

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2018 年 6 月 8 日 第 26 卷 第 16 期 (Volume 26 Number 16)



16/2018

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》和俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.



述评

- 951 EZH2在肝脏疾病中的研究进展

朱莉, 李明, 朱传武

- 957 直肠神经内分泌肿瘤的内镜诊治进展

张昱, 郭强

基础研究

- 964 RIP3介导肠化胃上皮细胞IL-33的表达

刘梦静, 姜葵, 张君, 周璐, 赵经文, 王邦茂

临床研究

- 972 绍兴市柯桥区60例小儿厌食症的流行病学调查研究

马乐萍

- 979 TERT在胃癌发生发展中的表达变化及其与临床特征的相关性

国麟祺, 陈颖, 滕欣丽, 夏伟滨, 徐剑, 曲义坤

- 986 乙肝肝硬化与乙肝肝硬化合并糖尿病患者肠道菌群结构初步探讨

龙克娇, 刘保文, 卢敏, 冯瑞亚, 韩涛, 向慧玲

- 993 重症急性胰腺炎肠内营养不能耐受的危险因素分析

金丽美, 林陈拉, 刘群

- 999 综合护理干预对急性胰腺炎并发糖尿病患者自我管理能力和生活质量的影响

刘冬梅

文献综述

- 1005 低位直肠癌术后肛门生理的改变及其对策

金黑鹰

- 1010 舒兰教授健脾化湿方治疗小儿泄泻经验

郭艳芳, 舒兰, 惠华英, 谭周进

消 息

- 956 《世界华人消化杂志》参考文献要求
- 963 《世界华人消化杂志》外文字符标准
- 978 《世界华人消化杂志》栏目设置
- 985 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
- 1014 《世界华人消化杂志》修回稿须知

封面故事

吕小平, 广西医科大学第一附属医院消化内科副主任, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 留学英国. 中华医学会消化病学分会第十届委员会炎症性肠病学组/协作组委员, 科技部科技专家库成员, 全国肝胆病咨询专家, 广西科学基金项目及科技成果评审专家, 中华消化学会广西分会常委, 广西中西医结合学会消化病分会常委, 中国医师协会广西消化内镜分会常委. 主要研究方向: 炎症性肠病的基础和临床; 肝硬化及肝癌发病机制; 消化内镜的诊治. 获广西科技进步奖三等奖1项, 广西卫生适宜技术推广奖一等奖、二等奖和三等奖各1项. 获国家自然科学基金及省厅级科研项目20项, 承担全国多中心临床研究项目5项. 发表专业论文80多篇, 其中SCI论文12篇. 参编教材及专著2部. 培养博士及硕士研究生50名.

本期责任人

编务 李香; 送审编辑 崔丽君; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 崔丽君; 形式规范审核编辑部主任 马亚娟; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2018-06-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjgd@wjgnet.com<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被美国《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、俄罗斯《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Contents

Volume 26 Number 16 June 8, 2018

EDITORIAL

- 951 Role of EZH2 in liver disease

Zhu L, Li M, Zhu CW

- 957 Endoscopic treatment of rectal neuroendocrine tumors

Zhang Y, Guo Q

BASIC RESEARCH

- 964 RIP3 mediates IL-33 production in gastric epithelial cells with intestinal metaplasia

Liu MJ, Jiang K, Zhang J, Zhou L, Zhao JW, Wang BM

CLINICAL RESEARCH

- 972 Epidemiological investigation of 60 cases of infantile anorexia in Keqiao district of Shaoxing

Ma LP

- 979 TERT expression in gastric carcinogenesis: Correlation with clinical features

Guo LQ, Chen Y, Teng XL, Xia WB, Xu J, Qu YK

- 986 Structure of intestinal microflora in hepatitis B cirrhosis patients and hepatitis B cirrhosis patients with diabetes mellitus

Long KJ, Liu BW, Lu M, Feng RY, Han T, Xiang HL

- 993 Risk factors for intolerance to enteral nutrition in patients with severe acute pancreatitis

Jin LM, Lin CL, Liu Q

- 999 Effect of comprehensive nursing intervention on self-management ability and quality of life in acute pancreatitis patients with diabetes mellitus

Liu DM

REVIEW

- 1005 Alterations of anal physiological features after surgery for low rectal cancer and management strategies

Jin HY

- 1010 Professor Shulan's Jianpi Huashi prescription for treating infantile diarrhea

Guo YF, Shu L, Hui HY, Tan ZJ

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 26 Number 16 June 8, 2018

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Xiao-Ping Lv, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, No 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Province, China

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, and Scopus.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Xiang Li* Review Editor: *Li-Jun Cui* Electronic Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang* Editor-in-Charge: *Li-Jun Cui* Proof Editor: *Ya-Juan Ma* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date June 8, 2018

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

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

EDITOR-IN-CHIEF

Ying-Sheng Cheng, Professor, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

