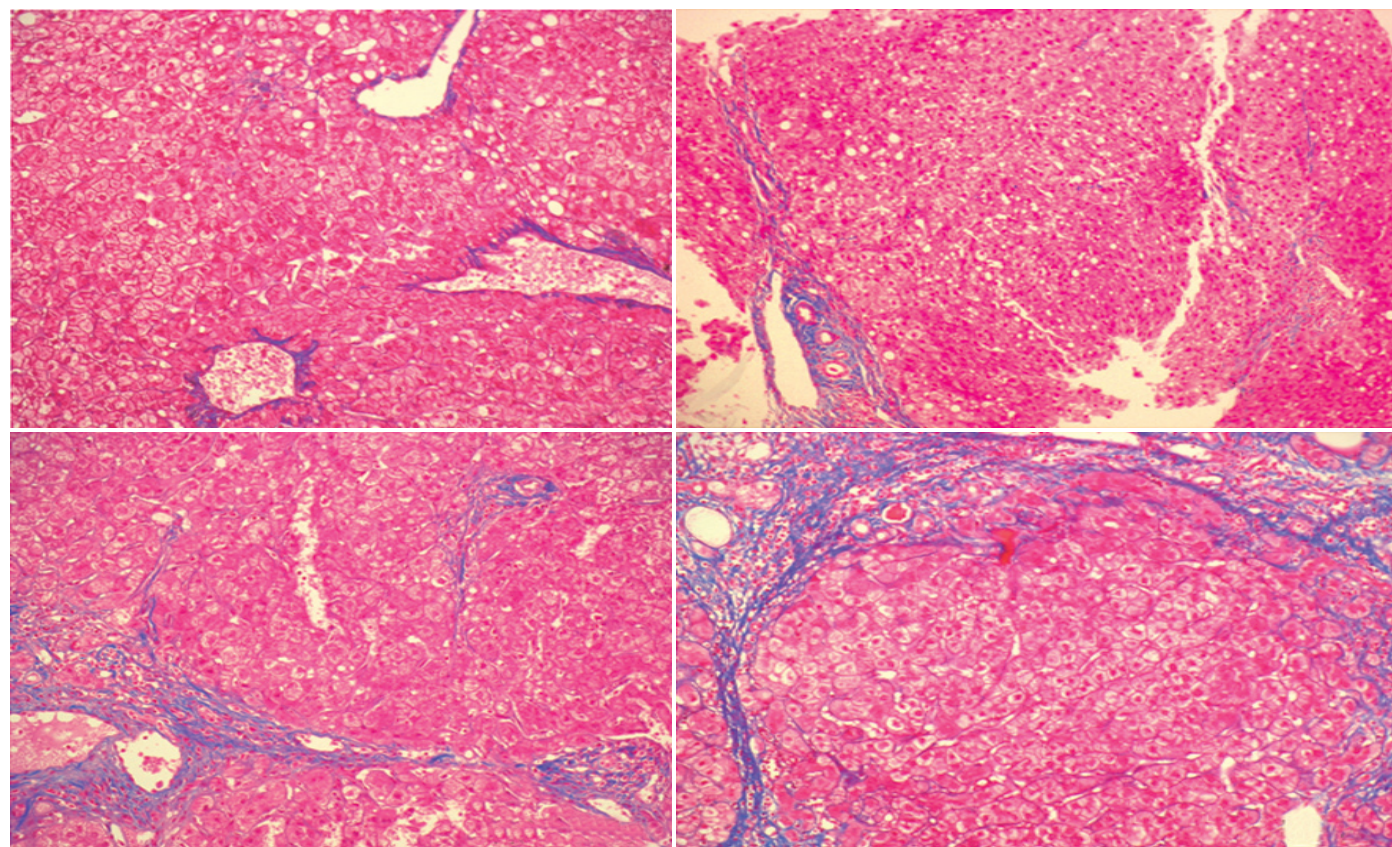


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2007年1月18日 第15卷 第2期 (Volume 15 Number 2)



2 / 2007

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《世界华人消化杂志》对所有来稿均进行同行评议，是一份被《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。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》，俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2006-01-01/2008-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授 北京
黄象谦教授 天津
黄志强教授 北京
裘法祖教授 武汉
王宝恩教授 北京
危北海研究员 北京
吴孟超教授 上海
杨春波教授 福州
周殿元教授 广州

名誉总编辑

潘伯荣教授 西安

社长/总编辑

马连生教授 北京

副总编辑

陈士葆教授 上海
房殿春教授 重庆
姜洪池教授 哈尔滨
王苑本教授 天津
吴云林教授 上海
徐克成教授 广州
杨思凤教授 吉林
姚希贤教授 石家庄
岳茂兴教授 北京
张万岱教授 广州
周学文教授 沈阳

常务编委

程英升副教授 上海
高毅主任医师 广州
江学良主任医师 上海
李岩教授 沈阳
刘连新教授 哈尔滨
吕宾教授 杭州
罗和生教授 武汉
聂青和副教授 西安
王小众教授 福州

编委

白爱平主治医师 广州
别平教授 重庆
白文元教授 石家庄
白玉贤教授 哈尔滨
蔡淦教授 上海
蔡开琳副教授 武汉
曹浩副教授 上海
曹志成院士 香港
陈光教授 长春
陈海龙教授 大连
陈红松副研究员 北京
陈积圣教授 广州
陈克能主任医师 北京

陈建荣副教授 南通
陈立波副教授 武汉
陈凜教授 北京
陈其奎教授 广州
陈强谱教授 滨州
陈仕珠主任医师 西安
陈卫昌教授 苏州
陈亚军教授 北京
陈耀凯副教授 重庆
陈贻胜教授 福州
陈知水教授 武汉
陈治水主任医师 哈尔滨
陈祖林副教授 重庆
程爱国教授 唐山
程红岩教授 上海
程树群副教授 上海
迟宝荣教授 长春
崔云甫教授 哈尔滨
代文杰教授 哈尔滨
戴冬秋教授 沈阳
党双锁副教授 西安
邓长生教授 武汉
董蕾教授 西安
杜群副研究员 广州
杜雅菊主任医师 哈尔滨
樊红副教授 南京
范建高教授 上海
樊晓明主任医师 上海
范志宁主任医师 南京
房静远教授 上海
房林副教授 上海
傅春彬主任医师 吉林
高成新教授 上海
高春芳研究员 上海
高峰教授 西安
高润平教授 长春
高泽立副教授 上海
葛海燕教授 上海
戈之铮教授 上海
龚国忠教授 长沙
龚建平教授 重庆
巩鹏副教授 大连
谷俊朝主任医师 北京
关玉盘教授 北京
管冬元副教授 上海
郭克建教授 沈阳
郭晓钟教授 沈阳
郭新宁教授 银川
韩天权教授 上海
郝春秋副教授 西安
郝纯毅教授 北京
郝俊鸣副主任医师 北京
何超教授 杭州
何裕隆教授 广州
何振平教授 重庆

洪天配教授 北京
侯晓华教授 武汉
黄恒青主任医师 福州
黄金华副教授 广州
黄晓东副主任医师 武汉
黄颖秋教授 本溪
黄裕新教授 西安
黄志勇副教授 武汉
季国忠副教授 南京
季加孚教授 北京
姜慧卿教授 石家庄
蒋龙元副教授 广州
金瑞教授 北京
匡安仁教授 成都
兰平教授 广州
蓝宇教授 北京
劳绍贤教授 广州
李定国教授 上海
李东辉教授 厦门
李方儒教授 天津
李国威教授 西安
李继强教授 上海
李靖副教授 重庆
李军祥教授 北京
李奇林教授 广州
李胜研究员 济南
李涛主治医师 北京
李晓宇主任医师 北京
李旭副教授 广州
李延青教授 济南
李永哲副研究员 北京
李瑗教授 南宁
李玉氏教授 兰州
李增山副教授 西安
李兆申教授 上海
李志霞教授 北京
李宗芳教授 西安
梁力建教授 广州
林胜璋副教授 温州
林勇讲师 上海
刘宝瑞教授 南京
刘彬彬副研究员 上海
刘冰熔教授 哈尔滨
刘成海研究员 上海
刘改芳主任医师 石家庄
刘海林主任医师 上海
刘平教授 上海
刘杞教授 重庆
刘绍能主任医师 北京
刘铁夫教授 哈尔滨
刘颖斌副教授 杭州
刘占举教授 郑州
刘正稳教授 西安
刘作金副教授 重庆
龙致贤教授 北京

世界华人消化杂志®

编辑委员会

鲁华玉研究员	北京	唐霓副研究员	重庆	阎晓初副教授	重庆
陆才德教授	宁波	唐文富主治医师	成都	杨冬华教授	广州
陆伦根教授	上海	唐文皓副主任医师	上海	杨广顺教授	上海
陆云飞教授	南宁	唐旭东主任医师	北京	杨建勇教授	广州
禄韶英主治医师	西安	汤展宏副教授	南宁	杨林副研究员	广州
吕明德教授	广州	唐志鹏副研究员	上海	杨维良教授	哈尔滨
吕宁主任医师	北京	田素礼教授	哈尔滨	杨希山教授	广州
吕云福教授	海口	田晓峰教授	大连	杨云生教授	北京
马大烈教授	上海	屠红副研究员	上海	姚登福教授	南通
茅爱武主任医师	上海	万军教授	北京	姚树坤教授	石家庄
梅林教授	北京	汪波副主任医师	北京	伊力亚尔·夏合丁教授	乌鲁木齐
孟庆华教授	北京	汪思应教授	合肥	易永芬教授	重庆
宁琴教授	武汉	王承党副教授	福州	阴赅宏研究员	北京
牛建昭教授	北京	王春友教授	武汉	于红刚副教授	武汉
欧希龙副教授	南京	王凤山副教授	沈阳	余宏宇教授	上海
潘林娜教授	哈尔滨	王广义教授	长春	于健春教授	北京
潘兴华副主任医师	昆明	王吉耀教授	上海	于颖彦教授	上海
潘秀珍教授	福州	王健生副教授	西安	郁宝铭教授	上海
彭波副教授	西安	王鲁副教授	上海	喻荣彬副教授	南京
彭吉润主任医师	北京	王蒙副教授	上海	展玉涛副主任医师	北京
彭曦副研究员	重庆	王文跃主任医师	北京	张柏和教授	上海
彭心宇教授	石河子	王效民教授	厦门	张方信主任医师	兰州
彭志海教授	上海	王晓艳副教授	长沙	张继明教授	上海
乔岐禄主任医师	北京	王新月教授	北京	张吉翔教授	南昌
秦波教授	重庆	王学美研究员	北京	张锦生教授	上海
秦成勇教授	济南	王振宁教授	沈阳	张军教授	西安
秦环龙教授	上海	王正康教授	北京	张明辉副主任医师	石家庄
钱建民教授	上海	王志刚副主任医师	上海	张青云研究员	北京
秦仁义教授	武汉	王忠裕教授	大连	张群华教授	上海
邱双健副教授	上海	卫洪波教授	广州	张声声教授	北京
邱伟华副主任医师	上海	魏经国教授	西安	张水军教授	郑州
任超世研究员	天津	魏来教授	北京	张绪清副教授	重庆
任建安教授	南京	闻勤生教授	西安	张学教授	北京
任建林教授	厦门	吴德全教授	哈尔滨	张宗明教授	北京
荣大庆主任医师	沈阳	吴建国教授	武汉	赵桂珍教授	沈阳
邵成浩讲师	上海	吴君主任医师	贵阳	赵景民教授	北京
邵先玉教授	泰安	吴萍主任医师	徐州	赵连三教授	成都
邵永孚教授	北京	吴硕东教授	沈阳	赵平副教授	上海
沈柏用副主任医师	上海	吴志勇教授	上海	赵增仁副主任医师	石家庄
沈洪教授	南京	席启主任医师	大同	郑民华教授	上海
沈琳副教授	北京	夏建川研究员	广州	郑鹏远教授	郑州
沈薇教授	重庆	向德兵讲师	重庆	智发朝教授	广州
施诚仁教授	上海	肖恩华教授	长沙	周伯平教授	深圳
施瑞华教授	南京	谢晓华副教授	广州	周丁华主任医师	北京
石统东副教授	重庆	徐爱民副教授	上海	周国雄主任医师	南通
宋世兵主任医师	北京	徐迎新研究员	北京	周士胜教授	大连
宋振顺教授	西安	许春舫主任医师	苏州	周霞秋教授	上海
孙诚谊教授	贵阳	徐存拴教授	新乡	周晓东研究员	广州
孙殿兴主任医师	石家庄	徐大华副主任医师	北京	周晓武副主任医师	北京
孙家邦教授	北京	徐德忠教授	西安	庄林主任医师	昆明
孙明军教授	沈阳	徐列明教授	上海	朱传武副主任医师	苏州
孙秀发教授	武汉	徐小元教授	北京	朱春兰主任医师	哈尔滨
孙学英教授	哈尔滨	许玲副教授	上海	朱立元教授	深圳
邵升副教授	哈尔滨	许文燮教授	上海	朱人敏教授	南京
谭学瑞教授	汕头	许亚平副教授	镇江	邹小明教授	哈尔滨
唐采白副教授	徐州	闫惠平研究员	北京	左国营副主任药师	昆明
唐芙爱教授	郑州	严律南教授	成都		

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2007年1月18日 第15卷 第2期 (总第190期)

述 评	107 团结就是力量, 交流才能提高 肖宏
基础 研究	108 EB病毒潜伏期膜蛋白LMP2A对胃癌细胞增殖的影响 高玉, 纪静, 朱伟, 王云, 罗兵
	114 一氧化氮合酶抑制剂对大肠癌裸鼠移植瘤的抗血管生成作用 孙文洲, 于丽波, 董新舒
	118 西咪替丁对胃癌细胞SGC-7901增殖及凋亡的影响 姜成钢, 李嘉斌, 徐惠绵, 于森, 吴涛, 刘芙蓉
临床 研究	123 胃癌组织中EGFR和COX-2表达的意义及其相关性 肖炜明, 施瑞华, 丁岩冰, 龚卫娟, 丁永玲, 薛艳
	129 中国光动力学疗法治疗上消化道恶性肿瘤25年回顾 刘慧龙, 刘端祺
	134 烧伤应激对胃动力的影响 刘婧, 李兆申
文 献 综 述	140 胃黏膜肠化生的逆转性问题 李凯, 唐志鹏, 郑丰杰, 洪原淑
	145 人肝癌细胞系HepG2在遗传毒物检测中的应用及其进展 姚晓峰, 仲来福
	151 整合素与胰腺癌 何度, 张秀辉
研 究 快 报	157 干、鲜壁虎冻干粉对小鼠H22肝癌体内外抑制作用 杨金霞, 王学美, 朱伟, 富宏, 刘庚信
	161 食管/胃底静脉曲张动物模型制作的改进 方和平, 汤照峰, 刘波, 刘池拽, 潘卫东, 许瑞云
	165 皱皮木瓜总黄酮松弛胃肠平滑肌的效应机制 柳蔚, 杨兴海, 周敏, 李从德
	168 脑死亡状态对巴马小型猪胰腺及小肠组织中蛋白激酶-C的影响 李文涛, 周闯, 宋燕, 翟文龙, 马秀现, 张水军
临 床 经 验	171 江苏汉族人群p53第7内含子多态性与慢性萎缩性胃炎无相关性 王剑蓉, 赖仁胜, 张心海, 谢玲
	176 内镜下两种金属支架置入方法治疗胃流出道梗阻对比分析 王蓉, 刘雄昌, 吴德明, 霍蓉晖
	181 丹参对肝硬化上消化道大出血患者体内脂质过氧化状态的影响 和水祥, 徐俊丽, 赵刚, 王艳丽, 符寒, 李红霞, 聂新明
	185 纤维化胰腺组织中TGF- β 1、Smad3、Smad7的表达及意义 马松林, 赵秋, 龚勇, 王渝, 杨芳
	189 结肠憩室的内镜特点及临床分析165例 汪望月, 夏冰, 陈光兰, 黎红光, 李春
193 肿瘤M ₂ 型丙酮酸激酶在结直肠癌粪便筛查中的临床价值 张波, 陈剑英, 王国斌	

会议纪要	197 世界华人消化杂志和World Journal of Gastroenterology 2006年第三次工作会议 张海宁, 张焕兰, 王晓瑜, 张敏, 李琪, 江艳, 马景云, 王先林, 朱丽红, 王静, 张建中, 刘晔, 陆卫, 杨兴霞, 马文华, 刘文峰, 毕伶, 白少华, 潘伯荣, 马连生
附录	199 世界华人消化杂志投稿须知
致谢	204 致谢世界华人消化杂志编委
消息	133 世界华人消化杂志关于作者署名的声明 139 中国科学技术信息研究所情报方法研究中心关于2005年世界华人消化杂志指标检索报告 150 第十九届全国中西医结合消化会议征文通知 156 《世界华人消化杂志》简介 164 欢迎订阅2007年《世界华人消化杂志》 180 2005年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序表 184 全国消化及消化内镜诊断与治疗进展学术研讨会征文启事 188 2007中华肝胆胰脾外科(国际)学术论坛征文通知 192 中华医学会第七次全国消化系疾病学术会议征文通知 196 世界华人消化杂志在线办公系统 198 世界华人消化杂志的同行评议
封面故事	Tadashi Takeda, Takahiro Yasuda, Yuji Nakayama, Mika Nakaya, Megumi Kimura, Mariko Yamashita, Ayumi Sawada, Koji Abo, Setsuko Takeda, Hiroki Sakaguchi, Susumu Shiomi, Hitoshi Asai, Shuichi Seki. Usefulness of noninvasive transient elastography for assessment of liver fibrosis stage in chronic hepatitis C. <i>World J Gastroenterol</i> 2006; 12(48): 7768-7773 http://www.wjgnet.com/1007-9327/12/7768.asp
国际会议	9th World Congress on Gastrointestinal Cancer 20-23 June 2007 Barcelona Imedex meetings@imedex.com

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 2007-01-18

原刊名 新消化病学杂志

名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生

编辑部主任 张海宁 英文编辑 张海宁

中文编辑 潘伯荣 张焕兰 王晓瑜

电子编辑 张敏 李琪

本期责任编辑 王晓瑜

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市2345信箱

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

电话: 010-85381901

传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局

国外: 中国国际图书贸易总公司

(100044, 北京市399信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部

(100023, 北京市2345信箱)

电话: 010-85381901

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《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。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社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。

2007年版权归世界胃肠病学杂志社所有

ISSN 1009-3079

邮发代号

国外代号

国内定价

广告经营许可证

CN 14-1260/R

82-262

M 4481

每期24.00元 全年864.00元

1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

January 2007 Contents in Brief Volume 15 Number 2

EDITORIAL	107 Unity is strength, communication makes progress <i>Xiao H</i>
BASIC RESEARCH	108 Influence of Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A on the proliferation of human gastric cancer cells <i>Gao Y, Ji J, Zhu W, Wang Y, Luo B</i> 114 Anti-angiogenic effect of nitric oxide synthase inhibitor on colorectal cancer xenografts in nude mice <i>Sun WZ, Yu LB, Dong XS</i> 118 Effect of cimetidine on the proliferation and apoptosis of human gastric cancer cell line SGC-7901 <i>Jiang CG, Li JB, Xu HM, Yu M, Wu T, Liu FR</i>
CLINICAL RESEARCH	123 Expression of epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2 and their correlations in gastric carcinoma <i>Xiao WM, Shi RH, Ding YB, Gong WJ, Ding YL, Xue Y</i> 129 Retrospective study of photodynamic therapy for upper gastrointestinal cancers during past 25 years in China <i>Liu HL, Liu DQ</i> 134 Effect of burn stress on gastric motility <i>Liu J, Li ZS</i>
REVIEW	140 Discussion on the reversibility of gastric intestinal metaplasia <i>Li K, Tang ZP, Zheng FJ, Hong YS</i> 145 Application of human hepatoma cell line HepG2 and its progress in the detection of genotoxicants <i>Yao XF, Zhong LF</i> 151 Roles of integrins in pancreatic adenocarcinoma <i>He D, Zhang XH</i>
RAPID COMMUNICATION	157 Anti-tumor effects of dry and fresh <i>Gekko Swinhonis Gunther</i> freeze-dried powders on mouse H22 hepatocellular carcinoma <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> <i>Yang JX, Wang XM, Zhu W, Fu H, Liu GX</i> 161 An improved reproducible canine model of esophagogastric varices <i>Fang HP, Tang ZF, Liu B, Liu CZ, Pan WD, Xu RY</i> 165 Pharmacodynamical mechanisms of total flavonoids from <i>Chaenomeles Lagenaria Koidz</i> in the relaxation of gastrointestinal smooth muscles <i>Liu W, Yang XH, Zhou M, Li CD</i> 168 Effects of brain death on protein kinase C expression in pancreatic and intestinal tissues of Ba-Ma mini pigs <i>Li WT, Zhou C, Song Y, Zhai WL, Ma XX, Zhang SJ</i>

CLINICAL PRACTICE	<p>171 No association between p53 gene intron 7 polymorphism and chronic atrophic gastritis in Han Chinese of Jiangsu province <i>Wang JR, Lai RS, Zhang XH, Xie L</i></p> <p>176 Comparison between two techniques of endoscopic metal stent placement on relieving gastric outlet obstruction <i>Wang R, Liu XC, Wu DM, Huo RH</i></p> <p>181 Effects of <i>Salvia miltiorrhiza</i> bunge injection on the status of lipid peroxidation in liver cirrhosis patients with massive upper gastrointestinal hemorrhage <i>He SX, Xu JL, Zhao G, Wang YL, Fu H, Li HX, Chang XM</i></p> <p>185 Expression of transforming growth factor-β1, Smad3 and Smad7 and their significances in pancreatic fibrosis <i>Ma SL, Zhao Q, Gong Y, Wang Y, Yang F</i></p> <p>189 Clinical features of colonic diverticulum: an analysis of 165 cases <i>Wang WY, Xia B, Chen GL, Li HG, Li C</i></p> <p>193 Value of fecal tumor M₂ pyruvate kinase in diagnosis of colorectal cancer <i>Zhang B, Chen JY, Wang GB</i></p>
MEETING MINUTES	<p>197 Meeting minutes for the 3rd working conference of 2006 World Chinese Journal of Digestology and World Journal of Gastroenterology <i>Zhang HN, Zhang HL, Wang XY, Zhang M, Li Q, Jiang Y, Ma JY, Wang XL, Zhu LH, Wang J, Zhang JZ, Liu Y, Lv W, Yang XX, Ma WH, Liu WF, Bi L, Bai SH, Pai BR, Ma LS</i></p>
APPENDIX	<p>199 Instructions to authors of World Chinese Journal of Digestology</p>
ACKNOWLEDGMENT	<p>204 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology</p>
COVER	<p><i>Takeda T, Yasuda T, Nakayama Y, Nakaya M, Kimura M, Yamashita M, Sawada A, Abo K, Takeda S, Sakaguchi H, Shiomi S, Asai H, Seki S.</i></p> <p>Usefulness of noninvasive transient elastography for assessment of liver fibrosis stage in chronic hepatitis C. <i>World J Gastroenterol</i> 2006; 12(48): 7768-7773 http://www.wjgnet.com/1007-9327/12/7768.asp</p>
INTERNATIONAL MEETINGS	<p>9th World Congress on Gastrointestinal Cancer 20-23 June 2007 Barcelona Imedex meetings@imedex.com</p>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica and Abstract Journals

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

World Chinese Journal of Digestology

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date January 18, 2007

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

Edited by Editorial Board of

World Chinese Journal of Digestology

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Overseas Distributor

China International Book Trading Corporation

PO Box 399, Beijing 100044, China

Code No.M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

PO Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381901

Fax: +86-10-85381893

Email: wjgd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

ISSN 1009-3079 **CN** 14-1260/R

Copyright © 2007 by The WJG Press

团结就是力量, 交流才能提高

肖宏

肖宏, 科学出版社期刊出版中心 北京市 100717
通讯作者: 肖宏, 100717, 北京市东黄城根北街16号, 科学出版社期刊出版中心, xiaohong@mail.sciencep.com
电话: 010-64017032 传真: 010-64016350
收稿日期: 2006-12-05 接受日期: 2006-12-26

秋天是硕果累累的季节, 我们团聚在北京召开2006年度科学出版社首届期刊出版研讨会。这是一个促进交流、促进发展的大会, 一方面是我们有共性的需求-科技期刊要发展, 另一方面是我们有共同的出版品牌-科学出版社要为大家做好服务。

在170多位代表积极参加的会议中, 我们看到了各方面领导积极支持的鼓励态度, 看到了业界专家积极探索的求知精神, 看到了期刊同行热切交流的互动场面, 看到了国际领先的出版社一流的出版服务能力, 也看到了科学出版社的服务人员团结协助、积极推进工作的新局面。让我感动的是, 在面对面的接触中, 我感觉到院内外的各个编辑部还是有那么一种团结向前、谋划发展的精神状态, 还是有那么一种渴望振兴我国优秀科技期刊的激情。虽然我们的期刊出版规模, 与国际上领先的期刊出版集团还有很大差距, 但在国内, 我们毕竟是一支难得的队伍。中

国科学出版集团在传统出版领域已形成知名(科技)品牌, 能与中国科学院这一“科研国家队”品牌相匹配, 在国际STM(science, technology and medicine)出版领域, 也代表了中国的出版实力。而科学出版社是目前我国出版科技期刊品种最多、学术质量水平最高、国内外影响最大的大型科技出版社。现在大家都知道, 要有良好的社会和经济效益, 必须有一定的规模影响力才能在市场上站住脚; 要在市场上树立权威, 必须有自己过硬的品牌代表才行。团结就是力量, 相信经过我们刊物和出版社的共同努力, 一定可以克服长期以来科技期刊分散办刊、各自为战、发展力不够、影响力弱小的缺点。

这次大会, 让大家感触最深的是, 刊物的出版工作和刊物的内容建设同等重要, 对科技期刊的发展, 不仅要继续提高编辑质量, 还要从管理上提高总体设计与策划能力, 从出版上提高市场经营能力。大家还意识到, 交流与沟通多么重要。古人提倡见贤思齐、从善如流。我们明确了先进的、发展的方向, 就要踏踏实实去做发展的实事。让我们更好地团结起来, 共同学习与促进, 迎接我们科技期刊大发展的美好明天吧。

新闻出版总署报刊司张泽青副司长代表新闻出版总署报刊司对这次会议的召开表示祝贺, 对在座各位编辑的辛勤劳动表示感谢, 感谢他们为社会、为国家的自然科学界奉献了丰厚的精神产品, 积累了优秀的科研成果; 并希望这次会议成为编辑部之间交流的平台。

中科院战略规划局潘教峰局长同样对此次会议表示祝贺, 并对中科院出版委的情况做了详细介绍。他希望大家能够抓住这次期刊出版研讨会的平台, 相互交流、相互学习, 真正把我们的科技期刊做强做大, 打造出我们自己的品牌期刊、品牌集群以及品牌平台。

电编 李琪 编辑 张焕兰

EB病毒潜伏期膜蛋白LMP2A对胃癌细胞增殖的影响

高玉, 纪静, 朱伟, 王云, 罗兵

■背景资料

EB病毒(EBV)属人类γ疱疹病毒, 是传染性单核细胞增多症(IM)的病原体, 并与鼻咽癌(NPC)、Burkitt淋巴瘤(BL)、胃癌(GC)等多种肿瘤的发生有关。研究表明, EBV潜伏期基因和部分早期基因的表达与EBV相关肿瘤的发生密切相关。

高玉, 纪静, 王云, 罗兵, 青岛大学医学院微生物教研室 山东省青岛市 266021
朱伟, 济宁医学院微生物教研室 山东省日照市 276826
国家自然科学基金资助项目, No. 30471623
通讯作者: 罗兵, 266021, 青岛市登州路38号, 青岛大学医学院微生物教研室. qdluobing@yahoo.com
电话: 0532-83812423 传真: 0532-83812423
收稿日期: 2006-09-28 接受日期: 2006-11-08

Influence of Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A on the proliferation of human gastric cancer cells

Yu Gao, Jing Ji, Wei Zhu, Yun Wang, Bing Luo

Yu Gao, Jing Ji, Yun Wang, Bing Luo, Department of Microbiology, Qingdao University Medical College, Qingdao 266021, Shandong Province, China
Wei Zhu, Department of Microbiology, Jining Medical College, Rizhao 276800, Shandong Province, China
Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30471623
Correspondence to: Bing Luo, Department of Microbiology, Qingdao University Medical College, Number 38 of Dengzhou Road, Qingdao, 266021, Shandong Province, China. qdluobing@yahoo.com
Received: 2006-09-28 Accepted: 2006-11-08

Abstract

AIM: To construct recombinant adenovirus expression vector containing Epstein-Barr virus (EBV) latent membrane protein 2A (LMP2A) and investigate the effects of LMP2A on the proliferation of human gastric cancer cell line.

METHODS: The target gene LMP2A was amplified by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), and the recombinant adenovirus vector carrying LMP2A gene was constructed with AdEasy system. The recombinant adenovirus vector pAd-2A was transfected into HEK293 cells with lipofectamine 2000 to package recombinant adenovirus, and then gastric cancer cells SGC with negative EBV were infected by recombinant adenovirus. The expression of LMP2A and its effect on the proliferation of SGC cells were analyzed by PT-PCR, MTT assay, fluorescence activated cell

sorting (FACS) and confocal microscopy.

RESULTS: The recombinant adenovirus vector pAd-2A was successfully constructed and identified by PCR, restrictive enzyme analysis, and DNA sequencing. The recombinant adenovirus vAd-2A packaged by HEK293 cells had stable infectivity. The virus titer was 3.16×10^{12} pfu/L. MTT assay, FACS and confocal microscopy showed that vAd-2A transfection significantly increased the proliferation of SGC cells ($P < 0.01$). The ratio of S-phase cells was markedly elevated after vAd-2A transfection in comparison with that after vAd transfection and non-transfection (24 h: $35.2\% \pm 5.1\%$ vs $14.0\% \pm 3.4\%$, $13.2\% \pm 4.6\%$, $P < 0.01$; 48 h: $25.6\% \pm 4.1\%$ vs $12.9\% \pm 2.6\%$, $12.5\% \pm 3.2\%$, $P < 0.01$). The expression of Cyclin E protein was also induced by LMP2A.

CONCLUSION: The recombinant adenovirus vector carrying EBV LMP2A gene is constructed successfully. Meanwhile, it is confirmed that LMP2A may promote the proliferation of SGC cells by induction of Cyclin E expression.

Key Words: Epstein-Barr virus; Recombinant adenovirus; Latent membrane protein 2A; Gastric cancer cells

Gao Y, Ji J, Zhu W, Wang Y, Luo B. Influence of Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A on the proliferation of human gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):108-113

摘要

目的: 构建EBV潜伏期膜蛋白基因LMP2A的腺病毒表达载体, 探讨LMP2A表达对胃癌细胞的作用。

方法: RT-PCR扩增获取目的基因LMP2A, 采用AdEasy系统构建携带目的基因的重组腺病毒载体pAd-2A, 脂质体法将重组质粒pAd-2A转染HEK293细胞包装重组腺病毒。用重组腺病毒感染靶细胞SGC(胃癌细胞), 通过MTT实验、流式细胞分析、激光共聚焦检测目的基因LMP2A表达对靶细胞增殖的影响。

结果: 限制性酶切、PCR及测序鉴定证实, 目的基因LMP2A正确插入重组质粒, HEK293细胞成功包装出具有稳定感染性的重组腺病毒, 命名为vAd-2A, 经测定病毒滴度为 3.16×10^{12} pfu/L. MTT实验、流式细胞分析以及激光共聚焦检测结果显示, 感染腺病毒vAd-2A的SGC细胞增殖旺盛(感染vAd-2A细胞vs感染vAd细胞和未感染病毒细胞, $P < 0.01$), S期细胞比例升高(24 h: $35.2\% \pm 5.1\%$ vs $14.0\% \pm 3.4\%$, $13.2\% \pm 4.6\%$, $P < 0.01$; 48 h: $25.6\% \pm 4.1\%$ vs $12.9\% \pm 2.6\%$, $12.5\% \pm 3.2\%$, $P < 0.01$), LMP2A可诱导细胞周期调节蛋白cyclinE的表达。

结论: 成功构建了EBV潜伏期膜蛋白基因LMP2A的重组腺病毒表达载体, 并在HEK293细胞中成功包装出重组腺病毒, 同时证实LMP2A可通过诱导cyclinE的表达促进SGC细胞增殖。

关键词: EB病毒; 重组腺病毒; LMP2A; 胃癌细胞

高玉, 纪静, 朱伟, 王云, 罗兵. EB病毒潜伏期膜蛋白LMP2A对胃癌细胞增殖的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(2):108-113
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/108.asp>

0 引言

EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)属人类 γ 疱疹病毒, 是传染性单核细胞增多症(IM)的病原体, 并与鼻咽癌(NPC)、Burkitt淋巴瘤(BL)、胃癌(GC)等多种肿瘤的发生有关^[1-5]. 近年来研究表明, 体内外EBV潜伏感染的B细胞中均能检测到潜伏膜蛋白LMP2A的表达, 约50%的EBV相关胃癌LMP2A阳性, 而且LMP2A是鼻咽癌、淋巴瘤等肿瘤细胞稳定表达的少数EBV保守抗原之一. 此外LMP2A具有潜在的T细胞激活表位, 能介导CTL发挥作用^[6-7], 因此深入探讨LMP2A的生物活性对于揭示EBV致病机制以及开展EBV相关肿瘤的特异性治疗具有重要意义. 本研究通过缺陷型腺病毒介导LMP2A基因在胃癌细胞中的表达, 探讨LMP2A表达对细胞生物学行为的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 携带GFP报告基因的腺病毒穿梭质粒pAdTrack-CMV, E1区和E3区缺失的复制缺陷5型腺病毒骨架质粒pAdeasy-1以及大肠杆菌BJ5183和DH10B均由中国疾病预防控制中心性病艾滋病中心病毒免疫室邵一鸣教授惠赠. 逆转录试剂盒购自美国Promega公司, 限制性核酸内切酶Pac I

和Pme I为英国NEB公司产品, 快速腺病毒感染性滴度(TCID50)检测试剂盒为北京本元正阳公司产品, TGF- β 购自北京中杉金桥试剂公司. 人胚肾293细胞和胃癌细胞(SGC)为本实验室保存, EBV阳性LCL细胞OB系日本鸟取大学医学部生体情报学教室西连寺刚教授惠赠. 上述细胞均用含100 mL/L胎牛血清、100 kU/L青链霉素的DMEM, 37 $^{\circ}$ C, 50 mL/L CO₂的培养箱中培养。

1.2 方法 根据GenBank提供的LMP2A基因编码序列, DNASTAR软件设计扩增LMP2A读码框架的特异性引物, 并在上、下游引物的5'端分别引入BglII和EcoRV酶切位点(下划线部分)和保护碱基(斜体部分). 上游引物序列为: 5'-GGCAGATC TATGGGGTCCCTAGAAATGGTG-3', 下游引物序列为: 5'-GCGATATCTTATACAGTGTTCG ATATGG-3', 扩增产物长度为1545 bp. TRIzol法提取EBV阳性OB细胞总RNA, 按照逆转录试剂盒要求的标准条件合成cDNA用作PCR模板; 扩增产物于12 g/L琼脂糖凝胶中电泳, 紫外透射仪下观察结果. 用BglII和EcoRV双酶切LMP2A的PCR产物和穿梭质粒pAdTrack-CMV, 纯化后连接形成重组质粒pAd-CMV-2A. 重组质粒pAd-CMV-2A经Pme I线性化和CIAP去磷酸化后与骨架质粒pAdEasy-1共转化工程菌BJ5183进行同源重组, 重组质粒命名pAd-2A; 同时构建不含目的基因的对照质粒pAd, 通过PCR扩增、限制性酶切和测序分析对重组质粒和对照质粒进行鉴定. 用脂质体法将Pac I酶切线性化的重组质粒pAd-2A和质粒对照pAd分别转染293细胞, 48 h后荧光显微镜观察细胞是否有荧光出现, 在观察到细胞荧光出现5-7 d后收获细胞, 1000 r/min离心10 min弃上清, 细胞沉淀重悬于2 mL磷酸盐缓冲液(PBS)中, -80 $^{\circ}$ C/37 $^{\circ}$ C反复冻融3次. 1000 r/min离心10 min, 取1/3上清接种至50%-70%汇合的293细胞, 约1/3-1/2的293细胞产生病变效应时, 离心收集细胞, 重复上述步骤2-3次, 所获重组腺病毒命名为vAd-2A, 载体对照命名为vAd. 用快速腺病毒感染性滴度(TCID50)检测试剂盒测定病毒滴度, 操作按说明书进行. SGC细胞感染前1 d传代, 当细胞生长达60%汇合时, 每25 cm²培养瓶接种150 μ L病毒悬液, 24 h后换维持液, 荧光显微镜下逐日观察绿色荧光蛋白的表达以确定感染效率。

1.2.1 RT-PCR检测LMP2A的表达 分别提取未感染腺病毒组、感染vAd-2A组以及感染vAd组靶细胞SGC总RNA, 用DNase消化处理排除DNA的

■ 相关报道

近年来有研究表明LMP2A可影响B细胞及上皮细胞的生长、分化和凋亡, 并对LMP2A调节细胞生长的可能机制进行了初步探讨, 但LMP2A对细胞周期的调节机制尚未明确。

■创新盘点

本研究成功制备了能在靶细胞有效转录表达目的基因的重组腺病毒vAd-2A, 通过腺病毒将目的基因LMP2A导入靶细胞胃癌细胞, 通过MTT实验、流式细胞分析以及激光共聚焦检测证实, LMP2A在胃癌细胞中可通过诱导cyclin E表达而促进细胞增生。

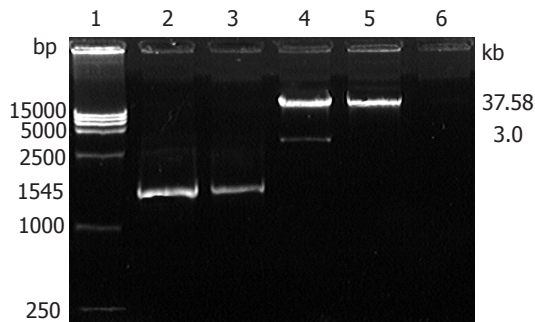


图1 重组质粒Pac I 酶切产物及目的基因PCR产物电泳图。1: Marker DL15000; 2: 阳性对照组; 3: pAd-2A PCR产物; 4: pAd-2A/Pac I 酶切产物; 5: pAd-2A。

干扰, RT-PCR检测目的基因LMP2A的转录表达, 所用引物和探针序列参考文献^[8-9]设计合成, PCR产物为280 bp. 同时以DNase消化处理的RNA为模板进行PCR检测, 证实RNA中确无DNA污染. PCR产物于20 g/L琼脂糖凝胶中电泳后转印至Hybond-N⁺尼龙膜, 与地高辛标记的LMP2A特异性探针进行杂交检测, 以EBV阳性OB细胞作为阳性对照。

1.2.2 MTT检测细胞增殖 制备 5×10^7 个/L的SGC单细胞悬液接种96孔细胞培养板, 每孔100 μ L, 细胞过夜贴壁后接种腺病毒1.5 μ L, 培养液中加入转化生长因子 β 1(transforming growth factor beta, TGF- β 1)至终浓度为10 μ g/L. 试验设未感染腺病毒组、感染vAd-2A组以及感染vAd组, 每组各时间段均设3个平行孔, 分别于接种病毒0, 24, 48, 72, 96, 120 h时加10 μ L 5 g/L MTT, 37 $^{\circ}$ C继续培养4 h, 每孔加0.5 g/L DMSO 150 μ L终止反应, 将细胞悬液充分混匀后, 用酶标检测仪在波长490 nm下读取吸光度(A)值. 以无细胞培养液孔作为空白对照, 取3次试验均值。

1.2.3 流式细胞分析S期细胞的比例 SGC细胞生长达80%汇合时接种重组腺病毒vAd-2A和病毒对照vAd, 腺病毒感染组及未感染病毒组同样用TGF- β 1处理, 分别于感染后48 h和72 h收集所有悬浮及贴壁细胞, 1000 r/min离心5 min弃培养基, PBS洗细胞1次, 用少量PBS重悬细胞, 加预冷750 mL/L乙醇4 mL混匀, 4 $^{\circ}$ C固定18 h. 然后将细胞悬浮于含碘化丙啶(PI)的染色培养基中冰上放置5 min, PBS洗细胞2次, 离心后细胞沉淀重悬于染色培养基1 mL中, 用流式细胞仪检测S期细胞的比例, Multipcycle分析软件对实验数据进行统计学处理和分析。

1.2.4 细胞周期蛋白Cyclin E表达的检测 靶细胞爬片培养形成单层后接种病毒, 24 h时取

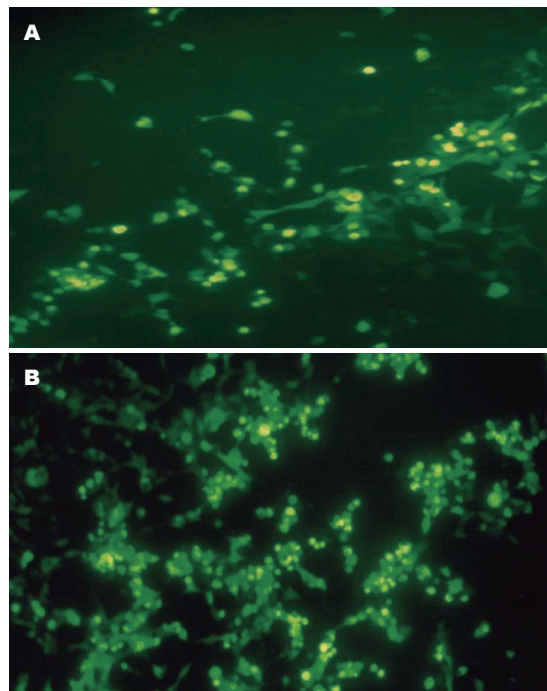


图2 重组质粒pAd-2A转染293细胞产生的绿色荧光. A: 转染后2 d; B: 转染后7 d.

出用40 g/L甲醛固定30 min, PBS洗3次; 3 g/L Triton-100室温作用30 min, PBS洗1次. 用山羊血清封闭30 min, 然后加鼠抗Cyclin E mAb(PBS 1 : 200稀释)37 $^{\circ}$ C孵育1-2 h, PBS洗3次. 加罗丹明标记的羊抗鼠IgG(PBS 1 : 200稀释) 37 $^{\circ}$ C孵育1-2 h, PBS充分洗涤后, 直接在激光共聚焦显微镜下观察结果并拍照。

统计学处理 MTT检测和流式细胞仪分析分别重复3次, 结果表示为平均值 \pm 标准差(mean \pm SD), 应用SAS6.12统计分析软件进行t检验, $P < 0.01$ 有统计学意义。

2 结果

重组质粒经Pac I 酶切后, 形成3.0 kb和37.6 kb的2条电泳条带, 提示pAdTrack-CMV-2A和骨架质粒pAdEasy-1的重组发生在质粒的右臂和左臂区. 以重组质粒为模板进行PCR扩增, 可观察到大小约1545 bp的PCR产物, 与预期值一致(图1). 正反双向测序结果显示重组质粒pAd-2A插入片段方向正确, 核酸序列无误, 读码框架完整. 将重组质粒pAd-2A和对照质粒pAd用Pac I 线性化后转染293细胞, 48 h后在荧光显微镜下可观察到细胞内的绿色荧光, 表明质粒转染成功, 外源基因开始表达(图2). 随之阳性细胞逐渐增多, 且荧光增强, 7 d后约1/3细胞出现圆缩、肿胀脱落等细胞病变效应时收获细胞, -80 $^{\circ}$ C/37 $^{\circ}$ C冻融3

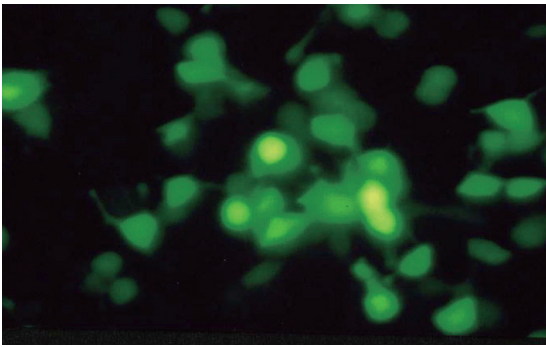


图3 重组腺病毒vAd-2A感染的靶细胞.

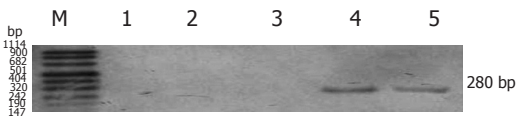


图4 PCR-Southern-blotting检测胃癌细胞中LMP2A的表达. M: Marker; 1: 阴性对照组; 2: 感染vAd组; 3: 未感染组; 4: 感染vAd-2A组; 5: 阳性对照组.

次, 离心除去细胞碎片. 取细胞裂解上清接种新的293细胞, 细胞出现病变效应时收集细胞, 如此反复3次, 出现细胞病变效应的时间越来越短, 表明病毒滴度逐渐升高, 且感染性增强, 快速腺病毒感染性滴度检测试剂盒测得腺病毒滴度为 3.16×10^{12} pfu/L.

2.1 重组腺病毒vAd-2A在靶细胞中的表达 靶细胞感染重组腺病毒48 h后可在荧光显微镜下观察到绿色荧光, 4 d时感染率达90%, 提示重组腺病毒可有效感染靶细胞(图3). 提取重组腺病毒感染靶细胞SGC总RNA, DNA酶充分消化后RT-PCR结合Southern-blotting杂交检测目的基因LMP2A表达. 结果显示, 接种重组腺病毒的靶细胞检测到目的基因LMP2A的表达, 可观察到280 bp的特异性扩增条带, 而载体对照和未感染腺病毒的靶细胞则无此条带, 表明重组腺病毒能在SGC细胞有效转录(图4).

2.2 LMP2A表达对胃癌细胞增殖的影响 接种vAd-2A组SGC细胞吸光度值与接种vAd组SGC细胞和未接种病毒SGC细胞吸光度值比较前3 d差别较小, 从第4天起差别逐渐增大, 差别有统计学意义($P < 0.01$); 第6天SGC细胞和接种vAd的SGC细胞增殖明显减弱, 而接种vAd-2A组SGC细胞仍表现出较强的增殖能力(图5).

2.3 细胞周期蛋白E的表达 约80%接种vAd和vAd-2A的SGC细胞可观察到绿色荧光(图6B-C), 而未接种病毒的SGC细胞则无绿色荧光蛋白表达(图6A). 几乎所有感染vAd-2A的SGC细胞均

表1 LMP2A表达对SGC细胞S期比例的影响(mean \pm SD, %)

分组	24 h	48 h
感染vAd-2A	35.2 \pm 5.1 ^a	25.6 \pm 4.1 ^a
感染vAd	14.0 \pm 3.4	12.9 \pm 2.6
未感染病毒	13.2 \pm 4.6	12.5 \pm 3.2

^a $P < 0.01$ vs 感染vAd组和未感染病毒组.

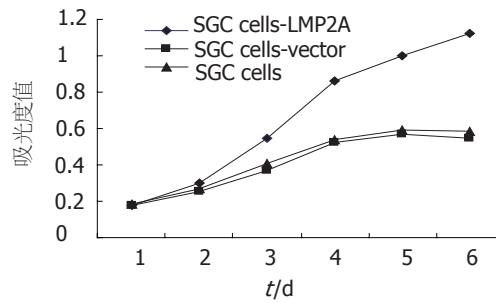


图5 LMP2A表达对SGC细胞增殖的影响.

可见Cyclin E的表达, 荧光信号强(图6F); 而感染vAd的SGC细胞仅部分细胞检测到Cyclin E表达(图6E), 且荧光信号较弱; 未感染病毒的SGC细胞则少有荧光阳性细胞(图6D).

2.4 细胞S期的比例 接种病毒24和48 h时TGF- β 1作用后各组细胞S期的比例较未感染病毒组和感染2A组明显增高, 差别有显著意义; 感染vAd组与未感染病毒组SGC细胞S期的比例则无明显差异(表1).

3 讨论

EBV对宿主细胞的感染有潜伏感染和裂解期感染两种类型, 肿瘤组织中EBV主要以潜伏感染的形式存在^[10]. 体内外EBV潜伏感染的B细胞中均能检测到潜伏膜蛋白LMP2A的表达, 且LMP2A是除BL外大多数EBV相关肿瘤细胞中稳定表达的EBV抗原之一, 提示LMP2A在维持病毒潜伏感染状态和EBV相关肿瘤的发病中可能发挥一定的作用. 近几年有体内外实验表明LMP2A可影响B细胞及上皮细胞的生长、分化和凋亡, 并对LMP2A调节细胞生长的可能机制进行了初步探讨, 但LMP2A对细胞周期的调节机制尚未明确^[11-14]. 本研究成功构建了表达LMP2A的重组腺病毒载体, 经HEK293细胞包装获得了具有感染性的重组腺病毒vAd-2A, PCR-Southern-blotting结果表明, 重组腺病毒能在SGC细胞有效转录表达. 本研究MTT检测结果显示, 接种重组腺病毒vAd-2A组SGC细

应用要点

本文为深入探讨LMP2A的作用途径提供了实验基础, 为EBV相关胃癌的发生机制以及未来采用免疫学方法治疗和预防EBV相关肿瘤提供理论依据.

■名词解释

1 LMP2A: 潜伏期膜蛋白2A, EBV编码, 由2.3 kb mRNA编码, 起始于EBV线性基因组的第166607位核苷酸, 由U5区的1个外显子和U1区的8个外显子组成, 在多种肿瘤中可检测到LMP2A的表达。

2 Cyclin E: 细胞周期蛋白E, 可促进细胞进入S期, 在细胞周期由G1→S期的转换中是主要的限速因子之一, 很可能在细胞分裂周期中起中心控制作用。

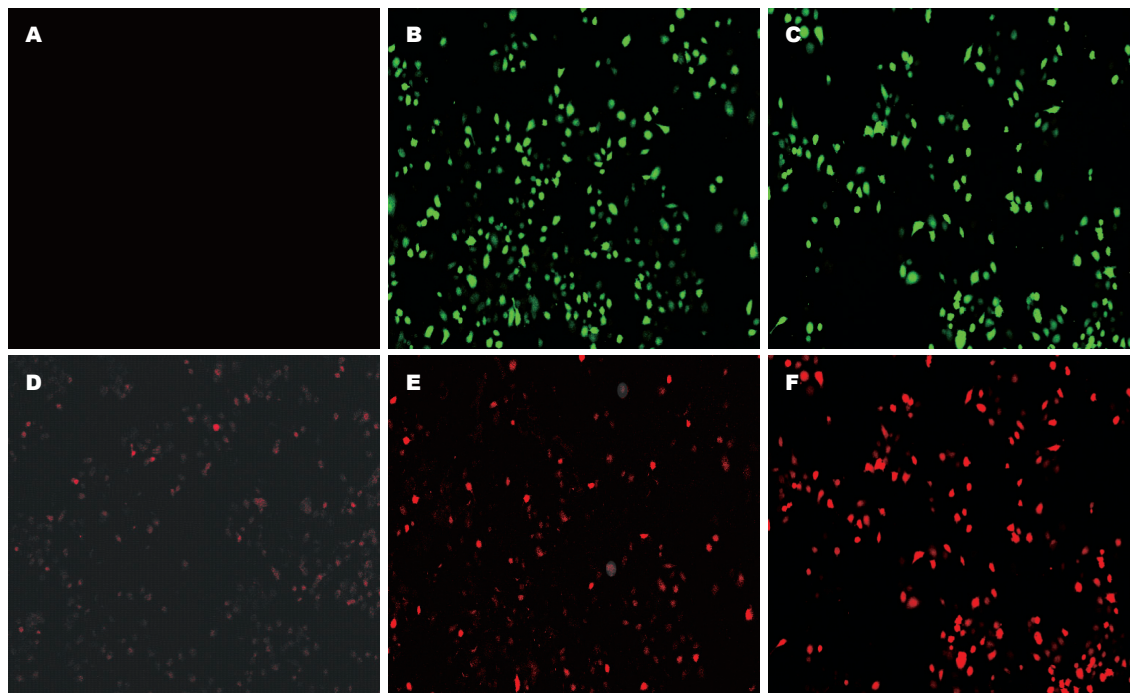


图6 激光共聚焦分析Cyclin E的表达。A-C: GFP; D-F: Cyclin E; A, D: 未接种病毒细胞; B, E: 接种vAd细胞; C, F: 接种vAd-2A细胞。

胞增殖与接种病毒对照vAd组SGC细胞和未接种病毒细胞增殖比较前3 d无明显差异, 从第4天起未接种病毒的SGC细胞和接种vAd的SGC细胞增殖明显减弱, 而接种vAd-2A组SGC细胞至第6天时仍表现出较强的增殖能力。流式细胞技术结果显示, 感染vAd-2A的胃癌细胞S期比例明显升高, 表明LMP2A可促进胃癌细胞增殖。细胞增殖和凋亡受多种细胞周期蛋白调控, 细胞周期蛋白Cyclin E是G1期特异性蛋白, 在细胞由G0→S期中起主要作用, 已发现的某些肿瘤组织如胃癌等可检测到Cyclin E基因扩增或高表达, 与肿瘤进展相关, 是候选的癌基因^[15-18]。另有研究者发现, 在胃癌中存在Cyclin D1, Cyclin E的过度表达, 从而导致G1期时间缩短或加速G1期的进程, 甚至可以突破检测点的监测直接进入S期, 使S期比值升高^[19-20]。本实验激光共聚焦扫描检测结果显示, 未接种病毒的SGC细胞少有Cyclin E阳性细胞, 感染重组腺病毒vAd-2A组表达Cyclin E的SGC细胞数量明显多于接种病毒对照vAd的SGC细胞, 且荧光信号更强, 提示LMP2A可诱导胃癌细胞Cyclin E的过度表达。LMP2A可通过诱导Cyclin E表达, 促进细胞由G1期进入S期, 引起细胞异常增生。

LMP2A不仅促进SGC细胞增殖, 也可有效抑制TGF- β 1诱导的细胞凋亡。TGF- β 1是一种多功能细胞因子, 在调节细胞的生长分化方面起重要作用, 且是一种有效的免疫调节剂, 能抑制大

多数T、B细胞系在体外的增殖和分化^[21-23]。我们在MTT实验和流式细胞分析中加入TGF- β 1处理SGC细胞, 结果证实LMP2A可以有效抑制TGF- β 1诱导的SGC细胞的凋亡。Fukuda *et al*^[24]亦报道, LMP2A通过激活PI-K/Akt途径抑制TGF- β 1诱导的BL细胞系和胃印戒细胞癌细胞系的凋亡, 可在一定程度上增强TGF- β 1处理后细胞的生存能力。LMP2A具有多种生物学活性, 在B细胞中可抑制诱导EBV裂解复制的B细胞受体信号的传导, 从而抑制病毒增殖, 维持病毒的潜伏, 虽然LMP2A并无体外转化B细胞的作用, 但能抑制B细胞分化^[25]。实验表明, LMP2A能诱导上皮细胞发生转化, Scholle *et al*^[26]报道, LMP2A转染人角质化上皮细胞株HaCaT后, 能引起细胞增殖及转化, 并可在裸鼠中形成肿瘤。鉴于LMP2A可在大多数EBV相关肿瘤中表达, 因此推测LMP2A可通过多种途径影响细胞周期, 促进细胞周期紊乱, 引起细胞异常增生, 在EBV相关肿瘤的发生中发挥重要作用。EBV与胃癌的相关性近年来已得到确认, 世界各地约2%-16%的胃癌EBV阳性, EBVaGC中几乎所有癌细胞EBV阳性, 研究表明, EBVaGC来源于EBV感染细胞的单克隆增生, EBV感染发生在胃癌形成早期, EBV在癌症发生中起重要作用^[27-31]。在EBVaGC中, 公认的EBV转化基因LMP1并不表达, 而约50%的EBVaGC表达LMP2A, LMP2A在EBV相关胃癌发生发展中的作用受到广泛

关注. 本研究成功制备了能在靶细胞有效转录表达目的基因的重组腺病毒vAd-2A, 并证实LMP2A在胃癌细胞中可通过诱导Cyclin E表达而促进细胞增殖, 为深入探讨LMP2A的作用途径提供了实验基础.

