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

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021 年 8 月 28 日　第 29 卷　第 16 期　(Volume 29 Number 16)

16/2021

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

ISSN 1009-3079
16>
9 771009 307056

世界华人消化杂志
https://www.wjgnet.com
二零二一年八月二十八日
第二十九卷
第十六期

WCJD 世界华人消化杂志®

目　次

2021年8月28日 第29卷 第16期 (总第684期)

述评

915 药物性肝损伤研究现状与进展
池肇春

基础研究

926 龙胆苦苷通过调控miR-34c-5p/XBP1轴抑制作胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的分子机制研究
周为东, 徐镇杰, 黄乙文

934 HBV 1.3倍基因组HepG2稳转细胞模型优势单克隆株的筛选及鉴定
邱华, 林栋毅, 李锦源

临床研究

945 基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式在肠易激综合征患者护理中的应用研究
刘水姣, 徐卫芳, 李青松, 周剑宇

952 幽门螺旋杆菌感染与结直肠腺瘤复发的相关性分析
任建峰, 冯平, 张其胜, 靖大道

文献综述

960 上消化道胶囊内镜现状及研究进展
闫婧爽, 闫斌, 孟科

966 血氧水平依赖的磁共振功能成像在肝硬化轻微肝性脑病中的研究进展
刘子衿, 丁惠国

临床实践

972 左半结肠水交换结肠镜检查比较常规注气结肠镜检查的临床效果分析
冷芳, 叶长根, 戴华梅, 胡娜, 朱晓佳, 方军, 向阳, 杨力

目次

消　　息

944 《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》书讯
959 《世界华人消化杂志》参考文献要求
965 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
971 《世界华人消化杂志》正文要求

封面故事

喻春钊, 南京医科大学第二附属医院普外科主任医师, 教授, 科技处处长, 博士生导师. 江苏省第一批医疗卫生拔尖人才, 江苏省十二五“兴卫工程”、十三五“强卫工程”医学重点人才, 江苏省六大高峰重点人才, 江苏省333工程第二层次中青年领军人才. 《世界华人消华杂志》、《中华普通外科文献杂志》、《中国肿瘤外科杂志》、《中华疝和腹壁外科杂志》、《中华结直肠疾病电子杂志》等杂志编委. 主持或参与国家自然科学基金、国家重点研发计划政府间国际科技创新合作重点专项、江苏省科技厅省级重点研发专项计划等项目多项. 在国际国内著名期刊发表有影响力论著50余篇, 获得专利5项.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 马玉洁; 最终清样审核总编辑 马连生

世界華人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平　题写封面刊名
陈可冀　题写版权刊名
(半月刊)
创　刊 1993-01-15
改　刊 1998-01-25
出　版 2021-08-28
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
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

编辑委员会
编辑委员会成员在线名单, 详见:
https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm

编辑部
王金磊, 主任
《世界华人消化杂志》编辑部
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
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
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://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: +86-10-85381892

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(https://www.baishideng.com), 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136.00元 全年24期3264.00元

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

WCJD 世界华人消化杂志®

Contents

Volume 29 Number 16 August 28, 2021

EDITORIAL

915 Research status and progress of drug induced liver injury
Chi ZC

BASIC RESEARCH

926 Gentiopicroside inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating miR-34c-5p/XBP1 axis
Zhou WD, Xu ZJ, Kui YW

934 Screening and identification of dominant monoclonal HepG2 cell strain with 1.3-fold HBV genome
Qiu H, Lin DY, Li JY

CLINICAL RESEARCH

945 Application of low FODMAP diet-based holistic nursing model combined with moxibustion in patients with irritable bowel syndrome
Liu SJ, Xu WF, Li QS, Zhou JY

952 Correlation between *Helicobacter pylori* infection and recurrence of colorectal adenoma
Ren JF, Feng P, Zhang QS, Jing DD

REVIEW

960 Current status and future developments of upper gastrointestinal tract capsule endoscopy
Yan JS, Yan B, Meng K

966 Progress in research of blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy
Liu ZJ, Ding HG

CLINICAL PRACTICE

972 Clinical effects of left-colon water exchange colonoscopy *vs* conventional air-insufflation colonoscopy
Leng F, Ye CG, Dai HM, Hu N, Zhu XJ, Fang J, Xiang Y, Yang L

World Chinese Journal of Digestology
Volume 29 Number 16 August 28, 2021

Contents

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Chun-Zhao Yu, Professor, PhD Supervisor, Chief Physician and Director of Science and Technology Division of the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, No.121 Jiangjiayuan Road, Gulou District, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. 1184618631@qq.com

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang*
Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang*
English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Yu-Jie Ma*
Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date August 28, 2021

NAME OF JOURNAL
World Chinese Journal of Digestology

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

EDITOR-IN-CHIEF
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
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 BOARD MEMBERS
All editorial board members resources online at https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm

EDITORIAL OFFICE
Jin-Lei Wang, Director
World Chinese Journal of Digestology
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: wcjd@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

PUBLISHER
Baishideng Publishing Group Inc
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://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

PRINT SUBSCRIPTION
RMB 136 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT
© 2021 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 https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36. 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: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): 915-925

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i16.915

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

述评 EDITORIAL

药物性肝损伤研究现状与进展

池肇春

池肇春, 青岛市市立医院消化内科 山东省青岛市 266011

池肇春, 教授, 主任医师, 主要从事肝病的临床研究.

作者贡献分布: 本文由池肇春单独完成.

通讯作者: 池肇春, 教授, 主任医师, 266011, 山东省青岛市胶州路1号, 青岛市市立医院消化内科. czchow123@163.com

收稿日期: 2021-03-20
修回日期: 2021-04-14
接受日期: 2021-05-11
在线出版日期: 2021-08-28

Research status and progress of drug induced liver injury

Zhao-Chun Chi

Zhao-Chun Chi, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital, Qingdao 266011, Shandong Province, China

Corresponding author: Zhao-Chun Chi, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Qingdao Municipal Hospital, No. 1 Jiaozhou Road, Qingdao 266011, Shandong Province, China. czchow123@163.com

Received: 2021-03-20
Revised: 2021-04-14
Accepted: 2021-05-11
Published online: 2021-08-28

Abstract

The incidence rate of drug-induced liver injury has been high with the extensive use of drugs and the development and application of new drugs. The pathogenesis of drug-induced liver injury is not fully understood, so there is no significant breakthrough in its treatment. The diagnosis of drug-induced liver injury still depends on drug history, clinical manifestations, imaging, biochemical tests, and liver biopsy. This article reviews the recent progress in the understanding of the incidence rate, classification, risk factors, and serum markers of drug-induced liver injury.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Drug-induced liver injury; Incidence rate; Risk factors; Diagnosis

Citation: Chi ZC. Research status and progress of drug induced liver injury. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(16): 915-925
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/915.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.915

摘要

随着药物的大量使用, 加之新的药物又不断开发与应用, 药物性肝损伤的发病率一直居高不下. 有关药物性肝损伤的发病机制目前尚未完全明了, 因此, 在治疗上也无重大突破. 药物性肝损伤的诊断仍依靠用药史、临床、影像检查、生化检测和肝活检. 本文旨在对药物性肝损伤的发病率与分类、发病风险因素、血清标志物的近年进展进行介绍与评述.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 药物性肝损伤; 发病率; 发病风险因素; 诊断

核心提要: 特异性药物性肝损伤(drug-induced liver injury, IDILI)是一种罕见但可能危及生命的事件, 其原因是药物在通常的治疗剂量下, 在大多数接受治疗的患者中不会引起任何肝损伤的生化或临床证据. IDILI最常见的临床表型是“急性肝炎”、“混合性肝细胞胆汁淤积性肝炎”和“胆汁淤积性肝炎”, 这些都是通过临床、生化和组织学特征来区分的. 抗微生物药、草药和膳食补充剂现在是药物性肝损伤中最常涉及的原因. 现已有几个量表被用来描述IDILI事件的严重性. 但目前尚无可靠的方法来准确预测IDILI事件的过程. 在临床试验中, “金

标准”的肝脏安全信号是“海氏病例”的发生. 迄今为止, 药物性肝损伤在诊断(对乙酰氨基酚-半胱氨酸蛋白加合物)、预测(遗传生物标记物)和预后(microRNA-122、高迁移率族蛋白盒1、角蛋白-18、谷氨酸脱氢酶、线粒体DNA)的生物标记物的鉴定方面取得了进展. 其中许多生物标志物也提供了机制上的见解. 在治疗上近年无重大突破.

文献来源: 池肇春. 药物性肝损伤研究现状与进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(16): 915–925
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/915.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.915

0 引言

药物是人类为预防、诊断或治疗疾病, 或为改善生理功能和提高健康水平. 随着用药种类增多, 又常常缺乏正规的用药方法, 因此由药物引起的不良反应的发生率居高不下. 药物性肝损伤如此常见, 追究其原因除药物质量低劣外, 不合理用药是主要原因, 包括药物的滥用、误用、患者及其家属的医药素质知识水平低等. 此外还有缺乏科学管理、医德医风等社会问题. 因此加强药物管理, 提高用药的安全性, 减少不良反应的发生率势在必行. 鉴于上述原因有必要对近几年药物性肝损伤的现状和进展作一介绍和评述, 为我国做好药物性肝损伤的防治搭建一个学习平台.

1 发病率、分类

我国药物不良反应发生率约占住院患者的10%-30%. 目前人类正暴露于6万种以上化学物质的威胁下, 药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)约占黄疸住院患者的2%-5%, 占所谓“急性肝炎”住院患者的10%, 占老年肝病的20%. 尽管临床上药物性肝损伤屡见不鲜, 但尚未引起人们和临床医师足够和广泛的重视. 根据《国家药品不良反应监测年度报告(2020年)》化学药品占83.0%、中药占13.4%、生物制品占1.1%、无法分类者占2.5%, 其中严重不良反应占10.6%. 不良反应事件中, 累及器官系统排名前3位依次为胃肠系统疾病、皮肤及皮下组织类疾病、疾病及给药部位各种反应. 在欧美国家DILI约占急性肝功能衰竭病因 的30%-40%, 而在美国36%的DILI为非类固醇类抗炎药引起. 据统计, 药物消化道的不良反应占全部药物不良反应的20%-40%, 药物性肝损伤的发生率仅次于皮肤、黏膜损害和药物热. 2007年年底中华医学会中华肝脏病学分会成立了药物性肝病学组, 这为我国药物性肝损伤的防治提供了组织和技术保证[1].

药物性肝损伤占肠胃内科医生所见急性肝损伤的<1%, 是美国和欧洲急性肝衰竭最常见的原因[2]. 占美国所有急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)病例的一半以上. 根据法国和冰岛的调查, DILI的年发病率约为每10万居民14至19人[3]. DILI也是药物开发中化合物消耗的主要原因之一, 也是药物撤回、限制和项目终止的两个最常见的原因之一. 事实上很难确定DILI的真正发病率. 尽管人们对肝毒性的认识不断提高, 而且毒性较低的替代品也越来越多, 但随着处方数量和可用药物范围的增加, 肝药物反应的绝对频率似乎并未降低[4,5].

根据药物不良反应的临床药理作用的关系将药物性肝损伤分为: (1)A型不良反应(内源性肝毒素, DILI): 主要是由于药理作用过强所致, 通常与剂量有关, 可以预测停药或减量后症状很快减轻或消失, 在人群中的发生率虽高, 但死亡率低; (2)B型不良反应(特异的肝毒素, 特异性药物性肝损伤, IDILI): 是与正常药理应用完全无关的异常反应, 与剂量无关, 一般难以预测, 常规毒理学筛查难以发现, 但死亡率高. 大多数导致ALF引起的DILI病例是由于过量使用醋氨酚, 而醋氨酚被认为是一种“内在的”肝毒素. 药物所致的内在肝毒性表现为对肝细胞的直接化学损伤、较短的潜伏期和明显的剂量依赖性反应. 内源性肝毒素如果他们接受了足够的过量,虽然毒性反应的阈值可以显示出明显的个体间的差异. 但也会导致几乎所有患者的肝脏损伤.

特异的(不可预测的)药物性肝损伤(idiosyncratic drug induced liver injury, IDILI)是肝病学家面临的最具挑战性的肝脏疾病之一, 因为临床上使用了大量的药物, 可用的草药和膳食补充剂具有潜在的肝毒性, 这种疾病表现出多种临床和病理表型的能力以及目前缺乏特定的生物标志物. 这使得药物性肝损伤的诊断是一个不确定的过程, 因此, 需要对病情有高度的认识, 并仔细排除肝病的其他病因, 以取得正确的诊断. 特异性肝毒性可能是严重的, 导致特别严重的各种急性肝功能衰竭, 目前还没有有效的治疗方法[6]. IDILI只在极少数接受治疗的个体中引起重大的DILI, 发生率通常不到1/10000. 虽然罕见, 然而IDILI事件有很大的肝衰竭风险. 虽然似乎需要一个剂量阈值来诱发IDILI, 但在大多数接受治疗的患者中, 过量通常不会产生肝脏毒性[5]. 从治疗开始到IDILI发作, 往往有较长的潜伏期.

2 风险因素

2.1 宿主依赖性危险因素

2.1.1年龄: 据报道, 严重药物不良反应(severe adverse drug reaction, ADRs)的发生率随着年龄的增长而上升. 老年人中很大一部分ADRs与剂量有关, 可能是由于年龄增长与药物清除障碍有关. 老年人也被认为是DILI的一个一

般风险因素. 事实上, 从DILI大型前瞻性登记处获得的数据, 不要认为年龄越大是一个普遍的危险因素. 在西班牙DILI登记处, 46%的DILI患者在发病时≥60岁, 美国DILI报告16.6%的DILI患者为65岁或以上[5]. 然而, 冰岛一项基于人口的研究数据显示, DILI发病率随着年龄的增长而明显增加, 其中15-29岁患者的发病率为9/100000, 70岁以上患者的发病率为41/100000. 年龄对DILI感染发生率的影响与药物使用的增加是平行的, 这表明年龄本身可能不会增加DILI感染的风险, 而是老年人通常服用更多的药物所致.

然而, 年龄似乎影响了由特定病原体引起的DILI感染的风险. 回顾性数据库评估, 在美国, 377名接受异烟肼治疗的成年人发现, 35-49岁患者的肝毒性病例几乎是25-34岁患者的两倍, 50岁以上患者的肝毒性病例几乎是25-34岁患者的5倍. 有人推测, 改变的药代动力学和/或累积的线粒体功能损害可能是老年患者异烟肼相关肝损伤的发生率更高的原因[7]. 相反, 年轻似乎是丙戊酸钠诱发DILI的危险因素, 10岁以下儿童发生DILI的风险更高, 2岁以下儿童发生致命性结局的风险最高, 可能是由于与药物代谢的差异和血浆蛋白结合的减少有关.

除易感性外, 年龄似乎对DILI表型也有影响, 年轻患者更常发生肝细胞损伤, 而老年患者更容易发生胆汁淤积型损伤. 此外, 年龄越大, 发生持续性/慢性肝脏生化异常的DILI风险越高, 这可能是由于年龄越大, 组织修复功能下降所致[8,9].

2.1.2 种族: 种族对个体药物反应的影响主要归因于不同种族人群中单核苷酸多态性(single-nucleotide polymorphism, SNPs)的差异. 最近的一项对列研究报告了不同种族人群中导致DILI的药物有显著差异. 在非裔美国人中, 甲氧苄啶/磺胺甲恶唑、甲基多巴和苯妥英钠更常是DILI的病因, 而在高加索人中, 阿莫西林-克拉维酸盐是一种明显较高比例的病原体[10]. 尽管这些变异可能与遗传因素有关, 但同样, 这些药物的适应证等因素也与此有关, 因为处方模式的变化可以解释不同人群之间的差异. 相反, 非裔美国人发生严重皮肤反应的频率明显高于白人, 在控制选定的协变量后, 住院率、肝移植率或肝相关死亡率也明显高于白人.

对研究药物代谢酶(drug-metabolising enzyme, DME)多态性与抗结核治疗药物性肝损伤(TBC-DIL)风险的候选基因研究结果的meta分析显示, N-乙酰基转移酶2 (N-Acetyltransferase 2, NAT2)和DILI的单核苷酸多态性及1116例DILI(定义可变)和2655名对照者慢乙酰基转移酶2(NAT2)基因型与东亚和中东血统人群患DILI的风险增加有关, 但在高加索人中未发现相关性. 相反, 最近一项涉及印度抗TBC (antituberculosis) DILI病例和药物暴露对照组的全基因组关联研究(genome-wide association study, GWAS)未发现质疑NAT2基因型在确定DILI易感性中的作用的全基因组显著信号[11]. 然而, 考虑到后一项研究涉及大量表现为黄疸和腹泻的患者因急性肝衰竭而导致死亡或肝移植, NAT2基因型可能主要影响发病的初始步骤. 因此, 在单纯肝酶升高的人群中, 它仍可能与DILI有关.

此外, 某一特定族裔群体中危险等位基因的次要等位基因频率可能解释了不同群体对某种药物继发于DILI的易感性的一些差异. HLA-DRB1*15:02等位基因仅在0.7%的高加索人群中流行, 而在南亚人群中流行率为13%-18%. 最近的一份报告已经确定HLA-DRB1*15:02-DQB1*06:01是南亚裔个体中阿莫西林-克拉维酸盐相关性暴发性肝衰竭需要肝移植的潜在危险因素. 药物性肝损伤是抗结核药物治疗的并发症, 特别是在含异烟肼的治疗方案中. 为了调查遗传危险因素, Kaliyaperumal等进行了一项全基因组关联研究(GWAS), 涉及抗结核DILI病例(55名印度人和70名欧洲人)和对照组(1199名印度人和10397名欧洲人). 大多数病例采用标准抗结核药物方案治疗, 均接受异烟肼治疗. 推测单核苷酸多态性和HLA基因型, 并对GWAS和候选基因基因型进行跨种族Meta分析. GWAS只在欧洲人身上发现了一个显著的关联(Rs117491755). HLA中HLA-B*52: 01有显着性差异. N-乙酰转移酶2 (NAT 2)的频率较低(OR为0.69, 95%CI为0.57-0.83, P = 0.01). NAT 2*6和NAT 2*7以NAT 2*6和/或NAT 2*7的纯合子为主(OR = 1.89, 95%CI: 0.84-4.22, P = 0.004). 结果认为HLA基因型对结核病药物相关性DILI的贡献很小, NAT 2的贡献是复杂的, 但与以前的研究结果一致, NAT 2*5与NAT 2*6和NAT 2*7的代谢效应存在差异[12].

2.1.3 慢性肝病: 慢性肝病可能与代谢减少和药物清除有关的假设没有强有力的证据支持. 对酒精性肝病和代谢相关脂肪性肝病(metabolic associated fatty liver disease, MAFLD)的研究发现, 不同DME活性的诱导、下调或无变化的结果不一致[13], 这些变异中的一些可能是由所研究的个体的不同程度的肝损伤所解释的, 而另一些则是由于所使用的方法所造成的, 然而, 还不能概括对于慢性肝病中肝功能对药物处置的影响. 最近一项涉及379名(包括128名慢性病毒性肝炎患者)接受抗结核(TBC)治疗的回顾性研究发现HCV本身或与HBV结合与DILI的发病率增加有关[14]. 研究还表明, HIV感染可使抗TBC DILI的风险增加4倍, 与HCV合并感染可使该风险增加14倍.

慢性肝病患者(16%)的死亡率明显高于无肝病患者(5.2%). 在107名慢性肝病患者(包括58名接受抗TBC治疗

的肝硬化患者)队列中, 17%的患者经历过DILI, 其中24%患有慢性肝炎, 15%患有代偿性肝硬化[15].

2.2 药物依赖性危险因素

2.2.1 剂量和肝药物代谢: 药物剂量在内源性DILI中起着至关重要的作用, DILI发生在服用过量药物的患者身上, 例如对乙酰氨基酚肝毒性. 在推荐的每日剂量药物治疗后出现特异性DILI的事实最初导致人们相信特异性DILI是一种剂量无关的反应. 1999年, Uetrecht强调了这样一个事实: 每天服用10 mg或更少的药物是很少的, 与特异性DILI的高发病率有关. 药物剂量在特异性DILI中起作用的观点首次在向瑞典药物不良反应咨询委员会报告的598例瑞典DILI病例的研究中得到证实, 发现77%的病例涉及剂量≥50 mg/天的病原体. 此后, 西班牙DILI登记处和冰岛DILI全国性研究证实了推荐剂量≥50 mg/天的病原体占优势, 在这两个队列中, 这些病原体分别占77%和88%, 也就是说, 今天大部分的药物需要>50 mg/天的剂量才能达到预期的效果. 因此, 很难确定DILI的特异性是否与高剂量有关, 或者DILI病例的高识别率是否是由于推荐剂量大于50 mg/天的药物(例如抗生素)导致的.

然而, 现在假设剂量实际上在特异性DILI中起作用, 需要超过某种形式的阈剂量才能发生反应. 然而, 这种阈值剂量可能因个体而异[16]. 这一点在DILI案例中得到了证明, 即患者对初始较低浓度的药物有耐受性, 但当需要增加剂量(仍在推荐的每日剂量范围内)以获得更好的药理作用时, 会出现DILI. 此外, 研究发现, 由每日剂量≥50 mg 的病原体诱发的DILI的潜伏期明显短于服用低剂量药物诱发的DILI[17].

除了剂量, 肝脏药物代谢被认为影响药物的肝毒性潜力. 大多数药物都需要某种形式的生物转化才能被消除, 而且通常还需要生产活性药物成分. 这一过程通常需要形成反应性代谢物, 这些代谢物可导致共价结合的半抗原和/或易感细胞环境中的细胞应激, 从而引发或共同刺激产生适应性免疫应答的发展, 从而导致DILI. 药物代谢特征与肝毒性潜在性之间的关系已有报道. 一项对美国207种广泛使用的口服药物的分析发现, 肝代谢显著(>50%)的药物有更高的ALT升高和肝衰竭的报告频率. 此外, 发现具有显著肝脏代谢和每日剂量>50 mg的药物具有显著更大的肝毒性风险[18].

2.2.2 亲脂性: 众所周知, 亲脂性(通常以辛醇-水分配系数的对数来衡量)会影响各种药物相关方面, 如药效、药代动力学和毒性, 具有较高亲脂性的药物似乎增加了靶外结合, 并增加了引起一般毒性事件的可能性. 亲脂性与每日剂量相结合, 被称为“二元法则”, 被认为反映了药物的潜在肝毒性. 亲脂性是化合物优先在非极性脂介质中分配, 而不在水相中分配的一种趋势. 它对药物的其他属性具有重要的决定作用. Log P为化合物油水分配系数P的对数值, 指未解离的分子在油相与水相的分配平衡. 在化合物的所有分子均以中性形式存在的pH条件下, 其在一种有机相(例如辛醇)和一种水相(例如缓冲液)中分配系数的对数即为Log P. 高亲脂性(LogP >3)和每日剂量(>100 mg)与DILI风险增加有关, 根据对美国164种已批准药物的分析, 推测较高的亲脂性可促进药物进入肝细胞和随后的肝代谢, 从而增加活性代谢物的数量, 可能会增加DILI的风险[19]. 亲脂性药物通常需要肝的代谢, 因此, LogP可能只是广泛生物转化和肝脏暴露于活性代谢物的替代物. 最近对5个公开药物数据集的LogP、每日剂量和肝脏代谢程度的分析发现, 亲脂性和肝脏代谢都是DILI的个体风险因素, 当与剂量结合考虑时, 风险增加[20]. 二元法则作为肝毒性预测工具,在支持药物研究和开发方面的潜在适用性已在慢性丙型肝炎病毒感染的直接作用抗病毒药物上得到证实[21].

2.2.3 反应性代谢物与氧化应激: 反应性代谢物是已知的DILI发病的危险因素. 在药物开发过程中, 通过共价蛋白结合体外人体肝脏模型评估反应性代谢物的形成. 反应性中间体在反应性上表现出很大的差异, 这反映了它们与蛋白质或其他分子结合的速度和选择性有关. 共价结合的可能后果是: (1)改变靶蛋白的功能或位置; (2)形成新抗原; 或(3)没有副作用或临床影响. 例如, 如果只有很少的蛋白质被修饰. 由于活性代谢物可以改变细胞蛋白质的功能和结构, 因此被列为DILI的一个重要危险因素. 除了它们的直接毒性作用外, 反应性代谢物被认为是特异性DILI发病的第一步, 因为共价结合的蛋白质形成免疫原性半抗原, 可触发下游免疫反应发生[22].

据Liver Tox数据库估计, 2000例接受治疗的患者中约有1例出现急性肝损伤. 形成反应性代谢物的肝毒性药物包括非甾体抗炎药(NSAID)双氯芬酸布洛芬和萘普生、对乙酰氨基酚、托卡彭、奈法唑酮、扎鲁司特、三苯氧胺、氟他胺, 胺碘喹、磺胺甲恶唑、异烟肼、特比萘芬、非氨酸、氟烷和卡马西平. 另一份报告导致DILI的前10名药物依次为: 阿莫西林克拉维酸盐、氟氯西林、阿托伐他汀、双硫仑、双氯芬酸、辛伐他汀、卡马西平、布洛芬、红霉素和合成代谢类固醇. 在这10种药物中, 阿莫西林克拉维酸盐的DILI病例数最高, 合成代谢类固醇的病例数最低[23].

毒素直接作用于肝细胞可引起氧化性细胞器应激, 如内质网和线粒体应激, 导致细胞凋亡或坏死. 对乙酰氨基酚的肝毒性代谢物乙酰苯醌亚胺(acetylbenzoquinone imine, NAPQI)氧化蛋白质巯基并产

生活性氧(reactive oxygen, ROS). NAPQI和ROS损伤线粒体DNA, 激活氨基末端激酶(N-terminal kinase, JNK)信号通路, 进一步放大线粒体ROS的产生, 导致线粒体膜通透性转换孔(mitochondrial permeability transition pore, MPTP)的开放. MPT的开放导致ATP合成所需的线粒体膜电位崩溃, 并导致膜间蛋白的释放, 从而引发坏死细胞死亡[24].

2.2.4 线粒体危害: 线粒体毒性的例子是氟脲(fialuridine), 一种引起微泡性脂肪肝和急性肝衰竭的核苷类似物. Fialuridine导致线粒体DNA缺失, 慢性乙型肝炎患者出现体重减轻、黄疸, 胰腺炎和乳酸酸中毒. 微泡性脂肪变性也见于胺碘酮、丙戊酸钠、四环素和各种抗病毒核苷类似物, 其特征是线粒体数量减少. 患者表现为低血糖、高氨血症和乳酸酸中毒, 但ALT水平仅轻度升高[25]. 丙戊酸钠抑制线粒体β-氧化脂肪酸和线粒体呼吸链, 从而减少氧化磷酸化和消耗细胞内ATP水平. 这也会导致产生过量的活性氧, 从而导致进一步的细胞损伤.

Aleo等人研究了美国食品与药物管理局(FDA)的肝毒性知识库(liver toxicity knowledge base, LTKB)中包含的72种化合物对线粒体呼吸的影响以及对人类 胆盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)转运活动的抑制. LTKB将可能引起DILI的药物被归类为: (1)大多数DILI相关药物(盒装警告或从实验室撤回; (2)较少涉及DILI的药物(标签中提到DILI风险)和(3)不涉及DILI的药物(标签中没有DILI指征)[26]. 通过结合临床研究的因果关系评估和药物标签信息来改进DILI分类, 以提高其准确性[27]. 具有双重线粒体和BSEP抑制剂的效力, 其与更严重的人类DILI高度相关, 并且人对高度血浆药物浓度(highest plasma drug concentration, C_{max})更敏感[26].

3 诊断

肝损伤的表型按R值分类, 定义为谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)/ULN: ALP/ULN比值. ≥5的R值提示肝细胞损伤、≤2提示胆汁淤积性损伤和2-5提示为混合型损伤[28]. 药物性肝损伤(DILI)诊断检查流程图见图1.

3.1 传统生化标记 近半个世纪以来, 临床和临床中常用于检测和管理药物性肝损伤的血清标志物是丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和总胆红素(total bilirubin, TBIL). 丙氨酸氨基转移酶(ALT)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)存在于肝细胞内, 在急性药物性肝损伤事件中, 血清ALT和AST水平的升高与肝细胞死亡和释放的速率密切相关. 血清ALP升高通常表示对胆管膜或胆管上皮细胞的损伤. TBIL水平升高可反映肝脏功能损害或胆红素生成(溶血)或加工改变. 然而, 这些传统的血清标志物存在着一些缺陷. 这些标记物中没有一种是完全针对肝脏损伤的, 也没有提供对损伤模式的深刻理解. 此外, 当肝细胞损伤已经发生时, ALT、AST等细胞损伤生物标志物被释放到循环中, 因此, 在肝细胞损伤出现之前, 这些生物标志物不能被用来鉴别药物性肝损伤的潜在作用. 此外, 血清ALT/AST的升高可能发生在药物治疗期间, 这些药物不会对进行性肝损伤造成很大或任何风险(例如他汀类、肝素和胆碱). 即使药物能够引起进展性和临床上重要的肝损伤, 大多数药物引起的血清ALT和AST升高仍能得到控制解决[3].

Hy's法则是评估肝脏特定实验室参数时的基本经验法则, 即当药物性肝损伤出现血清ALT>3×ULN, 且血清TBIL>2×ULN升高时, 通常提示预后不良. 经实践认识到血清ALT和AST在新药物候选药物临床试验中评估肝脏安全性的局限性, 2009年美国食品与药物管理局(FDA)指南将"Hy's法则"案例定义为最准确地预测到药物可能导致急性肝衰竭. 药物性肝损伤的国际登记处证实, 由于药物导致的肝细胞性黄疸患者至少有10%的机会发展为肝衰竭[2,29]. 根据2014年由FDA/药物评价与研究中心(CDER)主办的DILI专题讨论会, 大会主席Senior谈到新药肝脏安全性评估与挑战时指出: (1)肝损伤的严重程度不能仅依靠ALT水平确定, 对于非常少见的事件, 受试者操作特征曲线经常失败; (2)DILI不能仅通过血液生化检测或肝活检来进行诊断, 而是要求掌握相关详尽的临床信息; (3)目前还没有一种生物标志物足够特异.

假设血清TBIL升高是由于肝细胞大量丧失而导致肝功能全面丧失所致. 值得注意的是, 在一个真正的Hy's法则案例中, 血清ALT和TBIL的联合升高并不是预测严重肝损伤可能性的生物标志物, 而是证明在这一课题中发生了严重和潜在威胁生命的肝损伤的生物标记物.

解释Hy's法则案例的一个挑战是, 药物可能会导致血清TBIL升高, 原因不是全面的(整体的)肝功能障碍的损害. 其原因包括溶血(血红素负荷增加)、药物对转运胆红素的摄取或流出蛋白的抑制, 或抑制与胆红素结合的主要肝细胞酶(hepatocyte enzyme that conjugates bilirubin, UGT1A1). 最近, 定量系统药理学已被应用于评估一种药物对肝脏暴露的估计, 以及药物对抑制转运蛋白和UGT1A1的量化效应. 离体系统这一方法提高了对药物引起的血清TBIL升高的认识和预测, 而不是由于全面的肝功能障碍所致[29].

最近也有人提出, 在急性药物性肝损伤事件中死亡的肝细胞百分比可以通过血清ALT的连续测量来评估[30]. 这是基于这样的观点, 即每个肝细胞都含有一定数量的ALT, 而ALT在细胞死亡期间是被动释放的. 因此, 血清ALT与时间曲线下的面积应与丢失的肝细胞数量相对

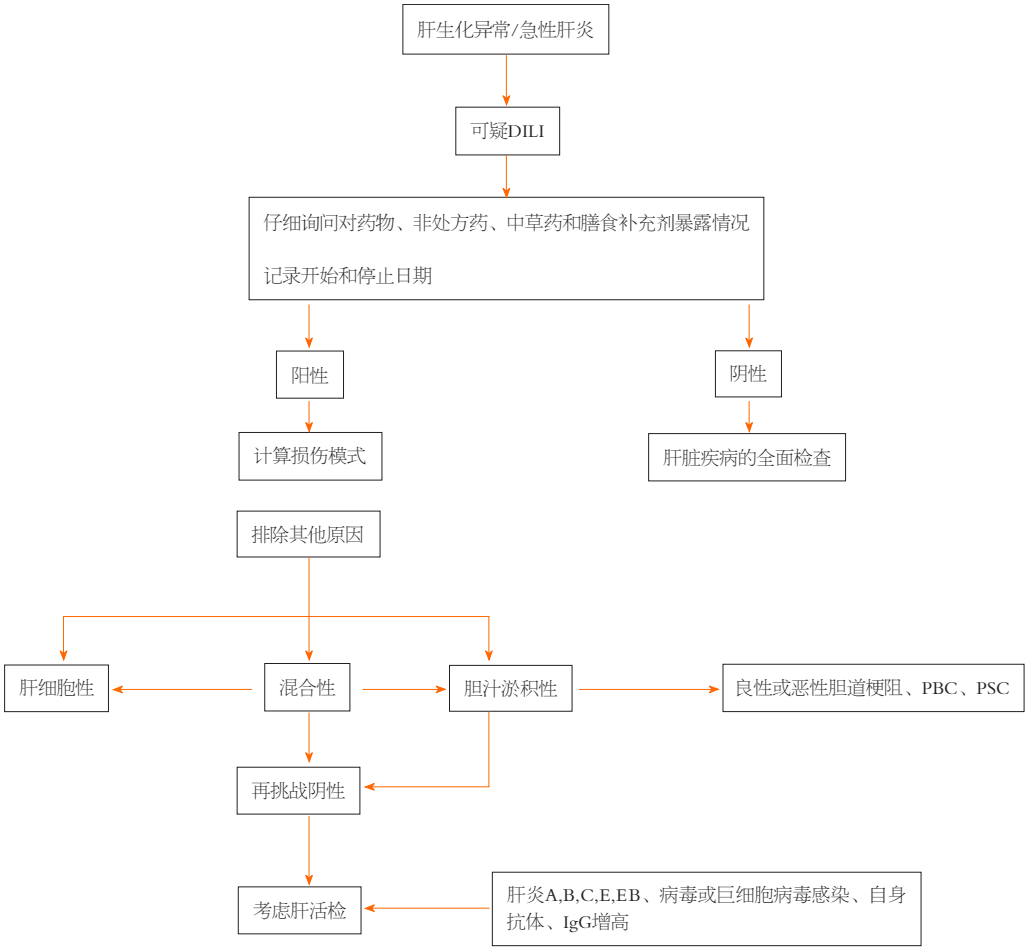

图 1　药物性肝损伤诊断检查流程. DILI: 药物性肝损伤.

应. 此外, 还提出用这种方法估算肝细胞丢失量, 可以根据聚集肝功能的隐含损失来预测血清胆红素升高的幅度. 动物的肝切除研究表明, 在血清TBIL升高到足以引起黄疸之前, 必须有超过70%的肝细胞丢失. 然而, 在急性药物性肝损伤事件中, 在可能不会发生细胞死亡的部分肝细胞中, 功能将受到损害. 将这一现象纳入丙氨酸氨基转移酶(ALT)的肝细胞丢失估计值的支持性数据, 可能是几十年前对因醋氨酚过量而发生肝损伤的患者进行的一项肝活检研究. 根据本研究提供的数据, 可以得出结论: 40%以上的肝细胞必须在血清TBIL升高到大于2×ULN之前死亡. 根据一系列的血清ALT值估计, 每个受试者的肝细胞丢失率均小于40%[31]. 模型的结论是, 血清TBIL的升高并不仅仅是由于肝细胞毒性所致. 如果系统药理学方法表明药物对转运体和/或酶的抑制可能导致血清TBIL的升高, 这一结论将得到进一步的支持. 这些方法有可能完善对潜在的Hy's定律案例的解释[29]. 用连续血清ALT值来评估肝细胞丢失百分比, 认为大多数ALT进入循环是肝细胞随着ALT含量的释放而死亡的结果. 这种情况很可能发生在严重的药物性肝损伤事件中, 但血清ALT的大幅升高也可能是由于肌肉疾病或损伤引起的[32].

3.2 新的药物性肝损伤生物标志物

3.2.1 凋亡指数: 最近提出了一种基于血清生物标志物的凋亡指数(apoptotic index, AI)来估计凋亡和坏死在肝损伤中的相对贡献. AI为半胱氨酸天门冬氨酸蛋白酶(caspase)裂解角蛋白18 (caspase cleaved keratin 18, ccK 18)与总角蛋白18 (K18)的比值, K18包括全长K18和caspase裂解片段. K18是一种I型中间丝, 存在于上皮细胞中, 为细胞提供结构支持. 细胞凋亡早期, K18被caspase切割, 形成稳定的蛋白片段(ccK 18), 并释放到循环中. 坏死时, 全长K18被动释放入循环, 但有少量ccK 18反应释放. 现已研究在醋氨酚诱导的肝损伤(acetaminophen-induced liver injury, AILI)中检测血中K18或ccK 18浓度的质谱(小鼠)或免疫分析(针对人类), 以确定它们是否与肝脏中发生的坏死程度和凋亡程度相关. 研究发现在小鼠中, ccK 18水平的升高与caspase 3的表达密切相关, 与caspase 3的处理、DNA断裂和凋亡肝细胞的出现密切相关. 此外, 还发现ccK 18与K18的比值反映了肝脏从混合凋亡/坏死

向主要坏死损伤的时间依赖性转变. 还注意到, 在醋氨酚诱导的肝损伤(AILI), 在ALT水平显著上升之前, K18和ccK 18的水平都有很大的提高[33]. 这些数据表明, 至少在临床前模型中, 量化K18和ccK 18既可以早期发现肝细胞死亡, 也可以定量估计肝细胞凋亡与坏死的相对数量. 由于K18并不局限于肝起源的上皮细胞, 因此利用它本身作为药物性肝损伤生物标记物可能会有问题. miR-122或谷氨酸脱氢酶(GLDH)/K18的比值可能允许这样的结论, 但这一点尚未得到调查.

血清K18和ccK 18的定量也是在药物性肝损伤临床背景下进行的. 与ALT相比, 这两种方法对肝损伤的检测都具有更高的敏感性[34]. 血清K18和ccK 18也有可能作为预测肝衰竭和死亡的生物标志物[35]. 在这些调查中, 在符合国王学院标准(King's College Criteria, KCC)的患者中, K18和ccK 18的水平都显著高于未达到这些标准的患者(KCC), KCC是一种预测AILI肝衰竭的模型. AI的估计显示, 与未发生KCC的患者相比, KCC患者的值更低(坏死更多). 这些结果与坏死性肝损伤相对于凋亡损伤更为严重和危险的观点是一致的[36].

然而, 应当指出, 在使用商业上可获得的ELISAs时, 计算人工智能可能是一项挑战. 在癌症患者血清中进行的实验证据表明, 当K18和ccK 18水平较低, 这一比率可能并不有用. 因此, 建议只有在K18和ccK 18的值都超过某些背景阈值时才能进行人工智能[37]. 当K18水平较低时, 测量的ccK 18水平可能会超过测量的总K18水平, 原因是由于非特定背景结合水平的增加所致. 同样, 这也支持这样的观点, 即只有当值高于特定的背景级别时, 以及当K18水平超过ccK 18水平时, 才能计算AI. 当需要计算AI时ELISA制造商推荐使用较早版本的K18 ELISA(M65)®. 最后, 这些ELISAs目前还不适用于啮齿类动物.

3.2.2 谷氨酸脱氢酶: 谷氨酸脱氢酶(glutamate dehydrogenase, GLDH)是一种位于线粒体基质中的酶, 参与氨基酸的氧化和尿素的产生. 这种蛋白主要表达在肝脏的中心周区, 但在肾脏和大脑中也有较低水平的GLDH表达. 在最近对啮齿动物进行的一项AILI研究中, 发现GLDH在识别肝细胞坏死方面略优于ALT, 并显示出与损伤严重程度之间的相关性[38]. 同样, 在一项狗的研究中, 血清GLDH水平与ALT水平相比, 在研究终止时能更准确地反映组织学观察到的肝损伤的缺失. 一项临床研究表明血清GLDH与ALT水平有很强的相关性, 表明GLDH对多种病因所致肝损害患者的肝损伤有较高的诊断能力[39]. 提示由于GLDH的半衰期短于ALT的半衰期(分别为~16小时和~47小时), 血清GLDH水平能更准确地反映肝脏损伤的进展.

GLDH向血清中的释放可能是线粒体毒性的信号, 可能是肝损伤的机制之一. 这一观点源于这样一个事实, 即如果发生坏死而不导致线粒体毒性, 则可通过离心(“线粒体后上清液”)从新鲜血清中去除释放的完整线粒体. 利用这一技术, AILI小鼠的研究中证明了GLDH作为线粒体损伤生物标志物的证据, 该研究检测了从或速尿诱导的肝脏毒性所获得的线粒体后上清液中GLDH的含量[40]. 虽然这两种毒物引起的中心周区坏死和血清丙氨酸氨基转移酶峰值升高的模式相似, 但仅在AILI线粒体后血清上清液中GLDH水平显著升高, 而速尿处理小鼠未见明显升高. 这与对乙酰氨基酚已知的线粒体毒性和速尿所致线粒体毒性的缺乏相一致, 提示在药物性肝损伤期间分析线粒体后上清液中的GLDH升高可能是由于多种药物所致[3].

3.2.3 miR-122: MicroRNAs是一种小而非编码的RNA, 有助于转录后基因的调控. 这些物种的一个吸引人的特点是它们在生物液体中的高度稳定性. MicroRNA-122是由肝细胞特异性表达的, 它占肝脏miRNA总量的70%, 有可能成为药物性肝损伤生物标记物的理想候选物, 因为ALT等传统生物标志物并不完全是肝脏特异性的[41].