Lian-Xin Liu, Professor, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Zhan-Ju Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Da-Lie Ma, Professor, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

Jun-Ping Wang, Professor, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381892
Fax: +86-10-85381893

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue
RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2018 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <http://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

乙肝肝硬化与乙肝肝硬化合并糖尿病患者肠道菌群结构初步探讨

龙克娇, 刘保文, 卢敏, 冯瑞亚, 韩涛, 向慧玲

龙克娇, 卢敏, 冯瑞亚, 天津医科大学第三中心临床学院消化内科
天津市 300170

刘保文, 天津市第二人民医院消化科 天津市 300110

韩涛, 向慧玲, 天津市第三中心医院消化内科 天津市 300170

向慧玲, 主任医师, 主要从事肝脏相关疾病的研究.

基金项目: 国家科技重大专项, No. 2017ZX10203201-007; 天津市科技
计划项目, No. 13RCGFSY19200.

作者贡献分布: 临床资料收集、标本采集及实验操作由龙克娇、刘保文
及卢敏完成; 数据处理由龙克娇与冯瑞亚完成; 文章起草由龙克娇、刘
保文及卢敏完成; 课题设计、文章修稿及审阅由向慧玲完成; 意见指导
由韩涛完成.

通讯作者: 向慧玲, 主任医师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津
市第三中心医院消化内科. hui lingxiang@163.com

收稿日期: 2018-03-23

修回日期: 2018-04-22

接受日期: 2018-05-09

在线出版日期: 2018-06-08

Structure of intestinal microflora in hepatitis B cirrhosis patients and hepatitis B cirrhosis patients with diabetes mellitus

Ke-Jiao Long, Bao-Wen Liu, Min Lu, Rui-Ya Feng, Tao Han,
Hui-Ling Xiang

Ke-Jiao Long, Min Lu, Rui-Ya Feng, Department of
Gastroenterology, the Third Central Clinical College of Tianjin Medical
University, Tianjin 300170, China

Bao-Wen Liu, Department of Gastroenterology, the Second People's
Hospital of Tianjin, Tianjin 300110, China

Tao Han, Hui-Ling Xiang, Department of Gastroenterology, the
Third Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300170, China

Supported by: Major National Science and Technology Project of
China, No. 2017ZX10203201-007; Tianjin Science and Technology
Project, No. 13RCGFSY19200.

Correspondence to: Hui-Ling Xiang, Chief Physician, Department
of Gastroenterology, the Third Central Hospital of Tianjin, Hedong
District, 83 Jintang Road, Tianjin 300170,
China. hui lingxiang@163.com

Received: 2018-03-23

Revised: 2018-04-22

Accepted: 2018-05-09

Published online: 2018-06-08

Abstract

AIM

To analyze the changes of intestinal microflora in
hepatitis B cirrhosis patients and hepatitis B cirrhosis
patients with diabetes mellitus.

METHODS

Fecal samples were collected from nine patients with
hepatitis B cirrhosis and six hepatitis B cirrhosis patients
with diabetes mellitus, and DNA was extracted from
the fecal samples. The extracted DNA was purified
and amplified by PCR, and the V3-V6 regions of the
16S rDNA of the fecal flora of the two groups were
sequenced using the Roche454 high-throughput
sequencing platform. The sequencing results were
finally analyzed.

RESULTS

There were no significant differences in diversity
parameters (OTUs, Chao1 index, Simpson index,
and Shannon index) between the two groups. At
the phylum level, the proportion of *Proteobacteria* in
intestinal microflora of hepatitis B cirrhosis patients
with diabetes increased significantly ($P < 0.05$). There

was no significant difference in the proportions of *Bacteroidetes* and *Firmicutes*. At the class level, the proportion of *Gammaproteobacteria* in the intestinal flora of hepatitis B cirrhosis patients with diabetes mellitus was significantly higher than that in the hepatitis B cirrhosis group ($P < 0.05$), although the rest classes were not statistically different. At the order level, *Desulfovibrionales* in the intestinal microflora had obvious advantage in hepatitis B cirrhosis patients over hepatitis B cirrhosis patients with diabetes mellitus ($P < 0.05$), but the percentage of *Burkholderiales* in the intestinal flora of patients with cirrhosis and diabetes mellitus increased obviously ($P < 0.05$). At the family level, the proportions of *Veillonellaceae* and *Alcaligenaceae* in the intestinal flora increased significantly in hepatitis B cirrhosis patients with diabetes mellitus compared with patients with cirrhosis alone ($P < 0.05$), and the percentages of *Streptococcaceae* and *Clostridiaceae* in the intestinal flora of patients with hepatitis B cirrhosis had obvious advantages ($P < 0.05$). At the genus level, the proportions of *Parabacteroides*, *Roseburia*, *Veillonellaceae*, and *Sutterella* in hepatitis B cirrhosis patients with diabetes mellitus were significantly higher than those in patients with cirrhosis alone ($P < 0.05$), and the populations of *Faecalibacterium* and *Streptococcus* had advantages in hepatitis B cirrhosis patients ($P < 0.05$).

