

- 1365
- 8 Johnson RI, Kang D, Feig D, *et al*. Is there a pathogenetic role for uric acid in hypertension and cardiovascular and renal disease? [J]. Hypertension, 2003, 41(6): 1183 – 1190
- 9 王庆文, 刘志红. 高尿酸血症与慢性肾脏病的关系[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(8): 510 – 511
- 10 Zhang Z, Bian L, Choi Y. Serum uric acid: a marker of metabolic syndrome and subclinical atherosclerosis in Korean men [J]. Angiology, 2012, 63(6): 420 – 428
- 11 Chen X, Burdett T, Desjardins C, *et al*. Disrupted and transgenic urate oxidase alter urate and dopaminergic neurodegeneration [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(1): 300 – 305
- 12 朱红灿, 耿利娇, 蔡春生, 等. 尿酸对帕金森病大鼠学习记忆能力的影响及其机制[J]. 中华神经外科杂志, 2010, 27(2): 227 – 229
- 13 Gong L, Zhang Q, Zhang N, *et al*. Neuroprotection by urate on 6 – OH-DA – lesioned rat model of Parkinson's disease: linking to Akt/GSK3 β signaling pathway [J]. J Neurochem, 2012, 123: 876 – 885
- 14 Hink HU, Santanam N, Dikalov S, *et al*. Peroxidase properties of extracellular superoxide dismutase: role of uric acid in modulating in vivo activity [J]. Arterioscler Thromb Vase Biol, 2002, 22: 1402 – 1408
- 15 Koepsell H. The SLC22 family with transporters of organic cations, anions and zwitterions [J]. Mole Asp Med, 2013, 34: 413 – 435
- (收稿日期: 2013 – 11 – 03)
- (修回日期: 2013 – 11 – 29)

慢病毒介导的自杀基因对树突状细胞的杀伤作用

程婷婷 徐 希 葛杭萍 陈枫煜 梁 彬 俞 康

摘 要 目的 探讨慢病毒介导的自杀基因胸腺激酶(TK)对小鼠树突状细胞(DC)的杀伤作用。**方法** 构建含自杀基因TK的慢病毒载体质粒, 转染树突状细胞后通过更昔洛韦激活自杀基因使细胞死亡。**结果** 阳性重组质粒酶切及测序鉴定与预期结果相符, 成功构建其真核表达载体。收集含自杀基因的慢病毒, 测其效价为 2×10^9 TU/ml, 达到实验要求。慢病毒转染树突状细胞后, 观察树突状细胞的形态、大小及数量与对照组比较无明显差异, 经流式细胞仪检测绿色荧光蛋白(GFP)表达率为 96.43%。CCK – 8 法检测发现, 树突状细胞随着更昔洛韦药物浓度的增加, 细胞凋亡率逐渐上升。药物浓度 100 μ g/ml 作用时间 48h 时, 为药物对细胞的最佳杀伤作用时间; 更昔洛韦该药物对正常的树突状细胞未发现有毒性作用。**结论** 慢病毒介导的自杀基因 TK 对小鼠树突状细胞具有显著的杀伤作用。

关键词 树突状细胞 自杀基因 慢病毒 胸腺激酶 更昔洛韦

[中图分类号] R733 [文献标识码] A

Cytotoxicity Effect of Lentivirus – mediated Suicide Genes on Dendritic Cells. Cheng Tingting, Xu Xi, Ge Hangping, *et al*. The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To explore the killing effect of lentivirus – mediated suicide gene thymidine kinase(TK) on dendritic cells(DC) in mice. **Methods** The lentiviral vector plasmid containing suicide gene TK was constructed and transfected into the dendritic cells. Dendritic cells was leading to death by activating suicide gene through ganciclovir treatment. **Results** The outcome of restriction endonuclease digestion of positive recombinant plasmids and DNA sequencing were in consistence with the expected. The TK gene was successfully cloned and eukaryotic expression vector were constructed successfully. Titer lentivirus which contain the suicide gene was harvested and concentrated. Adenoviral titer was 2×10^9 TU/ml which achieved the requirement of our experiment. After lentiviral vector transferred into the dendritic cells, we observed the morphology, size and number of dendritic cells, and found there was no significant differences between the control group and experiment group. Dendritic cells were infected by lentivirals with a Green Fluorescent Protein(GFP) of 96.43%, which was confirmed by flow cytometry. CCK – 8 assays showed that the death rates of the dendritic cells increased with the increasing ganciclovir concentration. With the drug concentration of 100 μ g/ml for 48 hours, it could get the maximum drug effects. In the meantime we found ganciclovir had no toxic effects on the normal dendritic cells. **Conclusion** The lentiviral vector – mediated suicide gene thymidine kinase has marked cytotoxicity effects against dendritic cells in mice.