在AILI小鼠中, miR-122在血浆中的含量很高, 同时在肝组织中减少. 此外, 与丙氨酸氨基转移酶(ALT)相比, 循环中的miR-122水平在早期和低剂量对乙酰氨基酚(APAP)后均升高. 在临床上, 多次药物性肝损伤研究表明, 循环中的miR-122水平在ALT升高之前就会升高[34,42]. 在另一项研究中, 急性肝损伤患者血清miR-122水平升高, 而健康对照组和服用过量醋氨酚但未发生肝损伤的患者则未见升高. 研究表明miR-122的血清半衰期比ALT短, 因此能够更准确地反映持续肝损伤的程度[43].

在从成人和儿童获得的临床醋氨酚诱导的肝损伤(AILI)数据集中也进行了大量的miRNA分析研究. 在所有的研究中, miR-122是循环中最高水平的miRNAs之一. 有趣的是, 在一项涉及评估AILI和缺血性肝损伤的研究中, 两种损伤类型的miRNAs分布有明显的差异[44].

尽管人们对miR-122作为肝损伤敏感和特异的生物标志物有很大的兴趣, 但最近的一些观察表明, miR-122的肝细胞释放可能受到调控, 而不仅仅是反映肝细胞死亡过程中的被动释放. 例如, 最近在大鼠身上进行的一项研究表明, 与对照组相比, 对乙酰氨基酚治疗后2小时, 大鼠血浆miR-122水平显著降低[45]. 血清miR-122水平随肝坏死的发生而升高. 此外, 最近有报道说, miR-122是在急性肝反应期间释放出来的, 可能是由于慢性炎症状态下经常观察到的贫血而向肾脏移动有关[46]. miR-122也被发现在健康志愿者身上有很大程度的内部和内部变异. 这种多变性在一定程度上促使预测性案例测试联盟(PSTC)

剥夺了miR-122作为药物性肝损伤生物标记物的优势, 而GLDH具有较低的学科间和内部变异性为其优点.

3.3 特异性药物性肝损伤的生化标记预测 现在看来, 许多甚至是大多数的IDILI反应都是由肝脏的适应性免疫攻击引起的. 这就要求人体的免疫系统将肝脏看作是外来的, 这可能是药物诱导的肝细胞表面Ⅰ类HLA分子所产生的新抗原的结果. 然而, 仅仅提出新的抗原并不足以引起肝脏的适应性免疫攻击. 这被认为需要激活天然免疫细胞, 特别是肝脏中的库普弗细胞. 这就需要药物诱导释放损伤相关的分子模式, 即抑制, 从而启动天然免疫细胞的激活[47]. 如果是这样的话, 在没有损伤相关分子模式(damage associated molecular pattern molecules, DAMPs)释放的情况下, 血清ALT升高和(或)缺乏天然免疫细胞的激活应意味着肝脏不会发生适应性免疫攻击. 因此, 人们一直在积极寻找肝细胞释放出的适当的DAMPs, 以及能够检测肝脏中先天免疫细胞活化的生物标志物. 迄今为止, 高迁移率组1 (HMGB 1)及其各种翻译后修改形式在这方面得到了最广泛的关注.

为了引起肝脏的适应性免疫攻击, 认为药物必须引起肝细胞应激或死亡, 导致肝细胞损伤相关分子模式的释放, 进而激活天然免疫细胞, 尤其是肝脏中的库普弗细胞. 激活的天然免疫细胞释放细胞因子和趋化因子, 将炎症细胞引入肝脏, 这一过程被认为是针对肝脏的适应性免疫攻击的先决条件.

3.3.1 高迁移率族组1: 高迁移率族组1 (high mobility group box 1, HMGB 1)这种无处不在的核蛋白主要发挥DNA结合和转录调节的作用; 然而, 它也可以积极地分泌到细胞外环境中. 有证据表明, HMGB 1是被动地从受损或死亡的肝细胞中释放到循环中的, 并且可以起到DAMP的作用, 引发免疫反应[48]. 这一功能似乎是由HMGB 1中特定残基的氧化还原状态介导的. 在这些残基处完全或部分减少的HMGB 1亚型在坏死时释放, 并促进先天免疫细胞趋化和细胞因子的释放. 相反, 在这些关键部位被完全氧化的HMGB 1是由凋亡细胞释放的, 并不引起先天免疫反应.

重要的是, HMGB 1也可以在一个需要关键赖氨酸残基高度乙酰化的过程中积极分泌. 当在药物性肝损伤事件中在血清中检测到时, 大多数高乙酰化HMGB 1被认为是由先天免疫细胞释放的, 这意味着受到DAMPs的激活; 然而, 肝细胞也被证明在某些条件下分泌这种异型.

非临床和临床研究都表明HMGB 1是AILI的敏感生物标志物. 小鼠血清HMGB 1明显早于ALT升高, 并以较快的速度回归基线, 与肝坏死的组织病理学观察密切相关[33]. 与坏死细胞渗出HMGB 1促进免疫细胞炎症和HMGB 1活性释放的观点一致, 血清中高乙酰化HMGB 1的升高与肝内炎性细胞的出现同时发生. 此外, 在最近的一项小鼠研究中, 用一种嵌合的人源化抗HMGB 1抗体减轻了对乙酰氨基酚所致的肝脏损伤, 支持了该蛋白在药物性肝损伤因该药物所致的进展中的作用[49].

在临床醋氨酚诱导的肝损伤(AILI)研究中, HMGB 1对肝毒性检测的敏感性高于ALT[42]. 在一项研究中, 从ALT水平仍在正常范围内的患者在提交时收集了测量结果. 在这些样本中, HMGB 1的总水平仅在后来发生肝损伤的患者中显著升高. 在第二项研究中, 高乙酰化HMGB 1只在死亡或需要肝移植的AILI患者中观察到, 与那些自发存活的患者相比, 表明这种形式的HMGB 1可能是AILI预后不良的预后因素[50]. 虽然总HMGB 1可以通过免疫测定来量化, 但目前还没有能够解释不同异构体的抗体, 因此需要质谱来测定HMGB 1的翻译后状态. 然而, 在上述AILI研究中, 总HMGB 1的测定也被证明是药物性肝损伤的一个敏感的生物标记物.

3.3.2 外显子是真核生物基因的一部分: 外显子(expressed region, Exons)是最后出现在成熟RNA中的基因序列, 又称表达序列. 如前所述, 肝细胞坏死时可释放DAMPs, 并启动肝内先天免疫细胞的激活, 这被认为是必要的, 但不足以引发肝脏的适应性免疫攻击. 然而, 有越来越多的证据表明, 肝细胞坏死并不一定是需要释放DAMP和最终启动肝脏适应性免疫攻击的先决条件. 例如, 在ximelagatran(希美加群, 一种口服凝血酶抑制剂)、lumiracoxib (一种新型,选择性的COX-2抑制剂)和lapatinib[拉帕替尼, 是一个靶向Her2和EGFR的小分子的酪氨酸激酶抑制剂(TKI)]的临床试验中, 观察到较强的HLA相关性, 血清ALT升高相对较小. 此外, 在因抗生素异烟肼引起的IDILI病例中, 在血清ALT升高之前, 患者血液中已经发现了药物反应性T细胞. 这些观察表明, 血清ALT的轻度升高并不一定反映药物直接引起的肝细胞坏死, 而会引发适应性免疫攻击, 而最初的肝细胞死亡是由适应性免疫攻击介导的. 在没有肝细胞死亡的情况下, 可以触发对肝脏的适应性免疫攻击, 这与乙肝感染是一致的. 乙型肝炎病毒不是细胞溶解, 而是产生肝脏特异性的适应性免疫攻击, 导致肝细胞坏死和临床疾病[51]. 最近的数据表明, 在没有细胞死亡的情况下, 这些DAMPs可能会通过药物诱导的肝细胞应激而在肝细胞外小体中传播[45]. 观察还表明, 与对照肝细胞释放的外显子相比, 用醋氨酚亚毒性剂量的醋氨酚处理肝细胞释放的外显子对单核细胞的激活更大. 这是合理的, 应当强调, 但没有死亡的肝细胞释放DAMPs (可能是新抗原), 在外显子, 然后移动和激活先天免疫细胞. 这是一个重要的研究领域, 因为, 由于肝内皮细胞的多孔窗, 肝源性外显子可以进入血液循环, 并有可能作为血液生物标

志物. 因此, 从外周血中分离出外显子, 并对HMGB 1等HMGB1进行分析, 可能是早期预测进展和临床重要的药物性肝损伤电位的生物标记物[3].

3.4 基因测定 研究人肝毒性时已经发现了危险等位基因的存在, 这些等位基因对药物性肝损伤的易感性的风险比要高得多. HLA等位基因检测具有较高的阴性预测价值, 因此, 由于药物的特殊性, 已被用于排除DILI. 当病人服用一种以上的肝毒性药物时, 基因检测的高阴性预测价值已被用于鉴别DILI的正确药物. 纳入基因测试可以改善DILI因果关系评估工具的性能特征[52]. 长期以来, 人类基因组中个体间的变异一直被认为是导致药物反应和药物不良反应敏感性差异的原因之一.

3.4.1 基因检测在临床诊断中的应用: 诊断DILI的“基因测试”的表现通常被描述为根据病例对照研究计算的敏感性和特异性, 这些研究旨在识别风险等位基因. 大多数与DILI相关的HLA等位基因具有极高的阴性预测值(>0.95). 因此, 当明确诊断的重要性时, 它们可以用来排除由特定药物引起的肝脏不良反应. 这将允许继续有效的药物治疗, 并提请注意一种非典型的可治疗情况的表现, 如自身免疫性肝炎, 在没有经典的自身抗体模式的情况下, 有缓解和复发的过程. 基因测试的高阴性预测值可用于在病人接触过两种可能导致DILI的药物时, 识别DILI的正确药物. 在最近的一份报告中, 一位患有胆汁淤积性肝炎的患者暴露于氟西林和雄激素合成类固醇, 缺乏H1a-B*5701等位基因被用来排除氟氯西林作为冒犯剂, DILI被认为是合成类固醇[53]. 另一种在黄疸临床评估过程中有效利用基因检测的类似临床情况, 在急性肝损伤的研究中, 临床医生正在使用基因检测作为诊断工具, 其中, 药物所致的DILI是鉴别诊断之一. 对怀疑DILI的事件进行因果关系评估是一个具有挑战性的过程, 在特定情况下纳入基因测试可能会提高诸如Roussel Uclaf因果关系评估方法(Roussel Uclaf causality assessment method, RUCAM)等因果关系评估工具的一致性和准确性[54].

3.4.2 药物遗传学的未来: 迄今为止的调查已经证实, 一些常见的基因变异与DILI密切相关. 然而, 肝毒性遗传因素的基础知识还不足以使其在临床上得到广泛的应用. 较罕见的基因变异对DILI的影响可能要大得多; 由于其受检测方法的限制, 全基因组关联分析(genome-wide association study, GWAS)无法检测到这些变异. 全基因组测序技术涉及可挖掘整个人类基因组对药物不良反应的遗传贡献; 这些进展有望大大增加可与基因分型相联系或可使诊断不良反应的检出率增加.

在过去的十年里, 对影响DILI易感性的非遗传因素的认识也有了很大的提高. 例如, 如果接触氟氯西林的每万人中就有一人患上了DILI, 那么携带氟氯西林的人患上DILI的风险就H1a-B*5701等位基因为1/500, 同时携带危险等位基因的65岁以上人群的估计风险上升到1/100. 因此, 将影响DILI发展风险的lumiracoxib(罗美昔布, COX-2抑制剂)与药物有关的、遗传的和非遗传的宿主因素结合在一起进行分析, 与单独使用的遗传测试相比, 性能特征有了很大的改善[55]. 因此, 增加了集成算法的临床适用性. 也从而提高了DILI的检出率.

4 结语

深入研究DILI的发病机制, 为治疗提供更多新途径, 开展更多的非创伤性新血清标记物和基因检测的研究, 这将是今后DILI防治的努力方向与期待.

5 参考文献

1 池肇春. 药物性肝病. 北京: 军事医学科学出版社 2010: 1-15

2 Fontana RJ, Hayashi PH, Gu J, Reddy KR, Barnhart H, Watkins PB, Serrano J, Lee WM, Chalasani N, Stolz A, Davern T, Talwakar JA; DILIN Network. Idiosyncratic drug-induced liver injury is associated with substantial morbidity and mortality within 6 months from onset. *Gastroenterology* 2014; 147: 96-108.e4 [PMID: 24681128 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.03.045]

3 Church RJ, Watkins PB. The transformation in biomarker detection and management of drug-induced liver injury. *Liver Int* 2017; 37: 1582-1590 [PMID: 28386997 DOI: 10.1111/liv.13441]

4 Björnsson ES, Bergmann OM, Björnsson HK, Kvaran RB, Olafsson S. Incidence, presentation, and outcomes in patients with drug-induced liver injury in the general population of Iceland. *Gastroenterology* 2013; 144: 1419-1425, 1425.e1-3; quiz e19-20 [PMID: 23419359 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.006]

5 Chalasani N, Bonkovsky HL, Fontana R, Lee W, Stolz A, Talwalkar J, Reddy KR, Watkins PB, Navarro V, Barnhart H, Gu J, Serrano J; United States Drug Induced Liver Injury Network. Features and Outcomes of 899 Patients With Drug-Induced Liver Injury: The DILIN Prospective Study. *Gastroenterology* 2015; 148: 1340-52.e7 [PMID: 25754159 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.03.006]

6 European Association for the Study of the Liver. Electronic address: easloffice@easloffice.eu; Clinical Practice Guideline Panel: Chair; Panel members; EASL Governing Board representative:. EASL Clinical Practice Guidelines: Drug-induced liver injury. *J Hepatol* 2019; 70: 1222-1261 [PMID: 30926241 DOI: 10.1016/j.jhep.2019.02.014]

7 Boelsterli UA, Lee KK. Mechanisms of isoniazid-induced idiosyncratic liver injury: emerging role of mitochondrial stress. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 678-687 [PMID: 24783247 DOI: 10.1111/jgh.12516]

8 Medina-Caliz I, Robles-Diaz M, Garcia-Muñoz B, Stephens C, Ortega-Alonso A, Garcia-Cortes M, González-Jimenez A, Sanabria-Cabrera JA, Moreno I, Fernandez MC, Romero-Gomez M, Navarro JM, Barriocanal AM, Montane E, Hallal H, Blanco S, Soriano G, Roman EM, Gómez-Dominguez E, Castiella A, Zapata EM, Jimenez-Perez M, Moreno JM, Aldea-Perona A, Hernández-Guerra M, Prieto M, Zoubek ME, Kaplowitz N, Lucena MI, Andrade RJ; Spanish DILI registry. Definition and risk factors for chronicity following acute idiosyncratic drug-induced liver injury. *J Hepatol* 2016; 65: 532-542 [PMID: 27184533 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.05.003]

9 Fontana RJ, Hayashi PH, Barnhart H, Kleiner DE, Reddy KR, Chalasani N, Lee WM, Stolz A, Phillips T, Serrano J, Watkins PB; DILIN Investigators. Persistent liver biochemistry abnormalities

are more common in older patients and those with cholestatic drug induced liver injury. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 1450-1459 [PMID: 26346867 DOI: 10.1038/ajg.2015.283]
10 Chalasani N, Reddy KRK, Fontana RJ, Barnhart H, Gu J, Hayashi PH, Ahmad J, Stolz A, Navarro V, Hoofnagle JH. Idiosyncratic Drug Induced Liver Injury in African-Americans Is Associated With Greater Morbidity and Mortality Compared to Caucasians. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1382-1388 [PMID: 28762375 DOI: 10.1038/ajg.2017.215]
11 Nicoletti P, Devarbhavi H, Goel A, Venkatesan R, Eapen CE, Grove JI, Zafer S, Bjornsson E, Lucena MI, Andrade RJ, Pirmohamed M, Wadelius M, Larrey D, Maitland-van der Zee AH, Ibanez L, Watkins PB, Daly AK, Aithal GP. Genetic Risk Factors in Drug-Induced Liver Injury Due to Isoniazid-Containing Antituberculosis Drug Regimens. *Clin Pharmacol Ther* 2021; 109: 1125-1135 [PMID: 33135175 DOI: 10.1002/cpt.2100]
12 Kaliyaperumal K, Grove JI, Delahay RM, Griffiths WJH, Duckworth A, Aithal GP. Pharmacogenomics of drug-induced liver injury (DILI): Molecular biology to clinical applications. *J Hepatol* 2018; 69: 948-957 [PMID: 29792895 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.05.013]
13 Merrell MD, Cherrington NJ. Drug metabolism alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Drug Metab Rev* 2011; 43: 317-334 [PMID: 21612324 DOI: 10.3109/03602532.2011.577781]
14 Kim WS, Lee SS, Lee CM, Kim HJ, Ha CY, Kim HJ, Kim TH, Jung WT, Lee OJ, Hong JW, You HS, Cho HC. Hepatitis C and not Hepatitis B virus is a risk factor for anti-tuberculosis drug induced liver injury. *BMC Infect Dis* 2016; 16: 50 [PMID: 26833347 DOI: 10.1186/s12879-016-1344-2]
15 Park WB, Kim W, Lee KL, Yim JJ, Kim M, Jung YJ, Kim NJ, Kim DH, Kim YJ, Yoon JH, Oh MD, Lee HS. Antituberculosis drug-induced liver injury in chronic hepatitis and cirrhosis. *J Infect* 2010; 61: 323-329 [PMID: 20670648 DOI: 10.1016/j.jinf.2010.07.009]
16 Han D, Dara L, Win S, Than TA, Yuan L, Abbasi SQ, Liu ZX, Kaplowitz N. Regulation of drug-induced liver injury by signal transduction pathways: critical role of mitochondria. *Trends Pharmacol Sci* 2013; 34: 243-253 [PMID: 23453390 DOI: 10.1016/j.tips.2013.01.009]
17 Vuppalanchi R, Gotur R, Reddy KR, Fontana RJ, Ghabril M, Kosinski AS, Gu J, Serrano J, Chalasani N. Relationship between characteristics of medications and drug-induced liver disease phenotype and outcome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014; 12: 1550-1555 [PMID: 24362054 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.12.016]
18 Lammert C, Bjornsson E, Niklasson A, Chalasani N. Oral medications with significant hepatic metabolism at higher risk for hepatic adverse events. *Hepatology* 2010; 51: 615-620 [PMID: 19839004 DOI: 10.1002/hep.23317]
19 Chen M, Suzuki A, Borlak J, Andrade RJ, Lucena MI. Drug-induced liver injury: Interactions between drug properties and host factors. *J Hepatol* 2015; 63: 503-514 [PMID: 25912521 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.04.016]
20 McEuen K, Borlak J, Tong W, Chen M. Associations of Drug Lipophilicity and Extent of Metabolism with Drug-Induced Liver Injury. *Int J Mol Sci* 2017; 18 [PMID: 28640208 DOI: 10.3390/ijms18071335]
21 Mishra P, Chen M. Direct-Acting Antivirals for Chronic Hepatitis C: Can Drug Properties Signal Potential for Liver Injury? *Gastroenterology* 2017; 152: 1270-1274 [PMID: 28327365 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.03.012]
22 Weaver RJ, Betts C, Blomme EAG, Gerets HHJ, Gjervig Jensen K, Hewitt PG, Juhila S, Labbe G, Liguori MJ, Mesens N, Ogese MO, Persson M, Snoeys J, Stevens JL, Walker T, Park BK. Test systems in drug discovery for hazard identification and risk assessment of human drug-induced liver injury. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2017; 13: 767-782 [PMID: 28604124 DOI: 10.1080/17425255.2017.1341489]
23 Teschke R. Top-ranking drugs out of 3312 drug-induced liver injury cases evaluated by the Roussel Uclaf Causality Assessment Method. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2018; 14: 1169-1187 [PMID: 30354694 DOI: 10.1080/17425255.2018.1539077]
24 Iorga A, Dara L, Kaplowitz N. Drug-Induced Liver Injury: Cascade of Events Leading to Cell Death, Apoptosis or Necrosis. *Int J Mol Sci* 2017; 18 [PMID: 28486401 DOI: 10.3390/ijms18051018]
25 Tujios S, Fontana RJ. Mechanisms of drug-induced liver injury: from bedside to bench. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 202-211 [PMID: 21386809 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.22]
26 Chen M, Vijay V, Shi Q, Liu Z, Fang H, Tong W. FDA-approved drug labeling for the study of drug-induced liver injury. *Drug Discov Today* 2011; 16: 697-703 [PMID: 21624500 DOI: 10.1016/j.drudis.2011.05.007]
27 Funk C, Ponelle C, Scheuermann G, Pantze M. Cholestatic potential of troglitazone as a possible factor contributing to troglitazone-induced hepatotoxicity: in vivo and in vitro interaction at the canalicular bile salt export pump (Bsep) in the rat. *Mol Pharmacol* 2001; 59: 627-635 [PMID: 11179459]
28 Kullak-Ublick GA, Andrade RJ, Merz M, End P, Benesic A, Gerbes AL, Aithal GP. Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment. *Gut* 2017; 66: 1154-1164 [PMID: 28341748 DOI: 10.1136/gutjnl-2016-313369]
29 Yang K, Battista C, Woodhead JL, Stahl SH, Mettetal JT, Watkins PB, Siler SQ, Howell BA. Systems pharmacology modeling of drug-induced hyperbilirubinemia: Differentiating hepatotoxicity and inhibition of enzymes/transporters. *Clin Pharmacol Ther* 2017; 101: 501-509 [PMID: 28074467 DOI: 10.1002/cpt.619]
30 Howell BA, Siler SQ, Shoda LK, Yang Y, Woodhead JL, Watkins PB. A mechanistic model of drug-induced liver injury AIDS the interpretation of elevated liver transaminase levels in a phase I clinical trial. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol* 2014; 3: e98 [PMID: 24500662 DOI: 10.1038/psp.2013.74]
31 Longo DM, Generaux GT, Howell BA, Siler SQ, Antoine DJ, Button D, Caggiano A, Eisen A, Iaci J, Stanulis R, Parry T, Mosedale M, Watkins PB. Refining Liver Safety Risk Assessment: Application of Mechanistic Modeling and Serum Biomarkers to Cimaglermin Alfa (GGF2) Clinical Trials. *Clin Pharmacol Ther* 2017; 102: 961-969 [PMID: 28419467 DOI: 10.1002/cpt.711]
32 McMillan HJ, Gregas M, Darras BT, Kang PB. Serum transaminase levels in boys with Duchenne and Becker muscular dystrophy. *Pediatrics* 2011; 127: e132-e136 [PMID: 21149430 DOI: 10.1542/peds.2010-0929]
33 Antoine DJ, Williams DP, Kipar A, Jenkins RE, Regan SL, Sathish JG, Kitteringham NR, Park BK. High-mobility group box-1 protein and keratin-18, circulating serum proteins informative of acetaminophen-induced necrosis and apoptosis in vivo. *Toxicol Sci* 2009; 112: 521-531 [PMID: 19783637 DOI: 10.1093/toxsci/kfp235]
34 Thulin P, Nordahl G, Gry M, Yimer G, Aklillu E, Makonnen E, Aderaye G, Lindquist L, Mattsson CM, Ekblom B, Antoine DJ, Park BK, Linder S, Harrill AH, Watkins PB, Glinghammar B, Schuppe-Koistinen I. Keratin-18 and microRNA-122 complement alanine aminotransferase as novel safety biomarkers for drug-induced liver injury in two human cohorts. *Liver Int* 2014; 34: 367-378 [PMID: 24118944 DOI: 10.1111/liv.12322]
35 Rutherford A, King LY, Hynan LS, Vedvyas C, Lin W, Lee WM, Chung RT; ALF Study Group. Development of an accurate index for predicting outcomes of patients with acute liver failure. *Gastroenterology* 2012; 143: 1237-1243 [PMID: 22885329 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.07.113]
36 Bechmann LP, Jochum C, Kocabayoglu P, Sowa JP, Kassalik M, Gieseler RK, Saner F, Paul A, Trautwein C, Gerken G, Canbay

A. Cytokeratin 18-based modification of the MELD score improves prediction of spontaneous survival after acute liver injury. *J Hepatol* 2010; 53: 639-647 [PMID: 20630612 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.04.029]
37 Linder S, Olofsson MH, Herrmann R, Ulukaya E. Utilization of cytokeratin-based biomarkers for pharmacodynamic studies. *Expert Rev Mol Diagn* 2010; 10: 353-359 [PMID: 20370591 DOI: 10.1586/erm.10.14]
38 Thulin P, Hornby RJ, Auli M, Nordahl G, Antoine DJ, Starkey Lewis P, Goldring CE, Park BK, Prats N, Glinghammar B, Schuppe-Koistinen I. A longitudinal assessment of miR-122 and GLDH as biomarkers of drug-induced liver injury in the rat. *Biomarkers* 2017; 22: 461-469 [PMID: 27978773 DOI: 10.1080/1354750X.2016.1269131]
39 Schomaker S, Warner R, Bock J, Johnson K, Potter D, Van Winkle J, Aubrecht J. Assessment of emerging biomarkers of liver injury in human subjects. *Toxicol Sci* 2013; 132: 276-283 [PMID: 23339181 DOI: 10.1093/toxsci/kft009]
40 McGill MR, Sharpe MR, Williams CD, Taha M, Curry SC, Jaeschke H. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation. *J Clin Invest* 2012; 122: 1574-1583 [PMID: 22378043 DOI: 10.1172/JCI59755]
41 Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T. Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Curr Biol* 2002; 12: 735-739 [PMID: 12007417 DOI: 10.1016/s0960-9822(02)00809-6]
42 Dear JW, Antoine DJ, Starkey-Lewis P, Goldring CE, Park BK. Early detection of paracetamol toxicity using circulating liver microRNA and markers of cell necrosis. *Br J Clin Pharmacol* 2014; 77: 904-905 [PMID: 23879521 DOI: 10.1111/bcp.12214]
43 Harrill AH, Eaddy JS, Rose K, Cullen JM, Ramanathan L, Wanaski S, Collins S, Ho Y, Watkins PB, Lecluyse EL. Liver biomarker and in vitro assessment confirm the hepatic origin of aminotransferase elevations lacking histopathological correlate in beagle dogs treated with GABAA receptor antagonist NP260. *Toxicol Appl Pharmacol* 2014; 277: 131-137 [PMID: 24699182 DOI: 10.1016/j.taap.2014.03.015]
44 Ward J, Kanchagar C, Veksler-Lublinsky I, Lee RC, McGill MR, Jaeschke H, Curry SC, Ambros VR. Circulating microRNA profiles in human patients with acetaminophen hepatotoxicity or ischemic hepatitis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014; 111: 12169-12174 [PMID: 25092309 DOI: 10.1073/pnas.1412608111]
45 Holman NS, Mosedale M, Wolf KK, LeCluyse EL, Watkins PB. Subtoxic Alterations in Hepatocyte-Derived Exosomes: An Early Step in Drug-Induced Liver Injury? *Toxicol Sci* 2016; 151: 365-375 [PMID: 26962055 DOI: 10.1093/toxsci/kfw047]
46 Rivkin M, Simerzin A, Zorde-Khvalevsky E, Chai C, Yuval JB, Rosenberg N, Harari-Steinfeld R, Schneider R, Amir G, Condiotti R, Heikenwalder M, Weber A, Schramm C, Wege H, Kluwe J, Galun E, Giladi H. Inflammation-Induced Expression and Secretion of MicroRNA 122 Leads to Reduced Blood Levels of Kidney-Derived Erythropoietin and Anemia. *Gastroenterology* 2016; 151: 999-1010.e3 [PMID: 27477940 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.07.031]
47 Mosedale M, Watkins PB. Drug-induced liver injury: Advances in mechanistic understanding that will inform risk management. *Clin Pharmacol Ther* 2017; 101: 469-480 [PMID: 27861792 DOI: 10.1002/cpt.564]
48 Huebener P, Pradere JP, Hernandez C, Gwak GY, Caviglia JM, Mu X, Loike JD, Schwabe RF. The HMGB1/RAGE axis triggers neutrophil-mediated injury amplification following necrosis. *J Clin Invest* 2015; 125: 539-550 [PMID: 25562324 DOI: 10.1172/JCI76887]
49 Lundbäck P, Lea JD, Sowinska A, Ottosson L, Fürst CM, Steen J, Aulin C, Clarke JI, Kipar A, Klevenvall L, Yang H, Palmblad K, Park BK, Tracey KJ, Blom AM, Andersson U, Antoine DJ, Erlandsson Harris H. A novel high mobility group box 1 neutralizing chimeric antibody attenuates drug-induced liver injury and postinjury inflammation in mice. *Hepatology* 2016; 64: 1699-1710 [PMID: 27474782 DOI: 10.1002/hep.28736]
50 Antoine DJ, Jenkins RE, Dear JW, Williams DP, McGill MR, Sharpe MR, Craig DG, Simpson KJ, Jaeschke H, Park BK. RETRACTED: Molecular forms of HMGB1 and keratin-18 as mechanistic biomarkers for mode of cell death and prognosis during clinical acetaminophen hepatotoxicity. *J Hepatol* 2012; 56: 1070-1079 [PMID: 22266604 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.12.019]
51 Chisari FV, Isogawa M, Wieland SF. Pathogenesis of hepatitis B virus infection. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58: 258-266 [PMID: 20116937 DOI: 10.1016/j.patbio.2009.11.001]
52 Aithal GP. Pharmacogenetic testing in idiosyncratic drug-induced liver injury: current role in clinical practice. *Liver Int* 2015; 35: 1801-1808 [PMID: 25809692 DOI: 10.1111/liv.12836]
53 El Sherrif Y, Potts JR, Howard MR, Barnardo A, Cairns S, Knisely AS, Verma S. Hepatotoxicity from anabolic androgenic steroids marketed as dietary supplements: contribution from ATP8B1/ABCB11 mutations? *Liver Int* 2013; 33: 1266-1270 [PMID: 23750872 DOI: 10.1111/liv.12216]
54 Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, Larrey D, Molokhia M, Takikawa H, Hunt CM, Wilke RA, Avigan M, Kaplowitz N, Bjornsson E, Daly AK. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89: 806-815 [PMID: 21544079 DOI: 10.1038/clpt.2011.58]
55 Aithal GP. Hepatotoxicity related to antirheumatic drugs. *Nat Rev Rheumatol* 2011; 7: 139-150 [PMID: 21263458 DOI: 10.1038/nrrheum.2010.214]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): 926-933

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i16.926

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

基础研究 BASIC RESEARCH

龙胆苦苷通过调控miR-34c-5p/XBP1轴抑制作胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的分子机制研究

周为东, 徐镇杰, 黄乙文

周为东, 徐镇杰, 黄乙文, 中国科学院大学宁波华美医院(宁波市第二医院)消化内科 浙江省宁波市 315010

周为东, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向为胃癌基础.

作者贡献分布: 此课题由周为东、徐镇杰、黄乙文设计; 研究过程由周为东、徐镇杰、黄乙文操作完成; 研究所用新试剂及分析工具本论文写作由周为东完成.

通讯作者: 周为东, 主治医师, 315010, 浙江省宁波市西北街41号, 中国科学院大学宁波华美医院(宁波市第二医院)消化内科. 1277592537@qq.com

收稿日期: 2021-04-22
修回日期: 2021-05-24
接受日期: 2021-07-07
在线出版日期: 2021-08-28

Gentiopicroside inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer HGC-27 cells by regulating miR-34c-5p/XBP1 axis

Wei-Dong Zhou, Zhen-Jie Xu, Yi-Wen Kui

Wei-Dong Zhou, Zhen-Jie Xu, Yi-Wen Kui, Department of Gastroenterology, Hwa Mei Hospital, University of Chinese Academy of Sciences (Ningbo No. 2 Hospital), Ningbo 315010, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Wei-Dong Zhou, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Hwa Mei Hospital, University of Chinese Academy of Sciences (Ningbo No. 2 Hospital), No. 41 Xibei Street, Ningbo 315010, Zhejiang Province, China. 1277592537@qq.com

Received: 2021-04-22
Revised: 2021-05-24
Accepted: 2021-07-07
Published online: 2021-08-28

Abstract

BACKGROUND

Gentiopicroside (GPS) is a monomer compound of iridoid glycoside, which can inhibit the malignant behavior of lung cancer and ovarian cancer cells, but it is unknown whether it can inhibit the malignant behavior of gastric cancer cells. We hypothesized that GPS could inhibit the malignant behavior of gastric cancer cells by regulating the microRNA-34c-5p(miR-34c-5p)/X-box binding protein-1 (XBP1) axis.

AIM

To explore the effect of GPS on the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells HGC-27 and the possible mechanism.

METHODS

HGC-27 cells were cultured *in vitro* and divided into a control group, low-, medium-, and high-dose GPS groups (6, 30, and 150 μg/mL, respectively), a miR-34c-5p group, a miR-NC group, a 150 μg/mL GPS + anti-miR-34c-5p group, and a 150 μg/mL GPS + anti-miR-NC group. Cell counting kit-8 (CCK-8) method was used to detect cell proliferation; cell migration and invasion were detected by Transwell assay; real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the expression of miR-34c-5p. The expression of XBP1 protein in cells was detected by Western blot. The dual luciferase reporter gene assay was used to verify the targeted relationship between miR-34c-5p and XBP1.

RESULTS

Compared with the control group, the cell viability, the number of migrated cells, the number of invaded cells, and the expression of XBP1 protein in the GPS groups (6, 30, and 150 μg/mL) were significantly reduced ($P < 0.05$), but the expression of miR-34c-5p was significantly increased ($P < 0.05$). The cell viability, the number of migrated cells, the number of invaded cells, and the expression of XBP1 protein in the miR-34c-5p group were significantly lower than those in the control group and miR-NC group ($P < 0.05$). miR-34c-5p could regulate the expression of XBP1.

Compared with the 150 μg/mL GPS group or 150 μg/mL GPS + anti-miR-NC group, the viability of HGC-27 cells, the number of migrated cells, the number of invaded cells, and the expression of XBP1 protein in the 150 μg/mL GPS + anti-miR-34c-5p group were significantly increased ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Gentiopicroside inhibits the proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells *via* mechanisms that may be related to the regulation of the miR-34c-5p/XBP1 axis.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Gentiopicroside; Gastric cancer; miR-34c-5p; Cell proliferation; Migration; Invasion

Citation: Zhou WD, Xu ZJ, Kui YW. Gentiopicroside inhibits proliferation, migration, and invasion of gastric cancer cells by regulating miR-34c-5p/XBP1 axis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(16): 926-933
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/926.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.926

摘要

背景

龙胆苦苷(gentiopicroside, GPS)属于环烯醚萜苷类单体化合物, 可抑制肺癌和卵巢癌等肿瘤细胞的恶性行为,但其能否抑制胃癌细胞恶性行为还未知. 本研究假设GPS能够通过调控微小RNA-34c-5p(microRNA-34c-5p, miR-34c-5p)/X盒结合蛋白1(X-box binding protein-1, XBP1)轴抑制胃癌细胞恶性行为.

目的

探讨GPS对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响及可能机制.

方法

体外培养HGC-27细胞, 分为对照组、不同剂量(6、30、150 μg/mL)GPS组、miR-34c-5p组、miR-NC组、150 μg/mL GPS+anti-miR-34c-5p组和150 μg/mL GPS+anti-miR-NC组, 细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)法检测细胞增殖, Transwell检测细胞迁移和侵袭, 实时定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)检测细胞中miR-34c-5p表达, 蛋白质印迹法检测细胞中XBP1蛋白表达. 双荧光素酶报告基因实验验证miR-34c-5p和XBP1靶向调控关系.

结果

与对照组比较, 不同剂量(6、30、150 μg/mL)GPS组HGC-27细胞活性、迁移数和侵袭数及细胞中XBP1蛋白表达均降低($P<0.05$), miR-34c-5p表达升高($P<0.05$). miR-34c-5p组HGC-27细胞活性、迁移数和侵袭数及细胞中XBP1蛋白表达均低于对照组和miR-NC组($P<0.05$). miR-34c-5p靶向负调控XBP1. 与150 μg/mL GPS组或150 μg/mL GPS+anti-miR-NC组比较, 150 μg/mL GPS+anti-miR-34c-5p组HGC-27细胞活性、迁移数和侵袭数及细胞中XBP1蛋白表达均升高($P<0.05$).

结论

龙胆苦苷可抑制胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭, 其作用机制可能调控miR-34c-5p/XBP1轴有关.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 龙胆苦苷; 胃癌; miR-34c-5p; 细胞增殖; 迁移; 侵袭

核心提要: 龙胆苦苷可能通过上调细胞中微小RNA-34c-5p(microRNA-34c-5p, miR-34c-5p)进而抑制X盒结合蛋白1(X-box binding protein-1, XBP1)的表达来阻碍胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭.

文献来源: 周为东, 徐镇杰, 黄乙文. 龙胆苦苷通过调控miR-34c-5p/XBP1轴抑制作胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的分子机制研究. 世界华人消化杂志 2021; 29(16): 926-933
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/926.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.926

0 引言

胃癌发病率呈增长趋势, 严重威胁人类生命健康[1]. 目前, 胃癌的治疗缺乏有效的药物. 龙胆苦苷(gentiopicroside, GPS)主要存在于龙胆草、秦艽等龙胆科龙胆属植物中, 属于环烯醚萜苷类单体化合物, 具有治疗风湿、抗肝损伤及抗炎等功效[2,3]. 研究显示, 龙胆苦苷还发挥一定的抗肿瘤作用. 钟春蕾等[4]研究显示, 龙胆苦苷可抑制非小细胞肺癌A549细胞分泌炎症因子及细胞侵袭和上皮间质转化, 发挥抗肺癌作用. 陈杰等[5]研究显示, 龙胆苦苷对卵巢癌SKOV3细胞氧化应激和细胞凋亡起促进作用, 其可能通过抑制Nrf2通路发挥抗卵巢癌作用. 然而, 龙胆苦苷对胃癌的影响尚未见报道.

微小RNA-34c-5p(microRNA-34c-5p, miR-34c-5p)属于微小RNA(microRNA, miRNA), 其在在结肠癌[6]、骨肉瘤[7]和鼻咽癌[8]等肿瘤中表达降低, 上调miR-34c-5p表达能够抑制肿瘤细胞的恶性表型, 进而对肿瘤的发展进程起抑制作用. 有报道称, miR-34c-5p在紫杉醇耐药的胃癌细胞中表达下调, 过表达miR-34c-5p可增加对紫杉醇耐药的胃癌细胞的化学敏感性[9]. 然而, miR-34c-5p对胃癌细胞恶性表型的影响还未知. Starbase靶基因预测软件显

示, X盒结合蛋白1(X-box binding protein-1, XBP1)可能是miR-34c-5p的靶基因. XBP1是有一种转录调节因子, 参与细胞内质网应激, 可促进肿瘤细胞细胞活性. 有报道称, XBP1在胃癌组织中表达升高, 敲减其表达可降低胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力[10]. 因此, 本研究主要观察了龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响, 并基于miR-34c-5p/XBP1轴探讨了龙胆苦苷影响HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的分子机制, 以期为其用于胃癌的治疗提供一定的实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 HGC-27细胞系, 中国科学院上海细胞库; 龙胆苦苷, 纯度>98%, 成都普菲德生物技术有限公司; RPMI 1640培养液、细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒、双荧光素酶活性检测试剂盒和二喹啉甲酸(bicinchoninicacid, BCA)蛋白检测试剂盒, 北京索莱宝; Lipofectamine™ 2000试剂盒, 美国Invitrogen公司; miR-34c-5p抑制剂(anti-miR-34c-5p)和阴性对照序列(anti-miR-NC)、miR-34c-5p模拟物(mimics)和模拟对照序列(miR-NC), 上海吉玛制药技术; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS), 杭州四季青; RNA抽提试剂盒、逆转录试剂盒和PCR试剂盒, 大连宝生物; 兔抗人XBP1和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体, 美国Santa Cruz公司.

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染: 复苏HGC-27细胞, 加含10% FBS的RPMI 1640培养液培养. 取对数期HGC-27细胞接种至6孔板中(2.5×10^5个/孔), 培养12 h后, 弃培养基. 用Lipofectamine™ 2000脂质体法, 分别转染miR-34c-5p mimics、miR-NC、anti-miR-34c-5p和anti-miR-NC至HGC-27细胞. 转染6 h后, 更换为含10% FBS的RPMI 1640培养液, 再培养24 h, 收集细胞, 实时定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)检测细胞中miR-34c-5p表达验证转染效果, 并用于后续实验.

1.2.2 细胞分组处理: HGC-27细胞分为对照组和不同剂量(6、30、150 μg/mL)GPS组, 其中对照组细胞用含10% FBS的RPMI 1640培养液培养, 不同剂量(6、30、150 μg/mL)GPS组细胞分别用含6、30、150 μg/mL[11]GPS和10% FBS的RPMI 1640培养液培养. 转染miR-34c-5p、miR-NC的HGC-27细胞处理同对照组, 分别记为miR-34c-5p组、miR-NC组. 转染anti-miR-34c-5p和anti-miR-NC的HGC-27细胞处理同150 μg/mL GPS组, 分别记为150 μg/mL GPS+anti-miR-34c-5p组和150 μg/mL GPS+anti-miR-NC组.

1.2.3 CCK-8法检测细胞增殖: 将HGC-27细胞及转染miR-34c-5p mimics、miR-NC、anti-miR-34c-5p和anti-miR-NC的HGC-27细胞均接种至96孔板中(2.5×10^4个/孔), 培养4 h后, 弃培养液, 按1.2.2分组处理. 培养一定时间(24 h、48 h和72 h)后, 加10 μL CCK-8. 孵育2 h, 酶标仪($\lambda=450$ nm)测光密度(optical density, OD)值.

