

- [21] 栗方, 巫琳, 李晓莉, 等. 医院内侵袭性假丝酵母菌感染的流行病学趋势及变迁[J]. 中华医院感染学杂志, 2012, 22(17): 3904-3906.
- [22] 李宏科, 郑佳丽. 45 例早产儿血液真菌感染细菌培养结果与药敏及免疫功能的探讨分析[J]. 中国优生优育, 2012, 18(3): 166-167.
- [23] 童秀珍, 彭丹心, 许多荣, 等. 急性白血病患者医院感染热带假丝酵母菌性败血症的临床特点及危险因素[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(1): 41-43.

- [24] 郭靛, 康梅, 谢轶. 华西医院近年血液及脑脊液中真菌培养结果回顾分析[J]. 现代预防医学, 2013, 40(8): 1510-1511.
- [25] 殷琪琦, 章云涛, 方强. 75 例重症监护病房假丝酵母菌血症的死亡危险性分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2008, 18(5): 740-743.
- [26] 杨向红, 孙仁华, 洪军. ICU 院内假丝酵母菌血症的临床特点及预后的多因素分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2010, 20(23): 3826-3829.

(收稿日期: 2015-02-15)

• 综 述 •

结直肠癌同时性肝转移机制研究新进展

李小锋 综述, 魏寿江 审校

(川北医学院附属医院普外科, 四川南充 637007)

关键词: 结直肠癌; 肝转移; 信号通路; 机制

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 11. 055

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2015)11-1603-04

结直肠癌患者无远处转移者术后 5 年生存率已超过 70%, 而伴远处转移患者其 5 年生存率仅为 10%~20%, 其中肝转移是其主要的致死因素之一。在同时性肝转移中仅有 20%~35% 的结直肠癌患者适于手术治疗。无论是异时性肝转移患者还是同时性肝转移患者, 经合理治疗, 其 5 年生存率无明显差异。由此可见, 结直肠癌患者出现肝转移后, 其生存率及预后均较差。结直肠癌同时性肝转移是一个多步骤且复杂的过程, 多种基因、信号通路及关键分子在转移过程中发挥诱导及调节作用。因此, 了解结直肠癌同时性肝转移的发生机制对提供更好的治疗方案及改善患者的预后是非常重要的。本文对近期国内外有关结直肠癌同时性肝转移机制方面的研究文献作一综述, 以期对结直肠癌同时性肝转移的机制方面研究及为其临床诊治、预防提供新思路。

1 同时性肝转移的相关机制

1.1 Wnt/ β -catenin 信号通路 Wnt/ β -catenin 信号通路是目前公认的与大肠癌等多种肿瘤发生、发展密切相关的信号通路。它是通过激活 β -catenin 在核内的功能来调节靶基因的表达, 参与细胞增殖、分化、凋亡及细胞定位调控等过程。经典的 Wnt 信号传导通路如下: Wnt 蛋白与细胞膜表面特异性受体卷曲蛋白结合激活其下游一系列作用元件, 最终使 β -catenin 游离, 并进入细胞核中与 T 细胞因子 (TCF)/ 淋巴增强因子 (LEF) 转录因子家族成员结合促进靶基因的转录, β -catenin 在该信号通路中起着将信号由胞内传递到核内的关键作用。正常状态下, β -catenin 经 α -catenin 介导和细胞骨架系统相连, 并与 E-cadherin 形成 E-cadherin/ β -catenin 复合物, 对维持正常上皮形态及细胞黏附性起重要作用, β -catenin 的酪氨酸残基的可逆磷酸化对整个 E-cadherin/ β -catenin 复合物功能起重要调控作用^[1]。Wnt/ β -catenin 信号通路在结直肠癌同时性肝转移方面可能的机制是: 在 Wnt 信号作用下, β -catenin 磷酸化受阻, 导致其在核内异常积聚, 导致 E-cadherin 失去了维持上皮细胞极性和细胞黏附功能, 同时激活了脱落及侵袭的相关基因, 这个过程对肿瘤细胞的侵袭转移是至关重要的。还有研究表明, Wnt/ β -catenin 信号通路下游的 TCF/LEF 可以上调血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达^[2]。刘宣等^[3] 运用蛋白质印迹法及酶联免疫吸附试验检测人肠癌 HCT-116 细胞的 β -catenin 及 VEGF 的表达, 并对培养的人肠癌 HCT-116 细胞给予 GSK3 β