4 参考文献

- Masucci MG, Ernberg I. Epstein-Barr virus: adaptation to a life within the immune system. *Trends Microbiol* 1994; 2: 125-130
- Cohen JI. Epstein-Barr virus infection. *N Engl J Med* 2000; 343: 481-492
- Niedobitek G, Meru N, Delecluse HJ. Epstein-Barr virus infection and human malignancies. *Int J Exp Pathol* 2001; 82: 149-170
- Delecluse HJ, Hammerschmidt W. The genetic approach to the Epstein-Barr virus: from basic virology to gene therapy. *Mol Pathol* 2000; 53: 270-279
- Young LS, Dawson CW, Eliopoulos AG. The expression and function of Epstein-Barr virus encoded latent genes. *Mol Pathol* 2000; 53: 238-247
- Konishi K, Maruo S, Kato H, Takada K. Role of Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 2A on virus-induced immortalization and virus activation. *J Gen Virol* 2001; 82: 1451-1456
- Murray RJ, Kurilla MG, Brooks JM, Thomas WA, Rowe M, Kieff E, Rickinson AB. Identification of target antigens for the human cytotoxic T cell response to Epstein-Barr virus (EBV): implications for the immune control of EBV-positive malignancies. *J Exp Med* 1992; 176: 157-168
- Luo B, Murakami M, Fukuda M, Fujioka A, Yanagihara K, Sairenji T. Characterization of Epstein-Barr virus infection in a human signet ring cell gastric carcinoma cell line, HSC-39. *Microbes Infect* 2004; 6: 429-439
- Luo B, Wang Y, Wang XF, Liang H, Yan LP, Huang BH, Zhao P. Expression of Epstein-Barr virus genes in EBV-associated gastric carcinomas. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 629-633
- Takano Y, Kato Y, Saegusa M, Mori S, Shiota M, Masuda M, Mikami T, Okayasu I. The role of the Epstein-Barr virus in the oncogenesis of EBV(+) gastric carcinomas. *Virchows Arch* 1999; 434: 17-22
- Portis T, Longnecker R. Epstein-Barr virus LMP2A interferes with global transcription factor regulation when expressed during B-lymphocyte development. *J Virol* 2003; 77: 105-114
- Ikeda A, Merchant M, Lev L, Longnecker R, Ikeda M. Latent membrane protein 2A, a viral B cell receptor homologue, induces CD5+ B-1 cell development. *J Immunol* 2004; 172: 5329-5337
- Engels N, Merchant M, Pappu R, Chan AC, Longnecker R, Wienands J. Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A (LMP2A) employs the SLP-65 signaling module. *J Exp Med* 2001; 194: 255-264
- Swart R, Ruf IK, Sample J, Longnecker R. Latent membrane protein 2A-mediated effects on the phosphatidylinositol 3-Kinase/Akt pathway. *J Virol* 2000; 74: 10838-10845
- Ohtsubo M, Theodoras AM, Schumacher J, Roberts JM, Pagano M. Human Cyclin E, a nuclear protein essential for the G1-to-S phase transition. *Mol Cell Biol* 1995; 15: 2612-2624
- Akama Y, Yasui W, Yokozaki H, Kuniyasu H, Kitahara K, Ishikawa T, Tahara E. Frequent amplification of the Cyclin E gene in human gastric carcinomas. *Jpn J Cancer Res* 1995; 86: 617-621
- Ishii H, Gobe G, Kawakubo Y, Sato Y, Ebihara Y. Interrelationship between Epstein-Barr virus infection in gastric carcinomas and the expression of apoptosis-associated proteins. *Histopathology* 2001; 38: 111-119
- Herrera-Goepfert R, Akiba S, Koriyama C, Ding S, Reyes E, Itoh T, Minakami Y, Eizuru Y. Epstein-Barr virus-associated gastric carcinoma: Evidence of age-dependence among a Mexican population. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6096-6103
- Spruck CH, Won KA, Reed SI. Deregulated Cyclin E induces chromosome instability. *Nature* 1999; 401: 297-300
- Keyomarsi K, Herliczek TW. The role of Cyclin E in cell proliferation, development and cancer. *Prog Cell Cycle Res* 1997; 3: 171-191
- Massague J. TGF-beta signal transduction. *Annu Rev Biochem* 1998; 67: 753-791
- Inman GJ, Allday MJ. Apoptosis induced by TGF-beta 1 in Burkitt's lymphoma cells is caspase 8 dependent but is death receptor independent. *J Immunol* 2000; 165: 2500-2510
- Yanagihara K, Tsumuraya M. Transforming growth factor beta 1 induces apoptotic cell death in cultured human gastric carcinoma cells. *Cancer Res* 1992; 52: 4042-4045
- Fukuda M, Longnecker R. Latent membrane protein 2A inhibits transforming growth factor-beta 1-induced apoptosis through the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *J Virol* 2004; 78: 1697-1705
- Longnecker R, Miller CL, Miao XQ, Marchini A, Kieff E. The only domain which distinguishes Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A (LMP2A) from LMP2B is dispensable for lymphocyte infection and growth transformation *in vitro*; LMP2A is therefore nonessential. *J Virol* 1992; 66: 6461-6469
- Scholle F, Bendt KM, Raab-Traub N. Epstein-Barr virus LMP2A transforms epithelial cells, inhibits cell differentiation, and activates Akt. *J Virol* 2000; 74: 10681-10689
- Takada K. Epstein-Barr virus and gastric carcinoma. *Mol Pathol* 2000; 53: 255-261
- Imai S, Koizumi S, Sugiura M, Tokunaga M, Uemura Y, Yamamoto N, Tanaka S, Sato E, Osato T. Gastric carcinoma: monoclonal epithelial malignant cells expressing Epstein-Barr virus latent infection protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9131-9135
- Shibata D, Weiss LM. Epstein-Barr virus-associated gastric adenocarcinoma. *Am J Pathol* 1992; 140: 769-774
- Rowlands DC, Ito M, Mangham DC, Reynolds G, Herbst H, Hallissey MT, Fielding JW, Newbold KM, Jones EL, Young LS. Epstein-Barr virus and carcinomas: rare association of the virus with gastric adenocarcinomas. *Br J Cancer* 1993; 68: 1014-1019
- Begnami MD, Montagnini AL, Vettore AL, Nonogaki S, Brait M, Simoes-Sato AY, Seixas AQ, Soares FA. Differential expression of apoptosis related proteins and nitric oxide synthases in Epstein Barr associated gastric carcinomas. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4959-4965

同行评价

本研究进行了LMP2A蛋白转染促进胃癌细胞系增殖并诱导CyclinE表达的研究, 对于LMP2A蛋白的作用机制进行了初步的研究, 课题设计较为合理, 对于LMP2A在肿瘤中的作用有一定的指导意义.

电编 李琪 编辑 潘伯荣

一氧化氮合酶抑制剂对大肠癌裸鼠移植瘤的抗血管生成作用

孙文洲, 于丽波, 董新舒

■背景资料

大肠癌是人类最常见的恶性肿瘤之一,其发病率和死亡率呈逐年增高的趋势,一氧化氮与大肠癌发生、发展,包括肿瘤血管生成有密切关系,以一氧化氮为靶点利用一氧化氮抑制剂N-硝基精氨酸甲酯抑制肿瘤生长的研究报道较少,其作用机制尚需进一步探讨。

孙文洲, 于丽波, 董新舒, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科 黑龙江省哈尔滨市 150081
孙文洲, 副主任医师, 博士, 主要从事恶性肿瘤的临床与基础研究。
黑龙江省青年科学技术专项资金项目, No. QC05C39
通讯作者: 孙文洲, 150081, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科. ylbswz@yahoo.com.cn
收稿日期: 2006-10-10 接受日期: 2006-10-14

Anti-angiogenic effect of nitric oxide synthase inhibitor on colorectal cancer xenografts in nude mice

Wen-Zhou Sun, Li-Bo Yu, Xin-Shu Dong

Wen-Zhou Sun, Li-Bo Yu, Xin-Shu Dong, the Affiliated Tumor Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, Heilongjiang Province, China
Supported by the Special Fund for the Scientific and Technological Youth of Heilongjiang Province, No. QC05C39
Correspondence to: Wen-Zhou Sun, the Affiliated Tumor Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150081, Heilongjiang Province, China. ylbswz@yahoo.com.cn
Received: 2006-10-10 Accepted: 2006-10-14

Abstract

AIM: To investigate the anti-angiogenic effect of N^G -nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME), an inhibitor of nitric oxide synthase on the growth of colorectal cancer xenografts in nude mice.

METHODS: The xenografts derived from colorectal carcinoma cells LS174 were inoculated in nude mice, and then the mice were randomly divided into group A, B, C and D, intragastrically treated with normal saline ($n = 6, 0.2 \text{ mL}$), L-NAME ($n = 6, 1.5 \text{ mg/kg}$), 5-fluorouracil (5-FU, $n = 6, 5 \text{ mg/kg}$), and L-NAME plus 5-FU (L-NAME 1.5 mg/kg , 5-FU 5 mg/kg), respectively, for 2 weeks (three times per week). Tumor volume was measured in nude mice bearing xenografts. The microvessel density (MVD) was determined by immunohistochemistry, and the protein level of vascular endothelial growth factor (VEGF) was detected by Western blot.

RESULTS: The tumor inhibition rates were significantly higher in group B, C, and D than that in group A (34.1%, 46.0%, 74.1% vs 0, $P < 0.01$). There was significant difference between group B and D as well as between group C and D ($P < 0.01$). The value of MVD in group A was 28.9 ± 2.7 , markedly higher than that in group B (16.2 ± 3.1) ($P < 0.05$). The level of VEGF protein was also decreased in group B as compared with that in group A (98.56 ± 1.76 vs 113.14 ± 2.34 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: L-NAME may restrain the growth of human colorectal carcinoma LS174 xenografts by inhibiting the angiogenesis in nude mice. L-NAME in combination with 5-FU may produce a synergetic effect.

Key Words: Colorectal cancer; N^G -nitro-L-arginine methyl ester; Angiogenesis

Sun WZ, Yu LB, Dong XS. Anti-angiogenic effect of nitric oxide synthase inhibitor on colorectal cancer xenografts in nude mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):114-117

摘要

目的: 观察一氧化氮合酶抑制剂N-硝基精氨酸甲酯(L-NAME)对大肠癌细胞的抑制作用, 以及对移植瘤内血管生成的影响。

方法: 建立大肠癌裸鼠移植瘤模型再随机分为生理盐水对照组($n = 6, 0.2 \text{ mL}$)、L-NAME组($n = 6, 1.5 \text{ mg/kg}$)、5-FU组($n = 6, 5 \text{ mg/kg}$)、L-NAME+5-FU联合组($n = 6, \text{L-NAME } 1.5 \text{ mg/kg, 5-FU } 5 \text{ mg/kg}$), 皆以灌胃方式给药, 3次/wk, 共2 wk。测量各组肿瘤体积, 观察L-NAME的体内抗癌作用。采用免疫组化方法观察移植瘤的微血管密度(MVD), 用Western blot方法检测肿瘤组织VEGF蛋白的表达。

结果: L-NAME, 5-FU, L-NAME+5-FU组抑瘤率分别为34.1%、46.0%、74.1%, 与对照组比较, 有显著性差异($P < 0.01$), 联合治疗组与L-NAME, 5-FU组比较, 差异也有显

著性($P<0.01$); MVD值对照组为 28.9 ± 2.7 , L-NAME组为 16.2 ± 3.1 , 与对照组比较, 差异有显著性($P<0.05$); L-NAME组移植瘤VEGF蛋白的表达(113.14 ± 2.34), 与对照组(98.56 ± 1.76)相比, 明显减弱($P<0.05$).

结论: L-NAME具有抑制肿瘤新生血管生成的作用, 可抑制大肠癌裸鼠移植瘤的生长; 和5-FU联合具有协同抗肿瘤作用.

关键词: 大肠癌; N-硝基精氨酸甲酯; 肿瘤血管形成

孙文洲, 于丽波, 董新舒. 一氧化氮合酶抑制剂对大肠癌裸鼠移植瘤的抗血管生成作用. 世界华人消化杂志 2007;15(2):114-117

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/114.asp>

0 引言

一氧化氮(NO)与肿瘤的发生、发展及肿瘤的恶性程度密切相关^[1-4], 关于N-硝基精氨酸甲酯(L-NAME)可抑制肿瘤的生长研究国外报道较少^[5-7], 其作用机制尚不十分清楚^[8], 国内尚未见报道. 我们拟采用裸鼠移植瘤模型, 观察一氧化氮合酶(NOS)抑制剂L-NAME对人大肠癌移植瘤内肿瘤新生血管生成及肿瘤细胞的抑制作用.

1 材料和方法

1.1 材料 人大肠中、低分化型腺癌细胞系LS174T, 具有较高的侵袭能力, 由哈尔滨医科大学肿瘤研究所提供, RPMI1640培养基、新生牛血清、胰蛋白酶购自杭州四季青生物工程公司. 细胞常规培养于用含100 mL/L灭活小牛血清、100 kU/L青链霉素的RPMI-1640培养液中, 培养条件为37℃, 50 mL/L CO₂孵箱单层传代培养, 细胞换液时间1-3 d, 传代3-5 d. BALB/c(nu/nu)裸鼠20只, 6-8 wk, 体质量18-22 g, ♂ ♀不分, 购自北京市维通利华实验动物技术有限公司, 在SPF级下无菌饲养室饲养. L-NAME购自Sigma公司.

1.2 方法 实验前观察1 wk, 若裸鼠正常, 收集对数生长期细胞, 生理盐水制成悬液用1.0 mL注射器将0.2 mL细胞悬液(约 2.0×10^6 细胞)注入裸鼠右后肢外侧皮下. 待移植瘤肉眼可见时, 按数字随机法分组, 每组6只. 对照组: 生理盐水0.2 mL灌胃; L-NAME组: L-NAME 1.5 mg/kg; 5-FU组: 5-FU 5 mg/kg; L-NAME+5-FU联合组: L-NAME 1.5 mg/kg +5-FU 5 mg/kg皆灌胃. 3次/wk, 共2 wk.

定期观察小鼠的饮食、精神、排便情况, 称量裸鼠体质量, 用游标卡尺测量肿瘤结节的长径、短径, 肿瘤体积 $V = 1/2 \text{长径} \times \text{短径}^2$. 体积抑瘤率 = (1-实验组体积/对照组体积)×100%. 1 mo后处死裸鼠, 取下肿瘤组织, 按公式质量抑瘤率 = (1-实验组瘤质量/对照组瘤质量)×100%.

1.2.1 肿瘤组织微血管密度(MVD)的检测 将肿瘤剪切成0.4 cm×0.3 cm×0.3 cm大小, 置于40 g/L中性甲醛中固定, 常规石蜡切片, 切片厚4 μm, HE染色, 光镜观察. 免疫组化检测肿瘤组织微血管密度, 鼠抗人CD34 mAb购于北京中山生物技术有限公司. 采用S-P法, 按试剂盒说明书逐步操作. 用已知阳性切片作阳性对照, 用PBS替代一抗作阴性对照. 肿瘤微血管密度测定参照Weidner方法: 凡是染成棕黄色单个内皮细胞或内皮细胞簇均作为一个血管计数, 凡管腔大于8个红细胞大小、带有较厚肌层的血管区域的血管均不计数. 先用低倍镜选取5个血管密度高的区域, 再转到高倍镜下计数每个区域微血管数量, 以其平均值作为每例的MVD.

1.2.2 裸鼠肿瘤组织VEGF蛋白表达 取对照组和LNAME处理组裸鼠移植瘤组织, 用预冷的PBS洗2次, 剪碎、匀浆, 加入细胞裂解液, 4℃裂解20 min, 收集细胞裂解液, 离心, 收集上清液. 用Bradford法测定裂解液中总蛋白含量. 取40 g蛋白加入上样缓冲液, 95℃加热10 min, Western blot方法参考分子克隆实验指南. 120 g/L SDS-PAGE电泳分离后, 电转移至PVDF膜上, 50 g/L脱脂牛奶封闭后加入第一抗体于4℃温育2 h, PBS洗涤3次, 每次10 min. 加入第二抗体于室温孵育1 h, 再用PBS洗3次, 每次10 min, 加入化学发光剂(ECL), 放入暗盒中并压片, 2-5 min后显影、定影.

统计学处理 所有数据采用均数+标准差表示, 数据采用SPSS10.0 统计软件分析, 计量资料分析采用 t 检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$.

2 结果

2.1 裸鼠体内肿瘤的生长情况 对照组肿瘤体积17 d后增长明显, L-NAME组和5-FU组上升缓慢, 而联合治疗组17 d后肿瘤生长几乎处于停滞状态, 体积无明显变化(图1). 实验结束时各组间鼠质量无显著性差异, 与实验前相比体质量改变也不明显. 在瘤质量方面: 各治疗组与对照组比较差异显著($P<0.01$); 联合治疗组与L-NAME组、5-FU组相比, 差异也有显著性($P<0.01$). 在肿瘤体积方面: 各治疗组与对照组比较, 差异有显著性

■应用要点

本研究结果表明一氧化氮合酶抑制剂具有抑制肿瘤新生血管生成的作用, 可抑制大肠癌裸鼠移植瘤的生长, 为其今后用于临床治疗提供了理论与实验基础.

同行评价

论文选题实用, 文题对应, 摘要简练, 方法路线可行, 结论合理.

表 1 裸鼠移植瘤各组鼠质量、肿瘤质量及肿瘤体积 (mean ± SD)

组别	裸鼠重量 (g)	肿瘤重量 (g)	体积 (mm ³)	抑制率 (%)
对照组	21.23 ± 1.26	1.43 ± 0.20	1609.14 ± 41.22	
L-NAME	23.96 ± 2.53	0.93 ± 0.11 ^b	1061.09 ± 73.35 ^b	34.06
5-FU	22.01 ± 0.74	0.75 ± 0.91 ^b	869.64 ± 87.36 ^b	45.99
L-NAME+5-FU	22.57 ± 1.83	0.37 ± 0.17 ^{b,d}	417.78 ± 52.9 ^{b,d}	74.92

^b $P < 0.01$ vs 对照组; ^d $P < 0.01$ vs L-NAME组和5-FU组.

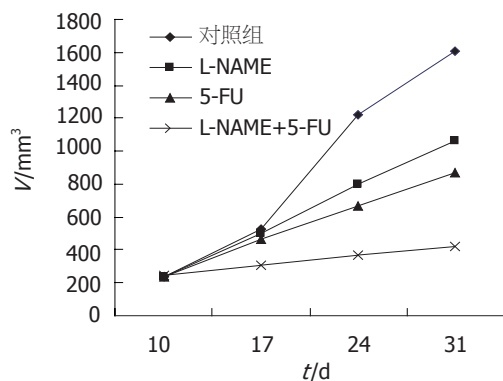


图 1 裸鼠移植瘤各组肿瘤体积变化.

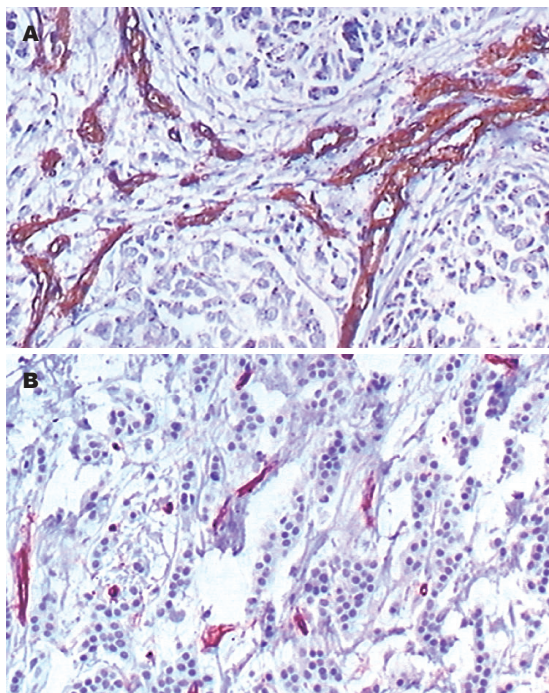


图 2 L-NAME对移植瘤血管形成的影响(SP × 100). A: 对照组; B: L-NAME组.

($P < 0.01$), 联合治疗组与L-NAME组、5-FU组比较, 差异也有显著性($P < 0.01$)(表1).

2.2 移植瘤组织MVD的表达 抗CD34抗体染色阳性的肿瘤组织新生血管内皮细胞被染成棕黄色, 癌组织内微血管形态不规则, 部分血管无明显

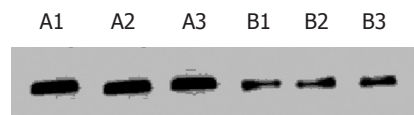


图 3 Western blot检测移植瘤组织VEGF蛋白表达. A1、A2、A3: 对照组; B1、B2、B3: L-NAME组.

管腔, 表现为内皮细胞簇, 新生血管可分布在肿瘤任何位置(图2). MVD值对照组为 28.94 ± 2.67 , L-NAME组为 16.17 ± 3.14 与对照组比较, 差异有显著性($P < 0.05$).

2.3 移植瘤组织VEGF的表达 Western blot分析结果显示, L-NAME能明显抑制LS174T细胞裸小鼠移植瘤VEGF蛋白的表达, 与对照组相比, 都明显减弱($P < 0.05$, 图3).

3 讨论

NO在肿瘤生物学中具有复杂的双向作用, 适宜的低浓度NO可以促进肿瘤生长和转移, 而高浓度NO则可以引起组织细胞的致死性损害. NOS是生物体内NO合成的关键限速酶, 因此内源性NO量的改变必然伴随NOS活性或表达的变化. 上述结果显示, NO在肿瘤进展中起促进作用, NOS可以作为干预肿瘤形成药物的标靶, NOS抑制剂则可以作为潜在的抗肿瘤药物. Kojima *et al*^[9]研究结果显示, 与非肿瘤组织比较, 肿瘤组织中iNOS mRNA表达显著提高, iNOS蛋白在肿瘤组织中也有强表达. 徐梅华 *et al*^[10]研究了62例大肠癌NOS的表达及其与大肠癌发生、发展的关系, 结果显示, iNOS在大肠癌组织中阳性或强阳性表达, 而正常的大肠黏膜及癌旁组织iNOS阴性表达. Ahn *et al*^[11]发现, iNOS活性高的人群其癌细胞更具有侵袭性, 肿瘤转移率高, 5 a生存率低, 提示iNOS与大肠癌的发生、发展、预后密切相关. 我们成功建立了裸鼠皮下移植瘤模型后, 给予裸鼠不同药物干预, 结果表明, 各治疗组与对照组比较, 差异有显著性.

联合治疗组抑瘤效果明显强于前两者. 这表明 L-NAME 与 5-FU 联合应用具有协同作用, 可明显提高 5-FU 抗瘤效应. 肿瘤内部血管分布不均匀, 任何一点难以代表整个肿瘤血管生成情况. 我们取瘤组织典型区域多个视野血管平均值作为微血管密度值可减少偏差, 基本上能代表肿瘤微血管生成的实际水平. CD34 抗原因子是公认的特异血管标记物, 阳性率可靠, 因而本实验结果可靠性较好. MVD 检测结果进一步表明, 对照组标本可见到有大量血管生成, L-NAME 组新生血管明显减少, 这样移植瘤无法获得足够养料, 生长受到明显限制, 而且瘤细胞不能通过血液循环发生远处转移. VEGF 是目前已知最强的直接作用于血管内皮细胞的生长因子, 常见恶性肿瘤均有 VEGF 的过表达, 并与患者的预后和微血管密度密切相关. 我们研究结果表明, L-NAME 可以降低 VEGF 的蛋白水平, 这样可以抑制血管内皮细胞的增殖、迁移, 进而抑制血管生成^[12]. 瘤块能继续缓慢生长, 可能原因有: (1) 肿瘤细胞还存在其他血管生成相关因子, 以及其他促进血管生成的途径; (2) 与用药周期、药物的半衰期和用药方法有一定关系. 提示临床上应该早期发现和确诊肿瘤, 早期积极手术切除肿瘤, 接下来积极应用抗血管生成药物, 联合应用化疗药物, 这样既可能完全杀死瘤细胞, 又能抑制肿瘤新生血管的生成, 最终达到提高肿瘤治愈率, 甚至根除肿瘤的目的. 对于中晚期肿瘤患者, 手术切除病灶, 再辅以化疗或放疗尽可能最大程度上杀灭残余或远处转移的瘤细胞, 在此基础上, 应用抗血管生成药物可以明显降低肿瘤复发和转移的发生率.

通过本实验, 我们认为, L-NAME 可抑制肿瘤的血管生成, 进而阻断肿瘤转移, 使用安全, 应用范围广. NOS 可以作为干预肿瘤血管形成药物靶点, L-NAME 可以作为潜在的抗肿瘤血管药物, 具有重要临床应用前景.

4 参考文献

- 1 Barreiro Arcos ML, Gorelik G, Klecha A, Goren N, Cerquetti C, Cremaschi GA. Inducible nitric oxide synthase-mediated proliferation of a T lymphoma cell line. *Nitric Oxide* 2003; 8: 111-118
- 2 Lala PK, Chakraborty C. Role of nitric oxide in carcinogenesis and tumour progression. *Lancet Oncol* 2001; 2: 149-156
- 3 Niu XJ, Wang ZR, Wu SL, Geng ZM, Zhang YF, Qing XL. Relationship between inducible nitric oxide synthase expression and angiogenesis in primary gallbladder carcinoma tissue. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 725-728
- 4 Li LG, Xu HM. Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine and apoptosis in gastric adenocarcinomas and their correlation with a poor survival. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2539-2544
- 5 Orucevic A, Lala PK. NG-nitro-L-arginine methyl ester, an inhibitor of nitric oxide synthesis, ameliorates interleukin 2-induced capillary leakage and reduces tumour growth in adenocarcinoma-bearing mice. *Br J Cancer* 1996; 73: 189-196
- 6 Orucevic A, Lala PK. Effects of N(G)-Nitro-L-arginine methyl ester, an inhibitor of nitric oxide synthesis, on IL-2-induced LAK cell generation *in vivo* and *in vitro* in healthy and tumor-bearing mice. *Cell Immunol* 1996; 169: 125-132
- 7 Yu LB, Dong XS, Sun WZ, Zhao DL, Yang Y. Effect of a nitric oxide synthase inhibitor NG-nitro-L-arginine methyl ester on invasion of human colorectal cancer cell line SL-174T. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6385-6388
- 8 Uneda S, Hata H, Matsuno F, Nagasaki A, Harada N, Mitsuya Y, Matsuzaki H, Mitsuya H. A nitric oxide synthase inhibitor, N(G)-nitro-L-arginine-methyl-ester, exerts potent antiangiogenic effects on plasmacytoma in a newly established multiple myeloma severe combined immunodeficient mouse model. *Br J Haematol* 2003; 120: 396-404
- 9 Kojima M, Morisaki T, Tsukahara Y, Uchiyama A, Matsunari Y, Mibu R, Tanaka M. Nitric oxide synthase expression and nitric oxide production in human colon carcinoma tissue. *J Surg Oncol* 1999; 70: 222-229
- 10 徐梅华, 邓长生, 朱允庆, 赵勇. 诱导型一氧化氮合酶在结直肠肿瘤不同阶段中的表达. *中华肿瘤杂志*, 2003; 25: 577-578
- 11 Ahn B, Ohshima H. Suppression of intestinal polyposis in Apc(Min/+) mice by inhibiting nitric oxide production. *Cancer Res* 2001; 61: 8357-8360
- 12 Watanabe K, Kawamori T, Nakatsugi S, Wakabayashi K. COX-2 and iNOS, good targets for chemoprevention of colon cancer. *Biofactors* 2000; 12: 129-133

电编 李琪 编辑 潘伯荣

西咪替丁对胃癌细胞SGC-7901增殖及凋亡的影响

姜成钢, 李嘉斌, 徐惠绵, 于淼, 吴涛, 刘芙蓉

■背景资料

胃癌是我国最常见的消化道肿瘤, 其死亡率位于各种恶性肿瘤前列。化疗的效果一直不尽如人意, 毒副作用严重, 不敏感或很快产生耐受, 寻找更加有效的治疗药物和辅助治疗手段具有重要意义。

姜成钢, 徐惠绵, 于淼, 吴涛, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科 辽宁省沈阳市 110001

李嘉斌, 刘芙蓉, 中国医科大学细胞生物学教研室 辽宁省沈阳市 110001

姜成钢, 医学硕士, 医师, 主要从事胃肠道肿瘤基础及临床研究。

通讯作者: 徐惠绵, 110001, 辽宁省沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科. huimianxu@163.com
电话: 024-83283555 传真: 024-22703578

收稿日期: 2006-08-08 接受日期: 2006-11-02

Effect of cimetidine on the proliferation and apoptosis of human gastric cancer cell line SGC-7901

Cheng-Gang Jiang, Jia-Bin Li, Hui-Mian Xu, Miao Yu, Tao Wu, Fu-Rong Liu

Cheng-Gang Jiang, Hui-Mian Xu, Miao Yu, Tao Wu, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Jia-Bin Li, Fu-Rong Liu, Department of Cell Biology, China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Hui-Mian Xu, Department of Oncology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. huimianxu@163.com

Received: 2006-08-08 Accepted: 2006-11-02

Abstract

AIM: To investigate the effect of cimetidine on the proliferation and apoptosis of human gastric cancer cell line SGC-7901 and its related mechanism.

METHODS: Human gastric cancer cell SGC-7901 was cultivated by routine method, then treated with different concentrations of cimetidine. The proliferation of SGC-7901 cells was examined by MTT assay, and the cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry. After Hoechst33258 staining, the morphologic changes of SGC-7901 cells were observed under fluorescence microscope, and the ultrastructure of the cells was investigated by transmission electron microscopy. The levels of Bcl-2 and Bax protein expression were detected by West-

ern blot analysis.

RESULTS: After dealing with cimetidine (0.5, 1, 2.5, 5, 10 mmol/L) for 24 and 48 hours, we found that cimetidine significantly inhibited the proliferation of SGC-7901 cells in a time- and concentration-dependent manner (24 h: 0.705 ± 0.018 , 0.560 ± 0.038 , 0.408 ± 0.029 , 0.276 ± 0.042 , 0.205 ± 0.031 vs 0.803 ± 0.012 , $P < 0.05$; 48 h: 0.902 ± 0.024 , 0.671 ± 0.015 , 0.420 ± 0.030 , 0.180 ± 0.037 , 0.117 ± 0.021 vs 1.079 ± 0.040 , $P < 0.05$), whereas there was no significant cytotoxic effect as the concentration was below 0.25 mmol/L. cimetidine at the concentrations of 0.5, 1, 2.5, 5, and 10 mmol/L induced typical apoptosis of SGC-7901 cells, and flow cytometry showed an apoptosis peak. The percentage of G0/G1-phase cells was significantly increased ($60.83\% \pm 2.27\%$, $67.21\% \pm 1.18\%$, $75.15\% \pm 4.01\%$, $81.88\% \pm 3.10\%$, $86.99\% \pm 1.43\%$ vs $50.28\% \pm 1.97\%$, $P < 0.05$). The expression of Bcl-2 protein was decreased while that of Bax protein was increased following cimetidine treatment.

CONCLUSION: Cimetidine may inhibit the proliferation of SGC-7901 cells through inducing cell apoptosis and cell cycle arrest.

Key Words: Stomach neoplasms; cimetidine; Apoptosis; Cell cycle

Jiang CG, Li JB, Xu HM, Yu M, Wu T, Liu FR. Effect of cimetidine on the proliferation and apoptosis of human gastric cancer cell line SGC-7901. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):118-122

摘要

目的: 观察西咪替丁对人胃癌SGC-7901细胞增殖、细胞周期分布及凋亡的影响, 并初步探讨其作用机制。

方法: 培养人胃癌SGC-7901细胞, 以不同浓度的西咪替丁处理后用MTT法检测SGC-7901细胞的增殖情况; 流式细胞术检测癌细胞周期和凋亡; Hoechst33258染色后荧光显微镜观察药物作用后癌细胞的形态变化; 透射电镜

观察用药后细胞超微结构的改变; Western印迹法检测Bcl-2和Bax蛋白表达。

结果: 以不同浓度的西咪替丁分别处理人胃癌SGC-7901细胞24 h和48 h, 结果发现, 在0.5, 1, 2.5, 5, 10 mmol/L时对SGC-7901细胞的增殖具有显著的抑制作用, 与对照组相比差异显著(24 h: 0.705 ± 0.018 , 0.560 ± 0.038 , 0.408 ± 0.029 , 0.276 ± 0.042 , 0.205 ± 0.031 vs 0.803 ± 0.012 , $P < 0.05$; 48 h: 0.902 ± 0.024 , 0.671 ± 0.015 , 0.420 ± 0.030 , 0.180 ± 0.037 , 0.0117 ± 0.021 vs 1.079 ± 0.040 , $P < 0.05$), 并呈时间和剂量依赖性, 而在0.25 mmol/L以下浓度对SGC-7901细胞未见明显细胞毒作用; 0.5-10 mmol/L西咪替丁作用后, 可观察到典型的细胞凋亡形态学改变; 流式细胞仪检测可见凋亡峰, G0/G1期细胞明显增多(60.83 ± 2.27 , 67.21 ± 1.18 , 75.15 ± 4.01 , 81.88 ± 3.10 , 86.99 ± 1.43 vs 50.28 ± 1.97 , $P < 0.05$); 西咪替丁还可下调SGC-7901细胞中的Bcl-2蛋白表达, 上调Bax蛋白表达。

结论: 西咪替丁可改变细胞周期分布, 并能通过下调Bcl-2、上调Bax蛋白表达, 诱导SGC-7901细胞凋亡, 从而抑制细胞增殖。

关键词: 胃肿瘤; 西咪替丁; 凋亡; 细胞周期

姜成钢, 李嘉斌, 徐惠绵, 于淼, 吴涛, 刘芙蓉. 西咪替丁对胃癌细胞SGC-7901增殖及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(2):118-122

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/118.asp>

0 引言

西咪替丁(cimetidine)是一种H₂受体阻断剂, 广泛应用于胃、十二指肠溃疡及反流性食管炎的治疗. 近年来研究发现, 西咪替丁对消化系统肿瘤的治疗有良好的辅助作用. 但其作用机制尚不明确. 本研究以人胃癌细胞株SGC-7901作为体外实验模型, 观察西咪替丁对SGC-7901细胞的增殖、细胞周期分布及凋亡的影响, 以期以西咪替丁用于胃癌的临床治疗提供理论和实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌细胞株SGC-7901由中国医科大学细胞生物学教研室提供. 西咪替丁、二甲基亚砜(DMSO)、碘化丙啶(PI)、Hoechst33258、Rnase、噻唑蓝(MTT)购自Sigma公司; 抗Bcl-2、

Bax抗体购于Santa Cruz公司; RPMI1640培养基(Gibco BRL); 胎牛血清(天津TBD)。

1.1.3 主要仪器 流式细胞仪FACscalibur, 美国BD公司、超速离心机 4K15, Sigma公司、二氧化碳培养箱Thermo Forma, 美国、酶标仪Tecan, 奥地利、透射电镜HITACHI H-600, 日本、荧光显微镜Olympus IX-500, 日本、相差倒置显微镜NIKON TMS, 日本。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 用RPMI1640培养液(含100 mL/L胎牛血清、100 kU/L青霉素、100 kU/L链霉素), 在37℃、体积分数为50 mL/L的CO₂孵箱中常规培养. 2.5 g/L trypsin+0.2 g/L EDTA消化传代, 取对数生长期的细胞用于实验。

1.2.2 西咪替丁对SGC-7901细胞生长的影响 取对数生长期的SGC-7901细胞按每孔 1×10^4 个细胞接种于96孔板中, 24 h后换液, 加入西咪替丁使其终浓度分别为1 μmol/L, 10 μmol/L, 100 μmol/L, 250 μmol/L, 500 μmol/L, 1 mmol/L, 2.5 mmol/L, 5 mmol/L, 10 mmol/L, 每个浓度每个时点均设4个平行孔及阴性对照和空白对照. CO₂孵箱内继续培养24 h, 48 h. 于终止前4 h, 每孔加入MTT 20 μL(5 g/L), 振荡混匀, 继续孵育4 h后弃上清, 每孔加入150 μL DMSO轻轻振荡10 min, 于490 nm波长处测定每孔A值, 计算细胞存活率. 细胞存活率 = (实验组A值/对照组A值) × 100%。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞周期分布及凋亡 细胞培养24 h后换液, 实验组加入西咪替丁使其终浓度分别为0.25 mmol/L, 0.5 mmol/L, 1 mmol/L, 2.5 mmol/L, 5 mmol/L, 10 mmol/L, 设不加药对照组. 孵育48 h后胰酶消化收集细胞, 吹打成单细胞悬液, PBS洗两次, 细胞计数(细胞密度大于 10^6 /mL), 加入700 mL/L冷乙醇4℃固定24 h以上. PBS洗两次除尽乙醇, 加RnaseA至终浓度0.5 g/L, 37℃温育30 min. 4℃PI染液至终浓度50 mg/L暗室孵育1 h, 流式细胞仪检测. 以凋亡指数(APO)表示细胞凋亡情况APO = (凋亡细胞数/所测细胞数) × 100%。

1.2.4 荧光染色实验 将高压消毒的玻片置于6孔板内, 加入细胞悬液(调整细胞浓度为 5×10^4 /mL), 1 mL/孔; 置培养箱培养24 h至细胞生长旺盛, 分别加入西咪替丁, 使其终浓度分别为1 mmol/L, 5 mmol/L, 10 mmol/L, 另设不含药培养液组作对照, 置培养箱中按细胞常规培养方法培养48 h. 取出盖玻片, 将盖片用PBS洗净,

■ 研究前沿

西咪替丁为H₂受体的特异性阻断剂, 是一种安全而有效的化学合成药. 近来研究表明, 西咪替丁可以明显提高胃肠道癌症患者的生存率, 直至目前为止, 西咪替丁对肿瘤以及宿主作用的确切机制尚不完全明了, 急需解决。

■创新盘点

本文从西咪替丁对细胞凋亡相关基因Bcl-2和Bax的调控角度进一步探讨了其作用机制,揭示了西咪替丁可能通过下调Bcl-2蛋白表达,上调Bax蛋白表达,诱导SGC-7901细胞凋亡,从而抑制细胞增殖。

表 1 不同浓度的西咪替丁对SGC-7901细胞生长的影响 ($n = 4$)

组别	24 h		48 h	
	A_{490nm} (mean \pm SD)	存活率 (%)	A_{490nm} (mean \pm SD)	存活率 (%)
对照组	0.803 \pm 0.012	—	1.079 \pm 0.040	—
1 μ mol/L	0.816 \pm 0.021	101.6	1.068 \pm 0.018	99.0
10 μ mol/L	0.798 \pm 0.026	99.4	1.055 \pm 0.024	97.8
100 μ mol/L	0.781 \pm 0.029	97.3	1.046 \pm 0.027	96.9
0.25 mmol/L	0.763 \pm 0.034	95.0	1.035 \pm 0.041	95.9
0.5 mmol/L	0.705 \pm 0.018 ^a	87.8	0.902 \pm 0.024 ^a	83.6
1 mmol/L	0.560 \pm 0.038 ^a	69.7	0.671 \pm 0.015 ^a	62.2
2.5 mmol/L	0.408 \pm 0.029 ^a	50.8	0.420 \pm 0.030 ^a	38.9
5 mmol/L	0.276 \pm 0.042 ^a	34.4	0.180 \pm 0.037 ^a	16.7
10 mmol/L	0.205 \pm 0.031 ^a	25.5	0.117 \pm 0.021 ^a	10.8

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

表 2 西咪替丁对SGC-7901人胃癌细胞周期及细胞凋亡的影响 (mean \pm SD, $n = 3$)

西咪替丁浓度 (mmol/L)	细胞周期%			凋亡率%
	G0/G1	S	G2/M	
0	50.28 \pm 1.97	35.86 \pm 2.86	13.86 \pm 2.28	0.82 \pm 0.17
0.25	54.17 \pm 3.73	31.13 \pm 2.23	12.70 \pm 1.52	1.13 \pm 0.27
0.5	60.83 \pm 2.27 ^a	29.08 \pm 1.39 ^a	10.09 \pm 0.93 ^a	5.08 \pm 0.77 ^a
1	67.21 \pm 1.18 ^a	25.62 \pm 2.31 ^a	7.17 \pm 1.56 ^a	12.17 \pm 0.88 ^a
2.5	75.15 \pm 4.01 ^a	19.53 \pm 2.88 ^a	5.32 \pm 1.24 ^a	18.33 \pm 1.65 ^a
5	81.88 \pm 3.10 ^a	13.75 \pm 2.72 ^a	4.37 \pm 0.38 ^a	25.45 \pm 2.75 ^a
10	86.99 \pm 1.43 ^a	9.69 \pm 0.80 ^a	3.32 \pm 0.64 ^a	30.36 \pm 2.38 ^a

^a $P < 0.05$ vs 对照组.

加入0.5 mL固定液(甲醇:冰醋酸 = 3:1),固定10 min,去固定液,用PBS洗两次加入0.5 mL Hoechst33258(10 mg/L)染色液,染色5 min, PBS洗两次.紫外光激发,荧光显微镜($\times 400$)观察并照像.

1.2.5 透射电子显微镜观察凋亡细胞形态 细胞培养24 h后换液,实验组加入西咪替丁使其终浓度分别为1 mmol/L, 5 mmol/L, 10 mmol/L, 设不加药对照组.孵育48 h后收获细胞,2000 r/min离心10 min,弃上清,4 $^{\circ}$ C预冷25 g/L戊二醛固定2 h, PBS洗涤,10 g/L锇酸固定,梯度乙醇丙酮脱水,常规包埋、聚合、超薄切片、铅染、透射电镜观察.

1.2.6 免疫印迹法(Western blot) 药物处理后收集悬浮及贴壁的细胞,2000 r/min离心10 min, PBS洗2次.裂解细胞,以Bradford法测定细胞蛋白浓度.将样品的蛋白浓度调整一致,各取20 μ L上样行SDS-PAGE,电泳后转至PVDF膜上,以50 g/L脱脂奶粉封闭后,一抗封闭过夜,再以辣根过氧化物酶标记的二抗封闭液封闭2 h, ECL试剂于暗室自显影.自动电泳凝胶成像分析系统下成

像分析.

统计学处理 采用SPSS12.0软件处理系统进行统计分析,实验数据以mean \pm SD表示,分析采用方差分析,组间比较用SLD法, $P < 0.05$ 为差异有显著性.

2 结果

2.1 西咪替丁对SGC-7901细胞生长的影响 以不同浓度的西咪替丁分别处理贴壁的胃癌细胞24 h, 48 h, 结果发现在10, 5, 2.5, 1, 0.5 mmol/L浓度时胃癌细胞的生长受到明显的抑制(表1).且其作用具有时间和剂量依赖性,时间越长,剂量越大,抑制作用越明显.在0.25 mmol/L以下浓度未见明显的细胞毒作用.

2.2 西咪替丁处理前后胃癌细胞生长周期及凋亡率的变化 流式细胞仪检测不同处理组的细胞周期分布,每个样品计数 2×10^4 个细胞,结果如表2所示.在(0.5-10 mmol/L)浓度范围内,西咪替丁可抑制SGC-7901从G0/G1期向S期过渡,细胞被阻滞于G0/G1期,S期和G2/M期细胞数明显减少,细胞分裂受到抑制.细胞出现典型的凋亡峰,

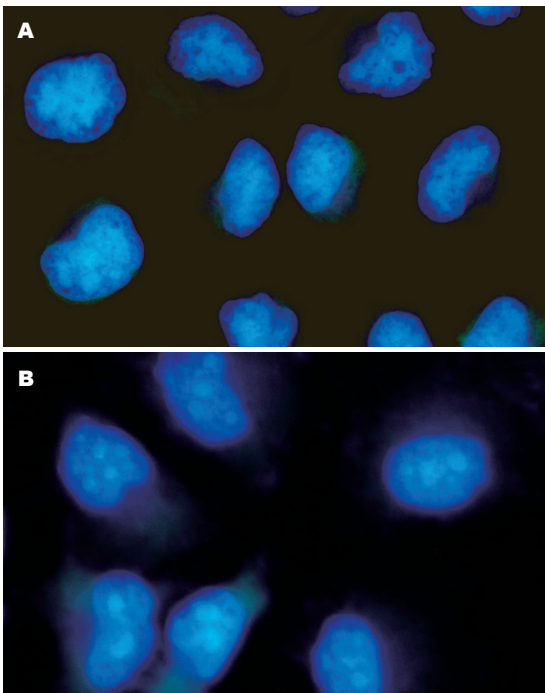


图1 SGC-7901细胞的Hoechst33258染色($\times 400$)。A: 对照组SGC-7901细胞核形态; B: 经1 mmol/L西咪替丁作用后的SGC-7901细胞核形态。

且药物浓度越高, 凋亡细胞数量越多, 与对照组相比差异有显著性($P < 0.05$)。

2.3 荧光染色观察细胞凋亡 SGC-7901细胞经不同浓度西咪替丁作用48 h后, Hoechst 33258染色, 在荧光显微镜下观察, 见对照组细胞所发蓝色荧光较弱, 较均匀; 而经不同浓度西咪替丁作用48 h后的SGC-7901细胞出现核固缩, 呈致密强荧光, DNA浓缩并向核膜靠拢, 少数细胞核碎裂成块状(图1)。

2.4 透射电镜观察凋亡细胞形态 对照组细胞呈卵圆型, 细胞边缘可见少量微绒毛, 胞质内线粒体可见嵴, 粗面内质网表面可见核糖体, 细胞核可见核仁, 染色质正常。实验组细胞边缘起泡出芽, 膨出。可见凋亡小体, 表面有细胞膜包裹, 小体内残存细胞核及细胞器。染色质浓缩呈团状块(图2)。

2.5 Western blot 法检测 Bcl-2与 Bax蛋白的表达 Bcl-2家族是细胞凋亡过程中线粒体途径的调控者, 主要包括两类成员: 抗凋亡蛋白(Bcl-2和Bcl-XL等)和促凋亡蛋白(Bax, Bid和Bak等)^[1-2]。不同浓度西咪替丁作用细胞48 h后, 检测蛋白表达的变化。如图3所示, 随西咪替丁浓度的增加, Bcl-2的表达减少, 而Bax的表达增加。

3 讨论

胃癌是我国高发肿瘤^[3-7], 其发病率在消化道肿

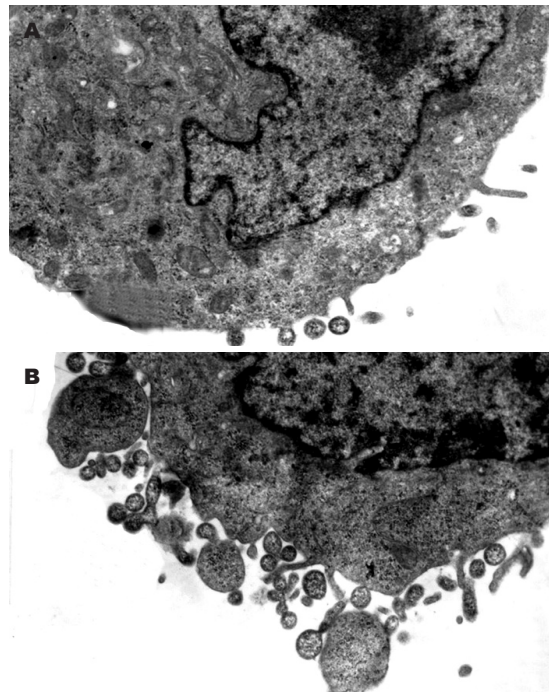


图2 透射电镜观察细胞形态($\times 10\ 000$)。A: 电镜下正常SGC-7901细胞形态; B: 5 mmol/L西咪替丁作用SGC-7901细胞48 h电镜下可见凋亡小体形成。

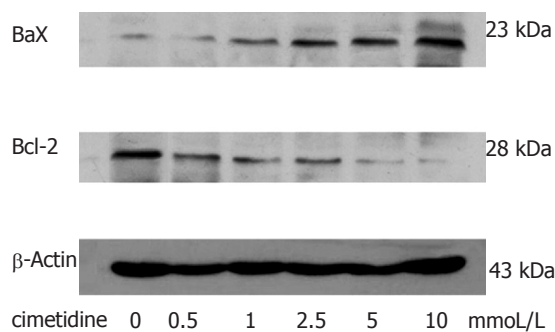


图3 Western blot分析. 不同浓度西咪替丁作用48 h后, Western blot法检测Bcl-2与Bax蛋白的表达情况。

瘤中居于第1位。化疗的效果一直不尽如人意, 毒副作用严重, 不敏感或很快产生耐受, 寻找更加有效的治疗药物和辅助治疗手段, 乃当务之急。

西咪替丁为 H_2 受体的特异性阻断剂, 是一种安全而有效的化学合成药。近来研究表明, 西咪替丁可以明显提高胃肠道癌患者的生存率^[8-11]。直至目前为止, 西咪替丁对肿瘤以及宿主作用的确切机制尚不完全明了。有关研究认为, 其抗肿瘤的重要机制可能是通过增强免疫系统各部分功能从而起到免疫调节的作用。具体为通过抑制T抑制性淋巴细胞(TS细胞)功能, 增强辅助性T淋巴细胞(TH细胞)产生白介素(IL-2), 以及促进天然杀伤细胞(NK细胞)活性等, 从而

■应用要点

本文从西咪替丁抑制肿瘤细胞增殖, 诱导细胞凋亡的角度为临床应用西咪替丁治疗胃癌提供了实验和理论依据, 但所需治疗药物浓度以及在体治疗效果, 有待动物实验及临床实验进一步证明。

■同行评价

尽管已有研究报道了西咪替丁对胃癌细胞MKN45生长和凋亡的影响,但鉴于本文选用的细胞系不同,故仍有参考价值。

提高机体的免疫能力和具抗肿瘤作用^[12-13],但Rajendra *et al*^[14]最新研究表明,西咪替丁可直接抑制结、直肠癌细胞CaCo-2的增殖并促进其凋亡。本研究以胃癌细胞SGC-7901为研究对象,通过生长抑制实验发现,西咪替丁在较低浓度(0.25 mmol/L以下)时,并无明显细胞毒作用;当药物浓度较高时,其有明显的生长抑制作用,10 mmol/L作用24 h可达到74.5%,且随用药时间延长而增大,10 mmol/L作用48 h可达89.2%;其抑制作用具有时效和量效关系。

凋亡是不同于坏死的一种细胞死亡方式,细胞凋亡在肿瘤的发生和生长过程中具有重要作用^[15-16]。为进一步探讨西咪替丁抑制SGC-7901细胞生长的机制,本实验检测了不同浓度西咪替丁对胃癌细胞凋亡情况及细胞周期分布的影响。通过荧光显微镜的形态学研究及透射电镜对细胞的超微结构观察,发现了典型细胞凋亡形态学改变。流式细胞仪检测亦可见凋亡细胞形成的亚G1峰,其凋亡率与药物浓度成正比。而在较低浓度0.25 mmol/L时,其并无明显的诱导凋亡作用,提示呈剂量依赖性诱导细胞凋亡,从而抑制细胞生长。流式细胞仪检查发现,西咪替丁也使细胞周期分布发生明显变化。西咪替丁作用48 h后,G0/G1期细胞增加,S期和G2/M期细胞减少。细胞阻滞于G0/G1期而使细胞周期进程受阻,影响细胞有丝分裂,从而抑制细胞生长。推测西咪替丁可能通过诱导凋亡,影响细胞周期进程来抑制细胞增殖。

Bcl-2和Bax是调控细胞凋亡的一对基因,Bax是编码Bcl-2相关蛋白X的基因,Bax蛋白与Bcl-2蛋白大约有21%的同源性,具有对抗Bcl-2蛋白抑制细胞凋亡的作用。目前,关于西咪替丁促凋亡机制的研究较少。本研究从西咪替丁对细胞凋亡相关基因Bcl-2和Bax的调控角度探讨了其作用机制。结果发现,西咪替丁可下调Bcl-2蛋白表达,同时上调Bax蛋白表达。表明西咪替丁可能通过下调Bcl-2蛋白表达,上调Bax蛋白表达以诱导胃癌细胞凋亡。因此我们认为,西咪替丁可改变细胞周期分布,并可能通过下调Bcl-2、上调Bax蛋白表达,诱导SGC-7901细胞凋亡,从而抑制细胞增殖。该结果为临床应用西咪替丁治疗胃癌提供了实验和理论依据。但所需治疗药物浓度以及在体治疗效果,有待动物实验及临床实验进一步证明。

4 参考文献

- Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281: 1322-1326
- Chou RH, Huang H. Restoration of p53 tumor suppressor pathway in human cervical carcinoma cells by sodium arsenite. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 293: 298-306
- Sun L, Wang X. Effects of allicin on both telomerase activity and apoptosis in gastric cancer SGC-7901 cells. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1930-1934
- Zhao GH, Li TC, Shi LH, Xia YB, Lu LM, Huang WB, Sun HL, Zhang YS. Relationship between inactivation of p16 gene and gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 905-909
- Zhao XH, Gu SZ, Liu SX, Pan BR. Expression of estrogen receptor and estrogen receptor messenger RNA in gastric carcinoma tissues. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 665-669
- Ding YB, Chen GY, Xia JG, Zang XW, Yang HY, Yang L. Association of VCAM-1 overexpression with oncogenesis, tumor angiogenesis and metastasis of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1409-1414
- Li HX, Chang XM, Song ZJ, He SX. Correlation between expression of cyclooxygenase-2 and angiogenesis in human gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 674-677
- Tonnesen H, Knigge U, Bulow S, Damm P, Fischerman K, Hesselheldt P, Hjortrup A, Pedersen IK, Pedersen VM, Siemssen OJ. Effect of cimetidine on survival after gastric cancer. *Lancet* 1988; 2: 990-992
- Matsumoto S. Cimetidine and survival with colorectal cancer. *Lancet* 1995; 346: 115
- Svensen LB, Ross C, Knigge U, Frederiksen HJ, Graversen P, Kjaergard J, Luke M, Stimpel H, Sparso BH. Cimetidine as an adjuvant treatment in colorectal cancer. A double-blind, randomized pilot study. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 514-518
- Matsumoto S, Imaeda Y, Umemoto S, Kobayashi K, Suzuki H, Okamoto T. Cimetidine increases survival of colorectal cancer patients with high levels of sialyl Lewis-X and sialyl Lewis-A epitope expression on tumour cells. *Br J Cancer* 2002; 86: 161-167
- Watson SA, Wilkinson LJ, Robertson JF, Hardcastle JD. Effect of histamine on the growth of human gastrointestinal tumours: reversal by cimetidine. *Gut* 1993; 34: 1091-1096
- Hahm KB, Kim WH, Lee SI, Kang JK, Park IS. Comparison of immunomodulative effects of the histamine-2 receptor antagonists cimetidine, ranitidine, and famotidine on peripheral blood mononuclear cells in gastric cancer patients. *Scand J Gastroenterol* 1995; 30: 265-271
- Rajendra S, Mulcahy H, Patchett S, Kumar P. The effect of H2 antagonists on proliferation and apoptosis in human colorectal cancer cell lines. *Dig Dis Sci* 2004; 49: 1634-1640
- LaCasse EC, Baird S, Korneluk RG, MacKenzie AE. The inhibitors of apoptosis (IAPs) and their emerging role in cancer. *Oncogene* 1998; 17: 3247-3259
- Solary E, Dubrez L, Eymin B. The role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of diseases. *Eur Respir J* 1996; 9: 1293-1305

胃癌组织中EGFR和COX-2表达的意义及其相关性

肖炜明, 施瑞华, 丁岩冰, 龚卫娟, 丁永玲, 薛艳

肖炜明, 丁岩冰, 丁永玲, 薛艳, 扬州大学第二临床医学院消化科 江苏省扬州市 225001
施瑞华, 南京医科大学附属第一医院消化科 江苏省南京市 210029
龚卫娟, 扬州大学医学院免疫学教研室 江苏省扬州市 225001
肖炜明, 硕士, 副主任医师, 主要从事消化道肿瘤方面的研究。
江苏省卫生厅135工程重点人才基金, No. RC2002053
通讯作者: 施瑞华, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院消化科, ruihuashi@126.com
电话: 025-83674636
收稿日期: 2006-10-20 接受日期: 2006-11-10

Expression of epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2 and their correlations in gastric carcinoma

Wei-Ming Xiao, Rui-Hua Shi, Yan-Bing Ding, Wei-Juan Gong, Yong-Ling Ding, Yan Xue

Wei-Ming Xiao, Yan-Bing Ding, Yong-Ling Ding, Yan Xue, Department of Gastroenterology, the Second Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China
Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China
Wei-Juan Gong, Department of Immunology, Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China
Supported by the Key Talent Foundation from the '135' Project of Health Department, Jiangsu Province, No. RC2002053
Correspondence to: Rui-Hua Shi, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. ruihuashi@126.com
Received: 2006-10-20 Accepted: 2006-11-10

Abstract

AIM: To investigate the expression of epidermal growth factor receptor (EGFR) and cyclooxygenase-2 (COX-2) as well as their correlations in gastric carcinoma.

METHODS: Immunohistochemistry was performed to detect the expression of EGFR and COX-2 in 61 cases of gastric cancer and 20 cases of cancer-adjacent tissues, while Western blot was used to examine the protein expression of

EGFR and COX-2 in 10 cases of gastric cancer and their corresponding cancer-adjacent tissues.

RESULTS: Immunohistochemistry showed that the expression of EGFR and COX-2 in gastric carcinoma were significantly higher than those in normal mucosa (36.07% vs 0%, $\chi^2 = 9.903$, $P < 0.01$; 59.02% vs 25%, $\chi^2 = 6.972$, $P < 0.01$). COX-2 expression was correlated with the depth of invasion, lymph node metastasis, TNM classification and pathologic differentiation degree ($\chi^2 = 6.333$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 5.588$, $P < 0.05$; $\chi^2 = 8.826$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 5.653$, $P < 0.05$). EGFR expression was correlated with lymph node metastasis, and TNM classification ($\chi^2 = 10.648$, $P < 0.01$; $\chi^2 = 4.150$, $P < 0.05$). There was also significant correlation between COX-2 and EGFR expression ($r = 0.316$, $P < 0.05$). Western blot also showed that the protein expression of EGFR and COX-2 in gastric carcinoma were significantly higher than those in normal mucosa (35.89 ± 12.50 vs 15.14 ± 2.15 , $P < 0.01$; 51.29 ± 23.42 vs 27.65 ± 7.42 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: EGFR and COX-2 are over-expressed in gastric carcinoma, which is associated with the invasion and metastasis of gastric cancer. COX-2 expression is positively correlated with EGFR expression.

Key Words: Gastric carcinoma; Epidermal growth factor receptor; Cyclooxygenase-2; Invasion; Metastasis

Xiao WM, Shi RH, Ding YB, Gong WJ, Ding YL, Xue Y. Expression of epidermal growth factor receptor and cyclooxygenase-2 and their correlations in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):123-128

摘要

目的: 探讨表皮生长因子受体(EGFR)和环氧酶-2(COX-2)的表达与胃癌侵袭、转移因素的关系以及EGFR与COX-2在胃癌组织中表达的相关性。

方法: 用免疫组化的方法检测61例胃癌组织和相应的20例癌旁组织石蜡切片中EGFR、

背景资料

胃癌在我国是高发的恶性肿瘤之一,其死亡率在所有恶性肿瘤中居第1位。目前,对进展期胃癌的治疗,手术加化疗的治疗方案难取得令人满意的疗效。因此,探讨肿瘤的生长及转移的分子机制以找寻新的化学预防、治疗方案具有极其重要的意义。

■ 研究前沿

目前,有关肿瘤新生血管的生成及其信号通路成为研究的热点,COX-2及EGFR在肿瘤的血管生成和肿瘤侵袭转移方面的作用受到人们的关注。

COX-2表达情况;用Western blot方法检测10例胃癌组织和相应的癌旁组织中EGFR、COX-2蛋白的表达。

结果:免疫组化检测胃癌组织中EGFR及COX-2的阳性表达率分别为36.07%、59.02%均明显高于癌旁组织的0%、25%($\chi^2 = 9.903, P < 0.01$; $\chi^2 = 6.972, P < 0.01$); COX-2表达与浸润深度、淋巴结转移、TNM分期和病理分化程度有关($\chi^2 = 6.333, P < 0.05$; $\chi^2 = 5.588, P < 0.05$; $\chi^2 = 8.826, P < 0.01$; $\chi^2 = 5.653, P < 0.05$). EGFR表达与淋巴结转移和TNM分期有关($\chi^2 = 10.648, P < 0.01$; $\chi^2 = 4.150, P < 0.05$). EGFR与COX-2表达呈明显相关($r = 0.316, P < 0.05$). Western blot方法检测胃癌组织中EGFR及COX-2的蛋白表达高于癌旁组织(35.89 ± 12.50 vs $15.14 \pm 2.15, P < 0.01$; 51.29 ± 23.42 vs $27.65 \pm 7.42, P < 0.05$).