1.2.4 Transwell检测细胞迁移和侵袭: 将HGC-27细胞及转染miR-34c-5p mimics、miR-NC、anti-miR-34c-5p和anti-miR-NC的HGC-27细胞均接种至6孔板中(1.0×10^5个/孔), 培养4 h后, 弃培养液, 按1.2.2分组处理. 培养24 h后, 收集各组细胞. 迁移实验: 将Transwell小室置于24孔板中, 将收集的各组细胞悬液分别加至上室(5.0×10^4个/孔), 下室加500 μL培养液. 培养24 h后, 弃培养液, 用多聚甲醛固定、结晶紫染色后, 显微镜观察, 计数. 侵袭实验: 在Transwell小室上室铺适量厚度的基质胶, 晾干后, 加各组细胞悬液(5.0×10^4个/孔), 后续操作同迁移实验.

1.2.5 RT-qPCR检测细胞中miR-34c-5p表达: 将HGC-27细胞及转miR-34c-5p mimics、miR-NC、anti-miR-34c-5p和anti-miR-NC的HGC-27细胞均接种至6孔板中(1.0×10^5个/孔), 培养4 h后, 弃培养液, 按1.2.2分组处理. 培养24 h后, 用miRNA抽提试剂盒提取细胞中总RNA. 经转录后, 行PCR扩增. 引物序列: miR-34c-5p上游5'-GCTGCTGTAGGCAGTGTAGTTAG-3', 下游5'-CTCAACTGGTGTCGTGGAGTC-3'; U6上游5'-CTCGCTTCGGCAGCAA-3', 下游5'-AACGCTTCACGAATTGCGT-3'. $2^{-\triangle\triangle Ct}$法计算miR-34c-5p相对U6的表达量.

1.2.6 蛋白质印迹法检测XBP1蛋白表达: 将HGC-27细胞及转miR-34c-5p mimics、miR-NC、anti-miR-34c-5p和anti-miR-NC的HGC-27细胞均接种至6孔板中(1.0×10^5个/孔), 培养4 h后, 弃培养液, 按1.2.2分组处理. 培养24 h后, 用RIPA试剂提取细胞中总蛋白, 并用BCA试剂盒对蛋白样品定量. 然后电泳、转膜及封闭后, 分别于XBP1(1:500)和GAPDH(1:1000)一抗孵育液4 ℃孵育过夜, 洗膜后, 再于山羊抗兔二抗(1:2000)孵育液中37 ℃孵育1 h. 加显影液避光显影, 拍照, Image J软件进行灰度分析, 以XBP1与GAPDH灰度值的比值表示XBP1表达量.

1.2.7 双荧光素酶报告基因实验: 将HGC-27细胞接种至6孔板中(2.5×10^5个/孔), 培养12 h后, 弃培养液. 用Lipofectamine™ 2000脂质体法, 分别共转染WT-XBP1与miR-34c-5p mimics、WT-XBP1与miR-NC、MUT-XBP1与miR-34c-5p mimics、或MUT-XBP1与miR-NC至HGC-27细胞. 转染6 h后, 更换为含10% FBS的RPMI 1640培养液, 再培养24 h, 收集细胞, 加裂解液进行裂解. 离心(3500 r/min、10 min)后, 取上清, 检测荧光素酶活性.

统计学处理 SPSS 22.0软件分析实验数据. 计量资料以均数±标准差(mean±SD)表示, 两组间比较行独立样本*t*检验; 多组间比较用单因素方差分析, 进一步两组间比较用*LSD-t*检验. 以$P<0.05$表示差异有统计学意义.

2 结果

2.1 龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27增殖的影响 与对照组比较, 胃癌细胞HGC-27经不同剂量(6、30、150 μg/mL)龙胆苦苷干预后, 细胞活性明显降低($P<0.05$), 且呈剂量依赖性(图1).

2.2 龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27迁移和侵袭的影响 与对照组比较, 胃癌细胞HGC-27经不同剂量(6、30、150 μg/mL)龙胆苦苷干预后, 细胞迁移数和侵袭数均明显降低($P<0.05$), 且呈剂量依赖性(图2).

2.3 龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27中miR-34c-5p和XBP1蛋白表达的影响 与对照组比较, 胃癌细胞HGC-27经不同剂量(6、30、150 μg/mL)龙胆苦苷干预后, 细胞中miR-34c-5p表达升高($P<0.05$), XBP1蛋白表达明显降低($P<0.05$), 且呈剂量依赖性(图3).

2.4 过表达miR-34c-5p对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响 与对照组或miR-NC组比较, miR-34c-5p组HGC-27细胞中miR-34c-5p表达明显升高($P<0.05$), 表明过表达miR-34c-5p的HGC-27细胞构建成功. miR-34c-5p组胃癌细胞HGC-27活性、迁移数和侵袭数均明显低于对照组或miR-NC组($P<0.05$)(图4).

2.5 miR-34c-5p靶向负调控XBP1 Starbase靶基因在线软件预测显示的miR-34c-5p与XBP1的结合位点见图5A. 双荧光素酶报告基因实验结果显示, miR-34c-5p与WT-XBP1共转染后的胃癌细胞HGC-27荧光素酶活性显著降低($P<0.05$), 而与MUT-XBP1共转染后的胃癌细胞HGC-27荧光素酶活性无明显变化($P>0.05$), 提示miR-34c-5p可与XBP1靶向结合(图5B). 与对照组或miR-NC组比较, miR-34c-5p组胃癌细胞HGC-27中XBP1蛋白表达降低($P<0.05$)(图5C).

2.6 敲减miR-34c-5p降低龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响 与转染anti-miR-NC的胃癌细胞HGC-27比较, 转染anti-miR-34c-5p的胃癌细胞HGC-27中miR-34c-5p表达明显降低($P<0.05$), 表明敲减miR-34c-5p的HGC-27细胞构建成功; 与150 μg/mL GPS组或150 μg/mL GPS+anti-miR-NC组比较, 150 μg/mL GPS+anti-miR-34c-5p组胃癌细胞HGC-27活性、迁移数和侵袭数及细胞中XBP1蛋白表达均明显升高($P<0.05$), 表明敲减miR-34c-5p可降低龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭及XBP1蛋白表达的抑制作用(图6).

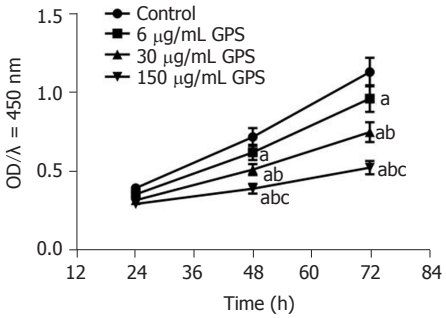

图 1 龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27增殖的影响. 与对照组比较, [a]$P<0.05$; 与6 μg/mL GPS组比较, [b]$P<0.05$; 与30 μg/mL GPS组比较, [b]$P<0.05$.

3 讨论

近年来, 中草药或天然植物及其活性成分在肿瘤治疗中的作用备受关注. 龙胆苦苷是龙胆草、秦艽等龙胆科龙胆属植物的主要活性成分, 具有多种药理活性. 研究显示, 龙胆苦苷可抑制肝癌细胞增殖, 并阻滞肝癌细胞的细胞周期进程[12]; 龙胆苦苷可阻碍人上皮性卵巢癌HO8910细胞增殖和迁移, 并促进HO8910细胞凋亡, 其可能通过激活P38丝裂原活化蛋白激酶M信号通路发挥作用[13]. 本研究将不同剂量(6、30、150 μg/mL)的龙胆苦苷作用于胃癌细胞HGC-27, 首次探究了龙胆苦苷对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响, 结果显示, 龙胆苦苷可呈剂量依赖性降低胃癌细胞HGC-27的增殖、迁移和侵袭能力, 提示其具有治疗胃癌的潜在价值.

miRNA是一类小分子非编码RNA, 其可靶向靶基因的表达参与调控肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭等恶性表型, 为肿瘤的治疗提供了分子靶点[14]. 研究显示, miR-34c-5p在骨肉瘤组织和细胞中表达降低, 过表达miR-34c-5p可通过靶向抑制脂筏标记蛋白-2(flotillin-2, FLOT2)削弱骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 是骨肉瘤治疗的潜在分子靶点[15]. 本研究通过将miR-34c-5p模拟物转染至胃癌细胞HGC-27中, 观察了过表达miR-34c-5p对HGC-27细胞增殖、迁移和侵袭的影响, 结果显示, 过表达miR-34c-5p可显著降低HGC-27细胞的增殖、迁移和侵袭能力, 提示miR-34c-5p也可能成为胃癌治疗的分子靶点. 本研究结果还显示, 龙胆苦苷可呈剂量依赖性促进胃癌细胞中miR-34c-5p的表达, 而敲减miR-34c-5p降低了龙胆苦苷对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用, 提示龙胆苦苷可能通过上调细胞中miR-34c-5p表达来抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭.

为了进一步探究龙胆苦苷可能通过上调细胞中miR-34c-5p表达来抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的

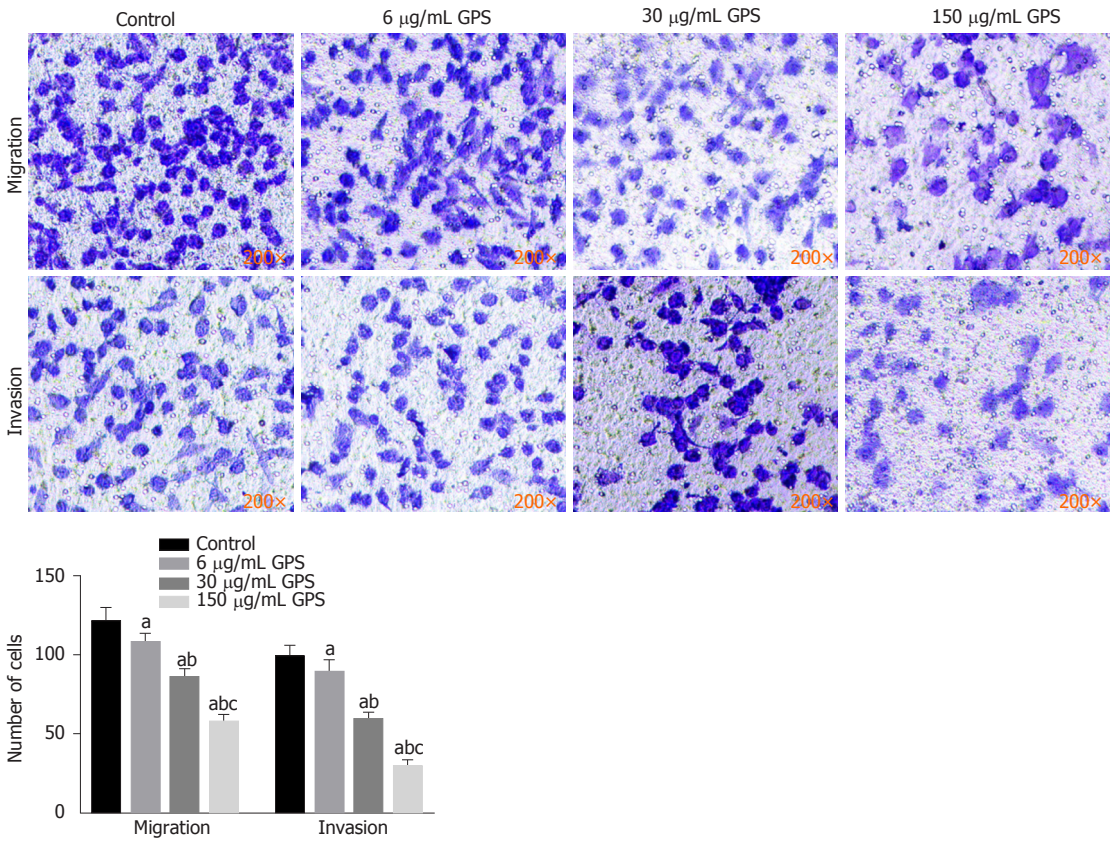

图 2　龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27迁移和侵袭的影响. 与对照组比较, $^{a}P<0.05$; 与6 μg/mL GPS组比较, $^{b}P<0.05$; 与30 μg/mL GPS组比较, $^{b}P<0.05$.

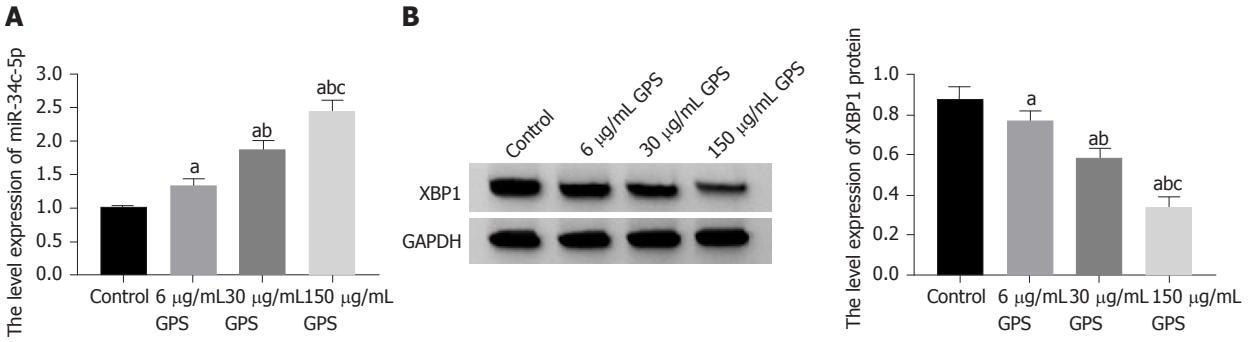

图 3　龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27中miR-34c-5p和XBP1蛋白表达的影响. A: 龙胆苦苷对HGC-27细胞中miR-34c-5p表达的影响; B: 龙胆苦苷对HGC-27细胞中XBP1蛋白表达的影响. 与对照组比较, $^{a}P<0.05$; 与6 μg/mL GPS组比较, $^{b}P<0.05$; 与30 μg/mL GPS组比较, $^{b}P<0.05$.

分子机制, 本研究证实了XBP1是miR-34c-5p的靶基因, 且过表达miR-34c-5p抑制胃癌细胞中XBP1蛋白表达. XBP1参与调控细胞增殖、凋亡、转移及耐药, 其过度表达可导致肿瘤发生及促进肿瘤进展[16]. 本研究结果还显示, 龙胆苦苷可抑制胃癌细胞中XBP1蛋白表达, 而敲减miR-34c-5p降低龙胆苦苷对胃癌细胞中XBP1蛋白表达的抑制作用, 进一步提示龙胆苦苷可能通过调控miR-34c-5p/XBP1轴来影响胃癌细胞增殖、迁移和侵袭.

4 结论

综上, 龙胆苦苷对胃癌细胞HGC-27的增殖、迁移和侵袭具有一定的抑制作用, 其作用机制可能与上调细胞中miR-34c-5p表达进而抑制XBP1蛋白表达有关, 具有治疗胃癌的潜在价值. 但本研究仅通过体外单细胞进行了探究, 还需要增加细胞种类及进一步通过裸鼠移植瘤实验在体内验证龙胆苦苷对胃癌发生发展的影响和机制.

文章亮点

实验背景

胃癌发病隐匿, 治疗疗效不佳, 寻找用于胃癌治疗的药物尤为重要. 龙胆苦苷(gentiopicroside, GPS)具有抗肝

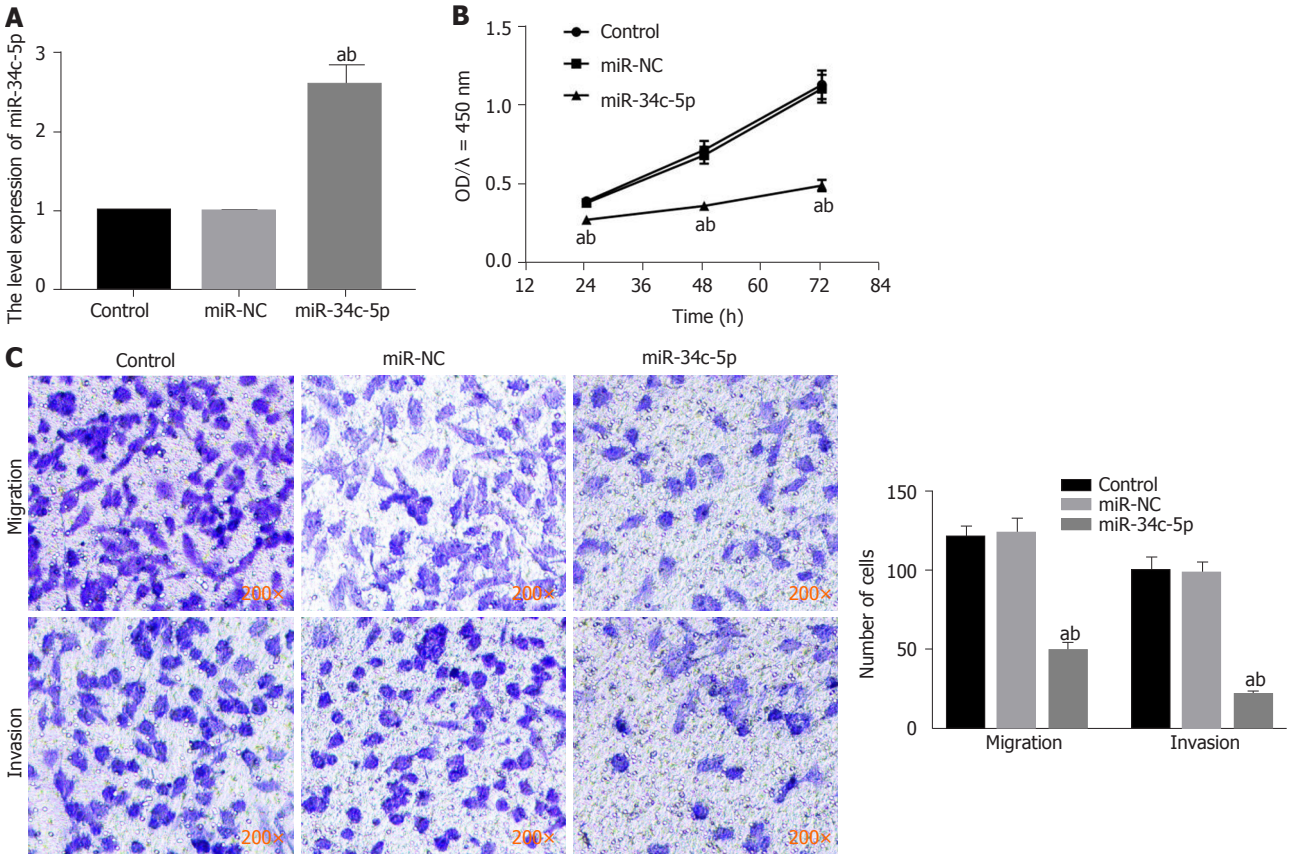

图 4　过表达miR-34c-5p对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响. A: miR-34c-5p mimics转染效果验证; B: 过表达miR-34c-5p对HGC-27细胞增殖的影响; C: 过表达miR-34c-5p对HGC-27细胞迁移和侵袭的影响. 与对照组比较, $^{a}P<0.05$; 与miR-NC组比较, $^{b}P<0.05$.

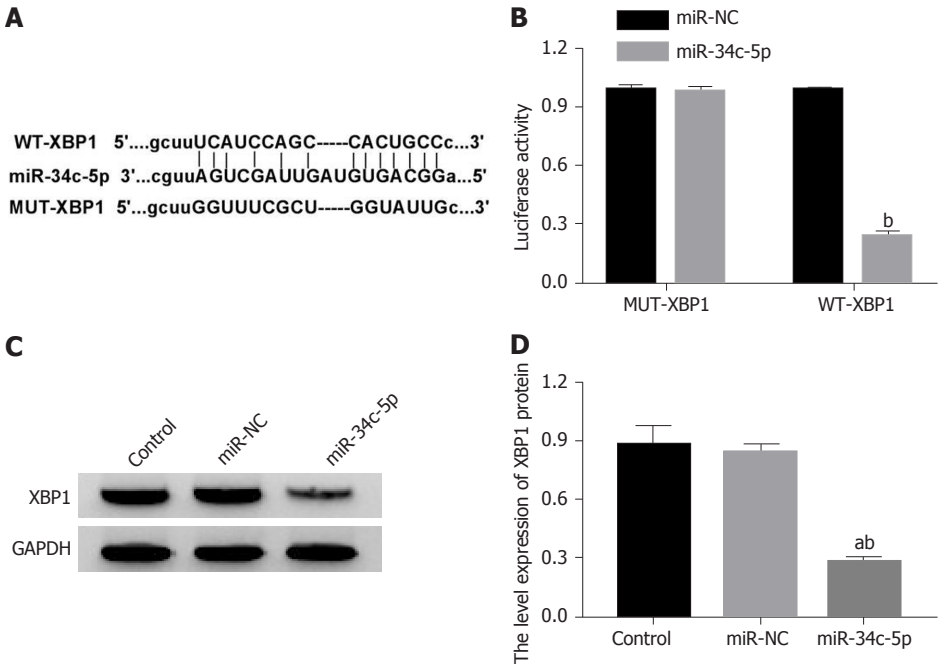

图 5　miR-34c-5p靶向负调控XBP1. A: miR-34c-5p与XBP1的结合位点; B: 荧光素酶活性检测结果; C: 过表达miR-34c-5p对HGC-27细胞中XBP1蛋白表达的影响. 与对照组比较, $^{a}P<0.05$; 与miR-NC组比较, $^{b}P<0.05$.

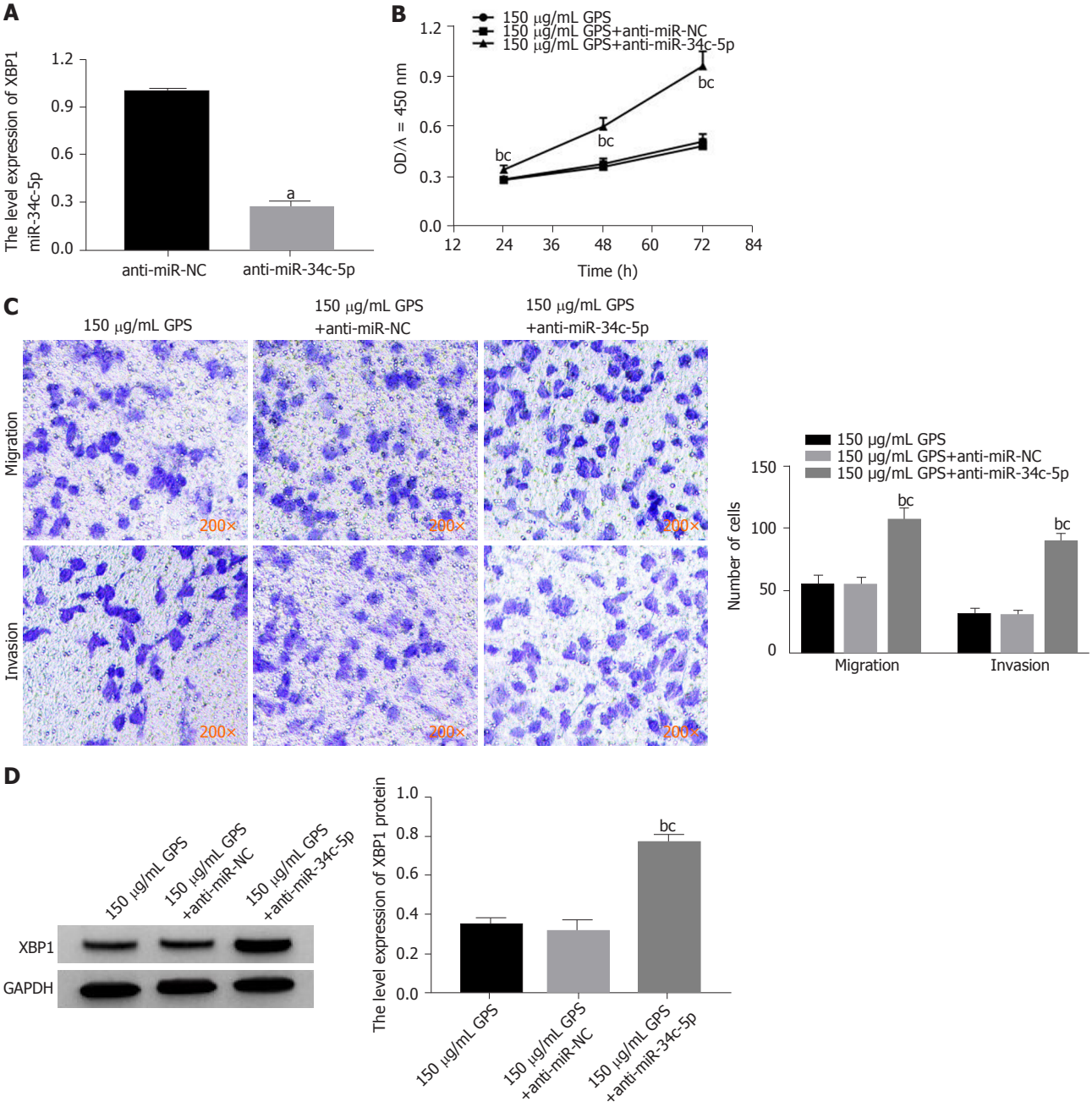

图 6　敲减miR-34c-5p降低龙胆苦苷对HGC-27细胞增殖、迁移、侵袭及XBP1蛋白表达的影响. A: anti-miR-34c-5p转染效果验证; B: 龙胆苦苷对敲减miR-34c-5p的HGC-27细胞增殖的影响; C: 龙胆苦苷对敲减miR-34c-5p的HGC-27细胞迁移和侵袭的影响; D: 龙胆苦苷对敲减miR-34c-5p的HGC-27细胞中XBP1蛋白表达的影响. 与anti-miR-NC组比较比较, $^{a}P<0.05$; 与150 μg/mL GPS组比较, $^{b}P<0.05$; 与150 μg/mL GPS+anti-miR-NC组比较, $^{c}P<0.05$.

癌、肺癌和卵巢癌功效, 但其能否发挥抗胃癌作用还未知. 本研究探究GPS对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响及可能机制, 为其用于胃癌的治疗提供一定的实验依据.

实验动机

观察GPS对胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭的影响及其能否通过调控微小RNA-34c-5p(microRNA-34c-5p, miR-34c-5p)/X盒结合蛋白1(X-box binding protein-1, XBP1)轴发挥作用, 以探究GPS是否具有抗胃癌作用及其可能的机制.

实验目标

本研究主要是为了明确GPS能否通过调控miR-34c-5p/XBP1轴影响胃癌细胞HGC-27的增殖、迁移和侵袭能力, 并进一步通过裸鼠移植瘤实验在体内验证GPS对胃癌发生发展的影响, 以期为胃癌治疗药物的研发提供新途径.

实验方法

本研究采用细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8)法、Transwell、实时定量聚合酶链式反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)、蛋白质印迹法依次检测了细胞增殖、迁移和侵袭、细胞中miR-34c-5p表达、XBP1蛋白表达. 此外, 用双荧光素酶报告基因实验验证了miR-34c-5p和XBP1靶向调控关系.

实验结果

本实验结果表明, 一定浓度的GPS可降低胃癌细胞HGC-27的增殖、迁移和侵袭能力, 其作用机制可能与上调细胞中miR-34c-5p表达进而抑制XBP1表达有关.

实验结论

本研究首次发现, GPS可在一定程度上抑制胃癌细胞HGC-27增殖、迁移和侵袭, 且作用机制与调控miR-34c-5p/XBP1轴有关, 具有治疗胃癌的潜在价值.

展望前景

本研究仅通体外细胞实验进行了初步探究, 尚需进一步在体内验证GPS对胃癌发生发展的影响和机制. 通过探究GPS对胃癌发生发展的影响可能为胃癌治疗药物的研发提供新途径.

5 参考文献

1 Wang Z, Liu Q, Huang P, Cai G. miR-299-3p suppresses cell progression and induces apoptosis by downregulating PAX3 in gastric cancer. *Open Life Sci* 2021; 16: 266-276 [PMID: 33817318 DOI: 10.1515/biol-2021-0022]

2 武俊紫, 杨斌, 宋波, 姚政, 陈文慧. 龙胆苦苷对非酒精性脂肪肝病大鼠AMPK信号通路的调节作用. 中草药 2018; 49: 197-203 [DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2018.21.027]

3 谢小倩, 李贺, 王亚乐, 刘晶晶, 万志杰, 罗沙沙, 赵则月, 李晓天. 龙胆苦苷对佐剂性关节炎大鼠的抗炎作用. 中国实验方剂学杂志 2020; 26: 66-71 [DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20200403]

4 钟春蕾, 黄国涛, 杨洋, 申思, 张志强. 龙胆苦苷对非小细胞肺癌的炎症因子水平及上皮间质转化的影响 广东药科大学学报 2021; 37: 96-101 [DOI: 10.16809/j.cnki.2096-3653.2020092303]

5 陈杰, 佟玲, 朱亦峰. 龙胆苦苷对卵巢癌细胞株SKOV3氧化应激损伤和细胞凋亡的影响及机制研究. 医学分子生物学杂志 2019; 16: 126-131 [DOI: 10.3870/j.issn.1672-8009.2019.02.005]

6 Wan Y, Shen A, Qi F, Chu J, Cai Q, Sferra TJ, Peng J, Chen Y. Pien Tze Huang inhibits the proliferation of colorectal cancer cells by increasing the expression of miR-34c-5p. *Exp Ther Med* 2017; 14: 3901-3907 [PMID: 29042999 DOI: 10.3892/etm.2017.4972]

7 Shen Y, Xu J, Pan X, Zhang Y, Weng Y, Zhou D, He S. LncRNA KCNQ1OT1 sponges miR-34c-5p to promote osteosarcoma growth via ALDOA enhanced aerobic glycolysis. *Cell Death Dis* 2020; 11: 278 [PMID: 32332718 DOI: 10.1038/s41419-020-2485-1]

8 Xu X, Yan H, Zhang L, Liu J, Huang Y, Cheng H. Up-regulation of miR-34c-5p inhibits nasopharyngeal carcinoma cells by mediating NOTCH1. *Biosci Rep* 2020; 40 [PMID: 32458967 DOI: 10.1042/BSR20200302]

9 Wu H, Huang M, Lu M, Zhu W, Shu Y, Cao P, Liu P. Regulation of microtubule-associated protein tau (MAPT) by miR-34c-5p determines the chemosensitivity of gastric cancer to paclitaxel. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71: 1159-1171 [PMID: 23423488 DOI: 10.1007/s00280-013-2108-y]

10 杜磊. X盒结合蛋白1在胃癌中的表达及其对胃癌生物学行为的调控机制. 第二军医大学 2015 [DOI: 10.7666/d.Y2813144]

11 孟松, 周耀柱, 马永超, 徐松涛, 金少举. 龙胆苦苷对人胰腺癌细胞PANC-1凋亡及IL-6/JAK2/STAT3信号通路的影响. 中国药房 2020; 31: 1836-1841 [DOI: 10.6039/j.issn.1001-0408.2020.15.08]

12 赵忠伟, 韩鹏. 龙胆苦苷对人肝癌HepG2细胞的抑制作用. 中国老年学杂志 2016; 36: 6082-6083 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2016.24.016]

13 高天勤, 李欣, 董圣军, 程春雷, 史荣军, 贾龙, 王健, 刘宝辉. 龙胆苦苷对人上皮性卵巢癌细胞增殖、凋亡、迁移的影响及机制. 山东医药 2019; 59: 22-25 [DOI: 10.3969/j.issn. 1002-266X.2019.11.006]

14 Kang J, Huang X, Dong W, Zhu X, Li M, Cui N. MicroRNA-1269b inhibits gastric cancer development through regulating methyltransferase-like 3 (METTL3). *Bioengineered* 2021; 12: 1150-1160 [PMID: 33818282 DOI: 10.1080/21655979.2021.1909951]

15 Wang Y, Wang X, Tang J, Su X, Miao Y. The study of mechanism of miR-34c-5p targeting FLOT2 to regulate proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells. *Artif Cells Nanomed Biotechnol* 2019; 47: 3559-3568 [PMID: 31446795 DOI: 10.1080/21691401.2019.1640714]

16 Shi W, Chen Z, Li L, Liu H, Zhang R, Cheng Q, Xu D, Wu L. Unravel the molecular mechanism of XBP1 in regulating the biology of cancer cells. *J Cancer* 2019; 10: 2035-2046 [PMID: 31205564 DOI: 10.7150/jca.29421]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): 934-944

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i16.934

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

基础研究 BASIC RESEARCH

HBV 1.3倍基因组HepG2稳转细胞模型优势单克隆株的筛选及鉴定

邱 华, 林栋毅, 李锦源

邱华, 林栋毅, 李锦源, 广西医科大学附属肿瘤医院 广西壮族自治区 南宁市 530021

邱华, 教授, 研究方向为HBV感染相关肝癌、肝硬化的基础与临床研究.

基金项目: 国家自然科学基金项目, No.81860889、No.81660827; 中国博士后科学基金面上项目, No.2019M653312; 广西自然科学基金面上项目, No.2020GXNSFAA297113; 第二批广西高层次骨干人才培养139计划(桂卫科教发[2018]22号); 广西科技厅重点研发项目, No.2017AB45166.

作者贡献分布: 此课题由邱华设计; 研究过程由邱华、林栋毅及李锦源操作完成; 数据分析由邱华, 林栋毅完成; 本论文写作由邱华、林栋毅完成.

通讯作者: 邱华, 教授, 博士, 博士后, 530021, 广西省南宁市青秀区河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院. qiuhua8899@163.com

收稿日期: 2021-05-28
修回日期: 2021-06-16
接受日期: 2021-07-07
在线出版日期: 2021-08-28

Screening and identification of dominant monoclonal HepG2 cell strain with 1.3-fold HBV genome

Hua Qiu, Dong-Yi Lin, Jin-Yuan Li

Hua Qiu, Dong-Yi Lin , Jin-Yuan Li, Guangxi Medical University Affiliated Tumor Hospital, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation Project, No.81660827 and No. 81860889; China Postdoctoral Foundation Science Foundation Project, No. 2019M653312; Guangxi Natural Science Foundation Project, No. 2020GXNSFAA297113; Guangxi Medical High-level Backbone Personnel Training "139" Program (Gui Wei Science and Education Development [2018]22); Guangxi Key Research and Development Program, No. 2017AB45166.

Corresponding author: Hua Qiu, Professor, Doctor, Postdoctoral Fellow, Guangxi Medical University Affiliated Tumor Hospital, No. 71 Hedi Road, Qingxiu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. qiuhua8899@163.com

Received: 2021-05-28
Revised: 2021-06-16
Accepted: 2021-07-07
Published online: 2021-08-28

Abstract

BACKGROUND

Hepatitis B virus (HBV) infection model *in vitro* is the basis for studying HBV life cycle and pathogenesis and for drug screening. With the clinical anti-HBV therapy entering the new trend of "functional cure" and "complete cure", there is an urgent need for cell models that can stably simulate the transcription mechanism of covalently closed circular DNA (cccDNA) and the role of hepatitis B virus X protein (HBx). The 1.3-fold HBV genome contains all the biological information of HBV. It can start the transcription process by its own promoter, support the formation of cccDNA, and complete viral replication, which is closest to the life cycle of HBV *in vivo*. Lentivirus transfection is a technology that takes lentivirus as vector and introduces foreign molecules such as DNA and RNA into eukaryotic cells, which can form stable transfection.

AIM

To construct a HepG2 cell model with 1.3-fold HBV genome by lentivirus transfection technology, and to screen and identify the dominant monoclonal strain that can stably and efficiently express HBV biomarkers.

METHODS

A lentiviral plasmid containing 1.3-fold HBV genome information was constructed, and the recombinant lentivirus culture was used to infect HepG2 cells at the optimal multiplicity of infection (MOI). Blasticidin (BSD) was used to select HepG2 cell strains (1.3-fold HBV-HepG2) stably integrating the 1.3-fold HBV genome, and

then the HBV in the cell model was identified by PCR. HepG2 cells stably carrying the 1.3-fold HBV genome were cultured and nine candidate positive monoclones were selected. The flanking sequences of each monoclonal cell were sequenced to determine the insertion position of the corresponding HBV genome in the genome of HepG2 cells. The most dominant monoclones were selected according to the expression levels of HBsAg and HBeAg. The expression levels and stability of HBsAg, HBeAg, HBx, cccDNA, and HBV DNA in HepG2 cells stably carrying the 1.3-fold HBV genome were compared.

RESULTS

The lentiviral plasmid plenti-bsd-1.3-fold HBV was used to infect HepG2 cells at an MOI of 30. After 72 h, BSD (final concentration 1 μg/mL) was added for screening. After 15-20 d of continuous culture, stable 1.3-fold HBV-HepG2 cell line was obtained. HBV DNA sequence was then identified by PCR. Among the nine selected candidate positive monoclones, A14, in which the 1.3-fold HBV genome was inserted into the HepG2 genome at 1:166461695-166461715 (named HepGA14), had the highest expression levels of HBsAg and HBeAg at 24.28 IU/mL and 39.62 NCU/mL, respectively. HepGA14 can stably and highly express HBV biomarkers. Compared with HepG2.2.15 cell line, the expression levels of HBx and cccDNA in Hepga14 dominant monoclonal line in 1-20 passages were significantly higher ($P < 0.05$).

CONCLUSION

We have successfully constructed and screened HepGA14, a dominant monoclonal HepG cell strain with HBV 1.3-fold genome, which lays a good foundation for further research of HBV-host relationship and pathogenesis as well as for drug screening.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B virus; 1.3-fold genome; Stably transfected; Cell model; Dominant monoclonal

Citation: Qiu H, Lin DY, Li JY. Screening and identification of dominant monoclonal HepG2 cell strain with 1.3-fold HBV genome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(16): 934-944
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/934.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.934

摘要

背景

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)体外感染模型是开展HBV生命周期、致病机理、药物筛选等研究的基础. 随着临床抗HBV治疗进入“功能性治愈”“完全治愈”新时代的趋势, 对能稳定模拟共价闭合环状DNA分子(covalently closed circular DNA, cccDNA)转录机制, 乙型肝炎病毒X蛋白(hepatitis B virus X protein, HBx)致病机理的细胞模型的需求日益迫切. HBV1.3倍(1.3-fold HBV)全基因组包含了全部HBV生物信息, 能依赖自身启动子启动转录过程, 支持cccDNA形成和完整病毒复制, 最接近于HBV体内感染状态下的生命周期. 慢病毒转染是一种以慢病毒为载体, 将外源分子如DNA, RNA等导入真核细胞的技术, 可形成稳定转染.

目的

采用慢病毒转染技术构建HBV 1.3倍基因组HepG2稳转细胞模型, 筛选并鉴定出能稳定、高效表达HBV生物标志物的优势单克隆株.

方法

构建含1.3-fold HBV基因组信息的慢病毒质粒并包装慢病毒; 以最佳感染复数(MOI)值将1.3-fold HBV慢病毒液侵染靶细胞HepG2, 以抗生素杀稻瘟菌素(blasticidin, BSD)最佳筛选剂量筛选出稳定整合1.3-fold HBV基因的HepG2细胞系(1.3-fold HBV-HepG2), 继而采用PCR法鉴定该细胞模型中的HBV DNA序列. 将1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞进行培养并挑选出9株候选阳性单克隆, 通过测序各单克隆细胞的侧翼序列, 以确定9株候选阳性单克隆相应的基因组在HepG2细胞基因组中的插入位置, 再根据各候选单克隆株表达HBsAg、HBeAg的水平, 筛选出最优势单克隆株. 将该优势单克隆株与HepG2.2.15细胞株分别持续培养20代, 比较这两种细胞株表达HBsAg、HBeAg、HBx、cccDNA、HBV DNA等标志物的水平及稳定性.

结果

(1)将慢病毒pLenti-BSD-1.3-fold HBV以MOI = 30的参数侵染HepG2细胞, 72 h后加入BSD抗生素(终浓度1 μg/mL)进行筛选, 连续培养15-20 d后, 获得1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞系, PCR鉴定出HBV DNA序列; (2)在挑选出的9株候选阳性单克隆中, 编号A14的细胞株(命名为HepGA14)的HBsAg、HBeAg表达水平最高, 分别为24.28 IU/mL、39.62 NCU/mL, 其插入HepG2基因组位置为1:166461695-166461715, 确定为优势单克隆株; (3)与HepG2.2.15细胞株比较, HepGA14优势单克隆株1-20代能稳定、高表达HBsAg、HBeAg、HBx、HBV DNA、cccDNA, 差异均具有统计学意义(P<0.05).

结论

成功构建并筛选出1.3-fold HBV基因组HepG2稳转细胞模型优势单克隆株HepGA14, 这为后续开展HBV-宿主关系、发病机制及药物筛选等奠定良好的基础.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing

Group Inc. All rights reserved.

关键词: 乙型肝炎病毒; 1.3倍基因组; 稳转; 细胞模型; 优势单克隆

核心提要: 成功构建并筛选出乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)1.3倍基因组HepG2稳转细胞模型优势单克隆株HepGA14, 其能稳定、高效地表达共价闭合环状DNA分子(covalently closed circular DNA, cccDNA)、乙型肝炎病毒X蛋白(hepatitis B virus X protein, HBx)、HBVDNA、HBsAg、HBeAg等生物标志物, 有望在研制乙肝"治愈"药物及探索HBV相关疾病发病机制等领域发挥积极作用.

