



Print ISSN: 2759-1379 Online ISSN: 2759-1387

医学新视角

The New Perspectives Journal of Medicine

Volume 1, Number 3
June, 2024

www.npjmjournal.com

医学新视角

The New Perspectives Journal of Medicine



Print ISSN: 2759-1379
Online ISSN: 2759-1387
Issues/Year: 6



《医学新视角》杂志（Print ISSN: 2759-1379 Online ISSN: 2759-1387）是赤门论坛（AKAMON FOURUM）推进的，公开发行的综合性医学学术刊物。本刊是International Research and Cooperation Association for Bio & Socio-Sciences Advancement (IRCA-BSSA) Group的系列同行评审期刊之一，由 International Advancement Center for Medicine & Health Research Co., Ltd. (IACMHR Co., Ltd.) 出版，并得到了IRCA-BSSA的支持。

本刊聚焦医学科技前沿、临床诊疗及基础研究转化的发展趋势，从述评、专家论坛、专题笔谈、标准与规范、新技术新方法、医药卫生策略探讨、经验交流、疑难病例析评等角度呈现国内外学术最新动态，以实现科学信息的及时共享。文章类型包括述评、原著、简报、综述、政策论坛、病例报道、通信、评论、读者来信、及新闻报道。本刊为双月刊，同时出版电子版本与纸质版本。

本刊出版的所有文章均可通过期刊官网（<https://npjmjournal.com>）免费阅读和下载。本刊文章和图表均有版权，未经本社书面许可，不得在互联网和其他媒体上转载和翻印。



Editorial and Head Office:
Pearl City Koishikawa 603
2-4-5 Kasuga, Bunkyo-ku
Tokyo 112-0003, Japan
E-mail: office@npjmjournal.com

名誉总编辑
国土 典宏/Norihiko Kokudo 国立国际医疗研究中心

总编辑
长谷川 潔/Kiyoshi Hasegawa 东京大学医学部附属病院
唐 偉/Wei Tang 国立国际医疗研究中心 / 东京大学医学部附属病院

主任编辑
有田 淳一/Junichi Arita 秋田大学大学院医学系研究科
青木 琢/Taku Aoki 独协医科大学病院
陈 燕凌/Yanling Chen 福建医科大学协和医院
黄 纪伟/Jiwei Huang 四川大学华西医院
岸 庸二/Yoji Kishi 防卫医科大学校病院
马 宽生/Kuansheng Ma 陆军军医大学西南医院
毛 先海/Xianhai Mao 湖南省人民医院
齋浦 明夫/Akio Saiura 顺天堂大学医学部附属顺天堂医院

阪本 良弘/Yoshihiro Sakamoto 杏林大学医学部附属病院
佐野 圭二/Keiji Sano 帝京大学医学部附属病院
宋 培培/Peipei Song 国立国际医疗研究中心 / 国立护理大学校

宋 天强/Tianqiang Song 天津医科大学肿瘤医院
项 灿宏/Canhong Xiang 清华大学附属北京清华长庚医院
张 洪义/Hongyi Zhang 首都医科大学附属北京天坛医院
张 克明/Keming Zhang 北京大学国际医院
张 彤/Tong Zhang 厦门大学直属翔安医院

执行编辑
蔡 雨龙/Yulong Cai 四川大学华西医院
陈 璐/Lu Chen 天津医科大学肿瘤医院
廖 锐/Rui Liao 重庆医科大学附属第一医院
马 亚楠/Ya-Nan Ma 中南大学湘雅医学院附属海口医院
宋 笑冬/Xiaodong Song 广州医科大学附属第二医院
唐 浩文/Haowen Tang 中国人民解放军总医院
武 强/Qiang Wu 天津医科大学肿瘤医院
吴 田田/Tiantian Wu 北京大学国际医院
周 迪/Di Zhou 同济大学医学院附属第十人民医院

学术编辑委员会成员
详细请参照下述在线连接：
<https://www.npmjournal.com/examples/editorial.pdf>

(2024年6月25日)



目次

述评

- 113-114 溶瘤病毒在肝癌治疗中的进展和争议
张紫頔, 吴忠均, 廖锐
- 115-119 肝癌热消融术后早期评估残瘤的现状和思考
王斐倩, 张东, 沼田和司, 唐伟

综述

- 120-125 干细胞分泌组学在再生医疗中的应用: 目前的临床进展和未来的方向
夏巨峰
- 126-131 空间组学在结直肠癌肝转移中的研究进展
黄润泽, 靳鑫, 刘钦雨, 朱卫平
- 132-136 热消融术在结直肠癌肝转移瘤中的价值争论
段文斌, 毛先海, 杨建辉, 段小辉, 龚伟智, 魏荣光, 卿宇豪, 任勇
- 137-143 孟德尔随机化分析在肝癌病因探索中的研究进展
季军, 黄纪伟
- 144-148 p53基因在肝细胞肝癌诊治中的研究进展
丁兆伟, 叶永青, 王平

论著

- 149-152 26例溃疡性结肠炎的外科治疗体会
彭良鑫, 吴强, 杨理超, 袁联文
- 153-159 手术联合术中放疗及门静脉灌注化疗在肝癌伴门静脉主干癌栓中的应用
宋泽兵, 黎航, 邵子力, 宋笑冬, 罗灿

病例报道

- 160-163 胰管多发结石1例外科手术与器官保护策略治疗体会
白燕南, 陈毅凌, 周松强, 田毅峰, 王耀东



CONTENTS

EDITORIAL

- 113-114 **Advance and controversies of oncolytic viruses in the treatment of liver cancer.**
Ziqi Zhang, Zhongjun Wu, Rui Liao
- 115-119 **Current status and thinking of early evaluation of residual carcinoma after thermal ablation of liver cancer.**
Feiqian Wang, Dong Zhang, Kazushi Numata, Wei Tang

REVIEW

- 120-125 **The use of the stem cell secretome in regenerative medicine: Current clinical advances and directions for the future.**
Jufeng Xia
- 126-131 **Advances in research on spatial omics in colorectal liver metastasis.**
Runze Huang, Jin Xin Jin, Qinyu Liu, Weiping Zhu
- 132-136 **Debate on the value of thermal ablation in colorectal liver metastases.**
Wenbin Duan, Xianhai Mao, Jianhui Yang, Xiaohui Duan, Weizhi Gong, Rongguang Wei, Yuhao Qing, Raja Jahanzaib Sadiq
- 137-143 **Recent advances in the application of Mendelian randomization to liver cancer.**
Jun Ji, Jiwei Huang
- 144-148 **The role of the p53 gene in hepatocellular carcinoma.**
Zhaowei Ding, Yongqing Ye, Ping Wang

ORIGINAL ARTICLE

- 149-152 **Experience in surgical treatment of 26 cases of ulcerative colitis.**
Liangxin Peng, Qiang Wu, Lichao Yang, Lianwen Yuan
- 153-159 **The use of surgery combined with intraoperative radiotherapy and portal vein infusion chemotherapy in hepatocellular carcinoma with major portal vein tumor thrombus.**
Zebing Song, Hang Li, Zili Shao, Xiaodong Song, Can Luo

CASE REPORT

- 160-163 **Experience with surgical treatment and an organ-sparing strategy for a case of multiple pancreatic duct stones.**
Yannan Bai, Yiling Chen, Songqiang Zhou, Yifeng Tian, Yaodong Wang

溶瘤病毒在肝癌治疗中的进展和争议

张紫颖, 吴忠均, 廖锐

重庆医科大学附属第一医院肝胆外科, 重庆 400016

摘要: 肝癌是全球范围内构成重大健康威胁的主要恶性肿瘤之一。目前, 手术、射频消融术、介入等局部治疗方法, 已很难进一步提高肝癌患者的生存率。近年来, 包括免疫疗法在内的系统治疗为肝癌患者的生存获益开辟了新的途径。其中, 溶瘤病毒 (OVs) 在肝癌治疗中的作用受到越来越高的关注。本文简要概述了近年来溶瘤病毒在肝癌治疗中的相关进展。研究证实, 溶瘤病毒能够选择性地感染并复制于肿瘤细胞中, 同时避免损伤正常组织, 从而释放免疫分子和肿瘤抗原, 促进免疫介导的肿瘤破坏。此外, 溶瘤病毒还可以激活受抑制的免疫微环境, 为克服肿瘤免疫逃避机制提供了一种潜在的解决方案。尽管溶瘤病毒在肝癌治疗中的应用还处于早期阶段并存在一定的争议, 但未来与多种治疗方式的结合有望为肝癌治疗带来突破性的进展。

关键词: 肝癌, 免疫治疗, 溶瘤病毒, 联合治疗, 免疫微环境

Advance and controversies of oncolytic viruses in the treatment of liver cancer

Ziqi Zhang, Zhongjun Wu, Rui Liao

Department of Hepatobiliary Surgery, the First Hospital Affiliated of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China.

Abstract: Liver cancer is one of the major malignant tumors that pose a major health threat worldwide. At present, local treatments such as surgery, radiofrequency ablation, and interventional therapy can no longer further improve the survival rate of patients with liver cancer. Over the past few years, systemic treatments including immunotherapy have opened up new avenues for the survival benefit of patients with liver cancer. The role of oncolytic viruses (OVs) in the treatment of liver cancer has received increasing attention. This article briefly summarizes relevant advances in use of oncolytic viruses to treat liver cancer. Studies have confirmed that oncolytic viruses can selectively infect and replicate in tumor cells while avoiding damage to normal tissues, thereby releasing immune molecules and tumor antigens and promoting immune-mediated tumor destruction. In addition, oncolytic viruses can also activate the suppressed immune microenvironment, providing a potential solution to overcoming tumor immune evasion. The use of oncolytic viruses in the treatment of liver cancer is still in its early stages and there is some controversy, but its combination with other treatments in the future is expected to result in breakthroughs in the treatment of liver cancer.

Keywords: liver cancer, immunotherapy, oncolytic viruses, combined therapy, immune microenvironment

1. 引言

肝癌是全球常见的癌症死亡原因之一, 在中国, 发病率位列第四, 也是前五大致死癌症中唯一一个发病率逐年增长的肿瘤。目前, 只有5%至15%的肝癌患者适合手术切除, 大量患者无法得到根治性治疗。除手术以外, 射频消融针对小肝癌 (<2cm) 疗效与手术相比差异不大, 但对>3cm的肿瘤有更高的复发风险。此外, 靶向治疗

(如索拉非尼、仑伐替尼、瑞戈非尼等), 则可能出现耐药, 影响疗效⁽¹⁾。值得注意的是, 随着基因工程技术的发展以及对病毒作用机制的深入理解, 溶瘤病毒有望成为肝癌理想的治疗手段。一系列临床前研究探讨了各种改进的溶瘤病毒疗法在肝细胞癌 (HCC) 中的可行性和潜力⁽²⁾。例如: JX-594是一种2013年批准的转基因牛痘病毒 (VV), 在一项一期临床研究中表明它能够减少肝脏肿瘤的血供, 导致肿瘤坏死。安柯瑞 (H101) 是一种5型腺病毒, 被修饰以删除E1B55K蛋白, 使其能够在P53功能缺陷的肿瘤细胞中选择性复制⁽³⁾。已有研究表明其与射频消融、TACE等联合治疗, 对肝癌病人的预后显著的改善, 并能重新激活被抑制的免疫系统。本文简要回顾溶瘤病毒对肝癌免疫微环境的影响以及与其他治疗方式联用的相关进展, 以期关注溶瘤病毒在肝癌治疗中的进展和存在的争议。

收稿日期: 2024-6-3; 修回日期: 2024-6-24

基金项目: 无

通讯作者/Corresponding author: 廖锐/Rui Liao, E-mail:

liaorui99@163.com

本文编辑: 唐浩文

2. 溶瘤病毒影响肝癌的免疫微环境

溶瘤病毒对于肝癌治疗的主要方式是激活被抑制的免疫微环境,相关研究表明肝癌免疫逃逸的机制就在于它能够募集调节性T细胞(Treg)、肿瘤相关巨噬细胞(TAMs),并阻断CD4⁺T细胞、NK细胞的生成⁽⁴⁾。近期有团队使用糖基化PEG掩蔽的溶瘤病毒对患有肝癌的小鼠进行了全身递送,发现肿瘤微环境中存在的Treg细胞的数量显著减少,逆转了Treg细胞诱导的免疫抑制状态。此外,还诱导CD8⁺T细胞和NK细胞更多地浸润到肿瘤中,促进更健康的抗肿瘤反应⁽⁵⁾。迄今为止,表达转基因GM-CSF和β-半乳糖苷酶的溶瘤病毒疫苗JX-594是HCC中临床证据最多的溶瘤病毒,这些临床前实验同样表明溶瘤病毒激活了肝癌免疫微环境中的NK细胞、T细胞。而在肝脏免疫微环境当中发挥重要作用的髓源性抑制细胞(MDSCs)、树突状细胞(DCs)则没有明确报道。不过有研究表明,溶瘤病毒能显著下调胶质瘤微环境中的这两种细胞因子。因此,溶瘤病毒是否同样能够调节肝癌细胞中的髓源性抑制细胞和树突状细胞,从而破除肝癌的免疫逃逸机制,值得深入研究。

3. 溶瘤病毒联合治疗在肝癌中的进展

有团队使用竞争风险的方法评估了重组人5型腺病毒(H101)在经动脉化疗栓塞(TACE)治疗HCC患者中的疗效。结果表明,相较于单独使用TACE或者溶瘤病毒治疗的患者,联合治疗患者的3年总生存率显著增加,并且一定程度上减少了血管的浸润⁽⁶⁾。与TACE一样,联合射频消融术在肝癌的治疗中也使肝癌患者生存获益。近期的一篇病例报告显示,射频消融与溶瘤病毒联用提升了晚期肝癌患者的中位生存时间。作者推断,射频消融术通过热效应诱导机体的炎症反应,而溶瘤病毒同样能够激活肝癌的免疫微环境,二者存在协同共刺激作用,因此改善了患者的预后⁽⁷⁾。另一项研究报道,索拉非尼与JX-594联合使用后,在三名HCC患者中产生了客观的肿瘤反应,优于单药治疗。虽然确切的机制尚不清楚,但索拉非尼和溶瘤病毒都具有抗血管生成特性,这可能有助于解释观察到的协同抗肿瘤作用⁽⁸⁾。OVH-aMPD-1与抗Tigit协同作用,在MC38和Hepa1-6植入皮下肿瘤模型中均表现出增强的免疫应答,显示出溶瘤病毒与免疫检查点抑制剂(ICI)联用后改善肝癌患者预后的潜力⁽⁹⁾。

4. 未来与争议

溶瘤病毒显示出治疗肝癌的光明前景。免疫疗法,特别是溶瘤病毒,通过缓解免疫抑制和解决肿瘤免疫逃逸,为临床管理提供了新的前景。此外,溶瘤病毒与其他治疗方式结合时具有灵活性,许多研究已经证明了它的协同作用,从而为肝癌治疗提供了更多的治疗选择。然而,由于需要在肿瘤内注射以及相关的技术挑战,溶瘤病毒目前的临床应用受到限制。瘤内注射是否会破坏肿瘤内环境,促进肿瘤的生长也需要进一步的探讨。同

时,目前溶瘤病毒种类繁多,没有证据支持最优选择。由于缺乏对溶瘤病毒治疗肝癌的理论机制深入了解、疗效是否肯定、最佳治疗方式,目前尚无组织有信心开展全球多中心的临床试验。因此,优化未来溶瘤病毒治疗策略对于推进其在肝癌领域的应用具有重要意义。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢:无。

作者贡献声明:无。

参考文献

1. Anwanwan D, Singh SK, Singh S, *et al.* Challenges in liver cancer and possible treatment approaches. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2020;1873:188314.
2. Forner A, Reig M, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet.* 2018;391:1301-1314.
3. Shen K-Y, Zhu Y, Xie S-Z, *et al.* Immunosuppressive tumor microenvironment and immunotherapy of hepatocellular carcinoma: current status and prospectives. *J Hematol Oncol.* 2024;17:25.
4. Wang G, Zhang Z, Zhong K, *et al.* CXCL11-armed oncolytic adenoviruses enhance CAR-T cell therapeutic efficacy and reprogram tumor microenvironment in glioblastoma. *Mol Ther.* 2023;31:134-153.
5. Liang Y, Wang B, Chen Q, *et al.* Systemic delivery of glycosylated-PEG-masked oncolytic virus enhances targeting of antitumor immuno-virotherapy and modulates T and NK cell infiltration. *Theranostics.* 2023;13:5452-5468.
6. He CB, Lao XM, Lin XJ. Transarterial chemoembolization combined with recombinant human adenovirus type 5 H101 prolongs overall survival of patients with intermediate to advanced hepatocellular carcinoma: a prognostic nomogram study. *Chin J Cancer.* 2017;36:59.
7. Xie A, Xia F, Pei J, *et al.* Advanced hepatocellular carcinoma treated by radiofrequency ablation combined with oncolytic virus and anti-PD-1 antibody therapy: a case report and literature review. *J Int Med Res.* 2021;49:3000605211044596.
8. Lin D, Shen Y, Liang T. Oncolytic virotherapy: basic principles, recent advances and future directions. *Signal Transduct Target Ther.* 2023;8:156.
9. Hussein F, Delord JP, Fournel-Federico C, *et al.* Vectorized gene therapy of liver tumors: proof-of-concept of TG4023 (MVA-FUC1) in combination with flucytosine. *Ann Oncol.* 2017;28:169-174.

引用本文 / Article Citation:

张紫颀, 吴忠均, 廖锐. 溶瘤病毒在肝癌治疗中的进展和争议. *医学新视角.* 2024;1(3):113-114. doi:10.5582/npjm.2024.01021

Ziqi Zhang, Zhongjun Wu, Rui Liao. Advance and controversies of oncolytic viruses in the treatment of liver cancer. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):113-114. doi:10.5582/npjm.2024.01021

肝癌热消融术后早期评估残癌的现状和思考

王斐倩¹, 张东², 沼田和司³, 唐伟⁴

¹西安交通大学第一附属医院超声医学科, 西安市 710061; ²西安交通大学第一附属医院肝胆外科, 西安市 710061; ³横浜市立大学附属市民医疗中心消化病器中心, 日本横浜 232-0024; ⁴日本国立国际医疗研究中心, 日本东京162-8655

摘要: 肝癌热消融术后早发现残癌对指导肝癌患者治疗和预后具有重要意义。但是目前的困扰是: 难以通过影像学手段鉴别消融导致的炎症反应带和残癌。我们以当前中国肝癌消融的指南中对术后随访的指导意见为话题, 回顾了文献中报道的术后早期鉴别炎症反应带和残癌的研究。作者从中国超声医生、肝胆外科医生的视角就术后影像学随访的合理时间、炎症反应带和残癌的影像学鉴别诊断方法提出自己的观点和设想, 以期肝癌的消融术后评估提供一些策略和思路。

关键词: 肝癌, 消融, 残癌, 炎症反应带, 超声造影

Current status and thinking of early evaluation of residual carcinoma after thermal ablation of liver cancer

Feiqian Wang¹, Dong Zhang², Kazushi Numata³, Wei Tang⁴

¹Department of Ultrasound, The First Hospital Affiliated with Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China;

²Department of Hepatobiliary Surgery, The First Hospital Affiliated with Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China;

³Gastroenterological Center, Yokohama City University Medical Center, Yokohama 232-0024, Japan; ⁴National Center for Global Health and Medicine, Tokyo 162-8655, Japan

Abstract: Early detection of a residual tumor after thermal ablation of liver cancer is important to guiding treatment and patient prognosis. However, differentiating the inflammatory reaction band (IRB) and residual cancer with imaging is difficult. Taking the guidance on postoperative follow-up in the current guidelines for liver cancer ablation in China as the topic, we reviewed reports on identification of the IRB and residual carcinoma soon after surgery. From their viewpoint as ultrasonographers and hepatobiliary surgeons in China, the authors offer their own opinions and assumptions on the proper timing of follow-up with postoperative imaging and methods of differentially diagnosing the IRB and residual cancer with imaging, in order to provide some strategies and ideas for the postoperative evaluation of liver cancer ablation.

Keywords: liver cancer, ablation, residual carcinoma, inflammatory reaction band, contrast-enhanced ultrasound

2024年2月《中华肝脏病杂志》上发表的《影像引导原发性肝癌消融指南(2023版)》⁽¹⁾在消融对肝癌的治疗中的重要作用给予了多次强调。指南推荐①消融做为<5cm的肝癌的适应症, 可以达到根治效果。②消融联合栓塞治疗>3 cm 肿瘤以提高肿瘤灭活率、降低并发症发生率(证据等级 2b, 强推荐)。③消融联合免疫检查点抑制剂等全身药物治疗进展期肝癌(证据等级 2b, 中等推荐)。由于血管热沉积效应、外周小静脉浸润区域宽、以

及卫星病灶与癌灶主要病灶之间的距离短等原因⁽²⁾, 热消融治疗肝癌的最大缺点是残留肿瘤的发生率高。文献报道: 热消融直径3cm以下和3cm以上的肝癌的消融不充分率分别是15.8%⁽³⁾、55-77%⁽⁴⁾。肿瘤越大, 越容易出现消融不全。可能的原因是: 直径<3.0cm、形态规则的肝细胞癌(Hepatocellular carcinoma, HCC)仅使用一个电极消融, 而对于肿瘤直径为3 cm以上的HCC, 则需要植入至少两个电极、多次布针、多点消融⁽⁵⁾。消融后立刻会出现气化现象导致病灶图像显示不清, 影响第二针的视野和消融效果。因此, 肝癌消融术后需要评估病灶(尤其是大病灶)消融的充分性、以便确定是否需要再次消融。

影像学技术是消融的重要辅助工具。《影像引导原发性肝癌消融指南(2023版)》强烈推荐将超声做为引导和监控肝癌消融操作的工具, 推荐等级2b。指南指出增强扫描的病灶识别率高于平扫。超声及超声造影(contrast enhanced ultrasound, CEUS)技术具有实时、经济、无辐

收稿日期: 2024-6-12; 修回日期: 2024-6-25

基金项目: 西安交通大学第一附属医院临床研究面上项目(XJTU1AF-CRF-2023-025); 希思科-朝阳肿瘤研究基金项目(Y-Young2022-0162)

通讯作者/Corresponding author: 王斐倩/Feiqian Wang, E-mail: wangfeiqian@126.com

本文编辑: 吴田田

射、无肝肾毒性和可以多次重复检查等优点⁽⁶⁾，因此目前超声和CEUS已经毋庸置疑地成为肝癌消融治疗的主要影像学辅助手段。《影像引导原发性肝癌消融指南（2023版）》延续了之前国内外多个肝癌指南的意见，提出应于消融后1个月内进行增强影像学的复查，以判断消融是否完全、有无残留。指南将时间设定在1个月内而不是更长的时间，可能考虑到当随访时间过长时，评价的将不再是消融不全造成的残癌，而是新发灶。Bouda D等人指出：肝癌热消融术后3个月后再进行影像学评估时，若发现肿瘤消融灶周围存在造影剂/对比剂增强的现象，应当被认定为术后新发肿瘤（即“局部肿瘤进展”），而不是“消融不完全”导致的残癌⁽⁷⁾。我们认同这种观点，但是在多方面考虑了临床需求后，我们认为指南推荐的这个时间稍晚、时间范围过于宽泛。我们建议在术后早期（几小时到一周内）进行影像学评估。第一，即刻评估的视野不好。因为消融操作一般采用超声实时引导，消融即刻会影响超声观察视野的二氧化碳微气泡。这些微气泡一般在三小时内消散⁽⁸⁾。第二，如果一周后才开始评估，会增加患者的治疗难度（包括但不限于治疗费用和时间）。大宗数据报道射频消融（radiofrequency ablation, RFA）的平均住院日是2-7天⁽⁹⁾。如果在出院后的随访中发现肿瘤残留，则需要再次住院、再次消融。这样的做法不利于节约医疗资源、减轻患者经济和时间负担。更重要的是：越晚评估、肿瘤转移的风险就会越高。新近依托乳腺癌动物的研究发现：消融不全会通过上调IL-6、HGF、VEGF等一系列途径刺激肿瘤细胞增殖、肿瘤微血管生成，从而加速肿瘤进展。尤其是连续观察到术后第7天时，消融不全组的

消融灶远处肿瘤的直径增长较假手术对照组出现具统计意义的差别（ $P < 0.001$ ）⁽¹⁰⁾。基于6年中284个HCC病灶的RFA的回顾性研究发现：消融不全是HCC患者的无进展生存率和总生存率的独立危险因素⁽⁴⁾。这些证据提示：如果能越早发现消融不完全而采取积极的处理措施，那么导致远处转移的风险就会越小。

消融术后术区边缘会出现环状炎性反应带（inflammatory reaction band, IRB）⁽¹¹⁾，这是肝脏自身对热损伤的应答。肿瘤消融后几分钟内即出现IRB，并逐渐在治疗后数月甚至数年从周围到中心坏死吸收、被肉芽组织所取代⁽⁷⁾。文献报道：在RFA术后1个月、1-3个月、术后6个月时IRB存在的几率分别为89%、56%、22%⁽¹²⁾。随着时间的延长，IRB逐渐消失。IRB在增强影像学图像上表现为动脉期的良性增强（benign periablation enhancement, BPE）⁽¹³⁾。一直以来很多学者和临床医生认为IRB和同样在增强影像学上表现为动脉期对比剂强化或造影剂高灌注的残癌难以鉴别。指南将影像学评估的时间点设在消融术后一个月内，由于此时IRB仍然存在，故很难避免残癌被误诊、漏诊为IRB。怎样在术后早期准确鉴别IRB和残癌是目前亟待解决的临床问题。

目前有一些学者在术后早期鉴别IRB和残癌上做了积极的探索。在影像学上对RFA术后消融区的形态学分析有助于残癌的诊断。在消融后数小时内的CEUS图像上，典型的IRB引起的外周边缘增强可呈均质、边缘模糊的环形或弧形、或形态不规则，厚度均匀或薄厚不均，但大多较完全地包裹消融坏死区⁽¹⁴⁾。而典型的残癌多为不均质、局灶形、不规则、不连续性外周增强⁽¹⁵⁾（图1）。增强CT及增

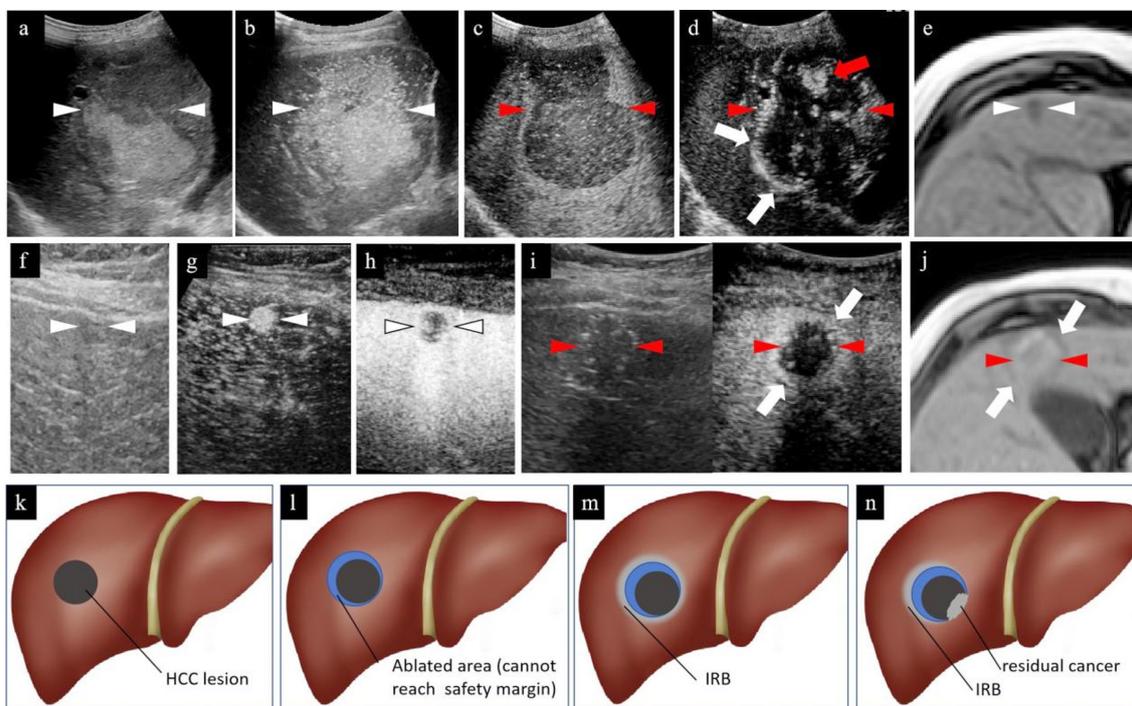


图1. 增强影像学显示的RFA术后较典型的IRB和残癌（a-d）病例1：图像较典型的消融不全；（a-c）分别为术前灰阶超声、术前CEUS动脉期（病灶呈高增强）和术前CEUS血管后期（病灶呈低增强）；（d）术后CEUS动脉期：消融灶内边缘处局灶性高增强，提示消融不充分，存在残癌。消融灶边缘处还存在不完整、薄厚不均的线状高增强，提示IRB。（e-j）病例2：图像较典型的IRB。（e）消融前MR平扫（该患者肾功能不全，不能实施增强CT和增强MRI检查），（f-h）分别为术前灰阶超声、术前CEUS动脉期（病灶呈高增强）和术前CEUS血管后期（病灶呈低增强），（i）为术后CEUS，左边为同屏的灰阶超声，右边为CEUS的动脉期，消融灶周边有环状高增强，提示IRB。（j）消融术后3个月的MR平扫，消融灶周边环状低信号为IRB。上述图像中白色无尾箭头显示病灶的位置，红色无尾箭头显示消融范围，红色有尾箭头（d）显示残癌，白色有尾箭头显示IRB。（k-n）示意图显示RFA术前的肝癌癌灶（k）、消融区域（l）、IRB（m、n）和残癌（n）。缩写：IRB，炎性反应带；CEUS，超声造影；RFA，射频消融。

表1. CEUS和ULM的比较

	CEUS	ULM
原理	追踪微泡背向散射强度	追踪、定位微泡的位置
成像结果	动态	静态
最小显示度	300微米	25微米
成像质量受制因素	呼吸运动、造影剂浓度、肺气、深部组织的声衰减	呼吸运动、造影剂浓度、肺气、深部组织的声衰减
流速测定	间接、依赖角度	直接、不依赖角度
目前主要应用方向	临床+科研	基于动物实验的科研
应用的脏器	肝脏、肾脏、胆囊、胰腺、乳腺、甲状腺、睾丸、血管（斑块）、肾上腺、前列腺、淋巴结	肝脏、肾脏、乳腺、颅脑、血管（斑块）、胰腺、前列腺、骨骼肌、淋巴结、眼部、脊髓

缩写：CEUS，超声造影；ULM，超声定位显微镜。

强MRI也可以观察到这种形态学改变⁽¹⁶⁻¹⁸⁾，但临床上遇到的各种各样IRB和残癌的图像可能会不典型，仅依靠增强影像学形态差异鉴别残癌及IRB难度较大⁽¹⁹⁾。采用18F-氟脱氧葡萄糖（18F-FDG）的正电子发射断层扫描（Positron Emission Tomography, PET）/CT动物实验发现：残癌和IRB均出现FDG摄取增加，提示残癌和IRB均具有高代谢性⁽²⁰⁾。用MRI（提供解剖学信息）和PET（提供功能学信息）融合成像发现残癌的平均最大标准化摄取率显著高于IRB（ 8.64 ± 0.59 vs 2.78 ± 0.23 , $P < 0.001$ ）⁽²¹⁾。但是PET有辐射，而且两种高价检查合并使用的代价过大。MR加权成像的ADC值定量分析结合肝特异性MR造影剂可以帮助区分IRB（高ADC值和缺乏肝胆期图像缺乏低信号）和残癌（低ADC值和肝胆期图像低信号），但是临床证据也有限⁽⁷⁾。

增强影像学鉴别IRB和残癌的研究基本都以“急性炎症灶和癌灶的血供特点不同”为依据。目前全球广泛使用的超声造影剂是磷脂类成分包裹惰性气体的二代微泡造影剂。这种造影剂为纯血池造影剂，只在血管中循环，无法通过血管内皮细胞进入组织间隙⁽⁶⁾。因此，相比能够弥散到组织间隙的增强MR和增强CT对比剂，CEUS反映的是更真实的血管内（而非组织间隙）的灌注情况⁽²²⁾。近年来有一些研究用CEUS来尝试做消融术后即刻和短期内评估，并有一些阳性发现。例如，日本近畿大学的工藤正俊教授提出，虽然IRB和残癌在CEUS动脉期都表现为高增强，但是两者可以用全氟丁烷微球（商品名为示卓安/Sonazoid）为造影剂的CEUS的库否期鉴别。IRB在库否期较邻近肝实质呈等增强，而残癌表现为造影剂灌注缺损⁽¹⁹⁾，但是这种发现并没有得到大数据证实和广泛认同。灰阶超声是CEUS的成像基础。有基于灰阶超声对消融灶术后连续观察的研究认为：相比术后2天、一周、一个月，术后3小时观察到的消融灶轮廓最清晰⁽⁸⁾。但有趣的是：已发表的CEUS研究都未得出术后3小时残癌和IRB鉴别效果最好的结论。复旦大学超声科王文平教授团队提出：可采用CEUS定量分析技术早期鉴别兔VX2肝肿瘤消融术后残癌及IRB⁽²³⁾。他们发现残癌与IRB的时间-强度曲线形态不同。残癌的时间-强度曲线形态以速升速降型为主（22/34, 64.7%），而IRB则多表现为速升缓降型（20/36, 55.6%）（ $P = 0.002$ ）。鉴别诊断效果最好的时刻是在术后第三天。IRB和残癌的CEUS鉴别也被应用于结肠癌RFA术后的研究，术后即刻评估即有不同，但是术后第7天效果最好⁽²⁴⁾。遗憾的是，也有人依据肝癌动物实验的阴性结果认为CEUS无法在术后鉴别IRB和残癌⁽¹¹⁾。根据以上相悖的结果，我们推测：单纯凭借CEUS对

IRB和残癌的鉴别能力有限，需要在CEUS的基础上追加或联合其他方法技术，起到放大IRB和残癌的血供特征的作用。根据此思路，有研究采用负荷CEUS的方法在术后第2、4、7、14、21天对IRB和残癌鉴别诊断⁽²⁵⁾。即在注射扩血管药物去氧肾上腺素前、后分别实施CEUS。注射去氧肾上腺素后，IRB的造影增强更明显。而残余肿瘤的灌注参数无明显变化（ $P < 0.05$ ）。鉴别诊断的最显著时间是术后7天。还有研究提出设想：在造影剂微泡上携带血管活性药物，用靶向血管内皮生长因子受体（Vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR）-2的CEUS来鉴别IRB和残癌⁽¹¹⁾，但是这种设想尚未付诸实践。上述研究需要注射扩血管药物或改变已经批准使用在临床上的造影剂的性状，应用起来最大的难度是伦理问题。Wu等发现：将CEUS谐波成像（contrast harmonic imaging, CHI）和微血流成像（microflow imaging, MFI）协同使用、并定量分析血流量、血容量，可以提高残癌和IRB鉴别诊断的准确率⁽²⁴⁾，有很好的应用前景。

值得注意的是：上述Wu等的研究发现IRB存在比残癌更具统计学意义的血容量、血流量增高⁽²⁴⁾，这一发现提示可以从微血管的更多细节差异来寻找鉴别IRB、残癌的突破口。肝癌和急性炎症发生时血流动力学的差异具有组织病理学依据。肝癌形成的长期过程中发生了微血管形态、方向、密度、流速的复杂改变，包括门静脉的反向并血流量增加、非配对小动脉形成并血流量增加、肝血窦和肝静脉闭塞、动静脉瘘形成等⁽²⁶⁾。而急性炎症的血管变化相对简单直接，是迅速但相对短暂的局部血流量增加，微血管通透性增加，以及不同类型白细胞的相继募集⁽²⁷⁾。笔者的团队目前在开展CEUS微血流成像（又名超声定位显微镜技术，Ultrasound localization microscopy, ULM⁽²⁸⁾）的临床肝癌研究。ULM依托高帧频CEUS，利用造影剂微泡的位置来形成图像，并采用后处理算法通过跟踪微泡的位置来测量血流速度、方向、管径、分布密度、弯曲度、空间构架，以此构建静态的微血管图像⁽²⁹⁾（表1）。该技术改善了CEUS不能检测血流速度的缺陷，检测流速也不像普通多普勒超声那样依赖多普勒角度，因此极大地提高了对微血管检测的高敏感性（对人肝脏微血管的检测精度可以达到153微米⁽³⁰⁾）、提供了较常规CEUS更丰富的微血管信息（图2）。目前ULM已经初步应用在肝癌兔⁽³¹⁾、肝切除后再生的大鼠⁽³²⁾、肝硬化大鼠⁽³³⁾、健康成人、急性肝衰竭⁽³⁰⁾、罹患局灶性结节性增生的⁽³⁴⁾患者的肝脏微血流评估上。我们设想将这种技术应用到消融术后IRB和残癌的早期鉴别诊断上，不仅仅像之前的增强影像学方法依据基本的

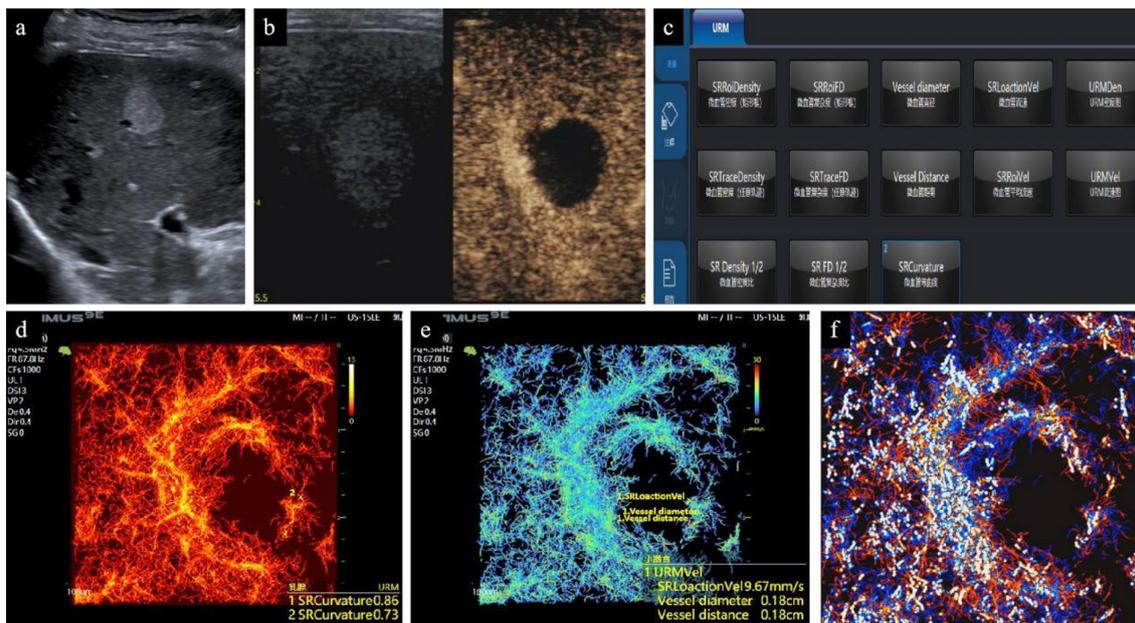


图2. 肝癌CEUS及ULM成像。(a)灰阶超声下显示肝右前叶近肝表面一大约18×15mm的边界清晰、类圆形病灶，呈不均匀稍高回声。(b) CEUS动脉期，显示病灶边缘处丰富环状高增强。(c) ULM测量面板，显示血管直径、复杂度、弯曲度、微血管距离及密度、微血管平均流速等13项可定量测量指标；(d)微血管密度图（显示测量了两处微血管弯曲度分别为0.86和0.73）；(e)血流速度图（显示测量两处微血管直径均约1.8mm）。(f)微血管方向图（为动态图，显示了微血管的复杂度）。缩写：CEUS，超声造影；ULM，超声定位显微镜。