抑制剂进行干预, 结果表明, 抑制 GSK-3 β 表达对人肠癌细胞 Wnt/ β -catenin 信号通路起激活作用, GSK-3 β 抑制剂激活 Wnt/ β -catenin 信号通路能够明显上调 VEGF 表达 ($P < 0.01$)。上述研究结果表明 Wnt/ β -catenin 信号通路在结直肠癌同时性肝转移过程中对肿瘤细胞迁移、侵袭及血管生成方面起着十分重要的作用, 其中对 Wnt 信号抑制及 β -catenin 调控是此信号通路的关键环节。

1.2 Notch 信号通路 Notch 信号通路是通过局部细胞间相互作用控制细胞增殖、分化、凋亡、迁移与黏附的一种途径, 它在进化中非常保守, 在发育过程的调控中发挥重要作用。它在肿瘤发生、发展过程中的作用机制是: Notch 受体在邻近细胞产生的配体活化作用下, 通过一系列分子间的相互作用, 依据不同的组织或细胞背景, 对肿瘤细胞的增殖、分化、凋亡等过程发挥不同的调控作用。在多种组织肿瘤的发生过程中均出现了 Notch 信号通路的异常, 如在前列腺癌、膀胱癌、乳腺癌、子宫颈癌等多种肿瘤细胞及其衍生的细胞系中, 均存在 Notch 受体及配体的异常表达^[4]。有研究表明, ApcMin / + 小鼠腺瘤发展至恶性肿瘤起始细胞的自我更新必需有 Notch 信号通路的异常激活^[5], 这是否表明 Notch 信号通路的异常激活与结肠癌的发病相关, 而结肠癌肝转移的发生是否与此通路中调节基因相关? AES 基因已被证实是 Notch 信号通路的抑制基因, 它能通过抑制 Notch 信号通路而抑制内皮细胞的迁移, 从而抑制肿瘤细胞的转移。Sonoshita 等^[6] 研究在人结直肠癌同时性肝转移肿瘤小鼠移植瘤模型中提出了 Notch 信号在肿瘤细胞中促进其转移形成的机制: Notch 信号受体在癌细胞中表达, 而配体在间充质细胞表达。在原发肿瘤中, Notch 信号激动剂主要分布在肿瘤血管附近的癌细胞、转移性病变中, 不但微小转移灶中发现 Notch 信号激活的细胞, 而且在紧邻间充质干细胞的大转移灶外围也有 Notch 信号激活的细胞, Notch 信号高的地方, AES 基因表达明显较低; 在 AES 和 APC 双基因敲除的小鼠, Notch 信号抑制可抑制肿瘤的侵袭与血管增生等恶性改变。虽然上述研究关于 Notch 信号通路均表现出促癌及促进转移作用, 但 Kim 等^[7] 通过研究指出在结直肠癌中特定条件下, notch 信号对 Wnt / β -catenin 信号通路靶基因起抑制作用, 表现出抑癌作用的一面, 这可能与肿瘤所处的发展阶段有关。综合以上研究表明, notch 信号通路在结直肠癌的发