文献来源: 邱华, 林栋毅, 李锦源. HBV 1.3倍基因组HepG2稳转细胞模型优势单克隆株的筛选及鉴定. 世界华人消化杂志 2021; 29(16): 934-944

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/934.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.934

0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染仍是全球重要的公共卫生问题, 每年将近100万人死于HBV感染相关的肝硬化、肝癌及肝衰竭等疾病, 而中国作为世界上HBV感染者最多的国家, 防控压力尤为沉重. HBV体外感染与复制模型是研究HBV生活史、致病机理、传染途径的重要工具, 并在HBV相关肝硬化和肝癌的发病机制探索、治疗靶点发现和候选药物筛选等方面发挥关键性作用[1]. 因此, 构建一种高效、稳定、经济、可重复性的HBV体外细胞模型具有重要的意义. 而对于HBV体外复制模型来说, 目前主要是通过各种病毒载体递送系统, 将HBV基因组转染到肝癌细胞系的Huh7和HepG2细胞内构建而成, 如HepG2.2.15、HepAD38、HepDE19等. 本课题组前期采用重组腺病毒转染技术构建了HBV全基因组1.3倍体HepG2瞬染细胞模型, 该模型在感染第2天即可分别在上清液和细胞内中检测出HBV DNA、共价闭合环状DNA分子(covalently closed circular DNA, cccDNA)、HBsAg及HBeAg等标志物的表达, 在4-6 d达到峰值水平, 7 d之后逐渐下降[2]. 但由于该模型HBV DNA不是整合到HepG2细胞的基因组中, 因此其表达HBV生物标志物是不稳定的, 且随着时间延长其表达活性会自然衰减, 每次使用时都需重新构建. 有鉴于此, 本项目组拟采用重组慢病毒转染技术, 构建并筛选出HBV1.3倍(1.3-fold HBV)基因组HepG2稳转细胞模型的优势单克隆株, 以更好服务于HBV感染相关疾病的发病机制及治疗药物研究.

1 材料和方法

1.1 材料 HepG2细胞、HepG2.2.15细胞、293A细胞、293T细胞购自中国科学院上海细胞生物研究所; DH5α感受态细胞购自北京全式金生物技术有限公司; 包装质粒Packaging Mix购自江苏百奥生物技术有限公司; 0.05% Trypsin购自上海玉博生物科技有限公司; DMEM培养基购自美国HyClone公司; 慢病毒骨架载体pLenti-BSD载体购自上海诺百生物科技有限公司; 胎牛血清购自法国Biowest公司; Opti-MEM 购自美国GIBCO公司; Trizol Reagent、荧光染料SYBR Green Ⅰ、oligo dT/Random primer/特异性引物、逆转录酶SuperScriptⅢReverse Transcriptase、Platinum Taq DNA Polymerase、100mM dNTPs、DEPC H_2O购自美国invitrogen公司; Rnase Inhibitor购自加拿大Fermentas公司; HBsAg、HBeAg检测试剂盒购自郑州安图生物股份有限公司(批号: 20191103). CO_2培养箱、生物安全柜、高速冷冻离心机购自上海力康生物医疗科技控股有限公司; 荧光显微镜购自日本Olympus公司; 荧光定量PCR仪购自美国Bio Rad公司. 基因序列、PCR引物合成、测序由上海诺百生物科技有限公司完成.

1.2 方法 本研究严格遵循《中华人民共和国生物安全法》中"病原微生物实验室生物安全"的相关法律规定进行管理与操作.

1.2.1 1.3-fold HBV基因组慢病毒质粒构建: (1)1.3-fold HBV基因组序列扩增: 通过NCBI检索, 查出HBV全基因组序列(NC_003977.2), 并确定1.3-fold HBV基因组序列(图1). 按照序列设计oligo, 全基因合成1.3-fold HBV的序列, 将1.3-fold HBV序列插入到慢病毒骨架载体pLenti-BSD的ClaI和MluI切点之间, 获得慢病毒载体pLenti-BSD-1.3-fold HBV(图2). 根据实验要求设计In-fusion引物, 引物5'端引物重组必需的序列, 上游引物(F): AATTCAAAATTTTATCGATcTCGAGttcaatctaagcaggct, 下游引物(R): TTACTAACCGGTACGCGTgcggccGCgatctcgtactgaagg. 扩增体系: 10×PCR Buffer 5 μL、dNTP 5 μL、$Mg2^+$ 3 μL、Primer F/R 1.5 μL、模板1 μL、KOD 1 μL, 加水至50 μL. 扩增条件: 94 ℃ 15 s、58 ℃ 30 s, 28个循环. 扩增产物通过0.8%琼脂糖凝胶电泳鉴定, PCR产物记为 1.3-fold HBV(PCR); (2)1.3-fold HBV PCR产物回收以及In-fusion连接: pLenti-BSD质粒在37 ℃进行双酶切, 酶切条件: pLenti-BSD 2 μg、10×Buffer T 5 μL、SalI 2 μL、BglII 2 μL, 加水至50 μL. 酶切产物经0.8%琼脂糖凝胶电泳, 切胶回收, 回收产物记为pLenti-BSD(ClaI/MluI). pLenti-BSD(ClaI/MluI)和1.3-fold HBV DNA(PCR)通过In-fusion连接, 连接产物记为

图 1　1.3-fold HBV基因组序列. NC_003977.2 [Hepatitis B virus (strain ayw) genome]Map(从1075bp处沿顺时针方向开始1.3倍序列, 黄色标记片段cccDNA1为重复序列). 1.3-fold HBV: 1.3倍乙型肝炎病毒.

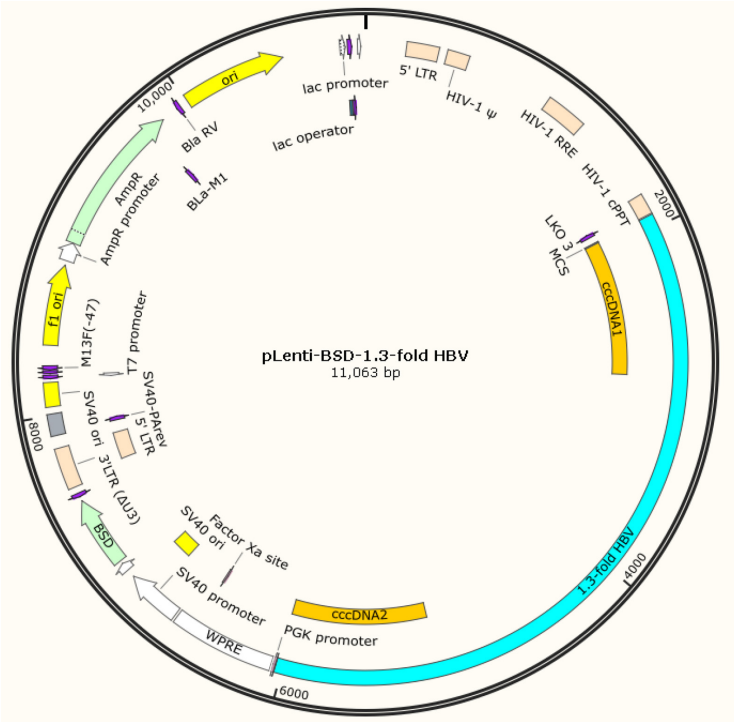

图 2　pLenti-BSD-1.3-fold HBV慢病毒载体示意图. 蓝色标记片段为1.3-fold HBV序列; 黄色标记片段cccDNA1与cccDNA2为重复序列; 绿色标记片段为抗性筛选基因序列. BSD: 稻瘟菌素; 1.3-fold HBV: 1.3倍乙型肝炎病毒; cccDNA: 共价闭合环状DNA分子.

pLenti-BSD-1.3-fold HBV. 连接体系: 5×CE II Buffer 4 μL、pLenti-BSD(ClaI/MluI)50 ng、HBV DNA 1.3P(PCR)150 ng、Exnase® Ⅱ 2 μL, 加入至20 μL, 混匀. 连接条件: 37 ℃反应30 min后, 立即将反应管置于冰水浴中冷却; (3)pLenti-BSD-1.3-fold HBV重组质粒鉴定: pLenti-BSD-1.3-fold HBV连接产物转化DH5α感受态细胞, 37 ℃过夜培

养, 挑取阳性克隆经PCR鉴定, 根据1.3-fold HBV序列设计特异性引物(F: CTCGTGGTGGACTTCTCTC; R: CAGCAGGATGAAGAGGAA)进行PCR扩增, 扩增产物大小为166bp; 同时设置阴性对照(dd H_2O作为模板)和阳性对照(PCR扩增1.3-fold HBV); PCR反应体系和反应条件参照1.2.1.1; (4)pLenti-BSD-1.3-fold HBV慢病毒包装及滴度测定:将慢病毒载体pLenti-BSD-1.3-fold HBV和包装质粒(packaging mix)共转染293T细胞, 包装病毒, 收集病毒原液, 超速离心浓缩, 浓缩后的慢病毒侵染293A细胞, 48 h后qPCR测定慢病毒活性滴度[2]. qPCR反应体系: 10×PCR buffer 1 μL、Mg^{2+} 0.4 μL、dNTPs 0.2 μL、Primer F/R 0.5 μL、Probe(FAM)0.25 μL、Taq酶0.1 μL、Template 1 μL、Total volume 10 μL; qPCR反应条件: 95 ℃10 s、60 ℃30 s, 40个循环.

1.2.2 HBV 1.3倍基因组慢病毒质粒侵染HepG2细胞及筛选: (1)慢病毒载体pLenti-BSD-1.3-fold HBV侵染HepG2最佳MOI值: 培养靶细胞HepG2至状态良好, 处于对数生长期; 细胞用0.05%胰酶消化, 用含8 μg/mL polybrene的完全培养液重悬细胞, 细胞计数后, 按照每孔第2天细胞密度60%-70%的细胞数量进行接种于96孔板的每个孔中, 设置1个复孔(病毒滴度设1复孔); 培养过夜, 观察细胞生长状态. 进行GFP荧光慢病毒侵染实验; 取出已知滴度的阴性对照病毒液, 冰上融化, 根据设计的MOI测定范围, 以及细胞接种量, 计算每孔所需要病毒量, 按照不同感染复数(multiplication of infection, MOI), 慢病毒MOI = 0、2、5、10、30、60、120、240, 向每孔加入病毒液. 在37 ℃, 5%的CO_2培养箱培养6 h后, 更换为完全培养液后继续培养至24 h-96 h; 荧光显微镜下观察细胞生长情况和荧光比率, 确定最佳MOI, 并拍摄每个MOI下的白光和荧光视野下的照片; (2)1.3-fold HBV DNA慢病毒侵染HepG2细胞及抗生素筛选:培养靶细胞HepG2至状态良好, 处于对数生长期; 细胞用0.05%胰酶消化, 用完全培养基悬浮成单细胞悬液, 细胞计数后, 按照5×10^5个细胞接种于12孔板的每个孔中; 感染培养基预先配制完全培养基+8 μg/mL ploybrene; 培养孔换上新配制的感染培养基, 添加1 mL培养基, 按照MOI测定值的病毒液侵染靶细胞, 混匀后置于5%的CO_2的培养箱中培养4-6 h, 更换新鲜的完全培养基, 继续培养24 h-72 h, 根据细胞状态进行抗生素筛选(梯度分为0, 2 μg/mL, 4 μg/mL, 6 μg/mL, 8 μg/mL, 10 μg/mL); 完全培养基中加入合适量的抗生素进行筛选, 筛选期间每天观察细胞状态, 抗生素筛选周期视细胞状态而定, 筛选成功的稳转细胞按照常规培养并冻存; (3)1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞的PCR鉴定: 抽提1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞和HepG2细胞的基因组DNA, 根据1.3-fold HBV序列设计特异性引物(F: CTCGTGGTGGACTTCTCTC; R: CAGCAGGATGAAGAGGAA)进行PCR扩增, 扩增产物大小为166 bp; PCR反应体系和反应条件参照1.2.1.1.

1.2.3 1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞优势单克隆株的筛选及鉴定: (1)1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞候选阳性单克隆的筛选: ①铺板培养: 取1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞株消化重悬计数, 以每孔1个细胞量调整细胞密度, 接种到96孔板中, 2周后显微镜下观察已长出的单克隆细胞团, 收集单克隆细胞上清并消化扩培到24孔板中, 24孔板长满再扩培到6孔板中, 依次扩大培养. 再取扩增后的稳转单克隆株分批次铺板培养并挑选, 第一批单克隆依次命名为A1、A2、A3等, 第二批单克隆依次命名为B1、B2、B3等, 依此类推. ②初筛: 所有单克隆株均收集细胞上清, 利用HBsAg和HBeAg检测试剂盒, 分别检测HBsAg、HBeAg表达水平, 初步筛选出阳性单克隆株, 进行后续实验. ③复筛: 源于初筛的阳性单克隆株以同一细胞数铺板, 培养3 d后收集细胞上清, 再根据HBsAg、HBeAg的表达水平, 筛选出9株候选阳性单克隆株, 进入后续靶基因插入位置测序及表达活性等实验; (2)检测9株候选阳性单克隆1.3-fold HBV基因组整合进HepG2基因组位置: 通过测序9株候选阳性单克隆细胞株的侧翼序列, 以确定其相应的基因组插入HepG2细胞基因组的位置. 培养候选的9株阳性单克隆株至1×10^6以上, 分别抽提基因组DNA; 用XspI对基因组DNA进行酶切, 将酶切后的产物与NdeI切开的pUC57-Amp载体进行连接反应, 针对连接产物, 进行巢式PCR扩增, 第一轮所用的引物F: gttccgcagtatggatcggc, R: cgatcgcccttcccaacagt; 第二轮所用的引物F: gaggagccgaaaaggttcca, R: cagcctgaatggcgaatgg. 针对巢式PCR产物, 进行Sanger测序(使用cagcctgaatggcgaatgg为测序引物)将测序获得的序列信息, 与人基因组数据库进行Blast比对, 可找出相应的基因组位置信息; (3)筛选出1.3-fold HBV-HepG2稳转优势单克隆株: 收集9株候选阳性单克隆株细胞上清, 分别检测上清中HBsAg、HBeAg水平, 筛选出表达量及稳定性最优的单克隆, 作为优势单克隆株, 培养备用; (4)检测优势单克隆株与HepG2.2.15各代HBsAg、HBeAg表达水平与稳定性: 取1.3-fold HBV-HepG2稳转优势单克隆株和HepG2.2.15细胞株, 各连续培养20代, 分别收集第1代、第2代、第3代、第4代、第5代、第10代、第15代、第20代的细胞上清, 检测细胞株上清中HBsAg、HBeAg水平; (5)检测优势单克隆株与HepG2.2.15各代乙型肝炎病毒X蛋白(hepatitis B virus X protein, HBx)、cccDNA、HBV DNA的表达水平及稳定性: 分别收集两种细胞株, 连续培养后, 收集第1代、第2代、第

表 1　9株候选阳性单克隆细胞的侧翼序列对应的基因组插入位置

单克隆编号	基因组定位	核心序列信息
A4	6:950537–950557	aaaaaaagcacgcaaatttttgtgctgggaaacattagaacttaagactttcttacacttcctctgtggtttagtctttgtggtagt ttgggaagatggagtcatataattcttttcacttttgagggatgctgtaga
A14	1:166461695–166461715	ttcataaaactgtagtaataaatattcctttctctttggtcttttgaaagagtttgagatgaattggctttaattcttcaaatgtttgat agaacttgccaaagaagtcatttggtcttgggcttttccatcttgggaggt
A23	13:36028711–36028732	cttcctcgtttcctttgccttgcttcctcccgccctccaggctgtttcttggcctgggaaatgctcat
B4	18:65485740–65485760	caaaggtgttattgattttaatagattttcatatattacaaagtcattgatgtagtctgtgaatttcattataatacatcaaacatgtt acaggtatagtcttatactaagttggcaattcatagctaacac
B8	4:98253463–98253488	accatctcttccaaagtcttgtgaaataggtatatgtgttttatgagtggtcttttaggcaaaaataaagtacaattgatccttgaa caacacaaggttgaatgtcatgggtccacatatacctggatgggtccacatatacctgagataattgactgcttatgttatcag taatgtcaacaagtaagctat
B17	13:21513207–21513227	tgaaacagtctcttttcgtagatggcattgtctctgtagaaactcccaggaaatctgcaaaaaaaaaatcacaaaacaaaaca aagcttctagaactaataattgattttaggaaggtgactaggtacaagaa
B22	12:1947817–1947837	gccccattcctttcattcttcctcaaacatgtttccttcttttgtagtctcgctatgttgctcaggctggtcttgaactcctggcctc aagcaatgctcccaccttggcttcccaaagtgctgggattacaggcgtgagcagccactgtgcccggccaacatggaacct ttttaaaaatgttgtactaattgagaccactgtctttttaagtaggataagacaaccgcagaagg
B23	13:99716126–99716148	cttgagcccagcctgagcaacatagcgagaccttgtctctaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaa
B27	X:81891372–81891396	aatagacaaatcaatttccaaagtgtctactttggtaagagcagagtatttctcctttcatagtgaaagtaagccaatgtaatcc acctgccacgaggta

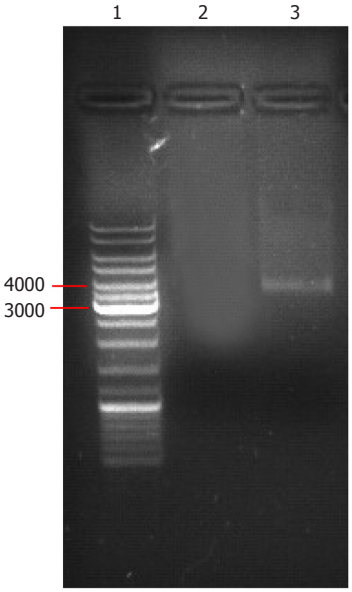

图 3　PCR鉴定1.3-fold HBV基因组扩增产物. 1: Marker; 2: NC对照; 3: 1.3-fold HBV基因组相关PCR产物. 1.3-fold HBV: 1.3倍乙型肝炎病毒.

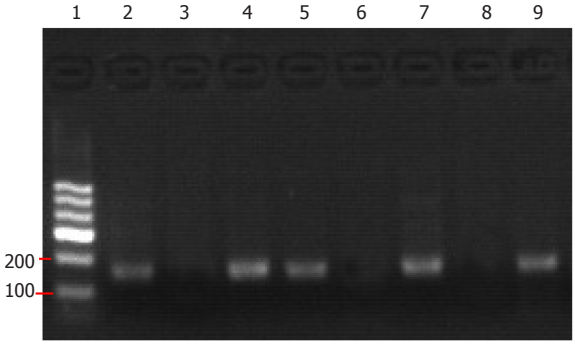

图 4　PCR鉴定pLenti-BSD-1.3-fold HBV. 1: Marker; 2-7: pLenti-BSD-1.3-fold HBV基因组相关转化子; 8: 阴性对照; 9: 阳性对照(PCR扩增1.3-fold HBV). BSD: 稻瘟菌素; 1.3-fold HBV: 1.3倍乙型肝炎病毒.

3代、第4代、第5代、第10代、第15代、第20代的细胞, 抽提RNA和DNA; 采用qPCR检测HBx mRNA、cccDNA、HBV DNA的表达水平. HBx的检测引物为F: tctgtgccttctcatctgc, R: tcggtcgttgacattgctg, cccDNA的检测引物为F: ctccccgtctgtgccttct, R: gccccaaagccacccaag, HBV DNA的检测引物为F: ctcgtggtggacttctctc, R: cagcaggatgaagaggaa, 以18S rDNA为内参, 检测引物为引物F: GAATTGACGGAAGGGCACCAC, R: AAGAACGGCCATGCACCACCA. 实验组与对照组中基因的倍数关系以$2^{-\Delta\Delta Ct}$表示. 参考前期反应体系[2]: 2×SYBR Green PCR Master Mix 10 μL、Primer F/R 1 μL、模板 1 μL、RNase-free H_2O 5 μL; PCR反应条件: 95 ℃ 30 s、60 ℃ 30 s、72 ℃ 30 s, 40个循环. 检测过程中以HepG2.2.15细胞为阳性对照. 细胞按50%密度铺6孔板(每组细胞数一致, 约2E+6/孔), 培养3 d后收集细胞并检测.

统计学处理 应用软件SPSS 22.0进行统计分析, 所有实验均重复3次, 符合正态分布的计量资料以均数±标准差(mean±SD)表示, 两组间比较用独立样本t检验. 统计学显著性用$^aP<0.05$或$^bP<0.01$($P>0.05$不注)表示.

表 2　各候选阳性单克隆细胞上清HBsAg、HBeAg的表达水平比较

序号	样品	HBsAg浓度(IU/mL)	HBeAg浓度(NCU/mL)
1	A4	2.57	36.20
2	A14	24.28	39.62
3	A23	7.68	26.71
4	B4	14.64	10.10
5	B8	11.21	31.16
6	B17	1.02	26.03
7	B22	6.64	33.82
8	B23	13.02	27.76
9	B27	18.88	39.75

表 3　HepGA14优势克隆株和HepG2.2.15株各代细胞上清HBsAg、HBeAg的表达水平比较

代数	HBsAg浓度(IU/mL)		HBeAg浓度(NCU/mL)	
	HepGA14	HepG2.2.15	HepGA14	HepG2.2.15
第1代	24.98	29.87	36.30	26.50
第2代	24.70	29.61	37.53	26.58
第3代	25.01	28.83	35.47	26.65
第4代	24.02	29.26	36.38	26.20
第5代	24.38	29.98	36.92	27.69
第10代	25.49	27.61	37.93	25.02
第15代	26.20	24.38	38.89	22.68
第20代	26.89	21.51	39.26	19.27

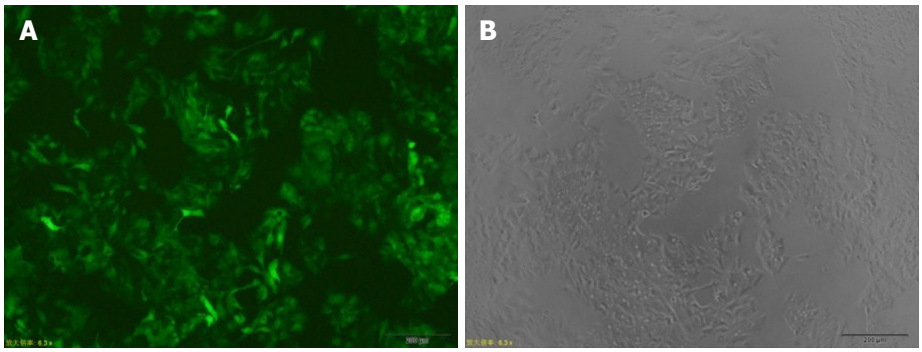

图 5　MOI = 30时, 慢病毒侵染HepG2细胞的感染效率(×100). A: 绿光; B: 白光.

2 结果

2.1 1.3-fold HBV基因组序列扩增 1.3-fold HBV基因组扩增产物经0.8%琼脂糖凝胶电泳, 在4100 bp处可见清晰的条带, 其大小与理论大小一致(图3).

2.2 pLenti-BSD-1.3-fold HBV基因组重组质粒鉴定 扩增产物经0.8%琼脂糖凝胶电泳鉴定, 鉴定条带约为166 bp, 符合预期条带大小(图4).

2.3 慢病毒滴度及侵染HepG2细胞的最佳MOI值测定 浓缩后的慢病毒侵染HepG2细胞, 48 h后抽提细胞基因组. 测定病毒滴度为1.28×10^{8} TU/mL. MOI = 30时, 综合分析细胞阳性比例达到80%以上, 细胞状态较好, 满足后续实验要求(图5).

2.4 1.3-fold HBV慢病毒侵染HepG2细胞及抗生素筛选 HepG2细胞抗生素最佳筛选剂量为1 μg/mL, 筛选时间为10 d. 将慢病毒载体pLenti-BSD-1.3-fold HBV以MOI = 30的参数侵染HepG2细胞, 72 h后加入BSD抗生素(终浓度1 μg/mL)进行筛选, 连续培养15-20 d后, 获得1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞系(图6).

2.5 1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞的PCR鉴定 从1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞中扩增出预期的HBV DNA序列

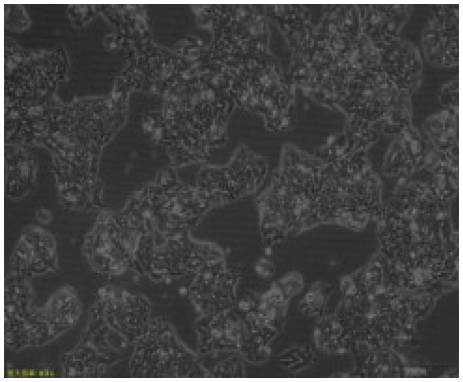

图 6　1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞形态图. 1.3-fold HBV: 1.3倍乙型肝炎病毒.

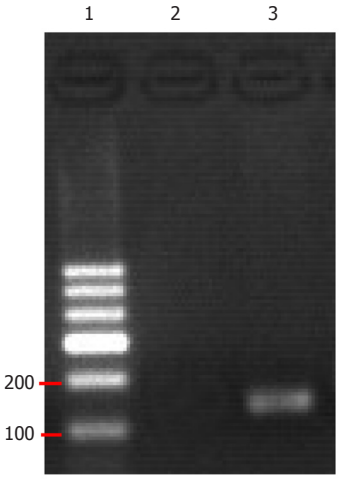

图 7　1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞的PCR鉴定. 1: Marker; 2: HepG2细胞(阴性对照细胞); 3: 1.3-fold HBV-HepG2稳转细胞. 1.3-fold HBV: 1.3倍乙型肝炎病毒.

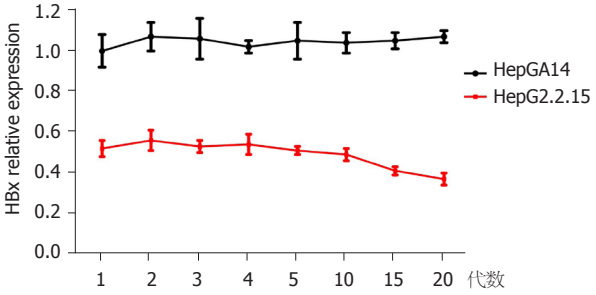

图 8　HepGA14和HepG2.2.15各代HBx相对表达量比较. 与HepG2.2.15组比较, $P<0.05$. HBx: 乙型肝炎病毒X蛋白.

(约166bp), 符合预期(图7).

2.6 各候选阳性单克隆细胞的侧翼序列对应的基因组插入位置 表1.

2.7 各候选阳性单克隆细胞上清HBsAg、HBeAg的表达水平 由表2可知, 1.3-fold HBV DNA-HepG2稳转细胞单克隆A14的HBsAg、HBeAg表达水平最高, 分别为24.28 IU/mL、39.62 NCU/mL, 确定为优势单克隆株, 并命名为HepGA14, 可用于后续实验(表2).

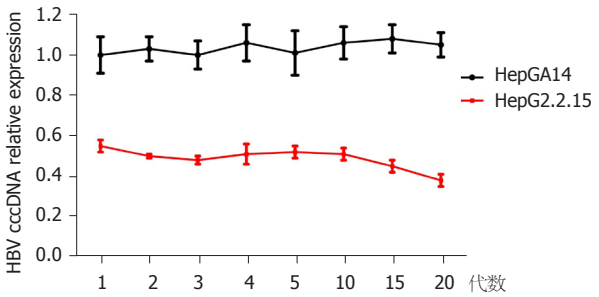

图 9　HepGA14和HepG2.2.15各代cccDNA相对表达量比较. 与HepG2.2.15组比较, $P<0.05$. cccDNA: 共价闭合环状DNA分子.

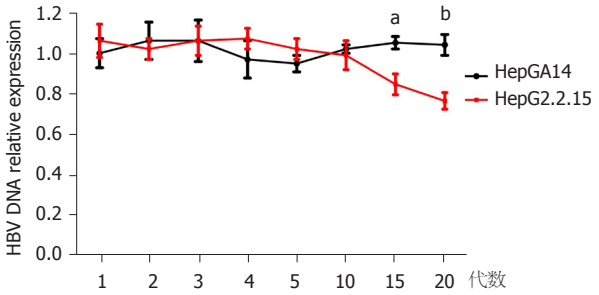

图 10　HepGA14和HepG2.2.15各代HBV DNA相对表达量比较. 与HepG2.2.15组比较, $^{a,b}P<0.05$. HBV: 乙型肝炎病毒.

2.8 HepGA14优势单克隆株和HepG2.2.15株各代细胞上清HBsAg、HBeAg的表达水平及稳定性 由表3可知, HepGA14优势克隆株培养的第1-20代HBsAg、HBeAg浓度均较稳定, 而HepG2.2.15株培养的第1-20代HBsAg、HBeAg浓度呈逐渐降低趋势(表3).

2.9 HepGA14优势单克隆株和HepG2.2.15株各代细胞内HBx、HBV DNA、cccDNA表达水平及稳定性 HepGA14优势单克隆株培养1-20代的HBx、HBV DNA、cccDNA相对表达水平均较稳定, 而HepG2.2.15株HBx、HBV DNA、cccDNA相对表达水平随着传代数的增加, 逐渐降低. HepGA14组各代HBx、cccDNA相对表达水平均高于HepG2.2.15组, 差异均具有统计学意义($P<0.05$)(图8、图9). HepG2.2.15组的HBV DNA相对表达水平从第15、20代显著下降, 与同代HepGA14比较, 差异具有统计学意义($P<0.05$)(图10).

3 讨论

HBV是一种是嗜肝病毒属小包膜DNA病毒, 由于其具有严格的种属限制性及组织亲嗜性, 宿主范围狭窄, 只能感染人和少数灵长类动物(如黑猩猩)[3]. 因此支持HBV感染和复制的体外细胞模型就成了研究HBV生命周期、病毒-宿主相互作用、致病机理及新型抗病毒药物等的重要工具[4]. 根据研究目的、感染途径等不同又分

为可直接感染HBV的细胞模型和依赖基因工程技术所建立的重组细胞系模型2类. 对于直接感染HBV的细胞模型, 由于人类原代肝细胞、胚胎肝细胞保留了肝细胞的重要细胞学特性, 自然条件下允许HBV穿入和完整复制, 能模拟最接近HBV体内感染的真实过程及状态, 相当长时间内占据着HBV感染模型的主要位置[5]. 但这类细胞模型都具有细胞来源有限, 体外培养技术要求较高且不能连续扩增, 生命周期短暂, HBV易感性迅速降低, 不同捐赠者之间个体差异较大等缺点, 因此只适合于对HBV感染早期阶段研究[6]. HepaRG细胞是唯一可直接感染HBV的肝癌细胞系, 增殖能力较强, 但是感染效率较低且操作复杂, 在诱导分化数周后才可被感染[7]. 近年来, 随着钠离子-牛磺胆酸共转运蛋白(sodium-taurocholate cotransporting polypeptide, NTCP)的发现, 使肝癌细胞系通过外源表达NTCP直接感染HBV成为了可能[8]. NTCP是多次跨膜的胆汁酸转运蛋白, 特异性地在肝细胞膜表面表达, 能与HBV病毒外膜蛋白pre-S1区域特异性结合. HepG2、HuH7等传代细胞系由于缺乏内源性NTCP表达, 故在正常培养条件下不能支持HBV感染, 但在其中外源性表达NTCP可恢复其HBV易感性. 以HepG2-NTCP、HuH7-NTCP为代表的新型HBV感染细胞模型, 为针对HBV生命周期早期阶段的研究提供了新选择[9]. 但该类模型与体内感染相比, 感染是短暂的, 所产生的子代病毒不能有效地在细胞间传播, 从而限制了其作为HBV病毒源的研究应用, 且只有少量cccDNA可被检测到.

同时, 为解决研究HBV生命周期中后阶段自然史、筛选抑制HBV转录与复制药物及获得稳定细胞培养源性HBV病毒颗粒等需要, 科学家们采用基因工程技术建立了系列整合HBV基因组, 能持续扩增, 高效、稳定表达HBV标志物的稳转细胞模型. 1987年, Sells等[10]通过将首尾相连的2倍HBV基因组整合进入HepG2细胞, 从而构建成能稳定表达乙肝病毒颗粒的HepG2.2.15细胞系. 该细胞系中HBV可持续复制, 并能检测到共价闭合环状DNA分子(cccDNA)和松弛环状 DNA(rcDNA)的产生; 能产生一定量的病毒感染颗粒, 将其注射到黑猩猩体内可以诱发显著的肝炎症状[11]. 该模型已被广泛用于HBV基础生物学问题研究, 为早期抗HBV药物的发展做出了重要贡献, 但该模型存在病毒复制活性弱、cccDNA表达水平较低等不足, 且随着培养代数增多, HBV主要抗原(HBsAg、HBeAg)表达量会逐渐降低, 更难以满足以cccDNA等为目标新型抗病毒药物研发的需要. 针对HepG2.2.15存在的问题, 学者们将1.1倍的HBV全基因组整合入HepG2细胞, 成功构建了HepAD38细胞模型. 该模型HBV的产生受四环素严格调控, 当培养基中含有四环素时由于抑制了前基因组RNA(pregenomic RNA, pgRNA)的合成, 而无法合成HBV, 去除培养基中四环素后, 细胞立即表达pgRNA、cccDNA和HBV DNA等标志物; 同时HepAD38产生HBV DNA、cccDNA等的量比HepG2.2.15大幅增加[12]. 但HepAD38对四环素敏感的巨细胞病毒(CMV)启动子, 与自然感染条件下, HBV通过内源启动子作用下转录、复制的机制是不同的[13]. 进一步, 针对HepAD38存在的问题, 科学家们提出了1.3-fold HBV基因组的解决方案: 在HBV1.1倍上游加入其自身启动子形成的, 使其依赖自身启动子启动转录, 这样可以充分反映病毒株的自身复制情况, 便于研究HBV复制和转录调节的全过程. 如HepAD79、HepG2-H1.3整合了1.3倍的HBV全基因组, 表达完全靠HBV自身启动子, 更接近于病毒自然状态, 支持cccDNA形成和完整病毒复制, 但上述模型的病毒产量较低, 不能满足以降解、清除cccDNA为靶点的新型抗病毒药物研发的需要[14].

本项目组在前人基础上, 采用慢病毒质粒技术将1.3倍的HBV全基因组整合入HepG2细胞基因组中, 构建HBV 1.3倍HepG2稳转细胞模型. 由于慢病毒将靶基因插入目标细胞基因组中的位置是随机的, 而不同的目标细胞基因插入位置, 由于自身转录活性的差异, 会对靶基因HBV的表达水平产生较大影响, 故需进行优势株的筛选. 本项目组以构建成功的HBV 1.3倍HepG2稳转细胞模型为基础, 按照以下研究步骤: 分批次挑选、扩增单克隆株→初筛出阳性单克隆株→复筛出9株候选阳性单克隆株→检测9株候选阳性单克隆株的基因组插入HepG2基因组的位置→检测9株候选阳性单克隆株表达HBsAg、HBeAg的活性及稳定性→选出最优势单克隆株→与HepG2.2.15比较该优势单克隆株表达HBVDNA、cccDNA、HBx、HBsAg、HBeAg等生物标志物的活性及稳定性, 从而进一步筛选并鉴定出1.3-fold HBV基因组HepG2稳转细胞模型优势单克隆株. 结果表明, 在挑选出的9株候选阳性单克隆中以A14插入HepG2基因组位置为1:166461695-166461715(命名为HepGA14)的HBsAg、HBeAg表达水平最高, 分别为24.28 IU/mL、39.62 NCU/mL, 初步确定为优势单克隆株. 以HepG2.2.15细胞株为对照, 进一步检测HepGA14优势单克隆株1-20代表达HBx、cccDNA、HBVDNA的水平, 结果表明HepGA14能高效、稳定地表达HBV生物标志物, 差异具有统计学意义($P<0.05$). HepGA14有望为以HBx为功能蛋白的肝纤维化启动机制、肝细胞癌发病机制、HBx-免疫系统跨细胞竞争机制等前沿研究奠定基础; 为以cccDNA为靶点的新型HBV“治愈”药物的研发提供有力的工具, 具有积极的应用价值.

4 结论

综上, 所筛选出的优势单克隆株HepGA14在表达

cccDNA、HBx、HBVDNA、HBsAg、HBeAg等标志物的稳定性及生物活性上, 与常规的HepG2.2.15细胞株比较, 具有明显的优势, 其有望在新型HBV“治愈”药物及致病机制等领域发挥积极作用.

文章亮点

实验背景

慢性乙型肝炎的抗病毒治疗已进入到要实现“临床性治愈”“完全治愈”的新时代. 已知共价闭合环状DNA分子(covalently closed circularDNA, cccDNA)、乙型肝炎病毒X蛋白(hepatitis B virus X protein, HBx)是导致乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染慢性化和难以治愈的关键物质基础. 但目前尚缺乏能稳定、高效表达上述标志物的体外细胞模型, 从而严重限制了以“治愈”为目标的药物筛选及机制探索. 本研究拟采用慢病毒转染技术, 以HepG2细胞为载体, 构建并筛选出能稳定、高效表达cccDNA、HBx等生物标志物的优势单克隆株, 以期为以cccDNA为靶点的新型HBV“治愈”药物研发, 以HBx为功能蛋白的肝纤维化启动机制、肝细胞癌发病机制、HBx-免疫系统跨细胞竞争机制等探索提供新的研究工具.

实验动机

本研究的主题是筛选出HBV1.3倍(1.3-fold HBV)基因组HepG2稳转细胞模型优势单克隆株, 并鉴定出该优势单克隆株的HBV基因组整合入HepG2靶细胞的基因组位置, 及其在表达HBeAg、HBeAg、HBVDNA、cccDNA、HBx等标志物上的稳定性与活性.

实验目标

本研究的主要目标是筛选并鉴定出能稳定、高效表达cccDNA、HBx等标志物的1.3-fold HBV全基因组HepG2稳转细胞模型优势单克隆株, 为“治愈”乙肝药物的研制及HBV相关疾病发病机制的探索奠定基础.

实验方法

本研究以最佳MOI值将1.3-fold HBV慢病毒液侵染靶细胞HepG2, 以抗生素BSD最佳筛选剂量筛选出稳定整合1.3-fold HBV基因的HepG2细胞系, 1.3-fold HBV基因组扩增产物使用0.8%琼脂糖凝胶电泳检测, Sanger测序鉴定各候选阳性单克隆细胞的侧翼序列对应的基因组插入位置, ELISA法检测HBsAg、HBeAg含量, PCR法检测HBVDNA、cccDNA、HBx表达水平.

实验结果

本研究成功筛选出1株能稳定、高效地表达HBsAg、HBeAg、HBVDNA、HBx、cccDNA标志物的优势单克隆株, 命名为HepGA14, 经鉴定其入HepG2基因组位置为1:166461695-166461715.

实验结论

本研究构建并筛选出了1株能稳定、高效表达HBV生物标志物的优势单克隆株, 将在乙肝“治愈”药物的研制及肝硬化、肝癌、肝衰竭发病机制的研究上有较广阔的应用价值.

展望前景

本研究只观察了连续培养20代范围内HepGA14的表达规律, 对其长期传代(>100代)后的表达稳定性及活性仍有待持续观察. 本项目组下一步, 将对于1.3倍HBV基因组插入HepG2后对宿主本身的细胞形态、功能及活性的影响; 对HepGA14转录出的产物是否具有与体内感染相一致的再感染性及致病功能; 对干扰素、核苷(酸)类似物及中药等抗病毒药物的应答敏感性等进行深入研究, 从而为实现攻克HBV做出积极贡献.

5 参考文献

1 Hu J, Lin YY, Chen PJ, Watashi K, Wakita T. Cell and Animal Models for Studying Hepatitis B Virus Infection and Drug Development. *Gastroenterology* 2019; 156: 338-354 [PMID: 30243619 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.06.093]

2 邱华, 高月求, 毛德文, 周振华, 龙富立, 王明刚. HBV全基因组1.3倍体HepG2细胞模型的构建与表达.临床肝胆病杂志2017; 33: 668-673 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2017.04.014]

3 Dandri M, Lütgehetmann M, Petersen J. Experimental models and therapeutic approaches for HBV. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 7-21 [PMID: 22898798 DOI: 10.1007/s00281-012-0335-7]

4 Allweiss L, Dandri M. Experimental in vitro and in vivo models for the study of human hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2016; 64: S17-S31 [PMID: 27084033 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.02.012]

5 Ramboer E, De Craene B, De Kock J, Vanhaecke T, Berx G, Rogiers V, Vinken M. Strategies for immortalization of primary hepatocytes. *J Hepatol* 2014; 61: 925-943 [PMID: 24911463 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.05.046]

6 Wilkening S, Stahl F, Bader A. Comparison of primary human hepatocytes and hepatoma cell line Hepg2 with regard to their biotransformation properties. *Drug Metab Dispos* 2003; 31: 1035-1042 [PMID: 12867492 DOI: 10.1124/dmd.31.8.1035]

7 Andersson TB, Kanebratt KP, Kenna JG. The HepaRG cell line: a unique in vitro tool for understanding drug metabolism and toxicology in human. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2012; 8: 909-920 [PMID: 22568886 DOI: 10.1517/17425255.2012.685159]

8 Yan H, Liu Y, Sui J, Li W. NTCP opens the door for hepatitis B virus infection. *Antiviral Res* 2015; 121: 24-30 [PMID: 26071008 DOI: 10.1016/j.antiviral.2015.06.002]

9 Sun Y, Qi Y, Peng B, Li W. NTCP-Reconstituted In Vitro HBV Infection System. *Methods Mol Biol* 2017; 1540: 1-14 [PMID: 27975303 DOI: 10.1007/978-1-4939-6700-1_1]

10 Sells MA, Chen ML, Acs G. Production of hepatitis B virus particles in Hep G2 cells transfected with cloned hepatitis B virus DNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 1005-1009 [PMID: 3029758 DOI: 10.1073/pnas.84.4.1005]

11 Acs G, Sells MA, Purcell RH, Price P, Engle R, Shapiro M, Popper H. Hepatitis B virus produced by transfected Hep G2 cells causes hepatitis in chimpanzees. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 4641-

4644 [PMID: 2885842 DOI: 10.1073/pnas.84.13.4641]
12 Priyambada SA, Misaki R, Okamoto T, Okamoto Y, Ohashi T, Ueda K, Matsuura Y, Fujiyama K. Cell surface N-glycan alteration in HepAD38 cell lines expressing Hepatitis B virus. *Virus Res* 2017; 238: 101-109 [PMID: 28645725 DOI: 10.1016/j.virusres.2017.06.003]
13 Ladner SK, Otto MJ, Barker CS, Zaifert K, Wang GH, Guo JT, Seeger C, King RW. Inducible expression of human hepatitis B virus (HBV) in stably transfected hepatoblastoma cells: a novel system for screening potential inhibitors of HBV replication. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41: 1715-1720 [PMID: 9257747 DOI: 10.1128/AAC.41.8.1715]
14 Ying C, De Clercq E, Neyts J. Selective inhibition of hepatitis B virus replication by RNA interference. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 482-484 [PMID: 12951075 DOI: 10.1016/j.bbrc.2003.08.021]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 消息 •

书 讯

本刊讯 由池肇春教授主编的《腹痛的诊断、鉴别诊断与治疗》已由人民卫生出版社出版发行.

