

炎症性肠病非药物治疗的进展

文韵玲, 牛俊坤, 缪应雷

■背景资料

炎症性肠病 (inflammatory bowel disease, IBD) 的发病机制迄今尚不清楚, 现今的药物治疗手段难以彻底治疗IBD且存在不良反应。近年来如粪菌移植 (fecal microbiota transplantation, FMT)、干细胞移植及粒细胞单核细胞吸附分离 (granulocyte and monocyte apheresis, GMA) 等非药物手段凸显出巨大治疗潜力, 已成为IBD重要的辅助治疗方法。

文韵玲, 牛俊坤, 缪应雷, 云南省消化疾病研究所 昆明医科大学第一附属医院消化内科 云南省昆明市 650032
文韵玲, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病发病机制的研究。
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81160055, 81260074
云南省卫生厅卫生系统学科带头人培养计划基金资助项目, No. D-201215
云南省社会发展科技计划基金资助项目, No. 2013CA021
云南省消化疾病研究所基金资助项目, No. 2014NS123
作者贡献分布: 本文综述由文韵玲与牛俊坤完成; 缪应雷审核。
通讯作者: 缪应雷, 主任医师, 博士生导师, 650032, 云南省昆明市五华区西昌路295号, 云南省消化疾病研究所, 昆明医科大学第一附属医院消化内科, myldu@sina.com
电话: 0871-5324888-2532
收稿日期: 2015-06-26 修回日期: 2015-07-13
接受日期: 2015-07-24 在线出版日期: 2015-08-18

Non-drug treatment of inflammatory bowel disease

Yun-Ling Wen, Jun-Kun Niu, Ying-Lei Miao

Yun-Ling Wen, Jun-Kun Niu, Ying-Lei Miao, Yunnan Institute of Digestive Disease; Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81160055 and 81260074; Medical Academic Leader Training Program of Yunnan Provincial Health Bureau, No. D-201215; Social Development Science and Technology Project of Yunnan Province, No. 2013CA021; Foundation of Yunnan Institute of Digestive Disease, No. 2014NS123

Correspondence to: Ying-Lei Miao, Chief Physician, Yunnan Institute of Digestive Disease; Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Wuhua District, Kunming 650032, Yunnan Province, China. myldu@sina.com

Received: 2015-06-26 Revised: 2015-07-13

Accepted: 2015-07-24 Published online: 2015-08-18

idiopathic, chronic, nonspecific inflammatory disease. IBD is comprised of two major types, ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD), and is hard to be cured. Currently, aminosalicyclic acid preparations, corticosteroids and immunosuppressant drugs are the main treatments for the disease, but there exists poor drug efficacy in some cases, and patients are prone to side effects. Biological agents greatly improve the efficacy, but for a small number of refractory patients, comprehensive intervention containing non-drug treatments is needed. Non-drug treatments like fecal microbiota transplantation (FMT), stem cell transplantation, and granulocyte and monocyte apheresis (GMA) have shown enormous potential for the treatment of IBD, and have become a hot spot of IBD treatment research in recent years. In this paper, we review the non-drug treatments for IBD, in order to broaden the horizons of clinicians in the treatment of IBD.

© 2015 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Inflammatory bowel disease; Fecal microbiota transplantation; Stem cell transplantation; Granulocyte and monocyte apheresis; Research advance

Wen YL, Niu JK, Miao YL. Non-drug treatment of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2015; 23(23): 3720-3728 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3720.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v23.i23.3720>

■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院

Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is an

摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)

是一种病因尚不明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 其病情反复发作、迁延不愈, 是一种难治性疾病。目前, 氨基水杨酸制剂、糖皮质激素以及免疫抑制剂等药物是该病的主要治疗措施, 然而部分病例药物疗效欠佳, 而且容易出现药物不良反应, 虽然生物制剂大大提高了疗效, 但是少量难治性病例往往需要联合非药物治疗方法综合干预。现在运用于临床的粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)、干细胞移植(stem cell transplantation)及粒细胞单核细胞吸附分离(granulocyte and monocyte apheresis, GMA)等非药物手段凸显出巨大治疗潜力, 成为近年来IBD治疗的研究热点。本文就此3种治疗方法的研究进展作一综述, 以期拓宽临床医师的治疗视野。

© 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 炎症性肠病; 粪菌移植; 干细胞移植; 粒细胞单核细胞吸附分离; 研究进展

核心提示: 本文主要介绍粪菌移植(fecal microbiota transplantation)、干细胞移植(stem cell transplantation)及粒细胞单核细胞吸附分离(granulocyte and monocyte apheresis)这3种非药物手段治疗炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的研究进展, 其针对IBD发生发展的不同环节发挥治疗作用, 在适应证方面也各有优势。

文韵玲, 牛俊坤, 缪应雷. 炎症性肠病非药物治疗的进展. 世界华人消化杂志 2015; 23(23): 3720-3728 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/23/3720.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v23.i23.3720>

0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因尚不明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。遗传易感个体受环境因素影响导致肠道菌群发生改变并针对此产生的异常免疫应答是目前认为的发病机制^[1]。IBD在不同国家、地区、种族人群中的发病率不同。欧洲、北美洲、亚洲的UC最高发病率分别为24.3/10万、19.2/10万、6.3/10万, CD最高发病率分别为12.7/10万、

20.2/10万、5.0/10万^[2]。IBD既往多见于西方发达国家, 但近20年来, 我国IBD病例迅猛增加, 粗略推测UC患病率为11.6/10万^[3], CD患病率为1.4/10万^[4], 给患者的健康、生活质量和社会经济效益造成严重影响。