生及肝转移的发生过程中的作用机制,随着研究的深入,对其受体、配体及 AES 基因的检测有望成为预测结直肠癌同时性肝转移的预测指标。

1.3 HGF/c-Met 信号通路 肝细胞生长因子(HGF)是 c-Met 的配体,也被称为播散因子(SF)。c-Met 通过本身突变或者扩增及其配体 HGF 的激活和失调,导致相关信号转导级联进而影响机体生化功能。该通路的标志特征是 HGF 与 c-Met 蛋白的结合引起一系列信号传导的酶促反应,并由 c-MET 下游停泊蛋白-生长因子受体结合蛋白 2(GRB2)及接头蛋白 1(GAB1)的激活和该信号通路与其他信号通路间的交联而起作用^[8]。Otte 等^[9]的研究表明:受体酪氨酸激酶(RTKs)是细胞信号转导进行的关键信号酶,在生长因子调控细胞生长、发育与功能的过程中起着重要的生理作用,同时也是多种恶性肿瘤的治疗靶点。c-Met 受体酪氨酸激酶在促进细胞生长、减少细胞凋亡、改变细胞骨架功能、促进转移发生和其他生物过程变化中起着重要的作用。而 HGF 是 c-Met 的天然配体,两者特异结合后引起酪氨酸激酶的自身磷酸化,经过细胞核内的一系列生化反应,发挥调节细胞的增殖、分化、形态发生和侵袭运动等功能。体外实验研究发现,HGF 可促进结直肠癌细胞的生长和运动,并且在大肠癌组织中 HGF 及 c-Met 均过度表达,而在肝转移癌组织中表达微弱^[10]。有研究表明,结直肠癌患者血清中 HGF 升高与肝转移的发生密切相关,并且肝转移患者血清中 HGF 表达水平明显高于其他部位转移者^[11]。上述研究结果表明,HGF/c-Met 信号通路与结直肠癌发生同时性肝转移密切相关,并且 HGF 和 c-Met 的高表达与结直肠癌患者预后不良相关。Nakagawa 等^[12]在裸鼠移植瘤模型中用 E7050(一种口服的新型小分子复合物)抑制 c-met,在移植瘤中表现出明显的抑制肿瘤生长的效应。在体外试验中,Parr 等^[13]运用 NK 抑制剂(一种 c-met 的弱激动剂)对人结肠癌 HT115 细胞进行干预,结果表明由 HGF/SF 介导的人结直肠癌细胞系的细胞侵袭、运动及血管生成活性均被明显抑制。上述研究从对 HGF/c-Met 信号通路进行干预的角度表明该信号通路在结直肠癌同时性肝转移过程发挥着重要作用。在 HGF/c-Met 信号通路的调节方面,有研究表明结直肠癌转移相关基因-1(MACC-1)在此信号通路中的调节方面起关键作用,并可能成为结直肠癌同时性肝转移的预测基因^[14]。对于 HGF/c-Met 信号通路在结直肠癌同时性肝转移过程中的作用机制已有较多研究。可以肯定的是,HGF/c-Met 信号通路在肿瘤的发生、发展和侵袭转移过程中发挥着重要作用,HGF 及 MACC-1 有望成为预测结直肠癌同时性肝转移的生物学指标之一。

1.4 表皮生长因子受体(EGFR) EGFR 是一类与上皮生长因子细胞增殖和信号传导相关的受体分子,属于酪氨酸激酶型受体,可与靶器官微环境中的表皮生长因子结合并激活肿瘤细胞增殖及转移基因的转录,促进肿瘤转移灶的形成。在正常情况下,EGFR 介导的丝裂原活化蛋白激酶(RAS-RAF-ERK)和磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K-PTEN-AKT)细胞信号传导通路,参与正常细胞的生长、增殖、分化、凋亡。当 EGFR 蛋白酪氨酸激酶功能缺失或其相关信号通路中关键因子的活性或细胞定位出现异常,如 EGFR 信号转导系统下游的 K-ras、BRAF、PI3K 的基因突变及抑癌基因 PTEN 的失活等情况下,EGFR 将丧失对正常细胞的调控,导致细胞凋亡失败,细胞增殖失去限制,最终导致肿瘤的形成及转移。已有研究证明,EGFR 参与的细胞信号传导通路在结直肠癌原发灶形成和肝脏转移过程中起着重要作用。Silvestri 等^[15]对结直肠癌同时性肝转移原发灶及转移灶中 86 种关键信号蛋白水平进行检测,结果均