腹痛是消化系统最常见的症状之一, 可引起腹痛的疾病很多, 容易发生误诊或漏诊, 以致患者得不到及时的诊治. 本书由全国著名消化内科及相关学科专业学者共同执笔, 为近年在腹痛诊疗方面的最新代表作. 精装, 图文并茂, 内容新颖实用, 全书2014千字, 分上下两篇, 上篇为总论, 包括腹痛的病理生理学、腹痛的病因与发病机制、腹痛的临床诊断、腹痛的内镜与影像诊断与鉴别诊断、腹痛的实验室诊断、腹痛的治疗等11章. 下篇为各论, 分别介绍腹痛疾病的鉴别诊断与治疗. 从第12章至第15章分别介绍腹腔脏器炎症、阻塞、扭转、穿孔、破裂、血管疾病、心肺疾病、妇科疾病、急性中毒等引起急性腹痛的鉴别诊断与治疗. 从第17章至第29章分别介绍胃肠、胰, 肾、感染、肿瘤引起的慢性腹痛鉴别诊断与治疗. 从第30章至第36章分别介绍肝胆系统疾病和系统疾病引起腹痛的鉴别诊断与治疗. 最后一章为经典案例53例, 分别介绍了不同案例的诊治体会、经验与教训.

全书以症状鉴别诊断为中心, 与治疗并重, 均作了全面与详尽的阐述, 是一部有关腹痛诊治的新作, 有较高的学术水平和参考价值, 可为消化内科、普外科、小儿科、感染科、肿瘤科、影像科和妇产科等学科医师学习与参考. 每册定价188元 , 购书热线 010-59787592, 010-59787584, 010-65264830, 人卫智慧服务商城(人卫社官方购书网站)、当当、京东、天猫等网店均可搜索购书, 欢迎选购.

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): 945-951

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i16.945

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式在肠易激综合征患者护理中的应用研究

刘水姣, 徐卫芳, 李青松, 周剑宇

刘水姣, 台州市中心医院(台州学院附属医院)消化内分泌科 浙江省台州市 318000

徐卫芳, 台州市中心医院(台州学院附属医院)骨科 浙江省台州市 318000

李青松, 台州市中心医院(台州学院附属医院)消化内科 浙江省台州市 318000

周剑宇, 台州市中心医院(台州学院附属医院)超声科 浙江省台州市 318000

刘水姣, 护师, 研究方向为消化内分泌科.

基金项目: 台州市科技局项目, No. 20YWB45.

作者贡献分布: 刘水姣, 徐卫芳, 李青松, 周剑宇共同完成了课题的设计、操作、数据分析及论文的写作.

通讯作者: 周剑宇, 主治医师, 318000, 台州市椒江区经济开发区东海大道999号, 台州市中心医院(台州学院附属医院)超声科. panliao127@163.com

收稿日期: 2021-02-05
修回日期: 2021-03-10
接受日期: 2021-06-28
在线出版日期: 2021-08-28

Application of low FODMAP diet-based holistic nursing model combined with moxibustion in patients with irritable bowel syndrome

Shui-Jiao Liu, Wei-Fang Xu, Qing-Song Li, Jian-Yu Zhou

Shui-Jiao Liu, Department of Gastroenterology and Endocrinology, Taizhou Central Hospital (Affiliated Hospital of Taizhou University), Taizhou 318000, Zhejiang Province, China

Wei-Fang Xu, Department of Orthopedics, Taizhou Central Hospital (Affiliated Hospital of Taizhou University), Taizhou 318000, Zhejiang Province, China

Qing-Song Li, Department of Gastroenterology, Taizhou Central Hospital (Affiliated Hospital of Taizhou University), Taizhou 318000, Zhejiang Province, China

Jian-Yu Zhou, Department of Ultrasound, Taizhou Central Hospital (Affiliated Hospital of Taizhou University), Taizhou 318000, Zhejiang Province, China

Supported by: Taizhou Science and Technology Bureau Project, No. 20YWB45.

Corresponding author: Jian-Yu Zhou, Attending Physician, Department of Ultrasound, Taizhou Central Hospital (Affiliated Hospital of Taizhou University), No. 999, Donghai Avenue, Economic Development Zone, Jiaojiang District, Taizhou 318000, Zhejiang Province, China. panliao127@163.com

Received: 2021-02-05
Revised: 2021-03-10
Accepted: 2021-06-28
Published online: 2021-08-28

Abstract

BACKGROUND

Irritable bowel syndrome (IBS) is a common functional gastrointestinal disease. Although traditional diet therapy can relieve clinical symptoms, it has little effect in improving the quality of life and intestinal function. In recent years, studies have found that short-chain carbohydrates that are difficult to absorb, such as oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, and polyols (FODMAP), can increase the amount of fluid in the intestinal cavity and the production of intestinal gas, and induce intestinal barrier dysfunction, which exacerbates the symptoms of IBS. Thus, restricting FODMAP intake is particularly important in alleviating the condition of IBS. This study explored the feasibility of the holistic nursing model based on low FODMAP diet combined with moxibustion in the care of IBS patients, with an aim to find an effective of nursing care model, improve the quality of life of patients, and reduce the severity of IBS.

AIM
To analyze the application effect of the holistic nursing model based on low FODMAP diet combined with moxibustion in the care of patients with IBS.

METHODS
We selected 100 patients with IBS who were treated at our hospital from September 2018 to June 2020. The patients were randomly divided into either a control group (50 cases) to receive classic IBS diet guidance and routine care, or a study group to receive the holistic nursing model based on low FODMAP diet combined with moxibustion. Main symptom scores, IBS severity scale (IBS-SSS) scores, IBS-related quality of life scale (IBS-QOL) scores, Bristol stool trait scale scores, serum Brain-gut peptide levels [vasoactive intestinal peptide (VIP), 5-hydroxytryptamine (5-HT), and substance P (SP)], and changes in main intestinal flora species were compared between the two groups.

RESULTS
The main symptom scores, IBS-SSS scores, and Bristol stool trait scale scores of the study group after intervention were lower than those of the control group, and the BS-QOL scores were higher than those of the control group ($P < 0.05$). Serum levels of VIP, 5-HT, and SP in the study group after intervention were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$). The numbers of bifidobacteria, lactobacilli, and *E. coli* in the study group after intervention were comparable to those of the control group ($P > 0.05$).

CONCLUSION
The holistic nursing model based on low FODMAP diet combined with moxibustion is feasible in the care of IBS patients, and it can reduce clinical symptoms, improve quality of life, and regulate serum brain-gut peptide levels, with no significant impact on main intestinal flora species.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Irritable bowel syndrome; FODMAP diet; Moxibustion; Holistic nursing

Citation: Liu SJ, Xu WF, Li QS, Zhou JY. Application of low FODMAP diet-based holistic nursing model combined with moxibustion in patients with irritable bowel syndrome. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(16): 945-951
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/945.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.945

摘要
背景
由于肠易激综合征腹泻型(irritable bowel syndrome diarrhea type, IBS-D)严重影响患者生活质量, 常规饮食指导及常规护理效果不佳, 因此寻找一种安全有效的护理模式对于缓解病情, 提升患者生活质量具有重要意义.

目的
分析基于低可发酵低聚糖, 二糖, 单糖, 多元醇(fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, polyols, FODMAP)饮食联合灸法的整体护理模式在IBS-D患者护理中的应用效果.

方法
选择2018-09/2020-06我院住院部收治的100例IBS-D患者, 按随机数表法分组, 对照组(50例)接受经典肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)饮食指导与常规护理, 研究组实施基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式. 观察两组干预前后主要症状评分、IBS病情严重程度量表(IBS-SSS)评分、IBS相关生活质量量表(IBS-QOL)评分、Bristol粪便性状量表评分、血清脑肠肽水平[血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine , 5-HT)、P物质(substance P, SP)]、肠道主要菌群变化.

结果
研究组干预后主要症状评分、IBS-SSS评分、Bristol粪便性状量表评分比对照组低, BS-QOL评分比对照组高($P<0.05$); 研究组干预后血清VIP、5-HT、SP水平比对照组低($P<0.05$); 研究组干预后双歧杆菌、乳酸杆菌、大肠杆菌数量相比对照组, 差异无统计学意义. 研究组饮食总依从率(96.00%)比对照组(82.00%)高($P<0.05$).

结论
基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式在IBS-D患者护理中具有一定可行性, 可减轻临床症状, 提升饮食依从性, 改善生活质量, 调节血清脑肠肽水平, 且对肠道主要菌群无明显影响.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 肠易激综合征; FODMAP饮食; 灸法; 整体护理

核心提要: 本研究发现基于低聚糖, 二糖, 单糖, 多元醇(fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, polyols, FODMAP)饮食联合灸法的整体护理模式, 可有效改善肠易激综合征腹泻型(irritable bowel syndrome diarrhea type, IBS-D)患者临床症状, 提升生活质量, 具有临床推广意义.

文献来源: 刘水姣, 徐卫芳, 李青松, 周剑宇. 基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式在肠易激综合征患者护理中的应用研究. 世界华人消化杂志 2021; 29(16): 945-951
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/945.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.945

0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹胀、腹痛、大便性状及排便习惯改变为主要临床症状的胃肠道功能紊乱性疾病, 症状持续存在或间歇发作, 尤其是肠易激综合征腹泻型(irritable bowel syndrome diarrhea type, IBS-D), 大便次数增加、腹泻频繁, 对患者日常生活及工作均产生严重影响[1,2]. 以往临床针对IBS-D常实施处方药物(解痉药、抗抑郁药、5-HT3受体拮抗剂、促分泌等药物)、非处方药物(益生菌、止泻剂、薄荷油等)治疗, 前者存在不良反应, 后者疗效不明显, 故积极探讨一种高效安全的整体性对策尤为重要[3,4]. 近年来, 饮食干预、社会心理学治疗、生活方式改变等非药物治疗已逐渐被临床医师作为一种治疗方式[5]. 研究发现, 良好的肠内营养有利于保持肠道微生态平衡, 改善机体营养状况及免疫功能, 维持肠黏膜的免疫屏障功能及生物功能[6]. 低聚糖, 二糖, 单糖, 多元醇(fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, polyols, FODMAP)是指易发酵的短链碳水化合物, 而限制FODMAP饮食可有效缓解病情, 但目前关于低FODMAP饮食疗法的长期疗效、具体作用机制及潜在风险尚存在争议[7]. 本研究就基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式在IBS-D患者护理中的应用效果进行如下分析.

1 材料和方法

1.1 材料 选择2018-09/2020-06我院住院部收治的100例IBS患者, 按随机数表法分组.对照组50例, 男28例, 女22例; 年龄25-59岁, 平均(37.12±4.39)岁; 病程6 mo-3年, 平均病程(1.39±0.42)年.研究组50例, 男27例, 女23例; 年龄22-56岁, 平均(36.13±3.75)岁; 病程7 mo-3年, 平均病程(1.42±0.51)年. 两组一般资料差异无统计学意义, 可对比.

入选标准: (1)纳入标准: 符合《2020年中国肠易激综合征专家共识意见》[8]中诊断标准, 且为腹泻型; 症状≥6 mo; 自愿签署知情同意书; (2)排除标准: 长期使用调节肠功能或促胃肠动力药物治疗; 疑似为痢疾、肿瘤或慢性非特异性溃疡性结肠炎; 合并心脑血管系统、消化系统或呼吸系统等严重原发性疾病; 既往有肛门直肠手术或腹部手术史; 伴有甲状腺功能亢进、糖尿病等影响消化道功能的全身性疾病; 妊娠期或哺乳期; 过敏体质; 乳糖等食物不耐受; 素食主义; 严重偏食.

1.2 方法

1.2.1 分组方法: 按照随机数表法将两组进行分组, 具体步骤: 首先将调查总体单位进行统一编号并充分混合, 再按规定抽样的起点和规定的抽样顺序依次从随机号码表上抽取样本单位号码进行录取.

1.2.2 干预方法: 对照组: 对照组接受经典IBS饮食指导与常规护理: (1)经典IBS饮食指导. 基于目前IBS指南拟定, 提供饮食指导手册1本, 详细介绍疾病和饮食的相关性, 养成健康的饮食习惯, 避免茶、咖啡、酒精及饮料、豆浆、牛奶、口香糖, 少吃辛辣、油腻食物, 不要过饱或过饥, 不要暴饮暴食, 一日三餐定时定量. 对于腹泻型为主的IBS患者, 减少煎炸食物摄入, 避免过量食用甜牛奶、海鲜等易导致腹泻的食物, 同时应限制可引发肠胀气的食物. 对于便秘型IBS患者, 指导患者多食用粗粮等高纤维素食物, 并嘱托其养成定期排便的习惯; (2)常规护理. 密切观察病情, 包括腹泻次数、时间、性质等, 指导患者改变以往错误的排便习惯, 并养成良好的作息时间, 进行适当的体育锻炼; 引导患者改变排便习惯, 防止恶性循环, 以利于病情的缓解; 针对出院患者进行饮食、用药等相关健康指导.

研究组: 研究组实施基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式: (1)低FODMAP饮食. 在专业医生指导下实施低FODMAP饮食, 建议患者使用一种低FODMAP食物替代高FODMAP食物, 如橙子替代苹果、燕麦面包替代蛋糕、豆浆替代牛奶等. 为患者发放一份常见低FODMAP、高FODMAP食物的表格(表1), 以指导患者合理饮食; (2)艾灸. 取中脘、天枢(双)、气海、神阙穴4个穴位, 采用温和灸, 将华佗牌清艾条点燃后进行艾灸, 使穴位体表温度控制在46 ℃左右, 1次/d, 每次每个穴位艾灸30 min, 6次/wk, 共治疗4 wk; (3)艾灸时护理配合. 取舒适的体位, 距穴位表面2-3 cm处进行艾灸, 避免因距离太近而烧伤皮肤; 若艾灸后患者皮肤处出现小疱, 可使用消毒针头将其穿破, 液体放出后使用水溶性颠覆进行消毒, 并用消毒纱布固定; 注意防止艾炷滚翻、艾火脱落, 以免引起烧伤; (4)心理干预. 受社会、疾病困扰、家庭等因素影响, 大部分IBS患者会出现不同程度的负性情绪, 故护理人员需结合患者实际病情、家庭情况、生活经历及文化程度等制定人性化心理护理方案, 鼓励患者多与家人、朋友交流, 释放压力; 鼓励其适当阅读书籍、观看欣赏放松的影视节目或播放舒缓的音乐放松身心; (5)认知干预. 鼓励患者通过阅读书籍、播放音乐、欣赏电影等形式, 放松身心; 为患者讲解IBS发病机制、因素、治疗方案、预后、不良反应等相关知识, 纠正患者及家属以往错误认知, 帮助患者建立正确的疾病认知; (5)生活指导. 鼓励患者适当参加体育锻炼, 增加膈肌、腹肌运动, 以提升免疫力、加快胃肠蠕动; 忌熬夜、吸烟、喝酒等, 保证睡眠质量; 教导患者注意个人如厕环境改善, 由于长期便秘患者如厕时间较正常人群有所不同, 选择适合患者适应的厕位, 蹲厕或坐厕均可, 只要患者适应即可, 这样可以提高

表 1 低FODMAP饮食推荐表

种类	低FODMAP(可食用)	高FODMAP(禁止或限制食用)
蔬菜	豆芽、胡萝卜、绿豆、芹菜、竹笋、橄榄、姜、白菜、茄子、红辣椒、甘薯、菠菜、南瓜、土豆、莴苣、海带、芋头、生菜	卷心菜、西兰花、青葱、秋葵、茴香、甜菜根、韭菜、菜花、大蒜、豇豆、蘑菇、扁豆、菜豆、蚕豆
水果	橙子、杨桃、香蕉、火龙果、柑橘、蓝莓、哈密瓜、葡萄、柠檬、榴莲、木瓜、百香果、菠萝、甜瓜、猕猴桃、蔓越莓、桑葚、草莓	西瓜、芒果、枸杞、柿子、梨、苹果、水果罐头、石榴、桃子、荔枝、番茄汁、樱桃、龙眼、李子、油桃、牛油果
肉类	未深加工肉类, 如羊肉、鱼、鸡肉、牛肉	香肠等高FODMAP食物添加的肉类
谷物	高粱、小米、燕麦、杏仁、藜麦、大米糕、小米糕、玉米、土豆粉、榛子仁、燕麦面包等无麸质面点	面条、包子、馒头、煎饼、披萨、蛋糕、大麦及其制品、黑麦及其制品、腰果、开心果
蛋奶制品	鸡蛋、无乳糖酸奶、无乳糖牛奶、豆浆、米浆、燕麦奶	绵羊或山羊奶、干酪、奶酪、酸奶、冰淇淋、牛奶
其他	酱油、芥末酱、醋、蜂蜜替代品	木糖醇、山梨糖醇、沙拉酱、麦芽糖醇、甘露醇、低聚果糖、酸辣酱、菊粉

FODMAP: 聚糖, 二糖, 单糖, 多元醇.

患者如厕的舒适度, 有利于培养良好的排便习惯; (6)出院指导. 组建QQ群、微信群或建立公众号, 定期推送相关信息, 对患者的饮食、运动、生活等方面进行指导. 两组出院后4 wk回院复诊, 对各项观察指标进行评估.

1.3 观察指标 (1)主要症状评分. 参考《中药新药临床研究指导原则》[9]中对干预前、干预后(出院后4 wk)主要症状进行评估, 大便次数: 大便正常为0分, 大便次数3-4次/d为2分, 大便次数5-6次/d为4分, 大便次数＞6次/d为6分. 腹胀: 无肠胀气为0分, 轻度肠胀气为2分, 中度肠胀气为4分, 重度肠胀气为6分. 腹痛及腹部不适: 无腹胀或腹部不适为0分, 轻度腹胀或腹部不适为2分, 中度腹胀或腹部不适为4分, 重度腹胀或腹部不适为6分. 排便紧迫感: 无紧迫感为0分, 轻度紧迫感为2分, 中度紧迫感为4分, 重度紧迫感为6分. 黏液: 无为0分, 有为1分; (2)IBS-SSS量表包括腹痛频率、腹痛程度、排便满意度、腹胀程度、对生活的影响5个部分, 每部分满分100分, 总分500分, 分值低症状轻. IBS-QOL量表包括身体形象、健康担心、干扰活动、烦躁不安、食品避免、社会反应、人际关系等8个变量34个项目, 每项目1-5分, 总分170分, 分值高生活质量高.Bristol粪便性状量表评分, 大便正常为0分, 大便有水样、分散团块状为1分, 大便无固体成分、糊状便为2分, 水样便为3分. 3个量表评估时间为干预前、干预后(出院后4 wk); (3)血清脑肠肽水平. 采集干预前、干预后(出院后4 wk)患者3 mL空腹静脉血, 离心取上清液, 通过酶联免疫吸附法测定血清血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、P物质(substance P, SP)水平; (4)肠道菌群. 采集干预前、干预后(出院后4 wk)患者2-5 g粪便标本, 低温冷藏待测, 使用绝对定量法测定粪便中双歧杆菌、乳酸杆菌、大肠杆菌活菌数量; (5)饮食依从性. 采用本院自拟调查问卷对患者出院后4 wk的饮食依从性进行评估, 按时按量进餐, 遵医嘱严格控制饮食为完全依从; 营养均衡, 饮食控制合理为基本依从; 并未遵医嘱合理控制饮食为不依从. 完全依从+基本依从 = 总依从.

统计学处理 采用SPSS 24.0统计分析软件, 以mean±SD来表示计量资料, 组间、组内比较分别采用独立样本t、配对样本t检验; 计数资料用率来表示, 并用χ^2检验, a = 0.05, 当P<0.05时, 差异具有统计学意义.

2 结果

2.1 主要症状评分 研究组干预后大便次数、腹痛或腹部不适、排便紧迫感、腹胀及黏液症状评分比对照组低(P＜0.05), 表2.

2.2 IBS-SSS、IBS-QOL、Bristol粪便性状量表评分 研究组干预后IBS-SSS、IBristol粪便性状量表评分比对照组低, BS-QOL评分比对照组高(P＜0.05), 表3.

2.3 血清脑肠肽水平 研究组干预后血清VIP、5-HT、SP水平比对照组低(P＜0.05), 表4.

2.4 肠道主要菌群 研究组干预后双歧杆菌、乳酸杆菌、大肠杆菌数量相比对照组, 差异无统计学意义, 表5.

2.5 饮食依从性 研究组饮食总依从率(96.00%)比对照组(82.00%)高(P＜0.05), 表6.

3 讨论

IBS-D的具体作用机制尚未阐明, 多认为与内脏高敏感性、肠道动力异常、肠道感染、肠道菌群失调、脑-肠轴功能失调等诸多因素相关, 其中饮食习惯及饮食因素在IBS-D发病中发挥关键作用[10,11]. 但由于我国饮食习惯多样、饮食结构相对复杂, 且饮食因素不易控制, 故国

表 2　两组主要症状评分对比(n = 50, mean ± SD, 分)

分组	大便次数		腹痛或腹部不适		排便紧迫感		腹胀		黏液	
	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
对照组	4.52 ± 1.02	2.15 ± 0.86	4.43 ± 0.98	2.03 ± 0.75	4.19 ± 0.97	2.75 ± 0.74	4.18 ± 1.27	2.54 ± 0.87	0.86 ± 0.13	0.41 ± 0.09
研究组	4.39 ± 1.13	1.16 ± 0.97	4.38 ± 0.87	0.86 ± 0.24	4.13 ± 0.99	1.13 ± 0.46	4.22 ± 1.24	1.08 ± 0.55	0.85 ± 0.16	0.23 ± 0.07
t值	0.604	5.400	0.270	10.506	0.306	9.268	0.159	10.236	0.343	11.163
P值	0.547	0.000	0.788	0.000	0.760	0.000	0.874	0.000	0.732	0.000

表 3　两组IBS-SSS、IBS-QOL、Bristol粪便性状量表评分对比(n = 50, mean ± SD, 分)

分组	IBS-SSS		IBS-QOL		Bristol粪便性状量表评分	
	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
对照组	331.32 ± 28.86	216.74 ± 21.16	68.16 ± 7.26	74.43 ± 8.25	2.53 ± 0.43	1.65 ± 0.44
研究组	332.75 ± 27.74	152.76 ± 18.56	67.76 ± 8.02	82.34 ± 9.13	2.61 ± 0.37	0.97 ± 0.32
t值	0.253	16.073	0.262	4.545	0.997	8.838
P值	0.801	0.000	0.794	0.000	0.321	0.000

IBS-SSS: IBS病情严重程度量表; IBS-QOL: IBS相关生活质量量表; Bristol:粪便性状量表.

表 4　两组血清脑肠肽水平对比(n = 50, mean ± SD, ng/mL)

分组	VIP		5-HT		SP	
	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
对照组	0.34 ± 0.12	0.24 ± 0.11	96.32 ± 10.02	84.26 ± 8.12	109.53 ± 10.46	96.31 ± 8.85
研究组	0.33 ± 0.14	0.18 ± 0.07	95.57 ± 9.97	51.76 ± 6.37	108.86 ± 11.54	51.46 ± 4.37
t值	0.384	3.254	0.375	22.268	0.304	32.131
P值	0.702	0.002	0.708	0.000	0.762	0.000

5-HT: 5-羟色胺; VIP: 血管活性肠肽; SP: P物质.

表 5　两组肠道主要菌群对比(n = 50, mean ± SD, lg cfu/g)

分组	双歧杆菌		乳酸杆菌		大肠杆菌	
	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
对照组	8.59 ± 1.13	8.43 ± 1.08	6.32 ± 0.98	6.21 ± 0.76	8.66 ± 1.17	8.43 ± 1.03
研究组	8.42 ± 1.29	8.21 ± 1.27	6.29 ± 0.97	6.19 ± 0.85	8.62 ± 1.22	8.13 ± 0.97
t值	0.701	0.933	0.154	0.124	0.167	1.499
P值	0.485	0.353	0.878	0.902	0.868	0.137

内关于基于饮食疗法的整体性对策在IBS-D中应用效果的报道较少.

本研究结果发现, 相比对照组, 研究组干预后主要症状评分、IBS-SSS评分、Bristol粪便性状量表评分较低, IBS-QOL评分及饮食依从性较高, 表明基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式可有效促使IBS患者临床症状缓解, 改善生活质量, 提高饮食依从性. 分析原因与低FODMAP饮食、灸法的以下几点作用机制相关: (1)低FODMAP饮食可改善肠道屏障功能. FODMAP饮食可改变肠道微生物群落, 下调肠道炎症痛阈, 而低FODMAP可调控黏膜屏障、促炎因子水平及天然免疫功能, 促进消化道症状减轻或消失[12]; (2)低FODMAP饮食可调节激素分泌. 脑肠肽是脑-肠轴双向调控的介质, 可调节内脏感觉及胃肠动力, 且具有胃肠

表 6　两组饮食依从性对比[n = 50, 例(%)]

分组	完全依从	基本依从	不依从	总依从
对照组	14(28.00)	27(54.00)	1(2.33)	41(82.00)
研究组	20(40.00)	28(56.00)	2(4.00)	48(96.00)
χ^2值				5.005
P值				0.025

功能信息与中枢情感双向传递作用. SP可增加胃肠动力, 促进腺体分泌, 提升血管渗透性; VIP可舒张肠道平滑肌, 二者均可刺激结肠及小肠分泌电解质、水; 5-HT与其受体相结合可增高内脏敏感性、提升肠道运动功能. 本研究中, 研究组干预后血清VIP、5-HT、SP水平比对照组低, 可见低FODMAP饮食可通过调节脑肠肽激素分泌而减轻患者肠外或肠内表现; (3)低FODMAP饮食可影响小肠液体分泌. FODMAP饮食具有难吸收、难消化的特点, 在小肠内可产生渗透性负荷, 促进肠道动力, 增多肠腔内液体, 而低FODMAP饮食可降低肠腔内液体分泌, 进而预防渗透性腹泻发生[13,14]; (4)低FODMAP饮食可减少结肠产气. FODMAP达到近端结肠及远端小肠后会被细菌发酵, 产生二氧化碳、氢气等气体对内脏敏感性及肠道动力发挥作用, 诱发小肠动力或回盲部动力异常. 而低FODMAP饮食可减少肠腔内容物, 预防结肠发酵产气, 降低结直肠传入神经的兴奋性, 缓解IBS-D症状; (5)艾灸通过燃烧产生热量, 使局部皮肤温度上升, 加快局部血液流动, 扩张血管, 降低炎症水肿程度, 进而达到纠正机体代谢紊乱、提升免疫功能、改善血液循环及脏腑功能的目的. 中脘穴为任脉之奇穴, 《针灸集成·痢疾》曰: "水痢不止: 中脘针, 神效." 指此穴是营卫气血之源, 对人体上部运行的气血有汇集和指挥下行的作用[15]. 动物试验研究发现, 艾灸该穴位可增加表皮生长因子含量, 降低血浆及组织中胃泌素含量及胃蛋白酶活性, 抑制胃酸分泌, 进而保护胃黏膜[16]. 天枢穴为足阳明胃经穴位, 《针灸大全》中记载, 天枢可治疗"泄泻不止, 里急后重"、"脐腹胀满, 气不消化"、"赤白痢疾, 腹中冷痛"等. 杨玲等[17]在一项动物研究中发现, 艾灸预处理天枢穴可降低大鼠结肠黏膜结构损伤程度, 提升小肠吸收功能及肠道局部免疫功能, 其机制可能与下调TLR4/TRIF信号通路相关分子的蛋白表达有关. 气海穴具有固本止泻、补气培元、调经固精功效. 神阙穴与诸经百脉相通, 具有调运肠胃气机、疏通经络功效, 艾灸神阙穴可改善神经功能, 抑制小肠内容物的推进速度进而发挥止泻作用[18].

FODMAP是细菌发酵的底物, 在维持结肠上皮细胞的形态功能及大肠的正常功能中具有重要作用. Staudacher[19]等研究发现, 低FODMAP饮食对IBS-D患者肠道菌群总数无明显影响, 但易降低双歧杆菌比例及浓度. Halmos等[20]研究发现, 相比高FODMAP饮食, 低FODMAP饮食易降低产气荚膜杆菌数量.本研究发现, 研究组干预后双歧杆菌、乳酸杆菌、大肠杆菌数量相比对照组未见明显差异, 表明基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式对IBS患者的肠道菌群无明显影响, 与上述研究结论不一致, 其原因可能与艾灸调节肠道益生菌、调控胶质细胞源性神经营养因子/磷脂酰基醇3-激酶/蛋白激酶B信号转导通路、激活补体的C-3旁路途径参与协同抗菌等相关.

4 结论

综上所述, 基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式在IBS-D患者护理中具有一定可行性, 可减轻临床症状, 改善生活质量, 调节血清脑肠肽水平, 且对肠道主要菌群无明显影响.

文章亮点

实验背景

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床比较常见的一种胃肠道功能紊乱性疾病, 严重影响患者生活质量. 目前, 临床常采用处方药物及非处方药物治疗, 但整体疗效不佳. 因此, 如何有效治疗及干预IBS是临床工作中的重点.

实验动机

寻找一种IBS高效安全的整体性护理对策, 有利于缓解临床症状, 提升患者生活质量.

实验目标

通过观察基于低聚糖, 二糖, 单糖, 多元醇(fermentable oligosaccharides, disaccharides, monosaccharides, polyols, FODMAP)饮食联合灸法的整体护理模式在肠易激综合征腹泻型(irritable bowel syndrome diarrhea type, IBS-D)患者护理中的应用效果, 为临床有效护理IBS-D患者提供参考.

实验方法

将100例IBS患者, 按随机数表法分为两组, 各50例. 分别给予常规护理及基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式. 比较两组主要症状评分、病情严重程度、生活质量评分、血清脑肠肽水平及肠道主要菌群变化等.

实验结果

研究组干预后主要症状评分、IBS-SSS评分、Bristol粪便性状量表评分、血清VIP、5-HT、SP水平比对照组低, BS-QOL评分比对照组高($P<0.05$); 研究组饮食总依从率比对照组高($P<0.05$).

实验结论

基于低FODMAP饮食联合灸法的整体护理模式可有效减轻IBS患者临床症状, 提升饮食依从性, 改善生活质量, 调节血清脑肠肽水平.

展望前景

IBS严重影响患者生活质量, 特别是IBS-D, 本研究对如何有效护理该类患者提供了一个选择.

5 参考文献

1 庞苏滨, 叶杰阳, 郑芳秀. 积极心理学护理模式联合膳食调节在治疗便秘型肠易激综合征患者中的应用. 中国实用护理杂志 2019; 35: 2412-2417 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1672-7088.2019.31.003]

2 朱虹, 郭婷, 吴莹. 体质辨识干预在腹泻型肠易激综合征患者延续性护理中的应用. 中国医刊 2018; 53: 108-110 [DOI:10.3969/j.issn.1008-1070.2018.09.028]

3 Liu J, Chey WD, Haller E, Eswaran S. Low-FODMAP Diet for Irritable Bowel Syndrome: What We Know and What We Have Yet to Learn. *Annu Rev Med* 2020; 71: 303-314 [PMID: 31986083 DOI: 10.1146/annurev-med-050218-013625]

4 赵艳, 王英娟, 刘静. 积极心理学干预结合膳食调节对便秘型肠易激综合征患者的影响. 现代医学 2019; 47: 133-138

5 Cox SR, Lindsay JO, Fromentin S, Stagg AJ, McCarthy NE, Galleron N, Ibraim SB, Roume H, Levenez F, Pons N, Maziers N, Lomer MC, Ehrlich SD, Irving PM, Whelan K. Effects of Low FODMAP Diet on Symptoms, Fecal Microbiome, and Markers of Inflammation in Patients With Quiescent Inflammatory Bowel Disease in a Randomized Trial. *Gastroenterology* 2020; 158: 176-188.e7 [PMID: 31586453 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.09.024]

6 周锋, 郑培奋, 斯彩娟, 束龙, 何巧娜. 谷氨酰胺强化的低FODMAP饮食在老年腹泻型肠易激综合征治疗中的应用. 中国慢性病预防与控制 2018; 26: 850-853 [DOI: 10.16386/j.cjpccd.issn.1004-6194.2018.11.013]

7 Patcharatrakul T, Juntrapirat A, Lakananurak N, Gonlachanvit S. Effect of Structural Individual Low-FODMAP Dietary Advice vs. Brief Advice on a Commonly Recommended Diet on IBS Symptoms and Intestinal Gas Production. *Nutrients* 2019; 11: 2856 [PMID: 31766497 DOI: 10.3390/nu11122856]

8 中华医学会消化病学分会胃肠功能性疾病协作组, 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 2020年中国肠易激综合征专家共识意见. 中华消化杂志 2020; 40: 803-818 [DOI: 10.3760/cma.j.cn311367-20201116-00660]

9 国家中医药管理局.中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社 2002; 139-143

10 Paduano D, Cingolani A, Tanda E, Usai P. Effect of Three Diets (Low-FODMAP, Gluten-free and Balanced) on Irritable Bowel Syndrome Symptoms and Health-Related Quality of Life. *Nutrients* 2019; 11 [PMID: 31336747 DOI: 10.3390/nu11071566]

11 唐雯, 秦谦, 陈东风, 蒋宝泉. 重庆地区消化内科医师对IBS新诊断标准及FODMAP饮食知晓情况调查. 胃肠病学和肝病学杂志 2018; 27: 70-74 [DOI:10.3969/j.issn.1006-5709.2018.01.016]

12 郑沁薇, 郝微微, 邵兰君, 史佳宁, 张阳阳. 低FODMAPs饮食对IBD患者胃肠功能紊乱影响的研究进展. 胃肠病学 2017; 3: 61-63

13 Whelan K, Martin LD, Staudacher HM, Lomer MCE. The low FODMAP diet in the management of irritable bowel syndrome: an evidence-based review of FODMAP restriction, reintroduction and personalisation in clinical practice. *J Hum Nutr Diet* 2018; 31: 239-255 [PMID: 29336079 DOI: 10.1111/jhn.12530]

14 张灵, 丁雨, 林琳. 低FODMAP饮食在炎症性肠病患者中的应用-益处和风险.胃肠病学 2019; 24: 43-46

15 苏冬梅, 李树斌, 白桦.神阙穴隔姜隔药灸治疗腹泻型肠易激综合征30例临床观察. 世界中医药 2017; 12: 1141-1143 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7202.2017.05.046]

16 毛文姣. 针刺治疗腹泻型肠易激综合征40例临床研究. 江苏中医药 2019; 51: 63-65

17 杨玲, 黄艳, 黄任佳, 马晓芃, 马喆, 刘雅楠, 郑寒丹, 朱毅, 刘慧荣, 王照钦.艾灸预处理天枢穴对溃疡性结肠炎大鼠结肠TLR4/TRIF信号通路调节作用的研究. 上海针灸杂志 2019; 38: 5-12 [DOI: 10.13460/j.issn.1005-0957.2019.08.0819]

18 王茜, 陈侃俊, 余安胜. 针灸治疗肝郁脾虚型肠易激综合征疗效及机制探讨.中国中西医结合消化杂志 2019; 27: 520-524

19 Staudacher HM, Lomer MC, Anderson JL, Barrett JS, Muir JG, Irving PM, Whelan K. Fermentable carbohydrate restriction reduces luminal bifidobacteria and gastrointestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *J Nutr* 2012; 142: 1510-1518 [PMID: 22739368 DOI: 10.3945/jn.112.159285]

20 Halmos EP, Christophersen CT, Bird AR, Shepherd SJ, Gibson PR, Muir JG. Diets that differ in their FODMAP content alter the colonic luminal microenvironment. *Gut* 2015; 64: 93-100 [PMID: 25016597 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-307264]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): 952-959

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i16.952

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

临床研究 CLINICAL RESEARCH

幽门螺旋杆菌感染与结直肠腺瘤复发的相关性分析

任建峰, 冯 平, 张其胜, 靖大道

任建峰, 冯平, 张其胜, 同济大学附属上海第四人民医院消化科 上海市 200434

靖大道, 上海交通大学附属第一人民医院消化科 上海市 200080

任建峰, 主治医师, 研究方向为胃肠道肿瘤.

作者贡献分布: 此课题由任建峰、张其胜及靖大道设计; 研究过程由任建峰、冯平、张其胜及靖大道操作完成; 数据由任建峰及冯平收集; 数据分析由任建峰、冯平、张其胜及靖大道完成; 本论文写作由任建峰及靖大道完成.

通讯作者: 靖大道, 主任医师, 200080, 上海市虹口区武进路85号, 上海交通大学附属第一人民医院消化科. dadaojing@126.com

收稿日期: 2021-04-30
修回日期: 2021-05-18
接受日期: 2021-06-28
在线出版日期: 2021-08-28

Correlation between *Helicobacter pylori* infection and recurrence of colorectal adenoma

Jian-Feng Ren, Ping Feng, Qi-Sheng Zhang, Da-Dao Jing

Jian-Feng Ren, Ping Feng, Qi-Sheng Zhang, Department of Gastroenterology, Shanghai Fourth People's Hospital, School of Medicine, Tongji University, Shanghai 200434, China

Da-Dao Jing, Department of Gastroenterology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

Corresponding author: Da-Dao Jing, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, No. 85 Wujin Road, Hongkou District, Shanghai 200080, China. dadaojing@126.com

Received: 2021-04-30
Revised: 2021-05-18
Accepted: 2021-06-28
Published online: 2021-08-28

Abstract

BACKGROUND

Colorectal adenoma (CRA) is a precancerous lesion of colorectal cancer. Early resection and prevention of its recurrence are effective measures to prevent the development of colorectal cancer. However, CRA is prone to relapse after removal. Some studies have shown that *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection is one of the causes of CRA. This study aimed to analyze the influence of *H. pylori* infection and *H. pylori* eradication on CRA recurrence.

AIM

To investigate the risk factors for recurrence of CRA after surgery, especially the effect of *H. pylori* infection on the recurrence of CRA.

METHODS

Both outpatients and inpatients with CRA confirmed by colonoscopy and pathology were collected at our hospital, and they were divided into either group A (*H. pylori* negative group) or B (*H. pylori* positive group) according to the results of ^{13}C-urea breath test (^{13}C-UBT). The patients in group B were then randomly divided into two groups: C (*H. pylori* eradicated) and D (*H. pylori* non-eradicated). One year after polypectomy, the patients were reexamined by colonoscopy and ^{13}C-urea breath test. According to the results of follow-up colonoscopy, the general data of patients with and without recurrence were compared, and the risk factors for CRA recurrence were analyzed by Logistic regression.

RESULTS

A total of 733 patients with colonic adenomatous polyps were enrolled in this study. There were no significant differences in patients' general information, preoperative polyp size, polyp number, pathological type, or surgical method among the groups ($P > 0.05$). One year after

polypectomy, the recurrence rate of polyps in group B was significantly higher than that in group A (23.02% *vs* 15.79%, $P < 0.05$), and the recurrence rate of polyps in group C was significantly lower than that in group D (17.37% *vs* 28.36%, $P < 0.05$). Male gender, body mass index ≥ 25 kg/m^2, the number of colonic polyps ≥ 3, the size of colonic polyp ≥ 20 mm, and *H. pylori* infection were identified to be risk factors for recurrent colonic polyps ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that *H. pylori* infection was an independent risk factor for recurrent colonic polyps (odds ratio [OR] = 1.556, $P < 0.05$), while *H. pylori* eradication was negatively correlated with the recurrence of colonic polyps (OR = 0.509, $P < 0.05$).

CONCLUSION

H. pylori infection may increase the risk of recurrence of adenomatous colonic polyps, and *H. pylori* eradication can reduce their recurrence.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal adenoma; *H. pylori* infection; *H. pylori* eradication; Polypectomy; Polyp recurrence

Citation: Ren JF, Feng P, Zhang QS, Jing DD. Correlation between *Helicobacter pylori* infection and recurrence of colorectal adenoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(16): 952-959
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/952.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.952

摘要

背景

结直肠腺瘤(colorectal adenoma, CRA)是结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的癌前病变, 早期切除及预防其复发是预防结肠癌的有效措施. 但腺瘤切除后容易复发, 有研究显示幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)感染是CRA发生原因之一, 本研究拟分析*H. pylori*感染及根除*H. pylori*对CRA复发的影响.

目的

探讨CRA术后复发的危险因素, 尤其是*H. pylori*感染对CRA复发的影响.

方法

收集本院门诊及病房行肠镜检查并病理证实为CRA的病例, 根据^{13}C呼气试验结果, 将其分为A组(*H. pylori*阴性组)和B组(*H. pylori*阳性组); B组病例再随机分成两组: C组根除*H. pylori*, D组未根除*H. pylori*. 1年后复查肠镜及呼气试验, 根据随访肠镜的结果, 比较息肉复发病例和未复发病例的一般资料, 并对CRA复发的危险因素进行Logistic回归分析.

结果

共有733例CRA患者纳入本研究, 各组中患者的一般资料以及术前息肉的大小、数目、病理类型及手术方式等均无显著差异(P>0.05). 术后1年复查, *H. pylori*感染组(B组)患者息肉复发率显著高于A组(23.02% *vs* 15.79%, P<0.05); 而根除*H. pylori*后的C组息肉复发率则显著低于未根除的D组(17.37% *vs* 28.36%, P<0.05). 在息肉复发的所有危险因素中, 男性患者、BMI≥25 kg/m^2, 息肉个数≥3枚、息肉大小≥20 mm及*H. pylori*感染等因素存在统计学差异(P<0.05); Logistic回归分析显示, *H. pylori*感染是息肉复发的独立危险因素(OR = 1.556, P<0.05), 而根除*H. pylori*与息肉的复发呈负相关性(OR = 0.509, P<0.05).

