFS)为主要研究终点. 急性不良反应(骨髓抑制、消化道反应、直肠黏膜反应)和预后因素(治疗方式、年龄、病理类型、化疗方式、肿瘤位置、管腔受侵比例、局部复发、远处转移)为次要终点.

统计学处理 采用SPSS13.0统计软件, 计数资料采用χ^2检验, 生存分析采用Kaplan-Meier法并Log-rank法作显著性检验, 多因素分析采用Cox风险比例模型, P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 随访结果 全组患者随访至2014-08, 随访时间10-52 mo, 中位随访25 mo, 失访15例, 随访率93.4%, 144例随访满3年.

2.2 局部复发和远处转移 全组局部复发53例, 其中A组10例(14.71%), B组28(40.00%)例, C组11(21.57%)例, D组4(9.76%)例(χ^2 = 18.160, P = 0.001). 远处转移44例, A组6(8.82%)例, B组15(21.43%)例, C组13(25.49%)例, D组10(24.39%)例(χ^2 = 6.975, P = 0.073).

2.3 生存情况 A组和B组R0切除率分别为98.5%(67例)、78.5%(55例), A组12例(17.6%)达到病理完全缓解. 4组3年OS和DFS有统计学意义(P = 0.001和0.004), A组3年OS(86.76%)和DFS(76.27%)均高于其他3组(表2). 生存曲线A组相对其他3组有生存优势, 并且D组优于C组(图1).

2.4 急性不良反应 全组常见的放化疗不良反应有骨髓抑制、消化道反应(恶心、呕吐)、直肠黏膜反应(肛门下坠、腹部疼痛、黏液便). 大多数急性不良反应处于1-2级. 有1例Ⅳ度骨髓抑制出现在C组中. Ⅰ度和Ⅱ度消化道反应发生率在B组较高(37.14%, P = 0.002; 15.71%, P = 0.001), 直肠黏膜反应常出现在A组中(38.24%, P = 0.001)(表3).

2.5 多因素分析 治疗方式新辅助放化疗与其他方式差异有明显的统计学意义(P = 0.002), 是预后因素. 另外, 年龄(P = 0.021)及全周肿瘤(P = 0.029)也影响预后. 虽然局部复发在单因素分析中存在统计学差异, 但多因素分析局部复发并不是预后因素(表4).

3 讨论

目前多学科治疗模式在直肠癌治疗中得到应用, 新的技术使肿瘤和患者的功能结局都有

应用要点
本研究对于直肠癌个体化治疗的选择有一定的参考价值, 可在一定程度上为前瞻性长期随访的临床研究提供依据.

表 3 放化疗不良反应 *n*(%)

分组	I 度骨髓抑制	II 度骨髓抑制	III度骨髓抑制	I 度消化道反应	II 度消化系反应	直肠黏膜反应
A组	17(25.00)	10(14.71)	2(2.94)	9(13.24)	1(1.47)	26(38.24)
B组	20(28.57)	18(25.71)	1(1.43)	26(37.14)	11(15.71)	9(12.86)
C组	7(13.73)	10(19.61)	3(5.88)	7(13.73)	0(0.00)	3(5.88)
D组	13(31.71)	6(14.63)	3(7.32)	9(21.95)	0(0.00)	4(9.76)
χ^2值	4.940	3.365	3.110	14.348	22.592	26.768
*P*值	0.176	0.339	0.375	0.002	0.001	0.001

不良反应参照美国肿瘤放射治疗协作组织急性放射损伤分级标准. A组: 新辅助放化疗联合手术; B组: 术后辅助放化疗; C组: 新辅助放化疗未手术; D组: 根治性放化疗.

表 4 Cox回归模型多因素预后分析

因素	B	SE	χ^2	*g*	*P*值	HR值
分组			22.442	3	0.000	
A组	−0.385	0.511	0.567	1	0.451	0.680
B组	0.130	0.482	0.073	1	0.787	1.139
C组	1.371	0.450	9.293	1	0.002	3.941
年龄	0.027	0.012	5.358	1	0.021	1.027
病理类型	0.362	0.406	0.797	1	0.372	1.437
化疗方式	−0.030	0.331	0.008	1	0.929	0.971
局部复发	−0.197	0.377	0.272	1	0.602	0.821
远处转移	0.109	0.368	0.087	1	0.768	1.115
肿瘤位置			3.161	2	0.206	
低位	1.827	1.028	3.161	1	0.075	6.215
中位	1.777	1.044	2.896	1	0.089	5.910
管腔受侵比例	−0.733	0.336	4.762	1	0.029	0.480

B: 风险系数; SE: 标准误; *g*: 自由度. A组: 新辅助放化疗联合手术; B组: 术后辅助放化疗; C组: 新辅助放化疗未手术.

所改善[8], 但是局部复发和远处转移仍是直肠癌治疗的最大挑战. 尽管美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)直肠癌临床实践指南[9]推荐II、III期直肠癌行术前同步放化疗, 但实际工作中需要考虑个体差异并不能对直肠癌患者采用统一的治疗策略[10]. 如何将手术、放疗、化疗3种治疗手段完美地结合使之发挥最佳的治疗效果, 并针对不同的直肠癌患者采取个体化的治疗模式成为当前直肠癌综合治疗中迫切需要解决的问题. 因此, 我们通过对接受不同治疗策略的230例II、III期直肠癌进行分析, 来了解其生存的差异.

关于直肠癌治疗后局部复发的情况, 不同的研究存在差异. 德国的随机试验[4]通过对直肠癌患者进行中位11年的随访发现术前同步放化疗可以改善局控率, 这一结论在相关研究[11]中也得到证实. 相关的综述[12]也认为术前同步放化疗是直肠癌有效的治疗方法, 但由于术前影像学分期的局限性, 有可能使早期患者受到了过度治疗, 并强调术前精确分期以避免治疗不足和治疗过度. 但是一个局部晚期直肠癌治疗失败的研究[13], 发现术前同步放化疗2年内的局部控制较好, 而5年后的局部复发率术前同步放化疗明显高于术后同步放化疗(13.2% *vs* 4.2%), 并认为术前同步放化疗患者倾向于晚期(>5年)复发转移, 由于该研究属于回顾性研究, 不存在随机试验[4]中术后患者放化疗依从性差的问题, 可能是两者结论不同的原因. 本研究4组局部复发率没有差异, 但是根治性放化疗组复发率最低, 术后辅助放化疗组最高, 高于新辅助放化疗联合手术组. 根治性

放化疗组局控较好, 除了与调强放疗计划靶区剂量适形度较好[14]、放疗剂量较高有关, 同时也与一部分拒绝手术的患者期别较早有关. 新辅助放化疗联合手术组和新辅助放化疗未手术组局部复发率相对较低, 可能是因为新辅助治疗后局控较好. 术后辅助放化疗局部复发率高, 除了与肿瘤位置[12]、切缘阳性[15]及手术与放疗的间期[16]有关, 另外一个原因是新疆医科大学附属肿瘤医院2010年开始进行直肠癌的术前治疗, 并且随着术前同步放化疗的进行其他治疗方式逐渐减少, 致使术后同步放化疗患者集中在随访前期, 随访时间长于其他组. 虽然局部复发在各组间存在差异, 但是多因素分析, 局部复发并不是预后因素. 本研究远处转移率没有统计学差异, 与既往的研究[4,11,12]结论一致.

生存率方面, 许多研究[4,17]并不认为术前同步放化疗提高了生存率, 或认为未行术前治疗的生存率高于术前治疗[18], 但是术前同步放化疗通过降期可以提高直肠癌的可切除性[19-21], 改善DFS[22], 而新辅助放化疗后的病理分期和预后相关[23]. 最新的综述[24]证实R0切除是长期生存的重要预后指标. 新辅助放化疗的患者约10%-25%达到病理完全缓解[25], 病理完全缓解和良好的预后相关[26,27]. 本研究术后同步放化疗组R0切除率78.5%(55例); 新辅助放化疗手术组R0切除率98.5%(67例)高于术后同步放化疗组, 其中12例(17.6%)达到病理完全缓解, 因此, 较高的R0切除率是A组3年OS和DFS高于其他组的原因. 新辅助放化疗未手术组生存率较低, 而且多因素分析中, 新辅助放化疗未手术是预后因素, 考虑与未行手术[28]及放疗剂量较低有关. Quirke等[2]也证明高质量的手术可以减少局部复发. 所以, 对于新辅助放化疗未手术的患者, 临床医师需要与其进行积极的沟通, 并告知手术或瘤床区补量放疗的必要性. 由于较多的III期患者、放化疗后肿块缩小不明显外科评估后不能完全切除及拒绝手术的患者接受了根治性放化疗, 所以该组没有明显的生存优势.

在生存时间方面, 术后同步放化疗组长于其他组, 除了治疗方式的差异, 考虑也与新疆医科大学附属肿瘤医院直肠癌的术前放化疗集中在2011年以后, 随访时间相对较短有关.

多因素分析中, 除了治疗方式是预后因素, 年龄及全周肿瘤也影响预后. 相关研究[29]也证实年龄影响生存, 初诊的直肠癌年龄超过80岁生存率最低. 全周肿瘤是预后因素已在我们另外的研究[30]中证实. Yeo等[12]认为肿瘤位置也是预后因素, 并且中低位直肠癌5年局部复发率高于高位直肠癌(2.6% *vs* 9.8%). 由于本研究纳入的高位直肠癌(17例)较少, 并没有发现肿瘤位置对生存的影响.

直肠癌对放化疗的耐受性较好[31]尤其精确放疗技术应用后不良反应明显下降[14,32], 因不良反应而中断放化疗者也较少[33]. 本研究患者常见的放化疗不良反应有骨髓抑制、消化系反应(恶心、呕吐)、直肠黏膜反应(肛门下坠、下腹痛、黏液便). 急性不良反应大多处于1-2级, 只有1例Ⅳ度骨髓抑制出现在新辅助放化疗未手术组, 经对症处理后可以缓解, 没有因不良反应引起的死亡. 术前放化疗患者由于术后盆腔解剖结构破坏, 照射了更多的小肠易引起肠道黏膜反应. Ⅰ-Ⅱ度消化道反应常出现在术后治疗组中, 可能与术后联合化疗有关.

另外, 本研究存在以下缺陷: (1)回顾性单中心的研究且例数不多; (2)由于新疆医科大学附属肿瘤医院2010年才开始进行直肠癌术前放化疗, 致使术前放化疗患者随访时间短于其他组; (3)由于本研究整体随访时间较短, 无法比较3年之后的生存情况, 我们仍会继续随访以便观察长期的生存结果.

总之, 新辅助放化疗联合手术R0切除率较高, 并且OS和DFS高于其他方法, 是Ⅱ-Ⅲ期直肠癌治疗的有效方法. 直肠癌患者放化疗耐受性较好. 新辅助放化疗未手术、年龄和全周肿瘤是其预后因素.

同行评价

本文简明而有特色, 科学结论较明确, 实验证据充足, 文章的科学性、创新性和可读性能较好地反映我国直肠癌临床和基础研究的先进水平.

4 参考文献

1 De Felice F, Musio D, Izzo L, Tombolini V. Neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: The debate continues. *World J Gastrointest Oncol* 2014; 6: 438-440 [PMID: 25516776 DOI: 10.4251/wjgo.v6.i12.438]

2 Quirke P, Steele R, Monson J, Grieve R, Khanna S, Couture J, O'Callaghan C, Myint AS, Bessell E, Thompson LC, Parmar M, Stephens RJ, Sebag-Montefiore D. Effect of the plane of surgery achieved on local recurrence in patients with operable rectal cancer: a prospective study using data from the MRC CR07 and NCIC-CTG CO16 randomised clinical trial. *Lancet* 2009; 373: 821-828 [PMID: 19269520 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60485-2]

3 Roh MS, Colangelo LH, O'Connell MJ, Yothers

G, Deutsch M, Allegra CJ, Kahlenberg MS, Baez-Diaz L, Ursiny CS, Petrelli NJ, Wolmark N. Preoperative multimodality therapy improves disease-free survival in patients with carcinoma of the rectum: NSABP R-03. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5124-5130 [PMID: 19770376 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.0467]

4 Sauer R, Liersch T, Merkel S, Fietkau R, Hohenberger W, Hess C, Becker H, Raab HR, Villanueva MT, Witzigmann H, Wittekind C, Beissbarth T, Rödel C. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for locally advanced rectal cancer: results of the German CAO/ARO/AIO-94 randomized phase III trial after a median follow-up of 11 years. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1926-1933 [PMID: 22529255 DOI: 10.1200/JCO.2011.40.1836]

5 Habr-Gama A, Gama-Rodrigues J, São Julião GP, Proscurshim I, Sabbagh C, Lynn PB, Perez RO. Local recurrence after complete clinical response and watch and wait in rectal cancer after neoadjuvant chemoradiation: impact of salvage therapy on local disease control. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2014; 88: 822-828 [PMID: 24495589 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2013.12.012]

6 Edge SB, Compton CC. The American Joint Committee on Cancer: the 7th edition of the AJCC cancer staging manual and the future of TNM. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1471-1474 [PMID: 20180029 DOI: 10.1245/s10434-010-0985-4]

7 殷蔚伯, 李晔雄, 王绿化, 高黎. 肿瘤放射治疗手册. 第一版. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2012: 324-391

8 Damin DC, Lazzaron AR. Evolving treatment strategies for colorectal cancer: a critical review of current therapeutic options. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 877-887 [PMID: 24574762 DOI: 10.3748/wjg.v20.i4.877]

9 Engstrom PF, Arnoletti JP, Benson AB, Chen YJ, Choti MA, Cooper HS, Covey A, Dilawari RA, Early DS, Enzinger PC, Fakih MG, Fleshman J, Fuchs C,Grem JL, Kiel K, Knol JA, Leong LA, Lin E, Mulcahy MF, Rao S, Ryan DP, Saltz L, Shibata D, Skibber JM, Sofocleous C, Thomas J, Venook AP, Willett C. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: rectal cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2009; 7: 838-881 [PMID: 19755047]

10 Shin US, Yu CS, Kim JH, Kim TW, Lim SB, Yoon SN, Yoon YS, Kim CW, Kim JC. Mucinous rectal cancer: effectiveness of preoperative chemoradiotherapy and prognosis. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 2232-2239 [PMID: 21347780 DOI: 10.1245/s10434-011-1612-8]

11 Rahbari NN, Elbers H, Askoxylakis V, Motschall E, Bork U, Büchler MW, Weitz J, Koch M. Neoadjuvant radiotherapy for rectal cancer: meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 4169-4182 [PMID: 24002536 DOI: 10.1245/s10434-013-3198-9]

12 Yeo SG, Kim MJ, Kim DY, Chang HJ, Kim MJ, Baek JY, Kim SY, Kim TH, Park JW, Oh JH. Patterns of failure in patients with locally advanced rectal cancer receiving pre-operative or post-operative chemoradiotherapy. *Radiat Oncol* 2013; 8: 114 [PMID: 23647920 DOI: 10.1186/1748-717X-8-114]

13 Trakarnsanga A, Ithimakin S, Weiser MR. Treatment of locally advanced rectal cancer: controversies and questions. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5521-5532 [PMID: 23112544 DOI: 10.3748/wjg.v18.i39.5521]

14 胡克, 庞廷田, 杨波, 张福泉, 邱杰. 直肠癌术前放疗中三维适形放疗与调强适形放疗的剂量学比较分析. 中华放射医学与防护杂志 2010; 30: 310-313

15 Nagtegaal ID, Quirke P. What is the role for the circumferential margin in the modern treatment of rectal cancer? *J Clin Oncol* 2008; 26: 303-312 [PMID: 18182672 DOI: 10.1200/JCO.2007.12.7027]

16 田含含, 王海峰, 张瑾熔, 阿衣古丽•哈热, 伊斯刊达尔•阿布力米提. 术前放化疗与手术时间间隔对ⅢA、ⅢB期直肠癌的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22: 3918-3924

17 Park JH, Yoon SM, Yu CS, Kim JH, Kim TW, Kim JC. Randomized phase 3 trial comparing preoperative and postoperative chemoradiotherapy with capecitabine for locally advanced rectal cancer. *Cancer* 2011; 117: 3703-3712 [PMID: 21328328 DOI: 10.1002/cncr.25943]

18 Schiffmann L, Klautke G, Wedermann N, Gock M, Prall F, Fietkau R, Rau B, Klar E. Prognosis of rectal cancer patients improves with downstaging by intensified neoadjuvant radiochemotherapy - a matched pair analysis. *BMC Cancer* 2013; 13: 388 [PMID: 23947828 DOI: 10.1186/1471-2407-13-388]

19 Engineer R, Mohandas KM, Shukla PJ, Shrikhande SV, Mahantshetty U, Chopra S, Goel M, Mehta S, Patil P, Ramadwar M, Deodhar K, Arya S, Shrivastava SK. Escalated radiation dose alone vs. concurrent chemoradiation for locally advanced and unresectable rectal cancers: results from phase II randomized study. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 959-966 [PMID: 23358929 DOI: 10.1007/s00384-012-1630-4]

20 Sauer R, Becker H, Hohenberger W, Rödel C, Wittekind C, Fietkau R, Martus P, Tschmelitsch J, Hager E, Hess CF, Karstens JH, Liersch T, Schmidberger H, Raab R. Preoperative versus postoperative chemoradiotherapy for rectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 1731-1740 [PMID: 15496622]

21 Sebag-Montefiore D, Stephens RJ, Steele R, Monson J, Grieve R, Khanna S, Quirke P, Couture J, de Metz C, Myint AS, Bessell E, Griffiths G, Thompson LC, Parmar M. Preoperative radiotherapy versus selective postoperative chemoradiotherapy in patients with rectal cancer (MRC CR07 and NCIC-CTG C016): a multicentre, randomised trial. *Lancet* 2009; 373: 811-820 [PMID: 19269519 DOI: 10.1016/S0140-6736]

22 Kang J, Jang SM, Baek JH, Lee WS, Cho TH. Short-term results and long-term oncologic outcomes between neoadjuvant chemoradiotherapy and adjuvant postoperative chemoradiotherapy for stage III rectal cancer: a case-matched study. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 2494-2499 [PMID: 22476817 DOI: 10.1245/s10434-012-2311-9]

23 肖毅, 陆君阳, 熊光冰, 吴斌, 林国乐, 赵林, 梁智勇, 仲光熙, 胡克, 潘卫东, 邱辉忠. 直肠癌新辅助治疗

后病理分期状况与生存预后的关系. 中华外科杂志 2014; 52: 99-104
24 Mohan HM, Evans MD, Larkin JO, Beynon J, Winter DC. Multivisceral resection in colorectal cancer: a systematic review. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 2929-2936 [PMID: 23666095 DOI: 10.1245/s10434-013-2967-9]
25 Garland ML, Vather R, Bunkley N, Pearse M, Bissett IP. Clinical tumour size and nodal status predict pathologic complete response following neoadjuvant chemoradiotherapy for rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2014; 29: 301-307 [PMID: 24420737 DOI: 10.1007/s00384-013-1821-7]
26 Lu JY, Xiao Y, Qiu HZ, Wu B, Lin GL, Xu L, Zhang GN, Hu K. Clinical outcome of neoadjuvant chemoradiation therapy with oxaliplatin and capecitabine or 5-fluorouracil for locally advanced rectal cancer. *J Surg Oncol* 2013; 108: 213-219 [PMID: 23913795 DOI: 10.1002/jso.23394]
27 Park IJ, You YN, Agarwal A, Skibber JM, Rodriguez-Bigas MA, Eng C, Feig BW, Das P, Krishnan S, Crane CH, Hu CY, Chang GJ. Neoadjuvant treatment response as an early response indicator for patients with rectal cancer. *J Clin Oncol* 2012; 30: 1770-1776 [PMID: 22493423 DOI: 10.1200/JCO.2011.39.7901]
28 Williamson JS, Jones HG, Davies M, Evans MD, Hatcher O, Beynon J, Harris DA. Outcomes in locally advanced rectal cancer with highly selective preoperative chemoradiotherapy. *Br J Surg* 2014; 101: 1290-1298 [PMID: 24924947 DOI: 10.1002/bjs.9570]
29 Morris EJ, Sandin F, Lambert PC, Bray F, Klint A, Linklater K, Robinson D, Påhlman L, Holmberg L, Møller H. A population-based comparison of the survival of patients with colorectal cancer in England, Norway and Sweden between 1996 and 2004. *Gut* 2011; 60: 1087-1093 [PMID: 21303917 DOI: 10.1136/gut.2010.229575]
30 阿衣古丽•哈热, 帕丽达•阿皮孜, 伊斯刊达尔•阿布力米提, 张瑾熔, 田含含. 直肠癌新辅助放化疗后病理完全缓解的临床因素分析. 中华放射肿瘤学杂志 2014; 23: 5-8
31 de las Heras M, Arias F, del Moral-Avila R, Gómez-Millán J, Jiménez E, Wals A, Tisaire JL, Alcantara MP. Multicenter phase II clinical trial of preoperative capecitabine with concurrent radiotherapy in patients with locally advanced rectal cancer. *Clin Transl Oncol* 2013; 15: 294-299 [PMID: 22855196 DOI: 10.1007/s12094-012-0915-y]
32 Chao JY, Wang HM, Chiang FF, Lin JC, Chang CF, Lin JF, Yeh HL. Preoperative chemoradiotherapy with oxaliplatin and tegafur-uracil in locally advanced rectal cancer: pathologic complete response rate and preliminary results of overall and disease-free survival in a single institute in Taiwan. *J Chin Med Assoc* 2014; 77: 128-132 [PMID: 24398439 DOI: 10.1016/j.jcma.2013.11.008]
33 金晶, 李晔雄, 王维虎, 王凯, 宋永文, 王淑莲, 张世平, 刘跃平, 房辉, 曲媛, 刘新帆, 余子豪. Ⅱ和Ⅲ期直肠癌术后卡培他滨±奥沙利铂同步放化疗急性副反应比较. 中华放射肿瘤学杂志 2009; 18: 200-204

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3714

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3714-3719
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

纳米抗体靶向治疗胃癌的研究进展

刘芳腾, 欧阳喜, 张官平, 罗洪亮

背景资料
胃癌作为一种发病率和致死率高的恶性消化系肿瘤, 其分子靶向治疗日益受到人们关注. 而纳米抗体作为一种新型优良的小分子靶向治疗抗体, 性质独特, 将为胃癌的治疗带来新的曙光.

刘芳腾, 欧阳喜, 张官平, 罗洪亮, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330000
刘芳腾, 主要从事胃肠道恶性肿瘤的研究.
作者贡献分布: 本综述由刘芳腾完成; 欧阳喜与张官平收集整理文献资料; 罗洪亮审校.
通讯作者: 罗洪亮, 主治医师, 330000, 江西省南昌市东湖区民德路1号, 南昌大学第二附属医院胃肠外科.
517295653@qq.com
电话: 0791-86312171
收稿日期: 2015-05-20 修回日期: 2015-07-09
接受日期: 2015-07-13 在线出版日期: 2015-08-18

Nanobodies for targeted treatment of gastric cancer

Fang-Teng Liu, Xi Ou-Yang, Guan-Ping Zhang, Hong-Liang Luo

Fang-Teng Liu, Xi Ou-Yang, Guan-Ping Zhang, Hong-Liang Luo, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China
Correspondence to: Hong-Liang Luo, Attending Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Donghu District, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China. 517295653@qq.com
Received: 2015-05-20 Revised: 2015-07-09
Accepted: 2015-07-13 Published online: 2015-08-18

Abstract
With the development and application of monoclonal antibody-based targeted therapy drugs in recent years, some achievements have been made in the treatment of gastric cancer; however, because their preparation is relatively complex and expensive, their application is limited. Nanobodies have some advantages over conventional molecular targeted drugs, such as small molecular weight and unique structural features, and provide a new treatment strategy for targeted therapy of gastric cancer. In this paper, we review the nanobodies that have the potential for targeted treatment of gastric cancer.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gastric cancer; Nanobodies; Targeted therapy

Liu FT, Ou-Yang X, Zhang GP, Luo HL. Nanobodies for targeted treatment of gastric cancer. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3714-3719 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3714.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3714

摘要
随着近年来单克隆抗体靶向治疗药物的研发和临床应用. 胃癌在治疗上取得了一些成果, 但由于其制备相对复杂、价格较贵等原因, 应用范围受到一定限制. 而纳米抗体的出现, 带来了常规分子靶向治疗药物所不具有的优势, 其分子量小, 结构功能性质独特, 给胃癌的靶向治疗提供了新的治疗手段和研究思路. 本文就具有潜在靶向治疗胃癌价值的纳米抗体, 作一简介综述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 纳米抗体; 靶向治疗

核心提示: 纳米抗体由于具有优于传统抗体的良好性质, 给恶性肿瘤的治疗带来了新的治疗手段. 本文将具有潜在靶向治疗胃癌价值的纳米抗体作一介绍, 包括靶向表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR、HER1

同行评议者
葛海燕, 教授, 同济大学附属第十人民医院普通外科; 吴道澄, 教授, 西安交通大学生命学院

或ErbB-1)的纳米抗体、抗HER2五聚体、靶向血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)的纳米抗体、与β内酰胺酶相结合的纳米抗体, 展示了纳米抗体在胃癌治疗中诱人的潜在应用价值和研发前景.

刘芳腾, 欧阳喜, 张官平, 罗洪亮. 纳米抗体靶向治疗胃癌的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3714-3719
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3714.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3714

0 引言

胃癌作为消化系最常见、全球高发的恶性肿瘤, 病死率在所有恶性肿瘤中居第2位[1], 在我国其死亡率仅次于肺癌和肝癌, 高居第3位[2]. 手术治疗作为目前胃癌最有效的根治方法, 其治愈率仅有30%-40% , 且术后大部分患者仍死于肿瘤复发或远处转移[3]. 而放化治疗客观缓解率只有20%-40%, 且其较重的不良反应, 严重影响患者的生存质量和总生存期[4,5].

近年来, 随着生物医学的深入发展, 肿瘤的分子靶向治疗得到了广泛应用, 他是继手术、放疗、化疗后一种全新的治疗手段[6]. 而纳米抗体作为分子靶向治疗的一种新型重要抗体药物, 通过利用其自身独特的结构理化性质, 以某些标志性分子为靶点进行针对性阻断, 可更加有效干预其分子调控及肿瘤相关信号转导通路, 从而抑制肿瘤细胞的生长、浸润和转移, 达到治疗肿瘤的目的. 目前抗体靶向治疗药物大多为单克隆抗体, 如西妥昔单抗、贝伐单抗等, 其分别联合其他多种化疗方案治疗进展期胃癌尚处于II或III临床试验中[7-9]. 由于单克隆抗体存在一些缺陷和不足, 这就使得发展纳米抗体治疗胃癌成为新的研究方向而备受关注.

1 纳米抗体的发现及性质

目前治疗胃癌的靶向抗体药物均是利用B淋巴细胞杂交瘤技术所制备的单克隆抗体, 其特异性高、性质均一, 且易被纯化和标记. 但由于其制备相对复杂、价格昂贵, 且具有一定免疫源性等原因, 在一定程度上限制了其应用范围[10]. 而纳米抗体的出现则给肿瘤的靶向治疗注入了新的活力和希望.

1989年生物学家Ward在骆驼的血清中发现了一种仅含重链的抗体[11]. Hamers-Casterman等[12]1993年在骆驼科动物体内发现了一种天然缺失轻链的重链抗体(heavy chain antibodies, HCAbs), 且缺少CH1[13]. 其后在一些软骨鱼类中也发现类似的抗体存在[14]. 对重链抗体的可变区进行克隆, 可以得到一个仅由重链可变区构成的单域抗体, 即VHH抗体(variable domain of heavy chain of heavy-chainantibody, VHH). 这是人类目前为止发现的自然存在的最小的功能性抗原结合片段. 由于VHH只有一般抗体的十分之一大小(直径2.5 nm, 长4 nm), 故又称为纳米抗体(nanobody, Nb)[15,16].

纳米抗体作为一种小型的基因工程抗体, 其特殊的结构, 使其具有普通抗体所不具备的独特性质: 水溶性高、稳定性好、靶向性强、人源化简单和易获得和表达[17]. 且纳米抗体独特的三大效应(表面、尺寸和宏观量子隧道效应)[18], 使其在很多方面都明显优于传统抗体, 在多种疾病的检测和治疗中都取得了令人瞩目的成果[19-21], 目前已成功研制出来的纳米抗体并不多, 其中包括靶向表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR、HER1或ErbB-1)的纳米抗体、抗HER2五聚体、靶向血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的纳米抗体、与β内酰胺酶相结合的纳米抗体等. 这些都是具有潜在靶向治疗胃癌价值的纳米抗体, 在胃癌的治疗研究中也已初步取得一些引人关注的进展.

2 治疗胃癌的潜在靶向纳米抗体

2.1 靶向EGFR的纳米抗体 EGFR作为表皮生长因子家族(EGF-家族)中被广泛深入研究的重要一员, 属于酪氨酸蛋白激酶型受体[22]. 其与相应配体结合后, 自动磷酸化形成二聚体, 再通过活化磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)和蛋白激酶通路产生生物学效应[23]. 研究[24]表明, EGFR的突变或过度表达可导致癌症的发生. 邸旭[25]通过对胃癌组织中的EGFR进行检测, 发现其阳性表达率明显高于正常胃黏膜组织, 差异显著(P<0.05). 研究[26-28]发现, EGFR在胃癌组织中呈高表达, 阳性率可达19%-63%, 且其与胃癌患者的预后密切相关, EGFR阳性率表达

研发前沿
研发出具有良好靶向性和高效性的纳米抗体是该领域的研究热点. 胃癌的发生发展往往涉及到多个靶点和分子通路, 因此多靶点的复合性纳米抗体或多靶点联合用药是胃癌纳米靶向治疗的重点. 而纳米抗体的安全性及提纯方法是亟待研究解决的问题.

相关报道
姜忍忍等对纳米抗体的结构特性和功能特性进行了较为详细的介绍, 并对纳米抗体在疾病诊治及食品科学领域的研究进展进行了阐述.

高的患者, 预后大多很差. 由于纳米抗体比单克隆抗体具有更高的亲合力和良好的穿透性, Roovers等[29]、Sebastian等[30]在动物试验中证实, 利用靶向EGFR的特异性纳米抗体可以更加有效地到达肿瘤实体内部, 通过与表皮生长因子竞争结合EGFR位点, 可以更加有效地抑制实体肿瘤细胞的生长. Tijink等[31]研究发现, 将靶向EGFR的2价纳米抗体或者与小鼠的血清白蛋白进行偶联, 能起到更好抑制肿瘤细胞生长的作用. Oliveira等[32]将靶向EGFR的纳米抗体静脉注射到小鼠体内, 发现其与肿瘤细胞中的EGFR进行特异性结合, 检测到EGF的表达下调. 所以靶向EGFR的纳米抗体, 有望成为靶向治疗胃癌的新型抗体, 为胃癌患者带来新的希望.

2.2 抗HER2五聚体 *HER2*基因属于原癌基因, 是表皮生长因子基因家族的一员, 即*ErbB-2*基因, 是目前为止乳腺癌研究较透彻的基因之一. *HER2*基因的过度表达与多种肿瘤的发生发展相关, 其致瘤机制包括抑制细胞凋亡, 促进肿瘤新生血管生成, 增加肿瘤细胞的侵袭力等. 研究[33]发现, 在9%-38%的胃癌患者中检测到HER2的过度表达, 其与患者的预后密切相关. 曲妥珠单抗(Trastuzumab)作为针对HER2的人源化单克隆抗体, 已在一项名为ToGA[34]的Ⅲ期临床研究发现, 其与XP(5氟尿嘧啶/卡培他滨+顺铂)联合可以较显著提高进展期胃癌患者的中位生存率, 在胃癌的治疗中具有重要意义. 基于HER2的过度表达与胃癌的发生、发展相关, 特别是病理类型为肠型的胃癌[35]以及曲妥珠单抗与XP联合治疗胃癌的成功试验治疗经验. 设想使用抗HER2的纳米抗体来治疗胃癌是合理的[36]. 且研究[36]发现, 寡聚纳米抗体作用于HER2的效果比单个纳米抗体作用的效果更加明显. 而具有良好的亲和特异性和亲和强度的纳米抗体五聚体-抗HER2五聚体目前也已被成功构建出, 这无疑为进展期胃癌的治疗提供了一种新的可能性治疗药物, 使纳米抗体靶向治疗胃癌更向前迈进了一步.

2.3 靶向VEGF的纳米抗体 根据著名的Folkman理论: 肿瘤组织的生长必须依靠新生血管生成来提供足够的氧气和营养物质来维持. 即血管的生成与肿瘤的生长、浸润、转移密切相关, 具有非常重要的作用. 而属于生长因子家族的VEGF是一个分子质量约45000的同二聚体糖蛋白, 可诱导刺激血管新生, 是最重要的血管生成因子[37]. VEGF可作用于血管内皮细胞上的酪氨酸激酶受体Flk-1和KDR/Flk-1, 促进血管内皮细胞增殖, 增加血管通透性, 以刺激诱导肿瘤血管的生成, 在肿瘤的发生发展中作用非常关键[38]. 研究[39]表明, VEGF在胃癌组织中的表达率较高, 而在正常胃组织中无表达. 且VEGF表达与肿瘤细胞的浸润、转移程度和临床分期呈正相关($P<0.05$), 预示着VEGF表达阳性的胃癌患者预后会较差. 而VEGF作为胃癌治疗的重要靶点, 可通过阻断血管生成相关性下游信号的转导途径, 减少肿瘤细胞的氧气和营养供应, 从而达到治疗恶性肿瘤的效果. 在单克隆治疗抗体中, 贝伐珠单抗(Bevacizumab)不仅在结直肠癌、乳腺癌和小细胞肺癌的治疗中取得了良好疗效[40-42], 且对于提高进展期胃癌的中位生存时间也有明显效果[43]. 目前针对胃癌的多种Ⅱ期或Ⅲ期临床试验已经展开, 结果令人期待[44]. 而对VEGF受体2(VEGF receptor 2, VEGFR-2)具有高度专一性的纳米抗体3VGR19已经通过实验筛选得到, 显示其具有有效阻断VEGFR-2受体信号的作用. 预示着纳米抗体3VGR19作为更具独特性质的小型化抗体, 虽然在进展期胃癌的治疗中发挥的效应仍需大量的临床试验来证实, 但3VGR19这种新型的、靶向VEGFR的纳米抗体, 必定在未来改善胃癌治疗中会有着非常诱人的应用前景, 为癌症的治疗提供新的契机.

2.4 与β内酰胺酶相结合的纳米抗体 纳米抗体由于其独特的性质, 可用于构建多种分子结构, 其中包括构建具有双特异性和双功能抗体, 即通过结合一个靶抗原相邻的两个位点, 获得对抗原的高亲合力, 用于传递毒性载体(如细胞毒性药物)达到相应的靶抗原(如癌细胞). 动物实验研究表明[45], 由猪Ig分子和手足口病毒构建的双特异性纳米抗体, 可以有效减轻动物的病毒血症. 且双特异性纳米抗体不仅表达水平高, 还具有良好的热力学稳定性, 不易被蛋白酶降解, 这些特点使其比以scFv构建的抗体更具有良好的应用特性. 癌胚抗原(carcinoembryonic antigen, CEA)作为一种广谱性肿瘤标志物, 在胃癌等肿瘤中高度表达, 而在正常细胞中表达很低或不表达. 将CEA纳米抗

体与阴沟肠杆菌β内酰胺酶相结合构建的分子结构体, 经试验[46]证明, 此结合物能够通过选择性激活抗癌前体物质, 从而建立一种无不良作用的肿瘤治疗方法. 其过程为: 通过定位于癌体内部的β内酰胺酶, 靶向地将抗肿瘤前体药物催化生成具有杀死胃癌细胞作用的药物, 可使瘤体减小衰退或治愈[47]. 由于纳米抗体相对分子质量小, 易被肾脏较快清除, 对正常细胞和组织的损害较常规抗体药物要小[11]. 基于纳米抗体可以与每个蛋白质和酶结合, 形成具有双重功能的结合体, 将无活性的前体药物转变成为可杀死癌细胞的活性药物, 从而集中对肿瘤细胞进行靶向化疗, 达到高效, 无不良反应的效果. 这就有望为胃癌的治疗提供一种全新的治疗策略和手段, 设想将纳米抗体与治疗胃癌的分子药物进行构建, 利用纳米抗体的靶向性和良好组织渗透性, 将使抗肿瘤药物发挥更加直接有效的作用.

3 结论

纳米抗体由于具有远优于普通抗体的独特优势, 已在疾病的预防、检测、诊断和治疗中都相继显示了很大的应用价值和发展前景[48-50]. 很多医药公司和研究机构在对纳米抗体的不断深入研究和广泛的开发中, 取得一定的研究成果[51]. 但同时也发现了一些亟待解决的问题, 如如何通过进一步提高纳米抗体的亲和力、降低其免疫原性来达到更高的安全性和更好的有效性. 针对后者, 有研究报道可通过对VHH-单域抗体进行人源化改造来降低其免疫源性, 但实际效果仍有待研究证实[52]. 由于胃癌的发生发展是一个多因素、多基因、多阶段的动态演变过程[53]. 其胃癌细胞中的信号传导机制又是一个多因素交叉、复合的网络体系, 构建多靶点纳米复合抗体或多靶点联合用药将会为胃癌的治疗策略带来新的视角, 发挥更好的疗效. 随着对生物化学、人类基因组学等的深入研究和对纳米抗体的深入探索和开发, 将会发现更多、更有效的胃癌治疗靶点, 构建出更多、更高效的特异性纳米抗体, 从而使纳米抗体靶向治疗胃癌步入一个崭新的时代.

4 参考文献

1 Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87-108 [PMID: 25651787 DOI: 10.3322/caac.21262]

2 Chen W, Zheng R, Zhang S, Zhao P, Li G, Wu L, He J. Report of incidence and mortality in China cancer registries, 2009. *Chin J Cancer Res* 2013; 25: 10-21 [PMID: 23372337 DOI: 10.3978/j.issn.1000-9604.2012.12.04]

3 Gong SJ, Jin CJ, Rha SY, Chung HC. Growth inhibitory effects of trastuzumab and chemotherapeutic drugs in gastric cancer cell lines. *Cancer Lett* 2004; 214: 215-224 [PMID: 15363548 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.04.029]

4 Cunningham D, Okines AF, Ashley S. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 858-859 [PMID: 20200397 DOI: 10.1056/NEJMc0911925]

5 Takahashi T, Saikawa Y, Kitagawa Y. Gastric cancer: current status of diagnosis and treatment. *Cancers* (Basel) 2013; 5: 48-63 [PMID: 24216698 DOI: 10.3390/cancers5010048]

6 Cidon EU, Ellis SG, Inam Y, Adeleke S, Zarif S, Geldart T. Molecular targeted agents for gastric cancer: a step forward towards personalized therapy. *Cancers* (Basel) 2013; 5: 64-91 [PMID: 24216699 DOI: 10.3390/cancers5010064]

7 Kim C, Lee JL, Ryu MH, Chang HM, Kim TW, Lim HY, Kang HJ, Park YS, Ryoo BY, Kang YK. A prospective phase II study of cetuximab in combination with XELOX (capecitabine and oxaliplatin) in patients with metastatic and/or recurrent advanced gastric cancer. *Invest New Drugs* 2011; 29: 366-373 [PMID: 19997960 DOI: 10.1007/s10637-009-9363-0]

8 Shah MA, Jhawer M, Ilson DH, Lefkowitz RA, Robinson E, Capanu M, Kelsen DP. Phase II study of modified docetaxel, cisplatin, and fluorouracil with bevacizumab in patients with metastatic gastroesophageal adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 868-874 [PMID: 21189380 DOI: 10.1200/JCO.2010.32.0770]

9 Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, Lim HY, Yamada Y, Wu J, Langer B, Starnawski M, Kang YK. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3968-3976 [PMID: 21844504 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.2236]

10 姜忍忍, 许超, 周小理, 姚刚. 纳米抗体的应用及其研究新进展. 生命的化学 2013; 33: 307-315

11 郭婷, 张宇昊, 马良. 纳米抗体的特性及其应用研究进展. 食品科学 2013; 34: 294-297

12 Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, Robinson G, Hamers C, Songa EB, Bendahman N, Hamers R. Naturally occurring antibodies devoid of light chains. *Nature* 1993; 363: 446-448 [PMID: 8502296 DOI: 10.1038/363446a0]

13 Nguyen VK, Hamers R, Wyns L, Muyldermans S. Loss of splice consensus signal is responsible for the removal of the entire C(H)1 domain of the functional camel IGG2A heavy-chain antibodies. *Mol Immunol* 1999; 36: 515-524 [PMID: 10475606

创新盘点

本文对近年来应用纳米抗体靶向治疗胃癌的研究进展进行了阐述, 并介绍了几个比较典型的纳米抗体制剂在抑制胃癌细胞生长、转移中的作用, 有一定的新颖性. 同时对纳米抗体的发展及性质作了简要介绍, 有助于帮助读者了解相关知识.

应用要点

通过对几种具有潜在治疗胃癌价值的纳米抗体做相关阐述，展示出纳米抗体在胃癌靶向治疗中具有很大的潜在应用价值和药物研发前景.

DOI: 10.1016/S0161-5890(99)00067-X]

14 Greenberg AS, Avila D, Hughes M, Hughes A, McKinney EC, Flajnik MF. A new antigen receptor gene family that undergoes rearrangement and extensive somatic diversification in sharks. *Nature* 1995; 374: 168-173 [PMID: 7877689 DOI: 10.1038/374168a0]

15 Muyldermans S, Baral TN, Retamozzo VC, De Baetselier P, De Genst E, Kinne J, Leonhardt H, Magez S, Nguyen VK, Revets H, Rothbauer U, Stijlemans B, Tillib S, Wernery U, Wyns L, Hassanzadeh-Ghassabeh G, Saerens D. Camelid immunoglobulins and nanobody technology. *Vet Immunol Immunopathol* 2009; 128: 178-183 [PMID: 19026455 DOI: 10.1016/j.vetimm.2008.10.299]

16 杨珂, 王冬. 纳米抗体及其应用. 细胞与分子免疫学杂志 2008; 24: 425-427

17 刘微, 张敏, 郭春燕, 孟和, 斯日古楞, 哈斯, 何俊霞, 吉日木图. 骆驼纳米抗体在医疗领域研究进展. 动物医学进展 2013; 34: 101-105

18 李国秀, 李建科. 纳米技术在食品领域中的应用. 粮食与油脂 2007; 8: 13-14

19 Abbady AQ, Al-Mariri A, Zarkawi M, Al-Assad A, Muyldermans S. Evaluation of a nanobody phage display library constructed from a Brucella-immunised camel. *Vet Immunol Immunopathol* 2011; 142: 49-56 [PMID: 21592585 DOI: 10.1016/j.vetimm.2011.04.004]

20 Skottrup PD, Leonard P, Kaczmarek JZ, Veillard F, Enghild JJ, O'Kennedy R, Sroka A, Clausen RP, Potempa J, Riise E. Diagnostic evaluation of a nanobody with picomolar affinity toward the protease RgpB from Porphyromonas gingivalis. *Anal Biochem* 2011; 415: 158-167 [PMID: 21569755 DOI: 10.1016/j.ab.2011.04.015]

21 Steyaert J, Kobilka BK. Nanobody stabilization of G protein-coupled receptor conformational states. *Curr Opin Struct Biol* 2011; 21: 567-572 [PMID: 21782416 DOI: 10.1016/j.sbi.2011.06.011]

22 Bishayee S. Role of conformational alteration in the epidermal growth factor receptor (EGFR) function. *Biochem Pharmacol* 2000; 60: 1217-1223 [PMID: 11007960 DOI: 10.1016/S0006-2952(00)00425-1]

23 Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 59: 21-26 [PMID: 15142631 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2003.11.041]

24 Altintas I, Kok RJ, Schiffelers RM. Targeting epidermal growth factor receptor in tumors: from conventional monoclonal antibodies via heavy chain-only antibodies to nanobodies. *Eur J Pharm Sci* 2012; 45: 399-407 [PMID: 22064454 DOI: 10.1016/j.ejps.2011.10.015]

25 邸旭. 胃癌组织中的EGFR的表达变化及意义. 山东医药 2011; 51: 66-67

26 Liakakos T, Xeropotamos N, Ziogas D, Roukos D. EGFR as a Prognostic Marker for Gastric Cancer. *World J Surg* 2008; 32: 1225-1226; author reply 1227-1229 [PMID: 18224475 DOI: 10.1007/s00268-007-9434-3]

27 Hong L, Han Y, Brain L. The role of epidermal growth factor receptor in prognosis and treatment of gastric cancer. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2014; 8: 111-117 [PMID: 24410474 DOI: 10.1586/17474124.2014.844648]

28 Atmaca A, Werner D, Pauligk C, Steinmetz K, Wirtz R, Altmannsberger HM, Jäger E, Al-Batran SE. The prognostic impact of epidermal growth factor receptor in patients with metastatic gastric cancer. *BMC Cancer* 2012; 12: 524 [PMID: 23153332 DOI: 10.1186/1471-2407-12-524]

29 Roovers RC, Laeremans T, Huang L, De Taeye S, Verkleij AJ, Revets H, de Haard HJ, van Bergen en Henegouwen PM. Efficient inhibition of EGFR signaling and of tumour growth by antagonistic anti-EFGR Nanobodies. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 303-317 [PMID: 16738850 DOI: 10.1007/s00262-006-0180-4]

30 Sebastian S, Settleman J, Reshkin SJ, Azzariti A, Bellizzi A, Paradiso A. The complexity of targeting EGFR signalling in cancer: from expression to turnover. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1766: 120-139 [PMID: 16889899 DOI: 10.1016/j.bbcan.2006.06.001]

31 Tijink BM, Laeremans T, Budde M, Stigter-van Walsum M, Dreier T, de Haard HJ, Leemans CR, van Dongen GA. Improved tumor targeting of anti-epidermal growth factor receptor Nanobodies through albumin binding: taking advantage of modular Nanobody technology. *Mol Cancer Ther* 2008; 7: 2288-2297 [PMID: 18723476 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-07-2384]

32 Oliveira S, Schiffelers RM, van der Veeken J, van der Meel R, Vongpromek R, van Bergen En Henegouwen PM, Storm G, Roovers RC. Downregulation of EGFR by a novel multivalent nanobody-liposome platform. *J Control Release* 2010; 145: 165-175 [PMID: 20362020 DOI: 10.1016/j.jconrel.2010.03.020]

33 Gomez-Martín C, Lopez-Rios F, Aparicio J, Barriuso J, García-Carbonero R, Pazo R, Rivera F, Salgado M, Salud A, Vázquez-Sequeiros E, Lordick F. A critical review of HER2-positive gastric cancer evaluation and treatment: from trastuzumab, and beyond. *Cancer Lett* 2014; 351: 30-40 [PMID: 24943493 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.05.019]

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

35 卞学艺, 叶青青, 王瑶, 沈艳莹, 沈丹平, 倪醒之. HER2基因扩增和蛋白表达与胃癌临床病理特征和预后的关系. 胃肠病学 2011; 16: 267-271

36 Jamnani FR, Rahbarizadeh F, Shokrgozar MA, Ahmadvand D, Mahboudi F, Sharifzadeh Z. Targeting high affinity and epitope-distinct oligoclonal nanobodies to HER2 over-expressing tumor cells. *Exp Cell Res* 2012; 318: 1112-1124 [PMID: 22440788 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.03.004]

37 Gerber HP, Ferrara N. The role of VEGF in normal

and neoplastic hematopoiesis. *J Mol Med* (Berl) 2003; 81: 20-31 [PMID: 12545246 DOI: 10.1007/s00109-002-0397-4]

38 Bachelder RE, Crago A, Chung J, Wendt MA, Shaw LM, Robinson G, Mercurio AM. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells. *Cancer Res* 2001; 61: 5736-5740 [PMID: 11479209]

39 陈锦章, 郑航, 陈斌, 黄宇贤, 罗荣城. VEGF、HER-2蛋白在胃癌组织中的表达及临床意义. 南方医科大学学报 2008; 28: 617-619

40 Deng T, Zhang L, Liu XJ, Xu JM, Bai YX, Wang Y, Han Y, Li YH, Ba Y. Bevacizumab plus irinotecan, 5-fluorouracil, and leucovorin (FOLFIRI) as the second-line therapy for patients with metastatic colorectal cancer, a multicenter study. *Med Oncol* 2013; 30: 752 [PMID: 24174316 DOI: 10.1007/s12032-013-0752-z]

41 Cella D, Wang M, Wagner L, Miller K. Survival-adjusted health-related quality of life (HRQL) among patients with metastatic breast cancer receiving paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone: results from Eastern Cooperative Oncology Group Study 2100 (E2100). *Breast Cancer Res Treat* 2011; 130: 855-861 [PMID: 21874312 DOI: 10.1007/s10549-011-1725-6]

42 Sandler A, Gray R, Perry MC, Brahmer J, Schiller JH, Dowlati A, Lilenbaum R, Johnson DH. Paclitaxel-carboplatin alone or with bevacizumab for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 2542-2550 [PMID: 17167137 DOI: 10.1056/NEJMoa061884]

43 Van Cutsem E, de Haas S, Kang YK, Ohtsu A, Tebbutt NC, Ming Xu J, Peng Yong W, Langer B, Delmar P, Scherer SJ, Shah MA. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a biomarker evaluation from the AVAGAST randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2119-2127 [PMID: 22565005 DOI: 10.1200/JCO.2011.39.9824]

44 Cappetta A, Lonardi S, Pastorelli D, Bergamo F, Lombardi G, Zagonel V. Advanced gastric cancer (GC) and cancer of the gastro-oesophageal junction (GEJ): focus on targeted therapies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2012; 81: 38-48 [PMID: 21256046 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2010.12.006]

45 Harmsen MM, Fijten HP, Engel B, Dekker A, Eblé PL. Passive immunization with llama single-domain antibody fragments reduces foot-and-mouth disease transmission between pigs. *Vaccine* 2009; 27: 1904-1911 [PMID: 19368770 DOI: 10.1016/j.vaccine.2009.01.110]

46 Behdani M, Zeinali S, Khanahmad H, Karimipour M, Asadzadeh N, Azadmanesh K, Khabiri A, Schoonooghe S, Habibi Anbouhi M, Hassanzadeh-Ghassabeh G, Muyldermans S. Generation and characterization of a functional Nanobody against the vascular endothelial growth factor receptor-2; angiogenesis cell receptor. *Mol Immunol* 2012; 50: 35-41 [PMID: 22208996 DOI: 10.1016/j.molimm.2011.11.013]

47 Cortez-Retamozo V, Backmann N, Senter PD, Wernery U, De Baetselier P, Muyldermans S, Revets H. Efficient cancer therapy with a nanobody-based conjugate. *Cancer Res* 2004; 64: 2853-2857 [PMID: 15087403]

48 De Vooght L, Caljon G, Stijlemans B, De Baetselier P, Coosemans M, Van den Abbeele J. Expression and extracellular release of a functional anti-trypanosome Nanobody® in Sodalis glossinidius, a bacterial symbiont of the tsetse fly. *Microb Cell Fact* 2012; 11: 23 [PMID: 22335892 DOI: 10.1186/1475-2859-11-23]

49 Huang L, Muyldermans S, Saerens D. Nanobodies®: proficient tools in diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10: 777-785 [PMID: 20843201 DOI: 10.1586/erm.10.62]

50 Holz JB. The TITAN trial--assessing the efficacy and safety of an anti-von Willebrand factor Nanobody in patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Transfus Apher Sci* 2012; 46: 343-346 [PMID: 22475545 DOI: 10.1016/j.transci.2012.03.027]

51 Fridy PC, Li Y, Keegan S, Thompson MK, Nudelman I, Scheid JF, Oeffinger M, Nussenzweig MC, Fenyö D, Chait BT, Rout MP. A robust pipeline for rapid production of versatile nanobody repertoires. *Nat Methods* 2014; 11: 1253-1260 [PMID: 25362362 DOI: 10.1038/nmeth.3170]

52 Vincke C, Loris R, Saerens D, Martinez-Rodriguez S, Muyldermans S, Conrath K. General strategy to humanize a camelid single-domain antibody and identification of a universal humanized nanobody scaffold. *J Biol Chem* 2009; 284: 3273-3284 [PMID: 19010777 DOI: 10.1074/jbc.M806889200]

53 官文华, 杨堃, 赵文君, 刘希双, 王秀娟. Wnt3、Wnt3a在胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 624-628

同行评价

本文介绍了纳米抗体发展的简要过程, 对读者了解相关知识有一定的帮助.

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3720

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3720-3728
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

炎症性肠病非药物治疗的进展

文韵玲, 牛俊坤, 缪应雷

背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发病机制迄今尚不清楚, 现今的药物治疗手段难以彻底治疗IBD且存在不良反应. 近年来如粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)、干细胞移植及粒细胞单核细胞吸附分离(granulocyte and monocyte apheresis, GMA)等非药物手段凸显出巨大治疗潜力, 已成为IBD重要的辅助治疗方法.

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

文韵玲, 牛俊坤, 缪应雷, 云南省消化疾病研究所 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032
文韵玲, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病发病机制的研究.
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81160055, 81260074
云南省卫生厅卫生系统学科带头人培养计划基金资助项目, No. D-201215
云南省社会发展科技计划基金资助项目, No. 2013CA021
云南省消化疾病研究所基金资助项目, No. 2014NS123
作者贡献分布: 本文综述由文韵玲与牛俊坤完成; 缪应雷审校.
通讯作者: 缪应雷, 主任医师, 博士生导师, 650032, 云南省昆明市五华区西昌路295号, 云南省消化疾病研究所, 昆明医科大学第一附属医院消化内科. myldu@sina.com
电话: 0871-5324888-2532
收稿日期: 2015-06-26 修回日期: 2015-07-13
接受日期: 2015-07-24 在线出版日期: 2015-08-18

Non-drug treatment of inflammatory bowel disease

Yun-Ling Wen, Jun-Kun Niu, Ying-Lei Miao

Yun-Ling Wen, Jun-Kun Niu, Ying-Lei Miao, Yunnan Institute of Digestive Disease; Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81160055 and 81260074; Medical Academic Leader Training Program of Yunnan Provincial Health Bureau, No. D-201215; Social Development Science and Technology Project of Yunnan Province, No. 2013CA021; Foundation of Yunnan Institute of Digestive Disease, No. 2014NS123
Correspondence to: Ying-Lei Miao, Chief Physician, Yunnan Institute of Digestive Disease; Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Wuhua District, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com
Received: 2015-06-26 Revised: 2015-07-13
Accepted: 2015-07-24 Published online: 2015-08-18

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is an idiopathic, chronic, nonspecific inflammatory disease. IBD is comprised of two major types, ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), and is hard to be cured. Currently, aminosalicylic acid preparations, corticosteroids and immunosuppressant drugs are the main treatments for the disease, but there exists poor drug efficacy in some cases, and patients are prone to side effects. Biological agents greatly improve the efficacy, but for a small number of refractory patients, comprehensive intervention containing non-drug treatments is needed. Non-drug treatments like fecal microbiota transplantation (FMT), stem cell transplantation, and granulocyte and monocyte apheresis (GMA) have shown enormous potential for the treatment of IBD, and have become a hot spot of IBD treatment research in recent years. In this paper, we review the non-drug treatments for IBD, in order to broaden the horizons of clinicians in the treatment of IBD.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Fecal microbiota transplantation; Stem cell transplantation; Granulocyte and monocyte apheresis; Research advance

Wen YL, Niu JK, Miao YL. Non-drug treatment of inflammatory bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3720-3728 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3720.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3720

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)

是一种病因尚不明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 其病情反复发作、迁延不愈, 是一种难治性疾病. 目前, 氨基水杨酸制剂、糖皮质激素以及免疫抑制剂等药物是该病的主要治疗措施, 然而部分病例药物疗效欠佳, 而且容易出现药物不良反应, 虽然生物制剂大大提高了疗效, 但是少量难治性病例往往需要联合非药物治疗方法综合干预. 现在运用于临床的粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)、干细胞移植(stem cell transplantation)及粒细胞单核细胞吸附分离(granulocyte and monocyte apheresis, GMA)等非药物手段凸显出巨大治疗潜力, 成为近年来IBD治疗的研究热点. 本文就此3种治疗方法的研究进展作一综述, 以期拓宽临床医师的治疗视野.

© 2015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; 粪菌移植; 干细胞移植; 粒细胞单核细胞吸附分离; 研究进展

核心提示: 本文主要介绍粪菌移植(fecal microbiota transplantation)、干细胞移植(stem cell transplantation)及粒细胞单核细胞吸附分离(granulocyte and monocyte apheresis)这3种非药物手段治疗炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的研究进展, 其针对IBD发生发展的不同环节发挥治疗作用, 在适应证方面也各有优势.

文韵玲, 牛俊坤, 缪应雷. 炎症性肠病非药物治疗的进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3720-3728 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3720.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3720

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因尚不明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD). 遗传易感个体受环境因素影响导致肠道菌群发生改变并针对此产生的异常免疫应答是目前认为的发病机制[1]. IBD在不同国家、地区、种族人群中的发病率不同. 欧洲、北美洲、亚洲的UC最高发病率分别为24.3/10万、19.2/10万、6.3/10万, CD最高发病率分别为12.7/10万、20.2/10万、5.0/10万[2]. IBD既往多见于西方发达国家, 但近20年来, 我国IBD病例迅猛增加, 粗略推测UC患病率为11.6/10万[3], CD患病率为1.4/10万[4], 给患者的健康、生活质量和社会经济效益造成严重影响.

目前治疗IBD的重点是控制黏膜炎症和抑制过度激活的免疫反应. 常规的治疗药物包括氨基水杨酸制剂、激素、免疫抑制剂和近年来发展迅速的生物制剂. 其中, 氨基水杨酸制剂用于轻、中度UC的诱导缓解和维持治疗, 但疗效差异大, 维持期容易复发; 激素仅用于中、重度患者诱导缓解, 不能用于维持治疗, 许多患者出现激素抵抗或激素依赖, 并且其不良反应不可忽视; 免疫抑制剂用于激素抵抗型IBD的转化治疗和维持缓解, 但骨髓抑制、感染、脱发以及影响生育是无法回避的问题[5]; 生物制剂不仅存在机会性感染、神经脱髓鞘及恶性肿瘤等风险[6-8], 而且超高的价格限制其在我国广泛使用. 现今的药物治疗手段难以彻底治疗IBD且均存在不良反应和并发症, 进一步增加了疾病的复杂性, 因此寻找新的治疗途径已成为当务之急. 新兴的非药物治疗方法如粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)、干细胞移植(stem cell transplantation)、粒细胞单核细胞吸附分离(granulocyte and monocyte apheresis, GMA)等已取得突出进展, 并各自显现出其独特优势, 给IBD的治疗带来了全新思路, 为将来针对性、个性化治疗IBD提供充分准备, 本文就IBD的非药物治疗手段研究进展作一综述.

研发前沿

IBD的非药物治疗方法已取得突破性进展, 但是其临床应用和普及仍存在诸多问题, 未来需要更多高质量及大样本临床研究, 进一步探讨其临床疗效及潜在的临床运用价值.

1 FMT

1.1 FMT的原理和机制 胃肠道是人体最大的细菌聚集地, 有约100万亿个细菌, 是人类细胞总数的10倍, 肠道细菌基因是人类基因组的150倍, 正常情况下, 肠道菌群维持着自身微妙的稳定[9]. 肠道菌群对于维持正常内稳态, 调节宿主免疫系统有关键作用, 并影响宿主的发育、生理机能及代谢等功能[10]. 微生物在IBD发病中起重要作用, 机体受到遗传、环境、饮食、药物等因素的影响, 引起肠道菌群发生失调, 异常的细菌及其产物破坏肠道黏膜、诱导异常免疫应答, 导致疾病的发生. 虽然目前尚未发现确切的致病菌, 但研究[11-13]提示IBD患者肠道菌群微生物的丰度和多样性降低, 厚壁菌

相关报道
近年来肠道菌群与人类健康及疾病的关系受到热点关注, FMT旨在通过重建患者正常肠道菌群进而治疗IBD, 现已有许多研究报道了FMT治疗IBD的有效性, 并通过微生物分析发现其可明显改善肠道菌群组成, 提高肠道菌群多样性.

门和拟杆菌门减少, 放线菌门和变形菌门增加. 研究[14]证实采用益生菌治疗IBD可以有效诱导和维持缓解, 特别是对于UC患者, 这提示调整肠道菌群在IBD的治疗中是有意义的. FMT治疗方法旨在重建具有正常功能的肠道菌群, 可在短时间内明显改善患者肠道菌群的构成, 实现肠道及肠道外疾病的治疗, 是近年来的研究焦点. FMT治疗IBD的机制尚不明确, 已有研究表明移植后的受体肠道菌群构成可在较长时间里与供体保持一致, 可能通过竞争抑制致病微生物、调节免疫和代谢过程来发挥生物学效应.

1.2 FMT治疗IBD FMT治疗在我国历史久远, 东晋时期葛洪编著的《肘后备急方》及后来李时珍的《本草纲目》中都提及了运用人粪治疗疾病[15]. 在现代医学中, Eiseman等[16]于1958年首次发表了关于FMT的报告, 该团队使用粪便灌肠成功治愈了4例伪膜性结肠炎患者. 随后的临床实践证实FMT是复发性难治性难辨梭状芽胞杆菌感染(*Clostridium difficile* infection, CDI)肠炎安全有效的治疗措施, 其临床缓解率可达89.1%[17]. 荷兰的团队开展了FMT治疗CDI的首项随机对照试验[18], 这项意义重大的研究结果发表于新英格兰杂志, 结果显示常规万古霉素治疗成功率仅为31%, 相比之下, 灌注供体粪便能明显有效地治疗复发性CDI, 16例研究参与者中, 有13例患者(81%)在一次粪便灌注后感染消退, 另有2例在第二次输注粪便后被成功治愈, 此外, 接受供体粪便输注后, 患者排泄物菌群多样性增加, 与健康供体相似, 拟杆菌门种类和梭菌菌群Ⅳ、ⅩⅣa增加, 变形菌门减少, 更重要的是FMT安全性得到肯定, FMT组不良事件与万古霉素组未见显著组间差异, 仅有输注组输注当天出现轻度腹泻、腹部绞痛. FMT治疗CDI的有效性启发了学者运用FMT治疗CDI合并IBD的患者, 并取得显著疗效, 开启了FMT治疗IBD的新纪元.