结论:EGFR、COX-2在胃癌组织中高表达,EGFR、COX-2的表达与胃癌的侵袭、转移密切相关,COX-2表达与EGFR显著相关。

关键词:胃癌;表皮生长因子受体;环氧合酶-2;相关性;侵袭;转移

肖炜明,施瑞华,丁岩冰,龚卫娟,丁永玲,薛艳.胃癌组织中EGFR和COX-2表达的意义及其相关性.世界华人消化杂志 2007;15(2):123-128

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/123.asp>

0 引言

胃癌在我国是高发的恶性肿瘤之一,其死亡率在所有恶性肿瘤中居第1位。目前,对胃癌的治疗,仍以包括淋巴结清扫在内的外科手术为主,以术前、术后的化疗为辅。对进展期胃癌而言,上述胃癌综合治疗方案仍难取得令人满意的疗效。因此,探讨胃癌生长及转移的分子机制以找寻新的化学预防、治疗方案具有极其重要的意义。目前,表皮生长因子受体(Epidermal Growth Factor Receptor, EGFR)抑制剂和环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂的研制为肿瘤的防治带来了希望。我们对胃癌组织中EGFR和COX-2的表达与临床病理特征之间的关系及他们之间的相关性进行了探讨,以期EGFR抑制剂和COX-2抑制剂在胃癌中应用提供一定的依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2005-10/2006-04经我院外科手术治

疗,且经过病理证实的胃癌手术后标本61例,每一例患者术后取材两块:癌组织、癌旁组织(距癌灶 ≥ 5 cm)。所有入选病例均无长期使用非甾体消炎药和糖皮质激素类药,术前均未接受过放、化疗。其中男42例,女19例,年龄33-78(平均 61 ± 9)岁。肿瘤组织学类型按WHO分级,高中分化腺癌38例,低分化腺癌、未分化腺癌23例。肿瘤大小: < 5 cm者32例, ≥ 5 cm者29例。肿瘤浸润深度:浸润未达浆膜层者25例,达浆膜层者36例。转移情况:发生局部淋巴结转移者33例,无局部淋巴结转移者28例。根据国际抗癌联盟(UICC)关于胃癌TNM分期方法进行临床分期:I期12例,II期18例,III期26例,IV期5例。肿瘤部位:位于近端胃(贲门+胃底)18例,位于远端胃(胃体+胃窦+幽门)43例。在61例癌旁组织中随机选取20例作为免疫组化实验的对照组,并经过病理检查排除肿瘤累及,病理检查20例均为慢性浅表性胃炎,有3例伴有轻度异型增生,5例伴有部分腺体囊性扩张。并随机选取10例癌组织及其相应的癌旁组织作Western blot的检测。COX-2 mAb(福州迈新生物技术公司),EGFR mAb即用型工作液(DAKO公司,上海基因公司分装),二步法免疫组化检测试剂盒(上海基因公司),哺乳动物组织蛋白提取液MT-Celllytics,混合蛋白酶抑制剂(上海博彩生物公司),丙烯酰胺、亚甲双丙烯酰胺、SDS、 β -巯基乙醇、过硫酸胺(上海生工生物公司),TEMED(Sigma公司),低分子量蛋白预染marker(碧云天生物公司),高分子量蛋白预染marker(北京天来生物医学科技公司), β -actin多抗、兔抗人EGFR多抗、鼠抗人COX-2单抗(Santa Cruz公司),PVDF膜(上海生工生物公司),HRP酶标记羊抗鼠多抗、HRP酶标羊抗兔多抗(上海华美生物公司),DAB(Fluka公司)。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化方法检测EGFR、COX-2的表达 所有标本组织经40 g/L中性甲醛溶液固定,石蜡包埋,常规切片,厚4 μ m,载玻片均经多聚赖氨酸防脱片处理,另取一张HE染色。采用ChemMate™EnVision两步法进行染色。主要步骤:石蜡切片常规脱蜡梯度水化,胰酶抗原修复,滴加30 mL/L过氧化氢溶液阻断剂,分别滴加EGFR一抗、COX-2一抗,4℃孵育过夜,洗片,滴加二抗,室温孵育30 min,洗片,DAB显色,苏木素复染,脱水、中性树脂封片。用已知阳性切片作为阳性对照,用PBS代替第一抗体作为

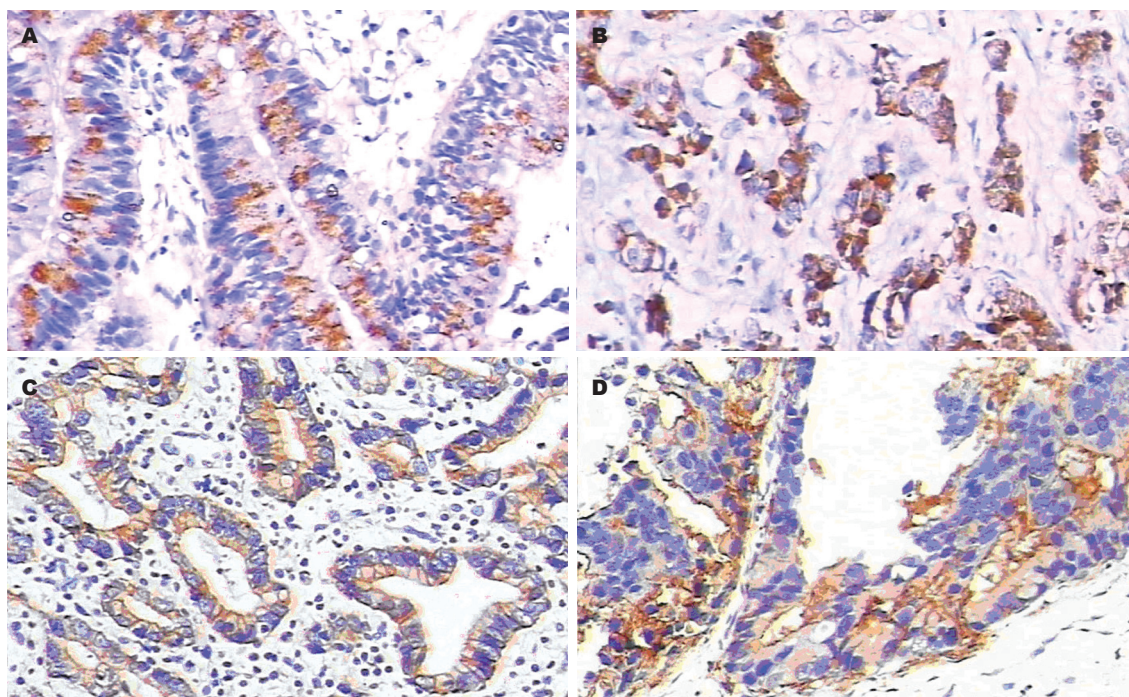


图1 胃癌COX-2和EGFR蛋白表达(EnVision × 200). A: 中分化腺癌COX-2; B: 低分化腺癌COX-2; C: 高分化腺癌EGFR; D: 中分化腺癌EGFR.

■创新盘点

本文研究了胃癌组织中COX-2和EGFR的表达及其在胃癌发生、发展过程中的相互作用,发现EGFR、COX-2在胃癌组织中高表达。EGFR、COX-2的表达与胃癌的侵袭、转移密切相关,COX-2表达与EGFR显著相关。

空白对照。染色结果判断分别按阳性染色细胞百分数及染色强度计分^[1]。阳性细胞数为0,计0分;1%-10%计1分;11%-50%计2分;51%-75%计3分;>75%计4分。染色阴性计0分;淡黄色计1分;棕黄色计2分;棕褐色计3分。两种积分相加,积分为0-2分,表示阴性(-);积分≥3分为阳性。其中积分为3分,表示阳性(+);积分为4-5分,表示阳性(++);积分为6-7分,表示阳性(+++)。光镜下(×100倍)选取染色清晰的连续5个视野,切片先在低倍镜(×100)下观察全片,再在高倍镜(×200)下观察。

1.2.2 Western blot检测COX-2, EGFR的表达 将组织用4℃ PBS液洗去残留血液,称重。加入蛋白提取液MT-Cellytics(含混合蛋白酶抑制剂100 μL),充分研碎,组织匀浆。15 000 r/min, 4℃离心30 min。收集上清分装。用Bradford法测定蛋白总浓度,使最终上样总蛋白为50 μg。检测COX-2蛋白用Tris-Glycine电泳缓冲液以80 V恒压电泳0.5 h,样品在浓缩胶内压成一细线后,160 V电泳1.5 h。检测EGFR的蛋白电泳采用80 V 0.5 h后200 V 2 h。电泳完毕后以湿转移的方法(100 V, 100 min)将分离的蛋白条带转移至PVDF膜上。用考马斯亮蓝染液染色、脱色并观察转膜效率。使用30 mL/L牛血清白蛋白孵育2 h,置于1:200稀释的COX-2单抗和EGFR多抗反应液37℃摇动下2 h。洗膜,加入含1:100稀

释的辣根过氧化物酶酶联二抗反应液,37℃摇动孵育1 h。洗膜,DAB显色,扫描记录结果。根据预染Marker条带中的位置,分析所测电泳条带的性质。电泳条带经Genetools软件处理,分析各实验组条带与对照组条带灰度值。以β-actin多抗作为内参照。

统计学处理 所得数据计数资料用mean±SD表示;计量资料用百分率表示,比较用 χ^2 检验。相关性用Spearman等级相关分析。所有统计均在SPSS10.0统计软件包中完成, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化结果 COX-2染色在癌细胞胞质或核膜上呈棕黄色者为阳性,EGFR阳性以胞质和部分细胞膜染成棕黄色(图1)。COX-2、EGFR在胃癌组织中的阳性表达率分别为59.02%和36.07%,在癌旁组织中的阳性表达率分别为25%和0%,二者在胃癌组织中阳性表达率均明显高于癌旁组织($\chi^2 = 6.972, P<0.01$; $\chi^2 = 9.903, P<0.01$)。胃癌组织中COX-2的阳性表达率:在浸润达浆膜层的胃癌中为72.22%较未达浆膜层40%高($\chi^2 = 6.333, P<0.05$);有局部淋巴结转移的胃癌为72.73%较无淋巴结转移42.86%高($\chi^2 = 5.588, P<0.05$);TNM分期III期、IV期的胃癌为77.42%较I期、II期40.0%高($\chi^2 = 8.826, P<0.01$);低分化、未分化腺癌的

■应用要点

对胃癌组织中EGFR和COX-2的表达与胃癌侵袭转移因素的关系及其相关性的探讨,为EGFR抑制剂和COX-2抑制剂在胃癌治疗中的应用及联合应用提供了一定的依据。

表 1 COX-2, EGFR的表达与胃癌病理特征的关系(n)

病理因素	n	COX-2表达		EGFR表达	
		+	-	+	-
肿瘤大小					
≥5 cm	29	19	10	10	19
<5 cm	32	17	15	12	20
肿瘤的部位					
远端胃	43	27	16	16	27
近端胃	18	9	9	6	12
浸润深度					
达浆膜层	36	26 ^a	10	16	20
未达浆膜层	25	10	15	6	19
分化程度					
低未分化腺癌	23	18 ^a	5	11	12
高中分化腺癌	38	18	20	11	27
转移情况					
有淋巴结转移	33	24 ^a	9	18 ^b	15
无淋巴结转移	28	12	16	4	24
TNM分期					
Ⅲ期, Ⅳ期	31	24 ^b	7	15 ^a	16
Ⅰ期, Ⅱ期	30	12	18	7	23

^aP<0.05, ^bP<0.01.

为78.26%较高、中分化腺癌47.37%高($\chi^2 = 5.653, P < 0.05$).由此可见:COX-2的阳性表达与胃癌浸润深度、淋巴结转移和TNM分期、分化程度有关;而与胃癌的大小、部位无关.胃癌组织中EGFR的阳性表达率:在有局部淋巴结转移的胃癌中为54.55%较无淋巴结转移14.29%高($\chi^2 = 10.648, P < 0.01$);TNM分期Ⅲ期、Ⅳ期的胃癌为48.39%较Ⅰ期、Ⅱ期23.33%高($\chi^2 = 4.150, P < 0.05$).由此可见,EGFR的阳性表达与胃癌淋巴结转移和TNM分期有关;而在肿瘤部位、大小、浸润深度和分化方面以远端胃癌、肿瘤较大、浸润深和分化低者EGFR表达略高,但无统计学意义(表1).36例COX-2阳性胃癌中有17例EGFR表达阳性,阳性率为47.22%;25例COX-2表达阴性病例中有5例EGFR表达阳性,阳性率仅20%,COX-2阳性的胃癌组织中EGFR阳性表达率明显高于COX-2阴性者($\chi^2 = 4.742, P < 0.05$),即两者在胃癌组织表达同时阳性的百分率较高,表明两者在胃癌中有共表达现象.Spearman等级相关分析表明,胃癌组织中EGFR表达与COX-2之间具有显著相关性($r = 0.316, P < 0.05$).

2.2 Western blot检测结果 用β-actin多抗检测各样品间的肌动蛋白表达量基本一致.各蛋白提取样品分别用鼠抗人COX-2单抗、兔抗人EGFR多抗检测后,经预染marker核对后分别在72 kDa、170 kDa左右有条带(图2).扫描后用Genetools软件分析各灰度值,经t检验分析,发现胃癌组织中COX-2,EGFR的灰度值显著高于

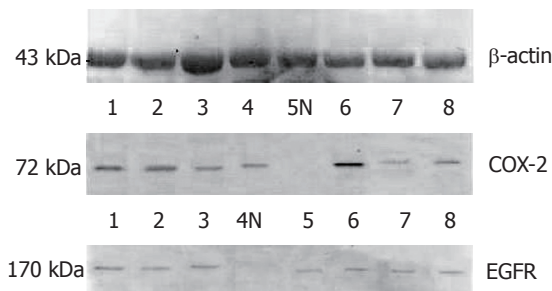


图 2 部分组织β-actin, COX-2, EGFR的Western blot检测结果. 1-8: 各肿瘤组织; 4N, 5N: 癌旁组织.

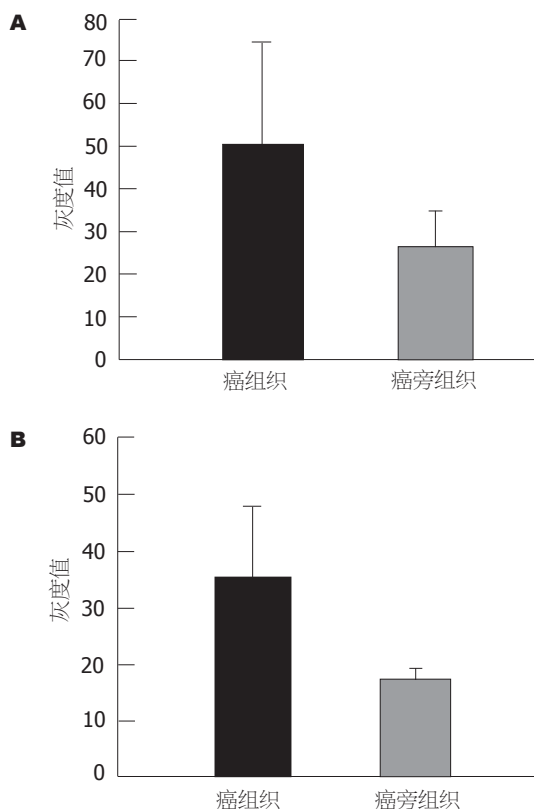


图 3 胃癌组织与癌旁组织COX-2和EGFR免疫印迹条带灰度分析比较. A: COX-2; B: EGFR.

癌旁组织(51.29 ± 23.42 vs $27.65 \pm 7.42, P < 0.05$); 35.89 ± 12.50 vs $15.14 \pm 2.15, P < 0.01$, 图3).

3 讨论

COX-2是前列腺素合成过程中的重要限速酶,在恶性肿瘤发生、肿瘤血管形成及转移过程中发挥着重要作用.COX-2可催化合成大量的前列腺素(包括PGE2等),刺激细胞增生;上调原癌基因bcl-2和下调上皮细胞钙黏蛋白(E-cadherin)、TGF-β受体的表达、抑制细胞凋亡、上调表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth Factor, VEGF)、内皮素-1等的表达、促进肿瘤血管形

成、刺激基质金属蛋白酶的分泌, 促进肿瘤的转移等^[2-4]. 有文献报道, COX-2, VEGF的高表达与胃癌的发生、进展高度相关^[5-7]. 而COX-2抑制剂可抑制肿瘤血管的生成而具有防治胃癌、结肠癌等实体瘤的作用^[8-11]. EGFR是一个跨膜受体, 与其相应配体结合后, 在细胞内激活信号传递系统, 刺激细胞生长与增殖. EGFR过度表达见于包括消化系统肿瘤在内的人类多种恶性肿瘤, 并和肿瘤的发生、发展、增殖、转移以及血管形成密切相关^[12-13]. Casanova *et al*^[14]发现, 在肿瘤的演进过程中, 去除EGFR的作用会阻碍血管的进一步发展, 且可增加肿瘤细胞的凋亡数. Kopp *et al*^[15]研究显示, 与邻近的正常胃黏膜相比, 胃癌中见到EGFR水平增加, 而EGFR水平增加尤多见于浸润程度更深的T3, T4期癌、淋巴结转移阳性的肿瘤、UICCIII进展期癌、未分化癌、弥漫型癌和远处贲门癌.

本课题免疫组化的结果显示, 在人胃癌组织中COX-2, EGFR表达较癌旁组织高, 与国内外部分文献报道基本一致^[15-18]. COX-2的阳性表达率在浸润达浆膜、有淋巴结转移、分化较差、TNM分期III、IV期的胃癌组织中较高, 反映了COX-2的表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移和临床TNM分期及分化程度有关, 这与文献报道相一致^[5-7]. EGFR的表达与淋巴结转移、临床TNM分期有关. Western blot检测结果也显示了胃癌组织中COX-2, EGFR的表达较癌旁组织高. 由上述可见, 在人体胃癌组织中存在着COX-2, EGFR的高表达, 而浸润深度、淋巴结转移、组织分化、临床分期是胃癌侵袭转移因素, 是反映胃癌进展和患者生存预后的相关指标, 因此本研究表明, 胃癌组织中COX-2, EGFR的高表达与肿瘤的高侵袭转移性有关, 可作为判断胃癌进展和预后的指标.

COX-2, EGFR都与肿瘤血管生成、侵袭性及转移有关, 这两个指标之间有无相关性呢? 在结直肠癌细胞中, 增加COX-2的表达能反向激活EGFR而刺激细胞增殖^[19]. 在乳腺癌和肺癌中也发现PGE2的作用涉及EGFR信号通路^[20]. 阻滞EGFR信号通路可抑制COX-2诱导的HCA-7移植瘤的生长^[21-22]. 体外培养的子宫颈癌细胞、口腔上皮细胞用EGF处理, 可显著诱发COX-2蛋白、COX-2 mRNA和刺激COX-2的促进活性, EGF对COX-2的诱导可被酪氨酸激酶活性抑制剂等抑制, 这些实验提示, EGFR信号通路失调可导致COX-2表达增强^[23-24]. 最近有研究认为, Barrett's

食管和食管腺癌组织中COX-2和EGFR的高表达呈显著正相关, 且协同促进Barrett's食管的癌变^[25], 国内也有报道^[26-27], 在甲状腺乳头状癌、口腔鳞状细胞癌中的COX-2和EGFR的表达有显著正相关, 认为这两种蛋白协同作用共同促进恶性细胞的增殖和侵袭转移. 我们的前期研究发现^[28], 在胃癌细胞中COX-2来源的产物PGE2可通过EGFR通路促进肿瘤细胞VEGF的表达. 而在胃癌组织中EGFR与COX-2的相关性国内却少有报道.

我们研究了胃癌组织中COX-2、EGFR表达的相关性. 实验结果显示, 在胃癌组织中COX-2与EGFR两者存在着共同高表达现象. 实验结果经过Spearman等级相关分析表明, 胃癌组织中COX-2与EGFR具有正相关. 最近研究发现, 联合应用COX-2抑制剂和EGFR抑制剂可明显减少癌细胞的增殖和血管形成, 且较单药有明显的抑制作用^[29-31]. 对这些指标及其相关性的研究为COX-2抑制剂和EGFR抑制剂在临床胃癌治疗中的应用或联合应用提供一定的分子学依据.

4 参考文献

- 1 许良中. 实用肿瘤病理方法学. 第1版. 上海: 上海医科大学出版社, 1997; 436
- 2 Ohno R, Yoshinaga K, Fujita T, Hasegawa K, Iseki H, Tsunozaki H, Ichikawa W, Nihei Z, Sugihara K. Depth of invasion parallels increased cyclooxygenase-2 levels in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 2001; 91: 1876-1881
- 3 Tsujii M, Kawano S, Tsuji S, Sawaoka H, Hori M, DuBois RN. Cyclooxygenase regulates angiogenesis induced by colon cancer cells. *Cell* 1998; 93: 705-716
- 4 肖炜明, 施瑞华, 丁岩冰, 吴健, 童建东, 严志刚. PGE2对胃癌MKN28细胞VEGF表达的影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2546-2550
- 5 Murata H, Kawano S, Tsuji S, Tsuji M, Sawaoka H, Kimura Y, Shiozaki H, Hori M. Cyclooxygenase-2 overexpression enhances lymphatic invasion and metastasis in human gastric carcinoma. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 451-455
- 6 Marks F, Furstemberger G. Cancer chemoprevention through interruption of multistage carcinogenesis. The lessons learnt by comparing mouse skin carcinogenesis and human large bowel cancer. *Eur J Cancer* 2000; 36: 314-329
- 7 Kakeji Y, Koga T, Sumiyoshi Y, Shibahara K, Oda S, Maehara Y, Sugimachi K. Clinical significance of vascular endothelial growth factor expression in gastric cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2002; 21: 125-129
- 8 Yao M, Zhou W, Sangha S, Albert A, Chang AJ, Liu TC, Wolfe MM. Effects of nonselective cyclooxygenase inhibition with low-dose ibuprofen on tumor growth, angiogenesis, metastasis, and survival in a mouse model of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1618-1628
- 9 Fujimura T, Ohta T, Oyama K, Miyashita T, Miwa

■同行评价

文章探讨了表皮生长因子受体(EGFR)和环氧化酶-2(COX-2)的表达与胃癌侵袭、转移因素的关系以及EGFR与COX-2在胃癌组织中表达的相关性, 科学性较强, 设计合理, 具有重要的临床指导意义.

- K. Role of cyclooxygenase-2 in the carcinogenesis of gastrointestinal tract cancers: a review and report of personal experience. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1336-1345
- 10 Wu GS, Zou SQ, Liu ZR, Tang ZH, Wang JH. Celecoxib inhibits proliferation and induces apoptosis via prostaglandin E2 pathway in human cholangiocarcinoma cell lines. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1302-1306
- 11 Yu J, Tang BD, Leung WK, To KF, Bai AH, Zeng ZR, Ma PK, Go MY, Hu PJ, Sung JJ. Different cell kinetic changes in rat stomach cancer after treatment with celecoxib or indomethacin: implications on chemoprevention. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 41-45
- 12 Grunwald V, Hidalgo M. Development of the epidermal growth factor receptor inhibitor Tarceva (OSI-774). *Adv Exp Med Biol* 2003; 532: 235-246
- 13 Xiong HQ, Abbruzzese JL. Epidermal growth factor receptor-targeted therapy for pancreatic cancer. *Semin Oncol* 2002; 29: 31-37
- 14 Casanova ML, Larcher F, Casanova B, Murillas R, Fernandez-Acenero MJ, Villanueva C, Martinez-Palacio J, Ullrich A, Conti CJ, Jorcano JL. A critical role for ras-mediated, epidermal growth factor receptor-dependent angiogenesis in mouse skin carcinogenesis. *Cancer Res* 2002; 62: 3402-3407
- 15 Kopp R, Ruge M, Rothbauer E, Cramer C, Kraemling HJ, Wiebeck B, Schildberg FW, Pfeiffer A. Impact of epidermal growth factor (EGF) radioreceptor analysis on long-term survival of gastric cancer patients. *Anticancer Res* 2002; 22: 1161-1167
- 16 田丽峰, 李莹杰, 陈嘉薇, 吴克非, 付红, 朱江. EGFR和Ki67在胃不典型增生和胃癌中的表达及二者相关性. *哈尔滨医科大学学报* 2001; 35: 116-118
- 17 刘正新, 陈宝雯, 杨贵彬, 柳平, 贾博崎. PCNA、EGFR、TGF β R1和TGF β R2在胃癌组织中表达的临床意义. *中国肿瘤临床* 2005; 32: 378-381
- 18 Ghaderi A, Vasei M, Maleck-Hosseini SA, Gharesifard B, Khodami M, Doroudchi M, Modjtahedi H. The expression of c-erbB-1 and c-erbB-2 in Iranian patients with gastric carcinoma. *Pathol Oncol Res* 2002; 8: 252-256
- 19 Yoshimoto T, Takahashi Y, Kinoshita T, Sakashita T, Inoue H, Tanabe T. Growth stimulation and epidermal growth factor receptor induction in cyclooxygenase-overexpressing human colon carcinoma cells. *Adv Exp Med Biol* 2002; 507: 403-407
- 20 Kelloff GJ, Fay JR, Steele VE, Lubet RA, Boone CW, Crowell JA, Sigman CC. Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors as potential cancer chemopreventives. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1996; 5: 657-666
- 21 Mann M, Sheng H, Shao J, Williams CS, Pisacane PI, Sliwkowski MX, DuBois RN. Targeting cyclooxygenase 2 and HER-2/neu pathways inhibits colorectal carcinoma growth. *Gastroenterology* 2001; 120: 1713-1719
- 22 Ross JS, McKenna BJ. The HER-2/neu oncogene in tumors of the gastrointestinal tract. *Cancer Invest* 2001; 19: 554-568
- 23 Kulkarni S, Rader JS, Zhang F, Liapis H, Koki AT, Masferrer JL, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ. Cyclooxygenase-2 is overexpressed in human cervical cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 429-434
- 24 Mestre JR, Subbaramaiah K, Sacks PG, Schantz SP, Tanabe T, Inoue H, Dannenberg AJ. Retinoids suppress epidermal growth factor-induced transcription of cyclooxygenase-2 in human oral squamous carcinoma cells. *Cancer Res* 1997; 57: 2890-2895
- 25 Li Y, Wo JM, Ray MB, Jones W, Su RR, Ellis S, Martin RC. Cyclooxygenase-2 and epithelial growth factor receptor up-regulation during progression of Barrett's esophagus to adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 928-934
- 26 王喜梅, 孙雷, 张朝, 郑仁恕, 王乃玉, 冯晓梅, 张众. EGFR、COX-2及p63蛋白表达与甲状腺乳头状癌侵袭转移的关系. *临床与实验病理学杂志* 2004; 20: 191-194
- 27 王维丽, 张英怀, 张杰英, 贾志宇, 唐龙妹. 口腔鳞状细胞癌中COX-2、VEGF和EGFR的表达及意义. *现代口腔医学杂志* 2006; 20: 277-280
- 28 Ding YB, Shi RH, Tong JD, Li XY, Zhang GX, Xiao WM, Yang JG, Bao Y, Wu J, Yan ZG, Wang XH. PGE2 up-regulates vascular endothelial growth factor expression in MKN28 gastric cancer cells via epidermal growth factor receptor signaling system. *Exp Oncol* 2005; 27: 108-113
- 29 Hattori K, Iida K, Joraku A, Tsukamoto S, Akaza H, Oyasu R. Chemopreventive effects of cyclooxygenase-2 inhibitor and epidermal growth factor-receptor kinase inhibitor on rat urinary bladder carcinogenesis. *BJU Int* 2006; 97: 640-643
- 30 Torrance CJ, Jackson PE, Montgomery E, Kinzler KW, Vogelstein B, Wissner A, Nunes M, Frost P, Discafani CM. Combinatorial chemoprevention of intestinal neoplasia. *Nat Med* 2000; 6: 1024-1028
- 31 Tortora G, Caputo R, Damiano V, Melisi D, Bianco R, Fontanini G, Veneziani BM, De Placido S, Bianco AR, Ciardiello F. Combination of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor with epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor ZD1839 and protein kinase A antisense causes cooperative antitumor and antiangiogenic effect. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1566-1572

中国光动力学疗法治疗上消化道恶性肿瘤25年回顾

刘慧龙, 刘端祺

刘慧龙, 刘端祺, 中国人民解放军北京军区总医院肿瘤科 北京市 100700
刘慧龙, 在读博士, 主治医师, 主要从事肿瘤的临床研究。
通讯作者: 刘慧龙, 100700, 北京东城区南门外5号, 北京军区总医院肿瘤科。lhllaser@yahoo.com.cn
电话: 010-81905225 传真: 010-66721644
收稿日期: 2006-11-02 接受日期: 2006-11-21

Retrospective study of photodynamic therapy for upper gastrointestinal cancers during past 25 years in China

Hui-Long Liu, Duan-Qi Liu

Hui-Long Liu, Duan-Qi Liu, Department of Oncology, General Hospital of Chinese PLA Beijing Military Command, Beijing 100700, China
Correspondence to: Hui-Long Liu, Department of Oncology, General Hospital of Chinese PLA Beijing Military Command, East District, 5 Nanmen Cang, Beijing 100700, China. lhllaser@yahoo.com.cn
Received: 2006-11-02 Accepted: 2006-11-21

Abstract

AIM: To find out the status of photodynamic therapy (PDT) for upper gastrointestinal cancers, and then discuss how to solve the problems that hinder the development of PDT.

METHODS: A total of 30 pertinent literatures about PDT for upper gastrointestinal cancers during past 25 years were collected through the retrieval of several related medical databases (Chinese Medical Current Contents, China Bio-Medical Bibliographic Database, China Journal Fulltext Database). The data, including the gender, age of patients, tumor position, pathologic findings, treatment efficacy, adverse effects and the applied laser and photosensitizer, were statistical analyzed.

RESULTS: For all the 1687 cases with upper gastrointestinal cancers, the excellently-effective rate (complete remission or prominent remission) and effective rate (complete remission or prominent remission or minor remission) were 53.2% and 87%, respectively. The therapeutic effect of combined treatment (PDT with other

methods) was superior to that of PDT ($u = 4.456$, $P < 0.01$). All the involved pathological types were sensitive to PDT. Different photosensitizers and lasers were used by different authors, but all of them were effective without any serious side effect.

CONCLUSION: PDT shows a radical effect on the tumors of early stage and a favorable palliative effect on the tumors of advanced stage, so it is one of the optional strategies for the treatment of upper gastrointestinal cancers.

Key Words: Photodynamic therapy; Upper gastrointestinal cancers; Laser

Liu HL, Liu DQ. Retrospective study of photodynamic therapy for upper gastrointestinal cancers during past 25 years in China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):129-133

摘要

目的: 了解光动力学疗法治疗上消化道恶性肿瘤的基本情况, 分析目前我国光动力学疗法应注意及解决的问题。

方法: 通过对中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中国生物医学文献数据库(CBMdisc)及中国期刊全文数据库(CJFD)等国内医学相关数据库进行联合检索, 得到发表于1982-2006的30篇原创关于光动力学疗法治疗上消化道肿瘤的中英文论文。对文章中有关患者的性别、年龄、肿瘤部位、病理类型、应用的激光器及光敏剂、取得的疗效以及发生的相关不良反应等均记录下来, 整理进行分类统计分析。

结果: 共收入上消化道恶性肿瘤1687例, 均应用血卟啉类光敏剂及波长630 nm左右激光器完成治疗, 显效率(完全缓解+显著缓解)为53.2%, 有效率(完全缓解+显著缓解+稍有缓解)为87%。光动力联合治疗组(显效率: 65.1%, 有效率: 87.9%), 其整体疗效较光动力单纯治疗组(显效率: 50.6%, 有效率: 86.8%)疗效好, 统计学差异有显著性($u = 4.456$, $P < 0.01$)。光动力学疗法对各种病理类型肿瘤均有效。不同作

背景资料

目前, 光动力学疗法的研究热点主要集中在新型光敏剂的研究, 国外这方面的研究非常活跃, 有些新型光敏剂已经完成Ⅲ期临床研究, 正式应用于临床, 国内的新型光敏剂研究缓慢, 研究经济有效的国产新型光敏剂是一个急迫的问题。在我国, 光动力学疗法用于上消化道恶性肿瘤治疗已经有了近30 a的历史, 完成了大量病例的治疗, 取得了良好的姑息治疗效果, 这在世界各国中也是少见的。然而, 近10 a来, 我国在光动力学疗法的基础研究和临床应用方面都差强人意。

■创新盘点

本文通过对既往25 a国内应用光动力学疗法治疗上消化道恶性肿瘤的文献进行统计分析,进一步肯定了光动力学疗法是一种容易被接受的,副作用轻微,疗效确切,能达到较好姑息治疗效果的治疗方法,同时找出了我国新型光敏剂及配套激光器研究方面的不足。

者应用不同的激光器及光敏剂,但都取得了满意的疗效,且不良反应轻微,耐受性良好。

结论: 光动力学疗法对早期肿瘤有根治效果,对晚期肿瘤有较好姑息治疗效果,是治疗上消化道肿瘤可选择的一种有效手段。

关键词: 光动力学疗法; 上消化道癌; 激光

刘慧龙, 刘端祺. 中国光动力学疗法治疗上消化道恶性肿瘤25年回顾. 世界华人消化杂志 2007;15(2):129-133
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/129.asp>

0 引言

上消化道肿瘤是我国最常见的恶性肿瘤之一,其中包括食管癌、贲门癌及胃癌. 据1990-1992年我国常见恶性肿瘤的死亡率和构成比统计,全国胃癌死亡率男性为32.84/10万人口、女性为17.01/10万人口,均居所有恶性肿瘤死亡第1位,而食管癌死亡率男性为22.14/10万人口、女性为12.34/10万人口,分别居所有恶性肿瘤死亡第3位和第2位^[1]. 虽然上消化道恶性肿瘤的发病率似乎有下降趋势,但仍然是临床工作中最常见的恶性肿瘤之一. 目前,手术、放射治疗及化学治疗仍是上消化道肿瘤的主要治疗手段,如能早期发现、早期诊断、进行规范化治疗,能取得理想的疗效^[2]. 但遗憾的是,临床工作中遇到的很多患者一旦确诊就已经分期较晚,失去根治的机会. 有些患者术后复发,无法进行再次手术治疗. 有些患者虽然经过积极放、化疗局部病灶控制仍不理想. 还有一些患者由于非肿瘤原因不适合或者不愿行手术或放化疗. 对于这些肿瘤患者而言,光动力学疗法(photodynamic therapy, PDT)是一种容易被接受的,副作用轻微,疗效确切,能达到较好姑息治疗效果的治疗方法^[3-6]. 我国是较早应用PDT治疗上消化道癌,并有较多病例报道的国家之一. 我们统计分析了1980年代初到现在公开发表的国内有关PDT治疗上消化道恶性肿瘤的论文. 希望能通过对这些论文的统计分析汲取经验,对今后的临床工作能有裨益.

1 材料和方法

1.1 材料 本研究通过对中文生物医学期刊文献数据库(CMCC)、中国生物医学文献数据库(CBMdisc)及中国期刊全文数据库(CJFD)进行联合检索,查找有关光动力学疗法治疗上消化

道恶性肿瘤的所有研究,只收入对疗效进行标准评价的文章. 发现对相同病例进行重复报告的,只保留最近报道的或报道病例数较多的文献. 最后得到符合条件的,发表于1982-2006的30篇原创中英文论文. 这些文章来自全国19个地区.

1.2 方法 将收入本研究所有文章中有关患者的性别、年龄、肿瘤部位、病理类型、应用的激光器及光敏剂、取得的疗效以及发生相关的不良反应等均记录下来,整理分类统计. PDT后疗效判定采用WHO恶性肿瘤疗效评价标准进行近期疗效判断. 完全缓解(CR): 肿瘤完全消失,病理活检阴性,持续1 mo以上;显著缓解(PR): 肿瘤比治疗前缩小50%以上,持续1 mo以上;稍有缓解(MR): 肿瘤缩小50%以下,持续1 mo以上;无效(NR): 肿瘤无缩小甚至增大^[7].

统计学处理 数据应用SPSS软件进行分析,对不同分组进行统计学处理,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性.

2 结果

本研究中入选的30篇论文中,共完成1687例上消化道恶性肿瘤的PDT治疗,其中男1199例,女488例,年龄范围为9-90岁. 有29篇文章收治患者最大年龄超过70岁,25篇文章收治患者最大年龄超过75岁. 食管癌 1035例,贲门癌 449例,胃癌 167例,36例未记载病灶部位. 病理类型: 鳞癌 758例,腺癌357例,低分化腺癌43例,未分化腺癌5例,印戒细胞癌2例,间质细胞瘤2例,有520例未说明病理类型. 本文收集的患者,大多数为肿瘤晚期不能手术或者不愿行手术治疗以及术后复发的患者.

2.1 疗效情况 根据各篇文章报告疗效统计上消化道恶性肿瘤1687例, CR 166例(9.8%), PR 732例(43.4%), MR 570例(33.8%), NR 219例(13.0%). 显效率(CR+PR)53.2%,有效率(CR+PR+MR)87%. 对于PDT联合其他治疗(包括,放疗、微波、YAG激光、放置支架、局部化疗及全身化疗^[8-10])行疗效统计: 联合治疗组306例患者, CR 47例(15.4%), PR 152例(49.7%), MR 70例(22.9%), NR 37例(12.1%). 显效率65.1%,有效率87.9%. 联合治疗组疗效同PDT单纯治疗组相比较疗效差异有显著性($P < 0.01$). 本研究中大多数文章未针对病理类型行疗效统计,没有文章提出不同病理类型肿瘤疗效有所不同(表1).

表 1 PDT治疗上消化道恶性肿瘤疗效 $n(\%)$

分组	n	CR	PR	MR	NR
单纯PDT组	1381	119(8.6)	580(42.0)	500(36.2)	182(13.2)
联合治疗组	306	47(15.4)	152(49.7)	70(22.9)	37(12.1)
总计	1687	166(9.8)	732(43.4)	570(33.8)	219(13.0)

Wilcoxon等级资料两样本比较; $u = 4.456 > 2.58, P < 0.01$.

表 2 应用不同激光器PDT治疗情况 $n(\%)$

分组	n	CR	PR	MR	NR
氩氙	153	12(7.8)	68(44.4)	50(32.7)	23(15.0)
金蒸气	102	21(20.6)	47(46.1)	23(22.5)	11(10.8)
氙离子	229	31(13.5)	96(41.9)	54(23.6)	48(21.0)
半导体	182	19(10.4)	119(65.4)	32(17.6)	12(6.6)
铜蒸气	857	48(5.6)	301(35.1)	389(45.4)	119(13.9)
未知	164	35(21.3)	101(61.6)	22(13.4)	6(3.7)
总计	1687	166(9.8)	732(43.4)	570(33.8)	219(13.0)

2.2 激光器的选择 收入的30篇论文中,使用的激光器主要有5种,所有文章采用的治疗波长均在630 nm左右.这其中氙离子泵浦染料激光器和氩氙激光器在1980年代完成治疗的文章中是应用较多的光源.进入1990年代后由浙江大学机电设备厂研制生产的MJZ-I型铜蒸汽泵浦染料脉冲激光器成为最主要的治疗光源,共有13篇文章应用该激光器完成857例患者PDT治疗.之后由中科院电子所研制生产的金蒸气激光器在临床上也得到应用.2003年以来完成的所有7篇文章均应用半导体激光器作为治疗光源,共完成182例患者治疗(表2).

2.3 光敏剂的应用 本研究各文章作者采用的光敏剂均为第一代血卟啉类光敏剂.有不同厂家生产的血卟啉衍生物(Haematoporphyrin derivative, HPD),包括应用北京制药工业研究所BHPD完成452例,应用扬州生化制药厂YHPD完成404例,应用军事医学科学院JHPD完成53例,应用重庆华鼎药业公司CHPD完成4例,应用未说明厂家WHPD完成428例.应用上海第二军医大学523研究室研制生产癌光敏(PSD-007)192例.应用进口加拿大QLT公司PHOTOFRIN完成96例.应用血卟啉二乙二醇(HPEE)32例,未说明光敏剂(UNKNOWN)26例(表3).

2.4 不同年代光动力治疗的情况 我们根据文章中病例完成治疗的时间分为4个时间段,即1982-1988第1个7年完成302例治疗,1989-1995第2个7年完成855例,1996-2002第3个7年完成348例,2003-2006完成182例.可以发现在1990年代初国内有一个光动力治疗的高潮(表4).

2.5 不良反应 患者不良反应轻微.本研究收入

表 3 应用不同光敏剂PDT治疗情况 $n(\%)$

分组	n	CR	PR	MR	NR
BHPD	452	60(13.3)	188(41.6)	113(25.0)	91(20.1)
YHPD	404	18(4.5)	163(40.3)	170(42.1)	53(13.1)
JHPD	53	6(11.3)	17(32.1)	14(26.4)	16(30.2)
CHPD	4	3(75.0)	1(25.0)	0	0
WHPD	428	49(11.4)	189(44.2)	157(36.7)	33(7.7)
PSD-007	192	18(9.4)	77(40.1)	80(41.7)	17(8.9)
PHOTOFRIN	96	10(10.4)	65(67.7)	16(16.7)	5(5.2)
HPEE	32	2(6.3)	12(37.5)	16(50.0)	2(6.3)
UNKNOWN	26	0	20(76.9)	4(15.4)	2(7.7)
总计	1687	166(9.8)	732(43.4)	570(33.8)	219(13.0)

表 4 不同时期PDT治疗情况 $n(\%)$

分组	n	CR	PR	MR	NR
1982-1988	302	68(22.5)	130(43.0)	55(18.2)	49(16.2)
1989-1995	855	43(5.0)	325(38.0)	358(41.9)	129(15.1)
1996-2002	348	36(10.3)	158(45.4)	125(35.9)	29(8.3)
2002-2006	182	19(10.4)	119(65.4)	32(17.6)	12(6.6)
总计	1687	166	732	570	219

的文章均未报告有病例发生上消化道出血或穿孔等严重并发症.主要不良反应有发热,体温 38.5°C 以下,经常规处理后体温恢复正常;一些患者治疗后出现明显上腹部及/或胸骨后不适,局部疼痛,严重时需应用止痛治疗;少数患者因避光不严导致皮肤红肿、瘙痒、刺痛,严格避光及经对症处理后症状缓解.没有作者报告患者出现治疗相关的骨髓抑制及严重肝肾毒性,个别患者一过性肝功能轻度异常,心电图检测亦未见治疗前后有明显变化.

3 讨论

目前,手术、放射治疗及化学治疗仍是上消化道恶性肿瘤的主要治疗手段,但常规治疗手段,如放射治疗易造成广泛的相邻脏器的有害效应,并有剂量限制性,阻碍了其进一步在临床的应用;化疗在一小部分晚期患者有明确的姑息性效果,但副作用大、有效率低、易产生耐药;支架及单纯扩张虽可作为姑息性治疗手段,但是作为机械性扩张,部分患者痛苦较大,且缓解期短^[11-12].光动力学疗法作为一种新型医疗技术,自1970年代末开始进入临床研究以来,在恶性肿瘤和各种良性疾病的治疗中取得了令人瞩目的成就.在我国1980年代初也开始在临床应用光动力学疗法治疗上消化道恶性肿瘤,并取得了较好的疗效,积累了丰富的经验^[13].

我们收入的1687例患者中,完全缓解达到9.8%,显效率(CR+PR)达到53.2%,有效率(CR+PR+MR)为87%.考虑到本组文章收治的患

■应用要点

本文通过对国内光动力学疗法治疗上消化道恶性肿瘤的回顾研究,肯定了光动力学疗法的应用价值,指出其中的不足及应改善之处,同时力图促进建立一个光动力学治疗上消化道恶性肿瘤的规范.

■名词解释

光动力学疗法:一种光激发的化学疗法,光敏剂吸收光子的能量跃迁到激发态,受激发的光敏剂将能量传递给氧,产生一些氧化活性分子,氧化活性分子通过氧化作用来攻击细胞结构,这种损伤可能是细胞膜或蛋白的氧化损伤,当氧化损伤的积累超过一定的阈值时,细胞便开始死亡。

者,大多数均为肿瘤晚期不能手术或者不愿行手术治疗以及术后复发,可以说明对于上消化道肿瘤,光动力学疗法疗效肯定,是一种有较好的姑息治疗手段。同时我们对PDT联合其他方法进行治疗的疗效进行统计后发现,完全缓解率为15.4%,显效率65.1%,有效率87.9%,较单纯PDT有更好的疗效。而NCCN食管癌治疗指南(2006)也推荐PDT联合支架治疗作为治疗阻塞性食管癌一种优选的治疗手段^[14]。本组文章中,有21位作者对肿瘤病理类型进行记录,但没有统计光动力学疗法对不同病理类型的有效率,也没有作者报告不同病理类型对于光动力治疗的敏感性不同。我们收治的123位患者中,也发现不同病理类型对光动力治疗都是敏感的。这一点在其他相关文献中也有阐述^[15]。

本研究收入的30篇文章中,有29位作者收治患者的最大年龄超过70岁,而25位作者收治患者的最大年龄超过75岁。这一方面说明,各位作者都较好的掌握了内镜下光动力治疗技术,在老年患者中仍然能安全应用。另一方面也说明,光动力学疗法的安全性和可控性,即使年龄较大,身体虚弱仍然可以较好的耐受光动力治疗。光动力学疗法不良反应少且轻微,本研究中未见有作者报告治疗相关的严重不良反应发生。有些作者报告,患者治疗后出现上腹部及/或胸骨后疼痛不适以及梗阻情况加剧,分析后发现这可能与治疗刺激或局部组织坏死水肿有关,可以给予止痛药物镇痛治疗,随着水肿消退,疼痛逐渐减轻进食逐渐改善。一些患者出现发热,考虑主要是由于治疗后肿瘤组织坏死吸收所致。有些作者报告患者因未按要求进行避光,发生皮肤瘙痒、红肿,重新避光后自行消退。治疗后也均未见重要脏器功能改变,骨髓抑制等不良反应。所有患者未见治疗相关的后遗症。

本组文章中,使用的5种激光器中,氩离子泵浦染料激光器、氦氖激光器、铜蒸汽泵浦染料脉冲激光器及金蒸气激光器在临床治疗中发挥了非常重要的作用^[16],本研究中近90%的病例由上述激光器完成临床治疗。但是我们注意到2003年后完成的治疗都是采用半导体激光器完成,虽然对于其他激光器和半导体激光器的疗效分析,发现疗效差异并无显著性,但是作为新型的光动力治疗光源-半导体激光器,具有功率高、体积小、重量轻、易于携带、便于操作等诸多优点而迅速被临床工作人员所接受,不但医生操作方便,而且由于功率高,缩短了治疗时间而减少了

患者的痛苦^[17-18]。当然从治疗角度看,光源的选择可以多样化,甚至并非一定是激光光源才能完成光动力治疗,但是激光的一些特点如单色性好,亮度高,方向性好等为光纤传输创造了有利条件,成为能完成内镜下治疗的适当光源。最近,有国外研究单位和我们联系进行有关应用发光二极管(light Emitting Diode, LED)作为治疗光源进行光动力治疗的临床研究,也可能是一种方便有效的治疗光源。

本研究中的不同作者应用的光敏剂均为第1代血卟啉类光敏剂。本组文章中应用最多的光敏剂为HPD,由多个厂家生产,如北京制药工业研究所、扬州生化制药厂、重庆华鼎药业公司等^[19]。过去,虽然我们光敏剂研制机构较多,遗憾的是由于种种原因,很多厂家未对其生产光敏剂进行深入细致的临床研究,所以应用的光敏剂虽多,但均各自为战,缺少疗效比较的数据,本研究依然无法对各个光敏剂之间的疗效进行分析比较。目前,临床应用的国产光敏剂种类单一,相关研究的步伐缓慢。唯一的正式上市的国产光敏剂由于价格昂贵,而应用稀少,同时也缺失上市后临床研究(post market surveillance, PMS)。而国外光敏剂由于价格昂贵,国人无力负担,也长期不能进入国内临床应用^[20]。所以,加紧我国自主知识产权的、价格适中的新型光敏剂研究是一个刻不容缓的重要课题。

国内,有作者最早于1982年便开始应用光动力学疗法行消化道恶性肿瘤治疗。之后,应用光动力学疗法进行治疗的单位逐渐增加,治疗病例数也逐渐累计增加。在本研究中1982-1988完成302例治疗,1989-1995便完成了855例。此时光动力治疗的研究应用进入了一个高潮期,很多临床专家开始注意到光动力学疗法并投入到其间的临床研究工作中。随着光动力学疗法研究的逐渐深入,由于新型光敏剂及激光器研究的迟滞,光动力学疗法的研究热度也开始降温。本研究中1996-2002仅完成348例。近年来,随着新型半导体激光器引入,2003-2006完成182例。然而由于疗效确切、副作用轻微、避光时间短、价格适中的新型光敏剂的研究仍然没有突破,目前光动力学疗法应用研究仍然处于一个探索阶段。

4 参考文献

- 1 孙燕. 内科肿瘤学. 第一版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 2-7
- 2 Kelsen DP, Ginsberg R, Pajak TF, Sheahan DG, Gunderson L, Mortimer J, Estes N, Haller DG, Ajani

- J, Kocha W, Minsky BD, Roth JA. Chemotherapy followed by surgery compared with surgery alone for localized esophageal cancer. *N Engl J Med* 1998; 339: 1979-1984
- 3 Moghissi K, Dixon K. Photodynamic therapy (PDT) in esophageal cancer: a surgical view of its indications based on 14 years experience. *Technol Cancer Res Treat* 2003; 2: 319-326
- 4 Barr H, Kendall C, Stone N. Photodynamic therapy for esophageal cancer: a useful and realistic option. *Technol Cancer Res Treat* 2003; 2: 65-76
- 5 陈祖林, 葛海燕, 肖卫东. 激光光动力学治疗胃肠肿瘤. *世界华人消化杂志* 2004; 8: 1918-1921
- 6 沙卫红, 李瑜元, 聂玉强, 黎庆宁, 周永健, 梁培智, 赖晓波, 王红, 余庆珠, 吴惠生. 光动力学疗法与支架放置术治疗进展期食管癌比较. *中华消化内镜杂志* 2006; 27-30
- 7 孙燕, 周济昌. 临床肿瘤内科手册. 第四版. 北京: 人民卫生出版社 2003: 106-107
- 8 张燕妮, 李吉华. 光动力学加内镜微波联合治疗进展期食管贲门癌. *中国激光医学杂志* 1997; 1: 6
- 9 金伯泉. 细胞和分子免疫学实验技术. 第四军医大学出版社 2002: 78-81
- 10 张南征, 张学庸, 李吉华, 朱云. 光动力学疗法与局部化疗联合治疗进展期食管贲门癌. *第四军医大学学报* 1994: 11-13
- 11 Segalin A, Little AG, Ruol A, Ferguson MK, Bardini R, Norberto L, Skinner DB, Peracchia A. Surgical and endoscopic palliation of esophageal carcinoma. *Ann Thorac Surg* 1989; 48: 267-271
- 12 Okawa T, Kita M, Tanaka M, Ikeda M. Results of radiotherapy for inoperable locally advanced esophageal cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989; 17: 49-54
- 13 杨伯琴, 金懋林, 张维, 王燕蒙. 消化道癌术后局部复发的光动力学治疗. *中国激光医学杂志* 1996: 7-11
- 14 NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology™ Esophageal Cancer V.1: National Comprehensive Cancer Network, 2006: MS-7
- 15 Ochsner M. Photodynamic therapy: the clinical perspective. Review on applications for control of diverse tumorous and non-tumorous diseases. *Arzneimittelforschung* 1997; 47: 1185-1194
- 16 Stepinac T, Grosjean P, Woodtli A, Monnier P, van den Bergh H, Wagnieres G. Optimization of the diameter of a radial irradiation device for photodynamic therapy in the esophagus. *Endoscopy* 2002; 34: 411-415
- 17 LIU Duanqi, LIU Huilong, JIE Yahui, etc. Clinical Study of Photodynamic Therapy for Upper Gastrointestinal Tract Cancers. *The Chinese-German Journal of Clinical Oncology* 2006; 2: 90-92
- 18 潘林娜, 张志燕, 李曼, 苏蓉玲. 光动力治疗食道癌近期疗效观察. *世界华人消化杂志* 2006, (05):530-532
- 19 许德余. 光动力治癌药物的历史、现状、进展、问题和前景. *中国激光医学杂志* 2001,10 :44-47
- 20 Javaid B. Photodynamic therapy (PDT) for oesophageal dysplasia and early carcinoma with mTHPC (m-Tetrahydroxyphenyl chlorin): a preliminary study. *Lasers Med Sci* 2002; 17: 135

■同行评价

本文对25 a来报道的运用光动力学方法治疗晚期肿瘤的文章进行了汇总分析, 回顾性的研究了治疗的效果、并发症发生率以及运用的仪器设备等方面, 提出了该治疗方法是对晚期上消化道肿瘤治疗的可选方案之一. 本文的出发点较好, 对临床也具有指导意义.

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 第一方面是直接参与, 包括: (1)酝酿和设计实验; (2)采集数据; (3)分析/解释数据. 第二方面是文章撰写, 包括: (1)起草文章; (2)对文章的知识性内容作批评性审阅. 第三方面是工作支持, 包括: (1)统计分析; (2)获取研究经费; (3)行政、技术或材料支持; (4)指导; (5)支持性贡献. 每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者. (世界胃肠病学杂志社2007-01-18)

烧伤应激对胃动力的影响

刘 婧, 李兆申

■背景资料

当机体遭受各种重创(外伤、灼伤、失血等)后,常出现胃肠道症状,表现为腹痛、恶心、呕吐,重者发生消化道出血,影响患者预后。各种消化道症状的出现认为与创伤应激后胃肠道动力紊乱关系密切。

刘婧, 中国人民解放军总医院南楼消化内镜中心 北京市 100853

李兆申, 第二军医大学附属长海医院消化科 上海市 200433

通讯作者: 刘婧, 100853, 北京复兴路28号, 中国人民解放军总医院南楼消化内镜中心. liujing7376@sohu.com

电话: 010-66937622 传真: 010-66935470

收稿日期: 2006-10-29 接受日期: 2006-11-10

Effect of burn stress on gastric motility

Jing Liu, Zhao-Shen Li

Jing Liu, Endoscopic Centre of South Building, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Zhao-Shen Li, Department of Gastroenterology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Jing Liu, Endoscopic Centre of South Building, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China. liujing7376@sohu.com

Received: 2006-10-29 Accepted: 2006-11-10

Abstract

AIM: To investigate the effect of burn stress on gastric motility as well as the changes of related neuropeptides.

METHODS: Radioimmunological assay was performed to detect the dynamic changes of related neuropeptides, including CCK-8, vasoactive intestinal peptide (VIP), somatostatin (SS), and gastrin (GAS) in patients with burn injury and healthy volunteers using ambulatory manometry. Strain-gauge transducers were pre-equipped at the antrum of rats to establish the models of burn injury (30% full skin scalding), and gastric motility and the changes of plasma VIP and CCK-8 contents were recorded before and after modeling. Exogenous peptides (VIP, CCK-8) were intravenously administrated to determine the gastric motor responses.

RESULTS: There were no complete migrating motor complex (MMC) cycles in burn patients. Interdigestive and postprandial gastric motility patterns were mainly resting state without constant phase or with low amplitude contraction, persistent and irregularly high-frequency

contraction and propagated burst activity. In patients with burn injury, the plasma levels of CCK-8, SS, and GAS were significantly higher than those in the controls (5.63 ± 1.31 ng/L vs 1.84 ± 0.87 ng/L, $P < 0.05$; 235.36 ± 49.72 ng/L vs 50.70 ± 12.62 ng/L, $P < 0.01$; 124.16 ± 28.6 ng/L vs 49.71 ± 15.57 ng/L, $P < 0.01$), while the level of VIP was significant lower than that in the controls (19.87 ± 7.26 ng/L vs 35.44 ± 14.81 ng/L, $P < 0.05$). In fasting rats, gastric motor activity was regular with resting and contractile states before stress. VIP inhibited gastric motility whereas CCK-8 enhanced it. The regularity of gastric motility was destroyed and the motor activity was increased after stress. However, VIP inhibited the enhanced gastric motility. The plasma level of VIP rose in 1 and 2 hours (165.21 ± 58.29 ng/L vs 40.42 ± 16.36 ng/L, $P < 0.01$; 89.78 ± 32.36 ng/L vs 48.92 ± 13.65 ng/L, $P < 0.05$), whereas the contents of CCK-8 was immediately increased (8.95 ± 2.84 vs 4.11 ± 1.74 , $P < 0.05$) and then returned to the normal level after stress.

CONCLUSION: Burn stress can lead to disorders of gastric motility and plasma level changes of gastrointestinal motility associated neuropeptides, which may modulate gastric motility.

Key Words: Burn; Stress; Gastric motility; Neuropeptides

Liu J, Li ZS. Effect of burn stress on gastric motility. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):134-139

摘要

目的: 探讨烧、烫伤应激对胃动力的影响以及相关神经肽的变化

方法: 应用便携式消化道动力监测仪记录烧、烫伤患者急性期胃动力的改变, 放免法检测胃肠动力相关神经肽-CCK-8、VIP、SS、GAS含量变化; 于大鼠胃窦部缝置应力传感器, 制备烫伤应激模型. 记录应激前后大鼠胃动力的变化及血浆内VIP和CCK-8含量的改变, 观察应激前后静脉插管内给予VIP和CCK-8后胃动力变化。

结果: 与对照组比较, 烧伤患者正常胃运动节律消失, 代之以时程不定的运动静止或低振幅收缩、无规律高频率收缩及爆发活动; 血中CCK-8、SS、GAS含量显著升高(5.63 ± 1.31 ng/L vs 1.84 ± 0.87 ng/L, $P < 0.05$; 235.36 ± 49.72 ng/L vs 50.70 ± 12.62 ng/L, $P < 0.01$; 124.16 ± 28.6 ng/L vs 49.71 ± 15.57 ng/L, $P < 0.01$), VIP含量明显降低(19.87 ± 7.26 ng/L vs 35.44 ± 14.81 ng/L, $P < 0.05$). 正常大鼠禁食状态, 胃运动呈规则的相对静止期、收缩期交替的变化. VIP可抑止正常大鼠胃运动, CCK-8明显加强胃的收缩. 应激使大鼠胃窦的规则收缩消失、运动加强; VIP对增强的胃运动有明显的抑制效应; 大鼠血浆内VIP含量在应激后1, 2 h显著升高(165.21 ± 58.29 vs 40.42 ± 16.36 , $P < 0.01$; 89.78 ± 32.36 vs 48.92 ± 13.65 , $P < 0.05$), CCK-8含量于应激后即刻升高(8.95 ± 2.84 vs 4.11 ± 1.74 , $P < 0.05$), 随后恢复正常.