微血管流量改变来诊断，更是从微血管的形态、密度、血流方向的角度全面地鉴别IRB和残癌。由于ULM既不改变超声造影剂的性状、也无需追加其他药物，只是对造影图像的后处理分析，所以不需要新的伦理审查，更不会增加患者经济负担、检查时间和不良反应。我们认为目前这种方案最具切实的可实施性。

总之，我们认为：消融术后需要早期（几小时到一周内）评估消融充分性，这是改善患者预后（减少肿瘤进展）、有针对性地制订后续方案、节约医疗资源、减轻患者经济时间负担的重要环节。目前需要重点解决的问题是怎样在术后早期准确地鉴别IRB和残癌，而不是等IRB逐渐消退时再影像学随访有无残癌。基于CEUS的微血管研究可能是一个有前景的策略。但是，目前肝癌热消融术后早期评估残癌的研究都处于动物试验阶段或设想中，尚未得到临床证实和推广。解决术后早期评估残癌的问题可能需要经历较漫长的过程。

利益冲突：所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢：无。

作者贡献声明：无。

参考文献

1. 梁萍, 于杰. 影像引导原发性肝癌消融指南 (2023版). 中华肝脏病杂志. 2024;32:97-112.
2. Wu S, Li Z, Yao C, *et al.* Progression of hepatocellular carcinoma after radiofrequency ablation: Current status of research. *Front Oncol.* 2022;12:1032746.
3. Ayav A, Germain A, Marchal F, *et al.* Radiofrequency ablation of unresectable liver tumors: factors associated with incomplete

- ablation or local recurrence. *Am J Surg.* 2010;200:435-439.
4. Tan J, Tang T, Zhao W, *et al.* Initial Incomplete Thermal Ablation Is Associated With a High Risk of Tumor Progression in Patients With Hepatocellular Carcinoma. *Front Oncol.* 2021;11:760173.
5. Mu S, Chen Q, Li S, *et al.* Incomplete radiofrequency ablation following transarterial chemoembolization accelerates the progression of large hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Ther.* 2023;19:924-932.
6. Wang F, Numata K, Nihonmatsu H, *et al.* Application of new ultrasound techniques for focal liver lesions. *J Med Ultrason.* (2001). 2020;47:215-237.
7. Bouda D, Lagadec M, Alba CG, *et al.* Imaging review of hepatocellular carcinoma after thermal ablation: The good, the bad, and the ugly. *J Magn Reson Imaging.* 2016;44:1070-1090.
8. Nishigaki Y, Hayashi H, Tomita E, *et al.* Usefulness of contrast-enhanced ultrasonography using Sonazoid for the assessment of therapeutic response to percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2015;45:432-440.
9. Jin S, Tan S, Peng W, *et al.* Radiofrequency ablation versus laparoscopic hepatectomy for treatment of hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *World J Surg Oncol.* 2020;18:199.
10. Markezana A, Goldberg SN, Kumar G, *et al.* Incomplete thermal ablation of tumors promotes increased tumorigenesis. *Int J Hyperthermia.* 2021;38:263-272.
11. Yi H, Cai B, Ai X, *et al.* Early Identification of Residual Tumors following Microwave Ablation Using Contrast-Enhanced Ultrasonography in a Rabbit VX2 Liver Cancer Model. *Biomed Res Int.* 2020;2020:2462058.
12. 闫玉昌, 靳二虎, 杨正汉, 等. R₂* 值在肝细胞癌射频消融术后病灶边缘强化灶鉴别诊断中的应用. *放射学实践.* 2021;4:431-435.
13. Yue X, Dong X, Huang M, *et al.* Early Assessment of Response to Radiofrequency Ablation With CT Perfusion Imaging in Rabbit VX2 Liver Tumor Model. *Front Oncol.* 2021;11:728781.
14. Limanond P, Zimmerman P, Raman S.S, *et al.* Interpretation

- of CT and MRI after radiofrequency ablation of hepatic malignancies. *AJR Am J Roentgenol.* 2003;181:1635-1640.
15. Sparchez Z, Radu P, Anton O, *et al.* Contrast enhanced ultrasound in assessing therapeutic response in ablative treatments of hepatocellular carcinoma. *J Gastrointestin Liver Dis.* 2009;18:243-248.
 16. Mendiratta-Lala M, Masch WR, Shampain K, *et al.* MRI Assessment of Hepatocellular Carcinoma after Local-Regional Therapy: A Comprehensive Review. *Radiol Imaging Cancer.* 2020;2:e190024.
 17. Schraml C, Clasen S, Schwenzer N.F., *et al.* Diagnostic performance of contrast-enhanced computed tomography in the immediate assessment of radiofrequency ablation success in colorectal liver metastases. *Abdom Imaging.* 2008;33:643-651.
 18. Inzerillo A, Meloni M.F., Taibbi A, *et al.* Loco-regional treatment of hepatocellular carcinoma: Role of contrast-enhanced ultrasonography. *World J Hepatol.* 2022;14:911-922.
 19. Minami Y, Nishida N, Kudo, M. Therapeutic response assessment of RFA for HCC: contrast-enhanced US, CT and MRI. *World J Gastroenterol.* 2014;20:4160-4166.
 20. Purandare NC, Rangarajan V, Shah SA, *et al.* Therapeutic response to radiofrequency ablation of neoplastic lesions: FDG PET/CT findings. *Radiographics.* 2011;31:201-213.
 21. Kan X, Ren Y, Li X, *et al.* Value of ¹⁸F-FDG PET/MR Imaging in the Early Evaluation of Treatment Response following Radiofrequency Ablation of Liver Cancer in a Rabbit Model. *J Vasc Interv Radiol.* 2022;33:452-459.
 22. Malone CD, Fetzter DT, Monsky WL, *et al.* Contrast-enhanced US for the Interventional Radiologist: Current and Emerging Applications. *Radiographics.* 2020;40:562-588.
 23. 韩红, 金赞杰, 刘嵘, 等. 超声造影定量分析技术在早期鉴别兔VX2肝肿瘤消融后残癌与炎症带中的应用价值. *复旦学报(医学版).* 2022;49:44-49.
 24. Wu H, Patel R.B., Zheng Y, *et al.* Differentiation of benign periablational enhancement from residual tumor following radiofrequency ablation using contrast-enhanced ultrasonography in a rat subcutaneous colon cancer model. *Ultrasound Med Biol.* 2012;38:443-453.
 25. Kan X, Zhang Y, Zheng C, *et al.* Stress Test of Contrast-Enhanced US with Phenylephrine in a Rabbit VX2 Liver Tumor Model: Differentiating Benign Periablational Enhancement from Residual Tumor after Radiofrequency Ablation. *J Vasc Interv Radiol.* 2016;27:1077-1085.
 26. Kitao A, Zen Y, Matsui O, *et al.* Hepatocarcinogenesis: multistep changes of drainage vessels at CT during arterial portography and hepatic arteriography--radiologic-pathologic correlation. *Radiology.* 2009;252:605-614.
 27. Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal JT, *et al.* Williams Hematology "Part IV: Molecular and Cellular Hematology. Chapter 19: The Inflammatory Response". McGraw-Hill Education; 2015. <https://accessmedicine.mhmedical.com/Content.aspx?bookid=1581§ionid=94302794> (accessed June 13, 2024).
 28. Errico C, Pierre J, Pezet S, *et al.* Ultrafast ultrasound localization microscopy for deep super-resolution vascular imaging. *Nature.* 2015; 527, 499-502.
 29. Yi H.M., Lowerison M.R., Song P.F., *et al.* A Review of Clinical Applications for Super-resolution Ultrasound Localization Microscopy. *Curr Med Sci.* 2022;42:1-16.
 30. Huang C, Zhang W, Gong P, *et al.* Super-resolution ultrasound localization microscopy based on a high frame-rate clinical ultrasound scanner: an in-human feasibility study. *Phys Med Biol.* 2021;66:10.1088/1361-6560
 31. Zhang W, Lowerison M.R., Dong Z, *et al.* Super-Resolution Ultrasound Localization Microscopy on a Rabbit Liver VX2 Tumor Model: An Initial Feasibility Study. *Ultrasound Med Biol.* 2021; 47, 2416-2429.
 32. Wang R, Hu Y, Huang L, *et al.* in In-vivo monitoring of liver regeneration by ultrasound localization microscopy: A feasibility study, 2022 IEEE International Ultrasonics Symposium (IUS). 2022;IEEE:2022,1-4.
 33. Zhang W, Huang C, Yin T, *et al.* Ultrasensitive US Microvessel Imaging of Hepatic Microcirculation in the Cirrhotic Rat Liver. *Radiology.* 2023;307:e220739.
 34. Zeng Q, Liang P. Super-Resolution US Imaging of Focal Nodular Hyperplasia. *Radiology.* 2024; 311, e233130.
- 引用本文 / Article Citation:
- 王斐倩, 张东, 沼田和司, 唐伟. 肝癌热消融术后早期评估残癌的现状 & 思考. *医学新视角.* 2024;1(3):115-119. doi:10.5582/npjm.2024.01022
- Feiqian Wang, Dong Zhang, Kazushi Numata, Wei Tang. Current status and thinking of early evaluation of residual carcinoma after thermal ablation of liver cancer. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):115-119. doi:10.5582/npjm.2024.01022

干细胞分泌组学在再生医疗中的应用：目前的临床进展和未来的方向

夏巨峰^{1,2}

¹施普林格医学健康部, 施普林格自然集团, 日本东京105-0001; ²新井日本医学研究所, 日本东京103-0011

摘要: 再生医疗旨在修复或替换受损的组织和器官, 这一目标越来越多地通过使用干细胞分泌组来实现。这些由干细胞分泌的生物活性分子的复杂混合物被认为能够介导广泛的治疗效果。这篇综述文章概述了干细胞分泌组在治疗一系列疾病方面的最新临床应用, 包括心血管疾病、神经退行性疾病、骨科疾病、皮肤再生、糖尿病和代谢疾病、肝脏疾病、肾脏疾病和老化相关的疾病。尽管存在一定局限性和挑战性, 例如缺乏标准化方案和分泌组本身具有的异质性, 但技术的进步和对分泌组成分的深入理解提高了其广泛应用的可能性。干细胞分泌组预计将在再生医疗中发挥越来越重要的作用, 为具有挑战性的疾病带来新的希望。

关键词: 干细胞分泌组学, 再生医学, 临床应用, 心血管疾病, 神经退行性疾病, 老化和年龄相关疾病

The use of the stem cell secretome in regenerative medicine: Current clinical advances and directions for the future

Jufeng Xia^{1,2}

¹Springer Healthcare, Springer Nature Group, Tokyo 105-0001, Japan; ²Arai Japan Medical Institute, Tokyo 103-0011, Japan

Abstract: Regenerative medicine seeks to repair or replace damaged tissues and organs, a goal that is increasingly being pursued through the use of stem cell secretomes. These complex mixtures of bioactive molecules secreted by stem cells are believed to mediate a broad range of therapeutic effects. This review provides an overview of recent clinical use of the stem cell secretome in the treatment of a range of conditions, including cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, orthopedic conditions, skin regeneration, diabetes and metabolic diseases, liver diseases, kidney diseases, and aging and age-related diseases. Challenges and limitations exist, such as the lack of standardized protocols and secretome heterogeneity, but advances in technology and the understanding of secretome components represent promising opportunities. The stem cell secretome is projected to play an increasingly central role in regenerative medicine, offering new hope for challenging diseases.

Keywords: stem cell secretome, regenerative medicine, clinical use, cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, aging and age-related diseases

1. 引言

再生医学是一个充满活力和快速发展的领域, 旨在修复、替换或再生人类细胞、组织或器官, 以恢复正常功能⁽¹⁾。它利用人体固有的再生机制使以前无法修复的组织或器官能够得到修复⁽²⁾。该领域在各种临床疾病治疗方面显示出巨大的前景, 从心血管疾病和神经退行性疾病到骨科和皮肤疾病等等⁽³⁾。

干细胞因其独特的自我更新能力和分化成各种细胞类型的潜力而成为再生医学的基石⁽⁴⁾。传统上, 再生疗法侧重于直接使用干细胞进行组织修复和再生。然而, 人们越来越认识到, 干细胞的许多有益作用不仅是通过直接细胞替代来实现的, 还通过可以调节局部环境和刺激内源性修复机制的生物活性分子的分泌来介导完成⁽⁵⁾。

这一发现将人们的注意力引向了干细胞的“分泌组学”, 它是构成细胞间通讯网络重要组成部分的分泌蛋白、脂类和核酸的集合。分泌组包括各种各样的分子, 其中有生长因子、细胞因子、趋化因子和胞外囊泡(如外泌体), 它们一起可以调节炎症、免疫反应、细胞凋亡和血管生成等过程⁽⁶⁾。由于这些能力, 干细胞分泌组已成为干细胞治疗的无细胞替代物, 其潜在优势包括减少肿瘤发生的风险、栓塞和免疫原性^(7,8)。

随着对干细胞分泌组的组成和功能理解不断加深,

收稿日期: 2023-10-30; 修回日期: 2024-3-17

基金项目: 无

通讯作者/Corresponding author: 夏巨峰/Jufeng Xia, E-mail: xia-
tky@umin.ac.jp

本文编辑: 胡昔奇 马亚楠

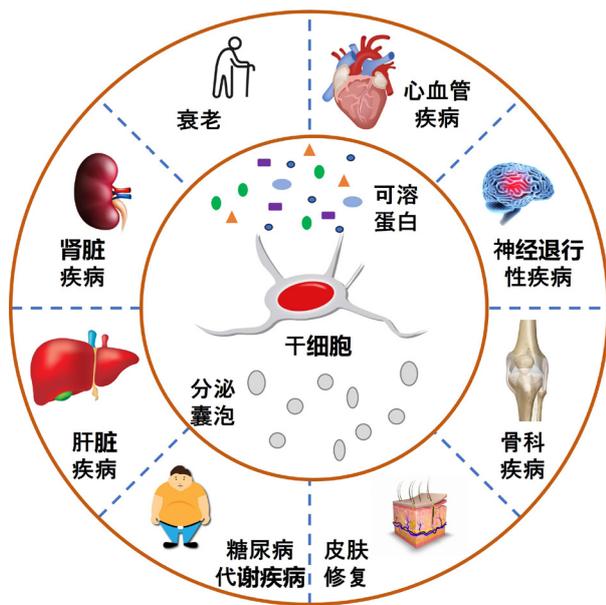


图1. 干细胞分泌组在临床上的主要应用领域。

研究人员正在探索其在各种临床应用中的潜力。从促进心血管疾病和骨科疾病的组织修复和再生，到神经退行性疾病的神经保护，干细胞分泌组正在不断改写着治疗策略^(9,10)。正如这篇综述所显示的，干细胞分泌组的应用代表了再生医学领域的一个尖端和有前途的发展方向（图1）。

2. 干细胞的分泌组

“分泌组”是一个通用术语，指的是细胞分泌到细胞外空间的完整分子集合。这个概念首先由Tjalsma等人定义⁽¹¹⁾。在干细胞中，分泌组是生物活性因子的丰富而复杂的混合物，其中包括蛋白质（例如生长因子和细胞因子）、脂质、核酸以及外泌体和微泡等细胞外囊泡^(12,13)。这些成分在介导细胞间通讯和调节局部环境从而引发组织修复和再生方面发挥着重要作用。

干细胞的分泌组是对环境中特定刺激所产生的反应。分泌组的组成可能因细胞类型、细胞分化状态和微环境条件而发生显著变化⁽¹⁴⁾。人们认为分泌组通过向邻近细胞发出信号并调节免疫反应、炎症、细胞增殖和细胞凋亡以及血管生成等过程来发挥作用⁽¹⁵⁾。

分泌组研究中经常研究的两种干细胞是间充质干细胞（MSC）和诱导多能干细胞（iPSC）。间充质干细胞由于其易获得性、高度可分化性以及其分泌组的有效抗炎和再生特性而受到特别关注⁽¹⁶⁾。它们可以来源于各种组织，包括骨髓、脂肪组织和脐带，每种类型呈现出略有不同的分泌组特征⁽¹⁷⁾。另一方面，iPSC通过基因重编程从成体细胞诱导而来，可以提供潜在无限的患者特异性干细胞来源。iPSC的分泌组虽然其研究相对较少，但已在损伤模型中被证明具有保护作用⁽¹⁸⁾。

虽然我们尚需要进一步的研究来充分了解干细胞分泌组的组成和治疗潜力，但是迄今为止的证据表明，干细胞分泌组的临床应用很可能为再生医疗发展带来重大进步。

3. 干细胞分泌组在再生医学中的临床应用

3.1. 心血管疾病

心血管疾病（CVDs）仍然是世界范围内的主要健康问题，每年造成约1800万人死亡。根据世界卫生组织的数据，这相当于全球所有死亡的31%⁽¹⁹⁾。与心血管疾病相关的高发病率和高死亡率需要更有效的治疗干预措施。干细胞分泌组作为再生医学的一只利器，在治疗心血管疾病方面已开始展现希望。

采用干细胞分泌组治疗心脏病的临床试验已显示出令人鼓舞的结果。Timmers等人的一项突破性研究表明，人类胚胎干细胞衍生的心脏祖细胞（hESC-CPCs）分泌物在减少心肌缺血/再灌注损伤的猪模型中的梗塞面积和保护心脏功能方面具有治疗潜力⁽²⁰⁾。在其II期临床试验中，急性心肌梗死患者在接受冠状动脉内注射间充质干细胞外泌体（分泌体的主要组成部分）后，左心室功能有了明显改善⁽²¹⁾。

在另一个病例报告中，一名患有缺血性心肌病的病人在心肌内注射间充质干细胞分泌组后，心肌灌注、收缩性和整体生活质量都有明显的提高⁽²²⁾。这进一步证明了基于分泌组的干预措施的有效性。

然而，干细胞分泌组的临床应用同样面临挑战，包括分泌组生产的标准化、确定最佳剂量，并确保导入的精确度⁽²³⁾。它还需要进行强有力的长期临床试验，以确定这些干预措施的安全性和有效性。

随着不断的研究和发展，干细胞分泌组的治疗应用有望彻底改变心血管疾病的管理，有可能为全球健康负担提供一个有效的解决方案。

3.2. 神经退行性疾病

神经退行性疾病，包括阿尔茨海默病、帕金森病和肌萎缩性侧索硬化症，在全球范围内构成了巨大的健康负担。据估计，全世界仅痴呆症患者就有5000万，预计到2050年将增加到1.52亿⁽²⁴⁾。在治疗方面，巨大的挑战性在于这些疾病的复杂病理生理学和大脑的有限再生能力。

由于干细胞分泌组具有神经营养、神经原和神经保护作用，最近已成为治疗神经退行性疾病的种子选手。在一项I/II期临床试验中，帕金森病患者接受神经干细胞分泌的外泌体的鼻内给药后，运动症状得到改善，且无不良反应，表明其安全性和潜在疗效⁽²⁵⁾。

在另一项针对阿尔茨海默病患者进行的临床研究中，脑室内注射间充质干细胞分泌的外泌体使轻度至中度阿尔茨海默病患者的认知功能得到改善⁽²⁶⁾。

然而，干细胞分泌组的临床应用之路充满了挑战。其中包括需要对分泌物的生产进行标准化，确定最佳剂量和给药途径，并通过精心设计的临床试验建立长期安全性和有效性⁽²⁷⁾。

尽管有这些挑战，干细胞分泌物的使用为神经退行性疾病提供了一种新的治疗方法。随着更多的研究和理解，分泌组可能为这些疾病的治疗铺平道路。

3.3. 骨科疾病

骨科疾病，包括骨关节炎、骨质疏松症、创伤性骨和软骨损伤，影响着全世界数百万人，并严重影响生活质

量⁽²⁸⁾。再生医学，特别是干细胞分泌组的应用，为这些病症提供了一个充满希望的治疗方法。

干细胞分泌组在目前的几个临床试验中都显示了骨和软骨修复的潜力。一项随机对照试验证明，关节内注射间充质干细胞外泌体能明显改善膝关节功能，并减少骨关节炎患者的疼痛⁽²⁹⁾。在另一项试验中，用骨髓间充质干细胞分泌组治疗的非结合性骨折患者显示出骨折愈合的改善，这表明分泌组在骨再生中的潜在作用⁽³⁰⁾。

尽管有令人鼓舞的结果，但挑战仍然存在。一些病例报告反映了分泌组生产和最佳剂量确定的标准化仍然亟待优化。一个创伤后骨关节炎患者的案例显示，用间充质干细胞分泌组治疗后，疼痛和关节功能有很大改善；然而，需要进一步研究以确定长期的安全性和疗效⁽³¹⁾。

3.4. 皮肤再生

皮肤作为人体最大的器官，往往容易遭受更多创伤。伤口愈合和皮肤再生是相当大的挑战，特别是在有糖尿病、衰老相关障碍和烧伤等情况的患者中⁽³²⁾。目前的治疗方法往往不能确保具有完整的功能性的皮肤再生。

干细胞分泌组已逐渐成为应对这些挑战的新的解决方案。基于分泌组的疗法可以刺激皮肤的自然愈合过程，增强细胞迁移和增殖，并促进血管生成。所有这些对于高效的伤口愈合都是至关重要的⁽³³⁾。

应用分泌物组疗法的临床试验显示出皮肤再生的希望。在一项I/II期试验中，将间充质干细胞分泌的外泌体局部应用于慢性伤口，与传统治疗相比，伤口闭合速度明显加快⁽³⁴⁾。同样，一项涉及严重烧伤患者的研究显示，应用脂肪组织由来的间充质干细胞分泌组可以促进愈合，并减少疤痕形成⁽³⁵⁾。

尽管有这些令人鼓舞的发现，但仍然存在着一一些问题。一份病例报告详细描述了一名慢性糖尿病患者，对间充质干细胞组治疗显示出最初的积极反应；然而，愈合过程在几周后停滞不前，表明需要进一步调整治疗方案和寻找可能的联合疗法⁽³⁶⁾。

3.5. 糖尿病和代谢性疾病

糖尿病和代谢性疾病构成了另一个巨大的全球健康负担。截至2019年，有约4.63亿成年人患有糖尿病，这一数字预计到2045年将上升到7亿⁽³⁷⁾。此外，代谢综合征，一个由肥胖、高血压和胆固醇水平异常等情况组成的疾病，会增加心脏病、中风和糖尿病的风险⁽³⁸⁾。

干细胞分泌组作为针对这些疾病的一种治疗策略已引起了广泛关注。分泌组提供了各种生物活性分子的组合，能够促进β细胞再生、胰岛素敏感性和抗炎作用⁽³⁹⁾。

一些临床试验已经研究了分泌组在糖尿病治疗中的效果。一项针对1型糖尿病患者的I/II期临床试验显示，给予间充质干细胞（MSC）分泌的外泌体，可显著控制血糖⁽⁴⁰⁾。一项针对代谢综合征患者的研究表明，脂肪源性间充质干细胞分泌组的给药明显改善代谢状况，包括腰围和血压的降低，以及胰岛素敏感性的增加⁽⁴¹⁾。

然而，挑战同样是存在的。例如，一项涉及2型糖尿病患者的病例报告显示，间充质干细胞组治疗后，血糖得到初步改善，但这并不能长期维持，这就强调了优化治疗策

略的必要性⁽⁴²⁾。

3.6. 肝脏疾病

肝脏疾病，包括肝硬化、肝纤维化、肝细胞癌和急性肝衰竭，给全球卫生界带来了重大挑战⁽⁴³⁾。这些疾病往往无声无息地发展，在就医时就已经发展成会危及生命的情况。目前的治疗方案，特别是对晚期肝病的治疗，仅限于肝脏移植，而肝脏移植又因供体器官短缺和巨大的并发症风险而受到阻碍。

干细胞分泌组提供了一个新的治疗选择。干细胞分泌组在一些研究中已显示出促进肝脏再生、减少炎症和调节免疫反应的能力⁽⁴⁴⁾。

近期的一些临床试验结果证明了分泌组在肝病治疗中的前景。其中一项试验表明，静脉注射间充质干细胞（MSC）分泌的外泌体，使肝硬化患者的肝功能得到改善⁽⁴⁵⁾。在另一项研究中，接受间充质干细胞分泌组治疗的急性肝衰竭患者显示出肝酶的减少和生存率的提高⁽⁴⁶⁾。

尽管我们看到了希望，问题也随之而来。一个病例报告详细描述了一个接受间充质干细胞分泌组治疗的肝脏纤维化患者的情况。他显示出最初的改善，但随后出现疾病复发。这表明需要进行更全面的研究，以确定最佳剂量、时间和治疗方案⁽⁴⁷⁾。

3.7. 肾脏疾病

肾脏疾病，包括慢性肾脏病（CKD）和急性肾损伤（AKI），极大地影响了人们的健康。仅CKD就影响了全球约13.4%的人口⁽⁴⁸⁾。这两种情况都会导致肾脏衰竭，需要进行透析或移植，从而与增长的死亡率和高额的医疗费形成挂钩。

最近，干细胞分泌组的治疗潜力在治疗肾脏疾病方面获得了相当的关注。干细胞分泌组包括外泌体、microRNAs和其他生物活性分子，可以调节炎症、细胞增殖和细胞凋亡，这些都在控制肾脏疾病的发展中起到了关键作用⁽⁴⁹⁾。

一些临床试验已经研究了干细胞分泌组对治疗肾脏疾病的有效性。一项针对CKD患者的II期试验表明，用脂肪衍生的间充质干细胞(MSC)外泌体治疗可改善肾功能，减少炎症⁽⁵⁰⁾。在另一项研究中，用脐带衍生的间充质干细胞分泌组治疗AKI患者显示出加速恢复和降低死亡率⁽⁵¹⁾。

然而，分泌组治疗方法也存在不尽如人意的案例。例如，一项涉及糖尿病肾病患者的病例报告显示，MSC分泌组治疗后患者的情况得到初步改善，但停止治疗后肾功能下降，表明可能对于肾脏疾病需要进行长期持续的治疗⁽⁵²⁾。

3.8. 衰老和老年疾病

衰老是一个自然的生理过程，其特点是器官和组织的功能逐渐下降，导致与增龄相关的疾病，如阿尔茨海默氏症、帕金森氏症、心血管疾病和某些类型的癌症⁽⁵³⁾。目前对这些疾病的治疗方法往往只提供症状缓解，而无法解决潜在的衰老过程。

干细胞分泌组由广泛的生物活性分子组成，包括生长

因子、细胞因子和外泌体,已显示出对抗衰老过程和减轻与增龄相关的疾病的前景⁽⁵⁴⁾。这些分泌组可以调节微环境,减少炎症,促进细胞再生,并加强组织修复。

一些临床试验已经开始探索将分泌物用于与年龄有关的疾病治疗。最近一项涉及老年黄斑变性(AMD)患者的研究表明,使用间充质干细胞(MSC)分泌体的治疗明显改善视力⁽⁵⁵⁾。另一项针对骨关节炎患者的试验报告显示,用间充质干细胞分泌物治疗后,关节疼痛减少,活动能力提高⁽⁵⁶⁾。

然而,挑战仍然存在。一项关于帕金森病患者用间充质干细胞分泌体治疗的案例研究显示,运动功能得到初步改善,但由于该疾病的渐进性,长期效益尚不清楚⁽⁵⁷⁾。

4. 干细胞分泌组应用中的挑战和限制

虽然干细胞分泌组有望彻底改变再生医学,但其临床应用仍面临着一些挑战和限制,需要克服这些挑战和限制才能实现其全部潜力。

首先,该领域的一个重大挑战是缺乏标准化的分泌物的制备、特征和管理⁽⁵⁸⁾。这些因素影响了分泌物中生物活性分子的组成和浓度,这反过来又影响了其治疗效果。目前还没有普遍接受的分离和纯化分泌物的协议,这可能导致实验和临床结果的变化。

另一个主要问题是分泌组的异质性,不仅在不同类型的干细胞之间,而且在同一类型的干细胞在不同的培养条件或分化阶段也是如此⁽⁵⁹⁾。这种变异性可能会导致不一致的治疗结果。此外,分泌物组中有助于其治疗效果的具体成分并不完全了解,这使得建立有效的剂量-反应关系具有挑战性。

使用分泌组也引起了对安全性的关注。虽然它消除了与细胞移植有关的风险,如肿瘤发生性和免疫排斥,但也出现了新的安全问题,如潜在的脱靶效应对分泌物组成成分的免疫反应⁽⁶⁰⁾。

分泌组的治疗效果的持久性是另一个值得关注的领域。大多数研究只报告了短期效益,而对分泌物组疗法的长期疗效和稳定性基本上没有进行探索⁽⁶¹⁾。

最后,监管方面也是一个重大挑战。作为蛋白质、脂质和RNA的复杂混合物,分泌体在监管分类方面属于灰色地带,这使得临床应用的道路充满挑战⁽⁶²⁾。

尽管有这些挑战,干细胞分泌组在再生医学中的潜力仍然很大。进一步研究标准化制备方案,了解分泌物生物学,并澄清监管途径,将有助于把这些有希望的实验室发现转化为有效的临床疗法。

5. 未来的方向和结论

干细胞分泌组在再生医学领域有很大的前景,其治疗潜力已在一系列的疾病状况中得到证实。然而,关于分泌组及其治疗机制,仍有许多东西需要了解。建议今后的研究方向如下:

1. 标准化协议: 极有必要为分泌组的分离、纯化和制定标准化的协议。标准化的程序将解决异质性的问题,并有助于确保一致的临床结果⁽⁶³⁾。

2. 确定机制: 人们认为,分泌物组的治疗效果来自其复杂的生物活性分子混合物。然而,这些效应的确切机制

并不完全了解。未来的研究应努力阐明这些机制,这将反过来促进治疗策略的优化⁽⁶⁴⁾。

3. 探讨特定成分: 需要更深入地了解赋予其治疗效果的分泌组的具体成分。这种知识可以导致开发更有针对性的治疗方法⁽⁶⁵⁾。

分泌组研究领域也将从新技术的发展中受益。下一代测序和蛋白质组学等技术可以更全面地了解分泌组的组成及其在不同条件下的变化⁽⁶⁶⁾。这种对分泌物组的详细分析可以帮助阐明分泌物组疗法的作用机制,并确定潜在的治疗目标。

总而言之,尽管目前存在挑战和限制,但干细胞分泌组代表了一种新的治疗策略,在再生医学方面有很大的潜力。随着我们对分泌组的理解不断提高,以及新技术的出现,我们可以预期分泌组在再生医学领域发挥越来越重要的作用⁽⁶⁷⁾。

在利用分泌组的力量时,我们也许能够突破当前治疗方式的界限,为患有迄今为止难以治疗的疾病的患者带来新的希望。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢: 无。

作者贡献声明: 无。

参考文献

1. Mason C, Dunnill P. A brief definition of regenerative medicine. *Regen Med.* 2008;3:1-5.
2. Trounson A, McDonald C. Stem cell therapies in clinical trials: Progress and challenges. *Cell Stem Cell.* 2015;17:11-22.
3. Caplan AI. Why are MSCs therapeutic? New data: New insight. *J Pathol.* 2009;217:318-324.
4. Caplan AI. Mesenchymal stem cells. *J Orthop Res.* 1991;9:641-650.
5. Katsuda T, Ochiya T. Molecular signatures of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicle-mediated tissue repair. *Stem Cell Res Ther.* 2015;6:212.
6. Rani S, Ryan AE, Griffin MD, et al. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: Toward cell-free therapeutic applications. *Mol Ther.* 2015;23:812-823.(ref64)
7. Lener T, Gimona M, Aigner L, et al. Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials – an ISEV position paper. *J Extracell Vesicles.* 2015;4:30087.
8. Bagnoli L, Hatzistergos KE, Balkan W, et al. Mesenchymal stem cell-based therapy for cardiovascular disease: Progress and challenges. *Mol Ther.* 2018;26:1610-1623.
9. Riazifar M, Mohammadi MR, Pone EJ, et al. Stem cell-derived exosomes as nanotherapeutics for autoimmune and neurodegenerative disorders. *ACS Nano.* 2019;13:6670-6688.
10. Xia JF, Minamino S, Kuwabara K, et al. Stem cell secretome as a new booster for regenerative medicine. *Biosci Trends.* 2019;13:299-307.
11. Tjalsma H, Bolhuis A, Jongbloed JD, et al. Signal peptide-dependent protein transport in *Bacillus subtilis*: A genome-based survey of the secretome. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2000;64:515-547.
12. Thery C, Witwer KW, Aikawa E, et al. Minimal information for studies of extracellular vesicles 2018 (MISEV2018): A position statement of the International Society for Extracellular Vesicles

- and update of the MISEV2014 guidelines. *J Extracell Vesicles*. 2018;7:1535750.
13. Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, *et al*. Mesenchymal stem cell secretome: Toward cell-free therapeutic strategies in regenerative medicine. *Int J Mol Sci*. 2017;18:1852.
 14. Ferreira JR, Teixeira GQ, Santos SG, *et al*. Mesenchymal stromal cell secretome: Influencing therapeutic potential by cellular pre-conditioning. *Front Immunol*. 2018;9:2837.
 15. Phinney DG, Pittenger MF. Concise review: MSC-derived exosomes for cell-free therapy. *Stem Cells*. 2017;35:851-858.
 16. Elahi KC, Klein G, Avci-Adali M, *et al*. Human mesenchymal stromal cells from different sources diverge in their expression of cell surface proteins and function of the secretome. *Stem Cells Int*. 2016;2016:5646384.
 17. Galipeau J, Sensébé L. Mesenchymal stromal cells: Clinical challenges and therapeutic opportunities. *Cell Stem Cell*. 2018;22:824-833.
 18. Zhang J, Guan J, Niu X, *et al*. Exosomes released from human induced pluripotent stem cells-derived MSCs facilitate cutaneous wound healing by promoting collagen synthesis and angiogenesis. *J Transl Med*. 2015;13 49.
 19. World Health Organization. Cardiovascular diseases (CVDs). Geneva: World Health Organization; 2021. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)) (accessed October 30, 2023).
 20. Timmers L, Lim SK, Arslan F, *et al*. Reduction of myocardial infarct size by human mesenchymal stem cell conditioned medium. *Stem Cell Res*. 2008;1:129-137.
 21. Lai RC, Arslan F, Tan SS, *et al*. Derivation and characterization of human fetal MSCs: An alternative cell source for large-scale production of cardioprotective microparticles. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48:1215-1224.
 22. Williams AR, Hare JM. Mesenchymal stem cells: Biology, pathophysiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease. *Circ Res*. 2011;109:923-940.
 23. Gyöngyösi M, Haller PM, Blake DJ, *et al*. Meta-analysis of cell therapy studies in heart failure and acute myocardial infarction. *Circ Res*. 2018;123:301-308.
 24. Alzheimer's Disease International. World Alzheimer Report 2018. London: Alzheimer's Disease International; 2018. <https://www.alz.co.uk/research/world-report-2018> (accessed October 30, 2023).
 25. Soria FN, Pampliega O, Bourdenx M, *et al*. Exosomes, an unmasked culprit in neurodegenerative diseases. *Front Neurosci*. 2017;11:26.
 26. Elia CA, Tamborini M, Rasile M, *et al*. Intracerebral injection of extracellular vesicles from mesenchymal stem cells exerts reduced A β plaque burden in early stages of a preclinical model of Alzheimer's disease. *Cells*. 2020;8:1851.
 27. Gyöngyösi M, Haller PM, Blake DJ, *et al*. Meta-analysis of cell therapy studies in heart failure and acute myocardial infarction. *Circ Res*. 2018;123:301-308.
 28. Woolf AD, Pfleger B. Burden of major musculoskeletal conditions. *Bulletin of the World Health Organization*. 2003;81:646-656.
 29. Vonk LA, van Dooremalen SFJ, Liv N, *et al*. Mesenchymal stromal/stem cell-derived extracellular vesicles promote human cartilage regeneration in vitro. *Theranostics*. 2018;8:906-920.
 30. Xia C, Zeng Z, Fang B, *et al*. Mesenchymal stem cell-derived exosomes ameliorate intervertebral disc degeneration via anti-oxidant and anti-inflammatory effects. *Free Radic Biol Med*. 2019;143:1-15.
 31. Manferdini C, Maumus M, Gabusi E, *et al*. Adipose-derived mesenchymal stem cells exert antiinflammatory effects on chondrocytes and synoviocytes from osteoarthritis patients through prostaglandin E2. *Arthritis Rheum*. 2013;65:1271-1281.
 32. Sen CK, Gordillo GM, Roy S, *et al*. Human skin wounds: a major and snowballing threat to public health and the economy. *Wound Repair Regen*. 2009;17:763-771.
 33. Zomer HD, de Souza Lima VJ, Bion MC, *et al*. Evaluation of secretomes derived from human dermal and adipose tissue mesenchymal stem/stromal cells for skin wound healing: not as effective as cells. *Stem Cell Res Ther*. 2024;15:15.
 34. Shabbir A, Cox A, Rodriguez-Menocal L, *et al*. Mesenchymal stem cell exosomes induce proliferation and migration of normal and chronic wound fibroblasts, and enhance angiogenesis In Vitro. *Stem Cells Dev*. 2015;24:1635-1647.
 35. Zhao B, Zhang Y, Han S, *et al*. Exosomes derived from human amniotic epithelial cells accelerate wound healing and inhibit scar formation. *J Mol Histol*. 2017;48:121-132.
 36. Li X, Jiang C, Zhao J. Human endothelial progenitor cells-derived exosomes accelerate cutaneous wound healing in diabetic rats by promoting endothelial function. *J Diabetes Complications*. 2016;30:986-992.
 37. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 9th edn. Brussels, Belgium: 2019. <https://www.diabetesatlas.org> (accessed October 30, 2023).
 38. Saklayen MG. The global epidemic of the Metabolic syndrome. *Curr Hypertens Rep*. 2018;20:12.
 39. Lee S, Zhao Y, Rong Z, *et al*. The mechanism of mesenchymal stem cell therapy in diabetic retinopathy: Paracrine theory. *J Diabetes Res*. 2021;2021:7345217.
 40. Jiang ZZ, Liu YM, Niu X, *et al*. Exosomes secreted by human urine-derived stem cells could prevent kidney complications from type I diabetes in rats. *Stem Cell Res Ther*. 2016;7:24.
 41. Cho BS, Kim JO, Ha DH, *et al*. Exosomes derived from human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells alleviate atopic dermatitis. *Stem Cell Res Ther*. 2018;9:187.
 42. Thomou T, Mori MA, Dreyfuss JM, *et al*. Adipose-derived circulating miRNAs regulate gene expression in other tissues. *Nature*. 2017;542:450-455.
 43. Asrani SK, Devarbhavi H, Eaton J, *et al*. Burden of liver diseases in the world. *J Hepatol*. 2019;70:151-171.
 44. Hyun J, Wang S, Kim J, *et al*. MicroRNA125b-mediated Hedgehog signaling influences liver regeneration by choroid plate-derived mesenchymal stem cells. *Sci Rep*. 2015;5:14135.
 45. Burrello J, Monticone S, Gai C, *et al*. Stem cell-derived extracellular vesicles and immune-modulation. *Front Cell Dev Biol*. 2016;4:83.
 46. Tan CY, Lai RC, Wong W, *et al*. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models. *Stem Cell Res Ther*. 2014;5:76.
 47. Li T, Yan Y, Wang B, *et al*. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis. *Stem Cells Dev*. 2013;22:845-54.
 48. Bikbov B, Purcell CA, Levey AS, *et al*. Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2020;395:709-733.
 49. Zhu F, Chong Lee Shin OLS, Pei G, *et al*. Adipose-derived mesenchymal stem cells employed exosomes to attenuate AKI-CKD transition through tubular epithelial cell dependent Sox9 activation. *Oncotarget*. 2017;8:70707-70726.
 50. Nagaishi K, Mizue Y, Chikenji T, *et al*. Mesenchymal stem cell therapy ameliorates diabetic nephropathy via the paracrine effect of renal trophic factors including exosomes. *Sci Rep*. 2016;6:34842.
 51. Zhang G, Zou X, Miao S, *et al*. The anti-oxidative role of micro-vesicles derived from human Wharton-Jelly mesenchymal stromal cells through NOX2/gp91(phox) suppression in alleviating renal