自FMT运用于IBD后, 众多临床研究[19]表明FMT在难治性和复发性UC的治疗中具有巨大价值, 特别是对于合并CDI的患者, 疗效更为显著, 其不仅可以达到临床缓解, 甚至可达到黏膜愈合. 一项采用FMT治疗UC的病例报道[20]显示, 治疗1 wk后患者的部分症状得到改善, 治疗4 mo后所有患者症状完全缓解, 在随后的1-13年随访中, 全部患者均未出现UC的临床症状、内镜下或组织学特征. 近期, 一项纳入70例患者, 采用FMT治疗活动性UC患者的随机对照试验[21]结果表明, 治疗第7周时治疗组和对照组的缓解率分别为24%和5%, 而且治疗组患者的肠道微生物多样性显著提高. 目前开展的临床研究证实FMT治疗CD是安全的, 虽然在疗效上还存在争议, 但多数研究仍显示FMT能有效诱导活动期CD达到缓解. Suskind等[22]对活动性CD患者行鼻胃管FMT治疗, 首次证实FMT可能为CD的治疗选择方案, 值得一提的是, 该研究中少数患者出现如腹痛、腹胀、腹泻的不良反应均为自限性的. 另一项研究[23]对难治性CD患者行FMT治疗, 治疗1 mo后缓解率为76.7%, 并且宏基因组分析证实受体粪便标本的微生物和供体纯化后的粪便微生物具有高度一致性. 一项纳入122例患者的Meta分析[24]显示FMT治疗IBD缓解率为36.2%, 其中UC组为22%, CD组为60.5%, CD组疗效优于UC组. 与此相反, Borody等[25]总结了一些FMT治疗CD效果不佳的报告, 提出CD对FMT的应答效果总体上低于UC, 认为既往关于FMT治疗CD有效的报道, 可能是因为FMT针对结肠菌群发生显著失调之前的短病程CD有效, 也可能是由于使用的抗生素发挥了作用, 此外, 某些患者菌群失调导致的临床症状相对更敏感、易被逆转. 总体来说, UC, 特别是合并CDI的患者能从FMT治疗中获益更多, 但FMT对CD的疗效仍存在争议, 尚需更多的临床实验评估.

1.3 FMT的前景和待解决问题 迄今为止, FMT被认为是安全有效的治疗方法, 未见严重不良事件. 部分患者接受FMT治疗当天出现腹泻, 少数患者出现嗳气、腹胀、腹痛、便秘等症状在移植后2 d内大部分消失[26]. 另有报道[27]显示个别患者在首次接受移植后出现寒战、发热等症状, 但大都可自行缓解. FMT采用粪便作为治疗材料与传统理念不同, 因此, 其伦理问题、公众接受度必然受到关注. 调查研究[28]显示绝大多数患者对FMT充满兴趣, 其中46%的患者愿意接受FMT治疗, 该结果鼓舞人心, 为将来FMT标准化、大规模运用于临床提供了支持. 已有的研究证实了FMT治疗的有效性和安全性, 但FMT在供体选择、粪菌制备、给药剂量及途径等仍缺乏权威的标准指南. 目前大量地采用FMT治疗IBD的临床试验、FMT

治疗儿童IBD患者的临床试验正陆续开展, Clinical Trial.gov已经登记19项FMT治疗UC, 9项CD的临床研究, 我国南京医科大学张发明教授也开展了一项FMT治疗UC的临床试验(NCT01790061), 目前正在招募受试者, 并期望通过微生物分析, 特别是肠道菌群宏基因组测序, 进一步探索FMT治疗IBD的疗效和明确有效菌群, 以及FMT在诱导缓解和预防复发中的作用, 使FMT最终高效安全作用于包括儿童在内的IBD患者.

2 干细胞移植

2.1 干细胞移植的原理和机制 肠黏膜屏障在IBD的发病机制中起重要作用, 肠黏膜屏障主要包括以上皮细胞为主的机械屏障和以黏膜下层免疫细胞为主的免疫屏障. 上皮细胞作为肠道防御的第一线, 其本身的防御修复功能是整个黏膜保护功能的关键阶段. 正常生理条件下, 肠道上皮细胞能不断的自我更新, 得益于干细胞的分化、成熟与迁移, 保证屏障功能完好. 干细胞是具有多向分化潜能的细胞, 按发育阶段分为胚胎干细胞和成体干细胞, 成体干细胞按组织来源分为造血干细胞、间充质干细胞、肠道干细胞、脂肪来源干细胞和近年兴起的羊膜源干细胞等. 目前, 采用干细胞移植治疗IBD已取得了初步进展. 干细胞能不断增殖分化, 修复损伤黏膜, 调节失衡的免疫系统, 恢复免疫系统网络的完整性, 维持大量记忆细胞对环境抗原的免疫效应. 有研究认为间充质干细胞能有效调节固有免疫系统, 调节T细胞反应, 抑制T、B淋巴细胞活化, 降低树突细胞抗原呈递作用, 并分泌细胞因子调节免疫. 除外免疫调节, 干细胞的归巢、分化和增殖能促进肠黏膜受损血管的生成, 使氧和营养物质输送到损伤组织, 修复肠黏膜. 研究发现移植的间充质干细胞可分化为结肠间质细胞, 表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和转化生长因子(transforming growth factor, TGF)-β, 促进受损血管的生成, 加速结肠炎愈合[29].

2.2 干细胞移植治疗IBD 1993年, Drakos等[30]首次报道了1例非霍奇金淋巴瘤合并CD患者在接受同种异体造血干细胞后其CD病情得到改善. 此后陆续有血液系统疾病合并IBD患者进行干细胞移植后IBD得到了意想不到的缓解, 这引起了学者的关注, 于是开启了干细胞移植治疗IBD的研究.

大量的基础研究正慢慢揭开干细胞移植作用于IBD的面纱. Chen等[31]将骨髓源间充质干细胞移植给TNBS诱导的结肠炎小鼠, 结果证实间充质干细胞通过调节炎症和自身免疫反应, 使结肠炎小鼠获得了临床和组织学的缓解, 还通过下调Th1-Th17驱使的自身免疫和促炎反应、上调Th2的活性, 发挥治疗作用. 实验中采用绿色荧光蛋白追踪细胞, 显示间充质干细胞归巢于损伤组织, 促进肠上皮细胞增殖和肠道干细胞分化. Shaker等[32]及Yui等[33]从健康鼠的结肠中获取单个肠道干细胞经Lgr5$^+$标记后进行体外培养, 该干细胞增殖分化生成上皮组织样类器官, 后灌肠移植到模型小鼠肠腔内, 类器官黏附于损伤区域, 生成上皮细胞, 小鼠体质量增加、疾病缓解, 荧光追踪显示移植的细胞团在25 wk后仍然自我更新, 该研究提示单个肠道干细胞通过体外培养可增殖为具有功能的类器官, 移植到IBD患者肠腔内能持续更新, 修复受损组织, 改善症状. 这项里程碑式的研究, 给我们带来全新的观念, 干细胞移植可与再生医学相结合治疗IBD.

目前, 干细胞移植对IBD的治疗主要集中于传统治疗无效的难治性IBD. Lazebnik等[34]采用间充质干细胞移植和IBD常规药物分别治疗UC患者, 并进行了2年的随访, 结果显示间充质干细胞移植治疗组72.7%的患者其临床、内镜下、组织学炎症活动指数低于5-氨基水杨酸和糖皮质激素治疗组, 此外, 前者的缓解持续时间延长, 其复发风险和住院率低于后者. 该研究还提出了间充质干细胞移植可作为UC治疗的新选择, 其具有强大的免疫调节作用, 并促进肠道黏膜的修复. 总体上, 干细胞移植治疗难治性UC的疗效低于难治性CD. 许多重度难治性CD病情进展快、药物抵抗, 即使联合使用免疫抑制剂和生物制剂也不能达到长久缓解, 干细胞移植对治疗重度难治性CD具有巨大潜力. 近年来, 已有造血干细胞移植成功治疗难治性CD的病例报告[35,36]显示患者对该治疗具有良好耐受性, 可在治疗后取得完全缓解.

肛周瘘管是CD典型的、破坏性的症状, 药物和手术治疗效果均不理想, 然而, 干细胞移植在治疗合并肛周瘘管的CD中却显示出巨

创新盘点
本文荟萃了最新的研究文献, 将IBD的3种非药物治疗方法进行了回顾、总结、对比、展望, 为将来针对性、个性化治疗IBD提供依据.

应用要点
传统药物对部分IBD作用有限且可能出现不良反应, 尤其是一些难治性IBD患者. FMT、干细胞移植、GMA等非药物治疗方法为IBD的治疗提供了新思路, 极大地拓宽了临床医师的治疗视野.

大的优越性. 一项纳入49例复杂性肛周瘘管患者的多中心、随机对照Ⅱ期临床试验[37]给予实验组脂肪来源的干细胞结合纤维蛋白胶治疗, 对照组仅使用纤维蛋白胶, 治疗后随访第8周和1年时患者的瘘管愈合情况, 结果显示实验组瘘管愈合率为71%, 对照组为16%, 证实脂肪源性干细胞移植治疗复杂性肛周瘘管是一种安全有效的方法. Lee等[38]亦将自体脂肪来源干细胞移植到CD合并肛周瘘管患者, 治疗8 wk后82%的患者瘘管完全愈合, 随访一年88%的患者能维持瘘管封闭愈合. 该研究显示合并肛周瘘管的CD患者对脂肪源干细胞具有良好耐受性, 且能维持瘘管完全关闭. 但目前脂肪源干细胞的获取需利用抽脂术、细胞扩增等手段, 制备复杂、成本高昂, 限制了其在临床的广泛应用, 但是干细胞移植可能为难治性CD和CD相关瘘管的新治疗选择.

2.3 干细胞移植的前景和待解决问题 干细胞移植治疗IBD取得了一定成就, 目前大量的干细胞移植治疗CD的临床试验正在进行, Clinical Trial.gov已经登记8项FMT治疗CD的临床研究, 其中两项已经终止, 其他6项正在招募受试者, 只有1项治疗UC的临床试验, 干细胞移植治疗IBD仍处于临床实验性阶段, 而且前景尚不明确, 未大规模应用于临床, 有许多亟待解决的问题: 如干细胞调节肠道免疫和修复上皮组织的详细机制, 干细胞移植的适应症、最佳时机、选择剂量和方式途径, 干细胞移植如何与再生医学相结合, 干细胞移植与诱导新生肿瘤的关系等. 疗效评估尚需大样本的基础及临床研究证实.

3 GMA

3.1 GMA的原理和机制 细胞因子在IBD的发生发展中起着至关重要的作用, 从多层次、多位点参与炎症反应. 其中, 促炎因子和抗炎因子的失衡是导致病情迁延不愈和黏膜损伤的最重要因素[39]. IBD患者肠道稳态打破后, 肠道通透性增加, 巨噬细胞和树突状细胞识别进入黏膜下层的抗原或者细菌及其裂解物, 抗原提呈细胞捕捉的抗原通过Toll样和NOD样受体激活自身免疫应答, 启动核因子-κB(nuclear factor-κB, NF-κB)、TGF-β及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等信号通路, 引发肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)-α、白介素(interleukin, IL)-1β和IL-23等促炎细胞因子“瀑布”样释放, 损伤上皮细胞, 上皮细胞损伤又致使上述过程恶性循环, 最终导致IBD患者体内促炎因子表达水平持续性升高, 加重炎症反应和黏膜损伤[40,41]. 研究[42,43]证明, IBD患者体内粒细胞、单核细胞/巨噬细胞显著增加, 他们是促炎因子的主要来源, 并伴有抗原抗体复合物和T细胞异常. 基于以上认识, 日本的团队研发了以白细胞为治疗靶点的GMA治疗术, 从患者外周血中选择性吸附分离粒细胞、单核细胞/巨噬细胞, 清除体内促炎因子, 从而治疗IBD. GMA包括两种治疗系统[44]: Adacolumn和Cellsorba. Adacolumn可有效地清除约65%的粒细胞和55%的单核细胞[45,46], 减少如TNF-α、IL-1b、IL-1ra、IL-6及IL-8等促炎因子的释放, 增加抗炎因子, 调节免疫系统功能[47]. 经Adacolumn治疗, 可增加具有抗炎效应的IL-1受体拮抗剂的表达, 促进粒细胞凋亡. 值得指出的是, Adacolumn还移除了大量的能引发免疫激活的树突状细胞, 增加了具有免疫调节功能、能抑制消化系过度免疫的$CD4^+CD25^+$调节T细胞[48]. Cellsorba功效和过程与Adacolumn非常类似, 唯一不同的就是Cellsorba同时移除了淋巴细胞, 这可能增加自身免疫性疾病的风险, 导致该系统的应用受到一定限制. 所以, 在欧洲Adacolumn较Cellsorba使用更频繁. Tomiyasu等[49]对DSS诱导的结肠炎小鼠模型行粒细胞、单核细胞吸附分离治疗, 认为下调TNF-α的表达可能为其发挥抗炎效应的一个机制. Toya等[50]通过检测活动性UC患者经GMA治疗前后的血清细胞因子水平, 发现治疗后抗炎因子IL-10相比于治疗前显著增高, 认为GMA可能通过促进抗炎因子IL-10的分泌来发挥治疗作用. 但是, GMA的作用模式和机制尚不完全清楚, 是当前的研究热点.

3.2 GMA治疗IBD 已有报道采用GMA治疗UC, 能安全、有效地诱导和维持缓解. Fukunaga等[51]对33例活动性、激素抵抗性UC患者进行了连续10 wk 1次/wkGMA的治疗诱导缓解, 之后随机分为实验组、安慰剂组和空白组, 实验组行1次/mo GMA治疗, 安慰剂组接受1次/mo缺少GMA吸附柱的体外循环治疗, 48 wk后测定3组复发率, 结果分别为60.0%、90.9%和81.8%, 证明UC患者通过1次/wk GMA治疗达到缓解以后, 接受1次/mo GMA可以潜在地维

持缓解、预防复发. 另有研究[52]对40例难治性慢性活动性IBD患者(15例UC, 25例CD)进行5-10个疗程的GMA治疗并做了长期追踪随访. 结果显示85%的患者出现临床缓解, 65%的患者症状完全缓解, 66%的UC患者和64%的CD患者维持临床和内镜下缓解的平均时间达到14 mo. 但是, 有学者对GMA治疗CD的疗效提出了质疑. Sands等[53]开展了一项针对GMA治疗中到重度CD的首个随机、双盲、对照试验, 结果证明CD患者对GMA耐受性良好, 但GMA未能诱导CD临床缓解或应答. 另有研究报道GMA与药物联合治疗IBD能取得较好疗效. 一项来自日本的研究[54]采用GMA联合硫唑嘌呤对早期CD患者进行治疗, 结果显示联合治疗可快速高效诱导缓解, 并且50%的患者达到黏膜愈合. Fukunaga等[55]报道了1例GMA和英夫利昔单抗联合治疗CD能有效维持临床缓解和内镜下缓解的病例, 提出GMA能增强英夫利昔效应, 弥补英夫利昔多次重复治疗可能产生失效的不足. 因此, GMA在UC中的应用较成熟, 其还可作为传统治疗药物的辅助疗法, 但在CD中的应用有待进一步研究.

3.3 GMA的前景和待解决问题 GMA治疗具有良好的安全性, 报道的不良反应均是轻微的, 典型的不良反应有头晕、头痛、恶心、脸红和发热[56], 至今未发现因不良事件而治疗中断的报道. GMA以IBD的加重因素为治疗靶点是一种合理的手段, 其清除体内过量的致病物质, 而不引入异物到体内, 具有药物干预无法匹敌的优势. 目前, GMA治疗IBD的研究结果既有成功的, 也有令人失望的, Clinical Trial.gov已经登记3项GMA治疗UC的临床研究, 其中两项已经完成, 但是还未发表研究结果, 另外1项正在招募受试者. 未来需要更多高质量的随机对照试验和揭示GMA治疗模式研究, 以促进GMA最终以安全、高效的方式登上临床治疗IBD的舞台.

4 结论

IBD主要是由于肠道菌群失调, 机体对此产生异常免疫应答, 激活粒细胞单核细胞释放过量细胞因子, 导致肠道黏膜损伤, 异常微生物及其产物又通过损伤部位再次进入机体引发免疫反应, 如此形成回路加重和维持炎症反应. 以上3种非药物治疗手段针对疾病发生发展的不同环节发挥治疗作用, 在适应证方面也各有优势. FMT治疗IBD合并CDI、严重复发性难治性UC具有巨大潜能; 干细胞移植更倾向于运用到IBD合并血液系统疾病、重度难治性CD及CD合并瘘道的患者; GMA较其他两种治疗方法出现较晚, 现已涌现出大量研究证明其治疗UC有效, 作为一种接近人体自然生理过程的血液净化疗法, 其具有巨大潜力作为免疫抑制剂和生物制剂有效且安全的辅助治疗手段.

传统药物对部分IBD作用有限且可能出现不良反应, 尤其是一些难治性IBD患者. FMT、干细胞移植、GMA等非药物治疗方法为IBD患者的治疗提供了新的希望, 目前已成为IBD重要的辅助治疗方法. 但是, 其临床应用和普及仍存在诸多问题, 且缺乏他们之间的联合运用研究. 未来需要更多高质量及大样本临床研究, 进一步探讨其临床疗效及潜在的临床运用价值, 最终应用于临床, 针对疾病的不同分型实施个性化治疗, 造福广大IBD患者.

名词解释

肠黏膜屏障: 肠黏膜屏障由机械屏障(肠上皮细胞)、化学屏障(肠黏液、消化液等)、免疫屏障(肠相关淋巴组织、分泌型IgA)、生物屏障(肠道正常菌群)构成. 研究表明肠黏膜屏障损伤与IBD密切相关.

5 参考文献

1 Cader MZ, Kaser A. Recent advances in inflammatory bowel disease: mucosal immune cells in intestinal inflammation. *Gut* 2013; 62: 1653-1664 [PMID: 24104886 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303955]

2 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54.e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]

3 Wang Y, Ouyang Q. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1450-1455 [PMID: 17716349 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04873.x]

4 APDW2004 Chinese IBD Working Group. Retrospective analysis of 515 cases of Crohn's disease hospitalization in China: nationwide study from 1990 to 2003. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1009-1015 [PMID: 16724987 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04140.x]

5 Bryant RV, Brain O, Travis SP. Conventional drug therapy for inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2015; 50: 90-112 [PMID: 25523560 DOI: 10.3109/00365521.2014.968864]

6 Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, Siegel JN, Braun MM. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N*

同行评价

本研究针对目前IBD临床研究的热点问题，聚焦于FMT、干细胞移植、GMA这3种最新的非药物治疗方法，资料全面，分析结果合理、恰当，对于读者了解目前IBD的新疗法有重要的参考价值.

Engl J Med 2001; 345: 1098-1104 [PMID: 11596589 DOI: 10.1056/NEJMoa011110]

7 Gupta G, Gelfand JM, Lewis JD. Increased risk for demyelinating diseases in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2005; 129: 819-826 [PMID: 16143121 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.06.022]

8 Brown SL, Greene MH, Gershon SK, Edwards ET, Braun MM. Tumor necrosis factor antagonist therapy and lymphoma development: twenty-six cases reported to the Food and Drug Administration. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 3151-3158 [PMID: 12483718 DOI: 10.1002/art.10679]

9 Wu GD, Lewis JD. Analysis of the human gut microbiome and association with disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 774-777 [PMID: 23643636 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.03.038]

10 Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota--masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11: 227-238 [PMID: 23435359 DOI: 10.1038/nrmicro2974]

11 Dasgupta S, Kasper DL. Relevance of commensal microbiota in the treatment and prevention of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 2478-2489 [PMID: 23846489 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318297d884]

12 Michail S, Durbin M, Turner D, Griffiths AM, Mack DR, Hyams J, Leleiko N, Kenche H, Stolfi A, Wine E. Alterations in the gut microbiome of children with severe ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1799-1808 [PMID: 22170749 DOI: 10.1002/ibd.22860]

13 Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1720-1728 [PMID: 21530738 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.054]

14 Meijer BJ, Dieleman LA. Probiotics in the treatment of human inflammatory bowel diseases: update 2011. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45 Suppl: S139-S144 [PMID: 21992953 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31822103f7]

15 Zhang F, Luo W, Shi Y, Fan Z, Ji G. Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1755; author reply p.1755-p.1756 [PMID: 23160295 DOI: 10.1038/ajg.2012.251]

16 Eiseman B, Silen W, Bascom Gs, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958; 44: 854-859 [PMID: 13592638]

17 Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, Hunt RH. Fecal microbiota transplantation for Clostridium difficile infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 500-508 [PMID: 23511459 DOI: 10.1038/ajg.2013.59]

18 van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, Visser CE, Kuijper EJ, Bartelsman JF, Tijssen JG, Speelman P, Dijkgraaf MG, Keller JJ. Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile. *N Engl J Med* 2013; 368: 407-415 [PMID: 23323867 DOI: 10.1056/NEJMoa1205037]

19 Anderson JL, Edney RJ, Whelan K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 503-516 [PMID: 22827693 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05220.x]

20 Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 42-47 [PMID: 12811208]

21 Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, Armstrong D, Marshall JK, Kassam Z, Reinisch W, Lee CH. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* 2015; 149: 102-109.e6 [PMID: 25857665 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.001]

22 Suskind DL, Brittnacher MJ, Wahbeh G, Shaffer ML, Hayden HS, Qin X, Singh N, Damman CJ, Hager KR, Nielson H, Miller SI. Fecal microbial transplant effect on clinical outcomes and fecal microbiome in active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2015; 21: 556-563 [PMID: 25647155 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000307]

23 Cui B, Feng Q, Wang H, Wang M, Peng Z, Li P, Huang G, Liu Z, Wu P, Fan Z, Ji G, Wang X, Wu K, Fan D, Zhang F. Fecal microbiota transplantation through mid-gut for refractory Crohn's disease: safety, feasibility, and efficacy trial results. *J Gastroenterol Hepatol* 2015; 30: 51-58 [PMID: 25168749 DOI: 10.1111/jgh.12727]

24 Colman RJ, Rubin DT. Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis* 2014; 8: 1569-1581 [PMID: 25223604 DOI: 10.1016/j.crohns.2014.08.006]

25 Borody TJ, Finlayson S, Paramsothy S. Is Crohn's disease ready for fecal microbiota transplantation? *J Clin Gastroenterol* 2014; 48: 582-583 [PMID: 24828361 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000155]

26 Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 994-1002 [PMID: 22002980 DOI: 10.1093/cid/cir632]

27 Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H, Cloney D, Kugathasan S. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56: 597-601 [PMID: 23542823 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318292fa0d]

28 Kahn SA, Vachon A, Rodriquez D, Goeppinger SR, Surma B, Marks J, Rubin DT. Patient perceptions of fecal microbiota transplantation for ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1506-1513 [PMID: 23624888 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318281f520]

29 Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, Nishida T, Ishii S, Iijima H, Nakamura T, Eguchi H, Miyoshi E, Hayashi N, Kawano S. Topical implantation of mesenchymal stem cells has beneficial effects on healing of experimental colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 326: 523-531 [PMID: 18448866 DOI: 10.1124/jpet.108.137083]

30 Drakos PE, Nagler A, Or R. Case of Crohn's

disease in bone marrow transplantation. *Am J Hematol* 1993; 43: 157-158 [PMID: 8342550]
31 Chen QQ, Yan L, Wang CZ, Wang WH, Shi H, Su BB, Zeng QH, Du HT, Wan J. Mesenchymal stem cells alleviate TNBS-induced colitis by modulating inflammatory and autoimmune responses. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4702-4717 [PMID: 23922467 DOI: 10.3748/wjg.v19.i29.4702]
32 Shaker A, Rubin DC. Stem cells: One step closer to gut repair. *Nature* 2012; 485: 181-182 [PMID: 22575955 DOI: 10.1038/485181a]
33 Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, Watanabe M. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell. *Nat Med* 2012; 18: 618-623 [PMID: 22406745 DOI: 10.1038/nm.2695]
34 Lazebnik LB, Kniazev OV, Konopliannikov AG, Parfenov AI, Ruchkina IN, Mikhaĭlova ZF, Tsaregorodtseva TM, Khomeriki SG, Rogozina VA, Gudkova RB, Shcherbakov PL, Konopliannikova OA. [Allogeneic mesenchymal stromal cells in patients with ulcerative colitis: two years of observation]. *Eksp Klin Gastroenterol* 2010; (11): 3-15 [PMID: 21485508]
35 Kriván G, Szabó D, Kállay K, Benyó G, Kassa C, Sinkó J, Goda V, Arató A, Veres G. [Successful autologous haematopoietic stem cell transplantation in severe, therapy-resistant childhood Crohn's disease. Report on the first case in Hungary]. *Orv Hetil* 2014; 155: 789-792 [PMID: 24819188 DOI: 10.1556/OH.2014.29892]
36 Hommes DW, Duijvestein M, Zelinkova Z, Stokkers PC, Ley MH, Stoker J, Voermans C, van Oers MH, Kersten MJ. Long-term follow-up of autologous hematopoietic stem cell transplantation for severe refractory Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 543-549 [PMID: 22115372 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.05.004]
37 Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual JA, Del-Valle E, Zorrilla J, De-La-Quintana P, Garcia-Arranz M, Pascual M. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 79-86 [PMID: 19273960 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181973487]
38 Lee WY, Park KJ, Cho YB, Yoon SN, Song KH, Kim do S, Jung SH, Kim M, Yoo HW, Kim I, Ha H, Yu CS. Autologous adipose tissue-derived stem cells treatment demonstrated favorable and sustainable therapeutic effect for Crohn's fistula. *Stem Cells* 2013; 31: 2575-2581 [PMID: 23404825 DOI: 10.1002/stem.1357]
39 Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 329-342 [PMID: 24751956 DOI: 10.1038/nri3661]
40 Schreiber S, Nikolaus S, Hampe J, Hämling J, Koop I, Groessner B, Lochs H, Raedler A. Tumour necrosis factor alpha and interleukin 1beta in relapse of Crohn's disease. *Lancet* 1999; 353: 459-461 [PMID: 9989717 DOI: 10.1016/S0140-6736(98)03339-X]
41 Papadakis KA, Targan SR. Role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annu Rev Med* 2000; 51: 289-298 [PMID: 10774465 DOI: 10.1146/annurev.med.51.1.289]
42 Saniabadi AR, Hanai H, Takeuchi K, Umemura K, Nakashima M, Adachi T, Shima C, Bjarnason I, Lofberg R. Adacolumn, an adsorptive carrier based granulocyte and monocyte apheresis device for the treatment of inflammatory and refractory diseases associated with leukocytes. *Ther Apher Dial* 2003; 7: 48-59 [PMID: 12921115]
43 Saniabadi AR, Hanai H, Suzuki Y, Ohmori T, Sawada K, Yoshimura N, Saito Y, Takeda Y, Umemura K, Kondo K, Ikeda Y, Fukunaga K, Nakashima M, Beretta A, Bjarnason I, Lofberg R. Adacolumn for selective leukocytapheresis as a non-pharmacological treatment for patients with disorders of the immune system: an adjunct or an alternative to drug therapy? *J Clin Apher* 2005; 20: 171-184 [PMID: 15892107 DOI: 10.1002/jca.20046]
44 C Leitner G, Worel N, Vogelsang H. Selective Granulocyte and Monocyte Apheresis as a Non-Pharmacological Option for Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Transfus Med Hemother* 2012; 39: 246-252 [PMID: 22969694]
45 Hanai H. Positions of selective leukocytapheresis in the medical therapy of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7568-7577 [PMID: 17171783]
46 Hanai H, Iida T, Yamada M, Sato Y, Takeuchi K, Tanaka T, Kondo K, Kikuyama M, Maruyama Y, Iwaoka Y, Nakamura A, Hirayama K, Saniabadi AR, Watanabe F. Effects of adacolumn selective leukocytapheresis on plasma cytokines during active disease in patients with active ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3393-3399 [PMID: 16733857]
47 Saniabadi AR, Tanaka T, Ohmori T, Sawada K, Yamamoto T, Hanai H. Treating inflammatory bowel disease by adsorptive leucocytapheresis: a desire to treat without drugs. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 9699-9715 [PMID: 25110409 DOI: 10.3748/wjg.v20.i29.9699]
48 Cuadrado E, Alonso M, de Juan MD, Echaniz P, Arenas JI. Regulatory T cells in patients with inflammatory bowel diseases treated with adacolumn granulocytapheresis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1521-1527 [PMID: 18330941]
49 Tomiyasu N, Mitsuyama K, Suzuki A, Masuda J, Yamasaki H, Kuwaki K, Takaki K, Kitazaki S, Sata M. Development of granulocyte and monocyte adsorptive apheresis in the rat dextran sodium sulfate-induced colitis model. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2007; 29: 265-268 [PMID: 17609738 DOI: 10.1358/mf.2007.29.4.1075361]
50 Toya Y, Chiba T, Mizutani T, Sato K, Kasugai S, Matsuda N, Orikasa S, Shibata S, Abiko Y, Akasaka R, Yokoyama N, Oana S, Hirota S, Endo M, Suzuki K. The effect of granulocyte and monocyte adsorptive apheresis on serum cytokine levels in patients with ulcerative colitis. *Cytokine* 2013; 62: 146-150 [PMID: 23465691 DOI: 10.1016/j.cyto.2013.01.019]
51 Fukunaga K, Yokoyama Y, Kamokozuru K, Nagase K, Nakamura S, Miwa H, Matsumoto T. Adsorptive granulocyte/monocyte apheresis for the maintenance of remission in patients with ulcerative colitis: a prospective randomized, double

blind, sham-controlled clinical trial. *Gut Liver* 2012; 6: 427-433 [PMID: 23170145 DOI: 10.5009/gnl.2012.6.4.427]
52 Lindberg A, Eberhardson M, Karlsson M, Karlén P. Long-term follow-up with Granulocyte and Monocyte Apheresis re-treatment in patients with chronically active inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 73 [PMID: 20604939 DOI: 10.1186/1471-230X-10-73]
53 Sands BE, Katz S, Wolf DC, Feagan BG, Wang T, Gustofson LM, Wong C, Vandervoort MK, Hanauer S. A randomised, double-blind, sham-controlled study of granulocyte/monocyte apheresis for moderate to severe Crohn's disease. *Gut* 2013; 62: 1288-1294 [PMID: 22760005 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300995]
54 Fukuchi T, Nakase H, Ubukata S, Matsuura M, Yoshino T, Toyonaga T, Shimazu K, Koga H, Yamashita H, Ito D, Ashida K. Therapeutic effect of intensive granulocyte and monocyte adsorption apheresis combined with thiopurines for steroid- and biologics-naïve Japanese patients with early-diagnosed Crohn's disease. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 124 [PMID: 25015328 DOI: 10.1186/1471-230X-14-124]
55 Fukunaga K, Yokoyama Y, Kamikozuru K, Yoshida K, Kikuyama R, Nagase K, Nakamura S, Takei Y, Miwa H, Matsumoto T. Selective depletion of peripheral granulocyte/monocyte enhances the efficacy of scheduled maintenance infliximab in Crohn's disease. *J Clin Apher* 2010; 25: 226-228 [PMID: 20544712 DOI: 10.1002/jca.20242]
56 Yamamoto T, Umegae S, Matsumoto K. Safety and clinical efficacy of granulocyte and monocyte adsorptive apheresis therapy for ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 520-525 [PMID: 16489663]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3729

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3729-3735
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

凋亡蛋白酶活化因子-1与肿瘤相关性的研究进展

贾明旭, 陈 吉

贾明旭, 内蒙古医科大学研究生学院 内蒙古自治区呼和浩特市 010059
贾明旭, 陈吉, 内蒙古医科大学第三附属医院(内蒙古包钢医院)消化内科 内蒙古自治区包头市 014010
贾明旭, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.
作者贡献分布: 本文综述由贾明旭完成; 陈吉审校.
通讯作者: 陈吉, 教授, 主任医师, 014010, 内蒙古自治区包头市昆都仑区少先路20号, 内蒙古医科大学第三附属医院(内蒙古包钢医院)消化内科. chenji2847@163.com
电话: 0472-5992847
收稿日期: 2015-06-15 修回日期: 2015-07-09
接受日期: 2015-07-14 在线出版日期: 2015-08-18

Apoptotic protease activating factor-1 and tumors

Ming-Xu Jia, Ji Chen

Ming-Xu Jia, Graduate School of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, Inner Mongolia Autonomous Region, China
Ming-Xu Jia, Ji Chen, Department of Gastroenterology, the Third Hospital Affiliated to Inner Mongolia Medical University (Inner Mongolia Baogang Hospital), Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China
Correspondence to: Ji Chen, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third Hospital Affiliated to Inner Mongolia Medical University (Inner Mongolia Baogang Hospital), 20 Shaoxian Road, Kundulun District, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China. chenji2847@163.com
Received: 2015-06-15 Revised: 2015-07-09
Accepted: 2015-07-14 Published online: 2015-08-18

Abstract

Apoptotic protease activating factor-1 (Apaf-1) functions as a core apoptosis factor in the mitochondrial apoptosis pathway. *Apaf-1* promoter methylation and loss of heterozygosity are the main causes of cancer, and lower expression of Apaf-1 is closely related to malignant tumors. Apaf-1 expression deletion and methylation can be used as markers for deeper tumor invasion, frequent lymph node metastasis, tumor differentiation and poor prognosis. Apaf-1 can be used as a molecular target for anticancer therapy and prognosis prediction. Further research on Apaf-1 will contribute to the development of effective anti-tumor drugs. In this paper, we will review the biochemical structure and function of Apaf-1, Apaf-1 signal transduction pathway, expression of Apaf-1 in a variety of tumors, as well as its role in tumor occurrence, drug resistance and treatment.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Apoptotic protease activating factor-1; Tumor; Apoptosis

Jia MX, Chen J. Apoptotic protease activating factor-1 and tumors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3729-3735 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3729.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3729

摘要

凋亡蛋白酶活化因子-1(apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1)作为细胞凋亡的核心因子, 在线粒体凋亡途径中起着极其关键的作用. *Apaf-1*启动子甲基化和杂合性缺失是肿瘤发生的最主要因素, Apaf-1表达下调与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关, 其表达情况可作为肿瘤浸润深度、淋巴结转移及肿瘤分化不良等预后不佳的标志物, Apaf-1也可作为抗癌治疗和判断预后的靶分子. 对其深入研究将有助于对抗肿瘤药物的研制. 本文就Apaf-1的生化结构和功能、信号转导

背景资料
1997年, Zou等首次从HeLa细胞系其胞浆内提取和克隆出凋亡蛋白酶活化因子-1(apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1)的cDNA, 并证实Apaf-1与之前在线虫体内发现的凋亡基因*CED-4*是同源类似物, 是一种抑癌基因. 在多种肿瘤中其表达降低或缺失, 这与*Apaf-1*基因启动子甲基化和12q22-23区域杂合性丢失等原因密切相关. 检测Apaf-1表达可作为判断肿瘤浸润、转移及预后的新生物学指标, 也可作为肿瘤治疗的靶因子.

同行评议者
陆斌, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学

研发前沿

诱发肿瘤的因素多种多样, 肿瘤的发生不仅是细胞增殖和分化异常引起, 细胞凋亡状态及其调控基因的异常也可参与肿瘤的发生发展, *Apaf-1*基因启动子甲基化和12q22-23区域杂合性丢失是调控*Apaf-1*基因表达的主要因素, 也是当今研究的热点课题, Apaf-1甲基化的产生及相关影响因子的研究是热点中的重点. 治疗方面的侧重点集中在基因耐药性的机制和化疗药物的作用机制, 对机制的深入研究利于临床抗肿瘤药物的制备和应用.

通路以及近年来关于Apaf-1在多种肿瘤中的表达、肿瘤的发生机制及其在肿瘤的耐药与治疗中的作用等方面的最新研究进展作一综述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 凋亡蛋白酶活化因子-1; 肿瘤; 凋亡

核心提示: 凋亡蛋白酶活化因子-1(apoptotic protease activating factor-1)作为核苷酸结合寡聚化结构域家族(NOD)成员之一, 通过诱发Caspase级联反应参与线粒体介导的细胞凋亡途径, 并在其中发挥核心作用. 对其表达的检测有助于判断肿瘤的发生发展及预后情况.

贾明旭, 陈吉. 凋亡蛋白酶活化因子-1与肿瘤相关性的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3729-3735 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3729.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3729

0 引言

肿瘤的发生发展、转移与细胞凋亡缺陷相关[1]. 凋亡蛋白酶活化因子-1(apoptotic protease activating factor-1, Apaf-1)是核苷酸结合寡聚化结构域家族(NOD)成员之一. *Apaf-1*是一种抑癌基因且被认为是细胞凋亡的核心因子. 其参与线粒体介导的细胞凋亡途径, 影响胚胎发育, 并与多种肿瘤的发生、化疗耐药性及预后密切相关. 1997年, Zou等[2]在体外建立的HeLa细胞系研究细胞凋亡时, 首次从其胞浆内提取和克隆出Apaf-1的cDNA, 并证实Apaf-1与之前在线虫体内发现的凋亡基因*CED-4*是同源类似物. 随后, Soengas等[3]通过对转移性黑色素瘤的研究证实*Apaf-1*是一种抑癌基因. 本文就Apaf-1与肿瘤细胞凋亡的研究进展作一综述.

1 Apaf-1的结构及分布

人类*Apaf-1*基因位于染色体13q23, 可编码1194个氨基酸, 蛋白分子质量约为130 kDa, 表达于细胞质中. Apaf-1是一个多功能结构域衔接蛋白, 由3个主要结构组成: N-末端为半胱氨酸蛋白酶募集域(CARD)、核苷酸结合寡聚化结构域(NOD)和C-末端12-13WD40重复结构域. 其中, CARD提供与proCaspase9的结合位点, NOD提供一个核苷酸结合位点可导致其自身寡聚化促进凋亡体形成, C-末端WD40重复结构域作为细胞色素c(cytochrome c, Cyt c)的结合位点并可使分子锁定在其抑制构象中[4,5]. Apaf-1亚型形成是选择性拼接的结果, 可以在N-末端的CARD和ATPase域间插入11个氨基酸或在C-末端第5个和第6个WD40重复域间插入一个WD40重复结构. Apaf-1LN的插入区是在CARD和ATPase域间, 而Apaf-1XL在N-末端和C-末端均有插入[6,7]. 经RT-PCR检测, 在正常骨髓、结肠及脾组织中Apaf-1LN和Apaf-1XL表达量基本一致, 而在脑、胃、肾及骨骼肌中Apaf-1XL的表达量较高[8]. 在人类胚胎、脑、心脏、胸腺、肺、胃肠道、肝、脾、胰、肾、卵巢、睾丸、骨骼肌及外周血白细胞等多种组织器官均有Apaf-1分布[2].

2 Apaf-1的信号转导通路

当细胞受到放射、氧化应激、DNA损伤等损伤性因子刺激时便会启动Apaf-1所在的线粒体凋亡途径. 线粒体膜间腔内所含有的Cyt c和线粒体源性Caspase的第二激活因子(SMAC)释放并通过BAX和BAK蛋白在线粒体外膜上形成的孔道进入细胞质, Cyt c可与胞质中Apaf-1的C-末端WD40重复结构域结合形成Apaf-1/Cyt c复合物, 该复合物可增强Apaf-1与ATP/dATP结合力, Apaf-1/Cyt c复合物与ATP/dATP结合后可诱导Apaf-1寡聚化形成七聚体[4,9], 使得CARD暴露并结合proCaspase9形成凋亡复合体, 激活Caspase9[10,11], 进而活化Caspase3并通过级联反应激活下游成分诱导细胞凋亡发生[12], Apaf-1可认为是凋亡体的核心因子. 其中分枝盐桥可能会促进Cyt c和Apaf-1 WD域之间蛋白构象的变化, 介导复合体的形成[13]. 此外, Ohsawa等[14]研究结果表明, Apaf-1/Caspase9信号调节通路还参与嗅觉神经系统轴突延伸、突触形成及神经元的成熟.

3 Apaf-1和肿瘤

3.1 Apaf-1在肿瘤中的表达 Apaf-1在多种组织器官中均有分布, Paik等[15]对正常肠黏膜和腺瘤组织中的Apaf-1进行免疫染色后无一例外均出现阳性结果, 而77.5%(410例/529例)原发性大肠腺癌和88.2%(67例/76例)的转移癌中均缺失Apaf-1表达. 在胃癌的研究中, Wang

等[16]研究发现, 胃癌组织中*Apaf-1*基因的表达明显低于癌旁正常组织标本. 在腹膜转移组胃癌原发灶中, Apaf-1的表达较无腹膜转移组低, 且腹膜转移组中腹膜转移灶的Apaf-1表达较原发灶减少[17]. 研究人员在对非小细胞肺癌的研究[18-20]中也发现, Apaf-1水平降低可以增加其发生率, 对Apaf-1进行核定位可提高5年生存率及有利于癌的早期诊断[21]. 此外, 黑色素瘤、白血病及宫颈癌中的Apaf-1表达均降低[22]. 在评估垂体腺瘤时, Tanase等[1]提出Apaf-1与其他重要的凋亡因子(如p53)一样是良好的肿瘤标志物. 总之, Apaf-1表达缺失可见于多种肿瘤, 且与肿瘤的侵袭和远处转移相关, 与肿瘤分期和分级无相关性. Apaf-1的表达还可能作为判断肿瘤术后是否发生转移的新生物学指标.

3.2 Apaf-1与肿瘤发生的调控机制

3.2.1 *Apaf-1*基因启动子甲基化和杂合性缺失: *Apaf-1*基因作为一种抑癌基因, 很少发生变异, 但启动子甲基化和杂合性缺失是其发生变异的主要原因[23]. Wang等[16]对杂合性丢失的5个多态位点进行分析, 得出*Apaf-1*基因启动子甲基化和12q22-23区域杂合性丢失是调控*Apaf-1*基因表达的主要因素. Sinha等[24]提出, *EZH2*可能是使DNA甲基转移酶甲基化及“沉默”靶基因的上游基因. 肿瘤组织中*p53*基因突变失活, 对*EZH2*基因启动区的抑制作用消失, 高表达的EZH2作用下游*Apaf-1*基因发生启动子区高甲基化而失活[25]. 马洪亮等[26]采用甲基化特异性PCR(methylation specific PCR, MSP)法对贲门腺癌(gastric cardiac adenocarcinoma, GCA)组织和癌旁组织中的Apaf-1甲基化状态进行检测, 发现癌组织比癌旁组织中的甲基化率显著增高, 且Ⅲ-Ⅳ期明显高于Ⅰ-Ⅱ期, 且与组织学分化程度无关. 同时应用免疫组学法检测GCA组织及癌旁组织中Apaf-1和EZH2蛋白的表达后发现癌组织中Apaf-1蛋白的表达率显著低于癌旁组织, 与Apaf-1甲基化有关. 可见, Apaf-1的表达会受上游*EZH2*基因调控的影响. 此外, Ahmad等[27]应用MSP检测肾细胞癌*Apaf-1*基因甲基化状态, 发现在Apaf-1癌组织中的甲基化率显著高于正常组织(41.3% *vs* 14.8%, $P<0.001$), *Apaf-1*基因甲基化使肾细胞癌的风险增加了近4倍(OR = 4.056, 95%CI: 2.495-6.595), *Apaf-1*基因甲基化率也会随Fuhrman分级程度而增高. 肾透明细胞癌和膀胱癌中均可观察到Apaf-1甲基化水平在肿瘤组织中显著增高[28-30]. 膀胱癌中Apaf-1的甲基化率与肿瘤分级分期的增加而升高[31]. 在大肠癌的研究中, Umetani等[32]提出, 大肠癌的发生与Apaf-1位于12q23等位基因失衡有关, 在转移癌组织中也有相同的表现, 但在腺瘤组织却未发现, 其中mRNA在相应失衡的等位基因中的表达也显著下降. 此外, 在皮肤黑色素瘤、胶质母细胞瘤、急性白血病和喉鳞状细胞癌中*Apaf-1*基因的表达均是降低的, 这与甲基化沉默有关[23,33,34], 其中恶性黑色素瘤和急性髓细胞性白血病Apaf-1表达缺失及其甲基化与抵抗化疗药物有关[22]. 在结肠癌、卵巢癌和恶性黑色素瘤均有12q22-23 *Apaf-1*基因杂合性缺失[35-37]. 目前对Apaf-1引起肿瘤发生机制的研究大多集中在启动子甲基化方面, 但具体机制仍不十分明确, 需要进一步深入细致的研究.

3.2.2 miR-23a/Apaf-1调节轴: Yong等[38]通过荧光素酶检测法对Apaf-1 mRNA 3'-UTR的miR-23a假定靶位点进行检测, 并采用RT-PCR和蛋白质印迹法(Western blot)对结直肠癌细胞株(SW480、SW620)及临床样本组织中的Apaf-1和miR-23a表达水平进行检测. 结果显示, SW480、SW620中的miR-23a表达受抑制后细胞活力将显著降低并会促进细胞凋亡, 临床样本组织中miR-23a上调会降低Apaf-1表达, 癌组织中Apaf-1表达较癌旁组织中表达降低, Ⅰ-Ⅱ期结肠癌中Apaf-1表达较Ⅲ-Ⅳ期高. Apaf-1表达的增高通常伴有miR-23a的抑制和下游的Caspase3、7的活化[39]. 可见miR-23a对Apaf-1的表达存在有调控作用, 过度表达的反义miR-23会上调5-氟尿嘧啶引起线粒体途径的细胞凋亡[40]. 在脑胶质细胞瘤的研究[41]中也可见相同的结果. 由此可知, Apaf-1低表达会诱导转移癌的发生, 而miR-23a/Apaf-1调节轴在治疗结直肠癌和判断预后方面存在潜在应用.

3.2.3 其他相关调控机制: Sun等[42]在对喉鳞状细胞癌细胞株Hep-2中miR-221的机制及功能研究时发现, miR-221受到抑制后可引起的Apaf-1蛋白表达水平的升高, 从而激活Caspase3、8和9的凋亡途径, miR-221可能被用来作为喉癌治疗的新靶点. Pathak等[43]

■相关报道

Wang等采用半定量PCR和甲基化特异性PCR法检测*Apaf-1*基因在胃癌中的表达, 结果癌组织较癌旁组织表达明显降底, 并分析了杂合丢失的5个多态位点D12S346、D12S1706、D12S327、D12S1657和D12S393, 杂合性丢失的检出率分别为33%、8%、58%、12%和42%, 其中50%杂合性丢失出现在2个位点, 17%杂合性丢失出现在3个位点, 提示*Apaf-1*基因的杂合性丢失与其在胃癌中的表达降低有关. 另外, 胃癌组织中*Apaf-1*基因启动子甲基化率为49%, 癌旁组织为23%, 提示*Apaf-1*基因启动子甲基化和12q22-23区域杂合性丢失是调控*Apaf-1*基因表达的主要因素.

创新盘点

本文在概括*Apaf-1*基因基础的结构、分布和信号通路外, 还总结概括了Apaf-1在多种临床常见肿瘤中的表达、发生机制及其在肿瘤的耐药与治疗中的作用等方面的最新研究进展, 侧重总结了Apaf-1与肿瘤发生的调控机制, 为进一步探索肿瘤发生发展机制提供参考方向.

对美国白种人女性的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNPs)与非小细胞癌(non-small cell carcinoma, NSCLC)关系的调查研究发现, NSCLC发生与Apaf-1 SNP rs1007573密切的相关性, *Apaf-1*基因激活Caspase9的裂解后诱发线粒体凋亡途径的发生. 在生殖细胞肿瘤的研究中, Behjati等[44]为了明确Apaf-1在生殖细胞肿瘤的生化功能, 对精原细胞中Apaf-1、未分化标志物Oct-3/4和细胞增殖标志物Ki-67检测后发现其表达明显高于非精原细胞. 精原细胞瘤和胚胎性癌(embryonal carcinoma, EC)为多能干细胞, 其分化程度越低Apaf-1蛋白表达越高, 而体细胞畸胎瘤的Apaf-1蛋白表达极, 卵黄囊瘤(YST)和绒毛膜癌(CC)中Apaf-1蛋白表达介于二者之间. 应用siRNA法表明, 下调NEC8(胚胎性癌)和NEC14(混合癌)中的Apaf-1将会降低Ki-67和Oct-3/4的表达. Apaf-1下调后三个胚层的分化标记在中、外胚层明显增加. NEC14中会见到增加的Ki-67, 而Oct-3/4在Apaf-1下调后表达会明显下降. 应用WST-1试剂检测细胞增殖率提示*Apaf-1*基因与细胞增殖和表面附着能力相关, 表明*Apaf-1*基因参与未分化、高增殖细胞状态. Apaf-1作用于细胞增殖、分化的分子学机制有待被揭示, 过表达或下调胚胎干细胞的Apaf-1将有助于揭示这一机制.

3.3 Apaf-1在肿瘤的耐药与治疗中的作用 通过对上皮性卵巢癌耐药的研究发现, 绝大多数原发性卵巢肿瘤和耐药卵巢细胞系中Apaf-1活性均偏低, Apaf-1功能失调可能与该肿瘤的耐药表型有关. Tan等[45]通过制备卵巢癌细胞胞浆提取物来检测内源性Apaf-1的功能, 结果发现耐药卵巢癌细胞系中Apaf-1与proCaspase9结合受损并且对顺铂诱导细胞凋亡存在耐药性, 证实蛋白翻译后修饰会导致Apaf-1功能被破坏, 卵巢癌中的*Apaf-1*基因受损. 曲古抑菌素A(trichostatin A, TSA)可直接作用Apaf-1增高其表达活性, 提高Apaf-1与proCaspase9的结合力, 增强卵巢癌细胞对顺铂的敏感性. 在对肿瘤化疗治疗中, 天然植物产品日益得到重视, 许多三萜皂苷已被用作预防和治疗癌症的药物, 其中α-常春藤素已被证明对多种类型的癌细胞具有细胞毒作用, Cheng等[46]对乳腺癌的研究得到, α-常春藤素可诱导的线粒体膜电位和Cyt c释放Apaf-1到细胞质的间隙去极化, 从而促进Caspase3和Caspase9的激活, 达到抑癌作用. 在对胃癌的治疗研究中, Sun等[47]提出冬凌草甲素诱导细胞凋亡高度依赖线粒体途径与Apaf-1等的差异性表达相关. 冬凌草甲素作为一种非常重要的抗肿瘤制剂可以抑制胃癌细胞的增殖[48], 从而达到抑制肿瘤生长、扩散的目的. 此外, 临床上应用三氧化二砷(As_2O_3)治疗膀胱癌, 是通过As_2O_3抑癌基因*Apaf-1*的表达上调[49], 进而通过线粒体凋亡途径, 激活Caspase通路来激活抑癌作用[50]. 目前, 用Apaf-1作为肿瘤治疗靶点的研究日益得到重视, 也可为临床肿瘤治疗提供新的用药方案.

4 展望

最近研究[51]报道, RSK激酶(ribosomal S6 kinase)可以直接磷酸化Apaf-1上的两个位点, 这是一种新的凋亡调控模式. 小衔接蛋白14-3-3ε作用位于Apaf-1的NBD域S268位点后可使C-末端构象变化, 阻碍Cyt c与Apaf-1的结合从而无法启动Caspase级联反应, 阻止了细胞凋亡的发生. 丙氨酸引起S268变异后减少了14-3-3ε与Apaf-1间的相互作用, 可恢复Cyt c与Apaf-1的结合力, 即便RSK激酶活性很高也无法阻止二者的结合, 这为促进线粒体凋亡途径激活抑制肿瘤发生提供了新的思路.

5 结论

Apaf-1作为近年发现的凋亡核心因子, 其可能参与多种肿瘤浸润和淋巴结转移, 是肿瘤分化不良及危险因素评估的指标, 并可作为术前放疗的预后指标. 上调Apaf-1可促进肿瘤的预后, 故Apaf-1可作为抗癌治疗和判断预后的靶分子, 通过对Apaf-1进行更多更深入的基础和临床研究将有助于制备有效的抗肿瘤药物.

6 参考文献

1 Tanase C, Albulescu R, Codrici E, Calenic B, Popescu ID, Mihai S, Necula L, Cruceru ML, Hinescu ME. Decreased expression of APAF-1 and increased expression of cathepsin B in invasive pituitary adenoma. *Onco Targets Ther* 2015; 8: 81-90 [PMID: 25565868 DOI: 10.2147/OTT.S70886]

2 Zou H, Henzel WJ, Liu X, Lutschg A, Wang X. Apaf-1, a human protein homologous to C. elegans CED-4, participates in cytochrome c-dependent activation of caspase-3. *Cell* 1997; 90: 405-413 [PMID: 9267021 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80

501-2]
3 Soengas MS, Capodieci P, Polsky D, Mora J, Esteller M, Opitz-Araya X, McCombie R, Herman JG, Gerald WL, Lazebnik YA, Cordón-Cardó C, Lowe SW. Inactivation of the apoptosis effector Apaf-1 in malignant melanoma. *Nature* 2001; 409: 207-211 [PMID: 11196646 DOI: 10.1038/35051606]
4 Reubold TF, Wohlgemuth S, Eschenburg S. Crystal structure of full-length Apaf-1: how the death signal is relayed in the mitochondrial pathway of apoptosis. *Structure* 2011; 19: 1074-1083 [PMID: 21827944 DOI: 10.1016/j.str.2011.05.013]
5 Bratton SB, Salvesen GS. Regulation of the Apaf-1-caspase-9 apoptosome. *J Cell Sci* 2010; 123: 3209-3214 [PMID: 20844150 DOI: 10.1242/jcs.073643]
6 Marek Ł. [The role of the apoptosome in the activation of procaspase-9]. *Postepy Hig Med Dosw* (Online) 2013; 67: 54-64 [PMID: 23475483 DOI: 10.5604/17322693.1032333]
7 Azad T, Tashakor A, Rahmati F, Hemmati R, Hosseinkhani S. Oscillation of apoptosome formation through assembly of truncated Apaf-1. *Eur J Pharmacol* 2015; 760: 64-71 [PMID: 25895636 DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.04.008]
8 Benedict MA, Hu Y, Inohara N, Núñez G. Expression and functional analysis of Apaf-1 isoforms. Extra Wd-40 repeat is required for cytochrome c binding and regulated activation of procaspase-9. *J Biol Chem* 2000; 275: 8461-8468 [PMID: 10722681 DOI: 10.1074/jbc.275.12.8461]
9 Hu Q, Wu D, Chen W, Yan Z, Yan C, He T, Liang Q, Shi Y. Molecular determinants of caspase-9 activation by the Apaf-1 apoptosome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111: 16254-16261 [PMID: 25313070 DOI: 10.1073/pnas.1418000111]
10 Yuan S, Topf M, Reubold TF, Eschenburg S, Akey CW. Changes in Apaf-1 conformation that drive apoptosome assembly. *Biochemistry* 2013; 52: 2319-2327 [PMID: 23521171 DOI: 10.1021/bi301721g]
11 Pang Y, Bai XC, Yan C, Hao Q, Chen Z, Wang JW, Scheres SH, Shi Y. Structure of the apoptosome: mechanistic insights into activation of an initiator caspase from Drosophila. *Genes Dev* 2015; 29: 277-287 [PMID: 25644603 DOI: 10.1101/gad.255877.114]
12 Reubold TF, Eschenburg S. A molecular view on signal transduction by the apoptosome. *Cell Signal* 2012; 24: 1420-1425 [PMID: 22446004 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.03.007]
13 Shalaeva DN, Dibrova DV, Galperin MY, Mulkidjanian AY. Modeling of interaction between cytochrome c and the WD domains of Apaf-1: bifurcated salt bridges underlying apoptosome assembly. *Biol Direct* 2015; 10: 29 [PMID: 26014357 DOI: 10.1186/s13062-015-0059-4]
14 Ohsawa S, Hamada S, Kuida K, Yoshida H, Igaki T, Miura M. Maturation of the olfactory sensory neurons by Apaf-1/caspase-9-mediated caspase activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 13366-13371 [PMID: 20624980 DOI: 10.1073/pnas.0910488107]
15 Paik SS, Jang KS, Song YS, Jang SH, Min KW, Han HX, Na W, Lee KH, Choi D, Jang SJ. Reduced expression of Apaf-1 in colorectal adenocarcinoma correlates with tumor progression and aggressive phenotype. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3453-3459 [PMID: 17882496 DOI: 10.1245/s10434-007-9541-2]
16 Wang HL, Bai H, Li Y, Sun J, Wang XQ. Rationales for expression and altered expression of apoptotic protease activating factor-1 gene in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5060-5064 [PMID: 17876870 DOI: 10.3748/wjg.v13.i38.5060]
17 殷舞, 莫祥兰, 韦海明, 周祥祯, 周敏燕. Survivin、Apaf-1和caspase-9在胃癌腹膜转移中的表达及意义. 广东医学 2014; 35: 221-223
18 Krepela E, Procházka J, Fiala P, Zatloukal P, Selinger P. Expression of apoptosome pathway-related transcripts in non-small cell lung cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2006; 132: 57-68 [PMID: 16231180]
19 Bratton SB, Lewis J, Butterworth M, Duckett CS, Cohen GM. XIAP inhibition of caspase-3 preserves its association with the Apaf-1 apoptosome and prevents CD95- and Bax-induced apoptosis. *Cell Death Differ* 2002; 9: 881-892 [PMID: 12181739 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401069]
20 Krepela E, Procházka J, Liul X, Fiala P, Kinkor Z. Increased expression of Apaf-1 and procaspase-3 and the functionality of intrinsic apoptosis apparatus in non-small cell lung carcinoma. *Biol Chem* 2004; 385: 153-168 [PMID: 15101558]
21 Besse B, Candé C, Spano JP, Martin A, Khayat D, Le Chevalier T, Tursz T, Sabatier L, Soria JC, Kroemer G. Nuclear localization of apoptosis protease activating factor-1 predicts survival after tumor resection in early-stage non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 5665-5669 [PMID: 15355891 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0415]
22 Ottosson-Wadlund A, Ceder R, Preta G, Pokrovskaja K, Grafström RC, Heyman M, Söderhäll S, Grandér D, Hedenfalk I, Robertson JD, Fadeel B. Requirement of apoptotic protease-activating factor-1 for bortezomib-induced apoptosis but not for Fas-mediated apoptosis in human leukemic cells. *Mol Pharmacol* 2013; 83: 245-255 [PMID: 23093495 DOI: 10.1124/mol.112.080788]
23 Huang DF, Fu WN, Shang C, Xu ZM, Li ZG, Sun KL. [Expression and promoter methylation of Apaf-1 gene in laryngeal squamous cell carcinoma]. *Yichuan Xuebao* 2004; 31: 1327-1331 [PMID: 15633635]
24 Sinha S, Thomas D, Yu L, Gentles AJ, Jung N, Corces-Zimmerman MR, Chan SM, Reinisch A, Feinberg AP, Dill DL, Majeti R. Mutant WT1 is associated with DNA hypermethylation of PRC2 targets in AML and responds to EZH2 inhibition. *Blood* 2015; 125: 316-326 [PMID: 25398938 DOI: 10.1182/blood-2014-03-566018]
25 Hinz S, Kempkensteffen C, Weikert S, Schostak M, Schrader M, Miller K, Christoph F. EZH2 polycomb transcriptional repressor expression correlates with methylation of the APAF-1 gene in superficial transitional cell carcinoma of the bladder. *Tumour*

应用要点

本文总结了Apaf-1在肿瘤的耐药与治疗中的作用,为未来抗肿瘤药物的应用和制备提供了一定的参考价值.

名词解释

细胞凋亡: 指生物体内绝大多数细胞在一定发育阶段由基因控制的、自主的、有序的死亡过程, 他对于自身稳定的维持、组织的进化、器官的发育等起着重要的作用. 简单描述为, 为维持内环境稳定, 由基因控制的细胞自主的有序的死亡.