目前治疗IBD的重点是控制黏膜炎症和抑制过度激活的免疫反应。常规的治疗药物包括氨基水杨酸制剂、激素、免疫抑制剂和近年来发展迅速的生物制剂。其中, 氨基水杨酸制剂用于轻、中度UC的诱导缓解和维持治疗, 但疗效差异大, 维持期容易复发; 激素仅用于中、重度患者诱导缓解, 不能用于维持治疗, 许多患者出现激素抵抗或激素依赖, 并且其不良反应不可忽视; 免疫抑制剂用于激素抵抗型IBD的转化治疗和维持缓解, 但骨髓抑制、感染、脱发以及影响生育是无法回避的问题^[5]; 生物制剂不仅存在机会性感染、神经脱髓鞘及恶性肿瘤等风险^[6-8], 而且超高的价格限制其在我国广泛使用。现今的药物疗法难以彻底治疗IBD且均存在不良反应和并发症, 进一步增加了疾病的复杂性, 因此寻找新的治疗途径已成为当务之急。新兴的非药物治疗方法如粪菌移植(fecal microbiota transplantation, FMT)、干细胞移植(stem cell transplantation)、粒细胞单核细胞吸附分离(granulocyte and monocyte apheresis, GMA)等已取得突出进展, 并各自显现出其独特优势, 给IBD的治疗带来了全新思路, 为将来针对性、个性化治疗IBD提供充分准备, 本文就IBD的非药物治疗手段研究进展作一综述。

1 FMT

1.1 FMT的原理和机制 胃肠道是人体最大的细菌聚集地, 有约100万亿个细菌, 是人类细胞总数的10倍, 肠道细菌基因是人类基因组的150倍, 正常情况下, 肠道菌群维持着自身微妙的稳定^[9]。肠道菌群对于维持正常内稳态, 调节宿主免疫系统有关作用, 并影响宿主的发育、生理机能及代谢等功能^[10]。微生物在IBD发病中起重要作用, 机体受到遗传、环境、饮食、药物等因素的影响, 引起肠道菌群发生失调, 异常的细菌及其产物破坏肠道黏膜、诱导异常免疫应答, 导致疾病的发生。虽然目前尚未发现确切的致病菌, 但研究^[11-13]提示IBD患者肠道菌群微生物的丰度和多样性降低, 厚壁菌

■ 研究前沿

IBD的非药物治疗方法已取得突破性进展, 但是其临床应用和普及仍存在诸多问题, 未来需要更多高质量及大样本临床研究, 进一步探讨其临床疗效及潜在的临床运用价值。

■ 相关报道

近年来肠道菌群与人类健康及疾病的关系受到关注, FMT旨在通过重建患者正常肠道菌群进而治疗IBD, 现已有许多研究报道了FMT治疗IBD的有效性, 并通过微生物分析发现其可明显改善肠道菌群组成, 提高肠道菌群多样性。

门和拟杆菌门减少, 放线菌门和变形菌门增加。研究^[14]证实采用益生菌治疗IBD可以有效诱导和维持缓解, 特别是对于UC患者, 这提示调整肠道菌群在IBD的治疗中是有意义的。FMT治疗方法旨在重建具有正常功能的肠道菌群, 可在短时间内明显改善患者肠道菌群的构成, 实现肠道及肠道外疾病的治疗, 是近年来的研究焦点。FMT治疗IBD的机制尚不明确, 已有研究表明移植后的受体肠道菌群构成可在较长时间里与供体保持一致, 可能通过竞争抑制致病微生物、调节免疫和代谢过程来发挥生物学效应。

1.2 FMT治疗IBD FMT治疗在我国历史久远, 东晋时期葛洪编著的《肘后备急方》及后来李时珍的《本草纲目》中都提及了运用人粪治疗疾病^[15]。在现代医学中, Eiseman等^[16]于1958年首次发表了关于FMT的报告, 该团队使用粪便灌肠成功治愈了4例伪膜性结肠炎患者。随后的临床实践证实FMT是复发性难治性难辨梭状芽胞杆菌感染(*Clostridium difficile* infection, CDI)肠炎安全有效的治疗措施, 其临床缓解率可达89.1%^[17]。荷兰的团队开展了FMT治疗CDI的首项随机对照试验^[18], 这项意义重大的研究结果发表于新英格兰杂志, 结果显示常规万古霉素治疗成功率仅为31%, 相比之下, 灌注供体粪便能明显有效地治疗复发性CDI, 16例研究参与者中, 有13例患者(81%)在一次粪便灌注后感染消退, 另有2例在第二次输注粪便后被成功治愈, 此外, 接受供体粪便输注后, 患者排泄物菌群多样性增加, 与健康供体相似, 拟杆菌门种类和梭菌菌群IV、XIVa增加, 变形菌门减少, 更重要的是FMT安全性得到肯定, FMT组不良事件与万古霉素组未见显著组间差异, 仅有输注组输注当天出现轻度腹泻、腹部绞痛。FMT治疗CDI的有效性启发了学者运用FMT治疗CDI合并IBD的患者, 并取得显著疗效, 开启了FMT治疗IBD的新纪元。

自FMT运用于IBD后, 众多临床研究^[19]表明FMT在难治性和复发性UC的治疗中具有巨大价值, 特别是对于合并CDI的患者, 疗效更为显著, 其不仅可以达到临床缓解, 甚至可达到黏膜愈合。一项采用FMT治疗UC的病例报道^[20]显示, 治疗1 wk后患者的部分症状得到改善, 治疗4 mo后所有患者症状完全缓解, 在随后的1-13年随访中, 全部患者均未出现UC的