Key words Dendritic cells; Suicide gene; Lentivirus; Thymidine kinase; Ganciclovir

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(Y2101069, LY12H08002)

作者单位: 325000 温州医科大学附属第一医院(程婷婷、葛杭萍、陈枫煜); 325000 温州医科大学附属第一医院血液科(徐希、梁彬、俞康)

通讯作者: 俞康, 教授, 硕士生导师, 电子信箱: yukang62@126.com

异基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是治疗血液恶性肿瘤最有效的方法,其根治白血病和恶性肿瘤主要归功于移植物抗白血病病(GVL)作用,但在发挥GVL作用的同时常常会导致严重的移植物抗宿主病(GVHD)^[1,2]。慢性移植物抗宿主病(cGVHD)出现在allo-HSCT后50%的患者,是导致移植失败的重要原因。因此寻找控制GVHD和GVL作用平衡的有效措施是成功进行allo-HSCT的关键。本研究利用慢病毒载体将自杀基因TK转入DC,以期探讨TK作为基因转移载体的有效性,并研究其携带的自杀基因对DC的杀伤作用,为allo-HSCT时控制GVHD提供新的思路。

材料与方法

1. 材料:含自杀基因TK的tgCMV/HyTK质粒购自广州呼吸病研究所。慢病毒载体质粒pRRL-cPPT-CMV-eGFP-PRE-SIN、感受态细胞及慢病毒包装质粒由笔者医院龙湾医科所蒋磊博士保存提供。慢病毒包装质粒有3种:pCMV-VSVG浓度为1.25μg/μl,pMDLPg-RRE浓度为2.5μg/μl,pRSV-REV浓度0.95μg/μl。细胞株:293T购于中科院上海细胞库。细胞株:DC,购于中科院上海细胞库。DMEM培养液、胰酶、胎牛血清、1640培养液、polybrene购自Gibco公司。二甲亚砜(DMSO)购自Sigma公司。Cck8购自Dojindo公司。3131型二氧化碳培养箱购自Cellstar公司。孵箱购自Sanyo公司。流式细胞仪购自Becton dickinson faes clibur公司。紫外分光光度计购自Beckman公司。

2. 构建含自杀基因TK的慢病毒载体质粒PLIG-TK:质粒tgCMV/HyTK经转化后,提取小剂量质粒。PCR扩增TK基因:从质粒tgCMV/HyTK上扩增目的片段TK,为了便于克隆,使目的片段两端带上EcoRI(GAATTC)和Sac II(CCGcGG)酶切位点,其上下游引物5'端分别带有EcoRI和Sac II酶切位点,序列如下:上游引物:TK-F-EcoR I:5'-CGAATTCATG-GCTTCGTACCCCGCCATCAACACGC-3';下游引物:TK-R-Sac II:5'-GCGCCGCGGTCTAGCTTACCTCCCCATCTCCC-3'。进行PCR反应,电泳鉴定PCR产物,按凝胶回收试剂盒说明进行PCR产物的纯化和回收操作。质粒pRRL-cPPT-CMy-eGFP-PRE-SIN的转化和提取,步骤同上。构建慢病毒载体质粒PLIG-TK:质粒pRRL-cPPT-cMv-eGFP-PRE-SIN和胶回收的PCR产物均采用EcoRI和Sac II进行双酶切,获得黏端。进行酶切连接反应。取酶切阳性的质粒送公司测序,进一步鉴定PLIG-TK质粒序列的正确性。构建的PLIG-TK质粒,经测序正确,转化感受态细胞,行质粒大量抽提。