结论: 烧伤应激可致胃动力紊乱及体内胃肠动力调节相关神经肽分泌改变, 后者对应激状态下的胃动力有调节作用.

关键词: Toll样受体; 肝硬化; 抗生素; 流式细胞术; 单克隆抗体

刘婧, 李兆申. 烧伤应激对胃动力的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(2):134-139

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/134.asp>

0 引言

有研究证明, 各种程度的创伤作为躯体应激的一种, 可致胃排空、结肠传送功能异常^[1-2]. 说明各种创伤作为应激源有致胃肠动力紊乱的可能, 而不同的研究对象、研究方法得到的结论并不一致^[3-6]. 我们以中重度烧、烫伤为应激源, 研究创伤应激对胃动力的影响, 并初步探讨严重烧、烫伤致胃肠动力紊乱的原因.

1 材料和方法

1.1 材料 长海医院就诊的8例中重度烧、烫伤患者(创伤面积20%-70%)为病例组, 男3例, 女5例. 年龄21-35(平均 28.80 ± 7.66)岁. 均因烧、烫伤24 h内急诊入院. 入院后患者意识清醒, 询问病史, 排除以下情况: (1)器质性胃肠病变, 有消化性溃疡病史或腹部手术史; (2)习惯性便秘; (3)慢性腹泻; (4)全身性代谢系统、内分泌系统、神经系统疾病或精神病; (5)近期服用影响胃肠道运动的药物. 10例健康志愿者为对照组,

其中男12例, 女8例, 平均年龄(30.78 ± 10.80)岁. 排除情况同病例组. 便携式消化道动力监测仪(瑞典CTD-synecotics Medical公司)包括一根三腔固态导管(长210 cm, 口径2.5 cm, 内含微型换能器3个, 分别距离管端5, 10, 15 cm), 便携式数据自动记录器, 计算机分析处理系统. δ SD大鼠12只, 体质量180-220 g (上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供).

1.2 方法

1.2.1 患者和健康志愿者胃动力监测 插管前, 把测压导管和数据自动记录器连接, 在装有37℃水的立式圆筒中校准两个固定压力水平(0和6.7 kPa). 清晨8时插入导管并在X-线透视下将远端换能器定位于十二指肠内, 近端和中间两个换能器定位于胃窦部. 定位后, 导管固定于鼻侧. 健康对照者在监测期间尽量避免下床活动, 对照者和患者于病床上可行必要的肢体活动. 实验对象分别于11时、17时食用统一标准的中餐和晚餐, 在研究期间不允许食用其他食物. 通过便携式数据记录器上的时间按钮记录准确的用餐时间、症状、卧床和起床时间(患者可由床边特护人员帮助记录). 次日8时透视确定导管位置后取出导管. 将数据自动记录器与计算机连接, 资料存盘, 以备分析.

1.2.2 患者和健康志愿者相关神经肽含量测定 中重度烧、烫伤患者伤后4 h左右急诊入院, 共14例, 其中烧伤6例, 烫伤8例, 入急诊室后, 即刻收集患者静脉血3 mL置于预冷的含1 g/L肝素30 μ L, 抑肽酶(25005 nkat/L)的塑料指形管中, 混匀后离心(3000 r/min, 15 min), 吸取上层血浆移入另一指形管, 置-20℃冰箱内冷冻待测. 另在相同时间点采集健康志愿者血标本($n = 14$), 作为基础对照. 取血浆标本置聚苯乙烯放射免疫测定管中, 分别加入100 μ L I125(美国Amersham公司产品)标记的CCK, VIP, SS, GAS(8000-12000 cpm)(美国Aalky研究所产品), 再分别加入各抗血清100 μ L (第二军医大学神经生物学教研室制备), 最后加PELH缓冲液使最终反应体积为500 μ L. 置4℃环境24 h, 测定各管总cpm后, 加入2%加膜活性碳溶液300 μ L, 混合后迅速离心(4000 r/min, 5 min), 弃上清, 测定沉淀的cpm值(F), 计算各管B/T值, 根据同批实验的标准曲线, 分别查出各神经肽的含量, 换算成每毫升血浆中的含量.

1.2.3 实验动物及模型制作 实验前均行颈静脉插管, 按周吕 *et al*^[7]的方法于胃窦部浆膜面缝置

■ 研究前沿

目前关于胃肠道动力调节的机制一直是该领域研究热点, 创伤应激后脑肠肽的变化发挥了关键作用. 关于各种脑肠肽分泌的调节及相互作用是亟待继续研究的方向.

■ 创新盘点

应用压力传感器直接对烧伤患者进行胃肠动力监测,并通过临床及动物实验观察烧伤后神经肽分泌的动态变化,国内尚未见报道。

表 1 严重烧伤患者血浆内CCK-8、VIP、SS、GAS含量变化

	CCK-8 (ng/L)	VIP (ng/L)	SS (ng/L)	GAS (ng/L)
烧伤患者	5.63 ± 1.31 ^a	19.87 ± 10.26 ^a	235.36 ± 49.72 ^b	124.16 ± 28.6 ^b
对照组	1.84 ± 0.87	35.44 ± 14.81	50.70 ± 12.62	49.71 ± 15.57

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

一应力传感器(中国医学科学院基础医学研究所提供)。术后3 d用于实验,期间饮食、饮水、活动均不限。实验组大鼠背部剃毛,浸入90℃水中10 s造成30% TBSAⅢ度烫伤,于伤后0.5 h进行实验。为消除生物节律对实验结果的影响,均于上午8时开始实验。

1.2.4 应激前后大鼠胃运动的观察 实验前禁食12-18 h,分别于对照期和应激期(相隔24 h)记录大鼠清醒状态下胃收缩活动2 h。计算单位时间(每10 min)胃窦的收缩频率、振幅。胃收缩波的振幅以收缩力N表示,按已报道的方法定标^[2]。并计算动力指数(MI = 单位时间内收缩次数 × 平均振幅)。比较应激状态与基础状态下相应指标百分比(%)。

1.2.5 VIP与CCK-8对大鼠胃运动的调节作用 清醒状态下记录大鼠胃运动,应激前后先于颈静脉插管内注入生理盐水0.2 mL作为自身对照,30 min后随机注入各种剂量的血管活性肠肽(VIP)(100, 200, 400, 800 ng/kg),胆囊收缩素-8(CCK-8)(50, 100, 200, 400 pmol/kg)(Sigma公司),每个剂量注入后观察10 min,间隔30 min后用另一剂量,一种肽注入结束后2 h,注入另一种肽。观察应激前后胃运动对胃肠肽的反应。

1.2.6 应激后血浆VIP和CCK-8含量测定 另取SD大鼠60只,随机分为应激组和对照组。应激组于应激后即刻,1, 2, 4, 6 h分别断头取血(每组动物6只)。对照组大鼠也按5个时间点分为5个亚组,每组6只,不做任何处理,在相同5个时间点同时断头取血。用放射免疫法测定血浆VIP和CCK-8含量。

统计学处理 数据用mean ± SD表示,采用组间比较的t检验。

2 结果

2.1 烧伤患者胃动力及血中神经肽含量改变 烧伤患者胃动力及血中神经肽含量改变空腹状态对照组研究期间,每例至少可以记录到两个完全的消化道运动周期即MMC周期,共42个。包括I相:运动静止期,时程50.50 ± 17.56 min,之后

为II相:不规则收缩期,时程43.40 ± 14.87 min,收缩频率1.07 ± 0.48次/min,平均振幅6.77 ± 2.13 kPa,最后为III相:强力收缩期,时程6.58 ± 1.70 min,振幅153.69 ± 5.71 kPa,收缩频率胃窦部为2.96 ± 0.30 次/min。每个MMC周期III相的时程、频率相对稳定。10例受试者检测期间记录到1次爆发活动。与对照组比较,8例中重度烧伤患者日间、夜间均无完整的MMC周期出现,胃、十二指肠运动形式表现各异,主要有:(1)时程不等的运动静止(9 min-1.3 h);(2)无规律的持续高频率收缩,时程1.27-8.70 h不等,频率2.5-12.0次/min,有时收缩频率、振幅比较一致,有时表现为高振幅、低振幅收缩交替出现,每段平均振幅2.75-47.81 kPa不等;(3)爆发活动:为短暂、高频、高振幅收缩。8例共有34次,每次持续约54.67 ± 4.76 s,收缩频率14.10 ± 2.63 次/min,平均振幅19.04 ± 1.25 kPa,可于持续收缩之中、之后出现,也可于静止期突然发生,且发生频繁。爆发活动有顺行传送(5次),但多为反向传送(13个)、同时发生(16个)。有的患者爆发活动持续存在一段时间。餐后状态,对照组餐后表现为规律、持续、较低振幅收缩,餐后30 min内胃窦平均收缩频率2.44 ± 0.76 次/min,振幅5.37 ± 0.96 kPa,烧伤患者餐后胃窦运动以较低振幅收缩为主2.64-7.47 kPa,频率1.2-12次/min,多伴有同时发生或逆向传播的爆发活动。对照组有3例,在检测期间有轻微恶心,能耐受,不伴有运动异常。而烧伤组8例患者均主诉腹部不适感,腹痛4例,恶心6例,呕吐3例,腹胀3例。不适感往往持续存在,因例数较少不能看出症状发作和运动异常之间的关系。每例患者可能以某种异常运动形式表现为主,但往往多种异常表现同时存在,时程、振幅、频率变异较大,无规律可寻。

烧伤患者血浆内神经肽含量变化与对照组比较,创伤后患者血中CCK-8、生长抑素(SS)、胃泌素(GAS)含量显著升高($P < 0.05$),VIP含量明显降低($P < 0.05$)(表1)。

2.2 烫伤应激前后大鼠胃窦运动变化及VIP,

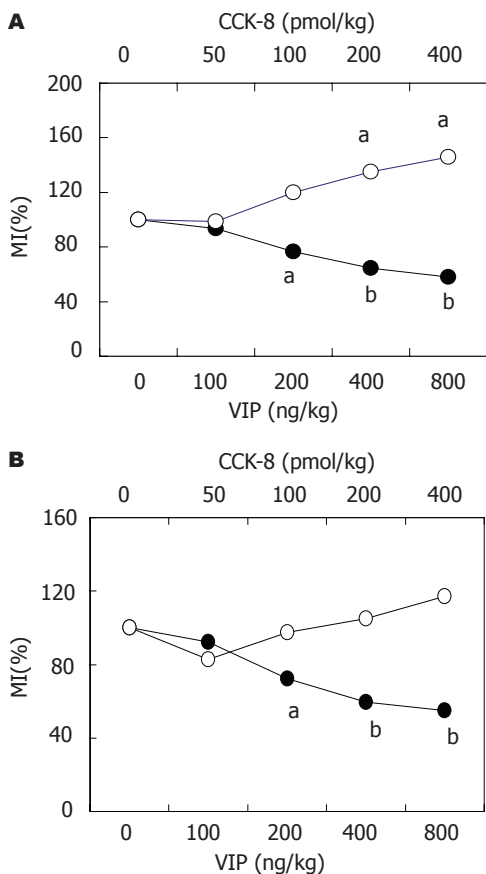


图 1 大鼠应激前后胃窦运动对外源性VIP和CCK-8的反应性。—●—: VIP; —○—: CCK-8; * $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组; A: 应激前; B: 应激后。

CCK-8的作用 正常大鼠禁食状态胃运动呈现明显时相性, 即出现交替变化的相对静止期(10-15 min)和收缩期(3-5 min)。应激后大鼠胃窦收缩显著增强, 规律性的周期性变化消失, 呈现高频率、高振幅收缩。计算MI烧伤前为 32.9 ± 8.3 g/10 s, 烫伤后10 min、90 min动力指数分别为 70.4 ± 12.5 g/10 s, 65.8 ± 10.3 g/10 s, 与应激前比较相差显著($P < 0.05$)。

外源性VIP, CCK-8引起的胃动力反应 应激前后静脉内注入生理盐水, 胃窦运动没有改变; 对照期大鼠静脉内注入不同剂量的VIP和CCK-8, 1 min内即可引起不同的胃动力反应, 均呈剂量依赖性。其中VIP在收缩期开始出现时给药, 可使胃窦收缩频率与振幅明显降低, 相对静止期延长, 呈明显抑制效应($P < 0.05$)。CCK-8在胃窦收缩末期或相对静止期给药, 可使胃运动相对静止期消失, 呈现高频率收缩, 每次较高振幅收缩波上往往叠加更小的收缩波, 收缩指数明显大于对照组($P < 0.05$); 应激后静脉给予VIP对增强的胃动力仍呈明显抑制效应($P < 0.05$); 而静脉给予CCK-8改变应激大鼠胃动力的作用则不明显($P > 0.05$)(图1)。

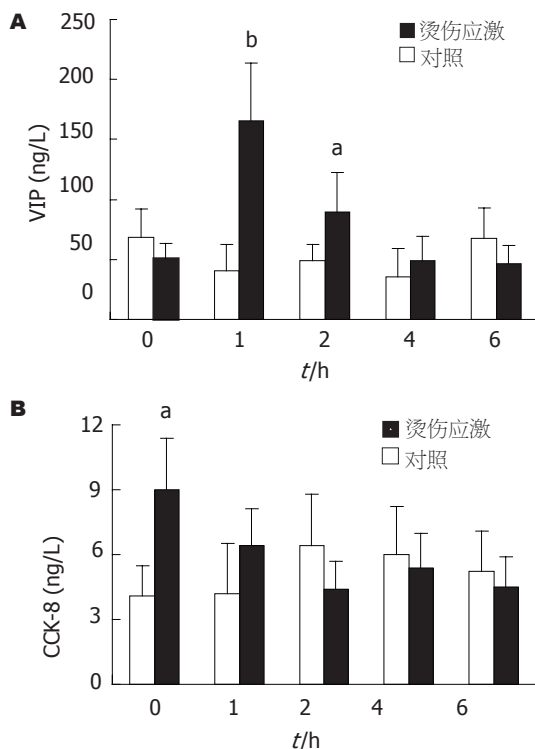


图 3 大鼠应激后血浆VIP和CCK-8含量变化。A: VIP; B: CCK-8; * $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$; 对照组。

应用要点
对临床上烧伤及其他创伤应激后患者胃肠道症状发生的机制及进一步防治提供理论依据。

2.2.3 应激后血浆VIP和CCK-8含量变化 对照组各时间点间的变化无显著性差异($P > 0.05$)。VIP含量在应激后即刻无明显变化, 1 h后显著高于对照组($P < 0.01$), 随后逐渐下降, 至伤后4 h虽仍高于对照组, 但无统计学意义($P > 0.05$); CCK-8含量在大鼠应激后即刻显著升高($P < 0.05$), 1 h后不再有显著变化(图3)。

3 讨论

本研究先是应用便携式动力监测仪, 在一个相对长的时间内观察中重度烧伤患者急性期胃动力的变化。不但获得了大量信息, 同时也通过数字记录系统反映症状和动力异常之间的关系。从记录结果可以看到: 健康人群胃、十二指肠消化间期呈现规则的运动复合周期(MMC), 餐后表现为低振幅、不规则收缩。这种规律、协调运动对于维持胃肠的正常生理功能是十分必要的^[8-12]。中重度烧伤患者急性期胃运动节律明显紊乱。尽管烧伤患者胃运动形式也有运动静止期、不规则收缩期以及高频、高振幅收缩, 但相互之间的变化无规律可寻, 且每种运动形式持续时间、发生频率、收缩幅度和对照组比较明显不同, 患者同时出现腹痛、恶心、呕吐等症状。

为使创伤的类型和强度得到统一, 本研究利用大鼠制作烫伤应激模型, 人为控制各种条

■同行评价

该论文研究了烧伤后胃动力学的变化以及一些神经递质对其的影响,有一定新意,实验设计合理,对临床创伤应激后胃肠道功能性疾病的防治有一定指导意义。

件. 实验发现: 正常大鼠禁食状态下, 胃窦收缩呈规则的收缩相和相对静止相, 类似于人胃、十二指肠运动的移行性MMC. 而应激后大鼠胃窦运动的规则收缩消失, 节律明显紊乱, 胃窦运动呈增强趋势. 这是机体对急性创伤产生的应激反应. 动物及临床实验均发现烧、烫伤应激致胃的无规则运动加强, 使胃的各部不能协调收缩, 会导致胃对食物的排空延迟, 这将影响到患者营养摄入、吸收及药物治疗^[13-18].

烧伤急性期胃动力紊乱、可能是应激致全身反应的一部分. 因为应激可使调节胃肠运动的中枢自主神经系统、局部神经系统、交感、副交感神经功能性失衡或紊乱. Alican *et al*^[14]研究烫伤大鼠对不同试餐的胃排空率, 认为烫伤应激以后主要是交感神经兴奋性增高而使高渗液的胃排空延迟. 同时, 创伤应激可导致机体中枢或外周释放大量的应激激素, 肾上腺素、去甲肾上腺素、前列腺素等可通过改变胃肠道粘膜的微循环, 使肠道的营养、代谢发生障碍, 干扰胃肠肌电、机械活动. β -内啡肽、血管加压素、胃动素、胆囊收缩素等直接抑制或加强胃肠运动的神经肽分泌失衡, 也会导致胃肠动力紊乱^[19-22]. Smith *et al*研究烧伤程度和应激的关系, 认为烧伤越严重, 应激越强, 对体内激素的影响也越大. 此外, 烧伤以后的失血、脱水、治疗不当等可致体内水电平衡紊乱, 也会影响消化道的运动功能. 所以烧伤后胃肠动力的改变可能是多因素的结果. 其中应激使中枢及胃肠壁从神经系统中某些神经肽(CCK, VIP, SS, GAS)的释放及相应受体发生变化, 对胃肠运动起调节作用^[23-24]. CCK-8、GAS对胃肠运动主要起促进作用, 而VIP、SS主要起抑制胃肠运动的作用, 但不同生理、病理条件下, 神经肽对胃肠道不同部位的作用并不一致, 例如CCK-8促进胃窦收缩的同时, 可舒张胃体而延缓胃排空^[25-26]. 人或动物是一个有机的整体, 只有各种胃肠肽的分泌在体内达到协调统一, 才能保证胃肠道正常的运动生理功能. 我们临床及动物实验资料证实创伤后与胃肠运动调节相关的神经肽含量明显变化, 表明神经肽作为体内重要的调节介质可能参与了创伤后胃肠动力紊乱的病理过程. 但是同作为抑制性胃肠肽, 血浆内SS含量升高, VIP含量降低, 可能某些肽的变化有负反馈调节的作用, 从而使胃肠运动恢复相对协调状态.

VIP是体内非肾上腺素能、非胆碱能抑制性神经介质, 他与胃肠道的靶细胞受体结合后,

激活cAMP依赖性蛋白激酶, 对胃肠运动起抑制性调节作用. CCK与胃肠道平滑肌细胞膜上的受体结合后, 激活Ca²⁺依赖性蛋白激酶发挥对胃肠运动的调节作用^[27-28]. 我们通过动物实验证实了, VIP和CCK-8外周静脉给药对胃窦收缩呈明显抑制效应及兴奋效应, 说明外周血浆内神经肽改变可对胃肠运动产生影响. 因VIP, CCK-8半衰期很短, 在体内代谢迅速^[6], 本实验给药方式可基本排除累积给药对胃动力的作用, 但并不排除创伤应激及给药过程中的全身反应对胃动力的影响. 同时证实, 应激创伤后大鼠体内VIP, CCK-8含量呈动态变化, 这可能与机体的应激反应相适应. 应激初期, CCK-8分泌增加, 可致胃动力紊乱, 随着机体的调节, CCK-8分泌减少, 作用相对减弱, 局部抑制性神经肽VIP分泌增强, 对胃动力紊乱有负反馈调节作用. 应激状态下, 外源性VIP对胃窦的强烈收缩仍呈明显抑制效应, 对应激后增强的胃肠运动可起抑制、调节作用. 而外源性CCK-8对于应激状态下强烈收缩的胃窦, 在实验剂量范围内既无明显兴奋效应也无明显抑制效应. 这一方面可能是全身反应引起神经系统的调节作用, 另一方面可能是其他神经肽增强、拮抗的结果^[29-30]. 这对于维持胃肠道正常运动生理功能有重要意义.

4 参考文献

- 1 Wang SX, Wu WC. Effects of psychological stress on small intestinal motility and bacteria and mucosa in mice. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2016-2021
- 2 Mistiaen W, Blockx P, Van Hee R, Bortier H, Harrisson F. The effect of stress on gastric emptying rate measured with a radionuclide tracer. *Hepatogastroenterology* 2002; 49: 1457-1460
- 3 Puckett JL, Bhalla V, Liu J, Kassab G, Mittal RK. Oesophageal wall stress and muscle hypertrophy in high amplitude oesophageal contractions. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 791-799
- 4 Monnikes H, Tebbe JJ, Hildebrandt M, Arck P, Osmanoglou E, Rose M, Klapp B, Wiedenmann B, Heymann-Monnikes I. Role of stress in functional gastrointestinal disorders. Evidence for stress-induced alterations in gastrointestinal motility and sensitivity. *Dig Dis* 2001; 19: 201-211
- 5 Datta UK. Effect of heat stress on gastro-intestinal motility in young albino rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 2001; 45: 222-226
- 6 Verleye M, Gillardin JM. Effects of etifoxine on stress-induced hyperthermia, freezing behavior and colonic motor activation in rats. *Physiol Behav* 2004; 82: 891-897
- 7 周吕, 谢益宽. 测量动物胃肠道运动的应力传感器. *中国应用生理学杂志* 1988; 91: 346-348
- 8 张珍妮, 董蕾, 刘欣, 李毅. 胆汁酸肠肝循环对消化间期移行性复合运动的作用. *世界华人消化杂志* 2004, 12: 2610-2613
- 9 戴菲, 龚均, 罗金燕, 董蕾, 朱有玲, 王学勤. 胃肠激素

- 与十二指肠胃反流及消化间期胃肠移行性复合运动的关系. 西安交通大学学报·医学版 2004; 25: 257-260
- 10 赵平, 董蕾, 兰康, 高东武, 徐尔迪, 戴菲, 罗金燕, 龚均. 多种胃肠激素在消化间期移行性复合运动中作用的研究. 中华消化杂志 2005; 25: 95-97
- 11 Jonderko K, Krusiec-Swidergol B, Mazur W, Kasicka-Jonderko A, Gonciarz M, Blonska-Fajfrowska B, Gonciarz Z. Effect of single-dose administration of recombinant interferon-alpha2b on gastric myoelectrical activity in patients with chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2004; 39: 1035-1044
- 12 Cullen JJ, Ephgrave KS, Caropreso DK. Gastrointestinal myoelectric activity during endotoxemia. *Am J Surg* 1996; 171: 596-599
- 13 Ives A, Muller M, Pegg S. Colonic pseudo-obstruction in burns patients. *Burns* 1996; 22: 598-601
- 14 Alican I, Coskun T, Yegen C, Aktan AO, Yalin R, Yegen BC. The effect of thermal injury on gastric emptying in rats. *Burns* 1995; 21: 171-174
- 15 曹曙光, 吴万春. 应激与小肠运动的研究进展. 世界华人消化杂志 2003; 11: 2005-2007
- 16 Gan HT, Chen JD. Roles of nitric oxide and prostaglandins in pathogenesis of delayed colonic transit after burn injury in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: R1316-1324
- 17 Musselius IuS, Mikhel'son VA, Stepanenko SM, Beliaeva ID, Lazarev VV, Popova TS. Nutritional therapy in children during perioperative period. *Anesteziol Reanimatol* 2004; : 42-46
- 18 Unluer EE, Alican I, Yegen C, Yegen BC. The delays in intestinal motility and neutrophil infiltration following burn injury in rats involve endogenous endothelins. *Burns* 2000; 26: 335-340
- 19 王少根, 陈侠英, 王立基, 汪昌荣, 徐凡. 严重烫伤休克期肠道运动功能的改变及意义. 中国中西医结合脾胃杂志 2000; 8: 80-82
- 20 Tian XY, Bian ZX, Hu XG, Zhang XJ, Liu L, Zhang H. Electro-acupuncture attenuates stress-induced defecation in rats with chronic visceral hypersensitivity via serotonergic pathway. *Brain Res* 2006; 1088: 101-108
- 21 Nakade Y, Tsuchida D, Fukuda H, Iwa M, Pappas TN, Takahashi T. Restraint stress delays solid gastric emptying via a central CRF and peripheral sympathetic neuron in rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: R427-R432
- 22 Ito M, Nakashima M, Nakayama T, Shikuwa S, Ohtsuru A, Sekine I. Preventive effects of parathyroid hormone-related peptide on stress-induced gastric hypercontraction in the rat. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 1260-1266
- 23 曹曙光, 夏宣平, 王文星, 郑君杰, 薛战雄. 心理应激对小鼠小肠运动及血浆、小肠组织中生长抑素和P物质的影响. 世界华人消化杂志 2005; 13: 967-970
- 24 郭益民, 李旭, 陈然, 夏钦贵. 促甲状腺激素释放激素在应激性溃疡致病过程中的作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 216-219
- 25 Cao SG, Wu WC, Han Z, Wang MY. Effects of psychological stress on small intestinal motility and expression of cholecystokinin and vasoactive intestinal polypeptide in plasma and small intestine in mice. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 737-740
- 26 Whited KL, Thao D, Lloyd KC, Kopin AS, Raybould HE. Targeted disruption of the murine CCK1 receptor gene reduces intestinal lipid-induced feedback inhibition of gastric function. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 291: G156-G162
- 27 Keller J, Mueller-Wolf JC, Ahmadi-Simab K, Fibbe C, Rosien U, Layer P. Do elevated plasma vasoactive intestinal polypeptide (VIP) levels cause small intestinal motor disturbances in humans? *Dig Dis Sci* 2005; 50: 276-82
- 28 Miyasaka K, Ohta M, Kanai S, Yoshida Y, Sato N, Nagata A, Matsui T, Noda T, Jimi A, Takiguchi S, Takata Y, Kawanami T, Funakoshi A. Enhanced gastric emptying of a liquid gastric load in mice lacking cholecystokinin-B receptor: a study of CCK-A,B, and AB receptor gene knockout mice. *J Gastroenterol* 2004; 39: 319-323
- 29 Olsson C, Holmgren S. The control of gut motility. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001; 128: 481-503
- 30 Chaudhri O, Small C, Bloom S. Gastrointestinal hormones regulating appetite. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2006; 361: 1187-1209

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中国科学技术信息研究所情报方法研究中心关于 2005年世界华人消化杂志指标检索报告

本刊讯 2005年度《世界华人消化杂志》的总被引频次为2079, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第51位, 内科医学类28种期刊的第4位. 2005年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.485, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第449位, 内科医学类28种期刊的第14位. 《世界华人消化杂志》的即年指标0.070, 他引率0.66, 地区分布数26, 基金论文比0.43, 国际论文比0.02, 学科影响指标0.46. (世界胃肠病学杂志社2007-01-18)

胃黏膜肠化生的逆转性问题

李凯, 唐志鹏, 郑丰杰, 洪原淑

■背景资料

胃黏膜肠化生作为胃癌前病变, 参与胃癌的发病过程, 已被胃肠病学界所公认, 并受到广泛关注, 随着对其研究的不断纵深, 医学界又把研究焦点逐步转移到胃黏膜肠化生是否具有逆转性这一领域。

李凯, 唐志鹏, 洪原淑, 上海中医药大学附属龙华医院 上海市 200032

郑丰杰, 北京中医药大学 北京市 100029

通讯作者: 李凯, 200032, 上海市, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科. hellolikai@163.com

电话: 021-27015860

收稿日期: 2006-09-15 接受日期: 2006-10-18

Discussion on the reversibility of gastric intestinal metaplasia

Kai Li, Zhi-Peng Tang, Feng-Jie Zheng, Yuan-Shu Hong

Kai Li, Zhi-Peng Tang, Yuan-Shu Hong, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Feng-Jie Zheng, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Correspondence to: Kai Li, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China. hellolikai@163.com

Received: 2006-09-15 Accepted: 2006-10-18

Abstract

Gastric intestinal metaplasia (IM), as precancerous lesion of the stomach, is closely associated with the development of gastric cancer. Whether gastric IM can be reversed is still in controversy. Epidemiological evidence showed that IM was reversible after long-term following up, but the reversed degree was low. Besides *H pylori* infection, deficiency of vitamin C in the gastric mucosa, shortage of gastric acid and/or bile reflux can cause this precancerous condition. The pathogenesis of gastric IM, in which *H pylori* virulence factors, intestine-specific transcription factors, and microsatellite instability are involved, is being investigated at the present time, but it can't be affirmed that IM is a kind of phenotype alteration in gastric epithelial cells induced by stem cell mutation. It is fairly difficult to make diagnosis for IM unless careful endoscopic evaluation is performed and proper biopsy sites are selected. Eradication of *H pylori* alone may not be enough to reverse IM, and its combination with other chemopreventive agents and/or Chinese medicine may be an effective strategy.

Key Words: Gastric intestinal metaplasia; Gastric precancerous lesion; Gastric cancer; Reversibility

Li K, Tang ZP, Zheng FJ, Hong YS. Discussion on the reversibility of gastric intestinal metaplasia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):140-144

摘要

胃黏膜肠化生作为胃癌前病变, 与胃癌的发病存在密切联系. 关于肠化生是否具有逆转性, 目前尚有争议. 但来自流行病学的证据显示, 经过长期随访研究, 肠化生可以逆转, 但改变程度较小. 除 *H pylori* 感染外, 维生素C缺乏、胃酸减少和/或胆汁返流等亦是其发病因素. 肠化生的发病机制尚处于探索阶段, *H pylori* 毒力因子、肠道特异性转录因子、微卫星不稳定性等均参与其发病环节, 但尚不能肯定肠化生是由干细胞突变引起的胃上皮细胞表型的改变. 肠化生在诊断上存在诸多困难, 严格的内镜评估以及正确的取检部位尤为重要. 单独根除 *H pylori* 似乎不足以逆转肠化生, 联合应用其他化学阻断剂以及中医药, 可能是一条新的治疗途径.

关键词: 胃黏膜肠化生; 胃癌前病变; 胃癌; 逆转性

李凯, 唐志鹏, 郑丰杰, 洪原淑. 胃黏膜肠化生的逆转性问题. 世界华人消化杂志 2007;15(2):140-144

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/140.asp>

0 引言

由于胃黏膜肠化生(intestinal metaplasia, IM)作为胃癌的独立危险因素, 参与慢性胃炎-腺体萎缩-肠化生-异型增生至胃癌(肠型)发生的多步骤演化过程, 与胃癌的发病密切相关. 因此, 对于胃黏膜肠化生逆转性问题的研究具有重要的现实意义. 目前, 国内外学者在此方面做了大量的研究工作, 本文力图从多角度对胃黏膜肠化生的逆转性问题作一探讨.

1 研究胃黏膜肠化生逆转性的重要性

1.1 对于胃黏膜肠化生的防治意义 组织转化, 亦

称为化生, 是指一种分化成熟的细胞类型转变为另一种分化成熟的细胞类型, 他是机体组织对环境刺激所进行的一种适应性改变. 依据胚胎学发生行为, 在特定的条件下, 这种转化是可以逆转或清除的, 因而具有潜在的可逆性^[1]. 那么, 胃黏膜肠化生是否也具有逆转性呢? 对于此问题的回答具有重要的意义. 如果肠化生可以逆转, 那么就有可能进行治疗干预; 如果肠化生不具可逆性, 则今后努力的方向只能转向预防. 然而, 在致力于解决肠化生是否具有逆转性这一问题的同时, 又引发出两个重要问题: 一是肠化生的发病机制如何? 以及干预治疗能否阻断或逆转其发病进程; 二是现有医疗水平能否对不同程度和类型的肠化生作出正确诊断和监测.

1.2 对于胃癌的防治意义

流行病学研究证实, 胃黏膜肠化生具有高致癌风险, 因此被视作胃癌前病变. 在中国进行的一项调查显示, 肠化生的发病率在胃癌高发省份要比低发省份高的多^[2]. 日本利用胃癌风险指数评估胃癌前病变与胃癌的发生关系时得出结论, 肠化生是肠型胃癌发生的唯一条件^[3]. 一项长期研究指出, *H pylori*感染、重度萎缩性胃炎、胃体为主的胃炎以及肠化生是胃癌的高发因素^[4]. 因此, 如果肠化生可以逆转, 无疑对于降低胃癌的发病率有实质性益处.

2 胃黏膜肠化生发病学的研究

2.1 *H pylori*感染和肠化生

胃黏膜可发生不同类型的组织转化, 其中以肠化生最为常见. 目前认为, *H pylori*感染是胃黏膜肠化生的最主要病因. 两项重要的研究为此提供了流行病学依据. 一项为期10 a的随访研究显示, 在35例*H pylori*感染患者中, 最终有46%的患者出现肠化生. 而与此同时, 无*H pylori*感染的对照组中, 未观察到有肠化生的发生^[4]. 另一项对2455例大规模样本研究显示, 43.1%的*H pylori*阳性患者出现肠化生, 而*H pylori*阴性患者中肠化生的发病率只有6.2%^[5]. 由于*H pylori*感染与萎缩性胃炎和肠化生(二者都被称为胃癌前病变)的发病密切相关, 因此有学者得出一种结论, 即在胃癌前病变发病率高的地区, 早期胃癌的发病风险也随之增加^[6]. 另一项旨在针对家族胃癌发病风险的研究显示, 胃癌一级亲属尤其是伴有*H pylori*感染者的肠化生发病率明显增高^[7]. 然而, 肠化生的发病最可能是由*H pylori*感染与其他致病因素的协同作用所致^[5].

2.2 其他致病因素

维生素C缺乏、胆汁反流、吸烟等也被视为肠化生的发病因素^[8]. 此外, 胃腺体萎缩、*H pylori*长期定植引起的胃酸减少, 以及具有损伤DNA作用的亚硝酸盐, 也被认为参与肠化生的发病过程. 欧洲进行的一项研究显示, 具有肠化生的患者其胃液样本中的*H pylori*数量和亚硝酸盐含量显著增高, 其胃液pH值 >6 ^[9]. 胃酸减少在肠化生的发病中亦有一定的作用. 一项利用辐射诱导肠化生的动物实验显示, 随着胃液pH值的降低, 肠化生逐渐出现逆转^[10]. 胆汁反流也是促进肠化生发生的一个重要因素. 胆汁反流合并*H pylori*感染的动物模型能够促进胃体黏膜环氧合酶2(COX-2)的表达. 而当增加胆汁反流量后发现, 胃体黏膜所表达的COX-2参与胃窦黏膜的细胞增生、萎缩和肠化生^[11]. Sung *et al*^[12]也证实, 无论胃癌前病变还是胃癌都存在COX-2的过度表达. 在成功根除*H pylori*治疗1 a后随访发现, COX-2的表达下调, 但肠化生并未得到逆转.

3 胃黏膜肠化生的发病机制研究

3.1 *H pylori*毒力因子的致病作用

近年来研究证明, *H pylori*与宿主的基因变异能够诱导肠化生的产生. 意大利一项研究证明, 肠化生的发病与*H pylori*产生的cagA、功能性oipA和IL-1RN 2等位基因有关^[13]. *H pylori*产生的VacA s1, VacA m1, CagA基因型与*H pylori*在胃黏膜的密集度、淋巴细胞与中性粒细胞浸润程度、腺体萎缩、肠化生类型以及胃上皮损害密切相关^[14]. 在*H pylori*感染的群体中, 若babA2阳性或babA2, CagA, VacA s1均阳性的感染者可进一步增加肠化生等胃癌前病变的发生率^[15]. 最近, Leung *et al*^[16]对中国山东胃癌高发区的一项研究显示, 具有IL-1 β -511 T等位基因的*H pylori*感染患者或vacA m1阳性的*H pylori*菌株携带者均与肠化生的发病率密切相关. 而宿主基因型(IL-1 β -511 T)和*H pylori*基因型(vacA m1)若同时存在, 则能进一步增加肠化生的患病风险. 可以料想, 严重的癌前病变应存在于具有促炎性细胞因子等位基因(IL-1 β -511 T/IL-1RN 2)和*H pylori*相关毒力基因型CagA/VacA s1阳性的患者中^[17].

3.2 肠道特异性转录因子与胃黏膜肠化生

同源框基因调控着胃肠道特定区域上皮细胞的更新, 其中肠道特异性转录因子CDX1和CDX2基因调控肠上皮细胞的增殖与分化. 正常状态下, CDX1/2蛋白主要表达于小肠和结肠, 而胃黏膜

■ 研发前沿

胃黏膜肠化生是否具有逆转性, 是这一胃癌前病变研究中一个亟待解决的问题, 对于此问题的回答具有重要的意义. 如果肠化生可以逆转, 那么就有可能进行治疗干预; 如果肠化生不具可逆性, 则今后努力的方向只能转向预防.

■应用要点

胃黏膜肠化生是否具有逆转性,目前尚存争议,但流行病学证据显示,经过长期随访研究(根除*H pylori*感染治疗后至少5 a)肠化生可以逆转,但改变程度较小,单独根除*H pylori*感染似乎不足以逆转肠化生,联合应用其他化学阻断剂以及中医药,可能是其条新的治疗途径。

组织中无表达. 已证明, CDX1和CDX2基因在胃黏膜肠化生发生中也起着重要的作用^[18-19]. 在肠化生发展进程中, CDX2的表达先于CDX1、蔗糖酶-异麦芽糖酶、其他肠道特异性基因以及黏液蛋白2(MUC2)的表达. 这一发现提示, CDX2或许是胃黏膜肠化生发生的始动因素^[20]. 最近Liu *et al*^[21]又对CDX2在不同亚型胃黏膜肠化生的表达进行研究. 结果显示, CDX2蛋白在III型肠化生的表达显著低于I型肠化生. 此外, 作为又一肠道特异性分子的LI-钙黏蛋白, 正常情况下, 亦只表达于小肠和结肠中. 近来发现, 结肠直肠癌中LI-钙黏蛋白基因(CDH17)的表达受CDX2的调控. 另有研究证实, 胃黏膜肠化生组织中同时存在CDX2与LI-钙黏蛋白的高表达. 据此推测, 肠化生组织中CDH17的表达上调亦与CDX2密切相关^[22]. 什么原因促使CDX1/2基因在胃黏膜组织中表达的呢? 细胞间质的改变可能是问题的关键^[23]. *H pylori*感染所致的炎症反应也发生于间质, 因此清除炎症刺激是否能使CDX1/2在胃黏膜中的表达消失呢? 近来日本的一项研究证实, CDX2主要表达于慢性胃炎特别是伴有肠化生的胃黏膜中^[24]. 然而, 在根除*H pylori*治疗后, 肠化生或胃上皮细胞中的CDX2的表达并未消失. 由于此项研究只是在根除*H pylori*治疗1 a后进行的, 或由于随访时间过短, 肠化生尚未发生逆转. 而正需要强调的是, 肠化生的逆转是一个缓慢的过程. 尽管根除*H pylori*治疗后, 中性粒细胞浸润很快消失, 但慢性胃炎和淋巴样聚集物至少要存在1 a以上^[25]. 因此, 评价肠化生的逆转与慢性炎症反应的关系需要做长期的随访研究.

3.3 微卫星不稳定性与胃黏膜肠化生 近年来研究发现, 由DNA错配修复基因缺陷引起的微卫星不稳定性(MSI)参与胃黏膜肠化生的发病^[26]. 微卫星(MS)这一概念, 指散布存在于人类基因组中的小于10个核苷酸的简单重复序列. MS在错配修复系统(MMR)的保障下发挥着重要的基因调控作用. MSI则是由于MMR突变或功能异常, 造成DNA频发复制错误, 细胞的微卫星DNA序列发生改变, 从而导致表达异常^[27]. MSI存在于多种消化道肿瘤中. 然而, 最近在肠化生细胞的DNA中亦检测出MSI的存在, 肠化生区域的MSI进行性积聚可能导致胃癌的发生^[26]. 研究证实, MSI是由于启动子区域的CpG岛超甲基化引起hMLH1错配修复基因的表遗传终止所致. 这一发现被认为是散发性胃癌中错配修复缺陷的

主要原因^[28].

此外, 细胞周期蛋白以及细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子对于细胞周期性转化起着关键性作用. 细胞周期蛋白D2表达上调和P27表达下调与*H pylori*相关性肠化生发病密切相关. 根除*H pylori*感染可以逆转二者在肠化生中的异常表达^[29]. 这为肠化生的干预治疗提供了一个新的前景.

4 胃黏膜肠化生的干预研究

4.1 根除*H pylori*感染能否逆转肠化生 关于根除*H pylori*是否能够逆转肠化生的问题, 受到胃肠病学界广泛的关注, 但直到目前并未达成一致的意见. 尽管多数随访研究对肠化生的逆转未有明确的结论, 但一项为期1 a的随机随访研究报告, 根除*H pylori*感染有利于防止胃黏膜萎缩与肠化生的病程进展^[30]. 而在此之后, 所进行的为期5 a的后继随访研究结果进一步证实了这一发现^[31-32]. 另一项前瞻性研究显示, 尽管经过1-3 a的跟踪随访, 胃窦萎缩明显得到改善, 但在4 a的随访期间, 胃窦处的肠化生未有显著的改变^[33]. 然而, 最近来自日本的研究报道指出, 根除*H pylori*后肠化生更多显现的是逆转而非进展^[14]. 出现上述矛盾性报道结论的主要原因在于缺乏长期的跟踪调查. 而若想回答肠化生是否具有逆转性, 其关键在于进行长期随访研究^[31].

4.2 逆转肠化生的其他策略 Zullo *et al*^[34]用维生素C治疗肠化生患者, 经组织学证实其肠化生有轻度改善. 而在胃癌高发国家哥伦比亚所进行的一项随机干预实验得到了更加真实的结果. 该实验对852名具有萎缩和/或肠化生的患者采用根除*H pylori*治疗和饮食补充维生素C或β胡萝卜素, 分别在治疗后36和72 mo随访, 进行内镜活检以观察疗效. 结果显示, 这些癌前病变的逆转率具有显著统计学意义. 但令人迷惑是, 单独应用抗*H pylori*治疗有效, 但与维生素C或β胡萝卜素联合用药疗效却未增加^[35]. Blot^[36]指出, 尽管该研究令人鼓舞, 但由于缺乏连贯性, 因此应当慎重评估其结果. 近年来, COX-2抑制剂被认为是通过化学干预治疗胃黏膜肠化生和胃癌的新途径^[37-38]. 但最近Leung *et al*^[39]采用罗非考昔(一种COX-2抑制剂)治疗胃黏膜肠化生患者2 a. 研究显示, 罗非考昔未能使肠化生得到明显逆转. 该作者指出, 尽管该研究结果对COX-2抑制剂能否逆转肠化生提出质疑, 但又提示今后的研究应着眼于COX-2抑制剂在胃癌发病过程的

不同阶段所发挥的不同的干预作用. 中医药在治疗慢性胃炎方面有独特的优势. 但目前, 国内对中医逆转与治疗胃黏膜肠化生的临床研究及疗效评定尚未规模开展, 这也为探索胃黏膜肠化生的临床治疗提供了新的空间.

5 研究中存在的问题

胃黏膜肠化生的诊断依赖于内镜活检. 如果病变范围较大, 且内镜观察者富有经验, 则肠化生较易检测出来. 来自台北的一项研究显示, 肠化生内镜诊断的准确性为71.3%^[40]. 实际上, 样本误差问题是现今困扰肠化生正确诊断的关键所在. 不过随着内镜技术的发展, 这一难题有望解决. 关于肠化生的活检取样, 目前国际上普遍采用悉尼胃炎分级系统所提供的方案. 该系统为胃黏膜最佳活检取样提供指导方针, 采用直观模拟评分法从组织学角度进行分级, 从而构建标准化诊断模式^[41]. 但是, 来自休斯顿一大规模研究显示, 采用多部位活检取样确诊为肠化生的患者, 若按照悉尼采样标准, 则至少有一半以上的肠化生患者将被漏诊. 该调查得出结论, 目前和未来采用悉尼标准检测肠化生缺乏可靠性^[42].

总之, 胃黏膜肠化生是否具有逆转性, 目前尚存在争议. 但来自流行病学的证据显示, 经过长期随访研究(根除*H pylori*感染治疗后至少5 a)肠化生可以逆转, 但改变程度较小. *H pylori*感染被公认为肠化生的最主要病因. 此外, 维生素C缺乏、胃酸减少和/或胆汁返流等亦是肠化生的发病因素, 但目前对此方面的研究报道较少, 这可能成为未来肠化生研究的又一新领域. 肠化生的发病机制尚处于探索阶段, *H pylori*毒力因子、肠道特异性转录因子、微卫星不稳定性等均参与其发病环节, 但尚不能肯定肠化生是由于干细胞突变引起的胃上皮细胞表型的改变. 由于肠化生在诊断上存在诸多困难, 因此, 严格的内镜评估以及正确的取检部位显得尤为重要. 单独根除*H pylori*感染似乎不足以逆转肠化生, 联合应用其他化学阻断剂以及中医药, 可能是其新的治疗途径.

6 参考文献

- 1 Tosh D, Slack JM. How cells change their phenotype. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 187-194
- 2 You WC, Zhang L, Gail MH, Li JY, Chang YS, Blot WJ, Zhao CL, Liu WD, Li HQ, Ma JL, Hu YR, Bravo JC, Correa P, Xu GW, Fraumeni JF Jr. Precancerous lesions in two counties of China with contrasting

- 3 Shimoyama T, Fukuda S, Tanaka M, Nakaji S, Munakata A. Evaluation of the applicability of the gastric carcinoma risk index for intestinal type cancer in Japanese patients infected with *Helicobacter pylori*. *Virchows Arch* 2000; 436: 585-587
- 4 Sakaki N, Kozawa H, Egawa N, Tu Y, Sanaka M. Ten-year prospective follow-up study on the relationship between *Helicobacter pylori* infection and progression of atrophic gastritis, particularly assessed by endoscopic findings. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16 Suppl 2: 198-203
- 5 Walker MM. Is intestinal metaplasia of the stomach reversible? *Gut* 2003; 52: 1-4
- 6 Asaka M, Sugiyama T, Nobuta A, Kato M, Takeda H, Graham DY. Atrophic gastritis and intestinal metaplasia in Japan: results of a large multicenter study. *Helicobacter* 2001; 6: 294-299
- 7 Jablonska M, Chlumska A. Genetic factors in the development of gastric precancerous lesions—a role of *Helicobacter pylori*? *J Physiol Paris* 2001; 95: 477-481
- 8 You WC, Zhang L, Gail MH, Chang YS, Liu WD, Ma JL, Li JY, Jin ML, Hu YR, Yang CS, Blaser MJ, Correa P, Blot WJ, Fraumeni JF Jr, Xu GW. Gastric dysplasia and gastric cancer: *Helicobacter pylori*, serum vitamin C, and other risk factors. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1607-1612
- 9 ECP-EURONUT-Intestinal Metaplasia Study: urinary and gastric juice analyses. *Eur J Cancer Prev* 1994; 3: 413-418
- 10 Watanabe H, Okamoto T, Fudaba Y, Ogundigie PO, Ito A. Influence of gastric pH modifiers on development of intestinal metaplasia induced by X-irradiation in rats. *Jpn J Cancer Res* 1993; 84: 1037-1042
- 11 Loogna P, Franzen L, Sipponen P, Domellof L. Cyclooxygenase-2 and Bcl-2 expression in the stomach mucosa of Wistar rats exposed to *Helicobacter pylori*, N¹-methyl- N¹-nitro- N-nitrosoguanidine and bile. *Virchows Arch* 2002; 441: 77-84
- 12 Sung JJ, Leung WK, Go MY, To KF, Cheng AS, Ng EK, Chan FK. Cyclooxygenase-2 expression in *Helicobacter pylori*-associated premalignant and malignant gastric lesions. *Am J Pathol* 2000; 157: 729-735
- 13 Zambon CF, Basso D, Navaglia F, Germano G, Gallo N, Milazzo M, Greco E, Fogar P, Mazza S, Di Mario F, Basso G, Rugge M, Plebani M. *Helicobacter pylori* virulence genes and host IL-1RN and IL-1beta genes interplay in favouring the development of peptic ulcer and intestinal metaplasia. *Cytokine* 2002; 18: 242-251
- 14 Satoh K. Does eradication of *Helicobacter pylori* reverse atrophic gastritis or intestinal metaplasia? Data from Japan. *Gastroenterol Clin North Am* 2000; 29: 829-835
- 15 Yu J, Leung WK, Go MY, Chan MC, To KF, Ng EK, Chan FK, Ling TK, Chung SC, Sung JJ. Relationship between *Helicobacter pylori* babA2 status with gastric epithelial cell turnover and premalignant gastric lesions. *Gut* 2002; 51: 480-484
- 16 Leung WK, Chan MC, To KF, Man EP, Ng EK, Chu ES, Lau JY, Lin SR, Sung JJ. *H. pylori* genotypes and cytokine gene polymorphisms influence the development of gastric intestinal metaplasia in a Chinese population. *Am J Gastroenterol* 2006; 101:

■名词解释

胃黏膜肠上皮化生(IM): 简称肠化生, 系指胃黏膜出现肠上皮细胞、潘氏细胞和杯状细胞, 具有吸收黏膜以及纹状缘、刷状缘等肠黏膜的特征性改变.

■同行评价

文章科学性高, 先进性好, 问题探讨较深入, 具有一定的指导意义。

- 714-720
- 17 Rad R, Prinz C, Neu B, Neuhofer M, Zeitner M, Volland P, Becker I, Schepp W, Gerhard M. Synergistic effect of *Helicobacter pylori* virulence factors and interleukin-1 polymorphisms for the development of severe histological changes in the gastric mucosa. *J Infect Dis* 2003; 188: 272-281
- 18 Chiba T, Seno H. Key molecules in metaplastic gastritis: sequential analysis of CDX1/2 homeobox gene expression. *J Gastroenterol* 2002; 37: 147-148
- 19 Mutoh H, Sakurai S, Satoh K, Osawa H, Hakamata Y, Takeuchi T, Sugano K. Cdx1 induced intestinal metaplasia in the transgenic mouse stomach: comparative study with Cdx2 transgenic mice. *Gut* 2004; 53: 1416-1423
- 20 Eda A, Osawa H, Yanaka I, Satoh K, Mutoh H, Kihira K, Sugano K. Expression of homeobox gene CDX2 precedes that of CDX1 during the progression of intestinal metaplasia. *J Gastroenterol* 2002; 37: 94-100
- 21 Liu GS, Gong J, Cheng P, Zhang J, Chang Y, Qiang L. Expression of intestine-specific transcription factor CDX2 in different subtypes of intestinal metaplasia and gastric carcinoma. *Ai Zheng* 2006; 25: 185-189
- 22 Ko S, Chu KM, Luk JM, Wong BW, Yuen ST, Leung SY, Wong J. CDX2 co-localizes with liver-intestine cadherin in intestinal metaplasia and adenocarcinoma of the stomach. *J Pathol* 2005; 205: 615-622
- 23 Subramanian V, Meyer BI, Gruss P. Disruption of the murine homeobox gene Cdx1 affects axial skeletal identities by altering the mesodermal expression domains of Hox genes. *Cell* 1995; 83: 641-653
- 24 Satoh K, Mutoh H, Eda A, Yanaka I, Osawa H, Honda S, Kawata H, Kihira K, Sugano K. Aberrant expression of CDX2 in the gastric mucosa with and without intestinal metaplasia: effect of eradication of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter* 2002; 7: 192-198
- 25 Genta RM, Lew GM, Graham DY. Changes in the gastric mucosa following eradication of *Helicobacter pylori*. *Mod Pathol* 1993; 6: 281-289
- 26 Leung WK, Kim JJ, Kim JG, Graham DY, Sepulveda AR. Microsatellite instability in gastric intestinal metaplasia in patients with and without gastric cancer. *Am J Pathol* 2000; 156: 537-543
- 27 Frayling IM. Microsatellite instability. *Gut* 1999; 45: 1-4
- 28 Leung SY, Yuen ST, Chung LP, Chu KM, Chan AS, Ho JC. hMLH1 promoter methylation and lack of hMLH1 expression in sporadic gastric carcinomas with high-frequency microsatellite instability. *Cancer Res* 1999; 59: 159-164
- 29 Yu J, Leung WK, Ng EK, To KF, Ebert MP, Go MY, Chan WY, Chan FK, Chung SC, Malfertheiner P, Sung JJ. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on expression of cyclin D2 and p27 in gastric intestinal metaplasia. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 1505-1511
- 30 Sung JJ, Lin SR, Ching JY, Zhou LY, To KF, Wang RT, Leung WK, Ng EK, Lau JY, Lee YT, Yeung CK, Chao W, Chung SC. Atrophy and intestinal metaplasia one year after cure of *H. pylori* infection: a prospective, randomized study. *Gastroenterology* 2000; 119: 7-14
- 31 Leung WK, Sung JJ. Review article: intestinal metaplasia and gastric carcinogenesis. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1209-1216
- 32 Leung WK, Lin SR, Ching JY, To KF, Ng EK, Chan FK, Lau JY, Sung JJ. Factors predicting progression of gastric intestinal metaplasia: results of a randomised trial on *Helicobacter pylori* eradication. *Gut* 2004; 53: 1244-1249
- 33 Tepes B, Kavcic B, Zaletel LK, Gubina M, Ihan A, Poljak M, Krizman I. Two- to four-year histological follow-up of gastric mucosa after *Helicobacter pylori* eradication. *J Pathol* 1999; 188: 24-29
- 34 Zullo A, Rinaldi V, Hassan C, Diana F, Winn S, Castagna G, Attili AF. Ascorbic acid and intestinal metaplasia in the stomach: a prospective, randomized study. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1303-1309
- 35 Correa P, Fontham ET, Bravo JC, Bravo LE, Ruiz B, Zarama G, Realpe JL, Malcom GT, Li D, Johnson WD, Mera R. Chemoprevention of gastric dysplasia: randomized trial of antioxidant supplements and anti-*helicobacter pylori* therapy. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1881-1888
- 36 Blot WJ. Preventing cancer by disrupting progression of precancerous lesions. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 1868-1869
- 37 Dannenberg AJ, Subbaramaiah K. Targeting cyclooxygenase-2 in human neoplasia: rationale and promise. *Cancer Cell* 2003; 4: 431-436
- 38 Hu PJ, Yu J, Zeng ZR, Leung WK, Lin HL, Tang BD, Bai AH, Sung JJ. Chemoprevention of gastric cancer by celecoxib in rats. *Gut* 2004; 53: 195-200
- 39 Leung WK, Ng EK, Chan FK, Chan WY, Chan KF, Auyeung AC, Lam CC, Lau JY, Sung JJ. Effects of long-term rofecoxib on gastric intestinal metaplasia: results of a randomized controlled trial. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 4766-4772
- 40 Lin BR, Shun CT, Wang TH, Lin JT. Endoscopic diagnosis of intestinal metaplasia of stomach: accuracy judged by histology. *Hepatogastroenterology* 1999; 46: 162-166
- 41 Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. *Am J Surg Pathol* 1996; 20: 1161-1181
- 42 El-Zimaity HM, Graham DY. Evaluation of gastric mucosal biopsy site and number for identification of *Helicobacter pylori* or intestinal metaplasia: role of the Sydney System. *Hum Pathol* 1999; 30: 72-77

电编 张敏 编辑 王晓瑜

人肝癌细胞系HepG2在遗传毒物检测中的应用及其进展

姚晓峰, 仲来福

姚晓峰, 仲来福, 大连医科大学毒理学研究室 辽宁省大连市 116027
通讯作者: 仲来福, 116027, 辽宁省大连市沙河口区中山路465号, 大连医科大学毒理学研究室. zhong@dlmedu.edu.cn
电话: 0411-84720583 传真: 0411-84720661
收稿日期: 2006-10-25 接受日期: 2006-11-02

Application of human hepatoma cell line HepG2 and its progress in the detection of genotoxicants

Xiao-Feng Yao, Lai-Fu Zhong

Xiao-Feng Yao, Lai-Fu Zhong, Department of Toxicology, Dalian Medical University, Dalian 116027, Liaoning Province, China

Correspondence to: Lai-Fu Zhong, Department of Toxicology, Dalian Medical University, 465 Zhongshan Road, Shahekou District, Dalian 116027, Liaoning Province, China. zhong@dlmedu.edu.cn

Received: 2006-10-25 Accepted: 2006-11-02

Abstract

Genotoxicity test is widely used in the detection of various carcinogens and mutagens. HepG2 is derived from human hepatoblastoma, and it retains the activities of drug-metabolizing enzymes. It has been demonstrated that various carcinogens can be detected in genotoxicity test with HepG2 cells at several endpoints, whereas negative results have been obtained with non-carcinogens.