- ischemia-reperfusion injury in rats. PLoS ONE. 2014;9:e92129.
52. Nassar W, El-Ansary M, Sabry D, *et al.* Umbilical cord mesenchymal stem cells derived extracellular vesicles can safely ameliorate the progression of chronic kidney diseases. *Biomater Res.* 2016;20:21.
 53. Niccoli T, Partridge L. Ageing as a risk factor for disease. *Curr Biol.* 2012;22:R741-R752.
 54. Oh J, Lee YD, Wagers AJ. Stem cell aging: Mechanisms, regulators and therapeutic opportunities. *Nat Med.* 2014;20:870-880.
 55. Rajool Dezfuly A, Safaee A, Salehi H. Therapeutic effects of mesenchymal stem cells-derived extracellular vesicles' miRNAs on retinal regeneration: A review. *Stem Cell Res Ther.* 2021;12:530.
 56. Guo SC, Tao SC, Dawn H. Microfluidic single-cell analysis of secretomes in regenerative medicine. *Genomics Proteomics Bioinformatics.* 2018;16:73-82.
 57. Olanow CW, Kordower JH, Lang AE. Can cellular transplantation improve motor function in Parkinson's disease? *Mov Disord.* 2018;33:1041-1050.
 58. Zhou T, Yuan Z, Weng J, *et al.* Challenges and advances in clinical applications of mesenchymal stromal cells. *J Hematol Oncol.* 2021;14:24.
 59. Konala VB, Mamidi MK, Bhonde R, *et al.* The current landscape of the mesenchymal stromal cell secretome: A new paradigm for cell-free regeneration. *Cytherapy.* 2016;18:13-24.
 60. Witwer KW, Van Balkom BWM, Bruno S, *et al.* Defining mesenchymal stromal cell (MSC)-derived small extracellular vesicles for therapeutic applications. *J Extracell Vesicles.* 2019;8:1609206.
 61. Giebel B, Kordelas L, Börger V. Clinical potential of mesenchymal stem/stromal cell-derived extracellular vesicles. *Stem Cell Investig.* 2017;4:84.
 62. Batrakova EV, Kim MS. Using exosomes, naturally-equipped nanocarriers, for drug delivery. *J Control Release.* 2015;219:396-405.
 63. Lener T, Gimona M, Aigner L, *et al.* Applying extracellular vesicles based therapeutics in clinical trials – an ISEV position paper. *J Extracell Vesicles.* 2015;4:30087.
 64. Noor Azlan NAB, Vitus V, Nor Rashid N, *et al.* Human mesenchymal stem cell secretomes: Factors affecting profiling and challenges in clinical application. *Cell Tissue Res.* 2024;395:227-250.
 65. Sandonà M, Di Pietro L, Esposito F, *et al.* Mesenchymal Stromal Cells and Their Secretome: New Therapeutic Perspectives for Skeletal Muscle Regeneration. *Front Bioeng Biotechnol.* 2021;9:652970.
 66. Kim MS, Haney MJ, Zhao Y, *et al.* Development of exosome-encapsulated paclitaxel to overcome MDR in cancer cells. *Nanomedicine.* 2016;12:655-664.
 67. Elahi FM, Farwell DG, Nolte JA, *et al.* Preclinical translation of exosomes derived from mesenchymal stem/stromal cells. *Stem Cells.* 2020;38:15-21.
-
- 引用本文 / Article Citation:
- 夏巨峰. 干细胞分泌组学在再生医疗中的应用: 目前的临床进展和未来的方向. *医学新视角.* 2024;1(3):120-125. doi:10.5582/npjm.2024.01006
- Jufeng Xia. The use of the stem cell secretome in regenerative medicine: Current clinical advances and directions for the future. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):120-125. doi:10.5582/npjm.2024.01006

空间组学在结直肠癌肝转移中的研究进展

黄润泽^{1,2}, 靳鑫^{1,2}, 刘钦雨^{1,2}, 朱卫平¹

¹复旦大学附属肿瘤医院肝脏外科, 上海 200032; ²复旦大学上海医学院, 上海 200032

摘要: 结直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是我国高发率高死亡率的常见恶性肿瘤, 肝转移是其主要致死原因之一, 诊疗负担尤为严重。近年来新兴的空间组学技术为推进结直肠癌肝转移 (colorectal cancer liver metastasis, CRLM) 的精准治疗带来了新的希望。本文对现有的结直肠癌肝转移空间组学研究进行综述, 首先介绍结直肠癌肝转移的现状 & 现有研究手段, 并详述空间组学概念及其方法。其次对空间组学现有研究进行综合分析, 最后对其在结直肠癌肝转移方面的应用进行介绍和展望。

关键词: 结直肠癌, 肝转移, 空间组学, 空间转录组, 结直肠癌肝转移

Advances in research on spatial omics in colorectal liver metastasis

Runze Huang^{1,2}, Jin Xin Jin^{1,2}, Qinyu Liu^{1,2}, Weiping Zhu¹

¹Hepatobiliary surgery, Fudan University Shanghai Cancer Center, Shanghai 200032, China; ²Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, Chian

Abstract: Colorectal cancer (CRC) is a common malignant neoplasm with a high morbidity and mortality, and liver metastasis is one of the leading causes of death, posing a substantial clinical burden. Over the past few years, the advent of novel spatial omics technologies has brought new hope for precision medicine in treating colorectal liver metastasis. This review begins by describing the current state of colorectal liver metastasis and current research approaches while elaborating on the concept and techniques for spatial omics. Next, this review comprehensively analyzes existing research using spatial omics technologies. This review concludes with a discussion of its use in colorectal liver metastasis and its future prospects.

Keywords: colorectal cancer, liver metastasis, spatial omics, spatial transcriptomics, colorectal liver metastasis

1. 引言

结直肠癌是全球第三大常见癌症和第四大癌症相关死亡原因⁽¹⁾, 由于其肠系膜引流的血液大部分都进入肝门静脉系统, 因而肝脏是结直肠癌最常见的转移部位⁽²⁾, 50% 以上的患者在一生中会发生肝转移, 这也是结直肠癌最主要的死亡原因⁽³⁾。在我国, 结直肠癌肝转移患病人数逐年上升, 研究表明约25%的患者在结直肠癌原发灶根治术后会发生肝转移, 其中绝大部分肝转移灶初期无法获得根治性切除。若经过治疗转为可切除或达到无疾病证据 (no evidence of disease, NED) 状态, 则这部分病人的中位生存期可提升28.1个月, 5年生存期可提升至52%⁽⁴⁾, 因此迫切需要对其转移机制、预测方法和诊治手段进行更

有效深入的研究。

近年来, 基于下一代测序 (next generation sequencing, NGS) 的单细胞测序 (single cell sequencing, scSeq) 技术得到了迅速发展和广泛应用, 为全面探究转移性癌症发生发展的分子机制带来了新的希望。其在单个细胞的水平上探究不同分子在疾病发生过程中扮演的角色, 以揭示生物体细胞和微环境间的异质性、增进对肿瘤细胞生物特征和演变过程的理解。然而, 单细胞测序的基础是分解了的细胞或细胞核, 缺少分子原位信息, 空间组学 (spatial omics, SO) 正为此而生。SO将目标分子在原生组织中的空间分布信息纳入考量, 进一步将疾病发展机制和细胞原始位置相关联, 更加全面地描述肿瘤细胞生物学特征, 并据此促进药物研究及其改良, 为癌症的预防监测和诊断治疗带来重要而深刻的全新见解。本文将对空间组学在结直肠癌肝转移中的应用研究进行综述。

收稿日期: 2023-12-30; 修回日期: 2024-3-18

基金项目: 无

通讯作者/Corresponding author: 朱卫平/Weiping Zhu, E-mail: wpzhush@hotmail.com

本文编辑: 陈璐

2. 空间组学简介

空间组学由来已久, 自1838年Johannes Müller首次在光学显微镜下观察肿瘤细胞以来, 人们一直在试图了解

癌症的本质及癌灶内异型细胞的组成信息⁽⁵⁾。原位杂交 (in situ hybridization, ISH) 等组织学染色法以及后来1941年免疫组织化学 (Immunohistochemistry, IHC) 的发展提供了辨别组织特征和蛋白质靶点的能力⁽⁶⁾。然而, ISH 和 IHC 等老一代技术的复用程度受到了观察过程中可区分染料数量的限制。为了进一步研究物质表达情况, 基于NGS的单细胞组学技术得到了充分发展, 将生物信息的剖析层面细化到单个细胞。但空间位置决定了细胞和 (或) 分子间的相互作用以及细胞所接收的信号, 许多分子通过细胞间相互作用或可溶性机制作用于邻近细胞, 单细胞技术因将细胞从原生环境中剥离而牺牲了这重要而关键的信息, 使得研究结果并不全面, 例如Joel Saltz等⁽⁷⁾在2018年发现肿瘤标本scSeq结果相同的病人有着不同的预后, 因为病人间肿瘤细胞和淋巴细胞的空间分布不同。为此, 瑞典皇家理工学院的Joakim Lundeberg制备了带有条形码的寡核苷酸载玻片, 可从完整的组织切片中捕获mRNA, 并根据条形码将每个转录本分配回样本中的特定空间位置, 破解了这一难题, SO也自此蓬勃发展⁽⁸⁾。

空间组学正处于发展黎明期, 其在疾病亚细胞层面的研究中表现出极大的潜力, 大量致力于绘制肿瘤细胞时空图谱⁽⁹⁾、验证瘤内细胞异质性的相关研究正在进行⁽¹⁰⁾。依靠空间组学, 我们能更好地理解病变细胞在分子机制和与周围正常细胞通信上的改变, 进一步确认肿瘤微环境 (tumor microenvironment, TME) 对癌细胞逃避免疫机制所起的作用, 将空间组学应用于结直肠癌肝转移的研究已成为近年来的热点。

2.1. 基本分类

空间组学发展和创新的基础是一系列空间单组学方法。根据获取标本信息的途径, SO可以分为基于成像和基于测序两大类⁽¹¹⁻¹⁴⁾。基于成像的SO通过显微镜下光学成像对目标分子进行空间图像描绘, 根据如何区分空间中目标分子类型, 又可分为基于原位杂交 (ISH) 的方法和基于原位测序 (in situ sequencing, ISS) 的方法。ISH通过碱基互补配对使探针与目标分子结合进行染色, ISS则通过连接测序 (sequencing by ligation, SBL) 直接对样本进行序列检测, 如Yu等⁽¹⁵⁾应用艾伦大脑图谱的ISH数据验证小鼠杏仁核中基因表达模式。基于测序的SO则从样本中原位捕获目标分子表达, 后通过NGS而非ISS进行数据分析。如Song等⁽¹⁶⁾结合NGS定量区域内RNA和蛋白质的表达, 进而进行空间蛋白质组和转录组分析。而依照不同的研究对象, 如细胞内分子, SO又可分为: 1、空间基因组学 (spatial genomics, SG) 2、空间染色质结构学 (spatial chromatin organization, SCO) 3、空间转录组学 (spatial transcriptomics, ST) 4、空间蛋白质组学 (spatial proteomics, SP) 5、空间代谢组学 (spatial metabolomics, SM) ⁽¹⁷⁾等。

2.2. 具体技术

Dario等⁽¹⁸⁾提出, 对样本进行SO分析, 主要经过以下四个步骤: 1、检测: 将寡核苷酸探针或经修饰的抗体与特定的一种或多种目标分子结合; 2、鉴定: 利用NGS、

质谱或ISS等技术识别目标分子; 3、测量: 基于成像的方法测量荧光探针的信号强度或计算每个区域的光斑数量; 而基于测序的方法通过归一化读数计数或使用独特的分子标识符来量化分子丰富度; 4、定位: 可通过成像方法直接确定分子空间位置, 也可通过条形码确定。

SO的技术手段繁多, 基于成像的方法主要通过光学显像来确定富集在细胞区室甚至高阶染色质结构中的特定分子, 包括smFISH、MERFISH等。这些方法历来具有最高的空间分辨率, 但在测序覆盖范围和总体通量方面受到限制⁽¹⁹⁾, 如因显像荧光团的光谱重叠, 导致可检测的基因数量有限; 某些较短的基因中探针结合位点数量有限, 导致信号不佳; 或由于分辨例如单个分子需要高数值孔径的显微镜物镜, 导致显像视野较小。而基于测序的方法根据处理特点又可进一步分为如下几类: 1、基于激光捕获显微切割 (Laser capture microdissection, LCM): 包括Tomo-seq、PIC等。这类方法通常利用精确聚焦的UV激光, 直接在冰冻或FFPE组织切片上进行切割, 获得目的区域的组织样品后进行高通量测序, 可以发现细胞亚群、精确定量组织结构组成成分等, 但在肿瘤学研究中少用; 2、基于空间条形码: 这类方法可以无偏差地进行全组学分子测序, 包括HDST、DBiT-seq等; 3、基于质谱: 包括CyTOF、MIBI等; 4、基于测序: 包括ISS、ATAC-RNA-seq等。这些方法能以相对较高的通量无偏差地捕获转录组等分子组级图谱, 但仍达不到亚细胞分辨率。

2.3. 实际应用

实际上, 对癌细胞进行空间分子测量的想法并不新鲜。早在2012年, Richard L Klemke就提出联合空间基因组等多种组学分析方法研究转移性癌症的特定转移特征和药物靶点⁽²⁰⁾。SG将DNA序列信息分配到细胞和亚细胞层面的空间位置, 从而定位肿瘤组织内特定基因组序列, 包括基因拷贝数改变和体细胞基因突变等, 如Zhao等⁽²¹⁾利用 Slide-DNAseq 对小鼠肺腺癌和人类结直肠癌切片中的肿瘤克隆体进行定位和定性, 揭示了肿瘤克隆群体间的空间组织差异性。SCO通过图像 (miFISH等) 或连接 (chromosome conformation capture等) 的方法在三维层面中绘制染色质原位结构, 以此探究其空间结构与基因组活性之间的关联⁽²²⁾, 评估染色质相互作用的稳定性⁽²³⁾及DNA和染色质间的互作关系⁽²⁴⁾。ST作为当今发展较为成熟、最为迅速的空间组学技术, 可以将基因表达情况进行空间定位, 生成带有组织坐标的基因表达计数表^(25,26), 进而验证特定基因的具体作用及与疾病的关联, 在转录组层面比较不同组织背景下个体间的表达差异, 进而探究环境等因素在癌细胞生长和肿瘤微环境形成中起的作用。如Stahl等⁽²⁷⁾对人乳腺癌标本进行空间转录组分析, 发现在浸润性导管癌中细胞外基质相关基因的表达量高, 而各导管原位癌间的基因表达异质性高; Goh等⁽²⁸⁾通过对肝、肾和肺组织进行数字空间图谱分析, 发现尤其在肝脏和肾脏中, COVID-19/HIV 死者具有独特的空间转录组表现: 死者仅在非肺组织中表现出T细胞减少和巨噬细胞增多的现象, 而各组织类型中自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞和其他免疫细胞却没有明显数量差异; Zhou等⁽²⁹⁾通过病理学辅助的反卷积空间转录组数据确定

了具有不同组织学特征的肿瘤群和过渡态亚群,有力地证明了人类胰腺癌组织中 PanIN (pancreatic intraepithelial neoplasia, 胰腺上皮内瘤变)和ADM (acinar-to-ductal metaplasia, 腺泡导管化生)的存在; Wang等⁽³⁰⁾报告了乳腺癌中第一个全转录组表达形态学 (expression-morphology, EMO) 分析,这种经济、高效的方法可通过组织病理学图像预测肿瘤内部及肿瘤平均mRNA空间表达。基因的选择性表达是任何生物过程发生的前提,因此SG通过对基因组进行下游分析可以很好的评估基因表达情况,进而建立与疾病发生的具体联系。

与ST相似, SP和SM在传统分子生物学研究的基础上额外保留了空间信息,或运用CyTOF (Cytometry by time of flight, 飞行时间细胞计数法)⁽³¹⁾, Immuno-SABER (immunostaining with signal amplification by exchange reaction, 通过交换反应进行信号放大的免疫染色)⁽³²⁾等方法揭示三维层面下蛋白质的立体功能及相互作用,进一步丰富泛癌蛋白质组及细胞信号转导的研究;或运用MS (mass spectrum, 质谱)、DESI-IMS (Desorption electrospray ionization, 解吸电喷雾电离成像质谱)等方法绘制代谢产物在组织中的空间分布图像,探究代谢物及代谢通路与健康的关系。例如Keren等⁽³³⁾在亚细胞分辨率下同时量化三阴性乳腺癌患者中36种蛋白质的原位表达以分析肿瘤免疫微环境的组织结构, Kalxdorf等⁽³⁴⁾通过细胞表面热蛋白质组谱全面描述配体诱导的蛋白质丰度变化和细胞质膜热稳定性, Eckert等⁽³⁵⁾从SP中揭示了烟酰胺-N-甲基转移酶是基质中癌相关成纤维细胞分化和癌症进展的核心代谢调节因子并可作为治疗靶点等;又如Chen等⁽³⁶⁾通过对CRC患者粪便样本进行代谢组学分析设计出一种肠道微生物相关血清代谢物以准确区分结肠直肠癌异常的患者与正常个体, Sun等⁽³⁷⁾对胃癌组织样本进行了基于AFADESI-MSI等的SM和空间脂质组学研究以揭示癌组织内代谢异质性及细胞的代谢相互作用,发现癌组织内发生了明显的脂质合成、代谢及免疫代谢重编程等。

实际上,空间组学的研究对象极广,许多研究将SO与单细胞组学、CRISPR-Cas9等⁽³⁸⁾强大技术联合运用,不断颠覆着对于肿瘤微环境的认知。

3. 空间组学在结直肠癌肝转移研究中的进展

尽管单细胞和多组学技术在转移性肠癌的诊疗研究中取得了诸多突破性进展,但这些研究中缺乏的空间方位信息实际上是理解生命活动的关键基础。此外,由于肿瘤异质性的普遍存在,即便依靠单细胞多组学景观的描绘,仍难以全面解释这些异质性,从而实现对不同特征患者的精准医疗。因此,引入空间组学技术显得尤为必要。目前,空间组学已用于评估结直肠癌组织学分级工具的效能⁽³⁹⁾、鉴定肿瘤相关生物标志物⁽⁴⁰⁾、探索肿瘤微环境的免疫抑制作用⁽⁴¹⁾等多个方面,均取得了一定成果。

3.1. 肠癌肝转移的分子机制研究

恶性肿瘤的发生发展是一个多分子、多步骤的生物学过程,识别特定分子、信号通路和细胞间互作在致病过程中的具体作用,有助于推进肿瘤早期临床筛查和诊

治工作的进展。周等⁽⁴²⁾对4个CRLM同期切除的原发和转移灶样本进行ST测序并绘制空间转录组图谱,发现各样本中均存在明显的瘤内基因表达异质性,且肿瘤干细胞 (tumor stem cell, TSC) 在转移灶中显著富集,表明TSC可能在CRC转移过程中发挥着重要作用。Sathe等⁽⁴³⁾分析了14例微卫星稳定 (microsatellite stable, MSS) 的肝转移性CRC样本的单细胞转录组数据,并使用CODEX (codetection by indexing, 索引共检测) 多路成像研究这些细胞的空间特征,发现肝脏肿瘤微环境中普遍存在着免疫抑制,并且正是空间位置邻近的SPP1+巨噬细胞和癌症相关成纤维细胞 (cancer-associated fibroblasts, CAF) 间发生的细胞间交流导致了这一现象的产生,为尤其是对免疫检查点治疗无效的MSS-CRLM患者开辟了新的治疗靶点。Qiao等⁽⁴⁴⁾借助C57BL/6小鼠模型研究CRLM的动态生长和肿瘤血管的生成过程,利用IHC (immunohistochemistry, IHC) 等技术分析发现F4/80+肿瘤相关巨噬细胞 (tumor-associated macrophages, TAMs) 的空间分布表现出典型的管状模式,表明其在肿瘤血管生成中发挥着重要的作用。Villemin等⁽⁴⁵⁾对四例CRLM样本进行ST测量并通过BulkSignal R包分析空间数据以推测细胞中配体受体作用网络,发现EGFR (epidermal growth factor receptor, 表皮生长因子) 在组织内广泛表达,表明其通路可能通过普遍或区域特异性表达的不同的配体被潜在激活。Lazarus等⁽⁴⁶⁾利用多重荧光免疫组织化学 (multiplex fluorescent immunohistochemistry, mFIHC) 对DNA错配修复 (mismatch repair, MMR) 缺失的转移性结直肠癌微环境进行空间表征,发现细胞毒性T淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTLs) 浸润增加且更多与上皮细胞 (epithelial cells, ECs) 接触并能提高总生存率,同时TME中抗原递呈细胞 (antigen-presenting cell, APC) 上PD-L1的表达增强了 Treg 的活性并抑制了 CTL和EC参与免疫反应以塑造独特的免疫微环境,提供了全新的治疗靶点和免疫治疗适应症。Wang等⁽⁴⁷⁾结合scRNA-seq、ST和IHC染色等方法绘制了CRC和CRLM细胞图谱,发现CD8_CXCL13和CD4_CXCL13细胞亚群在肝转移样本中显著增加并有助于提升患者预后,同时发现在肝转移瘤中富集的MCAM+成纤维细胞可能具有通过Notch信号促进CD8_CXCL13细胞生成的作用。以上研究进一步明确了CRLM发生发展过程中复杂的分子机制,为癌症治疗带来了新的希望。

3.2. 转移性肝癌治疗靶点研究

肝转移仍是CRC患者长期生存的主要障碍,多事件多方面的构成决定了转移发生过程的复杂性,但也为CRLM的治疗提供了广阔的可能性。在空间组学研究理念的帮助下,许多关键而重要的新靶点浮出水面,进一步拓展了SO的功能并展现了治愈转移性肝癌的新希望。Pennel等⁽⁴⁸⁾通过对1030名I-IV期CRC患者样本进行IHC等分析发现空间分布在肿瘤基质而非肿瘤细胞中的炎症趋化因子CXCL8的表达与肿瘤特异性生存 (cancer-specific survival, CSS) 的降低有关,且其受体CXCR2+的细胞与肝转移的发生有关,表明对于瘤体富含基质的CRC患者来说CXCL8/CXCR2可作为潜在的靶点以预防肿瘤转移的发生。Fleischer等⁽⁴⁹⁾对225例CRLM病人标本进行ST

和scRNA测序以检测不同HGPs (histopathological growth patterns, 组织病理学生长模式) 下肿瘤的细胞和分子特征, 观察到rHGP (replacement HGP, 替代型生长模式) 区内促进肿瘤侵袭性 (如FABP1, CLDN3等) 和WNT信号通路激活 (如EPCAM) 的标志物增加而dHGP区内加强肿瘤炎症反应的基因 (如IKBKB等) 表达上调, 并且在芽生血管的dHGP CRCLM 相应健康肝脏中发现了一种主要表达毛细血管亚型的内皮细胞, 这些细胞和分子特征揭示了依靠VCO (vessel co-option, 血管共生) 治疗CRLM的新靶点。Nguyen等⁽⁵⁰⁾利用IHC等方法测量CRLM小鼠肿瘤外围和中心的空间形态学和分子差异, 发现相对于肿瘤中心, 肿瘤外围有包括处于常氧状态且CD3 T细胞、调节性T细胞和巨噬细胞明显聚集等差异, 表明其可能是肿瘤外围细胞对VDAs (vascular disruptive agent, 抗血管生成药) 产生耐药的重要原因, 为正确用药提供了新的依据。Solís-Fernández等⁽⁵¹⁾对CRC肝肺转移模型进行SP测序发现一系列在丰度和空间分布方面出现较大变化的蛋白质, 并验证了SNX9、SCRIB等蛋白质在肝转移中的失调, 表明其可作为CRLM治疗的新靶点。Wu等⁽⁵²⁾对97例CRLM样本进行了ST和mIHC等检测绘制了时空图谱, 发现转移瘤免疫微环境发生了包括免疫抑制细胞大量富集等显著的时空重塑, 其中MRC1+ CCL18+ M2样巨噬细胞明显增多且其许多代谢通路 (如苯丙氨酸代谢) 活性急剧增加, 表明其在肝转移发生过程中可能具有重要作用, 同时NAC (neoadjuvant chemotherapy, 新辅助化疗) 重编程了有反应患者的瘤内免疫平衡 (如下调MRC1+CCL18+巨噬细胞代谢通路) 并激活全身抗肿瘤免疫反应, 增进了对NAC作用机制的理解并为靶向治疗CRLM提供了新的可能。

3.3. 结直肠癌肝转移预后评估

在所有发生肝转移的CRC患者中有超过三分之二最终死于肿瘤相关事件, 而即使联合了肿瘤切除术与系统辅助疗法也只有20%的患者能治愈, 仍有高达70%的患者会复发⁽⁵³⁻⁵⁵⁾, 因此建立系统可靠的预后指标并据此在疾病发展的不同阶段对患者实施正确恰当的治疗是极为必要的, 不仅强化了肿瘤的个体化精准治疗, 也加强了医疗资源的合理部署。Qi等⁽⁵⁶⁾提出了一个基于深度学习的框架用于自动分类和量化CRLM常规HE染色的全切片图像中的临床相关空间组织特征 (spatial organization features, SOF), 如空间中肿瘤-基质互作比、总肝细胞比和淋巴细胞浸润比等, 并依此建立了独立于当前临床风险评分的SOF风险评分模型, 为CRLM患者预后预测和风险分层提供了新的思路。Cortese等⁽⁵⁷⁾通过ST等分析发现具有促炎抗肿瘤作用的SERPINB2+单核巨噬细胞 (MoMφ) 较多聚集在侵袭边缘, 而具有抑制T细胞反应和促肿瘤作用的GPNMB+TAMs较多存在于肿瘤边缘和中心区, 后者因而更容易暴露于免疫抑制信号并处于有利于肿瘤生长的关键位置, 表明巨噬细胞标记物GPNMB可作为有力的负性CRLM预后指标。Wood等⁽⁵⁹⁾对41例CRLM样本进行IHC和ST等分析发现术后生存期较长的患者瘤体侵袭性边缘存在富含II型FN信号和MHCII类抗原呈递的适应性免疫细胞群, 而预后不良者调节性T细胞和中性粒细胞增多且瘤体中心存在丰富的Notch和TGFβ信号通路表达, 表明组织学

评估可作为CRLM患者预后评估的有力手段。

4. 总结与展望

归根结底, 肿瘤的发生及远处转移表明着细胞活动和分子作用发生了激烈而彻底的变化, 深入钻研单一机制或物质作用难以揭开癌细胞多端突变、广泛异质的全貌, 同时耐药性及死亡率的存在也要求着更为精准特异的个体化治疗。空间组学作为一个多学科多领域交叉融合的新兴平台, 提供了与以往二维研究方法截然不同的思维方式和开阔视野。

然而, 空间组学目前还处于黎明时分, 仍存在许多缺点和不足。首先, 生物标本的数据获取技术有待进一步优化, 组织切片是目前最为常用的病理采集手段, 为获取更完整的疾病生物学信息, 可复用的、准确的原位全切片数据获取方案及高效的数据处理工具有待开发, 同时高通量、厘米级别的数据视野和跨组学的数据获取模式也是未来的发展方向。其次, 高昂的技术价格和严苛的标本要求为空间组学研究设置了较高的门槛, 未来标本的预处理方法和检验费用应当使所有有必要的研究都得以开展。此外, 空间组学内及组学间的联合应用也存在诸多挑战, 如组蛋白PTMs目前一次只能检测到单个或少数几个标记, 蛋白质组分析仍然基于抗体并因此限制了同时分析蛋白质的数量, 不同组学图像可达到的空间分辨率不一限制了高精度多组学数据图谱的获取等。

以往的研究已经初步确定了CRLM发生的主要步骤、肿瘤微环境的作用以及各种信号通路的重要性。然而肿瘤免疫微环境、HGPs等新理念的提出和不断发生的肿瘤耐药表明CRLM发生发展的分子机制仍有很大的探索空间。癌症的预防、监测、筛查和早期诊断是降低患病率和死亡率的重要手段, 因此未来的工作还应包含根据分子机制和临床特征对患者实施疾病预测和预后分层。同时手术和药物的联合治疗及多学科合作也将更有利于提高结直肠癌肝转移的生存率。此外, 临床数据表明术后肿瘤复发仍是令人头疼的问题之一, 因此对肿瘤切除术后的患者进行肿瘤标志物等癌症信息的严密监控并进行术后辅助治疗是极为必要的。纳米刀和纳米药物等纳米技术也有可能成为治疗转移性CRC的新希望。

总之, 在各种新兴空间组学技术和先进研究理念大放异彩的当下, 结直肠癌肝转移患者面临的许多问题都应能得到解决, 剖析更为详细的细胞发病机制、制定更为准确的疾病分层策略、实施更为合理的个体化精准治疗就在当下。我们相信, 随着越来越多科学研究和临床试验的开展, 毫无疑问, 更加全面、准确的癌症治疗范式就在不远处。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢: 无。

作者贡献声明: 无。

参考文献

1. Torre LA, Siegel RL, Ward EM, *et al.* Global Cancer Incidence

- and Mortality Rates and Trends – An Update. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2016;25:16-27.
2. Tauriello DV, Calon A, Lonardo E, *et al.* Determinants of metastatic competency in colorectal cancer. *Mol Oncol.* 2017;11:97-119.
 3. Zarour LR, Anand S, Billingsley KG, *et al.* Colorectal Cancer Liver Metastasis: Evolving Paradigms and Future Directions. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2017;3:163-173.
 4. 朱德祥,任黎,许剑民. 中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(2023版). *消化肿瘤杂志(电子版).* 2023;15:86-99.
 5. Mathew RP, Basti RS, Suresh HB. A rare case of malignant giant phyllodes tumour with retrosternal extension and pericardial invasion. *BJR Case Rep.* 2016;2:20150357.
 6. Coons AH, Creech HJ, Jones RN. Immunological Properties of an Antibody Containing a Fluorescent Group. *Exp Biol Med.* 1941;47:200-202.
 7. Saltz J, Gupta R, Hou L, *et al.* Spatial Organization and Molecular Correlation of Tumor-Infiltrating Lymphocytes Using Deep Learning on Pathology Images. *Cell Rep.* 2018;23:181-193.
 8. Eisenstein M. Seven technologies to watch in 2022. *Nature.* 2022;601:658-661.
 9. Wei X, Fu S, Li H, *et al.* Single-cell Stereo-seq reveals induced progenitor cells involved in axolotl brain regeneration. *Science.* 2022;377:eabp9444.
 10. Goyette MA, Lipsyc-Sharf M, Polyak K. Clinical and translational relevance of intratumor heterogeneity. *Trends Cancer.* 2023;9:726-737.
 11. Waylen LN, Nim HT, Martelotto LG, *et al.* From whole-mount to single-cell spatial assessment of gene expression in 3D. *Commun Biol.* 2020;3:602.
 12. Method of the Year 2020: spatially resolved transcriptomics. *Nat Methods.* 2021;18:1.
 13. Lewis SM, Asselin-Labat ML, Nguyen Q, *et al.* Spatial omics and multiplexed imaging to explore cancer biology. *Nat Methods.* 2021;18:997-1012.
 14. Moses L, Pachter L. Museum of spatial transcriptomics. *Nat Methods.* 2022;19:534-546.
 15. Yu B, Zhang Q, Lin L, *et al.* Molecular and cellular evolution of the amygdala across species analyzed by single-nucleus transcriptome profiling. *Cell Discov.* 2023;9:19.
 16. Song X, Xiong A, Wu F, *et al.* Spatial multi-omics revealed the impact of tumor ecosystem heterogeneity on immunotherapy efficacy in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with bispecific antibody. *J Immunother Cancer.* 2023;11:e006234.
 17. Akhoundova D, Rubin MA. Clinical application of advanced multi-omics tumor profiling: Shaping precision oncology of the future. *Cancer Cell.* 2022;40:920-938.
 18. Bressan D, Battistoni G, Hannon GJ. The dawn of spatial omics. *Science.* 2023;381:eabq4964.
 19. Larsson L, Frisén J, Lundeberg J. Spatially resolved transcriptomics adds a new dimension to genomics. *Nat Methods.* 2021;18:15-18.
 20. Klemke RL. Trespassing cancer cells: 'fingerprinting' invasive protrusions reveals metastatic culprits. *Curr Opin Cell Biol.* 2012;24:662-669.
 21. Zhao T, Chiang ZD, Morriss JW, *et al.* Spatial genomics enables multi-modal study of clonal heterogeneity in tissues. *Nature.* 2022;601:85-91.
 22. Takei Y, Yun J, Zheng S, *et al.* Integrated spatial genomics reveals global architecture of single nuclei. *Nature.* 2021;590:344-350.
 23. Dekker J, Rippe K, Dekker M, *et al.* Capturing chromosome conformation. *Science.* 2002;295:1306-1311.
 24. Kaya-Okur HS, Wu SJ, Codomo CA, *et al.* CUT&Tag for efficient epigenomic profiling of small samples and single cells. *Nat Commun.* 2019;10:1930.
 25. Rao A, Barkley D, França GS, Yanai I. Exploring tissue architecture using spatial transcriptomics. *Nature.* 2021;596:211-220.
 26. Asp M, Bergenstråhle J, Lundeberg J. Spatially Resolved Transcriptomes-Next Generation Tools for Tissue Exploration. *Bioessays.* 2020;42:e1900221.
 27. Ståhl PL, Salmén F, Vickovic S, *et al.* Visualization and analysis of gene expression in tissue sections by spatial transcriptomics. *Science.* 2016;353:78-82.
 28. Goh D, Lee JN, Tien T, *et al.* Comparison between non-pulmonary and pulmonary immune responses in a HIV decedent who succumbed to COVID-19 [published correction appears in *Gut.* 2022;71:e8].
 29. Cui Zhou D, Jayasinghe RG, Chen S, *et al.* Spatially restricted drivers and transitional cell populations cooperate with the microenvironment in untreated and chemo-resistant pancreatic cancer. *Nat Genet.* 2022;54:1390-1405.
 30. Wang Y, Kartasalo K, Weitz P, *et al.* Predicting Molecular Phenotypes from Histopathology Images: A Transcriptome-Wide Expression-Morphology Analysis in Breast Cancer. *Cancer Res.* 2021;81:5115-5126.
 31. Winkels H, Ehinger E, Vassallo M, *et al.* Atlas of the Immune Cell Repertoire in Mouse Atherosclerosis Defined by Single-Cell RNA-Sequencing and Mass Cytometry. *Circ Res.* 2018;122:1675-1688.
 32. Saka SK, Wang Y, Kishi JY, *et al.* Immuno-SABER enables highly multiplexed and amplified protein imaging in tissues. *Nat Biotechnol.* 2019;37:1080-1090.
 33. Keren L, Bosse M, Marquez D, *et al.* A Structured Tumor-Immune Microenvironment in Triple Negative Breast Cancer Revealed by Multiplexed Ion Beam Imaging. *Cell.* 2018;174:1373-1387.e19.
 34. Kalxdorf M, Günthner I, Becher I, *et al.* Cell surface thermal proteome profiling tracks perturbations and drug targets on the plasma membrane. *Nat Methods.* 2021;18:84-91.
 35. Eckert MA, Coscia F, Chryplewicz A, *et al.* Proteomics reveals NNMT as a master metabolic regulator of cancer-associated fibroblasts. *Nature.* 2019;569:723-728.
 36. Chen F, Dai X, Zhou CC, *et al.* Integrated analysis of the faecal metagenome and serum metabolome reveals the role of gut microbiome-associated metabolites in the detection of colorectal cancer and adenoma. *Gut.* 2022;71:1315-1325.
 37. Sun C, Wang A, Zhou Y, *et al.* Spatially resolved multi-omics highlights cell-specific metabolic remodeling and interactions in gastric cancer. *Nat Commun.* 2023;14:2692.
 38. Dhainaut M, Rose SA, Akturk G, *et al.* Spatial CRISPR genomics identifies regulators of the tumor microenvironment. *Cell.* 2022;185:1223-1239.e20
 39. Wood CS, Pennel KAF, Leslie H, *et al.* Spatially Resolved Transcriptomics Deconvolutes Prognostic Histological Subgroups in Patients with Colorectal Cancer and Synchronous Liver Metastases. *Cancer Res.* 2023;83:1329-1344.
 40. Roelands J, van der Ploeg M, Ijsselsteijn ME, *et al.* Transcriptomic and immunophenotypic profiling reveals molecular and immunological hallmarks of colorectal cancer tumorigenesis. *Gut.* 2023;72:1326-1339.
 41. Qi J, Sun H, Zhang Y, *et al.* Single-cell and spatial analysis reveal interaction of FAP+ fibroblasts and SPP1+ macrophages in colorectal cancer. *Nat Commun.* 2022;13:1742.
 42. 周乐其. 基于空间转录组技术的结直肠癌肝转移肿瘤内异质性及肿瘤干细胞研究. *中国人民解放军海军军医大学.* 2023;DOI:10.26998/d.cnki.gjyu.2022.000031.
 43. Sathe A, Mason K, Grimes SM, *et al.* Colorectal Cancer Metastases in the Liver Establish Immunosuppressive Spatial

- Networking between Tumor-Associated SPP1+ Macrophages and Fibroblasts. *Clin Cancer Res.* 2023;29:244-260.
44. Qiao T, Yang W, He X, et al. Dynamic differentiation of F4/80+ tumor-associated macrophage and its role in tumor vascularization in a syngeneic mouse model of colorectal liver metastasis. *Cell Death Dis.* 2023;14:117.
45. Villemain JP, Bassaganyas L, Pourquier D, et al. Inferring ligand-receptor cellular networks from bulk and spatial transcriptomic datasets with BulkSignalR. *Nucleic Acids Res.* 2023;51:4726-4744.
46. Lazarus J, Maj T, Smith JJ, et al. Spatial and phenotypic immune profiling of metastatic colon cancer. *JCI Insight.* 2018;3:e121932.
47. Wang F, Long J, Li L, et al. Single-cell and spatial transcriptome analysis reveals the cellular heterogeneity of liver metastatic colorectal cancer. *Sci Adv.* 2023;9:eadf5464.
48. Pennel KA, Quinn JA, Nixon C, et al. CXCL8 expression is associated with advanced stage, right sidedness, and distinct histological features of colorectal cancer. *J Pathol Clin Res.* 2022;8:509-520.
49. Fleischer JR, Schmitt AM, Haas G, et al. Molecular differences of angiogenic versus vessel co-opting colorectal cancer liver metastases at single-cell resolution. *Mol Cancer.* 2023;22:17.
50. Nguyen L, Fifis T, Malcontenti-Wilson C, et al. Spatial morphological and molecular differences within solid tumors may contribute to the failure of vascular disruptive agent treatments. *BMC Cancer.* 2012;12:522.
51. Solís-Fernández G, Montero-Calle A, Martínez-Useros J, et al. Spatial Proteomic Analysis of Isogenic Metastatic Colorectal Cancer Cells Reveals Key Dysregulated Proteins Associated with Lymph Node, Liver, and Lung Metastasis. *Cells.* 2022;11:447.
52. Wu Y, Yang S, Ma J, et al. Spatiotemporal Immune Landscape of Colorectal Cancer Liver Metastasis at Single-Cell Level. *Cancer Discov.* 2022;12:134-153.
53. Tomlinson JS, Jarnagin WR, DeMatteo RP, et al. Actual 10-year survival after resection of colorectal liver metastases defines cure. *J Clin Oncol.* 2007;25:4575-4580.
54. Fong Y, Fortner J, Sun RL, et al. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg.* 1999;230:309-321.
55. House MG, Kemeny NE, Gönen M, et al. Comparison of adjuvant systemic chemotherapy with or without hepatic arterial infusional chemotherapy after hepatic resection for metastatic colorectal cancer. *Ann Surg.* 2011;254:851-856.
56. Qi L, Liang JY, Li ZW, et al. Deep learning-derived spatial organization features on histology images predicts prognosis in colorectal liver metastasis patients after hepatectomy. *iScience.* 2023;26:107702.
57. Cortese N, Carriero R, Barbagallo M, et al. High-Resolution Analysis of Mononuclear Phagocytes Reveals GPNMB as a Prognostic Marker in Human Colorectal Liver Metastasis. *Cancer Immunol Res.* 2023;11:405-420.
-
- 引用本文 / Article Citation:
- 黄润泽, 靳鑫, 刘钦雨, 朱卫平. 空间组学在结直肠癌肝转移中的研究进展. *医学新视角.* 2024;1(3):126-131. doi:10.5582/npjm.2024.01007
- Runze Huang, Jin Xin Jin, Qinyu Liu, Weiping Zhu. Advances in research on spatial omics in colorectal liver metastasis. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):126-131. doi:10.5582/npjm.2024.01007

热消融术在结直肠癌肝转移瘤中的价值争论

段文斌, 毛先海, 杨建辉, 段小辉, 龚伟智, 魏荣光, 卿宇豪, 任勇

湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院)肝胆外科, 湖南省长沙市410005

摘要: 肝切除术是可切除结直肠癌肝转移瘤(colorectal liver metastases, CRLM)的首选治疗方式, 但近80%的CRLM患者在初诊时不可切除。笔者所在中心认为针对不可切除或肿瘤解剖位置深在但<3cm的CRLM, 若肝切除术联合热消融术能达到无疾病证据状态(no evidence of disease, NED), 有利于患者的远期生存。但笔者2023年在日本访学期间, 了解到日本外科学者对CRLM的热消融治疗持谨慎、质疑态度, 主要基于热消融术后比较高的不完全消融率及局部复发率。但回顾既往文献, 多数中心将“不可切除”的CRLM作为热消融术的主要指征, 这可能导致不可避免的选择偏倚。国内外学者积极探索, 认为当CRLM<3cm、解剖位置深在、结节多发或分布于多个肝叶时, 单独热消融或热消融联合肝切除术在能达到NED的前提下, 具有积极意义。针对不可切除CRLM, 热消融联合化疗的远期生存也要优于单纯化疗。

关键词: 热消融术, 结直肠癌肝转移瘤

Debate on the value of thermal ablation in colorectal liver metastases

Wenbin Duan, Xianhai Mao, Jianhui Yang, Xiaohui Duan, Weizhi Gong, Rongguang Wei, Yuhao Qing, Raja Jahanzaib Sadiq

Department of Hepatobiliary Surgery, Hunan Provincial People's Hospital (First Affiliated Hospital of Hunan Normal University), Changsha, Hunan 410005

Abstract: Hepatectomy is the preferred treatment for resectable colorectal liver metastases (CRLM), but CRLM is unresectable in nearly 80% of patients at the time of initial diagnosis. The facility where the author works believes that if hepatectomy combined with thermal ablation can achieve a no evidence of disease (NED) status for CRLM that is unresectable or in a deep anatomical location but less than 3cm in size, then this approach would be beneficial to the patient's long-term survival. However, during a visit to Japan in 2023, the author learned that Japanese surgeons are cautious and skeptical about thermal ablation to treat CRLM, mainly based on the relatively high rate of incomplete ablation and the rate of local recurrence after thermal ablation. However, a review of the literature indicates that most centers regard "unresectable" CRLM as the main indication for thermal ablation, which may lead to inevitable selection bias. Domestic and foreign scholars are actively exploring the positive value of thermal ablation alone or in combination with liver resection, predicated on achieving an NED status when the CRLM is less than 3 cm in size, the metastasis is in a deep anatomical location, and nodules are multiple or distributed in multiple lobes of the liver. For unresectable CRLM, thermal ablation combined with chemotherapy results in a better long-term survival than that of chemotherapy alone.

