

[26] Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial [J]. *Lancet*, 2013, 381(9863):303-312.

[27] Ruan J, Luo M, Wang C, et al. Imatinib disrupts lymphoma angiogenesis by targeting vascular pericytes [J]. *Blood*, 2013, 121(26):5192-5202.

(收稿日期:2016-02-22 修回日期:2016-04-10)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.29.043

## 精子形成相关基因及蛋白功能研究进展\*

周庭友 综述, 李彦锋<sup>△</sup> 审校

(第三军医大学大坪医院野战外科研究所泌尿外科, 重庆 400042)

[关键词] 精子形成; 基因; 蛋白

[中图分类号] R332; R394.33; R698

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)29-4156-04

近年来,随着环境污染、遗传、生活习惯改变等各种因素的影响下,男性不育发病率不断上升,而且精子数和精子各项参数都呈明显下降趋势<sup>[1-2]</sup>。在男性不育的各种原因中,遗传因素是一种重要机制,全世界约 15% 的男性不育是由基因突变引起的<sup>[3]</sup>。哺乳动物精子发生是一个特殊和复杂的细胞分化过程,是数以成千上万的基因共同调控的结果,与精子发生成熟相关的基因出现突变、缺失或表达异常都可能会导致男性不育。精子形成是精子发生成熟过程中的最后一步,睾丸特异性基因适时有序表达,精子鞭毛骨架结构和相关蛋白的有序转运和整合,并驱动精子细胞内各细胞器的协调合成装配,是保证精子发挥正常功能最根本的物质基础<sup>[4]</sup>。目前,研究对精子发生前期的相关基因及蛋白研究较多,对后期精子形成相关基因及蛋白知之甚少,且未得到深入研究,对其功能也缺乏了解;为此,本文就国内外报道关于精子形成中发挥重要作用的部分基因及蛋白作一综述。

### 1 精子的形成过程

哺乳动物精子发生是在动物睾丸生精小管内发生的高度复杂的细胞分裂和分化过程,其生精细胞经历有丝分裂、减数分裂和精子形成 3 个阶段,每个阶段都受到无数个相关基因及蛋白的调控。研究者们大多关注精子发生的机制,而对精子形成这最后一步研究较少。

精子形成又称为精子变态过程,由减数分裂后期形成的圆形精子细胞经过一系列复杂的形态变化,发育为具有头、颈、尾结构的蝌蚪状精子的过程。在精子变态过程中,圆形精子形态学发生动态改变,主要经历:(1)精子头部的形成,包括核蛋白的转型,染色体的浓缩包装及精子颈的形成;(2)顶体的生成;(3)精子尾部的形成,包括鞭毛、轴丝的发生和尾部的成形分化;(4)胞质清除残余胞质及细胞器重新分布等。精子变态过程是雄性单倍体生殖细胞所独有的过程,变态过程若出现异常均会导致畸形精子的产生,如圆头精子症等,导致男性不育。现有研究表明在精子形成过程中约有一半睾丸特异性基因表达,意味着这些基因随后在精子的结构或功能方面发挥作用<sup>[5]</sup>。随着基因敲除、分子生物技术的发展,发现了许多精子形成相关的基因及蛋白,在精子形成过程中具有重要作用。