CONCLUSION

Although hepatitis B cirrhosis and hepatitis B cirrhosis patients with diabetes have similar intestinal flora structures, there are differences between them. The differences in certain bacterial populations may be a new target for the treatment of hepatitis B cirrhosis with diabetes.

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Hepatitis B cirrhosis; Hepatitis B cirrhosis with diabetes mellitus; 16SrDNA; Flora structure

Long KJ, Liu BW, Lu M, Feng RY, Han T, Xiang HL. Structure of intestinal microflora in hepatitis B cirrhosis patients and hepatitis B cirrhosis patients with diabetes mellitus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2018; 26(16): 986-992 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i16/986.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i16.986>

摘要

目的

研究乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者肠道菌群结构是否存在差异性。

方法

收集9例乙型肝炎肝硬化和6例乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者

者粪便标本, 提取粪便DNA, 进行PCR扩增(上游引物: 5'CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAGACAGACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3', 下游引物: 5'CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGACGAGCTGACGACARCCATG-3')并对产物进行纯化, 利用Roche454高通量测序平台对两组患者的粪便菌群16SrDNA的V3-V6区域进行测序及生物信息学分析。

结果

乙型肝炎肝硬化及乙型肝炎肝硬化合并糖尿病两组间的多样性参数(OTU数、chaol指数、simpson指数、shannon指数)均无统计学差异。后者肠道中的变形菌门明显多于前者($P < 0.05$), 拟杆菌门与厚壁菌门的比例无明显差异; 纲的水平上, γ -变形菌纲在后者明显较多($P < 0.05$), 其余纲水平未见差异; 目的水平上, 后者伯克氏菌目较前者明显增多($P < 0.05$), 而脱硫弧菌目明显减少($P < 0.05$), 其余无统计学差异; 科的水平上, 韦荣球菌科、产碱菌科在后者的肠道菌群中的比例明显增多($P < 0.05$), 而链球菌科、梭菌科在前期肠道中占优势($P < 0.05$), 其余的在科水平上无统计学差异; 属的水平上, *Parabacteroides*、*Roseburia*、韦荣氏球菌属、萨特氏菌属在后者的肠道菌群中的比例较多($P < 0.05$), 而*Faecalibacterium*、链球菌属在前期肠道中更占优势($P < 0.05$), 其余未见明显差异。

结论

乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者的肠道菌群结构具有相似性但又存在各自的特异性, 某些菌群的差异有可能成为治疗乙型肝炎肝硬化合并糖尿病的新靶点。

© The Author(s) 2018. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 乙型肝炎肝硬化; 乙型肝炎肝硬化合并糖尿病; 16SrDNA; 菌群结构

核心提要: 本研究就乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者的肠道菌群结构进行分析, 明确两组肠道菌群间是否存在显著差异, 以期对肝硬化合并糖尿病的诊疗提供新思路。

龙克娇, 刘保文, 卢敏, 冯瑞亚, 韩涛, 向慧玲. 乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者肠道菌群结构初步探讨. *世界华人消化杂志* 2018; 26(16): 986-992 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v26/i16/986.htm> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v26.i16.986>

0 引言

肝硬化是由一种或多种原因导致的慢性进行性弥漫性

表 1 两组研究对象基本情况统计表

| | 乙型肝炎肝硬化组 (n = 9) | 乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组 (n = 6) | P值 |
|---------------|------------------|-----------------------|-------|
| 年龄 (岁) | 54 ± 9 | 64 ± 6 | 0.124 |
| 性别 (男/女) | 5/4 | 4/2 | 0.385 |
| CTP评分 (分) | 6.2 ± 1.1 | 6.0 ± 1.3 | 0.773 |
| 空腹血糖 (mmol/L) | 4.17 ± 0.66 | 10.81 ± 2.50 | 0.027 |

肝脏纤维化病变, 是消化系统常见的一种疾病。在我国, 肝硬化的病因目前仍以病毒性肝炎为主, 其中乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染最为常见, 也是导致肝癌发生率增加的原因。糖耐量异常、胰岛素抵抗和糖尿病常伴随肝硬化发生, 肝硬化患者的糖尿病发生率接近30%^[1]。糖尿病增加了肝性脑病、腹水、感染等肝硬化并发症的发生, 也是肝硬化不良预后的一个独立因素, 伴有2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)的慢性肝病患者的死亡风险增加^[2]; 研究显示肝硬化、糖尿病都与肠道菌群间存在密切关系, 目前关于肝硬化及肝硬化合并糖尿病患者肠道菌群的比较研究报道甚少, 本研究就乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者的肠道菌群结构进行分析, 明确两组肠道菌群间是否存在显著差异, 以期对肝硬化合并糖尿病的诊疗提供新思路。