临床症状、内镜下或组织学特征。近期, 一项纳入70例患者, 采用FMT治疗活动性UC患者的随机对照试验^[21]结果表明, 治疗第7周时治疗组和对照组的缓解率分别为24%和5%, 而且治疗组患者的肠道微生物多样性显著提高。目前开展的临床研究证实FMT治疗CD是安全的, 虽然在疗效上还存在争议, 但多数研究仍显示FMT能有效诱导活动期CD达到缓解。Suskind等^[22]对活动性CD患者行鼻胃管FMT治疗, 首次证实FMT可能为CD的治疗选择方案, 值得一提的是, 该研究中少数患者出现如腹痛、腹胀、腹泻的不良反应均为自限性的。另一项研究^[23]对难治性CD患者行FMT治疗, 治疗1 mo后缓解率为76.7%, 并且宏基因组分析证实受体粪便标本的微生物和供体纯化后的粪便微生物具有高度一致性。一项纳入122例患者的Meta分析^[24]显示FMT治疗IBD缓解率为36.2%, 其中UC组为22%, CD组为60.5%, CD组疗效优于UC组。与此相反, Borody等^[25]总结了一些FMT治疗CD效果不佳的报告, 提出CD对FMT的应答效果总体上低于UC, 认为既往关于FMT治疗CD有效的报道, 可能是因为FMT针对结肠菌群发生显著失调之前的短病程CD有效, 也可能是由于使用的抗生素发挥了作用, 此外, 某些患者菌群失调导致的临床症状相对更敏感、易被逆转。总体来说, UC, 特别是合并CDI的患者能从FMT治疗中获益更多, 但FMT对CD的疗效仍存在争议, 尚需更多的临床实验评估。

1.3 FMT的前景和待解决问题 迄今为止, FMT被认为是安全有效的治疗方法, 未见严重不良事件。部分患者接受FMT治疗当天出现腹泻, 少数患者出现暖气、腹胀、腹痛、便秘等症状在移植后2 d内大部分消失^[26]。另有报道^[27]显示个别患者在首次接受移植后出现寒战、发热等症状, 但大都可自行缓解。FMT采用粪便作为治疗材料与传统理念不同, 因此, 其伦理问题、公众接受度必然受到关注。调查研究^[28]显示绝大多数患者对FMT充满兴趣, 其中46%的患者愿意接受FMT治疗, 该结果鼓舞人心, 为将来FMT标准化、大规模运用于临床提供了支持。已有的研究证实了FMT治疗的有效性和安全性, 但FMT在供体选择、粪菌制备、给药剂量及途径等仍缺乏权威的标准指南。目前大量地采用FMT治疗IBD的临床试验、FMT

治疗儿童IBD患者的临床试验正陆续开展, Clinical Trial.gov已经登记19项FMT治疗UC, 9项CD的临床研究, 我国南京医科大学张发明教授也开展了一项FMT治疗UC的临床试验(NCT01790061), 目前正在招募受试者, 并期望通过微生物分析, 特别是肠道菌群宏基因组测序, 进一步探索FMT治疗IBD的疗效和明确有效菌群, 以及FMT在诱导缓解和预防复发中的作用, 使FMT最终高效安全作用于包括儿童在内的IBD患者。

2 干细胞移植

2.1 干细胞移植的原理和机制 肠黏膜屏障在IBD的发病机制中起重要作用, 肠黏膜屏障主要包括以上皮细胞为主的机械屏障和以黏膜下层免疫细胞为主的免疫屏障。上皮细胞作为肠道防御的第一线, 其本身的防御修复功能是整个黏膜保护功能的关键阶段。正常生理条件下, 肠道上皮细胞能不断的自我更新, 得益于干细胞的分化、成熟与迁移, 保证屏障功能完好。干细胞是具有多向分化潜能的细胞, 按发育阶段分为胚胎干细胞和成体干细胞, 成体干细胞按组织来源分为造血干细胞、间充质干细胞、肠道干细胞、脂肪来源干细胞和近年兴起的羊膜源干细胞等。目前, 采用干细胞移植治疗IBD已取得了初步进展。干细胞能不断增殖分化, 修复损伤黏膜, 调节失衡的免疫系统, 恢复免疫系统网络的完整性, 维持大量记忆细胞对环境抗原的免疫效应。有研究认为间充质干细胞能有效调节固有免疫系统, 调节T细胞反应, 抑制T、B淋巴细胞活化, 降低树突细胞抗原呈递作用, 并分泌细胞因子调节免疫。除外免疫调节, 干细胞的归巢、分化和增殖能促进肠黏膜受损血管的生成, 使氧和营养物质输送到损伤组织, 修复肠黏膜。研究发现移植的间充质干细胞可分化为结肠间质细胞, 表达血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)和转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β , 促进受损血管的生成, 加速结肠炎愈合^[29]。

2.2 干细胞移植治疗IBD 1993年, Drakos等^[30]首次报道了1例非霍奇金淋巴瘤合并CD患者在接受同种异体造血干细胞后其CD病情得到改善。此后陆续有血液系统疾病合并IBD患者进行干细胞移植后IBD得到了意想不到的缓解,

这引起了学者的关注, 于是开启了干细胞移植治疗IBD的研究。

大量的基础研究正慢慢揭开干细胞移植作用于IBD的面纱。Chen等^[31]将骨髓源间充质干细胞移植给TNBS诱导的结肠炎小鼠, 结果证实间充质干细胞通过调节炎症和自身免疫反应, 使结肠炎小鼠获得了临床和组织学的缓解, 还通过下调Th1-Th17驱使的自身免疫和促炎反应、上调Th2的活性, 发挥治疗作用。实验中采用绿色荧光蛋白追踪细胞, 显示间充质干细胞归巢于损伤组织, 促进肠上皮细胞增殖和肠道干细胞分化。Shaker等^[32]及Yui等^[33]从健康小鼠的结肠中获取单个肠道干细胞经Lgr5⁺标记后进行体外培养, 该干细胞增殖分化生成上皮组织样类器官, 后灌肠移植到模型小鼠肠腔内, 类器官黏附于损伤区域, 生成上皮细胞, 小鼠体质量增加、疾病缓解, 荧光追踪显示移植的细胞团在25 wk后仍然自我更新, 该研究提示单个肠道干细胞通过体外培养可增殖为具有功能的类器官, 移植到IBD患者肠腔内能持续更新, 修复受损组织, 改善症状。这项里程碑式的研究, 给我们带来全新的观念, 干细胞移植可与再生医学相结合治疗IBD。