结论

*H. pylori*感染会增加CRA的复发, 是CRA术后复发的独立危险因素, 根除*H. pylori*后能显著降低CRA的复发.

© **The Author(s) 2021.** Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠腺瘤; 幽门螺旋杆菌感染; 根除幽门螺旋杆菌感染; 息肉切除; 息肉复发

核心提要: 结直肠腺瘤(colorectal adenoma, CRA)是结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的前驱病变, 切除CRA及预防CRA的复发是减少CRC生的关键. 而幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)感染是CRA复发的危险因素, 根除*H. pylori*可以减少CRA的复发, 是所有危险因素中相对可控的一个因素. 从而为临床上提供一种新的预防CRA复发的方法.

文献来源: 任建峰, 冯平, 张其胜, 靖大道. 幽门螺旋杆菌感染与结直肠腺瘤复发的相关性分析. 世界华人消化杂志 2021; 29(16): 952-959
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/952.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.952

0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界范围内女性第二大和男性第三大常见的癌症, 它也是全球第四大致命癌症[1]. 据报道, 2018年共有180万人被诊断为结直肠癌, 其中约88.1万人死亡[2]. 基于结肠息肉-腺瘤-癌序列这一概念, 结直肠腺瘤(colorectal adenoma, CRA)被认为是CRC的前驱病变. 因此, 强烈建议内镜下切除以预防CRC的发生[3]. 一些研究表明肠息肉切除可以降低CRC的发生率, 从而提高患者的生存期[4,5]. 然而, 仍有相当比例的结直肠息肉在切除术后1年左右复发, 是肠息肉患者术后

的主要担忧[6]. 因此, 需要明确与息肉复发相关的危险因素, 以改善肠息肉患者的预后, 降低CRC的发生率.

目前有研究[7,8]显示幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)感染与结肠息肉的发生关系密切, 可能与*H. pylori*增加胃泌素的释放、改变胃肠道微环境等相关. 但关于*H. pylori*感染与结肠息肉的复发以及*H. pylori*根除治疗后与结肠息肉复发的相关性研究相对较少. 本研究通过分析*H. pylori*感染情况对CRA复发的影响, 以期为临床上CRA术后复发的预防、甚至CRC的预防提供实验依据.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2018-01/2020-12至上海市第四人民医院行肠镜检查, 并经病理证实为CRA的患者. 所有入选患者必须同时满足以下3项: (1)年龄在16-75岁, 具有完全民事行为能力者; (2)肠镜及病理组织学检查确诊为CRA, 并同意行肠息肉摘除术及^{13}碳-尿素呼气试验(^{13}C-UBT)检查的患者; (3)同意进行定期肠镜复查及^{13}C-UBT检查, 并签订知情同意书者. 排除标准: (1)心、肺、肝、肾、脑等明显器官功能障碍者; (2)有肠道恶性肿瘤病史者; (3)炎症性肠病患者; (4)有家族遗传性息肉病、P-J综合征及家族遗传性结直肠肿瘤病史者; (5)有严重免疫功能缺陷及出血性疾病者; (6)近期有服用质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)、抗生素、抗凝剂、抗血小板制剂者. 在实施排除标准后, 共有733例患者入选. 所有患者均签署书面知情同意书, 并经院伦理委员会批准同意.

1.2 方法 所有入组的患者均由经验丰富的消化内镜医生行肠镜下结肠息肉摘除术, 并进行^{13}C尿素呼气试验(^{13}C-UBT). 根据^{13}C-UBT结果, 将患者分为*H. pylori*阴性组(A组)和*H. pylori*阳性组(B组). B组患者又随机分成两组: *H. pylori*根除组(C组), 应用经典的四联疗法(PPI+铋剂+2种抗生素)根除*H. pylori*, 疗程2 wk; *H. pylori*未根除组(D组), 未行*H. pylori*治疗或*H. pylori*根除失败者. 在息肉切除术后12 mo, 所有患者进行肠镜复查. 根据肠镜复查结果, 比较肠息肉复发患者和未复发患者的一般情况, 包括年龄、性别、吸烟(每天至少吸烟1支, 连续吸烟1年以上; 长期吸烟者戒烟短于半年者)、饮酒(饮酒折合酒精量: 男性≥140 g/wk; 女性≥70 g/wk)、便秘(每周排便次数少于3次, 伴排便困难、粪便干结或需要通便药协助通便)、糖尿病、高血压、BMI、息肉数量、息肉大小、手术方法[包括高频电切除、内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)、内镜下粘膜剥离术(endoscopic mucosal dissection, ESD)]、组织学类型、*H. pylori*感染等. 并进一步分析在B组患者中, 根除*H. pylori*与息肉复发的关系.

统计学处理 采用SPSS 22.0软件进行统计学分析, 计数资料以例数及率(%)表示, 组间比较采用χ^2检验; 计量数据以mean±SD表示, 比较两组均数差异采用Student's *t*-test检验; 息肉复发危险因素采用Logistic回归分析, 以$P<0.05$为有统计学意义.

2 结果

2.1 CRA患者的一般资料比较 共有733例CRA患者纳入本研究, 其中A组(*H. pylori*阴性组)342例(平均年龄62.57±6.24岁, 男:女 = 1.11:1), B组(*H. pylori*阳性组)391例(平均年龄62.65±6.53岁, 男:女 = 1.31:1). 根据*H. pylori*根除情况, B组中有190例纳入C组(*H. pylori*根除组, 平均年龄63.28±6.41岁, 男:女 = 1.26:1), 201例纳入D组(*H. pylori*未根除组, 平均年龄62.06±6.61岁, 男:女 = 1.36:1). 比较各组患者的年龄、性别、BMI、生活习惯(吸烟、饮酒、便秘)等, 以及息肉的基本情况(息肉大小、数量、手术方法、病理类型)等, 两组患者无统计学差异, P均>0.05(表1).

2.2 *H. pylori*感染对CRA术后复发的影响 CRA术后12 mo复查肠镜, *H. pylori*阴性的A组和*H. pylori*阳性的B组中分别有54例和90例患者腺瘤复发, 其复发率分别为15.79%和23.02%. 统计分析显示A组患者息肉复发率显著低于B组, $P<0.05$, 提示*H. pylori*感染与CRA术后复发有一定关系.

为进一步明确CRA术后复发的相关危险因素, 分别将A组、B组中复发病例和未复发病例的相关资料进行单因素分析, 结果显示患者性别、息肉个数≥3枚、息肉大小≥20 mm、BMI≥25 kg/m^2、*H. pylori*感染存在统计学差异, $P<0.05$. 而在年龄、吸烟、饮酒、便秘、高血压、糖尿病、息肉的病理类型、手术方法等无统计学差异, $P>0.05$(表2). 将在息肉复发的单因素分析中有统计学意义的因素纳入Logistic分析, 结果发现患者的性别、息肉个数、息肉大小、BMI、*H. pylori*感染为息肉复发的独立危险因素, 其中*H. pylori*感染与息肉复发的相关性OR = 1.556, 95%CI为1.055-2.294, $P<0.05$(表3).

2.3 根除*H. pylori*对CRA术后复发的影响 为进一步观察根除*H. pylori*对CRA术后复发的影响, 将*H. pylori*阳性组B组分为*H. pylori*根除的C组和*H. pylori*未根除的D组, 术后1年复查肠镜, C组和D组中分别有33例和57例患者腺瘤复发, 其复发率分别为17.37%和28.36%. 统计分析显示D组患者息肉复发率显著高于C组, $P<0.05$, 而A组与C组比较(15.79% *vs* 17.37%, $P>0.05$), 息肉复发率无明显差异. 进一步证实根除*H. pylori*与CRA术后复发密切关系.

进一步对*H. pylori*阳性患者CRA的相关危险因素进行分析. 发现男性、肠息肉个数≥3枚、肠息肉大小

表 1 各组患者的一般资料比较

	A组(*H. pylori*阴性组)	B组(*H. pylori*阳性组)	
		C组 (*H. pylori*根除组)	D组 (*H. pylori*未根除组)
总病例数	342	190	201
年龄(岁)	62.57 ± 6.24	63.28 ± 6.41	62.06 ± 6.61
性别(男: 女)	1.11:1	1.26:1	1.36:1
BMI≥25 kg/m^2(%)	47(13.74)	28(14.74)	37(18.41)
吸烟(%)	74(21.51)	38(20.00)	43(21.39)
饮酒(%)	77(22.51)	34(17.89)	37(18.41)
便秘(%)	70(20.47)	28(14.74)	38(18.91)
糖尿病(%)	58(16.96)	41(21.58)	35(17.41)
高血压(%)	84(24.56)	48(25.26)	44(21.89)
数量(个)			
1(%)	87(25.44)	39(20.53)	42(20.89)
2(%)	151(44.15)	76(40.00)	92(45.77)
≥3(%)	104(30.41)	75(39.47)	67(33.33)
大小(mm)			
<10(%)	69(20.17)	48(25.26)	36(17.91)
10–20(%)	199(58.19)	91(47.89)	112(55.72)
>20(%)	74(21.64)	51(26.84)	53(26.37)
病理类型			
管状腺瘤(%)	154(45.03)	81(42.63)	87(43.28)
绒毛状腺瘤(%)	148(43.27)	87(47.79)	89(44.29)
锯齿状腺瘤(%)	40(11.70)	22(11.58)	25(12.44)
切除方法			
高频电切除(%)	86(25.15)	46(24.21)	55(27.36)
内镜下黏膜切除术EMR(%)	187(54.68)	112(58.95)	104(51.74)
内镜下粘膜剥离术ESD(%)	69(20.17)	32(16.84)	42(20.89)

H. pylori: 幽门螺旋杆菌; CRA: 结直肠腺瘤; BMI: 体重指数.

≥20 mm、BMI≥25 kg/m^2、*H. pylori*根除存在统计学差异, $P<0.05$. 而其他因素无统计学差异(表4). 将在单因素分析中有统计学意义的因素纳入Logistic分析, 结果发现患者的性别、息肉个数、息肉大小、BMI为息肉复发的独立危险因素, 而根除*H. pylori*与息肉复发呈负相关, OR = 0.509, 95%CI为0.307-0.842, $P<0.05$(表5).

3 讨论

目前世界卫生组织将结肠息肉分为四种类型:腺瘤性、炎性、增生性和错构性息肉[9], 在2016年中国结直肠癌预防共识意见[10]中指出: 结直肠癌的主要癌前疾病为结直肠腺瘤, 占全部结直肠癌癌前疾病的85%-90%(甚至更高), 内镜下摘除腺瘤可预防75%的结直肠癌, 但结直肠息肉摘除术后的再复发率高, 是预防结直肠癌的关键问题. 在结肠息肉的发生上, 有许多研究[11,12]认为与年龄、性别、吸烟、饮酒、便秘、高血压、糖尿病、肥胖以及一些不良等生活饮食习惯等相关. 但在息肉的复发上, 目前研究[13,14]主要认为与肥胖、高脂血症、性别、年龄、息肉大小、数量、病理类型等相关, 而与吸烟、饮酒、高血压、糖尿病等因素相关性较小. 一项Meta分析[15]表明, BMI每增长5 kg/m^{2}可使结直肠腺瘤风险提高约20%, 且结果与研究纳入的受试者种族差异、地域分布、研究设计、性别等均无明确的相关性. Sonnenberg等[16]分析了156000名患者*H. pylori*感染与结肠肿瘤之间的关系, 这是目前最大的病例对照研究, 患者在同一天接受胃肠镜检查及病理检查, 结果显示*H. pylori*感染的患者结肠腺瘤发生率更高, 且这种风险与腺瘤大小、数量等相关. *H. pylori*感染与腺瘤性肠息肉的发生关系密切, 但关于*H. pylori*感染及根除*H. pylori*与肠息肉复发的关系研究相对较少. 本研究结果显示*H. pylori*阳性组结直肠腺瘤术后1年的复发率(23.02%)显著高于*H. pylori*阴性组(15.79%). 而且*H. pylori*阳性患者在根除*H. pylori*后, 其腺瘤的术后1年复发率也显著降低, 接近于初始的*H. pylori*阴性组(17.37% *vs* 15.79%). 对各组复发病例的多因素及二元回归分析也显示*H. pylori*感染是息肉复发的独立危险因素. 这进一步表明*H. pylori*感染可增加结直肠

表 2　CRA复发相关危险因素单因素分析

	复发	未复发	χ^2	*P*
总病例数	144	589		
年龄(岁)	62.68±6.43	62.60±6.39		0.889
性别(男:女)	1.94:1	1.09:1	8.962	0.003
BMI≥25 kg/m^2(%)	36(25.00)	76(13.90)	13.080	0.000
吸烟(%)	33(30.55)	122(18.84)	0.337	0.562
饮酒(%)	28(19.44)	120(20.37)	0.062	0.803
便秘(%)	31(21.53)	105(17.83)	1.049	0.306
糖尿病(%)	21(52.08)	113(19.16)	1.640	0.200
高血压(%)	40(27.78)	136(23.09)	1.394	0.238
数量(个)			21.722	0.000
1(%)	25(17.36)	143(24.28)	3.134	0.077
2(%)	47(35.64)	272(46.18)	8.632	0.003
≥3(%)	72(20.00)	174(29.54)	21.720	0.000
大小(mm)			9.335	0.009
<10(%)	25(17.36)	128(21.73)	1.338	0.247
10–20(%)	70(48.61)	332(56.37)	2.810	0.094
>20(%)	49(34.03)	129(21.90)	9.254	0.002
病理类型			2.022	0.364
管状腺瘤(%)	56(38.89)	266(45.16)	1.848	0.174
绒毛状腺瘤(%)	68(47.22)	256(43.46)	0.663	0.416
锯齿状腺瘤(%)	20(13.89)	67(11.38)	0.699	0.403
切除方法			3.636	0.162
高频电切除(%)	33(22.92)	154(26.15)	0.635	0.426
内镜下黏膜切除术EMR(%)	89(61.80)	314(53.31)	3.373	0.066
内镜下粘膜剥离术ESD(%)	22(15.28)	121(20.54)	2.043	0.153
*H. pylori*感染	90(62.5)	301(51.10)	6.038	0.014

H. pylori: 幽门螺旋杆菌; CRA: 结直肠腺瘤; BMI: 体重指数.

表 3　CRA复发相关危险因素二元Logistic回归分析

因素	OR	95%CI	*P*
性别	1.657	1.118–2.455	0.012
BMI	1.678	1.047–2.689	0.031
息肉数量≥3个	2.361	1.594–3.498	0.000
息肉大小≥20 mm	1.997	1.309–3.046	0.001
*H. pylori*感染	1.556	1.055–2.294	0.026

H. pylori: 幽门螺旋杆菌; CRA: 结直肠腺瘤; BMI: 体重指数.

腺瘤性息肉的术后复发, 根除*H. pylori*则有可能减低肠腺瘤的术后复发.

*H. pylori*是一种普遍存在的人类病原体, 感染全球约50%的人口和高达80%的发展中国家[17]. 被世界卫生组织国际癌症研究机构列为胃癌的I类致癌物[18], 并参与胃外靶器官的肿瘤发生, 如肺癌、肝细胞癌等[19]. 也有许多研究发现*H. pylori*与结直肠腺瘤的发生相关, 但关于*H. pylori*感染增加结直肠腺瘤发病风险的机制尚不明确, 其可能的机制包括: (1)*H. pylori*诱导的高胃泌素血症, 胃泌素可通过促进肿瘤细胞增殖、调节抗凋亡基因、诱导抑癌基因突变等多种机制参与结直肠肿瘤的发生发展, 并在动物模型中增加结直肠癌的发病率[20,21]. 除了自身的作用, 胃泌素还诱导环氧合酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)的表达, 而COX-2及其产物与多种恶性肿瘤的发生相关; (2)幽门螺杆菌感染可上调基质金属蛋白酶的表达[22], 这可能不仅参与结直肠腺瘤息肉癌的发生, 也参

表 4 *H. pylori*阳性患者CRA复发相关危险因素分析

	复发	未复发	χ^2	*P*
病例数	90	301		
年龄(岁)	61.69±6.69	62.94±6.47		0.110
性别(男:女)	2:1	1.17:1	4.659	0.031
BMI≥25 kg/m^2(%)	24(26.67)	41(13.62)	8.507	0.004
吸烟(%)	21(23.33)	60(19.93)	0.488	0.485
饮酒(%)	16(17.78)	55(18.27)	0.011	0.915
便秘(%)	17(18.89)	49(16.28)	0.336	0.878
糖尿病(%)	18(21.11)	58(19.27)	0.024	0.878
高血压(%)	23(25.55)	69(22.92)	0.267	0.606
数量(个)			7.958	0.019
1(%)	10(11.11)	71(23.59)	6.567	0.010
2(%)	39(43.33)	129(42.86)	0.006	0.936
≥3(%)	41(45.55)	101(33.55)	4.314	0.038
大小(mm)			10.846	0.004
<10(%)	9(10.00)	75(24.92)	9.140	0.003
10–20(%)	49(54.44)	154(51.16)	0.299	0.585
>20(%)	32(3555)	72(23.92)	4.804	0.028
病理类型			3.373	0.185
管状腺瘤(%)	32(32.55)	136(45.18)	2.260	0.105
绒毛状腺瘤(%)	48(53.33)	128(42.52)	3.270	0.071
锯齿状腺瘤(%)	10(11.11)	37(12.29)	0.091	0.762
切除方法			1.713	0.425
高频电切除(%)	21(23.33)	80(26.58)	0.381	0.537
内镜下黏膜切除术EMR(%)	55(61.11)	161(53.49)	1.628	0.202
内镜下粘膜剥离术ESD(%)	14(15.55)	60(19.93)	0.865	0.352
根除*H. pylori*	33(36.67)	157(52.16)	6.657	0.010

H. pylori: 幽门螺旋杆菌; CRA: 结直肠腺瘤; BMI: 体重指数.

表 5 *H. pylori*阳性患者中CRA复发相关危险因素二元Logistic回归分析

因素	OR	95%CI	*P*
性别	1.885	1125–3.158	0.016
BMI	2.058	1.128–3.753	0.019
息肉数量≥3个	2.319	1.338–4.020	0.003
息肉大小≥20 mm	2.460	1.368–4.421	0.003
根除*H. pylori*	0.509	0.307–0.842	0.009

H. pylori: 幽门螺旋杆菌; CRA: 结直肠腺瘤; BMI: 体重指数.

与结直肠肿瘤的侵袭和转移级联的启动[23]; (3)幽门螺旋杆菌和结肠黏膜之间存在一系列潜在的致瘤作用, 包括炎症反应的诱导和延续、肠道菌群的改变、毒素和/或激素介质的释放, 这些可能有助于肿瘤的形成[24]; (4)与基因突变相关: 相关研究[25,26]表明: *H. pylori*感染可能导致某些基因突变, 引起结肠黏膜异常增生, 导致结直肠息肉发生.

结直肠腺瘤的发生、发展有许多因素参与. 本研究同时对肠息肉患者的年龄、性别、吸烟史、饮酒史、高血压、糖尿病、息肉的大小、数量、病理类型、息肉的切除方式等相关因素进行了单因素分析, 研究结果表明, 性别、肥胖、息肉的大小和数量是影响结直肠腺瘤性息肉复发的主要因素, 而*H. pylori*感染是影响结直肠腺瘤术后复发的独立危险因素, 根除*H. pylori*治疗后能降低腺瘤性结肠息肉的复发. 结直肠癌有较长的癌前阶段, 在腺瘤发展成为肿瘤之前均有机会进行干预. 根

据本研究结果, 建议肠息肉病人常规筛查呼气试验, 若阳性建议根除*H. pylori*以减少息肉的复发. 同时建议*H. pylori*阳性的患者行肠镜检查, 对提高结直肠腺瘤甚至结直肠癌的早期诊断率具有一定意义.

4 结论

本研究也存在一定不足, 首先随访时间相对较短, 无法观察到所有复发病例, 对于肥胖患者, 未进一步行血糖、血脂、腹围等检测. 本研究仅仅是一个统计学上的关系, 对于*H. pylori*引起腺瘤性肠息肉复发的分子机制不明确. 下一步将对这些患者做进一步的跟踪随访, 进一步阐明*H. pylori*感染与肠息肉发生以及复发的关系.

文章亮点

实验背景

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是全世界最常见恶性肿瘤之一, 而结直肠腺瘤(colorectal adenoma, CRA)是CRC的前驱病变, 多数CRC由CRA发展而来, 故降低CRA的发生及复发是预防CRC的关键. 幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori, H. pylori*)感染是CRA发生的危险因素, 是一个相对容易控制的危险因素. 但其与CRA切除术后复发相关的研究相对较少.

实验动机

内镜下切除CRA是预防CRC的重要手段, 但有相当比例的CRA在切除术后1年左右复发, 是患者术后的主要担忧. 因此, 需要明确与息肉复发相关的危险因素, 以改善肠息肉患者的预后, 降低CRA的发生.

实验目标

通过分析幽门螺旋杆菌感染与CRA复发的关系, 明确幽门螺旋杆菌感染会增加CRA复发的危险性, 而根除幽门螺旋杆菌感染可以降低CRA的复发, 从而为临床上提供一种新的预防CRA复发的方法. 同时建议幽门螺旋杆菌感染的患者行肠镜检查, 对提高CRA甚至CRC的早期诊断率具有一定意义.

实验方法

本研究通过对CRA复发的危险因素, 包括年龄、性别、吸烟、饮酒、便秘、糖尿病、高血压、BMI、息肉数量、息肉大小、手术方法、组织学类型、*H. pylori*感染等进行单因素分析, 对有统计学差异的单因素进一步行Logistic分析, 明确*H. pylori*感染对CRA术后复发的影响.

实验结果

通过本研究分析发现, 幽门螺旋杆菌感染是CRA术后复发的一个独立危险因素, 而根除幽门螺旋杆菌感染可降低CRA术后的复发, 为临床上降低CRA甚至CRC的发生发展提供一种新的思路.

实验结论

通过本研究发现, 幽门螺旋杆菌感染是CRA术后复发的危险因素, 而根除幽门螺旋杆菌感染可降低CRA术后的复发.

展望前景

本研究随访时间相对较短, 且仅仅是一个统计学上的关系, 对于*H. pylori*引起腺瘤性肠息肉复发的分子机制不明确. 下一步将对这些患者做进一步的跟踪随访, 分析在更长的时间段内*H. pylori*与腺瘤性肠息肉复发的关系.

5 参考文献

1 Siegel RL, Miller KD, Goding Sauer A, Fedewa SA, Butterly LF, Anderson JC, Cercek A, Smith RA, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2020. *CA Cancer J Clin* 2020; 70: 145-164 [PMID: 32133645 DOI: 10.3322/caac.21601]

2 Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, Siegel RL, Torre LA, Jemal A. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2018; 68: 394-424 [PMID: 30207593 DOI: 10.3322/caac.21492]

3 Zauber AG, Winawer SJ, O'Brien MJ, Lansdorp-Vogelaar I, van Ballegooijen M, Hankey BF, Shi W, Bond JH, Schapiro M, Panish JF, Stewart ET, Waye JD. Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths. *N Engl J Med* 2012; 366: 687-696 [PMID: 22356322 DOI: 10.1056/NEJMoa1100370]

4 Bonnington SN, Rutter MD. Surveillance of colonic polyps: Are we getting it right? *World J Gastroenterol* 2016; 22: 1925-1934 [PMID: 26877600 DOI: 10.3748/wjg.v22.i6.1925]

5 Rex DK, Schoenfeld PS, Cohen J, Pike IM, Adler DG, Fennerty MB, Lieb JG 2nd, Park WG, Rizk MK, Sawhney MS, Shaheen NJ, Wani S, Weinberg DS. Quality indicators for colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2015; 81: 31-53 [PMID: 25480100 DOI: 10.1016/j.gie.2014.07.058]

6 Hennink SD, van der Meulen-de Jong AE, Wolterbeek R, Crobach AS, Becx MC, Crobach WF, van Haastert M, Ten Hove WR, Kleibeuker JH, Meijssen MA, Nagengast FM, Rijk MC, Salemans JM, Stronkhorst A, Tuynman HA, Vecht J, Verhulst ML, de Vos Tot Nederveen Cappel WH, Walinga H, Weinhardt OK, Westerveld D, Witte AM, Wolters HJ, Cats A, Veenendaal RA, Morreau H, Vasen HF. Randomized Comparison of Surveillance Intervals in Familial Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 2015; 33: 4188-4193 [PMID: 26527788 DOI: 10.1200/JCO.2015.62.2035]

7 Yang W, Yang X. Association between Helicobacter pylori Infection and Colorectal Adenomatous Polyps. *Gastroenterol Res Pract* 2019; 2019: 7480620 [PMID: 31929786 DOI: 10.1155/2019/7480620]

8 Huang L, Wu L, Qiao Q, Fang L. Correlation between Colon Polyps and Metabolic Syndrome and HP Infection Status. *Gastroenterol Res Pract* 2019; 2019: 3916154 [PMID: 31281348 DOI: 10.1155/2019/3916154]

9 Atkin WS, Valori R, Kuipers EJ, Hoff G, Senore C, Segnan N, Jover R, Schmiegel W, Lambert R, Pox C; International Agency for Research on Cancer. European guidelines for quality assurance in colorectal cancer screening and diagnosis. First Edition--Colonoscopic surveillance following adenoma removal.

Endoscopy 2012; 44 Suppl 3: SE151-SE163 [PMID: 23012119 DOI: 10.1055/s-0032-1309821]
10 房静远, 时永全, 陈萦晅, 李景南, 盛建秋. 中国结直肠癌预防共识意见(2016年, 上海). 胃肠病学 2016; 21: 668-686 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2016.11.006]
11 Kumar A, Kim M, Lukin DJ. Helicobacter pylori is associated with increased risk of serrated colonic polyps: Analysis of serrated polyp risk factors. *Indian J Gastroenterol* 2018; 37: 235-242 [PMID: 29876742 DOI: 10.1007/s12664-018-0855-8]
12 Pan J, Cen L, Xu L, Miao M, Li Y, Yu C, Shen Z. Prevalence and risk factors for colorectal polyps in a Chinese population: a retrospective study. *Sci Rep* 2020; 10: 6974 [PMID: 32332839 DOI: 10.1038/s41598-020-63827-6]
13 Hao Y, Wang Y, Qi M, He X, Zhu Y, Hong J. Risk Factors for Recurrent Colorectal Polyps. *Gut Liver* 2020; 14: 399-411 [PMID: 31547641 DOI: 10.5009/gnl19097]
14 Komeda Y, Watanabe T, Sakurai T, Kono M, Okamoto K, Nagai T, Takenaka M, Hagiwara S, Matsui S, Nishida N, Tsuji N, Kashida H, Kudo M. Risk factors for local recurrence and appropriate surveillance interval after endoscopic resection. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 1502-1512 [PMID: 30948913 DOI: 10.3748/wjg.v25.i12.1502]
15 Ben Q, An W, Jiang Y, Zhan X, Du Y, Cai QC, Gao J, Li Z. Body mass index increases risk for colorectal adenomas based on meta-analysis. *Gastroenterology* 2012; 142: 762-772 [PMID: 22245665 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.050]
16 Sonnenberg A, Genta RM. Helicobacter pylori is a risk factor for colonic neoplasms. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 208-215 [PMID: 23208272 DOI: 10.1038/ajg.2012.407]
17 Moayyedi P, Hunt RH. Helicobacter pylori public health implications. *Helicobacter* 2004; 9 Suppl 1: 67-72 [PMID: 15347308 DOI: 10.1111/j.1083-4389.2004.00250.x]
18 Meucci G, Tatarella M, Vecchi M, Ranzi ML, Biguzzi E, Beccari G, Clerici E, de Franchis R. High prevalence of Helicobacter pylori infection in patients with colonic adenomas and carcinomas. *J Clin Gastroenterol* 1997; 25: 605-607 [PMID: 9451672 DOI: 10.1097/00004836-199712000-00011]
19 Brim H, Zahaf M, Laiyemo AO, Nouraie M, Pérez-Pérez GI, Smoot DT, Lee E, Razjouyan H, Ashktorab H. Gastric Helicobacter pylori infection associates with an increased risk of colorectal polyps in African Americans. *BMC Cancer* 2014; 14: 296 [PMID: 24774100 DOI: 10.1186/1471-2407-14-296]
20 Chueca E, Lanas A, Piazuelo E. Role of gastrin-peptides in Barrett's and colorectal carcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6560-6570 [PMID: 23236230 DOI: 10.3748/wjg.v18.i45.6560]
21 Singh P, Sarkar S, Kantara C, Maxwell C. Progastrin Peptides Increase the Risk of Developing Colonic Tumors: Impact on Colonic Stem Cells. *Curr Colorectal Cancer Rep* 2012; 8: 277-289 [PMID: 23226720 DOI: 10.1007/s11888-012-0144-3]
22 Yeh YC, Sheu BS, Cheng HC, Wang YL, Yang HB, Wu JJ. Elevated serum matrix metalloproteinase-3 and -7 in H. pylori-related gastric cancer can be biomarkers correlating with a poor survival. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1649-1657 [PMID: 19690958 DOI: 10.1007/s10620-009-0926-x]
23 Groblewska M, Mroczko B, Gryko M, Kędra B, Szmitkowski M. Matrix metalloproteinase 2 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 2 in the diagnosis of colorectal adenoma and cancer patients. *Folia Histochem Cytobiol* 2010; 48: 564-571 [PMID: 21478099 DOI: 10.2478/v10042-010-0076-1]
24 Papastergiou V, Karatapanis S, Georgopoulos SD. Helicobacter pylori and colorectal neoplasia: Is there a causal link? *World J Gastroenterol* 2016; 22: 649-658 [PMID: 26811614 DOI: 10.3748/wjg.v22.i2.649]
25 Tran-Duy A, Spaetgens B, Hoes AW, de Wit NJ, Stehouwer CD. Use of Proton Pump Inhibitors and Risks of Fundic Gland Polyps and Gastric Cancer: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 1706-1719.e5 [PMID: 27211501 DOI: 10.1016/j.cgh.2016.05.01]
26 Markowski AR, Markowska A, Guzinska-Ustymowicz K. Pathophysiological and clinical aspects of gastric hyperplastic polyps. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 8883-8891 [PMID: 27833379 DOI: 10.3748/wjg.v22.i40.8883]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 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……, 研究[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: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): 960-965

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i16.960

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

文献综述 REVIEW

上消化道胶囊内镜现状及研究进展

闫婧爽, 闫 斌, 孟 科

闫婧爽, 闫斌, 孟科, 解放军总医院第一医学中心消化内科医学部 北京市 100853

闫婧爽, 南开大学医学院 天津市 300071

闫婧爽, 博士生, 研究方向为消化内镜机器人和肠道微生态.

基金项目: 国家重点研发计划, No. 2019YFC0120303.

作者贡献分布: 本文综述由闫婧爽完成; 闫斌及孟科审校.

通讯作者: 孟科, 主治医师, 100853, 北京市海淀区复兴路28号, 中国人民解放军总医院第一医学中心消化内科医学部. mengke301@126.com

收稿日期: 2021-03-16
修回日期: 2021-06-23
接受日期: 2021-06-28
在线出版日期: 2021-08-28

Current status and future developments of upper gastrointestinal tract capsule endoscopy

Jing-Shuang Yan, Bin Yan, Ke Meng

Jing-Shuang Yan, Bin Yan, Ke Meng, Department of Gastroenterology and Hepatology, The First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Jing-Shuang Yan, School of Medicine, Nankai University, Tianjin 300071, China

Supported by: National key R&D Program of China, No. 2019YFC0120303.

Corresponding author: Ke Meng, Attending Doctor, Department of Gastroenterology and Hepatology, The First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, No. 28 Fuxing Road, Haidian District, Beijing 100853, China. mengke301@126.com

Received: 2021-03-16
Revised: 2021-06-23
Accepted: 2021-06-28
Published online: 2021-08-28

Abstract

Capsule endoscopy has been widely used for the diagnosis of small bowel diseases due to its safety, noninvasiveness, and acceptability. Despite the potential benefits of capsule endoscopy, there are obvious challenges to capsule endoscopy application in the upper gastrointestinal tract, due to the fast transit speed in the esophagus and large space of the gastric cavity. With the development of innovative technologies, such as magnetic navigation and tethered capsule endoscopy, the indications for capsule endoscopy have recently been expanded. Various capsule endoscopes have been applied to clinical practice, and several state-of-the-art research-oriented designs and devices provide hope for further use in the diagnosis of upper gastrointestinal diseases. In this review, we will summarize the current status and future developments of upper gastrointestinal tract capsule endoscopy.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Upper gastrointestinal tract; Capsule endoscopy; Diagnosis

Citation: Yan JS, Yan B, Meng K. Current status and future developments of upper gastrointestinal tract capsule endoscopy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(16): 960-965
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/960.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.960

摘要

胶囊内镜是一种安全、无创、人群接受度高的消化道疾病诊断系统, 目前已广泛用于小肠疾病的诊断. 由于食管通过速度快, 胃腔空间大, 导致胶囊内镜在上消化道中的应用面临巨大挑战. 目前随着磁导航技术、系线胶囊技术等工程技术的发展, 胶囊内镜逐步拓展了在上消化道疾病诊断中的应用. 有多款

上消化道胶囊内镜已应用于临床, 同时有更多的胶囊内镜新兴技术正处于研发阶段, 为改善胶囊内镜在上消化道疾病诊断中的作用提供了新的希望, 本文就用于上消化道的胶囊内镜现状及研究进展做一综述.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 上消化道; 胶囊内镜; 诊断

核心提要: 胶囊内镜作为无创性的内镜检查在临床上应用广泛, 磁控胶囊内镜、系线胶囊内镜、胶囊显微内镜等各类新型胶囊内镜的研发和使用拓展了其在上消化道疾病诊断中的应用, 为上消化道疾病普查提供了一定的便利.

文献来源: 闫婧爽, 闫斌, 孟科. 上消化道胶囊内镜现状及研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(16): 960–965
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/960.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.960

0 引言

我国是消化道恶性肿瘤的高发国家, 近些年消化道恶性肿瘤发病率、患病率呈现逐渐增长趋势[1]. 上消化道内镜检查是目前筛查和诊断上消化道肿瘤的首选检查手段, 但是传统的胃镜检查作为一种侵入式检查, 会对患者造成明显的不适感, 且存在心脑血管等重要脏器功能障碍、交叉感染等风险, 从而降低了患者的接受度, 限制了其在人群中的广泛应用. 虽然麻醉下的无痛胃镜检查可以消除检查过程中的不适感, 但同时也增加了麻醉相关不良事件的风险, 极大的限制了其在高龄、危重患者中的应用[2]. 胶囊内镜作为一种无创、便携、可视化的消化道检查方法, 自2000年首次报道以来[3], 已经取得了长足的进步, 目前小肠胶囊内镜已经成为诊断小肠疾病的主要手段. 由于食管通过速度较快, 胃腔空间大, 胃蠕动干扰等因素限制了胶囊内镜在上消化道中的应用, 但随着技术的进步, 多种专为上消化道设计的胶囊内镜系统逐渐开始应用于临床. 本文就上消化道胶囊内镜系统的应用现状和研究进展作一综述.

1 上消化道胶囊内镜临床应用现状

目前已应用于临床的上消化道胶囊内镜系统有以色列Given Imaging公司的食管胶囊内镜系列(PillCam ESO, PillCam ESO2)[4,5]、中国安翰科技有限公司的ANKON磁控胶囊内镜系统[6]、日本奥林巴斯公司和德国西门子公司联合开发的MGCE胶囊内镜系统[7]、韩国Intromedic公司的MiroCam-Navi胶囊内镜[8]和中国资福医疗科技有限公司的大圣磁控胶囊式内窥镜系统[9](表1).

PillCam ESO胶囊内镜系列: 是以色列Given Imaging公司研发的一种双摄像头无线食管胶囊内镜系统, 该胶囊内镜系统于2004年通过美国食品药品监督管理局批准应用于临床[10]. PillCam ESO胶囊内镜系统主要由三部分组成: 可吞服的食管胶囊(胶囊长26 mm, 直径11 mm, 图像采集速度14帧/秒), 数据记录仪和图像工作站. 该胶囊内镜系统在诊断胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)、食管静脉曲张、门脉高压性胃病方面可替代传统上消化道内镜检查[11-13], 但也有研究表明其对巴雷特食管(Barrett's esophagus, BE)、食管鳞状细胞癌的诊断仅具有中等敏感性和特异性, 无法替代传统上消化道内镜作为高风险人群的首选筛查方法[14-16]. 2007年研发的第二代食管胶囊内镜PillCam ESO2简化了摄入程序, 同时提高了内镜的整体可视化, 提高了BE、食管炎、上消化道出血的检出率[17], 联合使用智能分光染色技术(fujinon intelligent chromoendoscopy, FICE)能够提高表浅型食管癌的检出率[18].

ANKON磁控胶囊内镜系统: 该胶囊内镜系统由中国安翰科技有限公司研发[6,19], 2003年获得中国国家食品药品监督管理局批准上市. 该系统由内镜胶囊、机械臂式永磁体、数据记录仪和计算机工作站四部分组成, 并配有实时观察和控制软件(ESNavi软件, 安翰科技有限公司). 胶囊长27 mm, 直径11.8 mm, 视角为140°, 图像摄取速度2帧/秒. 多项临床研究结果显示该胶囊内镜系统具有较高的诊断准确性, 患者依从性好, 可用于人群胃部疾病的筛查, 并可作为高风险人群筛查的首选[6,20-22]. 该胶囊内镜系统的第二代产品在控制方式、帧频、视野、图像分辨率和电池寿命等方面进行了技术改进, 具有更高的自适应帧率(8帧/秒), 更好的图像分辨率(720×720像素), 更广的视野(150°), 更长的电池寿命(>12小时)以及抗干扰无线数据传输等特点. 显著改善了上消化道黏膜的可视化, 提高了食管和十二指肠乳头的显示清晰度, 使得磁控胶囊内镜更好地诊断上消化道疾病成为可能[23].

MGCE胶囊内镜系统: 是日本奥林巴斯医疗系统公司和德国西门子医疗集团共同开发的一款用于胃部检查的磁导航胶囊内窥镜系统(magnetically guided capsule endoscope, MGCE), 该系统主要包括奥林巴斯公司研发的内镜胶囊和西门子公司研发的磁性引导设备[24]. 胶囊长31 mm, 直径11 mm, 具有两个电荷耦合器件(charge coupled device, CCD)图像传感器, 图像摄取速度为4帧/秒, 通过射频信号实时传输. 引导系统使用非常低的磁场(<100 mT), 避免了磁性发热的风险. 一项纳入了189例患者的前瞻性临床研究显示, 该胶囊内镜系统对胃部疾病的诊断准确性达90.5%, 且具有较高的患者依从性[25].

表 1 目前已用于临床的上消化道胶囊内窥镜系统

内镜系统	生产商	国家	胶囊大小(mm)	拍摄帧率(帧/秒)	视野范围	信号传导
PillCam ESO系列	Given Imaging	以色列	11.0×26.0	14–18	169°	射频
MiroCam–Navi	Intromedic	韩国	11.0×24.0	3	170°	电场传播
EndoCapsule	Olympus & Siemens	日本&德国	11.0×31.0	4	145°	射频
ANKON磁控胶囊内镜	安翰	中国	11.8×27.0	2	140°	射频
大圣磁控胶囊式内窥镜	资福	中国	12.0×27.0	4	136°	射频

MiroCam-Navi胶囊内镜系统: 韩国Intromedic公司的MiroCam-Navi胶囊内窥镜是一款磁辅助胶囊内镜, 由实时监控器、数据接收器、外部手持永磁体和内镜胶囊四部分组成. MiroCam-Navi胶囊长24 mm, 直径11 mm, 重4.2 g, 视野范围170°, 图像摄取速度3帧/秒, 分辨率为320×320像素. 操作者使用锤状的外部手持永磁体控制胶囊在体内的拍摄方向, 并通过“电场传播(electric-field propagation)”的方式将信号传输至数据接收器[8]. 临床试验[26]显示MiroCam-Navi胶囊内镜系统具有高度的可视性和良好的控制性, 患者依从性较传统胃镜检查更好, 可用于BE、食管静脉曲张、急性上消化道出血的筛查和评估[27,28], 但在食管、胃食管连接部、胃底和十二指肠球部的观察视野仍逊色于传统胃镜[27,29].

大圣磁控胶囊式内窥镜系统: 这是中国深圳资福医疗科技有限公司研发的一款“站卧双体位”磁控胶囊内镜系统(standing-type magnetically guided capsule endoscopy, SMCE), 由内镜胶囊、胶囊激活装置、图像工作站和立式磁控装置四部分组成. 胶囊长27 mm, 直径12 mm, 采用微距拍摄和图像无线传输技术, 胶囊观察距离为0-50 mm, 视野范围为136°. 该系统采用站卧双体位检查模式, 可满足不同受检者的需求, 检查过程中受检者无需佩戴信号接收装置, 无束缚感, 体验更舒适. 一项纳入161名患者的临床试验结果显示, SMCE与传统胃镜相比, 对胃部疾病诊断一致性达94.41%, 对于轻度糜烂的诊断优于传统胃镜. 但SMCE检查时间较长(24 min *vs* 7 min), 仅适用于观察胃部, 暂不适用于食管和十二指肠的检查[9].