Keywords: thermal ablation, colorectal liver metastases

1. 引言

肝脏是结直肠癌血行转移最主要的靶器官⁽¹⁾。在结直肠癌患者的整个病程中, 有将近一半的患者会发生肝转

移⁽²⁾。肝切除术(hepatic resection, HR)是可切除CRLM患者的首选治疗方式^(3,4)。CRLM患者接受根治性HR后5年无病生存率约为20%^(5,6), 5年整体生存率(overall survival, OS)为21~58%⁽³⁾, 有报道肝脏寡转移患者HR后5年OS高达71%⁽⁷⁻⁹⁾。然而, 近80%的CRLM在初始诊断时不可切除^(10,11)。不可切除CRLM包括外科学不可切除和肿瘤学不可切除两大类。导致外科学不可切除的因素主要包括病人全身情况不能承受手术创伤、肝功能不能耐受、剩余肝体积不足等。

热消融治疗(thermal ablation, TA)主要包括射频消融(radiofrequency ablation, RFA)与微波消融(microwave ablation, MWA)。单独TA或者TA联合HR在原发性肝癌外

收稿日期: 2023-10-2; 修回日期: 2024-3-25

基金项目: 无

通讯作者/Corresponding author: 毛先海/Xianhai Mao, E-mail:

maoxianhai@hunnu.edu.cn; 杨建辉/Jianhui Yang, E-mail:

yangjianhui403@126.com

本文编辑: 武强

科治疗中的价值得到肯定^(12,13),但TA应用于CRLM的价值一直以来存在着争议。笔者所在中心针对部分外科学不可切除及肿瘤解剖位置深在但 $<3\text{cm}$ 的CRLM患者,采用单独TA或者TA联合HR方式,认为亦可达到NED状态,对患者预后有利。但笔者2023年在日本东京大学附属病院及国立国际医疗研究中心病院访学期间,发现日本外科医生对CRLM的TA治疗常持更谨慎甚至质疑态度,其主要顾虑在于TA术后不理想的完全消融率和比较高的局部复发率(local recurrence, LR)。本文综述国内外学者对于TA应用于CRLM的数据与观点,旨在探讨TA在CRLM中的价值。

2. TA应用于CRLM的不完全消融率与LR及其原因分析

文献报道TA用于CRLM的完全消融率为81~94%⁽¹⁴⁻¹⁷⁾,LR不一,从2%到60%^(12,16,18,19)。分析导致不完全消融和LR的原因主要有以下几方面:

2.1. CRLM无包膜

不同于肝细胞癌,CRLM无包膜,呈浸润性生长。CRLM的实际大小术前难以准确评估⁽²⁰⁾;

2.2. 肿瘤 $>3\text{cm}$

肿瘤 $>3\text{cm}$ 被认为是LR的危险因素^(15,21,22)。Hammil等人报道 $<3\text{cm}$ CRLM经过TA治疗后的LR为3%, $3\sim 5\text{cm}$ 为4%⁽²³⁾,而 $>5\text{cm}$ CRLM的TA治疗后LR在27~45%之间^(23,24)。分析原因可能跟TA的有效消融范围、 $>3\text{cm}$ 肿瘤的生物活性等因素相关。

2.3. 病灶特殊的解剖位置

(1) 靠近主要血管或者肝蒂的CRLM 由于血液流动的热沉效应,消融血管旁肿瘤更加困难。Qin⁽²⁵⁾、Wong⁽²⁶⁾等认为病灶位于血管旁是术后LR的危险因素。Jiang⁽²⁷⁾等研究报道当病灶位于 $\geq 3\text{mm}$ 血管周围时,将导致消融不完全,是术后LR的独立危险因素。Wada^(25,28,29)等报告肿瘤直接接触主要肝静脉时,TA后LR达到42.9%。

(2) Wada⁽²⁸⁾等同时认为病灶位于肝后上段(第1、7、8段)且 $>15\text{mm}$ 是LR的独立危险因素,考虑与以下几个因素相关:7段病灶位置深、穿刺针道长导致穿刺难度大、术中超声评估穿刺针道及消融边缘困难;8段肿瘤尤其是靠近膈顶穹隆位置时,需要较小的穿刺角度和较长的穿刺距离,均有可能导致消融不完全;1段肿瘤位置深且被主要血管包绕,穿刺针道长且受限,同时为减少胆管热损伤风险,1段肿瘤的消融边缘也受到限制。

(3) 病灶位于包膜下 可能是影响CRLM治疗效果的另一个因素。位于包膜下的CRLM在消融技术上存在困难,肝包膜附近CRLM在TA时不能获得足够的消融边缘,甚至可能对邻近结构造成热损伤,如横膈膜和胃肠道、出血或肝外肿瘤扩散⁽³⁰⁻³⁴⁾。但该技术困难理论上可通过腹腔镜或开腹手术解决。

2.4. 术中难以即时准确评估消融边缘

与HR术中肿瘤切缘的宽度与OS的延长相关相似,TA的消融边缘与剩余肿瘤细胞的活性相关,足够的消融边缘是TA实现局部肿瘤控制的关键决定因素⁽³⁵⁻³⁸⁾。Kurilova、Wada等^(28,39)认为 $>1\text{cm}$ 的消融边缘能提供良好的肿瘤控制,但是增加了部分患者胆道并发症的发生率。最小消融边缘 $\leq 5\text{mm}$ 被认为是消融不完全的重要危险因素⁽³⁰⁾。但不同于HR时切缘的直观测量,消融边缘仅能通过影像来评估。受病灶与周围组织信号强度、密度、回声相似导致的分辨率不足或干扰、术中多方位立体评估难度大等因素影响,术中术后准确评估消融边缘存在困难。

2.5. 不同的消融方式(RFA vs. MWA)

TA治疗CRLM相关文献中,多使用RFA⁽⁴⁰⁻⁴³⁾,MWA相较于RFA,理论上具有以下优势:受热沉效应的影响较小⁽³⁸⁾,具有更快的消融时间、更大的消融区域、更高的瘤内温度和更完全的凝固性坏死⁽⁴³⁻⁴⁵⁾。Correa-Gallego等⁽⁴⁶⁾学者统计分析认为,与RFA相比,MWA后LR更低。

3. 较高的不完全消融率及LR预示着比较差的生存预后,但TA的患者选择指征存在选择偏倚

一项meta分析⁽⁴⁷⁾显示,HR治疗CRLM的3年OS和5年OS分别为55~82%、23~66%,而RFA治疗CRLM的3年OS和5年OS分别为32~84%、17.9~49%,提示HR的3年OS(RR: 1.377,95%CI: 1.246~1.522)、5年OS均显著优于RFA组(RR: 1.474,95%CI: 1.284~1.692)。

日本结肠癌和直肠癌学会2019年结肠直肠癌治疗指南⁽⁴⁸⁾指出,关于TA有效性的报道较少,由于TA治疗CRLM伴随着LR高风险,应尽可能考虑切除。对于可切除CRLM,手术切除是标准治疗方法,因此不推荐TA作为首选的治疗方法;对于不可切除CRLM,全身治疗是标准治疗,因此也不推荐TA用于不可切除的病变。

然而,回顾既往文献报告⁽⁴⁹⁻⁵³⁾,发现多数中心将不可切除的CRLM作为TA的主要指征,这可能导致不可避免的选择偏倚。不可切除因素主要包括健康状况不佳、剩余肝脏功能储备不足、病灶数目多或散在分布于多个肝叶、病灶位于特殊部位如靠近大血管而对手术不耐受等。因此HR往往实施于条件比较好的患者,而TA往往应用于条件不佳患者。其次,HR可以更好地进行术中分期和术后病理评估,有助于优化术后化疗和生物治疗策略⁽⁴⁷⁾。以上因素均有可能是导致TA治疗CRLM疗效劣于HR的原因。一项由国际消融术专家小组撰写的立场文件显示,荟萃分析15篇论文中接受RFA治疗的1613例CRLM患者,从首次TA日期开始,平均3年OS为50%(37~77%),平均5年OS为31%(17~51%)。几乎所有的研究都在不可切除的患者中使用RFA,但RFA应用于潜在可切除疾病的患者时,5年OS增加到50%⁽⁵⁴⁾。

4. TA应用于CRLM的积极价值

目前鲜有在同等基线条件下TA对比HR治疗CRLM的相关临床研究。但国内外学者积极尝试,认为针对CRLM的治疗,TA在以下几个方面具有积极价值:

4.1. 针对<3cm CRLM

Gillams等⁽⁵⁴⁾分析认为, TA应用于CRLM, 局部肿瘤进展率随着肿瘤大小的减小而持续降低, 目前最常用的分界点为3cm。Tez等⁽⁵⁵⁾认为<3cm CRLM开放RFA术后的局部复发率相当于HR。对于合并其他全身疾病不能耐受HR或不愿手术患者, TA是一个适宜的选择方案。

4.2. 针对解剖位置深在的CRLM

对于解剖位置深在的CRLM, HR需要牺牲比较多的正常肝实质。若考虑TA可达到NED, 则TA治疗可以保存尽可能多的残肝体积⁽⁵⁶⁾。

4.3. TA联合化疗 vs. 单纯化疗

对于不可切除CRLM, TA联合化疗患者的远期生存要优于单纯化疗患者⁽⁴⁰⁾。文献显示, TA联合化疗可以帮助延长不可切除CRLM患者的OS, 3年OS可达37~77%, 5年OS可达17~51%, 而同期仅接受化疗的不可切除CRLM患者5年OS接近0%⁽⁵⁴⁾。一项旨在研究初始不能手术CRLM患者系统化疗同时增加TA的随机对照试验(EORTC-CLOCC)⁽⁵²⁾显示: RFA联合化疗组的30个月OS为61.7% (95%CI: 48.2~73.9%), 而单独化疗组为57.6% (95%CI: 44.1~70.4%)。经过9.7年的中位随访, RFA联合化疗组OS要显著优于单纯化疗组(HR = 0.58; 95%CI: 0.38~0.88), 其中RFA联合化疗组的8年OS为35.9%, 而单独化疗组为8.9%。联合化疗组的中位DFS显著延长, 为16.8个月(95%CI: 11.7~22.1), 而单独化疗组的中位DFS为9.9个月(95%CI: 9.3~13.7), HR为0.63(95%CI: 0.42~0.95, $p=0.025$)。

4.4. 针对多个结节或分布于多个肝叶的CRLM, TA联合HR

ESMO⁽⁵⁶⁾指南将≥5个结节患者定义为交界可切除, 认为不能单纯用HR处理。wada等⁽²⁸⁾将≥5个结节的CRLM患者分为可切除组(虚拟残肝体积≥30%)和不可切除组(虚拟残肝体积<30%), 通过回顾性分析认为: 积极的外科治疗(TA和/或HR)处理交界可切除或不可切除的CRLM, 能达到一个较好的远期生存, 可切除组和不可切除组患者的3年生存率分别为51.4%和44.6%。5年生存率分别为33.3%、33.7%。虽然两组中大部分患者出现了复发, 但是仍有近一半的患者可以再次接受外科处理⁽⁵³⁾。相比之下, 虽然CRLM患者的全身化疗方案得到改善, 但增加的生存获益有限, 在没有手术的情况下, 3年OS为20~30%^(57,58)。K. Imai等⁽⁵⁹⁾通过对553例接受HR的CRLM患者资料进行倾向性匹配分析认为, RFA联合HR治疗CRLM后的短期和长期预后与单独HR术后相似。HR+RFA组患者的OS和DFS率与单独HR组患者的OS和DFS率均无差异。Saxena等⁽⁶⁰⁾分析了701例接受HR和/或MWA的CRLM患者的结果, 在151例≥5个病灶的CRLM的患者中, HR联合MWA不仅获得了与单独HR相当的生存获益, 而且有效地扩大了可切除性的标准。Oba等⁽⁶¹⁾同时认为: MWA不仅能保留更多残肝体积, 还能保存肝脏中

的重要血管, 为复发后的再次外科治疗提供机会。Mima等⁽⁶²⁾学者认为, HR联合TA后肝内复发率高于单纯HR, 可能与HR联合TA治疗患者中高度恶性因素占比高相关, 这些高度恶性因素包括肿瘤多发、位于两个或多个肝叶、同时性肝转移等。Masuda等⁽⁶³⁾分析指出, 对于≥4个病灶的CRLM患者, 接受HR+RFA或单纯HR的预后是相似的, 认为肝脏中广泛转移性肿瘤数量可能中和RFA相关的负面预后影响。Viganò等⁽⁶⁴⁾统计分析也认为, ≥4个病灶是CRLM患者HR术后早期复发的独立危险因素。

5. 总结

综上所述, 考虑到CRLM的浸润性生长方式, 或靠近大血管、主要肝蒂的热沉效应等导致不理想的完全消融率和比较高的LR, 以及伴随的胆道损伤风险, 笔者亦认同日本学者的意见, HR是可切除CRLM的首选治疗方式。但笔者中心同时认为, 针对部分外科学不可切除或解剖位置深在而<3cm的CRLM患者, 在能达到NED的前提下, 单独TA或TA联合HR是一个可供选择方案, NCCN、ESMO、中国结直肠癌肝转移指南均有推荐。在实施TA时, 安全的消融边缘(>5mm)是达到完全消融的重要保障。在同等基线条件下, 谨慎挑选的亚组如<3cm可切除CRLM, 开展TA对比HR的安全性和有效性的前瞻性随机对照研究的意义值得进一步探讨。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢: 无。

作者贡献声明: 无。

参考文献

1. 中国医师协会外科医师分会,中华医学会外科学分会胃肠外科学组,中华医学会外科学分会结直肠外科学组,等.中国结直肠癌肝转移诊断和综合治疗指南(2023版). 中国实用外科杂志. 2023;43:9-22.
2. Nagai Y, Kiyomatsu T, Gohda Y, *et al.* The primary tumor location in colorectal cancer: A focused review on its impact on surgical management. *Glob Health Med.* 2021;3:386-393.
3. Dulundu E, Attaallah W, Tilki M, *et al.* Simultaneous resection for colorectal cancer with synchronous liver metastases is a safe procedure: Outcomes at a single center in Turkey. *BioScience Trends.* 2017;11:235-242.
4. Zhang W, Song TQ. The progress in adjuvant therapy after curative resection of liver metastasis from colorectal cancer. *Drug Discoveries & Therapeutics.* 2014;8:194-200.
5. Choti MA, Sitzmann JV, Tiburi MF, *et al.* Trends in long-term survival following liver resection for hepatic colorectal metastases. *Ann Surg.* 2002;235:759-766.
6. Pawlik TM, Scoggins CR, Zorzi D, *et al.* Effect of surgical margin status on survival and site of recurrence after hepatic resection for colorectal metastases. *Ann Surg.* 2005;241:715-722.
7. Aloia TA, Vauthey JN, Loyer EM, *et al.* Solitary colorectal liver metastasis: resection determines outcome. *Arch Surg.* 2006;141:460-466; discussion 466-467.
8. Hur H, Ko YT, Min BS, *et al.* Comparative study of resection and radiofrequency ablation in the treatment of solitary colorectal liver metastases. *Am J Surg.* 2009;197:728-736.

9. Lee WS, Yun SH, Chun HK, *et al.* Clinical outcomes of hepatic resection and radiofrequency ablation in patients with solitary colorectal liver metastasis. *J Clin Gastroenterol.* 2008;42:945-949.
10. Cirocchi R, Trastulli S, Boselli C, *et al.* Radiofrequency ablation in the treatment of liver metastases from colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev.* 2012;(6):CD006317.
11. Adam R, Delvart V, Pascal G, *et al.* Rescue surgery for unresectable colorectal liver metastases downstaged by chemotherapy: a model to predict long-term survival. *Ann Surg.* 2004;240:644-657.
12. 中华人民共和国国家卫生健康委员会医政医管局.原发性肝癌诊疗指南(2022年版).中国实用外科杂志. 2022;42:241-273.
13. Reig M, Forner A, Rimola J, *et al.* BCLC strategy for prognosis prediction and treatment recommendation: The 2022 update. *J Hepatol.* 2022;76:681-693.
14. Sofocleous CT, Petre EN, Gonen M, *et al.* CT-guided radiofrequency ablation as a salvage treatment of colorectal cancer hepatic metastases developing after hepatectomy. *J Vasc Interv Radiol.* 2011;22:755-761.
15. Liu M, Huang GL, Xu M, *et al.* Percutaneous Thermal Ablation for the Treatment of Colorectal Liver Metastases and Hepatocellular Carcinoma: A Comparison of Local Therapeutic Efficacy. *Int J Hyperthermia.* 2017;33:446-453.
16. Veltri A, Sacchetto P, Tosetti I, *et al.* Radiofrequency ablation of colorectal liver metastases: small size favorably predicts technique effectiveness and survival. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2008;31:948-956.
17. Gillams AR, Lees WR. Five-year survival in 309 patients with colorectal liver metastases treated with radiofrequency ablation. *Eur Radiol.* 2009;19:1206-1213.
18. Pathak S, Jones R, Tang JM, *et al.* Ablative therapies for colorectal liver metastases: a systematic review. *Colorectal Dis.* 2011;13:e252-265.
19. Bale R, Widmann G, Schullian P, *et al.* Percutaneous stereotactic radiofrequency ablation of colorectal liver metastases. *Eur Radiol.* 2012;22:930-937.
20. Sofocleous CT, Nascimento RG, Petrovic LM, *et al.* Histopathologic and immunohistochemical features of tissue adherent to multitined electrodes after RF ablation of liver malignancies can help predict local tumor progression: initial results. *Radiology.* 2008;249:364-374.
21. Fong Y, Fortner J, Sun RL *et al.* Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg.* 1999;230:309-318; discussion 318-321.
22. Hori T, Nagata K, Hasuiki S, *et al.* Risk factors for the local recurrence of hepatocellular carcinoma after a single session of percutaneous radiofrequency ablation. *J Gastroenterol.* 2003;38:977-981.
23. Hammill CW, Billingsley KG, Cassera MA, *et al.* Outcome after laparoscopic radiofrequency ablation of technically resectable colorectal liver metastases. *Ann Surg Oncol.* 2011;18:1947-1954.
24. Nielsen K, van Tilborg AA, Meijerink MR, *et al.* Incidence and treatment of local site recurrences following RFA of colorectal liver metastases. *World J Surg.* 2013;37:1340-1347.
25. Qin S, Liu GJ, Huang M, *et al.* The local efficacy and influencing factors of ultrasound-guided percutaneous microwave ablation in colorectal liver metastases: A review of a 4-year experience at a single center. *Int J Hyperthermia.* 2019;36:36-43.
26. Wong SL, Mangu PB, Choti MA, *et al.* American Society of Clinical Oncology 2009 clinical evidence review on radiofrequency ablation of hepatic metastases from colorectal cancer. *J Clin Oncol.* 2010;28:493-508.
27. Jiang B, Luo H, Yan K, *et al.* Ten-year outcomes of percutaneous radiofrequency ablation for colorectal cancer liver metastases in perivascular vs. non-perivascular locations: a propensity-score matched study. *Front Oncol.* 2020;10:553556.
28. Wada Y, Takami Y, Ryu T, *et al.* Predictive Factors for Local Recurrence after Intraoperative Microwave Ablation for Colorectal Liver Metastases. *Cancers (Basel).* 2022;15:122.
29. Takahashi H, Kahramangil B, Berber E. Local recurrence after microwave thermosphere ablation of malignant liver tumors: Results of a surgical series. *Surgery.* 2018;163:709-713.
30. Fan H, Wang X, Qu J, *et al.* Periprocedural risk factors for incomplete radiofrequency ablation of liver metastases from colorectal cancer: A single-center retrospective analysis. *Int J Hyperthermia.* 2021;38:985-994.
31. Han K, Kim JH, Yang SG, *et al.* A single-center retrospective analysis of periprocedural variables affecting local tumor progression after radiofrequency ablation of colorectal cancer liver metastases. *Radiology.* 2021;298:212-218.
32. Kim JS, Ko Y, Kwon H, *et al.* Impact of energy and access methods on extrahepatic tumor spreading and the ablation zone: an ex vivo experiment using a subcapsular tumor model. *Korean J Radiol.* 2019;20:580-588.
33. Shirai K, Tamai H, Shingaki N, *et al.* Clinical features and risk factors of extrahepatic seeding after percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res.* 2011;41:738-745.
34. Jaskolka JD, Asch MR, Kachura JR, *et al.* Needle tract seeding after radiofrequency ablation of hepatic tumors. *J Vasc Interv Radiol.* 2005;16:485-491.
35. Sotirchos VS, Petrovic LM, Gönen M, *et al.* Colorectal cancer liver metastases: biopsy of the ablation zone and margins can be used to predict oncologic outcome. *Radiology.* 2016;280:949-959.
36. Wang X, Sofocleous CT, Erinjeri JP, *et al.* Margin size is an independent predictor of local tumor progression after ablation of colon cancer liver metastases. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2013;36:166-175.
37. Sadot E, Groot Koerkamp B, Leal JN, *et al.* Resection margin and survival in 2368 patients undergoing hepatic resection for metastatic colorectal cancer: surgical technique or biologic surrogate?. *Ann Surg.* 2015;262:476-485.
38. Shady W, Petre EN, Do KG, *et al.* Percutaneous Microwave versus Radiofrequency Ablation of Colorectal Liver Metastases: Ablation with Clear Margins (A0) Provides the Best Local Tumor Control. *J Vasc Interv Radiol.* 2018;29:268-275.e1.
39. Kurilova I, Bendet A, Petre EN, *et al.* Factors Associated With Local Tumor Control and Complications After Thermal Ablation of Colorectal Cancer Liver Metastases: A 15-year Retrospective Cohort Study. *Clin Colorectal Cancer.* 2021;20:e82-e95.
40. Abdalla EK, Vauthey JN, Ellis LM, *et al.* Recurrence and outcomes following hepatic resection, radiofrequency ablation, and combined resection/ablation for colorectal liver metastases. *Ann Surg.* 2004;239:818-825; discussion 825-827.
41. Karanicolas PJ, Jarnagin WR, Gonen M, *et al.* Long-term outcomes following tumor ablation for treatment of bilateral colorectal liver metastases. *JAMA Surg.* 2013;148:597-601.
42. Martin RC, Scoggins CR, McMasters KM. Safety and efficacy of microwave ablation of hepatic tumors: a prospective review of a 5-year experience. *Ann Surg Oncol.* 2010;17:171-178.
43. Groeschl RT, Pilgrim CH, Hanna EM, *et al.* Microwave ablation for hepatic malignancies: a multiinstitutional analysis. *Ann Surg.* 2014;259:1195-1200.
44. Wright AS, Sampson LA, Warner TF, *et al.* Radiofrequency versus microwave ablation in a hepatic porcine model. *Radiology.* 2005;236:132-139.
45. Dupuy DE. Microwave ablation compared with radiofrequency

- ablation in lung tissue-is microwave not just for popcorn anymore?. *Radiology*. 2009;251:617-618.
46. Correa-Gallego C, Fong Y, Gonen M, *et al*. A retrospective comparison of microwave ablation vs radiofrequency ablation for colorectal cancer hepatic metastases. *Ann Surg Oncol*. 2014;21:4278-4283.
 47. Weng M, Zhang Y, Zhou D, *et al*. Radiofrequency ablation versus resection for colorectal cancer liver metastases: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7:e45493.
 48. Hashiguchi Y, Muro K, Saito Y, *et al*. Japanese Society for Cancer of the Colon and Rectum (JSCCR) guidelines 2019 for the treatment of colorectal cancer. *Int J Clin Oncol*. 2020;25:1-42.
 49. Machi J, Oishi AJ, Sumida K, *et al*. Long-term outcome of radiofrequency ablation for unresectable liver metastases from colorectal cancer: evaluation of prognostic factors and effectiveness in first- and second-line management. *Cancer J*. 2006;12:318-326.
 50. Topal B, Aerts R, Penninckx F. Laparoscopic radiofrequency ablation of unresectable liver malignancies: feasibility and clinical outcome. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech*. 2003;13:11-15.
 51. Minami Y, Kudo M. Radiofrequency ablation of liver metastases from colorectal cancer: a literature review. *Gut Liver*. 2013;7:1-6.
 52. Ruers T, Van Coevorden F, Punt CJ, *et al*. Local treatment of unresectable colorectal liver metastases: results of a randomized phase II trial. *J Natl Cancer Inst*. 2017;109:djx015.
 53. Wada Y, Takami Y, Tateishi M, *et al*. Efficacy of surgical treatment using microwave coagulo-necrotic therapy for unresectable multiple colorectal liver metastases. *Oncol Targets Ther*. 2016;9:937-943.
 54. Gillams A, Goldberg N, Ahmed M, *et al*. Thermal ablation of colorectal liver metastases: a position paper by an international panel of ablation experts, the Interventional Oncology Sans frontières meeting 2013. *Eur Radiol*. 2015;25:3438-3454.
 55. Tez M, Tez S. Radiofrequency Ablation versus Resection for Resectable Colorectal Liver Metastases: Time for a Randomized Trial?. *Ann Surg Oncol*. 2008;15:1804.
 56. Van Cutsem E, Cervantes A, Adam R, *et al*. ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol*. 2016;27:1386-1422.
 57. Nordlinger B, Van Cutsem E, Gruenberger T, *et al*. Combination of surgery and chemotherapy and the role of targeted agents in the treatment of patients with colorectal liver metastases: recommendations from an expert panel. *Ann Oncol*. 2009;20:985-992.
 58. Falcone A, Ricci S, Brunetti I, *et al*. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol*. 2007;25:1670-1676.
 59. Imai K, Allard MA, Castro Benitez C, *et al*. Long-term outcomes of radiofrequency ablation combined with hepatectomy compared with hepatectomy alone for colorectal liver metastases. *Br J Surg*. 2017;104:570-579.
 60. Saxena A, Chua TC, Chu FC, *et al*. Impact of treatment modality and number of lesions on recurrence and survival outcomes after treatment of colorectal cancer liver metastases. *J Gastrointest Oncol*. 2014;5:46-56.
 61. Oba M, Hasegawa K, Matsuyama Y, *et al*. Discrepancy between recurrence-free survival and overall survival in patients with resectable colorectal liver metastases: a potential surrogate endpoint for time to surgical failure. *Ann Surg Oncol*. 2014;21:1817-1824.
 62. Mima K, Beppu T, Chikamoto A, *et al*. Hepatic resection combined with radiofrequency ablation for initially unresectable colorectal liver metastases after effective chemotherapy is a safe procedure with a low incidence of local recurrence. *Int J Clin Oncol*. 2013;18:847-855.
 63. Masuda T, Margonis GA, Andreatos N, *et al*. Combined Hepatic Resection and Radio-frequency Ablation for Patients with Colorectal Cancer Liver Metastasis: A Viable Option for Patients with a Large Number of Tumors. *Anticancer Res*. 2018;38:6353-6360.
 64. Viganò L, Capussotti L, Lapointe R, *et al*. Early recurrence after liver resection for colorectal metastases: risk factors, prognosis, and treatment. A LiverMetSurvey-based study of 6,025 patients. *Ann Surg Oncol*. 2014;21: 1276-1286.
- 引用本文 / Article Citation:
- 段文斌, 毛先海, 杨建辉, 段小辉, 龚伟智, 魏荣光, 卿宇豪, 任勇. 热消融术在结直肠癌肝转移瘤中的价值争论. *医学新视角*. 2024;1(3):132-136. doi:10.5582/npjm.2024.01009
- Wenbin Duan, Xianhai Mao, Jianhui Yang, Xiaohui Duan, Weizhi Gong, Rongguang Wei, Yuhao Qing, Raja Jahanzaib Sadiq. Debate on the value of thermal ablation in colorectal liver metastases. *The New Perspectives Journal of Medicine*. 2024;1(3):132-136. doi:10.5582/npjm.2024.01009

孟德尔随机化分析在肝癌病因探索中的研究进展

季军, 黄纪伟

四川大学华西医院肝脏外科, 四川成都 610041

摘要: 对肝癌风险因素的深入研究是肝癌筛查防治的基础。作为对传统流行病学研究方法的补充, 孟德尔随机化分析利用遗传相关变异作为工具变量, 分析相关暴露因素与结局之间的关联, 为肝癌的病因探索提供了新途径, 并有望确定潜在的治疗干预措施。本文主要概述了该方法, 并从生活方式相关因素、肥胖相关因素、免疫相关疾病、肠道菌群和其他相关因素5个方面综述了近年来肝癌领域的孟德尔随机化研究进展, 对未来发展方向进行了展望。

关键词: 孟德尔随机化, 肝癌, 流行病学, 风险因素, 全基因组关联研究

Recent advances in the application of Mendelian randomization to liver cancer

Jun Ji, Jiwei Huang

Division of Liver Surgery, Department of General Surgery, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

Abstract: Risk factors for liver cancer have been extensively investigated, which is the basis for liver cancer screening and prevention. As a supplement to traditional epidemiological research methodologies, Mendelian randomization analysis provides a new approach to infer the etiology of liver cancer by using genetic loci as instrumental variables. Moreover, it is expected to determine potential therapeutic targets. In this review, we provide an overview of this methodology and we summarized recent advances in the field of liver cancer from five aspects: lifestyle-related factors, obesity-related factors, immune status, gut microbiota, and other relevant factors. In addition, we also envisioned the direction of its future development.