目前, 干细胞移植对IBD的治疗主要集中于传统治疗无效的难治性IBD。Lazebnik等^[34]采用间充质干细胞移植和IBD常规药物分别治疗UC患者, 并进行了2年的随访, 结果显示间充质干细胞移植治疗组72.7%的患者其临床、内镜下、组织学炎症活动指数低于5-氨基水杨酸和糖皮质激素治疗组, 此外, 前者的缓解持续时间延长, 其复发风险和住院率低于后者。该研究还提出了间充质干细胞移植可作为UC治疗的新选择, 其具有强大的免疫调节作用, 并促进肠道黏膜的修复。总体上, 干细胞移植治疗难治性UC的疗效低于难治性CD。许多重度难治性CD病情进展快、药物抵抗, 即使联合使用免疫抑制剂和生物制剂也不能达到长久缓解, 干细胞移植对治疗重度难治性CD具有巨大潜力。近年来, 已有造血干细胞移植成功治疗难治性CD的病例报告^[35,36]显示患者对该治疗具有良好耐受性, 可在治疗后取得完全缓解。

肛周瘘管是CD典型的、破坏性的症状, 药物和手术治疗效果均不理想, 然而, 干细胞移植在治疗合并肛周瘘管的CD中却显示出巨

■创新盘点

本文荟萃了最新的研究文献, 将IBD的3种非药物治疗方法进行了回顾、总结、对比、展望, 为将来针对性、个性化治疗IBD提供依据。

应用要点

传统药物对部分IBD作用有限且可能出现不良反应, 尤其是一些难治性IBD患者. FMT、干细胞移植、GMA等非药物治疗方法为IBD的治疗提供了新思路, 极大地拓宽了临床医师的治疗视野.

大的优越性. 一项纳入49例复杂性肛周瘘管患者的多中心、随机对照II期临床试验^[37]给予实验组脂肪来源的干细胞结合纤维蛋白胶治疗, 对照组仅使用纤维蛋白胶, 治疗后随访第8周和1年时患者的瘘管愈合情况, 结果显示实验组瘘管愈合率为71%, 对照组为16%, 证实脂肪源性干细胞移植治疗复杂性肛周瘘管是一种安全有效的方法. Lee等^[38]亦将自体脂肪来源干细胞移植到CD合并肛周瘘管患者, 治疗8 wk后82%的患者瘘管完全愈合, 随访一年88%的患者能维持瘘管封闭愈合. 该研究显示合并肛周瘘管的CD患者对脂肪源干细胞具有良好耐受性, 且能维持瘘管完全关闭. 但目前脂肪源干细胞的获取需利用抽脂术、细胞扩增等手段, 制备复杂、成本高昂, 限制了其在临床的广泛应用, 但是干细胞移植可能为难治性CD和CD相关瘘管的新治疗选择.

2.3 干细胞移植的前景和待解决问题 干细胞移植治疗IBD取得了一定成就, 目前大量的干细胞移植治疗CD的临床试验正在进行, Clinical Trial.gov已经登记8项FMT治疗CD的临床研究, 其中两项已经终止, 其他6项正在招募受试者, 只有1项治疗UC的临床试验, 干细胞移植治疗IBD仍处于临床实验性阶段, 而且前景尚不明确, 未大规模应用于临床, 有许多亟待解决的问题: 如干细胞调节肠道免疫和修复上皮组织的详细机制, 干细胞移植的适应症、最佳时机、选择剂量和方式途径, 干细胞移植如何与再生医学相结合, 干细胞移植与诱导新生肿瘤的关系等. 疗效评估尚需大样本的基础及临床研究证实.

3 GMA

3.1 GMA的原理和机制 细胞因子在IBD的发生发展中起着至关重要的作用, 从多层次、多位点参与炎症反应. 其中, 促炎因子和抗炎因子的失衡是导致病情迁延不愈和黏膜损伤的最重要因素^[39]. IBD患者肠道稳态打破后, 肠道通透性增加, 巨噬细胞和树突状细胞识别进入黏膜下层的抗原或者细菌及其裂解物, 抗原提呈细胞捕捉的抗原通过Toll样和NOD样受体激活自身免疫应答, 启动核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)、TGF- β 及丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)等信号通路, 引发肿瘤坏死因子(tumor necrosis