3. 293T细胞转染慢病毒及慢病毒收集和效价测定(孔稀释法测定效价):转染前24h,消化对数生长期的293T细胞,以含10%血清的培养基调整细胞密度为 0.5×10^7 细胞/10ml,重新接种,37℃、5% CO₂培养箱内培养24h。待细胞密

度达70%~80%时即可用于转染。转染前2h更换培养基。取2管灭菌离心管,分别记号为A、B管,向B管中加入2×HBS 500微升/盘。向A管中分别依次加入0.1×TE,SL3,SL4,SL5,PSL,2.5mol/L CaCl₂,混匀。将A管中的液体加入B管中,将所得液体按1毫升/盘的剂量分别加至293T细胞培养皿中。于37℃、5% CO₂培养箱内继续培养16h。

收集转染后48h的293T细胞上清液,4℃ 3000g离心10min,除去细胞碎片。10000g 4℃离心16h,标记,弃上清液。加入50~100微升/盘的1×TBS吹打均匀。分装后保存于冰箱。每个管中加入90μl的无血清培养基,取待测的病毒原液10μl加入到第1个管中,混匀后,取10μl加入到第2个管中。继续相同的操作直到最后一管。选取所需的细胞孔,吸去90μl培养基,丢弃。加入90μl稀释好的病毒溶液。于培养箱培养。24h后,加入完全培养基100μl。3天后,观察荧光表达情况。荧光细胞数随稀释倍数的增加而减少。

4. DC转染含自杀基因的慢病毒:转染前24h,消化DC细胞,24孔板每孔加20000个细胞,和含10%胎牛血清的1640培养液500μl,37℃、5% CO₂培养箱内培养。24h待细胞密度达70%~80%时即可用于转染。取出慢病毒,置于冰上缓慢融解,向DC细胞培养基中加入polybrene(8μg/ml),静置5min,再加入慢病毒,混合后放入37℃、5% CO₂培养箱内培养。8~12h后替换成含10%胎牛血清的1640培养液,继续培养。72h后,用倒置荧光显微镜观察荧光,估计慢病毒感染DC细胞的效率。转染后的TK-DC带有GFP,用流式细胞仪检测。TK-DC细胞的复苏、冻存及传代的操作步骤同DC细胞。

5. 更昔洛韦激活自杀基因:含自杀基因的树突状细胞的复苏、冻存及传代同树突状细胞。分别培养TK-DC、SL7-DC、DC 3种细胞,1000r/min,离心5min后,弃上清液,加入含有10%胎牛血清的1640培养液适量,计数后备用。接种于96孔培养板,100微升/孔:TK-DC、SL7-DC、DC。第2天,吸取上清液后,分别加入浓度从2000μg/ml到10μg/ml的更昔洛韦的完全培养基100微升/孔,放入37℃、5% CO₂培养箱内培养。24h后,在对照作用组的每孔中加入10μl的CCK8液体,放于培养箱中,1h,2h测各时间点的OD值。分别测得48h及72h后各孔的OD值。细胞存活率(%)=[(As-Ab)/(Ac-Ab)]×100%,As为实验孔(含有细胞的培养基、CCK8、GCV),Ac为对照孔(含有细胞的培养基、CCK8、不加GCV),Ab为空白孔(只有PBS、CCK8)。

6. 统计学方法:实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 11.0统计软件进行卡方检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

1. 构建含自杀基因TK的慢病毒载体质粒PLIG-TK:通过PCR从质粒tgCMV/HyTK上扩增目的片段TK,产物为1131bp。为了便于克隆,使目的片段两端带上EcoR I和Sac II酶切位点。质粒PLIG和胶回收产物双酶切,获得黏端。双酶切连接产物,用

EcoR I 和 Sac II 双酶切鉴定重组质粒 PLIG - TK, 进行鉴定。酶切鉴定阳性 PLIG - TK 质粒, 测序后, 除第 684 位同义突变, 其余序列与 GenBank 中 HSV1 - TK 基因序列相一致。经酶切、测序正确的重组慢病毒载体质粒, 行质粒大量抽提, 经测序浓度达 1.5 μg/μl。

2. 慢病毒的效价测定: DC 转染含自杀基因的慢病毒后, 可见 GFP 荧光蛋白表达, 荧光细胞数随稀释倍数的增加而减少。根据荧光显微镜中 GFP 表达情况, 在加入 1E - 6 μl 病毒原液的孔中仍能观察到 2 个带有荧光的细胞, 说明该孔中至少有 2 个病毒颗粒感