Keywords: mendelian randomization, liver cancer, epidemiology, risk factors, genome-wide association studies

1. 引言

原发性肝癌 (primary liver cancer, PLC) 是目前第4大最常见的恶性肿瘤, 也是癌症相关死亡率的第2大原因, 严重威胁人民的生命和健康⁽¹⁾。肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是肝癌的主要组织学亚型, 约占其中的90%⁽²⁾。我国的肝癌患者多以乙型肝炎病毒感染及肝硬化为背景, 早期并无特异性症状, 初次就诊时大多为中晚期 (70%), 多数患者已无法进行根治性切除。因此, 对肝癌病因进行深入研究并完善高危人群的风险筛查尤为重要。

肝癌的发生是多因素协同作用, 经过多个过程, 涉及多个基因突变的结果。其中, 肝炎病毒、黄曲霉毒素和代谢相关脂肪性肝病等是肝癌发生的风险因素, 但并不清楚

其他潜在因素与肝癌发生有无因果关联。近来, 孟德尔随机化分析 (Mendelian randomization, MR) 作为一种流行病学病因推断工具, 被广泛应用于癌症领域⁽³⁻⁵⁾。本文将围绕MR及其在肝癌病因探索方面的研究进展进行综述, 并对未来此领域的发展进行展望。

2. 孟德尔随机化分析概述

流行病学研究类型中最为广泛应用的是观察性研究, 其能够客观地反映某种暴露因素与结局的关联, 但也存在选择偏倚及因果推断能力不足等限制。随机对照试验 (randomized controlled trial, RCT) 作为因果效应推断的“金标准”, 其解释效能为广大研究者认同, 但大规模的RCT需要耗费许多精力与经费, 也存在伦理限制与随访难度大等问题⁽⁶⁾。MR分析作为一种新兴便捷的研究方法, 其结合了孟德尔第二定律与工具变量法, 依托全基因组关联研究 (Genome-wide association study, GWAS) 的数据, 探究基因关联的性状与疾病之间的潜在关系。MR研究选取的暴露因素是遗传相关的, 在同一人群中具有普适性, 不太会受到环境因素和反向因果关系的影响⁽⁷⁾。近年来, 许多大型GWAS研究发布, 能够开放获取的高通量数

收稿日期: 2023-12-27; 修回日期: 2024-4-12

基金项目: 无

通讯作者/Corresponding author: 黄纪伟/Jiwei Huang, E-mail: huangjiwei@wchscu.cn

本文编辑: 马亚楠

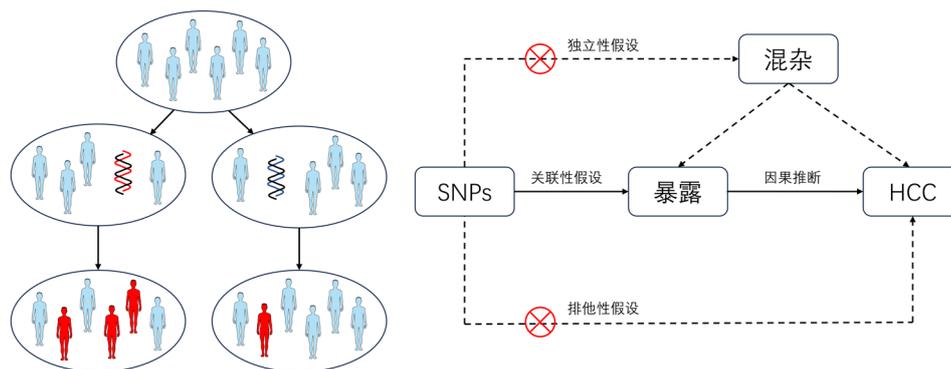


图1. 孟德尔随机化的基本原理和三大假设。SNPs, single nucleotide polymorphisms; HCC, hepatocellular carcinoma。

据越来越多, 促进了MR研究的蓬勃发展。

2.1. 原理与三大基本假设

MR概念(图1)于1986年由Katan首次提出, 基于孟德尔第二定律:“在形成配子时, 决定同一性状的成对遗传因子彼此分离, 决定不同性状的遗传因子自由组合, 互不干扰”, 将GWAS数据库中与不同性状强相关的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNPs)作为工具变量, 推断暴露因素与感兴趣结局之间的关联及其效应值⁽⁸⁾。

MR分析本质以工具变量法作为框架, 挑选合格的工具变量, 需要遵循三大基本假设:(1)关联性假设:采用的工具变量与暴露相关;(2)独立性假设:工具变量须独立于暴露与结局之间的任何混杂因素;(3)排他性假设:工具变量仅能通过暴露对结局产生影响, 不可与结局因素直接相关⁽⁷⁾。

2.2. 研究的基本方法和问题

MR研究起初在单样本人群中进行, 收集个体级别数据, 在进行因果推断时, 选用少量与暴露相关的SNPs等作为工具变量进行分析, 这样小范围的MR研究耗时长, 成本高, 效应值较易受到混杂影响⁽⁸⁾。近年来, 动辄数十万人的高通量GWAS提供的公开汇总级数据愈发完善, 使得MR研究与暴露因素和结局因素相关的遗传变异可分别来自两个互不重叠的样本, 较少受到小样本量或混杂的影响, 在进行因果推断时常用逆方差加权法(inverse variance weighted, IVW)计算效应值⁽⁹⁾。这样的两样本MR分析可重复性强, 可用于筛选的SNPs数量大, 进而有更高的统计效力和更广泛的应用范围, 是目前的主要研究类型。但由于大多采用汇总级数据, 会造成一些亚组信息或其他表型信息难以获得, 一定程度上也限制了后续深入研究。近年来, 中介MR分析、线性/非线性MR分析等这些新分析方法能够对病因背后的机制与变化模式提供更深层次的理解。

在实际应用当中, MR分析会面临不少问题。首先, 为了满足基本假设, 在研究中获得可靠的结果, 需要所选工具变量有着不错的表型解释度, 与暴露因素强相关(通常 $p < 5 \times 10^{-8}$), 并通过计算Cragg-Donald F值来评估所选工具

变量的关联强度(通常F值 >10), 否则可能会存在潜在的“弱工具变量”偏倚, 产生错误的因果估计^(10,11)。其次, 两个遗传变异不是完全独立地遗传, 它们同时出现在一条染色体上的几率, 高于随机出现的频率, 这种现象叫做连锁不平衡(linkage disequilibrium, LD)⁽¹²⁾。选用具有明显LD的SNPs可能会违反排他性假设, 造成假阳性, 因此须选择相互独立的SNPs, 或者采用一些方法校正潜在的偏倚。另外, 一个基因位点可能影响不止一个表型, 所选用的SNPs可能通过其他潜在混杂因素影响结局, 造成多效性偏倚⁽¹³⁾。MR分析中有多种方法评估分析的多效性, 比如采用MR-PRESSO法(Mendelian randomization pleiotropy residual sum and outlier, MR-PRESSO)检验并剔除具有多效性的离群值, 以及采用对多效性进行校正的MR-Egger法等^(14,15)。另外, 两样本MR分析过程中还存在样本重叠、人群分层、发育代偿机制以及统计效力等问题⁽¹⁰⁾。但近年来GWAS数据质量不断提升, 分析方法不断改进, 通过对分析方法的合理应用和规范的结果报告, MR分析能够获得可靠的统计学结果^(16,17)。

3. 孟德尔随机化在肝癌中的应用

肝癌是由多种因素共同参与的肝脏恶性肿瘤, 传统流行病学研究存在着执行成本高、耗时长、混杂因素干扰等问题, MR分析在一定程度上可作为“前临床研究”, 筛选可疑因素, 为大样本高质量研究提供方向和依据。近来, 有关肝癌的MR分析主要围绕生活方式相关因素、肥胖相关因素、免疫相关疾病、肠道菌群以及其他相关因素等展开。纳入的主要研究的基本特征如表1所示。

3.1. 生活方式相关因素与肝癌

大量酒精摄入与酒精性脂肪肝、肝硬化密切相关, 但少量酒精摄入对肝脏的长期作用尚有争议。有队列研究发现, 酒精摄入与HCC发生有正向剂量-反应关系, 但也有研究发现轻度至中度饮酒与HCC风险呈负相关^(18,19)。Liu等⁽²⁰⁾基于UK Biobank的欧洲人群数据进行了一项前瞻性队列研究与MR分析, 并对酒类型、摄入量, 人群BMI等相关因素进行了分层分析。其中, 队列研究的结果提示饮酒与HCC风险之间存在“J”型相关, 即少量饮酒可对肝癌患病低风险人群起到保护作用, 这与先一项前瞻性队

表1. 纳入研究的基本特征

研究者	暴露因素种类	暴露因素	结局因素	结局样本
Liu等 ⁽²⁰⁾	欧洲	生活相关因素	UKBB: 酒精摄入 ($n=329164$)	肝细胞癌 UKBB: 329164名参与者 (201名肝细胞癌患者)
Deng等 ⁽²¹⁾	东亚	生活相关因素	BBJ: 从未/曾经饮酒 ($n=165084$), 酒精摄入 ($n=58610$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Yuan等 ⁽²²⁾	欧洲	生活相关因素	GSCAN: 酒精摄入 ($n=941280$)	肝癌 混合: 702722名参与者 (714名肝癌患者)
Deng等 ⁽²¹⁾	东亚	生活相关因素	BBJ: 咖啡摄入 ($n=152634$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Carte等 ⁽²⁶⁾	欧洲	生活相关因素	混合: 咖啡摄入 ($n=125836$)	肝癌 UKBB: 约50万参与者 (463名肝癌患者)
Lumsden等 ⁽²⁹⁾	欧洲	生活相关因素	UKBB: 乳糖酶持久性 ($n=255196$)	肝癌 UKBB: 250423名参与者 (338名肝癌患者); FinnGen: 204512名参与者 (442名肝癌患者)
Yuan等 ⁽³³⁾	欧洲	生活相关因素	UKBB: 睡眠时型 ($n=449734$); 23andMe: 睡眠时型 ($n=248098$)	肝癌 UKBB和FinnGen: 367542名参与者 (503名肝癌患者)
Yang等 ⁽³⁴⁾	欧洲	生活相关因素	UKBB: 睡眠时型 ($n=413343$); 睡眠时长 ($n=460099$)	肝癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者); FinnGen: 174006名参与者 (304名肝癌患者)
Vithayathil等 ⁽³⁵⁾	欧洲	肥胖相关因素	BMI: $n=806834$; FMI: $n=331291$	肝癌 UKBB: 367561名参与者 (463名肝癌患者)
Pang等 ⁽³⁶⁾	东亚	肥胖相关因素	CKB: BMI ($n=75736$)	肝癌 CKB: 75736名参与者
Thomas等 ⁽³⁸⁾	东亚	肥胖相关因素	SCHS: BMI ($n=24333$)	肝细胞癌 SCHS: 24333名参与者 (208名肝细胞癌患者)
Jiang等 ⁽⁴¹⁾	东亚	肥胖相关因素	AGEN: 脂联素 ($n=7827$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Huang等 ⁽⁴³⁾	欧洲/东亚	免疫相关疾病	IIBDGC: 炎症性肠病 (欧洲 $n=65642$; 东亚 $n=6543$); 克罗恩病 (欧洲 $n=51874$; 东亚 $n=5409$); 溃疡性结肠炎 (欧洲 $n=47745$; 东亚 $n=4853$)	肝细胞癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者); BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Zhang等 ⁽⁴⁴⁾	东亚	免疫相关疾病	BBJ: 类风湿关节炎 ($n=19190$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Lu等 ⁽⁴⁶⁾	欧洲	免疫相关疾病	UKBB: 甲状腺功能减退/粘液性水肿 ($n=337159$)	肝细胞癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者)
Ma等 ⁽⁵⁾	欧洲	肠道菌群	8956名参与者	肝细胞癌/肝内胆管细胞癌 UKBB: 456348名参与者
Wang等 ⁽⁴⁹⁾	欧洲/东亚	血压	ICBP和UKBB: 12个降压药物靶点 ($n=757601$); BBJ: 11个降压药物靶点 ($n=136597$)	肝细胞癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者); BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Min等 ⁽⁵²⁾	欧洲	血脂	UKBB: 3个降脂药物靶点 ($n=462933$)	肝细胞癌 UKBB: 372184名参与者 (168名肝细胞癌患者)
Larsson等 ⁽⁵⁴⁾	东亚	胰岛素样生长因子-1	BBJ: 胰岛素样生长因子-1 ($n=212453$)	肝细胞癌 BBJ: 197611名参与者 (1866名肝细胞癌患者)
Wu等 ⁽⁵⁵⁾	欧洲	血管内皮生长因子	7118名参与者	肝细胞癌 FinnGen: 218792名参与者 (304名肝癌患者)

UKBB, UK Biobank; BBJ, BioBank Japan; GSCAN, GWAS and Sequencing Consortium of Alcohol and Nicotine use; CKB, China Kadoorie Biobank; SCHS, Singapore Chinese Health Study; AGEN, Asian Genetic Epidemiology Network; IIBDGC, International Inflammatory Bowel Disease Genetics Consortium; ICBP, International consortium of blood pressure.

列研究结果一致⁽¹⁹⁾。研究者们认为这种保护作用可能是通过饮用葡萄酒带来的,其中的生物活性成分抵消了酒精的负面作用⁽²⁰⁾。随后的非线性MR分析显示,遗传相关的酒精摄入与HCC风险存在正向线性关系,即任何程度的饮酒行为都会提高患癌风险。Deng等⁽²¹⁾基于东亚人群的MR研究得出了类似的结果,与从不饮酒的人相比,曾经饮酒的人患HCC的风险更高(OR 1.11, 95% CI 1.05–1.18, $p < 0.001$);并且酒精摄入与肝细胞癌风险正相关(OR 1.57, 95% CI 1.32–1.86, $p < 0.001$)。此外,有一项欧洲人群的MR分析⁽²²⁾提示酒精摄入与肝癌风险并没有统计学意义上的关联(OR 1.16, 95% CI 0.43–3.11, $p = 0.775$),但研究纳入的结局因素是PLC,并没有对其中的HCC和肝内胆管细胞癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)等进行分层,这限制了结果的可解释性。总而言之,酒精摄入对于肝癌风险的具体关联模式还需要大规模的前瞻性研究以及更详细的分层分析进一步探索。

饮食相关因素与消化道疾病有着紧密联系。Deng等⁽²¹⁾的东亚人群MR研究发现,咖啡摄入能够对HCC发生起到保护作用(OR 0.69, 95% CI 0.53–0.90, $p = 0.007$),这与先前的研究结果一致^(23,24)。潜在的机制可能是咖啡中的活性化合物(如绿原酸和多酚)发挥着抗氧化与抗炎特性⁽²⁵⁾。但Carter等⁽²⁶⁾在欧洲人群中并没有观察到咖啡与肝癌发生的负性关联,这也许与种族差异以及病因分层等有关。另外,这些GWAS研究中与咖啡摄入相关的数据主要通过自我报告,遗传解释度较低,这对结果解释的影响也需要被考虑。一项基于前瞻性队列研究的荟萃分析显示牛奶摄入量与肝癌死亡率呈正相关⁽²⁷⁾,并且一项中国的队列研究提示摄入较多乳制品与HCC风险升高相关⁽²⁸⁾,但这些观察性研究并不能解释究竟是不是牛奶摄入直接促进了肝癌发生。Lumsden等⁽²⁹⁾使用乳糖酶基因附近的rs4988235作为工具变量,其中“T”等位基因与欧洲人群中乳糖酶持久性相关,基于UK Biobank和FinnGen双队列的MR结果表明牛奶摄入与肝癌风险并没有统计学上的关联(OR 1.10, 95% CI 0.81–1.51, $p = 0.933$)。可惜的是,由于选取的数据限制,文章并没能针对HCC、ICC等进行亚组分析。另外,还有一些饮食相关因素也引起了研究者的关注,如食用肉的种类、饮食来源的抗氧化剂等,这些因素与肝癌风险并没有统计学上的关联或结果的统计效能偏低,未来还需要更庞大的GWAS研究提供数据支持,验证现有的MR结果^(30,31)。

近年来,睡眠特征比如睡眠时长、时型对癌症的影响受到不少研究者关注。国内的一项观察性研究发现长期睡眠时间低于7小时的人群患癌风险增加了69%⁽³²⁾。另外,睡眠时型是指睡眠时间的习惯性提前或延迟。已有研究提示清晨型(即早睡早起型)对乳腺癌与前列腺癌等恶性肿瘤有保护作用,而Yuan等的MR分析⁽³³⁾发现清晨型与肝癌发生风险并没有统计学上的相关性。此外,Yang等⁽³⁴⁾纳入了包括睡眠时长、时型、日间打盹等6种睡眠特征,并进行了亚组分析,也发现清晨型与肝癌风险没有统计学上的关联,但睡眠时长与HCC风险呈负相关。

3.2. 肥胖相关因素与肝癌

肥胖是一种身体脂肪组织过度堆积的状态,伴随着全身慢性炎症与脂源性激素的异常分泌,如瘦素、脂联

素等。体重指数(body mass index, BMI)作为反应肥胖程度的最常用指标,其与癌症的关联被广泛研究。Vithayathil等⁽³⁵⁾开展了一项欧洲人群MR研究,将BMI,脂肪体重指数(fat mass index, FMI),去脂体重指数(fat-free mass index, FFMI)和身高分别作为暴露因素,增加了结果的可解释性,结果表明BMI和FMI是HCC的风险因素(BMI: OR 1.13, 95% CI 1.03–1.25, $p = 0.012$; FMI: OR 2.40, 95% CI 1.02–5.65, $p = 0.045$),在去掉自我报告来源的病例后,结果仍与先前一致。然而,基因预测的肥胖却没能东亚人群的MR研究中观察到类似的结果^(36,37)。

与肥胖密切相关的非酒精性脂肪肝病(Non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是HCC的确切风险因素,Thomas等⁽³⁸⁾从MR视角验证了这一结果,但NAFLD是否作为肥胖促进肝癌发生过程中的中介及其中介效应大小尚不清楚,需要后期进行中介MR分析进一步探索。另外,有必要关注不同生命阶段的肥胖状态对肝癌发生有无不同影响,同时将腰围、腰臀比、血脂及胰岛素抵抗等综合指标纳入多变量MR模型中分析。

脂联素作为一种脂肪组织分泌的内源性激素,近来被发现代谢、免疫等领域发挥多种作用。着眼于脂联素与肝癌风险的观察性研究较欠缺,在肝炎病毒为主要病因的东亚人群中,脂联素水平升高被认为是肝癌的独立风险因素^(39,40)。Jiang等⁽⁴¹⁾的东亚人群MR研究中,选用经BMI调整的脂联素作为暴露因素进行MR分析,结果提示高水平的脂联素是HCC的风险因素(OR 1.26, 95% CI 1.09–1.44, $p = 0.003$),且很可能独立于肥胖机制驱动。但MR分析只能解释所选暴露因素的这一部分遗传相关变异的影响,存在基因微效性偏倚,其背后复杂的生物学机制还需要大量的基础研究验证。

3.3. 免疫相关疾病与肝癌

免疫相关的疾病负荷与癌症的关联之间存在争议,机体免疫相关因素是MR分析的研究热点之一⁽⁴²⁾。炎症性肠病(Inflammatory bowel disease, IBD)是一种与自身免疫相关的消化道炎症性疾病,分为克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。Huang等⁽⁴³⁾进行了一项跨人群的MR分析,观察了东亚与欧洲IBD人群的HCC风险,并进行了亚组分析,结果显示东亚人群长期的IBD状态会促进HCC发生(OR 1.28, 95% CI 1.07–1.52, $p = 0.007$),特别是UC患者(OR 1.28, 95% CI 1.15–1.33, $p < 0.001$);而在欧洲人群中并没有发现IBD与HCC风险之间的联系。类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)同样是一种与自身免疫相关的全身性疾病,患者致残致畸率高,RA与HCC之间的关联较少有人关注。Zhang等⁽⁴⁴⁾进行了一项MR分析,发现东亚人群中RA患病状态可能是HCC发生的保护因素(OR 0.86, 95% CI 0.79–0.95, $p = 0.003$),这可能与认知不相符,但一项10年的东亚人群队列研究⁽⁴⁵⁾也提示了一致的结果,RA与较低的HCC风险相关。另外,有欧裔MR研究提示甲状腺功能减退状态与HCC风险降低相关⁽⁴⁶⁾。上述三种疾病都与免疫异常状态相关,在长期患病状态下,患者很可能合并不止一种自身免疫性疾病,并伴有不止一种免疫调节剂的使用。因此,未来需要纳入多种风险因素进行多变量MR分析,并根据疾病的活动状态或严重程度进行亚组分析,

以求得到更加可靠的结果。这些MR分析结果也提示应选择具体人群对特定免疫相关疾病开展大规模研究,以节约研究资源,优化公共卫生决策。

3.4. 肠道菌群与肝癌

肠道菌群与体内各器官都存在一定的联系,其中肠道及其菌群与肝脏之间的相互作用被称为“肠-肝轴”。“肠-肝轴”由门脉血流、淋巴和胆汁酸等介质或通道相联系,在非酒精性脂肪肝、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)以及肝硬化中都有肠肝串扰机制的身影⁽⁴⁷⁾。有研究发现肠道内的共生菌可以通过自然杀伤T细胞介导肝脏选择性肿瘤抑制⁽⁴⁸⁾。但由于潜在的混杂因素和反向因果关系,通过观察性研究很难确认肠道微生物组与肝癌之间的具体关联。Ma等⁽⁵⁾将病例对照研究与MR分析结合,针对HCC与ICC进行了探索。首先,结果发现瘤胃球菌科(Family_Ruminococcaceae)、卟啉单胞菌属(Genus_Porphyrimonadaceae)与HCC风险呈负相关;卟啉单胞菌科(Family_Porphyrimonadaceae)、拟杆菌属(Genus_Bacteroidetes)与ICC风险呈负相关⁽⁵⁾。在随后的病例对照研究中, Ma等选择了上述阳性菌群作为研究的暴露因素,观察了菌群在健康对照、HCC患者和ICC患者三类结局人群中的丰度情况,发现瘤胃球菌科在健康对照人群的丰度远高于HCC患者,卟啉单胞菌科和拟杆菌属在健康对照人群的丰度高于ICC患者⁽⁵⁾,上述结果与先前MR分析的结果基本一致。研究在推断过程中运用了多种方法进行敏感性分析以减少偏倚,并在MR结果基础上进行病例对照研究,节约了研究资源,并且两者互补加强了因果推断的效力。但研究本身也存在一定的局限性,比如由于测序数据的限制,未能观察到卟啉单胞菌属在健康对照与HCC人群间的相对丰度比;可能会遗漏其他相关的肠道菌群;MR分析人群为欧裔而病例对照人群为东亚人群等⁽⁵⁾。总而言之,目前有关肝癌的肠道菌群MR研究数量较少,但能够提示特定肠道菌群参与了肝癌的发生发展,为今后肝癌病因机制研究与肠菌治疗领域提供了发展方向。

3.5. 其他因素与肝癌

原发性高血压作为一种常见老年疾病,有多种药物治疗手段,如钙通道阻滞剂、血管紧张素转换酶抑制剂等,这些长期服用的降压药与肝癌是否有潜在关联受到越来越多研究者与群众的关注。Wang等⁽⁴⁹⁾开展了一项跨人群药物靶点MR分析,利用了收缩压相关基因的SNPs作为工具变量,探究12种降压药物与肝癌的关联,结果提示噻嗪类利尿剂可能降低欧洲人群和东亚人群患HCC的风险(欧洲:OR 0.79, 95% CI 0.73–0.86, $p < 0.001$; 东亚:OR 0.60, 95% CI 0.45–0.82, $p < 0.001$),而 β 肾上腺素受体抑制剂可能通过急、慢性肝损伤及胆汁淤积等机制与欧洲人群的HCC风险增加有关(OR 1.46, 95% CI 1.12–1.91, $p = 0.004$)。这项MR分析揭示了不同降压药物与HCC风险的关联,为临床用药策略提供了一些依据,但高血压人群中有一部分患者服用不止一种降压药,需要探索多种降压药物共同使用的具体影响。

3-羟基-3-甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶(3-hydroxy-

3-methylglutaryl coenzyme A reductase, HMGCR)是胆固醇合成中的关键限速酶,而他汀类药物能够通过抑制HMGCR减少胆固醇合成,治疗高脂血症,延缓多种心脑血管疾病进展⁽⁵⁰⁾。他汀在癌症预防上的作用也引起了研究者们不小的兴趣,Chiu等⁽⁵¹⁾的病例对照研究提示他汀类药物对肝癌具有潜在的保护作用。Min等⁽⁵²⁾选用3种他汀的遗传变异数据作为工具变量,模拟药物在人体的长期暴露作用,推断其在肝癌预防中的表现,结果显示了阿托伐他汀与HCC风险存在微弱的负性关联,但在随后的敏感性分析中这种效应不再显著。因此,目前尚没有充足证据说明遗传预测的他汀类药物对肝癌的预防作用。MR分析与其他方法的结合可能为验证HMGCR这类药物靶点对癌症的影响提供有效路径,比如与共定位分析结合能更好地解释机制,有助于增加研究结果在临床试验中得到转化的可能性。

循环中的胰岛素样生长因子(insulin-like growth factors, IGF)是一种与胰岛素结构类似的活性肽,参与调控细胞生长分化和机体能量代谢,IGF及其受体的功能异常有可能促使肥胖状态、糖尿病以及恶性肿瘤的发生⁽⁵³⁾。Larsson等的MR研究发现东亚人群中基因预测的IGF-1与结直肠癌风险升高相关,但未在HCC风险中观察到阳性结果⁽⁵⁴⁾。遗憾的是,研究没能对IGF-1及其受体一同纳入分析,同时也应考虑生长激素、BMI等因素对结果的干扰以及可能的反向因果。另一项双向MR分析探究了血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与多种癌症风险的关联,其中VEGF与肝癌风险的分析得出了阴性结果⁽⁵⁵⁾。另外,在有关循环血细胞成分的多变量MR研究中发现,嗜碱性粒细胞总数与HCC风险升高相关,这可能与嗜碱性粒细胞调节癌症免疫反应与相关慢性炎症过程有关,还需要进一步研究解释背后的生物学机制⁽⁵⁶⁾。

4. 总结与展望

由于高通量基因技术与GWAS数据库的发展,肝癌领域的MR研究越来越多,这些研究聚焦于以往较少讨论或尚有争议的因素与肝癌之间的关联,提供了MR视角的因果推断依据,正在改变我们对肝癌的理解,但仍存在一些挑战。首先,目前的数据库主要以欧洲后裔为特征,人群的代表性不足限制了MR研究结果的适用性。其次,现有研究大多采用汇总级别数据,常常假设关联为线性模式,而对于深在的非线性关联模式或者阈值效应难以进一步探索。不仅如此,MR分析通常用于推断终身暴露因素对结局的影响,然而用于作为工具变量的SNPs来源于在特定时间点的GWAS,不同年龄的个体与暴露相关的SNPs可能不同,并且随着时间的推移,这些性状也许会随着环境的变化而变化。另外,解释遗传变异的临床意义仍然很复杂,MR分析仅能解释所选暴露因素的这一部分遗传相关变异与结局的关联,应将现有的观察性研究和RCT证据进行讨论,也应讨论背后的生物学机制。最后,仅有部分研究在分析过程中进行了多重比较的校正,这可能存在统计学假阳性风险。

虽然MR分析目前仍处于初步发展阶段,但已经能看出其在流行病学病因探索中的重要作用与研究者的关注程度。未来,肝癌相关的MR研究可能会依托更大样本量、更多不同人群的GWAS数据对现有一些统计效力不足的研

究进行更新,与传统流行病学研究方法结合,提高病因推断的可靠程度。线性/非线性MR、中介分析这些方法的广泛应用能够对肝癌的病因机制及其关联模式做进一步研究,优化干预与治疗策略。将药靶MR与共定位分析等其他方法的有效结合,能为药物研究提供初步证据,节省研发费用。总而言之,MR分析作为一种新兴有效的病因推断方法,能够填补传统流行病学研究方法的不足,今后在肝癌领域会朝着更可靠、更深入的方向发展。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢:无。

作者贡献声明:无。

参考文献

1. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版). 浙江实用医学. 2022;27:528-3610.
2. Llovet J M, Kelley R K, Villanueva A, *et al.* Hepatocellular carcinoma. *Nat Rev Dis Primers.* 2021;7:6.
3. Li S, Xu Y, Zhang Y, *et al.* Mendelian randomization analyses of genetically predicted circulating levels of cytokines with risk of breast cancer. *NPJ Precis Oncol.* 2020;4:25.
4. Barahona Ponce C, Scherer D, Brinster R, *et al.* Gallstones, body mass index, C-reactive protein, and gallbladder cancer: Mendelian randomization analysis of Chilean and European Genotype Data. *Hepatology.* 2021;73:1783-1796.
5. Ma J, Li J, Jin C, *et al.* Association of gut microbiome and primary liver cancer: A two-sample Mendelian randomization and case-control study. *Liver Int.* 2023;43: 221-233.
6. Clayton D, Mckeigue P M. Epidemiological methods for studying genes and environmental factors in complex diseases. *Lancet.* 2001;358:1356-1360.
7. Emdin C A, Khera A V, Kathiresan S. Mendelian randomization. *JAMA.* 2017;318: 1925-1926.
8. Katan M B. Apolipoprotein E isoforms, serum cholesterol, and cancer. *Lancet.* 1986;1:507-508.
9. 于天琦,徐文涛,苏雅娜,等.孟德尔随机化研究基本原理、方法和局限性. *中国循证医学杂志.* 2021;21:1227-1234.
10. CSCO生物统计学专家委员会RWS方法学组,高雪,薛付忠,黄丽红,等.孟德尔随机化模型及其规范化应用的统计学共识. *中国卫生统计.* 2021;38:471-475.
11. Pierce B L, Ahsan H, Vanderweele T J. Power and instrument strength requirements for Mendelian randomization studies using multiple genetic variants. *Int J Epidemiol.* 2011;40:740-752.
12. Lawlor D A, Harbord R M, Sterne J A, *et al.* Mendelian randomization: Using genes as instruments for making causal inferences in epidemiology. *Stat Med.* 2008;27:1133-1163.
13. Stearns F W. One hundred years of pleiotropy: A retrospective. *Genetics.* 2010;186: 767-773.
14. Verbanck M, Chen C Y, Neale B, *et al.* Detection of widespread horizontal pleiotropy in causal relationships inferred from Mendelian randomization between complex traits and diseases. *Nat Genet.* 2018;50: 693-698.
15. Bowden J, Davey Smith G, Burgess S. Mendelian randomization with invalid instruments: Effect estimation and bias detection through Egger regression. *Int J Epidemiol.* 2015;44:512-525.
16. George Davey S, Davies N M, Dimou N, *et al.* STROBE-MR: Guidelines for strengthening the reporting of Mendelian randomization studies. *PeerJ preprints.* 2019;10.7287/peerj.preprints.27857v1. <https://peerj.com/preprints/27857/>
17. Davies NM, Holmes MV, Davey Smith G. Reading Mendelian randomisation studies: A guide, glossary, and checklist for clinicians. *BMJ.* 2018;362:k601.
18. Im PK, Millwood IY, Kartsonaki C, *et al.* Alcohol drinking and risks of liver cancer and non-neoplastic chronic liver diseases in China: a 10-year prospective study of 0.5 million adults. *BMC Med.* 2021;19:216.
19. Petrick JL, Campbell PT, Koshiol J, *et al.* Tobacco, alcohol use and risk of hepatocellular carcinoma and intrahepatic cholangiocarcinoma: The Liver Cancer Pooling Project. *Br J Cancer.* 2018;118:1005-1012.
20. Liu Z, Song C, Suo C, *et al.* Alcohol consumption and hepatocellular carcinoma: Novel insights from a prospective cohort study and nonlinear Mendelian randomization analysis. *BMC Med.* 2022;20:413.
21. Deng Y, Huang J, Wong MCS. Associations between six dietary habits and risk of hepatocellular carcinoma: A Mendelian randomization study. *Hepato Comm.* 2022;6:2147-2154.
22. Yuan S, Chen J, Ruan X, *et al.* Smoking, alcohol consumption, and 24 gastrointestinal diseases: Mendelian randomization analysis. *Elife.* 2023;12:e84051.
23. Bravi F, Tavani A, Bosetti C, Boffetta P, La Vecchia C. Coffee and the risk of hepatocellular carcinoma and chronic liver disease: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Eur J Cancer Prev.* 2017;26:368-377.
24. Zhao LG, Li ZY, Feng GS, *et al.* Coffee drinking and cancer risk: an umbrella review of meta-analyses of observational studies. *BMC Cancer.* 2020;20:101.
25. Salomone F, Galvano F, Li Volti G. Molecular bases underlying the hepatoprotective effects of coffee. *Nutrients.* 2017;9:85.
26. Carter P, Yuan S, Kar S, *et al.* Coffee consumption and cancer risk: A Mendelian randomisation study. *Clin Nutr.* 2022;41:2113-2123.
27. Jin S, Je Y. Dairy Consumption and total cancer and cancer-specific mortality: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Adv Nutr.* 2022;13:1063-1082.
28. Kakkoura MG, Du H, Guo Y, *et al.* Dairy consumption and risks of total and site-specific cancers in Chinese adults: an 11-year prospective study of 0.5 million people. *BMC Med.* 2022;20:134.
29. Lumsden AL, Mulugeta A, Hyppönen E. Milk consumption and risk of twelve cancers: A large-scale observational and Mendelian randomisation study. *Clin Nutr.* 2023;42:1-8.
30. Yun Z, Nan M, Li X, *et al.* Processed meat, red meat, white meat, and digestive tract cancers: A two-sample Mendelian randomization study. *Front Nutr.* 2023;10:1078963.
31. Yin L, Yan H, Chen K, *et al.* Diet-derived circulating antioxidants and risk of digestive system tumors: A mendelian randomization study. *Nutrients.* 2022;14:3274.
32. Ning D, Fang Y, Zhang W. Association of habitual sleep duration and its trajectory with the risk of cancer according to sex and body mass index in a population-based cohort. *Cancer.* 2023;129:3582-3594.
33. Yuan S, Mason AM, Titova OE, *et al.* Morning chronotype and digestive tract cancers: Mendelian randomization study. *Int J Cancer.* 2023;152:697-704.
34. Yang X, Wang J, Wang H. Association between sleep traits and primary liver cancer: A Mendelian randomization analysis. *Eur J Clin Invest.* 2023;53:e14002.
35. Vithayathil M, Carter P, Kar S, Mason AM, Burgess S, Larsson SC. Body size and composition and risk of site-specific cancers in the UK Biobank and large international consortia: A mendelian randomisation study. *PLoS Med.* 2021;18:e1003706.
36. Pang Y, Kartsonaki C, Lv J, *et al.* Observational and genetic associations of body mass index and hepatobiliary diseases

- in a relatively lean Chinese population. *JAMA Netw Open.* 2020;3:e2018721.
37. Fang Z, Giovannucci EL. The timing of adiposity and changes in the life course on the risk of cancer. *Cancer Metastasis Rev.* 2022;41:471-489.
38. Thomas CE, Diergaarde B, Kuipers AL, *et al.* NAFLD polygenic risk score and risk of hepatocellular carcinoma in an East Asian population. *Hepato Commun.* 2022;6:2310-2321.
39. Arano T, Nakagawa H, Tateishi R, *et al.* Serum level of adiponectin and the risk of liver cancer development in chronic hepatitis C patients. *Int J Cancer.* 2011;129:2226-2235.
40. Michikawa T, Inoue M, Sawada N, *et al.* Plasma levels of adiponectin and primary liver cancer risk in middle-aged Japanese adults with hepatitis virus infection: a nested case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2013;22:2250-2257.
41. Jiang H, Hu D, Wang J, Zhang B, He C, Ning J. Adiponectin and the risk of gastrointestinal cancers in East Asians: Mendelian randomization analysis. *Cancer Med.* 2022;11:2397-2404.
42. He MM, Lo CH, Wang K, *et al.* Immune-mediated diseases associated with cancer risks. *JAMA Oncol.* 2022;8:209-219.
43. Huang J, Li X, Hong J, *et al.* Inflammatory bowel disease increases the risk of hepatobiliary pancreatic cancer: A two-sample Mendelian randomization analysis of European and East Asian populations. *Cancer Med.* 2023;12:13599-13609.
44. Zhang Y, Zhang Y, He P, Ge F, Huo Z, Qiao G. The genetic liability to rheumatoid arthritis may decrease hepatocellular carcinoma risk in East Asian population: A Mendelian randomization study. *Arthritis Res Ther.* 2023;25:49.
45. Hsu CS, Lang HC, Huang KY, Chao YC, Chen CL. Risks of hepatocellular carcinoma and cirrhosis-associated complications in patients with rheumatoid arthritis: A 10-year population-based cohort study in Taiwan. *Hepato Int.* 2018;12:531-543.
46. Lu L, Wan B, Li L, Sun M. Hypothyroidism has a protective causal association with hepatocellular carcinoma: A two-sample Mendelian randomization study. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:987401.
47. Tilg H, Adolph TE, Trauner M. Gut-liver axis: Pathophysiological concepts and clinical implications. *Cell Metab.* 2022;34:1700-1718.
48. Ma C, Han M, Heinrich B, *et al.* Gut microbiome-mediated bile acid metabolism regulates liver cancer via NKT cells. *Science.* 2018;360:eaan5931.
49. Wang Z, Lu J, Hu J. Association between antihypertensive drugs and hepatocellular carcinoma: A trans-ancestry and drug-target Mendelian randomization study. *Liver Int.* 2023;43:1320-1331.
50. Ziaecian B, Fonarow GC. Statins and the prevention of heart disease. *JAMA Cardiol.* 2017;2:464.
51. Chiu HF, Ho SC, Chen CC, Yang CY. Statin use and the risk of liver cancer: A population-based case-control study. *Am J Gastroenterol.* 2011;106:894-898.
52. Min Y, Wei X, Liu Z, *et al.* Assessing the role of lipid-lowering therapy on multi-cancer prevention: A mendelian randomization study. *Front Pharmacol.* 2023;14:1109580.
53. LeRoith D, Clemmons D, Nissley P, Rechler MM. NIH conference. Insulin-like growth factors in health and disease. *Ann Intern Med.* 1992;116:854-862.
54. Larsson SC, Carter P, Vithayathil M, Kar S, Mason AM, Burgess S. Insulin-like growth factor-1 and site-specific cancers: A Mendelian randomization study. *Cancer Med.* 2020;9:6836-6842.
55. Wu H, Ma T, Li D, He M, Wang H, Cui Y. Circulating vascular endothelial growth factor and cancer risk: A bidirectional mendelian randomization. *Front Genet.* 2022;13:981032.
56. Pan GQ, Yang CC, Shang XL, Dong ZR, Li T. The causal relationship between white blood cell counts and hepatocellular carcinoma: A Mendelian randomization study. *Eur J Med Res.* 2022;27:278.
-
- 引用本文 / Article Citation:
- 季军, 黄纪伟. 孟德尔随机化分析在肝癌病因探索中的研究进展. *医学新视角.* 2024;1(3):137-143. doi:10.5582/npjm.2024.01015
- Jun Ji, Jiwei Huang. Recent advances in the application of Mendelian randomization to liver cancer. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):137-143. doi:10.5582/npjm.2024.01015

p53基因在肝细胞肝癌诊治中的研究进展

丁兆伟, 叶永青, 王平

广州医科大学附属第一医院肝胆外科, 广州 510120

摘要: 肝癌是消化系统最具侵袭性的恶性肿瘤之一, 死亡率和发病率高, 预后不良。越来越多研究发现, p53基因突变与肝癌的发生密切相关, 能够调节细胞的代谢稳定, 还能有效的调节细胞铁代谢过程。肝癌目前有许多治疗方法, 其中晚期肝细胞癌主要以靶向免疫及放化疗为主, 但仍存在生存期短、易耐药等问题。P53相关的基因治疗产物作为治疗肝癌的药物有巨大的潜力。本文在阐述p53基因结构和功能的基础上, 着重综述了基于p53基因在肝癌中的诊断和治疗策略, 为今后的临床诊治提供了治疗方向。

关键词: p53, 肝癌, 基因治疗

The role of the p53 gene in hepatocellular carcinoma

Zhaowei Ding, Yongqing Ye, Ping Wang

Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510120, China

Abstract: Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most aggressive malignancies of the digestive system, it has high mortality and morbidity, and it has a poor prognosis. Studies have indicated that mutations in the p53 gene are closely related to the development of liver cancer. The p53 gene can regulate the metabolic stability of cells and also effectively regulate the process of iron metabolism in cells. There are many treatments for liver cancer, such as surgery, intervention, ablation, targeted immunity, and chemoradiotherapy. Advanced HCC is mainly treated with targeted immunity and chemoradiotherapy, but there are still problems such as a limited survival time and likely drug resistance. P53-related gene therapy products have great potential as drugs for the treatment of liver cancer. This article reviews therapeutic strategies for liver cancer based on the p53 gene in order to provide directions for future clinical treatment.