### 2 精子形成相关基因及蛋白研究

2.1 精子头部形成相关基因及蛋白 精子变形早期,精子头

部的形成伴随着细胞核的聚缩,圆形精子细胞 DNA 高度聚缩并被紧密包裹起来,精子头部的体积缩减至正常体细胞细胞核的 5%。精子细胞核聚缩时,核蛋白不断发生磷酸化与去磷酸化等修饰。过渡蛋白首先替代富含组氨酸的组蛋白,然后富含精氨酸的鱼精蛋白(protamine, PRM)又替代过渡蛋白。蛋白转换过程使精子染色质密度增高和结构发生变化,诱导后续的精顶体延长与变形,形成顶体,同时极大地提高了精子受精能力。Rousseaux 等<sup>[6]</sup>认为精子减数分裂后形成新的精子 DNA 致密结构,必须首先经过蛋白浓缩并转换,形成高度乙酰化的组蛋白。如果没有高度乙酰化的组蛋白,则精子细胞变形过程受阻。Gaucher 等<sup>[7]</sup>报道在体外实验中小鼠精子细胞的变形过程明显可被组蛋白乙酰化酶抑制剂阻止,证明了高度乙酰化组蛋白在精子形成过程中具有重要作用。近期研究发现 Brdt 蛋白可激活精子细胞中相关的必需基因以启动组蛋白乙酰化,从而引导精子基因组编码过程。过渡蛋白 2、在精子的形成过程中,伴随着染色体的浓缩和顶体囊泡的形态学变化,表达于整个精子的发生过程, Tnp2 的突变或缺失表达可能是导致精子畸形的一个重要因素。De Mateo 等<sup>[8]</sup>研究还发现人和小鼠精子中均有 PRM1 和 PRM2 两种鱼精蛋白,在细胞核的聚缩过程中起调控作用,敲除两者中任何一种基因都会导致雄性不育,同时还证明了人类 PRM1 和 PRM2 的比率与男性不育症有关。TATA 盒结合蛋白/TBP 相关因子 71(Taf71)与 TBP 相关因子 2(Trf2)共同促进组织特异性基因的转录;敲除 Taf71 基因的小鼠精子细胞停滞在圆形细胞阶段;而敲除 Trf2,小鼠精子的精原细胞和精母细胞发育虽然正常,但是在变形晚期圆形精子细胞发育中断且严重凋亡。Rfx2 是 Regulatory Factor X(Rfx)家族成员,在成熟睾丸和圆形精子阶段高表达,是减数分裂阶段调控其他基因表达的转录调控因子。敲除 Rfx2 基因后,精子不能完成减数分裂,而停留在多核圆形细胞阶段,不能产生成熟精子导致雄性完全不育。Iqcg 是重要的钙离子信号调控因子,通过调控钙调蛋白来影响钙离子信号通路。Iqcg 缺失会影响肌动蛋白细胞骨架形成,从而引起精子头部缺陷和精子成熟,是精子形成过程中的必须基因。核纤层蛋白 A/C(Lamin A/C)是由人类基因 LMNA 编码的蛋白质,表达于精原细胞到圆形精子、成熟精子的不同阶段。Lamin A/C 在精子头部和顶体形成中至关重要。LMNA 敲除后导致

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81170617)。 作者简介:周庭友(1984-),医师,硕士,主要从事男科学研究。 △ 通讯作者,

Tel:13883402349;E-mail:lyf1000@aliyun.com。

Lamin A/C 的表达缺失和下降,造成顶体囊泡异常,显著改变了核延长和顶体形成,从而导致精子头部畸形显著增加。

蛋白磷酸化在精子染色质重塑、减数分裂、精子形成过程中发挥重要作用,蛋白激酶是丝氨酸和苏氨酸磷酸化过程中的必须蛋白。有实验显示,丝氨酸苏氨酸激酶融合体[Fu(Stk36)]定位于含微管或含多种微管蛋白的组织,参与顶体-边缘环复合体和精子颈的形成,说明该复合体在精子头部的形成及控制鞭毛的轴丝旁结构中起关键作用。酪氨酸蛋白激酶 Fer 是酪氨酸激酶 Fps/Fer 亚家族成员之一,包括睾丸型 FerT 和体细胞型 FerS, FerT 出现在精子边缘环、前顶体颗粒、顶体膜周围和高尔基体,并参与形成精子头部, FerT 的突变或缺失可能导致精子头部形成畸形<sup>[9]</sup>。keratin9(Krt9)和 Azh 基因在精子头部延长过程中起重要作用, Rivkin 等<sup>[10]</sup>敲除 Krt9、Azh 基因后导致雄性小鼠精子颈部畸形。敲除 Hrb、Zpbl、Gopc 等基因则导致雄性小鼠顶体形成障碍和形成圆头精子症而导致雄性不育<sup>[11]</sup>。