Biol 2007; 28: 151-157 [PMID: 17541304 DOI: 10.1159/000103380]

26 马洪亮, 郭炜郭, 艳丽, 邝钢, 杨植彬, 董稚明. 凋亡蛋白酶活化因子-1基因在贲门腺癌中的甲基化状态及其临床意义. 中国肿瘤生物治疗杂志 2012; 19: 526-530

27 Ahmad ST, Arjumand W, Seth A, Saini AK, Sultana S. Methylation of the APAF-1 and DAPK-1 promoter region correlates with progression of renal cell carcinoma in North Indian population. *Tumour Biol* 2012; 33: 395-402 [PMID: 21922274 DOI: 10.1007/s13277-011-0235-9]

28 Christoph F, Hinz S, Kempkensteffen C, Schostak M, Schrader M, Miller K. mRNA expression profiles of methylated APAF-1 and DAPK-1 tumor suppressor genes uncover clear cell renal cell carcinomas with aggressive phenotype. *J Urol* 2007; 178: 2655-2659 [PMID: 17945286 DOI: 10.1016/j.juro.2007.07.116]

29 Christoph F, Hinz S, Kempkensteffen C, Weikert S, Krause H, Schostak M, Schrader M, Miller K. A gene expression profile of tumor suppressor genes commonly methylated in bladder cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2007; 133: 343-349 [PMID: 17160380]

30 Christoph F, Weikert S, Kempkensteffen C, Krause H, Schostak M, Köllermann J, Miller K, Schrader M. Promoter hypermethylation profile of kidney cancer with new proapoptotic p53 target genes and clinical implications. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 5040-5046 [PMID: 16951219 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0144]

31 潘俊, 陈凌武, 王文卫, 瞿虎, 王声正. 膀胱癌抑癌基因Apaf-1和APC的甲基化状况及其临床意义. 中山大学学报(医学科学版) 2010; 31: 397-405

32 Umetani N, Fujimoto A, Takeuchi H, Shinozaki M, Bilchik AJ, Hoon DS. Allelic imbalance of APAF-1 locus at 12q23 is related to progression of colorectal carcinoma. *Oncogene* 2004; 23: 8292-8300 [PMID: 15378005 DOI: 10.1038/sj.onc.1208022]

33 Watanabe T, Hirota Y, Arakawa Y, Fujisawa H, Tachibana O, Hasegawa M, Yamashita J, Hayashi Y. Frequent LOH at chromosome 12q22-23 and Apaf-1 inactivation in glioblastoma. *Brain Pathol* 2003; 13: 431-439 [PMID: 14655749]

34 Fu WN, Bertoni F, Kelsey SM, McElwaine SM, Cotter FE, Newland AC, Jia L. Role of DNA methylation in the suppression of Apaf-1 protein in human leukaemia. *Oncogene* 2003; 22: 451-455 [PMID: 12545166 DOI: 10.1038/sj.onc.1206147]

35 Dai DL, Martinka M, Bush JA, Li G. Reduced Apaf-1 expression in human cutaneous melanomas. *Br J Cancer* 2004; 91: 1089-1095 [PMID: 15305193 DOI: 10.1038/sj.bjc.6602092]

36 Murty VV, Montgomery K, Dutta S, Bala S, Renault B, Bosl GJ, Kucherlapati R, Chaganti RS. A 3-Mb high-resolution BAC/PAC contig of 12q22 encompassing the 830-kb consensus minimal deletion in male germ cell tumors. *Genome Res* 1999; 9: 662-671 [PMID: 10413405 DOI: 10.1101/gr.9.7.662]

37 Fujimoto A, Takeuchi H, Taback B, Hsueh EC, Elashoff D, Morton DL, Hoon DS. Allelic imbalance of 12q22-23 associated with APAF-1 locus correlates with poor disease outcome in cutaneous melanoma. *Cancer Res* 2004; 64: 2245-2250 [PMID: 15026369 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-2932]

38 Yong FL, Wang CW, Roslani AC, Law CW. The involvement of miR-23a/APAF1 regulation axis in colorectal cancer. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 11713-11729 [PMID: 24992592 DOI: 10.3390/ijms150711713]

39 Liu N, Sun YY, Zhang XW, Chen S, Wang Y, Zhang ZX, Song SW, Qiu GB, Fu WN. Oncogenic miR-23a in pancreatic ductal adenocarcinogenesis via inhibiting APAF1. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 2000-2008 [PMID: 25701323 DOI: 10.1007/s10620-015-3588-x]

40 Shang J, Yang F, Wang Y, Wang Y, Xue G, Mei Q, Wang F, Sun S. MicroRNA-23a antisense enhances 5-fluorouracil chemosensitivity through APAF-1/caspase-9 apoptotic pathway in colorectal cancer cells. *J Cell Biochem* 2014; 115: 772-784 [PMID: 24249161 DOI: 10.1002/jcb.24721]

41 Lian S, Shi R, Bai T, Liu Y, Miao W, Wang H, Liu X, Fan Y. Anti-miRNA-23a oligonucleotide suppresses glioma cells growth by targeting apoptotic protease activating factor-1. *Curr Pharm Des* 2013; 19: 6382-6389 [PMID: 23865473]

42 Sun X, Liu B, Zhao XD, Wang LY, Ji WY. MicroRNA-221 accelerates the proliferation of laryngeal cancer cell line Hep-2 by suppressing Apaf-1. *Oncol Rep* 2015; 33: 1221-1226 [PMID: 25586265 DOI: 10.3892/or.2015.3714]

43 Pathak A, Wenzlaff AS, Hyland PL, Cote ML, Keele GR, Land S, Boulton ML, Schwartz AG. Apoptosis-Related Single Nucleotide Polymorphisms and the Risk of Non-Small Cell Lung Cancer in Women. *J Cancer Ther Res* 2014; 3 [PMID: 24790730 DOI: 10.7243/2049-7962-3-1]

44 Behjati R, Kawai K, Inadome Y, Kano J, Akaza H, Noguchi M. APAF-1 is related to an undifferentiated state in the testicular germ cell tumor pathway. *Cancer Sci* 2011; 102: 267-274 [PMID: 20977544 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01750.x]

45 Tan L, Kwok RP, Shukla A, Kshirsagar M, Zhao L, Opipari AW, Liu JR. Trichostatin A restores Apaf-1 function in chemoresistant ovarian cancer cells. *Cancer* 2011; 117: 784-794 [PMID: 20925046 DOI: 10.1002/cncr.25649]

46 Cheng L, Xia TS, Wang YF, Zhou W, Liang XQ, Xue JQ, Shi L, Wang Y, Ding Q, Wang M. The anticancer effect and mechanism of α-hederin on breast cancer cells. *Int J Oncol* 2014; 45: 757-763 [PMID: 24842044 DOI: 10.3892/ijo.2014.2449]

47 Sun KW, Ma YY, Guan TP, Xia YJ, Shao CM, Chen LG, Ren YJ, Yao HB, Yang Q, He XJ. Oridonin induces apoptosis in gastric cancer through Apaf-1, cytochrome c and caspase-3 signaling pathway. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7166-7174 [PMID: 23326121 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7166]

48 Tan W, Lu J, Huang M, Li Y, Chen M, Wu G, Gong J, Zhong Z, Xu Z, Dang Y, Guo J, Chen X, Wang Y. Anti-cancer natural products isolated from chinese medicinal herbs. *Chin Med* 2011; 6: 27 [PMID: 21777476 DOI: 10.1186/1749-8546-6-

27]
49 孙军培, 刘久华, 顾恒, 黄峻松, 张明聪. 三氧化二砷对膀胱癌T24细胞Apaf-1基因表达的影响. 癌变•畸变•突变 2013; 25: 338-342
50 Imao T, Nagata S. Apaf-1- and Caspase-8-independent apoptosis. *Cell Death Differ* 2013; 20: 343-352 [PMID: 23197294 DOI: 10.1038/cdd.2012.149]
51 Kim J, Parrish AB, Kurokawa M, Matsuura K, Freel CD, Andersen JL, Johnson CE, Kornbluth S. Rsk-mediated phosphorylation and 14-3-3ε binding of Apaf-1 suppresses cytochrome c-induced apoptosis. *EMBO J* 2012; 31: 1279-1292 [PMID: 22246185 DOI: 10.1038/emboj.2011.491]

同行评价

本文主要综述了Apaf-1的结构、分布、信号转导通路, 以及与肿瘤的相关性研究进展, 有助于读者理解*Apaf-1*基因在肿瘤中的表达和作用.

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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)

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3736

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3736-3741
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

文献综述 REVIEW

胰高血糖素样肽-2与肠道黏膜免疫

雷秋成, 王新颖

背景资料
胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2)是一种肠上皮特异性生长因子, 具有促进肠道营养物质的吸收, 增强肠道屏障功能, 并且可促进损伤肠黏膜的生长与修复及抑制细胞凋亡, 在维持肠黏膜的连续性与完整性具有着十分重要的意义. 近年来, 已有一些研究报道GLP-2可以发挥免疫功能, 但其在肠道黏膜免疫屏障的作用却未得到足够的重视.

雷秋成, 王新颖, 中国人民解放军南京军区南京总医院普通外科 南方医科大学南京临床医学院 全军普通外科研究所 江苏省南京市 210002
雷秋成, 硕士研究生, 普通外科临床与基础研究(肠道黏膜免疫屏障).
国家自然科学基金资助项目, No. 81470797
作者贡献分布: 雷秋成与王新颖共同参与课题的设计与构思; 雷秋成进行相关文献检索和论文的撰写; 王新颖审校.
通讯作者: 王新颖, 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普通外科, 南方医科大学南京临床医学院, 全军普通外科研究所. wxinying@263.net
电话: 025-80861429
收稿日期: 2015-05-18 修回日期: 2015-06-26
接受日期: 2015-07-14 在线出版日期: 2015-08-18

Glucagon-like peptide-2 and intestinal mucosal immunity

Qiu-Cheng Lei, Xin-Ying Wang

Qiu-Cheng Lei, Xin-Ying Wang, Department of General Surgery, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Region of the Chinese People's Liberation Army; Clinical Medical College of Southern Medical University; Research Institute of General Surgery, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81470797
Correspondence to: Xin-Ying Wang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Region of the Chinese People's Liberation Army; Clinical Medical College of Southern Medical University; Research Institute of General Surgery, 305 Zhongshan East Road, Xuanwu District, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. wxinying@263.net
Received: 2015-05-18 Revised: 2015-06-26
Accepted: 2015-07-14 Published online: 2015-08-18

Abstract
Glucagon-like peptide-2 (GLP-2) is a single chain polypeptide hormone with a molecular weight of 3.9 kDa, which is secreted by L cells of the intestine. GLP-2 is a specific intestinal epithelial growth factor, and it can promote the repair of intestinal mucosa injury, inhibit apoptosis, improve the intestinal absorption of nutrients, and strengthen the intestinal barrier function. GLP-2 also plays an important role in maintaining the continuity and integrity of the intestinal mucosa. These characteristics make GLP-2 become the current research hotspot in the field of gastrointestinal barrier function. The main focus of previous studies is on nutrient absorption and protection of the intestinal mechanical barrier, and there have been relatively scarce studies on the protective effect of GLP-2 on intestinal mucosal immune barrier. This article reviews the role of GLP-2 in intestinal mucosal immunity and the possible mechanisms.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Glucagon-like peptide-2; Intestinal mucosal immunity; Secretory immunoglobulin A

Lei QC, Wang XY. Glucagon-like peptide-2 and intestinal mucosal immunity. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3736-3741 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3736.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3736

摘要
胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2)是由肠道L细胞合成分泌的、由33个氨基酸残基组成、分子量为3.9 kDa的单链多肽类激素. 他是一种肠上皮特异性生长因子, 具有促进肠道营养物质的吸收, 增强肠道屏障功能, 并且可促进损伤肠黏膜的生长

同行评议者
宁钧宇, 副研究员, 北京市疾病预防控制中心卫生毒理所; 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

与修复及抑制细胞凋亡, 对维持肠黏膜的连续性与完整性具有重要的意义. 这些特点使GLP-2迅速成为了当今肠屏障功能领域的研究热点. 目前的研究多关注GLP-2在营养吸收与保护肠道机械屏障方面的作用, 对于其在肠道黏膜免疫中的保护作用报道相对较少. 本文就GLP-2在肠道黏膜免疫系统中的作用及其可能机制作一阐述.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰高血糖素样肽-2; 肠道黏膜免疫; 分泌型IgA

核心提示: 胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptide-2)可提高肠道黏膜免疫, 其相关机制可能是: (1)促进肠淋巴细胞增殖及抑制其凋亡; (2)提高精氨酸、瓜氨酸和谷氨酰胺的代谢水平以促进Th2细胞因子产生, 从而增强T、B淋巴细胞的活性和分泌型免疫球蛋白A(secretory immunoglobulin A)的分泌.

雷秋成, 王新颖. 胰高血糖素样肽-2与肠道黏膜免疫. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3736-3741 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3736.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3736

0 引言

胰高血糖素样肽-2(glucagon-like peptide-2, GLP-2)是胰高血糖素原基因的表达产物之一. 1997年, Drucker等[1]发现GLP-2促进肠道黏膜生长的作用强于其他生长因子, 且促进生长的作用仅局限于胃肠道, 由此GLP-2开始受到人们的关注与深入研究. 近年来, GLP-2对肠黏膜上皮细胞的生长和修复以及维持肠黏膜机械屏障完整性方面上的作用研究已较明确. 肠道不仅是消化食物、吸收营养的重要器官, 而且是机体免疫系统的一个重要屏障. 尽管有一些研究报道GLP-2可发挥免疫功能, 但其在肠道黏膜免疫屏障的作用却未得到足够的重视. 现就GLP-2对肠道黏膜免疫屏障的影响及可能机制进行综述, 为GLP-2在临床的进一步应用提供理论基础.

1 GLP-2的生物学特点

GLP-2是哺乳动物肠道L细胞分泌的胰高血糖素原衍生肽类之一, 由33个氨基酸组成、分子量为3.9 kDa的单链多肽类胃肠道激素[2,3]. GLP-2在血液循环中的主要分子形式是有活性的GLP-2-(1-33), 也有部分经二肽基肽酶Ⅳ(dipeptidyi peptidase Ⅳ, DPP-Ⅳ)水解氨基末端2个氨基酸残基后形成的无活性的GLP-2-(3-33)[4]. GLP-2的分泌受到多种因素的影响, 主要是肠道摄入的营养物质, 特别是脂类和碳水化合物, 同时还受内分泌、神经及免疫系统等多种因素的调节[5-7]. 大量研究表明, GLP-2可提高依赖性葡萄糖转运因子的活性从而促进营养物质的吸收[8]、增加肠道血供[9]、小肠重量、隐窝细胞数目和绒毛高度[10], 降低肠黏膜通透性, 促进肠上皮细胞修复, 改善肠道屏障功能[11]. 介导GLP-2这些生物学作用的主要是GLP-2受体(GLP-2R). GLP-2R作为B型胰高血糖素-胰泌素样G蛋白耦联受体超家族成员之一, 由550个氨基酸组成, 主要表达于肠上皮细胞[12]. GLP-2通过激活GLP-2R下游信号通路, 进而发挥其生物学功能. 如磷酸化蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)、PKB、转录因子cAMP反应元件、c-Fos、AP-1依赖性的基因转录[10,13,14]. 在体内GLP-2主要是通过肠道刷状缘上的DPP-Ⅳ降解与肾脏代谢[15]. GLP-2-(1-33)先被DPP-Ⅳ作用于其氨基酸末端第2位的丙氨酸残基, 水解成无活性的GLP-2-(3-33), 之后在肾脏被清除[16].

2 肠道黏膜免疫屏障

肠道黏膜免疫屏障主要由肠上皮细胞、肠上皮内淋巴细胞、固有层淋巴细胞、Peyer's淋巴结(Peyer's patch, PP)、肠系膜淋巴结、分泌型免疫球蛋白A(secretory immunoglobulin A, sIgA)及细胞因子等免疫分子组成. 其主要功能是针对病原体或有害抗原产生高效的体液和细胞免疫, 进行有效的免疫保护和清除. 肠相关淋巴样组织(gut-associated lymphoid tissue, GALT)是肠道黏膜免疫屏障中的一个特殊的组成部分, 他由肠系膜淋巴结、PP、黏膜固有层和肠上皮中的大量的T淋巴细胞、B淋巴细胞组成[17]. GALT在抗原的刺激下可产生局部免疫反应, 中和相关抗原物质. sIgA是由肠黏膜固有层IgA^+浆细胞产生的免疫球蛋白单体, 通过J链连结而成的二聚体[18]. sIgA发挥免疫作用的机制包括结合黏膜上皮内的病原体、中和细菌毒素和其他生物活性

研发前沿

GLP-2的诸多优点显示了其良好的临床应用前景, 近年一些研究发现了GLP-2对肠道黏膜免疫屏障有着保持作用, 但这些研究都只局限于动物实验. 另外, 目前尚未有肠外营养中添加GLP-2是否可提高肠道黏膜免疫的相关报道. Teduglutide是GLP-2的类似物, 现已被美国食品和药品管理局批准用于治疗成人短肠综合征, 亟待更多的动物实验和临床试验来验证GLP-2或其类似物在提高肠道黏膜免疫的角色及相关机制.

相关报道
Urschel等发现GLP-2可提高内源性精氨酸合成能力, 而已有较多研究表明精氨酸与肠道黏膜免疫功能密切相关. 2015年, Chen等研究GLP-2对梗阻性黄疸大鼠肠黏膜屏障的影响发现, GLP-2可通过增加肠黏膜分泌型免疫球蛋白A的分泌水平, 从而减少血浆胆红素和内毒素水平.

物质, 削弱细菌表面的疏水性. 另外, 还可加速细菌和内毒素等有害物质的排出, 刺激黏蛋白的分泌, 提高T细胞活性和增强单核细胞依赖的杀菌能力, 且能与补体和溶菌酶协同抗菌[19-21]. 肠道黏膜细胞和免疫细胞可产生多种细胞因子, 包括趋化细胞因子、肿瘤坏死因子-α(tumour necrosis factor-α, TNF-α)、干扰素γ(interferon-γ, IFN-γ)、白介素(interleukin, IL)等, 这些因子能作用于特定的免疫细胞来发挥免疫效应, 如IFN-γ和TNF-α可抑制IgA^+浆细胞分泌sIgA, 而IL-10和IL-6可促进IgA^+浆细胞的增殖、分化及sIgA的分泌增加[22-24]. 总之, 肠黏膜免疫屏障是机体抵御感染的第一道防线, 主要由肠壁的GALT及其浆细胞分泌的免疫球蛋白A、M、E(IgA、IgM、IgE)等构成.

3 GLP-2对肠道黏膜免疫屏障的影响

GLP-2不仅可保护肠道黏膜屏障, 而且可能在肠道黏膜免疫反应中起到一定的作用. William课题组通过给烧伤大鼠每小时微泵注射1 μg人GLP-2类似物连续5 d, 发现大鼠肠黏膜上皮细胞生长迅速, 脾细胞内的植物血凝素(T细胞促有丝分裂原)、美洲商陆丝裂原(B细胞、T细胞有丝分裂原)和刀豆素A(T细胞促有丝分裂原)水平增殖表达[25]. 这提示GLP-2在免疫反应中起到重要的作用, 可提高机体免疫应答.

在休克复苏大鼠模型中, 连续7 d, 每天2次腹腔注射15 μg/mg GLP-2的实验组大鼠胆汁中的sIgA水平与正常对照大鼠无差异, 未注射GLP-2的实验组大鼠的胆汁sIgA水平仅为注射组大鼠的78%左右, 而且GLP-2实验组大鼠的门静脉血内毒素水平也显著降低[26]. 这反映了GLP-2可以改善休克复苏后大鼠肠道sIgA水平, 减轻内毒血症. 最近, Chen等[27]研究GLP-2对梗阻性黄疸大鼠肠黏膜屏障的影响发现, GLP-2可能通过增加肠黏膜sIgA的表达水平, 从而减少血浆胆红素和内毒素水平. 不得不提的是, 在以GLP-2处理肠缺血再灌注小鼠为实验组, 未用GLP-2处理为对照组, 发现实验组小鼠肠道内IgA含量较对照组高, 且恢复至正常水平的速度较快; 实验组的细菌移位率和血浆内毒素水均较对照组的低. 此外, 实验组小鼠肠道Th1细胞因子(IL-2和IFN-γ)浓度升高幅度较对照组低, 而Th2细胞因子(IL-4和IL-10)先降低后上升[28]. 这项研究表明GLP-2可能通过维持肠道IgA水平来维护肠黏膜的免疫屏障功能, 其中的机制可能与调节肠道Th1/Th2细胞因子相关.

肠道淋巴细胞归巢受体是肠道免疫细胞发挥免疫作用的重要基础. GLP-2可促进淋巴细胞向小肠归巢, 从而改善肠道黏膜免疫功能. 在急性胰腺炎小鼠模型中, 给予GLP-2处理的急性胰腺炎小鼠的淋巴细胞表面归巢受体整合素α4β7阳性淋巴细胞数目、回肠末端和Peyer's淋巴结中的黏膜地址素细胞黏附分子(mucosal addressing cell adhesion molecule-1, MAdCAM-1)的表达明显增加, 且较未给予GLP-2对照组高[29]. GLP-2对淋巴细胞的影响还表现为促使肠黏膜上皮下固有层内的淋巴细胞数目增多[30]. 在给予GLP-2治疗重症急性胰腺炎的小鼠后发现, 其小肠黏膜的$CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$淋巴细胞和IgAλ表达水平增加, 进一步说明了GLP-2对肠道黏膜免疫屏障有一定的保护作用[31]. GLP-2不仅可以减轻肠道黏膜损伤, 而且促进绒毛生长、增加固有层淋巴细胞和浆细胞等免疫细胞的数目[32-34].

总之, GLP-2作为一种肠道特异性因子, 在促进肠上皮细胞生长的同时, 也增强了肠黏膜的淋巴细胞的功能和促进sIgA的分泌, 从而减少细菌移位和减轻内毒素血症.

4 GLP-2提高肠道黏膜免疫功能的可能机制

4.1 GLP-2与淋巴细胞

GLP-2是肠上皮特异生长因子, 其主要作用是刺激肠黏膜上皮细胞的增殖和抑制其凋亡, 促进肠黏膜的生长及损伤后的修复再生, 其机制可能是通过降低Caspase3活性、增加B细胞淋巴瘤基因-2(B cell lymphoma 2, *Bcl-2*)表达来抑制凋亡, 从而提高细胞的存活率[11,35]. 肠道不仅是一个消化器官, 更是一个免疫器官, 肠道黏膜上皮内的众多淋巴细胞被称为肠上皮内淋巴细胞, 他们长期与肠道的内源性或外源性的病原体接触, 对机体免疫系统有着重要的作用. 已有研究[30,33]表明, GLP-2可使肠上皮下固有层内的淋巴细胞和浆细胞数目增多. 我们推测GLP-2可能是通过促进T、B淋巴细胞的增殖, 抑制其凋亡这一机制来增强肠道黏膜的免疫功能. 在急性胰腺炎和颅脑创伤的模型研究中, 学者们也发现GLP-2可以增加他们小肠黏膜$CD3^+$、

CD4+、CD8+淋巴细胞数目的表达[31,34]. GLP-2刺激肠隐窝细胞的增生的证据已确凿, 但他促进肠道免疫细胞的增殖及其相关机制还值得进一步深入研究.

4.2 GLP-2与精氨酸、瓜氨酸及谷氨酰胺 众所周知, 精氨酸、瓜氨酸和谷氨酰胺是机体重要的氨基酸, 他们对提高机体免疫功能有重要的作用, 如增强自然杀伤细胞、巨噬细胞及B、T淋巴细胞功能活性. 另外, 精氨酸和谷氨酰胺也可促进多种细胞因子的产生. 如肠外营养补充谷氨酰胺可以促进肠道分泌IL-4, IL-10和IL-13[36-39]; 给中暑小鼠补充精氨酸可使其血浆Th1/Th2比例下降, 即IL-4水平升高而IFN-γ水平下降[40], 而Th2细胞因子如IL-4、IL-10和IL-13能够有效地刺激肠道杯状细胞分泌黏液和sIgA的分泌[36,41,42]. 有研究表明GLP-2可以促进新生仔猪内源精氨酸的合成. Urschel等[43]通过颈静脉置管制造肠外营养的仔猪模型, 随机分成输注GLP-2组和生理盐水组, 给予两组正常配方营养2 d后, 连续5 d给予缺乏精氨酸配方的营养[0.6 g/(kg•d)], 并利用^{14}C同位素示踪法来计算猪体内精氨酸的合成情况. 研究发现, 输注GLP-2组的仔猪空肠黏膜厚度与内源性精氨酸合成显著增加. 有众多研究表明精氨酸与肠道黏膜免疫功能密切相关. Kobayashi等[44]比较含8.7 g/L精氨酸粮食与无含精氨酸粮食对小鼠抗原特异性黏膜免疫的反应, 发现饲喂8.7 g/L精氨酸粮食的小鼠粪便中含有较高水平的抗原特异性sIgA. 适宜的精氨酸水平能够促进sIgA的分泌、IgA浆细胞的增殖[45-47]和激活肠道上皮内淋巴细胞与固有免疫[46,48]. 2012年, Taylor-Edwards等[49]研究发现GLP-2可以提高肠道氨基酸的代谢率, 他们观察到给予GLP-2后的幼牛门静脉回流内脏的精氨酸、瓜氨酸和谷氨酰胺含量增加, 说明这些氨基酸处于高代谢水平. 也有临床试验[50]证实给予Teduglutide(GLP-2类似物)治疗短肠综合征患者后, 其体内血浆瓜氨酸含量显著增加. 概括言之, 外源补充GLP-2后提高了体内精氨酸、瓜氨酸和谷氨酰胺的高水平代谢状态的同时可能也刺激肠道产生Th2细胞因子来调节肠黏膜免疫, 但相关机制仍需进一步深入研究.

5 结论

GLP-2在肠道黏膜免疫屏障中起着重要的作用, 可促进sIgA的分泌, 影响肠黏膜淋巴细胞的数目和相关细胞因子的生成, 其机制可能是: (1)促进肠淋巴细胞增殖及抑制其凋亡; (2)提高精氨酸、瓜氨酸和谷氨酰胺的代谢水平以促进Th2细胞因子产生, 从而增强T、B淋巴细胞的活性和sIgA的分泌. 目前GLP2促进肠黏膜上皮细胞生长、增加营养吸收、抑制凋亡等作用已得到大量动物实验的支持, 但其对肠黏膜免疫功能影响的研究还相对较少, 而且调理机制也尚未阐明, 有待进一步研究. 迄今为止, GLP-2及其类似物因其促进营养吸收的作用已在治疗短肠综合征和炎症性肠病进行了Ⅲ期临床试验, 相信在不久的将来随着GLP-2对肠黏膜免疫功能的调节机制逐渐被阐明, 其在临床的应用前景将更加广阔.

■创新盘点

针对最近几年GLP-2在肠道黏膜免疫调节方面的研究进行了整理总结, 并提炼概括出GLP-2在肠道黏膜免疫中发挥调节作用的可能机制. 对GLP-2的基础研究和其类似物Teduglutide的临床试验提供了新的思路.

6 参考文献

1 Drucker DJ, DeForest L, Brubaker PL. Intestinal response to growth factors administered alone or in combination with human [Gly2]glucagon-like peptide 2. *Am J Physiol* 1997; 273: G1252-G1262 [PMID: 9435550]

2 Otto Buczkowska E, Dworzecki T. [Glucagon-like peptides--synthesis, biological actions and some clinical implications]. *Przegl Lek* 2004; 61: 947-950 [PMID: 15803906]

3 Yazbeck R, Howarth GS, Abbott CA. Growth factor based therapies and intestinal disease: is glucagon-like peptide-2 the new way forward? *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20: 175-184 [PMID: 19324585 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2009.02.008]

4 Hansen L, Hare KJ, Hartmann B, Deacon CF, Ugleholdt RK, Plamboeck A, Holst JJ. Metabolism of glucagon-like peptide-2 in pigs: role of dipeptidyl peptidase IV. *Regul Pept* 2007; 138: 126-132 [PMID: 17107718 DOI: 10.1016/j.regpep.2006.08.012]

5 Brubaker PL, Anini Y. Direct and indirect mechanisms regulating secretion of glucagon-like peptide-1 and glucagon-like peptide-2. *Can J Physiol Pharmacol* 2003; 81: 1005-1012 [PMID: 14719035 DOI: 10.1139/y03-107]

6 Baldassano S, Amato A. GLP-2: what do we know? What are we going to discover? *Regul Pept* 2014; 194-195: 6-10 [PMID: 25218018]

7 Jin T. Mechanisms underlying proglucagon gene expression. *J Endocrinol* 2008; 198: 17-28 [PMID: 18577568 DOI: 10.1677/JOE-08-0085]

8 Cheeseman CI. Upregulation of SGLT-1 transport activity in rat jejunum induced by GLP-2 infusion in vivo. *Am J Physiol* 1997; 273: R1965-R1971 [PMID: 9435650]

9 Guan X, Karpen HE, Stephens J, Bukowski JT, Niu S, Zhang G, Stoll B, Finegold MJ, Holst JJ, Hadsell D, Nichols BL, Burrin DG. GLP-2 receptor localizes to enteric neurons and endocrine cells expressing vasoactive peptides and mediates

应用要点

本文归纳了GLP-2在动物肠道黏膜免疫屏障中发挥的作用和可能的调节机制, 对今后的研究有很好的参考价值. 进一步深入研究GLP-2在肠道黏膜免疫屏障中的相关机制, 对GLP-2类似物Teduglutid的临床应用治疗有着重要的指导意义.

increased blood flow. *Gastroenterology* 2006; 130: 150-164 [PMID: 16401478 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.005]

10 Burrin DG, Stoll B, Guan X, Cui L, Chang X, Hadsell D. GLP-2 rapidly activates divergent intracellular signaling pathways involved in intestinal cell survival and proliferation in neonatal piglets. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292: E281-E291 [PMID: 16954336 DOI: 10.1152/ajpendo.00129.2006]

11 Cameron HL, Perdue MH. Stress impairs murine intestinal barrier function: improvement by glucagon-like peptide-2. *J Pharmacol Exp Ther* 2005; 314: 214-220 [PMID: 15798004]

12 Yusta B, Huang L, Munroe D, Wolff G, Fantaske R, Sharma S, Demchyshyn L, Asa SL, Drucker DJ. Enteroendocrine localization of GLP-2 receptor expression in humans and rodents. *Gastroenterology* 2000; 119: 744-755 [PMID: 10982769]

13 Yusta B, Somwar R, Wang F, Munroe D, Grinstein S, Klip A, Drucker DJ. Identification of glucagon-like peptide-2 (GLP-2)-activated signaling pathways in baby hamster kidney fibroblasts expressing the rat GLP-2 receptor. *J Biol Chem* 1999; 274: 30459-30467 [PMID: 10521425 DOI: 10.1074/jbc.274.43.30459]

14 Burrin DG, Petersen Y, Stoll B, Sangild P. Glucagon-like peptide 2: a nutrient-responsive gut growth factor. *J Nutr* 2001; 131: 709-712 [PMID: 11238747]

15 吴云红, 朱亮, 邹原. GLP-2的生物学作用的研究进展. 中国药理学通报 2009; 25: 1673-1677

16 Holst JJ. Gut hormones as pharmaceuticals. From enteroglucagon to GLP-1 and GLP-2. *Regul Pept* 2000; 93: 45-51 [PMID: 11033052 DOI: 10.1016/S0167-0115(00)00185-3]

17 Fukatsu K. Impact of the feeding route on gut mucosal immunity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2014; 17: 164-170 [PMID: 24500441 DOI: 10.1097/MCO.0000000000000033]

18 Brandtzaeg P. Secretory IgA: Designed for Anti-Microbial Defense. *Front Immunol* 2013; 4: 222 [PMID: 23964273 DOI: 10.3389/fimmu.2013.00222]

19 Izadpanah A, Dwinell MB, Eckmann L, Varki NM, Kagnoff MF. Regulated MIP-3alpha/CCL20 production by human intestinal epithelium: mechanism for modulating mucosal immunity. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G710-G719 [PMID: 11254498]

20 Brandtzaeg P. Mucosal immunity: induction, dissemination, and effector functions. *Scand J Immunol* 2009; 70: 505-515 [PMID: 19906191 DOI: 10.1111/j.1365-3083.2009.02319.x]

21 Brandtzaeg P. The mucosal immune system and its integration with the mammary glands. *J Pediatr* 2010; 156: S8-15 [PMID: 20105666 DOI: 10.1016/j.jpeds.2009.11.014]

22 Kramer DR, Sutherland RM, Bao S, Husband AJ. Cytokine mediated effects in mucosal immunity. *Immunol Cell Biol* 1995; 73: 389-396 [PMID: 8595915 DOI: 10.1038/icb.1995.61]

23 Beagley KW, Bao S, Ramsay AJ, Eldridge JH, Husband AJ. IgA production by peritoneal cavity B cells is IL-6 independent: implications for intestinal IgA responses. *Eur J Immunol* 1995; 25: 2123-2126 [PMID: 7621888 DOI: 10.1002/eji.1830250750]

24 Fujihashi K, Kono Y, Kiyono H. Effects of IL6 on B cells in mucosal immune response and inflammation. *Res Immunol* 1992; 143: 744-749 [PMID: 1439148 DOI: 10.1016/0923-2494(92)80015-D]

25 Chance WT, Sheriff S, McCarter F, Ogle C. Glucagon-like peptide-2 stimulates gut mucosal growth and immune response in burned rats. *J Burn Care Rehabil* 2001; 22: 136-143 [PMID: 11302602 DOI: 10.1097/00004630-200103000-00010]

26 刘霞, 赵希敏, 沈伯雄, 徐惠芳. 高血糖素样肽-2对大鼠失血性休克复苏后肠道免疫功能的影响. 中华急诊医学杂志 2003; 12: 594-596

27 Chen J, Dong JT, Li XJ, Gu Y, Cheng ZJ, Cai YK. Glucagon-like peptide-2 protects impaired intestinal mucosal barriers in obstructive jaundice rats. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 484-490 [PMID: 25593463 DOI: 10.3748/wjg.v21.i2.484]

28 李杭, 吴国豪, 陈吉. 胰高糖素样肽-2对肠道缺血再灌注小鼠黏膜免疫变化的影响. 中华胃肠外科杂志 2006; 9: 67-70

29 孔令尚, 刘牧林, 张宗兵, 陈德利, 刘瑞林. 胰高血糖素样肽-2对急性胰腺炎小鼠肠道淋巴细胞归巢影响的实验研究. 中国危重病急救医学 2009; 21: 103-106

30 Drucker DJ, Erlich P, Asa SL, Brubaker PL. Induction of intestinal epithelial proliferation by glucagon-like peptide 2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 7911-7916 [PMID: 8755576 DOI: 10.1073/pnas.93.15.7911]

31 孙凡华, 许建国, 张宗兵, 孔令尚, 汪华学, 刘牧林, 程兴望, 何先弟. 胰高血糖素样肽-2对急性胰腺炎小鼠肠黏膜免疫屏障的影响. 中华解剖与临床杂志 2014; 9: 316-319

32 Austin K, Imam NA, Pintar JE, Brubaker PL. IGF binding protein-4 is required for the growth effects of glucagon-like peptide-2 in murine intestine. *Endocrinology* 2015; 156: 429-436 [PMID: 25514089 DOI: 10.1210/en.2014-1829]

33 陈霞, 赵宏贤, 王巧稚, 李昌平. GLP-2对SAP大鼠肠黏膜免疫屏障的保护作用. 现代预防医学 2011; 38: 4843-4844

34 赵希敏, 刘霞. GLP-2对大鼠颅脑外伤后肠粘膜免疫功能的影响. 医学信息: 手术学分册 2008; 21: 434-436

35 Sigalet DL, de Heuvel E, Wallace L, Bulloch E, Turner J, Wales PW, Nation P, Wizzard PR, Hartmann B, Assad M, Holst JJ. Effects of chronic glucagon-like peptide-2 therapy during weaning in neonatal pigs. *Regul Pept* 2014; 188: 70-80 [PMID: 24368164 DOI: 10.1016/j.regpep.2013.12.006]

36 Wang X, Pierre JF, Heneghan AF, Busch RA, Kudsk KA. Glutamine Improves Innate Immunity and Prevents Bacterial Enteroinvasion During Parenteral Nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2015; 39: 688-697 [PMID: 24836948]

37 Caroprese M, Albenzio M, Marino R, Santillo A, Sevi A. Dietary glutamine enhances immune responses of dairy cows under high ambient temperature. *J Dairy Sci* 2013; 96: 3002-3011 [PMID: 23498025 DOI: 10.3168/jds.2012-6306]

38 Hu K, Zhang JX, Feng L, Jiang WD, Wu P, Liu

Y, Jiang J, Zhou XQ. Effect of dietary glutamine on growth performance, non-specific immunity, expression of cytokine genes, phosphorylation of target of rapamycin (TOR), and anti-oxidative system in spleen and head kidney of Jian carp (Cyprinus carpio var. Jian). *Fish Physiol Biochem* 2015; 41: 635-649 [PMID: 25675866 DOI: 10.1007/s10695-015-0034-0]

39 Zhong X, Li W, Huang X, Wang Y, Zhang L, Zhou Y, Hussain A, Wang T. Effects of glutamine supplementation on the immune status in weaning piglets with intrauterine growth retardation. *Arch Anim Nutr* 2012; 66: 347-356 [PMID: 22962945 DOI: 10.1080/1745039X.2012.683325]

40 Chatterjee S, Premachandran S, Bagewadikar RS, Bhattacharya S, Chattopadhyay S, Poduval TB. Arginine metabolic pathways determine its therapeutic benefit in experimental heatstroke: role of Th1/Th2 cytokine balance. *Nitric Oxide* 2006; 15: 408-416 [PMID: 16765619 DOI: 10.1016/j.niox.2006.04.003]

41 Fukatsu K, Kudsk KA, Zarzaur BL, Wu Y, Hanna MK, DeWitt RC. TPN decreases IL-4 and IL-10 mRNA expression in lipopolysaccharide stimulated intestinal lamina propria cells but glutamine supplementation preserves the expression. *Shock* 2001; 15: 318-322 [PMID: 11303733 DOI: 10.1097/00024382-200115040-00012]

42 Kaetzel CS, Blanch VJ, Hempen PM, Phillips KM, Piskurich JF, Youngman KR. The polymeric immunoglobulin receptor: structure and synthesis. *Biochem Soc Trans* 1997; 25: 475-480 [PMID: 9191139]

43 Urschel KL, Evans AR, Wilkinson CW, Pencharz PB, Ball RO. Parenterally fed neonatal piglets have a low rate of endogenous arginine synthesis from circulating proline. *J Nutr* 2007; 137: 601-606 [PMID: 17311947]

44 Kobayashi T, Yamamoto M, Hiroi T, McGhee J, Takeshita Y, Kiyono H. Arginine enhances induction of T helper 1 and T helper 2 cytokine synthesis by Peyer's patch alpha beta T cells and antigen-specific mucosal immune response. *Biosci Biotechnol Biochem* 1998; 62: 2334-2340 [PMID: 9972259 DOI: 10.1271/bbb.62.2334]

45 Tayade C, Koti M, Mishra SC. L-Arginine stimulates intestinal intraepithelial lymphocyte functions and immune response in chickens orally immunized with live intermediate plus strain of infectious bursal disease vaccine. *Vaccine* 2006; 24: 5473-5480 [PMID: 16723175 DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.03.086]

46 Shang HF, Wang YY, Lai YN, Chiu WC, Yeh SL. Effects of arginine supplementation on mucosal immunity in rats with septic peritonitis. *Clin Nutr* 2004; 23: 561-569 [PMID: 15297092 DOI: 10.1016/j.clnu.2003.10.005]

47 Fan J, Meng Q, Guo G, Xie Y, Li X, Xiu Y, Li T, Ma L. Effects of early enteral nutrition supplemented with arginine on intestinal mucosal immunity in severely burned mice. *Clin Nutr* 2010; 29: 124-130 [PMID: 19783080 DOI: 10.1016/j.clnu.2009.07.005]

48 Ren W, Chen S, Yin J, Duan J, Li T, Liu G, Feng Z, Tan B, Yin Y, Wu G. Dietary arginine supplementation of mice alters the microbial population and activates intestinal innate immunity. *J Nutr* 2014; 144: 988-995 [PMID: 24670969 DOI: 10.3945/jn.114.192120]

49 Taylor-Edwards CC, Burrin DG, Kristensen NB, Holst JJ, McLeod KR, Harmon DL. Glucagon-like peptide-2 (GLP-2) increases net amino acid utilization by the portal-drained viscera of ruminating calves. *Animal* 2012; 6: 1985-1997 [PMID: 23031436 DOI: 10.1017/S175173111200095X]

50 Jeppesen PB. Pharmacologic options for intestinal rehabilitation in patients with short bowel syndrome. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2014; 38: 45S-52S [PMID: 24615689 DOI: 10.1177/0148607114526241]

同行评价

本文从GLP-2参与肠黏膜免疫调节的角度对相关研究进行了综述，对于了解GLP-2的功能及探讨其临床应用方面都有很好的参考价值. 内容较新颖，撰写思路清楚，逻辑性较好，语言易懂.

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3742

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3742-3748
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

研究快报 RAPID COMMUNICATION

CRISPRi靶向调控HCV复制相关miR-122的表达

赵洪礼, 李洪运, 毛德华, 李桂玲, 黄 勇

背景资料
丙型肝炎是一种致命的血液传染病, 全球约有1.7亿人感染丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV), 其中约70%会发展成肝硬化和肝癌等疾病. 然而到目前为止仍没有一种有效的治疗方式. 已有研究发现微小RNA(microRNA, miRNA)-122是HCV复制所必需的, 因此miR-122有可能成为治疗丙型肝炎的新的抗病毒靶点.

同行评议者
秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科

赵洪礼, 毛德华, 李桂玲, 黄勇, 山东省消化系统疾病防治中心 山东省济宁市 272033
李洪运, 济宁市第一人民医院消化内科 山东省济宁市 272033
赵洪礼, 在读博士, 主要从事消化系统疾病的防治性研究.
作者贡献分布: 赵洪礼与李洪运对此文所作贡献均等; 主要试验、资料分析及文章撰写由赵洪礼与李洪运完成; 数据统计由毛德华与李桂玲完成; 研究设计、文章修改及审阅由黄勇、赵洪礼及李洪运完成.
通讯作者: 黄勇, 研究员, 272033, 山东省济宁市任城区太白楼中路11号, 山东省消化系统疾病防治中心. cjpbhy@163.com
电话: 0537-2609566
收稿日期: 2015-05-29 修回日期: 2015-07-07
接受日期: 2015-07-14 在线出版日期: 2015-08-18

Regulation of expression of HCV replication associated miR-122 by CRISPR interference

Hong-Li Zhao, Hong-Yun Li, De-Hua Mao, Gui-Ling Li, Yong Huang

Hong-Li Zhao, De-Hua Mao, Gui-Ling Li, Yong Huang, Shandong Control Center for Digestive Diseases, Ji'ning 272033, Shandong Province, China
Hong-Yun Li, Department of Gastroenterology, Ji'ning First People's Hospital, Ji'ning 272033, Shandong Province, China
Correspondence to: Yong Huang, Researcher, Shandong Control Center for Digestive Diseases, 11 Taibailou Middle Road, Rencheng District, Ji'ning 272033, Shandong Province, China. cjpbhy@163.com
Received: 2015-05-29 Revised: 2015-07-07
Accepted: 2015-07-14 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To investigate whether clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) interference (CRISPRi) specifically represses endogenous miR-122 expression in HepG2 cells.

METHODS: Single-guide RNAs (sgRNAs; sgT1 and sgT2) targeting transcription start site (TSS) and TATA box in the region of miR-122 promoter were designed. After co-transfecting HepG2 cells with sgRNA and catalytically inactive dCas9-KRAB, the expression of miR-122 was determined by quantitative Real-time PCR (qRT-PCR) to determine the more effective sgRNA. Different concentrations of sgRNA were tested in order to address whether CRISPRi was concentration dependent. The expression of miR-122 downstream target genes *HOMX1* and *CyclinG1* was assessed by qRT-PCR and Western blot.

RESULTS: Compared to the control group, CRISPRi mediated by sgT1 and sgT2 could repress endogenous miR-122 expression by 5.5-fold ($P < 0.01$) and 3.7-fold ($P < 0.01$) in HepG2 cells, respectively. The effect of CRISPRi was enhanced with increased concentration of sgRNA, and the miR-122 expression was inhibited by 10.0-fold ($P < 0.01$) when the amount of lentiGuide-Puro-sgT1 was 500 ng. After endogenous miR-122 expression was inhibited by CRISPRi, the expression of miR-122 downstream target genes *HMOX1* and *CyclinG1* was upregulated.

CONCLUSION: CRISPRi can specifically repress endogenous miR-122 expression, which provides a novel therapeutic strategy against hepatitis C virus infection.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: CRISPR interference; HepG2; miR-122

Zhao HL, Li HY, Mao DH, Li GL, Huang Y. Regulation of expression of HCV replication associated miR-122 by CRISPR interference. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3742-3748 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3742.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3742

摘要

目的: 探索CRISPR干扰(CRISPR interference, CRISPRi)特异性抑制肝癌细胞HepG2内源性miR-122表达.

方法: 设计靶向miR-122启动子区TATA盒和转录起始位点(transcription start site, TSS)的sgRNA(sgT1和sgT2), 与无DNA内切酶活性仅保留识别特性的dCas9-KRAB载体共转染HepG2细胞, 通过实时定量PCR(quantitative Real-time PCR, qRT-PCR)方法检测miR-122的表达并确立有效的sgRNA; 设计不同的sgRNA浓度, 探索CRISPRi抑制作用的剂量依赖性; 通过qRT-PCR及Western blot方法检测miR-122靶分子HOMX1和CyclinG1的表达变化.

结果: sgT1和sgT2介导的CRISPRi分别将肝癌细胞HepG2内源性miR-122的表达水平抑制5.5倍(P<0.01)和3.7倍(P<0.01); CRIPSRi抑制效应是sgRNA剂量依赖性的, 当lentiGuide-Puro-sgT1质粒为500 ng时, 可将miR-122的表达抑制10.0倍(P<0.01); CRIPSRi抑制肝癌细胞HepG2内源性miR-122表达的同时, 上调了miR-122下游靶分子HMOX1和CyclinG1的表达.

结论: 本研究利用CRISPRi技术实现了对肝癌细胞HepG2内源性miR-122表达的特异性抑制, 为抗丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)提供了全新的策略.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: CRISPR干扰; HepG2; miR-122

核心提示: 利用CRISPR干扰技术实现了对肝癌细胞HepG2内源性miR-122表达的靶向抑制, 并上调了miR-122下游靶分子HMOX1和CyclinG1的表达, 为抗丙型肝炎病毒(hepatitis C virus)提供了全新的策略.

赵洪礼, 李洪运, 毛德华, 李桂玲, 黄勇. CRISPRi靶向调控HCV复制相关miR-122的表达. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3742-3748 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3742.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3742

0 引言

丙型肝炎是一种致命的血液传染病, 世界卫生组织(World Health Organization, WHO)估计全球目前约有1.7亿人受丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染, 其中, 约70%会发展成肝硬化和肝癌等疾病. HCV引起的肝脏疾病已经成为公众健康的主要挑战之一. HCV是单链的RNA病毒, 存在多种基因型和亚型, 这对抗HCV病毒治疗极具挑战. 尽管目前的抗病毒药物如聚乙二醇化干扰素和利巴韦林具有一定的疗效, 然而这些药物的低耐药屏障, 导致在长期治疗过程中耐药性病毒突变体的产生[1-3].

微小RNA(microRNA, miRNA)是一种内源性的小片段非编码RNA, 通过与靶分子mRNA 3'端非翻译区(3' untranslated region, 3'UTR)结合, 介导靶分子转录后水平的调节, 导致mRNA降解或翻译抑制[4]. miRNA广泛参与多种重要生物过程的调节, 包括细胞增殖、分化、发育、凋亡以及病毒感染的宿主反应调节. miR-122是肝脏特异性表达的miRNA, 占肝组织中miRNA的70%, 参与HCV RNA的稳定和复制[5,6]. miR-122与HCV RNA的5'UTR的两个靶位点结合, 形成miR-122-HCV复合体, 保护HCV RNA不被核酸内切酶水解或者不被宿主免疫反应清除[6,7]. miR-122结合位点在HCV RNA的所有基因型及亚型中高度保守, 这使得miR-122成为抗HCV病毒治疗的宿主靶点.

CRISPR(clustered regularly interspaced short palindromic repeat sequences)/CRISPR相关基因(CRISPR-associated genes, Cas)系统广泛分布于细菌和古生菌基因组中, 是在进化过程中形成的一种适应性免疫系统, 可以降解入侵病毒或质粒DNA. 2012年, Jinek等[8]首先利用CRISPR/Cas9系统对外源DNA靶序列进行了精确切割, 开辟了RNA(tracrRNA与crRNA)介导的基因编辑时代. Cas9含有2种核酸酶结构域: RuvC1结构域及HNH结构域, HNH结构域切割与crRNA互补的模板链, RuvC1结构域对另一条链进行切割[9]. Qi等[10]将Cas9的核酸内切酶结构域突变(RuvC1, D10A; HNH, H841A), 产生dCas9, 只有DNA识别能力, 没有内切酶活性, 当dCas9与sgRNA共表达时, 形成

研发前沿
miR-122是HCV病毒复制所必需的, 而且miR-122由宿主细胞所控制, 病毒无法将其改变, 因此靶向抑制miR-122成为治疗丙型肝炎的重点, 而探索特异性强、效率高的抑制方式则成为丙型肝炎治疗的关键.

相关报道
Lanford等利用RNA干扰的原理, 采用miR-122的反义锁核酸miravirsen (SPC3469)治疗基因Ⅰ型HCV慢性感染的黑猩猩, 结果显示SPC3469可持久抑制HCV病毒, 并且未出现病毒耐药, 开启了靶向miR-122治疗丙型肝炎的先河.

识别特定位点的复合体, 该复合体可以特异性的干扰RNA聚合酶结合或者转录因子结合, 有效抑制靶分子的表达, 将此过程称为CRISPR干扰(CRISPR interference, CRISPRi). 本研究利用CRISPRi技术实现了HepG2细胞内miR-122的特异性表达抑制, 为抗HCV病毒提供了全新的策略.

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2细胞购自上海细胞库, 载体构建用的*Bsm*BⅠ酶、碱性磷酸酶FastAP、T4连接酶购自Fermentas公司; dCas9-KRAB质粒(#46911)、lentiGuide-Puro质粒(#52963)购自Addgene; 核酸纯化试剂盒(EasyPure Quick Gel Extraction Kit, EG101-01)、反转录试剂盒购自北京全式金生物公司; 引物由上海生工合成; 细胞培养用胎牛血清购自Hyclone公司; VigoFect转染试剂购自威格拉斯; 定量PCR试剂盒购自大连宝生物; TRIzol(Invitrogen), polyA聚合酶购自NEB; SYBR Premix Ex Tag试剂盒(TaKaRa, code: DRR041A); anti-HMOX1(heme oxygenase 1)一抗(Abcam cat. ab137749); anti-Cyclin G1一抗(sc-7865, Santa Cruz); anti-β-actin一抗(Abcam cat. 6276); RIPA Buffer裂解液、考马斯亮蓝(R-250)购自碧云天生物; Western显色液购自Thermo公司.

1.2 方法

1.2.1 载体构建: 靶向miR-122启动子sgRNA载体的构建: 采用*Bsm*BⅠ酶将lentiGuide-Puro载体线性化, 并通过碱性磷酸酶FastAP去磷酸化, 利用EasyPure Quick Gel Extraction Kit进行核酸纯化. 将合成的sgT1(sgT1-F: 5'-CACCGCCTAAAGCCACAGAAGCTG-3'和sgT1-R: 5'-AAACCAGCTTCTGTGGCTTTAGGC-3')、sgT2(sgT2-F: 5'-CACCGCCTCTCCCCTCTCCCTTTA-3'和sgT2-R: 5'-AAACTAAAGGGAGAGGGGAGAGGC-3')分别进行退火与磷酸化, 并与线性化的lentiGuide-Puro载体进行连接, 分别构建靶向miR-122启动子区不同位点的sgRNA载体lentiGuide-Puro-sgT1和lentiGuide-Puro-sgT2.

1.2.2 HepG2细胞培养及转染: HepG2细胞培养按常规方法传代培养. HepG2肝癌细胞在含有10%的胎牛血清、终浓度为1×10^5 U/L的青霉素和链霉素的RPMI 1640培养基中37 ℃, 50 mL/L CO_2条件下培养数天, 每2 d换液1次, 4 d传代. 按照VigoFect转染试剂说明书进行HepG2肝癌细胞转染, (1)筛选sgRNA: 共同转染dCas9-KRAB与lentiGuide-Puro(空载体)或lentiGuide-Puro-sgT1或lentiGuide-Puro-sgT2, 其中dCas9-KRAB质粒250 ng/孔(24孔板), lentiGuide-Puro(空载体)或lentiGuide-Puro-sgT1或lentiGuide-Puro-sgT2 200 ng/孔(24孔板), 收集细胞检测miR-122的表达; (2)筛选sgRNA的浓度: 共同转染dCas9-KRAB与lentiGuide-Puro-sgT1, 其中转染dCas9-KRAB质粒250 ng/孔(24孔板), 转染lentiGuide-Puro-sgT1分别为100 ng、200 ng或500 ng/孔(24孔板), 收集细胞检测miR-122的表达; (3)miR122靶分子表达水平检测: 转染dCas9-KRAB质粒1.0 μg/孔与lentiGuide-Puro-sgT1质粒2.0 μg/孔(6孔板), 收集细胞检测HMOX1, CyclinG1 mRNA及蛋白表达.

1.2.3 总RNA提取及反转录: (1)总RNA提取: 用1 mL TRIzol裂解细胞, 室温放置5 min, 加入0.2 mL氯仿, 盖紧管盖, 手动剧烈震摇15 s, 然后室温静置2-3 min, 4 ℃ 12000 *g*离心15 min, 小心吸取上层水相加入到新EP管中, 加入0.5 mL异丙醇颠倒混匀, 室温静置10 min, 4 ℃, 12000 *g*离心10 min, 后弃上清, 加入1 mL 75 750 mL/L乙醇(DEPC H_2O配制)润洗, 4 ℃, 7000 *g*离心5 min, 弃上清, 将RNA沉淀溶解于适量的无RNase水中, 吸出少量测定浓度, RNA溶液可用于进一步实验, 或者-80 ℃保存; (2)反转录: 取1 μg RNA, 加入1 μL Oligo(dT)20, 无RNase水配成10 μL体系, 65 ℃ 5 min进行变性, 后立即置于冰上, 随后加入2 μL dNTP Mixture、1 μL RNase Inhibitor、1 μL反转录酶以及Buffer和水, 配成20 μL体系, 42 ℃ 1 h, 99 ℃ 5 min, 4 ℃ 5 min, 瞬时离心, -20 ℃保存, 以备逆转录-聚合酶链反应(Real-time polymerase chain reaction, RT-PCR)使用.

1.2.4 miRNA定量检测: 采用polyA聚合酶加A法[11,12]检测miR-122的表达. (1)加A反应: 取1 μg RNA, 加入1 μL ATP、1 μL PolyA polymerase以及Buffer和无RNase水, 配成10 μL体系, 37 ℃ 1 h, 65 ℃ 20 min, 4 ℃ 5 min; (2)反转录: 加A后, 加入1 μL RNase Inhibitor、1 μL反转录酶、0.5 μL Poly(T) adapter(10 μmol)[序列为GCGAGCACAGAATTAATACGACTCA

表 1 定量PCR引物列表

引物名称	序列
miR-122-F	5'-TGGAGTGTGACAATGGTGTTTG-3'
miR-122-R	5'-GCGAGCACAGAATTAATACGAC-3'
5s rRNA-F	5'-CCGCCTGGGAATACCGGGTGCTGTAGGCTTT-3'
5s rRNA-R	5'-GCGAGCACAGAATTAATACGAC-3'
HOMX1-F	5'-CGGGCCAGCAACAAAGTG-3'
HOMX1-R	5'-AGTGTAAGGACCCATCGGAGAA-3'
CCNG1-F	5'-AGCTGCAGTCTCTG TCAAG-3'
CCNG1-R	5'-ATGTCTCTGTGTCAAAGCCA-3'
β-actin-F	5'-CTGGAACGGTGAAGGTGACA-3'
β-actin-R	5'-AAGGGACTTCCTGTAACAATGCA-3'

创新盘点
相对于锁核酸标记的寡核苷酸成本高、易降解的特点, CRISPR干扰(CRISPR interference, CRISPRi)技术具有成本低、易操作、高效等特点. 本研究首次利用CRISPRi技术实现了HepG2细胞内miR-122的特异性表达抑制, 在抗HCV病毒方面具有更加广阔的应用前景.

CTATAGG(T)12VN]、2 μL dNTP Mixture以及Buffer和水, 配成20 μL体系, 42 ℃ 1 h, 99 ℃ 5 min, 4 ℃ 5 min; (3)RT-PCR PCR检测miR-122.

1.2.5 定量PCR: 使用SYBR Premix Ex Tag试剂盒, 引物序列如表1, 使用ABI 7500仪器, 采用两步法PCR反应程序, Stage1: 预变性, 95 ℃ 30 s; Stage 2: PCR反应(40 cycles): 95 ℃ 5 s, 60 ℃ 34 s; Stage 3: Dissociation stage: 95 ℃ 15 s, 60 ℃ 1 min, 95 ℃ 15 s. 后进行数据分析.

1.2.6 Western blot: 转染48 h后, 收集细胞, 并利用RIPA Buffer裂解细胞提取总蛋白, 考马斯亮蓝(R-250)测定蛋白浓度, 上样30 μg, 电泳, 转膜, 奶粉封闭, 一抗孵育4 ℃过夜, 洗膜, 二抗孵育(HRP标记, 1∶10000), 洗膜, 显色, 采集图像.

统计学处理 采用SPSS12.0统计学处理软件进行*t*检验分析, 各项检测结果以mean±SD记录. 以$P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 CRIPSRi显著抑制肝细胞miR-122的表达 本研究利用CRIPSRi原理(图1), 即利用dCas9仅保留DNA识别能力而无内切酶活性的特点, 并将dCas9与KRAB(Kruppel-associated box)转录抑制结构域融合, 当靶向miR-122启动子区的sgRNA存在时, 将抑制miR-122的转录. 核心启动子元件TATA盒(TATA box)和转录起始位点(transcription start site, TSS)在转录起始过程中发挥重要作用, 因此我们分别设计了靶向TSS和TATA盒的sgRNA,分别命名为T1和T2(图1). 研究结果显示, sgT1和sgT2介导的CRISPRi均能够显著性降低miR-122的表达. 与对照组相比, sgT1和sgT2介导的CRISPRi分别将miR-122的表达水平抑制5.5倍($P<0.01$)和3.7倍($P<0.01$). 研究结果揭示, CRISPRi可有效地调节miR-122的表达(图1).

2.2 CRIPSRi抑制作用是sgRNA剂量依赖性的 在前期结果的基础上, 进一步探索了sgRNA剂量对miR-122抑制效果的影响. 我们选择了抑制效果较为明显的sgT1, 分别采用100 ng、200 ng和500 ng的质粒lentiGuide-Puro-sgT1. 研究结果表明, 随着sgRNA浓度的增加, CRISPRi对miR-122的抑制作用显著性提高. 与对照组相比, 当lentiGuide-Puro-sgT1质粒为500 ng时, 可将miR-122的表达抑制10.0倍($P<0.01$). 因此, CRIPSRi抑制肝细胞miR-122表达依赖于sgRNA的剂量, sgRNA剂量越高, 抑制效果越显著(图2).

2.3 CRIPSRi上调miR-122靶分子HMOX1和CyclinG1的表达 miR-122通过下调HCV复制抑制分子HMOX1和CyclinG1的表达, 而间接促进HCV复制[13,14]. 为探索CRIPSRi在抑制肝细胞miR-122表达的同时, 能否进一步实现对miR-122下游靶分子的表达调控, 本研究在共转染dCas9-KRAB和lentiGuide-Puro-sgT1后, 检测了HepG2细胞的HMOX1和CyclinG1的mRNA及蛋白表达, 结果显示, 在转染dCas9-KRAB和lentiGuide-Puro-sgT1后HMOX1 mRNA和CCNG1 mRNA水平均显著升高, 同时HMOX1和CyclinG1蛋白水平也有明显升高. 因此, CRIPSRi在抑制肝细胞miR-122表达的同时, 并实现上调miR-122下游靶分子HMOX1和CyclinG1的表达(图3).

3 讨论

本研究首次利用CRIPSRi抑制了肝细胞

应用要点
CRISPRi通过靶向miR-122抑制HCV病毒的复制, 为分子靶向药物治疗丙型肝炎提供了理论基础.

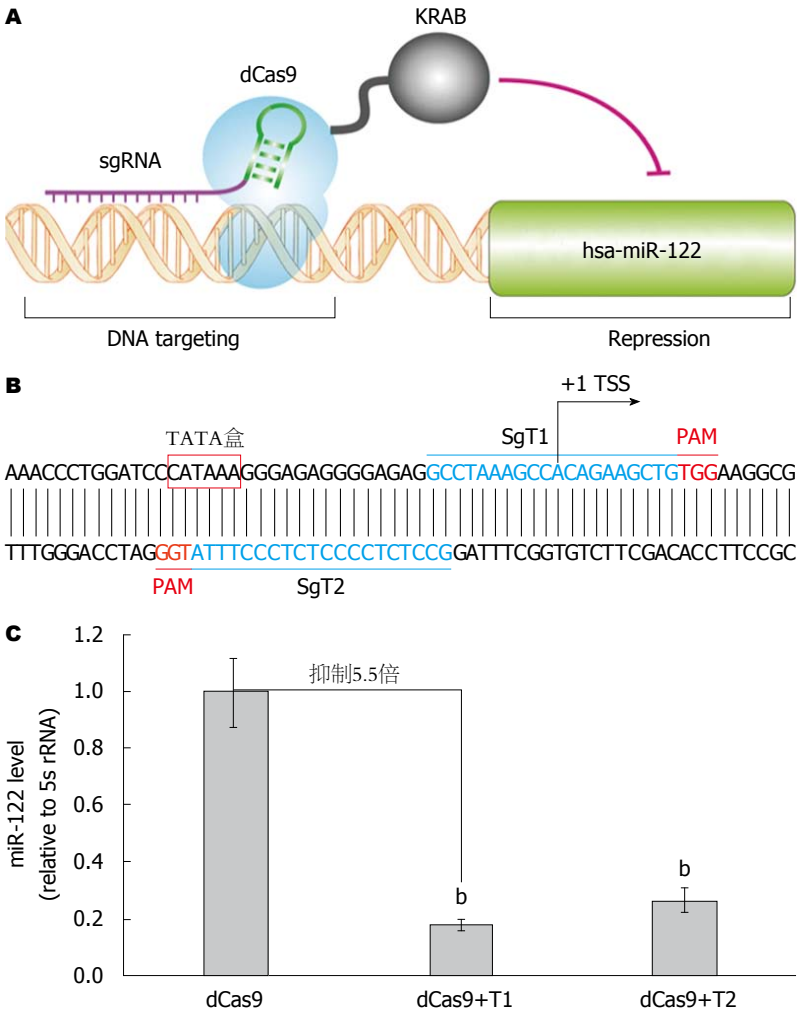

图 1 CRIPSRi显著抑制肝细胞miR-122的表达. A: CRIPSRi抑制miR-122表达原理模式图. dCas9仅保留DNA识别能力而无内切酶活性的特点, 并将dCas9与KRAB转录抑制结构域融合, 当靶向miR-122启动子区的sgRNA存在时, 将抑制miR-122的转录; B: 设计靶向miR-122启动子TATA盒和转录起始位点TSS的sgRNA; C: 针对miR-122启动子区进行CRIPSRi, 显著抑制HepG2细胞miR-122的表达, dCas9代表对照组转染dCas9-KRAB和lentiGuide-Puro质粒组, dCas9+T1代表转染dCas9-KRAB和lentiGuide-Puro-sgT1质粒组, dCas9+T2代表转染dCas9-KRAB和lentiGuide-Puro-sgT2质粒组. $^{b}P<0.01$ *vs* 对照组. CRIPSRi: CRISPR干扰; Cas: CRISPR相关基因.

miR-122表达, 并且实现上调miR-122下游靶分子HMOX1和CyclinG1的表达, 为CRISPRi应用于抗HCV病毒的治疗提供了理论依据. HCV的生活周期分进入靶细胞、复制、包装和释放新病毒三个阶段. HCV的持续感染率和聚乙二醇化干扰素和利巴韦林联合抗病毒治疗的局限性, 使得研发HCV新的治疗策略显得尤为重要. Jopling等[6]首次证实, miR-122与HCV的复制有关, 当miR-122失去活性时, HCV的RNA复制降低约80%. 与多数miRNA作用于靶分子的mRNA的3'UTR的方式不同的是, miR-122通过2个结合位点作用于HCV RNA 5'UTR, 从而促进病毒复制[15-17]. 由于miR-122由宿主细胞所控制, 病毒无法将其改变, 而miR-122是病毒复制所必需, 这使得miR-122成为治疗丙型肝炎的新的抗病毒靶点. Lanford等[17]利用RNA干扰(RNA interference, RNAi)的原理, 采用miR-122的反义锁核酸(locked-nucleic acid, LNA)miravirsen(SPC3469)治疗基因Ⅰ型HCV慢性感染的黑猩猩, 结果显示SPC3469可持久抑制HCV病毒, 并且未出现病毒耐药, 开启了靶向miR-122治疗丙型肝炎的先河. CRISPR作为一种高效而又易于操作的基因编辑技术, 引起科学界的广泛关注, 成为全球科学家的新宠, CRISPR/Cas9系统已经被广泛应用于模式细胞及模式动物的基因编辑, 包括人细胞、小鼠、大鼠及斑马鱼等. Qi等[10]将CRISPR/Cas9改造为CRISPRi体系, CRISPRi通过干扰DNA的转录实现对靶分子的表达抑制. Gilbert等[18]研究结果揭示, 在人类细胞系中通过CRISPRi可将靶基因的表达抑制5.0-15.0倍, 在酵母中则高达50.0倍. 此外, Gilbert等[18]还发现CRISPRi具有高效且特异地转录抑制作用, 几乎不发生脱靶效应; 由于CRISPRi作用于DNA水平, CRISPRi可应用于非编码RNA(noncoding RNA, ncRNA)、miRNA、转录物的反义序列、核定位的RNA以及聚合酶Ⅲ转录产物. RNAi是目前广泛应用于基因转录抑制的方法[19]. RNAi和CRISPRi在许多研究中成为互补的研究方法, 然而CRISPRi更具有潜在的优势.