检测到活化的 EGFR 及 PI3K/AKT 通路被活化。Casanova 等^[16]研究发现 EGFR 能通过增加 VEGF 表达或与其协同作用促使肿瘤内新生血管形成,去除 EGFR 的作用会阻碍肿瘤血管生产。多项研究结果表明,EGFR 和 VEGF 的表达在有肝转移的患者与无肝转移的患者之间差异有统计学意义($P < 0.05$)^[17-19],故表明 EGFR 与肝转移密切相关。在 EGFR 信号通路中,K-ras 基因是信号通路下游的热点基因,与恶性肿瘤发生发展及转移密切相关,K-ras 基因的第 12 密码子缺陷与结直肠癌同时性肝转移潜力密切相关。Bazan 等^[20]认为,K-ras 基因 13 密码子的突变与结直肠癌的高侵袭性有关,预示着肿瘤的高转移潜能。Modest 等^[21]对 273 例转移性结直肠癌患者 K-ras 突变状态进行研究,结果表明 K-ras 基因 13 号密码子突变与结直肠癌同时性肝转移及局部转移密切相关。目前,对于转移性结直肠癌的靶向分子治疗成为热点,西妥昔单抗是一种抗 EGFR 的单克隆抗体,已显示出强大的抗肿瘤作用。有研究表明,用西妥昔单抗联合 FOLFIRI 方案治疗不能手术切除的结直肠癌肝转移,其总体反应率约 40%,并有约 30%的患者经治疗后转化为可切除的肝转移瘤^[18],这充分显示其对于转移性结直肠癌患者在生存方面的优势。对结直肠癌同时性肝转移的抗 EGFR 治疗虽然有效,但总体反应率仍较低,推测其原因可能是其下游信号通路的 K-ras 基因突变有关。相关研究表明,K-ras 基因突变与转移性结直肠癌患者对西妥昔单抗和或帕尼单抗耐药有关^[22]。吴文辉等^[23]用实时荧光定量聚合酶链反应技术和基因测序技术检测 76 例结直肠癌患者原发肿瘤组织,其中 22 例肝转移灶中的 K-ras 基因突变,结合其临床资料分析,结直肠癌的原发癌组织与肝转移灶的 K-ras 基因状态较为一致,原发癌组织有 K-ras 基因的突变,预示着肿瘤有肝脏转移倾向。新近研究表明,结直肠癌患者检测 K-ras 基因的突变情况有利于预测肝转移的发生^[24]。综上所述,作为 EGFR 信号通路下游的 K-ras 基因不但有预测结直肠癌同时性肝转移的潜力,在结直肠癌同时性肝转移患者抗 EGFR 靶向分子治疗的反应方面也有重要作用。

1.5 基质金属蛋白酶 基质金属蛋白酶(MMP)是一组具有高度同源性的锌依赖内肽酶,其通过降解和破坏细胞外基质在肿瘤侵袭、转移中发挥重要作用。目前发现 MMP-3、MMP-7、MMP-9、MMP-13 与结直肠癌同时性肝转移相关。MMP-7 具有强力降解细胞外基质的作用,使肿瘤细胞脱离原发灶并向远处侵袭、转移。Kioi 等^[25]在裸鼠中研究发现 MMP-7 能诱导松散的结直肠癌细胞聚集,并提高结直肠癌细胞形成肝脏转移的能力。Lee 等^[26]在体外实验研究中表明,结直肠癌细胞的迁移及侵袭能力主要取决于 MMP-7 的表达。MMP-3 也叫间充质溶解素,也是 MMP 家族成员之一,在结直肠癌同时性肝转移过程中发挥了一定的作用。Motovali 等^[27]的研究表明,由于 5A 基因启动子的多态性,MMP-3 的高表达是结直肠癌细胞发生转移及侵袭的促进因素。有研究表明,MMP-3 可以直接活化 MMP-9,而 MMP-9 在结直肠癌同时性肝转移细胞的生长中发挥关键作用^[28],这表明 MMP-3 及 MMP-9 在结直肠癌同时性肝转移过程中起协同促进作用。MMP-13 是 MMP 家族成员中胶原酶的一种,Yamada 等^[29]对 202 例结直肠癌患者原发肿瘤及转移瘤标本进行研究,结果表明有肝转移的结直肠癌患者 MMP-13 表达明显高于无肝转移患者,MMP-13 的表达与结直肠癌同时性肝转移有相关性。综上所述,MMP-3、MMP-7、MMP-9、MMP-13 在结直肠癌同时性肝转移过程中对肿瘤细胞侵袭、转移及细胞生长发挥积极作用,其中,检测 MMP-13 对预测结直肠癌患者发生肝转移有积极意义。