1 材料和方法

1.1 材料 收集天津市第三中心医院消化内科乙型肝炎肝硬化和乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者共15例, 其中乙型肝炎肝硬化患者9例, 男性5例, 女性4例, 年龄47-69岁; 乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者6例, 男性4例, 女性2例, 年龄44-64岁。

纳入标准: (1)符合乙型肝炎肝硬化诊断标准的患者^[3], 同时也符合糖尿病诊断标准^[4]的乙型肝炎肝硬化合并糖尿病的患者(乙型肝炎肝硬化与糖尿病发生的时间先后顺序不限); (2)年龄: 18-80岁, 男女不限。

排除标准: (1)患有心血管、呼吸等系统严重的器质性病变; (2)患有恶性肿瘤; (3)患者2 wk服用益生菌、抗生素、激素等影响肠道菌群的药物。

1.2 方法 样本采集: 收集入选患者新鲜粪便于无菌便盒, -80 °C低温冰箱冻存。

样本DNA提取: 在生物安全柜内, 用无菌手术刀片切割粪便, 天平称取200 mg放置于2 mL无菌离心管中。操作步骤参照粪便基因组DNA快速提取试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)使用说明书, 将提取的DNA于-20 °C冻存。

PCR扩增: 采用由天津生物芯片技术有限公司提

供的上游引物: 5'CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGACTCAGACACGACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3', 下游引物: 5'CCTATCCCCTGTGTGCCTTGGCAGTCTCAGACGAGCTGACGACARCCATG-3'对16S rDNA V3-V6区域进行PCR扩增, 扩增产物采用QIAquick Gel Extraction Kit 试剂盒对PCR扩增产物进行纯化。

高通量测序: 对纯化后的产物进行Roche 454高通量测序, QIIME(Quantitative Insights Into Microbial Ecology)软件对测序结果进行生物信息学分析。

统计学处理 计量资料mean±SD表示, 两独立样本比较采用t检验, 计数资料采用χ²检验, 分类变量使用Pearson卡方检验, 相关性分析采用Spearman相关, 资料分析均使用SPSS23.0统计学软件完成, P<0.05差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象基本情况比较 乙型肝炎肝硬化组9例患者和乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组6例患者在年龄、男女性别比例以及Child-Pugh评分之间均无明显差异(P>0.05), 乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组的空腹血糖明显高于乙型肝炎肝硬化组(P<0.05), 具体见表1。

2.2 多样性分析 9例乙型肝炎肝硬化组平均每个样本有8766条序列; 6例乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组每个样本平均有11752条序列; 乙型肝炎肝硬化及乙型肝炎肝硬化合并糖尿病两组间的多样性参数(OTU数、chao1指数、simpson指数、shannon指数)均无统计学差异(P>0.05), 具体见表2。

2.3 菌群结构分析 对乙型肝炎肝硬化及乙型肝炎肝硬化合并糖尿病两组患者肠道菌群在门、纲、目、科、属五大分类水平上进行比对分析。门的水平上, 两组间的拟杆菌门与厚壁菌门的比例均无明显差异(P>0.05), 而后者肠道中的变形菌门明显多于前者(P<0.05)(表3); 纲的水平上, 仅γ-变形菌纲在后者明显较多(P<0.05)(表4), 余纲在两组间无明显差异(P>0.05); 目的水平上, 拟杆菌目、梭菌目、肠杆菌目、乳酸杆菌目、丹毒丝菌目在两组间差异无统计学意义(P>0.05), 后者的伯克氏菌目明显增多(P<0.05), 而脱硫弧菌目显著减少(P<

表 2 乙型肝炎肝硬化组和乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组多样性参数比较

| | 乙型肝炎肝硬化组 ($n = 9$) | 乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组 ($n = 6$) | P 值 |
|------------|----------------------|---------------------------|-------|
| 序列数 | 8766 \pm 6169 | 11752 \pm 62000.965 | 0.965 |
| OTU 数 | 367 \pm 189 | 502 \pm 167 | 0.543 |
| chao1 指数 | 564 \pm 295 | 818 \pm 259 | 0.415 |
| Simpson 指数 | 0.88 \pm 0.08 | 0.92 \pm 0.06 | 0.8 |
| shannon 指数 | 4.89 \pm 0.97 | 5.39 \pm 0.960.804 | 0.804 |

表 3 乙型肝炎肝硬化及乙型肝炎肝硬化合并糖尿病两组门水平主要菌群均值(mean \pm SD)比较

| | 乙型肝炎肝硬化组 ($n = 9$) | 乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组 ($n = 6$) | P 值 |
|------|----------------------|---------------------------|-------|
| 拟杆菌门 | 59.2 \pm 15.1 | 58.1 \pm 16.4 | 0.693 |
| 厚壁菌门 | 33.9 \pm 13.6 | 33.4 \pm 17.5 | 0.866 |
| 变形菌门 | 2.7 \pm 2.4 | 7.7 \pm 6.7 | 0.007 |