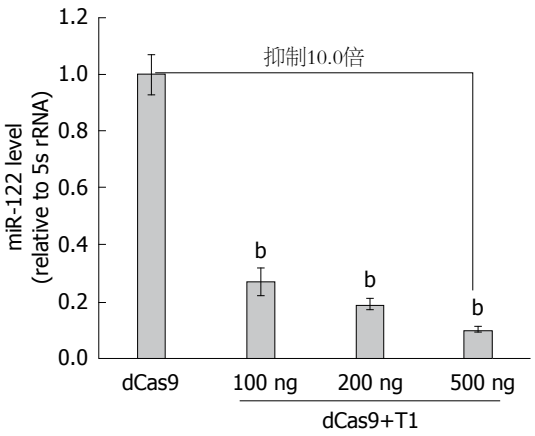

图 2 CRIPSRi抑制肝细胞miR-122表达依赖于sgRNA的剂量. dCas9: 对照组转染dCas9-KRAB和lentiGuide-Puro质粒组; dCas9+T1: 转染dCas9-KRAB和lentiGuide-Puro-sgT1质粒组. sgT1分别为100、200及500 ng, 各组转染dCas9-KRAB质粒为250 ng. $^{b}P<0.01$ *vs* 对照组. CRIPSRi: CRISPR干扰; Cas: CRISPR相关基因.

Miravirsen作为新的抗HCV宿主靶向药物, 他具有较高的基因屏障、泛基因型的抗病毒活性, 将应用于丙型肝炎临床治疗. 但是, 相对于锁核酸标记的寡核苷酸成本高、易降解的特点, 利用CRISPRi技术具有其自身的优势: 成本低, 易操作, 高效. 本研究利用CRISPRi技术实现了HepG2细胞内miR-122的特异性表达抑制. 同时, CRISPRi抑制肝细胞miR-122表达依赖于sgRNA的剂量, sgRNA剂量越高, 抑制效果越显著. 此外, CRISPRi可以同时抑制过个基因的表达, 并且抑制作用是可逆的[10]. 因此, 将CRISPRi应用于抗HCV病毒的治疗具有更加广阔的前景.

值得注意的是, 除了直接作用方式, miR-122通过下调HCV复制抑制分子HMOX1和CyclinG1的表达, 而间接促进HCV复制[3,13,14]. Shan等[13]研究发现, miR-122的反义互补序列antagomir通过上调HMOX1的表达进而抑制HCV病毒复制. Hou等[14]研究发现, siRNA介导的CyclinG1的沉默显著增加了细胞内HCV RNA水平, 说明CyclinG1在HCV复制中发挥重要作用; 而miR122的抑制剂增加了CyclinG1的表达, 并且阻止了乙醇诱导的HCV RNA水平. 本研究利用CRISPRi技术实现了HepG2细胞内miR-122的特异性表达抑制, 同时, miR-122下游靶分子HMOX1和CyclinG1均表达升高, 这进一步说明了CRISPRi技术在针对miR-122宿主靶点的应用为抗HCV治疗开拓了新的思路.

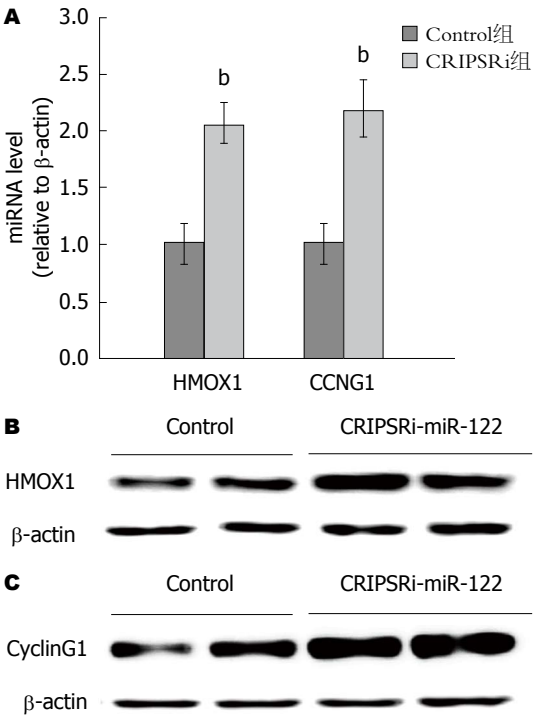

图 3 CRIPSRi增加肝细胞miR-122靶分子HMOX1和CyclinG1的表达. CRIPSRi提高了肝细胞miR-122靶分子HMOX1和CCNG1 mRNA的转录水平. 针对miR-122启动子区进行CRIPSRi, 显著上调了HMOX1 mRNA和CCNG1 mRNA的表达. $^{b}P<0.01$ *vs* 对照组; B: CRIPSRi增加肝细胞miR-122靶分子HMOX1蛋白的表达. 针对miR-122启动子区进行CRIPSRi, HMOX1蛋白的表达增加; C: CRIPSRi增加肝细胞miR-122靶分子CyclinG1蛋白的表达. 针对miR-122启动子区进行CRIPSRi, CyclinG1蛋白的表达增加. CRIPSRi: CRISPR干扰.

名词解释

CRISPRi: 天然CRISPR相关基因9(CRISPR-associated gene 9, Cas9)含有2种核酸酶结构域: RuvC1结构域及HNH结构域, HNH结构域切割与crRNA互补的模板链, RuvC1结构域切割非互补链. 将Cas9的核酸内切酶结构域突变(RuvC1, D10A; HNH, H841A)产生dCas9, 仅保留DNA识别能力而无内切酶活性, 当dCas9与sgRNA共表达时, 形成识别特定位点的复合体, 该复合体可以特异性的干扰RNA聚合酶或者转录因子与DNA序列的结合, 有效抑制靶分子的表达, 将此过程称为CRISPRi.

4 参考文献

1 Poordad F, McCone J, Bacon BR, Bruno S, Manns MP, Sulkowski MS, Jacobson IM, Reddy KR, Goodman ZD, Boparai N, DiNubile MJ, Sniukiene V, Brass CA, Albrecht JK, Bronowicki JP. Boceprevir for untreated chronic HCV genotype 1 infection. *N Engl J Med* 2011; 364: 1195-1206 [PMID: 21449783 DOI: 10.1056/NEJMoa1010494]

2 Sherman KE, Flamm SL, Afdhal NH, Nelson DR, Sulkowski MS, Everson GT, Fried MW, Adler M, Reesink HW, Martin M, Sankoh AJ, Adda N, Kauffman RS, George S, Wright CI, Poordad F. Response-guided telaprevir combination treatment for hepatitis C virus infection. *N Engl J Med* 2011; 365: 1014-1024 [PMID: 21916639 DOI: 10.1056/NEJMoa1014463]

3 Bandiera S, Pfeffer S, Baumert TF, Zeisel MB. miR-122--a key factor and therapeutic target in liver disease. *J Hepatol* 2015; 62: 448-457 [PMID: 25308172 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.10.004]

4 Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004; 431: 350-355 [PMID: 15372042 DOI: 10.1038/nature02871]

5 Henke JI, Goergen D, Zheng J, Song Y, Schüttler CG, Fehr C, Jünemann C, Niepmann M.

同行评价

本研究利用了CRISPRi技术靶向抑制肝癌细胞与HCV病毒复制相关小RNAmiR-122, 进而上调抑制HCV复制相关的miR-122下游靶分子HMOX1和CyclinG1 mRNA和蛋白表达, 为分子靶向药物治疗HCV肝炎提供了理论基础.

microRNA-122 stimulates translation of hepatitis C virus RNA. *EMBO J* 2008; 27: 3300-3310 [PMID: 19020517 DOI: 10.1038/emboj.2008.244]

6 Jopling CL, Yi M, Lancaster AM, Lemon SM, Sarnow P. Modulation of hepatitis C virus RNA abundance by a liver-specific MicroRNA. *Science* 2005; 309: 1577-1581 [PMID: 16141076 DOI: 10.1126/science.1113329]

7 Machlin ES, Sarnow P, Sagan SM. Masking the 5' terminal nucleotides of the hepatitis C virus genome by an unconventional microRNA-target RNA complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 3193-3198 [PMID: 21220300 DOI: 10.1073/pnas.1012464108]

8 Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012; 337: 816-821 [PMID: 22745249 DOI: 10.1126/science.1225829]

9 Doudna JA, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 2014; 346: 1258096 [PMID: 25430774 DOI: 10.1126/science.1258096]

10 Qi LS, Larson MH, Gilbert LA, Doudna JA, Weissman JS, Arkin AP, Lim WA. Repurposing CRISPR as an RNA-guided platform for sequence-specific control of gene expression. *Cell* 2013; 152: 1173-1183 [PMID: 23452860 DOI: 10.1016/j.cell.2013.02.022]

11 Shi R, Chiang VL. Facile means for quantifying microRNA expression by real-time PCR. *Biotechniques* 2005; 39: 519-525 [PMID: 16235564 DOI: 10.2144/000112010]

12 Carlsbecker A, Lee JY, Roberts CJ, Dettmer J, Lehesranta S, Zhou J, Lindgren O, Moreno-Risueno MA, Vatén A, Thitamadee S, Campilho A, Sebastian J, Bowman JL, Helariutta Y, Benfey PN. Cell signalling by microRNA165/6 directs gene dose-dependent root cell fate. *Nature* 2010; 465: 316-321 [PMID: 20410882 DOI: 10.1038/nature08977]

13 Shan Y, Zheng J, Lambrecht RW, Bonkovsky HL. Reciprocal effects of micro-RNA-122 on expression of heme oxygenase-1 and hepatitis C virus genes in human hepatocytes. *Gastroenterology* 2007; 133: 1166-1174 [PMID: 17919492 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.08.002]

14 Hou W, Bukong TN, Kodys K, Szabo G. Alcohol facilitates HCV RNA replication via up-regulation of miR-122 expression and inhibition of cyclin G1 in human hepatoma cells. *Alcohol Clin Exp Res* 2013; 37: 599-608 [PMID: 23126531 DOI: 10.1111/acer.12005]

15 Pedersen IM, Cheng G, Wieland S, Volinia S, Croce CM, Chisari FV, David M. Interferon modulation of cellular microRNAs as an antiviral mechanism. *Nature* 2007; 449: 919-922 [PMID: 17943132 DOI: 10.1038/nature06205]

16 Jopling CL, Schütz S, Sarnow P. Position-dependent function for a tandem microRNA miR-122-binding site located in the hepatitis C virus RNA genome. *Cell Host Microbe* 2008; 4: 77-85 [PMID: 18621012 DOI: 10.1016/j.chom.2008.05.013]

17 Lanford RE, Hildebrandt-Eriksen ES, Petri A, Persson R, Lindow M, Munk ME, Kauppinen S, Ørum H. Therapeutic silencing of microRNA-122 in primates with chronic hepatitis C virus infection. *Science* 2010; 327: 198-201 [PMID: 19965718 DOI: 10.1126/science.1178178]

18 Gilbert LA, Larson MH, Morsut L, Liu Z, Brar GA, Torres SE, Stern-Ginossar N, Brandman O, Whitehead EH, Doudna JA, Lim WA, Weissman JS, Qi LS. CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes. *Cell* 2013; 154: 442-451 [PMID: 23849981 DOI: 10.1016/j.cell.2013.06.044]

19 Fellmann C, Zuber J, McJunkin K, Chang K, Malone CD, Dickins RA, Xu Q, Hengartner MO, Elledge SJ, Hannon GJ, Lowe SW. Functional identification of optimized RNAi triggers using a massively parallel sensor assay. *Mol Cell* 2011; 41: 733-746 [PMID: 21353615 DOI: 10.1016/j.molcel.2011.02.008]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3749

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3749-3754
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

研究快报 RAPID COMMUNICATION

上调miR-203表达对肝星状细胞增殖及胶原合成的影响

胡丹平, 胡益冰, 徐旺旺, 徐婷燕, 倪顺兰, 付荣泉

胡丹平, 胡益冰, 徐旺旺, 徐婷燕, 付荣泉, 温州医科大学附属第三医院感染科 浙江省瑞安市 325200
倪顺兰, 温州医科大学附属第一医院感染科 浙江省温州市 325000
胡丹平, 在读硕士, 主要从事肝纤维化机制研究.
浙江省自然科学基金资助项目, No. Y14H030042
作者贡献分布: 此课题由付荣泉设计; 研究过程由胡丹平、胡益冰及徐旺旺操作完成; 实验数据整理分析由徐婷燕与倪顺兰完成; 论文由胡丹平与付荣泉撰写完成.
通讯作者: 付荣泉, 副主任医师, 博士, 325200, 浙江省瑞安市万松路108号, 温州医科大学附属第三医院感染科.
frq6688@126.com
收稿日期: 2015-06-22 修回日期: 2015-07-21
接受日期: 2015-07-24 在线出版日期: 2015-08-18

Impact of upregulation of miR-203 on cell proliferation and collagen synthesis in hepatic stellate cells

Dan-Ping Hu, Yi-Bing Hu, Wang-Wang Xu, Ting-Yan Xu, Shun-Lan Ni, Rong-Quan Fu

Dan-Ping Hu, Yi-Bing Hu, Wang-Wang Xu, Ting-Yan Xu, Rong-Quan Fu, Department of Infectious Diseases, the Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Ruian 325200, Zhejiang Province, China
Shun-Lan Ni, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China
Supported by: Zhejiang Provincial Natural Science Foundation, No. Y14H030042
Correspondence to: Rong-Quan Fu, Associate Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the Third Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, 108 Wansong Road, Ruian 325200, Zhejiang Province, China. frq6688@126.com
Received: 2015-06-22 Revised: 2015-07-21
Accepted: 2015-07-24 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To investigate the impact of upregulation of miR-203 on cell proliferation and collagen synthesis in hepatic stellate cells.

METHODS: HSC-T6 cells were transfected with miR-203 mimic using Lipofectamine™ 2000, and propagated for 48 h. Total proteins and total RNAs were extracted from these cells. The mRNA and protein expression of α-smooth muscle actin (α-SMA), type Ⅰ collagen and type Ⅲ collagen was measured by RT-qPCR and Western blot, respectively. The proliferation of HSC-T6 cells was assessed using MTT assay.

RESULTS: Compared with the negative control group, α-SMA protein and mRNA expression in the miR-203 mimic group decreased by 75% and 80%, respectively ($P < 0.01$); type Ⅰ collagen protein and mRNA expression decreased by 56% ($P < 0.01$) and 48% ($P < 0.05$), respectively; type Ⅲ collagen protein and mRNA expression decreased 45% and 60%, respectively ($P < 0.05$); cellular proliferative activity decreased by 20% ± 5% ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Upregulation of miR-203 can significantly inhibit cell proliferation and collagen synthesis in hepatic stellate cells.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: miR-203; Hepatic stellate cells; α-smooth muscle actin; Type Ⅰ collagen; Type Ⅲ collagen; Proliferation

Hu DP, Hu YB, Xu WW, Xu TY, Ni SL, Fu RQ. Impact of upregulation of miR-203 on cell proliferation and collagen synthesis in hepatic stellate cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3749-3754 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3749.asp DOI:

背景资料
miRNA与肝纤维化发生发展的关系在全世界范围内已有大量研究, 显示肝纤维化组织与肝星状细胞内miR-203表达下调有关. 在此基础上, 本文在细胞水平上调miR-203表达, 观察HSC-T6细胞增殖活性和胶原合成变化, 进一步完善miR-203在肝纤维化发生中的作用.

同行评议者
朱传武, 教授, 主任医师, 苏州市第五人民医院肝病科

研发前沿
miRNA与肝纤维化发生发展是近几年肝纤维化研究领域的热点, 重点是miRNA影响肝纤维化机制研究, 目前尚未完全阐明, 仍需进一步深入研究.

http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3749

摘要

目的: 观察上调miR-203表达对肝星状细胞增殖活性及胶原合成的影响.

方法: 利用Lipofectamine™ 2000将miR-203模拟物(mimics)转染大鼠肝星状细胞(HSC-T6), 培养48 h后, 收集细胞提取总蛋白和总RNA, 分别行Western blot和RT-qPCR, 检测α平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)、Ⅰ型胶原和Ⅲ型胶原表达; MTT(噻唑蓝)法检测细胞增殖活性.

结果: 与阴性对照组相比, miR-203 mimics组α-SMA蛋白和mRNA表达分别下降75%和80%(均P<0.01); Ⅰ型胶原蛋白表达下降56%(P<0.01), mRNA表达下降48%(P<0.05); Ⅲ型胶原蛋白与mRNA表达分别下降45%和60%(P<0.05); HSC-T6细胞增殖活性下降20%±5%(P<0.01).

结论: 上调miR-203表达能显著抑制肝星状细胞增殖及胶原合成.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 微小RNA-203; 肝星状细胞; α平滑肌肌动蛋白; Ⅰ型胶原; Ⅲ型胶原; 增殖

核心提示: 上调miR-203表达可以明显抑制肝星状细胞增殖活性, 降低胶原合成的能力, 根据本研究结果及以往世界范围内研究显示miR-203在肝纤维化形成过程中起到负调控的作用.

胡丹平, 胡益冰, 徐旺旺, 徐婷燕, 倪顺兰, 付荣泉. 上调miR-203表达对肝星状细胞增殖及胶原合成的影响. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3749-3754 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3749.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3749

0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis)是多种病因引起的肝脏慢性损伤修复过程中肝内细胞外基质(extracellular matrix, ECM)生成与降解失衡的病理生理过程[1]. 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的激活是肝纤维化形成过程中的关键环节, 激活的HSC分化转移, 拥有肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)表型, 成为ECM的主要来源[2,3]. 微小RNA(microRNA, miRNA)是动物和植物细胞中自然产生的18-24 nt的非编码小RNA[4], 参与调节多种纤维化信号通路和细胞外基质生成[5]. 目前已有大量研究[5-8]发现miRNAs参与肝纤维化发生. 关于miR-203与肝纤维化的关系, Song等[9]研究发现miR-203在肝纤维化组织和转化生长因子-β1(transforming growth factor-β1, TGF-β1)处理的大鼠肝星状细胞(HSC-T6)中表达下调, 但miR-203对HSC胶原合成的影响尚不清楚, 本实验将通过上调miR-203表达观察HSC增殖能力及胶原合成的变化, 初步探索miR-203在肝纤维化发生胶原合成过程中的作用.

1 材料与方法

1.1 材料 大鼠肝星状细胞株(HSC-T6)温州医科大学附属第一医院肝病中心实验室贮存. 高糖型DMEM和胎牛血清购自美国Gibco公司; Opti-MEM® Ⅰ Reduced Serum Medium购自Gibco公司; Lipofectamine™ 2000购自美国Invitrogen公司; miR-203模拟物(mimics)和NC-miRNA由上海吉玛制药技术有限公司(GenePharma)合成; TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司; 逆转录试剂盒购自美国Thermo公司; 引物由上海吉玛制药技术有限公司(GenePharma)合成; 荧光实时定量PCR使用日本东洋纺(TOYOBO, Japan)SYBR® Green Real-time PCR Master Mix-Plus; 定量PCR仪使用美国APPLIED BIOSYSTENS 7500; 内参GAPDH多克隆抗体购自杭州贤至生物科技有限公司(GOOD HERE); α平滑肌肌动蛋白(α-smooth muscle actin, α-SMA)和Ⅰ型、Ⅲ型胶原单克隆抗体购自美国abcam公司; 辣根过氧化物酶标记羊抗兔和羊抗小鼠二抗购自中国biosharp生物科技公司; BCA蛋白浓度检测试剂盒购自中国碧云天生物技术研究所(Beyotime); MTT细胞增殖及细胞毒性检测试剂盒购自凯基生物公司(KeyGEN BioTECH).

1.2 方法

1.2.1 大鼠肝星状细胞(HSC-T6)的培养: HSC-T6细胞接种于25 cm^2的培养瓶中, 使用含10%胎牛血清(FBS)的高糖型DMEM培养基, 培养在37 ℃, 50 mL/L CO_2培养箱内. 贴壁生长, 24 h换液1次, 3-4 d细胞长满培养瓶底, 用0.25%胰

表 1 PCR引物列表

引物名称	引物序列	扩增大小(bp)
β-actin	F: 5'-CGTAAAGACCTCTATGCCAACA-3'	131
	R: 5'-GGAGGAGCAATGATCTTGATCT-3'	
α-SMA	F: 5'-GTGCTGTCCCTCTATGCCTCTGG-3'	77
	R: 5'-GGCACGTTGTGAGTCACACCATC-3'	
Col1a1	F: 5'-GTACATCAGCCCAAACCCCAAG-3'	95
	R: 5'-CGGAACCTTCGCTTCCATACTC-3'	
Col3a1	F: 5'-GACTGCCCCAACCCAGAGATC-3'	88
	R: 5'-TACCATCAGGAATGACAGGAGCAG-3'	
Rno-miR-203	F: 5'-CGATGCTGTGAAATGTTTAGGGAC-3'	67
	R: 5'-TATGGTTTTGACGACTGTGTGAT-3'	
U6	F: 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3'	70
	R: 5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'	

F: 上游引物; R: 下游引物.

相关报道

Song等发现大鼠肝纤维化组织与活化的肝星状细胞miR-203和瞬时受体阳离子通道亚家族V成员4(transient receptor potential cation channel, subfamily V, member 4, TRPV4)表达下调, 生物信息学预测*TRPV4*是miR-203的靶基因, 通过上调miR-203表达观察到肝星状细胞增殖活性下调; 双荧光素酶报告基因实验证实TRPV4与miR-203的靶向关系.

酶消化传代1次.

1.2.2 细胞转染: 6孔板接种细胞, 每孔接种细胞约(1.0-2.5)×10^5个, 加入不含抗生素的完全培养基(含10%胎牛血清), 37 ℃, 50 mL/L CO_2培养24 h, 细胞融合度约70%, 换不完全培养基(不含胎牛血清的Opti-MEM培养基)继续培养约10-12 h. 根据Lipofectamine™ 2000说明书转染等量miR-203模拟物(mimics)和NC-miRNA, 继续培养4-6 h后换含2%胎牛血清培养基, 继续培养48 h提取总蛋白和总RNA.

1.2.3 RT-qPCR: HSC-T6细胞转染48 h后使用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 用赛默飞(Thermo, USA)RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒逆转录合成cDNA, 用日本东洋纺(TOYOBO, Japan)SYBR® Green Real-time PCR Master Mix-Plus试剂盒进行实时荧光定量PCR, PCR循环使用两步法: 95 ℃ 15 s; 60 ℃ 60 s, 扩增40个循环. 引物由上海吉玛制药技术有限公司(GenePharma)合成(表1).

1.2.4 总蛋白提取和Western blot法: HSC-T6细胞转染48 h, 弃旧培养基, 磷酸盐缓冲液(PBS液)冲洗, 每孔加入150-250 μL RIPA(Radio Immunoprecipitation Assay)裂解液, 按组收集培养板内细胞与RIPA裂解液混合物至1.5 mL EP管中, 冰上裂解30 min, 4 ℃ 10000 r/min 10 min, 上清分装至新EP管中, BCA蛋白浓度检测试剂盒测蛋白浓度, -80 ℃长期保存. 取10-20 μg总蛋白进行SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE), 并使用PVDF膜转膜, 5%BSA封闭90 min, 一抗4 ℃孵育过夜, TBS-T(含0.2% Tween-20, 20 mmol/L Tris-HCl, 150 mmol/L NaCl)洗膜4次, 每次7 min; 二抗室温孵育1 h, TBS-T再次洗膜4次, 每次7 min, 应用Bio-Rad凝胶成像分析仪采集并分析结果. 一抗分别为兔抗大鼠GAPDH(1∶1000), 兔抗大鼠α-SMA单克隆抗体(1∶1000); 小鼠抗大鼠Ⅰ型胶原和Ⅲ型胶原单克隆抗体(1∶500). 二抗分别为辣根过氧化物酶标记羊抗兔和羊抗小鼠的抗体(1∶8000).

1.2.5 细胞增殖与细胞毒性实验(MTT法): 采用噻唑蓝(MTT)比色法. 取对数生长期细胞约1×10^4个/孔加入96孔板, 分3组, 分置于37 ℃, 50 mL/L CO_2培养箱内培养24 h, 换无血清培养基继续培养10-12 h, 转染后6 h换液继续培养48 h, 每孔加入50 μL 1×MTT, 37 ℃孵育4 h, 使MTT还原为甲臜. 去上清, 每孔加入150 μL二甲基亚砜(DMSO)溶解甲臜, 酶标仪490 nm处检测每孔的吸光度值(*A*值). 根据MTT试剂盒说明书计算细胞增殖活性.

统计学处理 用SPSS20.0统计软件进行统计学分析, 实验数据均采用mean±SD表示, 两样本均数比较采用*t*检验, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 HSC-T6细胞转染miR-203 mimics后miR-203表达的变化 荧光显微镜观察转染HSC-T6细胞的转染效率达80%以上, 如图1A, B; RT-qPCR结

创新盘点

miR-203在肝纤维化发生中的作用研究尚少, Song等研究发现上调miR-203表达抑制肝星状细胞增殖活性, 本文通过实验进一步发现上调miR-203表达抑制肝星状细胞胶原的合成.

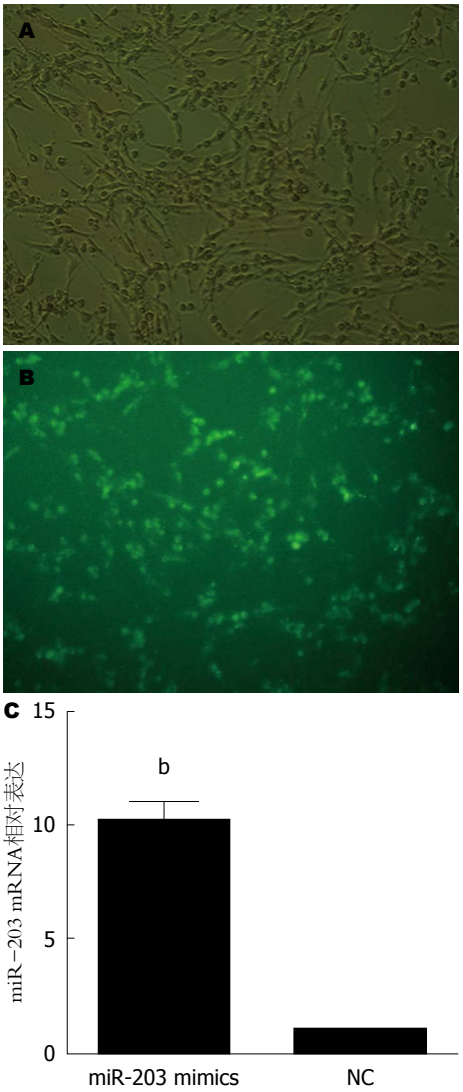

图 1 miR-203 mimics 转染HSC-T6. A: 荧光显微镜白光观察(×200); B: 荧光显微镜荧光观察(×200); C: RT-qPCR检测转染后miR-203表达水平. $^{b}P<0.01$ *vs* NC组.

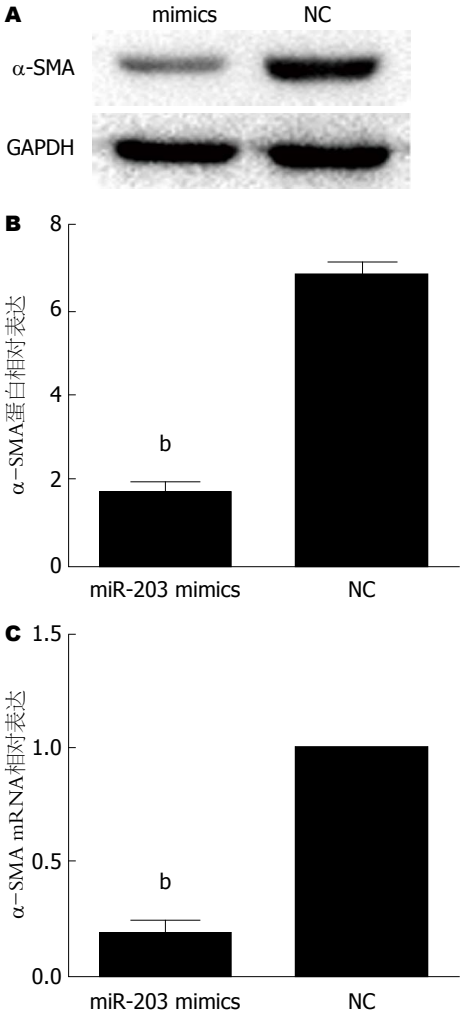

图 2 Western blot与RT-qPCR检测α-SMA表达变化. A: Western blot检测; B: α-SMA蛋白的相对表达量; C: RT-qPCR检测α-SMA mRNA的相对表达量. $^{b}P<0.01$ *vs* NC组. α-SMA: α-平滑肌肌动蛋白.

果提示miR-203 mimics和阴性对照组(NC组)相比miR-203表达明显上升, miR-203 mimics组是阴性对照组的10倍($P<0.01$)(图1C).

2.2 上调miR-203对HSC-T6细胞α-SMA表达的影响 与阴性对照组相比, Western blot结果显示miR-203组较NC组α-SMA蛋白相对表达减少约75%($P<0.01$)(图2A, B); RT-qPCR结果显示miR-203 mimics较NC组α-SMA mRNA相对表达量减少约80%($P<0.01$)(图2C). 结果提示上调miR-203表达可抑制HSC-T6表达α-SMA.

2.3 上调miR-203表达对HSC-T6细胞胶原合成的影响 与阴性对照组(NC组)相比, Western blot结果显示miR-203 mimics组较阴性对照组III型胶原蛋白相对表达量减少约45%($P<0.05$), Ⅰ型胶原蛋白相对表达量减少约56%($P<0.01$)(图3A, B); RT-qPCR结果显示miR-203 mimics组较阴性对照组III型胶原mRNA相对表达下降约60%($P<0.05$), Ⅰ型胶原mRNA相对表达下降约48%($P<0.05$)(图3C). 结果提示上调miR-203表达可抑制HSC-T6合成Ⅰ型和III型胶原.

2.4 上调miR-203表达对HSC增殖活性的影响 MTT比色法结果分析显示miR-203 mimics组*A*值为0.86±0.05, NC组为0.65±0.07, miR-203 mimics组增殖活性较NC组下降约20%±5%($P<0.01$). 结果提示上调miR-203表达可抑制HSC-T6增殖活性.

3 讨论

肝纤维化是慢性肝脏疾病进展为肝硬化的中心环节, 目前有动物实验和临床研究[10]发现肝纤维化存在逆转可能, 如果能阻止、减弱甚至

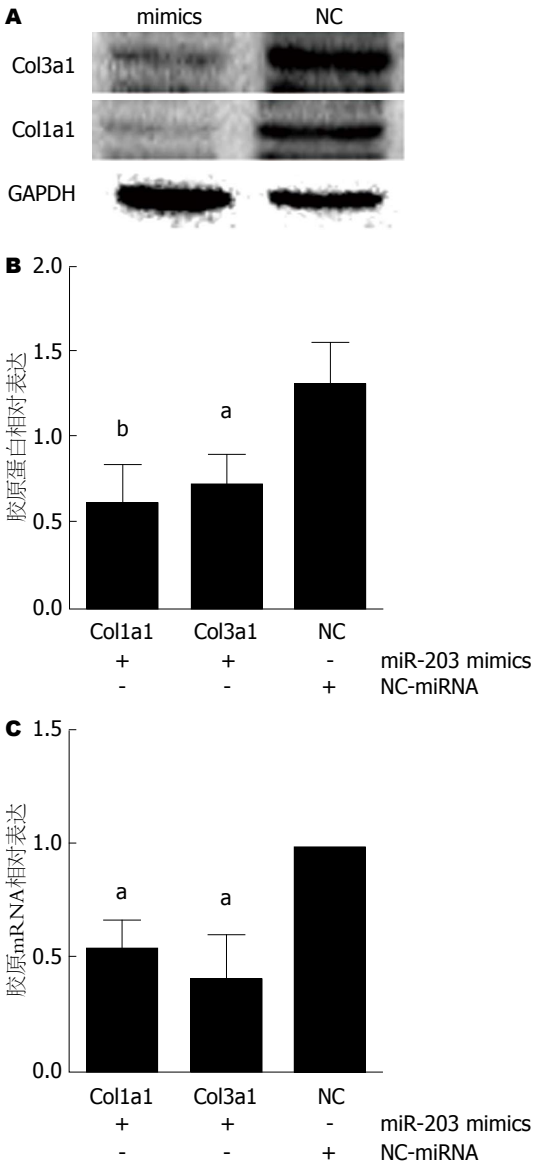

图 3 Western blot与RT-qPCR检测胶原Ⅰ型和胶原Ⅲ型表达变化. A: Western blot结果; B: 蛋白的相对表达量; C: Col1a1与Col3a1 mRNA的相对表达量. $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$ *vs* NC组.

逆转肝纤维化发生发展,将会很大程度上改善慢性肝脏疾病预后. 近年来肝纤维化一直是肝病研究领域的重点, 目前为止尚无有效治疗肝纤维化的方法[11].

ECM合成与降解失衡, 并在肝内沉积是肝纤维化发生的关键环节[2]. 抑制、降解ECM是目前研究肝纤维化治疗策略重点方向之一[12,13]. Ⅰ型胶原和Ⅲ型胶原是ECM的主要成分, 是研究肝纤维化的重要标志[1]. α-SMA具有收缩功能, HSC活化后大量分泌, 是研究肝纤维化发生发展灵敏的指标之一[14].

miRNAs是内源性小分子非编码RNA, 目前已有较多研究[7,8,15-17]显示miRNAs参与肝纤维化发生发展, 研究通过调节miRNAs表达观察对肝纤维化发生的影响, 从而探索miRNA对肝纤维化潜在的治疗作用. Song等[9]通过研究发现肝纤维化发生时miR-203表达下调, 但该研究中miR-203对HSC胶原合成的影响尚不清楚, 本实验通过转染miR-203 mimics上调miR-203表达时观察到HSC-T6细胞Ⅰ型胶原、Ⅲ型胶原及α-SMA表达明显下降; 细胞增殖试验(MTT法)观察到上调miR-203表达后HSC-T6增殖能力明显下降, 本次研究结果显示miR-203对HSC胶原合成具有负向调节作用, 进一步完善了对miR-203在肝纤维化发生中作用的研究, 然而, 本实验尚未涉及miR-203影响HSC胶原合成的调节机制, 需要进一步研究阐明. 本实验设计限于细胞水平研究, 有待于更广泛的研究进一步阐明miR-203在肝纤维化发生发展中的作用, 为将来研究肝纤维化治疗策略提供帮助.

■应用要点
此文章进一步完善了miR-203在肝纤维化发生中的作用, 为将来研究深入肝纤维化治疗策略提供帮助.

4 参考文献

1 Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-1669 [PMID: 18471545 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.003]

2 Jiao J, Friedman SL, Aloman C. Hepatic fibrosis. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 223-229 [PMID: 19396960]

3 Li D, Friedman SL. Liver fibrogenesis and the role of hepatic stellate cells: new insights and prospects for therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 1999; 14: 618-633 [PMID: 10440206]

4 Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215-233 [PMID: 19167326 DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002]

5 Vettori S, Gay S, Distler O. Role of MicroRNAs in Fibrosis. *Open Rheumatol J* 2012; 6: 130-139 [PMID: 22802911 DOI: 10.2174/1874312901206010130]

6 He X, Xie J, Zhang D, Su Q, Sai X, Bai R, Chen C, Luo X, Gao G, Pan W. Recombinant adeno-associated virus-mediated inhibition of microRNA-21 protects mice against the lethal schistosome infection by repressing both IL-13 and transforming growth factor beta 1 pathways. *Hepatology* 2015; 61: 2008-2017 [PMID: 25546547 DOI: 10.1002/hep.27671]

7 Yu F, Guo Y, Chen B, Dong P, Zheng J. MicroRNA-17-5p activates hepatic stellate cells through targeting of Smad7. *Lab Invest* 2015; 95: 781-789 [PMID: 25915722 DOI: 10.1038/labinvest.2015.58]

8 Lakner AM, Steuerwald NM, Walling TL, Ghosh S, Li T, McKillop IH, Russo MW, Bonkovsky HL, Schrum LW. Inhibitory effects of microRNA 19b in hepatic stellate cell-mediated fibrogenesis. *Hepatology* 2012; 56: 300-310 [PMID: 22278637 DOI: 10.1002/hep.25613]

同行评价

本文在细胞水平上研究了上调miR-203表达对肝星状细胞增殖活性及胶原合成的影响, 研究在设计、方法上有自己的特点, 有一定意义.

9 Song Y, Zhan L, Yu M, Huang C, Meng X, Ma T, Zhang L, Li J. TRPV4 channel inhibits TGF-β1-induced proliferation of hepatic stellate cells. *PLoS One* 2014; 9: e101179 [PMID: 25013893 DOI: 10.1371/journal.pone.0101179]

10 Ramachandran P, Iredale JP. Liver fibrosis: a bidirectional model of fibrogenesis and resolution. *QJM* 2012; 105: 813-817 [PMID: 22647759 DOI: 10.1093/qjmed/hcs069]

11 Friedman SL. Evolving challenges in hepatic fibrosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 425-436 [PMID: 20585339 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.97]

12 Kawada N. Evolution of hepatic fibrosis research. *Hepatol Res* 2011; 41: 199-208 [PMID: 21338451 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00776.x]

13 Henderson NC, Iredale JP. Liver fibrosis: cellular mechanisms of progression and resolution. *Clin Sci* (Lond) 2007; 112: 265-280 [PMID: 17261089 DOI: 10.1042/CS20060242]

14 Russo MW, Firpi RJ, Nelson DR, Schoonhoven R, Shrestha R, Fried MW. Early hepatic stellate cell activation is associated with advanced fibrosis after liver transplantation in recipients with hepatitis C. *Liver Transpl* 2005; 11: 1235-1241 [PMID: 16184580 DOI: 10.1002/lt.20432]

15 Wang XW, Heegaard NH, Orum H. MicroRNAs in liver disease. *Gastroenterology* 2012; 142: 1431-1443 [PMID: 22504185 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.007]

16 Venugopal SK, Jiang J, Kim TH, Li Y, Wang SS, Torok NJ, Wu J, Zern MA. Liver fibrosis causes downregulation of miRNA-150 and miRNA-194 in hepatic stellate cells, and their overexpression causes decreased stellate cell activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 298: G101-G106 [PMID: 19892940 DOI: 10.1152/ajpgi.00220.2009]

17 Feng X, Tan W, Cheng S, Wang H, Ye S, Yu C, He Y, Zeng J, Cen J, Hu J, Zheng R, Zhou Y. Upregulation of microRNA-126 in Hepatic Stellate Cells May Affect Pathogenesis of Liver Fibrosis Through the NF-κB Pathway. *DNA Cell Biol* 2015; 34: 470-480 [PMID: 25974152 DOI: 10.1089/dna.2014.2760]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3755

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3755-3760
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

研究快报 RAPID COMMUNICATION

FXR在高脂血症大鼠肝组织中的表达状况

张孟瑜, 王洁萍, 夏先明

张孟瑜, 夏先明, 泸州医学院附属医院肝胆外科 四川省泸州市 646000
王洁萍, 泸州医学院附属医院康复科 四川省泸州市 646000
张孟瑜, 主治医师, 硕士, 主要从事肝胆胰疾病的基础和临床研究.
作者贡献分布: 课题设计由夏先明完成; 研究过程及论文写作由张孟瑜与王洁萍完成; 数据分析由王洁萍完成; 试剂由夏先明提供.
通讯作者: 夏先明, 教授, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院肝胆外科. xxm6206@126.com
电话: 0830-3165903
收稿日期: 2015-06-02 修回日期: 2015-07-11
接受日期: 2015-07-24 在线出版日期: 2015-08-18

FXR expression in liver tissue of hyperlipidemia rats

Meng-Yu Zhang, Jie-Ping Wang, Xian-Ming Xia

Meng-Yu Zhang, Xian-Ming Xia, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Jie-Ping Wang, Department of Rehabilitation, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China
Correspondence to: Xian-Ming Xia, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. xxm6206@126.com
Received: 2015-06-02 Revised: 2015-07-11
Accepted: 2015-07-24 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To establish a rat model of hyperlipidemia, detect the expression of farnesyl X receptor (FXR) in the liver tissue of model rats, and explore the role of FXR in bile acid and cholesterol metabolism in hyperlipidemia rats.

METHODS: Sixty Wistar rats were randomly divided into two groups, a control group that was fed an ordinary diet, and an experimental group that was fed a high fat diet. Regular detection of cholesterol and bile acid contents was conducted to assess whether the hyperlipidemia model was successfully established. After successful induction of hyperlipidemia, liver tissue samples were taken to detect the mRNA expression of FXR by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and protein expression by immunohistochemistry.

RESULTS: In the experiment group, the contents of cholesterol and bile acid were significantly higher than those in the control group. RT-PCR analysis showed that the mRNA expression of FXR in the liver tissue was significantly higher in the experimental group than in the control group. Immunohistochemistry showed that in the experimental group, the positive expression rate of FXR was 79%, significantly higher than 14.3% in the control group (χ^2 = 10.862, P < 0.05).

CONCLUSION: FXR expression increases significantly in rats with hyperlipidemia, which suggests that FXR may be used as a target for treatment of hyperlipidemia and related diseases.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: *FXR* gene; Bile acid; Hyperlipidemia

Zhang MY, Wang JP, Xia XM. FXR expression in liver tissue of hyperlipidemia rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3755-3760 URL: http://www.

背景资料
目前我国患高脂血症的病员数量在逐年增多, 降脂治疗的运用越来越广泛, 而现有降脂治疗的方法有限, 且效果并非十分理想.

同行评议者
李胜, 研究员, 山东省肿瘤防治研究院肝胆外科; 徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

研发前沿
目前研究的热点和重点为新型的降脂方法和降脂药物, 而基因治疗是一个非常有前途但又尚未在临床广泛应用的领域.

wjgnet.com/1009-3079/23/3755.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3755

摘要

目的: 本研究通过建立高脂血症大鼠模型, 以法尼基衍生物X受体(farnesyl X receptor, FXR)为研究对象, 初步探讨FXR在高脂血症大鼠中的表达状况, 为防治高脂血症提供新的依据和分子理论基础.

方法: 取♂Wistar大鼠70只, 随机均分为2组, 对照组予以普通饮食、实验组予以高脂饮食. 喂食90 d, 建立高脂血症模型后, 取对照组和实验组肝脏组织: (1)应用逆转录-聚合酶链反应(RT-polymerase chain reaction, RT-PCR)技术检测两组模型肝脏组织的*FXR*基因表达的强度; (2)石蜡切片后用免疫组织化学SP(streptavidin-perosidase)法检测两组模型肝脏组织的FXR蛋白表达的强度.

结果: 实验组胆固醇及甘油三酯含量明显高于对照组. (1)电泳结果显示: 实验中肝脏组织扩增产物都出现了内参*β-actin*基因的425 bp扩增带和*FXR*基因的283 bp扩增带, 实验组*FXR*基因扩增带亮度强于对照组; (2)免疫组织化学SP法结果显示, 实验组FXR表达阳性率为79%, 对照组FXR表达阳性率为14.3%, 差异具有统计学意义($P<0.05$).

结论: 实验组大鼠的*FXR*基因的表达较对照组明显增加, 提示我们可发展作用于FXR的药物, 为高脂血症及其相关疾病找到新的治疗方法.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: *FXR*基因; 胆汁酸; 高脂血症

核心提示: 建立高脂血症大鼠模型, 以法尼基衍生物X受体(farnesyl X receptor, FXR)为研究对象, 初步探讨FXR在高脂血症大鼠中的表达状况, 为治疗高脂血症找到新的思路.

张孟瑜, 王洁萍, 夏先明. FXR在高脂血症大鼠肝组织中的表达状况. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3755-3760
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3755.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3755

相关报道
有研究报道了法尼基衍生物X受体(farnesyl X receptor, FXR)在胆汁酸代谢中的重要作用及其在梗阻性黄疸时参与对机体功能和病理损伤的调节机制.

0 引言

高脂血症(hyperlipidemia)是指血浆中一种或多种脂质高于正常范围的病症, 包括胆固醇升高、甘油三酯(triglyceride, TG)升高、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)升高等. 近年来, 随着经济的发展, 生活水平的提高, 饮食结构的改善, 出现高脂血症的患者逐年增多. 而脂质增多后, 则可能在肝脏、血管壁等组织沉积, 进而出现脂肪肝、血管腔变窄, 血管壁弹性减退, 最终导致产生动脉硬化等病症而引发心脑血管疾病, 高脂血症还可诱发胆结石、胰腺炎, 加重肝功能损害. 但目前降脂治疗的方法和手段有限, 效果欠佳, 那么是否存在更好而有效的方法呢? 基因治疗是目前尚未在临床广泛应用而又极具前景的治疗方法, 法尼基衍生物X受体(farnesyl X receptor, *FXR*)基因与胆汁酸的排泄及重吸收均相关[1-3], 所以本项目拟以FXR为研究对象, 研究在高脂血症大鼠肝细胞中*FXR*基因表达的状况, 尝试为高脂血症及其相关疾病治疗提供新的思路.

1 材料和方法

1.1 材料 Wistar大鼠70只(♂、体质量150 g±6 g), 随机分为两组, 每组35只: 普通饮食对照组(简称对照组)、高脂饮食实验组(简称实验组). 入选大鼠未进食含其他类药物饮食, 入选前无高脂血症存在. 高脂饮食的原料: (1)猪油; (2)基础饲料; (3)丙硫氧嘧啶片; (4)胆固醇; (5)去氧胆酸钠. 在60 ℃热水中融化猪油, 研细丙硫氧嘧啶片, 在基础饲料中加入质量分数为10.0%猪油、5.0%蔗糖、4.0%胆固醇、0.5%胆酸钠、0.2%丙基硫氧嘧啶, 加水混合充分搅拌, 制备等体积大小饲料烘干备用. 主要仪器有PCR扩增仪(Bio-Rad, 美国)、低温离心机(Beckman, 美国)、显微摄像系统(PM-10A)(OLYMPUSU-TVL, 日本)等; 主要试剂有逆转录-聚合酶链反应(RT-polymerase chain reaction, RT-PCR)试剂盒(大连宝生物, TaKaRa工程有限公司)、FXR单克隆抗体(CHEMICON, 美国)等.

1.2 方法

1.2.1 建立高脂血症大鼠模型: 实验首先制备高脂饮食建立高脂血症大鼠模型, 喂食过程中定期检测胆固醇及胆汁酸含量, 90 d后, 待到实验组血脂各项相关指标与对照组产生统计学差异[4-6], 确定建立高脂血症模型成功.

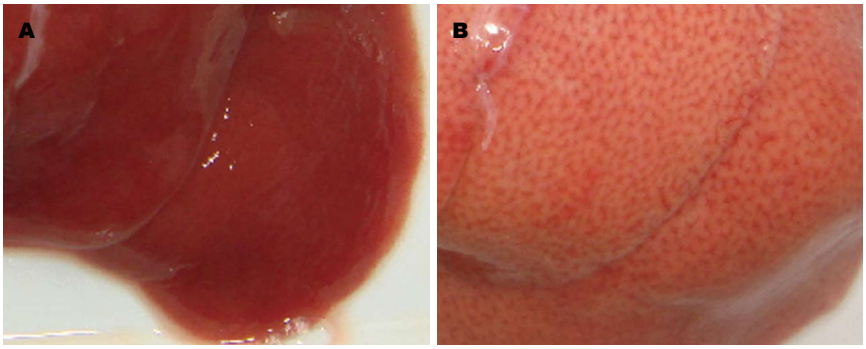

图 1 不同饮食饲养后肝脏变化情况. A: 普通饮食饲养后肝脏变化; B: 高脂饮食饲养后肝脏变化.

创新盘点
本文通过建立高脂血症大鼠模型, 使用PCR及免疫组织化学法初步发现了FXR在高脂血症大鼠肝组织中的表达状况.

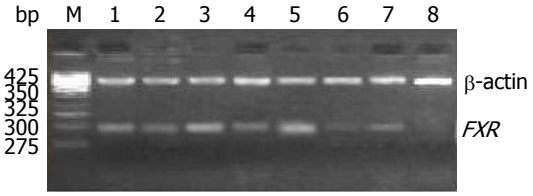

图 2 PCR电泳结果. 泳道1-5: 实验组; 泳道6-8: 对照组. 283 bp处: *FXR*基因; 425 bp处: β-actin.

1.2.2 RT-PCR技术检测肝脏组织的*FXR*基因表达: 分别取对照组和实验组肝脏组织, 设定引物及内参照序列, FXR的上游引物为: 5'-CCTCATTGTCTCCCCGACTTATCCT-3', 下游引物为: 5'-GCCTCTAGAAAGCAGTGTTCACTTT-3'; β-actin作为内参对照, 上游引物为: 5'-GATGGTGGGTATGGGTCAGAA-3', 下游引物为: 5'-CTAGGAGCCAGGGCAGTAATC-3'. 提取RNA, 进行逆转录反应, 制备PCR产物, 取产物10 μL进行1%琼脂糖凝胶电泳, 确认PCR反应产物. Quantity One软件计算*FXR*基因与β-actin条带的光密度的相对比值, 通过半定量分析得出其在肝脏组织中RNA表达相对含量.

1.2.3 免疫组织化学SP(streptavidin-perosidase)法检测两组模型肝脏组织的FXR蛋白表达的强度: 取材, 烤片, 阻断灭活内源性过氧化物酶, 滴加一抗4 ℃冰箱孵育过夜, 滴加生物素标记二抗, DAB/H_2O_2反应染色, 自来水充分冲洗后, 苏木素复染, 干燥, 封片, 高倍显微镜下观察. 从每张切片随机选取5个视野, 每个视野内观察100个细胞, 阳性细胞≥10%为阳性, 否则为阴性.

统计学处理 用mean±SD表示测得数据, 采用SPSS19.0统计软件进行分析, 判断组间差异采用*t*检验, 免疫组织化学SP法结果采用χ^2检验, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 血脂相关指标检测结果 各组大鼠喂食90 d后均存活, 无一死亡, 肝脏变化情况如图1, 其血清指标如表1. 从表1可知, 实验组血液中总胆固醇(total cholesterol, TC)、LDL-C、TG升高, 而高密度脂蛋白(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)降低; 与对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$).

2.2 PCR结果

2.2.1 电泳结果显示: 实验中对照组和实验组扩增产物都出现了*β-actin*基因的425 bp扩增带和*FXR*基因的283 bp扩增带, 实验组*FXR*基因扩增带亮度均明显强于对照组(图2).

2.2.2 半定量结果分析: 对照组*FXR*基因mRNA表达较低(0.336±0.025), 实验组*FXR*基因mRNA表达较高(0.887±0.051); *FXR*基因在对照组和实验组中表达差异有统计学意义($P<0.05$).

2.3 免疫组织化学SP法染色结果 光学高倍(100倍和200倍)物镜下: 肝脏组织中FXR蛋白出现黄色染色颗粒为阳性细胞(蓝色箭头所指). 每张切片随机选取5个视野, 每个视野内观察100个细胞, 阳性细胞≥10%为阳性, 否则为阴性. χ^2检验显示: 实验组FXR蛋白表达阳性率为79%, 对照组FXR蛋白表达阳性率为14.3%, 他们之间的差异有统计学意义($\chi^2=10.862$, $P<0.05$)(图3).

3 讨论

血脂包括人体血液中所含各类脂质, 主要的脂质有胆固醇、TG、LDL-C和HDL-C等. 高脂血症则主要是指胆固醇、TG、LDL-C等升高,

应用要点

通过初步发现FXR在高脂血症大鼠肝组织中的表达状况, 为进一步寻找作用于*FXR*基因的药物打下基础, 从而改善高脂血症治疗的现状.

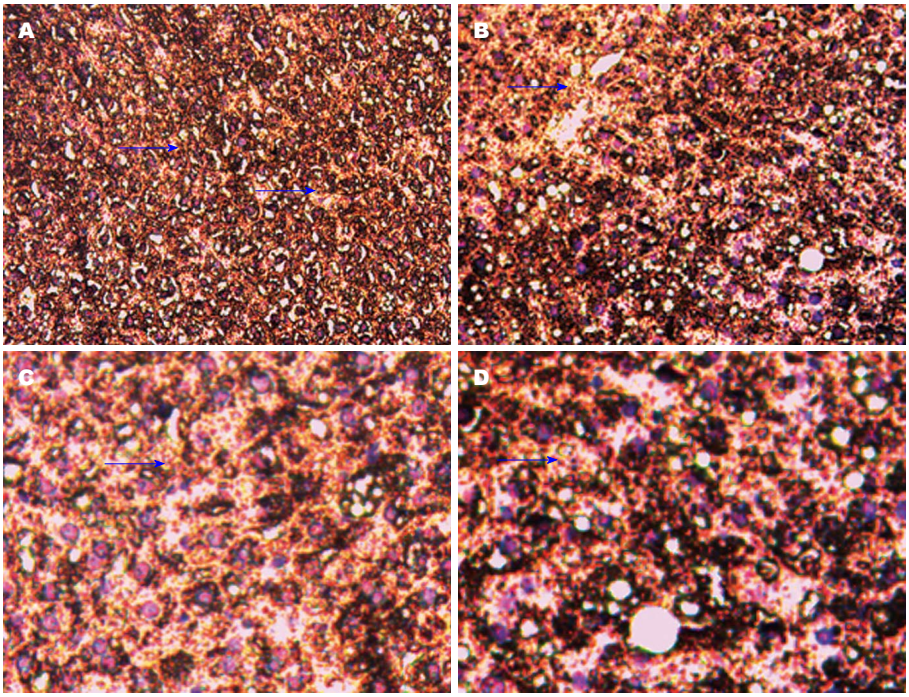

图 3 免疫组织化学结果. A, C: 实验组FXR蛋白阳性表达; B, D: 对照组FXR蛋白阳性表达; A, B: 100倍镜下观察; C, D: 200倍镜下观察. 蓝色箭头所指即为FXR蛋白.

表 1 各组大鼠血清指标的变化 (n = 35, mean ± SD, mmol/L)

血清指标	对照组	实验组
Glu	5.09 ± 0.78	5.10 ± 0.82
TC	1.39 ± 0.17	3.28 ± 0.37[a]
TG	0.53 ± 0.08	2.67 ± 0.11[a]
HDL-C	0.82 ± 0.11	0.45 ± 0.06[a]
LDL-C	0.22 ± 0.03	0.50 ± 0.07[a]

[a]P<0.05 *vs* 对照组. Glu: 血糖; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇.

而上述物质升高后, 则可能出现脂质在血管壁沉积, 引起动脉硬化、中风、心肌梗死等, 这是导致冠心病形成的主要原因之一; 高脂血症还可导致脂肪肝、肝硬化、高脂血症性胰腺炎、眼底出血、周围血管疾病、高尿酸血症等疾病. 其危害性已越来越被广大普通群众所认识并积极予以治疗, 但目前降脂治疗的方法和手段有限, 是否能找到更好的方法引导我们不断思考和研究. 基因治疗是目前尚未在临床广泛应用而又极具前景的治疗方法, 而*FXR*基因与胆汁酸的代谢密切相关[7-9], 所以其进入了我们的思考范围.

FXR是一种孤儿核受体, 胆汁酸是内源性FXR配体, 因此FXR又被称为胆汁酸受体[10-12], 属于激素核受体超家族的一员. 具有典型的核受体结构, 即包括氨基末高度保守的DNA结合区(DNA binding domain, DBD)、羧基末端配体结合区(ligand binding domain, LBD)、氨基末端的配体非依赖性转录激活功能区(AF-1)和羧基端有一个配体依赖性激活功能区(AF-2), 铰链区(hinge region)等. FXR作为胆汁酸的受体可以通过调控参与胆汁酸代谢基因的表达来维持胆汁酸的内环境稳定, 胆盐输出泵(bile salt export pump, *Bsep*)和牛磺胆酸钠转运蛋白(Na^+/taurocholate cotransporting polypeptide, *Ntcp*)均为FXR靶基因. 胆汁酸形成后, 在FXR调节下, 胆汁酸首先通过Bsep分泌至肠道, 进入肠道后, 经过一系列受体和介质的作用, 约90%胆汁酸在Ntcp协助下, 重吸收进入肝脏, 形成胆汁酸的肠肝循环; Bsep与Ntcp的表达强弱, 直接决定着胆汁酸分泌与重吸收量的多少, 从而决定着肝脏与血浆中脂质含量的多少. 而Bsep与Ntcp的表达情况, 则直接受到FXR的调节和控制[13-15]. 因此一旦FXR功能出现紊乱, 则胆汁酸排泄与重吸收出现紊乱, 造成胆汁酸淤积, 进而导致高脂血症的出现, 所以FXR的表达情况是了解和关注的重点.

本实验我们通过90 d时间高脂饮食的喂养成功建立高脂血症大鼠模型, 并且在试验中通过使用PCR, 免疫组织化学等方法进行检测, 从而证实高脂血症时大鼠的肝脏组织中*FXR*基因出现了明显的变化[16-18], 表达明显提高, 较对照组大为增加, 而高脂血症时TC、TG、LDL-C显著升高, HDL-C逐步下降, 由此我们初步考虑胆汁酸的增加会伴随*FXR*基因表达增强, 可能与增加胆汁酸的排泄有关. 上述也就提示我们, FXR的发现可能会成为高脂血症治疗新的靶点[19,20], 但FXR在肝脏组织中还有可调节的靶基因*Bsep*和*Ntcp*, 此二者在高脂血症时是否与FXR发生了同步的变化, 是否调节了FXR的作用, 尚需进一步的研究. 在目前所用降脂药物普遍存在各种各样的问题, 比如难以完全达到治疗目的、服用时间较长、胃肠道反应明显、患者耐受性差等缺点, 阻碍了其作为临床治疗药物的广泛应用, 所以, *FXR*基因表达状况的研究将可能有助于人们更好地认识胆汁酸代谢紊乱机制, 并为基础研究和临床治疗高脂血症与相关疾病提供新的药物治疗靶点, 找到一种新的治疗方向.

4 参考文献

1 Zhu Y, Li F, Guo GL. Tissue-specific function of farnesoid X receptor in liver and intestine. *Pharmacol Res* 2011; 63: 259-265 [PMID: 21211565 DOI: 10.1016/j.phrs.2010.12.018]

2 Carr RM, Reid AE. FXR agonists as therapeutic agents for non-alcoholic fatty liver disease. *Curr Atheroscler Rep* 2015; 17: 500 [PMID: 25690590 DOI: 10.1007/s11883-015-0500-2]

3 Chen Y, Song X, Valanejad L, Vasilenko A, More V, Qiu X, Chen W, Lai Y, Slitt A, Stoner M, Yan B, Deng R. Bile salt export pump is dysregulated with altered farnesoid X receptor isoform expression in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 57: 1530-1541 [PMID: 23213087 DOI: 10.1002/hep.26187]

4 孙赫, 梁桂洪, 林勇凯, 黄宇新. 高脂血症大鼠模型几种造模方法的筛选及优化. 动物医学进展 2014; 35: 89-93

5 陈阳, 王俊岩, 任路, 甄毕贤, 朱美林, 贾连群. 高脂血症大鼠肝脏蛋白质组特征研究. 中华中医药学刊 2015; 33: 567-569

6 张雯娟, 邢喜平, 王虎平. 大黄对高脂血症模型大鼠血清总胆固醇、甘油三酯及高密度脂蛋白胆固醇含量的影响. 甘肃中医学院学报 2014; 31: 8-11

7 Vaquero J, Monte MJ, Dominguez M, Muntané J, Marin JJ. Differential activation of the human farnesoid X receptor depends on the pattern of expressed isoforms and the bile acid pool composition. *Biochem Pharmacol* 2013; 86: 926-939 [PMID: 23928191 DOI: 10.1016/j.bcp.2013.07.022]

8 Fiorucci S, Cipriani S, Mencarelli A, Baldelli F, Bifulco G, Zampella A. Farnesoid X receptor agonist for the treatment of liver and metabolic disorders: focus on 6-ethyl-CDCA. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 753-762 [PMID: 21707532 DOI: 10.2174/138955711796355258]

9 Matsubara T, Li F, Gonzalez FJ. FXR signaling in the enterohepatic system. *Mol Cell Endocrinol* 2013; 368: 17-29 [PMID: 22609541 DOI: 10.1016/j.mce.2012.05.004]

10 Cully M. Obesity and diabetes: FXR and JAK step up to BAT. *Nat Rev Drug Discov* 2015; 14: 91 [PMID: 25633788 DOI: 10.1038/nrd4543]

11 Chen WD, Wang YD, Meng Z, Zhang L, Huang W. Nuclear bile acid receptor FXR in the hepatic regeneration. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 888-892 [PMID: 21167938 DOI: 10.1016/j.bbadis.2010.12.006]

12 Osório J. Obesity: Gut-specific FXR agonism. *Nat Rev Endocrinol* 2015; 11: 131 [PMID: 25623122 DOI: 10.1038/nrendo.2015.4]

13 Hambruch E, Miyazaki-Anzai S, Hahn U, Matysik S, Boettcher A, Perović-Ottstadt S, Schlüter T, Kinzel O, Krol HD, Deuschle U, Burnet M, Levi M, Schmitz G, Miyazaki M, Kremoser C. Synthetic farnesoid X receptor agonists induce high-density lipoprotein-mediated transhepatic cholesterol efflux in mice and monkeys and prevent atherosclerosis in cholesteryl ester transfer protein transgenic low-density lipoprotein receptor (-/-) mice. *J Pharmacol Exp Ther* 2012; 343: 556-567 [PMID: 22918042 DOI: 10.1124/jpet.112.196519]

14 Noh K, Kim YM, Kim YW, Kim SG. Farnesoid X receptor activation by chenodeoxycholic acid induces detoxifying enzymes through AMP-activated protein kinase and extracellular signal-regulated kinase 1/2-mediated phosphorylation of CCAAT/enhancer binding protein β. *Drug Metab Dispos* 2011; 39: 1451-1459 [PMID: 21596890 DOI: 10.1124/dmd.111.038414]

15 Meng Q, Chen XL, Wang CY, Liu Q, Sun HJ, Sun PY, Huo XK, Liu ZH, Yao JH, Liu KX. Alisol B 23-acetate protects against ANIT-induced hepatotoxity and cholestasis, due to FXR-mediated regulation of transporters and enzymes involved in bile acid homeostasis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2015; 283: 178-186 [PMID: 25655198 DOI: 10.1016/j.taap.2015.01.020]

16 Thomas AM, Hart SN, Kong B, Fang J, Zhong XB, Guo GL. Genome-wide tissue-specific farnesoid X receptor binding in mouse liver and intestine. *Hepatology* 2010; 51: 1410-1419 [PMID: 20091679 DOI: 10.1002/hep.23450]

17 Gray MA, James Squires E. Investigation of the dominant positive effect of porcine farnesoid X receptor (FXR) splice variant 1. *Gene* 2015; 560: 71-76 [PMID: 25623328 DOI: 10.1016/j.gene.2015.01.046]

18 Modica S, Petruzzelli M, Bellafante E, Murzilli S, Salvatore L, Celli N, Di Tullio G, Palasciano G, Moustafa T, Halilbasic E, Trauner M, Moschetta A. Selective activation of nuclear bile acid receptor

名词解释

牛磺胆酸钠转运蛋白(Na^+/taurocholate cotransporting polypeptide, Ntcp): 是一种胆汁酸受体, 在胆汁酸代谢和胆固醇代谢中发挥重要作用, 重吸收胆汁酸, 稳定胆汁酸浓度;

胆盐输出泵(bile salt export pump, Bsep): 是位于肝细胞膜上介导其底物依赖ATP自细胞内转运至毛细胆管的一种膜糖蛋白, 负责排泄胆汁酸;

FXR: 是一种胆汁酸受体, 属核受体超家族成员, 在胆汁酸及胆固醇代谢中具重要作用, 调节靶基因*Bsep*和*Ntcp*的功能.