染了宿主细胞, 即该管慢病毒的效价等于带有荧光的细胞数除以病毒原液的量, 就是 $2/(1 \times 10^{-6}) = 2 \times 10^{-6}$, 单位为 TU/μl, 也就等于 2×10^9 TU/ml。

3. DC 转染含自杀基因的慢病毒: 树突状细胞转染含自杀基因的慢病毒后可见绿色荧光蛋白。慢病毒转染树突状细胞后, 在荧光倒置显微镜下, 可见树突状细胞棘突明显, 突起较粗大, 分支较明显, 呈星形或梭形, 核明显, 其形态、大小及数量与对照组细胞无明显差异。流式细胞仪检测了 5 次, 显示 GFP 表达率平均为 96.43% (图 1)。

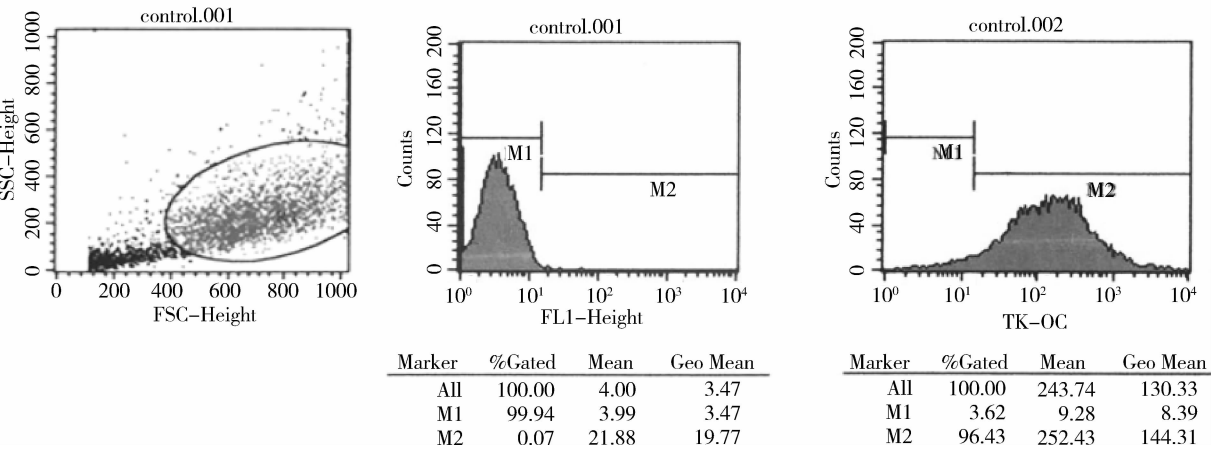


图 1 流式细胞仪检测 GFP 表达率

4. 更昔洛韦激活自杀基因: 加不同药物浓度的更昔洛韦, 对含有自杀基因的树突状细胞的杀伤作用不同。图 2 是更昔洛韦浓度为 100 μg/ml 时, 随着药物作用时间的延长对含有自杀基因的树突状细胞的平均杀伤作用, 作用时间为 2 天时, 杀伤作用最明显。根据 CCK - 8 检测结果, 更昔洛韦激活自杀基因的最佳作用时间为 48h。图 3 是加入药物作用 48h 的细胞生存率, 显示药物浓度为 100 μg/ml 的更昔洛韦已经只有 13.02% 的细胞生存率。表 1 是加入药物作用 48h 的细胞生存率, 100 μg/ml 浓度组细胞存活率较 50 μg/ml 浓度组显著降低 ($P < 0.05$), 而此时与 200 μg/ml 浓度组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明药物浓度增高杀伤率并未增加。根据作

用 48h 的细胞生存率, 显示药物最小浓度为 100 μg/ml 时已经只有 13.02% 的细胞生存, 存活率较未转自杀基因的树突状细胞显著降低 ($P < 0.05$)。此时它的杀伤作用为 86.98%。