表 4 乙型肝炎肝硬化及乙型肝炎肝硬化合并糖尿病两组纲水平主要菌群均值(mean \pm SD)比较

| | 乙型肝炎肝硬化组 ($n = 9$) | 乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组 ($n = 6$) | P 值 |
|----------------|----------------------|---------------------------|-------|
| 拟杆菌纲 | 59.2 \pm 15.1 | 58.1 \pm 16.4 | 0.692 |
| 梭菌纲 | 32.4 \pm 12.9 | 32.7 \pm 17.6 | 0.742 |
| γ -变形菌纲 | 1.6 \pm 1.6 | 5.5 \pm 5.4 | 0.001 |
| β -变形菌纲 | 4.7 \pm 9.2 | 5.3 \pm 6.6 | 0.849 |
| 芽孢杆菌纲 | 0.8 \pm 0.8 | 0.4 \pm 0.7 | 0.505 |

表 5 乙型肝炎肝硬化及乙型肝炎肝硬化合并糖尿病两组目水平主要菌群均值(mean \pm SD)比较

| | 乙型肝炎肝硬化组 ($n = 9$) | 乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组 ($n = 6$) | P 值 |
|-------|----------------------|---------------------------|-------|
| 拟杆菌目 | 59.2 \pm 15.1 | 58.1 \pm 16.4 | 0.692 |
| 梭菌目 | 32.4 \pm 12.9 | 32.7 \pm 17.6 | 0.742 |
| 肠杆菌目 | 4.6 \pm 9.3 | 5.3 \pm 6.6 | 0.846 |
| 乳酸杆菌目 | 0.8 \pm 0.8 | 0.4 \pm 0.7 | 0.522 |
| 伯克氏菌目 | 0.5 \pm 0.5 | 2.2 \pm 2.4 | 0.001 |
| 丹毒丝菌目 | 0.7 \pm 0.7 | 0.3 \pm 0.3 | 0.048 |
| 脱硫弧菌目 | 0.4 \pm 0.4 | 0.2 \pm 0.1 | 0.016 |

0.05)(表5); 科的水平上, 后者的肠道菌群中韦荣球菌科、产碱菌科明显增多($P < 0.05$), 而链球菌科、梭菌科明显减少($P < 0.05$)(表6); 属的水平上, 后者的肠道菌群中*Parabacteroides*、*Roseburia*、韦荣氏球菌属、萨特氏菌属、克雷伯氏菌属明显增多($P < 0.05$), 而*Faecalibacterium*、链球菌属、双歧杆菌属则明显减少($P < 0.05$), 其余未见明显差异($P > 0.05$)(表7)。

3 讨论

肝脏作为人体的重要器官, 既能吸收肠道中的营养物质又能阻止肠道中有害物质的播散。发生肝硬化

时, 肝糖原的合成、储存和代谢发生障碍, 造成糖代谢紊乱, 最终发展为肝硬化基础上的糖尿病(肝源性糖尿病)或加重原有糖尿病病情。肠道菌群包括寄生在肠道中数以万亿计的微生物, 在人体机能的正常运转中起重要作用。随着分子生物学技术的发展, 通过对宏基因组分析, 进一步加速了对肠道菌群的认识。已有大量研究表明肠道菌群与糖尿病^[5]及肝硬化^[6]的发生显著相关。目前, 几乎没有关于肠道菌群与肝硬化及肝硬化合并糖尿病间关系的研究, 糖尿病的合并存在会加重肝硬化患者感染及其他并发症的发生风险, 增加患者的死亡率。本研究就乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿

表 6 乙肝肝硬化及乙肝肝硬化合并糖尿病两组科水平主要菌群均值(mean ± SD)比较

| | 乙肝肝硬化组 (n = 9) | 乙肝肝硬化合并糖尿病组 (n = 6) | P值 |
|-------|----------------|---------------------|-------|
| 拟杆菌科 | 503 ± 13.9 | 447 ± 25.6 | 0.189 |
| 毛螺杆菌科 | 10.0 ± 5.4 | 102 ± 5.1 | 0.927 |
| 瘤胃球菌科 | 17.4 ± 10.5 | 13.7 ± 13.7 | 0.680 |
| 韦荣球菌科 | 2.7 ± 2.0 | 6.8 ± 7.0 | 0.003 |
| 肠杆菌科 | 4.6 ± 9.3 | 6.3 ± 6.6 | 0.846 |
| 紫单胞菌科 | 2.7 ± 2.2 | 4.5 ± 3.5 | 0.098 |
| 链球菌科 | 0.7 ± 0.7 | 0.1 ± 0.2 | 0.021 |
| 产碱菌科 | 0.5 ± 0.4 | 2.2 ± 2.4 | 0.001 |
| 丹毒丝菌科 | 0.7 ± 0.7 | 0.3 ± 0.3 | 0.048 |
| 梭菌科 | 0.4 ± 0.6 | 0.2 ± 0.1 | 0.027 |
| 脱硫弧菌科 | 0.4 ± 0.4 | 0.2 ± 0.1 | 0.062 |