同行评价
本文通过建立高脂血症动物模型, 观察比较FXR在高脂血症中的表达变化, 结构清晰, 整体实验过程完整、分析合理.

FXR in the intestine protects mice against cholestasis. *Gastroenterology* 2012; 142: 355-365. e1-4 [PMID: 22057115 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.028]

19 Verbeke L, Farre R, Verbinnen B, Covens K, Vanuytsel T, Verhaegen J, Komuta M, Roskams T, Chatterjee S, Annaert P, Vander Elst I, Windmolders P, Trebicka J, Nevens F, Laleman W. The FXR agonist obeticholic acid prevents gut barrier dysfunction and bacterial translocation in cholestatic rats. *Am J Pathol* 2015; 185: 409-419 [PMID: 25592258 DOI: 10.1016/j.ajpath.2014.10.009]

20 Carotti A, Marinozzi M, Custodi C, Cerra B, Pellicciari R, Gioiello A, Macchiarulo A. Beyond bile acids: targeting Farnesoid X Receptor (FXR) with natural and synthetic ligands. *Curr Top Med Chem* 2014; 14: 2129-2142 [PMID: 25388537]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》外文字符标准

本刊讯 本刊论文出现的外文字符应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服*po*, 灌胃ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, T1/2不能写成tl/2或T , *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.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3761

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3761-3765
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

不同年龄段胃镜检查应用异丙酚麻醉患者内脏镇痛效果的对比

陈晓洪, 罗会坚, 廖瑞红, 雷李培

陈晓洪, 罗会坚, 廖瑞红, 缙云县田氏伤科医院麻醉科 浙江省缙云县 321405
雷李培, 丽水市中心医院麻醉科 浙江省丽水市 323000
陈晓洪, 主治医师, 主要从事临床麻醉学研究.
作者贡献分布: 本文由陈晓洪、罗会坚、廖瑞红及雷李培共同写作完成.
通讯作者: 陈晓洪, 主治医师, 321405, 浙江省缙云县东方镇东方街688号, 缙云县田氏伤科医院麻醉科.
497506258@qq.com
电话: 0578-3561830
收稿日期: 2015-03-31 修回日期: 2015-05-02
接受日期: 2015-05-08 在线出版日期: 2015-08-18

Effect of age on potency of propofol in inhibiting visceral pain during gastroscopy

Xiao-Hong Chen, Hui-Jian Luo, Rui-Hong Liao, Li-Pei Lei

Xiao-Hong Chen, Hui-Jian Luo, Rui-Hong Liao, Department of Anesthesiology, Tianshi Orthopaedic Hospital of Jinyun County, Jinyun 321405, Zhejiang Province, China
Li-Pei Lei, Department of Anesthesiology, Lishui Central Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Xiao-Hong Chen, Attending Physician, Department of Anesthesiology, Tianshi Orthopaedic Hospital of Jinyun County, 688 Dongfang Street, Dongfang Town, Jinyun 321405, Zhejiang Province, China. 497506258@qq.com
Received: 2015-03-31 Revised: 2015-05-02
Accepted: 2015-05-08 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the effect of age on the median-effective target plasma concentration (EC_{50}) of propofol for inhibiting body movement evoked by gastroscopy.

METHODS: Ninety-six hospitalized patients who would undergo gastroscopy were enrolled and divided into three groups according to age: young (18-39 years), middle-aged (40-64 years), and elderly (65-80 years. All patients were given propofol 2.0 μg/mL by target controlled infusion, and a sequential method was adopted according to the intraoperative situation with 0.5 μg/mL as an increment. Changes in heart rate and breathing were recorded, and the EC_{50} calculation was calculated.

RESULTS: The times to loss of consciousness and electrocardiograph (ECG) outbreak suppression, respiratory frequency and heart rate in the elderly group were significantly lower than those in the young and middle-aged groups ($P < 0.05$). The doses at consciousness and consciousness recovery and EC_{50} in the elderly group were significantly lower than those in the young and middle-aged groups ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Age affects propofol-induced analgesia in patients with visceral pain, and the potency of propofol in inhibiting visceral pain during gastroscopy in the elderly patients is significantly enhanced as compared with that in the young and middle-aged patients.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

背景资料
消化系内镜检查是消化科常用诊疗手段之一, 医学技术的发展使无痛胃镜得到广泛应用. 异丙酚是一种快速强效的麻醉剂, 起效快, 持续时间短, 苏醒迅速而平稳. 临床上无痛要求常常通过静脉注射异丙酚可达到. 研究发现, 随着年龄的增加, 其对异丙酚的药物代谢存在差异, 不同年龄患者的镇静效果有差异.

同行评议者
刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科; 陈卫刚, 教授, 主任医师, 新疆石河子大学医学院第一附属医院消化内科; 黄杰安, 主任医师, 广西医科大学第一附属医院

研发前沿
随着年龄的增加, 其对异丙酚的药物代谢存在差异, 不同年龄患者的镇静效果有差异. 但对镇痛效果的研究尚少.

Key Words: Age; Gastroscopy; Propofol; Visceral pain

Chen XH, Luo HJ, Liao RH, Lei LP. Effect of age on potency of propofol in inhibiting visceral pain during gastroscopy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3761-3765 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3761.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3761

摘要

目的: 探讨不同年龄段胃镜检查应用异丙酚麻醉患者内脏镇痛效果的差异, 为其临床应用提供可参考依据.

方法: 共纳入96例缙云县田氏伤科医院行胃镜检查的患者作为研究对象, 按年龄分为青年组(18-39岁), 中年组(40-64岁), 老年组(65-80岁), 所有患者均给予异丙酚2.0 μg/mL靶控输注, 根据术中情况采用序贯法以浓度差0.5 μg/mL确定异丙酚浓度. 记录心率、呼吸等变化, 并计算半数效应浓度(median effect concentration, EC_{50}).

结果: 老年组意识丧失时间、心电图爆发抑制时间、呼吸频率及心率均明显低于青年组与中年组(P<0.05). 老年组意识丧失时剂量、意识恢复时剂量及EC_{50}均明显低于青年组与中年组(P<0.05).

结论: 年龄对无痛胃镜患者异丙酚麻醉的内脏镇痛效果有影响, 特别是老年患者, 其对异丙酚较为敏感, 内脏镇痛效果更为显著, 但麻醉过程需注意老年患者的心肺功能变化.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 年龄; 胃镜; 异丙酚; 内脏镇痛

核心提示: 随着年龄的增加, 其对异丙酚的药物代谢存在差异, 不同年龄患者的镇静效果有差异. 但对镇痛效果的研究尚少. 本研究发现年龄对无痛胃镜患者异丙酚麻醉的内脏镇痛效果有影响, 特别是老年患者, 其对异丙酚较为敏感, 内脏镇痛效果更显著, 但麻醉过程需注意老年患者的心肺功能变化.

陈晓洪, 罗会坚, 廖瑞红, 雷李培. 不同年龄段胃镜检查应用异丙酚麻醉患者内脏镇痛效果的对比. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3761-3765 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3761.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3761

0 引言

目前, 随着人们生活水平的提高, 人们对自身健康及医疗服务的要求越来越高. 消化系内镜检查是消化科常用诊疗手段之一, 医学技术的发展使无痛胃镜得到广泛应用. 异丙酚是一种快速强效的麻醉剂, 起效快、持续时间短、苏醒迅速而平稳[1]. 临床上无痛要求常常通过静脉注射异丙酚可达到. 研究[2]发现, 随着年龄的增加, 其对异丙酚的药物代谢存在差异, 不同年龄患者的镇静效果有差异. 但对镇痛效果的研究尚少. 在此背景下, 本研究即探讨不同年龄段胃镜检查应用异丙酚麻醉患者内脏镇痛效果的差异, 为其临床应用提供可参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 连续收集2014-01/2015-01缙云县田氏伤科医院行胃镜检查的患者96例作为研究对象, 患者均有不同程度腹部不适、黑便、恶心、呕吐等表现. 按照年龄分为3组: 青年组12例, 18-39岁, 平均年龄27.31岁±5.22岁, 其中男性6例, 女性6例; 中年组48例, 年龄40-64岁, 平均年龄50.32岁±4.12岁, 其中男性18例, 女性30例; 老年组36例, 65-80岁, 平均年龄72.51岁±4.26岁, 其中男性19例, 女性17例. 排除标准: 严重心脑血管疾病、主动脉瘤、肝肾功能不全、食道狭窄或贲门部梗阻、精神异常等.

1.2 方法

1.2.1 检查: 操作前均留置静脉通路, 以3 L/min进行鼻导管吸氧, 并进行相应心电监护. 所有患者均给予异丙酚, 以2.0 μg/mL靶控输注, 心电图出现爆发抑制时停止给药, 给药后30 s由专业胃镜医师进行无痛胃镜检查.

根据胃镜检查过程中, 当患者出现体动反应(头或四肢有较大动作)时, 采用序贯法以浓度差0.5 μg/mL确定异丙酚浓度, 出现体动反应增加0.5 μg/mL, 反之降低0.5 μg/mL. 针对患者术中出现不同情况给予相应的对症处理: 心动过缓给予阿托品, 呼吸抑制给予辅助呼吸等.

1.2.2 观察指标: 观察患者出现意识丧失时间、意识恢复时间、心电图爆发抑制时剂

相关报道
Kim等研究发现, 老年患者异丙酚麻醉意识消失时间及心电图爆发抑制时间分别为2.84 min±0.80 min、10.09 min±3.07 min, 均明显低于青年患者3.94 min±0.67 min、12.64 min±5.22 min及中年患者3.77 min±1.42 min、13.19 min±3.40 min(P<0.05).

表 1 不同年龄段患者麻醉后生命体征比较 (mean ± SD)

指标	青年组	中年组	老年组	*t*值	*P*值
意识丧失时间(min)	3.46 ± 0.55	3.27 ± 0.73	2.38 ± 0.73	6.544	0.000
心电图爆发抑制时间(min)	12.62 ± 2.53	12.74 ± 3.73	10.82 ± 2.45	5.434	0.000
呼吸频率(次/min)	14.62 ± 2.55	13.91 ± 2.43	10.83 ± 2.23	8.435	0.000
收缩压(mmHg)	129.52 ± 9.55	117.74 ± 8.54	121.57 ± 8.13	1.134	0.145
舒张压(mmHg)	80.46 ± 7.35	71.17 ± 6.73	74.38 ± 7.13	0.854	0.313
心率(次/min)	79.38 ± 7.43	76.83 ± 6.24	66.03 ± 6.44	4.344	0.000

表 2 不同年龄段患者异丙酚用量及胃镜检查时间比较 (mean ± SD)

指标	青年组	中年组	老年组	*t*值	*P*值
意识丧失时剂量(μg/mL)	4.04 ± 0.83	3.74 ± 0.73	2.45 ± 0.44	5.434	0.000
意识恢复时剂量(μg/mL)	1.64 ± 0.55	1.57 ± 0.23	0.82 ± 0.35	7.545	0.000
胃镜检查时间(min)	1.62 ± 0.55	1.73 ± 0.63	1.71 ± 0.43	0.434	0.543
EC_{50}(95%CI)	4.52(3.76–4.76)	4.43(3.80–4.49)	2.45(1.87–2.67)	9.435	0.000

95%CI: 95%可信区间; EC_{50}: 半数效应浓度.

创新盘点

本研究采用概率单位法计算半数效应浓度(median effect concentration, EC_{50})发现老年组EC_{50}低于青年组与中年组.

量、麻醉后呼吸频率、收缩压、舒张压、心率等. 异丙酚剂量: 采用概率单位法计算半数效应浓度(median effect concentration, EC_{50})以及95%可信区间(95% confidence interval, 95%CI)[3].

统计学处理 应用SPSS17.0统计软件对数据进行处理. 数据资料经正态性检验, 符合正态分布数据的计量资料采用mean±SD表示, 两组间的比较采用独立样本*t*检验; 非正态分布资料采用中位数表示, 采用秩和检验; 计数资料以构成比(%)表示, 组间比较采用χ^2检验或者精确概率法. $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 不同年龄段患者麻醉后生命体征比较 不同年龄段患者麻醉后生命体征比较结果显示: 3组意识丧失时间、心电图爆发抑制时间、呼吸频率及心率比较差异有统计学意义($P<0.05$); 两两比较: 老年组意识丧失时间、心电图爆发抑制时间、呼吸频率及心率均明显低于青年组与中年组, 差异有统计学意义($P<0.05$), 而青年组与中年组比较差异无统计学意义($P>0.05$)(表1).

2.2 不同年龄段患者异丙酚用量以及胃镜检查时间比较 不同年龄段患者异丙酚用量以及胃镜检查时间的比较结果显示: 3组意识丧失时剂量、意识恢复时剂量以及EC_{50}比较差异具有统计学意义($P<0.05$); 两两比较: 老年组意识丧失时剂量、意识恢复时剂量以及EC_{50}均明显低于青年组与中年组($P<0.05$), 而青年组与中年组比较差异无统计学意义($P>0.05$)(表2).

3 讨论

目前临床上无痛胃镜检查由于其无痛苦、创伤小、时间短及更精确的优点, 广泛应用于临床. 异丙酚是烷基酚类的短效静脉麻醉药, 通过激活γ-氨基丁酸(gama-aminobutyric acid, GABA)受体-氯离子复合物发挥镇静催眠止痛的作用, 是无痛胃镜检查较为常用的麻醉药物[4,5]. 徐洪刚[6]认为异丙酚对老年患者催眠和心电图效应比青年人更敏感, 老年人麻醉用药量应减少的观点已逐步被认识. 但异丙酚对内脏镇痛作用的研究尚少.

本研究分析不同年龄段患者麻醉后生命体征发现, 老年组意识丧失时间、心电图爆发抑制时间均明显低于青年组与中年组, 而青年组与中年组比较差异无统计学意义. 可见老年患者更容易麻醉. Kim等[7]研究发现, 老年患者异丙酚麻醉意识消失时间及心电图爆发抑制时间分别为2.84 min±0.80 min、10.09 min±

应用要点

药物EC_{50}值主要是指药物效应的强度, 通过分析同一药物作用于不同群体的EC_{50}值, 可以较为直观反映不同群体对该药物的敏感性. 年龄对无痛胃镜患者异丙酚麻醉的内脏镇痛效果有影响, 特别是老年患者, 其对异丙酚较为敏感, 内脏镇痛效果更显著, 但麻醉过程需注意老年患者的心肺功能变化.

3.07 min, 均明显低于青年患者3.94 min±0.67 min、12.64 min±5.22 min及中年患者3.77 min±1.42 min、13.19 min±3.40 min(P<0.05). 支持本研究结果.

本研究进一步分析老年组意识丧失时剂量、意识恢复时剂量均明显低于青年组与中年组, 而青年组与中年组比较差异无统计学意义. 谢文钦等[8]研究发现, 老年人异丙酚麻醉后意识消失时浓度为2.29 μg/mL±1.40 μg/mL, 意识恢复浓度为0.79 μg/mL±0.22 μg/mL, 明显低于非老年人4.02 μg/mL±2.93 μg/mL、1.32 μg/mL±0.56 μg/mL. 与本研究结果一致. 但该研究未对镇痛剂量进行研究.

本研究还发现, 麻醉后老年患者呼吸频率及心率均明显低于青年组与中年组. 可见异丙酚麻醉对老年患者心肺功能的影响较大. 与潘维忠等[9]研究结果相似, 该研究发现老年患者异丙酚麻醉用量较少, 但心率降低及呼吸抑制发生率均明显增加. 因此在临床中麻醉过程中需密切关注异丙酚麻醉对对老年人的心肺功能的抑制作用, 积极加强呼吸、循环功能的管理. 同时也提示了解不同年龄患者, 特别是老年患者使用异丙酚麻醉的EC_{50}大小的意义.

本研究根据患者胃镜检查过程中机体体动反应作为内脏疼痛的指标, 可以评价胃镜检查时伤害性刺激对胃肠道的影响[10]. 一般而言, 药物EC_{50}值主要是指药物效应的强度, 通过分析同一药物作用于不同群体的EC_{50}值, 可以较为直观反映不同群体对该药物的敏感性[11,12]. 本研究采用概率单位法计算EC_{50}发现老年组EC_{50}低于青年组与中年组. 可见老年患者胃镜检查时采用异丙酚有较好的内脏镇痛效果. 分析认为对于年龄>65岁的老年患者而言, 其机体本身的含水量明显降低, 肌肉的成分减少, 导致药物分布容积明显降低[13]; 同时由于老年患者本身机体功能降低, 心排出量降低使循环系统运动减慢, 肝肾排出功能降低[14], 且肝肾细胞老化, 亦会影响代谢功能, 使异丙酚清除速度下降[15], 因此对于老年患者胃镜检查异丙酚麻醉的剂量可以减量, 且仍保留较好的麻醉效果.

总之, 本研究显示, 年龄对无痛胃镜患者异丙酚麻醉的内脏镇痛效果有影响, 特别是老年患者, 其对异丙酚较为敏感, 内脏镇痛效果更显著, 但麻醉过程需注意老年患者的心肺功能变化.

4 参考文献

1 Siddiqui MN, Siddiqui ZA. Systematic review and meta-analysis of intraoperative versus preoperative endoscopic sphincterotomy in patients with gallbladder and suspected common bile duct stones (Br J Surg 2011; 98: 908-916). *Br J Surg* 2012; 99: 144; author reply 144 [PMID: 22135176 DOI: 10.1002/bjs.7826]

2 Rustagi T, Aslanian HR. Endoscopic management of biliary leaks after laparoscopic cholecystectomy. *J Clin Gastroenterol* 2014; 48: 674-678 [PMID: 24296422 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000044]

3 Chinnery GE, Krige JE, Bornman PC, Bernon MM, Al-Harethi S, Hofmeyr S, Banderker MA, Burmeister S, Thomson SR. Endoscopic management of bile leaks after laparoscopic cholecystectomy. *S Afr J Surg* 2013; 51: 116-121 [PMID: 24209694 DOI: 10.7196/sajs.1829]

4 欧晓峰, 郑宏, 叶建荣, 陈林, 华玉思. 七氟醚和丙泊酚对老年冠心病患者麻醉诱导期心率变异性的影响. 临床麻醉学杂志 2011; 27: 538-540

5 Stevens JL, Laliotis A, Gould SW. Hepatocolonic fistula: a rare consequence of retained gallstones after laparoscopic cholecystectomy. *Ann R Coll Surg Engl* 2013; 95: e139-e141 [PMID: 24165331 DOI: 10.1308/003588413X13629960048550]

6 徐洪刚. 丙泊酚静脉麻醉对老年患者心率变异和血糖水平变化的影响. 中国老年学杂志 2012; 32: 4007-4008

7 Kim KH, Kim TN. Endoscopic management of bile leakage after cholecystectomy: a single-center experience for 12 years. *Clin Endosc* 2014; 47: 248-253 [PMID: 24944989 DOI: 10.5946/ce.2014.47.3.248]

8 谢文钦, 李扬亿, 谢文吉, 江长城, 康振明, 颜景佳. 年龄因素对异丙酚抑制胃镜检查术内脏性疼痛效力的影响. 中华麻醉学杂志 2014; 34: 956-958

9 潘维忠, 方波, 马虹. 异丙酚和七氟烷麻醉对心率变异性的不同影响. 中国血液流变学杂志 2010; 20: 250-252

10 秦咏梅, 张彩凤, 刘竹娥, 罗艳丽, 王文菊. 内镜下支架置入治疗贲门失迟缓症27例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2043-2046

11 Kampe S, Lohmer J, Weinreich G, Hahn M, Stamatis G, Welter S. Epidural analgesia is not superior to systemic postoperative analgesia with regard to preventing chronic or neuropathic pain after thoracotomy. *J Cardiothorac Surg* 2013; 8: 127 [PMID: 23668669 DOI: 10.1186/1749-8090-8-127]

12 丁国乾, 秦鸣放, 王震宇, 邹富胜. 壶腹周围憩室与内镜后复发性胆管结石的关系. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1834-1837

13 周颖, 李振英, 刘浩东, 祖正儒. 不同麻醉方法对腹腔镜子宫切除术患者应激反应的影响. 中国医师杂志 2010; 12: 1208-1210

14 Tympa A, Grigoriadis C, Petropoulos G, Hassiakos D. Horner syndrome following bolus low dose epidural analgesia for labor. *J Anesth* 2013; 27: 799-800 [PMID: 23595684 DOI: 10.1007/s00540-013-

1611-y]
15 Cata JP, Bauer M, Sokari T, Ramirez MF, Mason D, Plautz G, Kurz A. Effects of surgery, general anesthesia, and perioperative epidural analgesia on the immune function of patients with non-small cell lung cancer. *J Clin Anesth* 2013; 25: 255-262 [PMID: 23659826 DOI: 10.1016/j.jclinane.2012.12.007]

同行评价
本文写作规范, 有一定的临床指导意义.

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》正文要求

本刊讯 本刊正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 以下逐条陈述: (1)引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系. (2)材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可. (3)结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论. (4)讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾. 图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. P值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. "空白"表示无此项或未测, "-"代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用t/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃表达. 黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片. 彩色图片大小7.5 cm×4.5 cm, 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴. (5)志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3766

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3766-3770
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA载量与丙型肝炎抗体及抗核抗体的相关性

贾艳会, 范志娟, 郭 华, 周淑芬, 刘树业

背景资料
丙型肝炎是我国第二大类病毒性肝病, 《丙型肝炎防治指南》指出丙型肝炎的实验室诊断包括抗-丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)检测, 同时指出干扰素(interferon, IFN)-α是抗-HCV的有效药物, 对接受抗病毒治疗患者的随访监测应包括HCV RNA, 近年有学者认为在IFN治疗过程中, 会诱导或增强自身免疫的发生. 因此在IFN治疗过程中监测HCV RNA, 自身抗体, 抗-HCV等有重要意义.

贾艳会, 范志娟, 周淑芬, 刘树业, 天津市第三中心医院检验科 天津市 300170
郭华, 天津市第三中心医院肝胆病研究所 天津市 300170
贾艳会, 主管技师, 硕士, 主要从事临床检验和分子生物学的研究.
作者贡献分布: 本论文由刘树业设计; 材料收集、数据分析与文章撰写主要由贾艳会完成; 范志娟辅助收集材料和数据分析; 实验指标检测主要由郭华与周淑芬完成.
通讯作者: 刘树业, 教授, 主任技师, 硕士生导师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院检验科.
lshye@163.com
电话: 022-84112081
收稿日期: 2015-06-04 修回日期: 2015-07-10
接受日期: 2015-07-14 在线出版日期: 2015-08-18

Correlations between HCV RNA load and titers of anti-HCV antibody and anti-nuclear antibody in chronic hepatitis C patients

Yan-Hui Jia, Zhi-Juan Fan, Hua Guo, Shu-Fen Zhou, Shu-Ye Liu

Yan-Hui Jia, Zhi-Juan Fan, Shu-Fen Zhou, Shu-Ye Liu, Clinical Laboratory of Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China
Hua Guo, Institute for Hepatobiliary Disease, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China
Correspondence to: Shu-Ye Liu, Professor, Chief Technician, Clinical Laboratory of Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. lshye@163.com
Received: 2015-06-04 Revised: 2015-07-10
Accepted: 2015-07-14 Published online: 2015-08-18

同行评议者
林潮双, 主任医师, 博士生导师, 中山大学附属第三医院感染科

Abstract

AIM: To investigate the correlations between hepatitis C virus (HCV) RNA load and the titers of anti-HCV antibody and anti-nuclear antibody (ANA), and the change in ANA titers before and after interferon treatment, to provide guidance for the treatment of chronic hepatitis C (CHC).

METHODS: Serum samples were collected from 112 patients with CHC from January 2013 to February 2014 at Tianjin Third Central Hospital. Real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) was performed to detect HCV RNA, ELISA was used for the detection of anti-HCV antibody, and indirect immunofluorescence (IIF) was performed for the detection of ANA. Spearman correlation analysis was used to analyse the correlations between Log HCV RNA and the titers of anti-HCV antibody and ANA. Independent samples *t*-test and K independent samples test analysis were used to analyse the correlation between Log HCV RNA and the titer of ANA. Rank sum test was used to compare ANA titers before and after treatment with interferon for one month.

RESULTS: There was no correlation between HCV RNA load and the titer of anti-HCV antibody (r = 0.078, P = 0.465). There was a correlation between HCV RNA load and ANA titer (r = 0.744, P = 0.001). There was a significant difference in HCV RNA between the ANA(+)/(-) groups (P = 0.001). HCV RNA varied among different titers of ANA (χ^2 = 32.58, P = 0.001). The change in ANA titers before and after interferon treatment was statistically significant (Z = 2.60, P = 0.001). Most CHC patients had a low titer of ANA. With the increase in viral load, the number

of patients with a high titer of ANA had an increasing trend.

CONCLUSION: HCV RNA can be used to evaluate the antiviral effect. There is a certain degree of autoimmune phenomenon in patients with CHC. Interferon can enhance autoimmunity in the course of therapy.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Chronic hepatitis C; Hepatitis C virus RNA; Anti-Hepatitis C virus; Anti-nuclear antibody; Interferon

Jia YH, Fan ZJ, Guo H, Zhou SF, Liu SY. Correlations between HCV RNA load and titers of anti-HCV antibody and anti-nuclear antibody in chronic hepatitis C patients. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3766-3770 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3766.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3766

摘要

目的: 探讨丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)RNA载量与抗-HCV滴度的相关性, 分析HCV RNA载量与抗核抗体(anti-nuclear antibody, ANA)滴度的变化规律及干扰素治疗前后ANA滴度的变化, 为慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的治疗提供指导.

方法: 收集2013-01/2014-02收治天津市第三中心医院的112例CHC患者血清, 实时荧光定量聚合酶链反应检测HCV RNA, ELISA法检测抗-HCV, 间接免疫荧光法检测ANA, Log HCV RNA与抗-HCV滴度及ANA滴度的相关性采用Spearman相关分析, 采用独立样本的t检验及多个独立样本非参数检验分析Log HCV RNA与ANA滴度的关系. 干扰素治疗前及治疗1 mo后ANA滴度的比较采用秩和检验.

结果: HCV RNA载量与抗-HCV滴度不存在相关关系(r = 0.078, P = 0.465); HCV RNA载量与ANA滴度存在相关关系(r = 0.744, P = 0.001), ANA阳性与ANA阴性患者的HCV RNA载量有差异(P = 0.001); 不同ANA滴度组HCV RNA载量有差异(χ^2 = 32.58, P = 0.001). 干扰素治疗前后ANA滴度变化有统计学意义(Z = 2.60, P = 0.001). CHC患者的ANA以低滴度为主, 随着病毒载量的增高, 高滴度的ANA例数有增多的趋势.

结论: HCV RNA载量的高低可作为抗病毒疗效评估的观察指标; CHC患者存在一定程度自身免疫现象; 干扰素治疗过程中会增强自身免疫的发生.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性丙型肝炎; 丙型肝炎病毒RNA; 丙型肝炎抗体; 抗核抗体; 干扰素

核心提示: 丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV) RNA载量的高低可作为抗病毒疗效评估的观察指标; 慢性丙型肝炎患者存在一定程度自身免疫现象; 干扰素治疗过程中会增强自身免疫的发生. 研究HCV感染与自身免疫的关系, 有助于我们认清HCV发病机制, 对丙型肝炎的治疗有重要指导意义.

贾艳会, 范志娟, 郭华, 周淑芬, 刘树业. 慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA载量与丙型肝炎抗体及抗核抗体的相关性. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3766-3770 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3766.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3766

0 引言

丙型肝炎是继乙型肝炎之后我国第二大类病毒性肝病, 全世界约有1.7亿人感染丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)[1]. 丙型肝炎抗体(抗-HCV)是HCV感染的标志. 我国已有近4000万例丙型肝炎患者, 占全球HCV感染者的1/4[2]. 而HCV-RNA是HCV的遗传物质, 是病毒复制的物质基础. 近年来HCV与自身免疫的关系日益受到人们的重视[3], 研究HCV感染与自身免疫的关系, 有助于我们认清HCV发病机制, 对丙型肝炎的治疗有重要指导意义. 本研究旨在探讨HCV RNA载量与抗-HCV滴度及抗核抗体(anti-nuclear antibody, ANA)的相关性, 为慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的治疗提供指导意义.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2013-01/2014-02收治天津市第三中心医院的112例初发CHC患者血清, 其中, 男性58例, 女性54例, 年龄23-74岁, 平均54.07岁±10.91岁. 入选标准: (1)符合2004年版《丙型肝炎防治指南》的诊断标准[4]; (2)所有患者均

研发前沿

目前IFN治疗过程中多检测血清生化学指标, 而忽视自身抗体抗核抗体(anti-nuclear antibody, ANA)等的检测, 自身抗体低滴度时, 一般以抗病毒治疗为主; 高滴度时, 则以免疫抑制剂治疗为主. 而ANA等自身抗体的出现将决定着治疗方案的选择.

相关报道

王宵伟等报道丙型肝炎患者出现自身抗体以低滴度为主; 陈志刚等认为高滴度的ANA与自身免疫性疾病密切相关; 高滴度ANA的产生可能是病毒感染过程中的自身免疫反应所导致的, 亦可能是HCV患者同时合并有自身免疫性肝病所导致的.

创新盘点
本文将HCV RNA载量及ANA滴度进行相关分析, 同时将IFN治疗前后ANA滴度进行比较, 以探讨治疗后HCV RNA载量及ANA滴度关系及ANA滴度变化.

排除透析治疗、HBV感染、自身免疫性疾病及免疫功能缺陷; (3)所有患者分别在入院未治疗时及接受干扰素和利巴韦林联合治疗方案1 mo后于清晨空腹采血检测HCV RNA, 抗-HCV和ANA.

1.2 方法

1.2.1 HCV RNA的检测: 采用实时荧光定量聚合酶链反应(FQ-PCR)检测HCV RNA, 仪器为Vii ATM 7实时荧光定量PCR仪, 试剂由上海科华生物工程股份有限公司提供, 检测值用IU/mL表示.

1.2.2 抗-HCV滴度的检测: 采用ELISA检测抗-HCV, 试剂由北京万泰和上海科华, 两种试剂检测均为阳性(S/Cutoff>1), 才确证抗-HCV阳性, 结果用S/Cutoff表示.

1.2.3 ANA的检测: 采用间接免疫荧光技术检测ANA, 试剂盒购自德国欧盟公司. 试剂盒联合使用为已固定在载玻片上的人类上皮细胞(Hep-2)和灵长类肝脏组织切片这两种基质, 荧光二抗为FITC标记的羊抗人IgG. ANA滴度≥1∶100为阳性, 以血清稀释度报告有1∶100, 1∶320, 1∶1000.

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件, 计量资料以mean±SD表示, 两组间比较采用t检验, 多组间比较采用多个独立样本非参数检验, 相关分析采用Spearman相关分析, 等级资料的比较采用秩和检验, $P<0.05$认为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 HCV RNA载量与抗-HCV滴度相关性 112例CHC患者经1 mo后, 其中RNA阳性82例, RNA阴性30例. 将HCV RNA对数即Log HCV RNA与抗-HCV滴度进行Spearman相关分析, 结果显示$r = 0.078$, $P = 0.465$, 故不认为HCV RNA载量与抗-HCV滴度存在相关关系.

2.2 干扰素治疗前后ANA滴度变化 干扰素治疗前ANA阳性27例, 1∶100占15例, 1∶320占8例, 1∶1000占4例; 干扰素治疗后ANA阳性32例, 1∶100占18例, 1∶320占10例, 1∶1000占4例. 采用秩和检验对治疗前后ANA滴度变化进行分析, 结果$Z = 2.60$, $P = 0.001$, 故认为在干扰素治疗前后ANA滴度有差异.

2.3 HCV RNA载量与ANA阳性/阴性关系 82例RNA阳性患者中ANA阳性32例, 检出率为39.02%. 将ANA阳性与ANA阴性组患者血清的Log HCV RNA进行t检验($P<0.05$), 故认为在接受干扰素治疗过程中ANA阳性与ANA阴性组患者血清的HCV RNA载量有差异(分别为5.58±0.81, 3.46±0.75, $P<0.05$). 两组间年龄、性别无差异.

2.4 HCV RNA载量与ANA滴度关系 32例ANA阳性血清中, 1∶100有18例占56.3%, Log HCV RNA为4.89±0.93. 1∶320有10例占28.1%, Log HCV RNA为5.87±0.21. 1∶1000有4例占15.6%, Log HCV RNA为6.24±0.27. 采用多个样本非参数检验进行比较, 结果$\chi^2 = 32.58$, $P<0.05$, 因此认为不同ANA滴度组HCV RNA载量有差异. 将HCV RNA载量与ANA滴度进行Spearman相关分析, 结果$r = 0.744$, $P = 0.001$, HCV RNA载量与ANA滴度之间存在相关性.

3 讨论

HCV RNA为单股正链RNA, 是HCV的遗传物质, 是病毒复制的物质基础. 《丙型肝炎防治指南》指出暴露HCV后1-3 wk, 外周血可检测到HCV RNA, 3 mo后约90%患者抗-HCV阳转. 本研究中112例CHC患者经过治疗后有82例HCV RNA阳性, 30例HCV RNA阴转, 抗-HCV仍持续存在, 说明抗-HCV不是中和抗体, HCV RNA载量的高低可作为抗病毒疗效评估的观察指标. Spearman相关分析$r = 0.078$, $P = 0.465$, 说明HCV RNA载量与抗-HCV滴度不存在线性相关关系.

近年来, 有文献[5]报道HCV感染患者存在明显的自身免疫现象, 因此本研究在探讨HCV RNA载量与抗-HCV滴度的同时, 也研究了HCV RNA载量与ANA的关系. 112例CHC患者中ANA阳性患者32例, 检出率为39.02%, 统计结果表明ANA阳性与ANA阴性患者的HCV RNA载量有差异, 提示HCV感染可伴有明显的自身免疫现象, 机制可能是: (1)分子模拟机制: HCV病毒蛋白和人体某些自身蛋白之间有共同的抗原决定簇, 易导致交叉免疫反应, 当免疫耐受和免疫反应的平衡被破坏时, 机体免疫系统便持续不断攻击自身细胞或组织, 产生自身抗体[6,7]; (2)细胞因子之间的协调作用: HCV可作用于细胞因子, 通过诱导辅助性T细胞/细胞毒性T细

胞从而逃避免疫应答[8]. HCV与T细胞结合可以促使T细胞释放白介素(interleukin, IL)-2和IL-4等, IL-2可以促进T细胞活化、增殖和分化, IL-4可以促使$CD4^+$ T细胞向Th2方向分化, 从而使浆细胞分化为B细胞并产生自身抗体[9,10]. Li等[11]认为对于自身抗体呈阳性的CHC患者, 利巴韦林和聚乙二醇干扰素联合治疗能够有效地降低HCV RNA载量. 经干扰素治疗后的32例ANA阳性患者中, 以低滴度(1∶100)为主, 与文献[12]报道的丙型肝炎患者出现自身抗体以低滴度为主一致. 将ANA阳性患者的滴度进一步与HCV RNA载量进行分析, 统计结果表明不同ANA滴度组HCV RNA载量有差异($\chi^2 = 32.58$, $P<0.05$), 将HCV RNA载量与ANA滴度进行Spearman相关分析, 结果表明二者相关($r = 0.744$, $P<0.05$), 即HCV RNA载量越高, ANA滴度也越高, 这表明ANA的滴度与HCV RNA的复制水平高低有密切关系. 陈志刚等[13]认为高滴度的ANA才与自身免疫性疾病密切相关; 高滴度ANA的产生可能是病毒感染过程中的自身免疫反应所导致的, 亦可能是HCV患者同时合并有自身免疫性肝病所导致的. 有报道[14,15]认为干扰素治疗过程中会诱导机体产生ANA抗体等自身抗体, 本研究发现112例CHC患者未经治疗时ANA阳性27例, 治疗后升至32例, 且主要是低滴度的增加(3例), 2例由1∶100升至1∶320, 采用秩和检验对治疗前后ANA滴度变化进行分析, 结果$Z = 2.60$, $P<0.05$, 故认为在干扰素治疗前后ANA滴度有差异, 因此我们认为干扰素治疗后可以增强自身免疫的发生.

丙型肝炎患者检测自身抗体对治疗有一定的指导作用: 干扰素已被公认为抗HCV治疗的有效药物, 但干扰素抗病毒治疗可诱导或增强自身免疫, 而自身免疫性肝炎多用免疫抑制剂治疗, 两者作用相反. 自身抗体低滴度时, 一般以抗病毒治疗为主; 高滴度时, 则以免疫抑制剂治疗为主. HCV感染伴有自身免疫现象特别是存在较高滴度自身抗体的患者, 如何选择治疗方案成为关键问题. 因此,在治疗过程中, 除检测肝功能等血清学指标外, 检测HCV RNA载量、抗-HCV滴度和ANA滴度, 对CHC的治疗有指导意义.

4 参考文献

1 Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 558-567 [PMID: 16122679 DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70216-4]

2 Ford N, Kirby C, Singh K, Mills EJ, Cooke G, Kamarulzaman A, duCros P. Chronic hepatitis C treatment outcomes in low- and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *Bull World Health Organ* 2012; 90: 540-550 [PMID: 22807600 DOI: 10.2471/BLT.11.097147]

3 Heim MH. Innate immunity and HCV. *J Hepatol* 2013; 58: 564-574 [PMID: 23063572 DOI: 10.3390/v1031073]

4 中华医学会肝病学分会中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 丙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 194-198

5 Yang DH, Ho LJ, Lai JH. Useful biomarkers for assessment of hepatitis C virus infection-associated autoimmune disorders. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 2962-2970 [PMID: 24659887 DOI: 10.3748/wjg.v20.i11.2962]

6 Ferri C, Antonelli A, Mascia MT, Sebastiani M, Fallahi P, Ferrari D, Pileri SA, Zignego AL. HCV-related autoimmune and neoplastic disorders: the HCV syndrome. *Dig Liver Dis* 2007; 39 Suppl 1: S13-S21 [PMID: 17936215 DOI: 10.1016/S1590- 8658(07)80005-3]

7 Moorman JP, Wang JM, Zhang Y, Ji XJ, Ma CJ, Wu XY, Jia ZS, Wang KS, Yao ZQ. Tim-3 pathway controls regulatory and effector T cell balance during hepatitis C virus infection. *J Immunol* 2012; 189: 755-766 [PMID: 22706088 DOI: 10.4049/jimmunol.1200162]

8 Antonelli A, Ferrari SM, Ruffilli I, Fallahi P. Cytokines and HCV-related autoimmune disorders. *Immunol Res* 2014; 60: 311-319 [PMID: 25381483 DOI: 10.1007/s12026-014-8569-1]

9 Conca P, Tarantino G. Hepatitis C virus lymphotropism and peculiar immunological phenotype: effects on natural history and antiviral therapy. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 2305-2308 [PMID: 19452570 DOI: 10.3748/wjg.15.2305]

10 Sansonno L, Tucci FA, Sansonno S, Lauletta G, Troiani L, Sansonno D. B cells and HCV: an infection model of autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2009; 9: 93-94 [PMID: 19318140 DOI: 10.1016/j.autrev.2009.03.008]

11 Li YX, Yang YJ, Yang M, Chen LY, Lu JJ, Ma YJ, Liu K, Lei XZ, Tang H. [Efficacy of combination therapy with pegylated-interferon alfa-2a plus ribavirin in autoantibody-positive chronic hepatitis C patients]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2013; 21: 345-347 [PMID: 24025134 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.05.008]

12 王宵伟, 王江滨, 孟祥伟. 自身免疫性肝炎与丙型肝炎伴自身免疫现象者抗体水平的比较及临床分析. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 176-177

13 陈志刚, 杨军, 周婷, 周迪, 李宏. 慢性丙型肝炎患者血清HCV RNA含量与抗核抗体的相关性. 世界华人消化杂志 2008; 16: 2316-2319

14 Sansonno D, Dammacco F. Hepatitis C virus, cryoglobulinaemia, and vasculitis: immune complex relations. *Lancet Infect Dis* 2005; 5: 227-236 [PMID:

应用要点

本研究显示ANA的滴度与HCV RNA的复制水平高低有密切关系, HCV RNA载量越高, ANA滴度也越高, 且IFN治疗后可增强自身免疫的发生.

同行评价
本文探讨HCV RNA载量与抗-HCV滴度的相关性, 分析HCV RNA载量与ANA滴度的变化规律. 研究内容具有临床实际意义和指导价值, 文字简明、精炼、重点突出.

15792740 DOI: 10.1016/S1473-3099(05)70053-0]
15 Oliveira TL, Caetano AZ, Belem JM, Klemz BC, Pinheiro MM. Interferon-α induced psoriatic arthritis and autoimmune hemolytic anemia during chronic hepatitis C treatment. *Acta Reumatol Port* 2014; 39: 327-330 [PMID: 25341062]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》修回稿须知

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

1 修回稿信件

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

2 稿件修改

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

3 版权

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

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3771

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3771-3774
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

综合护理干预对改善老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者的效果评价

邵吉红, 吴益群, 张佩翡

邵吉红, 吴益群, 宁波市鄞州第二医院院消化科 浙江省宁波市 315100
张佩翡, 宁波市鄞州第二医院内镜中心 浙江省宁波市 315100
邵吉红, 主管护师, 主要从事消化科护理方面研究.
作者贡献分布: 此文主要由邵吉红完成; 研究过程由邵吉红、张佩翡及吴益群操作完成; 试剂的提供和数据分析由邵吉红、张佩翡及吴益群完成; 本论文写作由邵吉红完成.
通讯作者: 张佩翡, 主管护师, 315100, 浙江省宁波市鄞州区前河路1号, 宁波市鄞州第二医院内镜中心.
jihongshaoshao@163.com
电话: 0574-83039999
收稿日期: 2015-03-22 修回日期: 2015-04-14
接受日期: 2015-04-24 在线出版日期: 2015-08-18

Clinical effects of comprehensive nursing intervention in elderly liver cirrhosis patients with type 2 diabetes

Ji-Hong Shao, Yi-Qun Wu, Pei-Fei Zhang

Ji-Hong Shao, Yi-Qun Wu, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Yinzhou, Ningbo 315100, Zhejiang Province, China
Pei-Fei Zhang, Endoscopy Center, the Second Hospital of Yinzhou, Ningbo 315100, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Pei-Fei Zhang, Nurse-in-Charge, Endoscopy Center, the Second Hospital of Yinzhou, 1 Qianhe Road, Yinzhou District, Ningbo 315100, Zhejiang Province, China. jihongshaoshao@163.com
Received: 2015-03-22 Revised: 2015-04-14
Accepted: 2015-04-24 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of comprehensive nursing intervention in elderly cirrhosis patients with type 2 diabetes.

METHODS: One hundred and eight elderly patients with hepatitis B associated liver cirrhosis and type 2 diabetes treated from January 2013 to January 2015 at the Second Hospital of Yinzhou were randomly divided into an observation group and a control group, with 54 cases in each group. The control group received conventional nursing, and the observation group was given comprehensive nursing intervention on the basis of routine nursing. The incidence of complications and changes in blood sugar levels and liver function were compared for the two groups.

RESULTS: Aspartate transaminase, alanine transaminase and globulin levels, fasting glucose, and 2-h postprandial glucose levels were significantly lower in the observation group than in the control group ($P < 0.05$). The complication rate in the observation group was also significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Comprehensive nursing intervention in elderly liver cirrhosis patients with type 2 diabetes can improve liver function and blood sugar levels and reduce the incidence of complications.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Comprehensive nursing intervention; Elderly; Hepatitis B associated liver cirrhosis; Type 2 diabetes

Shao JH, Wu YQ, Zhang PF. Clinical effects of comprehensive nursing intervention in elderly liver

背景资料
临床中常给予乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者药物治疗, 但是并不能较好的调节患者的肝功能和血糖水平, 且并发症发生率较高. 因此如何改善患者的肝功能和血糖水平, 降低并发症发生率是临床研究的重点.

同行评议者
乔晓斐, 副主任护师, 安徽省立医院普外二病区肝脏外科

研发前沿
本研究中重点对综合护理干预对乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者肝功能、血糖水平和并发症发生率的影响进行探究，从而为该病的治疗提供参考.

cirrhosis patients with type 2 diabetes. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3771-3774 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3771.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3771

摘要

目的: 探讨综合护理干预对改善老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者的效果，并分析对患者并发症的影响.

方法: 选取2013-01/2015-01宁波市鄞州第二医院院接收治疗的108例乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者为研究对象，采用随机数表法将108例患者分为观察组和对照组，各54例. 给予对照组患者常规护理，在常规护理的基础上给予观察组患者综合护理干预. 对比两组患者肝功能变化、血糖水平变化和并发症发生情况.

结果: 观察组患者的谷草转氨酶(61.2 U/L±7.1 U/L)、谷丙转氨酶(59.6 U/L±6.8 U/L)、球蛋白水平(32.5 g/L±1.5 g/L)、空腹血糖(5.3 mmol/L±0.5 mmol/L)和餐后2 h血糖水平(7.9 mmol/L±1.8 mmol/L)均低于对照组患者(P<0.05)，观察组患者的各项并发症发生率均显著低于对照组患者，比较两组间差异有统计学意义(P<0.05).

结论: 给予老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者综合护理干预较常规护理能够改善患者的肝功能和血糖水平，降低并发症的发生率，可以在临床上进一步推广和使用.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 综合护理干预; 老年; 乙型肝炎肝硬化; 2型糖尿病

核心提示: 综合护理干预在治疗乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者中效果明显的优于常规护理的效果，能够调节患者的血糖水平和肝功能，降低并发症的发生率，值得临床中应用.

相关报道
将综合护理干预应用到对乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者的治疗中在临床中已经有部分报道，认为这种护理方式能够较好的调节患者的肝功能和血糖水平，降低并发症的发生率. 而本研究也对其效果进行分析，并与常规护理效果进行对比.

邵吉红, 吴益群, 张佩翡. 综合护理干预对改善老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者的效果评价. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3771-3774 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3771.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3771

0 引言

2型糖尿病是一种多发于成年人的疾病，主要发病人群为35-40岁的中年人，这部分人群约占糖尿病患者的90%左右. 2型糖尿病患者的主要临床症状为多尿、多饮、乏力、血糖值升高、视力障碍、体质量下降等[1]. 而乙型肝炎肝硬化和糖尿病相互影响，因此乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者会同时受到肝硬化和糖尿病的影响，严重者还会伴随着低血糖、腹水、肝肾综合征和高血糖等严重并发症，同时老年患者机体的各项免疫力均较低，为治疗增加了难度[2]. 考虑到人类肝脏的脆弱性，临床上治疗乙型肝炎肝硬化时尽量避免使用肝脏代谢性药物[3]. 因此为了更好的治疗患者，本文对综合护理干预对改善老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者的效果进行了探究. 现分析报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2013-01/2015-01宁波市鄞州第二医院接受治疗的108例乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者为研究对象. 其中男性66例，女性42例. 年龄为65-85岁，平均年龄为75.2岁±11.6岁. 根据患者的入院时间将108例患者分为观察组和对照组，各54例. 观察组患者为2013-01/2014-01，其中男性34例，女性20例. 年龄为65-84岁，平均年龄为76.6岁±12.7岁. 对照组患者为2014-05/2015-01中35例，女19例. 年龄为66-85岁，平均年龄为77.9岁±11.8岁. 比较两组患者的年龄、性别等差异无统计学意义(P>0.05)，具有可比性. 纳入标准: (1)经临床诊断为乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者[4]; (2)患者或其家属已经签署知情书并自愿参加本项研究者. 排除标准: (1)不符合上述纳入标准者; (2)合并多种肝肾功能障碍者; (3)严重精神疾病患者.

1.2 方法

1.2.1 护理: 给予对照组患者常规护理，在常规护理的基础上给予观察组患者综合护理干预. 两组患者均采用拉米夫定进行治疗，并给予患者降酶、保肝、去黄和维持电解质平衡的治疗. 常规护理: 包括一般护理、药物不良反应护理、心理护理和出院指导等. 观察组: 在常规护理的基础上对患者进行综合护理干预. (1)心理护理: 护理人员给予患者关心，不断稳定患者的情绪，避免因心理问题而加重疾病的发展. 通过运用自己掌握的专业知识，对患者耐心的讲解关于乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病的相关知识，告知患者疾病相关注

表 1　两组患者肝功能变化情况比较 (n = 54, mean ± SD)

分组	谷草转氨酶(U/L)	谷丙转氨酶(U/L)	球蛋白(g/L)
观察组	61.2 ± 7.1	59.6 ± 6.8	32.5 ± 1.5
对照组	89.2 ± 12.0	89.2 ± 11.7	39.6 ± 2.1
t值	2.293	2.419	2.263
P值	0.027	0.018	0.039

表 2　两组患者的并发症发生情况比较 [n = 54, n(%)]

分组	肝性脑病	低血糖	严重腹水	肝肾综合征
观察组	2(3.7)	2(3.7)	2(3.7)	2(3.7)
对照组	10(18.5)	9(16.6)	2(3.7)	10(18.5)
χ^2值	6.362	8.386	5.384	7.263
P值	0.035	0.013	0.041	0.022

创新盘点
临床中对于乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者进行综合护理干预的可行性和效果进行分析，主要是从患者的肝功能、血糖水平和并发症发生率等方面进行探究，其观察点准确，对以后的治疗具有较强的指导作用.

意事项, 介绍当代先进医疗技术及同类疾病救治成功病例, 消除患者的担忧, 帮助患者树立战胜疾病的信心. 主管医生、护士以热情主动、自信从容的态度接待患者, 采用亲切和蔼的语气询问患者的感受, 倾听患者的诉说; (2)预见性护理干预: 预见性护理干预就是对可能发生的各种情况进行预见性准备, 提前做好各方面的协调工作, 提高疾病的预后; 为患者准备好所需要的抢救物品和抢救仪器后进行气管插管, 然后密切监测患者的心电图, 并给予患者吸入氧气. 给予患者有效的抢救措施, 并为患者提供必要的护理操作. 密切观察组患者的循环、意识和呼吸情况, 记录患者病情的变化情况, 处理患者出现的异常情况. 记录好患者并发症的发生情况, 做好预防各种并发症发生的措施. 每2 h给予患者拍背和翻身, 将呼吸道内的分泌物及时清除, 确保呼吸道的畅通, 以防发生肺部感染. 指导患者进行深呼吸和排痰, 清除消化道. 给予患者高蛋白、低脂、高热量和高维生素的饮食, 并限制钠盐的摄入, 若患者昏迷给予患者4-5次/d的鼻饲流质. 为预防发生泌尿系统感染, 在确保无菌插管的同时, 还应当有目的的训练患者的自助排尿功能; (3)饮食护理干预: 合理的饮食护理有利于患者的康复. 确保患者绝对卧床休息, 并给予患者禁食期间所需的营养供给. 指导患者及家属按“禁食-全流质饮食-半流少渣饮食-软食-普食”的顺序逐步过渡进食, 同时饮食应当以清凉止血为主, 在不影响治疗的前提下尽量选用适合患者口味的饮食; (4)其他护理干预: 病房环境: 将患者安置在安静整洁、通风良好、温度适宜的病室, 指导患者通过听轻音乐、看电视等来分散和转移注意力. 休息与活动: 保证患者有充足的休息和睡眠时间, 适当对患者进行肢体按摩理疗, 使其身体上感到舒适放松.

1.2.2 观察指标: 对比两组患者肝功能变化、血糖水平变化和并发症发生情况.

统计学处理 采取SPSS19.0统计学软件进行数据分析与处理, 两组计数结果比较采用t检验, 计量结果比较用χ^2检验, 以P<0.05为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者肝功能变化情况比较 对照组患者的谷草转氨酶、谷丙转氨酶和球蛋白水平均显著高于对照组患者(P<0.05)(表1).

2.2 两组患者血糖水平变化情况比较 观察组患者的空腹血糖、餐后2 h的血糖均低于对照组患者(5.3 mmol/L±0.5 mmol/L *vs* 6.9 mmol/L±1.2 mmol/L, 7.9 mmol/L±1.8 mmol/L *vs* 9.6 mmol/L±2.3 mmol/L, P<0.05).

2.3 两组患者的并发症发生情况比较 观察组患者的低血糖、肝肾综合征、肝性脑病和严重腹水的发生率均显著低于对照组患者(P<0.05)(表2).

3 讨论

临床上对乙型肝炎肝硬化患者治疗的关键是

应用要点
本研究中从临床实际的角度出发，探讨调节患者的肝功能和血糖水平，降低并发症发生率的方法，进一步阐述综合护理干预在治疗乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者中的优越性，其效果显著.

同行评价
本文对乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病的治疗有指导意义.

通过抗病毒治疗来控制患者病情, 而对于2型糖尿病患者来说治疗关键是控制血糖[5,6]. 综合护理干预是一种将所有方面的护理干预措施综合使用的护理干预模式, 这种护理方式能够很好的顾忌到患者各个方面的需求, 给予患者全方位的护理干预[7,8]. 有研究[9,10]指出给予老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者综合护理干预能够增强肝硬化患者的治疗依从性和自我效能, 进而提高临床疗效, 改善患者的肝功能, 改善血糖, 提高患者的生活质量. 因此本文选取2013-01/2015-01宁波市鄞州第二医院接收治疗的108例乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病老年患者为研究对象, 对综合护理干预对改善老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者的效果进行了探究.

本文给予乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者拉米夫定治疗, 拉米夫定是临床上常用的治疗乙型肝炎病毒类药物, 但是因为各种因素患者擅自停药后会造成病毒在此活跃, 甚至会产生耐药性. 因此应当给予患者合理有效的护理干预, 来避免患者体内出现耐药性. 本研究结果显示, 观察组患者的谷草转氨酶、谷丙转氨酶、球蛋白低于对照组(61.2 U/L±7.1 U/L *vs* 89.2 U/L±12.0 U/L, 59.6±6.8 U/L *vs* 89.2 U/L±11.7 U/L, 32.5 g/L±1.5 g/L *vs* 39.6 g/L±2.1 g/L, $P<0.05$), 空腹血糖、餐后2 h的血糖水平、各项并发症发生率也均低于对照组患者($P<0.05$). 这是由于在常规护理的基础上给予老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者综合护理干预能够给予患者各方面的护理, 包括心理护理、饮食护理、预见性护理以及为患者提供舒适的休息环境, 给予患者心理支持, 通过转移注意力法等降低了患者对病痛的集中力, 来使患者的心理压力得到缓解, 进而缓解了抑郁和焦虑的负面情绪, 保持患者机体神经系统、免疫系统和心理上的平衡, 帮助患者将心理调整到最佳的状态, 同时也有较佳的战胜疾病的自信心[11-13]. 此时给予患者治疗, 能够达到较好的临床疗效, 进而提高了患者的生活质量. 因此患者在较为舒适的休息环境和较佳的心理状态下能够有较好的治疗依从性, 将身体的各方面机能调节到最佳状态, 结合临床治疗能够显著改善患者的肝功能和血糖水平[14,15].

总之, 给予老年乙型肝炎肝硬化合并2型糖尿病患者综合护理干预较常规护理能够改善患者的肝功能和血糖水平, 降低并发症的发生率, 可以在临床上进一步推广和使用.

4 参考文献

1 陈朔晖, 李东燕, 陈红, 郑晓萍, 陈晓春. 先天性全身性脂肪营养不良并发糖尿病的护理. 护理与康复 2012; 11: 1187-1188

2 Jeon HK, Kim MY, Baik SK, Park HJ, Choi H, Park SY, Kim BR, Hong JH, Jo KW, Shin SY, Kim JM, Kim JW, Kim HS, Kwon SO, Kim YJ, Cha SH, Kim DJ, Suk KT, Cheon GJ, Kim YD, Choi DH, Lee SJ. Hepatogenous diabetes in cirrhosis is related to portal pressure and variceal hemorrhage. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 3335-3341 [PMID: 23912248 DOI: 10.1007/s10620-013-2802-y]

3 程宏, 李春梅. 405例肝源性糖尿病病人的护理观察和对策. 护理研究 2012; 26: 839-840

4 王芳, 高冬梅. 自我管理教育在肝硬化合并糖尿病患者中的应用. 齐鲁护理杂志 2012; 18: 116-117

5 Huang YW, Wang TC, Lin SC, Chang HY, Chen DS, Hu JT, Yang SS, Kao JH. Increased risk of cirrhosis and its decompensation in chronic hepatitis B patients with newly diagnosed diabetes: a nationwide cohort study. *Clin Infect Dis* 2013; 57: 1695-1702 [PMID: 24051864 DOI: 10.1093/cid/cit603]

6 朱永兰. 1例肝硬化合并银屑病、糖尿病患者肝移植术后的皮肤护理. 内蒙古中医药 2013; 32: 148-149

7 朱感华, 邢健. 恶性阻塞性黄疸伴肝源性糖尿病患者行经皮肝穿刺胆道造影及置管引流术的护理. 解放军护理杂志 2013; 30: 42-43

8 樊景丽, 李敏然. 慢性乙型病毒性肝炎合并2型糖尿病患者的护理. 河北医药 2012; 34: 2231-2232

9 付蕾, 顾颖, 李亚玲, 何利, 曾丹. 肝硬化合并糖尿病患者的血糖监测. 护士进修杂志 2012; 27: 456-457

10 程元元. 肝硬化合并糖尿病患者的护理. 吉林医学 2014; 35: 371-372

11 陈占军, 周莉, 孙晓玲, 王静, 王燕, 朱彦涛, 马建红, 郭会敏. 综合护理干预对改善老年乙肝肝硬化合并2型糖尿病患者的效果评价. 中国实用护理杂志 2013; 29: 12-14

12 俞明霞. 1例肝硬化合并糖尿病及上消化道出血患者的护理. 护理实践与研究 2013; 10: 158-159

13 姚文君. 拉米夫定治疗老年肝硬化合并肝源性糖尿病患者的护理. 中国实用护理杂志 2012; 28: 36-37

14 赵书云, 郑海燕, 谷凌云, 王蕴伶, 刘佳琳, 龚丽娟. 肝硬化源性糖尿病临床观察及中西医结合护理研究. 现代中西医结合杂志 2014; 23: 1578-1580

15 李晓莉, 李朝霞. 肝硬化合并糖尿病食管静脉曲张出血的相关因素分析及护理干预. 中国实用护理杂志 2012; 28: 18

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3775

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3775-3780
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

慢性重型肝炎合并肠道真菌感染的临床分析42例

黄 津

黄津, 福建医科大学附属南平市第一医院感染科 福建省南平市 353000
黄津, 内科医师, 硕士, 从事病毒性肝炎、肝硬化及肝衰竭的临床诊疗研究.
作者贡献分布: 本文由黄津完成.
通讯作者: 黄津, 内科医师, 硕士, 353000, 福建省南平市延平区中山路317号, 福建医科大学附属南平市第一医院感染科.
531104142@qq.com
电话: 0599-8630435
收稿日期: 2015-06-12 修回日期: 2015-06-30
接受日期: 2015-07-14 在线出版日期: 2015-08-18

Clinical analysis of 42 patients with chronic severe hepatitis complicated with intestinal fungal infection

Jin Huang

Jin Huang, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Nanping Hospital of Fujian Medical University, Nanping 353000, Fujian Province, China
Correspondence to: Jin Huang, Physician, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Nanping Hospital of Fujian Medical University, 317 Zhongshan Road, Yanping District, Nanping 353000, Fujian Province, China. 531104142@qq.com
Received: 2015-06-12 Revised: 2015-06-30
Accepted: 2015-07-14 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To investigate the clinical features, risk factors and preventive measures for chronic severe hepatitis complicated with intestinal fungal infection.

METHODS: Ninety-eight patients with chronic severe hepatitis treated from April 2010 to July 2014 at the First Hospital of Fujian Medical University were retrospectively studied, including 42 cases with fungal infection and 56 cases without. The constituent ratios of the species of fungi causing intestinal infections were analyzed. Univariate and multivariate analyses were used to identify the risk factors for intestinal fungal infection in patients with chronic severe hepatitis.

RESULTS: Intestinal fungal infection in patients with chronic severe hepatitis was mainly caused by Candida albicans (43.75%). Univariate analysis indicated that duration of antibiotic use, spontaneous bacterial peritonitis, portal hypertension, length of hospital stay > 30 d, hypoalbuminemia and white blood cell count (WBC) < 4.0×10^9/L were risk factors for intestinal fungal infection in patients with chronic severe hepatitis ($P < 0.05$). Multivariate logistic regression analysis showed that duration of antibiotic use (OR = 3.410), leucopenia (OR = 3.018), portal hypertension (OR = 2.357) and hypoalbuminemia (OR = 2.161) were independent risk factors ($P < 0.05$). The mortality rate was significantly higher in infected patients than in non-infected patients [33.33% (14/42) *vs* 16.07% (9/56), $P = 0.023$].

CONCLUSION: Intestinal fungal infection in patients with chronic severe hepatitis is mainly caused by Candida albicans, and is associated with a high mortality rate. Duration of antibiotic use, leucopenia, portal hypertension and hypoalbuminemia are independent risk factors for intestinal fungal infection in patients with chronic severe hepatitis.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis; Intestine; Fungal infection

背景资料
随着广谱抗生素、各种诊疗性操作、免疫抑制剂应用及多种并发症等因素导致重型肝炎患者并发真菌感染的发生率日益增加. 慢性重型肝炎患者肝细胞大量坏死, 免疫功能受损, 伴随肠道微生态环境破坏, 亦使肠道对真菌的易感性增加, 内外因素导致其死亡率极高.

同行评议者
谭周进, 教授, 湖南中医药大学

研发前沿
重型肝炎并发肠道真菌感染的现象并不少见，而对有效防治肠道真菌感染一直以来是个难题，本文通过探讨慢性重型肝炎合并肠道真菌感染的临床特点、易感因素、诊断方法及防治措施，为真菌感染的预防和治疗开拓了思路.

Huang J. Clinical analysis of 42 patients with chronic severe hepatitis complicated with intestinal fungal infection. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3775-3780 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3775.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3775

摘要

目的: 探讨慢性重型肝炎合并肠道真菌感染的临床特点、易感因素及防治措施.