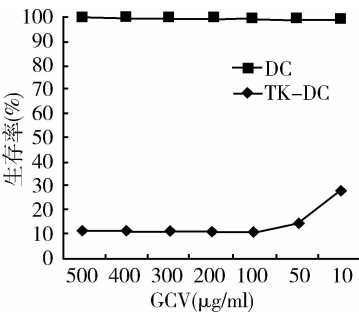


图 3 加入药物作用 48h 的细胞生存率

讨 论

自杀基因转染树突状细胞 (DCs) 用于防治 allo - HSCT 时 GVHD, 国内报道较少。传统的治疗是以 T 细胞为靶标, 然而免疫刺激 DCs 在 GVHD 发病机制中的作用很关键^[3]。DCs 同样具有致耐受性特性。检测 DC 特性可能有预测性结果, 靶向 DCs

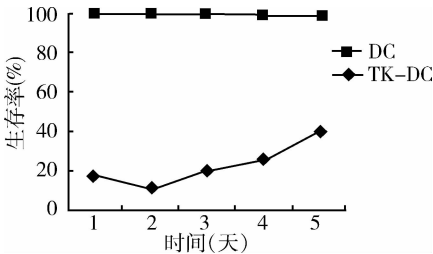


图 2 更昔洛韦浓度为 100 μg/ml 时的杀伤作用

表 1 加入药物作用 48h 的细胞生存率($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	GCV ($\mu\text{g/ml}$)						
	500	400	300	200	100	50	10
TK - DC	12.37 $\pm$ 0.08	12.41 $\pm$ 0.62	12.83 $\pm$ 0.12	12.96 $\pm$ 0.63	13.02 $\pm$ 0.52	17.78 $\pm$ 0.58	29.84 $\pm$ 0.23
DC	96.84 $\pm$ 0.04	97.69 $\pm$ 0.08	99.25 $\pm$ 0.41	99.59 $\pm$ 0.08	98.52 $\pm$ 0.13	98.01 $\pm$ 0.53	97.06 $\pm$ 0.19

的治疗是一种很有前景的创新。自杀基因疗法防治 GVHD 的一种方法是回输前基因修饰供者的 T 细胞以增加移植量预防感染^[4]。GVHD 的进展迫使我们对回输到患者体内的 T 细胞进行自杀基因修饰。此时, T 细胞去除的移植模型建立, 免疫力足以预防感染。一些基因治疗系统已用于或正在实验探索中^[5]。两种已进入临床试验阶段, 一种是胸腺激酶基因, 更昔洛韦用于后期治疗^[5]。另一种是半胱天冬酶 - 9^[6]。包含这种基因的 T 细胞可用二聚体药物去除。

在移植免疫中 T 细胞的免疫起到决定性的作用。HSCT 后供者 T 细胞介导 GVL 效应, 同时也引起 GVHD。GVL 和 GVHD 都需要抗原递呈细胞 (APCs) 激活效应 T 细胞^[2]。GVHD 的启动需要受者 DCs, 然而供者 DCs 在移植中的作用却不清楚。研究表明供者受者随机分组接受无关供者骨髓 (BM) 移植或粒细胞集落刺激因子动员, 25% 是人白细胞抗原 (HLA) 不相合^[7]。骨髓移植物的免疫细胞亚群分析表明, 接受含不成熟供者 pDCs 和供者天然 CD8⁺ T 细胞有更高生存率^[8]。APCs 不总是促进免疫应答还能耐受和抑制小鼠的 GVHD^[9]。患者的相关研究表明包含高剂量 DC 的供者移植与减少 cGVHD 有关。

DCs 是人体内功能最强的专职抗原递呈细胞, 是机体免疫的始动者, 能够刺激并致敏 T 淋巴细胞, 产生细胞毒性 T 淋巴细胞, 启动早期免疫反应。DC 能诱导免疫耐受, 调节 T 细胞介导的免疫应答类型^[10]。受者和供者 APCs 都与 cGVHD 有关, 但对靶器官有特异性, 皮肤 cGVHD 可由供者或受者 APCs 引起, 然而肠 cGVHD 则由供者 APCs 主导^[11]。小鼠研究表明 GVHD 中供者 T 细胞的活化需要通过 B7 分子家族 (CD80/86)/CD28 和 PD - L1/PD 共刺激相互作用^[12,13]。HSCT 后, DCs 通过直接或间接方式向供者 T 细胞递呈受者抗原。直接通路中, 供者 T 细胞被异基因主要组织相容性复合体 (MHC) 或 miHA 分子刺激递呈给受者 APCs, 然而间接通路是通过移植供者 APCs, 尤其是 CD11c + DCs 递呈获得受者抗原^[14]。