Keywords: p53, hepatocellular carcinoma, gene therapy

1. 引言

世界上日益加重的癌症成为一个严重的全球性问题。2008年新发癌症病例数约为1270万例, 预计到2030年将增长到2220万例⁽¹⁾。原发性肝癌 (primary liver cancer, PLC) 是2020年全球第六大常见诊断癌症和第三大癌症死亡原因, 新发病例约为90.6万例, 死亡83万例⁽²⁾。在我国, 虽然近几十年来肝癌的5年生存率有所提高, 但肝癌预后仍然较差, 远期生存率较低⁽³⁾。

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是最常见的原发性肝癌。在全球范围内, 每年约有50.5%的新

发病例和51.4%的死亡病例发生在中国。其高死亡率部分是由于缺乏有效的早期诊断技术⁽⁴⁾。目前在临床上广泛使用的筛查HCC的标志物是血清甲胎蛋白 (alpha-fetoprotein, AFP), 由于缺乏有效的标志物, 常常大多数HCC患者在确诊时已经发生转移⁽⁵⁾。p53基因在细胞周期、细胞凋亡和表观遗传改变中起重要作用⁽⁶⁾。研究表明, 血清抗p53抗体可作为诊断早期肿瘤或判断其预后的标志物。p53突变和抗P53抗体阳性肝癌患者的比例占50%以上^(7,8)。因此, 及时对肝癌进行诊断, 并控制转移和复发是提高患者生存期的关键。P53与肝癌的发生发展密切相关⁽⁹⁾。可作为肝癌的治疗靶点发挥重要作用。本文综述了近年来p53基因在肝癌诊治中的研究进展, 并探讨了其在癌症治疗中的应用前景。

2. p53基因的结构和功能概述

2.1. p53基因的发现

p53基因是重要的肿瘤抑制因子之一, 于1979年, David

收稿日期: 2023-6-30; 修回日期: 2024-2-12

基金项目: 广东省科技计划项目 (2017ZC0222); 广州市科技计划项目 (201803010065、202102010251)

通讯作者/Corresponding author: 王平/Ping Wang, E-mail: wangping1219@126.com

本文编辑: 宋笑冬

Lane和Lionel Crawford研究了SV40病毒表达的抗原蛋白,发现了一种可以与病毒表达的蛋白结合的蛋白质,其分子量显示约为53kd,因此被命名为p53,并且发现该基因产物与小鼠细胞中的肿瘤抗原相关⁽¹⁰⁾。人类p53基因位于17p13染色体上,位于最远端,含有编码393个氨基酸的11个外显子⁽¹¹⁾。p53基因是人类癌症中最常见的突变基因。p53基因突变存在于>50%的人类肿瘤中,尽管p53突变的程度因肿瘤类型而异⁽¹²⁾。

2.2. 野生型p53的功能

野生型p53可被DNA损伤、缺氧和癌基因活化等多种因素激活。当DNA受损时,野生型p53抑制细胞复制过程,直到损伤被修复,从而阻止DNA缺陷细胞的繁殖和癌症表型的获得。因此,它也被称为“基因组的守护者”⁽¹³⁾。野生型p53通过抑制癌基因活化和诱导细胞凋亡来维持基因组,阻止突变基因进入后代细胞,并在阻断癌变和恶性进展中起核心作用⁽¹⁴⁾。活性氧(reactive oxygen species, ROS)引起的氧化应激也是p53活化的重要因素。活性氧水平降低导致突变p53蛋白表达降低⁽¹⁵⁾。p53基因受到应激信号后,在各种细胞反应中发挥重要作用,如活化的p53诱导参与细胞凋亡和细胞周期停滞的基因表达。这些作用使p53能够作为转化抑制剂来抑制肿瘤的增殖^(16,17)。不仅如此,p53基因还与多种信号通路相关,如LKB1-AMPK-mTOR信号通路、胰岛素-PI3K-AKT信号通路等,参与控制许多代谢产物的产生和利用,包括糖代谢、脂质代谢、氨基酸代谢等肿瘤代谢途径,从而发挥抑瘤功能,维持细胞代谢稳态⁽⁹⁾。

2.3. 突变体p53的功能

突变的p53蛋白可以与野生型p53结合,从而使野生型p53失效。在人类癌症中,p53中的大多数突变是错义突变,它们取代单个氨基酸以表达p53突变蛋白。野生型p53基因充当转录因子并与靶基因结合。突变型p53通常表现出与野生型p53相反的功能。肿瘤突变体p53表现出不同的GOF(gain of function)活性,从而促进肿瘤存活、侵袭,增强对化疗药物的耐药性^(12,18,19)。大量实验证实了突变p53发挥GOF活性。Schulz-Heddergott等⁽²⁰⁾发现突变p53等位基因R248Q可以在CRC小鼠模型中发挥GOF并产生肿瘤依赖性。敲低内源性突变p53基因可以抑制肿瘤生长。E3泛素连接酶MDM2介导的蛋白酶体降解野生型p53蛋白,从而在细胞内保持野生型p53蛋白处于非应激状态时的低水平。MDM2是一种E3泛素连接酶,通过泛素化和直接结合蛋白质来抑制p53活性。另一方面,突变p53较少被发现泛素化,因此在各种肿瘤中变得更加稳定^(21,22)。

3. p53相关代谢功能与肝细胞癌的关系

p53对肝细胞内稳态的调节涉及多种代谢途径,如糖代谢、脂代谢、氨基酸代谢以及铁代谢等并发挥着抗肿瘤活性。而突变型p53使肿瘤微环境改变并促进肿瘤的转移⁽²³⁾。

3.1. p53调节肝细胞中的葡萄糖代谢

p53基因编码p53蛋白,p53蛋白也是一种转录因子,在调节肿瘤细胞代谢、诱导自噬、抑制DNA合成、修复DNA损伤等方面起重要作用。p53参与肝细胞中的几种关键代谢途径,肝p53的特性之一是抑制丙酮酸线粒体中的转运并减少氧化磷酸化,一方面,p53控制SIRT6的表达并干扰糖异生关键调节因子包括磷酸烯醇丙酮酸羧激酶1(PCK1)和葡萄糖-6-磷酸酶(G6PC)的转录活性,从而影响葡萄糖代谢。另一方面,p53缺陷的肝细胞表现出糖异生受损。在压力下,例如DNA损伤或癌基因激活,p53被激活以停止细胞周期并调节细胞代谢途径^(9,24)。p53对肝细胞葡萄糖的调节可以作为一个潜在的治疗靶点,目前正在广泛的研究。

3.2. p53、铁代谢和肝细胞癌

人体中多余的铁大部分储存在肝脏中,研究表明,肿瘤细胞中过量铁的积累会导致细胞死亡。因此,肿瘤细胞通过维持铁稳态来避免铁死亡。铁死亡是一种非凋亡细胞死亡机制,其特征在于铁依赖性脂质过氧化,而p53的活化促进铁死亡。p53通过调节几种关键铁调节因子的转录在铁代谢中起关键作用,包括铁调素(HAMP),铁硫簇组装酶(ISCU),铁氧还蛋白还原酶(FDXR)和共济蛋白(FXN)。缺氧诱导因子1 α (HIF1 α)和MDM2是p53的两种直接调节因子,其活性受细胞内铁水平调节,可促进p53稳定性。肝脏铁超负荷与HCC的发生明显相关,过量的铁通过血红素与p53DNA结合结构域的相互作用下调p53,铁螯合剂通过激活p21增加p53的表达。因此,过量的铁可能会降低p53的表达,从而促进肿瘤发生^(9,25)。

3.3. 突变体p53与肝细胞癌的关联

近年来的研究发现,野生型p53为肿瘤转化和进展提供了障碍⁽²³⁾。Buitrago-Molina等⁽²⁶⁾对p53缺失代谢性肝损伤小鼠进行肝损伤分析,得出p53对肝细胞有直接保护作用的结论。肿瘤自发发展的机制尚不清楚,但很可能与代谢波动、代谢变化引起的基因重编程、DNA损伤、癌基因活化等有关。野生型p53通过调节代谢酶的活性来抑制各种代谢,从而破坏肿瘤代谢。野生型p53活性的丧失在肿瘤的发展和进展中是必要的。突变体p53表达促进耐药性和各种代谢,促进肿瘤发生。p53抑制剂MDM2的过表达或WTp53激活途径的抑制可使p53失活^(27,28)。突变体p53可促进肿瘤间上皮-间充质细胞转化,参与促进肿瘤迁移⁽²⁹⁾。突变的p53通过引起DNA损伤和阻碍修复,导致肝癌细胞获得耐药性和癌细胞的扩散⁽³⁰⁾。在晚期HCC中可以发现TP53突变的富集,说明TP53突变参与了肿瘤进展过程⁽³¹⁾。因其在癌症中广泛存在,极具吸引力,可以将突变型p53作为肝细胞癌的治疗靶点⁽¹⁸⁾。

4. p53在肝细胞癌中的诊断价值

早期诊断和积极治疗是提高肝癌患者生存率和预后的关键。血清标志物具有创伤小、材料方便等优点。Middleton等⁽³²⁾人的研究表明,肝癌患者可以产生p53抗体,患者血清中的p53抗体对肝癌的诊断几乎100%具有特异性,但敏感性不高。而陈世豪等⁽³³⁾人则联合检测原发性

肝癌中的抗核抗体与p53抗体,其敏感度为86%,准确度为89%。王智⁽³⁴⁾的研究表明,p53在晚期肝癌组织中的阳性表达率显著高于早期肝癌组织,高于肝硬化和慢性肝炎患者。El Azm等⁽³⁵⁾的研究将乙型肝炎和丙型肝炎病毒患者的血清与无肝炎病毒患者的血清进行了比较,发现两组患者血清中p53抗体的表达量相似,但均高于肝硬化患者的血清。血清抗p53的高患病率可用作高致瘤性的证据,并在甲胎蛋白水平低的情况下辅助诊断。这说明血清P53抗体可以用于肝癌诊断,并且诊断特异性较高。同时,TP53基因突变与肝癌患者预后不良有关,这也表明TP53可作为肝癌预后评估和靶向治疗的生物标志物。SONG等⁽³⁶⁾分析了100例HCC患者肿瘤组织及其癌旁组织中驱动基因的突变和临床预后,表明TP53基因突变患者的总生存期低于无突变患者。肝癌组织分化程度越高,突变p53蛋白的表达水平越高。野生型p53在肝肿瘤细胞中高表达,但其作为可靠的PLC生物标志物的使用值得商榷^(37,38)。TP53基因的高频突变可以在80%的HCC患者的外泌体DNA(ExoDNA)中检测到,并且与HCC预后不良有关。此外,外泌体DNA中的TP53突变也与微血管浸润有关,这表明可以通过检测外泌体DNA中的TP53突变间接预测HCC肿瘤复发⁽³⁹⁾。

5. p53-肝细胞癌的相关治疗

目前,肝癌的有效诊断和治疗策略仍然是一个复杂的问题。肝细胞癌有许多治疗方法,如手术、化疗、免疫疗法、消融术等。预后与个体治疗方案的选择密切相关^(40,41)。该病早期多为无症状,晚期肝细胞癌虽然可以用射频消融、TACE等治疗,但多伴有疾病的复发和治疗耐药性的出现以及生存周期短的问题⁽⁴²⁾。因此急切地需要寻求更有效的治疗策略。

5.1. p53的靶向治疗

目前,靶向p53(野生型和突变型)的癌症治疗有多种策略,一种是促进突变蛋白再活化成具有野生型性质的形式,即突变体p53的药理学再激活,另一种是增加癌症中突变体p53蛋白的降解或阻止野生型p53降解,从而恢复抗肿瘤能力⁽⁴³⁻⁴⁵⁾。岳雪天等⁽⁴⁶⁾通过敲低细胞中的内源性Rac1表达,揭示了Rac1通路的激活可以促进肿瘤转移,并作为突变型p53肿瘤的靶向治疗位点。而覃文新团队等⁽⁴⁷⁾针对p53突变的肝癌提出“组合拳”式肝癌治疗模型,CDC7抑制剂与mTOR抑制剂联合使用可显著抑制p53突变的衰老肝癌细胞的进展,其效果明显优于目前临床试验中的多靶点药物索拉非尼。大部分针对p53功能障碍的癌症临床试验仍处于初级阶段,只有少数化合物达到临床试验,包括COTI-2、APR-246、MDM-2拮抗剂等。APR-246可与突变型p53蛋白结合,从而诱导突变型p53蛋白凋亡。COTI-2的作用类似于APR-246,具有重新激活突变p53的能力,使野生型p53靶基因正常化,并且已被证明在各种体外和体内临床前癌症系统中表现出抗癌活性^(45,48)。目前,APR-246在不同类型的癌症患者中有13项临床试验,在治疗恶性血液病的临床试验中(NCT03931291),中位随访14.5个月,1年RFS(无复发生存期)概率为59.9%(95%CI, 41~74)。中位随访17个月,1年的总生存期概率为78.8%(95%CI, 60.6至89.3)⁽⁴⁹⁾。在另一项实体瘤的试验中

(NCT04383938),APR-246被证明在患者中使用是安全的⁽⁵⁰⁾。COTI-2正在进行一项关于妇科肿瘤的I期临床研究(NCT02433626),这是COTI-2单药或联合顺铂的I期研究。初步结果表明药物耐受性良好,但是暂未发现参与试验的患者中肿瘤消退的证据。MDM-2介导p53降解,导致肿瘤细胞对多柔比星产生获得性耐药性,而MDM-2拮抗剂通过抑制MDM-2与p53的相互作用来防止野生型p53的退化^(51,52)。众多研究表明,靶向p53的药物是一种有效的治疗恶性肿瘤的策略。

5.2. p53与化疗药物

在HCC中,p53与对多种化疗药物的耐药性有关。王佳玉等⁽⁵³⁾发现Hep3B对奥沙利铂的敏感性与完整的P53基因息息相关。Feng等⁽⁵⁴⁾发现长散在重复序列ORF1蛋白下调了p53的表达,促进了HepG2细胞对顺铂、二氯铂和表柔比星的耐药性,从而促进HepG2细胞的增殖。除了对顺铂、二氯铂和表柔比星的耐药外,p53的突变和失活还与HCC细胞中对5-氟尿嘧啶(5-FU)和长春新碱的耐药性有关⁽⁵⁵⁾。郭磊磊等⁽⁵²⁾发现HepG2在多柔比星治疗期间通过下调p53迅速获得耐药性,并通过与MDM2抑制剂MI-773联合治疗恢复。因此使用克服多柔比星耐药性的MDM2抑制剂也是一种很有前途的策略,为肝癌的治疗提供了新的视角。彭夏等⁽⁵⁶⁾发现WDR4基因通过诱导肝细胞癌中细胞周期蛋白1的翻译并通过E3连接酶促进p53蛋白泛素化来影响p53的稳定性,从而引起索拉非尼的耐药。邱英等人建立了劳拉替尼耐药模型,并将APR-246联合劳拉替尼作用于耐药细胞株,劳拉替尼的IC₅₀值为(9.738±0.548)μmol/L,对比未处理组明显下降⁽⁵⁷⁾。这也提示我们未来的药物开发可以着重于重新激活突变的p53活性和提高癌细胞对化疗药物的敏感性。

5.3. p53基因联合TACE治疗HCC

基因治疗与多种疗法的结合对改善肝癌患者预后具有重要意义⁽⁵⁸⁾。野生型p53蛋白可以作为肿瘤抑制因子,在不同应激条件下介导细胞周期停滞和DNA修复,或诱导细胞凋亡和自噬。由此产生的肿瘤基因治疗产物Ad-P53(重组人腺病毒p53)已被用于治疗患者多年。虽然它最初用于头颈癌,但各种研究表明,它也是治疗HCC的一种有前途的药物。除了单独治疗外,联合化疗和放疗往往显示出更高的反应率⁽⁵⁹⁾。重组人p53腺病毒注射液是由5型腺病毒载体DNA和重组人p53肿瘤抑制基因构建的基因工程重组腺病毒。Shen等⁽⁶⁰⁾报告了一项包括102名患者的研究。53例患者单独接受TACE治疗,另有49例患者接受rAd-p53加TACE治疗,基于重组人p53腺病毒注射的TACE治疗组生存期为81.5%,高于TACE单药治疗组。而重组人p53腺病毒TACE治疗粗2年无进展生存期为63.9%,单药治疗组为16.3%,证明了以重组人p53腺病毒注射液为基础的TACE治疗是有效的。Qu等⁽⁶¹⁾将HepG2细胞作为模型细胞系,通过姜黄素和rAd-p53联合给药以及各自单独给药,得出了联合处理协同促进肝癌细胞凋亡并抑制上皮-间质转化的结论。并且当联合用药时,细胞效应会进一步增强。刘洪欣等⁽⁶²⁾利用碘油栓塞联合p53基因治疗肝癌模型的白兔,说明了基因联合治疗肝癌的有效性。其他的几项研究也报道

了rAd-p53联合化疗治疗的肝癌患者预后较单独使用改善⁽⁶⁵⁾。因此,有许多临床证据表明,p53和TACE的组合可以显著改善肝癌患者的预后。除腺病毒载体外,He等人使用肠道益生菌Nissle coli 1917 (EcN)作为靶向转载体,将抗肿瘤基因p53或与抗肿瘤药物联合递送到肿瘤区域进行治疗。将三种工程细菌EcN (Tum-5), EcN (p53)和EcN (Tum 5-p53)递送到SMMC-7721荷瘤BALB/c裸鼠的实体肿瘤区域进行治疗。Ec N (Tum5p53)的肿瘤体积抑制率为69.47%,为三者中最高。良好的抗肿瘤效果表明Tum 5-p53双功能蛋白的抗肿瘤效果确实明显优于单独使用p53蛋白或Tum-5蛋白⁽⁶⁶⁾。这也表明p53作为肿瘤抑制基因与抗癌药物联合治疗癌症的潜力。

6. 总结与展望

本文重点针对p53基因在肝细胞癌诊治中的重要作用进行综述。p53作为代谢网络的关键,在正常和异常条件下参与主要的代谢和细胞转录过程,并通过多种信号通路参与细胞周期停滞、凋亡和自噬。突变的p53通常会导致癌细胞的扩散和对药物的耐药性的形成。在肿瘤治疗方面,主要治疗策略是靶向p53功能障碍治疗,包括对突变体p53进行药理学再激活和减少野生型p53降解。另外,重新激活p53的活性,使癌细胞恢复对化疗药物的耐药性,或与TACE联合治疗不可切除的肝癌显示出很强的抗癌活性。治疗方式的选择对于晚期肝癌患者的治疗效果影响至关重要,我们也许可以将视野放回癌症中常见突变基因的研究,如p53的靶向治疗、p53与TACE联合等等。重组人p53腺病毒注射液治疗不可切除的肿瘤患者已经在临床上获益,在未来,p53相关治疗也许会将肝癌的治疗带入一个新的时代。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢:无。

作者贡献声明:无。

参考文献

1. Vineis P, Wild CP. Global cancer patterns: causes and prevention. *Lancet*. 2014;383:549-557.
2. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021;71:209-249.
3. Maomao C, He L, Dianqin S, et al. Current cancer burden in China: epidemiology, etiology, and prevention. *Cancer Biol Med*. 2022;19:1121-1138.
4. Hong Y, Huang J. Autoantibodies against tumor-associated antigens for detection of hepatocellular carcinoma. *World J Hepatol*. 2015;7:1581-1585.
5. Eggert T, McGlynn KA, Duffy A, Manns MP, Greten TF, Altekruze SF. Epidemiology of fibrolamellar hepatocellular carcinoma in the USA, 2000-10. *Gut*. 2013;62:1667-1668.
6. Soussi T, Legros Y, Lubin R, Ory K, Schlichtholz B. Multifactorial analysis of p53 alteration in human cancer: a review. *Int J Cancer*. 1994;57:1-9.
7. Qi LN, Bai T, Chen ZS, et al. The p53 mutation spectrum in hepatocellular carcinoma from Guangxi, China: role of chronic

- hepatitis B virus infection and aflatoxin B1 exposure. *Liver Int*. 2015;35:999-1009.
8. Chang Y, Liu B, Niu H, Wang Z, Xia S, Li H. Value of anti-p53 antibody as a biomarker for hepatocellular carcinoma: Evidence from a meta-analysis. *Medicine (Baltimore)*. 2020;99:e21887.
9. Lacroix M, Riscal R, Arena G, Linares LK, Le Cam L. Metabolic functions of the tumor suppressor p53: Implications in normal physiology, metabolic disorders, and cancer. *Mol Metab*. 2020;33:2-22.
10. Lane DP, Crawford LV. T antigen is bound to a host protein in SV40-transformed cells. *Nature*. 1979;278:261-263.
11. McBride OW, Merry D, Givol D. The gene for human p53 cellular tumor antigen is located on chromosome 17 short arm (17p13). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1986;83(1):130-134.
12. Freed-Pastor WA, Prives C. Mutant p53: one name, many proteins. *Genes Dev*. 2012;26:1268-1286.
13. Marei HE, Althani A, Afifi N, et al. p53 signaling in cancer progression and therapy. *Cancer Cell Int*. 2021;21:703.
14. Xia Y, Li X, Sun W. Applications of Recombinant Adenovirus-p53 Gene Therapy for Cancers in the Clinic in China. *Curr Gene Ther*. 2020;20:127-141.
15. Suh YA, Post SM, Elizondo-Fraire AC, et al. Multiple stress signals activate mutant p53 *in vivo*. *Cancer Res*. 2011;71:7168-7175.
16. Chen J. The Cell-Cycle Arrest and Apoptotic Functions of p53 in Tumor Initiation and Progression. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2016;6:a026104.
17. Abbas R, Larisch S. Killing by Degradation: Regulation of Apoptosis by the Ubiquitin-Proteasome-System. *Cells*. 2021;10:3465.
18. Yue X, Zhao Y, Xu Y, Zheng M, Feng Z, Hu W. Mutant p53 in Cancer: Accumulation, Gain-of-Function, and Therapy. *J Mol Biol*. 2017;429:1595-1606.
19. Muller PA, Vousden K H. p53 mutations in cancer. *Nat Cell Biol*. 2013;15:2-8.
20. Schulz-Heddergott R, Stark N, Edmunds SJ, et al. Therapeutic Ablation of Gain-of-Function Mutant p53 in Colorectal Cancer Inhibits Stat3-Mediated Tumor Growth and Invasion. *Cancer Cell*. 2018;34:298-314.e7.
21. Hernández Borrero LJ, El-Deiry WS. Tumor suppressor p53: Biology, signaling pathways, and therapeutic targeting. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*. 2021;1876:188556.
22. Walsh CS, Miller CW, Karlan BY, Koeffler HP. Association between a functional single nucleotide polymorphism in the *MDM2* gene and sporadic endometrial cancer risk. *Gynecol Oncol*. 2007;104:660-664.
23. Mantovani F, Collavin L, Del Sal G. Mutant p53 as a guardian of the cancer cell. *Cell Death Differ*. 2019;26:199-212.
24. Boutelle AM, Attardi LD. p53 and Tumor Suppression: It Takes a Network. *Trends Cell Biol*. 2021;31:298-310.
25. Hino K, Yanatori I, Hara Y, Nishina S. Iron and liver cancer: an inseparable connection. *FEBS J*. 2022;289:7810-7829.
26. Buitrago-Molina LE, Marhenke S, Becker D, et al. p53-Independent Induction of p21 Fails to Control Regeneration and Hepatocarcinogenesis in a Murine Liver Injury Model. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*. 2021;11:1387-1404.
27. Kaiser AM, Attardi LD. Deconstructing networks of p53-mediated tumor suppression *in vivo*. *Cell Death Differ*. 2018;25:93-103.
28. Kim J, Yu L, Chen W, et al. Wild-Type p53 Promotes Cancer Metabolic Switch by Inducing PUMA-Dependent Suppression of Oxidative Phosphorylation. *Cancer Cell*. 2019;35:191-203.e8.
29. Pavlakis E, Stiewe T. p53's Extended Reach: The Mutant p53 Secretome. *Biomolecules*. 2020;10:307.
30. Wu X, Li J, Gassa A, et al. Circulating tumor DNA as an emerging liquid biopsy biomarker for early diagnosis and therapeutic monitoring in hepatocellular carcinoma. *Int J Biol Sci*.

- 2020;16:1551-1562.
31. Nault JC, Martin Y, Caruso S, *et al.* Clinical Impact of Genomic Diversity From Early to Advanced Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology.* 2020;71:164-182..
 32. Middleton CH, Irving W, Robertson JF, *et al.* Serum autoantibody measurement for the detection of hepatocellular carcinoma. *PLoS One.* 2014;9:e103867.
 33. 陈世豪, 林耀威, 汤翠霞. 抗核抗体滴度及p53抗体对原发性肝癌的诊断价值. *海南医学.* 2022;33:1793-1796.
 34. Wang Z, Gou W, Liu M, Sang W, Chu H, Zhang W. Expression of P53 and HSP70 in Chronic Hepatitis, Liver Cirrhosis, and Early and Advanced Hepatocellular Carcinoma Tissues and Their Diagnostic Value in Hepatocellular Carcinoma: An Immunohistochemical Study. *Med Sci Monit.* 2015;21:3209-3215.
 35. El Azm AR, Yousef M, Salah R, *et al.* Serum anti-P53 antibodies and alpha-fetoprotein in patients with non-B non-C hepatocellular carcinoma. *Springerplus.* 2013;2:69.
 36. Ye S, Zhao XY, Hu XG, *et al.* TP53 and RET may serve as biomarkers of prognostic evaluation and targeted therapy in hepatocellular carcinoma [published correction appears in *Oncol Rep.* 2022;48:196.
 37. Graur F, Furcea L, Mois E, *et al.* Analysis of p53 Protein Expression in Hepatocellular Carcinoma. *J Gastrointest Liver Dis.* 2016;25:345-349.
 38. Chai Y, Xiaoyu L, Haiyan W. Correlation between expression levels of *PTEN* and p53 genes and the clinical features of HBsAg-positive liver cancer. *J BUON.* 2017;22:942-946.
 39. Li Y, Wu J, Li E, *et al.* TP53 mutation detected in circulating exosomal DNA is associated with prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Biol Ther.* 2022;23:439-445.
 40. Anwanwan D, Singh SK, Singh S, Saikam V, Singh R. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* 2020;1873:1883-14.
 41. Yarchoan M, Agarwal P, Villanueva A, *et al.* Recent Developments and Therapeutic Strategies against Hepatocellular Carcinoma [published correction appears in *Cancer Res.* 2019;79:4326-4330.
 42. Medavaram S, Zhang Y. Emerging therapies in advanced hepatocellular carcinoma. *Exp Hematol Oncol.* 2018;7:17.
 43. Bykov VJN, Eriksson SE, Bianchi J, Wiman KG. Targeting mutant p53 for efficient cancer therapy. *Nat Rev Cancer.* 2018;18:89-102.
 44. Duffy MJ, Synnott NC, Crown J. Mutant p53 as a target for cancer treatment. *Eur J Cancer.* 2017;83:258-265.
 45. Duffy MJ, Tang M, Rajaram S, O'Grady S, Crown J. Targeting Mutant p53 for Cancer Treatment: Moving Closer to Clinical Use?. *Cancers (Basel).* 2022;14:4499.
 46. Yue X, Zhang C, Zhao Y, *et al.* Gain-of-function mutant p53 activates small GTPase Rac1 through SUMOylation to promote tumor progression. *Genes Dev.* 2017;31:1641-1654.
 47. Wang C, Vegna S, Jin H, *et al.* Inducing and exploiting vulnerabilities for the treatment of liver cancer. *Nature.* 2019;574:268-272.
 48. Duffy MJ, Synnott NC, O'Grady S, Crown J. Targeting p53 for the treatment of cancer. *Semin Cancer Biol.* 2022;79:58-67.
 49. Mishra A, Tamari R, DeZern AE, *et al.* Eprentapopt Plus Azacitidine After Allogeneic Hematopoietic Stem-Cell Transplantation for TP53-Mutant Acute Myeloid Leukemia and Myelodysplastic Syndromes. *J Clin Oncol.* 2022;40:3985-3993.
 50. Park H, Shapiro GL, Gao X, *et al.* Phase Ib study of eprentapopt (APR-246) in combination with pembrolizumab in patients with advanced or metastatic solid tumors. *ESMO Open.* 2022;7:100573.
 51. Wasylishen AR, Lozano G. Attenuating the p53 Pathway in Human Cancers: Many Means to the Same End. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2016;6:a026211.
 52. Guo L, Xu Y, Zhou A, *et al.* A stimuli-responsive combination therapy for recovering p53-inactivation associated drug resistance. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2020;108:110403.
 53. 王佳玉, 杨卫平, 林大伟, 等. 奥沙利铂对不同p53状态肝癌细胞中DNA损伤修复基因GADD45 β 的诱导差异及调控机制. *中华肝胆外科杂志.* 2012;18:130-134.
 54. Feng F, Lu YY, Zhang F, *et al.* Long interspersed nuclear element ORF-1 protein promotes proliferation and resistance to chemotherapy in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol.* 2013;19:1068-1078.
 55. Li YX, Lin ZB, Tan HR. Wild type p53 increased chemosensitivity of drug-resistant human hepatocellular carcinoma Bel7402/5-FU cells. *Acta Pharmacol Sin.* 2004;25:76-82.
 56. Xia P, Zhang H, Xu K, *et al.* MYC-targeted WDR4 promotes proliferation, metastasis, and sorafenib resistance by inducing CCNB1 translation in hepatocellular carcinoma. *Cell Death Dis.* 2021;12:691.
 57. 邱英, 周娟, 杜豆, 等. 非小细胞肺癌劳拉替尼获得性耐药细胞株的建立及耐药后治疗策略. *实用医学杂志.* 2019;35:1722-1726.
 58. Khemlina G, Ikeda S, Kurzrock R. The biology of Hepatocellular carcinoma: implications for genomic and immune therapies. *Mol Cancer.* 2017;16:149.
 59. Zhang WW, Li L, Li D, *et al.* The First Approved Gene Therapy Product for Cancer Ad-p53 (Gendicine): 12 Years in the Clinic. *Hum Gene Ther.* 2018;29:160-179.
 60. Shen A, Liu S, Yu W, Deng H, Li Q. p53 gene therapy-based transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: A prospective cohort study. *J Gastroenterol Hepatol.* 2015;30:1651-1656.
 61. Qu J, Lu W, Chen M, *et al.* Combined effect of recombinant human adenovirus p53 and curcumin in the treatment of liver cancer. *Exp Ther Med.* 2020;20:18.
 62. 杜童, 牛洪欣, 徐忠法, 等. WTp53基因联合双自杀基因介入途径治疗肝癌的实验研究. *中华肝胆外科杂志.* 2013;19(8).
 63. Liu X, Wang S, Guo X, *et al.* Exogenous p53 and ASPP2 expression enhances rAdV-TK/ GCV-induced death in hepatocellular carcinoma cells lacking functional p53. *Oncotarget.* 2016;7:18896-18905.
 64. Liu Y, Zhang Y, Bautista D, *et al.* Trans-arterial p53-gene-embolization with gelatin sponge microparticles for hepatocellular carcinoma with BCLC stage B: single-center experience. *Cell Biochem Biophys.* 2015;71:99-104.
 65. Davoodi P, Srinivasan MP, Wang CH. Effective co-delivery of nutlin-3a and p53 genes via core-shell microparticles for disruption of MDM2-p53 interaction and reactivation of p53 in hepatocellular carcinoma. *J Mater Chem B.* 2017;5:5816-5834.
 66. He L, Yang H, Tang J, *et al.* Intestinal probiotics *E. coli* Nissle 1917 as a targeted vehicle for delivery of p53 and Tum-5 to solid tumors for cancer therapy. *J Biol Eng.* 2019;13:58.
-
- 引用本文 / Article Citation:
- 丁兆伟,叶永青,王平. p53基因在肝细胞肝癌诊治中的研究进展. *医学新视角.* 2024;1(3):144-148. doi:10.5582/npjm.2023.02629
- Zhaowei Ding, Yongqing Ye, Ping Wang. The role of the p53 gene in hepatocellular carcinoma. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):144-148. doi:10.5582/npjm.2023.02629

26例溃疡性结肠炎的外科治疗体会

彭良鑫, 吴强, 杨理超, 袁联文

中南大学湘雅二医院普外科, 长沙市 410011

摘要:目的: 探讨溃疡性结肠炎的外科手术治疗进展以及术后转归, 提高对UC外科治疗的认识。方法: 回顾性分析2016年08月-2022年01月在中南大学湘雅二医院进行初次外科手术的26例溃疡性结肠患者的临床资料, 疾病特点、手术原因、手术方式和术后并发症。结果: 26例UC患者中, 男性: 女性=1:1, 首发症状以腹痛、腹泻(25/26, 96.2%)为主, 初发型4例, 慢性复发型22例, 左半结肠型2例, 广泛型24例, 重度22例。26例患者术前均存在不同程度贫血。21例因内科保守治疗无效, 症状加重行手术治疗, 4例因中毒性巨结肠行急诊手术, 1例因息肉癌变无法排除行限期手术。手术方式上, 腹腔镜手术11例, 开放手术15例。行全结肠切除+IPAA+预防性回肠造口术21例, 全结肠切除+预防性回肠造口术3例, 因肠腔狭窄及息肉癌变无法排除行直肠/结肠部分切除术2例。造口患者的造口回纳中位时间为4月(3-8月)。术后近期及远期总体并发症发生率为61.5%(16/26)。切口感染6例(15.4%)、绞窄性小肠梗阻并小肠穿孔1例、不明原因造口出血1例、吻合口增生性息肉1例。21例IPAA手术患者中, 储袋炎的发生率为28.6%(6/21), 临床表现为大便次数增加、腹痛和肛周疼痛。2/3的储袋炎对甲硝唑和环丙沙星治疗敏感。结论: UC患者病情复杂, 全结肠切除+回肠储袋肛管吻合术仍是主要的手术方式, 术后易出现并发症, 应掌握好手术时机和手术方式, 加强围手术期管理以提高外科治疗效果。

关键词: 溃疡性结肠炎, 外科治疗, 术后并发症

Experience in surgical treatment of 26 cases of ulcerative colitis

Liangxin Peng, Qiang Wu, Lichao Yang, Lianwen Yuan

Department of General Surgery, The Second Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410011, China

Abstract: The aims of this study were to investigate advances in the surgical treatment and postoperative outcomes of ulcerative colitis (UC) and to increase the understanding of the surgical treatment of UC. Clinical data on 26 patients with UC who underwent initial surgery in the Second Xiangya Hospital of Central South University from August 2016 to January 2022 were retrospectively analyzed. The disease characteristics, reasons for surgery, procedures, and postoperative complications were analyzed. The ratio of male to female patients was 1:1. The main initial symptoms were abdominal pain and diarrhea (25/26 patients, 96.2%). All 26 patients had varying degrees of anemia before surgery. Twenty-one patients underwent surgery because of the failure of conservative medical treatment and aggravation of symptoms, 4 underwent emergency surgery because of toxic megacolon, and 1 underwent elective surgery because cancer could not be ruled out. Laparoscopic surgery was performed on 11 patients and open surgery was performed on 15. Twenty-one patients underwent total proctocolectomy, IPAA, and preventive ileostomy, 3 underwent total colectomy and preventive ileostomy, and 2 underwent partial proctocolectomy due to intestinal stenosis. The median time of stoma closure was 4 months (range: 3 to 8 months). The overall incidence of short-term and long-term postoperative complications was 61.5% (16/26 patients). There were 6 cases of a surgical site infection (15.4%), 1 case of strangulated small bowel obstruction and perforation of the small intestine, 1 case of stoma bleeding of unknown origin, and 1 case of a hyperplastic polyp at the anastomosis. The incidence of pouchitis in 21 patients who underwent IPAA was 28.6% (6/21 patients). The clinical manifestations included increased stool frequency, abdominal pain, and perianal pain. Two-thirds of the cases of pouchitis were sensitive to metronidazole and ciprofloxacin. In conclusion, UC is a complex condition. Total proctocolectomy and IPAA is still the main procedure. Postoperative complications readily occur. The timing of surgery and procedure need to be mastered, and perioperative management needs to be enhanced to improve the effectiveness of surgery.

Keywords: ulcerative colitis, surgical treatment, postoperative complications

1. 引言

溃疡性结肠炎(Ulcerative Colitis, UC)是发生在结肠、直肠黏膜的一种弥漫性的非特异性炎症性疾病, 病情轻重不一, 常迁延不愈。近年来, 我国UC的患病率逐渐上升。

随着生物制剂的使用, UC内科治疗取得较好疗效, 但仍有10~20%的UC患者最终需进行外科手术治疗⁽¹⁾。选择合理的手术方式以减少术后并发症对提高UC术后转归十分重要。本文旨在通过总结在湘雅二医院进行外科治疗的26例UC病例特点、外科治疗经过及术后并发症, 探讨UC

的外科手术方式的进展以及术后转归, 提高对UC外科治疗的认识。

2. 对象与方法

2.1. 研究对象

回顾性分析2016年08月至2022年01月在中南大学湘雅二医院(后简称“我院”)初次接受外科手术的UC患者门诊及住院病例, 纳入标准: 患者的临床表现、肠镜、影像学、病理组织学符合《炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2018年·北京)》中UC的诊断标准。排除标准: 临床资料和随访资料不全的患者。

2.2. 研究方法

2.2.1. 资料收集

详细记录患者的一般人口学资料、住院病程、实验室检验和检查结果、治疗经过、手术信息和术后并发症等资料。

2.2.2. 术前准备

所有病例均于初次手术前完善血常规、肝肾功能、电解质、C反应蛋白及降钙素原等实验室指标, 完善腹部CT及肠镜检查。除急诊手术外, 所有病例均于我院消化内科进行系统性内科治疗。药物治疗包括5-氨基水杨酸制剂, 糖皮质激素及硫唑嘌呤。对于部分难治性UC, 采用英夫利昔单抗克隆抗体或沙利度胺进行治疗。择期患者由多学科会诊制定预康复方案, 包括纠正营养不良、撤减激素和生物制剂。

2.2.3. 手术指征和手术方式

手术指征包括中毒性巨结肠、癌变无法排除、经积极内科治疗临床症状无明显改善。所有手术均由我院同一炎症性肠病外科手术团队实施。根据病情选择对应的手术方式。

2.2.4. 数据处理

统计数据采用SPSS 26.0统计学软件分析, 计量资料以均数±标准差表示, 计数资料以例数和构成比表示。

3. 结果

3.1. 一般资料

收稿日期: 2023-12-5; 修回日期: 2024-3-15

基金项目: 国家自然科学基金(82270590)

通讯作者/Corresponding author: 袁联文/Lianwen Yuan,
E-mail:yuanlianwen@csu.edu.cn

本文编辑: 吴田田

表1. 26例UC的疾病特点

项目	例数	构成比/%
首发症状		
腹痛	25	96.2
腹泻	25	96.2
粘液脓血便	23	88.5
里急后重	7	26.9
发热	7	26.9
关节痛	1	3.8
临床分型		
初发型	4	15.4
慢性复发型	22	84.6
病变范围		
E1(直肠型)	0	0
E2(左半结肠型)	2	7.7
E3(广泛型)	24	92.3
疾病严重程度		
中度	4	15.4
重度	22	84.6
手术距发病时间		
1年以内	9	34.6
1-5年	9	34.6
5-10年	3	11.5
>10年	5	19.3

表2. 术前实验室资料

指标	均数±标准差
血红蛋白/(g·L ⁻¹)	90.73±16.71
白细胞计数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	8.17±4.28
中性粒细胞计数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	6.10±3.79
血小板计数/(×10 ⁹ ·L ⁻¹)	364±158.71
红细胞沉降率/(mm·h ⁻¹)	40.84±29.82
C反应蛋白/(mg·L ⁻¹)	41.58±48.44
降钙素原/(ng·mL ⁻¹)	0.38±0.75
白蛋白/(g·L ⁻¹)	29.23±6.60

26例患者中男性13例, 女性13例。身高149~175(163.1±6.3)cm, 体重38~72.5(50.7±1.89)Kg, BMI为14.88~27.63(19.0±0.66)Kg/m²。26例患者既往均无阑尾手术史、肛瘘史及NSIADs药物服用史, 既往有吸烟史6例(19.2%)。初次手术时年龄在28~78(45.73±14.39)岁。初次手术距离发病时间为20天~20年, 平均时间为64±19.2月。术后住院日8~26(13.4±0.93)天, 平均住院日在3~80(31.42±17.77)天。所有病例的病变范围均采用蒙特利尔分型, 病情活动性按照改良Truelove和Witts疾病严重程度分型(详见表1)。

3.2. 术前检查

术前26例患者均存在不同程度贫血, 轻度贫血14例(53.8%), 中度贫血10例(38.5%), 重度贫血2例(7.7%)。15例患者存在低白蛋白血症(余实验室资料见表2)。CT下所有患者(26/26)均可见肠管壁不同程度增厚。肠镜下以粘膜糜烂及表面接触性出血多见(22/26, 84.6%), 其次是粘膜红斑充血(20/26, 76.9%)和粘膜自发性溃疡(17/26, 65.4%)。部分可见不规则及深凿样或纵行溃疡(8/26, 30.8%), 近半数(12/26, 46.2%)病例可观察到息肉形成, 部分(6/26, 23.1%)导致肠腔

表3. 溃疡性结肠炎手术方式及切除范围

项目	例数	比例 (%)
手术方式		
腹腔镜	11	42.3
开放	15	57.3
切除范围		
TPC+IPAA+回肠造口术	21	80.8
TC+回肠造口术	3	11.5
直肠/结肠部分切除术	2	7.7

注: TPC, 全结直肠切除术; IPAA, 回肠储袋肛管吻合术; TC, 全结肠切除术。

表4. 26例溃疡性结肠炎术后并发症

并发症	例数	比例 (%)
伤口感染	6	23.1
不明原因造口出血	1	3.8
肠梗阻	1	3.8
吻合口增生性息肉	2	7.7
储袋炎*	6	28.6

*仅限于21例行IPAA术的病例。

狭窄。

3.3. 手术指征与手术方式

21例患者因内科保守治疗症状无明显缓解, 症状加重而行手术治疗; 1例患者因息肉癌变无法排除行限期手术, 4例因中毒性巨结肠行急诊手术。26例手术中, 开放手术15例, 腹腔镜手术11例。行全结直肠切除 (Total Proctocolectomy, TPC) +回肠储袋肛管吻合术 (Ileal Pouch-Anal Anastomosis, IPAA) +预防性回肠造口术21例, 全结肠切除 (Total Colectomy, TC) +预防性回肠造口术3例, 因肠腔狭窄及息肉恶变无法排除行直肠/结肠部分切除术2例 (见表3)。24例造口患者中, 造口已回纳16例, 回纳时距手术中位时间为4.0月 (3~8月)。26例手术过程顺利, 无术中死亡病例。

3.4. 术后病理检查

所有患者 (26/26) 标本均有不同程度慢性炎症细胞浸润, 23例标本中可见隐窝脓肿形成 (23/26, 88.5%), 12例患者标本存在轻度-中重度腺上皮非典型性增生, 1例术前息肉恶变无法排除的标本最终诊断为腺瘤性息肉。

3.5. 术后并发症及转归

手术患者均在我院定期复查, 随访时间在6.5月-6年, 中位时间41月。手术后近期及晚期总体并发症发生率为16/26 (61.5%) (见表4)。切口感染6例 (15.4%), 5例予以加强伤口换药, 局麻下行二期伤口清创缝合后伤口愈合; 1例加强换药后伤口愈合。1例术后5月因“绞窄性小肠梗阻并小肠穿孔, 弥漫性腹膜炎”急诊入院, 行小肠部分切除术切除坏死肠管后好转出院。1例术后7天出现不明原因造口出血, 完善肠镜、胃镜及肠系膜上动脉CTA均未明确出血点, 经保守治疗后出血停止。2例分别于术