**2.2 顶体形成过程中相关基因及蛋白** 顶体是精子中最大、可见的细胞器,较早出现在精子形成过程中,是膜包裹酸性磷酸酶、透明质酸酶、蛋白水解酶、细胞核等形成的一个帽状结构。早期顶体是由高尔基体形成,是精子发育的表征之一。研究发现高尔基蛋白亚家族 A 成员 3(GOLGA3)主要分布在粗线期精母细胞中期至末期,其表达定位在高尔基体中心部分,该蛋白缺失会导致精子顶体、头部和尾部发育异常。精子发生相关因子 16(SPATA16)和 PICK1 蛋白定位于前顶体颗粒以及高尔基体,并被运输到顶体参与顶体形成<sup>[12]</sup>;而 Liu 等<sup>[13]</sup>发现 PICK1 基因外显子 13 的 G198 序列突变会导致人类圆头精子症的发生。TATA 元件调控因子/雄激素受体相关蛋白 160(TMf/ARA160)缺失会使精子发育滞留在生精小管内,导致顶体形成失败、精子发育异常<sup>[14]</sup>。精子变形时,保守性低聚高尔基复合体亚基 7(Cog7)参与小泡转运及糖基化,它的缺失会损害前顶体颗粒的装配以及鞭毛轴丝的形成,并导致中心粒从核膜分离,同时由于高尔基体小泡不能及时补充到顶体膜上而使精子不能变长。此外,顶体内膜被盖(IAMC)蛋白包括 IAM38、基质金属蛋白酶 2(MMP-2)和顶体素(acrosin),精子顶体膜相关蛋白 1(SPACA1),核周膜(PT)等都是顶体形成过程中重要的相关蛋白。

**2.3 精子尾部形成相关基因及蛋白** 精子尾部又称鞭毛,分为颈段、中段、主段和末段,是精子细胞在减数分裂后期,精子变态过程中精子细胞拉伸、延长形成的精子特有结构,负责精子的运动。主段由纤维鞘包绕骨架结构,约占鞭毛总长度的 3/4,是鞭毛的主体部分,是精子发挥运动功能的主要节段。已有研究发现,精子完全无运动或严重弱精症的患者存在精子纤维鞘发育不良。近年研究发现定位于纤维鞘的重要蛋白有 20 余种,包括 AKAP3、AKAP4 钙结合酪氨酸磷酸化调节蛋白(CABYR)、纤维鞘钙结合蛋白(FSCB)、Tektins、多种糖苷酶和信号转导通路组分等相关蛋白,编码蛋白的基因缺失均可能影响精子尾部的形成,导致不育<sup>[15-16]</sup>。

A 激酶锚定蛋白(AKAPs)定位于精子顶体和鞭毛中段,能特异性结合蛋白激酶 A(PKA)并催化靶蛋白磷酸化传递信号,与精子活力相关。AKAP4 丰富表达于发育阶段精子纤维鞘内,为多种激酶和蛋白酶提供支架。AKAP4 在精子形成的晚期才整合于精子鞭毛纤维鞘内,在完成纤维鞘的装配方面发挥主要作用。敲除 AKAP4 基因小鼠的研究证实:AKAP4<sup>-/-</sup>纯合子雄鼠产生的精子数量虽然正常,但存在纤维鞘形成缺陷,表现为稀薄的环状肋板和缩短的柱状体,同时精子由于丧

失前向运动而表现为不育,其原因分析认为是由于缺乏 AKAP4 情况下信号转导失败所致。AKAP3 定位于圆形精子细胞,参与环形交联物前体的形成,是构建纤维鞘的基本结构,而 AKAP4 则帮助完成其装配。

FSCB 是在精子成熟过程中特异性表达并最终定位于精子鞭毛纤维鞘上的一种新蛋白,该蛋白在精子形成后期表达,迁移并定位于精子鞭毛纤维鞘的环状肋板和纵形柱状体表面,与纤维鞘的主要结构蛋白 AKAP4 的表达具有极高的相似性<sup>[16]</sup>。蛋白相互作用研究证实:FSCB、CABYR 等纤维鞘蛋白可通过间接或直接的相互作用结合并装配于纤维鞘的支架蛋白 AKAPs 上,从而形成巨分子蛋白复合物,共同发挥纤维鞘的生理功能。基于该蛋白在精子获能过程中,可发生磷酸化修饰,并具有钙结合能力,因此,推断 FSCB 蛋白可能是一种参与精子鞭毛运动,与精子获能和超活化作用有关的重要蛋白<sup>[16]</sup>。