2 上消化道胶囊内镜研究进展

外置电源磁控胶囊内镜: 台北医科大学连吉时和刘志文团队[30,31]设计了一款用于上消化道检查的新型磁导航胶囊内镜系统, 该系统的内镜胶囊无内置电池, 其电源通过连接胶囊的一根长150 cm, 直径1 mm的电缆提供. 外接电源的设计使该胶囊内镜系统拥有较小体积(25.5 mm×9.9 mm)的同时拥有更高的图像采集速度(30帧/秒)和更高的图像分辨率(680×480像素). 2017年一项纳入10名志愿者的临床试验证实了该胶囊内镜系统具有良好的安全性、可控性和耐受性, 其对食管、胃和十二指肠检查的整体完成率分别为100%、85.2%和86.1%. 但该系统对上消化道病变的诊断有效性和准确性还需要进一步的临床随机对照研究验证[30].

螺旋桨驱动无线胶囊内镜: Tortora等[32]于2009年设计了一款用于胃部检查的微型螺旋桨驱动胶囊内镜. 胶囊长30 mm, 直径15 mm, 由无线微控制器、电池、四个电机和螺旋桨、外壳组成. 四个螺旋桨系统能够驱动胶囊在液体环境中实现主动运动, 内窥镜医师可以通过操纵杆和图形用户界面对胶囊进行远程控制. 该团队于2014年对胶囊内窥镜系统进行了改进, 集成了运动系统、远程操控系统、视觉系统和实时视频传输系统[33]. 其二代胶囊长32 mm, 直径22 mm, 配有CMOS相机以30帧/秒速度获取图像. 这种低成本(<100欧元)、操作简单的胶囊内镜在胃部疾病诊断方面有很大利用前景, 但目前该胶囊内镜系统仍需要进一步的动物实验和临床研究对其可控性、安全性和有效性进行验证.

磁驱动软胶囊内窥镜: 2012年Yim等[34]研发了一款用于诊断和治疗胃部疾病的磁驱动软胶囊内窥镜(magnetically actuated soft capsule endoscope, MASCE), 该胶囊内镜系统由两个嵌入式内部永磁体和一个大型外部磁体进行远程驱动. 不同于传统胶囊内镜, MASCE具有三个新颖的特征: (1)外部主体由柔软的软聚氨酯弹性体制成, 使设备更安全且侵入性更小; (2)外部磁体可以驱动其在轴向上主动变形, 从而提供额外的自由度, 实现各种高级功能, 例如轴向位置控制, 药物释放[35], 药物注射或活检[36]; (3)通过在胃壁表面滚动实现三维导航[37]. 医生可通过外部永磁体控制胶囊锚定在胃的特定部位, 利用外磁体扭矩提供连续、稳定的移动.

系线胶囊内镜(string-capsule endoscopy, SCE): 2003年Neu等[38]首次使用系线胶囊内镜进行临床实验, 将长为100 cm的丝线系于Given Imaging 公司生产的M2A胶囊内镜上. 患者吞服系线胶囊后以每3-4 min释放1-2 cm的速度释放系线, 当系线吞服超过60 cm时缓慢回拉. 系线胶囊内镜能清楚拍摄齿状线的图像, 在BE、食管静脉曲张

的诊断和评估吞咽困难方面安全有效[39-41]. 但该SCE的局限性在于: (1)系线造成患者不适; (2)分泌物和吞服用水造成的气泡干扰图像; (3)视野距离有限(<30 mm), 无法观察到食管远距离的高清图像. 2009年廖专教授团队[42]改良了系线胶囊内镜, 设计了一个带透明薄乳胶套的系线胶囊内镜(sleeve string capsule endoscopy, SSCE), 将胶囊装在乳胶套筒内, 用一根细线连接到套筒的尾端. 线和乳胶套均为一次性使用, 操作完成后立即丢弃. 纳入 2 例健康志愿者和 8 例有食管症状患者的临床研究表明SSCE在应用过程中均没有乳胶套及丝线脱落或断裂, 摄取图像质量高, 在食管病变的诊断精确度与传统胃镜无差异. 为使系线胶囊内镜在完成食管检查后进一步进行胃、小肠等部位的检查, 廖专教授团队于2018年将SSCE改进为可拆式线控胶囊内镜(detachable string magnetically controlled capsule endoscopy, DS-MCE)[43]. DS-MCE即将一个半包裹式的透明薄乳胶套包裹在胶囊表面, 末端与一根长度为80 cm的空心线相连, 空心线的另一端可与注射器相连. 当食管检查完成后, 通过注射器向空心线内注入空气, 乳胶套与胶囊即可分离. 该技术不仅满足胶囊在食管部分的可控性, 胶囊与系线分离后可继续对胃、小肠进行检查, 同时避免了取出胶囊的不适. 临床对照实验显示, 在上消化道的检查方面, 尤其食道, DS-MCE比普通磁导航胶囊内镜效果更佳[44].

系线胶囊显微内镜(tethered capsule endomicroscopy, TCE): Ray等[45,46]将光学频域成像技术(optical frequency domain imaging, OFDI)与系线胶囊内镜相结合, 开发出一种新型系线胶囊显微内镜(TCE). 患者吞服后胶囊可沿途对消化道管壁进行3D成像, 获得30 μm(横向)×7 μm(轴向)分辨率的横断面显微图像, 最终重建成上消化道管壁完整3D视图. 胶囊被连接到一根系线上, 能够定位和取回, 设备回收消毒后可循环使用, 纳入38人的临床研究显示TCE对BE患者的观察率为90.3%. TCE可用于BE、食管恶性肿瘤等疾病的筛查[46], 其检查时间短(小于5 min、无需镇静、可床旁使用的特性有利于在基层医疗保健实践中广泛开展[47].

3 结论

综上所述, 胶囊内镜因其便携性强、安全性高、患者适应性强、观察范围广等诸多特性在临床应用广泛, 但受限于胶囊内镜体积和电池电量, 其依然存在分辨率低、图像摄取速度慢、无法取活检等不足, 在食管疾病、上消化道早癌的筛查和诊断方面仍无法完全替代传统电子胃镜检查.

工程技术的不断革新缩短着胶囊内镜临床应用的局限性, 同时随着人工智能技术的快速发展, 计算机辅助诊断技术也逐渐应用于胶囊内镜的图像识别和病变鉴别诊断中, 未来有望减轻内镜医生的工作负担, 并有效提高胶囊内镜阅片效率和诊断准确性. 胶囊内镜磁控导航和三维重建技术有望重建消化道模型, 在疾病的定位、复杂手术建模及方案制定方面有着潜在研发及应用价值. 现阶段, 胶囊内镜仍局限于疾病观察和诊断方面, 未来的研究发展方向应逐渐向内镜操作和治疗迈进. 目前基于胶囊内镜的细针穿刺抽吸活检、给药系统等研究仍需要技术层面的改进优化及大规模临床试验进行验证. 新一代治疗胶囊内镜有望实现胶囊内镜下的药物精准释放、支架置入, 甚至局灶病变的切除等复杂操作. 期待随着工程技术的发展和大数据时代人工智能技术的引入, 上消化道胶囊内镜进一步向高清化、智能化、多功能化方向发展, 从而带来上消化道疾病诊疗的新革命.

4 参考文献

1 郑荣寿, 孙可欣, 张思维, 曾红梅, 邹小农, 陈茹, 顾秀瑛, 魏文强, 赫捷. 2015年中国恶性肿瘤流行情况分析. 中华肿瘤杂志. 2019; 41: 19-28 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0225-3766.2019.01.005]

2 李兆申, 邓小明, 孙涛, 杜奕奇, 李金宝. 中国消化内镜诊疗镇静/麻醉的专家共识意见. 中华消化杂志 2014; 34: 505-512

3 Iddan G, Meron G, Glukhovsky A, Swain P. Wireless capsule endoscopy. *Nature* 2000; 405: 417 [PMID: 10839527 DOI: 10.1038/35013140]

4 Eliakim R, Yassin K, Shlomi I, Suissa A, Eisen GM. A novel diagnostic tool for detecting oesophageal pathology: the PillCam oesophageal video capsule. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20: 1083-1089 [PMID: 15569110 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.02206.x]

5 Gralnek IM, Adler SN, Yassin K, Koslowsky B, Metzger Y, Eliakim R. Detecting esophageal disease with second-generation capsule endoscopy: initial evaluation of the PillCam ESO 2. *Endoscopy* 2008; 40: 275-279 [PMID: 18389444 DOI: 10.1055/s-2007-995645]

6 Liao Z, Hou X, Lin-Hu EQ, Sheng JQ, Ge ZZ, Jiang B, Hou XH, Liu JY, Li Z, Huang QY, Zhao XJ, Li N, Gao YJ, Zhang Y, Zhou JQ, Wang XY, Liu J, Xie XP, Yang CM, Liu HL, Sun XT, Zou WB, Li ZS. Accuracy of Magnetically Controlled Capsule Endoscopy, Compared With Conventional Gastroscopy, in Detection of Gastric Diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 1266-1273.e1 [PMID: 27211503 DOI: 10.1016/j.cgh.2016.05.013]

7 Rey JF, Ogata H, Hosoe N, Ohtsuka K, Ogata N, Ikeda K, Aihara H, Pangtay I, Hibi T, Kudo SE, Tajiri H. Blinded nonrandomized comparative study of gastric examination with a magnetically guided capsule endoscope and standard videoendoscope. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 373-381 [PMID: 22154417 DOI: 10.1016/j.gie.2011.09.030]

8 Kim TS, Song SY, Jung H, Kim J, Yoon ES. Micro capsule endoscope for gastro intestinal tract. *Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc* 2007; 2007: 2823-2826 [PMID: 18002582 DOI: 10.1109/iembs.2007.4352916]

9 Lai HS, Wang XK, Cai JQ, Zhao XM, Han ZL, Zhang J, Chen ZY, Lin ZZ, Zhou PH, Hu B, Li AM, Liu SD. Standing-type magnetically guided capsule endoscopy versus gastroscopy for gastric examination: multicenter blinded comparative trial. *Dig Endosc* 2020; 32: 557-564 [PMID: 31483889 DOI: 10.1111/den.13520]

10 Mishkin DS, Chuttani R, Croffie J, Disario J, Liu J, Shah R,

Somogyi L, Tierney W, Song LM, Petersen BT; Technology Assessment Committee, American Society for Gastrointestinal Endoscopy. ASGE Technology Status Evaluation Report: wireless capsule endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 539-545 [PMID: 16564850 DOI: 10.1016/j.gie.2006.01.014]

11 Eliakim R, Sharma VK, Yassin K, Adler SN, Jacob H, Cave DR, Sachdev R, Mitty RD, Hartmann D, Schilling D, Riemann JF, Bar-Meir S, Bardan E, Fennerty B, Eisen G, Faigel D, Lewis BS, Fleischer DE. A prospective study of the diagnostic accuracy of PillCam ESO esophageal capsule endoscopy versus conventional upper endoscopy in patients with chronic gastroesophageal reflux diseases. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 572-578 [PMID: 16000923 DOI: 10.1097/01.mcg.0000170764.29202.24]

12 Eisen GM, Eliakim R, Zaman A, Schwartz J, Faigel D, Rondonotti E, Villa F, Weizman E, Yassin K, deFranchis R. The accuracy of PillCam ESO capsule endoscopy versus conventional upper endoscopy for the diagnosis of esophageal varices: a prospective three-center pilot study. *Endoscopy* 2006; 38: 31-35 [PMID: 16429352 DOI: 10.1055/s-2005-921189]

13 White CM, Kilgore ML. PillCam ESO versus esophagogastro duodenoscopy in esophageal variceal screening: A decision analysis. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 975-981 [PMID: 19661814 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181a7ed09]

14 Lin OS, Schembre DB, Mergener K, Spaulding W, Lomah N, Ayub K, Brandabur JJ, Bredfeldt J, Drennan F, Gluck M, Jiranek GC, McCormick SE, Patterson D, Kozarek RA. Blinded comparison of esophageal capsule endoscopy versus conventional endoscopy for a diagnosis of Barrett's esophagus in patients with chronic gastroesophageal reflux. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 577-583 [PMID: 17324414 DOI: 10.1016/j.gie.2006.06.035]

15 Bhardwaj A, Hollenbeak CS, Pooran N, Mathew A. A meta-analysis of the diagnostic accuracy of esophageal capsule endoscopy for Barrett's esophagus in patients with gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1533-1539 [PMID: 19491867 DOI: 10.1038/ajg.2009.86]

16 Heresbach D, Leray E, d'Halluin PN, Cholet F, Lapalus MG, Gaudric M, Ben Soussan E, Gaudin JL, Vahedi K, Quentin V, Filoche B, Saurin JC, Chaussade S, Ponchon T. Diagnostic accuracy of esophageal capsule endoscopy versus conventional upper digestive endoscopy for suspected esophageal squamous cell carcinoma. *Endoscopy* 2010; 42: 93-97 [PMID: 20140825 DOI: 10.1055/s-0029-1243856]

17 Gutkin E, Shalomov A, Hussain SA, Kim SH, Cortes R, Gray S, Judeh H, Pollack S, Rubin M. Pillcam ESO(®) is more accurate than clinical scoring systems in risk stratifying emergency room patients with acute upper gastrointestinal bleeding. *Therap Adv Gastroenterol* 2013; 6: 193-198 [PMID: 23634183 DOI: 10.1177/1756283x13481020]

18 Oka A, Amano Y, Kusunoki R, Tada Y, Tamagawa Y, Ohara S, Moriyama I, Yuki T, Ishihara S, Kinoshita Y. Superficial esophageal cancer observed with the PillCam ESO 2 in combination with the flexible spectral imaging color enhancement system. *Dig Endosc* 2011; 23: 195-196 [PMID: 21429029 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.01058.x]

19 Liao Z, Zou W, Li ZS. Clinical application of magnetically controlled capsule gastroscopy in gastric disease diagnosis: recent advances. *Sci China Life Sci* 2018; 61: 1304-1309 [PMID: 30367341 DOI: 10.1007/s11427-018-9353-5]

20 Hu J, Wang S, Ma W, Pan D, Sun S. Magnetically controlled capsule endoscopy as the first-line examination for high-risk patients for the standard gastroscopy: a preliminary study. *Scand J Gastroenterol* 2019; 54: 934-937 [PMID: 31328998 DOI: 10.1080/00365521.2019.1638446]

21 Zhang S, Sun T, Xie Y, Yu C, Jin S, Yu J, Mao H. Clinical Efficiency and Safety of Magnetic-Controlled Capsule Endoscopy for Gastric Diseases in Aging Patients: Our Preliminary Experience. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 2911-2922 [PMID: 31032524 DOI: 10.1007/s10620-019-05631-5]

22 Qian YY, Zhu SG, Hou X, Zhou W, An W, Su XJ, McAlindon ME, Li ZS, Liao Z. Preliminary study of magnetically controlled capsule gastroscopy for diagnosing superficial gastric neoplasia. *Dig Liver Dis* 2018; 50: 1041-1046 [PMID: 29779696 DOI: 10.1016/j.dld.2018.04.013]

23 Jiang B, Qian YY, Pan J, Jiang X, Wang YC, Zhu JH, Zou WB, Zhou W, Li ZS, Liao Z. Second-generation magnetically controlled capsule gastroscopy with improved image resolution and frame rate: a randomized controlled clinical trial (with video). *Gastrointest Endosc* 2020; 91: 1379-1387 [PMID: 31981648 DOI: 10.1016/j.gie.2020.01.027]

24 Rey JF, Ogata H, Hosoe N, Ohtsuka K, Ogata N, Ikeda K, Aihara H, Pangtay I, Hibi T, Kudo S, Tajiri H. Feasibility of stomach exploration with a guided capsule endoscope. *Endoscopy* 2010; 42: 541-545 [PMID: 20593331 DOI: 10.1055/s-0030-1255521]

25 Denzer UW, Rösch T, Hoytat B, Abdel-Hamid M, Hebuterne X, Vanbiervielt G, Filippi J, Ogata H, Hosoe N, Ohtsuka K, Ogata N, Ikeda K, Aihara H, Kudo SE, Tajiri H, Treszl A, Wegscheider K, Greff M, Rey JF. Magnetically guided capsule versus conventional gastroscopy for upper abdominal complaints: a prospective blinded study. *J Clin Gastroenterol* 2015; 49: 101-107 [PMID: 24618504 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000110]

26 Hale MF, Rahman I, Drew K, Sidhu R, Riley SA, Patel P, McAlindon ME. Magnetically steerable gastric capsule endoscopy is equivalent to flexible endoscopy in the detection of markers in an excised porcine stomach model: results of a randomized trial. *Endoscopy* 2015; 47: 650-653 [PMID: 25625696 DOI: 10.1055/s-0034-1391329]

27 Ching HL, Hale MF, Sidhu R, Beg S, Ragunath K, McAlindon ME. Magnetically assisted capsule endoscopy in suspected acute upper GI bleeding versus esophagogastroduodenoscopy in detecting focal lesions. *Gastrointest Endosc* 2019; 90: 430-439 [PMID: 31082392 DOI: 10.1016/j.gie.2019.04.248]

28 Beg S, Card T, Warburton S, Rahman I, Wilkes E, White J, Ragunath K. Diagnosis of Barrett's esophagus and esophageal varices using a magnetically assisted capsule endoscopy system. *Gastrointest Endosc* 2020; 91: 773-781.e1 [PMID: 31678203 DOI: 10.1016/j.gie.2019.10.031]

29 Rahman I, Pioche M, Shim CS, Lee SP, Sung IK, Saurin JC, Patel P. Magnetic-assisted capsule endoscopy in the upper GI tract by using a novel navigation system (with video). *Gastrointest Endosc* 2016; 83: 889-895.e1 [PMID: 26405045 DOI: 10.1016/j.gie.2015.09.015]

30 Lien GS, Wu MS, Chen CN, Liu CW, Suk FM. Feasibility and safety of a novel magnetic-assisted capsule endoscope system in a preliminary examination for upper gastrointestinal tract. *Surg Endosc* 2018; 32: 1937-1944 [PMID: 29071416 DOI: 10.1007/s00464-017-5887-0]

31 Lien GS, Liu CW, Jiang JA, Chuang CL, Teng MT. Magnetic control system targeted for capsule endoscopic operations in the stomach--design, fabrication, and in vitro and ex vivo evaluations. *IEEE Trans Biomed Eng* 2012; 59: 2068-2079 [PMID: 22581127 DOI: 10.1109/tbme.2012.2198061]

32 Tortora G, Valdastri P, Susilo E, Menciassi A, Dario P, Rieber F, Schurr MO. Propeller-based wireless device for active capsular endoscopy in the gastric district. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2009; 18: 280-290 [PMID: 19707936 DOI: 10.1080/13645700903201167]

33 De Falco I, Tortora G, Dario P, Menciassi A. An integrated system for wireless capsule endoscopy in a liquid-distended stomach. *IEEE Trans Biomed Eng* 2014; 61: 794-804 [PMID: 24216631 DOI: 10.1109/tbme.2013.2290018]

34 Yim S, Sitti M. Design and rolling locomotion of a magnetically actuated soft capsule endoscope. *IEEE Trans Robot* 2012; 28: 183-194 [DOI: 10.1109/TRO.2011.2163861]

35 Yim S, Goyal K, Sitti M. Magnetically Actuated Soft Capsule With the Multimodal Drug Release Function. *IEEE ASME Trans Mechatron* 2013; 18: 1413-1418 [PMID: 25378896 DOI: 10.1109/tmech.2012.2235077]
36 Son D, Gilbert H, Sitti M. Magnetically Actuated Soft Capsule Endoscope for Fine-Needle Biopsy. *Soft Robot* 2020; 7: 10-21 [PMID: 31418640 DOI: 10.1089/soro.2018.0171]
37 Yim S, Sitti M. 3-D Localization Method for a Magnetically Actuated Soft Capsule Endoscope and Its Applications. *IEEE Trans Robot* 2013; 29: 1139-1151 [PMID: 25383064 DOI: 10.1109/tro.2013.2266754]
38 Neu B, Wettschureck E, Rösch T. Is esophageal capsule endoscopy feasible? Results of a pilot. *Endoscopy* 2003; 35: 957-961 [PMID: 14606020 DOI: 10.1055/s-2003-43488]
39 Ramirez FC, Shaukat MS, Young MA, Johnson DA, Akins R. Feasibility and safety of string, wireless capsule endoscopy in the diagnosis of Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 741-746 [PMID: 15855985 DOI: 10.1016/s0016-5107(05)00322-6]
40 Ramirez FC, Hakim S, Tharalson EM, Shaukat MS, Akins R. Feasibility and safety of string wireless capsule endoscopy in the diagnosis of esophageal varices. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1065-1071 [PMID: 15842580 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41037.x]
41 Gilani N, Stipho S, Shaukat MS, Akins R, Ramirez FC. The yield and safety of string capsule endoscopy in patients with dysphagia. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 1091-1095 [PMID: 18028926 DOI: 10.1016/j.gie.2007.04.034]
42 Liao Z, Gao R, Xu C, Xu DF, Li ZS. Sleeve string capsule endoscopy for real-time viewing of the esophagus: a pilot study (with video). *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 201-209 [PMID: 19286182 DOI: 10.1016/j.gie.2008.10.043]
43 Chen YZ, Pan J, Luo YY, Jiang X, Zou WB, Qian YY, Zhou W, Liu X, Li ZS, Liao Z. Detachable string magnetically controlled capsule endoscopy for complete viewing of the esophagus and stomach. *Endoscopy* 2019; 51: 360-364 [PMID: 30822803 DOI: 10.1055/a-0856-6845]
44 Song J, Bai T, Zhang L, Xiang XL, Xie XP, Hou XH. Better view by detachable string magnetically controlled capsule endoscopy for esophageal observation: a retrospective comparative study. *Dis Esophagus* 2020; 33 [PMID: 32008045 DOI: 10.1093/dote/doz104]
45 Ray K. Endoscopy: Tethered capsule endomicroscopy of the oesophagus--an easy pill to swallow. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 129 [PMID: 23358395 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.15]
46 Gora MJ, Sauk JS, Carruth RW, Gallagher KA, Suter MJ, Nishioka NS, Kava LE, Rosenberg M, Bouma BE, Tearney GJ. Tethered capsule endomicroscopy enables less invasive imaging of gastrointestinal tract microstructure. *Nat Med* 2013; 19: 238-240 [PMID: 23314056 DOI: 10.1038/nm.3052]
47 Gora MJ, Simmons LH, Quénéhervé L, Grant CN, Carruth RW, Lu W, Tiernan A, Dong J, Walker-Corkery B, Soomro A, Rosenberg M, Metlay JP, Tearney GJ. Tethered capsule endomicroscopy: from bench to bedside at a primary care practice. *J Biomed Opt* 2016; 21: 104001 [PMID: 27689919 DOI: 10.1117/1.Jbo.21.10.104001]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 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31个省、市、自治区、和香港特别行政区和719位胃肠病学和肝病学专家支持的开放存取的同行评议的半月刊杂志, 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, 包括实验背景、实验动机、实验目标、实验方法、实验结果、实验结论、展望前景.

《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: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): 966-971

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i16.966

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

文献综述 REVIEW

血氧水平依赖的磁共振功能成像在肝硬化轻微肝性脑病中的研究进展

刘子衿, 丁惠国

刘子衿, 丁惠国, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化中心, 北京市 100069

刘子衿, 住院医师, 首都医科大学附属北京佑安医院消化内科学在读博士研究生, 研究方向为肝脏病学.

基金项目: 病毒性肝炎和艾滋病等重大传染病防治专项, No. 2017ZX10203202-004.

作者贡献分布: 刘子衿负责文献复习、数据分析及论文写作; 丁惠国负责设计、数据分析及对论文修改, 对最终稿负责.

通讯作者: 丁惠国, 教授, 博士研究生导师, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化中心. dinhghuiguo@ccmu.edu.cn

收稿日期: 2021-04-22
修回日期: 2021-05-25
接受日期: 2021-07-07
在线出版日期: 2021-08-28

Progress in research of blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy

Zi-Jin Liu, Hui-Guo Ding

Zi-Jin Liu, Hui-Guo Ding, Department of Gastroenterology and Hepatology, Capital Medical University Affiliated with Beijing Youan Hospital, Beijing 100069, China

Supported by: The State Key Projects Specialized on Infectious Diseases, No. 2017ZX10203202-004.

Corresponding author: Hui-Guo Ding, Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, Capital Medical University Affiliated with Beijing Youan Hospital, No. 8 Youanmenwai Street, Fengtai District, Beijing 100069, China. dinhghuiguo@ccmu.edu.cn

Received: 2021-04-22
Revised: 2021-05-25
Accepted: 2021-07-07
Published online: 2021-08-28

Abstract

Hepatic encephalopathy (HE) is a neuropsychiatric syndrome that develops in patients with cirrhosis or other severe liver diseases. The incidence of minimal hepatic encephalopathy (MHE) is high, and MHE is often misdiagnosed because of its subclinical manifestations. MHE significantly reduces patients' quality of life and its prognosis is poor. Blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging (BOLD-fMRI) has been used to explore the brain functional changes and to further understand pathophysiological mechanisms of brain disease. This article focuses on the progress in the research of BOLD-fMRI in cirrhotic patients with MHE with regard to its principles, categories, and post-processing algorithms.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Minimal hepatic encephalopathy; Cirrhosis; Blood oxygen level dependent; Functional MRI

Citation: Liu ZJ, Ding HG. Progress in research of blood oxygen level dependent functional magnetic resonance imaging in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(16): 966-971
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/966.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.966

摘要

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是一种由肝硬化或严重肝功能障碍所致的神经精神异常综合症, 与大脑功能变化有密切关系, 肝硬化等严重肝功能障碍患者, 轻微肝性脑病(minimal hepatic encephalopathy,

MHE)发生率高, 无明显的临床表现和特异性标志物而被漏诊或误诊. 但是MHE患者的生活与工作质量显著下降, 也影响其预后. 血氧水平依赖的功能核磁共振成像已被用于脑功能的评估及研究HE的脑功能变化. 本文概述功能磁共振成像的原理、种类及静息状态功能磁共振成像的后处理算法在肝硬化MHE中的研究进展.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 轻微肝性脑病; 肝硬化; 血氧水平依赖; 功能磁共振成像

核心提要: 肝硬化轻微肝性脑病(minimal hepatic encephalopathy, MHE)发生率高, 影响患者的生活和工作质量及预后. 由于无明显的临床表现和缺乏特异性诊断标志物, MHE常常被漏诊或误诊. 血氧水平依赖功能磁共振成像(functional MRI, fMRI)可以显示大脑不同功能区的血氧变化, 评估脑功能及认知功能, 为临床肝硬化MHE的早期诊断和治疗效果评价提供了重要的影像学标志物.

文献来源: 刘子衿, 丁惠国. 血氧水平依赖的磁共振功能成像在肝硬化轻微肝性脑病中的研究进展. 世界华人消化杂志 2021; 29(16): 966-971
URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/966.htm
DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.966

0 引言

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是由肝硬化或严重肝功能障碍或门体分流(portosystemic shunts, PSS)引起的脑功能障碍, 表现为从无明显临床症状到昏迷的神经和精神异常的综合症[1]. 经典的肝性脑病按West-Haven标准分为0-4级[2], 被多个国家最新指南推荐应用. 2011年氨代谢委员会提出了“轻微肝性脑病(minimal hepatic encephalopathy, MHE)”的概念[3]. 肝性脑病起病隐匿, 进展缓慢且的发病机制一直未被完全阐明, 近年来神经影像学在揭示HE的神经病理机制中起着重要作用. 例如, ^{11}C(R)-PK11195正电子发射断层扫描在HE患者体内绘制大脑“周围苯二氮卓结合位点”, 为神经系统炎症学说提供了有力佐证[4]. 随着先进而敏感的MRI技术的出现, 目前认为肝性脑病的发生可能与轻度脑水肿及神经元丢失相关[5]. 近年来, 血氧水平依赖(blood oxygen level dependent, BOLD)功能磁共振成像(functional MRI, fMRI), 特别是静息状态下功能磁共振成像(resting-state fMRI, rs-fMRI)为阐明神经认知功能障碍和HE、MHE的脑功能改变提供了重要的影像组学标志物. 本文概述fMRI在HE、MHE诊断中的研究进展.

1 BOLD-fMRI的成像原理

BOLD-fMRI是一种安全、无创、无辐射、可重复的测定脑功能的方法, 广泛地应用于神经外科术前规划、神经或精神疾病和神经科学的临床研究. 这种成像技术依赖于脱氧血红蛋白含量的变化, 脱氧血红蛋白可以充当内源性顺磁造影剂. 当大脑产生额外的神经冲动或者其他信号传递过程, 其局部能量需求增加, 而大脑耗氧量却没有相应的增加, 从而导致毛细血管和静脉脱氧血红蛋白含量下降, 顺磁性脱氧血红蛋白含量降低应该会增强静脉血管和周围组织的MRI信号[6]. 目前, 肝性脑病BOLD-fMRI成像包括任务状态fMRI(task-related fMRI, tr-fMRI)及rs-fMRI.

2 任务状态下的BOLD-fMRI成像

tr-fMRI将患者被试置于MRI机器的磁体中, 以受控的方式持续施加各种刺激, 如视觉或运动刺激, 进而收集局部神经细胞活动信息. Zhang等[7]利用经典Stroop任务(色字一致性实验)发现MHE患者前扣带回—前额叶—顶叶—梭状回脑注意网络异常, 使这些激活的脑功能区失去正常动态平衡, 推测这可能是引起MHE患者注意控制障碍的神经生理基础. 临界闪烁频率(critical flicker frequency, CFF)是一种心理物理学检测, 受试者观看一个初始恒定的光源, 并被要求检测和指示从稳定光源到闪烁光源的明显转变, 即CFF. Zafiris等[8]利用这项测试发现, MHE患者右下顶叶皮层中与判断相关的BOLD激活降低, 对心理生理相互作用的分析表明MHE患者的神经相互作用受损, 特别是右下顶叶皮层与枕旁皮层、顶内沟、前扣带皮层、右前额叶皮层、内侧颞叶和外侧皮质V5区之间的相互作用. Liao等人[9]结合韦氏记忆量表及fMRI发现MHE患者存在空间工作记忆的弱化, 且在完成量表的过程中双侧前额叶皮层、双侧运动前区、辅助运动区和双侧顶叶区激活程度较正常人减低, 提示这些区域可能是导致空间工作记忆功能障碍的病理基础. McPhail等人[10]通过视觉运动任务进行全脑容量和功能磁共振成像, 评估MHE药物治疗效果, 结果显示MHE患者认知药物研究评分和肝性脑病心理测量评分均有显著提高. 这种认知改善伴随着后扣带皮层和腹侧前额叶皮层的BOLD激活的改变, 这两个区域构成了大脑结构和代谢核心的一部分. 尽管上述研究有一定新发现, 但范围限制于小部分MHE患者, 因为即使对于MHE患者, 与任务相关的fMRI检测也是相当困难的, 其完成度难以准确无误的控制, 这限制了这项技术的进一步推广.

3 静息状态下的BOLD-fMRI成像

在静息状态BOLD-fMRI研究中, 患者不需要执行特定的刺激任务或做出反应, 仅要求在持续几分钟的核磁共振扫描中闭上眼睛, 保持头部不动, 不要想任何特别的事情. 静息状态BOLD-fMRI在临床应用中更广泛, 适合于

HE、MHE的神经病理机制研究和纵向研究, 是最主要的fMRI. 尽管静息状态BOLD-fMRI数据采集比较简单, 但数据分析比较复杂, 需要经过各种数据后处理算法, 包括: 如独立分量分析(independent component analysis, ICA)、基于种子的相关性分析(seed-based correlation analysis, SCA)、局部一致性(regional homogeneity, ReHo)、低频振幅(amplitude of low frequency fluctuation, ALFF)分析、全脑网络分析(whole-brain network analysis)和小世界网络(small world-network). 目前进行静息状态BOLD-fMRI研究的两种最流行的技术是ICA和SCA.

3.1 独立分量分析 众所周知, 静息状态下左右大脑运动皮层以及参与运动的大部分大脑区域之间是同步的, 这种同步活动随后又发现存在除了运动系统之外的大脑多个系统, 称之为静息状态网络(resting state networks, RSN), 包括默认模式网络、感觉运动网络、听觉网络等. RSN由解剖学上分离但功能上连接的区域组成, 这些区域表现出高水平的相关活动, 具有相似的BOLD信号模式. 利用独立分量分析(independent component analysis, ICA)算法可以提取静息状态大脑网络, 并研究大脑不同区域的连接和活动是否存在相关性. 在这些RSN中, 与HE相关报道最多的是默认模式网络(default mode network, DMN). Chen等人[11]比较了既往明显肝性脑病(overt hepatic encephalopathy, OHE)(West-Haven分级2-4)发作、现有MHE患者及健康对照者, 静息状态下的BOLD-fMRI成像, 应用ICA来分析DMN. 发现楔前叶、后扣带皮层和左侧额叶内侧回的功能性连接(functional connectivity, FC)表现出显著性差异. 从对照组、既往HE和现有MHE患者观察到两个区域FC逐渐减少, 而之前有OHE的患者在这两个区域FC明显减少. 在肝硬化患者中, 楔前叶的FC与MHE的经典测试—数字符号测试(digit-symbol test, DST)及模块设计试验(block design test, BDT)存在显著相关性. 除了默认模式网络外, Qi等人[12]利用ICA分析识别MHE患者静息状态网络包括: 背侧注意网络、默认模式网络、视觉网络、听觉网络、感觉运动网络、自我参照网络. 他们发现, 与健康对照组相比, MHE患者背部注意网络的功能连通性明显下降, 默认模式网络、听觉网络和视觉网络的功能连通性有的增加, 有的则显著减少. 额中、内侧回、顶下小叶以及扣带回/楔前叶的前部和后部, 在额中、内侧回、顶下小叶以及扣带回/楔前叶的前部后部的FC与患者血氨水平及MHE的经典诊断实验如字连接实验(number connecting test, NCT)及DST得分之间存在相关性. Jiang等人[13]发现, 肝硬化患者主要表现为默认模式网络与认知控制网络之间的动态功能连接(dynamic functional connectivity, dFC); 感觉运动网络与皮层下的连接明显减弱. 肝硬化患者心理测量肝性脑病评分(psychometric hepatic encephalopathy score, PHES)与分数时间/驻留时间显著相关. 他们认为dFC异常可能是肝硬化神经认知损害的潜在机制. 上述研究均提示, 肝硬化HE、MHE是一种与内在大脑网络中断有关的神经系统疾病. ICA方法在避免先验空间假设和种子噪声方面有一些优势, 并且能够同时比较多个分布体素中活动的一致性, 然而ICA分解是通过迭代优化算法得到的, 具有一定程度的逐次可变性, 因此重复性较差. 除此之外, ICA降维和模型阶次选择的过程具有一定的随机性及非平稳性.

3.2 SCA SCA已用于研究HE患者的脑FC变化. Yang的团队[14]发现, HE患者执行控制网络种子(右背外侧前额叶皮层)和几个区域包括右额中下回、左额下回、双侧上下顶叶、双侧中下颞回、右额内侧回的FC显著减少. DMN种子(后扣带皮层)和几个区域包括双边内侧额叶脑回、双侧前扣带皮层、双侧额上回、双侧楔前叶、左侧上缘板回、左侧颞中回FC显著减少. 在显著网络种子(右岛前叶)和右侧脉上回之间FC显著减少, 且在经典的Stroop任务中, 执行控制网络及显著网络中的FC强度与患者的表现呈负相关. Lin等人[15]通过种子的相关分析确定海马连接网络, 通过体素形态测量方法对结构图像进行预处理并测量海马体积, 结果发现与对照组相比, MHE患者表现出双侧海马体积显著降低. MHE患者双侧海马连通性网络的平均FC强度明显降低. 特别地, MHE患者表现出包括左海马到双侧后扣带回和左角回的FC减少. MHE患者右侧海马和双侧内侧额叶皮质之间的FC也呈下降趋势, 结果具有统计学意义, 肝硬化患者双侧海马FC强度与PHES结果呈正相关. Tsai等人[16]通过使用前扣带背侧皮层和背外侧前额叶皮层的两个种子计算认知控制网络(cognitive control network, CCN)内的FC, 他们发现HE患者双侧枕叶外侧皮质和右侧枕叶外侧及楔前叶皮质的FC较无HE的肝硬化患者低, 从健康对照到无HE的肝硬化到隐匿性肝性脑病(covert hepatic encephalopathy, CHE)患者, CCN内左侧中央前回的FC逐渐减少, 结果具有统计学差异, 且PHES结果与认知控制网络的FC呈正相关, 血氨、白细胞介素-6和肿瘤坏死因子-α与认知控制网络的FC呈负相关. 以上研究通过基于种子的相关性分析, 对大脑不同静态网络的功能性连接与MHE患者经典神经心里测试结果进行了相关性分析, 从而证实了大脑的异常连接与肝性脑病认知功能障碍有关, 而血氨和促炎细胞因子可能参与了异常连接的发生. 这种方法的主要优势是直截了当的显示了与种子体素功能最强的区域功能网络, 它的缺点是研究的RSN可能受到其他RSN的影响, 同时残留的头部运动效应或扫描仪诱导的伪影也可能影响结果.

3.3 局部一致性 ReHo基于肯德尔和谐系数(Kendall's coefficient of concordance), 认为重要的大脑活动更可能在集群中发生, 而不是在单个体素中. Zhang等人[17]比较了MHE、OHE患者及健康对照在慢波-5(0.010-0.027 Hz)、慢波-4(0.027-0.073 Hz)和慢波-3(0.073-0.198 Hz)频段的ReHo, 并分析各频段ReH异常值与神经心理评分和血氨水平的关系, 以确定各区带的ReHo差异是否可以可以对三组受试者进行鉴别诊断. 结果提示各频段的ReHO异常与血氨水平和神经心理评分均呈正相关, 尤以左顶下叶为甚. 模式分类分析显示, 低慢-5、慢-4和高慢-3频段的ReHo差异可对三组进行鉴别诊断. 与常规分析相比, 慢-4波段的ReHo特征具有更高的分类准确率(89%). Lin等人[18]发现, 肝硬化合并明显肝性脑病患者左中央扣带、双侧颞上带、左眶额下带、右胼胝体、左额下回、左中央后带、左颞下回、左舌区ReHo明显降低, 右额上、右颞下、右尾状突起和小脑ReHo明显升高. OHE组存活患者与死亡患者右侧颞上叶、左侧小脑脚区ReHo值存在明显差异, 格拉斯哥昏迷评分与左侧小脑脚ReHo增加相关. Sun的团队[19]发现, 健康对照与肝硬化合并MHE与肝硬化不合并MHE三组间视觉网络、背侧注意网络、躯体运动网络、额顶叶控制网络和丘脑ReHo存在明显差异, 且MHE患者病程与右侧梭状回平均ReHo值增加呈正相关, MHE患者右侧额叶ReHo值与病程呈正相关, 与PHES评分呈正相关. 这些研究证明了静息状态BOLD-fMRI与ReHo分析的可行性, 并提供关于HE患者认知变化的病理生理机制的信息, 未来通过ReHo方法诊断MHE创造了可能性. 然而, 这种方法本质上是局部的, 对不同功能簇之间的空间分布不敏感, 很难描述RSN的空间分布特性.

3.4 低频振幅 ALFF指数由给定的低频BOLD时间过程的功率谱的平方进行平均计算, 与功能连通性分析等其他算法相比, 低频振幅具有直接反映自发活动幅度或强度的优点. Cheng等人[20]比较肝硬化患者肝移植前后的ALFF值, 并对ALFF变化与静脉血氨水平及神经心理测试进行相关性分析, 结果提示, 肝硬化患者肝移植术后早期视觉相关区域(左侧舌回和距状核)、感觉运动相关区域(左侧中央后回和扣带回)以及默认模式网络(双侧楔前叶和左侧顶下小叶)的ALFF均恢复正常, 颞叶和额叶的ALFF增加的情况在术后早期有所改善. ALFF下降持续存在于右侧辅助运动区、顶下小叶和距骨侧. 右侧楔前叶的ALFF变化与NCT-A变化呈负相关, 提示肝移植手术能改善肝性脑病自发性脑活动, 改善相关认知测试结果. Chen等人[21]通过检测fMRI信号中的ALFF来测量自发脑活动, 以PHES为金标准诊断MHE, 研究区域ALFF对MHE诊断准确率为80.6%(敏感度为81.3%, 特异度为80.0%). 其中双侧额叶内侧/前扣带回、扣带回/楔前叶、左侧中央前回和中央后回、右侧舌回、额中回、顶下小叶等6个研究区是最具区分性的特征, 肝硬化患者研究区区内的ALFF值与PHES呈正相关. Zhong等人[22]发现, 与健康对照组相比, MHE患者双侧内侧前额叶皮层、左侧额上回、右侧中央前回、额下回左盖部、左侧直回、双侧楔前叶、右侧小脑后叶ALFF明显降低. 前额叶皮层是空间工作记忆的集成和处理中心, 具有对外界信息的注意、抑制、编码、集成、存储、提取和处理功能, 额叶ALFF下降和反映了大脑自发活动的减少, 这可能导致脑功能障碍, 导致MHE患者注意力分散、记忆力下降、反应迟缓等认知缺陷. 总而言之, ALFF中可能存在与大脑认知功能有密切关系的诊断信息, 这种技术由此可以为ReHo、ICA等方法提供有效补充.

3.5 全脑功能网络分析 人类大脑高级活动的完成需要大脑各区域的配合, 因为大脑各区域都有自己的功能, 它们共同形成一个有机的网络, 才能有意义. 因此, 从整体角度观察HE患者的功能连通性具有一定的意义. 全脑功能连接分析可以提供一个平台, 来研究功能连接和信息集成如何与人类行为相关, 以及这种组织在疾病中可能会发生怎样的改变. Chen等人[23]利用90个脑区域的阈值函数相关矩阵构建全脑功能网络. 对大脑网络的拓扑特性, 包括小世界性、网络效率和节点效率进行了检验. 与对照组相比, 之前曾有OHE发作的肝硬化患者聚类系数和局部效率显著降低. 之前曾有OHE发作肝硬化患者双侧内侧额上回和右侧中央后回的节点效率降低, 双侧扣带前/扣带旁回和右侧顶叶上回的节点效率升高. 其聚类系数和局部效率值与PHES结果显着相关. 作者认为肝硬化导致脑功能网络效率的降低, 而这可能因先前的OHE发作而加重. Zhan等人[24]发现, MHE患者默认模式网络区域(如双侧扣带回、额叶内侧皮质和角回)与躯体感觉网络区域和语言网络区域之间的FC显著降低, 默认模式子网络内的FC与PHES结果之间的相关性. 他们认为默认模式网络功能障碍可能是MHE病理生理学的基础, HE是一种与固有的大脑网络中断有关的神经疾病.