表 7 乙肝肝硬化及乙肝肝硬化合并糖尿病两组属水平主要菌群均值(mean ± SD)比较

| | 乙肝肝硬化 (n = 9) | 乙肝肝硬化合并糖尿病 (n = 6) | P值 |
|-------------------------|---------------|--------------------|--------|
| 拟杆菌属 | 50.3 ± 14.0 | 44.7 ± 25.6 | 0.189 |
| 普氏菌属 | 2.8 ± 7.3 | 6.3 ± 12.7 | 0.281 |
| <i>parabacteroides</i> | 2.7 ± 2.2 | 5.2 ± 3.6 | 0.036 |
| <i>Faecalibacterium</i> | 8.1 ± 6.3 | 2.6 ± 2.4 | 0.044 |
| <i>Butyrivibrio</i> | 0.2 ± 0.3 | 0.1 ± 0.2 | 0.420 |
| <i>Odoribacter</i> | 0.7 ± 1.5 | 0.4 ± 0.6 | 0.382 |
| 梭菌属 | 0.2 ± 0.4 | 0.03 ± 0.1 | 0.179 |
| <i>Anaerostipes</i> | 0.3 ± 0.7 | 0.2 ± 0.3 | 0.287 |
| <i>Blautia</i> | 0.3 ± 0.7 | 0.3 ± 0.4 | 0.660 |
| 粪球菌属 | 0.5 ± 1.1 | 0.4 ± 0.4 | 0.393 |
| <i>Dorea</i> | 0.5 ± 0.4 | 0.2 ± 0.2 | 0.068 |
| 颤螺菌属 | 0.7 ± 0.8 | 1.0 ± 1.2 | 0.195 |
| 毛螺菌属 | 1.6 ± 2.1 | 2.4 ± 3.2 | 0.528 |
| <i>Roseburia</i> | 0.1 ± 0.1 | 1.5 ± 0.8 | <0.001 |
| 瘤胃球菌属 | 0.8 ± 1.3 | 0.3 ± 0.3 | 0.128 |
| 考拉杆菌属 | 2.0 ± 1.2 | 1.5 ± 2.1 | 0.145 |
| 韦荣氏球菌属 | 0.2 ± 0.3 | 2.8 ± 6.2 | 0.011 |
| 萨特氏菌属 | 0.5 ± 0.5 | 2.2 ± 2.5 | 0.001 |
| 嗜胆菌属 | 0.3 ± 0.4 | 0.2 ± 0.1 | 0.129 |
| 链球菌属 | 0.7 ± 0.7 | 0.1 ± 0.2 | 0.02 |
| 双歧杆菌属 | 0.2 ± 0.3 | 0 | 0.015 |
| 克雷伯氏菌属 | 0 | 0.8 ± 1.3 | <0.001 |

病患者的肠道菌群结构进行分析,明确两组肠道菌群间是否存在显著差异,以期为肝硬化合并糖尿病的诊疗提供新思路。

已有大量关于肝硬化与肠道菌群间关系的研究, Sarangi等^[7]和Wei等^[8]分别发现肝硬化和乙肝肝硬化与正常人相比前两者肠道菌群多样性显著减低。Qin等^[9]和Wei^[8]发现肝硬化患者肠道菌群中变形菌门显著增多,拟杆菌门显著减少。Baja等^[10]发现:相比于伴肝性脑病肝硬化患者 *Roseburia*属在不伴肝性脑病肝硬化组和健

康对照组中含量更高。Lunia等^[11]证明益生菌-VSL#3对肝硬化并发症-肝性脑病有预防、治疗作用。

近些年也有不少关于糖尿病与肠道菌群的研究, Remely等^[12]通过比较T2DM患者与健康人肠道菌群变化发现两组肠道菌群在多样性上无显著性差异,但不同水平上菌群数量显著不同。来自哥本哈根研究表明:在糖尿病患者中变形菌门高于正常人^[13]。Araceli等^[14]发现T2DM患者肠道菌群中产丁酸菌(*Roseburia intestinalis*)较健康对照组显著减少; Karlsson等^[15]对

欧洲妇女T2DM和正常对照组肠道菌群研究发现 *Roseburia* 在T2DM显著减少. Mansour团队^[16]的研究发现相比T2DM组双歧杆菌明显富集于健康对照组, 表明双歧杆菌等有益菌的减少是糖尿病的特征之一. Yadav团队^[17]发现给T2DM患者喝含益生菌(嗜酸乳杆菌La5, 乳酸双歧杆菌Bb12)的酸奶, 每天300 g, 共6 wk后, 空腹血糖和糖化血红蛋白水平降低; 在动物实验中, 用嗜酸乳杆菌和干酪乳杆菌的益生菌饲养小鼠, 提示益生菌有明显的抗糖尿病作用.