本实验将 TK 基因成功转染入 DC 细胞, 流式细

胞仪检测转染率为 96.43%。成功在体外使用 GCV 激活自杀基因, 诱导 DC 凋亡。根据作用 48h 的细胞生存率, 显示药物最小浓度为 100 $\mu\text{g/ml}$ 时已经只有 13.02% 的细胞生存, 它的杀伤作用为 86.98%。转染率较高, 且具简单、方便和快捷的优点。基因修饰 DC 细胞, 探讨转自杀基因的 DC 对供者淋巴细胞输注诱导的 cGVHD 效应的影响, 进一步构建动物模型: 将树突状细胞转入自杀基因 (TK 基因) 回输到小鼠体内, 用于治疗 cGVHD, 在 cGVHD 得到有效控制后, 经更昔洛韦启动自杀基因诱导 DCs 凋亡, 做到减轻 cGVHD 同时保留 GVL 效应, 为防治 GVHD 探索新方法。

参考文献

- 1 Stelljes M, Beelen DW, Braess J, *et al.* Allogeneic transplantation as post - remission therapy for cytogenetically high - risk acute myeloid leukemia; land - mark analysis from a single prospective multicenter trial [J]. *Haematologica*, 2011, 96(7):972 - 979
- 2 Pavlu J, Szydlo RM, Goldman JM, *et al.* Three decades of transplantation for chronic myeloid leukemia; what have we learned? [J]. *Blood*, 2011, 117(3):755 - 763
- 3 Stenger EO, Turnquist HR, Mapara MY, *et al.* Dendritic cells and regulation of graft - versus - host disease and graft - versus - leukemia activity [J]. *Blood*, 2012, 119(22):5088 - 5103
- 4 Nienhuis AW. Development of gene therapy for blood disorders: an update [J]. *Blood*, 2013, 122(9):1556 - 1564
- 5 Lupo - Stngellini MT, Provati E, Bondanza A, *et al.* Clinical impact of suicide gene therapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Hum Gene Ther*, 2010, 21(3):241 - 250
- 6 Distasi A, Tey SK, Dotti G, *et al.* Inducible apoptosis as a safety switch for adoptive cell therapy [J]. *N Engl J Med*, 2011, 365(18):1673 - 1683
- 7 Darlak KA, Wang Y, Li JM, *et al.* Enrichment of IL - 12 - producing plasmacytoid dendritic cells in donor bone marrow grafts enhances graft - versus - leukemia activity in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2013, 19(9):1331 - 1339
- 8 Waller EK, Harris WAC, Devine S, *et al.* Larger numbers of donor na? ve CD8 + T - cells and plasmacytoid dendritic cell precursors in allogeneic BM grafts from unrelated donors are associated with improved survival; results from BMT CTN 0201 [C]. *ASH Annual Meeting Abstracts*, 2011, 118:1004
- 9 Sela U, Olds P, Park A, *et al.* Dendritic cells induce antigen - spe-

- cific regulatory T cells that prevent graft versus host disease and persist in mice [J]. J Exp Med, 2011, 208(12):2489-2496
- 10 周光炎. 免疫学原理 [M]. 上海:上海科技出版社, 2010:86-89
- 11 Zhao D, Young JS, Chen YH, *et al.* Alloimmune response results in expansion of autoreactive donor CD4+ T cells in transplants that can mediate chronic graft-versus-host disease [J]. J Immunol, 2011, 186(2):856-868
- 12 LI J, Semple K, Suh WK, *et al.* Roles of CD28, CTLA4, and inducible costimulator in acute graft-versus-host disease in mice [J].