筑丝蛋白(Tektins)家族与精子鞭毛二联微管的微管蛋白有关,可使轴丝微管稳定<sup>[17]</sup>。Tektin1 在精子形成过程中参与轴丝的成核作用,缺失可能导致轴丝形成障碍。Tektin2 位于鞭毛主段和顶体后区,敲除 Tektin2 的小鼠精子鞭毛弯曲频繁,动力蛋白第 2、6 对内臂中断,精子活力下降,导致雄性不育。Tektin3 只在精母细胞和精子细胞中表达。Tektin4 突变的小鼠精子中段线粒体鞘缩小、主段环形交联物受损、鞭毛外周致密纤维扩大、导致 ATP 消耗增大、精子活力下降。Tektin5 位于线粒体鞘,表达于精子变形晚期阶段,起稳定鞭毛的作用。

**2.4 胞质清除残余胞质** 在精子形成后期,精子头部及尾部组分装配完成后,胞质内剩余线粒体、脂滴,以及一些内质网和其他残余结构脱离精子,而支持细胞在雄激素介导下吞噬多余的残余体。精子细胞成熟因子 1(Spem1)在精子细胞质去除过程中起重要作用,敲除 Spem1 后的雄性小鼠精子细胞质去除异常、精子头部弯曲畸形,导致不育。Zheng 等<sup>[18]</sup>研究发现 Spetex-1 胞质蛋白可能与支持细胞吞噬有关,该蛋白在变形期精子细胞及残余体中表达,而精子细胞相关蛋白 Nurit、T6441 等蛋白在变形期精子细胞中高表达,表明可能参与蛋白转运和残余体的代谢。研究显示,驱动蛋白 KIF3A/3B 在早期的精子中主要表达在细胞核的周围,中期表达量很高,并且一直持续到成熟精子。KIF3A/3B 参与了精子一系列的形态学改变,并参与了精子形成后期细胞内剩余的蛋白质、细胞器和其他物质转运清除,在后续的功能维持及鞭毛结构的形成、微管套内的运输起着重要的作用。

### 3 其他相关基因及蛋白

精子的发生到成熟是一个连续的过程,有许多生殖细胞特有的基因、转录因子、激素、激酶/酶与膜蛋白等参与了精子发生的不同阶段,而有些基因或蛋白则在整个过程中都存在高表达。基因敲除研究证实,敲除某些基因的小鼠由于精子功能的丧失导致雄性小鼠不育。目前基因敲除动物模型研究证明:Tnp1、2, H1fnt 等是精子头部形成过程中精细胞核固缩所必须的基因;Gopc、Agfg1、Csnk2a2、Gba2 等是精子变性中顶体形成所必须的基因;Tekt2、Tekt4、Vdac3、Sepp1、Akap4、Spag6 等是精子尾部鞭毛、纤维形成所必须的基因;Crem、Tbpl、Papolb、Pwi11(miwi)是启动后期精细胞基因表达所必须的基因;Spem1 是去除胞质所必须的基因。编码一种保守蛋白的 Meig1 基因,是精子终末分化所必须的基因,缺失小鼠睾丸生精小管内虽然有早期的所有细胞,无成熟的长精细胞和精子,从而表现为完全不育<sup>[19]</sup>。UBE2J1 是 E2 泛素化酶基因,敲除 UBE2J1 基因造成雄鼠精子顶体形成障碍、细胞胞质清除障碍