后12月、31月行肠镜发现吻合口息肉, 均行肠镜下息肉电切术, 病检提示增生性息肉。

21例IPAA手术患者中, 储袋炎的发生率为28.6% (6/21), 发生时间在术后4月-51月, 中位时间14月。储袋炎根据临床表现, 内镜检查及病理组织活检综合进行诊断。其临床表现为大便次数增加 (3例)、腹痛 (2例)、肛周疼痛 (3例), 均无直肠出血及发热。内镜下均可见粘膜呈不同程度炎症改变, 表现为粘膜充血水肿及散在糜烂, 2例可见溃疡形成。病理组织活检表现为中-重度慢性活动性炎, 固有层大量淋巴细胞浸润, 浆细胞及中性粒细胞浸润。部分可见隐窝脓肿 (2例) 及肉芽肿形成 (2例)。4例储袋炎患者使用甲硝唑+环丙沙星/左氧氟沙星抗感染治疗后, 大便次数减少, 腹痛减轻, 临床症状改善。1例仅表现为肛周疼痛的患者经塞来昔布止痛+美沙拉嗪调节免疫后疼痛缓解。1例使用激素及英夫利昔单抗治疗, 腹泻仍无明显好转。

4. 讨论

溃疡性结肠炎作为一种慢性疾病, 目前的治疗以内科治疗为主, 包括氨基水杨酸制剂, 激素, 硫嘌呤类以及生物制剂等。尽管内科治疗已经取得了较好的疗效, 但部分患者仍不可避免地需要进行外科手术治疗。

本研究中, 80.8%的患者采用了全结直肠切除+IPAA术式, 仅对部分术前内镜检查直肠粘膜正常的患者进行了直肠的保留。全结直肠切除+回肠储袋肛管吻合术 (ileal pouch-anal anastomosis, IPAA) 作为UC的标准手术方式已被广泛认可。其优势在于避免了永久性回肠造口, 同时保留了消化道的连续性及肛门括约肌的功能, 从而提高患者的生活质量⁽²⁾。随着技术和经验的提高, 我国腹腔镜IPAA手术逐渐成为一种趋势。相较于开腹手术相比, 腹腔镜手术创伤小, 恢复快, 具有较短的术后住院时长。但在某些情况例如腹腔大出血和腹腔粘连严重时, 开放手术具有更短的手术时间和方便术者操作的优点, 应被优先考虑。在术后并发症方面, 本研究中开放手术和腹腔镜手术在术后并发症方面未见明显差异, 与既往报道的结果相似⁽³⁾。近年来, 也有一些学者提出新的入路方式, 如经Pfannenstiel切口行开放手术和经肛门入路行IPAA术⁽⁴⁻⁶⁾, 但应用有限, 报道有限, 暂未显现出明显优势。

回肠储袋构建上, 常用的储袋类型包括双袢J型、外侧同向蠕动H型、三袢S型、四袢W型4种类型。本研究中心均采用手工切割闭合器进行直肠分割, 构建J型储袋。J型储袋在操作难度上较为简单, 所需肠管较短。切割闭合器则保证了直肠规则分割。有证据表明, 直肠的不规则分割可能会导致病变黏膜的残留及术后储袋功能下降⁽⁷⁾。我国亦有学者使用改良的J型储袋 (D型储袋), 巧妙地消除了储袋的残端以减少J型储袋的尖端瘘, 同时能够缩短手术时间, 在术后并发症方面相较于传统J型储袋无明显差异⁽⁸⁾。在储袋的长度上, 国内指南建议储袋长度一般为15~20cm, 在吻合困难的情况下, 储袋不得短于12 cm⁽⁹⁾。国外有研究提出, 短J型储袋 (长度在8±2cm) 相较于长储袋 (17±2cm) 的术后储袋功能和患者自我感受更好⁽¹⁰⁾。腹腔镜技术构建的储袋能减少粘连, 更好地保护植物神经, 从而降低术后发生性功能障碍和不孕不育的发

生率,但可能因粘连减少而存在储袋扭转的风险⁽¹¹⁾。

UC术后近期并发症主要包括切口感染、吻合口漏、腹腔感染、肠梗阻、腹泻和吻合口狭窄;远期并发症主要包括储袋相关并发症,如储袋炎、封套炎、储袋恶变等。术前使用激素类药物可能增加储袋失败的概率⁽¹²⁾。术前和术后均使用生物治疗的患者更可能经历临床复发和储袋失败⁽¹³⁾。储袋炎是IPAA术后储袋黏膜发生的非特异性炎症,临床表现主要为腹痛、腹泻、里急后重,主要基于临床症状、内镜和组织学证据进行诊断。在本研究中,开放手术和腹腔镜手术术后并发症的发生率未见明显差异,近期并发症以伤口感染为主,远期并发症以储袋炎为主。储袋炎的发生率为28.6%,低于已报道的发生率⁽¹⁴⁾,可能与术者操作经验丰富或研究对象例数不足有关。2/3的储袋炎经过甲硝唑/环丙沙星的抗感染治疗后,临床症状能得到有效地缓解。

外科手术在UC的治疗中仍起着不可或缺的作用,对其认识也需要进一步提高。本研究的局限性在于病例数量有限,仍需纳入更多的病例以及更长的随访时间以观察远期疗效。

致谢:无。

作者贡献声明:无。

参考文献

1. Li S, Ding C, Zhu F, *et al.* Ileoanal pouch syndrome is common and associated with significant disability in patients with ulcerative colitis undergoing IPAA. *Dis Colon Rectum.* 2022;65:1503-1513.
2. 唐莎莎, 戚卫林, 周伟. 溃疡性结肠炎IPAA手术分期的选择. *中华炎性肠病杂志.* 2018;2:264-266.
3. Mineccia M, Cravero F, Massucco P, *et al.* Laparoscopic vs open restorative proctocolectomy with IPAA for ulcerative colitis: impact of surgical technique on creating a well functioning pouch. *Int J Surg.* 2018;55:201-206.
4. Duraes LC, Schroeder DA, Dietz DW. Modified Pfannenstiel open approach as an alternative to laparoscopic total proctocolectomy and IPAA: comparison of short- and long-term outcomes and quality of Life. *Dis Colon Rectum.* 2018;61:573-578.
5. Truong A, Wood T, Fleshner PR, *et al.* A single-center experience

- of transanal proctectomy with IPAA for IBD. *Dis Colon Rectum.* 2022;65:1121-1128.
6. Marker L, Kjær S, Levic-Souzani K, *et al.* Transanal ileal pouch-anal anastomosis for ulcerative colitis: A single-center comparative study. *Tech Coloproctol.* 2022;26:875-881.
7. Poggioli G, Rottoli M, Romano A, *et al.* A prospective analysis of the postoperative and long-term functional outcomes of a novel technique to perform rectal transection during laparoscopic restorative proctectomy and ileal pouch-anal anastomosis. *Tech Coloproctol.* 2022;26:583-590.
8. Zhang Y, Hu H, Jiang C, *et al.* D-pouch: a modified ileal J-pouch for patients with ulcerative colitis and familial adenomatous polyposis. *Tech Coloproctol.* 2021;25:1209-1215.
9. 中华医学会外科学分会结直肠外科学组, 中国医师协会肛肠医师分会炎症性肠病专业委员会. 中国溃疡性结肠炎外科治疗指南. *中华炎性肠病杂志.* 2022;6:7-16.
10. Miratashi Yazdi SA, Fazeli MS, Ahmadi Amoli H, *et al.* Functional and quality of life outcomes after ileal pouch-anal anastomosis in short versus long ileal J-pouch configuration in ulcerative colitis patients: A cohort study. *Updates Surg.* 2020;72:827-833.
11. Dionigi B, Prien C, Lavryk O, *et al.* Pouch volvulus-why adhesions are not always the enemy. *Colorectal Dis.* 2022;24:1192-1196.
12. Duraes LC, Liang J, Steele SR, *et al.* Restorative proctocolectomy with ileal pouch-anal anastomosis in elderly patients - is advanced age a contraindication? *Anz J Surg.* 2022;92:2180-2184.
13. Kayal M, Lambin T, Plietz M, *et al.* Recycling of pre-colectomy anti-tumor necrosis factor agents in chronic pouch inflammation is associated with treatment failure. *Clin Gastroenterol H.* 2021;19:1491-1493.
14. Barnes EL, Herfarth HH, Kappelman MD, *et al.* Incidence, risk factors, and outcomes of pouchitis and pouch-related complications in patients with ulcerative colitis. *Clin Gastroenterol H.* 2021;19:1583-1591.

引用本文 / Article Citation:

彭良鑫, 吴强, 杨理超, 袁联文. 26例溃疡性结肠炎的外科治疗体会. *医学新视角.* 2024;1(3):149-152. doi:10.5582/npjm.2024.01011

Liangxin Peng, Qiang Wu, Lichao Yang, Lianwen Yuan. Experience in surgical treatment of 26 cases of ulcerative colitis. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):149-152. doi:10.5582/npjm.2024.01011

手术联合术中放疗及门静脉灌注化疗在肝癌伴门静脉主干癌栓中的应用

宋泽兵, 黎航, 邵子力, 宋笑冬, 罗灿

广州医科大学附属第二医院, 广东省广州市510260

摘要: 肝细胞癌常侵犯到门静脉, 形成门静脉癌栓, 继而引发肝内转移及门静脉高压。临床上提倡联合多学科的治疗手段综合治疗该疾病, 为了探讨手术联合术中放疗及术后门静脉灌注化疗对HCC伴门静脉主干癌栓患者的有效性和安全性。本研究回顾性分析我院 2018年1月–2024年2月收治的56例HCC伴门静脉主干癌栓病例, 分为“手术联合术中放疗及术后门静脉灌注化疗组(手术-IORT-PVC组)”和“经肝动脉化疗栓塞术联合肝动脉灌注化疗组(TACE-HAIC组)”。分别统计两组患者的临床资料, 比较两组术后生化指标, 肿瘤指标以及生存时间(OS)和无进展生存时间(PFS)。并评估两组患者的术后并发症及不良事件(AE)。手术-IORT-PVC组($n=21$)的中位OS未达到, 1, 2, 3年的生存率分别为75.6%、60.5%、60.5%, TACE-HAIC组($n=35$)的中位OS为7个月, 1, 2, 3年生存率分别为28.8%、8.2%、8.2%, 手术-IORT-PVC组的生存曲线明显优于TACE-HAIC组。手术-IORT-PVC组的中位PFS未达到, 1, 2, 3年的无进展生存率为73.3%、64.1%、64.1%, 而TACE-HAIC组的中位PFS为4个月, 1, 2, 3年的中位无进展生存率为9.5%、9.5%、9.5%, 手术-IORT-PVC组的无进展生存曲线明显优于TACE-HAIC组。多因素COX回归分析显示血小板和治疗方式是影响患者OS的独立影响因素, 两组术后并发症及放疗不良事件均未见有3级及以上的事件发生。

关键词: 肝细胞癌, 门静脉癌栓, 术中放疗, 门静脉灌注化疗

The use of surgery combined with intraoperative radiotherapy and portal vein infusion chemotherapy in hepatocellular carcinoma with major portal vein tumor thrombus

Zebing Song, Hang Li, Zili Shao, Xiaodong Song, Can Luo

Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery Division, Department of Surgery, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University, Guangzhou 510260, China

Abstract: Hepatocellular carcinoma (HCC) often invades the portal veins, and especially the major portal vein. This leads to intrahepatic metastasis and portal hypertension, severely affecting the prognosis for patients. Currently, clinical practice advocates for the comprehensive treatment of portal vein tumor thrombus (PVTT) through multidisciplinary approaches. The current study investigated the efficacy and safety of surgery combined with intraoperative radiotherapy (IORT) and postoperative portal vein infusion chemotherapy (PVC) in patients with HCC and major portal vein tumor thrombus. The complete clinical data on 56 patients with HCC and major portal vein tumor thrombus admitted to this hospital from January 2018 to February 2024 were retrospectively analyzed. Patients were divided into two groups based on treatment: the Surgery-IORT-PVC group and the transarterial chemoembolization (TACE)-hepatic arterial infusion chemotherapy (HAIC) group. Clinical data were collected on patients in both groups. Overall survival (OS), progression-free survival (PFS), 1-, 2-, and 3-year survival rates, and 1-, 2-, and 3-year progression-free survival rates were compared between the two groups. Univariate and multivariate analyses were performed on the included variables to identify independent prognostic factors. Postoperative complications and adverse events (AEs) were evaluated in both groups and compared. The median OS of the Surgery-IORT-PVC group ($n = 21$) was not reached. The survival rates at 1, 2, and 3 years were 75.6%, 60.5%, and 60.5%, respectively. The median OS of the TACE-HAIC group ($n = 35$) was 7 months, with survival rates at 1, 2, and 3 years of 28.8%, 8.2%, and 8.2%, respectively. The survival curve for the Surgery-IORT-PVC group was significantly better than that for the TACE-HAIC group. The median PFS of the Surgery-IORT-PVC group was not reached, with PFS rates at 1, 2, and 3 years of 73.3%, 64.1%, and 64.1%, respectively. In contrast, the median PFS of the TACE-HAIC group was 4 months, with PFS rates at 1, 2, and 3 years of 9.5%, 9.5%, and 9.5%, respectively. The PFS curve of the Surgery-IORT-PVC group was significantly superior to that of the TACE-HAIC group. Univariate and multivariate Cox regression analysis revealed that platelet count and treatment modality were factors influencing patient OS. Postoperative complications in the Surgery-IORT-PVC group were all classified as Clavien-Dindo grade I or II, and no grade 3 or worse AEs were observed. There were no significant differences in AEs between the two groups.

Keywords: hepatocellular carcinoma, portal vein tumor thrombus, intraoperative radiotherapy, portal vein infusion chemotherapy

1. 引言

肝细胞癌（HCC）是常见的恶性肿瘤。当HCC伴有门静脉癌栓（PVTT）时，HCC的预后将变得极差⁽¹⁻²⁾，其中位生存时间仅仅只有2-4个月。针对这样的病例在中国，尽管手术治疗存在着一些争议，部分学者建议选择性地对部分肝癌伴有PVTT的患者采取手术治疗。积极进行肿瘤切除和取栓术可显著改善门静脉高压，并减少顽固性腹水、出血等并发症，同时也能改善肝功能，减轻肿瘤负荷，降低肝内和远处转移的风险，为进一步的治疗提供时机⁽³⁻⁴⁾。除手术以外，放疗广泛应用在HCC合并PVTT患者中⁽⁵⁻⁶⁾；术后门静脉灌注化疗（PVC）可以将抗癌药物定位输送到门静脉内，使其与门静脉癌栓直接接触，有多项研究也证明了门静脉灌注化疗对于门静脉癌栓治疗的有效性⁽⁷⁻⁸⁾。

本中心在既往的研究中首次报道了手术切除联合术中放疗（IORT）及术后门静脉灌注化疗（PVC）这一多学科联合治疗肝癌伴门静脉主干癌栓的病例⁽⁹⁾，本次研究主要回顾性分析了该三联治疗方式对于原发灶可切除的HCC伴门静脉主干癌栓患者的疗效和安全性，并将TACE联合HAIC的治疗方式作为对照组。

2. 资料与方法

2.1. 研究对象及方法

从2018年1月1日到2024年2月29日，收集并分析了广州医科大学附属第二医院收治的56例原发灶可切除的HCC（肝细胞癌）合并门静脉主干癌栓患者的完整临床资料以及术后随访资料。根据治疗方法将其分为两组，其中21例患者行手术切除联合IORT及PVC，设为手术-IORT-PVC组；35例患者行TACE联合HAIC治疗，设为TACE-HAIC组。统计两组一般临床资料包括：血红蛋白、血小板、总胆红素、白蛋白、凝血酶原时间、谷氨酰转氨酶、丙氨酸氨基转移酶、乙肝表面抗原、异常凝血酶原、甲胎蛋白水平、肿瘤数量、肿瘤大小、腹水、门静脉癌栓分型、性别、年龄。除此外，对于手术-IORT-PVC组的术后并发症、放疗并发症进行了统计，术后并发症的严重程度采用了Clavien-Dindo分级系统评估；放疗、化疗及TACE相关并发症采用了CTCAE分级系统评估。术后随访关注患者的总生存时间（OS），无进展生存期（PFS），以及1年、2年和3年的生存率。

2.2. 治疗方法

2.2.1. 门静脉主干癌栓的取出

手术时，按照“癌栓优先”原则，先取出门静脉主干内

的癌栓，然后再切除原发灶。首先解剖第一肝门后，游离出门静脉的左右支及主干，并利用术中超声定位门静脉内的癌栓。根据门静脉癌栓的情况，将选择合适的阻断方式：如果保留侧肝脏门静脉分支没有癌栓，则同时阻断门静脉主干及健侧门静脉分支根部（以免癌栓进入保留侧肝脏门静脉）；而如果保留侧门静脉分支有癌栓侵犯，则只需阻断门静脉主干。切开患侧门静脉分支或者门静脉主干后取出癌栓，再缝合血管壁。值得注意的是，肝癌伴门静脉主干癌栓患者往往合并有门静脉海绵样变，切开主干前必须将前壁侧壁小血管逐根结扎以防出现难以控制的大出血。

2.2.2. 术中放疗过程

在完成PVTT取出以及原发灶切除后，根据门静脉主干野照射范围选择合适的施源器，直径大小一般为3-6cm。确定靶区后，正确放置施源器的位置，将周围的肠管用湿纱布和棉垫隔开，确认位置后，由放疗科医师在系统内设置放疗剂量和选择施源器的直径，随后进行IORT。放疗剂量固定为15Gy。放疗时间由放疗科医生计算照射时间，一般为15-40分钟不等。

2.2.2. 门静脉药盒植入及化疗方案

术中放疗结束后，门静脉药盒植入，放置在胃网膜右静脉。术后1周开始使用FOLFOX化疗方案的门静脉化疗（PVC），并此后每三周进行一次，具体化疗方案为：奥沙利铂85mg/m²，静脉滴注2h，左亚叶酸钙200mg/m²静脉滴注2h；5-FU400mg/m²静脉滴注15min，5-FU600mg/m²微泵泵注46h。

2.3. 统计学方法

使用IBM SPSS 26.0软件进行数据分析。计量资料采用均值±标准差表示，并进行t检验。在生存分析方面，我们采用Kaplan-Meier法计算OS、PFS以及1、2、3年的生存率。单因素分析和多因素分析均采用COX回归模型。当P值<0.05时，被认为具有统计学意义。

3. 结果

3.1. 临床资料比较

本研究共纳入56例患者，手术-IORT-PVC组21例，TACE-HAIC组35例，将两组患者的基线资料进行对比分析（表1），发现两组患者在年龄、性别、PVTT分型、腹水、肿瘤大小、肿瘤数量、甲胎蛋白、异常凝血酶原、乙肝表面抗原、丙氨酸氨基转移酶、谷氨酰转氨酶、凝血酶原时间、白蛋白、总胆红素、血小板、血红蛋白等方面均无统计学差异（ $p>0.05$ ），两组资料具有可比性。

3.2. 生存分析比较

根据Kaplan-Meier生存分析，图1和图2显示了两组患者的生存情况。手术-IORT-PVC组的中位OS未达到，而

收稿日期：2023-12-5；修回日期：2024-3-15

基金项目：广州医科大学科研能力提升项目（2023-LCYJ-ZF-57）

通讯作者/Corresponding author: 罗灿/Can Luo, E-mail: 13556152167@126.com

本文编辑：宋培培

表1. 两组临床资料基线比较

项目	所有 (n=56)	TACE-HAIC组 (n=35)	手术-IORT-PVC组 (n=21)	P
年龄 (年)				0.27
<55	28 (50.0%)	15 (42.9%)	13 (61.9%)	
≥55	28 (50.0%)	20 (57.1%)	8 (38.1%)	
性别				0.70
女	7 (12.5%)	5 (14.3%)	2 (9.52%)	
男	49 (87.5%)	30 (85.7%)	19 (90.5%)	
PVTT分型 (程氏)				0.43
III型	42 (75.0%)	28 (80.0%)	14 (66.7%)	
IV型	14 (25.0%)	7 (20.0%)	7 (33.3%)	
腹水				0.69
无	46 (85.7%)	29 (82.9%)	17 (90.5%)	
有	10 (14.3%)	6 (17.1%)	4 (9.52%)	
肿瘤大小 (cm)				0.57
<10	36 (64.3%)	21 (60.0%)	15 (71.4%)	
≥10	20 (35.7%)	14 (40.0%)	6 (28.6%)	
肿瘤数量				1.00
单发	24 (42.9%)	15 (42.9%)	9 (42.9%)	
多发	32 (57.1%)	20 (57.1%)	12 (57.1%)	
AFP (ng/mL)				0.58
<400	28 (50.0%)	19 (54.3%)	9 (42.9%)	
≥400	28 (50.0%)	16 (45.7%)	12 (57.1%)	
PIVKA-II (mAu/mL)				0.14
<100	8 (14.3%)	3 (8.57%)	5 (23.8%)	
≥100	48 (85.7%)	32 (91.4%)	16 (76.2%)	
HBsAg				0.73
阴	10 (17.9%)	7 (20.0%)	3 (14.3%)	
阳	46 (82.1%)	28 (80.0%)	18 (85.7%)	
ALT (U/L)				0.72
<35	21 (37.5%)	12 (34.3%)	9 (42.9%)	
≥35	35 (62.5%)	23 (65.7%)	12 (57.1%)	
GGT (U/L)				0.06
<60	5 (8.93%)	1 (2.86%)	4 (19.0%)	
≥60	51 (91.1%)	34 (97.1%)	17 (81.0%)	
PT (S)				1.00
<13	29 (51.8%)	18 (51.4%)	11 (52.4%)	
≥13	27 (48.2%)	17 (48.6%)	10 (47.6%)	
白蛋白 (g/L)				0.89
<35	30 (53.6%)	18 (51.4%)	12 (57.1%)	
≥35	26 (46.4%)	17 (48.6%)	9 (42.9%)	
总胆红素 (umol/L)				0.19
<26	41 (73.2%)	23 (65.7%)	18 (85.7%)	
≥26	15 (26.8%)	12 (34.3%)	3 (14.3%)	
血小板 (10 ⁹ /L)				0.69
<100	8 (14.3%)	6 (17.1%)	2 (9.52%)	
≥100	48 (85.7%)	29 (82.9%)	19 (90.5%)	
血红蛋白 (g/L)				0.50
<100	12 (21.4%)	9 (25.7%)	3 (14.3%)	
≥100	44 (78.6%)	26 (74.3%)	18 (85.7%)	

TACE-HAIC组的中位OS为7个月，两组之间的差异具有统计学意义 ($p<0.05$)，手术-IORT-PVC组的OS显著优于TACE-HAIC组。两组的1年，2年，3年的生存率分别为75.6%，60.5%，60.5%和28.8%，8.2%，8.2% (表2)。两组的中位PFS分别为未达到和4个月，并且这两组之间具备统计学差异 ($p<0.05$)。两组的1、2、3年无进展生存率分别为73.3%、64.1%、64.1%和9.5%、9.5%、9.5%，TACE-HAIC组中出现肿瘤进展的情况全部都是在1年之内发生 (表3)。

3.3. 预后因素分析

通过单因素COX回归分析 ($p<0.05$)，影响 HCC 伴

门静脉主干癌栓患者OS的因素包括了血小板和治疗方式，并提示血小板数目 $\geq 100 \times 10^9/L$ 以及手术-IORT-PVC的治疗方式对患者OS具有有利影响，其余因素对患者OS的影响不存在统计学意义 ($p>0.05$)。随后将这两个影响因素纳入多因素COX回归分析，结果显示血小板数目及治疗方式是影响患者OS的独立影响因素。以上结果见 (表4)。

3.4. 安全性分析

3.4.1. 手术-IORT-PVC组患者术后并发症

根据Clavien-Dindo分级系统评估手术-IORT-PVC组

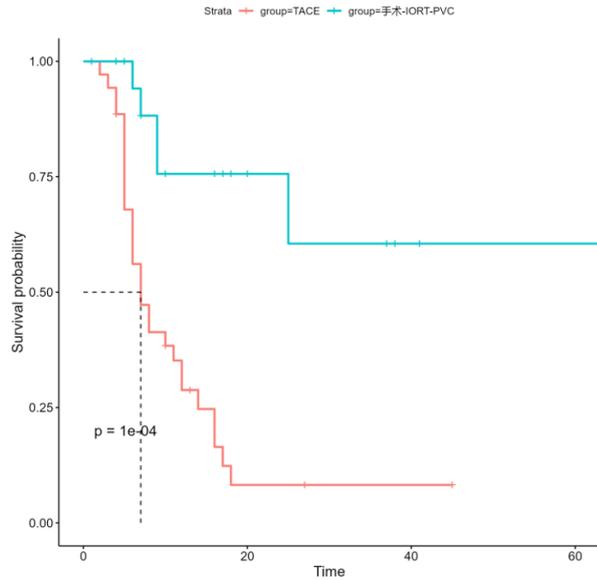


图1. 手术-IORT-PVC组与TACE-HAIC组之间生存率的比较。

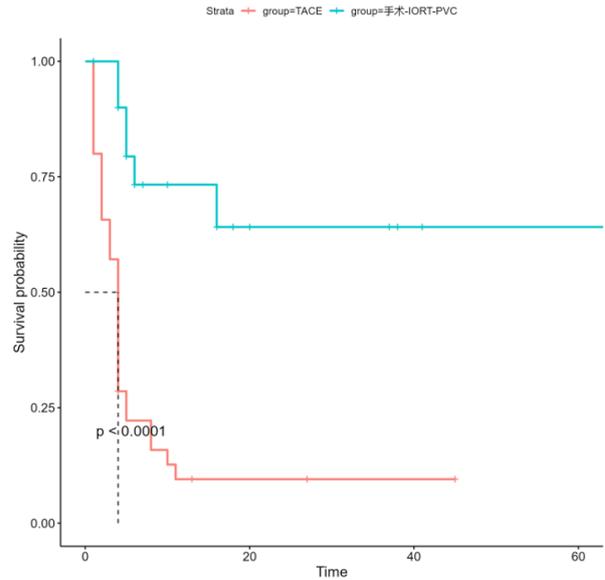


图2. 手术-IORT-PVC组与TACE-HAIC组之间无进展生存率的比较。

表2. 两组中位OS和生存率的比较

组别	中位生存期 (月)	生存率		
		1年	2年	3年
手术-IORT-PVC组	未达到	75.6%	60.5%	60.5%
TACE-HAIC组	7	28.8%	8.2%	.2%

表3. 两组中位PFS和无进展生存率的比较

组别	中位无进展生存期 (月)	无进展生存率		
		1年	2年	3年
手术-IORT-PVC组	未达到	73.3%	64.1%	64.1%
TACE-HAIC组	4	9.5%	9.5%	9.5%

表4. 影响患者OS的单因素和多因素分析

因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
血红蛋白 (≥100g/L vs. <100g/L)	0.546	0.26-1.144	0.109			
血小板 (≥100*10 ⁹ /L vs. <100*10 ⁹ /L)	0.188	0.073-0.484	0.001	0.224	0.086-0.58	0.002
总胆红素 (≥26μmol/L. vs. <26μmol/L)	1.061	0.507-2.221	0.875			
白蛋白 (≥35g/L vs. <35g/L)	1.001	0.509-1.967	0.999			
PT (≥13S vs.<13S)	0.633	0.319-1.258	0.192			
GGT (≥60U/L vs. <60U/L)	4.069	0.555-29.855	0.168			
ALT (≥35U/L vs. <35U/L)	0.999	0.504-1.978	0.997			
HBsAg (阳 vs. 阴)	1.021	0.444-2.348	0.961			
PIV.KA.II (≥100mAU/ml vs.100mAU/mL)	2.665	0.811-8.754	0.106			
AFP水平 (≥400ng/ml vs. <400ng/mL)	0.818	0.412-1.624	0.566			
肿瘤数量 (单发 vs. 多发)	1.493	0.744-2.993	0.259			
肿瘤大小 (≥10cm vs. <10cm)	1.339	0.67-2.674	0.409			
腹水 (有 vs. 无)	1.4	0.578-3.389	0.456			
PVTT分型 (III型 vs. IV型)	0.522	0.226-1.207	0.128			
性别 (男 vs. 女)	1.141	0.4-3.258	0.805			
年龄 (≥55 vs. <55)	1.03	0.525-2.023	0.93			
治疗方式 (手术-IORT-PVC vs. TACE-HAIC)	0.182	0.07-0.476	0.001	0.195	0.074-0.512	0.001

表5. 手术-IORT-PVC组患者术后并发症及其严重程度

项目	所有分级	I级	II级	III/IV/V级
肺炎	2 (9.5%)	0	2 (9.5%)	0
手术切口感染	4 (19.0%)	3 (14.3%)	1 (4.8%)	0
术后贫血	3 (14.3%)	0	3 (14.3%)	0
术后发热	2 (9.5%)	2 (9.5%)	0	0

表6. 两组患者治疗后AE以及CTCAE 分级的比较

项目	所有分级	1-2级	≥3级	P
发热	16			0.359
手术-IORT-PVC		4 (19.0%)	0	
TACE-HAIC		12 (34.3%)	0	
腹痛	8			1
手术-IORT-PVC		3 (14.3%)	0	
TACE-HAIC		5 (14.3%)	0	
恶心或呕吐	9			1
手术-IORT-PVC		4 (19.0%)	0	
TACE-HAIC		5 (14.3%)	0	
白细胞下降	5			1
手术-IORT-PVC		2 (9.52%)	0	
TACE-HAIC		3 (8.57%)	0	
肝包膜下积液	1			1
手术-IORT-PVC			0	
TACE-HAIC		1 (2.86%)	0	
肝功能不全	13			1
手术-IORT-PVC		5 (23.8%)	0	
TACE-HAIC		8 (22.9%)	0	

患者术后并发症的严重程度，该组患者术后并发症都为I级或II级，主要包括了肺炎（9.5%）、手术切口感染（19.0%）、术后贫血（14.3%）、术后发热（9.5%）（见表5）。对于肺炎主要进行了抗感染治疗；手术切口感染病人主要进行换药以及引流，其中1名病人使用了抗生素；术后贫血患者都进行输血治疗；术后发热的处理主要是使用退热药物进行对症治疗

3.4.2. 两组患者治疗后的不良反应

采用CTCAE 5.0分级系统对两组患者治疗后的AE进行了评估，详见表6。该分级系统主要针对手术-术中放疗-PVC组中的IORT及PVC可能导致的AE以及TACE-HAIC组中的TACE和HAIC可能导致的AE。两组患者的不良反应都是1级或2级，未见有3级及以上的AE发生。对两组的AE进行比较，所有发生的AE两组并无统计学差异（ $p>0.05$ ）。除此之外，手术-IORT-PVC组中有1名患者术后5个月因新冠肺炎死亡，TACE-HAIC组有1名患者治疗后10个月因肝性脑病死亡，1名患者治疗后13个月因上消化道出血死亡。

4. 讨论

HCC患者一旦发生PVTT，通常表示已经处于晚期阶段，并且预后极差^(2,10)，该类病人的比例高达44.0%-62.2%⁽¹¹⁾。在临床上，HCC伴有PVTT的患者通常肿瘤的体积较大，肿瘤数量较多，肝功能分级较差，并且甲胎蛋白水平也较高⁽¹²⁾。许多因素的综合影响导致HCC合并

PVTT患者预后不佳，如肝功能受损、HCC的内在侵袭性、抗肿瘤治疗耐受性降低以及发生与门静脉高压相关的并发症的高发率等⁽¹³⁾。

目前对于肝癌伴门静脉主干癌栓可选择的治疗方式多样，多个研究表明基于手术治疗的多学科治疗可用于晚期HCC合并PVTT，但门静脉主干癌栓的手术治疗仍然存在争议⁽¹⁴⁻¹⁵⁾。放疗可以降低分支癌栓向主干癌栓进展的可能性⁽¹⁶⁾，但缺乏一个最佳辐射剂量和反应的预测模型。全身化疗、HAIC、RFA、门静脉支架植入术和传统中医也被证明有利于HCC伴门静脉主干癌栓的治疗。

本研究中提出的手术-IORT-PVC三联治疗方式，与介入手段TACE-HAIC组进行对照研究。结果显示不管是中位OS（未达到vs.7个月）还是中位PFS（未达到vs.4个月），手术-IORT-PVC组都明显好于TACE-HAIC组，并且1, 3, 5年生存率（75.6%，60.5%，60.5% vs. 28.8%，8.2%，8.2%）以及无进展生存率（73.3%，64.1%，64.1% vs. 9.5%，9.5%，9.5%）都优于TACE-HAIC组。经过单因素和多因素分析，显示治疗方式是既是影响OS的独立影响因素，也是唯一一个影响PFS的独立影响因素。手术治疗的目的是切除原发灶及取出主干内的癌栓使其血流复通。有研究⁽¹⁸⁾认为肝切除术取栓可降低因PVTT压迫而转移的发生率，有利于III-IV型PVTT的预后。但是HCC伴门静脉主干癌栓的手术治疗仍然存在争议，主要原因是因为手术风险大，预后差⁽¹⁷⁾，因为门静脉主干癌栓的往往难以取净，尤其是附壁癌栓或者机化癌栓，和微癌栓的患者，本研究采用了术中放疗来处理门静脉主干内的难以取净的残余癌栓。已有研究表明放疗可以降低术后肿瘤的复发率⁽¹⁹⁾，并且也有研究⁽²⁰⁻²¹⁾认为放疗与PVTT治疗效果

上存在剂量-反应关系, 剂量越大, 对PVTT的清除效果越好。与体外放疗相比, IORT可一次性向目标区域释放高剂量辐射, 并且在术中便于调整照射区域, 相比体外放疗的放射范围更小且更精准, 最大限度地避免了对周围健康组织的辐射损伤。我们认为IORT联合手术可以将肿瘤清除的更为彻底。通过取出门静脉主干内的癌栓以及术中放疗, 保证了门静脉主干内的血流复通, 为之后的门静脉灌注化疗创造了条件。

门静脉药盒导管放置在了胃网膜右静脉, 这保证了化疗药物最终可经过门静脉主干进入肝内。本次研究采用的是FOLFOX的化疗方案, 目前该方案已经广泛应用于BCLC B/C阶段的HCC患者。FOLFOX的5-氟尿嘧啶、亚叶酸钙和奥沙利铂的组合被证明能够降低Pgp/ABCB1的表达, 从而提升药物的抗肿瘤效果⁽²²⁾。

在本研究放疗化疗安全性方面, 采用IORT相对于体外放疗而言, 精准照射了肉眼可见的PVTT以及可疑的PVTT, 避免了对于肝脏的照射和胃肠道的照射, 并且由于IORT主要照射部位为门静脉, 因此无需考虑肝脏的放疗耐受剂量等问题, 目前研究认为血管可以承受的放疗剂量为100Gy⁽⁵⁾, 而本次研究中术中放疗剂量仅仅只有15Gy。除此之外, 本次研究所使用的INTRABEAM放疗系统的放射穿透深度仅仅只有5mm⁽⁹⁾, 在保证所需照射深度的前提下避免了对脊髓的照射从而引发造血功能障碍。

不管是手术-IORT-PVC组, 还是TACE-HAIC组, 都未见有Clavien-dindo分级与CTCAE分级3级以上的并发症发生, 大部分患者的不良反应是恶心呕吐、白细胞下降或者转氨酶轻度升高, 经过对症、护肝等治疗后, 患者的不良反应可缓解或消失。对两组的不良反应进行对比, 发现两组的不良反应并无明显差异。

5. 结论

1).手术联合IORT及PVC治疗肝癌合并门静脉主干癌栓的生存预后显著优于TACE联合HAIC疗效。

2).治疗方式和血小板数目是影响患者OS的独立影响因素, 而治疗方式是唯一影响患者PFS的独立影响因素。手术联合IORT及PVC对患者的OS及PFS产生有利影响。

3).手术联合IORT及PVC的患者未见有发生严重术后并发症, 相比于TACE联合HAIC组, 两组的不良事件发生情况并无明显差异, 手术联合术中放疗及门静脉灌注化疗的安全性可靠。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢: 无。

作者贡献声明: 无。

参考文献

1. Vauthey J N, Lauwers G Y, Esnaola N F, *et al.* Simplified staging for hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol.* 2002;20:1527-1536.
2. Reig M, Forner A, Rimola J, *et al.* BCLC strategy for prognosis

- prediction and treatment recommendation: The 2022 update. *J Hepatol.* 2022;76:681-693.
3. Zhang X P, Wang K, Li N, *et al.* Survival benefit of hepatic resection versus transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus: a systematic review and meta-analysis. *BMC Cancer.* 2017;17:902.
4. 李留峥, 张世荣, 陆顺, 等. 可切除肝细胞癌合并门静脉癌栓的外科治疗. *中国普通外科杂志.* 2022;31:870-879.
5. Van Leeuwen C M, Oei A L, Crezee J, *et al.* The alfa and beta of tumours: A review of parameters of the linear-quadratic model, derived from clinical radiotherapy studies. *Radiat Oncol.* 2018;13:96.
6. Rim C H, Yoon W S. Leaflet manual of external beam radiation therapy for hepatocellular carcinoma: a review of the indications, evidences, and clinical trials. *Onco Targets Ther.* 2018;11:2865-2874.
7. Gao Y, Wang P X, Cheng J W, *et al.* Chemotherapeutic perfusion of portal vein after tumor thrombectomy and hepatectomy benefits patients with advanced hepatocellular carcinoma: A propensity score-matched survival analysis. *Cancer Med.* 2019;8:6933-6944.
8. Liang L J, Hu W J, Yin X Y, *et al.* Adjuvant intraportal venous chemotherapy for patients with hepatocellular carcinoma and portal vein tumor thrombi following hepatectomy plus portal thrombectomy. *World J Surg.* 2008;32:627-631.
9. Song X, He Y, Liang H, *et al.* INTRABEAM intraoperative radiotherapy combined with portal vein infusion chemotherapy for treating hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus. *BMC Surg.* 2020;20:174.
10. Li S H, Guo Z X, Xiao C Z, *et al.* Risk factors for early and late intrahepatic recurrence in patients with single hepatocellular carcinoma without macrovascular invasion after curative resection. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2013;14:4759-4763.
11. Zhang Z M, Lai E C, Zhang C, *et al.* The strategies for treating primary hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus. *Int J Surg.* 2015;20:8-16.
12. Yin J, Bo W T, Sun J, *et al.* New Evidence and Perspectives on the Management of Hepatocellular Carcinoma with Portal Vein Tumor Thrombus. *J Clin Transl Hepatol.* 2017;5:169-176.
13. Tarantino L, Busto G, Nasto A, *et al.* Percutaneous electrochemotherapy in the treatment of portal vein tumor thrombosis at hepatic hilum in patients with hepatocellular carcinoma in cirrhosis: A feasibility study. *World J Gastroenterol.* 2017; 23:906-918.
14. Kondo K, Chijiwa K, Kai M, *et al.* Surgical strategy for hepatocellular carcinoma patients with portal vein tumor thrombus based on prognostic factors. *J Gastrointest Surg.* 2009;13(6):1078-1083.
15. Ban D, Shimada K, Yamamoto Y, *et al.* Efficacy of a hepatectomy and a tumor thrombectomy for hepatocellular carcinoma with tumor thrombus extending to the main portal vein. *J Gastrointest Surg.* 2009;13:1921-1928.
16. Kim D Y, Park W, Lim D H, *et al.* Three-dimensional conformal radiotherapy for portal vein thrombosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer.* 2005;103:2419-2426.
17. Chen X P, Qiu F Z, Wu Z D, *et al.* Effects of location and extension of portal vein tumor thrombus on long-term outcomes of surgical treatment for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol.* 2006;13:940-946.
18. Peng S Y, Wang X A, Huang C Y, *et al.* Better surgical treatment method for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus. *World J Gastroenterol.* 2018; 24:4527-4535.
19. Chok K S, Cheung T T, Chan S C, *et al.* Surgical outcomes in hepatocellular carcinoma patients with portal vein tumor

- thrombosis. *World J Surg.* 2014;38:490-496.
20. Lee J H, Kim D H, Ki Y K, *et al.* Three-dimensional conformal radiotherapy for portal vein tumor thrombosis alone in advanced hepatocellular carcinoma. *Radiat Oncol J.* 2014;32:170-178.
 21. Kim N, Cheng J, Huang W Y, *et al.* Dose-Response Relationship in Stereotactic Body Radiation Therapy for Hepatocellular Carcinoma: A Pooled Analysis of an Asian Liver Radiation Therapy Group Study. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2021;109:464-473.
 22. Theile D, Grebhardt S, Haefeli W E, *et al.* Involvement of drug transporters in the synergistic action of FOLFOX combination chemotherapy. *Biochem Pharmacol.* 2009; 78:1366-1373.