方法: 对2010-04/2014-07福建医科大学附属南平市第一医院收治98例慢性重型肝炎患者进行回顾性研究，设合并肠道真菌感染组(42例)、无肠道真菌感染对照组(56例)；本文通过分析肠道真菌感染的菌群和构成比，对可能导致肠道真菌感染的因素进行单因素分析和Logistic回归模型分析.

结果: (1)慢性重型肝炎并发肠道真菌感染以白色假丝酵母菌为主(43.75%)；(2)感染组与对照组单因素分析发现：抗菌素使用时间，自发性腹膜炎，门静脉高压症，住院天数>30 d，低白蛋白血症及白细胞计数<4.0×10^9/L是慢性重型肝炎并发肠道真菌感染的相关因素(P<0.05)；(3)Logistic回归分析发现抗菌素使用时间(OR = 3.410)、脾亢后低白细胞血症(OR = 3.018)、门静脉高压症(OR = 2.357)、低白蛋白血症(OR = 2.161)是肠道真菌感染增加的高危因素；(4)感染组患者2 mo内病死率为33.33%(14/42)，明显高于对照组病死率16.07%(9/56)，两者差异具有统计学意义(P = 0.023).

结论: 慢性重型肝炎并发肠道真菌感染以白色假丝酵母菌为主，且病死率高，积极防治各种高危因素，尽可能早诊断、早治疗.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝炎; 肠道; 真菌感染

核心提示: 通过分析慢性重型肝炎合并肠道真菌感染的临床特点、易感因素及诊疗方法. 发现肠道真菌感染以白色假丝酵母菌为主，易感因素复杂多样，由于本病死亡率高，所以积极防治各种高危因素，尽可能早诊断、早治疗，有助于提高疗效.

黄津. 慢性重型肝炎合并肠道真菌感染的临床分析42例. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3775-3780 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3775.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3775

0 引言

我国是病毒性肝炎高发区，平均每年约1%慢性肝炎患者进展为重型肝炎，由于缺乏特效的治疗手段，其病死率极高[1]. 目前，随着广谱抗生素、各种诊疗性操作、免疫抑制剂应用及多种并发症等因素，导致重型肝炎患者并发真菌感染的发生率日益增加[2]. 由于慢性重型肝炎患者肝细胞大量坏死，免疫功能受损，伴随肠道微生态环境破坏，使肠道对真菌的易感性增加. 从而，延长慢性重型肝炎患者住院时间，增加患者病死率. 由于有效防治肠道真菌感染有相当难度，故本文对福建医科大学附属南平市第一医院收治的慢性重型肝炎合并肠道真菌感染患者的临床资料进行回顾性分析，探讨慢性重型肝炎合并肠道真菌感染的临床特点，提高早期诊断率，及时采取有效的防治措施.

1 材料和方法

1.1 材料 以福建医科大学附属南平市第一医院2010-04/2014-07收治诊断为慢性重型肝炎患者98例，设并发肠道真菌感染者共42例，男27例，女15例，平均年龄59.6岁±9.1岁，无真菌感染的慢性重型肝炎者56例，男性39例，女性17例，平均年龄54.3岁±11.5岁作为对照，感染组与对照组一般资料具有可比性(t = 0.57, P<0.05).

1.2 方法

1.2.1 诊断标准：慢性重型肝炎诊断：符合2000年西安全国病毒性肝炎会议制定的《病毒性肝炎防治方案》[3]；肠道真菌感染诊断标准：患者真菌感染后出现腹泻、腹胀、腹痛等症状，腹部压痛、反跳痛等体征；粪便镜检涂片每≥2个油镜视野见到真菌孢子和菌丝提示真菌感染，每例患者粪检≥2次阳性可确诊，粪便培养24-48 h可检测出真菌；肠镜活检病理染色中找到孢子和菌丝，亦是直接证据.

1.2.2 标本采集和检验：标本来自粪便和直接内镜活检. 直接镜检：经10%KOH溶液处理后直接镜检. 培养：标本直接接种于Sabourand培养基48 h，使用Biomerieux公司YBC鉴定卡鉴定. 病理染色：经固定脱水、包埋切片、染色后观察. 使用法国Biomerieux公司真菌药敏板测定

表 1　肠道真菌感染的菌群和构成比 (%)

菌属	菌株(n = 48)	构成比(%)
白色假丝酵母菌	21	43.75
热带假丝酵母菌	9	18.75
克柔假丝酵母菌	8	16.67
光滑假丝酵母菌	6	12.50
曲霉菌属	3	6.25
毛霉菌	1	2.08
合计	48	100.00

药敏情况.

1.2.3 *治疗*: 确定为真菌感染者, 根据药敏结果给予敏感抗真菌药物治疗.

统计学处理 所有数据应用SPSS17.0软件处理. 计量资料用mean±SD表示, 计数资料用率(%)表示, 两样本比较采用t检验. 肠道真菌感染相关危险因素分析, 先进行单因素分析(P<0.05为差异有统计学意义), 再采用二项非条件Logistic回归模型分析单因素中具有显著意义的变量, 最终找出独立危险因素.

2 结果

2.1 *医院内真菌感染种类及构成比* 42例真菌感染患者中共检出48株真菌, 其中白色假丝酵母菌占43.75%, 其次热带假丝酵母菌占18.75%(表1).

2.2 *单因素分析* 由于自变量较多, 先用单因素分析表2中各项自变量进行筛选, 经过分析后发现有6种因素差异显著, 这些因素分别是抗菌素使用时间, 自发性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP), 门静脉高压症, 住院天数>30 d, 低白蛋白血症及白细胞计数(white blood count, WBC)<4.0×10^9/L(表2).

2.3 *多因素分析* 通过单因素分析后, 得出6个具有显著差异的自变量(P<0.05), 再进行二项非条件Logistic回归分析. 根据OR值大小, 将以下4种独立危险因素排序: 抗菌素使用时间(OR = 3.410), 脾亢后低白细胞血症(OR = 3.018), 门静脉高压症(OR = 2.357), 低白蛋白血症(OR = 2.161); 四者的Wald值分别为6.760、4.762、4.153、3.811, 提示四项危险因素在慢性重肝合并肠道真菌感染的重要性依次为抗菌素使用时间>脾亢后低白细胞血症>门静脉高压症>低白蛋白血症(表3).

2.4 *肠镜及组织病理检查示* 本研究中有10例患者表现为使用抗生素治疗后再次出现发热、腹胀、腹泻症状. 已予血液及粪便真菌培养, 但均为假阴性, 故在能耐受内镜检查情况下, 为明确病因、尽早治疗, 采用肠镜检查并取病变部位活检进行组织涂片及病理染色检查(图1).

表 2　慢性重型肝炎肠道真菌感染对照研究单因素分析

因素	研究组(n = 42)	对照组(n = 56)
年龄(岁)	59.6 ± 9.10	54.3 ± 11.5
抗生素应用时间(d)	21.2 ± 11.8[a]	12.9 ± 6.5
WBC<4.0 × 10^9/L(n)	23[a]	12
侵入性操作(n)	12	19
低白蛋白血症(n)	32[a]	41
糖尿病(n)	5	9
自发性腹膜炎(n)	27[a]	19
门静脉高压(n)	23[a]	27
住院天数>30 d(n)	29[a]	45

[a]P<0.05 *vs* 对照组. WBC: 白细胞计数.

2.5 *临床转归* 真菌感染后多数患者出现病情加重, 部分患者病情恶化, 甚至死亡. 感染组中出现7例肝性脑病、6例肝肾综合征和1例弥散性血管内凝血(disseminated intravascular coagulation, DIC)死亡患者. 对照组皆死于肝性脑病. 感染组中42例依据药敏试验和经验性(以氟康唑或伊曲康唑首选)抗真菌治疗后转归: 好转者17例. 感染组患者2 mo内病死率为33.33%(14/42), 明显高于对照组病死率16.07%(9/56), 两者差异有统计学意义(P = 0.023).

3 讨论

近年来重型肝炎住院患者合并真菌感染的发病率明显增加, 尤其是合并肠道真菌感染多见, 已经成为十分严重的院感问题之一[4]. 重型肝炎患者由于各种诱因导致肝细胞广泛性坏死, 出现严重肝功能衰竭, 肝脏清除毒性代谢产物能力下降, 极容易引起微生态的失衡, 最终使致病菌不断繁殖, 增加机会感染, 形成真菌二重感染[5]. 肠道真菌感染可以侵犯肠壁黏膜及血管, 形成真菌性肉芽肿, 引起变态反应, 产生的真菌毒素可引起真菌性败血症、毒血症, 亦可肠道菌群移位, 导致腹水产生. 尤其是重型肝炎合并肠道真菌感染患者常可出现腹胀、腹痛、腹泻及大便性状改变, 导致胃肠道功能紊乱、水电解质失衡, 严重者出现黏膜溃疡穿孔、出血. 本研究所发现的真菌以假丝酵母菌属为主, 假

相关报道

Glittenberg等研究发现重型肝炎患者单核-吞噬细胞系统功能下降, 脾亢, 导致粒细胞减少, 为胃肠道真菌感染的发病机制提供新的线索.

创新盘点

本研究通过多元Logistic回归分析，发现有4种危险因素与重型肝炎合并肠道真菌感染发生有密切关系，对于高度可能患者，且能耐受内镜检查的患者建议行肠镜检查及病理染色，希望为真菌感染防治提供临床依据.

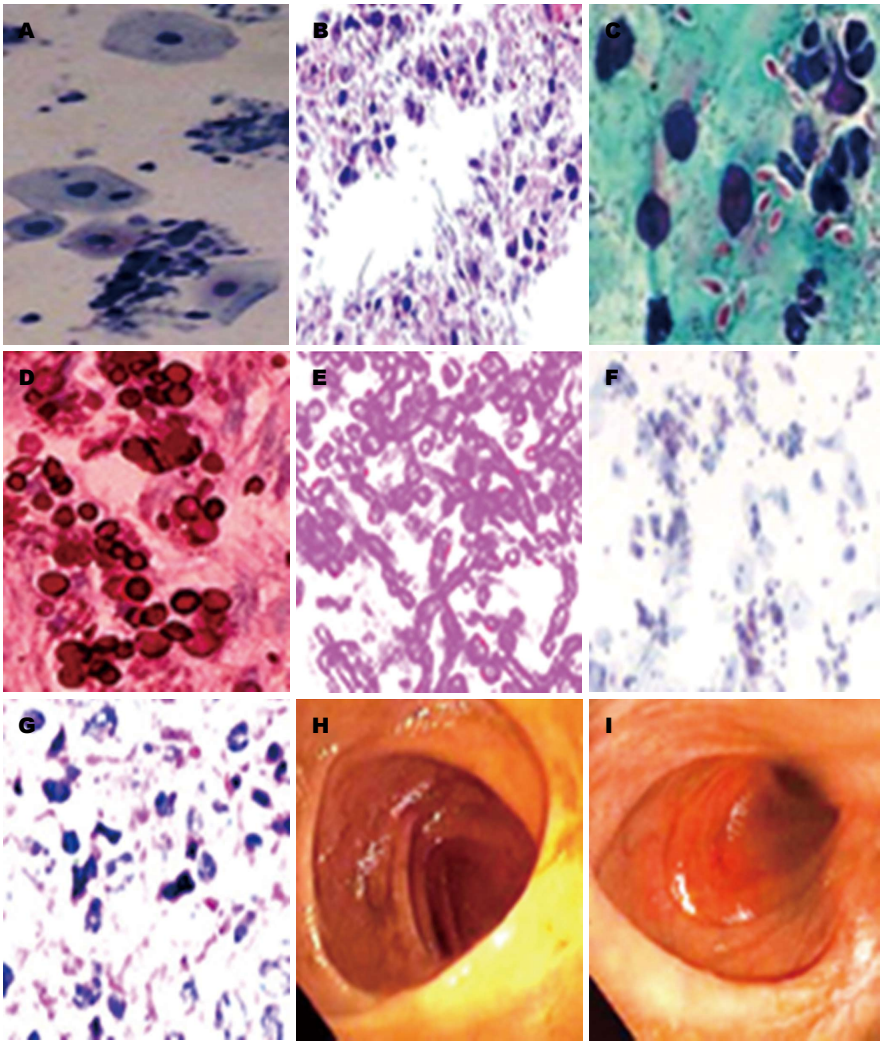

图 1　肠镜及组织病理检查结果. A: 曲霉菌，菌体呈深蓝色(棉蓝×1000); B: 菌丝，孢子细小呈蓝色(革兰×1000); C: 光滑假丝酵母菌，形态大小均一、呈卵圆形，其周围有空晕，不形成假菌丝(巴氏×1000); D: 克柔假丝酵母菌，菌体呈红色，一端出芽，菌周有荚膜样结构(GMS×1000); E: 白色假丝酵母菌，孢子大小不一，直径20-80 nm. 壁厚内空，呈圆或卵圆形，比较单一，一端较圆，另一端较尖，染色呈紫红色(PAS×1000); F: 近平滑假丝酵母菌，染色不均一，形态不规则，呈淡灰蓝(棉蓝×1000); G: 热带假丝酵母菌，菌体呈紫蓝色(革兰×1000); H: 肠镜显示横结肠轻重不一的炎症改变，轻者呈点状颗粒感、光反射紊乱，似伪膜; I: 肠镜显示降结肠水肿周围黏膜充血呈红色，血管纹消失，可见溃疡面.

表 3　慢性重肝合并肠道真菌感染的Logistic多因素回归分析

危险因素	Wald值	OR值	95%CI	*P*值
抗生素应用时间	6.760	3.410	1.923-5.784	0.009
门静脉高压	4.153	2.357	1.363-3.574	0.025
低白蛋白血症	3.811	2.161	1.127-4.103	0.043
自发性腹膜炎	2.019	1.841	0.783-1.734	0.084
WBC<4.0×10^9/L	4.762	3.018	2.368-6.926	0.017
住院天数>30 d	2.012	1.472	0.819-1.873	0.097

Wald值: χ^2值; OR值: 比值比; 95%CI: 95%可信区间; *P*值: 回归系数; WBC: 白细胞计数.

丝酵母菌系人定植共生范围最广的真菌菌属，具有很强的黏附、局部繁殖、穿透屏障肠壁等致病力. 这与Pfaller等[6]报道在深部真菌感染中以侵袭性假丝酵母菌感染为主，且多伴发于重症疾病患者. 因此，作为临床医生应警惕肠道真菌感染的发生，本研究通过观察福建医科大

学附属南平市第一医院近年来重型肝炎合并肠道真菌感染的患者, 分析慢性重型肝炎患者肠道真菌感染的相关危险因素, 并采用积极早期内镜介入检查, 尽早诊断、尽早做出有效的治疗措施, 尽可能提高患者生存率.

本研究通过多元Logistic回归分析, 发现有4种危险因素与重型肝炎合并肠道真菌感染发生有密切关系, 分别是长期使用广谱抗生素、低蛋白血症、门脉高压、粒细胞减少.

首先, 长期使用光谱抗生素是导致真菌感染最常见的危险因素, 研究组中发现使用广谱抗菌素天数较长, 且用药起点较高, 大多病例初始阶段就已经使用第三代头孢及合酶制剂, 同时所用的剂量较大. Ruiz-Sánchez等[7]研究发现长期使用光谱抗生素时, 势必造成肠道微生态被破坏, 使机体致病性真菌恶性繁殖, 导致重型肝炎基础上又并发真菌性肠炎; 其次, 低蛋白血症常导致胃肠道黏膜长时间处于淤血、水肿、糜烂状态, 使正常黏膜廓清功能和免疫作用受抑制或缺陷, 同时, 低蛋白血症也反应了肝脏合成功能处于失代偿阶段, 以上原因皆可引起肠道细菌移位、真菌繁殖, 国外相关研究[8]表明重型肝炎患者出现真菌感染大多数是内源性菌群移位感染所致, 尤其是肠道内存在许多酵母样真菌更易发生这类感染; 然后, 有研究[9]表明门静脉高压症时小肠运转时间延长, 这给肠内细菌的过度繁殖提供必要的时间; 由于肠管壁薄, 门脉高压使肠道血液、淋巴液处于淤积状态, 造成黏膜水肿, 黏膜屏障受损, 细菌通过破损的肠壁, 进一步增加感染的机会; 最后, Glittenberg等[10]研究发现, 重型肝炎患者单核-吞噬细胞系统功能下降, 脾亢, 导致粒细胞减少, 细胞介导的免疫功能受损, 补体及免疫球蛋白水平下降, 调理作用减弱, 最终造成致病菌可以成功逃避机体清除, 这亦是产生内源性感染的重要原因[11].

目前确诊肠道真菌感染尚缺乏早期、简便、快捷且特异性高的诊断方法, 临床上出现以下征象需警惕: 抗生素使用期间出现不明原因的发热; 出现消化系症状, 如间歇性腹泻; 经过积极治疗后, 病情反复, 如黄疸复升、腹腔感染无明显改善; 肠道菌群失调. 凡出现以上现象, 均需排外真菌感染的可能, 及时收集相关标本进行涂片、培养检测或病理学检测[12,13]. 由于真菌涂片的敏感性较差, 且较容易污染, 结果往往不可靠, 而不同的真菌培养周期不同, 大部分酵母菌2-3 d可出结果, 丝状真菌培养周期则较长, 二者均可出现一定假阴性率. 因此, 对能耐受肠镜检查同时又有反反复复的消化系症状的患者需进行内窥镜检查, 并行活检明确性质, 对此类患者通过组织学检查具有重要帮助. 本组研究有10例通过病理组织化学染色, 观察真菌的形态结构, 病灶内可见大量菌丝, 周围较多淋巴细胞、嗜酸性粒细胞浸润, 有的可见组织机化、肉芽肿的形成、增生的纤维结缔组织及扩张的血管, 肠镜可见肠管黏膜的慢性炎症、增厚, 形似伪膜, 周围黏膜充血, 伴有黏液腺体增生, 肠壁间隔增宽[14].

目前针对深部真菌感染的情况, 多数学者[15]主张制定个体化抗真菌治疗方案, 对有并发真菌感染的高危患者采用预防性的治疗, 尽早、及时的抗真菌治疗可以有效降低重肝并发真菌感染的病死率. 本研究发现感染组中42例根据药敏试验和经验性(氟康唑或伊曲康唑首选)抗真菌治疗后转归: 好转17例. 感染组患者2 mo内病死率为33.33%, 明显高于对照组病死率16.07%. 鉴于感染组中高死亡率, 可能与以下因素有关: 真菌感染常与继发细菌感染相混淆, 不易早期诊断; 重型肝炎患者使用抗真菌药物同时亦加重肝肾毒性; 耐药株的产生大大影响疗效. 因此, 通过对重肝患者合并肠道真菌感染相关危险因素分析, 尽早对易感患者采取有效的预防措施, 有利于降低真菌感染率和病死率.

总之, 积极控制重型肝炎的进程, 合理使用抗生素是维持共生菌群拮抗真菌过度繁殖, 防治肠道深部真菌病的关键. 加深对肠道真菌感染的临床特点认识, 对于存在多种真菌感染危险因素的患者, 应予足够警惕发热, 腹胀及腹泻等症状, 多次、多点动态检测血常规、粪便涂片有助于真菌感染的诊断, 必要时行内镜介入检查并行病理活检是诊断金标准, 尽可能早期诊断、尽早治疗有助于延缓病情进展.

■应用要点

由于重症肝病患者免疫力低下, 肠道真菌易侵入体内引起局部或全身感染, 本文通过分析重型肝炎并发真菌感染的高危因素, 提示临床上应合理正确使用抗生素, 积极防治各项原发基础疾病, 早期及时发现真菌感染, 予合理、正确抗真菌治疗.

4 参考文献

1 Polson J, Lee WM. AASLD position paper: the management of acute liver failure. *Hepatology* 2005; 41: 1179-1197 [PMID: 15841455 DOI: 10.1002/hep.20703]

同行评价

本文研究了慢性重型肝炎患者肠道真菌感染的特点、易感因素及防治措施，对其防治提供指导，具有较好的意义.

2 苏海滨, 王慧芬, 林芳, 许海苗, 赵鸿, 李雷, 闫涛, 牟劲松, 李晨. 肝衰竭合并真菌感染的调查分析. 中华医院感染学杂志 2009; 19: 1664-1667

3 中华医学会传染病与肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. 中华传染病杂志 2001; 19: 56

4 谢敏, 陈铿, 冯倩嫦. 重型肝炎和肝硬化并发医院内真菌感染186例临床特点分析. 实用肝脏病杂志 2007; 10: 24-26

5 Mamishi S, Eghbali AN, Rezaei N, Abolhassani H, Parvaneh N, Aghamohammadi A. A single center 14 years study of infectious complications leading to hospitalization of patients with primary antibody deficiencies. *Braz J Infect Dis* 2010; 14: 351-355 [PMID: 20963319 DOI: 10.1590/S1413-86702010000400007]

6 Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev* 2007; 20: 133-163 [PMID: 17223626 DOI: 10.1128/CMR.00029-06]

7 Ruiz-Sánchez D, Calderón-Romero L, Sánchez-Vega JT, Tay J. Intestinal candidiasis. A clinical report and comments about this opportunistic pathology. *Mycopathologia* 2002; 156: 9-11 [PMID: 12715941 DOI: 10.1023/A: 1021326713470]

8 Reagan DR, Pfaller MA, Hollis RJ, Wenzel RP. Characterization of the sequence of colonization and nosocomial candidemia using DNA fingerprinting and a DNA probe. *J Clin Microbiol* 1990; 28: 2733-2738 [PMID: 2177750]

9 Husová L, Lata J, Husa P, Senkyrík M, Juránková J, Díte P. Bacterial infection and acute bleeding from upper gastrointestinal tract in patients with liver cirrhosis. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1488-1490 [PMID: 16201103]

10 Glittenberg MT, Kounatidis I, Christensen D, Kostov M, Kimber S, Roberts I, Ligoxygakis P. Pathogen and host factors are needed to provoke a systemic host response to gastrointestinal infection of Drosophila larvae by Candida albicans. *Dis Model Mech* 2011; 4: 515-525 [PMID: 21540243 DOI: 10.1242/dmm.006627]

11 Chen Y, Chen Z, Guo R, Chen N, Lu H, Huang S, Wang J, Li L. Correlation between gastrointestinal fungi and varying degrees of chronic hepatitis B virus infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 70: 492-498 [PMID: 20846815 DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2010.04.005]

12 Iatta R, Napoli C, Borghi E, Montagna MT. Rare mycoses of the oral cavity: a literature epidemiologic review. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 647-655 [PMID: 19836721 DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.07.010]

13 Yousukh A, Jutavijittum P, Pisetpongsa P, Chitapanarux T, Thongsawat S, Senba M, Toriyama K. Clinicopathologic study of hepatic Penicillium marneffei in Northern Thailand. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128: 191-194 [PMID: 14736284]

14 Sugino K, Hasegawa C, Sano G, Shibuya K, Homma S. Pathophysiological study of chronic necrotizing pulmonary aspergillosis. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61: 450-453 [PMID: 19050352]

15 Segal BH, Almyroudis NG, Battiwalla M, Herbrecht R, Perfect JR, Walsh TJ, Wingard JR. Prevention and early treatment of invasive fungal infection in patients with cancer and neutropenia and in stem cell transplant recipients in the era of newer broad-spectrum antifungal agents and diagnostic adjuncts. *Clin Infect Dis* 2007; 44: 402-409 [PMID: 17205448 DOI: 10.1086/510677]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3781

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3781-3788
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

DynaCT在原发性肝癌介入治疗的应用价值

艾 宁, 李智岗, 李顺宗, 李 博, 赵 瑜

艾宁, 李智岗, 李顺宗, 李博, 赵瑜, 河北医科大学第四医院放射科 河北省石家庄市 050011
艾宁, 主治医师, 在读博士, 主要从事肿瘤影像诊断与介入治疗研究.
河北省医学科学研究重点指令性课题基金资助项目, No. 20150335
作者贡献分布: 本课题由艾宁、李智岗及李博设计; 李智岗、李顺宗及李博进行操作完成; 数据分析由赵瑜进行; 艾宁与李博进行论文撰写及实验数据汇总; 赵瑜进行随访分析.
通讯作者: 艾宁, 主治医师, 050011, 河北石家庄市健康路12号, 河北医科大学第四医院放射科. aining1@163.com
电话: 0311-86095379
收稿日期: 2015-07-08 修回日期: 2015-07-21
接受日期: 2015-07-24 在线出版日期: 2015-08-18

Application value of DynaCT in patients with hepatic carcinoma undergoing transcatheter arterial chemoembolization

Ning Ai, Zhi-Gang Li, Shun-Zong Li, Bo Li, Yu Zhao

Ning Ai, Zhi-Gang Li, Shun-Zong Li, Bo Li, Yu Zhao, Department of Radiology, the 4th Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Supported by: Medical Science Research Fund of Hebei Province, No. 20150335
Correspondence to: Ning Ai, Attending Physician, Department of Radiology, the 4th Hospital of Hebei Medical University, 12 Jiankang Road, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. aining1@163.com
Received: 2015-07-08 Revised: 2015-07-21
Accepted: 2015-07-24 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the application value of Dyna computed tomography (DynaCT) technology in hepatic carcinoma patients undergoing transcatheter arterial chemoembolization (TACE) and to provide evidence for clinical utilization of DynaCT.

METHODS: Eighty-nine patients with primary liver cancer were retrospectively analyzed, and they were divided into either a DynaCT group (46 cases) or a conventional digital subtraction angiography (DSA) group (43 cases). Patients in the DynaCT group underwent two-dimensional conventional DSA combined with DynaCT, and the conventional DSA group underwent DSA only. Operative time, X-ray radiation and dosage of contrast agent were analyzed in two groups. The number of lesions detected and the ability to detect blood vessels were compared between the two groups. All patients were followed to analyze overall survival.

RESULTS: Compared with the conventional DSA group, the DynaCT group has significantly shortened operative time ($P < 0.05$). There was no statistical significant difference in X-ray radiation and dosage of contrast medium between the two groups. DynaCT detected a total of 92 lesions (in 46 patients). DynaCT was superior to conventional CT and MDCT in the detection of lesions with a diameter < 10 mm or between 10 and 20 mm ($P < 0.001$), although there was no significant difference in the detection of lesions with a diameter > 20 mm. Eleven cases in the DynaCT group manifested no clear tumor feeding artery during conventional DSA, of which 9 cases had clearly indicated blood supplying artery branches by DynaCT. Overall survival of the DynaCT group was 17.3 mo ± 1.1 mo, which was significantly longer than that of the

背景资料
C臂计算机断层扫描(Dyna computed tomography, DynaCT)技术是集合了平板数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)上C型臂旋转以及平板探测器同步采集的功能于一体, 可同时获得血管三维图像及靶器官软组织图像, 平面重建图像可避免DSA与计算机断层扫描(computed tomography, CT)室间搬运患者的繁琐与不安全因素, 介入术后即可早期了解患者治疗效果.

同行评议者
肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

研发前沿
DynaCT可提供有效的影像学信息, 而这些信息无法在常规DSA中体现, 进而为更多的患者制定了更完善的方案, 优化介入治疗的流程, 改善了患者预后. 目前DynaCT在神经介入中应用广泛, 而在腹部介入中应用较少, 缺少大样本量的病例报道.

conventional DSA group (12.6 mo ± 0.9 mo; Log-rank, P = 0.003).

CONCLUSION: Utilization of DynaCT on the basis of conventional DSA in TACE for primary liver cancer has important clinical value, providing more diagnosis and treatment information that can help improve the prognosis of patients.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Dyna Computed tomography; Digital subtraction angiography; Chemoembolization; Prognosis

Ai N, Li ZG, Li SZ, Li B, Zhao Y. Application value of DynaCT in patients with hepatic carcinoma undergoing transcatheter arterial chemoembolization. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3781-3788 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3781.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3781

摘要

目的: 评价C臂计算机断层扫描(Dyna computed tomography, DynaCT)技术在肝癌介入治疗中的应用价值及疗效, 为临床合理应用DynaCT提供依据.

方法: 回顾性分析89例原发性肝癌介入患者, 分为DynaCT组与常规数字减影血管造影(digtal subtraction angiography, DSA)组, DynaCT组46例, 常规DSA组43例, DynaCT组为二维常规DSA联合增强DynaCT检查. 对两组的手术操作时间、X线辐射量及造影剂用量进行对比分析; 同时对DynaCT检出病灶数量和明确血管走行的能力与常规DSA及螺旋CT进行对比, 并随访两组患者, 统计总生存期进行对比分析.

结果: 与常规DSA组相比, DynaCT组缩短了手术时间(P<0.05); 两组间X线辐射量及造影剂用量间差异无统计学意义, 说明术中加做DynaCT检查并未增加X 线辐射量和造影剂用量. DynaCT组共检测病灶92个(46例患者), 在直径<10 mm及10-20 mm直径的小肝癌中, DynaCT的诊断敏感率明显优于螺旋CT(P<0.001); 直径>20 mm肝癌中三种检查方法均能明确诊断, 不具有统计学差异. DynaCT组内46例患者中共有11例行常规DSA后发现肿瘤供血动脉严重前后重叠, 不能分辨肿瘤具体供血动脉, 行增强DynaCT后, 其中9例肿瘤供血动脉分支及走行显影清晰, 超选择插管后诊断明确. 二者差异有统计学意义. DynaCT组总生存期为17.3 mo±1.1 mo, 常规DSA组总生存期为12.6 mo±0.9 mo, 经Log-rank检验, P = 0.003.

结论: 常规DSA基础上应用DynaCT在原发性肝癌介入化疗栓塞中具有重要的临床应用价值, 提供更多诊断治疗信息, 改善患者预后.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 原发性肝癌; C臂计算机断层扫描; 数字减影血管造影; 化疗栓塞术; 预后

核心提示: 肝动脉灌注化疗栓塞过程中, 传统的数字减影血管造影方法由于前后位重叠, 有着其局限性, 影响了治疗效果. C臂计算机断层扫描(Dyna computed tomography)技术作为新的影像诊断系统, 能给予介入医师更多关于肿瘤部位、血供来源方面的信息, 使得血管超选成功率明显增高, 同时在造影剂用量及手术时间方面并未存在风险, 提高了患者治疗效果及生存期.

艾宁, 李智岗, 李顺宗, 李博, 赵瑜. DynaCT在原发性肝癌介入治疗的应用价值. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3781–3788 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3781.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3781

0 引言

肝动脉灌注化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)已成为公认的不能手术切除肝癌患者的首选治疗方法[1]. 明确肿瘤血供来源和获得充足的影像学信息在介入治疗过程中至关重要. 然而, 传统的数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)方法由于前后位重叠, 不能准确判断肿瘤的结构、肝段位置及血供情况, 并在碘油沉积情况方面存在劣势, 进而影响患者疗效及生存期. 为了改善这些不足之处, 西门子公司推出了集平板探测及锥形束计算机断层扫描(computed tomography, CT)于一体的C臂CT系统(DynaCT), 他能提供独特的影像学模式并类似于传统CT平扫, 在肝癌的TACE过程中能给予介入医师更多关于肿瘤部位、血

表 1　89例原发性肝癌临床资料分组分析

相关因素	DynaCT组	常规DSA组	*P*值
年龄(岁)			>0.05
≤65	37	35	
>65	9	8	
性别			>0.05
男	38	36	
女	8	7	
肿瘤最大径(cm)			>0.05
≤3	22	24	
>3	24	19	
肿瘤数目			>0.05
1	28	25	
≥2	18	18	
肿瘤血供			>0.05
富血供	36	37	
乏血供	10	6	
门静脉癌栓			>0.05
有	13	12	
无	33	31	
AFP(ng/mL)			>0.05
≤400	10	11	
>400	36	32	
HBV			>0.05
+	39	35	
–	7	8	

DynaCT: C臂CT计算机断层扫描; DSA: 数字减影血管造影; AFP: 甲胎蛋白; HBV: 乙型肝炎病毒.

供来源方面的信息, 使得血管超选成功率明显增高, 避免了血管损伤. 目前, DynaCT在神经介入中应用广泛, 而在腹部介入中报道较少, 我们对不能手术切除的原发性肝癌患者在介入过程应用DynaCT技术, 与常规DSA以及螺旋CT进行对比, 并进行预后分析, 现报道如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2011-08/2013-05河北医科大学第四医院介入病房首次住院治疗的原发性肝癌患者89例, 男性53例, 女性36例, 年龄39-78岁, 平均53.2岁. 入选患者均经影像学、肿瘤标志物甲胎蛋白(α-fetoprotein, AFP)检查确诊原发性肝癌, 并有慢性肝病病史, 符合2011年卫生部颁布的原发性肝癌诊疗规范(2011年版)诊断标准与临床分期标准[2], 所有病例均无外科手术切除指征, 不伴有门静脉瘤栓及肝-门静脉瘘, 肝功能Child-Pugh分级A或B级, 且生活质量Kamofsky评分>70分, 术前均行上腹部强化CT或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)检查, 无严重心肺功能不全, 血常规、凝血功能及肝肾功能检查无绝对介入禁忌症. 术前向患者交代治疗方案并签署知情同意书. 排除标准: 伴有其他脏器转移或有其他原发肿瘤患者, 碘过敏及不能行股动脉穿刺患者. 根据治疗方法分为DynaCT和常规DSA两组, 两组在性别、年龄及介入前肝功能情况方面、门脉癌栓、肿瘤大小等方面均无显著性差异(*P*>0.05)(表1). DynaCT组46例, 为常规DSA基础上联合DynaCT检查, 其中男性38例, 女性8例, 年龄43-78岁. 肝功能Child A级39例, B级7例. 常规DSA组43例, 为单纯DSA检查, 其中男36例, 女7例, 年龄39-72岁, 肝功能Child A级37例, B级6例.

1.2 方法

1.2.1 治疗: 所有患者采用Seldinger法进行, 将5 F肝导管插至腹腔动脉造影并观察间接门静脉造影, 必要时加做肠系膜上动脉、胃左动脉、右侧膈动脉造影, 以明确肝脏肿瘤供血血管, 然后导管超选择进入靶血管内, 部分患者需借助Progreat微导管(日本泰尔茂公司生产)进行. 根据患者术前肝功能情况缓慢灌注替加氟1000 mg, 亚叶酸钙200 mg, 然后以8-25 mL碘化油中加入洛铂50 mg混合成乳剂来栓塞肿瘤供血动脉, 栓塞剂种类选择和栓塞剂量根据瘤体位置和大小估计, 并兼顾术前肝功能状况. 肿瘤直径>10 cm时则行分次栓塞. 在治疗过程中尽可能超选择插管, 减少正常肝组织损伤及胆囊动脉损伤. 栓塞后再行肝动脉造影, 了解栓塞情况及肿瘤染色残留情况, 满意后拔管并行右股动脉加压包扎.

DynaCT检查方法使用德国SIEMENS公司生产具有DynaCT功能的平板DSA系统(AXIOMArtis Zee Ceiling), 定位于感兴趣区域, 选择8 s DSA模式, 使用DynaCT 8SDR模式进行增强扫描, 当导管头位于腹腔干动脉时, 使用对比剂总量40-50 mL, 流速为4 mL/s, 高压注射器给予压力为300 PSI, 曝光延迟为5-8 s; 当导管头位于肝固有动脉时, 使用对比剂总量20-30 mL, 流速为1.5-2.5 mL/s, 高压注射器给予压力为200 PSI, 曝光延迟为3-5 s; 当导管头位于肝右、肝左或进一步超选择插管的动脉时, 使用

相关报道

DynaCT在肝脏恶性肿瘤早期诊断中的敏感性与特异性可以与螺旋CT相媲美, 他们成为肝脏恶性肿瘤手术前评价肿瘤可切除性及治疗方式选择的重要依据. 这些报道可为DynaCT技术早期肝癌诊断提供依据. DynaCT技术提供的诊断与治疗信息更佳, 协助介入医师制定合理的诊治路径.

创新盘点
本研究与常规螺旋CT及普通DSA之间进行对比分析, 对不同范围大小的肝癌诊断率进行总结, 明确其在肝癌介入治疗术前诊断及术中介入方式选择上的独特优势, 目前尚无相关报道.

表 2 DynaCT组与常规DSA组手术时间、辐射剂量及造影剂用量的对比 (mean ± SD)

分组	手术时间(min)	辐射剂量(mGY)	造影剂用量(mL)
DynaCT	51.2 ± 10.1	760.5 ± 152.3	85.2 ± 13.5
常规DSA	69.3 ± 13.2	780.3 ± 132.6	88.3 ± 15.1

DynaCT: C臂CT计算机断层扫描; DSA: 数字减影血管造影.

表 3 DynaCT、常规DSA及螺旋CT对肝癌病灶检测例数对比分析 (*n*1/*n*)

病灶直径(mm)	螺旋CT	常规DSA	DynaCT	*P*值
<10	8/35	12/35	33/35	<0.001
10–20	12/27	19/27	26/27	<0.001
>20	30/30	30/30	30/30	1.000
合计	50/92	61/92	89/92	<0.001

DynaCT: C臂CT计算机断层扫描; DSA: 数字减影血管造影.

对比剂总量10-20 mL, 流速为1-2 mL/s, 高压注射器给予压力为100 PSI, 曝光延迟为1-3 s. 每例行3D DSA采集的原始数据在1 min内经主机传至Syngo Workplace工作站上, 以多种重建方式查看重建图像, 图像可手动优化清晰度并进行伪影校正及剪切调整.

1.2.2 评价指标: 由3名高年资介入医师及2名影像诊断医师对所有患者TACE前增强CT或MRI、DSA图像和DynaCT图像及TACE后CT扫描图像分别独立进行分析, 记录肝脏肿瘤所在的肝段, 并测量肿瘤数目和最大直径. 根据实验数据及最初的影像学表现决定患者随访期限, 平均每1-3 mo复查1次CT, 根据新发的早期强化瘤灶确定患者复发及转移程度, 统计患者无进展生存期及总生存期. 所有患者随访至2015-04. 手术时间计算标准均为对患者的实际介入操作时间.

统计学处理 所有统计学处理均采用SPSS 19.0版本统计软件完成, 两组间手术时间、X线曝光量及对比剂用量均采用两独立样本的*t*检验; 常规DSA、DynaCT和螺旋CT对肿瘤病灶检出情况及对血供判断情况采用χ^2检验. 以Kaplan-Meier方法进行生存分析, $P<0.05$为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组的手术时间、X线辐射剂量及造影剂用量对比 与常规DSA组相比, DynaCT组缩短了手术时间($P<0.05$); 而两组间X线辐射量及造影剂用量间无统计学意义, 说明术中加做DynaCT检查并未增加X线辐射量和造影剂用量(表2, 图1, 2).

2.2 诊断敏感性 DynaCT组共检测病灶92个(46例患者), 直径<10 mm 35个, 10-20 mm 27个, >20 mm 30个. 在直径<10 mm及10-20 mm直径的小肝癌中, DynaCT的诊断敏感率明显优于螺旋CT($P<0.001$); 直径>20 mm肝癌中3种检查方法均能明确诊断, 差异不具有统计学意义(表3, 图3).

2.3 供血动脉判定 DynaCT组内46例患者中共有11例行常规DSA后发现肿瘤供血动脉严重前后重叠, 反复转动角度后仍不能分辨肿瘤具体供血动脉, 行增强DynaCT后, 其中9例肿瘤供血动脉分支及走行显影清晰, 超选择插管后诊断明确. 二者差异具有统计学意义(图3, 4).

2.4 随访 共随访85例患者, 失访4例. 截至2015-04, DynaCT组总生存期为17.3 mo±1.1 mo, 常规DSA组总生存期为12.6 mo±0.9 mo, 经Log-rank检验, $P = 0.003$(图5).

3 讨论

DynaCT技术是集合了平板DSA上C型臂旋转以及平板探测器同步采集的功能于一体, 可同时获得血管三维图像及靶器官软组织图像, 平面重建图像可避免DSA与CT室间搬运患者的

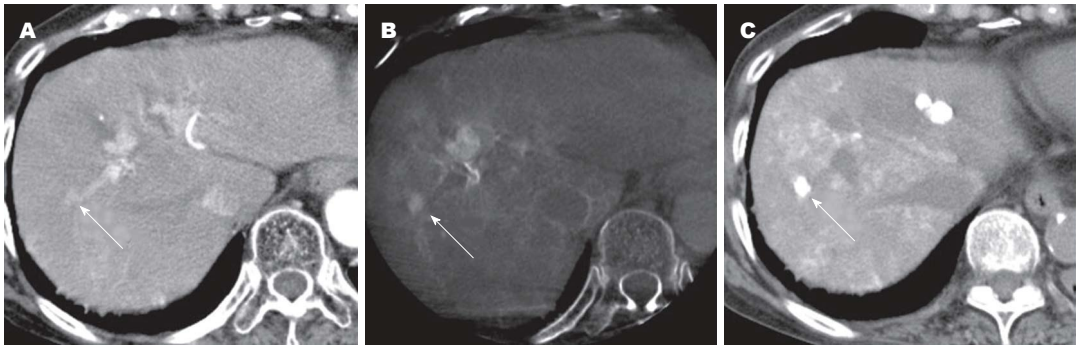

图 1　螺旋CT与DynaCT对小肝癌显示对比. 男性, 78岁, 因高龄而不能手术切除治疗, 肝右叶小肝癌(直径8 mm)近门静脉右支. A: 螺旋CT可显示近门静脉的类结节影(箭头所示), 因病灶靠近门静脉, 无法判定为小肝癌或门静脉显影; B: DynaCT显示明确的结节状肿瘤染色; C : 1 wk后复查螺旋CT显示病灶处碘油沉积良好. CT: 计算机断层扫描; DynaCT: C臂CT计算机断层扫描.

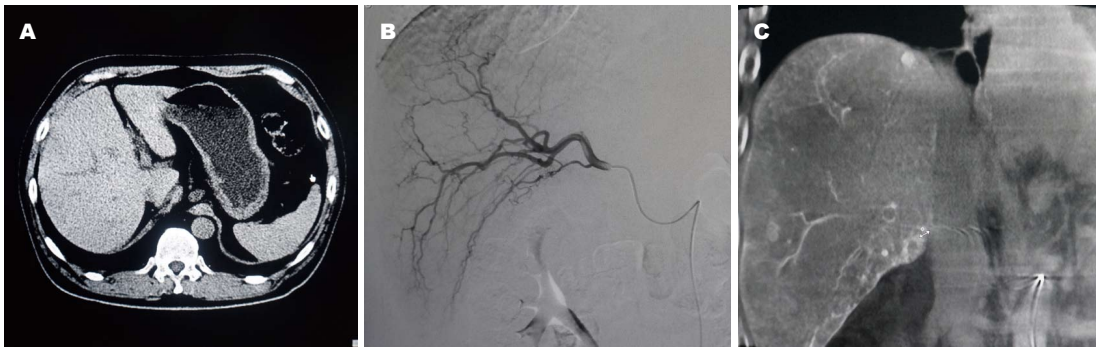

图 2　螺旋CT、常规DSA及DynaCT对病灶显示的对比分析. 患者男性, 45岁, 原发性肝癌术后预防性介入治疗. A, B: 螺旋CT及常规DSA未发现病灶; C: DynaCT重建发现2个复发肿瘤结节. CT: 计算机断层扫描; DSA: 数字减影血管造影; DynaCT: C臂CT计算机断层扫描.

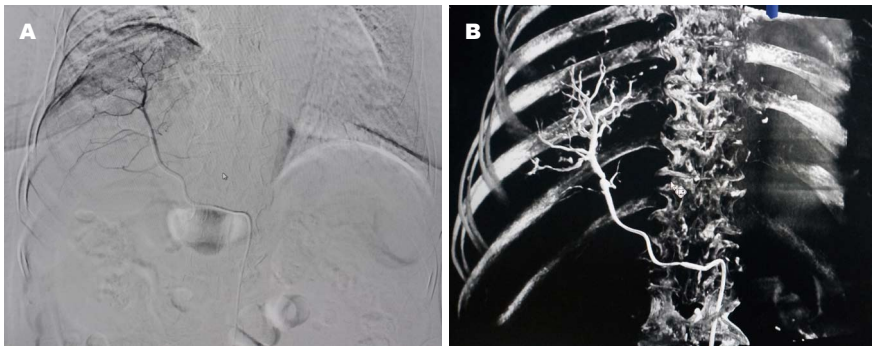

图 3　男性, 52岁, 常规DSA与DynaCT对血管显示的对比分析. A: 常规DSA血管前后重叠显影不清; B: DynaCT重建图像血管走行显示清晰. DynaCT: Dyna计算机断层扫描; DSA: 数字减影血管造影.

■应用要点
对原发性肝癌术后早期预防复发及判定介入治疗时机提供依据, 可根据其早期发现的肝内转移病灶较早实施干预治疗, 延长患者生存期.

繁琐与不安全因素[3]. 原发性肝癌的单次TACE治疗并不能完全性地消融肿瘤, 经常要经过多次治疗才可以达到更佳的疗效. TACE术中全面了解肝肿瘤侧支供血情况及肿瘤血供情况, 对治疗方案的制定及评估患者预后有很大的帮助[4]. 与常规DSA相比, DynaCT为肝癌介入治疗提供了额外的影像学信息, 使得TACE治疗更加完善与精确.

由于肝癌的血供丰富呈多样性, 大多数肝癌患者肿瘤供血动脉走形较复杂, 且有多支供血情况, 并存在肝外变异血供[5], 因此准确找到肿瘤的供应动脉并避开正常肝脏组织的供血动脉是超选择性插管的关键. 同时, 在提倡肝癌精准TACE治疗的趋势下[6], DynaCT可明确肿瘤的详细分段部位、血供来源及血管走行, 缩短手术操作时间, 从而能够减少操

同行评价

DynaCT技术作为一种新的影像技术, 在肝癌的TACE过程中能给予介入医师更多关于肿瘤部位、血供来源方面的信息, 有助于发现20 mm直径以下的病灶; 有助于显示肿瘤供血动脉分支及其走行, 从而使肝癌患者获益.

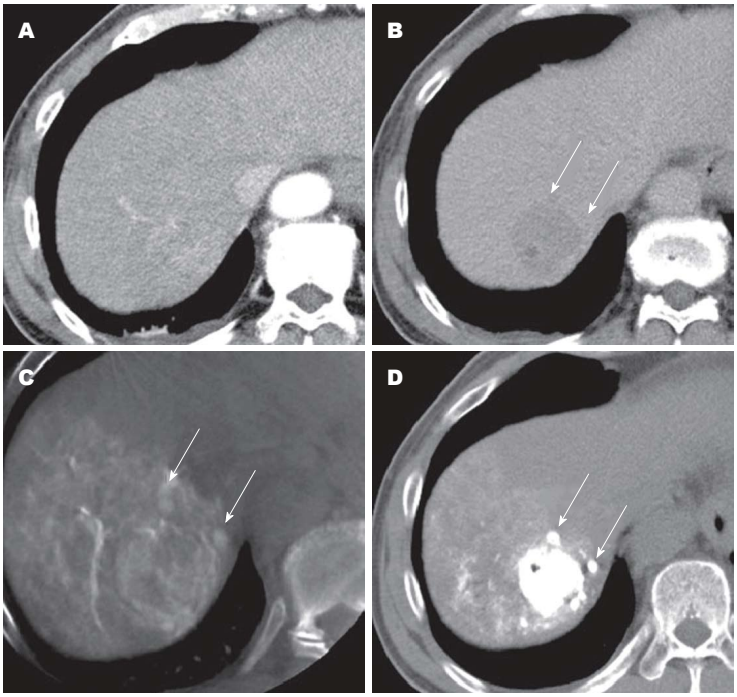

图 4 DynaCT与螺旋CT对病灶显示程度对比. 男性, 58岁, 肝右叶Ⅷ段肝癌. A: 强化螺旋CT未见卫星病灶影; B: 静脉期隐约可见周围低密度病灶, 但对比情况不佳, 极易漏诊; C: DynaCT扫描卫星病灶显影较螺旋CT更为清晰(箭头所示), D: 7 d后CT平扫可见肿块及周围卫星病灶碘油沉积. DynaCT: C臂计算机断层扫描; CT: 计算机断层扫描.

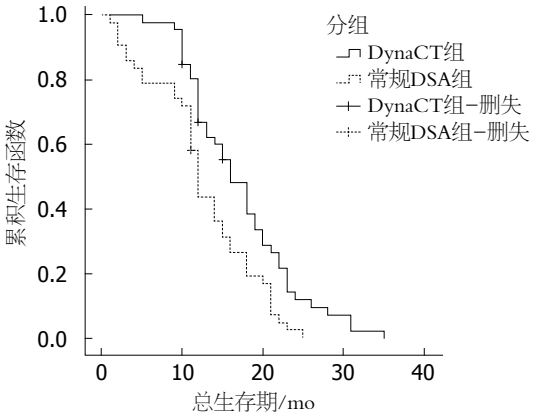

图 5 DynaCT组与常规DSA组总生存期对比分析. DynaCT: C臂计算机断层扫描; DSA: 数字减影血管造影.

作医师及患者受辐射时间和造影剂总用量, 避免造影剂过量应用引起的心肾并发症, 还能够有效避免因血供来源不清采用排除法进行反复插管而造成的血管损伤. Meyer等[7]统计发现60%的病例中, DynaCT可提供有效的影像学信息, 而这些信息无法在常规DSA中体现, 进而为19%的患者制定了更完善的方案, 优化介入治疗的流程, 改善了患者预后. Wallace等[8]的研究表明, 在TACE治疗中应用DynaCT协助介入医师修正在常规DSA下的初步判断, 从而较快的将介入导管置于正确的位置, 避免了多走弯路的情况. 本文对患者介入过程中相关指标进行分析, 发现虽然术中行DynaCT需进行扫描前准备、DynaCT扫描及分析处理等过程延长操作时间, 但由于定位更准确, 避免了多次插管, 使得总操作时间DynaCT组患者要少于常规DSA组, 差异具有统计学意义; 尽管有人提出DynaCT扫描增加辐射量的质疑, 但由于减少反复透视插管及多次采集造影次数, 总体辐射量两组患者差异不显著, 本研究证明DynaCT并不会显著增加辐射量及操作时间, 并可减少对比剂大量应用引起的并发症, 可在肝癌介入治疗中广泛推广.

受限于部分肝癌的乏血供特点及肝硬化组织的不规则强化背景因素, 有23%的螺旋CT证实的病例其病灶不能在常规DSA上显示[9], 报道[10]中89%的极早期小肝癌(平均直径1.9 cm±1.1 cm)能够在DynaCT呈阳性改变, 另外所有小肝癌(平均直径1.3 cm±0.3 cm)不能被常规DSA检测到, DynaCT已被证实在肝癌诊断的准确性及敏感性都要优于常规DSA, 甚至在一定程度上也要优于螺旋增强CT扫描[11], Higashihara等[12]研究认为DynaCT在肝脏恶性肿瘤早期诊断中的敏感性与特异性可以与螺

旋CT相媲美, 他们成为肝脏恶性肿瘤手术前评价肿瘤可切除性及治疗方式选择的重要依据. 这归因于DynaCT可以在周围软组织背景下清楚的显示瘤灶, 协助介入医师与术前螺旋CT进行对比, 并且由于在DynaCT过程中进行了间接门静脉造影, 对微小病灶的显示优于螺旋CT, 与文献[13]报道一致, 已成为肝癌巴塞罗那分期极早期肝癌的有效诊断手段, 在部分甲胎蛋白增高而螺旋CT阴性病例的早期诊断中阳性率较高. 本文的DynaCT组46患者中共检测了92个病灶, 在直径<10 mm及10-20 mm病灶中, DynaCT的敏感性要明显优于常规DSA及螺旋CT, 表明DynaCT技术在小肝癌的诊断上具有优势, 尤其对于原发性肝癌手术切除患者预防性介入治疗中有很大的意义. 本研究中有6例原发性肝癌手术切除患者于术后1 mo行预防性介入治疗, 术前腹部螺旋CT未发现复发病灶, 而DynaCT发现早期肝内转移病灶, 给予超选择插管后治疗效果良好, 生存期延长, 达到了介入治疗早期预防肝癌术后复发的目的.

DynaCT与常规DSA相比的另一优势为准确判定治疗结束时机, 避免栓塞剂如碘油等的栓塞不彻底, 同时在碘油沉积不理想时及时应用DynaCT扫描可发现正确血供或异位栓塞, 避免碘油过量栓塞引起肝功能受损情况. 而肝脏功能受损是影响TACE术后预后的独立影响因素[14]. Iwazawa等[15]认为, DynaCT可预警可能出现的肝功能损害, 并有助于观测碘油沉积情况, 其研究表明术中应用DynaCT的病例7 d后碘油沉积情况要优于常规DSA, 患者总生存期及无进展生存期较常规DSA组延长, 差异具有统计学意义. 本研究随访观察结果提示术中应用DynaCT的患者其总生存期要优于常规DSA治疗患者, 分析原因为应用DynaCT可早期发现微小病灶并给予积极处理, 降低肿瘤负荷, 延缓肿瘤发展进程, 同时可以通过正确选择供血动脉及治疗结束时机, 避免对正常肝脏组织的损害, 使患者预后好转, 生存期延长. 因此, DynaCT可为原发性肝癌介入治疗的提供有效的治疗信息, 协助介入医师制定合理方案, 提高患者预后及生存期, 值得广泛推广.

4 参考文献

1 Lo CM, Ngan H, Tso WK, Liu CL, Lam CM, Poon RT, Fan ST, Wong J. Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002; 35: 1164-1171 [PMID: 11981766 DOI: 10.1053/jhep.2002.33156]

2 中华人民共和国卫生部. 原发性肝癌诊疗规范(2011年版). 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 929-946

3 林永胜, 郝伟远, 虞希祥. DynaCt在肝癌肝动脉化疗栓塞中的临床应用价值. 实用放射学杂志 2012; 28: 445-450

4 李立, 林浩皋, 张伟章, 吴沛宏. 原发性肝癌术后复发的动脉栓塞治疗. 影像诊断与介入放射学 1997; 6: 232-234

5 尚建强, 李继军, 陈颉, 张垒, 孙增涛, 唐军, 刘作勤. 原发性肝癌肝外侧支动脉供血的诊断及介入治疗. 中华肿瘤防治杂志 2011; 3: 219-221

6 杨光, 杨仁杰, 李智岗. 肝脏肿瘤介入治疗的新模式–精准TACE. 临床放射学杂志 2011; 30: 598-600

7 Meyer BC, Frericks BB, Albrecht T, Wolf KJ, Wacker FK. Contrast-enhanced abdominal angiographic CT for intra-abdominal tumor embolization: a new tool for vessel and soft tissue visualization. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 743-749 [PMID: 17533549 DOI: 10.1007/s00270-007-9029-2]

8 Wallace MJ, Murthy R, Kamat PP, Moore T, Rao SH, Ensor J, Gupta S, Ahrar K, Madoff DC, McRae SE, Hicks ME. Impact of C-arm CT on hepatic arterial interventions for hepatic malignancies. *J Vasc Interv Radiol* 2007; 18: 1500-1507 [PMID: 18057284 DOI: 10.1016/j.jvir.2007.07.021]

9 Iwazawa J, Ohue S, Mitani T, Abe H, Hashimoto N, Hamuro M, Nakamura K. Identifying feeding arteries during TACE of hepatic tumors: comparison of C-arm CT and digital subtraction angiography. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 192: 1057-1063 [PMID: 19304714]

10 Miyayama S, Matsui O, Yamashiro M, Ryu Y, Takata H, Takeda T, Aburano H, Shigenari N. Detection of hepatocellular carcinoma by CT during arterial portography using a cone-beam CT technology: comparison with conventional CTAP. *Abdom Imaging* 2009; 34: 502-506 [PMID: 18373115 DOI: 10.1007/s00261-007-9254-9]

11 Kakeda S, Korogi Y, Ohnari N, Moriya J, Oda N, Nishino K, Miyamoto W. Usefulness of cone-beam volume CT with flat panel detectors in conjunction with catheter angiography for transcatheter arterial embolization. *J Vasc Interv Radiol* 2007; 18: 1508-1516 [PMID: 18057285 DOI: 10.1016/j.jvir.2007.08.003]

12 Higashihara H, Osuga K, Onishi H, Nakamoto A, Tsuboyama T, Maeda N, Hori M, Kim T, Tomiyama N. Diagnostic accuracy of C-arm CT during selective transcatheter angiography for hepatocellular carcinoma: comparison with intravenous contrast-enhanced, biphasic, dynamic MDCT. *Eur Radiol* 2012; 22: 872-879 [PMID: 22120061 DOI: 10.1007/s00330-011-2324-y]

13 李建军, 郑加生, 崔雄伟, 王向东. 64排CT与DSA及C臂CT检出肝癌小病灶的对比. 中国介入影像与治疗学 2011; 8: 236-239

14 Huppert PE, Lauchart W, Duda SH, Torkler C, Kloska SP, Weinlich M, Benda N, Pereira P, Claussen CD. [Chemoembolization of hepatocellular

carcinomas: which factors determine therapeutic response and survival?]. *Rofo* 2004; 176: 375-385 [PMID: 15026951]
15 Iwazawa J, Ohue S, Hashimoto N, Muramoto O, Mitani T. Survival after C-arm CT-assisted chemoembolization of unresectable hepatocellular carcinoma. *Eur J Radiol* 2012; 81: 3985-3992 [PMID: 22959287 DOI: 10.1016/j.ejrad.2012.08.012]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015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》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3789

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3789-3796
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

核糖核苷酸还原酶M1在预测吉西他滨治疗胰腺癌患者疗效的Meta分析

黄 龙, 黎 功, 方子燕, 黄 璟

黄龙, 黎功, 方子燕, 黄璟, 中国人民武装警察部队总医院肿瘤二科 北京市 100039
黄龙, 在读硕士, 主要从事消化系肿瘤的研究.
作者贡献分布: 黄龙与黎功负责文献检索、文献质量评价、提取资料及论文撰写; 方子燕与黄璟负责论文的数据分析与文献审核; 黄龙与黎功负责论文的审阅与修改.
通讯作者: 黎功, 教授, 100039, 北京市海淀区永定路69号, 中国人民武装警察部队总医院肿瘤二科. wjzyyng@sohu.com
电话: 010-57976641
收稿日期: 2015-03-26 修回日期: 2015-06-01
接受日期: 2015-06-29 在线出版日期: 2015-08-18

Predictive and prognostic roles of ribonucleotide reductase M1 in pancreatic cancer: A Meta-analysis

Long Huang, Gong Li, Zi-Yan Fang, Jing Huang

Long Huang, Gong Li, Zi-Yan Fang, Jing Huang, the Second Department of Oncology, General Hospital of Armed Police Force, Beijing 100039, China
Correspondence to: Gong Li, Professor, the Second Department of Oncology, General Hospital of Armed Police Force, 69 Yongding Road, Haidian District, Beijing 100039, China. wjzyyng@sohu.com
Received: 2015-03-26 Revised: 2015-06-01
Accepted: 2015-06-29 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the role of ribonucleotide reductase M1 (RRM1) in predicting the survival of patients with resectable pancreatic cancer who receive gemcitabine adjuvant therapy.

METHODS: Cochrane Library, Medline, Science Direct, Springer link, CBM, Cnki, Wan fang and VIP database were searched before December 31, 2014 to collect the articles regarding RRM1 in the treatment of pancreatic cancer. The quality of the included trials was assessed according to the inclusive and exclusive criteria, and the data were extracted and analyzed using Stata12.0 and RevMan 5.2.10 software.

RESULTS: A total of eight clinical studies involving 556 pancreatic cancer patients treated with adjuvant gemcitabine-based chemotherapy were included, including 373 patients with high RRM1 expression and 293 patients with low RRM1 expression. Meta-analysis showed that high RRM1 expression was associated with improved overall survival (OS) of pancreatic cancer patients (HR = 1.56, 95%CI: 1.17-2.07, $P < 0.05$). High RRM1 expression also was linked to longer disease-free survival (DFS) than low RRM1 expression (HR = 1.47, 95%CI: 0.83-2.62, $P < 0.05$).

CONCLUSION: This Meta-analysis shows that high RRM1 expression may be associated with improved OS and DFS of pancreatic cancer patients treated with adjuvant gemcitabine-based chemotherapy. The detection of RRM1 expression may be a promising biomarker for predicting the prognosis of pancreatic cancer patients treated with gemcitabine.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Pancreatic cancer; Gemcitabine; Ribonucleotide reductase M1; Overall survival; Disease-free survival

Huang L, Li G, Fang ZY, Huang J. Predictive and

背景资料
胰腺癌(pancreatic cancer)是一种临床发病较隐匿, 且发展迅速, 预后极差的恶性肿瘤. 目前胰腺癌患者的早期诊断对于预后有重要的临床意义.

同行评议者
郑建明, 教授, 主任医师, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

研发前沿

本研究表明: 高表达的核糖核苷酸还原酶M1 (ribonucleotide reductase M1, RRM1)患者的总体生存率和无病生存期(disease-free survival, DFS)较高, 得出在吉西他滨治疗的胰腺癌患者中, 高表达RRM1患者较低表达者能显著性地提高总体生存率和无病生存期, 所以检测RRM1表达可以作为临床上评估吉西他滨治疗胰腺癌患者预后的指标.

prognostic roles of ribonucleotide reductase M1 in pancreatic cancer: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3789-3796 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3789.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3789

摘要

目的: 探讨核糖核苷酸还原酶M1(ribonucleotide reductase M1, RRM1)在预测吉西他滨治疗胰腺癌患者的疗效的价值.

方法: 计算机检索在2004-01-01/2014-12-31在Cochrane Library、Medline、Science Direct、Springer link、中国期刊全文数据库、中国知网、万方以及维普数据库公开发表的关于核糖核苷酸还原酶M1在吉西他滨治疗胰腺癌患者疗效的全文为英文的文献, 严格按纳入排除标准由2位研究者独立进行文献筛选(PRISMA标准)、资料提取和方法学质量评价后, 采用Stata12.0软件进行Meta分析.

结果: 共纳入8篇文献, 共包含胰腺癌患者556例, 其中高表达的RRM1患者373例, 低表达RRM1的患者293例. Meta分析结果显示: 高表达的RRM1患者的总体生存率(overall survival, OS)(HR = 1.56, 95%CI: 1.17-2.07, P<0.05)和无病生存期(disease free-survival, DFS)(HR = 1.47, 95%CI: 0.83-2.62, P<0.05)均较高.

结论: 在吉西他滨治疗的胰腺癌患者中, 高表达的RRM1较低表达的RRM1能显著性的提高患者的总体生存率和无病生存期, 他们可以作为临床上评估吉西他滨治疗胰腺癌患者预后的指标.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胰腺癌; 吉西他滨; 核糖核苷酸还原酶M1; 总体生存率; 无病生存期

核心提示: 在吉西他滨治疗的胰腺癌患者中, 高表达的核糖核苷酸还原酶M1(ribonucleotide reductase M1, RRM1)较低表达的RRM1能显著性的提高患者的总体生存率和无病生存期, 可以作为临床上评估吉西他滨治疗胰腺癌患者预后的指标.