factor, TNF)- α 、白介素(interleukin, IL)-1 β 和IL-23等促炎细胞因子“瀑布”样释放, 损伤上皮细胞, 上皮细胞损伤又致使上述过程恶性循环, 最终导致IBD患者体内促炎因子表达水平持续性升高, 加重炎症反应和黏膜损伤^[40,41]. 研究^[42,43]证明, IBD患者体内粒细胞、单核细胞/巨噬细胞显著增加, 他们是促炎因子的主要来源, 并伴有抗原抗体复合物和T细胞异常. 基于以上认识, 日本的团队研发了以白细胞为治疗靶点的GMA治疗术, 从患者外周血中选择性吸附分离粒细胞、单核细胞/巨噬细胞, 清除体内促炎因子, 从而治疗IBD. GMA包括两种治疗系统^[44]: Adacolumn和Cellsorba. Adacolumn可有效地清除约65%的粒细胞和55%的单核细胞^[45,46], 减少如TNF- α 、IL-1b、IL-1ra、IL-6及IL-8等促炎因子的释放, 增加抗炎因子, 调节免疫系统功能^[47]. 经Adacolumn治疗, 可增加具有抗炎效应的IL-1受体拮抗剂的表达, 促进粒细胞凋亡. 值得指出的是, Adacolumn还移除了大量的能引发免疫激活的树突状细胞, 增加了具有免疫调节功能、能抑制消化系过度免疫的CD4⁺CD25⁺调节T细胞^[48]. Cellsorba功效和过程与Adacolumn非常类似, 唯一不同的就是Cellsorba同时移除了淋巴细胞, 这可能增加自身免疫性疾病的风险, 导致该系统的应用受到一定限制. 所以, 在欧洲Adacolumn较Cellsorba使用更频繁. Tomiyasu等^[49]对DSS诱导的结肠炎小鼠模型行粒细胞、单核细胞吸附分离治疗, 认为下调TNF- α 的表达可能为其发挥抗炎效应的一个机制. Toya等^[50]通过检测活动性UC患者经GMA治疗前后的血清细胞因子水平, 发现治疗后抗炎因子IL-10相比于治疗前显著增高, 认为GMA可能通过促进抗炎因子IL-10的分泌来发挥治疗作用. 但是, GMA的作用模式和机制尚不完全清楚, 是当前的研究热点.

3.2 GMA治疗IBD 已有报道采用GMA治疗UC, 能安全、有效地诱导和维持缓解. Fukunaga等^[51]对33例活动性、激素抵抗性UC患者进行了连续10 wk 1次/wk GMA的治疗诱导缓解, 之后随机分为实验组、安慰剂组和空白组, 实验组行1次/mo GMA治疗, 安慰剂组接受1次/mo 缺少GMA吸附柱的体外循环治疗, 48 wk后测定3组复发率, 结果分别为60.0%、90.9%和81.8%, 证明UC患者通过1次/wk GMA治疗达到缓解以后, 接受1次/mo GMA可以潜在地维

持缓解、预防复发。另有研究^[52]对40例难治性慢性活动性IBD患者(15例UC, 25例CD)进行5-10个疗程的GMA治疗并做了长期追踪随访。结果显示85%的患者出现临床缓解, 65%的患者症状完全缓解, 66%的UC患者和64%的CD患者维持临床和内镜下缓解的平均时间达到14 mo。但是, 有学者对GMA治疗CD的疗效提出了质疑。Sands等^[53]开展了一项针对GMA治疗中到重度CD的首个随机、双盲、对照试验, 结果证明CD患者对GMA耐受性良好, 但GMA未能诱导CD临床缓解或应答。另有研究报道GMA与药物联合治疗IBD能取得较好疗效。一项来自日本的研究^[54]采用GMA联合硫唑嘌呤对早期CD患者进行治疗, 结果显示联合治疗可快速高效诱导缓解, 并且50%的患者达到黏膜愈合。Fukunaga等^[55]报道了1例GMA和英夫利昔单抗联合治疗CD能有效维持临床缓解和内镜下缓解的病例, 提出GMA能增强英夫利昔效应, 弥补英夫利昔多次重复治疗可能产生失效的不足。因此, GMA在UC中的应用较成熟, 其还可作为传统治疗药物的辅助疗法, 但在CD中的应用有待进一步研究。

3.3 GMA的前景和待解决问题 GMA治疗具有良好的安全性, 报道的不良反应均是轻微的, 典型的不良反应有头晕、头痛、恶心、脸红和发热^[56], 至今未发现因不良事件而治疗中断的报道。GMA以IBD的加重因素为治疗靶点是一种合理的手段, 其清除体内过量的致病物质, 而不引入异物到体内, 具有药物干预无法匹敌的优势。目前, GMA治疗IBD的研究结果既有成功的, 也有令人失望的, Clinical Trial.gov已经登记3项GMA治疗UC的临床研究, 其中两项已经完成, 但是还未发表研究结果, 另外1项正在招募受试者。未来需要更多高质量的随机对照试验和揭示GMA治疗模式研究, 以促进GMA最终以安全、高效的方式登上临床治疗IBD的舞台。

4 结论

IBD主要是由于肠道菌群失调, 机体对此产生异常免疫应答, 激活粒细胞单核细胞释放过量细胞因子, 导致肠道黏膜损伤, 异常微生物及其产物又通过损伤部位再次进入机体引发免疫反应, 如此形成回路加重和维持炎症反应。

以上3种非药物治疗手段针对疾病发生发展的不同环节发挥治疗作用, 在适应证方面也各有优势。FMT治疗IBD合并CDI、严重复发性难治性UC具有巨大潜能; 干细胞移植更倾向于运用到IBD合并血液系统疾病、重度难治性CD及CD合并瘘道的患者; GMA较其他两种治疗方法出现较晚, 现已涌现出大量研究证明其治疗UC有效, 作为一种接近人体自然生理过程的血液净化疗法, 其具有巨大潜力作为免疫抑制剂和生物制剂有效且安全的辅助治疗手段。

传统药物对部分IBD作用有限且可能出现不良反应, 尤其是一些难治性IBD患者。FMT、干细胞移植、GMA等非药物治疗方法为IBD患者的治疗提供了新的希望, 目前已成为IBD重要的辅助治疗方法。但是, 其临床应用和普及仍存在诸多问题, 且缺乏他们之间的联合运用研究。未来需要更多高质量及大样本临床研究, 进一步探讨其临床疗效及潜在的临床运用价值, 最终应用于临床, 针对疾病的不同分型实施个性化治疗, 造福广大IBD患者。