- Biol Blood Marrow Transplant, 2011, 17(7):962-969
- 13 Amarnath S, Costanzo CM, Mariotti J, *et al.* Regulatory T cells and human myeloid dendritic cells promote tolerance via programmed death ligand-1 [J]. PLoS Biol, 2010, 8(2):e1000302
- 14 Wang X, LI H, Matte-Martone C, *et al.* Mechanisms of antigen presentation to T cells in murine graft-versus-host disease: cross-presentation and the appearance of cross-presentation [J]. Blood, 2011, 118(24):6426-6437 (收稿日期:2013-10-29)
(修回日期:2013-11-29)

不同营养支持治疗方式对肝癌术后恢复的前瞻性对照研究

赵建军 毕新宇 黄 振 赵 宏 阎 涛 周健国 张业繁 李彩云 蔡建强

摘 要 目的 比较不同的营养治疗支持方式对肝癌合并肝硬化患者肝切除术后恢复的影响作用。**方法** 选择可切除的肝癌肝硬化患者 122 例术后随机分成常规热量肠外营养组 (traditional parenteral nutrition, PN) 77 例、低热量肠外营养组 (hypocaloric parenteral nutrition, HPN) 70 例和低热量肠内营养组 (hypocaloric enteral nutrition, HEN) 65 例 3 组, PN 组和 HPN 组术后营养支持能量需求分别为 (25~30) kcal/(kg·d) 和 (16~20) kcal/(kg·d), 经中心静脉输注; HEN 组术后能量需求为 20 kcal/(kg·d), 术后早期 (术后 24h) 经鼻肠营养管加营养泵控制输注; 比较 3 组患者在术后 5 天短期内经过不同营养支持方式治疗后患者的营养状态、胃肠道功能、肝功能、并发症发生率、术后住院时间和营养支持治疗费用的差别。**结果** 三组患者在手术之前机能状况无统计学差异, 术后 7 天 HEN 组患者血清总胆酸 (TBA) 和总胆红素 (TBIL) 值明显低于 PN 组和 HPN 组 ($P < 0.05$), 胃肠道功能恢复时间 3 组患者分别是 56.4h、78.8h 和 74.4h ($P < 0.05$); 营养支持治疗的相关费用分别是 412 元、977 元和 714 元 ($P < 0.05$); 术后住院时间分别是 10.1 天、13.4 天和 11.1 天 ($P < 0.05$), 并发症发生率分别是 7.4%、12.2% 和 11.7% ($P < 0.05$)。**结论** 肝癌肝硬化患者术后采用 HEN 支持的治疗方式, 在恢复患者胃肠道功能、提升肝脏合成蛋白的能力和改善淤胆状态、降低术后并发症等方面优于其他治疗方式; 同时 HEN 治疗可降低患者经济负担, 缩短住院时间; 低热量的营养支持更加符合肝癌肝硬化患者术后的生理代谢需求。

关键词 营养支持 低热量肠内营养 原发性肝癌 肝切除术

[中图分类号] R735 [文献标识码] A

Effect of Different Nutrition Support Methods on Primary Liver Cancer Patients with Hepatectomy: a Controlled Prospective Study. Zhao Jianjun, Bi Xinyu, Huang Zhen, *et al.* Department of Abdominal Surgery, Cancer Hospital of the Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China

Abstract Objective To study the effect of different nutrition support methods on primary liver cancer patients with hepatectomy: a controlled prospective study. **Methods** Totally 212 patients with HCC and hepatic cirrhosis were enrolled in this research and were divided into three groups. Seventy-seven patients were provided with traditional parenteral nutrition (PN), 70 patients with hypocaloric parenteral nutrition (HPN) and 65 patients with hypocaloric enteral nutrition (HEN). The energy support for PN and HPN groups were (25-30) kcal/(kg·d) and (16-20) kcal/(kg·d) separately through under collarbone central venous catheter per day. The energy for HEN patients was 20 kcal/(kg·d). In HEN group, naso-enteral tube was placed preoperatively. Multiple factors were compared among these three groups receiving nutrition support for 5 days postoperatively, including nutrition status, hepatic function, gastrointestinal function, complication rates, postoperative hospitalization time and nutrition expenses. **Results** No statistical difference was observed among the

基金项目: 中国医学科学院肿瘤医院院内临床研究课题 (LC2007B31)

作者单位: 100021 北京, 中国医学科学院/北京协和医学院肿瘤医院腹部外科

通讯作者: 蔡建强, 电子邮箱: zjj8424@sohu.com