Key Words: Human hepatoma cell line; HepG2 cell line; Genotoxicant; *In vitro* genotoxicity test

Yao XF, Zhong LF. Application of human hepatoma cell line HepG2 and its progress in the detection of genotoxicants. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):145-150

摘要

外来化合物的体外遗传毒性实验常用于各种致癌物和致突变物的快速筛选。HepG2是一种分化好的人肝胚细胞瘤细胞系,保留了较完整的代谢酶及其活性。以HepG2细胞作为实验系统检测各种致癌及非致癌物,在多个观察终点

均获得相应的阳性及阴性结果。

关键词: 人肝癌细胞系; HepG2细胞系; 遗传毒物; 体外遗传毒性实验

姚晓峰, 仲来福. 人肝癌细胞系HepG2在遗传毒物检测中的应用及其进展. 世界华人消化杂志 2007;15(2):145-150
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/145.asp>

0 引言

一直以来,遗传毒物的检测普遍受到人们的重视。对于体外遗传毒性实验来说,细胞的代谢系统将在很大程度上影响实验的结果。而人肝癌细胞系HepG2保留了较完整的生物转化代谢 I 相酶和 II 相酶^[1],这意味着该细胞系既可作为外来化合物攻击遗传物质的靶细胞,同时又是外来化合物的活化系统,不需依赖传统外源性活化系统的加入。自从1979年,Aden *et al*^[2]从一个阿根廷男孩的原发性肝胚细胞瘤中分离出 HepG2细胞,科研人员多年来对其在遗传毒理学实验中的应用进行了深入的探索和广泛的研究。

1 HepG2细胞内的生物转化代谢酶

HepG2细胞来源于人类肝胚细胞瘤^[2],其所含的生物转化代谢酶与人正常肝实质细胞具有同源性。虽然HepG2是一种肿瘤细胞,但是他的分化程度较高^[3-4],并且保留了较完整的生物转化代谢酶,因此,用这种细胞做遗传毒性实验,不需加入外源性活化系统^[5-8]。人类原代肝实质细胞经分离后,只能经历有限的几次分裂,其内在的代谢酶很快失去活性^[9],而HepG2细胞作为分化好的细胞系,其内在的药物代谢酶活性稳定,不会随着传代次数的增多而降低^[10-12]。以上3点使得HepG2细胞较其他的外来化合物遗传毒性检测系统更具优势。

HepG2内保留了多种细胞色素P450 (cytochrome P450, CYP)同工酶,不同的同工酶负责激活不同的前致突变物,所以HepG2细胞可广泛的应用于各种可疑致突变物的快速筛选^[13-14]。其中CYP 1A针对多环芳烃(polycyclic

■背景资料

自从1979年,Aden *et al*从一个阿根廷男孩的原发性肝胚细胞瘤中分离出HepG2细胞,科研人员多年来对其在遗传毒理学实验中的应用进行了深入的探索和广泛的研究,近年来,又获得了可喜的进展,出现了更多的遗传毒性实验观察终点。

■ 研发前沿

对于体外遗传毒性实验来说,细胞的代谢系统将在很大程度上影响实验的结果,而人肝癌细胞系HepG2保留了较完整的生物转化代谢I相酶和II相酶,这意味着该细胞系既可作为外来化合物攻击遗传物质的靶细胞,同时又是外来化合物的活化系统,不需依赖传统外源性活化系统的加入。

aromatic hydrocarbons, PAH)类及芳香胺类^[15-16], CYP 3A对硝基芘及黄曲霉素类具有特异性^[17]. CYP 2B可以激活很多种结构互不相关的化合物^[18]. 环氧化物水解酶是一种II相代谢酶,可以水解多环芳烃环氧化物为二氢二醇,接着被CYP 1A进一步活化为最终的致突变物——二氢二醇环氧化物^[19-22]. 除了CYP同工酶, HepG2细胞内还保留了其他氧化还原酶,参与电子传递,活性氧的生成和清除^[23].

需要特别指出的是, HepG2细胞内CYP 1A2和CYP 2E1的含量很少或检测不到^[24]. CYP 1A2对于活化芳香胺起着重要的作用,但是即使没有这种酶,芳香胺依然对HepG2细胞表现出明显的遗传毒性,这可能是因为HepG2细胞内CYP 1A1含量丰富,芳香胺依然可以被CYP 1A1活化^[25-29]. CYP 2E1在活化亚硝胺的过程中起着至关重要的作用^[30],大多数亚硝胺类物质对HepG2细胞仅表现出轻微或不具有遗传毒性,可能和HepG2细胞内这种酶的缺失有关^[31-32].

2 HepG2细胞在体外遗传毒性实验中的应用

2.1 遗传毒性实验的观察终点 HepG2细胞系成功分离后不久, Diamond *et al*^[33]报道,已知致癌物苯并(a)芘[B(a)P]在实验终点为抗6-硫化鸟嘌呤(6-TG⁺)时获得了阳性结果. 从此以后,人们不断探索更多的实验观察终点. 现在比较常用的方法是微核(micronucleus, MN)实验^[34]和单细胞凝胶电泳(single cell gel electrophoresis, SCGE)实验^[35]. 人们注意到, MN实验结果阳性的化合物, SCGE实验结果往往也是阳性,这一现象不仅对于HepG2细胞,其他细胞株也是这样^[13,36]. 但是橘霉素是个特例,它能够引起HepG2细胞微核率显著增加,但是SCGE实验结果阴性, Knasmüller *et al*^[37]利用一种着丝点特异性荧光原位杂交(fluorescence in situ hybridization, FISH)探针,发现这种真菌毒素可以诱发非整倍体,没法通过SCGE实验检测到. 此外在HepG2细胞内还可观察到的遗传毒性实验终点有姐妹染色单体交换(sister-chromatid exchange, SCE)^[38], 程序外DNA合成(unscheduled DNA synthesis, UDS)^[39-40]等. 因为染色体很小,对HepG2细胞分裂中期的分析十分费时^[34]. Kohda *et al*^[41]利用ICRF-193—一种II型拓扑异构酶抑制剂,延长分裂中期染色体长度. 在不久的将来,这项技术可以缩短HepG2细胞染色体畸变分析(chromosome aberration analysis, CA)的时间.

另一项检测HepG2细胞内遗传性损伤的新技术是荧光分析DNA解旋(fluorometric analysis of DNA unwinding, FADU)实验,可以用于检测DNA双链断裂^[42]. Smith *et al*^[43]把四环素阻遏蛋白及融合有绿色荧光蛋白的操纵序列转染给HepG2细胞,当外源性化合物引起四环素阻遏蛋白基因突变时,可以检测到荧光. 这个新方法比MN实验更敏感,特别适用于当受试物浓度较高,细胞生长已经停滞时.

2.2 外源性化合物对HepG2细胞遗传毒性实验结果 迄今采用不同的实验终点已检测了数十种外源性化合物的遗传毒性,主要结果如下: (1)真菌毒素类. 黄曲霉素B₁在实验终点为UDS, MN和SCGE时,获得阳性结果^[24,39,44]. 已知啮齿动物致癌物赭曲霉毒素A(ochratoxin A, OTA)和伏马菌素B₁(fumonisin B₁, FB₁)可能对人致癌(IARC, 1993)^[45-46],在其他体外遗传毒性实验中结果为阴性,在HepG2细胞,实验终点为SCGE时,结果呈阳性^[47-48]; (2)PAH类. 已知致癌物B(a)P在实验终点为MN, SCE和SCGE时,均获阳性结果^[24,34,49]. 已知啮齿动物强致癌物二甲基苯并蒽,在实验终点为MN时,结果呈阳性,已知非致癌物芘在实验终点为SCE和MN时,结果呈阴性^[34]; (3)亚硝胺类. 如前所述,可能由于CYP 2E1酶的缺失, HepG2细胞对大多数亚硝胺类物质不敏感. 已知致癌物1-亚硝胺在UDS和6-TG⁺实验中获得阴性结果^[31-32]. 已知啮齿动物致癌物吡咯烷亚硝胺,在MN实验中也获得阴性结果^[24]; (4)芳香胺和杂环芳香胺类. 已知致癌物联苯胺, SCE实验结果呈阳性^[50]. 非致癌物4-乙酰氨基芘, MN实验结果呈阴性^[51]. 已知啮齿动物致癌物2-氨基-3-甲基-咪唑并(4, 5-f)喹啉(IQ), MN实验结果呈阳性^[52]; (5)某些具有生物活性的天然植物成分.

近年来很多营养学家和毒理学工作者也利用HepG2细胞研究一些天然植物成分的抗突变效应,但却发现某些植物成分在稍高一些剂量下表现出遗传毒性^[53-58]. 十字花科蔬菜中硫甙的水解产物——异硫氰酸酯,在实验终点为SCGE和MN时,结果为阳性^[59-61]. 一种黄酮化合物白杨素, MN实验结果呈阳性^[62]. 从以上结果可以看出,并不是所有的植物成分都具有防护效应(例如上述物质),如果摄入较多,就可能对人体造成健康危害.

以上实验结果表明,除了亚硝胺类, HepG2细胞对其他外来化合物的遗传毒性的检测还是比较灵敏的.

2.3 影响HepG2细胞遗传毒性实验结果的因素随着各种外来化合物在HepG2细胞内遗传毒性实验资料的不断积累, 研究发现, 同一种化合物在不同的实验中表现出遗传毒性的剂量范围不尽相同, 甚至出入较大^[13]. 这表明实验结果可能被某些因素所影响. Majer *et al*^[24]利用3种不同来源的HepG2细胞克隆, 在同样的实验条件下, 研究B(a)P诱导MN的情况. 结果发现, 不同克隆对B(a)P的敏感性存在明显差异, 其中的一个克隆甚至比另一个敏感4倍多. 这一研究结果表明, 选择不同的HepG2细胞克隆, 可能对实验结果产生影响. 培养基的成分也可能对实验结果产生影响. 如前所述, HepG2细胞内的生物转化代谢酶在活化外来化合物的过程中至关重要. Doostdar *et al*^[63]和Feng *et al*^[64]都报道, 培养基的配方和成分不同, 对HepG2细胞内 I 相酶的活性影响很大.

基于以上因素对实验结果的影响, 当HepG2细胞用于遗传毒性实验, 细胞克隆的来源及细胞的培养条件等还需进一步标准化.

3 某些转基因的HepG2细胞在遗传毒性实验中的应用

为了研究病毒性肝炎的发病机制及药物的疗效, 人们常把特定的基因转入HepG2细胞^[65-67], 或者为了获得更敏感的遗传毒性实验终点, 弥补HepG2细胞某些生物转化代谢酶的缺陷, 有人也采用了这项技术.

HepG2细胞内缺少CYP 2E1, 使得其对亚硝胺类化合物的敏感性较低, 现在能够持续表达CYP 2E1的转染基因已经成功构建. Kessova *et al*^[68]创建了一种具有CYP 2E1酶活性的HepG2细胞系, 这样就可以检测出亚硝胺类化合物的遗传毒性. 除此以外, Hu *et al*^[69]指出, 转染谷胱甘肽S-转移酶Pi(GSTP)等位基因变异体的HepG2细胞, 对二氢二醇环氧苯并芘(BPDE)加合物具有防护作用. Tashiro *et al*^[70]也指出, 将GSTP转染入HepG2细胞, 可以减轻阿霉素的毒性.

总之, HepG2细胞保存了较为完整的生物转化代谢酶. 除了亚硝胺类物质, 业已采用HepG2细胞检测了多种已知的致突变物和非致突变物, 均获得相应的阳性或阴性结果. 而通过转基因技术, 可以使HepG2细胞持续表达CYP 2E1, 从而提高对亚硝胺类物质的敏感性. 研究发现, 并不是所有的天然植物成分都具有防护效应, 某

些植物成分在稍高一些剂量下对HepG2细胞表现出遗传毒性. 近些年来, 随着更多的遗传毒性实验终点的出现, HepG2细胞被广泛的应用于各种外来化合物遗传毒性的快速筛选, 成为体外遗传毒性实验的理想细胞系.

HepG2细胞的来源及培养基组分等因素可能影响遗传毒性实验结果, 细胞克隆的选择及培养条件等有待进一步标准化.

4 参考文献

- 1 Doostdar H, Grant MH, Melvin WT, Wolf CR, Burke MD. The effects of inducing agents on cytochrome P450 and UDP-glucuronyltransferase activities in human HEPG2 hepatoma cells. *Biochem Pharmacol* 1993; 46: 629-635
- 2 Aden DP, Fogel A, Plotkin S, Damjanov I, Knowles BB. Controlled synthesis of HBsAg in a differentiated human liver carcinoma-derived cell line. *Nature* 1979; 282: 615-616
- 3 Dearfield KL, Jacobson-Kram D, Brown NA, Williams JR. Evaluation of a human hepatoma cell line as a target cell in genetic toxicology. *Mutat Res* 1983; 108: 437-449
- 4 Roscher E, Wiebel FJ. Genotoxicity of 1,3- and 1,6-dinitropyrene: induction of micronuclei in a panel of mammalian test cell lines. *Mutat Res* 1992; 278: 11-17
- 5 Barbini L, Lopez P, Ruffa J, Martino V, Ferraro G, Campos R, Cavallaro L. Induction of apoptosis on human hepatocarcinoma cell lines by an alkyl resorcinol isolated from *Lithraea molleoides*. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5959-5963
- 6 Belloir C, Singh V, Daurat C, Siess MH, Le Bon AM. Protective effects of garlic sulfur compounds against DNA damage induced by direct- and indirect-acting genotoxic agents in HepG2 cells. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 827-834
- 7 Robichova S, Slamenova D, Chalupa I, Sebova L. DNA lesions and cytogenetic changes induced by N-nitrosomorpholine in HepG2, V79 and VH10 cells: the protective effects of Vitamins A, C and E. *Mutat Res* 2004; 560: 91-99
- 8 Onuki J, Chen Y, Teixeira PC, Schumacher RI, Medeiros MH, Van Houten B, Di Mascio P. Mitochondrial and nuclear DNA damage induced by 5-aminolevulinic acid. *Arch Biochem Biophys* 2004; 432: 178-187
- 9 Strom SC, Jirtle RL, Jones RS, Novicki DL, Rosenberg MR, Novotny A, Irons G, McLain JR, Michalopoulos G. Isolation, culture, and transplantation of human hepatocytes. *J Natl Cancer Inst* 1982; 68: 771-778
- 10 Roe AL, Snawder JE, Benson RW, Roberts DW, Casciano DA. HepG2 cells: an *in vitro* model for P450-dependent metabolism of acetaminophen. *Biochem Biophys Res Commun* 1993; 190: 15-19
- 11 宋旭霞, 闫志勇, 王斌, 牟文凤, 钱冬萌, 丁守怡, 姚宗良. 体外培养的肝癌细胞株与正常肝细胞株蛋白质的差异表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2689-2692
- 12 Wu XJ, Lu WQ, Mersch-Sundermann V. Benzo(a)pyrene induced micronucleus formation was modulated by persistent organic pollutants

■应用要点

近些年来, 随着更多的遗传毒性实验终点的出现, HepG2细胞被广泛的应用于各种外来化合物遗传毒性的快速筛选, 成为体外遗传毒性实验的理想细胞系.

■名词解释

1 单细胞凝胶电泳实验: 又称彗星实验, 用来检测外来化合物对细胞DNA的损伤情况。
2 微核: 是细胞染色体受损后, 在有丝分裂期不能结合进子代核, 而在胞质中形成的小核, 所以微核实验是检测外来化合物遗传毒性的重要方法。

- (POPs) in metabolically competent human HepG2 cells. *Toxicol Lett* 2003; 144: 143-150
- 13 Knasmuller S, Mersch-Sundermann V, Kevekordes S, Darroudi F, Huber WW, Hoelzl C, Bichler J, Majer BJ. Use of human-derived liver cell lines for the detection of environmental and dietary genotoxicants; current state of knowledge. *Toxicology* 2004; 198: 315-328
- 14 Peter Guengerich F, Chun YJ, Kim D, Gillam EM, Shimada T. Cytochrome P450 1B1: a target for inhibition in anticarcinogenesis strategies. *Mutat Res* 2003; 523-524: 173-182
- 15 Park SY, Lee SM, Ye SK, Yoon SH, Chung MH, Choi J. Benzo[a]pyrene-induced DNA damage and p53 modulation in human hepatoma HepG2 cells for the identification of potential biomarkers for PAH monitoring and risk assessment. *Toxicol Lett* 2006; 167: 27-33
- 16 Severin I, Jondeau A, Dahbi L, Chagnon MC. 2,4-Diaminotoluene (2,4-DAT)-induced DNA damage, DNA repair and micronucleus formation in the human hepatoma cell line HepG2. *Toxicology* 2005; 213: 138-146
- 17 Knasmuller S, Parzefall W, Sanyal R, Ecker S, Schwab C, Uhl M, Mersch-Sundermann V, Williamson G, Hietsch G, Langer T, Darroudi F, Natarajan AT. Use of metabolically competent human hepatoma cells for the detection of mutagens and antimutagens. *Mutat Res* 1998; 402: 185-202
- 18 Grant MH, Duthie SJ, Gray AG, Burke MD. Mixed function oxidase and UDP-glucuronyltransferase activities in the human Hep G2 hepatoma cell line. *Biochem Pharmacol* 1988; 37: 4111-4116
- 19 杨震, 秦成勇, 朱菊人, 任万华, 王旻. 环氧合酶-2对人肝癌细胞增殖和凋亡的调节作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1382-1387
- 20 Liu NB, Peng T, Pan C, Yao YY, Shen B, Leng J. Overexpression of cyclooxygenase-2 in human HepG2, Bel-7402 and SMMC-7721 hepatoma cell lines and mechanism of cyclooxygenase-2 selective inhibitor celecoxib-induced cell growth inhibition and apoptosis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6281-6287
- 21 Huang DS, Shen KZ, Wei JF, Liang TB, Zheng SS, Xie HY. Specific COX-2 inhibitor NS398 induces apoptosis in human liver cancer cell line HepG2 through BCL-2. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 204-207
- 22 Lodovici M, Luceri C, Guglielmi F, Bacci C, Akpan V, Fonnesu ML, Boddi V, Dolara P. Benzo(a)pyrene diol epoxide (BPDE)-DNA adduct levels in leukocytes of smokers in relation to polymorphism of CYP1A1, GSTM1, GSTP1, GSTT1, and mEH. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; 13: 1342-1348
- 23 Duverger-van Bogaert M, Dierickx PJ, Stecca C, Crutzen MC. Metabolic activation by a supernatant from human hepatoma cells: a possible alternative in mutagenic tests. *Mutat Res* 1993; 292: 199-204
- 24 Majer BJ, Mersch-Sundermann V, Darroudi F, Laky B, de Wit K, Knasmuller S. Genotoxic effects of dietary and lifestyle related carcinogens in human derived hepatoma (HepG2, Hep3B) cells. *Mutat Res* 2004; 551: 153-166
- 25 Cherng SH, Hsu SL, Yang JL, Yu CT, Lee H. Suppressive effect of 1-nitropyrene on benzo[a]pyrene-induced CYP1A1 protein expression in HepG2 cells. *Toxicol Lett* 2006; 161: 236-243
- 26 Zdarilova A, Vrzal R, Rypka M, Ulrichova J, Dvorak Z. Investigation of sanguinarine and chelerythrine effects on CYP1A1 expression and activity in human hepatoma cells. *Food Chem Toxicol* 2006; 44: 242-249
- 27 Dvorak Z, Vrzal R, Ulrichova J, Pascucci JM, Maurel P, Modriansky M. Involvement of cytoskeleton in AhR-dependent CYP1A1 expression. *Curr Drug Metab* 2006; 7: 301-313
- 28 Delescluse C, Ledirac N, Li R, Piechocki MP, Hines RN, Gidrol X, Rahmani R. Induction of cytochrome P450 1A1 gene expression, oxidative stress, and genotoxicity by carbaryl and thiabendazole in transfected human HepG2 and lymphoblastoid cells. *Biochem Pharmacol* 2001; 61: 399-407
- 29 Knasmuller S, Schwab CE, Land SJ, Wang CY, Sanyal R, Kundi M, Parzefall W, Darroudi F. Genotoxic effects of heterocyclic aromatic amines in human derived hepatoma (HepG2) cells. *Mutagenesis* 1999; 14: 533-540
- 30 Caro AA, Cederbaum AI. Oxidative stress, toxicology, and pharmacology of CYP2E1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2004; 44: 27-42
- 31 Eddy EP, Howard PC, McCoy GD, Rosenkranz HS. Mutagenicity, unscheduled DNA synthesis, and metabolism of 1-nitropyrene in the human hepatoma cell line HepG2. *Cancer Res* 1987; 47: 3163-3168
- 32 Silvers KJ, Eddy EP, McCoy EC, Rosenkranz HS, Howard PC. Pathways for the mutagenesis of 1-nitropyrene and dinitropyrenes in the human hepatoma cell line HepG2. *Environ Health Perspect* 1994; 102 Suppl 6: 195-200
- 33 Diamond L, Kruszewski F, Aden DP, Knowles BB, Baird WM. Metabolic activation of benzo[a]pyrene by a human hepatoma cell line. *Carcinogenesis* 1980; 1: 871-875
- 34 Natarajan AT, Darroudi F. Use of human hepatoma cells for *in vitro* metabolic activation of chemical mutagens/carcinogens. *Mutagenesis* 1991; 6: 399-403
- 35 Uhl M, Helma C, Knasmuller S. Single-cell gel electrophoresis assays with human-derived hepatoma (Hep G2) cells. *Mutat Res* 1999; 441: 215-224
- 36 Valentin-Severin I, Le Hegarat L, Lhuguenot JC, Le Bon AM, Chagnon MC. Use of HepG2 cell line for direct or indirect mutagens screening: comparative investigation between comet and micronucleus assays. *Mutat Res* 2003; 536: 79-90
- 37 Knasmuller S, Cavin C, Chakraborty A, Darroudi F, Majer BJ, Huber WW, Ehrlich VA. Structurally related mycotoxins ochratoxin A, ochratoxin B, and citrinin differ in their genotoxic activities and in their mode of action in human-derived liver (HepG2) cells: implications for risk assessment. *Nutr Cancer* 2004; 50: 190-197
- 38 Lu Y, Morimoto K, Takeshita T, Takeuchi T, Saito T. Genotoxic effects of alpha-endosulfan and beta-endosulfan on human HepG2 cells. *Environ Health Perspect* 2000; 108: 559-561
- 39 Nwankwo JO, Tahnteng JG, Emerole GO. Inhibition of aflatoxin B1 genotoxicity in human liver-derived HepG2 cells by kolaviron biflavonoids and molecular mechanisms of action. *Eur J Cancer Prev*

- 2000; 9: 351-361
- 40 Valentin-Severin I, Thybaud V, Le Bon AM, Lhuguenot JC, Chagnon MC. The autoradiographic test for unscheduled DNA synthesis: a sensitive assay for the detection of DNA repair in the HepG2 cell line. *Mutat Res* 2004; 559: 211-217
- 41 Kohda A, Taguchi H, Okumura K. Preparation of extended metaphase chromosomes from human cultured cells using a topoisomerase II inhibitor, ICRF-193. *Biosci Biotechnol Biochem* 2001; 65: 1248-1251
- 42 Wang YF, Hu ML. Use of rat liver slices for the study of oxidative DNA damage in comparison with isolated rat liver nuclei and HepG2 human hepatoma cells. *Food Chem Toxicol* 2000; 38: 451-458
- 43 Smith CC, Lynch AM, Gooderham NJ. Model *in vitro* screening assay for detecting genotoxicity using engineered HepG2 cells. From Hazard to Risk. 2003; Thirty Third Annual EEMS Meeting, Aberdeen, UK
- 44 Uhl M, Helma C, Knasmuller S. Evaluation of the single cell gel electrophoresis assay with human hepatoma (Hep G2) cells. *Mutat Res* 2000; 468: 213-225
- 45 IARC, Some naturally occurring substances: Food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. In: Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France 1993; 56: 489-521
- 46 IARC, International Agency for Research on Cancer. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. IARC Lyon, France 1993; 56: 445-466
- 47 Ehrlich V, Darroudi F, Uhl M, Steinkellner H, Gann M, Majer BJ, Eisenbauer M, Knasmuller S. Genotoxic effects of ochratoxin A in human-derived hepatoma (HepG2) cells. *Food Chem Toxicol* 2002; 40: 1085-1090
- 48 Ehrlich V, Darroudi F, Uhl M, Steinkellner H, Zsivkovits M, Knasmueller S. Fumonisin B(1) is genotoxic in human derived hepatoma (HepG2) cells. *Mutagenesis* 2002; 17: 257-260
- 49 Aruoma OI, Colognato R, Fontana I, Gartlon J, Migliore L, Koike K, Coecke S, Lamy E, Mersch-Sundermann V, Laurenza I, Benzi L, Yoshino F, Kobayashi K, Lee MC. Molecular effects of fermented papaya preparation on oxidative damage, MAP Kinase activation and modulation of the benzo[a]pyrene mediated genotoxicity. *Biofactors* 2006; 26: 147-159
- 50 Grady MK, Jacobson-Kram D, Dearfield KL, Williams JR. Induction of sister chromatid exchanges by benzidine in rat and human hepatoma cell lines and inhibition by indomethacin. *Cell Biol Toxicol* 1986; 2: 223-230
- 51 Darroudi F, Meijers CM, Hadjidekova V, Natarajan AT. Detection of aneugenic and clastogenic potential of X-rays, directly and indirectly acting chemicals in human hepatoma (Hep G2) and peripheral blood lymphocytes, using the micronucleus assay and fluorescent *in situ* hybridization with a DNA centromeric probe. *Mutagenesis* 1996; 11: 425-433
- 52 Sanyal R, Darroudi F, Parzefall W, Nagao M, Knasmuller S. Inhibition of the genotoxic effects of heterocyclic amines in human derived hepatoma cells by dietary bioantimutagens. *Mutagenesis* 1997; 12: 297-303
- 53 Davalos A, Fernandez-Hernando C, Cerrato F, Martinez-Botas J, Gomez-Coronado D, Gomez-Cordoves C, Lasuncion MA. Red grape juice polyphenols alter cholesterol homeostasis and increase LDL-receptor activity in human cells *in vitro*. *J Nutr* 2006; 136: 1766-1773
- 54 Lhoste EF, Gloux K, De Waziers I, Garrido S, Lory S, Philippe C, Rabot S, Knasmuller S. The activities of several detoxication enzymes are differentially induced by juices of garden cress, water cress and mustard in human HepG2 cells. *Chem Biol Interact* 2004; 150: 211-219
- 55 Lamy E, Kassie F, Gminski R, Schmeiser HH, Mersch-Sundermann V. 3-Nitrobenzanthrone (3-NBA) induced micronucleus formation and DNA damage in human hepatoma (HepG2) cells. *Toxicol Lett* 2004; 146: 103-109
- 56 Dauer A, Hensel A, Lhoste E, Knasmuller S, Mersch-Sundermann V. Genotoxic and antigenotoxic effects of catechin and tannins from the bark of Hamamelis virginiana L. in metabolically competent, human hepatoma cells (Hep G2) using single cell gel electrophoresis. *Phytochemistry* 2003; 63: 199-207
- 57 Chen CL, Chi CW, Chang KW, Liu TY. Safrole-like DNA adducts in oral tissue from oral cancer patients with a betel quid chewing history. *Carcinogenesis* 1999; 20: 2331-2334
- 58 Musonda CA, Chipman JK. Quercetin inhibits hydrogen peroxide (H₂O₂)-induced NF-kappaB DNA binding activity and DNA damage in HepG2 cells. *Carcinogenesis* 1998; 19: 1583-1589
- 59 Kassie F, Knasmuller S. Genotoxic effects of allyl isothiocyanate (AITC) and phenethyl isothiocyanate (PEITC). *Chem Biol Interact* 2000; 127: 163-180
- 60 Kassie F, Laky B, Nobis E, Kundi M, Knasmuller S. Genotoxic effects of methyl isothiocyanate. *Mutat Res* 2001; 490: 1-9
- 61 Kassie F, Pool-Zobel B, Parzefall W, Knasmuller S. Genotoxic effects of benzyl isothiocyanate, a natural chemopreventive agent. *Mutagenesis* 1999; 14: 595-604
- 62 Uhl M, Ecker S, Kassie F, Lhoste E, Chakraborty A, Mohn G, Knasmuller S. Effect of chrysin, a flavonoid compound, on the mutagenic activity of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP) and benzo(a)pyrene (B(a)P) in bacterial and human hepatoma (HepG2) cells. *Arch Toxicol* 2003; 77: 477-484
- 63 Doostdar H, Duthie SJ, Burke MD, Melvin WT, Grant MH. The influence of culture medium composition on drug metabolising enzyme activities of the human liver derived Hep G2 cell line. *FEBS Lett* 1988; 241: 15-18
- 64 Feng Q, Kumagai T, Nakamura Y, Uchida K, Osawa T. Induction of cytochrome P4501A1 by autoclavable culture medium change in HepG2 cells. *Xenobiotica* 2002; 32: 1033-1043
- 65 Saito Y, Kawakami S, Yabe Y, Yamashita F, Hashida M. Intracellular trafficking is the important process that determines the optimal charge ratio on transfection by galactosylated lipoplex in HEPG2 cells. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 1986-1990
- 66 谢怡, 唐承薇, 王春晖. 乙型肝炎病毒x基因转染对奥曲

■同行评价

本文综述了以HepG2细胞作为试验系统检测各种致癌及非致癌物, 在多个观察终点均获得相应的阳性及阴性结果, 较详细探讨最新的研究进展。文章论点明确, 文笔流畅, 有学术参考价值, 是一篇较好的综述。

- 肽抑制肝癌细胞HepG2生长的影响. 癌症 2005; 24: 965-969
- 67 林纳, 陈红英, 张生君, 李丹, 陈治新, 王小众. HBV X 基因转染对HepG2肝癌细胞凋亡的影响及其机制. 中西医结合肝病杂志 2005; 15: 19-23
- 68 Kessova I, Cederbaum AI. CYP2E1: biochemistry, toxicology, regulation and function in ethanol-induced liver injury. *Curr Mol Med* 2003; 3: 509-518
- 69 Hu X, Herzog C, Zimniak P, Singh SV. Differential protection against benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol-9,10-epoxide-induced DNA damage in HepG2 cells stably transfected with allelic variants of pi class human glutathione S-transferase. *Cancer Res* 1999; 59: 2358-2362
- 70 Tashiro K, Asakura T, Fujiwara C, Ohkawa K, Ishibashi Y. Glutathione-S-transferase-pi expression regulates sensitivity to glutathione-doxorubicin conjugate. *Anticancer Drugs* 2001; 12: 707-712

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第十九届全国中西医结合消化会议征文通知

本刊讯 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会决定于2007-08下旬在石家庄市召开第十九届全国中西医结合消化学术交流会, 并同时举办全国中西医结合消化疾病诊治新进展学习班。

1 征文内容和要求

征文内容: (1)有关消化系统疾病包括食管、胃、肝、胰等诊疗、实验研究进展; (2)中西医结合对慢性肝炎(病)、肝纤维化临床诊治以及基础、实验研究; (3)中西医结合对消化系统肿瘤诊治经验与实验研究; (4)中西医结合对“淤血症”以及脾胃学说与脾虚证研究进展. 征文要求: 来稿请附800字论文摘要, 并附软盘或发电子邮件至211zyke@163.com或czs.xiaohua@163.com(尽量以电子邮件发送). 征文请于2007-06-30前邮寄。

2 学习班招收对象

学习班招收对象: 从事中西医结合、中医或西医消化专业医师以上人员. 参加学习班者授予国家继续教育学分12分; 在大会论文报告者另授继续教育学分6分。

3 联系方式

(1) 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路45号 解放军第211医院中医科(中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会), 邮编: 150080, 联系人: 李春雷, 贾云, 联系电话: 0451-57752440或86632450, 传真: 0451-86603878或0451-57752440; (2) 河北省石家庄和平西路215号河北医科大学附属第二医院, 邮编: 050000, 联系人: 姚希贤, 冯志杰, 联系电话: 0311-87222301或13333015658.

整合素与胰腺癌

何度, 张秀辉

何度, 张秀辉, 四川大学华西医院病理科 四川省成都市 610041
通讯作者: 张秀辉, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院病理科. zhangxiuhui1955@126.com
收稿日期: 2006-08-07 接受日期: 2006-11-02

Roles of integrins in pancreatic adenocarcinoma

Du He, Xiu-Hui Zhang

Du He, Xiu-Hui Zhang, Department of Pathology, West China Hospital, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Correspondence to: Xiu-Hui Zhang, Department of Pathology, West China Hospital, 37 Guoxue Xiang, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. zhangxiuhui1955@126.com
Received: 2006-08-07 Accepted: 2006-11-02

Abstract

Integrins, serving as transmembrane proteins, play major roles in cell-extracellular matrix adhesions, and they can introduce extracellular signals into the cells, alter cellular morphology and influence cell motility as well as contribute to tumor invasion and metastasis. One of the major causes of low resection rates and extremely poor survival rates is its extraordinary local tumor progression and early systemic dissemination. Being a kind of adhesion molecules associating cells with extracellular matrix, integrins play a variety of roles in the process of invasion and metastasis in pancreatic adenocarcinoma.

Key Words: Integrin; Pancreatic adenocarcinoma; Invasion; Metastasis

He D, Zhang XH. Roles of integrins in pancreatic adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):151-156

摘要

整合素为一类跨膜蛋白, 是介导细胞与细胞外基质黏附的主要黏附分子. 他将细胞外的信号传入细胞内调节细胞生长、改变细胞形态、影响细胞运动, 并在肿瘤侵袭和转移的过程中起重要作用. 胰腺癌手术切除率低死亡率高的

重要原因之一是肿瘤早期即能发生局部浸润和远处器官转移, 整合素作为细胞与细胞外基质的黏附分子, 在胰腺癌侵袭及转移过程中发挥多重作用.

关键词: 整合素; 胰腺癌; 浸润; 转移

何度, 张秀辉. 整合素与胰腺癌. 世界华人消化杂志 2007;15(2):151-156
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/151.asp>

0 引言

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是细胞生长的土壤, 在细胞的基本生命活动中起重要作用: 调控细胞存活或凋亡^[1-4]、影响细胞形态^[5]、调节细胞增殖^[6]、控制细胞分化^[7]、影响细胞迁移^[8-10]等. 细胞通过自身整合素受体将细胞外的信号传导入细胞内, 参与白细胞黏附^[11]、游出、趋化^[12]、血液凝固^[13]、受精卵植入^[14-15]、创伤愈合^[16]、细胞恶性转化^[17-18]、肿瘤侵袭^[19-23]等过程. 整合素(integrin)是一类表达于细胞膜上, 介导细胞与ECM黏附的主要受体, 在血细胞还可介导细胞与细胞之间的黏附. 整合素(或称整合素受体)由两条跨膜多肽链 α 和 β 以非共价方式结合而成的异二聚体. 现已发现, 哺乳动物细胞选择性表达18种 α 链和8种 β 链, 两者结合形成至少24种整合素的异二聚体^[24]. 整合素的结构分为头部和腿部. 头部由两个结构域组成, 一个是位于 α 亚单位中由7个叶片组成的 β 片层结构域; 另一个位于 β 亚单位中的I结构域, 他们并排分布于细胞膜外, 组成整合素的配体结合结构域. 整合素的两条“腿”, 一条由 α 亚单位中的“Thigh”, “Calf1”和“Calf2”3个结构域组成; 另一条由 β 亚单位中的“Hybrid”, “PSI”, 4个“EGF-like”和1个“ β -尾部”结构域组成^[25]. 当整合素黏附于ECM时, 整合素受体聚集成簇, 胞质内C-末端尾巴可与细胞内多种锚蛋白(anchor proteins), 如踝蛋白(talin)、桩蛋白(paxilin)等结合, 并诱导黏着斑(focal adhesion)的形成. ECM存在多种整合素配体, 一种整合素可与多种基

■背景资料

胰腺癌是预后最差的恶性肿瘤之一, 原因之一是肿瘤极易浸润周围组织并发生远处器官转移, 整合素为一类重要的黏附分子, 主要介导细胞与细胞外基质的黏附, 在肿瘤的侵袭行为中发挥着重要作用.

■应用要点

整合素将细胞外信号传入细胞内,调节细胞的生命活动,影响细胞运动,并通过细胞内分子调节其与配体的亲和力。整合素的研究对于认识肿瘤的侵袭机制具有重要意义,有望成为提示预后的指标,目前抗整合素的药物已经进行动物试验,有助于胰腺癌等高度侵袭性肿瘤的治疗提供新的方法。

质成分结合,一种基质成分也可与多种整合素结合^[26],这使得整合素的黏附网络更加复杂。整合素的信号调节为双向变构调节,即胞内信号外传(inside out signaling)和胞外信号内传(outside in signaling)^[27]。Inside-out信号即从细胞内控制整合素与配体的相互作用^[28],主要通过细胞内分子对整合素进行变构调节从而控制整合素受体与其配体的亲和力; outside-in信号途径与常规信号途径相似,即细胞外配体激活整合素受体引起细胞的全球性反应,触发细胞增生^[29]、变形、迁移^[30]、生物活性物质分泌^[31]等效应。胰腺癌占美国癌症死亡原因的第四位^[32],一旦胰腺癌的诊断成立即预示所有恶性肿瘤中最高死亡率。近10 a来,我国胰腺癌5 a生存率<10%,手术切除率虽有所提高,但也仅达27.1%^[33]。其中一个重要的原因是肿瘤极容易早期浸润周围结构并出现远处转移^[34-35],整合素作为ECM黏附分子在胰腺癌恶性行为中起着重要作用。

1 整合素在胰腺癌中的表达

在正常人胰腺组织中,导管、腺泡、泡心细胞及胰岛的整合素表达分布有所不同。整合素 α_3 , α_5 在泡心细胞呈中-强阳性表达;整合素 α_2 , α_6 在导管细胞呈中-强阳性表达,在泡心细胞不表达^[36-38]。人胰腺癌组织中,整合素 α_1 , α_2 , α_3 , α_5 , α_6 , α_V , β_1 , β_3 , β_4 , β_5 , β_6 表达程度不同。胰腺癌整合素 α_2 和 α_6 呈中-强阳性表达^[36-37],与正常组织相比表达强度相似^[36]或增强^[39-41],整合素 α_2 , α_6 表达部位由正常时的局限细胞基底膜侧转变成在细胞表面弥散分布^[36]。Weinel *et al*^[36]研究发现,整合素 α_3 , α_5 在胰腺癌组织和胰腺癌细胞株中均呈异质性表达,并指出假设胰腺癌是起源于胰腺导管的恶性肿瘤,由于整合素 α_3 在正常胰腺组织中仅在泡心细胞表达,而在胰腺癌组织中约半数肿瘤细胞呈弱-中等强度表达,因此胰腺癌整合素 α_3 表达是增强的;对于整合素 α_5 来讲,正常胰腺组织中,除泡心细胞强阳性表达外,还在多数导管上皮细胞中呈弱阳性表达,因此在胰腺癌中整合素 α_5 表达呈不同程度减弱。整合素 β_4 在92%胰腺癌病例中呈中-强阳性,表达较正常胰腺和慢性胰腺炎明显增强^[42]。Hosotani *et al*^[43]用LM609(抗整合素 $\alpha_V\beta_3$ 的mAb)检测50例胰腺导管癌,发现58%的病例呈阳性表达,并发现整合素 $\alpha_V\beta_3$ 表达与MMP-2的活化率有关。Sipos *et al*^[44]用抗整合素 β_6 的mAb检测了多种来自消化道和肺的恶性肿瘤,其中包括34例胰腺

导管癌病例,结果显示,整合素 $\alpha_V\beta_6$ 在胰腺癌中表达最强。整合素 α_4 和 β_2 无论在正常胰腺、慢性胰腺炎还是在胰腺癌中均不表达^[45]。

2 整合素在胰腺癌中的作用

2.1 对胰腺癌细胞系形态、分化及增生的影响
在层黏连蛋白5培养基中整合素 $\alpha_6\beta_4$ 介导胰腺癌FG细胞系上皮细胞形态的形成^[46]。整合素 $\alpha_V\beta_6$ 过表达与胰腺癌细胞系扁球形构造有关^[44]。整合素 β_1 在纤黏蛋白培养基中使Mia PaCa细胞系铺展^[47]。Stagge *et al*^[48]用层黏连蛋白1诱导胰腺癌低分化细胞系PaTu-II微绒毛和假腺腔形成,用JB1a(抗整合素 β_1 抗体)及ASC3(抗整合素 β_4 抗体)作用5 d后细胞系导管结构消失。但Lohr *et al*^[49]检测多种分化不同的胰腺癌细胞系及异种移植肿瘤的整合素表达强度,认为整合素表达与肿瘤细胞的分化无关。整合素 β_1 和 α_5 可介导纤连蛋白诱导的胰腺癌Mia PaCa细胞系增生^[47]。

2.2 介导胰腺癌细胞与ECM黏附
Arao *et al*^[50]将5种整合素mAb加入胶原、纤黏蛋白和层黏连蛋白培养基中,证实整合素 $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$ 和 $\alpha_6\beta_1$ 主要分别是胰腺癌细胞胶原、纤黏蛋白及层黏连蛋白的受体。整合素 $\alpha_3\beta_1$ ^[41,46,51]和 $\alpha_6\beta_4$ ^[41]为层黏连蛋白5的受体;整合素 $\alpha_V\beta_5$ 为玻璃黏连蛋白受体^[52],整合素 $\alpha_V\beta_6$ 为纤黏蛋白受体^[53]。

2.3 介导细胞侵袭行为
在众多整合素中,整合素 β_1 与多种肿瘤细胞侵袭性密切相连^[54-55]。在含ECM的培养基中加入多种整合素mAb的试验已经证明,整合素 β_1 介导胰腺癌细胞系在层黏连蛋白中迁移,并通过基底膜重建证明整合素 β_1 , α_6 在肿瘤细胞侵袭中的重要作用^[38]; Tani *et al*^[51]研究分化不同的3个胰腺癌细胞系BxPC-3(高分化)、CFPAN-1(中分化)和PANC-1(低分化)的体外黏附机制以及BxPC-3在ECM中的迁移情况,并将3个细胞系植入裸鼠体内检测3层黏连蛋白分泌情况,发现胰腺癌细胞将合成的层黏连蛋白5异常沉积于基底膜,细胞通过整合素 $\alpha_3\beta_1$ 识别层黏连蛋白5,并在上面迁移; Vogelmann *et al*^[56]将胰腺癌PaTu8988s细胞系(来自转移灶)和PaTu8988t细胞系(非转移系)做了黏附和转移分析,发现PaTu8988s经抗整合素 $\alpha_6\beta_1$ 抗体预处理后再注入裸鼠尾部静脉内可抑制转移灶的形成。Arao *et al*^[50]发现,不同胰腺癌细胞系,TS2/16(一种激活型抗整合素 β_1 抗体)需求度不一,侵袭性越高的细胞系对TS2/16需求度越低,

说明整合素 $\beta 1$ 持续性活化状态越高细胞侵袭性越强。

2.4 整合素表达的调节 Plath *et al*^[57]用流式细胞术检测了p16^{INK4a}对Capan-1细胞系整合素 $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, αV , $\beta 1$, $\beta 4$ 和 $\beta 5$ 表达的影响, 除整合素 $\alpha 5$ 外, 几乎所有的整合素与p16^{INK4a}状态无关, 为进一步确定整合素 $\alpha 5$ 表达水平, Plath *et al*还运用免疫沉淀、Northern杂交等方法证明, p16^{INK4a}能上调整合素 $\alpha 5$ 的表达。Sawai *et al*^[58]发现, IL-1 α 通过与IL-1R结合, 使SW1990细胞系的整合素 $\alpha 6$ 和 $\beta 1$ 表达增加, AsPC-1细胞系的整合素 $\alpha 2$, $\alpha 6$ 和 $\beta 1$ 表达增加, BxPC-3细胞系的整合素 $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 6$ 和 $\beta 1$ 表达增加; 在后续的试验中, 还证明IL-1 α 不仅增强整合素 $\alpha 6\beta 1$ 与相应ECM的黏附, 而且增强人胰腺癌细胞的转移能力^[59]。Funahashi *et al*^[60]在Mia PaCa-2和BxPC-3细胞系中加入胶质细胞源性神经营养因子(glial cell line-derived neurotrophic factor, GDNF)24 h后, BxPC-3细胞系整合素 $\alpha 5$ 及 $\alpha 6$ 的表达增加, Mia PaCa-2细胞系还伴随整合素 $\beta 1$ 表达上升, 并且两系与相应ECM黏附力和侵袭性增强。

2.5 整合素功能的调节 胰腺癌细胞并非都通过改变整合素表达数量来调节自身与ECM的黏附, 还可通过改变整合素与其配体亲和力来调节自身与ECM的黏附, 影响细胞的侵袭能力。Duxbury *et al*^[61]发现, 通过整合素 $\alpha V\beta 3$ 介导, CEACAM6交联后能增强BxPC-3细胞系与ECM的黏附, 这一过程中整合素 $\alpha V\beta 3$ 表达仅临界上升, 说明整合素 $\alpha V\beta 3$ 亲和力增强是促进细胞与ECM的黏附的重要因素。Shirk *et al*^[62]发现, 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)调节Capan-1细胞与I型胶原脱离, 并促进细胞在I型胶原和基质胶中侵袭, 此过程中I型胶原受体整合素 $\alpha 2\beta 1$ 的表达并未受到EGF影响, 提示某些整合素功能的激活比单独的表达变化更为重要。

2.6 整合素与细胞因子 肿瘤的生长, 演进与异常的生存环境密切相关, 环境中细胞因子的改变参与肿瘤的发生、发展。在胰腺癌中, IL-1 α 通过上调整合素 $\alpha 6\beta 1$ 的表达增强肿瘤细胞的黏附及侵袭行为^[59,63]。另一方面, 整合素还参与肿瘤细胞因子的分泌和表达。Lowrie *et al*^[47]进行整合素阻滞实验发现, 整合素 $\alpha 5\beta 1$ 具有限制Mia PaCa-2细胞分泌IL-8的作用, 与之相反, 整合素 $\alpha V\beta 5$ 具有刺激IL-8分泌的效应, 正常情况下整合素 $\alpha V\beta 5$ 的刺激作用被整合素 $\alpha 5\beta 1$ 的抑制效

应所掩盖。与Lowrie *et al*的试验结果部分相反, Grzesiak *et al*^[64]运用免疫荧光及细胞迁移分析证明整合素 $\alpha 2\beta 1$ 和 $\alpha 5\beta 1$ 分别介导FG细胞与I型胶原和纤连蛋白黏附、调节细胞生长, 同时通过ELIAS证实整合素 $\alpha 2\beta 1$ 导致IL-6, IL-8表达减少, 而整合素 $\alpha 5\beta 1$ 导致IL-6, IL-8表达增加。这可能与同一整合素在不同胰腺癌细胞系所起作用不同有关。

3 整合素表达与预后

Bottger *et al*^[65]对19例十二指肠壶腹部癌和42例胰腺导管癌术后切除标本做整合素 $\beta 1$ 免疫组化分析, 结果显示, 整合素 $\beta 1$ 表达强度与胰腺导管癌预后无关, 该作者认为与样本含量较小有关。虽然整合素 $\beta 1$ 是胰腺癌细胞侵袭的重要黏附分子, 但由于整合素 $\beta 1$ 链可与10多种 α 链相结合组成多种整合素异二聚体, 在胰腺癌中某些含 $\beta 1$ 的整合素异二聚体表达增加, 如整合素 $\alpha 3\beta 1$, $\alpha 6\beta 1$ 等, 但另一方面整合素 $\alpha 5\beta 1$ 却表达下降, 并且不同的整合素异二聚体对胰腺癌预后提示意义不尽相同甚至相反, 故单独分析整合素 $\beta 1$ 与胰腺癌临床病理的联系很难得出正确结论。Hosotani *et al*^[43]对50例胰腺导管癌术后标本进行整合素 $\alpha V\beta 3$ 免疫组化染色, 发现整合素 $\alpha V\beta 3$ 表达与胰腺癌分期及淋巴结转移有关。Sawai *et al*^[63]对42例浸润型胰腺导管癌手术标本做免疫组化发现整合素 $\alpha 6$ 强阳性表达与uPAR具有明显的相关性, 并且整合素 $\alpha 6$ 和uPAR强阳性表达是提示胰腺癌患者预后差的独立因素。

目前, 对胰腺癌整合素表达的研究较多, 但是对正常人胰腺组织整合素的表达情况缺少较大样本的研究, 因此对于某些整合素在胰腺癌中是否增强或减弱还存在争议。整合素存在3种构象: 高亲和力状态、中间亲和力状态和低亲和力状态^[66]。在分化不同或生物学特征不同的肿瘤中, 某些整合素的表达虽然无明显差异, 但由于多种分子可调整合素亲和力, 改变其功能, 因此研究整合素亲和力改变在这些肿瘤中的作用尤为重要。由于整合素可触发多种效应, 并且已经发现整合素与其他分子如生长因子等信号之间相互联系^[67-70], 因此研究整合素与其他侵袭相关分子及相应调节通路的关系, 有利于为治疗胰腺癌等高侵袭性肿瘤提供新的靶点。

4 参考文献

- 1 贾震易, 秦环龙. 整合素与肠上皮细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1419-1421

■同行评价

本文综述了整合素与胰腺癌的关系, 有一定参考价值。

- 2 Dang H, Dehghan PL, Goodwiler K, Chen S, Zardeneta G, Zhang BX, Yeh CK. Inhibition of CD95-mediated apoptosis through beta 1 integrin in the HSG epithelial cell line. *Cell Commun Adhes* 2006; 13: 223-232
- 3 Wang R, Li J, Lyte K, Yashpal NK, Fellows F, Goodyer CG. Role for beta1 integrin and its associated alpha3, alpha5, and alpha6 subunits in development of the human fetal pancreas. *Diabetes* 2005; 54: 2080-2089
- 4 Mayadas TN, Cullere X. Neutrophil beta2 integrins: moderators of life or death decisions. *Trends Immunol* 2005; 26: 388-395
- 5 Liu J, DeYoung SM, Zhang M, Zhang M, Cheng A, Saltiel AR. Changes in integrin expression during adipocyte differentiation. *Cell Metab* 2005; 2: 165-177
- 6 Leone DP, Relvas JB, Campos LS, Hemmi S, Brakebusch C, Fassler R, Ffrench-Constant C, Suter U. Regulation of neural progenitor proliferation and survival by beta1 integrins. *J Cell Sci* 2005; 118: 2589-2599
- 7 Chen CA, Hwang JC, Guh JY, Tsai JC, Chen HC. TGF-beta1 and integrin synergistically facilitate the differentiation of rat podocytes by increasing alpha-smooth muscle actin expression. *Transl Res* 2006; 148: 134-141
- 8 Hoffmann S, He S, Jin M, Ehren M, Wiedemann P, Ryan SJ, Hinton DR. A selective cyclic integrin antagonist blocks the integrin receptors alphavbeta3 and alphavbeta5 and inhibits retinal pigment epithelium cell attachment, migration and invasion. *BMC Ophthalmol* 2005; 5: 16
- 9 Seales EC, Jurado GA, Brunson BA, Wakefield JK, Frost AR, Bellis SL. Hypersialylation of beta1 integrins, observed in colon adenocarcinoma, may contribute to cancer progression by up-regulating cell motility. *Cancer Res* 2005; 65: 4645-4652
- 10 Nam EJ, Sa KH, You DW, Cho JH, Seo JS, Han SW, Park JY, Kim SI, Kyung HS, Kim IS, Kang YM. Up-regulated transforming growth factor beta-inducible gene h3 in rheumatoid arthritis mediates adhesion and migration of synoviocytes through alpha v beta3 integrin: Regulation by cytokines. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 2734-2744
- 11 Rojas RE, Thomas JJ, Gehring AJ, Hill PJ, Belisle JT, Harding CV, Boom WH. Phosphatidylinositol mannoside from *Mycobacterium tuberculosis* binds alpha5beta1 integrin (VLA-5) on CD4+ T cells and induces adhesion to fibronectin. *J Immunol* 2006; 177: 2959-2968
- 12 Laudanna C, Alon R. Right on the spot. Chemokine triggering of integrin-mediated arrest of rolling leukocytes. *Thromb Haemost* 2006; 95: 5-11
- 13 Aoki T, Tomiyama Y, Honda S, Mihara K, Yamanaka T, Okubo M, Moriguchi A, Mutoh S. Association of the antagonism of von Willebrand factor but not fibrinogen by platelet alphaIIb beta3 antagonists with prolongation of bleeding time. *J Thromb Haemost* 2005; 3: 2307-2314
- 14 Lim JJ, Lee DR, Song HS, Kim KS, Yoon TK, Gye MC, Kim MK. Heparin-binding epidermal growth factor (HB-EGF) may improve embryonic development and implantation by increasing vitronectin receptor (integrin alphanubeta3) expression in peri-implantation mouse embryos. *J Assist Reprod Genet* 2006; 23: 111-119
- 15 Abban G, Erdogan D, Ozogul C, Take G, Yildirim NB. Immunohistochemical localization of beta1 and beta4 integrins in mouse endometrium during implantation and early pregnancy. *Acta Physiol Hung* 2005; 92: 153-162
- 16 Eckes B, Zweers MC, Zhang ZG, Hallinger R, Mauch C, Aumailley M, Krieg T. Mechanical tension and integrin alpha 2 beta 1 regulate fibroblast functions. *J Investig Dermatol Symp Proc* 2006; 11: 66-72
- 17 Mirtti T, Nylund C, Lehtonen J, Hiekkänen H, Nissinen L, Kallajoki M, Alanen K, Gullberg D, Heino J. Regulation of prostate cell collagen receptors by malignant transformation. *Int J Cancer* 2006; 118: 889-898
- 18 Guo W, Pylayeva Y, Pepe A, Yoshioka T, Muller WJ, Inghirami G, Giancotti FG. Beta 4 integrin amplifies ErbB2 signaling to promote mammary tumorigenesis. *Cell* 2006; 126: 489-502
- 19 Brockbank EC, Bridges J, Marshall CJ, Sahai E. Integrin beta1 is required for the invasive behaviour but not proliferation of squamous cell carcinoma cells *in vivo*. *Br J Cancer* 2005; 92: 102-112
- 20 Lee MS, Kim TY, Kim YB, Lee SY, Ko SG, Jong HS, Kim TY, Bang YJ, Lee JW. The signaling network of transforming growth factor beta1, protein kinase Cdelta, and integrin underlies the spreading and invasiveness of gastric carcinoma cells. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 6921-6936
- 21 Dang D, Bamburg JR, Ramos DM. Alphavbeta3 integrin and cofilin modulate K1735 melanoma cell invasion. *Exp Cell Res* 2006; 312: 468-477
- 22 Enns A, Korb T, Schluter K, Gassmann P, Spiegel HU, Senninger N, Mitjans F, Haier J. Alphavbeta5-integrins mediate early steps of metastasis formation. *Eur J Cancer* 2005; 41: 1065-1072
- 23 Sloan EK, Pouliot N, Stanley KL, Chia J, Moseley JM, Hards DK, Anderson RL. Tumor-specific expression of alphavbeta3 integrin promotes spontaneous metastasis of breast cancer to bone. *Breast Cancer Res* 2006; 8: R20
- 24 Hynes RO. Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell* 2002; 110: 673-687
- 25 李发慧, 王兆卿, 孙启鸿, 陈毓荃. 整合素的构象变化与亲和力调控. *生命的化学* 2005; 25: 213-215
- 26 Stupack DG, Cheresh DA. Get a ligand, get a life: integrins, signaling and cell survival. *J Cell Sci* 2002; 115: 3729-3738
- 27 Qin J, Vinogradova O, Plow EF. Integrin bidirectional signaling: a molecular view. *PLoS Biol* 2004; 2: e169
- 28 Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P. *Molecular biology of the cell*. 4th ed. New York and London. Garland science 2002: 1115
- 29 Wang J, Milner R. Fibronectin promotes brain capillary endothelial cell survival and proliferation through alpha5beta1 and alphavbeta3 integrins via MAP kinase signalling. *J Neurochem* 2006; 96: 148-159
- 30 Nikolopoulos SN, Blaikie P, Yoshioka T, Guo W, Puri C, Tacchetti C, Giancotti FG. Targeted deletion of the integrin beta4 signaling domain suppresses laminin-5-dependent nuclear entry of mitogen-activated protein kinases and NF-kappaB, causing defects in epidermal growth and migration. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 6090-6102
- 31 Parnaud G, Hammar E, Rouiller DG, Armanet M, Halban PA, Bosco D. Blockade of beta1 integrin-