和精子鞭毛分化缺陷,从而引起雄性小鼠完全不育,表明 UBE2J1 是精子发生成熟整个过程中的必须基因<sup>[20]</sup>。

研究者在人附睾中发现了许多在精子成熟中发挥重要作用的其他基因或蛋白。Zhen 等<sup>[19]</sup>从大鼠附睾中分离出来的 Gbl/4 基因,是附睾头部区域特异表达的新基因,受雄激素调控,具有调节附睾主细胞分化及精子成熟的功能。Jaroszynski 等<sup>[21]</sup>敲除睾丸特异性基因 *Tex18* 后造成雄性小鼠精子头部畸形,活动力低下,导致生育力降低。*Mx* 基因编码  $\alpha$ -甘露糖苷酶 II x,敲除 *Mx* 基因,小鼠因为缺乏  $\alpha$ -甘露糖苷酶而不能合成碳水化合物 N-糖链,导致雄性小鼠的生殖细胞不能与支持细胞相互作用而过早释放,形成不成熟或畸形的生殖细胞<sup>[22]</sup>。受雄激素调控的转移相关蛋白-1(MTA1)特异性表达于附睾及生殖细胞中,与附睾的发育密切相关,在精子的成熟和受精过程中发挥潜在重要作用。Takahashi 等<sup>[22]</sup>研究发现去磷酸化的丝氨酸/精氨酸富集蛋白-1(NSSR-1)在小鼠附睾中表达并受雄激素的调控,磷酸化的 NSSR-1 在精子成熟过程中表达上调,表明 NSSR-1 在精子成熟与受精方面发挥潜在重要作用。通道形成蛋白 Pannexins(Panxs)受雄激素调控,主要在附睾中高度表达,作用于 ATP 分泌到附睾管腔和基部胞外空间,影响精子的成熟和运输,该蛋白缺失造成精子成熟障碍并滞留于附睾管腔内,引起少精、弱精性男性不育。CHD5 再塑造核蛋白几乎只在大脑和睾丸中表达,是形成正常精子所必须的,尤其是对精细胞染色质凝块尤为重要。敲除 CHD5 小鼠导致生精功能障碍,改变精子发生的周期,产生不成熟精子和异型精子,在精子变形中影响核内组蛋白的转换和染色质凝聚,造成精子头部畸形。Zhuang 等<sup>[23]</sup>研究发现表达定位于睾丸和附睾组织的蛋白有 317 种(包含了人附睾分泌精子结合蛋白家族),且成功解析了人类睾丸、附睾蛋白表达谱和附睾管腔液分泌型蛋白谱,为人们研究男性不育筛选靶标,对男性疾病的诊断、治疗及男性避孕疫苗的研究提供了重要理论依据。

#### 4 展 望

精子发生到成熟是一个连续的过程,机制复杂,涉及许多种基因和蛋白的调控。精子形成相关基因及蛋白在精子成熟过程中的机制和作用也引起了不少研究者的重视。由于精子形成过程的特异性基因在鼠和人之间具有高度保守性,因而从基因敲除小鼠所获得的生物学信息,可为人类不育的病因学诊断和治疗提供依据。随着 ZFN 技术、TALEN[transcription activator D-like(TAL) effector nucleases]、CRISPR/Cas9 等靶向基因敲除及 RNA 干扰技术的发展,越来越多的功能基因和蛋白被发现<sup>[24-25]</sup>。相信在未来的研究中,应用基因敲除等技术,深入探讨精子发生机制及形成过程,探索相关基因及蛋白缺失后精子发生、形成和精子形态结构改变等生物学功能,将为男性不育的病因学诊断,男性不育的治疗以及寻找合适的男性避孕靶点等方面开辟新篇章。

#### 参考文献

[1] Schulte RT, Ohl DA, Sigman M, et al. Sperm DNA damage in male infertility: etiologies, assays, and outcomes [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2010, 27(1): 3-12.

[2] Esteves SC. Clinical relevance of routine semen analysis and controversies surrounding the 2010 World Health Organization criteria for semen examination [J]. *Int Braz J Urol*, 2014, 40(4): 443-453.

[3] Krausz C, Escamilla AR, Chianese C. Genetics of male infertility: from research to clinic [J]. *Reproduction*, 2015,

150(5): R159-R174.

[4] Tani I, Yagura T, Inagaki N, et al. Preferential localization of rat GAPDS on the ribs of fibrous sheath of sperm flagellum and its expression during flagellar formation [J]. *Acta Histochem Cytochem*, 2007, 40(1): 19-26.

[5] Yan W. Male infertility caused by spermiogenic defects: lessons from gene knockouts [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2009, 306(1/2): 24-32.

[6] Rousseaux S, Boussouar F, Gaucher J, et al. Molecular models for post-meiotic male genome reprogramming [J]. *Syst Biol Reprod Med*, 2011, 57(1/2): 50-53.

[7] Gaucher J, Boussouar F, Montellier E, et al. Bromodomain-dependent stage-specific male genome programming by Brdt [J]. *EMBO J*, 2012, 31(19): 3809-3820.

[8] De Mateo S, Gázquez C, Guimera M, et al. Protamine 2 precursors (Pre-P2), protamine 1 to protamine 2 ratio (P1/P2), and assisted reproduction outcome [J]. *Fertil Steril*, 2009, 91(3): 715-722.

[9] Kierszenbaum AL, Rivkin E, Tres LL. Cytoskeletal track selection during cargo transport in spermatids is relevant to male fertility [J]. *Spermatogenesis*, 2011, 1(3): 221-230.