1.6 APOBEC3G 基因 APOBEC3G 基因是胞嘧啶脱氨酶家

族中的一员,位于人 22 号染色体,APOBEC3G 蛋白含有 384 个氨基酸,相对分子质量为 46 405。APOBEC3G 主要在睾丸、卵巢、脾、外周血粒细胞和 T 淋巴细胞表达。APOBEC3G 基因对 HBV、HIV 均有明显的抑制作用,在艾滋病及病毒性肝炎的诊治领域内得到广泛研究^[30]。近年研究发现,APOBEC3G 基因在结直肠癌同时性肝转移的病理过程中发挥重要作用,利用大肠癌小鼠模型分离出 4 种与介导结直肠癌同时性肝转移密切相关的基因,包括 APOBEC3G、CD133、LIPC 及 S100P,且研究显示 microRNA-29(miR-29)抑制基质金属蛋白酶 2(MMP-2)的表达,进一步研究表明通过下调 miR-29 的表达及其活性,导致 MMP2 高表达,从而促进结直肠癌同时性肝转移^[31]。APOBEC3G/miR-29/MMP2 促进结直肠癌同时性肝转移方面是一条新的信号通路,需要更多的临床研究结果来获得支持,也为了解结直肠癌同时性肝转移的机制及为晚期结直肠癌患者的临床治疗提供新的思路。

2 异时性肝转移机制

结直肠癌原发灶切除术后大于 6 个月出现的肝脏转移称之为异时性肝转移,是结直肠癌术后治疗失败的主要原因。相关文献报道,25%~50%的结直肠癌患者在根治术后 3 年内发生异时性肝转移,其中约 50%的患者会因此而死亡^[32]。若能探讨清楚异时性肝转移的发病机制,那对准确预测肝转移的发生,指导其术后合理治疗,提高患者的远期生存率以及改善其预后有重要意义。

异时性肝转移发生在原发结直肠癌肿瘤切除以后,推测其原因可能为肿瘤细胞逃避机体免疫监视/或术前已有微转移灶形成。Suzuki 等^[33]研究表明,肿瘤细胞可以在特定器官内休眠,逃避免疫监视,在特定的条件下(如基因突变、缺氧、代谢改变及免疫失衡等)可恢复其致瘤及转移能力,形成临床病灶。在原发肿瘤的生长过程中,肿瘤细胞分泌或脱落形成可溶性 sFas,它是 Fas 的一种变异形式,sFas 与肿瘤细胞逃避或免疫抑制相关,可抑制 Fas 介导的凋亡,是人类多种恶性肿瘤诊断和预后的标志。有研究显示,结直肠癌患者术前血清 sFas 水平和癌组织 sFas 表达可能与术后肝转移呈显著正相关^[34]。这表明,由于结直肠癌细胞有休眠特性及逃避免疫监视的能力,可能是导致异时性肝转移发生的机制。重新激活的休眠结直肠癌细胞需要转移至靶器官发挥其致癌作用,这个过程可能与骨桥蛋白(OPN)发挥其促进肿瘤细胞的活力、增殖、迁移及体内成瘤能力有关。OPN 是一种分泌型多功能糖基化磷蛋白,最先是在骨骼中发现,随后在多种组织中发现,如肾、脑、牙、软骨的上皮细胞及巨噬细胞、血管平滑肌细胞中均有表达。OPN 有促进结直肠癌细胞的活力、增殖、迁移及体内成瘤能力。Imano 等^[35]的回顾性临床病理研究结果表明,Ⅱ、Ⅲ期结直肠癌组织中心区域 OPN 的表达可以预测结直肠癌患者发生异时性肝转移的风险。