- laminin-5 interaction affects spreading and insulin secretion of rat beta-cells attached on extracellular matrix. *Diabetes* 2006; 55: 1413-1420
- 32 Yang GY, Wagner TD, Fuss M, Thomas CR Jr. Multimodality approaches for pancreatic cancer. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 352-367
- 33 张群华, 倪泉兴. 胰腺癌2340例临床病例分析. *中华医学杂志* 2004; 84: 214-218
- 34 Wolff RA, Chiao P, Lenzi R, Pisters PW, Lee JE, Janjan NA, Crane CH, Evans DB, Abbruzzese JL. Current approaches and future strategies for pancreatic carcinoma. *Invest New Drugs* 2000; 18: 43-56
- 35 Sipos B, Kojima M, Tiemann K, Klapper W, Kruse ML, Kalthoff H, Schniewind B, Tepel J, Weich H, Kerjaschki D, Kloppel G. Lymphatic spread of ductal pancreatic adenocarcinoma is independent of lymphangiogenesis. *J Pathol* 2005; 207: 301-312
- 36 Weinel RJ, Rosendahl A, Neumann K, Chaloupka B, Erb D, Rothmund M, Santoso S. Expression and function of VLA-alpha 2, -alpha 3, -alpha 5 and -alpha 6-integrin receptors in pancreatic carcinoma. *Int J Cancer* 1992; 52: 827-833
- 37 Rosendahl A, Neumann K, Chaloupka B, Rothmund M, Weinel RJ. Expression and distribution of VLA receptors in the pancreas: an immunohistochemical study. *Pancreas* 1993; 8: 711-718
- 38 Weinel RJ, Rosendahl A, Pinschmidt E, Kisker O, Simon B, Santoso S. The alpha 6-integrin receptor in pancreatic carcinoma. *Gastroenterology* 1995; 108: 523-532
- 39 Shimoyama S, Gansauge F, Gansauge S, Oohara T, Beger HG. Altered expression of extracellular matrix molecules and their receptors in chronic pancreatitis and pancreatic adenocarcinoma in comparison with normal pancreas. *Int J Pancreatol* 1995; 18: 227-234
- 40 Halatsch ME, Hirsch-Ernst KI, Kahl GF, Weinel RJ. Increased expression of alpha6-integrin receptors and of mRNA encoding the putative 37 kDa laminin receptor precursor in pancreatic carcinoma. *Cancer Lett* 1997; 118: 7-11
- 41 Gesierich S, Paret C, Hildebrand D, Weitz J, Zraggen K, Schmitz-Winnenthal FH, Horejsi V, Yoshie O, Herlyn D, Ashman LK, Zoller M. Colocalization of the tetraspanins, CO-029 and CD151, with integrins in human pancreatic adenocarcinoma: impact on cell motility. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 2840-2852
- 42 Gleason B, Adley B, Rao MS, Diaz LK. Immunohistochemical detection of the beta4 integrin subunit in pancreatic adenocarcinoma. *J Histochem Cytochem* 2005; 53: 799-801
- 43 Hosotani R, Kawaguchi M, Masui T, Koshiba T, Ida J, Fujimoto K, Wada M, Doi R, Imamura M. Expression of integrin alphaVbeta3 in pancreatic carcinoma: relation to MMP-2 activation and lymph node metastasis. *Pancreas* 2002; 25: e30-35
- 44 Sipos B, Hahn D, Carceller A, Piulats J, Hedderich J, Kalthoff H, Goodman SL, Kosmahl M, Kloppel G. Immunohistochemical screening for beta6-integrin subunit expression in adenocarcinomas using a novel monoclonal antibody reveals strong up-regulation in pancreatic ductal adenocarcinomas *in vivo* and *in vitro*. *Histopathology* 2004; 45: 226-236
- 45 Hall PA, Coates P, Lemoine NR, Horton MA. Characterization of integrin chains in normal and neoplastic human pancreas. *J Pathol* 1991; 165: 33-41
- 46 Baker SE, Skalli O, Goldman RD, Jones JC. Laminin-5 and modulation of keratin cytoskeleton arrangement in FG pancreatic carcinoma cells: involvement of IFAP300 and evidence that laminin-5/cell interactions correlate with a dephosphorylation of alpha 6A integrin. *Cell Motil Cytoskeleton* 1997; 37: 271-286
- 47 Lowrie AG, Salter DM, Ross JA. Latent effects of fibronectin, alpha5beta1 integrin, alphaVbeta5 integrin and the cytoskeleton regulate pancreatic carcinoma cell IL-8 secretion. *Br J Cancer* 2004; 91: 1327-1334
- 48 Stagge V, Seufferlein T, Durschmied D, Menke A, Adler G, Beil M. Integrin-mediated differentiation of a pancreatic carcinoma cell line is independent of FAK or MAPK activation levels. *Pancreas* 2001; 23: 236-245
- 49 Lohr M, Trautmann B, Gottler M, Peters S, Zauner I, Maier A, Kloppel G, Liebe S, Kreuser ED. Expression and function of receptors for extracellular matrix proteins in human ductal adenocarcinomas of the pancreas. *Pancreas* 1996; 12: 248-259
- 50 Arao S, Masumoto A, Otsuki M. Beta1 integrins play an essential role in adhesion and invasion of pancreatic carcinoma cells. *Pancreas* 2000; 20: 129-137
- 51 Tani T, Lumme A, Linnala A, Kivilaakso E, Kiviluoto T, Burgeson RE, Kangas L, Leivo I, Virtanen I. Pancreatic carcinomas deposit laminin-5, preferably adhere to laminin-5, and migrate on the newly deposited basement membrane. *Am J Pathol* 1997; 151: 1289-1302
- 52 Klemke RL, Yebra M, Bayna EM, Cheresch DA. Receptor tyrosine kinase signaling required for integrin alpha v beta 5-directed cell motility but not adhesion on vitronectin. *J Cell Biol* 1994; 127: 859-866
- 53 Busk M, Pytela R, Sheppard D. Characterization of the integrin alpha v beta 6 as a fibronectin-binding protein. *J Biol Chem* 1992; 267: 5790-5796
- 54 李兴睿, 郭悦青, 易继林. 整合素 β_1 和固生蛋白 Tenascin共表达与肝癌浸润转移的关系. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 100-103
- 55 Ke JJ, Shao QS, Ling ZQ. Expression of E-selectin, integrin beta1 and immunoglobulin superfamily member in human gastric carcinoma cells and its clinicopathologic significance. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3609-3611
- 56 Vogelmann R, Kreuser ED, Adler G, Lutz MP. Integrin alpha6beta1 role in metastatic behavior of human pancreatic carcinoma cells. *Int J Cancer* 1999; 80: 791-795
- 57 Plath T, Detjen K, Welzel M, von Marschall Z, Murphy D, Schirner M, Wiedenmann B, Rosewicz S. A novel function for the tumor suppressor p16(INK4a): induction of anoikis via upregulation of the alpha(5)beta(1) fibronectin receptor. *J Cell Biol* 2000; 150: 1467-1478
- 58 Sawai H, Yamamoto M, Okada Y, Sato M, Akamo Y, Takeyama H, Manabe T. Alteration of integrins by interleukin-1alpha in human pancreatic cancer cells. *Pancreas* 2001; 23: 399-405
- 59 Sawai H, Funahashi H, Yamamoto M, Okada Y, Hayakawa T, Tanaka M, Takeyama H, Manabe T. Interleukin-1alpha enhances integrin alpha(6)

- beta(1) expression and metastatic capability of human pancreatic cancer. *Oncology* 2003; 65: 167-173
- 60 Funahashi H, Takeyama H, Sawai H, Furuta A, Sato M, Okada Y, Hayakawa T, Tanaka M, Manabe T. Alteration of integrin expression by glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in human pancreatic cancer cells. *Pancreas* 2003; 27: 190-196
- 61 Duxbury MS, Ito H, Ashley SW, Whang EE. c-Src-dependent cross-talk between CEACAM6 and alphavbeta3 integrin enhances pancreatic adenocarcinoma cell adhesion to extracellular matrix components. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 317: 133-141
- 62 Shirk AJ, Kuver R. Epidermal growth factor mediates detachment from and invasion through collagen I and Matrigel in Capan-1 pancreatic cancer cells. *BMC Gastroenterol* 2005; 5: 12
- 63 Sawai H, Okada Y, Funahashi H, Matsuo Y, Takahashi H, Takeyama H, Manabe T. Interleukin-1alpha enhances the aggressive behavior of pancreatic cancer cells by regulating the alpha6-beta1-integrin and urokinase plasminogen activator receptor expression. *BMC Cell Biol* 2006; 7: 8
- 64 Grzesiak JJ, Smith KC, Burton DW, Deftos LJ, Bouvet M. GSK3 and PKB/Akt are associated with integrin-mediated regulation of PTHrP, IL-6 and IL-8 expression in FG pancreatic cancer cells. *Int J Cancer* 2005; 114: 522-530
- 65 Bottger TC, Maschek H, Lobo M, Gottwohl RG, Brenner W, Junginger T. Prognostic value of immunohistochemical expression of beta-1 integrin in pancreatic carcinoma. *Oncology* 1999; 56: 308-313
- 66 Salas A, Shimaoka M, Phan U, Kim M, Springer TA. Transition from rolling to firm adhesion can be mimicked by extension of integrin alphaLbeta2 in an intermediate affinity state. *J Biol Chem* 2006; 281: 10876-10882
- 67 Eliceiri BP. Integrin and growth factor receptor crosstalk. *Circ Res* 2001; 89: 1104-1110
- 68 Rahman S, Patel Y, Murray J, Patel KV, Sumathipala R, Sobel M, Wijelath ES. Novel hepatocyte growth factor (HGF) binding domains on fibronectin and vitronectin coordinate a distinct and amplified Met-integrin induced signalling pathway in endothelial cells. *BMC Cell Biol* 2005; 6: 8
- 69 Lynch L, Vodyanik PI, Boettiger D, Guvakova MA. Insulin-like growth factor I controls adhesion strength mediated by alpha5beta1 integrins in motile carcinoma cells. *Mol Biol Cell* 2005; 16: 51-63
- 70 Shen MR, Hsu YM, Hsu KF, Chen YF, Tang MJ, Chou CY. Insulin-like growth factor 1 is a potent stimulator of cervical cancer cell invasiveness and proliferation that is modulated by alphavbeta3 integrin signaling. *Carcinogenesis* 2006; 27: 962-971

电编 张敏 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

《世界华人消化杂志》简介

《世界华人消化杂志》创刊于1993-01-15, 原刊名《新消化病学杂志》, 1999-03-25经国家科学技术部和国家新闻出版总署批准更名为《世界华人消化杂志》, 国科发财字[1999] 071号, 国内统一刊号CN 14-1260/R, 国际标准刊号ISSN 1009-3079, 国内外公开发行的综合性消化病学类学术期刊。2002-11-14经国家工商行政管理总局商标局核定使用商品(第16类), 获得商标注册证第2001071号。《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊和中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》, 俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。《世界华人消化杂志》综合介绍消化病学前沿基础与临床研究的发现, 覆盖消化病学领域中经临床实验证明的技术进展。从1993-2005《世界华人消化杂志》发表的文章可以在线<http://www.wjgnet.com>免费阅读全文。《世界华人消化杂志》综合介绍以下领域的内容: 消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用、消化专家门诊。《世界华人消化杂志》开通了<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>在线办公系统, 实现了在线投稿和审稿等功能。

食管/胃底静脉曲张动物模型制作的改进

方和平, 汤照峰, 刘波, 刘池拽, 潘卫东, 许瑞云

方和平, 汤照峰, 刘波, 潘卫东, 许瑞云, 广州中山大学附属第三医院肝胆外科 广东省广州市 510630
刘池拽, 中山市中心医院急诊科 广东省中山市 528400
广东省科技计划重点项目, No. 20012176
广东省医药卫生科研基金资助项目, No. A2001195
通讯作者: 许瑞云, 510630, 广东省广州市天河区天河路600号, 广州中山大学附属第三医院肝胆外科. xuruiyun@yahoo.com.cn
电话: 020-85516867-2153
收稿日期: 2006-09-27 接受日期: 2006-10-25

An improved reproducible canine model of esophagogastric varices

He-Ping Fang, Zhao-Feng Tang, Bo Liu, Chi-zhuai Liu, Wei-Dong Pan, Rui-Yun Xu

He-Ping Fang, Zhao-Feng Tang, Bo Liu, Wei-Dong Pan, Rui-Yun Xu, Department Of Hepatobiliary Surgery, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510630, Guangdong Province, China
Chi-Zhuai Liu, Department Of emergency, Zhongshan Central Hospital, Zhongshan 528400, Guangdong Province, China

Supported by the Key Item from Science and Technology Program of Guangdong Province, No. 20012176, and the Medical Research Fundation of Guangdong Province, No. A2001195

Correspondence to: Rui-Yun Xu, Department of Hepatobiliary Surgery, the Third Affiliated Hospital of Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510630, China. xuruiyun@yahoo.com.cn

Received: 2006-09-27 Accepted: 2006-10-25

Abstract

AIM: To improve canine model of esophagogastric varices.

METHODS: A total of 26 canines were used to establish the models of esophagogastric varices with different methods. In group A, nine models of esophagogastric varices were established with two silk in portal vein. In group B, a side-to-side portocaval shunt was performed in 17 canines, with the inferior vena cava ligated, and the portal vein was gradually constricted by a balloon constrictor in order to increase portal vein pressure. The portal pressure, esophagogastric varices grades, coronary venography, and esophageal pathologic changes were examined in both groups.

RESULTS: The mean portal pressure was significantly higher in group B than that in group A (20.7 ± 2.4 cm H₂O vs 16.3 ± 2.5 cm H₂O, $P < 0.05$). The esophagogastric varices grades ($P = 0.026$), numbers (2.7 ± 1.0 vs 4.1 ± 1.2 , $P < 0.05$) and diameters (1.4 ± 0.3 mm vs 2.1 ± 0.8 mm, $P < 0.05$) of varicose veins were also significant different between group A and B.

CONCLUSION: The portocaval shunt with a balloon constrictor is feasible and reliable for the induction of esophagogastric varices.

Key Words: Portal hypertension; Esophagogastric varices; Animal model

Fang HP, Tang ZF, Liu B, Liu CZ, Pan WD, Xu RY. An improved reproducible canine model of esophagogastric varices. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):161-164

摘要

目的: 改进制作食管/胃底静脉曲张动物模型的方法。

方法: 选取成年杂种犬26条, 随机分成A、B两组, A组($n = 9$)采用门静脉丝线栓塞法; B组($n = 17$)采用可充式水囊缩窄环渐进性压迫缩窄门静脉联合门腔转流方法(以下简称可充式水囊缩窄造模法)制作动物模型, 对比两组门静脉压力、胃镜分级、门静脉系统造影图片、食管横切片黏膜下曲张静脉数量和管径、手术时间和术后生存率。

结果: 成模后A组门静脉平均压力为 16.3 ± 2.5 cm H₂O, B组门静脉平均压力为 20.7 ± 2.4 cm H₂O, 差异显著($P < 0.05$)。A、B组成模后食管/胃底静脉曲张胃镜分级($P = 0.026$)、食管横切片曲张静脉数量(2.7 ± 1.0 vs 4.1 ± 1.2 , $P < 0.05$)和管径(1.4 ± 0.3 vs 2.1 ± 0.8 , $P < 0.05$)均有显著差异。

结论: 可充式水囊缩窄造模法是制作食管/胃底静脉曲张动物模型的有效方法。

关键词: 门静脉高压症; 食管; 静脉曲张; 动物模型

背景资料

食管/胃底静脉曲张动物模型是门静脉高压症临床与实验研究的重要平台, 国内外现存造模方法如Dennis、Sakata制模法, 丝线、白苺粉、PVA栓塞门静脉法, 丝线结扎门静脉联合门腔转流法等, 都存在一个共同缺点, 即成模不稳定, 或成模成功率低, 或所形成的食管/胃底静脉曲张非常轻微, 或模型维持时间短暂等, 影响了研究工作的顺利开展, 并对研究结果的可靠性带来了较大的负面影响。因此, 改进现有造模方法, 制作稳定、持久、成功率高的食管/胃底静脉曲张动物模型, 对门静脉高压症的研究(尤其是治疗方法的研究)具有重要意义。

■创新盘点

本研究对Dennis的“琼脂缩窄环造模法”进行改进,自行设计了“可充式水囊缩窄造模法”,并以成年杂种犬为对象,对该法的造模效果进行了评价。

方和平, 汤照峰, 刘波, 刘池拽, 潘卫东, 许瑞云. 食管/胃底静脉曲张动物模型制作的改进. 世界华人消化杂志 2007;15(2):161-164

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/161.asp>

0 引言

食管/胃底静脉曲张动物模型是门静脉高压症临床与实验研究的重要平台^[1-3], 国内外现存造模方法如Jensen^[4]、Sakata^[5]制模法, 丝线^[6]、白芪粉^[7]、PVA^[8]栓塞门静脉法, 丝线结扎门静脉联合门腔转流法^[9-10]等, 但都存在一个共同缺点, 即成模不稳定, 或成模成功率低. 因此, 改进现有造模方法, 制作稳定、持久、成功率高的食管/胃底静脉曲张动物模型, 对门静脉高压症的研究(尤其是治疗方法的研究)具有重要意义. 本研究对Dennis的“琼脂缩窄环造模法”进行改进, 自行设计了“可充式水囊缩窄造模法”, 并以成年杂种犬为对象, 对该法的造模效果进行了评价。

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年杂种犬26条, 雌雄不限, 体重12.3-22.6 (平均 16.1 ± 2.5) kg, 动物由中山大学医学院实验动物中心提供. 随机分成A, B两组, A组9条采用门静脉丝线慢性栓塞法. B组17条采用可充式水囊缩窄造模法制作模型,

1.2 方法

1.2.1 门静脉丝线慢性栓塞法^[3] A组: 上腹部正中切口开腹, 开腹后胃网膜右静脉插管水柱法测压, 暴露门静脉前壁, 将肝胃韧带离断以防止形成新侧支回流. 将两根十号丝线分别穿进两个18号针头, 在门静脉前壁距离胃冠状静脉汇入口上方0.5 cm向肝门方向30度角穿刺, 轻轻送入丝线约10 cm, 退出针头, 丝线被保留在门静脉内, 纱布压迫局部止血. 门静脉距离肝门1.5 cm以丝线结扎缩窄50%, 关腹.

1.2.2 可充式水囊缩窄造模法(图1) B组: 取上腹部正中切口开腹, 暴露肝门部门静脉及其属支(胃十二指肠静脉和胃脾静脉)和下腔静脉. 结扎离断肝胃韧带, 在胃十二指肠静脉以上将门静脉游离约1.5 cm, 各放置缩窄环. 向下游离3-4 cm门静脉和肠系膜上静脉, 游离下腔静脉约3-6 cm, 在胃脾静脉汇入门静脉以下行门静脉-下腔静脉侧吻合. 将一直径0.8 cm, 长1.0 cm可充式水囊缩窄环套于肝门部门静脉游离段(图2), 在门-腔吻合口近心端0.5-1.0 cm处以7号丝线结扎下腔静脉, 使下腔静脉血流经吻合口汇入门静脉. 再次测定



图1 可充式水囊缩窄环.

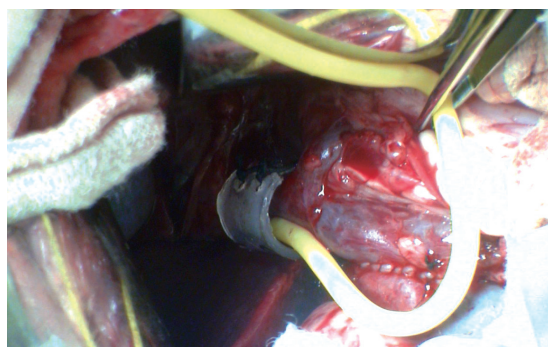


图2 门腔吻合口.

门静脉压力, 试验性向球囊注水以充盈球囊, 记录压迫门静脉1/2, 2/3及全部闭塞所需水量, 将球囊注水端自腹壁引出并固定包埋于皮下. 术后7-10 d按照术中测得的水量注射泛影葡胺至球囊以缩窄门静脉1/2-2/3, 14-21 d再次注入泛影葡胺, 摄片球囊完全被造影剂充满, 外形与缩窄环一致, 至此门静脉完全阻断.

术前分别行胃镜检查, 食管曲张静脉程度按以下标准记录: I级: 曲张静脉直径小于1.0 mm; II级: 曲张静脉直径1.0-2.0 mm; III级: 曲张静脉直径2.0-3.0 mm; IV级: 曲张静脉直径大于3.0 mm. 开腹后分别测量两组门静脉压力; 手术时间; 动物生存率; 成模后行胃镜检查, 开腹行门静脉压力测定, 门静脉系统造影, 取食管下段距齿状线2 cm全食管冠状切片行病理检查, 每个标本取3张切片, 计数黏膜下曲张静脉数量和管径, 直径大于0.5 mm静脉纳入计数.

统计学处理 应用SPSS10.0 for windows软件进行统计学分析, 计量资料以mean±SD表示, 均数的比较采用t检验, 等级资料采用秩和检验. $P < 0.05$ 有统计学意义.

2 结果

术前两组门静脉压力A组为 12.3 ± 1.8 cm H₂O, B

组为 12.7 ± 1.2 cm H₂O ($P > 0.05$)无显著差异. 成模后两组门静脉压力A组为 16.3 ± 2.5 cm H₂O, B组为 20.7 ± 2.4 cm H₂O ($P < 0.05$)有显著差异. 成模后A、B组食管/胃底静脉曲张内镜分级见表1, A组小于B组, 差异显著($P < 0.05$). 成模后门静脉造影显示, 食管/胃底周围迂曲扩张的静脉曲张数量(条)A组为 3.0 ± 1.2 , B组为 4.8 ± 1.9 有显著差异($P < 0.05$); A组管径(mm)为 1.4 ± 0.3 , B组为 2.1 ± 0.8 有显著差异($P < 0.05$). 成模后模型的全食管冠状病理切片中平均静脉曲张数量(条)A组 2.7 ± 1.0 , B组 4.1 ± 1.2 条, 有显著差异($P < 0.05$). 平均静脉曲张管径(mm)A组 1.1 ± 0.4 , B组 1.7 ± 0.6 , 有显著差异($P < 0.05$). 平均手术时间, A组 49 ± 3 min, B组 93 ± 5 min; 两组动物术后生存率均为100%.

3 讨论

国内外学者根据门静脉高压症的发生机制和门脉高压性血管病变的特点^[11-12], 通过增加门静脉阻力或/和增加门静脉血流量, 建立了不同的门静脉高压症食管/胃底静脉曲张模型, 如Jensen *et al*^[4]门腔吻合加琼脂环逐渐缩窄门静脉术; Sakata *et al*^[5]的近端脾静脉-肾动脉、远端脾静脉-肾静脉吻合术; 国内李宗芳 *et al*^[6]的缩窄门静脉主干1/2加丝线慢性栓塞术等. 各种方法普遍存在成模不稳定, 或成模成功率低, 或所形成的食道/胃底静脉曲张非常轻微, 或模型维持时间短等, 影响了研究工作的顺利开展. Dennis的制作模型方法被运用较多, 但该方法制模不稳定, 且约1/3需二次手术结扎门静脉, 手术操作相对复杂, 实验动物死亡率高, 琼脂缩窄环缩窄门静脉的程度难以控制. Sakata做两个吻合口, 吻合口径较小, 易栓塞致失败, 并且需二次手术缩窄, 动物存活率低. 因此我们对Dennis的制模方法进行了改进.

食管/胃底静脉曲张破裂出血的各种治疗方法, 尤其是内镜治疗^[13-15], 大多需要食管/胃底静脉曲张动物模型作为研究基础. 理想的食管/胃底静脉曲张模型应该具备制作简单、成模率高、模型维持时间长、对进一步实验耐受性好等特点, 模型的食管/胃底静脉曲张程度以及维持时间是至关重要的. 我们在Dennis制作模型的方法上进行改进, 采用可充式水囊缩窄环渐进性缩窄门静脉. 优点是: 通过注水量不同可自由控制每次缩窄门静脉程度, 在X光下注入造影剂可动态观察门静脉被分次缩窄直至完全闭塞.

表1 A、B组食管/胃底静脉曲张内镜分级

组别	内镜分级			
	I级(条)	II级(条)	III级(条)	IV级(条)
A	5	3	1	0
B	3	6	5	3

Dennis琼脂缩窄环靠琼脂的自然膨胀来缩窄门静脉, 不能人为控制门静脉缩窄程度, 在他的文章中就明确指出部分动物因缩窄不完全, 需二次开腹手术闭塞门静脉. 有学者采用体外丝线收紧法结扎缩窄门静脉, 缩窄程度和可控性也不够确切. 经我们改进后方法有效的保证了每个模型的门静脉均得到有效缩窄, 避免了二次手术, 提高了一次成模率.

食管/胃底静脉曲张模型的制作方法中丝线栓塞法方法简单、成模率高, 故我们将可充式水囊缩窄造模法与李宗芳提倡的丝线法做了比较. 比较后发现该法成模后门静脉压力明显高于丝线法, 食管/胃底静脉曲张的程度重于丝线法, 静脉曲张的数量也多于丝线法. 该法虽然在模型制作难度上略大于丝线法, 但在成模后门静脉压力增高程度、静脉曲张的数量和程度上均优于丝线法. 原因: 可充式水囊缩窄造模法中将门腔静脉间建立一较大吻合口, 且在吻合口上方结扎下腔静脉, 使下腔静脉血全部回流至门静脉系统, 大大增加了门静脉系统灌注量; 分次缩窄门静脉避免了突然闭塞门静脉导致回流障碍引发的死亡, 同时为侧支循环的建立提供充分的时间; 门静脉闭塞后, 门静脉系统及下腔静脉系统大量血流需通过门腔间大量开放的侧支循环回流. 丝线法仅仅缓慢闭塞门静脉而门静脉血流量并未大量增加是远远不够的; 且丝线栓塞仍有再通可能; 从解剖上看狗的肝脏有5叶之多, 门静脉分支较多, 栓塞其中两条不足以完全闭塞门静脉.

致谢: 感谢邓美海、凌云彪副教授、林楠主治医师、俞中和老师等对本论文的支持和帮助.

4 参考文献

- 1 Stiegmann GV, Sun JH, Hammond WS. Results of experimental endoscopic esophageal varix ligation. *Am Surg* 1988; 54: 105-108
- 2 刘浔阳, 朱晒红, 黄飞舟, 聂晚频, 刘波, 任树平. 食管静脉曲张微创测压研究. *中华消化杂志* 2001; 21: 411-413
- 3 李孝生, 沈鼎明, 邹建忠, 刘长安, 张炼. 小剂量心得安加川芎嗪预防食管静脉曲张破裂出血的实验与临床研究. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 135-138
- 4 Jensen DM, Machicado GA, Tapia JL, Kauffman G,

同行评价

本文具备一定科学性和创新性, 基本反映我国胃肠病学临床研究的先进水平.

- Franco P, Beilin D. A reproducible canine model of esophageal varices. *Gastroenterology* 1983; 84: 573-579
- 5 Sakata H, Inokuchi K, Nagamine K, Koyanagi N. Esophageal varices produced in dogs. *Jpn J Surg* 1985; 15: 81-88
- 6 李宗芳, 刘效恭, 王英, 高寰, 刘振堂, 韩庆, 吴涛, 蔡根喜. 缩窄门静脉主干1/2加丝线慢性栓塞术制备犬门静脉高压症模型. *中华实验外科杂志* 1997; 14: 314-315
- 7 章来长, 廖谨愉, 李卫东, 童明超. 白芪粉栓塞门静脉制备犬门脉高压症模型的实验研究. *航空军医* 1994; 22: 19-21
- 8 王瑞祥, 宣正荣, 裴正安, 邓跃华, 于东风, 万圣云, 王光升, 王蔚萱. 门静脉内注射PVA制作犬肝内型门脉高压症模型. *肝胆外科杂志* 1996; 4: 241-243
- 9 卢焕元, 刘浔阳, 尹朝晖, 黄飞舟, 任树平, 李瑞珍. 食管静脉曲张犬模型的制备及评价. *华夏医学* 2003; 16: 12-14
- 10 张太平, 郑利军, 刘效恭, 王英. 犬食管静脉曲张模型制备. *新乡医学院学报* 1994; 11: 358-360
- 11 冷希圣. 门静脉高压症发病机制的研究现状. *世界华人消化杂志* 1999; 7: 369-371
- 12 李涛, 杨镇. 门脉高压性血管病变的研究进展. *世界华人消化杂志* 2000; 13: 64-68
- 13 Jensen DM, Machicado GA, Hirabayashi K. Randomized double-blind studies of polysaccharide gel compared with glue and other agents for hemostasis of large veins and bleeding canine esophageal or gastric varices. *J Trauma* 2004; 57: S33-S37
- 14 Suga T, Akamatsu T, Kawamura Y, Saegusa H, Kajiyama M, Nakamura N, Takei M, Matsumoto A. Actual behaviour of N-butyl-2-cyanoacrylate (histoacryl) in a blood vessel: a model of the varix. *Endoscopy* 2002; 34: 73-77
- 15 Jutabha R, Jensen DM, Egan J, Machicado GA, Hirabayashi K. Randomized, prospective study of cyanoacrylate injection, sclerotherapy, or rubber band ligation for endoscopic hemostasis of bleeding canine gastric varices. *Gastrointest Endosc* 1995; 41: 201-205

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

欢迎行阅 2007 年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》,荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》,俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录。

《世界华人消化杂志》综合介绍以下领域的内容: 消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用、消化专家门诊。

《世界华人消化杂志》2006年由北京报刊发行局发行,国际标准刊号 ISSN 1009-3079,国内统一刊号CN 14-1260/R,邮发代号82-262,出版日期每月8, 18, 28日,月价72.00,年价864元。欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅。联系地址: 100023,北京市2345信箱,世界胃肠病学杂志社。联系电话: 010-85381901-1020; 传真: 010-85381893; E-mail: wcjd@wjgnet.com; 网址: www.wjgnet.com。

干、鲜壁虎冻干粉对小鼠H22肝癌体内外抑制作用

杨金霞, 王学美, 朱伟, 富宏, 刘庚信

杨金霞, 王学美, 朱伟, 富宏, 刘庚信, 北京大学第一医院中西医结合研究室 北京市 100034
国家自然科学基金资助项目, No. 30472137
国家中医药管理局资助项目, No. 04-05ZP04
通讯作者: 王学美, 100034, 北京市西城区西什库大街8号, 北京大学第一医院中西医结合研究室. wangxuemei64@sohu.com
电话: 010-66551122-3053 传真: 010-66551328
收稿日期: 2006-08-21 接受日期: 2006-10-25

Anti-tumor effects of dry and fresh *Gekko Swinhonis* Gunther freeze-dried powders on mouse H22 hepatocellular carcinoma *in vivo* and *in vitro*

Jin-Xia Yang, Xue-Mei Wang, Wei Zhu, Hong Fu, Geng-Xin Liu

Jin-xia Yang, Xue-Mei Wang, Wei Zhu, Hong Fu, Geng-Xin Liu, Department of Integrated Chinese Medicine and Western Medicine, the First Hospital of Peking University, Beijing 100034, China
Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30472137, and the Fund from State Administration of Traditional Chinese Medicine, No. 04-05ZP04
Correspondence to: Xue-Mei Wang, Department of Integrated Chinese Medicine and Western Medicine, the First Hospital of Peking University, 8 Xishiku Street, Beijing 100034, China. wangxuemei64@sohu.com
Received: 2006-08-21 Accepted: 2006-10-25

Abstract

AIM: To investigate the anti-tumor activity of dry and fresh *Gekko Swinhonis* Gunther freeze-dried powder (DGFP and FGFP) on mouse H22 hepatocellular carcinoma *in vivo* and *in vitro*.

METHODS: The mice bearing H22 tumor cells were used in this study. After treatment with DGFP and FGFP *in vivo* and *in vitro*, the anti-tumor effects as well as the weights of thymus and spleen were measured, and the proliferation of H22 cells was detected by MTT assay.

RESULTS: The tumor inhibition rates of low-, moderate- and high-dose DGFP were 25.6%, 40.0%, 48.5%, while those of FGFP were 20.7%, 27.4%, and respectively, *in vivo*. As compared with those in 5-FU group, the weights together with the indexes of thymus and spleen were

markedly increased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$) after DGFP or FGFP treatment. The serum containing DGFP and FGFP obviously restrained the proliferation of H22 cells *in vitro*, and the inhibition rates of low-, moderate- and high-dose DGFP were 17.4%, 21.0%, and 34.5%, while those of FGFP were 16.4%, 26.3%, and 43.2%, respectively.

CONCLUSION: DGFP and FGFP have conspicuous anti-tumor effects.

Key Words: *Gekko Swinhonis* Gunther; Anti-tumor activity; Hepatocellular carcinoma; Mouse

Yang JX, Wang XM, Zhu W, Fu H, Liu GX. Anti-tumor effects of dry and fresh *Gekko Swinhonis* Gunther freeze-dried powders on mouse H22 hepatocellular carcinoma *in vivo* and *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):157-160

摘要

目的: 研究干、鲜壁虎冻干粉对荷H22实体型移植瘤小鼠体内抑瘤作用及其含药血清体外对H22肝癌细胞的增殖抑制作用。

方法: 采用昆明小鼠H22移植瘤模型观察干、鲜壁虎冻干粉体内抑瘤活性及小鼠胸腺、脾脏指数变化; MTT法检测不同浓度干、鲜壁虎冻干粉含药血清对H22肝癌细胞体外杀伤作用。

结果: 干、鲜壁虎低、中、高3个剂量组的抑瘤率分别为25.6%, 40.0%, 48.5%和20.7%, 28.1%, 51.1%。各壁虎组与西药5-FU组相比, 不同程度提高了荷瘤小鼠的胸腺质量($P < 0.01$)、胸腺指数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)和脾脏质量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)、脾脏指数($P < 0.05$)。含药血清在体外能够明显抑制H22细胞的增殖, 干、鲜壁虎低、中、高含药血清组的增殖抑制率为17.4%, 21.0%, 34.5%和16.4%, 26.3%, 43.2%。

结论: 干、鲜壁虎冻干粉均具有良好的抗肿瘤作用。

关键词: 壁虎; 抗肿瘤作用; H22肝癌; 小鼠

背景资料

当今恶性肿瘤已成为严重危害人类健康的一大类疾病, 寻找有效的治疗方法有着重要的现实意义。大量的临床报道证明, 壁虎可用于治疗多种疾病, 特别是对肿瘤有独特的疗效。

■名词解释

中药血清药理学: 给实验动物灌服中药一定时间后, 取其血清进行实验的药理学研究。中药血清药理学是研究和探索中药药效作用的一种体外实验方法, 对成分复杂的中药及粗提物制剂的药理实验提供了正确性、真实性和可靠性的保证。

杨金霞, 王学美, 朱伟, 富宏, 刘庚信. 干、鲜壁虎冻干粉对小鼠H22肝癌体内外抑制作用. 世界华人消化杂志 2007;15(2):157-160

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/157.asp>

0 引言

壁虎始载于《本草纲目》, 并记载: “咸, 寒, 有小毒”, 为壁虎科动物无蹼壁虎(*Gekko swinhonis* Gunther)或多痣壁虎(*Gekko japonicus* Cdumerit et Bi)及其他几种壁虎的干燥全体。《四川中药志》关于壁虎的功效有“驱风, 破血积包块, 治肿瘤”的记录。大量的临床报道证明, 壁虎对许多疾病疗效确切, 特别是对肿瘤有独特的疗效。壁虎的炮制在《医学纲目》中有“烘干”的记载。其使用方法分内服和外用两种。近年来以鲜壁虎为主要原料的金龙胶囊应用于治疗多种肿瘤, 有较好的疗效, 能显著提高患者的生存质量^[1-9]。我们就干、鲜壁虎冻干粉体内、外抗小鼠H22肝癌作用报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 干壁虎和鲜壁虎均购自河北祁澳中药饮片有限公司, 经中国科学院动物研究所两栖爬行类动物专家康景贵研究员鉴定为无蹼壁虎。加工过程: 活体无蹼壁虎冷冻处死即为鲜壁虎, 体质量3 g左右; 用烤箱烘干冷冻处死的壁虎即为干壁虎, 每只约1 g左右。干、鲜壁虎的体质量之比约为1:3。干、鲜壁虎均用清水洗净, 粉碎匀浆冻融10次, 自然沉淀取上清, 低温离心10 000 r/min离心20 min, 取上清, 冷干机抽干上清成冻干粉, 保存于-20℃冰箱备用。干、鲜壁虎的冻干粉获得率均为5%(冻干粉质量/壁虎原材料质量)。干、鲜壁虎液的配制: 用去离子水溶解干、鲜壁虎冻干粉制备干、鲜壁虎液, 其浓度以单位体积的溶液中含有的壁虎原材料的量来衡量。配制的壁虎液经0.22 μm微孔滤膜过滤除菌, 保存于-20℃冰箱备用。氟尿嘧啶注射液(上海旭东海普药业有限公司), 加适量的生理盐水配成3 g/L的浓度备用。RPMI1640培养液和胎牛血清(Gibco), 四甲基偶氮唑盐(MTT, Sigma), 二甲基亚砜(DMSO, Solarbio), 昆明小鼠, 体质量19-23 g, ♀♂各半, 112只; 昆明小鼠, 体质量30 g左右, ♀♂各半, 20只。H22肝癌的种鼠由北京大学肿瘤研究所提供。江苏江阴周庄科研器械厂DS200高速度组织捣碎机, Du Pond company PC-5C低温高速离心机, Elela Freeze Dryer FD-1冷干机, Olympus CKX41光学显微镜, Shimadzu

AEU-210电子天平, Bio-Rad Model 1酶标仪。

1.2 方法

1.2.1 体内抑瘤实验 H22肝癌细胞7 d传代1次, 第2代用于实验。无菌抽取7 d龄小鼠腹腔肿瘤细胞, 加入生理盐水调整肿瘤细胞密度至 4×10^9 /L。后于每只小鼠的右腋下注射0.2 mL肿瘤细胞悬液。24 h后, 随机将小鼠分为8组: 即对照组、5-FU组、干壁虎低、中、高组和鲜壁虎低、中、高组, 每组10只。各组间体质量无差异($P > 0.05$)。模型组以生理盐水灌胃, 0.2 mL/d。西药组以5-FU(浓度为3 g/L) 0.2 mL隔天ip。壁虎给药组以相应浓度的干、鲜壁虎液灌胃给药, 每只小鼠灌胃量为0.2 mL/d。连续给药12 d后引颈处死小鼠, 剥瘤、称质量、计算抑瘤率。局部实体瘤生长的抑制率 = [(对照组平均瘤质量-实验组平均瘤质量)/对照组平均瘤质量] × 100%。引颈处死小鼠后, 立即分离胸腺和脾脏, 剔除周围结缔组织和脂肪, 用滤纸吸干脏器表面水分, 称质量, 计算脏器指数。胸腺(脾脏)指数 = 胸腺(脾脏)质量(mg)/体质量(g)。

1.2.2 含药血清体外抑瘤实验 取体质量约30 g的昆明小鼠20只, 随机分为两组, 每组10只, ♀♂各半。分别灌服2 kg/L的鲜壁虎液和0.67 kg/L的干壁虎液各0.3 mL, Bid。连续给药3 d后, 摘除小鼠眼球取血, 于4℃静置3 h后, 3000 r/min离心20 min, 取上清, 56℃, 30 min灭活血清, 0.22 μm无菌滤器过滤除菌, 置于-20℃冰箱备用。另H22肝癌细胞7 d传代1次, 第2代用于实验。无菌抽取7 d龄小鼠腹腔肿瘤细胞, 用含100 mL/L胎牛血清的RPMI1640培养液调整肿瘤细胞浓度至 5×10^7 /L。接种于96孔板, 每孔100 μL。实验设对照组、干、鲜壁虎含药血清低、中、高组。干、鲜壁虎低、中、高组分别加入相应的含药血清6.3, 12.5, 25 μL, 使血清的浓度分别为50, 100, 200 mL/L。调整板内各孔液体总量, 使其均为125 μL。不足者补以含100 mL/L胎牛血清的RPMI1640培养液。培养板置于37℃, 50 mL/L CO₂的孵箱中培养72 h后, 每孔加入5 g/L的MTT液(现用现配) 25 μL。37℃, 50 mL/L CO₂饱和继续孵育4 h后中止培养。离心弃上清, 每孔加入DMSO 200 μL, 振荡10 min溶解沉淀, 混匀后以酶标仪于570 nm波长处读取各孔吸光度(A_{570nm}), 计算肿瘤细胞生长抑制率 = [(对照孔 A_{570nm} 均值-实验组 A_{570nm} 均值)/对照 A_{570nm} 均值] × 100%。

统计学处理 采用SPSS11.5统计软件, 数据形式采用mean ± SD的形式表示。组间比较采用

■同行评价

本文研究了干、鲜壁虎冻干粉对荷H22实体型移植瘤小鼠体内抑瘤作用及其含药血清对体外H22肝癌细胞的增殖抑制作用, 发现干、鲜壁虎抑瘤率与西药5-FU组相近, 但干、鲜壁虎能不同程度提高了荷瘤小鼠的胸腺质量、胸腺指数和脾脏质量, 具有明显优势. 该研究对利用干、鲜壁虎抗肝癌研究具有指导意义.

表 1 各组荷瘤小鼠体质量及抑瘤率的比较(mean ± SD, n = 14)

分组	D(mg/d)	体质量 (g)		瘤质量(g)	抑瘤率(%)
		给药前	给药后		
对照组	-	21.8 ± 1.4	33.9 ± 4.7 ^d	1.9 ± 0.7 ^d	0
5-FU组	0.6	21.8 ± 1.2	28.86 ± 2.00 ^b	0.74 ± 0.53 ^b	61.9
干低组	67	21.9 ± 1.2	33.20 ± 3.50 ^d	1.44 ± 1.16 ^c	25.6
干中组	133	21.98 ± 0.98	31.29 ± 1.59	1.16 ± 0.72 ^a	40.0
干高组	267	21.91 ± 1.04	31.19 ± 1.50	0.99 ± 0.57 ^b	48.5
鲜低组	200	21.91 ± 0.93	33.76 ± 3.19 ^d	1.52 ± 1.11 ^c	20.7
鲜中组	400	21.9 ± 1.2	32.25 ± 5.84 ^c	1.39 ± 0.94	28.1
鲜高组	800	21.9 ± 1.2	30.3 ± 2.5 ^a	0.9 ± 1.0 ^b	51.1

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs 5-FU组.

表 2 各组荷瘤小鼠胸腺指数和脾脏指数的比较(mean ± SD, n = 14)

分组	D(mg/d)	胸腺质量 (mg)	胸腺指数 (mg/g)	脾质量 (mg)	脾脏指数 (mg/g)
对照组	-	81.05 ± 34.53 ^d	2.37 ± 0.99 ^c	275.36 ± 93.48 ^d	7.93 ± 2.01 ^d
5-FU组	0.6	35.94 ± 13.29 ^b	1.25 ± 0.49 ^a	165.99 ± 59.98 ^b	5.70 ± 1.86 ^b
干低组	67	72.21 ± 29.40 ^d	2.22 ± 1.04 ^d	246.91 ± 43.60 ^d	7.45 ± 1.14 ^c
干中组	133	80.04 ± 31.40 ^d	2.58 ± 1.09 ^d	221.30 ± 78.76	7.08 ± 2.53
干高组	267	67.28 ± 33.15 ^d	2.17 ± 1.08 ^c	204.84 ± 39.68 ^a	6.57 ± 1.26
鲜低组	200	67.21 ± 16.71 ^d	2.01 ± 0.52 ^c	250.64 ± 82.84 ^d	7.42 ± 2.32 ^c
鲜中组	400	64.33 ± 21.11 ^d	2.03 ± 0.78 ^c	235.74 ± 109.70 ^c	7.16 ± 2.75
鲜高组	800	69.29 ± 32.93 ^d	2.31 ± 1.14 ^d	201.91 ± 70.55 ^a	6.63 ± 2.05

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组; ^cP<0.05, ^dP<0.01 vs 5-FU组.

单因素方差分析, 检验水准α = 0.05.

2 结果

2.1 体内抑瘤实验 各组小鼠的体质量较对照组均有所减轻. 干、鲜壁虎各组小鼠的体质量与对照组相比, 只有鲜高组小鼠体质量明显减轻 ($P<0.05$). 5-FU组小鼠体质量较对照组减轻更为显著 ($P<0.01$, 表1). 干、鲜壁虎组的平均瘤质量均小于对照组, 以鲜高组抑瘤率最高51.1%, 5-FU组的抑瘤率61.9%, 干、鲜壁虎低、中、高3个剂量组的抑瘤率分别为25.6%, 40.0%, 48.5%, 和20.7%, 28.1%, 51.1%. 干中、干高组和鲜中、鲜高组与5-FU组的瘤质量相比较没有统计学差异(表1). 干、鲜壁虎各组与对照组小鼠的胸腺质量和胸腺指数没有明显差异. 而5-FU组胸腺质量和胸腺指数较对照组明显降低 ($P<0.01$, 或 $P<0.05$). 与5-FU组相比, 干、鲜壁虎各组小鼠的胸腺质量均显著升高 ($P<0.01$), 胸腺指数也明显升高 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$). 与对照组相比, 各壁虎组仅干高、鲜高组小鼠的脾脏质量有明显减轻 ($P<0.05$), 然脾脏指数均没有明显的统计学差异. 5-FU组不论在脾脏质量或是脾脏指数都较对照组明显降低 ($P<0.01$). 干低、鲜低

表 3 壁虎含药血清对H22肝癌细胞的体外抑制增殖作用

分组	含药血清 (mL/L)	A _{570nm}	抑制增殖率 (%)
对照组	-	0.487 ± 0.062	0
干壁虎组	50	0.277 ± 0.019 ^b	17.4
	100	0.359 ± 0.017 ^b	21.0
	200	0.407 ± 0.014 ^b	34.5
鲜壁虎组	50	0.319 ± 0.044 ^b	16.4
	100	0.385 ± 0.021 ^b	26.3
	200	0.402 ± 0.025 ^b	43.2

^bP<0.01 vs 对照组.

组的脾脏指数较5-FU组明显升高 ($P<0.05$, 表2).

2.2 体外抑瘤实验结果 干、鲜壁虎的含药血清都可抑制H22细胞的体外增殖, 其抑制率分别为17.4%, 21.0%, 34.5%, 和16.4%, 26.3%, 43.2%, 呈现良好的剂量依赖关系. 各壁虎含药血清组的A值与对照组相比都有显著差异 ($P<0.01$, 表3)

3 讨论

壁虎抗肿瘤效果显著, 其用法基本分鲜品直接入药和炮制烘干入药两类^[10]. 体内、外抑瘤实验表明, 干、鲜壁虎均有良好的抗肿瘤效果. 干壁虎各组和鲜壁虎各组瘤质量比较也无显著性差异. 说明干、鲜壁虎均有很好抗小鼠肝癌H22的

作用,且作用效果相近.自古有“采其鲜者,其力足耳”“生者尤良”的说法,然本实验结果提示,鲜壁虎抗肿瘤效果较干壁虎无明显优势.壁虎究竟如何炮制、采用何用法抗肿瘤疗效最好,有待于进一步深入研究.体内抑瘤实验表明,5-FU抑制肿瘤生长的作用最为显著,但他有明显的免疫抑制作用,其给药组小鼠的胸腺质量、胸腺指数和脾脏质量、脾脏指数较对照组明显降低.西药虽然能在较短时间有效杀伤肿瘤细胞,但是杀伤肿瘤的同时也严重损伤了机体的免疫功能,全身状态急剧恶化,不利于肿瘤的继续治疗,甚至加速了机体的死亡,副作用不容忽视.体内实验结果表明,各壁虎组小鼠的胸腺质量、胸腺指数和脾脏质量、脾脏指数4个指标较5-FU组均有不同程度升高,较对照组均没有明显差异.当免疫器官的重量减轻时,机体的免疫系统的功能受到破坏,肿瘤的生长速度加快^[1].与抗肿瘤西药相比,干、鲜壁虎能保护荷瘤小鼠的免疫功能,改善机体的整体状态,此为壁虎治疗肿瘤的优势之一.

血清药理学实验结果表明,含干、鲜壁虎的含药血清能显著抑制肿瘤细胞增殖.既往研究中药药理的离体实验多采用中药粗制剂直接体外给药,但由于中药粗提物并不能代表在体内真正发挥作用的有效成分,加之中药本身的理化性质也会干扰实验结果,因此对其可信度难以进行客观的评定.1989年日本学者田代真一提出了“血清药理学”和“血清药化学”的概念.血清药理学的方法具有能防止中药粗制剂本身理化性质对实验干扰,尤其是模拟药物的体内过程,实现体外实验的有效性等优点,被国内学者广泛采用并取得了很好的效果^[12-15].

我们采用血清药理学方法得出的实验结果进一步印证了壁虎的抗肿瘤效果,并且与体内抑瘤实验结果基本一致,这也印证了血清药理

学的实验方法是科学有效的.

中药在抗肿瘤方面有多途径、多靶点的特点,故可能干鲜壁虎抗肿瘤作用也是多途径共同发挥作用的结果.目前,对干、鲜壁虎抗肿瘤效果的比较研究及其抗肿瘤成分的研究较少.其抗肿瘤的有效成分为何,有待结合药物化学进行深入研究.此外,干、鲜壁虎的抗肿瘤作用靶点、作用途径也有待于进一步深入研究.

4 参考文献

- 1 杨金霞,王学美.壁虎治疗肿瘤的研究进展.世界华人消化杂志 2006; 14: 2428-2431
- 2 时水治.李建生治疗非霍奇金淋巴瘤临证举隅.北京中医 2005; 24: 83-85
- 3 梁铁军,秦成勇,张才擎,赵小茜.金龙胶囊联合肝动脉化疗栓塞治疗原发性肝癌疗效观察.中国肿瘤临床 2005; 32: 641-643
- 4 李俊,王三虎,范先基,张定进,石彧,王志祥,胡正刚.金龙胶囊配合辨证用药治疗中晚期恶性肿瘤40例.第四军医大学学报 2005; 26: 1667
- 5 张捷,王海,张咏梅.金龙胶囊联合HFL方案治疗晚期胃癌.首都医药 2005; 12: 33-34
- 6 陈熙.金龙胶囊合并化疗治疗晚期非小细胞肺癌的临床观察.实用肿瘤杂志 2006; 21: 267-268
- 7 孙建梅,杨水生,马燕凌.金龙胶囊对晚期肝癌生存质量及生存期的影响.湖北中医杂志 2006; 28: 34
- 8 崔永玲.金龙胶囊结合中药辨证治疗食管癌60例疗效观察.北京中医 2006; 25: 381-382
- 9 黄金昶.金龙胶囊结合辨证用药治疗原发性肝癌62例临床观察.医药产业咨询 2006; 3: 100-101
- 10 陈明,黄坚航.中药壁虎现代研究进展.世界科学技术—中药现代化 2001; 3: 53-56
- 11 Bu-Dong Zhu, Shou-Jun Yuan, Qi-Cheng Zhao, Xin Li, Yan Li, Qi-Ying Lu. Antitumor effect of Gefitinib, an epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, combined with cytotoxic agent on murine hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1382-1386
- 12 韩克起,凌昌全.中药体外抗肿瘤效应血清药理学研究现状与前景.中国中西医结合杂志 2003; 23: 717-719
- 13 张德付.中药血清药理学方法在肿瘤研究中存在的主要问题及对策.中医研究 2004; 17: 13-14
- 14 王喜军.中药血清药物化学的研究动态及发展趋势.中国中药杂志 2006; 31: 789-792
- 15 袁冬生,王新华,李常青,刘妮.复方肝癌宁含药血清诱导肝癌HepG-2细胞凋亡的实验研究.世界华人消化杂志 2006; 14: 522-525

电编 李琪 编辑 潘伯荣

皱皮木瓜总黄酮松弛胃肠平滑肌的效应机制

柳蔚, 杨兴海, 周敏, 李从德

柳蔚, 杨兴海, 三峡大学医学院药理教研室 湖北省宜昌市 443002
周敏, 李从德, 三峡大学医学院生理教研室 湖北省宜昌市 443002
湖北省教育厅基金资助项目, No. 2004J001
通讯作者: 柳蔚, 443002, 湖北省宜昌市大学路8号, 三峡大学医学院药理教研室. liuwe_i_sxdx@163.com
电话: 0717-6397466
收稿日期: 2006-11-02 接受日期: 2006-11-21

Pharmacodynamical mechanisms of total flavonoids from *Chaenomeles Lagenaria Koidz* in the relaxation of gastrointestinal smooth muscles

Wei Liu, Xing-Hai Yang, Min Zhou, Cong-De Li

Wei Liu, Xing-Hai Yang, Department of Pharmacology, Medical College of Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China
Min Zhou, Cong-De Li, Department of Physiology, Medical College of Three Gorges University, Yichang 443002, Hubei Province, China
Supported by the Fund from Education Department of Hubei Province, No. 2004J001
Correspondence to: Wei Liu, Department of Pharmacology, Medical College of Three Gorges University, 8 Daxue Road, Yichang 443002, Hubei Province, China. liuwe_i_sxdx@163.com
Received: 2006-11-02 Accepted: 2006-11-21

Abstract

AIM: To elucidate the mechanisms of total flavonoids from *Chaenomeles Lagenaria Koidz* (FLC) in relaxing gastrointestinal smooth muscle.

METHODS: The relaxant effect of 2, 4 and 8 g/L FLC on the contraction induced by acetylcholine (ACh), high potassium chloride (KCl) and calcium chloride (CaCl₂) in the isolated taenia coli, jejunum and ileum from rabbits.

RESULTS: FLC and Verapamil inhibited the contraction of the isolated rabbit taenia coli and ileum induced by high K⁺ depolarization in a dose-dependent manner, and they also decreased the maximal responses. FLC at the

concentration of 8 g/L inhibited the auto-rhythmic contraction of the isolated rabbit jejunum (frequency: 5.83 ± 2.64 vs 12.52 ± 0.41, *P*<0.01; tension: 0.76 ± 0.26 g vs 2.13 ± 0.21 g, *P*<0.01) and Ach-induced contraction (frequency: 7.00 ± 2.44 vs 13.10 ± 0.90, *P*<0.01; tension: 0.87 ± 0.34 g vs 3.47 ± 0.57 g, *P*<0.01). FLC also inhibited the contraction of the isolated ileum in a concentration-dependent way, and the contraction extents were significantly decreased as compared with those in the controls (2.53 ± 0.45, 1.35 ± 0.57 mm vs 5.41 ± 0.64 mm, *P*<0.01).

CONCLUSION: FLC can relax the contraction of gastrointestinal smooth muscle via voltage dependant calcium channel (VDC).

Key Words: Total flavonoids from *Chaenomeles Lagenaria Koidz*; Gastrointestinal smooth muscle; Calcium antagonist; Acetylcholine

Liu W, Yang XH, Zhou M, Li CD. Pharmacodynamical mechanisms of total flavonoids from *Chaenomeles Lagenaria Koidz* in the relaxation of gastrointestinal smooth muscles. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):165-167

摘要

目的: 探讨皱皮木瓜总黄酮(FLC)松弛胃肠平滑肌作用机制及其与Ca²⁺的关系。

方法: 采用家兔离体空肠、回肠和结肠带生物测定法, 在离体标本灌流槽中以Tyrode's液平衡家兔空肠、回肠和结肠带, 分别观察FLC对空肠自律性收缩、对ACh诱导空肠收缩、对高钾所致结肠带收缩、以及CaCl₂诱导回肠平滑肌收缩的影响。

结果: FLC和Ver对高K⁺去极化所致结肠带收缩呈剂量依赖性松弛作用, 压低最大效应(E_{max}); FLC(8 g/L)对空肠自律性收缩(频率: 5.83 ± 2.64 vs 12.52 ± 0.41, *P*<0.01; 张力: 0.76 ± 0.26 g vs 2.13 ± 0.21 g, *P*<0.01)和ACh诱导的收缩反应(频率: 7.00 ± 2.44 vs 13.10 ± 0.90, *P*<0.01; 张力: 0.87 ± 0.34 g vs 3.47 ± 0.57 g, *P*<0.01)均具抑制作用; FLC剂量依赖性抑制

背景资料

木瓜为蔷薇科植物贴梗海棠的干燥成熟果实, 主产安徽、山东、浙江、湖北、云南、贵州、四川等地, 其外表棕红色, 皱纹深, 质地坚硬, 味酸, 气味清香, 因其形态得名“皱皮木瓜”, 历史上以资丘木瓜和川木瓜为道地药材而畅销于药市。其味酸温, 入肝、脾经, 有祛风、活络健脾、舒肝止痛、和胃化湿之功效, 可用于预防和治疗风湿病、霍乱、痢疾、肠炎、脚气病及维生素C缺乏症等。生物类黄酮具有多种生物活性, 配合维生素C在临床上应用已久。随着研究方法和技术的不断提高, 不断发现许多新的种类和作用, 使生物类黄酮的研究进入了一个新的阶段, 掀起了研究和开发利用的热潮。

■创新亮点

本文立足于观察皱皮木瓜总黄酮对高钾致家兔结肠带收缩的影响、对空肠自律性收缩的影响、对ACh及CaCl₂诱导回肠平滑肌收缩的影响,判断皱皮木瓜黄酮舒张胃肠道平滑肌的作用机制。

Ca²⁺诱导回肠收缩作用, 4、8 g/L时收缩幅度显著低于对照组(2.53±0.45, 1.35±0.57 mm vs 5.41±0.64 mm, $P<0.01$)。

结论: FLC抑制胃肠平滑肌的功能与阻断电压依赖性的钙通道有关。

关键词: 皱皮木瓜总黄酮; 胃肠平滑肌; 钙拮抗剂; 乙酰胆碱

柳蔚, 杨兴海, 周敏, 李从德. 皱皮木瓜总黄酮松弛胃肠平滑肌的效应机制. 世界华人消化杂志 2007;15(2):165-167

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/165.asp>

0 引言

皱皮木瓜(*Chaenomeles Lagenaria Koidz*)为一常用中药, 主要产于我国安徽、浙江、湖北和四川等地, 因产地不同, 分别有宣木瓜(安徽宣城)、资木瓜(湖北长阳资丘)和川木瓜等命名。皱皮木瓜中主要成分包括有机酸、黄酮类和皂甙等^[1]。资木瓜种植历史悠久, 现已被湖北省科技厅列入十大道地药材。为了深入探讨皱皮木瓜中的有效部位及其生物活性成分对胃肠平滑肌的影响, 本实验利用皱皮木瓜总黄酮(FLC)进行药效学机制的深入分析。

1 材料和方法

1.1 材料 健康家兔, ♀♂不拘, 体质量2.5±0.5 kg, 由本校实验动物中心提供。FLC由三峡大学化学学院提供。氯化乙酰胆碱(acetylcholine chloride, ACh), 上海试剂三厂产品。维拉帕米(Verapamil, Ver), 天津药业集团公司产品。其他普通试剂均为市售分析纯。实验用Tyrode's液(mmol/L): NaCl 136.9, KCl 2.68, CaCl₂ 1.80, MgCl 1.05, NaH₂PO₄ 0.42, glucose 5.55。无钙Tyrode's液除无钙外, 其他成分与标准Tyrode's液相同。PowerLab离体器官灌流仪(澳大利亚)。

1.2 方法 取禁食不禁水24 h家兔, 猛击头部致昏后, 迅速取出与十二指肠相邻的空肠约1.5-2.0 cm, 用营养液反复冲洗肠内容物备用, 同时取出升结肠肠段约4-5 cm, 冲洗肠腔至净, 沿结肠带的走行取结肠带约1.5 cm备用。标本分别置于含10 mL的Tyrode's液(37±0.5℃)的浴槽中, pH7.2-7.4, 标本前负荷1 g, 连续通950 mL/L O₂+50 mL/L CO₂混合气体, 通过肌力传感器将标本张力记录于PowerLab离体器官灌流仪。

统计学处理 数据以mean±SD差表示, 应用SPSS10.0软件, 组间比较用 t 检验; 作图工具用

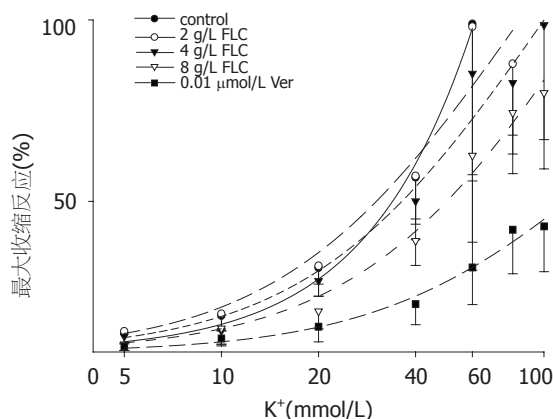


图1 FLC和Ver对高钾致家兔结肠带收缩的影响。

SigmaPlot 2001软件。

2 结果

2.1 FLC和Ver对高钾致家兔结肠带收缩的影响^[2] 结肠带在Tyrode's液中平衡30 min后, 累加递增浓度的KCl(5-100 mmol/L), 建立KCl累积量效曲线, 然后用Tyrode's液冲洗至肌张力恢复, 分别加入2, 4, 8 g/L的FLC和0.01 μmol/L Ver, 15 min后重测KCl累积量效曲线。结果FLC浓度依赖性压低E_{max}, 其中8 g/L FLC对40, 60, 80和100 mmol/L KCl致收缩与对照组比较差异显著($P<0.05$), 其作用类似于Ver, 呈非竞争性拮抗(图1)。

2.2 FLC对家兔空肠自律性收缩和ACh诱导收缩的影响^[3] 空肠在Tyrode's液平衡30 min后, 产生规律而衡定的自律性收缩, 加入0.01 mmol/L ACh后收缩频率与正常无异, 但张力增加约30%, 然后分别加入2, 4, 8 g/L FLC, 记录在不同实验条件下空肠收缩频率和张力的变化, 观察10 min。FLC无论是对空肠自律性收缩, 还是ACh诱导收缩均剂量依赖性抑制其功能。对收缩频率与收缩张力相比, 张力抑制更明显(表1)。

2.3 FLC对CaCl₂诱导回肠平滑肌收缩的影响^[4] 实验方法和条件同2.1, 标本温育后换无钙Tyrode's液, 可见回肠自律性收缩逐渐减弱, 当收缩频率和张力明显受抑制后, 加入CaCl₂ 2.0 mmol/L, 可见回肠收缩作用迅速恢复, 记录收缩幅度和张力的变化, 用无钙Tyrode's液冲洗标本3次, 分别加入2, 4, 8 g/L的FLC, 5 min后同法加入Ca²⁺, 比较给药前后样本对CaCl₂收缩作用的影响。对照组: 5.41±0.64 mm; 当FLC浓度为2 g/L, 收缩幅度为4.88±0.79 mm, 当FLC浓度分别为4 g/L, 8 g/L时, 回肠的收缩张力明显减弱

■应用要点

目前生物类黄酮的研究呈现热潮, 在多种植物中发现黄酮类成分, 但其含量均不相同。作为传统道地药材的皱皮木瓜中主要成分包括有机酸、黄酮类和皂甙等, 随着生物黄酮类研究的进一步深入, 皱皮木瓜将具有更加广阔的开发利用前景。

表 1 FLC对家兔空肠自律性收缩和Ach诱导收缩的影响 (mean±SD, n = 6)

分组	自律性收缩频率(次/min)		张力(g)		Ach诱导收缩频率(次/min)		张力(g)	
	给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后	给药前	给药后
2 g/L	12.72 ± 0.46	12.17 ± 1.25	2.78 ± 0.26	2.42 ± 0.41	13.00 ± 0.61	12.00 ± 0.83	3.87 ± 0.61	2.85 ± 0.42
4 g/L	12.71 ± 0.45	11.00 ± 1.37	2.34 ± 0.25	1.67 ± 0.43	13.00 ± 0.91	11.00 ± 1.15	3.51 ± 0.63	1.94 ± 0.42 ^a
8 g/L	12.52 ± 0.41	5.83 ± 2.64 ^b	2.13 ± 0.21	0.76 ± 0.26 ^b	13.10 ± 0.90	7.00 ± 2.44 ^b	3.47 ± 0.57	0.87 ± 0.34 ^b

^aP<0.05; ^bP<0.01 vs 给药前.