黄龙, 黎功, 方子燕, 黄璟. 核糖核苷酸还原酶M1在预测吉西他滨治疗胰腺癌患者疗效的Meta分析. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3789-3796 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3789.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3789

0 引言

胰腺癌是一种临床发病较隐匿, 且发展迅速, 预后极差的恶性肿瘤. 有相关研究[1,2]表明, 在美国, 胰腺癌的死亡率是占据第4位的恶性肿瘤, 其5年生存率不到5%, 即使对于可切除的胰腺癌患者, 其5年生存率仍为10%-20%[3-6]. 目前对于胰腺癌比较有效的治疗方法是早期手术治疗, 相关研究[7,8]已经证实: 在手术切除术后的辅助放化疗可以延长生存率. 吉西他滨(gemcitabine)是一种广泛用于实体肿瘤(包括胰腺癌等)化疗的核苷酸结构类似物药物[9], 且已有相关研究[10,11]表明, 胰腺癌切除根治术后吉西他滨化疗对于提高预后有很重要的意义, 且现在吉西他滨化疗方案已经作为不可切除的胰腺癌或者根治性切除术术后胰腺癌化疗的一线方案[12,13]. 核糖核苷酸还原酶(ribonucleotide reductase, RR)是DNA合成过程中重要的限速酶, RR中具有调节功能的亚单位称为核糖核苷酸还原酶M1(ribonucleotide reductase M1, RRM1), 是核苷酸的结合位点, 对于底物特异性和整个酶的活性起着控制作用, 对于DNA的聚合和修复具有重要的作用[14-16]. RRM1是吉西他滨等核苷类似物化疗药物的结合位点, RRM1可以作为预测吉西他滨药物化疗的疗效指标[17]. 相关研究[18,19]表明高*RRM1*基因的表达表明化疗药物的敏感性较高, 化疗的效果较好. 因此高*RRM1*基因表达(蛋白质或者信使RNA)能延长吉西他滨治疗胰腺癌患者的总体生存率(overall survival, OS)和无病生存期(disease-free survival, DFS). 但目前对于RRM1的表达在吉西他滨治疗胰腺癌患者的作用仍有争议, 为明确RRM1的表达和吉西他滨治疗胰腺癌患者的预后关系, 本研究结合近年来发表(2004-01-01/2014-12-31)的最新相关文献, 采用系统评价的方法来说明RRM1的表达与吉西他滨治疗胰腺癌的预后的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 计算机检索自2004-01-01/2014-12-31在Cochrane Library、Medline、Science

Direct、Springer link、CBM、中国知网、万方以及维普数据库公开发表的全文为英文的文献, 并手工检索国内相关医学杂志. 检索策略: 采取主题词和关键词结合的检索策略, 检索词中文为: “核糖核苷酸还原酶M1”、“胰腺癌”、“胰腺肿瘤”、“吉西他滨”. 英文的检索词为: [“Ribonucleotide reductase M1”、“Ribonucleotide reductase”、“RRM1”、“RRM-1”、“RNR”]、[“pancreatic cancer”、“pancreatic neoplasm”、“pancreatic tumor” “pancreatic carcinoma”、“pancreatic carcinogenesis”] and [“gemcitabine”、“GEM”、“deoxycytidine analog”], 对于以上检索词采用不同策略检索, 并追查已经纳入文献或者综述文献的参考文献以尽可能全面的收集资料.

1.2 方法

1.2.1 文献纳入标准: (1)纳入研究的发表年限在2014-12-31前; (2)纳入文献胰腺癌的诊断明确, 需经术后病理证实的胰腺癌患者; (3)文献研究设计为预测RRM1在吉西他滨治疗胰腺癌患者的临床对照研究(前瞻性、回顾性均可); (4)纳入文献中报告的OS及术后DFS的预测需是有效可计算的; (5)纳入研究中需交代RRM1的测定方法; (6)纳入文献的全文需是英文文献.

1.2.2 文献排除标准: (1)纳入文献中诊断不明确或者无相关病理学结果证实的文献不予以纳入; (2)方法学交代不健全的研究, 资料不全的研究, 重复发表或重复利用数据的研究取其中之一, 其他的不予纳入; (3)文献中未交代OS和DFS的、无高低表达RRM1的对比比较的不予以纳入; (4)文献全文语言非英文书写的不予以纳入.

1.2.3 文献筛选及资料提取: 由两位研究者独立阅读文献进行筛选, 整个筛选过程采用盲法. 先独立阅读所获文献的题目以及摘要, 剔除明显不符合纳入标准的文献, 再对可能符合纳入标准的文献阅读全文, 以确定该文献是否真正符合纳入标准. 在整个筛选过程中, 如果遇到有分歧而难以确定是否纳入的文献通过讨论或由第三个研究者决定其是否纳入. 在纳入文献确定后, 再由两位研究人员独立地对符合纳入标准的试验进行资料提取, 提取内容包括作者、发表年代、病例数等, 并制作填写资料提取表格, 并交叉核对提取的资料, 对于缺乏的资料通过于临床试验人的通讯作者联系予以补充. 整个筛选过程严格按照Cochrane协作组的系统评价文献筛选规范和Meta分析报告规范PRISMA标准[20]进行文献筛选.

1.2.4 文献质量评估: 由于本文缺乏随机对照文献, 所纳入的文献中为病例对照研究和/或队列研究, 文献的质量评估采用NOS量表(Modified Newcastle-Ottawa Scale)[21]进行评价, 具体包含病例的选择、组间的可比性和术后并发症的评价. 评分分为0-9分, 其中≥6分视为高质量文献.

统计学处理 本文采用Cochrane协作网提供的RevMan 5.2.7软件和Stata12.0软件进行统计学分析. 显著性水平设定为P = 0.05, 用I^2评估异质性大小, I^2<25%提示有轻度异质性, I^2在25%和75%之间提示中度异质性, I^2>75%以上则提示明显异质性, 若存在异质性则进行亚组分析或者敏感性分析. 使用危险比(hazard ratio, HR)作为效应指标进行分析. 统计结果用95%可信区间(confidence interval, CI)表示, 以漏斗图(funnel plot model)判断发表偏倚. 纳入研究进行异质性检验, 异质性检验P>0.05时表示各研究间无明显异质性, 此时合并分析采用固定效应模型(fixed effects model), 否则采用随机效应模型(random effects model).

2 结果

2.1 文献筛选及纳入文献特点 由两位检索人员, 在严格按照纳入排除标准进行筛选和文献阅读后, 最后共纳入8篇研究[22-29], 纳入文献的基本情况如表1, 纳入文献的PRISMA筛选流程图如图1. 本系统评价共纳入胰腺癌病例数566例, 其中高表达吉西他滨治疗胰腺癌患者373例, 低表达例数293例. 其中检测方法为mRNA或者蛋白质检测其表达情况.

2.2 纳入文献质量评价 将所有纳入文献严格按照NOS评分标准, 主要从包含病例的选择、组间的可比性和术后并发症的评价进行评分, 各纳入研究的评分如表2, 由表2可知: 各纳入文献中均交代RRM1的检测方法和比较高低表达的RRM1的在吉西他滨治疗胰腺癌患者的术后的最终结果. 各文献的NOS评分均≥6分, 总体

■相关报道
相关研究表明高*RRM1*基因的表达对化疗药物的敏感性较高, 化疗的效果较好.

创新盘点
在胰腺癌患者进行吉西他滨药物化疗过程中, 可以对RRM1进行监控, 从而可以得知化疗的远期和近期生存率的差别. 检测RRM1的水平是吉西他滨治疗胰腺癌患者重要检测指标之一.

表 1 纳入文献的基本情况

纳入文献	国家	人群特征	纳入病例数(n)	
			高表达RRM1	低表达RRM1
Nakahira等[22] 2007	日本	亚洲人	9(mRNA)	9(mRNA)
Akita等[23] 2009	日本	亚洲人	14(Protein)	14(Protein)
Fujita等[24] 2010	日本	亚洲人	9(mRNA)	31(mRNA)
Kim等[25] 2011	美国	高加索人	28(mRNA)	28(mRNA)
Valsecchi等[26] 2012	美国	高加索人	32(Protein)/10(mRNA)	62(Protein)/39(mRNA)
Maréchal等[27] 2012	比利时	高加索人	207(Protein)	30(Protein)
Nakagawa等[28] 2013	日本	亚洲人	44(Protein)	65(Protein)
Xie等[29] 2013	美国	高加索人	20(Protein)	15(Protein)
合计			373	293

括号表示文献中RRM1的检测方法. RRM1: 核糖核苷酸还原酶M1; mRNA: 信使RNA; Protein: 蛋白质.

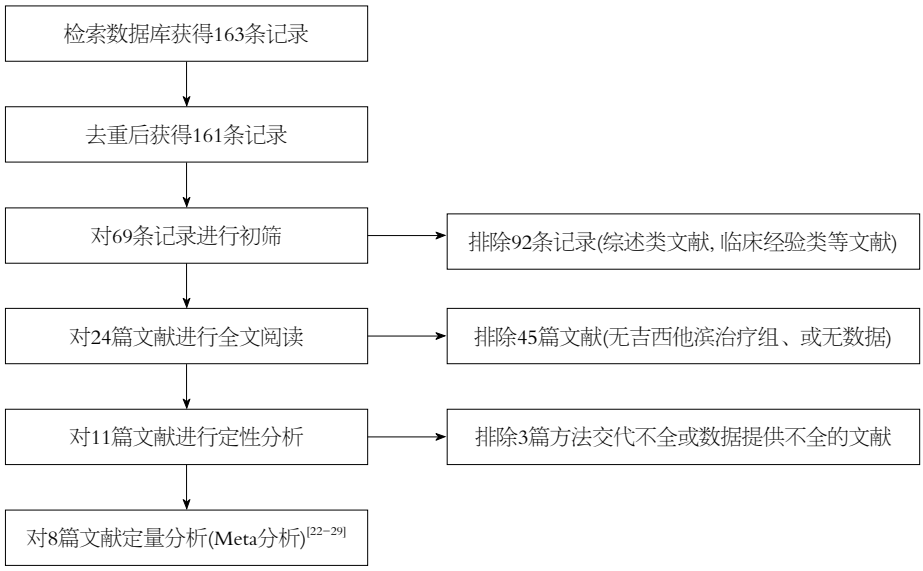

图 1 PRISMA文献筛选流程.

纳入的文献的质量较高.

2.3 RRM1的表达与在吉西他滨治疗胰腺癌患者治疗后生存率的比较 在阅读全文后, 共有8篇文献[22-29]中研究了高低表达的RRM1在吉西他滨治疗胰腺癌患者后的总体生存率OS的比较, 另有3篇文献研究了高低表达的RRM1与吉西他滨治疗胰腺癌患者预后的比较的无病生存率DFS的比较. 利用Stata12.0统计软件对以上文献进行Meta分析, 具体分析结果的森林图如图2. 由图2结果可知, 总体生存率的比较的森林图示: 各纳入研究间异质性较高(I^2 = 58.8%, P<0.05), 使用随机效应模型进行合并, 结果显示高表达的RRM1的总体生存率较低表达RRM1的生存率高(HR = 1.56, 95%CI: 1.17-2.07)(P<0.05). 无病生存率的比较的森林图示: 各纳入研究之间的异质性较高(I^2 = 70.8%, P<0.05), 遂采用随机效应模型进行合并分析, 结果显示高表达的RRM1的无病生存率高于低表达的RRM1组(HR = 1.47, 95%CI: 0.83-2.62)(P<0.05).

2.4 亚组分析 由图2可知, 高低表达的RRM1与吉西他滨治疗胰腺癌患者的OS和DFS的异质性较高, 为了降低异质性并提高准确性, 我们根据不同的RRM1的检测方法和不同纳入人群进行亚组分析, 具体分析结果如表3. 由表3可知: 亚组分析显示在不同种族的人群中, 高表达的RRM1组的患者吉西他滨治疗后的OS和DFS较低表达的RRM1组高(P<0.05). 说明高表达的RRM1提示着预后较好. 在根据不同的检测方法进行分析, 结果显示: 高表达的mRNA组的OS和DFS较低表达的mRNA高(P<0.05). 高表达

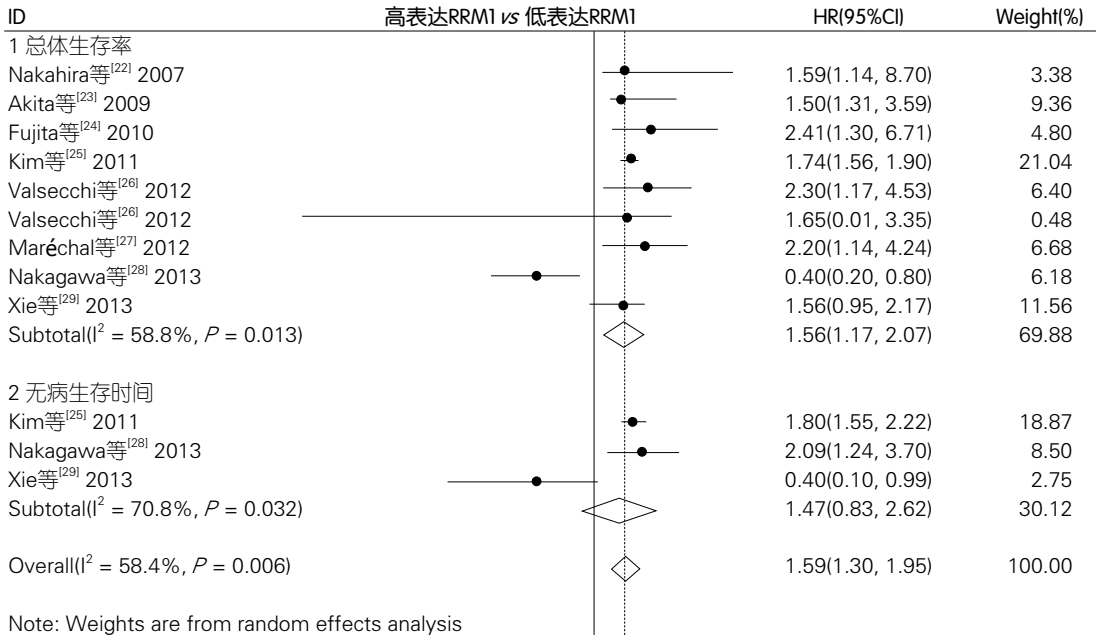

图 2 高低表达的RRM1与总体生存率和无病生存时间比较的森林图. RRM1: 核糖核苷酸还原酶M1.

应用要点

本研究表明: 今后在对于吉西他滨治疗胰腺癌的化疗效果检测中, 应检测血清中RRM1的表达水平, 其能够预测患者的生活质量和预后.

的RRM1蛋白质组的OS和DFS较低表达的蛋白质组高(P<0.05).

3 讨论

目前已经证实, 胰腺癌的5年生存率不足5%, 且每年有很多新增的胰腺癌患者, 且很多发现已处于疾病的发展期[1,2,30,31]. 这其中仅有不到20%的患者可以手术切除, 即使手术完全切除术, 其5年生存率仍然很低. 近年来, 术后以吉西他滨药物化疗方案作为治疗胰腺癌的方法被广泛的应用[9-11,32], 且具有较好的疗效. 特别是对于已经行根治术后的患者, 疗效更为肯定. 但即使是有化疗药物作为最新的治疗方案, 仍有很大一部分患者出现肿瘤的复发和转移. 因此需要早起的识别和评估化疗药物后的疗效. 目前已经有相关文献表明[12,13,33]: RRM1的表达可以作为评价吉西他滨药物治疗胰腺癌患者的术后疗效的指标之一. 本系统评价遂结合近年来的国内外的相关的关于RRM1在预测吉西他滨治疗胰腺癌的患者的疗效的相关文献, 研究RRM1的表达的高低与吉西他滨治疗胰腺癌的预后的关系.

本系统评价表明: 高表达的RRM1的患者的预后相关的因素如总体生存率和无病生存率高于低表达的RRM1患者(P<0.05). 在亚组分析中也表明, 在不同的人群中(亚洲人和高加索人), 高表达的RRM1的患者组的预后的总体生存率和无病生存率高于低表达的RRM1患者(P<0.05). 最后在根据不同检测方法分析, 高表达的RRM1(蛋白质、mRNA)的患者组的预后相对较好(P<0.05), 由上述试验结果表明: 在吉西他滨治疗胰腺癌患者中, 如果检测机体的核糖核苷酸还原酶M1的表达较高, 则说明预后较好, 相反, 如果检测机体的RRM1的表达较低, 或者检测不到, 则说明预后相对较差. 这主要的原因可能是[16,17,33]: RRM1是吉西他滨等实体肿瘤化疗药物的细胞结合位点; 在临床和实验室已经得出: 抑制RRM1的表达, 会降低吉西他滨的敏感性. 且本研究的亚组分析也表明应用吉西他滨治疗胰腺癌的患者中, 低表达的RRM1的预后相关较差. 但是目前其具体的影响机制尚不清楚, 这也是目前亟需解决的问题之一.

Meta分析作为一种观察性的研究, 有一定的局限性. 本系统评价有如下局限性: (1)对于本纳入研究, 纳入各研究的病例数, 样本量太少, 病例数不足以提供足够的临床证据来表明高表达的RRM1能显著性的增加吉西他滨治疗胰腺癌后的总体生存率和无病生存期; (2)本文的异质性较高, 即使在亚组分析后, 也有一定的异质性, 因此纳入病例人群地区的选择可能会影响实验结果; (3)不同地区胰腺癌的发病率的不同容易造成选择偏倚, 影响系统评价的结果; (4)RRM1的各地区的实验室检测方法的不

名词解释

DFS: 通常定义为随机选择某个时间直到肿瘤复发或因各种原因出现死亡. 一个重要的考虑是DFS延长是否意味着本质上的获益或仅仅是生存期延长的一个潜在替代指标.

表 2 纳入文献的质量评价

纳入文献	纳入病例数(n)		检测方法	结果	评分
	高表达RRM1	低表达RRM1			
Nakahira等[22] 2007	9(mRNA)	9(mRNA)	PCR	OS	6
Akita等[23] 2009	14(Protein)	14(Protein)	免疫组织化学法	OS	7
Fujita等[24] 2010	9(mRNA)	31(mRNA)	PCR	OS	7
Kim等[25] 2011	28(mRNA)	28(mRNA)	PCR	OS/DFS	6
Valsecchi等[26] 2012	32(Protein)	62(Protein)	免疫组织化学法	OS	8
Valsecchi等[26] 2012	10(mRNA)	39(mRNA)	PCR	OS	8
Maréchal等[27] 2012	207(Protein)	30(Protein)	免疫组织化学法	OS	7
Nakagawa等[28] 2013	44(Protein)	65(Protein)	免疫组织化学法	OS/DFS	8
Xie等[29] 2013	20(Protein)	15(Protein)	免疫组织化学法	OS/DFS	7
合计	373	293			

括号表示文献中RRM1的检测方法. OS: 总体生存率; DFS: 无病生存期; PCR: 聚合酶链反应; RRM1: 核糖核苷酸还原酶M1.

表 3 高低RRM1表达对吉西他滨治疗后患者的OS和DFS的比较的亚组分析

分类	OS			DFS		
	HR	95%CI	*P*值	HR	95%CI	*P*值
种族						
高加索人	1.45	0.70–2.20	<0.001	1.11	0.26–2.48	0.013
亚洲人	1.79	0.94–2.46	<0.001	2.09	0.81–3.24	0.001
RRM1检测方法						
mRNA	1.72	1.57–11.88	<0.001	1.80	1.47–2.12	<0.001
蛋白质	1.49	0.60–2.32	0.001	1.14	0.50–2.79	0.011

OS: 总体生存率; DFS: 无病生存期; RRM1: 核糖核苷酸还原酶M1; mRNA: 信使RNA.

同也会影响实验结果; (5)纳入文献中大部分为回顾性研究, 这个存在着实验对象的选择性偏倚, 影响最终试验结果; (6)本系统评价中选择的文献均为英文文献, 存在着文献选择的偏倚, 会影响试验结果.

总之, 在吉西他滨治疗的胰腺癌患者中, 高表达的RRM1较低表达的RRM1能显著性的提高患者的总体生存率和无病生存期. 可以作为临床上评估吉西他滨治疗胰腺癌患者预后的指标之一, 但是未来仍需大样本、多中心、前瞻性的随机对照试验来进一步验证RRM1的表达高低与吉西他滨治疗胰腺癌患者的疗效的关系.

4 参考文献

1 Singh S, Singh PP, Singh AG, Murad MH, McWilliams RR, Chari ST. Anti-diabetic medications and risk of pancreatic cancer in patients with diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 510-519; quiz 520 [PMID: 23399556 DOI: 10.1038/ajg.2013.7]

2 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]

3 Berrino F, De Angelis R, Sant M, Rosso S, Bielska-Lasota M, Coebergh JW, Santaquilani M. Survival for eight major cancers and all cancers combined for European adults diagnosed in 1995-99: results of the EUROCARE-4 study. *Lancet Oncol* 2007; 8: 773-783 [PMID: 17714991 DOI: 10.1016/S1470-2045(07)70245-0]

4 Conlon KC, Klimstra DS, Brennan MF. Long-term survival after curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. Clinicopathologic analysis of 5-year survivors. *Ann Surg* 1996; 223: 273-279 [PMID: 8604907 DOI: 10.1097/00000658-199603000-00007]

5 Sohn TA, Yeo CJ, Cameron JL, Koniaris L, Kaushal S, Abrams RA, Sauter PK, Coleman J, Hruban RH, Lillemoe KD. Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 567-579 [PMID: 11307091 DOI: 10.1016/S1091-255X(00)80105-5]

6 Ben Q, Xu M, Ning X, Liu J, Hong S, Huang W,

Zhang H, Li Z. Diabetes mellitus and risk of pancreatic cancer: A meta-analysis of cohort studies. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1928-1937 [PMID: 21458985 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.03.003]

7 Traverso LW. Pancreatic cancer: surgery alone is not sufficient. *Surg Endosc* 2006; 20 Suppl 2: S446-S449 [PMID: 16557419 DOI: 10.1007/s00464-006-0052-1]

8 Hsu CC, Herman JM, Corsini MM, Winter JM, Callister MD, Haddock MG, Cameron JL, Pawlik TM, Schulick RD, Wolfgang CL, Laheru DA, Farnell MB, Swartz MJ, Gunderson LL, Miller RC. Adjuvant chemoradiation for pancreatic adenocarcinoma: the Johns Hopkins Hospital-Mayo Clinic collaborative study. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 981-990 [PMID: 20087786 DOI: 10.1245/s10434-009-0743-7]

9 Wonganan P, Chung WG, Zhu S, Kiguchi K, Digiovanni J, Cui Z. Silencing of ribonucleotide reductase subunit M1 potentiates the antitumor activity of gemcitabine in resistant cancer cells. *Cancer Biol Ther* 2012; 13: 908-914 [PMID: 22785206 DOI: 10.4161/cbt.20843]

10 Oettle H, Post S, Neuhaus P, Gellert K, Langrehr J, Ridwelski K, Schramm H, Fahlke J, Zuelke C, Burkart C, Gutberlet K, Kettner E, Schmalenberg H, Weigang-Koehler K, Bechstein WO, Niedergethmann M, Schmidt-Wolf I, Roll L, Doerken B, Riess H. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 297: 267-277 [PMID: 17227978 DOI: 10.1001/jama.297.3.267]

11 Van Laethem JL, Hammel P, Mornex F, Azria D, Van Tienhoven G, Vergauwe P, Peeters M, Polus M, Praet M, Mauer M, Collette L, Budach V, Lutz M, Van Cutsem E, Haustermans K. Adjuvant gemcitabine alone versus gemcitabine-based chemoradiotherapy after curative resection for pancreatic cancer: a randomized EORTC-40013-22012/FFCD-9203/GERCOR phase II study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4450-4456 [PMID: 20837948 DOI: 10.1200/JCO.2010.30.3446]

12 Kanai M, Yoshimura K, Asada M, Imaizumi A, Suzuki C, Matsumoto S, Nishimura T, Mori Y, Masui T, Kawaguchi Y, Yanagihara K, Yazumi S, Chiba T, Guha S, Aggarwal BB. A phase I/II study of gemcitabine-based chemotherapy plus curcumin for patients with gemcitabine-resistant pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2011; 68: 157-164 [PMID: 20859741 DOI: 10.1007/s00280-010-1470-2]

13 Kim ST, Lim do H, Jang KT, Lim T, Lee J, Choi YL, Jang HL, Yi JH, Baek KK, Park SH, Park YS, Lim HY, Kang WK, Park JO. Impact of KRAS mutations on clinical outcomes in pancreatic cancer patients treated with first-line gemcitabine-based chemotherapy. *Mol Cancer Ther* 2011; 10: 1993-1999 [PMID: 21862683 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0269]

14 Smith BD, Karp JE. Ribonucleotide reductase: an old target with new potential. *Leuk Res* 2003; 27: 1075-1076 [PMID: 12921942 DOI: 10.1016/S0145-2126(03)00248-0]

15 Kwon WS, Rha SY, Choi YH, Lee JO, Park KH, Jung JJ, Kim TS, Jeung HC, Chung HC. Ribonucleotide reductase M1 (RRM1) 2464G> A polymorphism shows an association with gemcitabine chemosensitivity in cancer cell lines. *Pharmacogenet Genomics* 2006; 16: 429-438 [PMID: 16708051 DOI: 10.1097/01.fpc.0000204999.29924.da]

16 Jordheim LP, Sève P, Trédan O, Dumontet C. The ribonucleotide reductase large subunit (RRM1) as a predictive factor in patients with cancer. *Lancet Oncol* 2011; 12: 693-702 [PMID: 21163702 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70244-8]

17 Ohtaka K, Kohya N, Sato K, Kitajima Y, Ide T, Mitsuno M, Miyazaki K. Ribonucleotide reductase subunit M1 is a possible chemoresistance marker to gemcitabine in biliary tract carcinoma. *Oncol Rep* 2008; 20: 279-286 [PMID: 18636187]

18 Bepler G, Kusmartseva I, Sharma S, Gautam A, Cantor A, Sharma A, Simon G. RRM1 modulated in vitro and in vivo efficacy of gemcitabine and platinum in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4731-4737 [PMID: 16966686 DOI: 10.1200/JCO.2006.06.1101]

19 Ueno H, Kiyosawa K, Kaniwa N. Pharmacogenomics of gemcitabine: can genetic studies lead to tailor-made therapy? *Br J Cancer* 2007; 97: 145-151 [PMID: 17595663 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603860]

20 Moher D, Liberati A, Tetzlaff J, Altman DG. Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses: the PRISMA statement. *Int J Surg* 2010; 8: 336-341 [PMID: 20171303 DOI: 10.1016/j.ijsu.2010.02.007]

21 Stang A. Critical evaluation of the Newcastle-Ottawa scale for the assessment of the quality of nonrandomized studies in meta-analyses. *Eur J Epidemiol* 2010; 25: 603-605 [PMID: 20652370 DOI: 10.1007/s10654-010-9491-z]

22 Nakahira S, Nakamori S, Tsujie M, Takahashi Y, Okami J, Yoshioka S, Yamasaki M, Marubashi S, Takemasa I, Miyamoto A, Takeda Y, Nagano H, Dono K, Umeshita K, Sakon M, Monden M. Involvement of ribonucleotide reductase M1 subunit overexpression in gemcitabine resistance of human pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1355-1363 [PMID: 17131328 DOI: 10.1002/ijc.22390]

23 Akita H, Zheng Z, Takeda Y, Kim C, Kittaka N, Kobayashi S, Marubashi S, Takemasa I, Nagano H, Dono K, Nakamori S, Monden M, Mori M, Doki Y, Bepler G. Significance of RRM1 and ERCC1 expression in resectable pancreatic adenocarcinoma. *Oncogene* 2009; 28: 2903-2909 [PMID: 19543324 DOI: 10.1038/onc.2009.158]

24 Fujita H, Ohuchida K, Mizumoto K, Itaba S, Ito T, Nakata K, Yu J, Kayashima T, Souzaki R, Tajiri T, Manabe T, Ohtsuka T, Tanaka M. Gene expression levels as predictive markers of outcome in pancreatic cancer after gemcitabine-based adjuvant chemotherapy. *Neoplasia* 2010; 12: 807-817 [PMID: 20927319 DOI: 10.1593/neo.10458]

25 Kim R, Tan A, Lai KK, Jiang J, Wang Y, Rybicki LA, Liu X. Prognostic roles of human equilibrative transporter 1 (hENT-1) and ribonucleoside

同行评价

文章撰写规范, 统计方法正确, 结果可靠, 结论可信, 检测RRM1表达可以作为临床上评估吉西他滨治疗胰腺癌患者预后的指标之一.

reductase subunit M1 (RRM1) in resected pancreatic cancer. *Cancer* 2011; 117: 3126-3134 [PMID: 21264835 DOI: 10.1002/cncr.25883]

26 Valsecchi ME, Holdbrook T, Leiby BE, Pequignot E, Littman SJ, Yeo CJ, Brody JR, Witkiewicz AK. Is there a role for the quantification of RRM1 and ERCC1 expression in pancreatic ductal adenocarcinoma? *BMC Cancer* 2012; 12: 104 [PMID: 22436573 DOI: 10.1186/1471-2407-12-104]

27 Maréchal R, Bachet JB, Mackey JR, Dalban C, Demetter P, Graham K, Couvelard A, Svrcek M, Bardier-Dupas A, Hammel P, Sauvanet A, Louvet C, Paye F, Rougier P, Penna C, André T, Dumontet C, Cass CE, Jordheim LP, Matera EL, Closset J, Salmon I, Devière J, Emile JF, Van Laethem JL. Levels of gemcitabine transport and metabolism proteins predict survival times of patients treated with gemcitabine for pancreatic adenocarcinoma. *Gastroenterology* 2012; 143: 664-674.e1-6 [PMID: 22705007 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.006]

28 Nakagawa N, Murakami Y, Uemura K, Sudo T, Hashimoto Y, Kondo N, Sueda T. Combined analysis of intratumoral human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT1) and ribonucleotide reductase regulatory subunit M1 (RRM1) expression is a powerful predictor of survival in patients with pancreatic carcinoma treated with adjuvant gemcitabine-based chemotherapy after operative resection. *Surgery* 2013; 153: 565-575 [PMID: 23253379 DOI: 10.1016/j.surg.2012.10.010]

29 Xie H, Jiang W, Jiang J, Wang Y, Kim R, Liu X, Liu X. Predictive and prognostic roles of ribonucleotide reductase M1 in resectable pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* 2013; 119: 173-181 [PMID: 22736490 DOI: 10.1002/cncr.27715]

30 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809]

31 Vincent A, Herman J, Schulick R, Hruban RH, Goggins M. Pancreatic cancer. *Lancet* 2011; 378: 607-620 [PMID: 21620466]

32 Regine WF, Winter KA, Abrams RA, Safran H, Hoffman JP, Konski A, Benson AB, Macdonald JS, Kudrimoti MR, Fromm ML, Haddock MG, Schaefer P, Willett CG, Rich TA. Fluorouracil vs gemcitabine chemotherapy before and after fluorouracil-based chemoradiation following resection of pancreatic adenocarcinoma: a randomized controlled trial. *JAMA* 2008; 299: 1019-1026 [PMID: 18319412 DOI: 10.1001/jama.299.9.1019]

33 Nakano Y, Tanno S, Koizumi K, Nishikawa T, Nakamura K, Minoguchi M, Izawa T, Mizukami Y, Okumura T, Kohgo Y. Gemcitabine chemoresistance and molecular markers associated with gemcitabine transport and metabolism in human pancreatic cancer cells. *Br J Cancer* 2007; 96: 457-463 [PMID: 17224927 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603559]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3797

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3797-3803
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

内脏假性动脉瘤的血管内栓塞治疗42例

陈鹏飞, 段旭华, 任建庄, 韩新巍, 梁惠民, 郑传胜

陈鹏飞, 段旭华, 任建庄, 韩新巍, 郑州大学第一附属医院放射介入科 河南省郑州市 450052
梁惠民, 郑传胜, 华中科技大学附属协和医院放射科 湖北省武汉市 430022
陈鹏飞, 主要从事介入放射学的研究.
国家自然科学基金资助项目, No. 81401494
作者贡献分布: 课题设计由陈鹏飞、段旭华、任建庄及韩新巍共同完成; 文章涉及的病例手术操作由段旭华、任建庄、韩新巍、梁惠民及郑传胜完成; 图片搜集由陈鹏飞完成; 论文写作及修改由陈鹏飞、段旭华及任建庄完成.
通讯作者: 段旭华, 主治医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院放射介入科. xuhuaduan@163.com
电话: 0371-66862172
收稿日期: 2015-05-09 修回日期: 2015-07-03
接受日期: 2015-07-13 在线出版日期: 2015-08-18

Endovascular treatment of visceral artery pseudoaneurysms: Analysis of 42 cases

Peng-Fei Chen, Xu-Hua Duan, Jian-Zhuang Ren, Xin-Wei Han, Hui-Min Liang, Chuan-Sheng Zheng

Peng-Fei Chen, Xu-Hua Duan, Jian-Zhuang Ren, Xin-Wei Han, Department of Interventional Radiology, the First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China
Hui-Min Liang, Chuan-Sheng Zheng, Department of Radiology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81401494
Correspondence to: Xu-Hua Duan, Attending Physician, Department of Interventional Radiology, the First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. xuhuaduan@163.com
Received: 2015-05-09 Revised: 2015-07-03
Accepted: 2015-07-13 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To determine the clinical features and endovascular treatment of visceral artery pseudoaneurysms (VAPA).

METHODS: Clinical data and our experience with interventional treatment of 42 patients with VAPA were retrospectively analyzed. Follow-up was carried out *via* assessment of contrast-enhanced computed tomography or computed tomography angiography images.

RESULTS: Endovascular treatment was technically successful in 38 (90.4%) patients, of whom one died of multisystem organ failure 28 d after intervention. The 30 d mortality rate was 2.4% (1/42). Four patients required secondary interventions because of rebleeding and were successfully treated by reintervention. In the follow-up period, 17 patients suffering from cancer died from 1 to 12 mo after embolization because of disease progression (n = 8), multisystem organ failure (n = 7), myocardial infarction (n = 1), and septic shock (n = 1). Four patients suffered partial splenic infarction and post-embolization syndrome. During follow-up, no patient had hepatic insufficiency or bowel ischemia; no VAPA occurred in all patients.

CONCLUSION: Endovascular management is minimally invasive and highly successful in treating VAPA and particularly useful in poor surgical candidates.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Visceral artery pseudoaneurysm; Endovascular treatment; Embolization; Coil

Chen PF, Duan XH, Ren JZ, Han XW, Liang HM,

背景资料
内脏动脉假性动脉瘤(visceral artery pseudoaneurysms, VAPA)的传统治疗方法为外科手术, 由于出血性休克、血流动力学不稳定、炎症、感染、外科手术后、医源性因素, VAPA患者大多无外科手术指征. 随着影像设备和诊断技术的更新和普及, VAPA的检出率明显提高, 可以及早的利用手术治疗.

同行评议者
李家平, 教授, 主任医师, 中山大学附属第一医院肿瘤介入科

研发前沿
目前计算机断层扫描(computed tomography, CT)增强和CT血管造影(CT angiography, CTA)技术能对VAPA的位置、类型、出入瘤动脉及侧枝循环代偿情况做出充分的判断和评估, 能指导临床制定快速有效控制VAPA方案.

Zheng CS. Endovascular treatment of visceral artery pseudoaneurysms: Analysis of 42 cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3797-3803 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3797.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3797

摘要

目的: 分析内脏假性动脉瘤(visceral artery pseudoaneurysms, VAPA)的临床特征与介入栓塞的应用价值.

方法: 回顾性总结42例内脏假性动脉瘤患者的临床特征和介入栓塞治疗经验. 术后均通过复查增强计算机断层扫描(computed tomography, CT)或CT血管造影(CT angiography, CTA)进行随访.

结果: 38例患者VAPA成功栓塞, 介入手术成功率为90.4%(38/42); 其中1例术后28 d死于多系统器官衰竭, 术后30 d内死亡率是2.4%(1/42). 4例再次出血患者需行二次介入手术, 术后出血均停止. 术后1-12 mo共17例肿瘤患者死亡, 死亡率为40.5%, 死因分别为原发病进展(n = 8), 多器官动能衰竭(n = 7), 心梗(n = 1)和感染性休克(n = 1). 4例需脾栓塞的患者出现栓塞后综合征. 在随访期间, 所有患者均无肝功能的变化和肠缺血, VAPA均未复发.

结论: 介入栓塞VAPA创伤小、成功率高, 尤其适用于外科手术禁忌的患者.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 内脏动脉假性动脉瘤; 血管内治疗; 栓塞; 弹簧圈

核心提示: 本文回顾性分析42例行介入栓塞治疗的VAPA患者的临床特征和治疗方法, 第一次血管内治疗技术成功率90.4%(38/42), 失败率9.6%(4/42), 二次成功率是100%.

陈鹏飞, 段旭华, 任建庄, 韩新巍, 梁惠民, 郑传胜. 内脏假性动脉瘤的血管内栓塞治疗42例. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3797-3803 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3797.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3797

0 引言

腹腔干、肠系膜上动脉主干及其分支上的假性动脉瘤称为内脏动脉假性动脉瘤(visceral artery pseudoaneurysms, VAPA)[1]. VAPA起病隐匿、发病率低, 一旦合并假性动脉瘤腹膜内或腹膜后破裂出血均可危及生命[1,2]. 随着影像诊断技术的发展和常规使用, VAPA的检出率明显提高[3,4]. VAPA诊断是通过分析增强计算机断层扫描(computed tomography, CT)、CT血管造影(CT angiography, CTA)图像和数字减影血管造影(digtal subtraction angiography, DSA)确定的. 在增强CT图像上, 假性动脉瘤表现为从供瘤动脉侧面发出的高密度、壁光滑、边界清楚的动脉瘤瘤体, 与动脉期供瘤动脉同时强化, 持续至静脉期才缓慢消失. 假性动脉瘤的远端和近端供血动脉可经CTA或DSA图像证实[3,4]. VAPA的传统治疗方法为切除、搭桥和简单的结扎[5]; 然而目前介入栓塞治疗因创伤小、适应症广、成功率高和复发率小, 已逐渐取代外科成为治疗VAPA的新方法[3,4,6]. 本研究回顾性分析介入治疗42例VAPA的经验, 评价介入栓塞治疗VAPA可行性、有效性和安全性.

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2009-01/2013-12收治的42例诊断为VAPA并行介入栓塞治疗的患者. 42例患者中, 男性34例, 女性8例, 年龄22-75岁, 平均61岁. 42例患者就诊时均有不同程度的临床症状, 其中有37例表现为腹痛, 33例表现为恶心和/或呕吐, 20例表现为黑粪症和/或咯血, 15例局部触诊时有明显搏动感, 8例有胆道出血, 2例有阻塞性黄疸, 2例有背部或腰痛. 10例患者因大量出血而导致血流动力学不稳定, 8例患者有失血性休克表现. 本组研究使用各型直径0.0889 cm弹簧圈和0.0457 cm弹簧圈(Cook公司生产), 350-560 μm的明胶海绵颗粒(杭州爱立康公司生产)、3 F微导管和5 F Yashiro导管(Terumo公司生产).

1.2 方法

1.2.1 诊断: VAPA诊断是通过分析增强CT、CTA图像和DSA确定的. 因10例血流动力学不稳定的患者需急诊血管造影外, 其余32例患者均先增强CT或CTA明确VAPA的诊断; 其中28例患者行对比增强CT扫描, 4例患者行CTA检查.

1.2.2 治疗: 采用Seldinger技术经皮穿刺股动脉, 置入5 F导管鞘. 引入5 F Yashiro(Terumo)

导管分别行腹腔干动脉造影, 肠系膜上动脉造影以明确靶动脉[3,4]. 如果没找到靶动脉, 则行超选择性肝动脉、脾动脉及肠系膜上动脉分支造影, 寻找靶动脉. 采用3 F微导管行超选择性造影可识别较小的靶血管. 对于累及大动脉的VAPA采用弹簧圈栓塞假性动脉瘤的近端和远端动脉, 以消除流向假性动脉瘤的正向和逆行血流[7], 称为VAPA隔绝方法A. 对于肝内和脾内的VAPA, 因无明显侧枝循环的小动脉, 采用明胶海绵颗粒阻断VAPA的远端分支血管, 再采用弹簧圈阻断较大的近端动脉[4], 称为隔绝方法B. 治疗成功的指征为最后的血管造影中、随访的CT或CTA中VAPA均完全消失.

1.2.3 *术后处理及随访*: 介入术后保留导管鞘1-3 d, 观察是否有出血征象, 若无则拔除导管鞘. 对于有感染症状者予以抗炎治疗, 无感染症状者预防性抗炎治疗3-7 d. 记录术后30 d内, 并发症、VAPA复发率和死亡率. 术后1和12 mo随访增强CT图像上VAPA内无对比剂填充时, 可定义为VAPA治疗成功.

2 结果

2.1 *临床特征与影像学表现* 患者的临床特征如表1. 在围手术期和介入治疗过程中患者均无死亡. 42例VAPA患者DSA诊断明确. 28例患者行CT检查中25名被诊断出患有VAPA, 阳性诊断率25/28(89.3%), 另3例患者VAPA为DSA诊断; 而4例患者行CTA检查(图1A, B)时均被诊断出患有VAPA, 阳性诊断率(100%), 假性动脉瘤的远端和近端供血动脉可经CTA图像证实(图1B, C). 增强CT或CTA检查后1 d, 32例病情稳定患者直接行介入栓塞治疗; 10例患者输血治疗后血流动力学仍不稳定, 血管造影明确VAPA的诊断后行介入栓塞治疗. DSA发现假性动脉瘤的直径范围是0.4-9.6 cm, 平均4.9 cm±3.3 cm. VAPA在CT增强、CTA及DSA动脉早期即出现对比剂外溢, 形成类圆形、杵头状、不规则分叶状动脉腔外囊状影, 持续至静脉期才缓慢消失(图1-3). 42例均为单发, 瘤体最大径0.5-9.6 cm,平均约1.5 cm. 22例为类圆形, 16例为类椭圆形, 2例为杵头形, 2例为葫芦形. 38例密度均匀, 4例呈分层状密度不均.

2.2 *治疗结果* 42例患者均经导管采用隔离技术成功栓塞VAPA; 22例患者为隔离方法A; 20例患者为隔离方法B. 血管内治疗在技术成功率90.4%(38/42), 失败率9.6%例(4/42). 4例患者因再发出血需要进行二次介入手术, 均成功止血, 成功率是100%. 第1例为急性胰腺炎患者, 介入术后10 d再次出血; 第2次介入术中, DSA显示脾门处脾动脉残存部分新的VAPA形成, 采用方法A栓塞. 第2例为胰腺癌行胰头部切除术患者, VAPA位于胰十二指肠动脉, 介入术后7 d再发出血; 第2次介入术中, DSA显示胃十二指肠动脉残根部出血, 采用方法A栓塞. 第3例为肝门胆管癌外科手术患者, VAPA位于于肝内肝动脉, 介入术后6 d再发出血, DSA显示VAPA位于胃十二指肠动脉一个分支, 采用方法B栓塞. 第4例为急性重症胰腺炎患者, VAPA位于脾动脉主干, 介入术后9 d后再发出血; DSA显示一个脾内脾动脉假动脉瘤形成, 采用方法A栓塞. 该例患者介入术后39 d死于胰腺坏死引起的感染导致的多器官功能衰竭.

对两例特殊患者, 本研究采用了特殊栓塞方法. 第1例患者VAPA位于胃十二指肠动脉, 胃十二指肠动脉和肠系膜上动脉分支均参与供血(图2A, B), 前者是主要的供血动脉和后者一分支是次要的供血动脉. 超选择胃十二指肠动脉和肠系膜上动脉分支采用隔离法A栓塞VAPA. 第2例患者为CTA显示在脾门附近可见一个巨大的脾动脉假性动脉瘤, 先采用弹簧圈栓塞假性动脉瘤远端动脉及邻近脾脏分支动脉, 再采用弹簧圈栓塞假性动脉瘤近端动脉.

2.3 *术后并发症与随访* 4例脾栓塞患者, 术后均出现栓塞术后综合症, 给予对症处理后均缓解. 随访期间, 所有患者均未出现肝脏功能异常、胃肠道缺血坏死等严重的栓塞并发症. 2例腹腔干假性动脉瘤患者, 1例介入术后28 d死于多器官功能衰竭和1例患者介入术后45 d死于感染性休克, 术后30 d内死亡率为2.4%(1/42). 1例晚期胰腺癌患者成功行肝动脉VAPA栓塞术, 术后49 d死于多器官功能衰竭. 术后39-325 d 17例患者死亡, 所有死亡原因均与VAPA无关; 其中8例死于恶性肿瘤进展, 7例死于多器官功能衰竭, 1例死于心肌梗死, 1例死于感染性休克.

3 讨论

假性动脉瘤是由腹内或腹膜后炎症、创伤或

相关报道

VAPA的传统治疗方法为切除、搭桥和简单的结扎, 介入栓塞治疗因安全、快速、创伤小、适应症广、成功率高和复发率小的特点, 已成为治疗腹部真性动脉瘤和动脉性消化道出血的重要治疗手段.

创新盘点

本文率先对采用介入栓塞治疗VAPA这一新技术, 进行较为详细的研究, 具有较好的创新性.

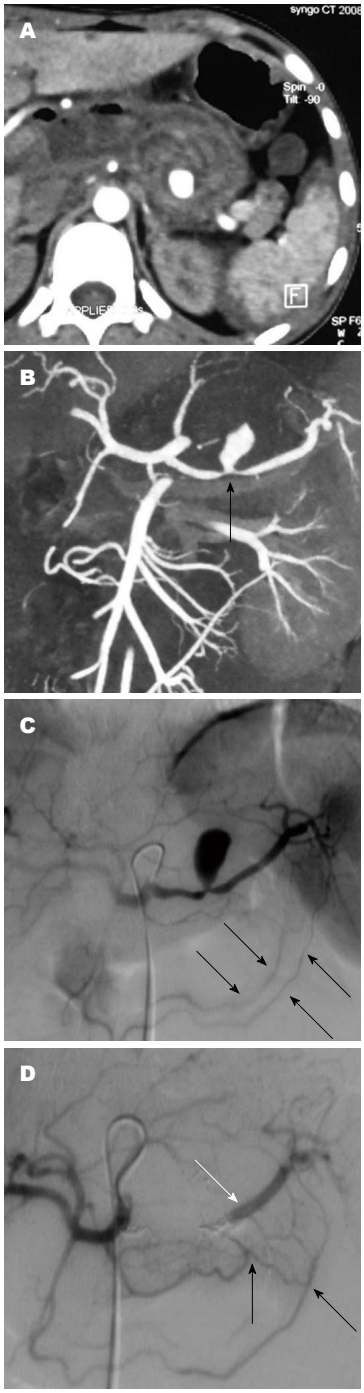

图 1　男, 28岁, 发热2天, 腹痛1天, 以胰腺炎病史急诊入院, 采用隔绝方法A治疗. A: CT增强显示胰腺体部一团块状不均质混杂密度影, 其内可见类圆形造影剂潴留区; B: CTA显示脾动脉主干与VAPA(黑箭头)的关系; C: DSA造影显示支持CTA图像诊断. 可见胃右动脉和胃网膜右动脉动脉(黑箭头)参与脾脏供血; D: 采用隔离法A栓塞VAPA后, 复查造影显示VAPA栓塞完全, VAPA远端脾动脉主干显影(白箭头), 参与脾脏供血的胃右动脉和胃网膜右动脉动脉(黑箭头)较前增粗. CT: 计算机断层扫描; CTA: CT血管造影; VAPA: 内脏假性动脉瘤.

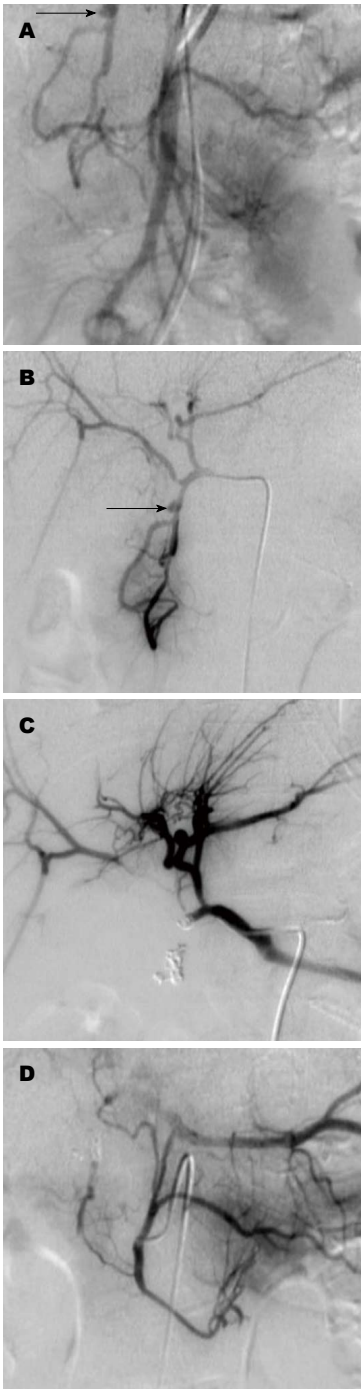

图 2　男, 22岁, 急诊骨科手术后16天出现大呕血和黑便, 采用隔绝方法A治疗. A、B: 血管造影显示VAPA(黑箭头)位于胃十二指肠动脉, 肠系膜上动脉一分支也参与供血, 胃十二指肠动脉是主要供血动脉; C、D: 肠系膜上动脉造影明确胰十二指肠动脉下支为VAPA的供瘤动脉后, 采用隔离法A栓塞VAPA供血及引流动脉, 胃十二指肠与肠系膜上动脉复查造影VAPA栓塞完全. VAPA: 内脏假性动脉瘤.

医源性因素等引起动脉壁连续性的中断造成的[3,8], 是由单层纤维组织包绕的湍流血液的囊. 假性动脉瘤自发破裂的风险非常高[9], 因此早期诊断和后续治疗至关重要. 增强CT被认为诊断VAPA的首选影像学检查, 并可推测VAPA的病因[9]. CTA不仅可以明确假性动脉瘤部位, 显示VAPA的载瘤动脉并能判定瘤底的宽窄[3]. 对于病情稳定患者, CT增强和CTA可

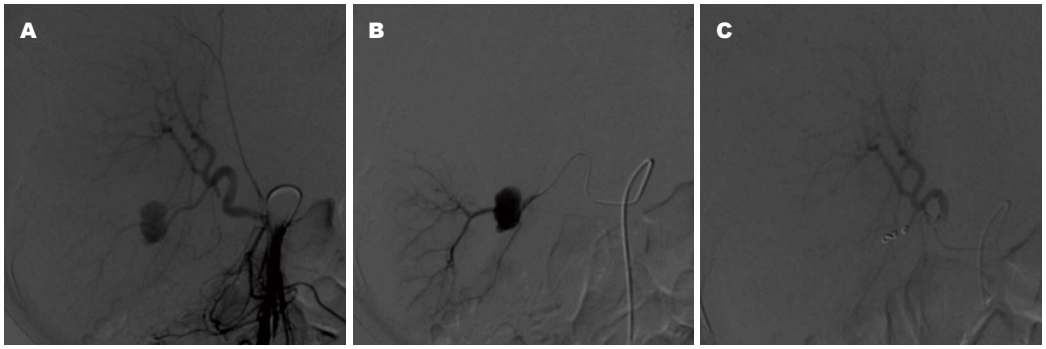

图 3　男, 32岁, 外伤肝破裂外科修补术后3 d, 腹腔引流管引流血性液体, 采用隔绝方法B治疗. A: 造影显示肝动脉起自肠系膜上动脉, 可见一椭圆形VAPA位于肝右动脉分支; B: 微导管超选择造影清楚显示VAPA近端及远端供血动脉; C: 采用隔离法B栓塞VAPA近端及远端供血动脉后, 复查造影VAPA栓塞完全. VAPA: 内脏假性动脉瘤.

应用要点

本文对42例行介入治疗的VAPA患者进行回顾性分析, 初步探讨了VAPA的临床特征和介入治疗疗效, 其研究结果对临床工作有一定参考价值.

表 1　VAPA位置、病因及临床特征

VAPA位置	病例数n(%)	性别(男/女)	VAPA病因(n)
脾外脾动脉	10(23.8)	7/3	急性胰腺炎坏死组织清除术(5)
			慢性胰腺炎(2)
			胰十二指肠切除术(2)
			外科术后感染(1)
脾内脾动脉	4(9.5)	2/2	外伤(2)
			急性胰腺炎坏死组织清除术(2)
肝外肝动脉	5(11.9)	4/1	胰腺炎(3)
			胆肠吻合术(2)
肝内肝动脉	5(11.9)	3/2	外伤 (2)
			胆囊切除术(1)
			PTCD(1)
			TACE (1)
胃十二指肠动脉	10(23.8)	6/4	外科术后感染(6)
			胰腺炎(2)
			外科术后应激性溃疡(1)
			外科术后应激性复合性溃疡(1)
腹腔干	3(7.1)	2/1	胰十二指肠切除术(3)
胰十二指肠动脉	2(4.8)	1/1	胰腺炎(1)
			外科术后感染 (1)
胃左动脉	2(4.8)	2/0	胰十二指肠切除术(2)
肠系膜上动脉	1(2.4)	1/0	胰十二指肠切除术(1)

VAPA: 内脏假性动脉瘤; PTCD: 经皮肝内胆管引流术; TACE: 经动脉化疗栓塞术.

以在有创性的血管造影之前, 能明确诊断并制订治疗方案. 然而对于血流动力学不稳定或者失血性休克的患者, 应该避免增强CT或CTA检查以减少对比剂使用量并节约时间, 急诊行诊断性血管造影. 本组病例中23.8%(10/42)的病情危重患者急诊行血管造影剂并后续介入治疗.

医源性操作是假性动脉瘤发生的首要因素, 手术、活检术及各种血管腔内治疗可直接损伤动脉血管或术后感染间接形成假性动脉瘤[3]. 本研究中, 医源性原因占71.4%(30/42). 由于医源性因素同时合并出血性休克、炎症及感染等并发症, 所有VAPA患者均暂无外科手术指征. 42例VAPA患者第一次介入手术成功率为90.4%, 第二次介入手术的成功率是100%, 术后患者均未发生肝功能不全、肠坏死等与栓塞相关的并发症. 介入栓塞治疗VAPA能最大限度保护器官功能并避免并发症发生, 为无

同行评价
本文初步探讨了介入治疗内脏假性动脉瘤这一新技术, 其研究结果有利于指导临床对假性动脉瘤的治疗.

手术指征的患者提供治愈的可能[10].

以腹腔干、肠系膜上动脉主干及其分支为主的上消化道动脉, 有丰富的侧支循环, 该处的VAPA的供血动脉有大量的侧支血管. Belli等[11]建议栓塞荷瘤动脉的近端和远端, 这样可以确保不会有侧支循环向VAPA回流供血. 介入栓塞治疗目的是从动脉循环中完全消除VAPA, 同时在隔离VAPA的治疗过程中必须确保有侧支循环持续灌注终末器官, 以防止因过度栓塞导致终末器官缺血和梗死等严重并发症的发生[12]. 本组研究中, 针对位于肝外和脾外的VAPA, 均采用隔离法A, 栓塞肝动脉和脾动脉, 但肝脏和脾脏均可以通过诸如: 胃左动脉、胃短动脉、膈动脉等侧支循环有效灌注. 对于肝内动脉、脾内动脉、胃十二指肠动脉及胃左动脉远端分支的VAPA, 采用隔离法B旷置栓塞VAPA, 因其周边侧枝循环丰富, 重建的侧枝血流能确保终末器官活性, 并保障VAPA无血流供应[3,4].

上消化道的丰富侧支循环同样能保证栓塞腹腔干的同时, 肝脏、脾脏、胰腺及胃肠道获得血液供应. Waldenberger等[13]建议通过弹簧圈栓塞腹腔干治疗动脉瘤是可行的, 且发生缺血的风险较低. 然而, 栓塞之前血管造影应明确腹腔干周围存在丰富的侧支循环, 栓塞VAPA远端供血动脉时应避免栓塞胃十二指肠动脉, 以确保肝脏侧枝循环的开通. 本研究中, 先将弹簧圈放置在远端动脉及VAPA的基底部并栓塞近端动脉使三个腹腔干假性动脉瘤被成功隔离.

胰腺炎导致胰腺消化酶溢出从而破坏邻近动脉壁, 导致脾动脉、肝动脉、胃十二指肠动脉、胰十二指肠动脉假性动脉瘤的形成[4,5,14]. 本研究中, 胰腺炎相关病例占40.5%(17/42), 4例二次介入手术的患者中, 3例为急性胰腺炎. 针对急性胰腺炎并发VAPA, 我们认为应采用隔离方法和放弃使用支架治疗腹部大动脉的假性动脉瘤, 因为胰腺炎症和感染的风险将增加支架两端新的假动脉瘤形成的机会[15]. 本研究中上消化道术后由血培养证实感染病例占19%(8/42). 两例再次出血患者中, 1例由于吻合口瘘导致术后感染; 另1例因胰腺坏死导致感染. 第二次造影时发现第1例患者发生胃十二指肠动脉分支的出血; 第2例患者发现一个新形成的VAPA. 尽管第二次介入手术成功, 但第2例患者死于因感染导致的多器官功能衰竭. 因此对于胰腺炎相关和上消化道手术的病例, 栓塞术后早期的、有效地控制胰腺炎和腹部感染, 能够有效地预防再出血和新VAPA的形成[16].

总之, CT和CTA能快速、无创地诊断并定位VAPA. 根据患者临床特征和VAPA影像表现, 选择合适的介入栓塞方案能安全、有效地治疗VAPA, 尤其是对于缺乏手术适应征及肿瘤术后的患者. 控制胰腺炎及外科术后感染能预防介入栓塞术后再出血和新的VAPA形成.

4 参考文献

1 Roberts KJ, McCulloch N, Forde C, Mahon B, Mangat K, Olliff SP, Jones RG. Emergency treatment of haemorrhaging coeliac or mesenteric artery aneurysms and pseudoaneurysms in the era of endovascular management. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2015; 49: 382-389 [PMID: 25736287]

2 Jesinger RA, Thoreson AA, Lamba R. Abdominal and pelvic aneurysms and pseudoaneurysms: imaging review with clinical, radiologic, and treatment correlation. *Radiographics* 2013; 33: E71-E96 [PMID: 23674782]

3 Keeling AN, McGrath FP, Lee MJ. Interventional radiology in the diagnosis, management, and follow-up of pseudoaneurysms. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2009; 32: 2-18 [PMID: 18923864 DOI: 10.1007/s00270-008-9440-3]

4 Saad NE, Saad WE, Davies MG, Waldman DL, Fultz PJ, Rubens DJ. Pseudoaneurysms and the role of minimally invasive techniques in their management. *Radiographics* 2005; 25 Suppl 1: S173-S189 [PMID: 16227490 DOI: 25/suppl_1/S173]

5 Gabelmann A, Görich J, Merkle EM. Endovascular treatment of visceral artery aneurysms. *J Endovasc Ther* 2002; 9: 38-47 [PMID: 11958324]

6 Pitton MB, Dappa E, Jungmann F, Kloeckner R, Schotten S, Wirth GM, Mittler J, Lang H, Mildenberger P, Kreitner KF, Oberholzer K, Dueber C. Visceral artery aneurysms: Incidence, management, and outcome analysis in a tertiary care center over one decade. *Eur Radiol* 2015; 25: 2004-2014 [PMID: 25693662]

7 Nosher JL, Chung J, Brevetti LS, Graham AM, Siegel RL. Visceral and renal artery aneurysms: a pictorial essay on endovascular therapy. *Radiographics* 2006; 26: 1687-1704; quiz 1687 [PMID: 17102044 DOI: 10.1148/rg.266055732]

8 Balderi A, Antonietti A, Ferro L, Peano E, Pedrazzini F, Fonio P, Grosso M. Endovascular treatment of visceral artery aneurysms and pseudoaneurysms: our experience. *Radiol Med* 2012; 117: 815-830 [PMID: 22228131 DOI: 10.1007/s11547-011-0776-4]

9 Ikeda O, Nakasone Y, Tamura Y, Yamashita Y. Endovascular management of visceral artery pseudoaneurysms: transcatheter coil embolization

using the isolation technique. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010; 33: 1128-1134 [PMID: 20857110 DOI: 10.1007/ s00270-010-9973-0]

10 Radeleff B, Noeldge G, Heye T, Schlieter M, Friess H, Richter GM, Kauffmann GW. Pseudoaneurysms of the common hepatic artery following pancreaticoduodenectomy: successful emergency embolization. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 129-132 [PMID: 16933158]

11 Belli AM, Markose G, Morgan R. The role of interventional radiology in the management of abdominal visceral artery aneurysms. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2012; 35: 234-243 [PMID: 21674280 DOI: 10.1007/s00270-011-0201-3]

12 Loffroy RF, Abualsaud BA, Lin MD, Rao PP. Recent advances in endovascular techniques for management of acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *World J Gastrointest Surg* 2011; 3: 89-100 [PMID: 21860697]

13 Waldenberger P, Bendix N, Petersen J, Tauscher T, Glodny B. Clinical outcome of endovascular therapeutic occlusion of the celiac artery. *J Vasc Surg* 2007; 46: 655-661 [PMID: 17764875]

14 Yamamoto S, Hirota S, Maeda H, Achiwa S, Arai K, Kobayashi K, Nakao N. Transcatheter coil embolization of splenic artery aneurysm. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2008; 31: 527-534 [PMID: 18040739 DOI: 10.1007/s00270-007-9237-9]

15 Duan XH, Ren JZ, Zhou GF, Zheng CS, Liang HM, Dong XJ, Feng GS. Clinical features and endovascular treatment of visceral artery pseudoaneurysms. *Ann Vasc Surg* 2015; 29: 482-490 [PMID: 25595107]

16 Jagad RB, Koshariya M, Kawamoto J, Chude GS, Neeraj RV, Lygidakis NJ. Postoperative hemorrhage after major pancreatobiliary surgery: an update. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 729-737 [PMID: 18613444]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3804

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3804-3808
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

医护一体化管理对剖宫产手术患者发生肠黏连的改善效果

刘俊华, 刘 彦, 黄巧玲, 白雅娜

背景资料
肠黏连是剖宫产中较常见也是较严重的并发症, 肠黏连不仅会影响患者术后康复, 延长患者住院时间, 增加患者医疗费用, 同时肠黏连可发展为肠黏连性梗阻, 危及患者生命, 因此术后提高剖宫产患者护理质量, 尽早恢复患者胃肠功能, 积极预防肠黏连的发生对促进患者术后康复具有积极的作用, 既往医护为了更好地为剖宫产产妇提供护理服务, 改善传统查房弊端, 有助于提高产妇产后康复.