3 小 结

综上所述,结直肠癌患者无论发生同时性或者异时性肝转移,其术后生存期及生活质量都将明显降低。有关结直肠癌同时性肝转移发生过程中可能参与的相关信号通路及关键因子的研究,其中部分关键因子已经应用于临床诊疗,并对结直肠癌患者的诊治及改善预后发挥了积极作用。目前,结直肠癌患者发病率在继续攀升,结直肠癌同时性肝转移的发病机制尚未完全阐明,鉴于国内群众健康意识相对较低,患者就诊时肿瘤已处于中晚期,经新辅助化疗及手术治疗后仍有较大一部分患者肿瘤复发转移。在结直肠癌异时性肝转移方面,特别是肿瘤细胞的休眠及逃避免疫监视等方面需要理清思路,制定合理的策略,从基础到临床,进一步深入研究结直肠癌异时性肝转移的发

病机制,以期为此类患者的临床治疗获得更好的远期效果提供理论依据。

参考文献

- [1] Ilyas M, Tomlinson IP. The interactions of APC, E-cadherin and beta-catenin in tumour development and progression[J]. J Pathol, 1997, 182(2):128-137.
- [2] Easwaran V, Lee SH, Inge L, et al. Beta-catenin regulates vascular endothelial growth factor expression in colon Cancer[J]. Cancer Res, 2003, 63(12):3145-3153.
- [3] 刘宣, 王炎, 殷佩浩, 等. Wnt/ β -catenin 信号通路对人肠癌细胞 VEGF 表达的调控作用[J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(12):881-885.
- [4] Karamboulas C, Ailles L. Developmental signaling pathways in Cancer stem cells of solid tumors[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830(2):2481-2495.
- [5] Sikandar SS, Pate KT, Anderson S, et al. NOTCH signaling is required for formation and Self-Renewal of Tumor-Initiating cells and for repression of secretory cell differentiation in colon Cancer[J]. Cancer Res, 2010, 70(4):1469-1478.
- [6] Sonoshita M, Aoki M, Fuwa H, et al. Suppression of colon Cancer metastasis by Aes through inhibition of Notch signaling[J]. Cancer Cell, 2011(19):125-137.
- [7] Kim HA, Koo BK, Cho JH, et al. Notch1 counteracts WNT/ β -catenin signaling through chromatin modification in colorectal Cancer[J]. J Clin Invest, 2012, 122(9):3248-3259.
- [8] Lai AZ, Abella JV, Park M. Crosstalk in Met receptor oncogenesis[J]. Trends Cell Biol, 2009, 19(10):542.
- [9] Otte JM, Schmitz F, Kiehne K, et al. Functional expression of HGF and its receptor in human colorectal Cancer[J]. Digestion, 2000, 61(4):237-246.
- [10] 弥海宁, 李兴文, 杨言苹, 等. 血清 HGF 和 VEGF-A 在结直肠癌肝转移患者中的表达意义[J]. 甘肃医药, 2011, 30(5):261-263.
- [11] 段小亮, 李宏武, 唐元新. 血清肝细胞生长因子与结直肠癌肝转移的关系[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2010, 17(4):383-384.
- [12] Nakagawa T, Tohyama O, Yamaguchi A, et al. E7050, a dual c-Met and VEGFR-2 tyrosine kinase inhibitor promotes tumor regression and prolongs survival in mouse xenograft models[J]. Cancer Sci, 2010, 101(1):210-215.
- [13] Parr C, Hiscox S, Nakamura T, et al. NK4, a new HGF/SF variant, is an antagonist to the influence of HGF/SF on the motility and invasion of colon Cancer cells[J]. Int J Cancer, 2000, 85(4):563-570.
- [14] Stein U, Walther W, Arlt F, et al. MACC1, a newly identified key regulator of HGF-MET signaling, predicts colon Cancer metastasis[J]. Nat Med, 2009, 15(1):59-67.
- [15] Silvestri A, Calvert V, Belluco CA, et al. Protein pathway activation mapping of colorectal metastatic progression reveals metastasis-specific network alterations[J]. Clin Exp Metastasis, 2013, 30(3):309-316.
- [16] Casanova ML, Larcher F, Casanova B, et al. A critical role for ras-mediated, epidermal growth factor receptor-dependent angiogenesis in mouse skin carcinogenesis[J]. Cancer Res, 2002, 62(12):3402-3407.
- [17] Folprecht G, Lutz MP, Schoffski P, et al. I cetuximab and irinotecan/5-fluorouracil/folinic acid is a safe combination for the first-line treatment of patients with epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal carcinoma[J]. Ann Onco, 2006, 17(3):450-456.
- [18] Ohji Y, Yao T, Eguchi T, et al. Evaluation of risk of liver metastasis in colorectal adenocarcinoma based on the combination of risk