本研究发现乙型肝炎肝硬化组和乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组菌群组成结构(门、纲、目、科、属)相似, 仅存在个别菌群数量上的差异. 变形菌门的 γ -变形菌纲、伯克氏菌目、产碱菌科、厚壁菌门的韦荣球菌科, *Roseburia*属在后者肠道菌群富集, 却未发现双歧杆菌的存在, 而前者有少量双歧杆菌存在. 此结果与单纯肝硬化和单纯糖尿病相比变形杆菌门和双歧杆菌属水平结果相似, *Roseburia*属水平结果却相反. 变形菌门中多为致病菌, 其比例增加会进一步加重肠道内菌群失调, 这可能使得肝硬化基础上更容易发生糖尿病或者是加重原本糖尿病症状, 具体机制有待进一步研究. 有关益生菌在糖尿病中的作用机制目前认为: 其可作为一种有效的免疫系统调节剂, 抑制肠道菌群改变引起的慢性炎症反应^[18,19]; 双歧杆菌、乳酸杆菌等益生菌已被广泛应用于临床肝硬化失代偿期-肝性脑病的预防与治疗. 本研究表明双歧杆菌与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病显著相关, 这有可能成为治疗乙型肝炎肝硬化合并糖尿病的新靶点. *Roseburia*属能通过分解难以消化的碳水化合物产生短链脂肪酸(SCFA)^[20], SCFA如醋酸盐、丙酸盐、丁酸盐, 提供约5%-10%的人体能量来源^[21], *Roseburia*属水平在本研究与以往研究结果间的差异可能是乙型肝炎肝硬化与糖尿病间相互作用对*Roseburia*属的影响, 但也不除外我们研究纳入样本量较少产生的研究误差, 此差异需要更多大样本乙型肝炎肝硬化合并糖尿病队列研究解释.

总之, 虽然乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者的肠道菌群虽然结构组成相似, 但是后者肠道内的致病菌更多, 菌群失调更为严重, 尤其以变形菌门、*Roseburia*属的增多及双歧杆菌属的减少更为突出, 这些差异有可能成为治疗乙型肝炎肝硬化合并糖尿病的新靶点. 但因本研究纳入病例数较少, 不除外因此对结果造成统计学误差, 所以仍需大样本数据尤其对益生菌及*Roseburia*菌的进一步的探讨, 更需对产生这种差异的机制进行研究. 从而深入透彻的认识肠道菌群在肝硬化合并糖尿病中的作用, 以期对肝硬化合并糖尿病的

诊疗提供新思路.

文章亮点

实验背景

乙型肝炎肝硬化是由乙型肝炎病毒慢性感染导致肝脏进行性弥漫性纤维化病变, 合并糖尿病的发生会增加感染及其他并发症的风险, 肠道菌群与糖尿病及肝硬化间关系是近几年的研究热点, 几乎没有肝硬化及肝硬化合并糖尿病患者肠道菌群的比较研究, 本研究通过分析乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者的肠道菌群结构, 观察两组肠道菌群间是否存在显著差异.

实验动机

通过分析乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者的肠道菌群结构, 观察两组肠道菌群间是否存在显著差异, 还观察某些菌群是否可能有成为治疗肝硬化合并糖尿病潜在价值.

实验目标

本研究旨在通过分析乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者的肠道菌群结构, 观察两组肠道菌群间是否存在显著差异, 以期对肝硬化合并糖尿病的诊疗提供新思路.

实验方法

收集9例乙型肝炎肝硬化和6例乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者粪便标本, 提取DNA, 进行PCR扩增并纯化产物, 利用高通量测序平台测序及生物信息学分析两组患者的粪便菌群16SrDNA的V3-V6区域.

实验结果

本研究发现乙型肝炎肝硬化组和乙型肝炎肝硬化合并糖尿病组菌群组成结构相似, 仅存在个别菌群数量上的差异.

实验结论

乙型肝炎肝硬化与乙型肝炎肝硬化合并糖尿病患者的肠道菌群结构具有相似性, 但又存在特异性, 某些菌群的差异可能成为治疗乙型肝炎肝硬化合并糖尿病的新靶点.

展望前景

本研究纳入病例数较少, 仍需大样本数据尤其对益生菌及*Roseburia*菌的进一步的探讨, 更需对产生这种差异的机制研究. 从而深入透彻的认识肠道菌群在肝硬化合并糖尿病中的作用, 以期对肝硬化合并糖尿病的诊疗提供新思路.