[10] Rivkin E, Eddy EM, Willis WD, et al. Sperm tail abnormalities in mutant mice with neo(r) gene insertion into an intron of the keratin 9 gene [J]. *Mol Reprod Dev*, 2005, 72(2): 259-271.

[11] Xiao N, Kam C, Shen C, et al. PICK1 deficiency causes male infertility in mice by disrupting acrosome formation [J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(4): 802-812.

[12] Bentson LF, Agbor VA, Agbor LN, et al. New point mutation in *Golga3* causes multiple defects in spermatogenesis [J]. *Andrology*, 2013, 1(3): 440-450.

[13] Liu G, Shi QW, Lu GX. A newly discovered mutation in PICK1 in a human with globozoospermia [J]. *Asian J Androl*, 2010, 12(4): 556-560.

[14] Perrin A, Coat C, Nguyen MH, et al. Molecular cytogenetic and genetic aspects of globozoospermia: a review [J]. *Andrologia*, 2013, 45(1): 1-9.

[15] Chemes HE, Rawe VY. The making of abnormal spermatozoa: cellular and molecular mechanisms underlying pathological spermiogenesis [J]. *Cell Tissue Res*, 2010, 341(3): 349-357.

[16] Shen S, Wang J, Liang J, et al. Low-expressed testis-specific calcium-binding protein CBP86-IV (CABYR) is observed in idiopathic asthenozoospermia [J]. *World J Urol*, 2015, 33(5): 633-638.

[17] Kim YH, Haidl G, Schaefer M, et al. Compartmentalization of a unique ADP/ATP carrier protein SFEC (Sperm Flagellar Energy Carrier, AAC4) with glycolytic enzymes in the fibrous sheath of the human sperm flagellar principal piece [J]. *Dev Biol*, 2007, 302(2): 463-476.

[18] Zheng H, Stratton CJ, Morozumi K, et al. Lack of *Spem1* causes aberrant cytoplasm removal, sperm deformation, and male infertility [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104(16): 6852-6857.

- [19] Zhen W, Li P, He B, et al. The novel epididymis-specific beta-galactosidase-like gene *Glb114* is essential in epididymal development and sperm maturation in rats [J]. *Biol Reprod*, 2009, 80(4):696-706.
- [20] Salzberg Y, Eldar T, Karminsky OD, et al. *Meig1* deficiency causes a severe defect in mouse spermatogenesis [J]. *Dev Biol*, 2010, 338(2):158-167.
- [21] Jaroszynski L, Dev A, Li M, et al. Asthenoteratozoospermia in mice lacking testis expressed gene 18 (*Tex18*) [J]. *Mol Hum Reprod*, 2007, 13(3):155-163.
- [22] Takahashi Y, Yasuhiko Y, Takahashi J, et al. Metameric pattern of intervertebral disc/vertebral body is generated independently of *Mesp2*/Ripply-mediated rostro-caudal patterning of somites in the mouse embryo [J]. *Dev Biol*, 2013, 380(2):172-184.
- [23] Zhuang T, Hess RA, Kolla V, et al. *CHD5* is required for spermiogenesis and chromatin condensation [J]. *Mech Dev*, 2014, 131(2):35-46.
- [24] Terns MP, Terns RM. CRISPR-based adaptive immune systems [J]. *Curr Opin Microbiol*, 2011, 14(3):321-327.
- [25] Wiedenheft B, Sternberg SH, Doudna JA. RNA-guided genetic silencing systems in bacteria and archaea [J]. *Nature*, 2012, 482(7385):331-338.
- (收稿日期:2016-02-23 修回日期:2016-04-11)
- 综 述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.29.044

## 内镜下全层切除术切口闭合及全层切除装置的研究进展

杨勇致 综述, 杨庆军 审校

(重庆市人民医院中山院区消化内科 400013)