factors including CD10 expression; multivariate analysis of clinicopathological and immunohistochemical factors[J]. *Oncol Rep*, 2007, 17(3): 525-530.

[19] 冯俊, 吴云飞, 徐惠绵. EGFR、VEGF 表达与大肠癌淋巴结及肝转移的相关性[J]. *现代肿瘤医学*, 2008, 16(3): 388-390.

[20] Bazan V, Migliavacca M, Zanna I, et al. Specific codon 13 K-ras mutations are predictive of clinical outcome in colorectal cancer patients, whereas codon 12 K-ras mutations are associated with mucinous histotype[J]. *Ann Oncol*, 2002, 13(9): 1438-1446.

[21] Modest DP, Stintzing S, Laubender RP, et al. Clinical characterization of patients with metastatic colorectal cancer depending on the KRAS status[J]. *Anticancer Drugs*, 2011, 22(9): 913-918.

[22] Douillard JY, Siena S, Cassidy JA, et al. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study[J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(31): 4697-4705.

[23] 吴文辉, 肖隆斌, 杨世斌, 等. 结直肠癌原发灶、相应肝转移灶 K-ras 基因状态的研究[J]. *消化肿瘤杂志*, 2011, 3(2): 91-95.

[24] 梁立, 韦烨, 钟芸诗, 等. K-ras 基因突变与结直肠癌肝转移及其预后关系的研究[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2012, 15(11): 1156-1161.

[25] Kioi M, Yamamoto K, Higashi S, et al. Matrilysin (MMP-7) induces homotypic adhesion of human colon Cancer cells and enhances their metastatic potential in nude mouse mode[J]. *Oncogene*, 2003, 22(54): 8662-70.

[26] Lee SK, Han YM, Yun J, et al. Phosphatase of regenerating liver-3 promotes migration and invasion by upregulating matrix metalloproteinases-7 in human colorectal cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 2012, 131(3): 190-203.

[27] Motovali M, Hojati Z, Hajihoseiny S, et al. The stromelysin-15A/

5A genotype enhances colorectal cancer cell invasion in Iranian population[J]. *J Res Med Sci*, 2012, 17(10): 962-966.

[28] Sébastien Lenglet FM, Montecucco F. Matrix metalloproteinase-9: a deleterious Link between hepatic ischemia-reperfusion and colorectal cancer[J]. *World J Gastroenterol*, 2012, 18(48): 7131-7133.

[29] Yamada T, Oshima T, Yoshihara K, et al. Overexpression of MMP-13 gene in colorectal cancer with liver metastasis[J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(7): 2693-2699.