(2.53 ± 0.45 mm, 1.35 ± 0.57 mm)且具有剂量依赖性(P<0.01), 高浓度时作用明显.

3 讨论

皱皮木瓜为传统中药, 用药历史悠久, 具有多方面的药理作用, 但其中的化学成分复杂, 药理作用机制不清, 其潜在的价值未得到充分开发与利用. 本实验室在对皱皮木瓜的乙醇提取物进行研究时, 发现其对胃肠道平滑肌的舒张作用可能和钙拮抗有关. 因此利用FLC对胃肠运动功能的作用进行了进一步的探讨.

平滑肌细胞膜上钙通道分为5类: 电压依赖性钙通道(VDC)、受体操纵钙通道(ROC)、第二信使操纵钙通道(SMOC)、牵张激活钙通道(SAC)以及背景钙通道^[5]. 其中, VDC是主要的通道^[6-7], 可为高K⁺所激活^[8-9]. 高钾引起标本的收缩是由于K⁺使细胞膜除极化, 导致电压依赖性的钙通道(VDC)开放, 使外钙内流和内钙释放增加而收缩. 这一作用不仅对胃肠平滑肌, 而且对血管、子宫和气管等平滑肌亦有类似作用^[10-13].

细胞内的Ca²⁺浓度的调节由细胞膜钙通道、细胞器钙摄取和释放、钙泵及Na⁺-Ca²⁺交换系统参与. 由于胃肠道平滑肌细胞膜上的钙通道远比骨骼肌细胞膜上的钙通道多, 所以钙通道和钙离子在胃肠平滑肌动作电位中居主导地位^[14]. 静息状态下, Ca²⁺不能自由通过功能正常的细胞膜. 当细胞膜兴奋时, 膜特异的钙通道开放, 细胞内Ca²⁺浓度升高, 同时触发细胞内细胞器钙库释放Ca²⁺, 胞质内Ca²⁺升高达到一定水平(1-50 μmol/L)时, Ca²⁺与肌钙蛋白或肌调蛋白结合, 从而产生细胞收缩活动等. 对于主要是依赖外钙而实现收缩(相对于骨骼肌)的胃肠平滑肌, 一旦影响了外钙浓度或内流, 即会明显影响其收缩活动.

实验中发现, FLC对高钾致结肠带收缩具有剂量依赖性的抑制, 说明他能特异性阻断VDC,

减少外钙内流和内钙释放而松弛平滑肌. 此作用机理为皱皮木瓜用于胃肠解痉提供了理论基础. 目前电压依赖性钙通道的研究较为深入, 并克隆出6种电压依赖的钙通道, 已正式命名的有4种: 即L-, N-, T-和P-型^[15]. FLC通过阻滞哪种VDC发挥其舒张平滑肌的作用, 有待今后深入研究.

4 参考文献

- 1 陈洪超, 丁立生, 彭树林, 廖循. 皱皮木瓜化学成分的研究. *中草药* 2005; 36: 30-31
- 2 王红娟, 马欣, 白宇飞, 张小娟. 大豆黄酮血管舒张作用与血管内皮的关系. *中国药理学通报* 2005; 21: 946-949
- 3 胡晓, 周俐, 连其深, 曾靖, 杨敬格, 赖飞. 花椒毒酚对家兔离体回肠的作用. *中国中药杂志* 2001; 26: 56-58
- 4 朱焰, 王敏伟, 刘铮, 吴静生. 盐酸丙哌维林对豚鼠离体膀胱平滑肌条的钙拮抗作用. *中国药理学通报* 2003; 19: 780-783
- 5 吴斌. 平滑肌细胞内钙水平对胃肠动力的调节. *国外医学·消化系疾病分册* 2005; 25: 97-100
- 6 Cannell MB, Cheng H, Lederer WJ. The control of calcium release in heart muscle. *Science* 1995; 268: 1045-1049
- 7 张驰, 张宗明. 钙池操纵的Ca²⁺通道研究中工具药的应用及进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 231-234
- 8 Xiong Z, Sperelakis N. Regulation of L-type calcium channels of vascular smooth muscle cells. *J Mol Cell Cardiol* 1995; 27: 75-91
- 9 Paoletti R, Govoni S. Classification of calcium antagonists: proposal of the WHO Committee. *Pharmacol Res Commun* 1987; 19: 195-208
- 10 蒋惠娣, 汝海龙, 王霄霞, 夏强, 屠洁. 木犀草素对大鼠主动脉的舒张作用及相关机制研究. *中国药理学杂志* 2005; 40: 427-430
- 11 张团笑, 贺殿, 牛彩琴, 秦晓民. 葡萄籽原花青素舒张家兔离体主动脉的研究. *中草药* 2006; 37: 87-89
- 12 李志强, 马力扬, 徐敬东. 北苍术对大鼠子宫平滑肌收缩的影响. *中药药理与临床* 2005; 21: 39-40
- 13 王岩, 王麟, 关福兰, 金万宝. 利多卡因对大鼠离体气管平滑肌的作用及机制. *中国医科大学学报* 2005; 34: 520-522
- 14 梁宁霞, 衣兰娟, 田琳, 胡凡, 刘翠萍, 魏睦新. 槟榔碱促结肠平滑肌细胞收缩及对胞内钙离子浓度的影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 676-681
- 15 1995 Receptor and ion channel nomenclature supplement. *Trends Pharmacol Sci* 1995; Suppl: 1-73

电编 李琪 编辑 张焕兰

同行评价

本文对皱皮木瓜总黄酮对胃肠道平滑肌的调节作用进行研究, 对进一步了解皱皮木瓜的药理作用有重要的意义, 内容有一定的先进性和实用性.

脑死亡状态对巴马小型猪胰腺及小肠组织中蛋白激酶-C的影响

李文涛, 周闯, 宋燕, 翟文龙, 马秀现, 张水军

■背景资料

器官移植是治疗终末期器官疾病的最有效方法。供体来源短缺是制约移植技术发展的主要因素。欧美国家、新加坡、日本、中国的香港和台湾地区已建立了脑死亡法及其器官捐献的法律, 我国尚未出台脑死亡的相关法律, 器官短缺更为突出。目前全国普遍采用的无心跳者(尸体)供体, 数量少、质量差, 并因有悖于国际上供体来源的主流, 将很快被限制使用。

■研发前沿

国外临床器官移植中发现, 脑死亡供体的器官在移植前形态和功能方面都有损伤性变化。因此, 建立稳定的动物供体脑死亡模型和脑死亡供体器官移植模型, 探讨脑死亡状态下供体器官损伤和机制及其损伤防护的途径, 已成为移植学界必须面对的问题。

李文涛, 周闯, 宋燕, 翟文龙, 马秀现, 张水军, 郑州大学第一附属医院普外科 河南省郑州市 450052
通讯作者: 张水军, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院普外科. zhangshuijun@zzu.edu.cn
电话: 0371-65066615
收稿日期: 2006-09-29 接受日期: 2006-10-25

Effects of brain death on protein kinase C expression in pancreatic and intestinal tissues of Ba-Ma mini pigs

Wen-Tao Li, Chuang Zhou, Yan Song, Wen-Long Zhai, Xiu-Xian Ma, Shui-Jun Zhang

Wen-Tao Li, Chuang Zhou, Yan Song, Wen-Long Zhai, Xiu-Xian Ma, Shui-Jun Zhang, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China
Correspondence to: Shui-Jun Zhang, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, He'nan Province China. zhangshuijun@zzu.edu.cn
Received: 2006-09-29 Accepted: 2006-10-25

Abstract

AIM: To investigate the effects of brain death on the expression of protein kinase C (PKC) in the pancreatic and intestinal tissues of Ba-Ma mini pigs.

METHODS: Ten Ba-Ma mini pigs were randomized into 2 groups: brain-dead group (group B, $n = 5$) and control group (group C, $n = 5$). Intracranial pressure was increased to induced the brain-dead model. Pancreatic and intestinal tissues were sampled for electron microscopy at the 6th, 12th and 24th hour after modeling. Reverse transcription-polymerase chain reaction and immunohistochemistry were used to detect the expression of PKC- α both at mRNA and protein levels, respectively.

RESULTS: PKC- α mRNA was expressed in both pancreatic and intestinal tissues and it was increased with brain-dead time. However, the expression of PKC- α mRNA was not found in the

normal controls. The protein expression of PKC- α was significantly higher in pancreatic and intestinal tissues of group B than that of group C, and it was also significantly varied between different time points (0.151 ± 0.0108 vs 0.381 ± 0.038 vs 0.6209 ± 0.031 ; $P < 0.05$). PKC- α protein expression was located in the cytoplasm of pancreatic and intestinal cells, and few positive cells were found. Electron microscopy showed that the pathological changes were more severe in group B.

CONCLUSION: Brain death may lead to functional and morphological injury in pancreas and intestine and the up-regulation of PKC- α may play a role in this process.

Key Words: Brain death; Ba-Ma mini pigs; Protein kinase C; Pancreas; Intestine

Li WT, Zhou C, Song Y, Zhai WL, Ma XX, Zhang SJ. Effects of brain death on protein kinase C expression in pancreatic and intestinal tissues of Ba-Ma mini pigs. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):168-170

摘要

目的: 探讨脑死亡状态下胰腺及小肠组织中蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)水平的变化。

方法: 巴马小型猪10只, 随机平均分为脑死亡组及对照组。用颅内加压法建立脑死亡模型, 脑死亡后6、12和24 h点活检部分胰腺和小肠组织行电镜观察, 并用RT-PCR和免疫组化法检测PKC- α mRNA和蛋白的表达情况。

结果: 脑死亡组胰腺和小肠组织中PKC- α mRNA均表达, 并随着脑死亡时间的增加表达亮度增高, 而在对照组胰腺和小肠组织中PKC- α mRNA无表达。脑死亡组PKC- α 蛋白在胰腺和小肠组织中的表达显著高于对照组, 并且6、12、24 h间也有显著差异(0.6209 ± 0.031 vs 0.381 ± 0.038 vs 0.151 ± 0.0108 ; $P < 0.05$)。对照组PKC- α 蛋白在胰腺及小肠细胞胞质内表达, 仅见少量阳性细胞。电镜下, 脑死亡组胰腺及小肠组织形态学变化明显重

于对照组.

结论: 脑死亡状态下胰腺及小肠组织中PKC- α mRNA和蛋白表达水平明显升高, 这可能与脑死亡状态下胰腺及小肠的组织损伤有关.

关键词: 脑死亡; 巴马小型猪; 蛋白激酶C; 胰腺; 小肠

李文涛, 周闯, 宋燕, 翟文龙, 马秀现, 张水军. 脑死亡状态对巴马小型猪胰腺及小肠组织中蛋白激酶-C的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(2):168-170

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/168.asp>

0 引言

脑死亡状态能够引起机体器官的损伤性改变, 是器官移植中导致器官慢性丧失功能的一项重要危险因素^[1]. 蛋白激酶C可能参与了该损伤的发生, 但这方面的研究较少. 本实验利用巴马小型猪建立脑死亡模型, 探讨了脑死亡状态下胰腺及小肠组织中蛋白激酶C水平的变化.

1 材料和方法

1.1 材料 巴马小型猪10只(购自第三军医大学实验动物中心), 雌雄不限. 随机分为脑死亡组、对照组, 每组5只动物. 参照并改进Pratschke *et al*^[2]方法, 用颅内加压法建立脑死亡模型, 脑死亡组人工维持呼吸及血压, 记录巴马小型猪硬脑膜外腔压力的变化, 记录实验动物脑电变化, 观察心率和血压变化, 直至确认达到脑死亡状态. 巴氏小型猪脑死亡判定标准^[4-6]: (1)深昏迷; (2)瞳孔对光反射和角膜反射消失; (3)自主呼吸停止; (4)脑电静息; (5)阿托品试验阴性; (6)首次判定符合(1), (2), (3), (4)和(5)后, 观察12 h无变化, 方可判定为脑死亡. 对照组仅开颅, 维持全身麻醉. 在初次判定脑死亡后6, 12, 24 h, 开腹, 切取相同部位的部分胰腺及小肠组织.

1.2 方法

1.2.1 电子显微镜观察胰腺和小肠组织变化 用刀快速切取组织约50 mg, 将切取的组织切成30-50块放在25 g/L的戊二醛磷酸缓冲液固定液中, 用蔗糖冲洗液冲洗3次, 每次1-2 h, 过夜后, 用10 g/L的四氧化锇缓冲液冲洗后固定1-2 h, 用500, 700, 800, 900 mL/L乙醇以及无水乙醇各脱水10-15 min, 脱水后的组织块, 先用无水乙醇与环氧树脂1:1的混合剂浸透1 h, 再用纯环氧树脂浸透, 次日升温至60℃聚合固化, 48 h取出切片,

先切成半薄切片(厚约1 μ m), 行甲苯胺兰染色, 在光学显微镜下观察组织的形态, 并进行光学定位, 确定满意的部位后, 再修块定向作超薄切片, 应用醋酸双氧铀及柠檬酸铅双染色, 置于铜网上, 电镜下观察(日立H-5700透射电镜).

1.2.2 RT-PCR检测PKC- α mRNA的表达情况 用TRIzol(Invitrogen)抽提RNA, 设计检测引物上游引物: 5'-ACCGAGTGAACTCACGACTT-3', 下游引物: 5'-ATACTGCTTGTGGTTCCTTAA-3', 产物321 bp, 使用一步法反转录试剂盒(TaKaRa)完成RT-PCR反应, 反应条件: RT反应, 50℃, 30 min; RTase失活, 94℃, 2 min; 94℃变性, 30 s; 55℃退火, 30 s; 72℃延伸, 6 min; 30次循环, cDNA检测应用 β -actin引物, 上游引物: 5'-TCAAGATCATTGCTCCTCCTGA-3', 下游引物: 5'-CTCGTCATCTCCTGCTTGCTG-3'产物, 113 bp. 反应结束后, 取PCR反应液8 μ L进行20 g/L的琼脂糖凝胶电泳, 确认PCR扩增产物, 以表达PKC- α 的组织为阳性对照, 以目的基因与 β -actin的灰度比进行半定量分析.

1.2.3 S-P法免疫组化染色观察PKC- α 的表达情况 4 μ m厚石蜡切片65℃烘烤、脱蜡, 30 mL/L过氧化氢灭活内源性过氧化物酶5 min, 微波修复抗原, 加一抗4℃湿盒中过夜, 加生物素化二抗37℃反应30 min, 以辣根过氧化物酶标记链霉亲和素37℃处理30 min, 冲洗后加二氨基联苯胺(DAB)显色, 苏木素复染, 脱水、封片后在光镜下观察, 凡细胞质中出现明显的棕黄色颗粒者为阳性细胞. 免疫组化结果判定细胞染色为棕黄色者为阳性, 呈颗粒状或片状, 位于胞质与胞膜, 高倍镜下数五个高倍镜视野, 计算其中阳性细胞率, 阳性率 = 阳性细胞数/总细胞数, 计算其均数.

统计学处理 所有数值变异均采用均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示, 应用SPSS10.0分析软件, 采用重复数据方差分析、单因素方差分析, 进行统计处理, $P < 0.05$ 为差异有显著性.

2 结果

2.1 胰腺与小肠PKC- α mRNA的表达情况 经RT-PCR检测在脑死亡组胰腺和小肠组织中PKC- α mRNA均表达, 并随着脑死亡时间的增加表达亮度增高. 在对照组胰腺和小肠组织中PKC- α mRNA无表达.

2.2 胰腺与小肠PKC- α 蛋白的表达改变 PKC- α 在正常胰腺与小肠细胞表达在胞质内, 低倍镜($\times 200$)下仅见少量阳性细胞, 初次判定脑死亡

■应用要点

实验研究并临床推广应用脑死亡供体进行器官移植, 能够有效的缓解我国供体缺乏, 治愈更多急待器官移植的患者, 而且能够顺应国际供体来源的主流, 促进我国器官移植事业的发展, 具有重大的社会效益.

■名词解释

脑死亡: 指包括脑干在内的全脑机能丧失的不可逆性病理状态.

■同行评价

本研究脑死亡小猪胰腺及小肠的蛋白激酶-C表达,结果显示,蛋白激酶-C的mRNA和蛋白表达都明显升高,表示脑死亡后存在组织损伤;该研究对于器官移植具有临床借鉴意义,若同时测定细胞因子等炎性介质,并观察其时间顺序,则研究内容就更全面。

表 1 不同时间各组胰腺和小肠组织中PKC- α 蛋白表达率的变化 (mean \pm SD, $n = 5$)

分组	胰腺			小肠		
	6h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h
对照组	0.089 \pm 0.0113	0.095 \pm 0.028	0.099 \pm 0.011	0.084 \pm 0.011	0.093 \pm 0.027	0.099 \pm 0.012
脑死亡组	0.151 \pm 0.0108	0.381 \pm 0.038 ^a	0.6209 \pm 0.031 ^a	0.109 \pm 0.024	0.128 \pm 0.0142 ^a	0.300 \pm 0.0276 ^a

^a $P < 0.05$ vs 组内之间前一时间。

后6 h可见胰腺及小肠组织中阳性细胞显著增多,统计学分析表明6, 12和24 h脑死亡组PKC- α 阳性细胞阳性率高于对照组($P < 0.05$)(表1)。

2.3 胰腺及小肠超微结构变化 脑死亡后至12 h胰腺和小肠的外观正常。电镜下,脑死亡后12 h胰腺细胞内出现轻微线粒体肿胀,嵴紊乱,24 h可见胰腺细胞质水肿,线粒体肿胀,嵴消失,线粒体部分膜溶解等改变,但未见明显细胞坏死。小肠电镜下观察,细胞内结构损伤相对较轻。

3 讨论

脑死亡状态能够引起机体器官损伤性改变,是器官移植中影响脑死亡供体器官慢性丧失功能的一项重要危险因素。随着脑死亡研究的进展,有学者认为可能是炎性介质参与了此损伤过程,而蛋白激酶C可能在其中起了重要作用^[3-5]。PKC存在于胞质,在IP3-DG信号传导系统中发挥重要的作用。实验证实PKC- α 能促进炎症反应中TNF, IL-1 β , IL-6, IL-8, PAF, NO等的合成与释放,现已明确,PKC- α 能够激活NF- κ B^[6-7],PKC可以使NF- κ B的抑制物I κ B磷酸化从而导致NF- κ B-I κ B在胞质中解离,NF- κ B从胞质进入胞核发挥生理作用^[8]。NF- κ B目前被认为是调控机体炎症反应的总源头,活化后上调各种炎症介质如:TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、氧自由基等一系列物质。因此研究脑死亡状态下胰腺及小肠组织中PKC- α 水平的变化,可以间接反映出组织的损伤情况^[9-10]。

本实验中,初次判定脑死亡6 h后,检测到胰腺与小肠组织内PKC- α 蛋白水平在胰腺与小肠中高表达。由此推测PKC- α 在脑死亡时参与了脑死亡动物胰腺与小肠损伤过程,其机制可能是PKC- α 激活NF- κ B,促进大量炎症介质的合成

与释放如:TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等一系列物质,从而引起胰腺及小肠组织的非特异炎性损害。这种假设已经在我们的后续研究中得到证实,研究结果待发表。

4 参考文献

- 1 Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Beato F, Milford EL, Hancock WW, Tilney NL. Accelerated rejection of renal allografts from brain-dead donors. *Ann Surg* 2000; 232: 263-271
- 2 Pratschke J, Wilhelm MJ, Kusaka M, Laskowski I, Tilney NL. A model of gradual onset brain death for transplant-associated studies in rats. *Transplantation* 2000; 69: 427-430
- 3 张水军,李文涛,金中奎,苟建军,屈清荣,邓中月.脑死亡状态对大鼠肝脏损伤的影响. *中华实验外科杂志* 2002; 19: 542-543
- 4 Jassem W, Koo DD, Cerundolo L, Rela M, Heaton ND, Fuggle SV. Leukocyte infiltration and inflammatory antigen expression in cadaveric and living-donor livers before transplant. *Transplantation* 2003; 75: 2001-2007
- 5 Van Der Hoeven JA, Moshage H, Schuurs T, Nijboer M, Van Schilfgaarde R, Ploeg RJ. Brain death induces apoptosis in donor liver of the rat. *Transplantation* 2003; 76: 1150-1154
- 6 Hsu HY, Twu YC. Tumor necrosis factor- α -mediated protein kinases in regulation of scavenger receptor and foam cell formation on macrophage. *J Biol Chem* 2000; 275: 41035-41048
- 7 Ward C, Chilvers ER, Lawson MF, Pryde JG, Fujihara S, Farrow SN, Haslett C, Rossi AG. NF- κ B activation is a critical regulator of human granulocyte apoptosis *in vitro*. *J Biol Chem* 1999; 274: 4309-4318
- 8 Whiteside ST, Israel A. I kappa B proteins: structure, function and regulation. *Semin Cancer Biol* 1997; 8: 75-82
- 9 李英华,田晓峰,王真真,张雪松,张峰,金松,姚继红. NF- κ B对肠缺血再灌注肝损伤P-选择素表达和中性粒细胞浸润的作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 486-490
- 10 赖铭裕,梁志海,唐国都,孙学成.腹腔注射左旋精氨酸诱导急性坏死性胰腺炎大鼠模型. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2233-2236

电编 李琪 编辑 张焕兰

江苏汉族人群p53第7内含子多态性与慢性萎缩性胃炎无相关性

王剑蓉, 赖仁胜, 张心海, 谢玲

王剑蓉, 南京中医药大学基础医学院, 南京中医药大学附属医院病理科, 国家中管局三级分子生物学实验室 江苏省南京市 210029

赖仁胜, 谢玲, 南京中医药大学附属医院病理科, 国家中管局三级分子生物学实验室 江苏省南京市 210029

张心海, 南京中医药大学 江苏省南京市 210029

通讯作者: 赖仁胜, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 南京中医药大学附属医院病理科. lairenshe@163.com

电话: 025-86617141-70309

收稿日期: 2006-10-10 接受日期: 2006-10-25

No association between p53 gene intron 7 polymorphism and chronic atrophic gastritis in Han Chinese of Jiangsu province

Jian-Rong Wang, Ren-Sheng Lai, Xin-Hai Zhang, Ling Xie

Jian-Rong Wang, Basic Medical College, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine; Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine; the Third-Grade Laboratory of Molecular Biology, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Ren-Sheng Lai, Ling Xie, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine; the Third-Grade Laboratory of Molecular Biology, State Administration of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Xin-Hai Zhang, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Ren-Sheng Lai, Department of Pathology, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. lairenshe@163.com

Received: 2006-10-10 Accepted: 2006-10-25

Abstract

AIM: To explore whether the polymorphism of p53 gene intron 7 is associated with the occurrence of chronic atrophic gastritis (CAG) in Han Chinese of Jiangsu province.

METHODS: The genome DNA was extracted from tissues of 80 CAG patients and 76 healthy controls, and the exon 7 and 8 as well as the intron 7 within exon 7 and 8 of p53 gene were am-

plified by polymerase chain reaction (PCR). The products were sequenced after purification. The polymorphism of p53 gene intron 7 was comparatively analyzed with the standard sequences. The genotypes and allelic frequencies compared between the two groups using chi-square test.

RESULTS: In CAG cases, the allelic frequencies of the 72th base pair (bp) and the 92th bp in p53 gene intron 7 were 32.5% (T-G) and 67.5% (C-T), and the frequencies of genotype T-G/T-G, C-T/T-G, and C-T/C-T were 11.3%, 42.5%, and 46.3%, respectively. Meanwhile in the controls, the allelic frequencies of T-G and C-T were 29.6% and 70.4%, and the frequencies of genotype T-G/T-G, C-T/T-G, and C-T/C-T were 9.2%, 40.8%, and 50.0%, respectively. There were no significant differences in the allelic frequencies and genotypic distributions between the two groups ($P > 0.05$). The risk of CAG occurrence was not significantly different between the individuals with T-G and C-T allele ($OR = 1.14$).

CONCLUSION: There is no direct association between the polymorphism of p53 gene intron 7 and epigenetic penetrance of CAG in Han Chinese of Jiangsu province.

Key Words: Chronic atrophic gastritis; p53 gene; Polymorphism; Intron; Sequencing

Wang JR, Lai RS, Zhang XH, Xie L. No association between p53 gene intron 7 polymorphism and chronic atrophic gastritis in Han Chinese of Jiangsu province. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):171-175

摘要

目的: 探讨江苏汉族人群p53第7内含子多态性与慢性萎缩性胃炎(CAG)之间的相关性。

方法: 提取80例CAG患者、76例健康体检人群基因组DNA, PCR特异性扩增p53基因第7, 8外显子及其间的第7内含子, 产物纯化后测序, 将样品序列与标准序列进行比对, 观察第7内含子多态性。组间的基因型及等位基因频率比

■背景资料

p53基因作为抑癌基因在恶性肿瘤中的研究最为广泛, 但目前对p53基因多态性的研究仍处于初步阶段, p53第7内含子多态性与肿瘤相关性的报道各不相同; CAG与胃癌的发生关系密切, 探讨p53第7内含子多态性与CAG的相关性, 有助于揭示人类罹患胃癌的遗传学基础。

■ 研发前沿

以往, p53基因与肿瘤的研究集中在第5-8外显子突变上, 近年来, p53多态性与肿瘤的相关性日益受到重视, 其结果也存在分歧, 可能与样本量小、种族间差异等有关, 需要进一步扩大样本含量、统一研究方法 & 统计标准, 深入研究.

较采用 χ^2 检验.

结果: CAG组p53基因第7内含子的第72位碱基和第92位碱基等位基因分别为T-G (32.5%)和C-T (67.5%), 基因型表现为T-G/T-G (11.3%), C-T/T-G (42.5%)和C-T/C-T (46.3%) 3种; 在体检组中相应的等位基因T-G和C-T的频率是29.6%和70.4%, 3种基因型频率分布分别为9.2% (T-G/T-G), 40.8% (C-T/T-G)和50.0% (C-T/C-T). 等位基因频率和基因型分布在CAG组和体检组差异无统计学意义($P>0.05$), T-G等位基因携带者和C-T等位基因携带者患CAG的危险性差异无统计学意义($OR = 1.14$).

结论: 江苏汉族人群p53第7内含子多态性与CAG表遗传外显率无直接致病关系.

关键词: 慢性萎缩性胃炎; p53基因; 多态性; 内含子; 测序

王剑蓉, 赖仁胜, 张心海, 谢玲. 江苏汉族人群p53第7内含子多态性与慢性萎缩性胃炎无相关性. 世界华人消化杂志 2007;15(2):171-175

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/171.asp>

0 引言

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是临床常见的消化系统疾病, 与胃癌发生有一定的联系. p53基因是迄今发现的与人类肿瘤发生相关性最高的基因. p53外显子区的基因突变与肿瘤的相关性已经得到证实, 近年来有报道, p53内含子某些位点的多态性可能与肿瘤相关^[1]. p53基因第7内含子是位于与肿瘤关系最为密切的外显子7和8之间^[2]. 为探讨p53第7内含子多态性与癌前期疾病-CAG的相关性, 我们进行了以下研究.

1 材料和方法

1.1 材料 我们收集2004-01/2006-05江苏汉族CAG患者80例, 经胃镜及病理确诊, 并排除有其他疾病或者药物引起的胃病患者; 另有76例健康体检人群, 体检无异常发现, 无CAG等胃病, 无肿瘤及癌前病变, 无肿瘤家族史. 所有被检测者均知情同意参加本项检测. 80例CAG患者参照贝政平《内科疾病诊断病理标准》, 其中有轻度CAG 26例、中度CAG 39例、重度CAG 15例. 采集CAG患者新鲜的胃黏膜病灶组织2 mg、活检胃黏膜蜡块组织、2 mL抗凝血.

1.1.1 主要试剂 血液DNA提取试剂盒(Promega

公司); 动物组织基因组DNA提取试剂盒(Promega公司); 石蜡组织基因组DNA提取试剂盒(Omega公司); ABI金牌PCR扩增酶/HotStar PCR酶(QIAGEN); 琼脂糖(Promega公司); PCR纯化试剂盒(V-gene公司); 3100 POP6测序胶(美国ABI公司); ABI测序专用板(96孔).

1.1.2 主要仪器 ABI 3100-avant基因测序仪(美国ABI公司); ABI 2700型(测序级)PCR扩增仪(美国ABI公司); Ependoff DNA荧光定量仪(德国Ependoff公司); Jouan 4R: 冷冻离心机(法国JOUAN公司); Dy602S电泳仪(江苏捷达科技公司); YLN-2000荧光凝胶自动显像分析系统(江苏捷达科技公司); Gil-16A高速离心机(南京新校园生物技术研究所); Millipore离子纯水装置(法国Millipore公司).

1.2 方法

1.2.1 DNA模板的提取 用Promega公司血液组织基因组DNA提取试剂盒、动物组织基因组DNA提取试剂盒及Omega石蜡组织基因组DNA提取试剂盒, 按照说明提取DNA. 应用琼脂糖凝胶电泳技术检测DNA纯度, 再用ependoff核酸定量仪测定DNA浓度[260 nm吸光率>0.05以上(DNA含量>2.0 g/L), 吸光率 A_{260}/A_{280} 比值1.6-1.8之间, 320 nm波长处吸光率接近为0].

1.2.2 PCR扩增 (1)引物的设计与合成: 根据NCBI文献, 确定候选目的基因片段, 利用GenBank上提供的序列设计引物, 由上海生工合成. p53-F(上游引物): 5'TCTCCTAGGTTGGCTCTGACTG3'; p53-R(下游引物): 5'CCCTGGGGCAGCTCGTGGTG3'特异性扩增p53基因第7, 8外显子及其间的第7内含子, 产物片段585 bp; (2)PCR反应体系(总体积20 μ L): 10 \times PCR Buffer 2 μ L, HotStarTaq DNA Polymerase (QIAGEN公司) 0.2 μ L, 5 \times Q-Solution 4 μ L, dNTP mix 2 μ L, Primer 1 1 μ L, Primer 2 1 μ L, 模板DNA 1 μ L, Distilled water 8.8 μ L; (3)PCR反应条件: 应用ABI2700型扩增仪95 $^{\circ}$ C预变性15 min, 用Touchdown PCR技术, 94 $^{\circ}$ C变性50 s, 63-58 $^{\circ}$ C退火1 min, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min, 共循环10次, 94 $^{\circ}$ C变性50 s, 57 $^{\circ}$ C退火1 min, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min, 共循环30次, 最后于72 $^{\circ}$ C延伸10 min; (4)PCR产物纯化: 用自动凝胶显像系统电泳观察PCR扩增产物为单一目的条带. 用V-gene公司提供的PCR纯化试剂盒, 对PCR产物进行过柱纯化.

1.2.3 测序反应 (1)反应体系: 1 μ L BigDye

(2.5X)、1.5 μL BigDye Seq Buffer(5X)、3 μL引物、1 μL PCR纯化产物、3.5 μL ddH₂O; (2)测序PCR热循环条件: 96°C 10 s, (96°C 10 s, 50°C 5 s, 60°C 4 min)共25个循环60°C 4 min, 4°C保温; (3)测序产物纯化: 10 μL反应体系, 96孔板, 酒精/EDTA/NaAc法; (4)基因测序: 电泳前, 在数据采集(Data Collection2.0)软件中选取正确的运行模块和分析模块, 上样至3100-Avant遗传分析仪进行电泳, Data Collection软件自动进行数据处理和分析。

统计学处理 将测序结果用DNA Sequencing Analysis5.1自动分析原始数据, 获得测序电泳图和序列。将样品序列用DNA Star seqman与标准序列进行比对, 观察样本是否存在突变、缺失、多态性等改变。用SPSS13.0统计软件进行数据分析, 组间的基因型及等位基因频率比较采用 χ^2 检验。

2 结果

80例CAG患者和76例健康体检人群, p53第7, 8外显子区未发现病理性突变, 标本所测的外显子7, 8和第7内含子的碱基序列均与NCBI文献标准序列一致, 第7内含子序列上检测到两个多态性位点, 相距20 bp, 前一多态性位点位于第7内含子第72 bp处, 存在纯合子C, T和杂合子C/T 3种基因型, 后一多态性位点位于第7内含子第92 bp处, 有纯合子T, G和杂合子T/G 3种基因型, 两种多态性的组合中只出现纯合子C-T, T-G和杂合子C-T/T-G 3种基因型变化, 未发现C-G和T-T的组合(图1)。

2.1 p53第7内含子两组T-G, C-T型等位基因多态频率比较 T-G等位基因与C-T等位基因患CAG的危险性差异无统计学意义($OR = 1.14$, $P > 0.05$)。CAG组等位基因频率为T-G: 32.5%和C-T: 67.5%, 在体检组中相应的等位基因频率是T-G: 29.6%和C-T: 70.4%(表1)。

2.2 CAG组与体检组p53基因第7内含子多态性分布的比较 3种基因型在CAG组及体检组中的分布见表2。该结果显示, CAG组和体检组中基因型分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

CAG与胃癌的发生关系密切, 很可能是癌前过程的重要环节之一^[3]。伴大肠化生的CAG与胃癌的关系更为密切。Mutoh *et al*^[4]研究了肠型化生的Cdx2-转基因小鼠, 证实了p53基因突变在肠型胃癌中的作用, 并成功的显示了长期的肠化

表1 两组p53内含子多态性等位基因出现频率比较(n, %)

分组	n	等位基因		合计
		T-G	C-T	
CAG组	80	52(32.5)	108(67.5)	160
体检组	76	45(29.6)	107(70.4)	152

表2 3种基因型在不同组别中的分布(n, %)

基因型	CAG组	体检组
T-G/T-G	9(11.3)	7(9.2)
C-T/T-G	34(42.5)	31(40.8)
C-T/C-T	37(46.3)	38(50.0)
合计	80	76

可以导致侵袭性胃癌的发生。他们的研究结果表明, 肠化本身可能在胃癌的发生及预后有着重要的意义。

p53基因是细胞癌基因中研究最为广泛和深入的基因之一, 他是调控细胞周期和保护细胞染色体免受损伤的修复基因^[5]。人p53基因定位于17p1311, 长约16-20 kb。p53基因由11个外显子和10个内含子组成, 外显子1无编码功能。p53基因cDNA全长为2074 bp, 含有单一开放读码框架, 其5c端非翻译区为881个核苷酸和编码区由1179个核苷酸组成, 编码的蛋白由393个氨基酸组成, 相对分子质量为53 kDa的核磷酸化蛋白。p53基因的异常几乎存在于人类的所有肿瘤。p53基因异常与胃黏膜细胞的癌变过程密切相关, 胃癌组织中存在p53基因突变, 导致其编码蛋白的功能异常从而参与胃癌的发生、发展^[6-7]。p53外显子突变与胃癌的相关性已经得到证实, 但p53外显子突变率报道有所差异。Lu *et al*^[8]测了39例胃癌样本的p53的11个外显子区, 发现突变率为21%, 其中肠型胃癌突变率为40%, 明显高于弥漫型胃癌(8.33%)。Ott *et al*^[9]检测了53例胃癌样本的P53第2-11外显子区, 发现突变率为36%。

p53某些关键位点的突变可以直接造成细胞增殖异常。而在p53非热点区的少见突变及内含子的低频变异便形成人群的多态性。迄今为止, 在p53基因中至少可以检测到20个多态性位点, 虽然这些多态性的意义尚未明确, 但至少有多态性位点被证实可能与肿瘤的发生相关^[10-12], 即p53基因第4外显子的第72密码子CGC/CCC单核苷酸多态性、第3内含子16 bp插入重复序列

■ 创新盘点

目前, p53第7内含子与胃癌及其癌前病变—CAG相关性的研究尚未见报道; 本文应用直接测序法分析其相关性。

应用要点

探讨p53第7内含子与CAG的相关性,有助于分析癌变机制,对CAG及胃癌的防治,分子靶向药物治疗提供理论基础.

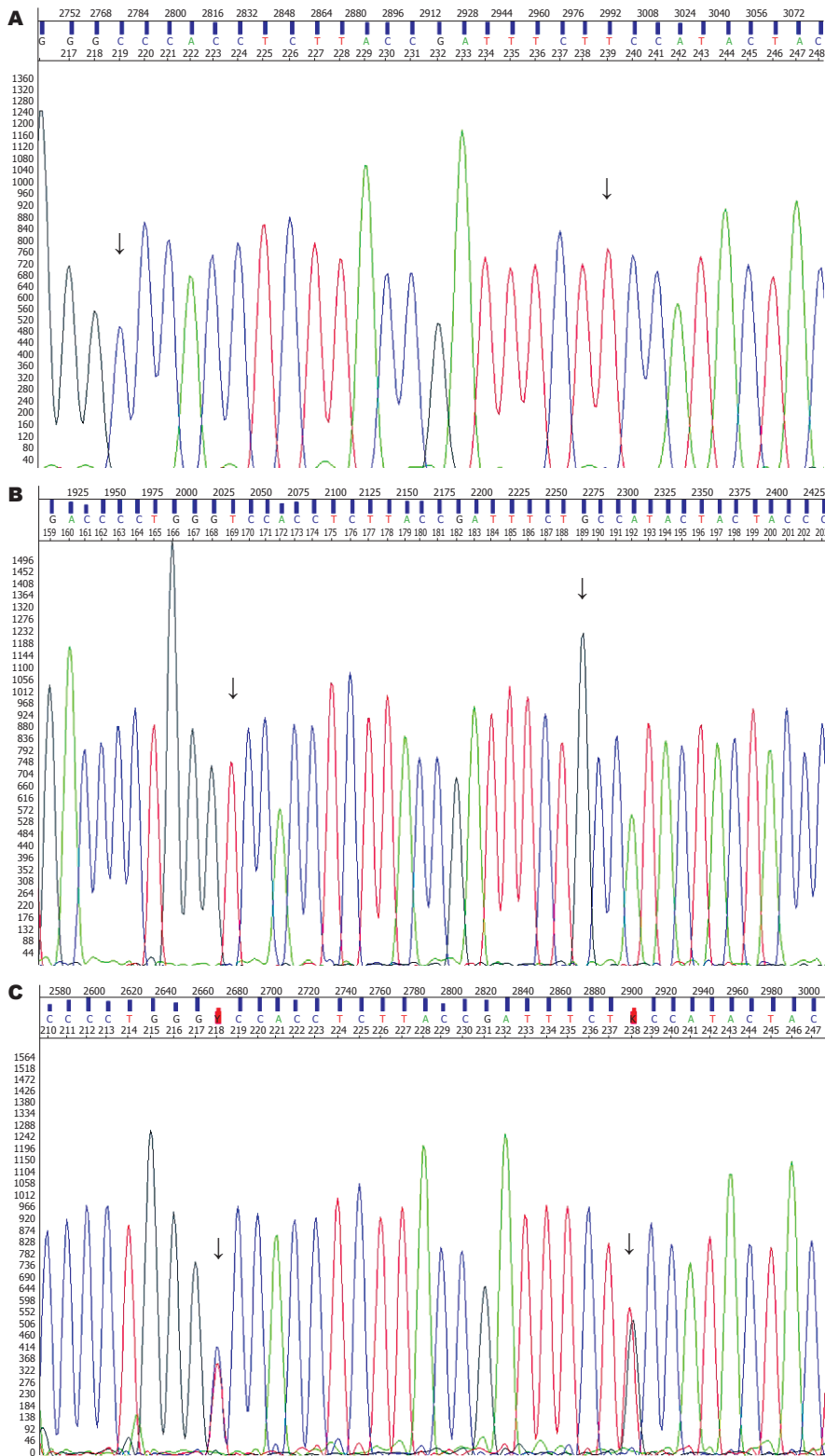


图1 纯合基因型 C-T/C-T, T-G/T-G 和杂合基因型 C-T/T-G测序图, 箭头所示为多态性位点.

和第6内含子的MSP I 限制性酶切位点. 有报道, p53基因第4外显子的第72密码子多态性与胃癌的发病相关^[13-14].

除外显子外, 内含子与基因的功能也越来越受到人们的关注, 其内藏的可读框架可以表达为成熟酶、逆转录酶和核酸内切酶, 与基因的表达和调控密切相关^[15-16]. 因此, 在不同种族

和人群中, 进一步研究这些基因多态性与肿瘤易感性的关系, 有助于揭示人类罹患肿瘤的遗传学基础. p53基因第7内含子是位于与肿瘤关系最为密切的外显子7和8之间. Berggren *et al*^[2]认为, p53第7内含子有两个核苷酸多态性位点, 第72 bp处有C-T多态性位点(位点1), 92 bp处有T-G多态性位点(位点2). 并且在所有的位点1: C

→T转变的样品中, 均存在位点2: T→G的转变。提示C→T和T→G的转变同时出现, 并且属于相同的等位基因。顾其华 *et al*^[17]报道了这两个位点呈连锁不平衡, 构成纯合子C-T/C-T, T-G/T-G和杂合子C-T/T-G 3种基因型人群。p53基因第7内含子的多态性变化属相近两个位点的连锁性变化, 因而随着等位基因的多态性变化, 不同基因型的p53基因构象会发生变化, 对其作用可能产生一定的影响。

p53第7内含子与肿瘤相关性的报道各不相同。有学者发现, p53第7内含子多态性与非小细胞肺癌(NSCLC)、口腔肿瘤遗传易感性有关^[18-19]。NSCLC患者C-T/C-T型基因频率明显低于正常人, 杂合子比例明显高于正常人; 纯合子T-G/T-G和杂合子C-T/T-G型基因携带者口腔肿瘤患病危险性较纯合型C-T/C-T高(*OR*分别为2.48和2.20), T-G等位基因携带者患口腔肿瘤的危险性较C-T等位基因携带者增高(*OR* = 1.69, 95%可信区间1.12-2.51), T-G等位基因可能是口腔肿瘤发生的危险因素。然而Berggren *et al*^[21]研究了159例膀胱癌患者及171例非肿瘤对照组发现, p53第7内含子多态性与膀胱癌的发病机制及病因无关。他对芬兰、波兰、匈牙利、意大利、日本、印度和中国不同种族人群p53第7内含子第72 bp的多态性研究发现, 该多态性在种族间差异有统计学意义, 单基因频率变化从芬兰人中的C: 95%和T: 5%至中国人的C: 67%和T: 33%。

目前, p53第7内含子与胃癌及其癌前病变-萎缩性胃炎相关性的研究尚未见报道。我们对80例CAG患者和76例健康体检人群应用直接测序法对比分析, 江苏汉族人群p53第7内含子多态性与CAG表遗传外显率无直接发病关系。然而, p53第7内含子多态性与CAG易感性的关系还需加大样本做流行病学研究, 并排除种族间存在差异的影响。

4 参考文献

- Kochethu G, Delgado J, Pepper C, Starczynski J, Hooper L, Krishnan S, Fegan C, Pratt G. Two germ line polymorphisms of the tumour suppressor gene p53 may influence the biology of chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk Res* 2006; 30: 1113-1118
- Berggren P, Hemminki K, Steineck G. p53 intron 7 polymorphisms in urinary bladder cancer patients and controls. Stockholm Bladder Cancer Group. *Mutagenesis* 2000; 15: 57-60
- Ali M, Khan AA, Tiwari SK, Ahmed N, Rao LV, Habibullah CM. Association between cag-pathogenicity island in *Helicobacter pylori* isolates

- from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 6815-6822
- Mutoh H, Sakurai S, Satoh K, Tamada K, Kita H, Osawa H, Tomiyama T, Sato Y, Yamamoto H, Isoda N, Yoshida T, Ido K, Sugano K. Development of gastric carcinoma from intestinal metaplasia in Cdx2-transgenic mice. *Cancer Res* 2004; 64: 7740-7747
- Tamura G. Alterations of tumor suppressor and tumor-related genes in the development and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 192-198
- Xu AG, Li SG, Liu JH, Gan AH. Function of apoptosis and expression of the proteins Bcl-2, p53 and C-myc in the development of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2001; 7: 403-406
- Tian SF, Xiong YY, Yu SP, Lan J. Relationship between *Helicobacter pylori* infection and expressions of tumor suppressor genes in gastric carcinoma and related lesions. *Ai Zheng* 2002; 21: 970-973
- Lu C, Xu HM, Ren Q, Ao Y, Wang ZN, Ao X, Jiang L, Luo Y, Zhang X. Somatic mutation analysis of p53 and ST7 tumor suppressor genes in gastric carcinoma by DHPLC. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2662-2665
- Ott K, Vogelsang H, Mueller J, Becker K, Muller M, Fink U, Siewert JR, Hofler H, Keller G. Chromosomal instability rather than p53 mutation is associated with response to neoadjuvant cisplatin-based chemotherapy in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2307-2315
- 段丽红, 康山, 宋俊芬. p53基因多态性与卵巢癌. 国外医学遗传学分册 2003; 26: 217-220
- Liu G, Miller DP, Zhou W, Thurston SW, Fan R, Xu LL, Lynch TJ, Wain JC, Su L, Christiani DC. Differential association of the codon 72 p53 and GSTM1 polymorphisms on histological subtype of non-small cell lung carcinoma. *Cancer Res* 2001; 61: 8718-8722
- Wang-Gohrke S, Becher H, Kreienberg R, Runnebaum IB, Chang-Claude J. Intron 3 16 bp duplication polymorphism of p53 is associated with an increased risk for breast cancer by the age of 50 years. *Pharmacogenetics* 2002; 12: 269-272
- 李湘洲, 管立学, 高丽, 胡德宏, 王敬先, 王瑞丽, 杜欣莹, 李海波. 国人P53基因CD72 Arg/Pro多态性与贲门腺癌发病相关. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1955-1957
- Shepherd T, Tolbert D, Benedetti J, Macdonald J, Stemmermann G, Wiest J, DeVoe G, Miller MA, Wang J, Noffsinger A, Fenoglio-Preiser C. Alterations in exon 4 of the p53 gene in gastric carcinoma. *Gastroenterology* 2000; 118: 1039-1044
- 唐红生, 洪剑明, 邱泽生. 内含子与基因表达. 细胞生物学杂志 1997; 19: 1-4
- Comeron JM, Kreitman M. The correlation between intron length and recombination in drosophila. Dynamic equilibrium between mutational and selective forces. *Genetics* 2000; 156: 1175-1190
- 顾其华, 舒畅, 叶爱慧, 吕新生, 唐孝亮, 况艳春. p53基因第7内含子序列的多态性位点分析. 中华医学遗传学杂志 2000; 17: 161-163
- 顾其华, 陈琼, 胡成平, 李叶青, 杨红忠. 非小细胞肺癌p53基因内含子7多态性分析. 中华结核和呼吸杂志 2005; 28: 497-499
- 李叶青, 李运良, 顾其华, 叶爱慧, 鄂通生. p53内含子7多态性与口腔肿瘤遗传易感性的关系. 中华口腔医学杂志 2005; 40: 386-389

■同行评价

本文探讨p53第7内含子多态性与癌前期疾病-慢性萎缩性胃炎的相关性, 设计及实验方法合理, 结论中肯。

电编 张敏 编辑 王晓瑜

内镜下两种金属支架置入方法治疗胃流出道梗阻对比分析

王蓉, 刘雄昌, 吴德明, 霍蓉晖

■背景资料

金属支架技术已广泛用于食管、胃、小肠、结肠、直肠、胆道, 与传统外科手术比较, 创伤小, 见效迅速, 幽门和十二指肠支架置入术日趋成熟, 但国内报道甚少, 而且胃出口、十二指肠支架置入难度较大。

王蓉, 刘雄昌, 吴德明, 霍蓉晖, 兰州市第一人民医院消化科
甘肃省兰州市 730050

通讯作者: 王蓉, 730050, 甘肃兰州市七里河区吴家园西街1号,
兰州市第一人民医院消化科. wangronggsz@163.com
电话: 0931-7972215

收稿日期: 2006-08-28 接受日期: 2006-11-02

Comparison between two techniques of endoscopic metal stent placement on relieving gastric outlet obstruction

Rong Wang, Xiong-Chang Liu, De-Ming Wu,
Rong-Hui Huo

Rong Wang, Xiong-Chang Liu, De-Ming Wu, Rong-Hui Huo, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Lanzhou City, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

Correspondence to: Rong Wang, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Lanzhou City, 1 Wujia Yuan West Street, Qilihe District, Lanzhou 730050, Gansu Province, China. wangronggsz@163.com
Received: 2006-08-28 Accepted: 2006-11-02

Abstract

AIM: To compare two techniques of endoscopic metal stent placement in the treatment of gastric outlet obstruction (GOO) and evaluate their clinical efficacies.

METHODS: A total of 28 GOO patients were randomly allocated into 2 groups for endoscopic metal stent placement. Metal stents were placed under endoscope in 18 cases (group A), and they were placed into 10 cases (group B) through large aperture for biopsy. The clinical efficacy, complications and followed-up results were compared between the two groups.

RESULTS: The success rates of stent placement were 88.9% and 100%, respectively, in the two groups, and the overall success rate was as high as 94.4%. The effective rates for abdominal distention and vomiting were 81.3% and 87.5%, respectively. No obvious complications occurred

in short term in all the patients except for 1 case of cardiac arrhythmia in group A. After following-up for 1 to 42 months, GOO reoccurred in 5 cases, and the average time for the recurrence was 110 days. The mean survival time was 140 days. Most patients mainly died of tumor progression.

CONCLUSION: Both techniques of endoscopic metal stent placement are safe and effective in the treatment of GOO, while metal stent placement via large aperture for biopsy is superior to the other.