■名词解释

肠黏膜屏障: 肠黏膜屏障由机械屏障(肠上皮细胞)、化学屏障(肠黏液、消化液等)、免疫屏障(肠相关淋巴组织、分泌型IgA)、生物屏障(肠道正常菌群)构成。研究表明肠黏膜屏障损伤与IBD密切相关。

5 参考文献

- 1 Cader MZ, Kaser A. Recent advances in inflammatory bowel disease: mucosal immune cells in intestinal inflammation. *Gut* 2013; 62: 1653-1664 [PMID: 24104886 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303955]
- 2 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54.e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]
- 3 Wang Y, Ouyang Q. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1450-1455 [PMID: 17716349 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04873.x]
- 4 APDW2004 Chinese IBD Working Group. Retrospective analysis of 515 cases of Crohn's disease hospitalization in China: nationwide study from 1990 to 2003. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1009-1015 [PMID: 16724987 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04140.x]
- 5 Bryant RV, Brain O, Travis SP. Conventional drug therapy for inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 2015; 50: 90-112 [PMID: 25523560 DOI: 10.3109/00365521.2014.968864]
- 6 Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, Siegel JN, Braun MM. Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N*

同行评价

本研究针对目前IBD临床研究的热点问题, 聚焦于FMT、干细胞移植、GMA这3种最新的非药物治疗方法, 资料全面, 分析结果合理、恰当, 对于读者了解目前IBD的新疗法有重要的参考价值。

- Engl J Med 2001; 345: 1098-1104 [PMID: 11596589 DOI: 10.1056/NEJMoa011110]
- 7 Gupta G, Gelfand JM, Lewis JD. Increased risk for demyelinating diseases in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2005; 129: 819-826 [PMID: 16143121 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.06.022]
- 8 Brown SL, Greene MH, Gershon SK, Edwards ET, Braun MM. Tumor necrosis factor antagonist therapy and lymphoma development: twenty-six cases reported to the Food and Drug Administration. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 3151-3158 [PMID: 12483718 DOI: 10.1002/art.10679]
- 9 Wu GD, Lewis JD. Analysis of the human gut microbiome and association with disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013; 11: 774-777 [PMID: 23643636 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.03.038]
- 10 Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota--masters of host development and physiology. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11: 227-238 [PMID: 23435359 DOI: 10.1038/nrmicro2974]
- 11 Dasgupta S, Kasper DL. Relevance of commensal microbiota in the treatment and prevention of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 2478-2489 [PMID: 23846489 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318297d884]
- 12 Michail S, Durbin M, Turner D, Griffiths AM, Mack DR, Hyams J, Leleiko N, Kenche H, Stolfi A, Wine E. Alterations in the gut microbiome of children with severe ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 1799-1808 [PMID: 22170749 DOI: 10.1002/ibd.22860]
- 13 Chassaing B, Darfeuille-Michaud A. The commensal microbiota and enteropathogens in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2011; 140: 1720-1728 [PMID: 21530738 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.054]
- 14 Meijer BJ, Dieleman LA. Probiotics in the treatment of human inflammatory bowel diseases: update 2011. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45 Suppl: S139-S144 [PMID: 21992953 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31822103f7]
- 15 Zhang F, Luo W, Shi Y, Fan Z, Ji G. Should we standardize the 1,700-year-old fecal microbiota transplantation? *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1755; author reply p.1755-p.1756 [PMID: 23160295 DOI: 10.1038/ajg.2012.251]
- 16 Eiseman B, Silen W, Bascom Gs, Kauvar AJ. Fecal enema as an adjunct in the treatment of pseudomembranous enterocolitis. *Surgery* 1958; 44: 854-859 [PMID: 13592638]
- 17 Kassam Z, Lee CH, Yuan Y, Hunt RH. Fecal microbiota transplantation for Clostridium difficile infection: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 500-508 [PMID: 23511459 DOI: 10.1038/ajg.2013.59]
- 18 van Nood E, Vrieze A, Nieuwdorp M, Fuentes S, Zoetendal EG, de Vos WM, Visser CE, Kuijper EJ, Barteldsman JF, Tijssen JG, Speelman P, Dijkgraaf MG, Keller JJ. Duodenal infusion of donor feces for recurrent Clostridium difficile. *N Engl J Med* 2013; 368: 407-415 [PMID: 23323867 DOI: 10.1056/NEJMoa1205037]
- 19 Anderson JL, Edney RJ, Whelan K. Systematic review: faecal microbiota transplantation in the management of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 503-516 [PMID: 22827693 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05220.x]
- 20 Borody TJ, Warren EF, Leis S, Surace R, Ashman O. Treatment of ulcerative colitis using fecal bacteriotherapy. *J Clin Gastroenterol* 2003; 37: 42-47 [PMID: 12811208]
- 21 Moayyedi P, Surette MG, Kim PT, Libertucci J, Wolfe M, Onischi C, Armstrong D, Marshall JK, Kassam Z, Reinisch W, Lee CH. Fecal Microbiota Transplantation Induces Remission in Patients With Active Ulcerative Colitis in a Randomized Controlled Trial. *Gastroenterology* 2015; 149: 102-109.e6 [PMID: 25857665 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.04.001]
- 22 Suskind DL, Brittnacher MJ, Wahbeh G, Shaffer ML, Hayden HS, Qin X, Singh N, Damman CJ, Hager KR, Nielson H, Miller SI. Fecal microbial transplant effect on clinical outcomes and fecal microbiome in active Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2015; 21: 556-563 [PMID: 25647155 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000307]
- 23 Cui B, Feng Q, Wang H, Wang M, Peng Z, Li P, Huang G, Liu Z, Wu P, Fan Z, Ji G, Wang X, Wu K, Fan D, Zhang F. Fecal microbiota transplantation through mid-gut for refractory Crohn's disease: safety, feasibility, and efficacy trial results. *J Gastroenterol Hepatol* 2015; 30: 51-58 [PMID: 25168749 DOI: 10.1111/jgh.12727]
- 24 Colman RJ, Rubin DT. Fecal microbiota transplantation as therapy for inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *J Crohns Colitis* 2014; 8: 1569-1581 [PMID: 25223604 DOI: 10.1016/j.crohns.2014.08.006]
- 25 Borody TJ, Finlayson S, Paramsothy S. Is Crohn's disease ready for fecal microbiota transplantation? *J Clin Gastroenterol* 2014; 48: 582-583 [PMID: 24828361 DOI: 10.1097/MCG.0000000000000155]
- 26 Gough E, Shaikh H, Manges AR. Systematic review of intestinal microbiota transplantation (fecal bacteriotherapy) for recurrent Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 994-1002 [PMID: 22002980 DOI: 10.1093/cid/cir632]
- 27 Kunde S, Pham A, Bonczyk S, Crumb T, Duba M, Conrad H, Cloney D, Kugathasan S. Safety, tolerability, and clinical response after fecal transplantation in children and young adults with ulcerative colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2013; 56: 597-601 [PMID: 23542823 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318292fa0d]
- 28 Kahn SA, Vachon A, Rodriquez D, Goepfing SR, Surma B, Marks J, Rubin DT. Patient perceptions of fecal microbiota transplantation for ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1506-1513 [PMID: 23624888 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318281f520]
- 29 Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, Nishida T, Ishii S, Iijima H, Nakamura T, Eguchi H, Miyoshi E, Hayashi N, Kawano S. Topical implantation of mesenchymal stem cells has beneficial effects on healing of experimental colitis in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 326: 523-531 [PMID: 18448866 DOI: 10.1124/jpet.108.137083]
- 30 Drakos PE, Nagler A, Or R. Case of Crohn's