引用本文 / Article Citation:

宋泽兵, 黎航, 邵子力, 宋笑冬, 罗灿. 手术联合术中放疗及门静脉灌注化疗在肝癌伴门静脉主干癌栓中的应用. *医学新视角.* 2024;1(3):153-159. doi:10.5582/npjm.2024.01019

Zebing Song, Hang Li, Zili Shao, Xiaodong Song, Can Luo. The use of surgery combined with intraoperative radiotherapy and portal vein infusion chemotherapy in hepatocellular carcinoma with major portal vein tumor thrombus. *The New Perspectives Journal of Medicine.* 2024;1(3):153-159. doi:10.5582/npjm.2024.01019

胰管多发结石1例外科手术与器官保护策略治疗体会

白燕南, 陈毅凌, 周松强, 田毅峰, 王耀东

福州大学附属省立医院 福建省立医院肝胆胰外科, 福州福建 350001

摘要: 胰管多发结石临床治疗策略尚未形成统一标准。本文旨在探讨基于器官保护和损伤控制理念下的胰管多发结石外科处理方案的可行性和优势。方法: 回顾性分析1例胰管多发结石的临床资料, 探讨保留十二指肠的胰头切除、胰管切开取石、经胰管内镜下碎石取石、胰管端端吻合术的手术原理和操作要点, 并进行文献复习。结果: 保留十二指肠的胰头切除、胰管切开取石、经胰管内镜下碎石取石、胰管端端吻合术同时利用外科切除与引流理念, 在保证胰管通畅的前提下, 保留十二指肠和小肠系统的完整性, 避免进行额外的胰肠和肠肠吻合操作, 简化手术流程, 既彻底去除结石病灶, 且最大程度保留了胰腺内外分泌功能和消化道的完整。术后患者恢复好, 无胰漏、胃排空障碍等并发症发生, 术后第7天出院。随访11月, 患者生活质量明显提高, 腹痛症状消失, 血糖恢复正常水平。结论: 保留十二指肠的胰头切除、胰管切开取石、经胰管内镜下碎石取石、胰管端端吻合术能清除胰管多发结石病灶, 简化手术, 有利于器官功能保护, 减少创伤, 手术安全性高, 近期疗效肯定。

关键词: 胰管结石, 胰头切除术, 胰管端端吻合, 器官保护

Experience with surgical treatment and an organ-sparing strategy for a case of multiple pancreatic duct stones

Yannan Bai, Yiling Chen, Songqiang Zhou, Yifeng Tian, Yaodong Wang

Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou University Affiliated Provincial Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China

Abstract: Background: There is no uniform standard for strategies to clinically treat multiple pancreatic duct stones. The current work aims to explore the feasibility and advantages of surgical treatment of multiple pancreatic duct stones based on the concept of sparing organs and damage control. Methods: A retrospective analysis of the clinical data from a case of multiple pancreatic duct stones was performed to explore the surgical principles and key points of pancreatic head resection with duodenum preservation, pancreatic duct incision and lithotomy, endoscopic lithotripsy through the pancreatic duct, and end-to-end anastomosis of the pancreatic duct. A literature review was also conducted. Results: Duodenum-preserving pancreatic head resection, pancreatic duct incision and lithotripsy, endoscopic lithotripsy through the pancreatic duct, and end-to-end anastomosis of the pancreatic duct simultaneously utilized the concept of surgical resection and drainage. Premised on ensuring the patency of the pancreatic duct, the procedures preserved the integrity of the duodenum and small intestine, they avoided additional pancreatico-enteric and intestinal anastomosis procedures, they simplified the surgical process, they completely removed the stones, and they preserved the endocrine function of the pancreas and the integrity of the digestive tract to the greatest extent. The patient recovered well after surgery, there were no complications such as pancreatic leakage and gastric emptying disorder, and the patient was discharged on day 7 after surgery. During the 11-month follow-up, the patient's quality of life improved significantly, symptoms of abdominal pain disappeared, and the patient's blood glucose level returned to normal. Conclusion: Duodenum-preserving pancreatic head resection, pancreatic duct incision and lithotripsy, endoscopic lithotripsy through the pancreatic duct, and end-to-end anastomosis of the pancreatic duct can remove multiple pancreatic duct stones, simplify surgery, help to preserve organ function, reduce trauma, which are highly safe, and are highly effective in the short term.

Keywords: pancreatic duct stone, pancreatectomy, end-to-end anastomosis, organ-sparing

收稿日期: 2023-12-23; 修回日期: 2024-5-11

基金项目: 无

通讯作者/Corresponding author: 白燕南/Yannan Bai, E-mail:

nanfangg@gmail.com

本文编辑: 廖锐

1. 引言

文献报道, 胰管结石 (pancreatic duct stones, PDS) 人群发病率1%, 病因复杂, 约50%以上的慢性胰腺炎患者并发PDS, 结石发生率随着时间的推移而增加⁽¹⁾。按PDS

类型、数量和位置等进行分类：①射线不透明、射线可透或混合型；②单个或多个；③位于主胰管、侧支或胰实质内；④位于头部、身体或尾部区域等⁽²⁾。临床上，胰管多发结石并不少见，治疗棘手，根据PDS分布范围和位置，采取胰十二指肠切除术、胰体尾切除术乃至全胰腺切除术等复杂术式。基于器官保护和损伤控制性理念，我院近期对1例多发PDS进行外科手术治疗，效果满意。现报告如下。

2. 病例资料

患者，男，31岁，主因“反复中上腹胀痛10年”于2022年9月15日入住我科。患者10年前开始出现中上腹部胀痛不适，饱餐后胀痛加剧，并出现夜间疼痛发作，前倾坐位可缓解，于当地医院诊断为“胰管结石”，先后以药物、体外碎石、十二指肠内镜取石及胰管支架内引流等治疗，有缓解期。2年前开始出现畏食、消瘦、空腹血糖水平升高，并且腹痛发作次数与疼痛持续时间趋于严重，需要止痛药减轻腹痛症状。为求进一步诊治，以“胰管多发结石、糖尿病”入住我院。体格检查：腹软，中上腹部压痛，可触及右中腹部包块，触痛明显，无反跳痛和肌紧张。腹部CT：全胰腺纤维化明显，慢性胰腺炎改变；胰头肿大，主胰管多发结石并扩张（图1）。

诊断明确，经过多学科讨论和积极围术期准备，患者于2022年9月27日全麻下接受手术治疗。取腹部正中切口逐层进腹。术中探查：胰腺区域网膜粘连严重，全胰腺萎缩、纤维化，胰腺质地硬，可触及胰管内大量结石，胰头区域最为显著，结合术前影像学证据与术中情况，决定行保留十二指肠的胰头切除、胰管切开取石、经胰管内镜下碎石取石、胰管端端吻合术。打开胃结肠韧带，全程显露胰腺，游离显露肝总动脉和胃十二指肠动脉（gastroduodenal artery, GDA），胰腺上下缘分别显露门静脉（portal vein, PV）并于PV前壁切断胰颈，沿GDA远端显露胰十二指肠前上动脉支（anterior superior pancreaticoduodenal artery, ASPDA），沿胰腺下缘PV右侧缘显露胰十二指肠下动脉（inferior pancreaticoduodenal artery, IPDA），沿十二指肠内侧缘约0.5cm处的胰腺作为切除线，妥善处理ASPD和IPDA进入胰腺实质的血管分支，保护胰头钩突后系膜和IPDA后分支，于钩突系膜前方分离胰头及钩突，保护十二指肠内侧缘血管弓，显露胆总

管（common bile duct, CBD）下段和壁内段，于主胰管（main pancreatic duct, MPD）汇入胆胰壶腹前约0.5cm处离断MPD，MPD直径约1.5cm，完整切除胰头和钩突，送检术中冰冻排除胰腺癌变风险；探查胰体部结石聚集病灶，于距胰颈断端左侧约5cm处纵行切开胰管，长约6cm，取出主胰管结石，胆道镜探查分支胰管，左右贯通冲洗并于胆道镜下激光碎石和网篮取石，彻底取出肉眼可见结石；胆道镜下经主胰管断端分别探查胆胰壶腹部、胆总管全程及十二指肠大乳头，确认无狭窄、结石残留，Oddi's括约肌收缩功能好，置入一根5Fr主胰管引流支撑管；关闭胰管：先以4-0 PDS可吸收线连续缝合纵行切开的胰体尾部胰管；其次，靠近MPD的根部端和胰颈端，以4-0 PDS可吸收线间断全层端对端吻合，吻合口无张力及渗漏，经鼻腔置入空肠营养管1根，冲洗腹腔，检查术野无活动性出血，胰腺区域放置2根引流管，逐层关腹，术闭。手术时间2小时30分钟，术中出血约50mL。术后病理：慢性胰腺炎并纤维化改变，胰实质内腺体减少，小胰管内见结石病理改变（图2）。术后恢复好，无胃排空障碍、胰漏、腹腔感染等并发症，术后第2天开始经空肠滋养型肠内营养，术后第6天拔出营养管，术后第7天带腹腔引流管出院，术后第10天拔除腹腔引流管。目前已随访11月，其中术后第3月，患者营养状态明显改善，无腹痛症状，血糖已恢复正常水平，无需镇痛药物和血糖干预措施。

3. 讨论

PDS病因复杂，多数继发于慢性胰腺炎，是胰腺癌变的诱发因素之一⁽¹⁾。目前，国内外针对PDS的治疗意见尚未统一，治疗方法包括药物治疗、内镜治疗、体外冲击波碎石术和手术治疗等，治疗效果报道不一，然而，胰管多发结石的病例往往需要外科干预，且疗效最佳⁽³⁾。

外科手术的目的在于去除病灶，取尽结石，通畅引流和缓解疼痛，其相应的术式可分为胰腺切除、引流或二者联合的术式。以Beger术为代表的胰腺切除术，相比创伤性极大的胰十二指肠切除术而言，其主要优点是缩小手术范围的情况下完整切除病变的胰头钩突组织，最大程度保留胰腺内外分泌功能；主要缺点是无法对胰腺体尾部结石进行充分的处理和有效引流，故不断有改良术式报道出现⁽⁴⁻⁸⁾。以Partington术为代表的胰腺引流术，适用于MPD全程

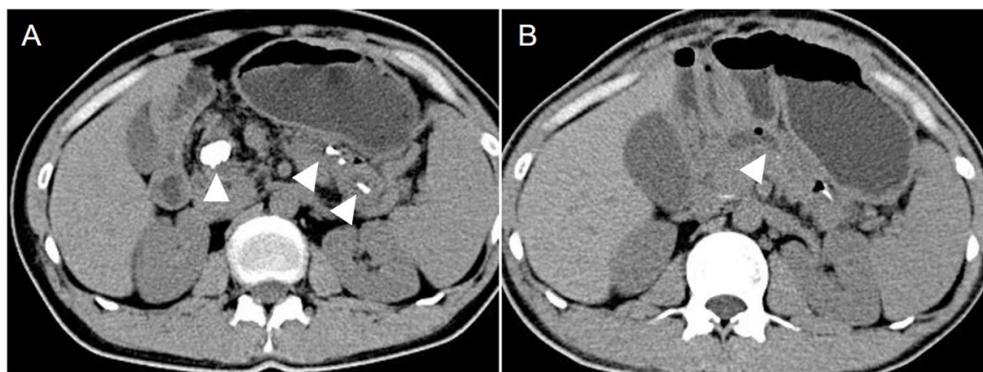


图1. 胰腺影像学图像。A：术前CT扫描显示胰腺多发胰管结石（箭头所示），胰头区域胰腺实质萎缩纤维化显著；B：术后CT扫描显示胰腺结石基本消失，仅见微量灶性结石。

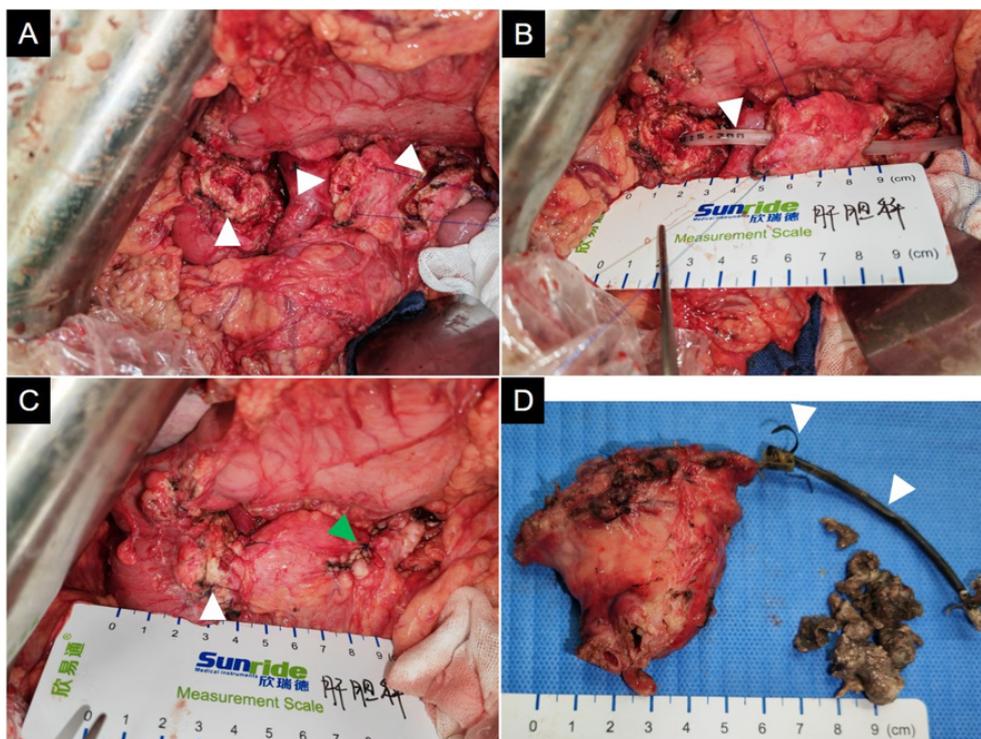


图2. 术中情况和大体标本。A: 胰头钩突切除和胰体尾部主胰管纵行切开, 分别显示主胰管断端和纵行切口(白色箭头); B: 置入5 Fr 内支架管, 贯通胰头-体-尾部主胰管, 另一端位于十二指肠腔内(白色箭头); C: 主胰管端端吻合(白色箭头)和胰体尾部主胰管关闭(绿色箭头)情况; D: 胰头钩突组织及胰管内结石, 见既往置入的胰管内支架引流管(白色箭头)。

扩张(直径8毫米以上)非肿块型PSD患者, 主要优点是纵行切开胰管和胰管空肠Roux-en-Y吻合, 在取净结石的同时达到充分引流, 最大限度保留胰腺内外分泌功能; 主要缺点是胰头钩突及分支胰管的结石处理困难⁽⁹⁾。而以Frey术和Berne术为代表的联合术式, 实际上均是在Beger术和Frey术的基础上进行联合改良, 前者可认为是扩大版的Partington术, 后者则不离断胰颈部, 直接将胰头创面与空肠行Roux-en-Y吻合重建⁽¹⁰⁻¹²⁾。

本例手术的治疗充分遵循“个体化治疗方案”的理念, 在既往的常用临床术式的基础上进行改进, 我们认为有以下特点: ①结石清除的彻底性: 我们通过保留十二指肠的胰头钩突全切除, 并在胰体尾结石集中的胰管纵行切开, 从MPD的近、远端双向对中段胰体和左侧胰尾进行彻底探查和取石, 结合内窥镜对胰腺分支胰管进行碎石, 最大程度上取净肉眼可见的主(分支)胰管结石, 术后复查可见结石清除率达99%以上, 仅残留灶性胰实质结石。②器官功能保护: 本例患者胰管结石分布广泛, 根治性治疗甚至需要考虑全胰腺切除可能, 虽然长期受到胰管结石及并发症如腹痛、营养不良、继发性糖尿病等的袭扰, 生活质量十分低下, 但是患者年轻, 处于青壮年阶段, 保留胰腺内外分泌功能确实有现实需求, 因此, 在术前、术中均排除胰腺癌变的基础下, 我们最大程度去除结石病灶的同时, 最大程度保留胰腺组织, 达到预先设定的目标⁽⁵⁾。③胰管端端吻合: Takada等最早于2004年报道将胰管端端吻合应用于胰头钩突切除的IPMN病例⁽¹³⁾, 证明其临床应用的可行性, 然而由于大部分病人为良性胰腺肿瘤病例, 吻合的胰管直径较小, 术后胰漏风险仍是外科难题; 并且该吻合方法更多的从维持Oddi's括约肌对胰液分泌的生理性

控制的角度出发。另一个小样本临床研究报道胰腺中段切除后胰管端端吻合也具有临床可行性, 具有缩短手术时间, 早期去除鼻胃营养管等优点, 但仍然具有相对较高的胰漏发生率⁽¹⁴⁾。本例患者应用胰管端端吻合的可操作性较高, 主要在于两个方面: 第一, MPD处于显著扩张状态, 达1.5cm, 且胰管结石的梗阻已经导致胆胰壶腹部至十二指肠大乳头扩张, 虽然Oddi's括约肌收缩功能正常, 但是胆道镜已经可以顺利进入十二指肠腔内, 说明胰管引流处于通畅状态; 第二, MPD管壁显著增粗, 胰腺实质纤维化, 预计吻合口组织坚韧, 适合进行全层吻合, 临床上发生吻合口漏的风险极低。因此, 我们认为该吻合方式无需进行胰肠吻合, 避免对小肠连续性的破坏, 简化了手术流程, 是本例手术的一大优点。④疗效: 从整个围手术期来看, 患者术后康复迅速。短期随访已经接近11个月, 患者腹痛症状消失, 畏食和营养不良得到改善, 血糖水平亦保持在正常水平, 提示胰腺内外分泌功能良好, 生活质量得以保证。

综上, 我们通过一例多发PDS病例的外科手术治疗, 在遵循去除病灶、解除梗阻、通畅引流和缓解疼痛的原则基础上, 尽量保留胰腺器官功能、避免破坏小肠连续性, 简化手术流程, 并达到了良好的治疗效果, 提示该方式具有一定的临床应用价值, 可以推广。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突。

致谢: 无。

作者贡献声明: 无。

参考文献

1. Ammann RW, Akovbiantz A, Largiader F, *et al.* Course and outcome of chronic pancreatitis. Longitudinal study of a mixed medical-surgical series of 245 patients. *Gastroenterology*. 1984;86:820-828.
2. Tandan M, Talukdar R, Reddy DN. Management of pancreatic calculi: An update. *Gut Liver*. 2016;10:873-880.
3. Bick BL, Patel F, Easler JJ, *et al.* A comparative study between single-operator pancreatoscopy with intraductal lithotripsy and extracorporeal shock wave lithotripsy for the management of large main pancreatic duct stones. *Surg Endosc*. 2022;36:3217-3226.
4. Beger HG, Schlosser W, Friess HM, *et al.* Duodenum-preserving head resection in chronic pancreatitis changes the natural course of the disease: A single-center 26-year experience. *Ann Surg*. 1999;230:512-523.
5. Ito K. Duodenum preservation in pancreatic head resection to maintain pancreatic exocrine function (determined by pancreatic function diagnostic test and cholecystokinin secretion). *J Hepatobiliary Pancreat Surg*. 2005;12:123-128.
6. Klaiber U, Alldinger I, Probst P, *et al.* Duodenum-preserving pancreatic head resection: 10-year follow-up of a randomized controlled trial comparing the Beger procedure with the Berne modification. *Surgery*. 2016;160:127-135.
7. Zhang D, Li JG, Ye JP, *et al.* The modified Takada procedure in benign diseases of the pancreatic head. *Asian J Surg*. 2022;45:1208-1209.
8. Zheng Z, Xiang G, Tan C, *et al.* Pancreaticoduodenectomy versus duodenum-preserving pancreatic head resection for the treatment of chronic pancreatitis. *Pancreas*. 2012;41:147-152.
9. Partington PF, Rochelle RE. Modified Puestow procedure for retrograde drainage of the pancreatic duct. *Ann Surg*. 1960;152:1037-1043.
10. Frey CF, Amikura K. Local resection of the head of the pancreas combined with longitudinal pancreaticojejunostomy in the management of patients with chronic pancreatitis. *Ann Surg*. 1994;220:492-504.
11. Koninger J, Seiler CM, Sauerland S, *et al.* Duodenum-preserving pancreatic head resection – a randomized controlled trial comparing the original Beger procedure with the Berne modification (ISRCTN No. 50638764). *Surgery*. 2008;143:490-498.
12. Strate T, Taherpour Z, Bloechle C, *et al.* Long-term follow-up of a randomized trial comparing the Beger and Frey procedures for patients suffering from chronic pancreatitis. *Ann Surg*. 2005;241:591-598.
13. Takada T, Yasuda H, Amano H, *et al.* A duodenum-preserving and bile duct-preserving total pancreatic head resection with associated pancreatic duct-to-duct anastomosis. *J Gastrointest Surg*. 2004;8:220-224.
14. Wang ZZ, Zhao GD, Zhao ZM, *et al.* A comparative study of end-to-end pancreatic anastomosis versus pancreaticojejunostomy after robotic central pancreatectomy. *Updates Surg*. 2021;73:967-975.

引用本文 / Article Citation:

白燕南, 陈毅凌, 周松强, 田毅峰, 王耀东. 胰管多发结石1例外科手术与器官保护策略治疗体会. *医学新视角*. 2024;1(3):160-163. doi:10.5582/npjm.2023.02323

Yannan Bai, Yiling Chen, Songqiang Zhou, Yifeng Tian, Yaodong Wang. Experience with surgical treatment and an organ-sparing strategy for a case of multiple pancreatic duct stones. *The New Perspectives Journal of Medicine*. 2024;1(3):160-163. doi:10.5582/npjm.2023.02323



医学新视角

The New Perspectives Journal of Medicine

投稿须知

1. 期刊简介

《医学新视角》杂志(Print ISSN: 2759-1379 Online ISSN: 2759-1387)是赤门论坛(AKAMON FOURUM)推进的,公开发行的综合性医学学术刊物。本刊是International Research and Cooperation Association for Bio & Socio-Sciences Advancement (IRCA-BSSA) Group的系列同行评审期刊之一,由International Advancement Center for Medicine & Health Research Co., Ltd. (IACMHR Co., Ltd.)出版,并得到了IRCA-BSSA的支持。本刊聚焦医学科技前沿、临床诊疗及基础研究转化的发展趋势,从述评、专家论坛、专题笔谈、标准与规范、新技术新方法、医药卫生策略探讨、经验交流、疑难病例析评等角度呈现国内外学术最新动态,以实现科学信息的及时共享。文章类型包括述评、原著、简报、综述、政策论坛、病例报道、通信、评论、读者来信、及新闻报道。本刊为双月刊,同时出版电子版与纸质版本。

2. 文章类型

(1) 述评(Editorial):是该专业领域内导向性较强的文章,一般由编辑部约请该领域内知名专家撰写。应对某一领域的研究现状和未来发展方向进行归纳和评价,其观点应反映学术界主流趋势。撰写时可对某一领域内一个具体问题,结合已有的研究结果,介绍作者的经验,表明作者的观点,并有相应的证据支持。

(2) 原著(Original Article):记录完整、新颖,并对整个领域具有重要意义。原著文章应分为以下部分:标题、摘要、引言、材料和方法、结果、讨论、致谢、参考文献。文章的长度不应超过5000字(不包括参考文献)。补充数据是允许的,但应限于对正文中所述研究的一般理解不重要的信息,如未更改的印迹和源数据以及其他文件类型。

(3) 简报(Brief Report):明确记录实验结果或临床观察信息的简要报告将考虑在此类别中发表,但不用于发表不完整或初步的研究结果。速报文章应分为以下部分:标题、摘要、引言、材料和方法、结果和讨论、致谢、参考文献。文章的长度不应超过3000字(不包括参考文献),可以引用30篇以内的参考文献,可以包含4个以内的图和/或表。补充数据是被允许的。

(4) 综述(含Review、Meta分析、系统综述):综述是对某一领域内某一问题的研究现状,可结合作者的研究结果和观点,进行客观归纳和陈述。应选择目前研究进展较快的主题。应尽量选择5年以内的文献进行综述。Meta分析需严格选择符合要求的文献(临床随机对照研究)进行分析,有严格的选择与剔除标准,主题选择得当,方法科学严谨。检索数据库遴选全面、具有代表性,文献来源期刊也要进行适当遴选。系统综述是针对某一领域的具体问题(采用国际通用PICO格式方法明确研究问题,即患者patient,干预措施intervention,对照措施comparison和结局指标outcome),全面检索当前可得的最佳研究证据,并对纳入研究进行质量评价的一种合成研究(根据情况可对数据进行Meta分析合并,也可仅作描述)的方法。可参照PRISMA报告规范进行撰写。

通常情况下,综述类文章的长度不应超过8000字(不包括参考文献),可以引用100篇以内的参考文献,可以包含10个以内的图和/或表。也可接受小型综述(Mini-Review),文章长度不应超过4000字(不包括参考文献),可以引用50篇以内的参考文献,可以包含5个以内的图和/或表。

(5) 政策论坛(Policy Forum):政策论坛文章讨论生命科学相关领域的研究和政策问题,如公共卫生、医疗保健系统和社会科学,并可讨论地区、国家和国际层面医学领域相关的政策问题。文章的长度不应超过3000字(不包括参考文献),可以引用30篇以内的参考文献,可以包含5个以内的图和/或表。

(6) 病例报道(Case Report):病例报告应选择诊治过程有特殊之处,能够为临床诊治同类病例提供启示的病例;避免进行特殊/罕见病例的简单累积。病例资料应详尽,包括主诉、现病史、既往史、体格、实验室检查、影像学检查、诊断、治疗方式、病理学检查、预后等。尤其是对诊断、治疗有重要参考意义的检查结果,需重点描述。有创新的治疗手段也应详述。讨论部分应结合病例的诊治特点进行简要点评,避免进行文献综

述。文章的长度不应超过3000字(不包括参考文献),可以引用30篇以内的参考文献,可以包含5个以内的图和/或表。

(7) 通信(Communication),是简短而及时的文章,重点介绍医学科技前沿、临床诊疗、或基础研究转化中最重要的新研究结果,或分享作者的临床实践经验与研究成果凝练。文章的长度不应超过2000字(不包括参考文献),可以引用20篇以内的参考文献,可以包含2个以内的图和/或表。

(8) 评论(Comment),是简短的、特定约稿或自由投稿的观点文章,讨论了一个涉及医学科技前沿、临床诊疗、或基础研究转化发展趋势的至关重要的问题。文章的长度不应超过1500字(不包括参考文献),可以引用10篇以内的参考文献,可以包含1个图和/或表。

(9) 读者来信(Letter):读者来信应针对杂志已刊发的近期内容或杂志工作,简要阐述自己的观点。文章的长度不应超过1000字(不包括参考文献),可以引用10篇以内的参考文献,可以包含1个图和/或表。

(10) 新闻报道(News):新闻应报道世界各地健康科学和医学研究的最新事件,需具备时间、地点、人物、事件的起因、经过、结果六要素。消息类长度不应超过800字。

3. 撰稿要求

(1) 题名:力求简明、醒目,反映出文章的主题。除公用专有名词外,尽量不用外文缩略语。中文题名一般以25个汉字以内为宜,题名中的数字尽量用阿拉伯数字,但要避免以数字开头。请同时提供中英文题目。

(2) 作者署名:所有作者应在投稿时对署名及顺序无异议。请提供所有作者的中、英文姓名。姓名写在题目下,作者右上角码数字编号与单位前冠上编号对应,在编排过程中不应再作更改。集体署名的文章必须明确通信作者,通信作者信息列于论文题名下,包括其通信地址、电话和邮箱。

(3) 摘要:所有论著类论文(原著、速报、综述、政策论坛)均需附350字以内结构性中、英文摘要,摘要必须包括目的、方法、结果(应给出主要数据)及结论四个部分,各部分冠以相应的标题。除此之外的其他所有论文也均需提供简要的提示性中、英文摘要(非结构性,250字以内)。

(4) 关键词:所有文章需标引3~8个中、英文关键词。请尽量使用美国国立医学图书馆编辑的最新版Index Medicus中医学主题词表(MeSH)内所列的词。必要时,可采用习用的自由词并排列于最后。

(5) 研究设计:应明确描述研究设计的名称和主要做法。调查设计应阐明是前瞻性、回顾性还是横断面调查研究;实验设计应交代具体的设计类型;临床试验设计应交代属于几期、采用何种盲法、受试对象的纳入和剔除标准等。

(6) 统计学方法:应写明所用统计分析方法的具体名称(如成组设计资料的t检验、两因素析因设计资料的方差分析等)。统计量(如: $t=3.45$, $\chi^2=4.68$, $F=6.79$ 等)和P值应给出具体值,P值精确到小数点后3位,统计量精确到小数点后2位;P小于0.000时若取有效位数到小数点后3位应写 $P<0.001$ 而不写 $P=0.000$ 。涉及多组中两两比较时,应说明比较方法,具体检验值可不提供。当涉及总体参数估计(如总体均数、总体率、RR值、OR值、HR值等)时,在给出显著性检验结果的同时,给出95%置信区间,原则上,P值不能代替置信区间。对于服从偏态分布的定量资料,应采用M(Q1, Q3)方式表达。对于定量资料和定性资料,应根据所采用的设计类型、资料所具备的条件和分析目的,选用合适的统计分析方法,前者不应盲目套用t检验和单因素方差分析,后者不应盲目套用 χ^2 检验。要避免用直线回归方程描述有明显曲线变化趋势的资料。不宜用相关分析说明两种检测方法之间吻合程度的高低。对于多因素、多指标资料,要在一元分析的基础上,尽可能运用多元统计分析方法,以便对因素之间的交互作用和多指标之间的内在联系作出全面、合理的解释。使用相对数时,分母不宜小于20;要注意区分百分率与百分比。统计学符号按GB/T3358.1-2009《统计学词汇及符号》的有关规定书写,一律用斜体。

(7) 医学名词:尽量选用最新版《医学主题词表(MeSH)》、《医学主题词注释字顺表》、《中医药主题词表》中的主题词。药物名称应采用最新版《中华人民共和国药典》和《中国药品通用名称》(均由中国药典委员会编写)中的名称,均采用国际非专利药名,不用商品名。

(8) 图表:每幅图、表应有简明的题目。要合理安排表的纵、横标目,并将数据的含义表达清楚;表内数据要求同一指标保留的小数位数相同,



一般比可准确测量的精度多一位。图不宜过大，最大宽度半栏图不超过7.5 cm，通栏图不超过17.0 cm，高与宽的比例应掌握在5:7左右。图的类型应与资料性质匹配，并使数轴上刻度值的标法符合数学原则。照片图要求有良好的清晰度和对比度。若刊用人像，应征得本人的书面同意，或遮盖其能被辨认出系何人的部分。大体标本照片在图内应有尺度标记。病理照片要求注明染色方法和放大倍数。

(9) 缩略语：题名一般不用缩略语。在摘要及正文中首次出现缩略语时应给出其中文全称。缩略语应尽量少用，以免影响文章的可读性。

(10) 致谢：置于正文后、参考文献前。用于对参与部分工作、提供技术性帮助、提供工作方便、给予指导但尚达不到作者资格者，以及提供资助的团体或个人表示感谢。文字力求简练，评价得当，并应征得被致谢者同意。

(11) 贡献声明：原创性论著须在参考文献前注明作者贡献，写明每位作者对研究的计划、实施和报告做了哪些具体工作。如：直接参与（酝酿和设计实验、实施研究、采集数据、分析/解释数据），文章撰写（起草文章、对文章的知识性内容作批评性审阅），工作支持（统计分析、获取研究经费、行政、技术或材料支持、指导、支持性贡献），其他。

(12) 参考文献：参考文献应按照其在文本中出现的顺序进行编号。不建议引用参考列表中未发表的结果、个人通信、会议摘要和论文。在参考列表中，如果有3名或更少的作者，请引用所有作者的姓名；如果有3名以上的作者，请列出前三位，然后是等。期刊名称应以PubMed中使用的样式缩写，中文期刊请写明全名。作者对参考文献的准确性负责。

举例：

Example 1 (中文参考文献):

国家卫生健康委员会办公厅. 原发性肝癌诊疗指南(2022年版). 中华外科杂志. 2022; 60:273-309.

Example 2 (英文参考文献):

Darby S, Hill D, Auvinen A, *et al.* Radon in homes and risk of lung cancer: Collaborative analysis of individual data from 13 European case-control studies. *BMJ*. 2005; 330:223.

Example 3 (Sample book reference):

Shalev AY. Post-traumatic stress disorder: Diagnosis, history and life course. In: *Post-traumatic Stress Disorder, Diagnosis, Management and Treatment* (Nutt DJ, Davidson JR, Zohar J, eds.). Martin Dunitz, London, UK, 2000; pp. 1-15.

Example 4 (Sample web page reference):

World Health Organization. The World Health Report 2008 – primary health care: Now more than ever. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43949> (accessed September 23, 2021).

4. 在线投稿

来稿一律实行网上投稿，请登录本刊官网 (<https://npjjournal.com>)，点击“在线投稿”进行投稿。在线投稿成功后，作者将立即收到系统的自动回复邮件告知投稿编号。如果您因任何原因无法在线提交文件，请发送电子邮件至与编辑部联系。

5. 编辑政策

(1) 本刊的出版遵循国际医学期刊编辑委员会 (International Committee of Medical Journal Editors, ICMJE) 发布的《学术研究实施与报告和医学期刊编辑与发表的推荐规范》 (<https://icmje.org/recommendations>)，及出版道德委员会(COPE, <https://publicationethics.org/resources/guidelines-new-principles-transparency-and-best-practice-scholarly-publishing>)、开放存取期刊目录(DOAJ, <https://doaj.org/apply/transparency>)、(OASPA, <https://oaspa.org/principles-of-transparency-and-best-practice-in-scholarly-publishing-4>)、和世界医学编辑协会 (WAME, <https://wame.org/principles-of-transparency-and-best-practice-in-scholarly-publishing>)发布的《学术出版的透明性原则和最佳实践》。

(2) 研究的伦理审批和知情同意：当报告以人为研究对象或者涉及动物的研究数据时，须经过机构审查委员会或伦理委员会的正式审查和批准，或正式审查和豁免，并应在“方法”部分进行说明。当稿件包含任何病例

细节、个人信息和/或患者或其他个人的图像时，作者必须获得适当的书面同意、许可和发布，并遵守所有有关隐私和/或个人信息安全的适用法律和法规。请在稿件的“方法”部分清楚地描述相关信息。作者还应说明研究符合《赫尔辛基宣言》(2013年修订, <https://wma.net/what-we-do/medical-ethics/declaration-of-helsinki>)的规定。在报告动物实验时，作者应说明是否遵守了机构和国家的实验动物护理和使用指南。

(3) 报告临床试验：ICMJE (<https://icmje.org/recommendations/browse/publishing-and-editorial-issues/clinical-trial-registration.html>) 将临床试验定义为任何前瞻性地将一个或一群人分配到一个干预组（无论是否同时设有对照组或对照组），以研究与健康相关的干预措施与健康结果之间关系的研究项目。在首次招募患者时或之前在公共试验登记处登记临床试验是考虑在本刊上发表文章的条件之一，试验登记号将公布在摘要末尾。注册表必须独立于营利性利益，并向公众开放。试验报告必须符合 CONSORT 2010 指南 (<https://consort-statement.org/consort-2010>)。报道随机试验结果的文章必须包含 CONSORT 流程图，显示患者在整个试验过程中的进展情况。

(4) 利益冲突：所有作者都必须披露任何实际或潜在的利益冲突，包括经济利益或与其他人或组织的关系，这些利益或关系可能会引起对所报告工作的偏见。如果每位作者不存在利益冲突，请注明“无利益冲突需要披露”。

(5) 投稿声明：在考虑向本刊投稿时，作者应确认：1) 本稿件中没有任何部分目前正在考虑在其他地方发表；2) 本稿件的全部或部分与其他地方已发表、已接受或正在审阅的稿件内容不相同，但摘要、致编辑的信、已发表的演讲或学术论文的部分内容除外；3) 已获得作者所在单位或机构的发表授权；4) 所有投稿作者均同意提交本稿件。

本刊为具有国际领先水平的创新性科研成果开辟“快速通道”。凡要求“快速通道”发表的论文，应提供关于论文创新性的说明（并附加两份不同单位的专家审议单）和查新报告。符合标准可快速审核，随时刊用。

(6) 同行评审：本刊采用单盲同行评审，即审稿人知道作者姓名，但作者不知道谁审阅了他们的稿件。所有文章均根据学术内容进行客观评估。研究文章的外部同行评审至少由两名审稿人进行，有时会征求更多审稿人的意见。同行评审人员是根据他们的专业知识以及提供高质量、建设性和公正评审的能力来选择的。对于研究性稿件，编辑可能还会征求统计审稿人的意见。每位审稿人都应遵循 COPE 指南 (https://publicationethics.org/files/cope-ethical-guidelines-peer-reviewers-v2_0.pdf)，以及时、透明和合乎道德的方式对稿件进行评估。在做出最终决定之前，我们要求作者进行充分的修改（必要时进行第二轮同行评审）。是否考虑发表取决于文章的原创性、新颖性、科学合理性以及分析的适当性。

(7) 版权与再利用：在稿件被《医学新视角》杂志接受发表之前，作者将被要求签署一份版权转让协议，该协议承认期刊和作者在版权保护方面的共同利益。我们承认有些作者（如某些国家的政府雇员）无法转让版权。编辑部将通过电子邮件向作者发送《期刊出版协议》(JPA) 表格，通讯作者代表全体作者签名的表格须通过邮件反馈至编辑部；在收到作者签署的版权协议书之前，稿件不会进入下一步出版程序。此外，如稿件内容涉及或摘录其他版权作品，作者必须获得版权所有者的书面许可，并在文章中注明出处。来稿一律文责自负。根据《著作权法》，本刊对决定刊用的文稿可作文字修改、删节，凡有涉及原意的修改，则提请作者考虑。

(8) 基金资助：稿件所涉及的课题若取得各项目基金资助，须用中英双语标注于致谢的“基金资助”部分，如：基金资助：国家自然科学基金(12345678)，Fund program: National Natural Science Foundation of China (12345678)。

(9) 本刊所刊登稿件暂不收取稿件处理费、版面费等。

(2024年2月)

《医学新视角》杂志

Editorial and Head Office
Pearl City Koishikawa 603
2-4-5 Kasuga, Bunkyo-ku
Tokyo 112-0003, Japan
E-mail: office@npjjournal.com

AF AKAMON
FORUM

Print ISSN: 2759-1379 Online ISSN: 2759-1387

医学新视角

The New Perspectives Journal of Medicine

Volume 1, Number 1
February, 2024



www.njpmjournal.com