同行评议者
孙晓美, 副主任护师, 东南大学附属中大医院消化科; 姚丽文, 副主任护师, 上海市普陀区中心医院护理部

刘俊华, 刘彦, 黄巧玲, 白雅娜, 郑州市中医院妇产科 河南省郑州市 450003
刘俊华, 主管护师, 主要从事临床工作的研究.
作者贡献分布: 本文主要由刘俊华、刘彦、黄巧玲及白雅娜共同写作完成.
通讯作者: 刘俊华, 主管护师, 450003, 河南省郑州市中原区文化宫路65号, 郑州市中医院妇产科. ljhjunhua@126.com
电话: 0371-67447314
收稿日期: 2015-02-03 修回日期: 2015-04-01
接受日期: 2015-04-16 在线出版日期: 2015-08-18

Clinical effects of integrated health care in patients undergoing cesarean section

Jun-Hua Liu, Yan Liu, Qiao-Ling Huang, Ya-Na Bai

Jun-Hua Liu, Yan Liu, Qiao-Ling Huang, Ya-Na Bai, Department of Gynecology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhengzhou City, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China
Correspondence to: Jun-Hua Liu, Nurse-in-Charge, Department of Gynecology, Traditional Chinese Medicine Hospital of Zhengzhou City, 65 Wenhuagong Road, Zhongyuan District, Zhengzhou 450003, He'nan Province, China. ljhjunhua@126.com
Received: 2015-02-03 Revised: 2015-04-01
Accepted: 2015-04-16 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of integrated health care in patients undergoing cesarean section.

METHODS: Two hundred and forty-eight mothers who underwent cesarean section at our hospital from June 2013 to June 2014 were divided into two groups based on the time of admission: a control group (June 2013 to December 2013, n = 124) and an observation group (January 2014 to June 2014, n = 124). The control group was treated using the traditional care model, and the observation group was treated using the integrated health care model. The nursing care quality score, incidence of adhesions, gastrointestinal motility recovery and patient satisfaction were compared between the two groups.

RESULTS: The scores of disease cognition, implementation of doctors' orders, emergency drug use, condition observation, ward management, document management, and overall quality of care were significantly higher in the observation group than in the control group (P < 0.05). The incidence rates of adhesions, bloating, constipation, and intestinal obstruction were significantly lower in the observation group than in the control group (P < 0.05). The times to bloating disappearance, anal exhaust, recovery of bowel sounds, defecation, and first meal, as well as the average length of hospital stay were significantly shorter in the observation group than in the control group (P < 0.05), and patient satisfaction score in the observation group was significantly higher than that in the control group (P < 0.05).

CONCLUSION: Integrated health care can effectively improve health care quality, reduce the incidence of postoperative adhesions, and improve the recovery of gastrointestinal function in patients undergoing cesarean section.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Integrated health care; Cesarean section; Adhesions; Quality of care

Liu JH, Liu Y, Huang QL, Bai YN. Clinical effects of integrated health care in patients undergoing cesarean section. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3804-3808 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3804.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3804

摘要

目的: 探讨医护一体化管理对剖宫产手术患者发生肠黏连及胃肠动力恢复的影响.

方法: 2013-06/2014-06选取在郑州市中医院行剖宫产手术的248例产妇为研究对象, 根据患者入院时间分为对照组(2013-06/12)及观察组(2014-01/06)各124例, 对照组采用传统护理模式, 观察组采用医护一体化管理模式, 对比分析两组护理人员护理质量评分、患者肠黏连发生率、胃肠动力恢复情况及患者满意度.

结果: 观察组疾病认知、医嘱执行、医护配合、急救药品使用、病情观察、病房管理、文书管理及总护理质量评分显著高于对照组(P<0.05). 观察组肠黏连、腹胀、便秘、肠梗阻发生率显著低于对照组(P<0.05). 观察组腹胀消失时间、排气时间、肠鸣音恢复时间、术后排便时间、术后进食时间、平均住院时间显著短于对照组(P<0.05), 而患者满意度评分显著高于对照组(P<0.05).

结论: 医护一体化管理可有效提高医疗护理质量, 降低剖宫产产妇术后肠黏连发生率, 改善产妇术后胃肠功能, 促进产妇康复.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 医护一体化管理; 剖宫产; 肠黏连; 护理质量

核心提示: 本研究对照组采用传统护理模式, 观察组采用医护一体化管理模式, 结果表明医护一体化管理可有效提高医疗护理质量, 降低剖宫产产妇术后肠黏连发生率, 改善产妇术后胃肠功能, 促进产妇康复.

刘俊华, 刘彦, 黄巧玲, 白雅娜. 医护一体化管理对剖宫产手术患者发生肠黏连的改善效果. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3804-3808 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3804.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3804

0 引言

肠黏连是剖宫产中较常见也是较严重的并发症, 肠黏连不仅会影响患者术后康复, 延长患者住院时间, 增加患者医疗费用, 同时肠黏连可发展为肠黏连性梗阻, 危及患者生命[1]. 因此术后提高剖宫产患者护理质量, 尽早恢复患者胃肠功能, 积极预防肠黏连的发生对促进患者术后康复具有积极的作用[2]. 既往医护为了更好地为剖宫产产妇提供护理服务, 改善传统查房弊端, 郑州市中医院妇产科2013-06/2014-06对剖宫产产妇术后护理应用了医护一体化管理模式, 并取得理想的效果, 现报告如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2013-06/2014-06选取在本院行剖宫产手术的248例产妇为研究对象, 纳入标准: (1)患者术前检查均正常, 无剖宫产史; (2)术前排除妊娠合并胃肠疾病患者; (3)术中行连续硬膜外麻醉且为下段剖宫产术; (4)患者均签署知情同意书, 且所选病例均获得医学伦理委员会认可. 同时排除肝肾功能不全、精神疾病史或意识障碍史的患者, 干预对象之间不存在沾染、混杂因素. 根据患者入院时间分为观察组及对照组, 每组各124例, 对照组: 初产妇88例, 经产妇36例; 年龄22-34岁, 平均年龄28.3岁±2.2岁, 体质量指数(body mass index, BMI)22.3-28.9 kg/m^2, 平均BMI 25.9 kg/m^2±2.8 kg/m^2; 孕周38-42 wk, 平均孕周39.6 wk±3.2 wk; 学历: 小学16例, 初中24例, 高中56例, 大专或以上28例; 观察组: 初产妇92例, 经产妇32例; 年龄20-35岁, 平均年龄29.2岁±2.7岁, BMI 22.9-28.2 kg/m^2, 平均BMI 25.2 kg/m^2±3.3 kg/m^2; 孕周38-41 wk, 平均孕周39.2 wk±2.8 wk; 学历: 小学16例, 初中26例, 高中50例, 大专或以上32例. 两组孕妇年龄、产次、BMI、孕周及学历差异无统计学意义(P>0.05), 具有可比性.

1.2 方法

1.2.1 护理: 对照组产妇术后给予常规性护理, 观察组在对照组基础上实施医护一体化管理, 具体措施如下.

成立医护一体化专项管理小组: 通过国内外研究显示, 剖宫产患者术后并发肠黏连的发生率较高, 因此本院成立医护一体化专项管理小组, 以降低剖宫产术后肠黏连发生率. 小组成员包括科室主任、病区护士长、2名骨干医

研发前沿

肠黏连一般发生在损伤后5-7 d内, 在这一时间内对患者加强防护, 采用积极有效的预防控制措施可有效预防及控制肠黏连的发生, 有利于患者预后, 医护一体化管理可有效提高医疗护理质量, 降低剖宫产产妇术后肠黏连发生率, 改善产妇术后胃肠功能, 促进产妇康复.

相关报道

医护一体化管理是有效的. 通过共同培训, 强化医护意识及制定肠黏连预防控制措施, 使得医生、护士及患者能够充分重视肠黏连的预防, 同时对各个环节加强管理, 使得人人参与到疾病管理中, 提高了护理效果.

创新盘点
美国学者Higgins等认为医护一体化包括4方面内容: 通力合作; 相互独立而有合作的实践领域; 相互支持及配合; 对患者的共同目标. Mugeni等对造口皮肤黏膜深部位分离术后感染的患者应用医护一体化管理, 表明医护一体化护理能有效改善.

生及4名骨干护士. 由科室主任担任项目管理小组组长, 负责制定实施方案, 小组其余成员负责制定工作目的、计划、内容及降低剖宫产术后肠黏连发生的相关管理措施.

调查现状, 分析原因: 小组成员通过召开会议、运用鱼骨图原因分析法、头脑风暴法, 从人员、制度、事物及方法等方面对剖宫产术后并发肠黏连的相关因素进行分析, 通过共识评价一致认为: (1)护理人员对剖宫产并发肠黏连的指南了解不够; (2)科室缺乏预防剖宫产肠年龄的标准流程; (3)医护人员对剖宫产肠黏连认知水平不足; (4)缺乏系统性预防肠黏连培训方案; (5)缺乏有效的质量监督措施; (6)医护缺乏沟通, 责任不明确.

制定改进措施: (1)动员、强化医护预防意识: 管理小组成员在晨会、小组会议、科务会议等场合中反复强调剖宫产肠黏连预防的意义, 同时在小组会议上, 要求各小组成员制定可行的预防控制方案, 并肩负起监管职责. 在科务会议上反复宣传, 提高医护人员对剖宫产肠黏连的重视程度, 并做到查漏补缺, 相互提醒, 并在相互存在的问题进行分析及讨论, 并提出具体改进目标及要求; (2)定期对医护人员培训: 利用晨会、科务会等多种场合对医护人员进行培训学习, 内容包括肠黏连预防指南、预防措施、病理分析等, 将培训内容记录在电子档案中, 以供查询. 对医护人员定期考核, 并对考核不合格者再次培训, 直至达标; (3)制定医护合作预防流程: 患者入院后由主管医生对其进行评估, 并识别出高危人群, 同时制定相关的预防控制措施, 并对患者全程监控; (4)制定医护健康宣教手册: 医护参照文献资料、各指南同时咨询多名肠黏连领域的研究专家, 并通过调查了解患者对肠黏连疾病知识的需求, 制定肠黏连健康教育手册, 手册应图文并茂, 让患者通俗易懂; (5)加强医护合作: 医护共同进行查房及交班, 共同对患者病情进行评估及诊断. 为了增进医护间的交流, 建立电子病历系统, 通过电子病历系统让医生能指导护士用药, 而护士则有责任协助医生检查药物开具情况; (6)持续质量改进: 每周召开一次小组会议, 共同讨论医护工作中存在的问题, 并提出改进措施, 制定新的护理质量控制方案, 以提高患者护理质量.

应用要点
医护一体化管理模式是新型的护理管理模式, 其强调了在护理管理过程中医生与护士相互沟通及协调的重要性, 明确了医生与护士的责任, 提高了护理人员护理管理质量及服务意识.

1.2.2 观察指标: (1)并发症及胃肠功能恢复情况: 记录两组肠黏连、腹胀、便秘、肠梗阻发生率、腹胀消失时间、排气时间、肠鸣音恢复时间、术后排便时间、术后进食时间、平均住院时间; (2)满意度: 采用本院自行设计的《患者满意度调查问卷》对两组患者满意度进行评价, 总分为100分, 分值越高患者满意度越高. 问卷于患者出院前让其当场填写, 并回收; (3)护理质量: 采用由调查小组自行设计的《护理质量量表》进行评价, 问卷包括疾病认知、医嘱执行、医护配合、急救药品使用、病情观察、病房管理、文书管理等内容, 每项20分, 分值越高表示护理质量越理想, 总评分为各项之和. 问卷于患者出院前让其当场填写, 并回收.

1.2.3 调查情况: 两组患者分别发放《患者满意度调查问卷》和《护理质量量表》124份, 均有效回收124份, 有效回收率为100%.

统计学处理 采用SPSS17.0进行统计学分析, 计量资料采用mean±SD表示, 组间计量资料比较采用t检验, 计数资料采用率表示, 组间计数资料率的比较采用χ^2检验, $P<0.05$为差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者护理质量评分对比 观察组疾病认知、医嘱执行、医护配合、急救药品使用、病情观察、病房管理、文书管理及总护理质量评分显著高于对照组($P<0.05$)(表1).

2.2 两组患者相关并发症发生率对比 观察组肠黏连、腹胀、便秘、肠梗阻发生率显著低于对照组[2(1.61) *vs* 12(9.68), 18(14.52%) *vs* 32(25.81%), 22(17.74%) *vs* 45(36.29%), 0(0.00) *vs* 6(4.84%)]($P<0.05$)(表2).

2.3 两组患者胃肠动力恢复及患者满意度情况对比 观察组腹胀消失时间、排气时间、肠鸣音恢复时间、术后排便时间、术后进食时间、平均住院时间显著短于对照组($P<0.05$), 而患者满意度评分显著高于对照组($P<0.05$)(表2).

3 讨论

剖宫产为非自然分娩, 在手术过程中由于出血、创伤、渗液进行腹腔内及组织缺氧缺血, 容易导致基底膜及腹膜损伤, 导致纤维蛋白沉积, 从而引起术后肠黏连[3,4]. 研究[5]表明, 肠黏连一般发生在损伤后5-7 d内, 在这一时

表 1　两组患者护理质量评分对比 (n = 124, mean ± SD, 分)

分组	疾病认知	医嘱执行	医护配合	急救药品使用	病情观察	病房管理	文书管理	总护理质量
观察组	14.23 ± 3.12	13.45 ± 3.89	14.02 ± 4.33	14.39 ± 4.25	14.98 ± 2.75	13.02 ± 3.18	13.44 ± 3.68	102.85 ± 12.02
对照组	17.89 ± 3.75	17.93 ± 4.02	18.02 ± 3.86	17.86 ± 3.42	17.44 ± 3.10	17.86 ± 3.52	17.99 ± 3.12	128.96 ± 14.52
t值	4.596	4.782	4.823	4.910	4.852	4.611	4.812	8.123
P值	0.018	0.014	0.010	0.011	0.009	0.012	0.008	0.000

表 2　两组患者胃肠动力恢复及患者满意度情况对比 (n = 124, mean ± SD)

分组	腹胀消失时间 (h)	排气时间 (h)	肠鸣音恢复时间 (h)	术后排便时间 (d)	术后进食时间 (h)	平均住院时间 (d)	患者满意度 (分)
观察组	32.58 ± 4.78	35.32 ± 5.02	38.23 ± 4.36	42.85 ± 5.42	6.89 ± 1.24	5.98 ± 1.24	92.63 ± 3.89
对照组	56.39 ± 5.12	62.78 ± 6.39	42.98 ± 5.72	72.12 ± 8.56	12.56 ± 2.43	8.32 ± 2.04	84.36 ± 4.85
t值	8.263	11.523	6.983	7.223	7.564	5.982	12.445
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

名词解释

医护一体化管理：医护一体化管理模式是新型的护理管理模式，其强调了在护理管理过程中医生与护士相互沟通及协调的重要性，明确了医生与护士的责任，提高了护理人员护理管理质量及服务意识；

肠黏连：是由于各种原因引起的肠管与肠管之间，肠管与腹膜之间，肠管与指导腹腔内脏器之间发生的不正常黏附.

间内对患者加强防护，采用积极有效的预防控制措施可有效预防及控制肠黏连的发生，有利于患者预后. 术后常规性护理干预模式尽管在一定程度上能有效改善患者生理症状，促使患者术后康复，但传统护理模式中护理人员对肠黏连预防控制意识不够，对相关指南及流程制定不足，医护人员缺乏规范化的培训，对治疗控制缺乏相应记录，护理人员对专科知识相对认识缺乏，导致对患者切口局部解剖及全身情况评估不足，从而影响胃肠功能恢复[6-8].

医护一体化管理模式是新型的护理管理模式，其强调了在护理管理过程中医生与护士相互沟通及协调的重要性，明确了医生与护士的责任，提高了护理人员护理管理质量及服务意识[9]. 医护一体化管理是医护双方一起对患者病情进行研究及交流，并制定相应的护理方案，认真落实措施[10]. 同时在治疗过程中及时将患者情况告知医生，以便医生能及时作出反应，为患者制定下一步处理措施. 美国学者Higgins等[11]认为医护一体化包括4方面内容：通力合作；相互独立而有合作的实践领域；相互支持及配合；对患者的共同目标. Mugeni等[12]对造口皮肤黏膜深部位分离术后感染的患者应用医护一体化管理，结果显示与常规护理相比，患者造口愈合效果更佳理想，患者满意度更高. 许厚芬等[13]对手术病理标本管理应用医护一体化管理，结果表明实施医护一体化管理后标本管理质量评分显著提高，不合格率显著下降.

本研究结果显示，观察组疾病认知、医嘱执行、医护配合、急救药品使用、病情观察、病房管理、文书管理及总护理质量评分显著高于对照组(P<0.05)，从而表明医护一体化管理能有效提高护理人员护理管理质量，这与医护一体化管理定期对医护人员培训，提高医护人员剖宫产肠黏连预防控制意识，增强了护理人员工作责任感及使命感，从而提高了护理人员工作积极性，改善了护理管理质量[14]. 对剖宫产患者术后应用医护一体化管理后患者肠黏连发生率显著下降，且患者胃肠功能恢复效果较对照组理想，从而说明医护一体化管理是有效的. 通过共同培训，强化医护意识及制定肠黏连预防控制措施，使得医生、护士及患者能够充分重视肠黏连的预防，同时对各个环节加强管理，使得人人参与到疾病管理中，提高了护理效果[15]. 此外，对患者发放健康教育手册，提高患者及其家属对疾病的认知水平，使得家属能积极配合治疗，并在执行过程中采用护理质量控制表对患者实施持续质量改进，提高了护理管理效果.

总之，医护一体化管理可有效提高医疗护理质量，降低剖宫产产妇术后肠黏连发生率，改善产妇术后胃肠功能，促进产妇康复.

同行评价

本文研究内容对提高医护质量, 增加患者满意度具有重要意义.

4 参考文献

1 段亮, 蔡晓军, 韩承新, 张新国, 严建宇, 曹策, 郭晓博, 刘勇, 李晗. 阑尾术后肠粘连气腹造影的CT影像特征及其临床价值. 世界华人消化杂志 2009; 17: 3355-3359

2 蒋艳, 曹华, 彭小华, 宋锦平. 医院内心肺复苏的一体化管理. 护理与康复 2011; 10: 725-726

3 Moro F, Mavrelos D, Pateman K, Holland T, Hoo WL, Jurkovic D. Prevalence of pelvic adhesions on ultrasound examination in women with a history of Cesarean section. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45: 223-228 [PMID: 25042444 DOI: 10.1002/uog.14628]

4 Poole JH. Adhesions following cesarean delivery: a review of their occurrence, consequences and preventative management using adhesion barriers. *Womens Health* (Lond Engl) 2013; 9: 467-477 [PMID: 24007252 DOI: 10.2217/whe.13.45]

5 Pearson GA, MacKenzie IZ. Factors that influence the incision-delivery interval at caesarean section and the impact on the neonate: a prospective cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 169: 197-201 [PMID: 23597556 DOI: 10.1016/j.ejogrb.2013.02.021]

6 蒋艳, 曹华, 彭小华, 宋锦平. 医护一体化模式在优质护理服务中的应用研究. 护士进修杂志 2012; 27: 405-407

7 刘燕, 刘华英. 运用医护一体化模式提高护士临床科研能力的实践与效果. 护理管理杂志 2011; 11: 273-274

8 毕玉田, 陈客宏, 蔺武军, 周林. 新型医护一体化与医疗安全. 中华医院管理杂志 2014; 30: 659-662

9 李欢, 宁宁, 马莉, 陈佳丽. 护理人员对实施医护一体化工作模式的评价. 护理研究 2012; 26: 3040-3041

10 Langston A, Weiss J, Landegger J, Pullum T, Morrow M, Kabadege M, Mugeni C, Sarriot E. Plausible role for CHW peer support groups in increasing care-seeking in an integrated community case management project in Rwanda: a mixed methods evaluation. *Glob Health Sci Pract* 2014; 2: 342-354 [PMID: 25276593 DOI: 10.9745/GHSP-D-14-00067]

11 Higgins PS, Shugrue N, Ruiz K, Robison J. Medicare and Medicaid users speak out about their health care: the real, the ideal, and how to get there. *Popul Health Manag* 2015; 18: 123-130 [PMID: 25247347 DOI: 10.1089/pop. 2014.0056]

12 Mugeni C, Levine AC, Munyaneza RM, Mulindahabi E, Cockrell HC, Glavis-Bloom J, Nutt CT, Wagner CM, Gaju E, Rukundo A, Habimana JP, Karema C, Ngabo F, Binagwaho A. Nationwide implementation of integrated community case management of childhood illness in Rwanda. *Glob Health Sci Pract* 2014; 2: 328-341 [PMID: 25276592 DOI: 10.9745/GHSP-D-14-00080]

13 许厚芬, 柳德容, 李娅. 医护一体化护理对住院血液肿瘤患者生活质量及负性情绪的调查分析. 国际护理学杂志 2014; 33: 1030-1031

14 叶磊, 李红, 刘司寰. 应用“医护一体化模式”改进现代急诊入院流程管理的研究. 护理研究 2013; 27: 3552-3553

15 Wodskou PM, Høst D, Godtfredsen NS, Frølich A. A qualitative study of integrated care from the perspectives of patients with chronic obstructive pulmonary disease and their relatives. *BMC Health Serv Res* 2014; 14: 471 [PMID: 25277208 DOI: 10.1186/1472-6963-14-471]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3809

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3809-3812
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

综合护理在结肠癌并发肠梗阻患者中的应用效果

刘晓月

刘晓月, 平湖市第一人民医院外科 浙江省平湖市 314200
刘晓月, 主管护师, 主要从事临床护理、护理心理学方面的研究.
作者贡献分布: 本文主要由刘晓月写作完成.
通讯作者: 刘晓月, 主管护师, 314200, 浙江省平湖市当湖街道三港路500号, 平湖市第一人民医院外科.
liuxiaoyue1222@163.com
电话: 0577-86689885
收稿日期: 2015-03-31 修回日期: 2015-04-16
接受日期: 2015-04-24 在线出版日期: 2015-08-18

Clinical effects of comprehensive nursing care in patients with colon cancer with intestinal obstruction

Xiao-Yue Liu

Xiao-Yue Liu, Department of Surgery, the First People's Hospital of Pinghu City, Pinghu 314200, Zhejiang Province, China
Correspondence to: Xiao-Yue Liu, Nurse-in-Charge, Department of Surgery, the First People's Hospital of Pinghu City, 500 Sangang Road, Danghu Street, Pinghu 314200, Zhejiang Province, China. liuxiaoyue1222@163.com
Received: 2015-03-31 Revised: 2015-04-16
Accepted: 2015-04-24 Published online: 2015-08-18

Abstract

AIM: To evaluate the clinical effects of comprehensive nursing care in patients with colon cancer with intestinal obstruction.

METHODS: Fifty colon cancer patients with intestinal obstruction treated from January 2013 to December 2013 were included in a control group, and 50 colon cancer patients with intestinal obstruction who were treated from January 2014 to December 2014 and received comprehensive nursing care were included in an observation group. The treatment effect and nursing satisfaction were compared between the two groups.

RESULTS: The time to the presence of bowel sounds, time to anal exhaust, time to food ingestion, and length of hospital stay in the observation group were significantly lower than those in the control group ($P < 0.05$). The satisfaction rate and satisfaction score in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The physical function, psychological function, social function, common symptoms and side effects, and overall quality of life scores in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: Comprehensive nursing care can effectively improve the curative rate and quality of life in colon cancer patients with intestinal obstruction.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Comprehensive nursing care; Colon cancer; Intestinal obstruction

Liu XY. Clinical effects of comprehensive nursing care in patients with colon cancer with intestinal obstruction. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3809-3812
URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3809.asp
DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3809

摘要

目的: 探讨综合护理在结肠癌并发肠梗阻患者中的应用效果, 为其临床应用提供了可参

背景资料
临床上结肠癌是消化系最常见的恶性肿瘤之一, 发病率占到恶性肿瘤的第3位, 死亡率的第5位, 严重威胁着我国人群的生命健康. 一般而言手术治疗是结肠癌的基础治疗方法, 医学技术的发展使腹腔镜广泛用于结肠癌治疗, 但术后仍有5.48%的患者并发肠梗阻, 对患者术后康复及生活质量有严重不利影响. 肠梗阻的发病一般病情重、发展迅猛, 如何更好地救治该类患者是临床关注点之一.

同行评议者
孔德玲, 副主任护师, 西安交通大学医学院第二附属医院护理部

相关报道
朱静分析综合护理对肠梗阻患者疗效发现，综合护理组患者平均手术时间、术后排气时间及住院时间均明显短于对照组(P<0.05)；患者术后并发症总发生率低于对照组(P<0.05).

考依据.

方法: 选择2013-01/2013-12 50例诊断为结肠癌并发肠梗阻的患者作为对照组，在增加心理护理与中医护理后，制定实施综合护理，选择2014-01/2014-12 50例结肠癌并发肠梗阻的患者作为观察组，比较两组患者救治效果及对护理满意度的差异.

结果: 观察组肠鸣音出现时间、排气时间、进食时间、住院时间均低于对照组(P<0.05). 观察组满意率及满意度评分均明显高于对照组(P<0.05). 观察组患者躯体功能、心理功能、社会功能、共性症状与不良反应及总体生活质量得分均高于对照组患者(P<0.05).

结论: 综合护理不仅有效提高了结肠癌伴肠梗阻患者临床疗效，且更好的改善了患者日常生活质量.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 综合护理; 结肠癌; 肠梗阻

核心提示: 综合护理是将治疗及护理相结合的一种护理模式. 在增加心理护理、中医护理等情况下，综合护理有效提高了结肠癌伴肠梗阻患者临床疗效，且更好的改善了患者日常生活质量.

刘晓月. 综合护理在结肠癌并发肠梗阻患者中的应用效果. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3809-3812 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3809.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3809

0 引言

临床上结肠癌是消化系最常见的恶性肿瘤之一，发病率占到恶性肿瘤的第3位，死亡率的第5位，严重威胁着我国人群的生命健康[1]. 一般而言手术治疗是结肠癌的基础治疗方法，医学技术的发展使腹腔镜广泛用于结肠癌治疗，但术后仍有5.48%的患者并发肠梗阻[2]，对患者术后康复及生活质量有严重不利影响. 肠梗阻的发病一般病情重、发展迅猛，如何更好地救治该类患者是临床关注点之一. 综合护理是增加了心理护理、中医护理等的一种护理模式. 在此背景下，本研究即探讨综合护理在结肠癌并发肠梗阻患者中的应用效果，为其临床应用提供可参考依据.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2013-01/2013-12 50例诊断为结肠癌并发肠梗阻的患者作为对照组，年龄26-69岁，平均年龄47.63岁±4.34岁，其中男性28例，女性22例. 在制定实施综合护理后，选择2014-01/2014-12 50例结肠癌并发肠梗阻的患者作为观察组，年龄25-69岁，平均年龄47.89岁±4.44岁，其中男性25例，女性25例. 两组一般资料比较差异无统计学意义(P>0.05). 纳入标准: 术前肠镜或术后病理检查确诊; 均行根治性切除治疗; 相关检查未显示有转移. 排除标准: 结缔组织病，既往心肺、肝肾功能不全，出血性疾病等.

1.2 方法

1.2.1 综合护理: (1)由经验丰富的高级职称护师担任组长，负责对患者进行围手术期护理管理; (2)术前全面病情评估，包括呼吸、脉搏、瞳孔、血压等生命体征，迅速建立静脉通路，以便静脉给药，同时抽取血液检测相关生化指标; (3)及时与家属进行有效沟通，让家属了解救治诊疗方案，以得到家属支持; (4)术后保证腹带的正确使用，避免过紧引起腹内压增高或过松造成切口裂开; (5)保证胃管固定并定期冲洗胃管，保证胃管通畅并观察胃液颜色; (6)日常生活护理，保证2-3次/d进行口腔护理，勤换衣服; (7)术后继续加强医护人员、患者、家属的管理: 及时解答患者及家属的疑惑; (8)与对照组相比，观察组增加心理护理: 针对患者具有的紧张和恐惧心理以及情绪不安，顾虑重重的状态，要给予患者更多的关怀，帮助其树立并增强接受治疗的信心，使其在良好的心境中接受治疗; 中医护理措施: 服用通里攻下和行气消胀功效的大承气汤.

1.2.2 评价指标: 以10分制表格对满意度进行调查: 满分为10分，7-10分为满意，5-6分为一般，1-4分为不满意. 采用欧洲常用癌症患者生存质量核心问卷(Quality of Life Questionnaire Core 30, QLQ-C30)[3]对生活质量进行评分. 该问卷包括有功能模块、症状模块、特异模块及总体生活质量. 其中功能模块得分越高，生活质量越高; 而症状模块及特异模块得分越高，生活质量越差.

统计学处理 采用SPSS17.0软件包进行数据处理. 计量资料采用mean±SD表示，采用t检验，计数资料用百分数表示，组间比较用χ^2检

表 1　两组患者疗效比较 (n = 50, mean ± SD, h)

分组	肠鸣音出现时间	排气时间	进食时间	住院时间
观察组	2.12 ± 0.34	2.24 ± 0.35	3.08 ± 0.34	5.10 ± 0.65
对照组	2.96 ± 0.51	3.45 ± 0.53	3.98 ± 0.42	7.45 ± 0.61
t值	5.111	5.534	5.986	2.110
P值	0.000	0.000	0.000	0.027

表 2　两组患者对护理服务的满意度分析

分组	满意(n)	一般(n)	不满意(n)	满意率(%)	评分(分)
观察组	30	19	1	98.0	6.81 ± 1.12
对照组	25	18	7	86.0	7.22 ± 1.24
$t(\chi^2)$值	4.891				2.754
P值	0.027				0.008

表 3　两组患者生活质量分析 (n = 50, mean ± SD, 分)

因素	观察组	对照组	t值	P值
躯体功能	79.12 ± 9.65	70.17 ± 10.54	3.421	0.002
心理功能	69.34 ± 10.16	48.96 ± 9.73	2.143	0.036
社会功能	64.16 ± 9.34	46.05 ± 10.11	2.111	0.035
共性症状与不良反应	69.27 ± 9.03	50.24 ± 9.86	3.123	0.003
特异模块	49.18 ± 10.24	49.33 ± 9.43	0.873	0.190
总体生活质量	60.29 ± 9.13	50.72 ± 10.83	4.634	0.000

创新盘点

综合护理的临床应用疗效发现，综合护理组肠鸣音出现时间、排气时间、进食时间、住院时间均低于对照组. 综合护理组患者躯体功能、心理功能、社会功能、共性症状与不良反应及总体生活质量得分均高于对照组患者.

验. P<0.05为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 两组患者疗效比较　两组患者疗效比较结果显示: 观察组肠鸣音出现时间、排气时间、进食时间、住院时间均低于对照组(P<0.05)(表1).

2.2 两组患者对护理服务的满意度分析　两组患者对护理服务的满意度分析结果显示: 观察组满意率及满意度评分均明显高于对照组(P<0.05)(表2).

2.3 两组患者生活质量分析　两组患者生活质量分析结果显示: 观察组患者躯体功能、心理功能、社会功能、共性症状与不良反应及总体生活质量得分均高于对照组患者(P<0.05); 两组患者特异模块得分比较无统计学意义(P>0.05)(表3).

3 讨论

临床上结肠癌是40岁以上人群最常见的消化系恶性肿瘤[4], 医学技术的发展使结肠癌的手术治疗得到较好的发展, 但医学模式的改变, 使单纯生物学模式逐渐转变为社会-心理-生物学模式[5,6], 因此结肠癌的治疗不仅仅关注手术疗效, 日常护理及患者的生活质量亦是临床关注点.

本研究分析综合护理的临床应用疗效发现, 综合护理组肠鸣音出现时间、排气时间、进食时间、住院时间均低于对照组. 可见综合护理明显降低了患者术后康复时间. 此外患者的满意度发现, 观察组满意率及满意度评分均明显高于对照组. 朱静[7]分析综合护理对肠梗阻患者疗效发现, 综合护理组患者平均手术时间、术后排气时间及住院时间均明显短于对照组(P<0.05); 患者术后并发症总发生率低于对照组(P<0.05). 分析认为综合护理有专业医师进行病情有效评估及更规范的护理管理. 同时及时与患者及家属进行有效地沟通, 获得其信任, 在思想与行为上执行以患者为中心的服务理念[8,9], 积极与患者及家属进行交流、沟通, 尽可能满足患者的合理需要, 提高其对医

同行评价
本文有一定的临床指导价值.

务工作的信任[10,11]; 并通过保证患者的人身安全, 保持患者的身心舒适等, 努力得到患者及家属的支持与配合, 为患者提供一个看病、治病的良好环境.

本研究进一步分析综合护理对患者生活质量影响发现, 观察组患者躯体功能、心理功能、社会功能、共性症状与不良反应及总体生活质量得分均高于对照组患者. 分析认为生活质量是指处于一定的文化和价值体系背景中的个体, 对其生存的目标、期望、标准及与其关注的事情等相关的生命状态的一种自我体验[12-15]. 综合护理提高了患者治疗的临床疗效, 提高了患者对日常生活的信心.

总之, 本研究显示, 综合护理不仅有效提高了结肠癌伴肠梗阻患者临床疗效, 且更好的改善了患者日常生活质量, 值得临床推广应用.

4 参考文献

1 Clark DM, Silvester K, Knowles S. Lean management systems: creating a culture of continuous quality improvement. *J Clin Pathol* 2013; 66: 638-643 [PMID: 23757036 DOI: 10.1136/jclinpath-2013-201553]

2 Faulkner B. Applying lean management principles to the creation of a postpartum hemorrhage care bundle. *Nurs Womens Health* 2013; 17: 400-411 [PMID: 24138659 DOI: 10.1111/1751-486X.12063]

3 Aguilar-Escobar VG, Garrido-Vega P, Godino-Gallego N. [Improving a hospital's supply chain through lean management]. *Rev Calid Asist* 2013; 28: 337-344 [PMID: 23850155 DOI: 10.1016/j.cali.2013.05.003]

4 夏翠锋, 李强, 李云峰, 潘定国, 冯瑞. 异时性多原发结肠癌合并原发性空肠腺癌1例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 2062-2063

5 Lipińska-Grobelny A, Papieska E. Readiness for change and job satisfaction in a case of lean management application - a comparative study. *Int J Occup Med Environ Health* 2012; 25: 418-425 [PMID: 23086630 DOI: 10.2478/S13382-012-0044-4]

6 Prapas Y, Petousis S, Dagklis T, Panagiotidis Y, Papatheodorou A, Assunta I, Prapas N. GnRH antagonist versus long GnRH agonist protocol in poor IVF responders: a randomized clinical trial. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2013; 166: 43-46 [PMID: 23020996 DOI: 10.1016/j.ejogrb.2012.09.008]

7 朱静. 综合护理干预在急性肠梗阻患者中的应用. 齐鲁护理杂志 2014, 16: 73-74

8 程玉红, 孔悦, 邹秋兰, 夏哲远. 灾害救护一体化分组培训模式在批量重度烧伤救护中的应用. 护理管理杂志 2014; 14: 222-223

9 刘传永, 祁智, 张笑平, 王瑾, 徐立. 救护一体化模式在抢救室护理管理中的应用效果. 解放军护理杂志 2014; 31: 49-53

10 Marion LL, Meeks GR. Ectopic pregnancy: History, incidence, epidemiology, and risk factors. *Clin Obstet Gynecol* 2012; 55: 376-386 [PMID: 22510618 DOI: 10.1097/GRF.0b013e3182516d7b]

11 徐新保, 张辉, 张洪义, 肖梅, 刘承利, 张宏义, 张希东, 冯志强, 赵刚. 老年二期胰十二指肠切除4例及一期联合结肠癌根治术1例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 628-633

12 Alline M, Bertrand MM, Colombo PE, Mourregot A, Rouanet P. [Lymph node dissection: what for? From esophagus to rectum: surgical and lymph node related prognostic factors]. *Bull Cancer* 2014; 101: 368-372 [PMID: 24793629 DOI: 10.1684/bdc.2014.1929]

13 Namikawa T, Oki T, Kitagawa H, Okabayashi T, Kobayashi M, Hanazaki K. Impact of jejunal pouch interposition reconstruction after proximal gastrectomy for early gastric cancer on quality of life: short- and long-term consequences. *Am J Surg* 2012; 204: 203-209 [PMID: 22813641 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.09.035]

14 Zinzani PL, Venturini F, Stefoni V, Fina M, Pellegrini C, Derenzini E, Gandolfi L, Broccoli A, Argnani L, Quirini F, Pileri S, Baccarani M. Gemcitabine as single agent in pretreated T-cell lymphoma patients: evaluation of the long-term outcome. *Ann Oncol* 2010; 21: 860-863 [PMID: 19887465 DOI: 10.1093/annonc/mdp508]

15 Al-Turki HA. Ectopic pregnancy. Prevalence and risk factors in women attending a tertiary care hospital in Saudi Arabia. *Saudi Med J* 2012; 33: 875-878 [PMID: 22886121]

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
DOI: 10.11569/wcjd.v23.i23.3813

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): 3813-3816
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

病例报告 CASE REPORT

食管海绵状淋巴管瘤1例并文献复习

刘莲花, 刘模荣

刘莲花, 刘模荣, 遵义医学院附属医院消化内科 贵州省遵义市 563003
刘莲花, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的防治研究.
作者贡献分布: 刘莲花负责文章起草及资料的收集; 刘模荣负责该例患者的诊断、治疗及文章的修改.
通讯作者: 刘模荣, 主任医师, 硕士生导师, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科. zylmr@163.com
电话: 0852-8609224
收稿日期: 2015-06-27 修回日期: 2015-07-13
接受日期: 2015-07-24 在线出版日期: 2015-08-18

Esophageal cavernous lymphangioma: A case report and literature review

Lian-Hua Liu, Mu-Rong Liu

Lian-Hua Liu, Mu-Rong Liu, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China
Correspondence to: Mu-Rong Liu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China. zylmr@163.com
Received: 2015-06-27 Revised: 2015-07-13
Accepted: 2015-07-24 Published online: 2015-08-18

Abstract

Lymphangioma is a soft tissue tumor made up of lymphatic vessels with cavernous dilation. As a kind of hamartoma, only 1% of lymphangioma cases occur in the gastrointestinal tract. Esophageal cavernous lymphangioma is an extremely rare lymphangioma of the esophagus. It has no obvious clinical characteristics and is therefore misdiagnosed easily. This disease is diagnosed mainly by endoscopy and endoscopic ultrasonography, and definitive diagnosis relies on histopathology. Esophageal lymphangiomas are benign tumors, and no malignant transformation has been reported. In order to improve clinicians' awareness of the disease, we also performed a literature review.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Esophageal cavernous lymphangioma; Diagnosis; Treatment

Liu LH, Liu MR. Esophageal cavernous lymphangioma: A case report and literature review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2015; 23(23): 3813-3816 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3813.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3813

摘要

淋巴管瘤是一种由海绵状扩张的淋巴管组成软组织肿瘤, 属于错构瘤的一种, 只有1%发生于胃肠道, 其中发生在食管的淋巴管瘤极其罕见. 食管海绵状淋巴管瘤是发生于食管的淋巴管瘤的一种类型, 因该病无明显特征性临床表现, 极易被误诊, 该病主要检查为胃镜检查及超声内镜等, 确诊需结合组织病理学检查. 食管淋巴管瘤属于良性肿瘤, 现暂无恶性病变的报道, 通过对本例食管海绵状淋巴管瘤的探讨和对既往已经报道文献进行复习, 以提高临床医师对该病的认识.

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 食管海绵状淋巴管瘤; 诊断; 治疗

核心提示: 食管海绵状淋巴管瘤发病罕见, 该病早期无特异性症状及体征, 其临床表现与食管平滑肌瘤、间质瘤、食管结核等极其相似, 故

背景资料
食管海绵状淋巴管瘤发病率低, 本病因无特异性症状及体征极易被误诊, 该病主要发生于食管下段, 肿瘤瘤体过大可引起一系列消化道症状, 从而影响患者生活质量, 提高对该病的认识以及如何治疗该病是广大医务工作者急需探讨的急切问题.

同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

研发前沿
食管海绵状淋巴管瘤可随着发病时间的推移, 肿瘤瘤体逐渐增大, 该病病变主要起源于黏膜层, 主要与淋巴管系统的异常有关, 虽然目前该病暂无恶变病例的报道, 但是否会发生恶化仍有待于进一步研究.

临床上极易被误诊、漏诊. 本文通过探讨食管海绵状淋巴管瘤的症状、体征及诊断, 提出目前对该病的最佳诊断及治疗措施.

刘莲花, 刘模荣. 食管海绵状淋巴管瘤1例并文献复习. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3813–3816 URL: http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3813.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3813

0 引言

食管海绵状淋巴管瘤(esophageal cavernous lymphangioma)是食管淋巴管瘤的一种类型, 属于食管肿瘤中极其罕见良性肿瘤, 儿童多发, 预后好. 其中食管海绵状淋巴管瘤我国既往的报道中仅有3例[1-3], 遵义医学院附属医院消化内科收治该病患者1例, 因食管海绵状淋巴管瘤无特征性症状及体征, 入院时被误诊为食管乳头状瘤, 后于超声内镜下行肿瘤瘤体病理活检后确诊, 本例患者给予镜下肿瘤黏膜剥脱术(endoscopic mucosal resection, EMR)治疗, 术后予制酸、止血及保护胃黏膜等对症支持治疗, 术后恢复可, 现报道如下.

1 病例报告

患者女, 28岁, 因“反复上腹痛1 mo”入院, 1 mo前患者无明显诱因出现上腹部疼痛, 呈阵发性发作, 疼痛与进食无关, 偶伴反酸、呃逆, 无咽喉部梗阻感及吞咽不适, 无恶心、呕吐, 无呕血与黑便. 既往1年前于外院行相关检查发现“贫血”, 余既往史无特殊. 查体: 体温36.2 ℃; 呼吸频率19次/分, 脉搏72次/分, 血压102/62 mmHg. 发育正常, 睑结膜及全身皮肤黏膜无苍白, 咽部无充血, 腹软, 无压痛、反跳痛及肌肉紧张, 余查体未见异常. 辅助检查: 血常规示白细胞总数4.0×10^9/L, 血红蛋白125 g/L, 血小板总数59×10^9/L, 余值未见明显异常. 肝功能、肾功能、血脂、凝血功能、血糖及电解质均无异常, 乙型肝炎两对半、梅毒螺旋体血凝试验均未见异常. 胃镜: 食管下段距门齿36 cm近贲门处见一条状黏膜隆起, 表面糜烂, 乳白色(图1A). 超声内镜(20 MHz超声探头): 内镜下见食管下段近贲门处有一条索状黏膜隆起, 表明糜烂, 呈乳白色, 质软. 超声探头示病灶处食管管壁层次结构完整, 见中高回声光团, 病变起源于黏膜层, 大小约0.4 cm×0.9 cm(图1B). 病理光学显微镜检查所见: (食管黏膜)组织呈乳头样增生的鳞状上皮, 内膜内见大量扩张淋巴管(图2A). 病理诊断: (食管黏膜)组织呈乳头样增生的鳞状上皮. 2015-05-21病理检查: (食管黏膜)组织被覆鳞状上皮呈内翻性乳头状瘤样增生, 内膜内见大量扩张淋巴管(图2B). 病理诊断: (食管)海绵状淋巴管瘤. 超食管海绵状淋巴管瘤诊断明确. 遂于内镜下行食管肿瘤EMR, 术后予制酸、止血及保护胃黏膜等对症支持治疗, 病愈出院.

相关报道
食管海绵状淋巴管瘤极其罕见, 目前国内外少有报道, 明确诊断该病需结合病理活检, 目前对该病的最佳治疗方案, 多数学者认为以内镜下肿瘤瘤体切除术为主主要治疗措施.

2 讨论

淋巴管瘤属于错构瘤的一种, 儿童多发, 预后好, 目前暂无恶性变病的报道. 淋巴管瘤可发生在全身任何有淋巴组织的部位, 以头颈部及腋下最常见, 仅有1%发生于胃肠道及腹腔[4], 其中食管为淋巴管瘤发生率最低的部位[5], 多位于食管下段. 目前淋巴管瘤的病因尚不十分明确: 可能的机制如下[6]: (1)胚胎早期异常淋巴组织形成的先天性良性肿瘤; (2)淋巴结与周围的淋巴系统及静脉系统连接异常形成的先天性畸形所致[6]; (3)因外伤、炎症、寄生虫等后天因素导致淋巴管内皮增生、淋巴管扩张及淋巴梗阻形成[7]. 有文献报道[8], 淋巴管瘤分4型: (1)毛细淋巴管瘤又称单纯性淋巴管瘤; (2)海绵状淋巴管瘤; (3)蔓状淋巴管瘤; (4)囊状淋巴管瘤又称囊状水瘤. 其组织学改变: 肿块内可由单层扁平上皮内衬组成的大小不等的腔隙, 腔内充满含有淋巴细胞的淋巴液[9,10]. 其病理改变: 主要为淋巴管扩张、增生和结构紊乱, 向周围浸润性生长[11].

食管淋巴管瘤目前国内外少有报道[12], 通过检索万方、维普、CNKI、CBM、Pubmed等数据库, 目前共检索到19例食管淋巴管瘤的报道, 其中仅有3例报道为食管海绵状淋巴管瘤[1-3], 8例为食管毛细淋巴管瘤, 3例为食管囊状淋巴管瘤, 3例食管蔓状淋巴管瘤, 2例具体分型不详. 已经检索到的19例食管淋巴管瘤中其发病平均年龄52岁(最小29岁, 最大75岁), 男女比例约2∶1(男性13例, 女性6例), 位于食管下段11例, 上段3例, 中段4例, 1例具体部位不详. 肿瘤瘤体约0.4-11.0 cm[13,14]大小不等. 结合文献[15], 食管海绵状淋巴管瘤内镜下表现亦无特异性, 内镜下表现为食管黏膜大小不一隆起型病变, 其表面黏膜正常或稍充血, 质软.

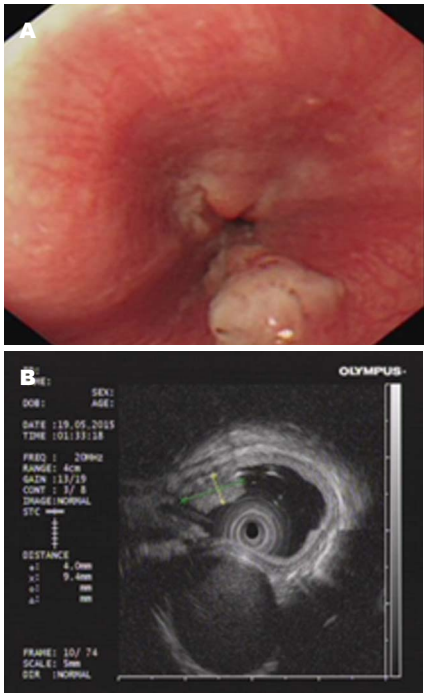

图 1　内镜检查结果. A: 胃镜下见食管下段有条索状黏膜隆起; B: 超声内镜下见大小约0.4 cm×0.9 cm高回声光团, 病变起源于黏膜层.

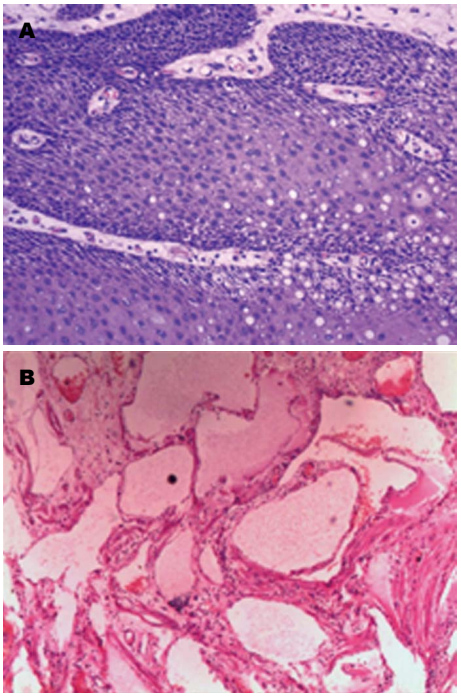

图 2　病理检查结果(HE×40). A: 大量淋巴细胞增生; B: 扩增的淋巴管, 周围有淋巴细胞集聚, 管腔内含有淋巴液.

超声内镜检查可以明确病变深度及起源, 有助于与食管结核、食管癌、食管平滑肌瘤、间质瘤、食管囊肿等相鉴别, 尤其是与黏膜下血管瘤鉴别, 否则盲目活检易发生大出血. 因食管海绵状淋巴管瘤多起源于黏膜层, 治疗以内镜下切除术为主[16,17], 包括高频电凝电切术、EMR、内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)及内镜下黏膜挖除术等治疗, 术中创面小、出血少、术后恢复快、预后良好.

遵义医学院附属医院消化内科报道该例患者主要以上腹部疼痛为主, 诊断考虑为慢性胃炎所致, 且按胃炎治疗后上腹部疼痛好转, 食管海绵状淋巴管瘤诊断属于偶然. 该病患者年仅28岁, 比既往报道文献年龄小. 本例经常规胃镜及超声内镜明确病变起源于黏膜层, 病理确诊为食管海绵状淋巴管瘤, 予黏膜下注射生理盐水+肾上腺素+亚甲蓝混合液分离黏膜层后, 完整切除瘤体, 术中出血少, 经对症止血治疗后创面很快愈合.

总之, 食管海绵状淋巴管瘤主要是食管淋巴管临床分型的一种, 主要起源于黏膜层, 预后好, 暂无食管海绵状淋巴管瘤恶变的报道, 其临床表现无特异性. 故需进一步行胃镜、超声内镜及消化道钡餐检查等检查其他上消化道疾病相鉴别[18], 明确诊断需结合病理组织活检. 目前对食管海绵状淋巴管瘤的治疗, 多数研究者[19-21]认为内镜下切除术有安全、经济、创伤小、恢复快等优点, 故作为该病治疗首选, 对于肿瘤瘤体较大、有恶变倾向者可能需行食管切除术或食管胃切除术治疗[22]. 值得注意的是: 肉眼下见食管黏膜隆起病变, 不能直接活组织检查或内镜下治疗, 需行超声内镜检查, 进一步明确病变起源部位、性质、大小及与周围组织的侵润程度, 排除黏膜下大血管, 避免发生大出血及穿孔[23-26].

3　参考文献

1　曹译心, 张旭, 贺红焰. 食管海绵状淋巴管瘤1例及文献复习. 肿瘤防治研究 2010; 37: 732-733
2　阮海兰, 王莉, 杨维忠, 刘昌江, 谢会忠. 食管海绵状淋巴管瘤一例. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5: 4306-4306
3　佟牧虹, 冬兰, 周金秋, 李岩, 景宇, 关文萍. 食管海绵状淋巴管瘤1例. 人民军医 2005; 48: 618
4　Yoon YH, Kim KH, Baek WK, Kim JT, Son KH, Han JY, Lee JI. Lymphangioma of the esophagus: surgical treatment. *Ann Thorac Surg* 2004; 78: e51-e53 [PMID: 15337085 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2004.02.101]
5　Hizawa K, Aoyagi K, Kurahara K, Suekane H, Kuwano Y, Nakamura S, Fujishima M. Gastrointestinal lymphangioma: endosonographic demonstration and endoscopic removal. *Gastrointest*

创新盘点
本文探讨了国内外对食管海绵状淋巴管瘤的诊断、治疗等方面, 提出了超声内镜下观察病灶的深度及起源的重要性, 以便能更好地与血管瘤鉴别, 减少瘤体活检或切除时大出血及穿孔的发生, 并探讨了对该病的最佳治疗方案.

应用要点
对于肉眼所见有食管黏膜隆起的病变, 且不能明确其性质时, 需行病理活检明确, 进一步行超声内镜明确病灶是否起源于黏膜层或黏膜下肌层, 这将为临床医师进一步治疗提供重要依据.

同行评价

本文可提高临床医师对食管海绵状淋巴管的认识, 且阐述了目前国内外对食管海绵状淋巴管瘤的最佳诊断及治疗方案, 值得广大临床医师阅读.

Endosc 1996; 43: 620-624 [PMID: 8781946]

6 Teramoto K, Suzumura Y. Mediastinal cavernous lymphangioma in an adult. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2008; 56: 88-90 [PMID: 18297466 DOI: 10.1007/s11748-007-0198-3]

7 林海, 费志勇, 陈兴田, 王瑞武, 田峰, 徐建. 食管巨大淋巴管瘤1例. 胃肠病学 2013; 18: 447-448

8 徐华, 陈易, 汤金海, 吴强, 金颖. 成人胃肠道少见部位淋巴管瘤2例报告. 现代消化及介入诊疗 2013; 18: 330-332

9 Castellanos D, Sebastián JJ, Larrad A, Menchen P, Senent C, Núñez JM, Lopez de la Riva M. Esophageal lymphangioma: case report and review of the literature. *Surgery* 1990; 108: 593-594 [PMID: 2204132]

10 陈健, 田茹, 郭瑞峰, 梁化印. 食管淋巴管瘤1例. 诊断病理学杂志 2010; 17: 248, 256

11 Giguère CM, Bauman NM, Smith RJ. New treatment options for lymphangioma in infants and children. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002; 111: 1066-1075 [PMID: 12498366 DOI: 10.1177/000348940811701105]

12 Saers T, Parusel M, Brockmann M, Krakamp B. Lymphangioma of the esophagus. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 181-184 [PMID: 15990849 DOI: 10.1016/S0016-5107(04)02844-5]

13 Yildirim E, Dural K, Kaplan T, Sakinci U. Cystic lymphangioma: report of two atypical cases. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2004; 3: 63-65 [PMID: 17670177]

14 仲建全, 漆军, 程广金, 杨超, 陈光祥, 唐光才. 食管囊性淋巴管瘤1例. 中国医学影像技术 2010; 26: 190-190

15 刘鹏霞, 刘枫, 李兆申. 食管淋巴管瘤一例. 中华消化杂志 2006; 26: 376

16 刘晓玲, 张改玲, 王慧超, 食管淋巴管瘤并食管平滑肌瘤1例. 生物医学与临床 2013; 2: 177

17 Sushil A, Aline PC, Metin O, Nadim H. Lymphangioma of the esophagus treated with endoscopic submucosal resection. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 284-286 [PMID: 17295891]

18 Lee BI, Kim BW, Kim KM, Song HJ, Cho SH, Choi H, Choi MG, Choi KY, Chung IS, Cha SB, Sun HS, Park DH. Esophageal lymphangiomatosis: a case report. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 589-591 [PMID: 12297787 DOI: 10.1016/S0016-5107(02)70457-4]

19 Brady PG, Milligan FD. Lymphangioma of the esophagus--diagnosis by endoscopic biopsy. *Am J Dig Dis* 1973; 18: 423-425 [PMID: 4701042 DOI: 10.1007/BF01071994]

20 Binderup MD, Jensen VJ, Busch S. [Lymphangioma of the oesophagus]. *Ugeskr Laeger* 2009; 171: 312-313 [PMID: 19176159]

21 Seybt MW, Postma GN. Giant esophageal lymphangioma. *Ear Nose Throat J* 2008; 87: 500 [PMID: 18800319]

22 Armengol-Miro JR, Ramentol F, Salord J, Costa MP, Palacin A, Vidal MT. Lymphangioma of the oesophagus. Diagnosis and treatment by endoscopic polypectomy. *Endoscopy* 1979; 11: 185-189 [PMID: 488015 DOI: 10.1055/s-0028-1098349]

23 Zhao ZF, Kuang L, Zhang N, Ma SR, Yang Z, Han X, Zhao YF, Gao F, Gong ZJ, Yang L. Endoscopic diagnosis and treatment of esophageal cavernous lymphangioma. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2013; 23: 299-302 [PMID: 23751996 DOI: 10.1097/SLE.0b013e31828b8810]

24 曹付亮, 孙思予, 吕庆杰, 刘治军, 王国鑫, 郭瑾陶, 张秋楠, 许娜, 孙世伟. 超声内镜辅助下内镜下黏膜切除对食管黏膜层上皮下病变的诊疗价值. 中国内镜杂志 2009; 15: 785-788

25 Xue L, Guo WG, Hou J, Ge D, Chen XJ. Huge lymphangiomatosis of the esophagus. *Ann Thorac Surg* 2012; 93: 2048-2051 [PMID: 22632502 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2011.11.021]

26 张蓉, 李传行, 高小燕, 罗广裕, 林世永, 李茵, 徐国良. 食管黏膜下肿瘤的超声内镜诊断与内镜下微创治疗. 中国内镜杂志 2010; 16: 21-24

编辑: 郭鹏 电编: 都珍珍

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): I-V
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

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(open access, OA)期刊, 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506位专家组成, 分布在中国29个省市、自治区及特别行政区和美国.

《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 Inc, 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. OA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43种临床医学OA期刊, 其中英文版42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2012年版)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》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 2012年版)》,《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

■《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》和《Abstracts Journals》收录.

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 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 $\times 10^{-6}$; 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

■《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.

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.

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656　传真: 0351-4086337

收稿日期:　　修回日期:

3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”.

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致.

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象. 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度. 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征. 如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准. 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写P, 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值).

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献. 序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文. 正文内序号连排用(1), (2), (3). 以下逐条陈述.

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验. 对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可.

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾.

图表的数量要精选. 表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容. 表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出. 图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出. 同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述. 如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化. A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …. 曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号. 统计学显著性用: $^{a}P<0.05$, $^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则$^{c}P<0.05$, $^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$, $^{f}P<0.01$. P值后注明何种检验及其具体数字, 如$P<0.01$, $t = 4.56$ *vs* 对照组等, 注在表的左下方. 表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐. “空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等. 表图勿与正文内容重复. 表图的标目尽量用t/min, c/(mol/L), p/kPa, V/mL, t/℃表达.

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

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

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

4 写作格式实例

4.1 述评写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp

4.2 研究原著写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp

4.3 焦点论坛写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp

4.4 文献综述写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp

4.5 研究快报写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp

4.6 临床经验写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcjy.asp

4.7 病例报告写作格式实例

http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp

5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx. 无法在线提交的通过submission@wjgnet.com, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投稿须知下载网址 http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删节时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

《世界华人消化杂志》编辑部
北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号
远洋国际中心D座903室
电话: 010-5908-0035
传真: 010-8538-1893
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http: //www.wjgnet.com

■《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

2015年国内国际会议预告

2015-01-15/17
2015年胃肠道癌症研讨会(GCS)
会议地点: 美国
联系方式: http://gicasym.org/

2015-02-05/07
欧洲癌症研究协会大会(EACR)
会议地点: 德国
联系方式: http://www.eacr.org/radiationbiology2015/

2015-03-12/15
2015年第24届亚太肝病研究协会肝病大会(APASL)
会议地点: 土耳其
联系方式: http://apasl.info/about

2015-03-11/13
2015年欧洲神经内分泌肿瘤学会第12届年度会议(ENETS)
活动地点: 西班牙
联系方式: http://www.aihcc.com

2015-03-18/21
2015年第5届亚太肝胆胰腺协会双年会(A-PHPBA)
会议地点: 新加坡
联系方式: http://aphpba2015.com/

2015-03-25/28
2015年第68届肿瘤外科学会年会(SSOACS)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.aihcc.com

2015-04-17/19
2015中国超声医学学术大会(CCUM)
会议地点: 中国
联系方式: http://www.cuda.org.cn

2015-04-18/22
2015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/Pages/Home.aspx

2015-04-22/25
第6届欧洲肿瘤介入大会(ECIO)
会议地点: 法国
联系方式: http://www.ecio.org/

2015-04-22/26
2015年第50届欧洲肝病研究协年会(EASL)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.easl.eu/

2015-05-06/09
2015年世界肿瘤介入大会(WCIO)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.io-central.org/

2015-05-07/08
欧洲胃肠镜协会大会(ESGE)
会议地点: 荷兰
联系方式: http://www.esge.com/

2015-05-16/19
美国消化疾病周(DDW)
会议地点: 美国
联系方式: http://www.ddw.org/

2015-05-29/06-02
2015年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)
会议地点: 美国
联系方式: http://am.asco.org/

2015-06-26/28
2015年世界病毒性肝炎峰会(ISVHLD)
会议地点: 德国
联系方式: http://www.isvhld2015.org/

2015-07-01/04
第17届世界胃肠癌大会(WGIC)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://worldgicancer.com

2015-09-25/29
第18届欧洲癌症大会(ECCO)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.ecco-org.eu/

2015-09-25/29
第40届欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)
会议地点: 奥地利
联系方式: http://www.esmo.org/

2015-09-28/10-02
世界胃肠病组织大会(AGW/WGO)
会议地点: 澳大利亚
联系方式: http://www.worldgastroenterology.org/

2015-10-18/21
第57届美国放射肿瘤协会大会(ASTRO)
会议地点: 美国
联系方式: https://www.astro.org/

2015-10-24/28
第23届欧洲联合胃肠病学周(UEG)
会议地点: 西班牙
联系方式: http://www.ueg.eu/

2015-12-03/06
亚太消化病周(APDW)
会议地点: 台湾
联系方式: http://www.apdwcongress.org/

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

志谢

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

程树群 教授
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院综合治疗三科

程英升 教授
上海交通大学附属第六人民医院放射科

戴菲 副主任医师
西安交通大学医学院第二附属医院

邓庆 副研究员
上海人类基因组研究中心功能基因组部

段志军 教授
大连医科大学附属第一医院消化内科

高泽立 副教授
周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院

顾岩 教授 主任医师
上海交通大学医学院附属上海第九人民医院普外科

英卫东 教授
安徽省立院肝脏外科

江建新 副主任医师
贵阳医学院附属医院肝胆外科

姜相君 主任医师
青岛市市立医院消化科

李勇 教授
上海中医药大学附属市中医医院消化科

李瑜元 教授
广州市第一人民医院内科

梁国刚 教授
大连医科大学附属第一医院

刘金钢 教授
中国医科大学附属盛京医院外科

吕宾 教授
浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)

毛德文 教授 主任医师
广西中医药大学第一附属医院肝病科

邱伟华 主任医师
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

任宁 主任医师
复旦大学附属中山医院

度必光 教授
遵义医学院附属医院消化科

王学美 研究员
北京大学第一医院中西医结合研究室

王铮 副研究员
西安交通大学医学院第一附属医院肝胆病院肝胆外科

徐庆 教授
桂林医学院药理教研室

杨江华 副教授
皖南医学院弋矶山医院感染科

杨柏霖 副主任医师
南京中医药大学附属医院

张红 教授
陕西中医学院基础医学院

张力为 主任医师
新疆医科大学第一附属医院胸外科

张宗明 教授
清华大学第一附属医院消化医学中心

诸葛宇征 主任医师
南京大学医学院附属鼓楼医院

庄林 主任医师
昆明市第三人民医院肝病科

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx
帮助平台: http://www.wjgnet.com/esps/helpdesk.aspx
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2015年8月18日; 23(23): I
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)
© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有.

《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

Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
8226 Regency Drive, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.