- disease in bone marrow transplantation. *Am J Hematol* 1993; 43: 157-158 [PMID: 8342550]
- 31 Chen QQ, Yan L, Wang CZ, Wang WH, Shi H, Su BB, Zeng QH, Du HT, Wan J. Mesenchymal stem cells alleviate TNBS-induced colitis by modulating inflammatory and autoimmune responses. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4702-4717 [PMID: 23922467 DOI: 10.3748/wjg.v19.i29.4702]
 - 32 Shaker A, Rubin DC. Stem cells: One step closer to gut repair. *Nature* 2012; 485: 181-182 [PMID: 22575955 DOI: 10.1038/485181a]
 - 33 Yui S, Nakamura T, Sato T, Nemoto Y, Mizutani T, Zheng X, Ichinose S, Nagaishi T, Okamoto R, Tsuchiya K, Clevers H, Watanabe M. Functional engraftment of colon epithelium expanded in vitro from a single adult Lgr5+ stem cell. *Nat Med* 2012; 18: 618-623 [PMID: 22406745 DOI: 10.1038/nm.2695]
 - 34 Lazebnik LB, Kniazev OV, Konopliannikov AG, Parfenov AI, Ruchkina IN, Mikhaïlova ZF, Tsaregorodtseva TM, Khomeriki SG, Rogozina VA, Gudkova RB, Shcherbakov PL, Konopliannikova OA. [Allogeneic mesenchymal stromal cells in patients with ulcerative colitis: two years of observation]. *Eksp Klin Gastroenterol* 2010; (11): 3-15 [PMID: 21485508]
 - 35 Kriván G, Szabó D, Kállay K, Benyó G, Kassa C, Sinkó J, Goda V, Arató A, Veres G. [Successful autologous haematopoietic stem cell transplantation in severe, therapy-resistant childhood Crohn's disease. Report on the first case in Hungary]. *Orv Hetil* 2014; 155: 789-792 [PMID: 24819188 DOI: 10.1556/OH.2014.29892]
 - 36 Hommes DW, Duijvestein M, Zelinkova Z, Stokkers PC, Ley MH, Stoker J, Voermans C, van Oers MH, Kersten MJ. Long-term follow-up of autologous hematopoietic stem cell transplantation for severe refractory Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 543-549 [PMID: 22115372 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.05.004]
 - 37 Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual JA, Del-Valle E, Zorrilla J, De-La-Quintana P, Garcia-Arranz M, Pascual M. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum* 2009; 52: 79-86 [PMID: 19273960 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181973487]
 - 38 Lee WY, Park KJ, Cho YB, Yoon SN, Song KH, Kim do S, Jung SH, Kim M, Yoo HW, Kim I, Ha H, Yu CS. Autologous adipose tissue-derived stem cells treatment demonstrated favorable and sustainable therapeutic effect for Crohn's fistula. *Stem Cells* 2013; 31: 2575-2581 [PMID: 23404825 DOI: 10.1002/stem.1357]
 - 39 Neurath MF. Cytokines in inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2014; 14: 329-342 [PMID: 24751956 DOI: 10.1038/nri3661]
 - 40 Schreiber S, Nikolaus S, Hampe J, Hämling J, Koop I, Groessner B, Lochs H, Raedler A. Tumour necrosis factor alpha and interleukin 1beta in relapse of Crohn's disease. *Lancet* 1999; 353: 459-461 [PMID: 9989717 DOI: 10.1016/S0140-6736(98)03339-X]
 - 41 Papadakis KA, Targan SR. Role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annu Rev Med* 2000; 51: 289-298 [PMID: 10774465 DOI: 10.1146/annurev.med.51.1.289]
 - 42 Saniabadi AR, Hanai H, Takeuchi K, Umemura K, Nakashima M, Adachi T, Shima C, Bjarnason I, Lofberg R. Adacolumn, an adsorptive carrier based granulocyte and monocyte apheresis device for the treatment of inflammatory and refractory diseases associated with leukocytes. *Ther Apher Dial* 2003; 7: 48-59 [PMID: 12921115]
 - 43 Saniabadi AR, Hanai H, Suzuki Y, Ohmori T, Sawada K, Yoshimura N, Saito Y, Takeda Y, Umemura K, Kondo K, Ikeda Y, Fukunaga K, Nakashima M, Beretta A, Bjarnason I, Lofberg R. Adacolumn for selective leukocytapheresis as a non-pharmacological treatment for patients with disorders of the immune system: an adjunct or an alternative to drug therapy? *J Clin Apher* 2005; 20: 171-184 [PMID: 15892107 DOI: 10.1002/jca.20046]
 - 44 C Leitner G, Worel N, Vogelsang H. Selective Granulocyte and Monocyte Apheresis as a Non-Pharmacological Option for Patients with Inflammatory Bowel Disease. *Transfus Med Hemother* 2012; 39: 246-252 [PMID: 22969694]
 - 45 Hanai H. Positions of selective leukocytapheresis in the medical therapy of ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 7568-7577 [PMID: 17171783]
 - 46 Hanai H, Iida T, Yamada M, Sato Y, Takeuchi K, Tanaka T, Kondo K, Kikuyama M, Maruyama Y, Iwaoka Y, Nakamura A, Hirayama K, Saniabadi AR, Watanabe F. Effects of adacolumn selective leukocytapheresis on plasma cytokines during active disease in patients with active ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3393-3399 [PMID: 16733857]
 - 47 Saniabadi AR, Tanaka T, Ohmori T, Sawada K, Yamamoto T, Hanai H. Treating inflammatory bowel disease by adsorptive leucocytapheresis: a desire to treat without drugs. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 9699-9715 [PMID: 25110409 DOI: 10.3748/wjg.v20.i29.9699]
 - 48 Cuadrado E, Alonso M, de Juan MD, Echaniz P, Arenas JL. Regulatory T cells in patients with inflammatory bowel diseases treated with adacolumn granulocytapheresis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1521-1527 [PMID: 18330941]
 - 49 Tomiyasu N, Mitsuyama K, Suzuki A, Masuda J, Yamasaki H, Kuwaki K, Takaki K, Kitazaki S, Sata M. Development of granulocyte and monocyte adsorptive apheresis in the rat dextran sodium sulfate-induced colitis model. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 2007; 29: 265-268 [PMID: 17609738 DOI: 10.1358/mf.2007.29.4.1075361]
 - 50 Toya Y, Chiba T, Mizutani T, Sato K, Kasugai S, Matsuda N, Orikasa S, Shibata S, Abiko Y, Akasaka R, Yokoyama N, Oana S, Hirota S, Endo M, Suzuki K. The effect of granulocyte and monocyte adsorptive apheresis on serum cytokine levels in patients with ulcerative colitis. *Cytokine* 2013; 62: 146-150 [PMID: 23465691 DOI: 10.1016/j.cyto.2013.01.019]
 - 51 Fukunaga K, Yokoyama Y, Kamokozuru K, Nagase K, Nakamura S, Miwa H, Matsumoto T. Adsorptive granulocyte/monocyte apheresis for the maintenance of remission in patients with ulcerative colitis: a prospective randomized, double