[关键词] 内镜下全层切除术; 全层切除装置; 切口闭合

[中图分类号] R574

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)29-4159-03

软式内镜最初用于单纯的诊断,随着内镜技术深入研究和进展,内镜治疗已成为一种重要的治疗手段,具有更微创,比外科手术更少不良事件,无放射线暴露等优点。但是,传统的内镜切除术技术如内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)、内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)、黏膜下隧道切除术(submucosal tunneling endoscopic resection, STER)等技术虽已进展为治疗胃肠道肿瘤的有力工具,然而这些技术局限于消化道壁的浅层,即黏膜层(M)和黏膜下层浅层(SM1),无法处理如起源于肌层的黏膜下较深层的病变,对于这些病变临床需要更彻底的全层切除技术。内镜下全层切除术(endoscopic full-thickness resection, EFTR)近年来已取得较大进展,并已经进入临床治疗,它不仅可提供更全面的组织学诊断,同时也是外科治疗的另一选择,保证了高完全切除率。EFTR有两个关键点:(1)病变的根治:包括病变部位的完全切除、切除后无腹腔播散;(2)对切除后胃肠壁切口闭合<sup>[1]</sup>。在近年来涌现出的众多EFTR技术中,全层切除装置(full thickness resection device, FTDR)切除术较好地解决了这两个关键点,应用前景广阔,是德国等欧洲国家研究热点,但在国内尚无相关文献报道。

### 1 EFTR 切口闭合研究进展

全层切除的自然结果是胃肠道壁切口缺损,由此切口闭合成为主要问题。迄今为止,缺损闭合有两类方法,一类在腹腔镜辅助下行切口闭合,另一类,在非腹腔镜辅助下切口闭合,此种闭合方式是大多数学者研究的方向,而在此类闭合方式中,主要分两种闭合方式:一种切除后闭合,另一种是切除前闭合。

**1.1 全层切除后闭合切口** 徐佳昕等<sup>[1]</sup>报道的尼龙绳联合钛夹技术闭合法,采用双钳道内镜,先通过1个钳道用钛夹将尼龙绳一端固定在缺损边缘的胃壁全层,再经另一通道用数枚钛夹将尼龙绳固定在其余边缘的胃壁全层,然后收紧尼龙绳将创面闭合。20例临床应用结果显示,无1例发生迟发型出血、穿

孔等严重并发症,仅4例出现腹痛、发热症状,但经保守治疗1~3d后均好转。Kirschniak等<sup>[2]</sup>报道采用内镜下外置内镜夹(over-the-scope clip, OTSC)修补缺损方法,其原理与金属夹修补方法类似,但局限于缺损直径小于2.5cm的创面。Kantsevov等<sup>[3-4]</sup>报道的Apollo Endosurgery Inc, Austin, Tex装置闭合法,于内镜尖端装上单点缝合针,成功闭合黏膜切口缺损。Chiu等<sup>[5]</sup>报道的Master and slave装置闭合法,经腔内内镜机器人闭合切口缺损,报道此装置初步在活体猪实验成功应用,但仍存在诸多问题,如操作不够灵活、不具备缝合功能,尚需进一步研究<sup>[1]</sup>。有研究<sup>[6-8]</sup>报道的Eagle Claw suturing装置闭合法,成功闭合胃切口。Von Renteln等<sup>[9]</sup>报道了The Plicator™, Suturing device(NDO Surgical, Inc, Mansfield, Mass)装置闭合法。Ikeda等<sup>[10]</sup>报道了T-Tags (TAS, Ethicon, Blue Ash, Ohio, United States)装置闭合法,有T针,打结缝合,此装置已广泛用于结肠、食管、胃、十二指肠切口的闭合。Mori等<sup>[11]</sup>报道的Double-arm-bar Suturing System (DBSS)系统闭合法,装置在内镜尖端,可行单针缝合,且该团队试验证明,与OTSC相比较,测漏试验其破裂压力明显高于OTSC组。值得注意的是所有DBSS均未使用空气或CO<sub>2</sub>注入,以机械对抗牵引保持视野。DBSS和对抗牵引技术尚处于初始研究阶段,尚需要临床验证。由此,先EFTR再行切口闭合,被很多学者认为是可行有效的。但是,对于大于2cm的胃肠道壁切口缺损,缝合可能是困难的,而且潜在漏的问题,同时,操作中肠壁缺损,可导致肠壁腔崩塌,影响操作视野。

**1.2 先闭合病变基底黏膜再切除** 即先固定胃肠道壁层,拉起病变,使黏膜对合黏膜后,于切除安全范围基底闭合肠壁,再行切除。此种术式因其不导致肠壁腔的崩塌,不影响操作视野,无切除标本落入腹腔风险,无肠内容暴露于腹膜腔的风险,故该技术近年来也得到了深入研究,FTDR技术便是其中的一支奇葩。2008年Von Renteln等<sup>[9]</sup>团队报道了胃黏膜下肿瘤