3.6 小世界网络 Hsu等人[25]利用小世界拓扑分析研究肝硬化患者神经元连通性的异常.发现 在HE患者中, 功能连通性网络的局部和全局拓扑效率显著中断, 具有异常小世界性质. 区域特征的改变, 包括节点效率和节点强度, 主要发生在关联区、初级区和边缘或旁边缘区. 血氨水平也与本地网络特性的改变显著相关. 这项研究认为, 大脑静息状态fMRI网络拓扑结构的改变与HE严重程度有关. 局灶性或弥漫性的损伤扰乱了脑功能网络, 进而改变了整个脑网络的整体拓扑结构和效率. 这些发现为HE、MHE患者大脑功能改变的神经病理学机制提

供了新的见解.

4 静息状态下的BOLD-fMRI成像与其他MRI技术的多模型

一些研究者还结合静息态fMRI和其他MRI技术(如弥散张量成像或基于体素的形态测量术)进行了多模型研究, 以提供结构和功能信息. Chen等[26]结合静息状态下的BOLD-fMRI扫描和MRI弥散张量成像技术对乙肝肝硬化合并MHE患者进行研究, 他们应用体素镜像同形连通性(voxel-mirrored homotopic connectivity, VMHC)的技术计算对称半球间体素之间的功能连通性, 应用弥散张量成像测量胼胝体的平均扩散率(mean diffusivity, MD)和各向异性(fractional anisotropy, FA). 他们发现与对照组相比, MHE患者在额内侧回、额帽上回、扣带回前回、顶下小叶、中央后回、舌回和枕中回出现区域性VMHC下降. MHE患者胼胝体膝部、胼胝体压部FA值明显降低, 而胼胝体膝部MD值明显升高. Pearson相关分析显示, 扣带回前回/额回内侧VMHC与胼胝体膝部FA/MD值相关. 胼胝体具有沟通人类大脑左右半球的功能, 这些发现可能提示MHE的半球间存在协调异常, 并可能为HE相关机制提供新的证据. Bajaj等人[27]进行了包括DTI和静息状态fMRI的多模式MRI研究, 以评估基于视频游戏的康复计划对隐匿性肝性脑病(包括MHE及West-Haven分级0-1)的治疗效果. 发现涉及胼胝体、内囊和皮质脊髓束的部分的径向弥散率增加, 与视频游戏训练域相对应的视觉空间静息状态连通性得到改善. 在Hopkins言语学习测试及健康相关生活质量测试上没有明显的相应改善, 但在训练期间, 在类似于视频游戏的认知测试中, 认知表现确实有短暂的改善, 这为隐匿性肝性脑病的治疗效果评价提供了新的标志物.

5 结论

总之, fMRI检查发现MHE患者背部注意网络、默认模式网络、认知控制网络、感觉运动网络、显著网络及双侧海马FC明显减弱, 相关区域ReHo及ALFF与正常对照存在明显差异, 提示MHE患者可能是一种大脑网络功能异常及脑连接中断导致的疾病, 其具体原因有待后续深入的研究进一步明确. fMRI为揭示肝硬化HE, 特别是MHE的病理生理变化及其机制提供了新的研究手段, 也可能为临床肝硬化MHE的早期诊断和治疗效果评价提供了重要的影像学标志物.

6 参考文献

1 Kandiah PA, Kumar G. Hepatic Encephalopathy-the Old and the New. *Crit Care Clin* 2016; 32: 311-329 [PMID: 27339673 DOI: 10.1016/j.ccc.2016.03.001]

2 Bajaj JS, Cordoba J, Mullen KD, Amodio P, Shawcross DL, Butterworth RF, Morgan MY; International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (ISHEN). Review article: the design of clinical trials in hepatic encephalopathy--an International Society for Hepatic Encephalopathy and Nitrogen Metabolism (ISHEN) consensus statement. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 739-747 [PMID: 21306407 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04590.x]

3 Vilstrup H, Amodio P, Bajaj J, Cordoba J, Ferenci P, Mullen KD, Weissenborn K, Wong P. Hepatic encephalopathy in chronic liver disease: 2014 Practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the European Association for the Study of the Liver. *Hepatology* 2014; 60: 715-735 [PMID: 25042402 DOI: 10.1002/hep.27210]

4 Wijdicks EF. Hepatic Encephalopathy. *N Engl J Med* 2016; 375: 1660-1670 [PMID: 27783916 DOI: 10.1056/NEJMra1600561]

5 Chavarria L, Cordoba J. Magnetic resonance imaging and spectroscopy in hepatic encephalopathy. *J Clin Exp Hepatol* 2015; 5: S69-S74 [PMID: 26041961 DOI: 10.1016/j.jceh.2013.10.001]

6 Kim SG. Biophysics of BOLD fMRI investigated with animal models. *J Magn Reson* 2018; 292: 82-89 [PMID: 29705033 DOI: 10.1016/j.jmr.2018.04.006]

7 Zhang LJ, Yang G, Yin J, Liu Y, Qi J. Neural mechanism of cognitive control impairment in patients with hepatic cirrhosis: a functional magnetic resonance imaging study. *Acta Radiol* 2007; 48: 577-587 [PMID: 17520437 DOI: 10.1080/02841850701308378]

8 Zafiris O, Kircheis G, Rood HA, Boers F, Häussinger D, Zilles K. Neural mechanism underlying impaired visual judgement in the dysmetabolic brain: an fMRI study. *Neuroimage* 2004; 22: 541-552 [PMID: 15193582 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2004.01.038]

9 Liao LM, Zhou LX, Le HB, Yin JJ, Ma SH. Spatial working memory dysfunction in minimal hepatic encephalopathy: an ethology and BOLD-fMRI study. *Brain Res* 2012; 1445: 62-72 [PMID: 22325099 DOI: 10.1016/j.brainres.2012.01.036]

10 McPhail MJ, Leech R, Grover VP, Fitzpatrick JA, Dhanjal NS, Crossey MM, Pflugrad H, Saxby BK, Wesnes K, Dresner MA, Waldman AD, Thomas HC, Taylor-Robinson SD. Modulation of neural activation following treatment of hepatic encephalopathy. *Neurology* 2013; 80: 1041-1047 [PMID: 23427320 DOI: 10.1212/WNL.0b013e31828726e1]

11 Chen HJ, Jiao Y, Zhu XQ, Zhang HY, Liu JC, Wen S, Teng GJ. Brain dysfunction primarily related to previous overt hepatic encephalopathy compared with minimal hepatic encephalopathy: resting-state functional MR imaging demonstration. *Radiology* 2013; 266: 261-270 [PMID: 23047839 DOI: 10.1148/radiol.12120026]

12 Qi R, Zhang LJ, Xu Q, Zhong J, Wu S, Zhang Z, Liao W, Ni L, Zhang Z, Chen H, Zhong Y, Jiao Q, Wu X, Fan X, Liu Y, Lu G. Selective impairments of resting-state networks in minimal hepatic encephalopathy. *PLoS One* 2012; 7: e37400 [PMID: 22662152 DOI: 10.1371/journal.pone.0037400]

13 Jiang SF, Shi JY, Yang ZT, Zhang L, Chen HJ. Aberrant dynamic functional network connectivity in cirrhotic patients without overt hepatic encephalopathy. *Eur J Radiol* 2020; 132: 109324 [PMID: 33038576 DOI: 10.1016/j.ejrad.2020.109324]

14 Yang ZT, Chen HJ, Chen QF, Lin H. Disrupted Brain Intrinsic Networks and Executive Dysfunction in Cirrhotic Patients without Overt Hepatic Encephalopathy. *Front Neurol* 2018; 9: 14 [PMID: 29422882 DOI: 10.3389/fneur.2018.00014]

15 Lin W, Chen X, Gao YQ, Yang ZT, Yang W, Chen HJ. Hippocampal atrophy and functional connectivity disruption in cirrhotic patients with minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2019; 34: 1519-1529 [PMID: 31363985 DOI: 10.1007/s11011-019-00457-6]

16 Tsai CF, Tu PC, Wang YP, Chu CJ, Huang YH, Lin HC, Hou MC, Lee FY, Liu PY, Lu CL. Altered cognitive control network is related to psychometric and biochemical profiles in covert hepatic

encephalopathy. *Sci Rep* 2019; 9: 6580 [PMID: 31036843 DOI: 10.1038/s41598-019-42957-6]
17 Zhang G, Cheng Y, Shen W, Liu B, Huang L, Xie S. Brain Regional Homogeneity Changes in Cirrhotic Patients with or without Hepatic Encephalopathy Revealed by Multi-Frequency Bands Analysis Based on Resting-State Functional MRI. *Korean J Radiol* 2018; 19: 452-462 [PMID: 29713223 DOI: 10.3348/kjr.2018.19.3.452]
18 Lin WC, Hsu TW, Chen CL, Lu CH, Chen HL, Cheng YF. Resting State-fMRI with ReHo Analysis as a Non-Invasive Modality for the Prognosis of Cirrhotic Patients with Overt Hepatic Encephalopathy. *PLoS One* 2015; 10: e0126834 [PMID: 25973853 DOI: 10.1371/journal.pone.0126834]
19 Sun Q, Fan W, Ye J, Han P. Abnormal Regional Homogeneity and Functional Connectivity of Baseline Brain Activity in Hepatitis B Virus-Related Cirrhosis With and Without Minimal Hepatic Encephalopathy. *Front Hum Neurosci* 2018; 12: 245 [PMID: 29988437 DOI: 10.3389/fnhum.2018.00245]
20 Cheng Y, Huang LX, Zhang L, Ma M, Xie SS, Ji Q, Zhang XD, Zhang GY, Zhang XN, Ni HY, Shen W. Longitudinal Intrinsic Brain Activity Changes in Cirrhotic Patients before and One Month after Liver Transplantation. *Korean J Radiol* 2017; 18: 370-377 [PMID: 28246517 DOI: 10.3348/kjr.2017.18.2.370]
21 Chen HJ, Zhang L, Jiang LF, Chen QF, Li J, Shi HB. Identifying minimal hepatic encephalopathy in cirrhotic patients by measuring spontaneous brain activity. *Metab Brain Dis* 2016; 31: 761-769 [PMID: 26886109 DOI: 10.1007/s11011-016-9799-9]
22 Zhong WJ, Zhou ZM, Zhao JN, Wu W, Guo DJ. Abnormal spontaneous brain activity in minimal hepatic encephalopathy: resting-state fMRI study. *Diagn Interv Radiol* 2016; 22: 196-200 [PMID: 26742646 DOI: 10.5152/dir.2015.15208]
23 Chen HJ, Chen QF, Yang ZT, Shi HB. Aberrant topological organization of the functional brain network associated with prior overt hepatic encephalopathy in cirrhotic patients. *Brain Imaging Behav* 2019; 13: 771-780 [PMID: 29846883 DOI: 10.1007/s11682-018-9896-y]
24 Zhan C, Chen HJ, Gao YQ, Zou TX. Functional Network-Based Statistics Reveal Abnormal Resting-State Functional Connectivity in Minimal Hepatic Encephalopathy. *Front Neurol* 2019; 10: 33 [PMID: 30761070 DOI: 10.3389/fneur.2019.00033]
25 Hsu TW, Wu CW, Cheng YF, Chen HL, Lu CH, Cho KH, Lin WC, Lin CP. Impaired small-world network efficiency and dynamic functional distribution in patients with cirrhosis. *PLoS One* 2012; 7: e35266 [PMID: 22563460 DOI: 10.1371/journal.pone.0035266]
26 Chen HJ, Wang Y, Yang M, Zhu XQ, Teng GJ. Aberrant interhemispheric functional coordination in patients with HBV-related cirrhosis and minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2014; 29: 617-623 [PMID: 24553880 DOI: 10.1007/s11011-014-9505-8]
27 Bajaj JS, Ahluwalia V, Thacker LR, Fagan A, Gavis EA, Lennon M, Heuman DM, Fuchs M, Wade JB. Brain Training with Video Games in Covert Hepatic Encephalopathy. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 316-324 [PMID: 27958279 DOI: 10.1038/ajg.2016.544]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

• 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, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴. (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: https://www.baishideng.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): 972-976

DOI: 10.11569/wcjd.v29.i16.972

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

临床实践 CLINICAL PRACTICE

左半结肠水交换结肠镜检查比较常规注气结肠镜检查的临床效果分析

冷 芳, 叶长根, 戴华梅, 胡 娜, 朱晓佳, 方 军, 向 阳, 杨 力

冷芳, 叶长根, 戴华梅, 胡娜, 朱晓佳, 方军, 向阳, 杨力, 江西省景德镇市第三人民医院消化内科 江西省景德镇市 333000

冷芳, 硕士, 主治医师, 研究方向为消化系统疾病及内镜下诊断与治疗.

基金项目: 江西省景德镇市科技计划项目, No. 20192SFZC014.

作者贡献分布: 此课题由冷芳、杨力设计; 研究过程由冷芳、杨力负责操作; 数据资料分析由冷芳、叶长根、戴华梅、胡娜、朱晓佳、方军、向阳完成; 论文写作由冷芳完成; 杨力审校.

通讯作者: 杨力, 本科, 主任医师, 333000, 江西省景德镇市珠山区东郊新厂陶阳路76号, 江西省景德镇市第三人民医院消化内科消化内科. yanglijdz@sina.com

收稿日期: 2021-05-18
修回日期: 2021-06-09
接受日期: 2021-06-28
在线出版日期: 2021-08-28

Clinical effects of left-colon water exchange colonoscopy *vs* conventional air-insufflation colonoscopy

Fang Leng, Chang-Gen Ye, Hua-Mei Dai, Na Hu, Xiao-Jia Zhu, Jun Fang, Yang Xiang, Li Yang

Fang Leng, Chang-Gen Ye, Hua-Mei Dai, Na Hu, Xiao-Jia Zhu, Jun Fang, Yang Xiang, Li Yang, Department of Gastroenterology, Third People's Hospital of Jingdezhen, Jingdezhen 333000, Jiangxi Province, China

Supported by: Science and Technology Project of Jingdezhen City, Jiangxi Province, No. 20192SFZC014.

Corresponding author: Li Yang, Bachelor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Third People's Hospital of Jingdezhen, No. 76 Taoyang Road, Dongjiao Xinchang, Zhushan District, Jingdezhen 333000, Jiangxi Province, China. yanglijdz@sina.com

Received: 2021-05-18
Revised: 2021-06-09
Accepted: 2021-06-28
Published online: 2021-08-28

Abstract

BACKGROUND

The left colon is difficult to detect *via* conventional air-injection colonoscopy, and patients may have obvious discomfort during intubation. Studies have reported that water exchange technology can significantly reduce the pain and discomfort of patients during endoscopy. However, there are still few studies comparing the clinical effects of left-colon water exchange (WE) colonoscopy with conventional air-insufflation (AI) colonoscopy.

AIM

To compare the clinical effects of left-colon WE colonoscopy and conventional AI colonoscopy.

METHODS

Consecutive patients who underwent colonoscopy at our hospital from June 2020 to December 2020 were collected and randomly divided into either a left-colon WE colonoscopy group or a conventional AI colonoscopy group at a ratio of 1:1. The success rate of ileocecal insertion, time to cecal insertion, time to colonoscope withdrawal, adenoma detection rate (ADR), visual analogue scale (VAS) score of pain, and rate of complications were recorded in the two groups.

RESULTS

A total of 276 patients were included according to the inclusion and exclusion criteria, including 139 cases in the left-colon WE colonoscopy group and 137 cases in the conventional AI colonoscopy group. There were no statistical differences in the success rate of ileocecal insertion,

time to colonoscope withdrawal, or adenoma detection rate between the two groups ($P > 0.05$). However, time to cecal insertion was significantly shorter (4.6 min *vs* 5.3 min, $P < 0.05$) and VAS score was significantly lower (2.7 *vs* 3.1, $P < 0.05$) in the left-colon WE colonoscopy group than in the conventional AI colonoscopy group. No examination-related complications such as perforation occurred in either group.

CONCLUSION

Compared with conventional AI colonoscopy, left-colon WE colonoscopy significantly shortens the time to ileocecal insertion and reduces the pain and discomfort of the patients.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colonoscopy; Water exchange; Cecal insertion time

Citation: Leng F, Ye CG, Dai HM, Hu N, Zhu XJ, Fang J, Xiang Y, Yang L. Clinical effects of left-colon water exchange colonoscopy *vs* conventional air-insufflation colonoscopy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2021; 29(16): 972-976

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/972.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.972

摘要

背景

常规注气结肠镜检查最为困难的部分在左半结肠, 插镜过程中患者可有明显不适, 有研究报道水交换技术可明显减轻内镜检查过程中患者的疼痛和不适感, 然而, 左半结肠水交换技术与常规注气比较效果如何, 目前与之相关的研究尚少.

目的

比较左半结肠水交换(water exchange, WE)结肠镜与常规注气(air insufflation, AI)结肠镜检查的临床应用效果.

方法

2020-06/2020-12, 至我院消化内镜中心行结肠镜检查的连续患者, 符合纳入标准的患者, 按照随机数字表以(1:1)进行随机分为左半结肠WE组与常规AI组, 记录两组的盲肠插镜成功率, 到达盲肠的进镜时间, 退镜时间, 腺瘤检出率(adenoma detection rate, ADR), 疼痛视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS), 穿孔等检查相关并发症.

结果

根据纳入与排除标准, 共筛选出276例患者, 其中左半结肠WE组139例, 常规AI组137例, 两组盲肠插镜成功率、退镜时间以及腺瘤检出率差异无统计学意义, 但左半结肠WE组较常规AI组进镜时间明显缩短(4.6 min *vs* 5.3 min; $P<0.05$), VAS评分更低(2.7 min *vs* 3.3 min; $P<0.05$), 两组间均无穿孔等检查相关并发症发生.

结论

左半结肠水交换结肠镜较常规注气结肠镜检查明显缩短进镜时间, 减轻患者的疼痛和不适, 值得临床选择使用.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结肠镜检查; 水交换; 进镜时间

核心提要: 左半结肠水交换(water exchange, WE)结肠镜与常规注气(air insufflation, AI)结肠镜检查相比, 未增加操作难度及设备要求, 并且明显缩短进镜时间, 减轻患者的疼痛和不适, 值得临床选择使用.

文献来源: 冷芳, 叶长根, 戴华梅, 胡娜, 朱晓佳, 方军, 向阳, 杨力. 左半结肠水交换结肠镜检查比较常规注气结肠镜检查的临床效果分析. 世界华人消化杂志 2021; 29(16): 972-976

URL: https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i16/972.htm

DOI: https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v29.i16.972

0 引言

水交换(water exchange, WE)技术是近年来应用于临床的一种新的结肠镜检查方法, 可明显减轻内镜检查过程中患者的疼痛和不适感[1]. 然而, 目前应用的WE技术需使用水泵全程注水, 明显延长了结肠镜进镜时间, 也部分限制了WE技术在临床的广泛使用[2,3]. 由于常规注气结肠镜检查最为困难的部分在左半结肠, 特别是乙状结肠, 该处弯曲且成角锐利, 插镜过程中患者可有明显不适[1]. 因此, 本研究对全程水交换结肠镜检查进行改良, 采用半程的左半结肠WE技术, 并与常规注气(air insufflation, AI)方法进行比较, 以观察左半结肠WE的临床效果.

1 材料和方法

1.1 材料 2020-06/2020-12, 至我院消化内镜中心行结肠镜检查的连续患者. 纳入标准: 年龄为18-80岁, 行非镇静结肠镜检查的患者. 排除标准: (1)既往有结直肠手术史; (2)肠道准备不充分, 肠道准备波士顿评分＜6分[4]; (3)由于肿瘤狭窄无法完成结肠镜检查的患者; (4)不能完成疼痛视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS)的患者; (5)息肉标本回收失败无病理资料. 所有患者均签署结肠镜检查知情同意书, 研究经我院伦理委员会批准通过(编号2020018). 在筛选出符合纳入标准的患者后, 按随机数字表法以1:1随机分为左半结肠WE组与常规AI组, 所有结

表 1　两组患者基线资料比较

分组	例数	性别(男/女)	年龄(岁)	体重指数(BMI)	肠道准备评分
左半结肠WE组	139	80/59	56.2 ± 14.2	23.5 ± 3.5	6.3 ± 1.1
常规AI组	137	74/63	55.6 ± 12.9	23.3 ± 3.4	6.2 ± 1.0
*P*值		0.554	0.706	0.546	0.364

WE: 水交换; AI: 注气; BMI: 体重指数.

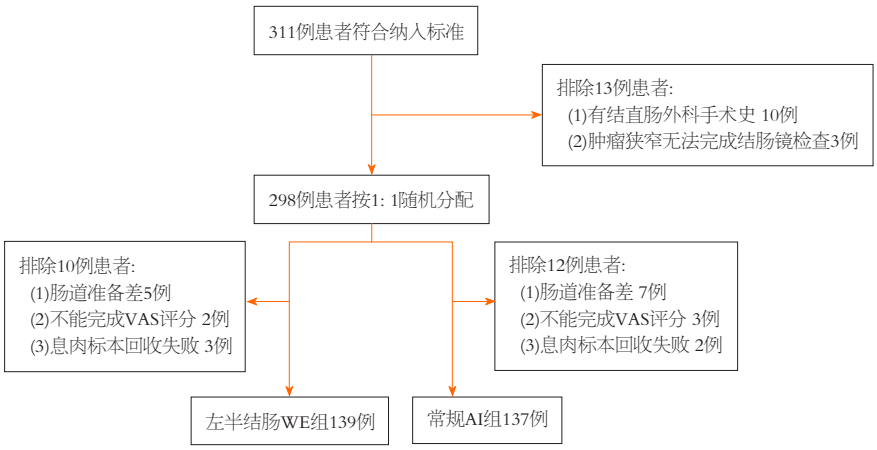

图 1　WE: 水交换; AI: 注气; ADR: 腺瘤检出率.

肠镜检查均由2名经验丰富的内镜医师实施, 他们均有10年以上结肠镜操作经验, 每年结肠镜检查例数≥500例.

1.2 *方法*　患者在检查前1天低纤维饮食. 肠道准备采用复方聚乙二醇电解质(江西恒康药业有限公司). 患者均取左侧卧位, 左半结肠WE组先行关闭注气按钮, 结肠镜插入直肠后, 使用50 mL注射器通过内镜活检孔道注入35-37 ℃温水, 以水代替空气扩充肠腔, 每次注入20-40 mL不等, 以可辨别肠腔走向为准, 达到脾曲附近后打开注气按钮, 按常规AI方法继续进镜直到盲肠; 常规AI组全程采用注入空气的方法进镜直到盲肠. 两组所有内镜下治疗均在退镜时实施. 助手用计时器记录进镜及退镜时间, 切除息肉或活检时则暂停记录时间[5].

1.3 *临床观察指标* (1)盲肠插镜成功率; (2)到达盲肠的进镜时间; (3)退镜时间; (4)腺瘤检出率(ADR); (5)VAS评分; (6)穿孔等检查相关并发症.

统计学处理　所有数据使用SPSS 25.0软件进行统计学处理. 符合正态分布的计量资料采用mean±SD表示, 组间比较采用单因素方差分析; 计数资料采用率(%)表示, 组间比较采用χ^2或Fisher精确检验, $P<0.05$为差异有统计学意义, 使用G*power 3.1软件计算检验效能.

2 结果

根据纳入与排除标准, 共筛选出276例患者(见图1). 男154例, 女122例, 年龄20-78岁, 平均55.86岁. 两组患者的基线资料(表1), 患者在性别、年龄、体重指数(body mass index, BMI)、肠道准备波士顿评分比较, 差异均无统计学意义.

左半结肠WE组与常规AI组比较, 盲肠插镜成功率无统计学差异($P>0.05$). 左半结肠WE组较常规AI组进镜时间明显缩短(4.6 min *vs* 5.3 min; $P<0.05$), 两组退镜时间(7.1 min *vs* 7.2 min)差异无统计学意义. 左半结肠WE组的腺瘤检出率倾向高于常规AI组(27.3% *vs* 22.6%), 但差异无计学意义($P = 0.366$). 两组均无穿孔等检查相关并发症发生(表2).

患者耐受情况(表3): 左半结肠WE组与常规AI组比较, VAS评分以及再次行肠镜检查意愿差异均有统计学意义($P<0.05$).

3 讨论

常规结肠镜由于需要注入空气, 在扩张肠腔的同时也容易使肠管伸展及弯曲成角, 增加进镜的困难, 导致患者腹痛、腹胀等不适, 是部分患者不愿接受甚至惧怕检查的主要原因[6], 为提高患者的耐受性, 国内外进行了众多研究, 最常用的是采用镇静药物辅助的结肠镜检查, 但开展该项技术需要麻醉医师参与监护, 而且存在镇静药物相关的循环、呼吸抑制风险[7]. 非镇静方法目前研

表 2　两组检查结果比较

分组	插镜成功率(%)	进镜时间(min)	退镜时间(min)	ADR(%)	并发症发生率(%)
左半结肠WE组(n = 139)	99.3%(138/139)	4.6 ± 1.3	7.1 ± 0.8	27.3%(38/139)	0%(0/139)
常规AI组(n = 137)	97.8%(134/137)	5.3 ± 1.9	7.2 ± 0.9	22.6%(31/137)	0%(0/137)
P值	0.307	0.001	0.174	0.366	1.000

WE: 水交换; AI: 注气; ADR: 腺瘤检出率.

表 3　两组患者耐受情况比较

分组	VAS评分	再次行肠镜意愿(%)
左半结肠WE组(n = 139)	2.7 ± 1.2	94.2%(131/139)
常规AI组(n = 137)	3.3 ± 1.5	83.4%(115/137)
P值	0.001	0.006

WE: 水交换; AI: 注气; VAS: 疼痛视觉模拟评分.

究较多的主要有注入CO_2与水WE方法, 其中注CO_2需要CO_2气泵, 多辅助用于结肠镜下微创治疗, 用于诊断性结肠镜检查较少[8-10], WE方法在插镜过程中完全以注水替代注气, 注入的水通过其重力作用减少成角, 取直肠腔弯曲处, 使肠镜更容易无攀通过, 有助于患者较为舒适的接受结肠镜检查[1,11]. 然而, 由于全结肠WE需要全程注水、吸引和交换, 特别是在肠道准备欠佳的情况下, 检查较为耗时, 插入至盲肠的时间也明显延长[2,3], 对于工作量较大的内镜中心而言, 不利于该技术的普及使用[12].

为提高结肠镜进镜效率, 本研究尝试将全程WE改进为半程WE, 仅在左半结肠注水, 结果发现与常规AI组比较, 左半结肠WE组进镜时间(4.6 min *vs* 5.3 min)明显缩短, VAS评分(2.7 *vs* 3.3)降低, 患者再次行肠镜检查意愿亦提高, 提示改良的左半结肠WE有助于缩短进镜时间, 减轻患者的疼痛和不适, 提高内镜医师的工作效率. 同时, 由于无需用水泵而是使用50 mL注射器, 注入的温水也有助于减轻结肠痉挛, 在减轻疼痛和缩短进镜时间方面兼具优势[13,14], 适合基层医院普及开展. 值得注意的是, 文献报道全结肠WE由于全程注水及吸引, 肠腔清洁度更优, 亦明显提高结肠镜腺瘤检出率[3,15]. 本组资料显示左半结肠WE组的腺瘤检出率趋向高于常规AI组(27.3% *vs* 22.6%, P = 0.366), 但差异无统计学意义. 有关左半结肠WE相关的资料目前尚少[12], 对此还需进一步的加大样本量探讨验证.

4 结论

总之, 对于非镇静结肠镜检查的患者, 相较于常规AI, 左半结肠WE方法的进镜时间短, 患者不适感少, 操作亦简单, 值得临床选择使用.

文章亮点

实验背景

常规注气结肠镜检查最为困难的部分在左半结肠, 插镜过程中患者可有明显不适, 有研究报道水交换技术可明显减轻内镜检查过程中患者的疼痛和不适感, 然而, 左半结肠水交换技术与常规注气比较效果如何, 目前与之相关的研究尚少.

实验动机

比较左半结肠水交换(water exchange, WE)结肠镜与常规注气(air insufflation, AI)结肠镜检查的临床应用效果.

实验目标

比较左半结肠水交换结肠镜检查与常规注气结肠镜的盲肠插镜成功率, 到达盲肠的进镜时间, 退镜时间, 腺瘤检出率(adenoma detection rate, ADR), 疼痛视觉模拟评分(visual analogue scale, VAS), 再次行肠镜检查意愿, 穿孔等检查相关并发症发生率, 以评估其在结肠镜检查中的临床应用价值.

实验方法

2020-06/2020-12间, 至我院消化内镜中心行结肠镜检查的连续患者, 符合纳入标准的患者, 按照随机数字表以(1:1)进行随机分为左半结肠水交换组与常规注气组, 记录两组的盲肠插镜成功率, 到达盲肠的进镜时间, 退镜时间, 腺瘤检出率, 疼痛视觉模拟评分, 穿孔等检查相关

并发症.

实验结果

左半结肠WE组与常规AI组盲肠插镜成功率分别为99.3%和97.8%, 退镜时间分别为7.1 min和7.2 min, 腺瘤检出率分别为27.3%和22.6%, 差异均无统计学意义, 但左半结肠WE组较常规AI组进镜时间明显缩短(4.6 min *vs* 5.3 min), VAS评分更低(2.7 min *vs* 3.3 min), 差异有统计学意义, 两组间均无穿孔等检查相关并发症发生.

实验结论

本研究尝试将全程水交换改进为半程水交换, 仅在左半结肠注水, 有助于缩短进镜时间, 减轻患者的疼痛和不适, 提高内镜医师的工作效率. 同时, 由于无需用水泵而是使用50 mL注射器, 适合基层医院普及开展.

展望前景

本研究仅比较了左半结肠水交换肠镜和常规注气肠镜, 后续将进一步比较全结肠水交换、左半结肠水交换、以及按需水交换(只针对常规进镜困难部位注水)三种情况下结肠镜进镜情况.

5 参考文献

1 Zhang Z, Wu Y, Sun G, Zhang J, Li J, Qiu C, Zheng X, Wang B, Yang L, Wang X. Bayesian network meta-analysis: Efficacy of air insufflation, CO_2 insufflation, water exchange, and water immersion in colonoscopy. *Dig Endosc* 2018; 30: 321-331 [PMID: 29334136 DOI: 10.1111/den.13012]

2 Hsieh YH, Tseng CW, Hu CT, Koo M, Leung FW. Prospective multicenter randomized controlled trial comparing adenoma detection rate in colonoscopy using water exchange, water immersion, and air insufflation. *Gastrointest Endosc* 2017; 86: 192-201 [PMID: 27988288 DOI: 10.1016/j.gie.2016.12.005]

3 Jia H, Pan Y, Guo X, Zhao L, Wang X, Zhang L, Dong T, Luo H, Ge Z, Liu J, Hao J, Yao P, Zhang Y, Ren H, Zhou W, Guo Y, Zhang W, Chen X, Sun D, Yang X, Kang X, Liu N, Liu Z, Leung F, Wu K, Fan D. Water Exchange Method Significantly Improves Adenoma Detection Rate: A Multicenter, Randomized Controlled Trial. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 568-576 [PMID: 27922025 DOI: 10.1038/ajg.2016.501]

4 Lai EJ, Calderwood AH, Doros G, Fix OK, Jacobson BC. The Boston bowel preparation scale: a valid and reliable instrument for colonoscopy-oriented research. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 620-625 [PMID: 19136102 DOI: 10.1016/j.gie.2008.05.057]

5 Shaukat A, Kahi CJ, Burke CA, Rabeneck L, Sauer BG, Rex DK. ACG Clinical Guidelines: Colorectal Cancer Screening 2021. *Am J Gastroenterol* 2021; 116: 458-479 [PMID: 33657038 DOI: 10.14309/ajg.0000000000001122]

6 沈军权. 水辅助结肠镜的发展现状. 世界华人消化杂志 2020; 28: 1162-1166 [DOI: 10.11569/wcjd.v28.i22.1162]

7 Cadoni S, Gallittu P, Sanna S, Fanari V, Porcedda ML, Erriu M, Leung FW. A two-center randomized controlled trial of water-aided colonoscopy versus air insufflation colonoscopy. *Endoscopy* 2014; 46: 212-218 [PMID: 24218307 DOI: 10.1055/s-0033-1353604]

8 Subramaniam S, Kandiah K, Bhandari P. CO2 insufflation or warm water infusion for unsedated colonoscopy: A randomized controlled trial in patients with chronic constipation in China. *Saudi J Gastroenterol* 2016; 22: 1-2 [PMID: 26831600 DOI: 10.4103/1319-3767.173752]

9 Azevedo R, Leitão C, Pinto J, Ribeiro H, Pereira F, Caldeira A, Banhudo A. Can Water Exchange Improve Patient Tolerance in Unsedated Colonoscopy A Prospective Comparative Study. *GE Port J Gastroenterol* 2018; 25: 166-174 [PMID: 29998161 DOI: 10.1159/000484093]

10 Leung FW. Water exchange may be superior to water immersion for colonoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 1012-1014 [PMID: 21946120 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.09.007]

11 Leung FW, Aharonian HS, Leung JW, Guth PH, Jackson G. Impact of a novel water method on scheduled unsedated colonoscopy in U.S. veterans. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 546-550 [PMID: 19231497 DOI: 10.1016/j.gie.2008.08.014]

12 Wang X, Luo H, Xiang Y, Leung FW, Wang L, Zhang L, Liu Z, Wu K, Fan D, Pan Y, Guo X. Left-colon water exchange preserves the benefits of whole colon water exchange at reduced cecal intubation time conferring significant advantage in diagnostic colonoscopy - a prospective, randomized controlled trial. *Scand J Gastroenterol* 2015; 50: 916-923 [PMID: 25639787 DOI: 10.3109/00365521.2015.1010569]

13 Hsieh YH, Koo M, Leung FW. A patient-blinded randomized, controlled trial comparing air insufflation, water immersion, and water exchange during minimally sedated colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 1390-1400 [PMID: 24890443 DOI: 10.1038/ajg.2014.126]

14 Cadoni S, Falt P, Gallittu P, Liggi M, Mura D, Smajstrla V, Erriu M, Leung FW. Water Exchange Is the Least Painful Colonoscope Insertion Technique and Increases Completion of Unsedated Colonoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13: 1972-80.e1-3 [PMID: 25956838 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.04.178]

15 Aziz M, Sharma S, Fatima R, Lee-Smith W, Sodeman T, Nawras A, Adler DG. How to increase proximal adenoma detection rate: a meta-analysis comparing water exchange, water immersion and air/CO_2 insufflation methods for colonoscopy. *Ann Gastroenterol* 2020; 33: 178-186 [PMID: 32127739 DOI: 10.20524/aog.2020.0459]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁

WCJD 世界华人消化杂志®

在线投稿: https://www.baishideng.com
www.wjgnet.com

世界华人消化杂志 2021年8月28日; 29(16): I-V
ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

《世界华人消化杂志》投稿指南

1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, print ISSN 1009-3079, online ISSN 2219-2859, DOI: 10.11569)是一份国际性同行评议和开放获取(Open Access, OA)的学术出版物. 本刊创刊于1993年1月15日, 半月刊, 每月8和28号在线出版. 《世界华人消化杂志》编辑委员会由719位专家组成, 来自中国31个省、市、自治区以及香港特别行政区.

1.2 目的 《世界华人消化杂志》的目的是发表高质量的胃肠病学和肝病学领域多学科的前沿进展和原创性文章, 促进胃肠病学和肝病学事业的发展, 提高消化系统疾病的预防、诊断和治疗水平.

1.3 范围 《世界华人消化杂志》的范围涵盖消化内科学、消化外科学、消化感染病学、消化中医药学、消化肿瘤学、消化影像学、消化内镜及介入治疗学、消化中西医结合学、消化基础研究、消化病理学和消化护理学.

1.4 栏目 《世界华人消化杂志》的栏目包括述评、基础研究、临床研究、文献综述、研究快报、临床实践和病例报告. 手稿应具有科学性、先进性、可读性和实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范且表达准确.

1.5 收录 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录. 《世界华人消化杂志》在Scopus数据库的2017年期刊评价指标包括: CiteScore: 0.04; SJR: 0.109; SNIP: 0.020. 本刊是由美国百世登出版集团有限公司(Baishideng Publishing Group, BPG)主办和出版的一份中文印刷版、电子版和网络版的国际核心学术刊物.

1.6 出版 《世界华人消化杂志》由Baishideng Publishing Group (BPG)编辑和出版. BPG联系地址如下:
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA
E-mail: wcjd@wjgnet.com
Help Desk: https://www.baishideng.com/helpdesk
https://www.wjgnet.com
Telephone: +1-925-3991568

1.7 生产 《世界华人消化杂志》由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作. 公司联系地址如下:
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
E-mail: wcjd@wjgnet.com
Help Desk: https://www.baishideng.com/helpdesk
https://www.wjgnet.com

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任王金磊, 联系地址如下:
《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
E-mail: j.l.wang@wjgnet.com
Help Desk: https://www.baishideng.com/helpdesk
http://www.wjgnet.com

1.9 编委 《世界华人消化杂志》编辑委员会成员具体名单见: http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm.

1.10 审稿 同行评议过程需要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, 否则将退稿或手稿修改后再送同行评议.

1.11 投稿 《世界华人消化杂志》在线投稿网址见: https://www.baishideng.com/.

1.12 主页 《世界华人消化杂志》主页网站见: https://www.wjgnet.com/1009-3079/index.htm.

1.13 稿酬 文章在《世界华人消化杂志》出版后, 作者可获得高质量的PDF和样刊两份作为稿酬. PDF包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底.

1.14 版权 著作权归作者所有. 出版权归Baishideng Publishing Group Inc所有.

2 手稿要求

2.1 总体标准 手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以及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), 具体见: Ann Intern Med 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 手稿应标准化, 前后统一. 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称. 医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准; 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准; 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文. 公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV 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, 通常应小写, 如weixibao nizhuanwan (胃细胞逆转丸), guizhitang (桂枝汤).

2.3 外文字符 手稿应注意大小写、正斜体与上下角标. 静脉注射应缩写为iv, 肌肉注射为im, 腹腔注射为ip, 皮下注射为sc, 脑室注射为icv, 动脉注射为ia, 口服为po, 灌胃为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PH, *H. pylori*不能写成HP, *T*1/2不能写成tl/2或T, *V*max不能写成Vmax, μ不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示, 包括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, 概率*P*和相关系数*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*), 例如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), *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), *j* (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 手稿应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 30000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+、一及-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硫酸应改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸应改为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、氯化物用mmol/L; 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、尿酸用μmol/L; 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. 国际代号应规范标识, 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. 半个月应为15 d; 15克应为15 g; 10%福尔马林应为40 g/L甲醛; 95%酒精应为950 mL/L乙醇; 5% CO_2应为50 mL/L CO_2; 1:1000肾上腺素应为1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg应改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖应改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45×10^{-6}; 离心的旋转频率(原称转速)应用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 统计学符号包括: (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$^aP<0.05$或$^bP<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则用$^cP<0.05$和$^dP<0.01$; 第三套为$^eP<0.05$和$^fP<0.01$等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995关于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1000-1500 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6347意指6000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3614.5 g±420.8 g, SD的1/3达一百多克, 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, 应该舍弃. 末尾数字小于5则舍, 大于5则进, 如过恰好等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 抹尾时只可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≤1000, 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1486 800.47565. 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 手稿全文中文格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 应鲜明而有特色, 不宜以阿拉伯数字开头, 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 论文作者的署名应按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee ofMedical Journal Editors)作者资格标准执行, 具体标准为: (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和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, 不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称, 空1格后再写省市及邮政编码, 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801.

3.7 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

3.8 中文摘要 举例: 基础和临床研究文章的摘要必须在350字. 摘要包括背景、目的、方法、结果和结论. 背景应简要阐述研究的基本原理和设想. 目的应阐明研究所要达到的预期效果. 方法必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 例如双盲、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, 应阐明其临床表现和诊断标准, 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、准确和具体, 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). 结论应给出全文总结、准确无误的观点及价值.

3.9 正文标题层次 举例: 基础和临床研究文章书写格式包括 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$^{a}P<0.05$或$^{b}P<0.01$($P>0.05$不注). 如同一表中另有一套P值, 则用$^{c}P<0.05$和$^{d}P<0.01$; 第3套为$^{e}P<0.05$和$^{f}P<0.01$. 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……, 研究[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. 期刊引用格式为: 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; 书籍引用格式为: 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.

4 手稿英文摘要书写要求

4.1 题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致.

4.2 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: “马连生”的汉语拼写法为“Lian-Sheng Ma”.

4.3 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

4.4 基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30224801.

4.5 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

4.6 摘要 英文摘要包括背景、目的、方法、结果和结论, 书写要求与中文摘要一致.

5 手稿写作格式实例

5.1 病例报告写作格式实例 举例, 见: https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/224

5.2 基础研究写作格式实例 举例, 见: https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/225

5.3 临床实践写作格式实例 举例, 见: https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/227

5.4 临床研究写作格式实例 举例, 见: https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/228

5.5 述评写作格式实例 举例, 见: https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/229

5.6 文献综述写作格式实例 举例, 见: https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/230

5.7 研究快报写作格式实例: 举例, 见: https://www.wjgnet.com/bpg/gerinfo/231

Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com

ISSN 1009-3079

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.