- blind, sham-controlled clinical trial. *Gut Liver* 2012; 6: 427-433 [PMID: 23170145 DOI: 10.5009/gnl.2012.6.4.427]
- 52 Lindberg A, Eberhardson M, Karlsson M, Karlén P. Long-term follow-up with Granulocyte and Monocyte Apheresis re-treatment in patients with chronically active inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 73 [PMID: 20604939 DOI: 10.1186/1471-230X-10-73]
- 53 Sands BE, Katz S, Wolf DC, Feagan BG, Wang T, Gustofson LM, Wong C, Vandervoort MK, Hanauer S. A randomised, double-blind, sham-controlled study of granulocyte/monocyte apheresis for moderate to severe Crohn's disease. *Gut* 2013; 62: 1288-1294 [PMID: 22760005 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300995]
- 54 Fukuchi T, Nakase H, Ubukata S, Matsuura M, Yoshino T, Toyonaga T, Shimazu K, Koga H, Yamashita H, Ito D, Ashida K. Therapeutic effect of intensive granulocyte and monocyte adsorption apheresis combined with thiopurines for steroid- and biologics-naïve Japanese patients with early-diagnosed Crohn's disease. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 124 [PMID: 25015328 DOI: 10.1186/1471-230X-13-124]
- 55 Fukunaga K, Yokoyama Y, Kamikozuru K, Yoshida K, Kikuyama R, Nagase K, Nakamura S, Takei Y, Miwa H, Matsumoto T. Selective depletion of peripheral granulocyte/monocyte enhances the efficacy of scheduled maintenance infliximab in Crohn's disease. *J Clin Apher* 2010; 25: 226-228 [PMID: 20544712 DOI: 10.1002/jca.20242]
- 56 Yamamoto T, Umegae S, Matsumoto K. Safety and clinical efficacy of granulocyte and monocyte adsorptive apheresis therapy for ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 520-525 [PMID: 16489663]

编辑: 韦元涛 电编: 都珍珍



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2015年版权归百世登出版集团有限公司所有

•消息•

《世界华人消化杂志》参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码。如马连生^[1]报告……,潘伯荣等^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7]。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。