4 参考文献

- Nicholson W, Wang NY, Baptiste-Roberts K, Chang YT, Powe NR. Association between adiponectin and tumor necrosis factor- α levels at eight to fourteen weeks gestation and maternal glucose tolerance: the Parity, Inflammation, and Diabetes Study. *J Womens Health (Larchmt)* 2013; 22: 259-266 [PMID: 23480316 DOI: 10.1007/s11011-012-9354-2]
- Galvão FH, Waitzberg DL, Bacchella T, Gama-Rodrigues J, Machado MC. Small intestine transplantation. *Arq Gastroenterol* 2003; 40: 118-125 [PMID: 14762483]
- 韩莹, 丁惠国. 抗病毒治疗乙型肝炎肝硬化的过去、现在和将来. *实用肝脏病杂志* 2015; (5): 453-456
- Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20: 1183-1197 [PMID: 9203460]
- Paun A, Danska JS. Modulation of type 1 and type 2 diabetes risk by the intestinal microbiome. *Pediatr Diabetes* 2016; 17: 469-477 [PMID: 27484959 DOI: 10.1111/pedi.12424]
- Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, Noble NA, Unser AB, Daita K, Fisher AR, Sikaroodi M, Gillevet PM. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol* 2014; 60: 940-947 [PMID: 24374295 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.12.019]
- Sarangi AN, Goel A, Singh A, Sasi A, Aggarwal R. Faecal bacterial microbiota in patients with cirrhosis and the effect of lactulose administration. *BMC Gastroenterol* 2017; 17: 125 [PMID: 29179682 DOI: 10.1186/s12876-017-0683-9]
- Wei X, Yan X, Zou D, Yang Z, Wang X, Liu W, Wang S, Li X, Han J, Huang L, Yuan J. Abnormal fecal microbiota community and functions in patients with hepatitis B liver cirrhosis as revealed by a metagenomic approach. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 175 [PMID: 24369878 DOI: 10.1186/1471-1230X-13-175]
- Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, Guo J, Le Chatelier E, Yao J, Wu L, Zhou J, Ni S, Liu L, Pons N, Batto JM, Kennedy SP, Leonard P, Yuan C, Ding W, Chen Y, Hu X, Zheng B, Qian G, Xu W, Ehrlich SD, Zheng S, Li L. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature* 2014; 513: 59-64 [PMID: 25079328 DOI: 10.1038/nature13568]
- Bajaj JS, Hylemon PB, Ridlon JM, Heuman DM, Daita K, White MB, Monteith P, Noble NA, Sikaroodi M, Gillevet PM. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G675-G685 [PMID: 22821944 DOI: 10.1152/ajpgi.001522012]
- Lunia MK, Sharma BC, Sachdeva S. An open label randomised controlled trial of probiotics for primary prophylaxis of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 2013; 58: S35 (abstract) [DOI: 10.1016/S0168-8278(13)60080-X]
- Remely M, Dworzak S, Hippe B, Zwielehner J, Aumüller E, Brath H. Abundance and diversity of microbiota in type 2 diabetes and obesity. *Diabetes Metab* 2013; 4: 1-8
- Larsen N, Vogensen FK, van den Berg FW, Nielsen DS, Andreassen AS, Pedersen BK, Al-Soud WA, Sørensen SJ, Hansen LH, Jakobsen M. Gut microbiota in human adults with type 2 diabetes differs from non-diabetic adults. *PLoS One* 2010; 5: e9085 [PMID: 20140211 DOI: 10.1371/journal.pone.0009085]
- Muñoz-Garach A, Diaz-Perdigones C, Tinahones FJ. Gut microbiota and type 2 diabetes mellitus. *Endocrinol Nutr* 2016; 63: 560-568 [PMID: 27633134 DOI: 10.1016/j.endonu.2016.08.002]
- Karlsson FH, Tremaroli V, Nookaew I, Bergström G, Behre CJ, Fagerberg B, Nielsen J, Bäckhed F. Gut metagenome in European women with normal, impaired and diabetic glucose control. *Nature* 2013; 498: 99-103 [PMID: 23719380 DOI: 10.1038/nature12198]
- Sedighi M, Razavi S, Navab-Moghadam F, Khamseh ME, Alaei-Shahmiri F, Mehrdash A, Amirmozafari N. Comparison of gut microbiota in adult patients with type 2 diabetes and healthy individuals. *Microb Pathog* 2017; 111: 362-369 [PMID: 28912092 DOI: 10.1016/j.micpath.2017.08.038]
- Yadav H, Jain S, Sinha PR. Antidiabetic effect of probiotic dahi containing *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in high fructose fed rats. *Nutrition* 2007; 23: 62-68 [PMID: 17084593 DOI: 10.1016/j.nut.2006.09.002]
- Lumeng CN, Saltiel AR. Inflammatory links between obesity and metabolic disease. *J Clin Invest* 2011; 121: 2111-2117 [PMID: 21633179 DOI: 10.1172/JCI57132]
- Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nat Rev Immunol* 2011; 11: 85-97 [PMID: 21252989]
- Louis P, Flint HJ. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiol Lett* 2009; 294: 1-8 [PMID: 19222573 DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01514.x]
- McNeil NI. The contribution of the large intestine to energy supplies in man. *Am J Clin Nutr* 1984; 39: 338-342 [PMID: 6320630]

编辑: 崔丽君 电编: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