[30] Burdick RC, Hu WS, Pathak VK. Nuclear import of APOBEC3F-labeled HIV-1 preintegration complexes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(49): 4780-4789.

[31] Ding QQ, Chang CJ, Xie XM, et al. APOBEC3G promotes liver metastasis in an orthotopic mouse model of colorectal cancer and predicts human hepatic metastasis[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(11): 4526-4536.

[32] Josep M, Modolo MM, Fuster J, et al. Prognostic factors and time-related changes influence results of colorectal liver metastases surgical treatment: a single-center analysis[J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(21): 2587-2594.

[33] Suzuki M, Mose ES, Montel V, et al. Dormant cancer cells retrieved from metastasis-free organs regain tumorigenic and metastatic potency[J]. *Am J Pathol*, 2006, 169(2): 673-681.

[34] 陈小兵, 曹新广, 李宁, 等. 结直肠癌组织 FasL 与患者血清 sFas 表达与术后肝转移的相关性分析[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2009, 16(15): 1163-1165.

[35] Imano M, Okuno K, Itoh T, et al. Osteopontin induced by macrophages contribute to metachronous liver metastases in colorectal cancer[J]. *Am Surg*, 2011, 77(11): 1515-1520.

(收稿日期: 2015-03-08)

• 综 述 •

结核分枝杆菌的快速检测和药敏试验

邹立新 综述, 陈 兰 审校
(达州市中心医院检验科, 四川达州 635000)

关键词: 结核分枝杆菌; 快速检测; 药敏试验
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 11. 056

文献标识码: A **文章编号:** 1673-4130(2015)11-1607-03

由结核分枝杆菌(MTB)引起的结核病是全球最重要的公共卫生问题之一,据世界卫生组织统计,自 1882 年德国科学家柯霍发现 MTB 以来,全世界将近 20 亿人被 MTB 感染,每年又有将近 800 万 MTB 新感染者,并且 300 多万人死亡,其中大约 25 万死于耐多药 MTB 和广泛耐药 MTB,而 MTB 耐药主要是由临床用药不规范引起^[1-2]。因此,只有准确、快速检测,及时做抗结核药物药敏试验(DST),正确用药,才能有效控制和治疗结核病。尽管 MTB 的诊断技术不断更新,新的诊断试剂盒和检测方法相继出现,但它们都有不足,很难完全满足临床诊断的需求。本文主要总结 MTB 的检测和药敏试验的有关知识。

1 非分子学方法

1.1 传统的实验室检测技术 患者痰液或支气管灌洗液等标本的抗酸染色是结核病诊断的金标准,但阳性率较低(约 30%)。虽然离心、NaOH 预处理、热染技术等标本处理可在一定程度上提高 MTB 的检出率,但依然存在 MTB 和非 MTB 鉴

别能力低的缺点。MTB 分离培养阳性可鉴别菌种,但培养周期长(4~8 月),且检出率小于 50%。菌种鉴定和 DST 存在操作繁琐,难标准化等缺点。近年来,以 BACTEC MGIT 960 为代表的 MTB 全自动液体培养系统已被许多专家推荐用于 MTB 检测;尽管此系统较传统的罗氏固体(LJ)培养具有检测率高、培养时间短等优点,且同时可完成 DST,但阳性检出周期仍需 8~14 d^[3]。

1.2 显微镜观察药物敏感性检测技术 Elinav 等^[4]通过大量实验发现,MTB 在液体培养基中生长速度较固体培养基中快,且液体培养基中有特征性索状结构出现,该索状结构易在显微镜下观察到。根据这一特性,Elinav 等^[4]建立了显微镜观察药物敏感性检测技术(MODS)。MODS 是一种对 MTB 进行形态学显微镜观察与药敏试验的一种液态培养方法。在进行 MODS 检测时,将 MTB 加入含 10% 营养添加剂 OADC 的 Middlebrook 7H9 培养基的 24 孔板中培养(有一孔加生理盐水作为空白对照),然后加入不同浓度的抗结核药物(链霉素、异