Key Words: Gastric outlet obstruction; Endoscopy; Metal stent placement; Large aperture for biopsy

Wang R, Liu XC, Wu DM, Huo RH. Comparison between two techniques of endoscopic metal stent placement on relieving gastric outlet obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):176-180

摘要

目的: 探讨胃流出道梗阻时, 两种内镜下金属支架置入方法的操作技术对照及其近、远期疗效观察。

方法: 将28例胃流出道梗阻患者随机分为2组, 分别为1组($n = 18$): 内镜直视下置入金属支架和2组($n = 10$): 经大活检孔道内镜置入金属支架, 观察其疗效、并发症及随访结果。

结果: 2组患者置入成功率分别为88.9%, 100%, 总成功率94.4%, 腹胀消失率为81.3%, 呕吐缓解率87.5%。除1组有1例患者术后出现心律失常外, 两组未发生明显与操作有关的近期并发症。术后随访时间为1 mo至42 mo, 有5例再次出现梗阻, 平均梗阻出现时间为110 d, 平均生存时间140 d, 最长生存时间42 mo, 死亡病例中主要死于肿瘤进展。

结论: 两种支架置入方法治疗胃流出道梗阻均安全有效, 经大活检孔道内镜置入金属支架比内镜直视下支架直接推送法操作更方便, 更

省时间、进镜次数少、患者反应小、恢复快。

关键词: 胃流出道梗阻; 内镜检查; 金属支架置入; 大活检孔

王蓉, 刘雄昌, 吴德明, 霍蓉晖. 内镜下两种金属支架置入方法治疗胃流出道梗阻对比分析. 世界华人消化杂志 2007;15(2):176-180
http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/176.asp

0 引言

近年来, 金属支架技术已广泛用于食管、胃、小肠、结肠、直肠、胆道, 但特殊部位如上消化道低位(幽门、十二指肠及近端空肠)仍存在技术性难题, 我院自2001-01/2006-04, 用内镜直视下置入金属支架和经大活检孔道内镜置入金属支架治疗胃流出道梗阻28(Gastric outlet obstruction, GOO)例, 取得满意疗效, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2001-01/2006-04期间胃流出道梗阻患者28例, 患者男18例, 女10例, 年龄42-80岁, 其中胃窦癌侵及幽门15例, 胃癌术后复发(残胃复发癌)吻合癌性狭窄4例, 胃癌术后吻合口良性狭窄2例, 胰头癌十二指肠侵犯3例, 原发性十二指肠癌3例, 贲门癌术后再发生十二指肠癌1例。病程1 mo到4 mo, 所有患者年老体弱或肿瘤转移, 外科证实无手术适应症或拒绝手术, 除外严重出血、严重心肺衰竭和完全性管腔闭塞, 所有患者均有腹胀、顽固性呕吐、不能进食、体质量减轻等症状, 术前行胃镜检查或上消化道造影(经口服或支架置入前导管放在狭窄段注入造影剂)初步了解梗阻的存在及狭窄的程度, 狭窄直径1-10 mm, 内镜不能通过19例, 勉强通过9例。6 mm活检孔道纤维胃镜(JIN XU GEF-1000改做), 长度4 m的超滑导丝(德国Flex公司90035403GSM), 长度2.6 m的软头超硬导丝(德国Flex公司21025400), 幽门扩张球囊(Boston公司CRE), ERCP造影管(Olympus公司PR-2B-1), 直径20 mm, 长度40-80 mm的双喇叭口、球口型单根钛合金丝编织支架和针织支架, 支架置入器选用推送式和捆绑式十二指肠支架置入器(均为南京微创医疗有限公司), 直径16, 18, 20, 22 mm可通活检孔的捆绑式或非捆绑式十二指肠支架(南京微创医疗有限公司, 北京龙舟飞渡记忆合金应用研究所)。

1.2 方法

1.2.1 术前准备 术前禁食, 开通静脉通道, 监测生命体征, 对于胃内潴留物太多者, 术前置胃管冲洗引流胃液或持续胃肠减压24-48 h, 有助于操作过程中视野清晰、和胃腔缩小。

1.2.2 置入方法 随机分为2组, 1组: 内镜直视下支架直接推送法; 2组: 经大活检孔道支架置入法。

内镜直视下支架直接推送法: (1)幽门扩张: 进胃镜, 若胃镜能通过幽门, 胃镜达降部后, 通过活检孔道置入超硬导丝, 过狭窄段并尽可能深入上部小肠, 然后循导丝进幽门球囊扩张导管, 调节球囊位置扩张狭窄幽门5 min。幽门狭窄, 但能看到幽门腔, 可由活检孔道将超滑导丝直接送过幽门, 在X线下确定导丝进入十二指肠降部, 撤胃镜, 沿导丝送入幽门球囊扩张导管, 扩张狭窄幽门。看不到幽门腔, 反复冲洗、注气吸气根据气泡、液体回流, 初步判断幽门口的位置, 插入ERCP造影管, 并沿造影管插入超滑导丝, 造影管对准可能的幽门口, 轻轻深插导丝, 借助X线判断导丝走向, 同时调节造影管方向, 如果导丝前进无阻力, 再沿导丝深插造影管, 撤出导丝, 造影管注入造影剂, X线下证实为十二指肠降部后, 送导丝, 撤造影管, 循导丝插入球囊扩张导管, 进行扩张5 min, 扩张器、超滑导丝同时撤出。胃镜对幽门病变仔细观察, 测量病变长度(将胃镜置入病变上下缘测量从牙垫撤出的胃镜长度即为狭窄长度), 选择合适长度的金属支架, 再将胃镜继续插入十二指肠降部, 由活检孔道插入软头超硬导丝, 撤镜, 留导丝。(2)置入支架: 沿硬导丝插入置入器, 再进胃镜, 胃镜直视下, 推进置入器穿过幽门狭窄处, 置入器近端在胃镜下清晰可见, 并确定支架在狭窄上缘以上1 cm处, 为了定位准确, 可在X线监视下, 在体表放置一铅条在支架中央标记, 缓慢推送释放支架, 支架释放过程中可能会往幽门方向移动, 根据支架近端、铅条位置助手可调节置入器位置, 直至支架释放。

经大活检孔道支架置入法: 常规术前准备, 胃镜插入胃腔, 胃镜头端插于狭窄处的上方, 将超滑导丝先插入幽门扩张球囊, 然后涂上甲基硅油, 将涂有硅油的幽门扩张球囊从大活检孔道中插入, 在胃镜支撑下由球囊和导丝互相递送, 深插入小肠, 为了避免出现意外, 可在X光下进行。球囊扩张5 min, 扩张球囊、超滑导丝同时撤出。再将胃镜继续插入十二指肠降部测量病变长度(方法同前), 沿硬导丝插入可通活检孔道的金属支架, 支架置入狭窄中央, 支架近端在狭窄上缘以上1 cm处, 为了定位准确, 可在X线监视下, 位

■同行评价

本文比较了内镜直视下置入金属支架和经大活检孔道内镜置入金属支架治疗胃流出道梗阻的疗效, 具有一定临床参考价值。

表 1 两种置入方法的比较

治疗方法	平均操作时间 (min)	进镜次数	患者反应大小	出血	穿孔	轻度疼痛(率)	再梗阻(率)	支架移位脱落(率)	其他
内镜直视下 直接推送法	90-120	2-3	大	无	0	3(16.7%)	2(11.1%)	0例	心律失常1例
经大活检孔 道内镜置入法	40-60	1	小	无	0	1(10%)	3(30%)	1例(10%)	无

置恰当后, 拔出外鞘, 并见支架完全张开, 拔出导丝, 退出内镜, 支架放置完成。

1.3 术后处理 同其他支架术后患者. 禁食1 d, 适当补液1-2 d, 第2天进流质饮食, 观察有无出血、腹痛、呕吐、腹胀、发热等并发症, 禁服冷、粗纤维、过硬食物, 术后3 d, 常规X线复查了解支架位置、扩张情况。

1.4 随访 定期门诊或电话随访1次, 观察患者上腹痛、上腹不适、恶心、呕吐、呕血、黑便等症状、如有不适复查胃镜或透视, 登记随访观察、检查结果和存活情况。

2 结果

2.1 疗效 28例胃流出道梗阻患者, 内镜直视下直接推送法放置支架18例, 成功16例, 成功率88.9%, 经大活检孔道置入10例, 成功10例, 成功率100%, 总的操作成功率94.4%, 26例1次置入成功, 共置入28枚支架, 2例未成功者为十二指肠降部癌和胰头癌十二指肠侵犯各1例, 导丝无法通过, 疗效欠佳1例, 是因为支架远端顶在十二指肠球壁, 调整支架位置, 症状改善, 3 d后复查X线, 并服造影剂, 顺利通过梗阻段, 所有支架成功置入者术后支架扩张良好, 梗阻症状明显缓解(腹胀消失率为81.3%, 呕吐缓解率87.5%), 两种置入方法比较见表1, 说明大活检孔道内镜置入法比内镜直视下直接推送法平均操作时间短, 进镜次数少, 患者反应小。

2.2 并发症 近期并发症: 除第1组1个患者术后3 h出现心律失常(频发室早), 还有扩张时狭窄段少量渗血, 少数患者有上腹痛等不适外, 未发生穿孔、大出血等并发症; 远期并发症: (1)再梗阻: 1组2例, 2组3例, 2组高于1组; (2)支架移位脱落: 1组0例, 2组1例, 2组再梗阻、移位发生率高于1组(表1)。

2.3 随访结果 本组完成随访25例, 随访时间为1 mo至42 mo, 有5例再次出现梗阻, 梗阻出现时间30-360 (平均110)d, 其中肿瘤从支架网眼向腔内生长3例, 肿瘤压迫支架1例, 肿瘤在支架远端生长1例, 食物堵塞支架1例, 2例再梗阻后, 再

次置入第2个支架, 2例再梗阻后行扩张和微波烧灼治疗, 最多1例行7次微波治疗. 移位1例掉入小肠, 再次提拉后至幽门效果良好. 远期疗效: 平均生存时间140 d, 最长生存时间42 mo, 2例至今存活, 死亡病例中主要死于肿瘤进展, 死于肿瘤转移, 全身衰竭8例, 肿瘤复发2例, 死于其他疾病如糖尿病、肺部感染、冠心病各1例。

3 讨论

胃流出道梗阻是因胃窦、幽门、十二指肠、胰头肿瘤、全身肿瘤转移至幽门或胃肠术后, 可导致胃流处道出现狭窄的临床和病理生理结果. 按其梗阻部位可分为幽门梗阻、十二指肠梗阻及术后胃肠吻合口梗阻. 临床表现为恶心、呕吐、腹胀及进食困难等症状, 一般梗阻发生时已是肿瘤进展期. 传统治疗方法是手术治疗. 但许多患者身体状况差, 不能耐受手术, 或已失去手术机会或不愿手术治疗, 往往只能采用胃肠减压、静脉营养维持生命^[1]. 随着内镜介入技术的进步和各类支架的发明, 内镜下金属支架置入术在消化内科大量使用, 与传统外科手术比较, 创伤小, 见效迅速, 幽门和十二指肠支架置入术日趋成熟^[1-3], 但国内报道甚少. 1994年德国 *Streker et al* 率先经口放置十二指肠支架以来, 国外及国内学者亦相继报道^[4-5]. 本文通过两种内镜下置入方法成功率分别为88.9%和100%, 总的操作成功率94.4%, 术后患者腹胀、呕吐均得到明显改善, 腹胀消失率为81.3%, 呕吐缓解率87.5%, 经大活检孔道置入金属支架也是我院在原有内镜直视下置入幽门支架基础上改进而来, 活检孔道为6 mm的大活检孔道胃镜是Olympus公司维修站工作人员由纤维JIN XU GEF-1000改做而成. 借助胃镜的支撑, 无论是置入导丝、扩张导管、支架, 都很方便, 平均置入时间为40 min, 大活检孔道置入金属支架只需插入内镜1次, 就可以直接通过活检孔道插入超硬导丝和可通活检孔道的捆绑式金属支架, 而内镜直视下支架置入, 待狭窄扩张置入超硬导丝后, 需再次进镜, 直视下置入支架. 这样经大活检孔道

置入金属支架, 操作更方便, 大大缩短了检查时间, 减少了进镜次数, 减少了患者痛苦。

胃出口、十二指肠支架置入难度较大, 是因为十二指肠及空肠经口距离远, 管腔迂回变化大, 且胃囊具有缓冲作用, 不通过活检孔道的支架置入, 支架推送器通过胃就是一大障碍, 十二指肠支架置入器又长又软, 支架置入过程中, 置入器沿导丝推送过程中易卡在胃体或胃窦大弯侧, 或在胃底打弯, 置入器头端与胃体大弯侧成角过于垂直或顶在胃窦不能前行, 以下几点可提高内镜直视下直接推送法成功率: (1)用胃镜头端推置入器, 不断重复上述操作, 直至置入器进入幽门; (2)腹部大弯侧加压减少置入器头端与胃体大弯侧角度; (3)因十二指肠及空肠梗阻症状出现并引起重视时, 往往梗阻情况已较严重, 而使导丝插入困难, 首先选用软的超滑导丝, 以利通过狭窄段, 可同时置入扩张导管或ERCP造影管, 以导管为支撑, 利用导管和导丝互相递送, 而送入导丝; (4)梗阻严重的患者操作需在X线下进行, 保证导丝在梗阻远端, 以防穿孔、出血等并发症的发生; (5)支架位置过于偏于胃腔, 可经口取出后重新置入, 若支架过于偏于肠腔侧, 在支架未完全张开前, 用鼠齿钳往外提拉一下至位置合适为止; (6)尽量不要用附膜支架, 因为附膜支架在置入器内释放阻力很大, 长而软的置入器推送力有限, 而且附膜支架易移位; 我们做的其中有1例推送非常困难, 到幽门后, 释放又很困难, 多次释放均失败, 换用裸支架成功置入; (7)内镜下支架置入, 以近端定位, 比病变长出1 cm, 勿考虑远端, 支架不宜太长, 支架释放过程中, 不停调整位置, 看不清近端时, 不要盲目释放支架, 支架太长, 近端突出在胃窦腔内影响胃内容物排空, 远端可能顶在十二指肠球后拐弯处侧壁, 影响胃内容物进入十二指肠降部。1例术后效果不好就是支架太长顶在十二指肠拐弯处, 另有1例置入过程偏向胃窦侧, 食物反倒不易通过。而经大活检孔道内镜置入金属支架治疗, 可以借助胃镜的支撑, 无论是置入导丝、球囊扩张导管、可通活检孔的捆绑式十二指肠支架都很方便, 不存在上述(1), (2), (6)问题, 主要解决上述(3), (4), (7)问题, 可提高支架置入成功率。

经内镜放置胃流出道支架常见近期并发症有出血、穿孔, 远期并发症有支架阻塞、支架移位, 发生率报道不一^[1,6]。本文的并发症: 再梗阻: 1组11.1%, 2组30%, 平均20.5%, 移位: 1组

0, 2组10%与Aviv *et al*^[7]报道支架移位和肿瘤向支架内生长占20%相似。2种置入方法并发症比较: 除1组发生心律失常, 2组有少数患者少量渗血、轻微疼痛外, 均未发生大出血、穿孔等与操作有关的近期并发症, 经大活检孔道内镜置入法成功率高, 操作时间短, 临床疗效满意, 近期并发症少于内镜直视下直接推送法, 远期并发症主要为支架再梗阻和移位、脱落, 远期并发症以经大活检孔道内镜置入法多于内镜直视下直接推送法, 是因为经活检孔道支架较软, 支架直径小(16-20 mm), 非带膜, 编织稀疏, 易于堵塞, 癌组织压迫易变形, 因病例数少, 有待于积累病例, 进一步探讨。其中3例再梗阻后经置入第2根支架, 5例再梗阻后行扩张或微波烧灼治疗仍解决了梗阻症状。并发症的发生与支架的释放系统、支架的类型(带膜或非带膜)和直径, 病变部位的形态长度等因素有关^[1,5]。支架的选择: (1)以双喇叭口、球口型交叉网络裸支架为好, 优点有支架钝圆的两端不损伤胃窦和十二指肠球部黏膜。双喇叭口型可防止支架后移位, 裸架安装释放容易, 交叉网络支架可保证良好效果; (2)能通过活检孔道的支架, 从操作时间、进镜次数、患者反应大小方面都有优势, 但存在支架较软易再梗阻再移位, 以后可建议厂家改进, 更加完美, 做直径大、带膜、编织密集的经活检孔道支架, 真正减少近期和远期并发症。

单纯支架治疗再狭窄发生时间较早, 配合病因治疗可延迟和防止再狭窄的发生, 更有效延长患者生存时间, 再狭窄时可重复多次放置, 也可配合微波、射频、热极等治疗。

4 参考文献

- 1 Mauro MA, Koehler RE, Baron TH. Advances in gastrointestinal intervention: the treatment of gastroduodenal and colorectal obstructions with metallic stents. *Radiology* 2000; 215: 659-669
- 2 Patton JT, Carter R. Endoscopic stenting for recurrent malignant gastric outlet obstruction. *Br J Surg* 1997; 84: 865-866
- 3 Nevitt AW, Vida F, Kozarek RA, Traverso LW, Raltz SL. Expandable metallic prostheses for malignant obstructions of gastric outlet and proximal small bowel. *Gastrointest Endosc* 1998; 47: 271-276
- 4 Razzaq R, Laasch HU, England R, Marriott A, Martin D. Expandable metal stents for the palliation of malignant gastroduodenal obstruction. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2001; 24: 313-318
- 5 范志宁, 缪林, 季国忠, 文卫, 蒋国斌, 刘政, 黄光明, 吴萍. 记忆合金支架在胃出口和十二指肠恶性肿瘤中的应用. *中华消化内镜杂志* 2004; 4: 251-253
- 6 Gukovsky-Reicher S, Lin RM, Sial S, Garrett B, Wu D, Lee T, Lee H, Arnell T, Stamos MJ, Eysselein VE. Self-

expandable metal stents in palliation of malignant gastrointestinal obstruction: review of the current literature data and 5-year experience at Harbor-UCLA Medical Center. *MedGenMed* 2003; 5: 16

7 Aviv RI, Shyamalan G, Khan FH, Watkinson AF, Tibballs J, Caplin M, Winslett M. Use of stents in the palliative treatment of malignant gastric outlet and duodenal obstruction. *Clin Radiol* 2002; 57: 587-592

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2005年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序表¹

代码	期刊名称	总被引频次	学科内排名	影响因子	学科内排名
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	2665	1	1.062	5
G803	肝脏	369	17	0.428	15
G257	临床内科杂志	383	16	0.289	22
G855	临床消化病杂志	173	24	0.163	28
G261	临床心血管病杂志	589	13	0.289	22
G293	临床血液学杂志	256	22	0.340	19
G662	内科急危重症杂志	134	27	0.172	27
G190	世界华人消化杂志	2079	4	0.485	14
G800	胃肠病学	271	20	0.324	20
G326	胃肠病学和肝病学杂志	292	19	0.282	24
G083	心肺血管病学杂志	154	25	0.192	26
G419	血管病学进展	297	18	0.238	25
G260	心脏杂志	394	15	0.355	17
G610	胰腺病学	137	26	0.589	11
G234	中国动脉硬化杂志	670	12	0.662	10
G267	中国实用内科杂志	1167	8	0.312	21
G444	中国体外循环杂志	68	28	0.354	18
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	415	14	0.563	12
G633	中国血液净化	229	23	0.391	16
G231	中华肝脏病杂志	2014	5	1.573	1
G155	中华内分泌代谢杂志	1249	7	0.981	6
G156	中华内科杂志	2409	3	0.903	7
G161	中华肝脏病学杂志	1003	9	1.077	4
G211	中华糖尿病学杂志	859	11	1.209	3
G285	中华消化内镜杂志	934	10	0.782	9
G168	中华消化杂志	1645	6	0.798	8
G892	中华心律失常学杂志	269	21	0.514	13
G170	中华心血管病学杂志	2622	2	1.272	2
	平均值	849		0.593	

¹中国科技期刊引证报告/潘云涛, 马峥著. 北京: 科学技术文献出版社, 2006. 10

丹参对肝硬化上消化道大出血患者体内脂质过氧化状态的影响

和水祥, 徐俊丽, 赵刚, 王艳丽, 符寒, 李红霞, 苒新明

和水祥, 徐俊丽, 赵刚, 王艳丽, 符寒, 李红霞, 苒新明, 西安交通大学医学院第一附属医院消化内科 陕西省西安市 710061

通讯作者: 和水祥, 710061, 陕西省西安市雁塔西路277号, 西安交通大学医学院第一附属医院消化内科. hesx123@163.net
电话: 029-85322401 传真: 029-85323560
收稿日期: 2006-09-15 接受日期: 2006-10-18

Effects of *Salvia miltiorrhiza* bunge injection on the status of lipid peroxidation in liver cirrhosis patients with massive upper gastrointestinal hemorrhage

Shui-Xiang He, Jun-Li Xu, Gang Zhao, Yan-Li Wang, Han Fu, Hong-Xia Li, Xin-Ming Chang

Shui-Xiang He, Jun-Li Xu, Gang Zhao, Yan-Li Wang, Han Fu, Hong-Xia Li, Xin-Ming Chang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital, Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Shui-Xiang He, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital, Medical College of Xi'an Jiaotong University, 277 Yanta West Road, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China. hesx123@163.net
Received: 2006-09-15 Accepted: 2006-10-18

Abstract

AIM: To study the changes of lipid peroxidation in liver cirrhosis patients with massive upper gastrointestinal hemorrhage and the effects of *Salvia miltiorrhiza* bunge (SMB) injection on the changes.

METHODS: Ninety-one liver cirrhosis patients with massive upper gastrointestinal hemorrhage were randomly divided into group A ($n = 36$) and B ($n = 55$), treated with SMB injection and traditional method, respectively. The dynamic changes of plasma lipid peroxide (LPO) content and superoxide dismutase (SOD) activity were determined in the patients of both groups.

RESULTS: The plasma content of LPO in group B was obviously increased and reached its peak

at the 72th h (11.0 ± 4.1 nmol/L), significantly higher than that at the 12th h (7.8 ± 3.3 nmol/L, $P < 0.01$), but it declined in the 1th week, and recovered in the 4th week to some extent. LPO content also reached its peak at 72th h in group A, with a lower-extent change (9.9 ± 4.6 nmol/L vs 7.8 ± 3.1 nmol/L, $P < 0.05$) and rapid recovery. The activities of SOD in both groups were decreased and reached their lowest values at the 72th h (group A: 0.9 ± 0.3 nkat/L vs 1.4 ± 0.2 nkat/L, $P < 0.01$; group B: 0.87 ± 0.2 nkat/L vs 1.3 ± 0.2 nkat/L, $P < 0.01$). They also recovered in the 4th wk with different degrees. The prognosis of patients in group A was superior to that in group B, which was correlated with Child-Pugh classification ($P < 0.05$).

CONCLUSION: SMB injection can enhance the antioxidant capability in vivo and improve the prognosis of liver cirrhosis patients with massive upper gastrointestinal hemorrhage.

Key Words: *Salvia miltiorrhiza* bunge injection; Liver cirrhosis; Massive upper gastrointestinal hemorrhage; Lipid peroxide; Superoxide dismutase

He SX, Xu JL, Zhao G, Wang YL, Fu H, Li HX, Chang XM. Effects of *Salvia miltiorrhiza* bunge injection on the status of lipid peroxidation in liver cirrhosis patients with massive upper gastrointestinal hemorrhage. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):181-184

摘要

目的: 探讨肝硬化上消化道大出血患者体内脂质过氧化状态的变化及丹参注射液对其的影响。

方法: 肝硬化上消化道大出血患者91例, 随机分为丹参注射液治组($n = 36$)和传统治疗组($n = 55$)。分别测定患者血中超氧化物歧化酶(SOD)活性和过氧化脂质(LPO)含量。

结果: 传统治疗组患者血中LPO含量在出血后明显增加, 72 h左右达最高峰(11.0 ± 4.1 nmol/L), 较出血前或12 h内(7.8 ± 3.3 nmol/L)

背景资料

自由基及其脂质过氧化理论在脏器缺血再灌注损伤中作用日益受到关注, 认为当脏器血供恢复、组织再灌注时可产生过量氧自由基, 攻击组织细胞和亚细胞器磷脂膜中的多不饱和脂肪酸, 引发链式脂质过氧化反应, 导致细胞和亚细胞器膜质结构破坏和功能紊乱, 抗氧化剂对此具有保护作用。

■创新盘点

本文首次以丹参注射液用于肝硬化上消化道大出血患者肝功能保护的临床研究,初步证明其可以增强肝硬化患者抗氧化能力,抗肝脏缺血再灌注损伤,改善肝硬化上消化道大出血患者的预后。

明显升高($P<0.01$), 1 wk后开始下降, 4 wk后可不同程度恢复。而经丹参注射液治疗的患者血中LPO含量亦于72 h左右达最高峰, 但变化幅度较小(9.9 ± 4.6 nmol/L vs 7.8 ± 3.1 nmol/L, $P<0.05$), 恢复较快。两组SOD活性变化与LPO含量变化相反, 72 h降至最小值(传统治疗组: 0.87 ± 0.2 nkat/L vs 1.3 ± 0.2 nkat/L, $P<0.01$; 丹参注射液组: 0.9 ± 0.3 nkat/L vs 1.4 ± 0.2 nkat/L, $P<0.01$), 4 wk后可不同程度恢复。丹参注射液治疗组患者的预后明显优于传统治疗组($P<0.01$), 且Child-Pugh B级者优于C级($P<0.05$)。

结论: 丹参注射液可提高机体的抗氧化能力, 改善肝硬化上消化道大出血患者的预后。

关键词: 丹参注射液; 肝硬化; 上消化道大出血; 过氧化脂质; 超氧化物歧化酶

和水祥, 徐俊丽, 赵刚, 王艳丽, 符寒, 李红霞, 袁新明. 丹参对肝硬化上消化道大出血患者体内脂质过氧化状态的影响. 世界华人消化杂志 2007;15(2):181-184

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/181.asp>

0 引言

上消化道大出血常可诱发肝硬化患者肝功能损害加剧, 病情恶化, 甚至出现肝性脑病, 此两种并发症是该类患者死亡的主要原因, 也是本病临床治疗的重点和难点^[1-3]。张剑平 *et al*^[4]研究证明, 乙型肝炎后肝硬化、急性乙型肝炎、重型乙型肝炎患者血清中脂质过氧化产物明显增多, 抗氧化酶活性下降, 提示氧自由基和脂质过氧化反应在肝病发病中起着重要作用。大量动物实验及我们前期的临床观察表明, 患者肝组织缺血-再灌注过程中诱发的自由基、脂质过氧化损伤可能是其肝功能损害加重、病情恶化的原因之一, 提示自由基清除剂有助于保护上消化道大出血肝硬化患者的肝功能, 改善其预后^[5-7]。本文以丹参注射液防治上消化道大出血肝硬化患者肝组织的缺血-再灌注损伤, 取得较好的治疗效果。

1 材料和方法

1.1 材料 2003-01/2004-12我们采用丹参注射液治疗肝硬化上消化道大出血患者36例, 同期采用传统治疗方法(剔除使用抗氧化剂者)的肝硬化上消化道大出血患者55例作为对照。诊断均符合2000年全国病毒性肝炎会议修订标准。丹参注射液治疗组患者男29例, 女7例。年龄21-67

(平均46.5)岁。HBVMs阳性26例, 抗-HCV阳性8例, 其他2例; 经内窥镜诊断: 食道-胃底曲张静脉破裂出血者28例, 门脉高压性胃黏膜病变6例, 合并胃溃疡出血2例; Child-Pugh A级9例、B级19例、C级8例。对照组男44例, 女11例。年龄为21-68 (平均46.8)岁。与丹参注射液治疗组对应的病因分别为HBVMs阳性39例, 抗-HCV阳性12例, 其他4例和食道-胃底曲张静脉破裂出血者43例, 门脉高压性胃黏膜病变9例, 合并胃溃疡出血3例。Child-Pugh A, B, C级分别为14例, 29例, 12例。两组资料具有可比性。

1.2 方法 传统治疗组口服止血药, 静滴质子泵抑制剂、生长抑素类药, 输全血及血制品等, 必要时三腔二囊管压迫止血抢救, 并进行一般保肝治疗。丹参注射液治疗组在传统治疗基础上, 11例在出血后, 25例在出血前使用, 出血后继续加用丹参注射液(正大青春宝药业有限公司) 20 mL加入100 g/L葡萄糖250 mL中, 静脉滴注, 每日1次, 连用1-4 wk。分别于患者入院时或出血初期(12 h内)、出血后72 h、1 wk和4 wk时空腹采血, 分离血浆, 黄嘌呤氧化法测定超氧化物歧化酶(SOD)活性(nkat/L), 硫代巴比妥酸(TBA)比色法测定血中脂质过氧化物(LPO)含量(nmol/L)。全自动生化分析仪测定肝功能。根据临床体征和辅助检查, 统计患者新出现腹水或原有腹水增多、黄疸或黄疸加深、肝性脑病和病死的例数, 以上述4方面指标出现的每人次数累计频次数(p)做为判断病情变化的指标。

统计学处理 计数资料采用 χ^2 检验, 计量资料采用方差分析。

2 结果

2.1 血SOD活性和LPO含量 肝硬化患者血中LPO含量均在上消化道大出血停止后72 h显著升高, 1 wk后开始下降, 4 wk后可接近出血前水平。丹参注射液治疗组患者LPO含量上升幅度较小, 下降较快, 1 wk后即与对照组差别有显著性意义($P<0.05$)。SOD活性水平变化则相反(表1)。

2.2 病情转归及与Child-Pugh分级 两组病情转归均与患者的Child-Pugh分级关系密切。治疗后患者出现腹水或腹水增多、黄疸或黄疸加深、肝性脑病和病死4个病情恶化指标的累计频次数, 还原型谷胱甘肽防治组明显低于常规治疗组($P<0.05$), 两组Child-Pugh B级者均低于C级($P<0.05$)(表2)。

■名词解释

脂质过氧化: 氧自由基能攻击生物膜磷脂中的多聚不饱和脂肪酸引发脂质过氧化作用, 形成脂质过氧化物(LPO). LPO水平反映机体内自由基代谢水平, 近年来, 随着对氧自由基致病作用的研究, 发现自由基、LPO不但参与了肝细胞的损伤, 加速肝纤维化, 而且导致细胞衰老、死亡和癌变.

表 1 肝硬化患者血中LPO含量和SOD活性(mean ± SD)

指标	分组	出血前或12 h内	出血72 h	出血1 wk	出血4 wk
LPO (nmol/L)	传统治疗	7.8 ± 3.3(51)	11.0 ± 4.1(52)	9.6 ± 4.2(48)	7.9 ± 3.2(42)
	丹参治疗	7.8 ± 3.1(30)	9.9 ± 4.6(32)	8.1 ± 4.0(28) ^a	6.6 ± 3.1(25) ^a
SOD (nkat/L)	传统治疗	1.3 ± 0.2(51)	0.87 ± 0.2(52)	0.9 ± 0.2(48)	1.1 ± 0.2(42)
	丹参治疗	1.4 ± 0.2(30)	0.9 ± 0.3(32)	1.2 ± 0.1(28) ^a	1.3 ± 0.2(25) ^a

^aP<0.05 vs 本组传统治疗, 括号内为例数.

表 2 肝硬化患者疗效与Child-Pugh分级的关系. n(频率)

分组	A	B	C	合计
传统治疗	14(3)	29(35) ^c	12(32)	55(70)
丹参治疗	9(1)	19(15) ^c	8(18)	36(34) ^a

^aP<0.05 vs 本组传统治疗; ^cP<0.05 vs C级

3 讨论

过去认为, 肝硬化患者上消化道大出血后病情恶化的原因是肝脏缺血或血流减少, 造成肝细胞混浊肿胀, 窦间隙阻塞, 在再灌注时窦间隙之间血流不均引起部分肝组织进一步缺血而导致损伤加重^[8]. 目前, 缺血再灌注、自由基及其脂质过氧化损伤理论日益受到关注, 认为当脏器血供恢复、组织再灌注时可产生过量氧自由基, 攻击组织细胞和亚细胞器磷脂膜中的多不饱和脂肪酸, 引发链式脂质过氧化反应, 导致细胞和亚细胞器膜质结构破坏和功能紊乱, 患者肝功能损害加剧, 病情恶化^[5-7]. 因此, 选择合适的自由基清除剂, 防治肝脏的缺血再灌注损伤, 已成为防止肝硬化患者上消化道大出血后病情恶化, 提高患者总体生存率的重要研究课题.

现代医学研究表明, 传统中药丹参可通过不同的有效成分在不同部位清除不同的自由基而发挥抗氧化作用. 其中, 丹参的水溶性成分丹参酮IIA磺酸钠和丹参素的抗氧化作用研究最为广泛, 认为其可能通过清除自由基、提高多种抗氧化酶活性、Ca²⁺阻滞剂样作用、改善能量代谢、抗凋亡、影响热休克蛋白表达、改善微循环和直接抗氧化作用, 对多种脏器的氧自由基损伤, 如肝脏的缺血再灌注等有显著地保护作用^[9-12]. 丹参注射液是丹参水溶性成分的制剂, 临床上已试用于中枢神经、心脏、肺脏、肠管和外周肢体等器官缺血性损伤的防治, 有较显著的临床疗效^[13-14]. 但丹参注射液对肝硬化上消化道大出血患者肝功能的影响尚未见临床报道.

本文临床观察了肝硬化患者上消化道大出

血后血中LPO含量和SOD活性的动态变化, 结果显示, 肝硬化患者血中LPO含量在上消化道大出血停止后72 h均显著升高, SOD活性则显著降低. 1 wk后上述指标开始恢复, 4 wk后可接近出血前水平. 但应用丹参注射液治疗组患者LPO含量的升高和SOD活性的降低幅度较小, 恢复较快, 与接受常规治疗患者有显著性差别. 以患者大出血后出现腹水或腹水增多、黄疸或黄疸加深、肝性脑病和病死例数4方面指标的每人次的累计频次数作为判断疗效的指标, 可以看出丹参注射液防治组综合疗效明显优于常规治疗组. 且患者的病情转归与Child-Pugh分级有关, B级患者疗效明显优于C级. 与我们临床应用还原型谷胱甘肽防治此病的效果类似^[7], 提示丹参注射液可以增强肝硬化患者抗氧化能力, 改善肝硬化上消化道大出血患者的预后, 具有一定的临床应用前景.

4 参考文献

- 1 Cheng JW, Zhu L, Gu MJ, Song ZM. Meta analysis of propranolol effects on gastrointestinal hemorrhage in cirrhotic patients. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1836-1839
- 2 Zhao C, Chen SB, Zhou JP, Xiao W, Fan HG, Wu XW, Feng GX, He WX. Prognosis of hepatic cirrhosis patients with esophageal or gastric variceal hemorrhage: multivariate analysis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2002; 1: 416-419
- 3 范铁艳, 程留芳. 结扎和硬化疗法治疗肝硬化食管静脉曲张出血疗效比较的荟萃分析. *世界华人消化杂志* 2006; 17: 1704-1709
- 4 张剑平, 魏红山, 孙静媛, 郭晶晶, 宋川, 刘亚楠, 杨丽群, 张四平. 脂质过氧化在乙型肝炎后肝硬化、急性乙型肝炎、重型乙型肝炎的损伤作用. *世界华人消化杂志* 2005; 12: 1465-1466
- 5 Serracino-Ingloft F, Habib NA, Mathie RT. Hepatic ischemia-reperfusion injury. *Am J Surg* 2001; 181: 160-166
- 6 Schauer RJ, Gerbes AL, Vonier D, Meissner H, Michl P, Leiderer R, Schildberg FW, Messmer K, Bilzer M. Glutathione protects the rat liver against reperfusion injury after prolonged warm ischemia. *Ann Surg* 2004; 239: 220-231
- 7 和水祥, 乔文, 袁新明, 王淑英, 李红霞. 肝硬化上消化道出血患者体内脂质过氧化状态及还原型谷胱甘肽

■同行评价

文章内容比较新颖,设计合理,工作较仔细.

- 的影响. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 78
- 8 Clemens MG, McDonagh PF, Chaudry IH, Baue AE. Hepatic microcirculatory failure after ischemia and reperfusion: improvement with ATP-MgCl₂ treatment. *Am J Physiol* 1985; 248: H804-H811
 - 9 Yue KK, Lee KW, Chan KK, Leung KS, Leung AW, Cheng CH. Danshen prevents the occurrence of oxidative stress in the eye and aorta of diabetic rats without affecting the hyperglycemic state. *J Ethnopharmacol* 2006; 106: 136-141
 - 10 Horie Y, Han JY, Mori S, Konishi M, Kajihara M, Kaneko T, Yamagishi Y, Kato S, Ishii H, Hibi T. Herbal cardiogenic pills prevent gut ischemia/reperfusion-induced hepatic microvascular dysfunction in rats fed ethanol chronically. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 511-515
 - 11 Liu R, Wang Y, Li Z, Tang X, Nie Q, Xia P, Guo Y, Zhang W. Experimental and clinical study of Danshen on treatment of peptic ulcer. *World J Gastroenterol* 1998; Suppl 2: 72b-73b
 - 12 蒋树林, 姚希贤, 吕涛. 丹参抑制大鼠肝纤维化线粒体脂质过氧化. 世界华人消化杂志 2002; 11: 1253-1256
 - 13 Wang G, Wang L, Xiong ZY, Mao B, Li TQ. Compound salvia pellet, a traditional Chinese medicine, for the treatment of chronic stable angina pectoris compared with nitrates: a meta-analysis. *Med Sci Monit* 2006; 12: SR1-SR7
 - 14 Xia WJ, Yang M, Fok TF, Li K, Chan WY, Ng PC, Ng HK, Chik KW, Wang CC, Gu GJ, Woo KS, Fung KP. Partial neuroprotective effect of pretreatment with tanshinone IIA on neonatal hypoxia-ischemia brain damage. *Pediatr Res* 2005; 58: 784-790

电编 李琪 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

全国消化及消化内镜诊断与治疗进展学术研讨会征文启事

本刊讯 为提高我国消化内镜诊疗技术的整体水平,《中华消化内镜杂志》编辑部拟于2007-08在新疆乌鲁木齐召开“全国消化及消化内镜诊断与治疗进展学术研讨会”,邀请消化和消化内镜专家作有关专题学术报告.会议将出论文汇编,并授予继续教育 I 类学分,《中华消化内镜杂志》将择优刊登应征论文.

1 征文内容

征文内容包括消化系统疾病的内镜(食管镜、胃镜、十二指肠镜、小肠镜、大肠镜、肠道镜、腹腔镜、超声内镜等)诊疗技术;内镜外科的临床应用及进展;食管、胃、肠、肝胆、胰腺疾病的基础研究、临床诊治及其进展(炎症、溃疡、出血、肿瘤、异物等);消化系统疾病的中医、中西医结合治疗及其进展;消化内镜消毒及护理技术,消化系统疾病的急诊护理.

2 征文要求

应征文章按《中华消化内镜杂志》稿约要求撰写打印,并寄3000字以内全文及500字以内的论文摘要各一份;已投《中华消化内镜杂志》尚未发表的稿件,请注明稿号.应征文章经单位推荐盖公章后,寄南京市紫竹林3号《中华消化内镜杂志》编辑部卜小乐、赵在文同志收.邮编: 210003.信封左下脚注“征文”字样,同时汇寄审稿费10元.请自留底稿,恕不退稿.截稿日期2007-05-31.有关会议的具体事项另行通知.联系电话: 025-83472831, 86086091.

纤维化胰腺组织中TGF- β 1、Smad3、Smad7的表达及意义

马松林, 赵秋, 龚勇, 王渝, 杨芳

马松林, 赵秋, 龚勇, 王渝, 杨芳, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030
通讯作者: 赵秋, 430030, 湖北省武汉市汉口解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科.
tongji46@sina.com
电话: 027-83663611
收稿日期: 2006-10-30 接受日期: 2006-11-24

Expression of transforming growth factor- β 1, Smad3 and Smad7 and their significances in pancreatic fibrosis

Song-Lin Ma, Qiu Zhao, Yong Gong, Yu Wang, Fang Yang

Song-Lin Ma, Qiu Zhao, Yong Gong, Yu Wang, Fang Yang, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Correspondence to: Qiu Zhao, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China. tongji461@sina.com
Received: 2006-10-30 Accepted: 2006-11-24

Abstract

AIM: To investigate the expression of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), Smad3 and Smad7 protein in human pancreatic fibrosis as well as their significances.

METHODS: SP immunohistochemical method was used to determine the expression of TGF- β 1, Smad3 and Smad7 protein in 34 cases of pancreatic fibrosis tissues and 15 cases of normal pancreatic tissues.

RESULTS: The expression of TGF- β 1 and Smad3 were significantly higher in pancreatic fibrosis tissues than those in normal pancreatic tissues (TGF- β 1: 79.4% vs 6.7%, $P < 0.01$; Smad3: 64.7% vs 20.0%, $P < 0.01$), while the expression of Smad7 was marked lower in pancreatic fibrosis tissues were than that in normal pancreatic tissues (26.5% vs 73.3%, $P < 0.01$). The expression

of TGF- β 1 was positively correlated with that of Smad3 ($r = 0.385$, $P < 0.05$), but reversely correlated with that of Smad7 ($r = -0.519$, $P < 0.01$).

CONCLUSION: TGF- β 1, Smad3 and Smad7 may play distinct intermediate roles in the process of pancreatic fibrosis. Blockage of TGF- β 1 and Smad3 signaling and/or enhancement of Smad7 signaling may be a new approach in the treatment of pancreatic fibrosis.

Key Words: Transforming growth factor- β 1; Smad3; Smad7; Pancreatic fibrosis

Ma SL, Zhao Q, Gong Y, Wang Y, Yang F. Expression of transforming growth factor- β 1, Smad3 and Smad7 and their significances in pancreatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):185-188

摘要

目的: 检测人纤维化胰腺组织中TGF- β 1, Smad3和Smad7蛋白的表达, 探讨他们在胰腺组织纤维化发生中的意义。

方法: 采用免疫组织化学SP法检测34例纤维化胰腺组织标本中TGF- β 1, Smad3和Smad7蛋白的表达, 并以同期15例正常胰腺组织作对照。

结果: TGF- β 1, Smad3在纤维化胰腺组织中的表达(79.4%, 64.7%)明显高于正常胰腺组织(6.7%, 20.0%)($P < 0.01$), Smad7在纤维化胰腺组织中的表达(26.5%)则低于正常胰腺组织(73.3%)($P < 0.01$), 纤维化胰腺组织中TGF- β 1的表达与Smad3的表达呈正相关($r = 0.385$, $P < 0.05$)而与Smad7的表达呈负相关($r = -0.519$, $P < 0.01$)。

结论: TGF- β 1, Smad3和Smad7在胰腺纤维化形成过程中起不同的介导作用, 通过靶向性阻断TGF- β 1、Smad3信号和(或)加强Smad7信号可能成为治疗胰腺纤维化的新手段。

关键词: 转化生长因子 β 1; Smad3; Smad7; 胰腺纤维化

■背景资料

器官纤维化发生、发展的机制及其治疗是当前研究的热点之一, 研究发现, TGF- β /Smad信号途径在多种器官纤维化中起重要作用; 胰腺纤维化会导致胰腺内外分泌功能严重受损, 其发生机制仍不清楚, 已有的研究证实TGF- β 1可能在胰腺纤维化发生发展中起关键作用。

■应用要点

本文结果提示TGF- β /Smad信号途径在胰腺纤维化的发生、发展中可能起到重要作用, 不论对于发现胰腺纤维化机制还是胰腺纤维化的逆转治疗均有重要意义。

马松林, 赵秋, 龚勇, 王渝, 杨芳. 纤维化胰腺组织中TGF- β 1、Smad3、Smad7的表达及意义. 世界华人消化杂志 2007;15(2):185-188

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/185.asp>

0 引言

胰腺纤维化主要是由于胰腺组织中以胶原为主的细胞外基质(extra cellular matrix, ECM)合成与沉积增加、降解减少, 两者失去动态平衡所致, 最终将导致胰腺内、外分泌功能严重障碍, 胰腺纤维化形成的分子机制尚未完全阐明, 多种细胞因子在胰腺纤维化发生发展中可能起重要作用^[1]. 胰腺纤维化与慢性胰腺炎的关系十分密切, 慢性胰腺炎的主要病理特征是胰腺纤维化, 胰腺纤维化可使慢性胰腺炎迁延不愈, 二者相互促进、相互影响^[2]. 本实验收集34例因患慢性胰腺炎所致胰腺纤维化患者胰腺标本, 免疫组化SP法检测TGF- β 1, Smad3, Smad7蛋白在纤维化胰腺组织中的表达, 并探讨其在胰腺组织纤维化发生中的意义及机制。

1 材料和方法

1.1 材料 收集1996-01/2006-06武汉同济医院病理科存档石蜡包埋的胰腺标本, 其中胰腺组织呈不同程度纤维化标本34例, 主要从慢性胰腺炎患者标本中筛选出, 部分为胰腺癌旁纤维化组织, 正常胰腺组织15例, 主要为胰腺周围肿瘤手术切除标本, 诊断由临床及病理证实. 全部标本均经甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μ m连续切片. 兔抗人Smad3, Smad7多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司, 工作浓度1:60; 兔抗人TGF- β 1多克隆抗体(美国Santa Cruz公司产品, 工作浓度1:100)、兔抗SP免疫组化试剂盒、DAB显色试剂盒均购自北京中衫金桥生物技术有限公司。

1.2 方法 免疫组化实验步骤按SP试剂盒说明书进行, 以微波枸橼酸盐溶液进行抗原热修复, DAB显色, 苏木素复染, 中性树胶封片. 用试剂公司提供的已知阳性片作为阳性对照, PBS代替一抗作为阴性对照. 3者均以胞质内颗粒状或弥漫棕黄染色为阳性细胞, 每张切片随机计数5-10个高倍视野1000个清晰细胞, 计算阳性细胞比例. <10%为阴性, \geq 10%为阳性。

统计学处理 所有数据均用SPSS12.0统计软件包进行统计学处理, 统计方法采用卡方检验、精确概率法、相关性分析, $P<0.05$ 为差异具有显著性。

表 1 TGF- β 1, Smad3和Smad7蛋白的表达 (n, %)

	n	TGF- β 1阳性	Smad3阳性	Smad7阳性
正常胰腺组织	15	1 (6.7)	3 (20.0)	11 (73.3)
纤维化胰腺组织	34	27 (79.4) ^b	22 (64.7) ^b	9 (26.5) ^b

^b $P<0.01$ vs 正常胰腺组织。

2 结果

2.1 TGF- β 1, Smad3和Smad7在正常胰腺组织和纤维化胰腺组织中的表达 TGF- β 1, Smad3及Smad7在两种不同组织中的表达均有显著差异性($P<0.01$, 表1). TGF- β 1, Smad3在正常胰腺组织中表达较低, 阳性率分别为6.7% (1/15)和20.0% (3/15), 且他们在正常胰腺组织实质细胞中几乎无表达, 在间质细胞中可见少量表达. TGF- β 1, Smad3在纤维化胰腺组织中均高表达, 阳性率分别为79.4% (27/34)和64.7%(22/34), 主要表达于间质的纤维组织、成纤维细胞、巨噬细胞、胰腺星状细胞(pancreatic stellate cell, PSC)及导管上皮细胞等, 主要定位于细胞质. Smad7在正常胰腺组织胰腺实质细胞中表达十分明显, 主要定位于胞质, 阳性率为73.3%(11/15), 其在纤维化胰腺组织中则呈低表达, 阳性率为26.5%(9/34), 在实质细胞及间质细胞中均有表达。

2.2 TGF- β 1在纤维化胰腺组织中的表达与Smad3, Smad7表达之间的关系 34例纤维化胰腺组织中, 有27例TGF- β 1呈阳性表达, 27例TGF- β 1阳性表达组中有20例Smad3呈阳性表达, 仅4例Smad7呈阳性表达. 纤维化胰腺组织中TGF- β 1的表达与Smad3的表达呈正相关($r=0.385$, $P<0.05$)而与Smad7的表达呈负相关($r=-0.519$, $P<0.01$).

3 讨论

由于胰腺纤维化的危害尚未引起人们的足够重视且目前尚缺少胰腺纤维化动物模型, 与其他器官纤维化相比, 胰腺纤维化的研究明显滞后, 直接的研究资料较少. 胰腺纤维化主要见于慢性胰腺炎、胰腺囊性纤维化、系统性硬化等疾病, 是多种原因导致胰腺损伤修复的结果. 临床上胰腺纤维化与慢性胰腺炎的关系最为密切, 二者相互影响并促进病程进展, 因此, 一般以慢性胰腺炎作为胰腺纤维化的研究模型^[1]. 本实验选择34例因患慢性胰腺炎而致胰腺组织不同程

度纤维化的胰腺标本作为研究对象。

在多种器官纤维化的研究中, 转化生长因子- β (TGF- β)是研究得最多、也是作用最强的致纤维化因子, 在哺乳动物中TGF- β 可分为TGF- β 1, TGF- β 2和 TGF- β 3 3种亚型, 其中TGF- β 1的生物学活性最明显, 在生理状态下, TGF- β 1主要由淋巴细胞、巨噬细胞和血小板分泌, 组织间质细胞对其也有不同程度的表达, 而实质细胞则不表达, 但在器官慢性炎症或纤维化时, 间质细胞对其表达增加且实质细胞对TGF- β 1的表达也启动^[3-4]。本研究证实, TGF- β 1在纤维化胰腺组织中的表达明显高于正常胰腺组织($P < 0.01$), 提示TGF- β 1是胰腺组织的致纤维化因子。近年来大量的研究证实, smad蛋白家族可能在哺乳动物细胞内充当TGF- β 信号的介导子, TGF- β 1主要通过TGF- β /Smad途径发挥生物学效应。活性的TGF- β 1结合并激活II型/I型TGF- β 受体, 活化的受体进一步激活Smads家族中的Smad2, Smad3和Smad4, 然后其聚集成共同复合物或形成数个异源二聚体, 进入细胞核内与特异的DNA连接蛋白结合, 直接启动靶基因转录, 靶细胞出现生物学效应; 在此过程中Smad6和Smad7能够抑制其信号传导^[5-7]。在肝纤维化的发生发展中观察到TGF- β /Smad信号途径可能起重要作用^[8]。本研究通过免疫组化技术证实纤维化胰腺组织中TGF- β 1, Smad3表达上调, Smad7表达下降, 且纤维化胰腺组织中TGF- β 1的表达与Smad3的表达呈正相关而与Smad7的表达呈负相关, 从而提示, TGF- β 1可能是通过TGF- β /Smad信号途径导致胰腺纤维化的发生、发展。

另外, 近年的研究证明, 胰腺内也存在与肝星状细胞相似的细胞, 称之为胰腺星状细胞(pancreatic stellate cell, PSC), Apte *et al*^[9]的研究证明, 胰腺星状细胞占胰腺细胞总数的3.99%, 位于腺细胞间, 并围绕在邻近腺细胞的基底部。研究证明, 在人胰腺纤维化和大鼠实验性纤维化的纤维化区有大量 α -SMA阳性星状细胞, 他们定位于胶原表达的部位, 表明胰腺星状细胞是胰腺纤维化时胶原的主要来源, 活化的胰腺星状细胞在胰腺纤维化的发生、发展中起到重要作用^[10]。研究证实, 多种作用因子在胰腺星状细胞活化中可能起关键作用^[11]。最近研究发现, 用TGF- β 1和血小板衍化生长因子(PDGF)等促纤维化细胞因子处理可使胰腺星状细胞激活, 如细胞增值、表达 α -SMA和产生更多的ECM,

促使胰腺纤维化^[12]。本实验也观察到TGF- β 1, Smad3在胰腺星状细胞中表达增加, 可能在胰腺纤维化的发生发展中TGF- β 1激活胰腺星状细胞也是重要途径之一。

纤维化的形成是一个缓慢的动态过程, 涉及到细胞、细胞因子和ECM等多种因素、多个环节间相互作用和相互调节的复杂过程, 不论何种原因引起的器官纤维化, 最终都将因ECM的大量沉积而严重破坏组织结构, 影响组织功能。过去认为, 一旦纤维化形成即不能逆转, 然而, 近年大量实验研究结果表明, 纤维化是可以逆转的^[13]。已有充分证据表明, 在调节ECM代谢的细胞因子中, 研究得最多、与ECM积聚关系最密切的是TGF- β , 他已被公认是器官纤维化治疗的靶标^[14]。另外, Smad7是TGF- β 信号转导途径的主要抑制性调控蛋白, 已有的研究表明其异常表达与肾纤维化、肺纤维化等密切相关, 因此调控Smad7的表达也可能提供一种纤维化疾病的新治疗手段 β 。本实验的研究结果初步证实TGF- β 1, Smad3和Smad7在胰腺纤维化形成过程中可能起到不同的介导作用, TGF- β 1, Smad3的高表达与Smad7的低表达可能促进胰腺纤维化的发生发展, 提示通过靶向性阻断TGF- β 1产生和(或)TGF- β /Smad信号通路的传导可能会阻断胰腺纤维化的进展, 从而达到治疗胰腺纤维化、慢性胰腺炎的目的。至于如何在信号通路上靶向性抑制TGF- β 1, Smad3信号和(或)加强Smad7信号仍有待于进一步深入研究。

4 参考文献

- 1 李才, 张一宁, 牛俊奇, 侯芳玉, 黄三英, 李广生, 孙立波, 张得恒. 器官纤维化基础与临床. 北京: 人民卫生出版社 2003: 268-284
- 2 Draganov P, Toskes PP. Chronic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2002; 18: 558-562
- 3 Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994; 331: 1286-1292
- 4 Di Mola FF, Friess H, Martignoni ME, Di Sebastiano P, Zimmermann A, Innocenti P, Graber H, Gold LI, Korc M, Buchler MW. Connective tissue growth factor is a regulator for fibrosis in human chronic pancreatitis. *Ann Surg* 1999; 230: 63-71
- 5 Dooley S, Delvoux B, Lahme B, Mangasser-Stephan K, Gressner AM. Modulation of transforming growth factor beta response and signaling during transdifferentiation of rat hepatic stellate cells to myofibroblasts. *Hepatology* 2000; 31: 1094-1106
- 6 Inagaki Y, Mamura M, Kanamaru Y, Greenwel P, Nemoto T, Takehara K, Ten Dijke P, Nakao A. Constitutive phosphorylation and nuclear localization of Smad3 are correlated with increased collagen gene transcription in activated

■名词解释

胰腺星状细胞(PSC): 1998年Bachem等从人和大鼠胰腺基质中分离出能产生I, III型胶原、纤维结合蛋白和层黏蛋白等细胞外基质的细胞, 该细胞位于胰腺小叶间和腺泡周围区, 围绕邻近腺细胞基底部, 与纤维化区肌成纤维细胞相似, 故将其命名为PSC, 研究证实PSC的活化在胰腺纤维化中起重要作用。

■同行评价

转化生长因子- β 与多种器官纤维化相关,其在发病机制和治疗中所起的作用是当今研究热点之一,本实验运用免疫组化技术研究转化生长因子- β 在胰腺纤维化发生的作用及机制,目的明确,结果可信,其结论对于胰腺纤维化的基础研究和临床研究均有指导意义,是一篇较好的基础研究论文。

- hepatic stellate cells. *J Cell Physiol* 2001; 187: 117-123
- 7 Kuang C, Xiao Y, Liu X, Stringfield TM, Zhang S, Wang Z, Chen Y. *In vivo* disruption of TGF- β signaling by Smad7 leads to premalignant ductal lesions in the pancreas. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 1858-1863
- 8 Song SL, Gong ZJ, Zhang QR, Huang TX. Effects of Chinese traditional compound, JinSanE, on expression of TGF- β 1 and TGF- β 1 type II receptor mRNA, Smad3 and Smad7 on experimental hepatic fibrosis *in vivo*. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 2269-2276
- 9 Apte MV, Haber PS, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Wilson JS. Pancreatic stellate cells are activated by proinflammatory cytokines: implications for pancreatic fibrogenesis. *Gut* 1999; 44: 534-541
- 10 Jaster R. Molecular regulation of pancreatic stellate cell function. *Mol Cancer* 2004; 3: 26
- 11 余晓云, 陈婕, 侯晓华. 胰腺星状细胞活化相关因子研究进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 20
- 12 Vogelmann R, Ruf D, Wagner M, Adler G, Menke A. Effects of fibrogenic mediators on the development of pancreatic fibrosis in a TGF- β 1 transgenic mouse model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G164-G172
- 13 Benyon RC, Iredale JP. Is liver fibrosis reversible? *Gut* 2000; 46: 443-446
- 14 Schuppan D, Koda M, Bauer M, Hahn EG. Fibrosis of liver, pancreas and intestine: common mechanisms and clear targets? *Acta Gastroenterol Belg* 2000; 63: 366-370
- 15 Nakao A, Okumura K, Ogawa H. Smad7: a new key player in TGF- β -associated disease. *Trends Mol Med* 2002; 8: 361-363

电编 李琪 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

2007 中华肝胆胰脾外科(国际)学术论坛征文通知

本刊讯 “2007中华肝胆胰脾外科(国际)论坛”应澳门特区外科学会的盛情邀请于2007-04-13/16在澳门举办,现将征文通知公布如下:

1 征文内容

(1)肝癌诊断及外科与综合治疗:新诊断技术-可切除与否的界定-综合治疗与序贯化思路-对复发转移的研究进展-微创技术实际应用的可能性;(2)医源性胆管损伤的预防-胆管下端功能状态对修复及重建的影响-肝胆管结石外科治疗的新经验-肝门胆管癌根治性切除的实施与效果;(3)胰腺炎-重症急性、出血坏死性、“凶险性”-治疗中早期复苏的策略与实施-相关并发症的预防和处理;(4)胰腺癌-早期诊断的思路与进展-根治术在当前的含义和尺度-术前减黄与并发症的处理;(5)脾功能研究进展-保脾和切脾含义和抉择-PH时单纯切脾的指征与价值;(6)肝移植-应用指征的决策-供肝切取与保存-技术与非技术性并发症-再移植-远期存活的努力。

2 投稿要求及截稿日期

来稿请寄未曾公开发表过4000字以内全文及800字论文摘要各1份(无摘要不入汇编)请在信封上注明“会议征文”。截稿日期:2007-01-31。正式代表发论文证书并授一级继续教育学分。来稿请寄:《中华肝胆外科杂志》编辑部。

3 联系方式

地址:北京市复兴路28号;邮编:100853;电话:010-66936223;电传:010-68177009;E-mail:zhgdwkzz@vip.163.com;详情请登陆网站:www.zhgdwkzz.net.

结肠憩室的内镜特点及临床分析165例

汪望月, 夏冰, 陈光兰, 黎红光, 李春

汪望月, 陈光兰, 黎红光, 丽水市人民医院消化科 浙江省丽水市 323000

汪望月, 夏冰, 李春, 武汉大学中南医院综合医疗科 湖北省武汉市 430071

通讯作者: 夏冰, 430071, 湖北省武汉市武汉大学中南医院综合医疗科、消化疾病研究中心. bingxia2004@yahoo.com.cn
电话: 027-67812985

收稿日期: 2006-09-13 接受日期: 2006-11-02

Clinical features of colonic diverticulum: an analysis of 165 cases

Wang-Yue Wang, Bing Xia, Guang-Lan Chen, Hong-Guang Li, Chun Li

Wang-Yue Wang, Guang-Lan Chen, Hong-Guang Li, Department of Internal Medicine, People's Hospital, Lishui 323000, Zhejiang Province, China

Wang-Yue Wang, Bing Xia, Chun Li, Department of Internal Medicine and Geriatrics, Research Center of Digestive Diseases, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China

Correspondence to: Bing Xia, Department of Internal Medicine and Geriatrics, Research Center of Digestive Diseases, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei Province, China. bingxia2004@yahoo.com.cn

Received: 2006-09-13 Accepted: 2006-11-02

Abstract

AIM: To summarize the clinical and endoscopic features of colonic diverticulum.

METHODS: A total of 165 cases, collected from the year 1989 to 2004, with colonic diverticulum diagnosed by colonoscopy were divided into group A ($n = 52$, from the year 1989 to 1997) and B ($n = 113$, from the year 1998 to 2004), and the clinical and endoscopic features were retrospectively analyzed.

RESULTS: The proportion of patients with colonic diverticulum was increased from 1.47% in group A to 2.08% in group B. The ratio of male to female was 1.26 and 1.22 in group A and B, respectively. The average age of patients was increased from 61.68 years old to 66.41 years old. The typical manifestations of colonic diverticulum were abdominal pain, constipation, and

abdominal distension. The rate of constipation in group A was significantly lower than that in group B (15.38% vs 30.09%, $P < 0.05$) and the rate of sigmoid colonic diverticulum was also lower in group A ($\chi^2 = 4.303$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: Colonic diverticulum is more frequently occurred in recent years, and the number of patients is increasing with the increase of ages. Colonic diverticulum is mainly located at the left hemicolon, and the rate of sigmoid colonic diverticulum is increasing.

Key Words: Colonic diverticulum; Colon; Colonoscopy

Wang WY, Xia B, Chen GL, Li HG, Li C. Clinical features of colonic diverticulum: an analysis of 165 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):189-192

摘要

目的: 总结不同时期结肠憩室的临床特点及内镜下表现。

方法: 收集1989-2004经结肠镜检查确诊结肠憩室患者相关资料, 其中1989-1997组52例, 1998-2004组113例, 观察其临床特点及内镜表现。

结果: 在1989-1997和1998-2004两组中, 经结肠镜检查确诊的结肠憩室患者占同期结肠镜检查总数的比例从1.47%上升至2.08%, 男女之比分别为1.26和1.22, 平均发病年龄从61.68岁上升至66.41岁。临床主要表现为腹痛、便秘、腹胀等, 在1998-2004组中便秘患者比例与1989-1997组相比明显增加, 差异具有显著性(30.09% vs 15.38%, $P < 0.05$)。1998-2004组乙状结肠憩室检出率比1989-1997组明显增加, 差异具有显著性($\chi^2 = 4.303$, $P < 0.05$)。

结论: 近7 a结肠镜检出结肠憩室明显增加, 其发病例数随发病年龄的增加而增高, 好发部位由右半结肠为主转为以左半结肠为主, 且乙状结肠发病率明显增加。

关键词: 憩室病; 结肠; 结肠镜检查

■背景资料

消化道憩室是一层或一层以上肠壁向浆膜层的囊样突出, 在欧美国家发病率较高, 我国较少见, 其发病机制尚不完全清楚, 随着结肠镜的普及及人们对此类疾病认识提高, 近年来发病呈增加趋势。

■创新盘点

本文通过我院近16 a结肠憩室的临床特点及内镜下表现,从中对结肠憩室发病年龄、部位以及临床表现的比较,总结出该病随年龄的增加而增高,好发部位发生改变,由右半结肠为主转为以左半结肠为主,且乙状结肠发病率明显增加,为下一步探究其病因提供参考。

汪望月,夏冰,陈光兰,黎红光,李春.结肠憩室的内镜特点及临床分析165例.世界华人消化杂志 2007;15(2):189-192
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/189.asp>

0 引言

消化道憩室是一层或一层以上肠壁向浆膜层的囊样突出^[1-4],在欧美国家发病率较高,我国较少见,其发病机制尚不完全清楚,随着结肠镜的普及及人们对此类疾病认识提高,近年来发病呈增加趋势.但因大多数患者无特异性表现,临床上极易造成漏诊和误诊.为了解结肠憩室发病情况,回顾性统计我院1989-2004的结肠镜检查出结肠憩室结果,并分析结肠憩室的内镜及临床特点.

1 材料和方法

1.1 材料 1989-2004浙江省丽水市人民医院结肠镜检查共8965例,其中1989-1997行结肠镜检查3526例,发现结肠憩室52例;而1998-2004结肠镜检查5439例,检出结肠憩室113例.

1.2 方法 一般情况(性别、年龄),临床症状(腹痛、腹泻、腹胀、便秘和便血),结肠镜检查发现病变部位,并发症及伴发病等.

统计学处理 资料由两人分别输入计算机,检验一致后再作处理.检验方法用 χ^2 检验,若理论数 <5 则用精确概率法.

2 结果

2.1 年龄分布 1989-1997年经结肠镜确诊52例中,男29例,女23例,男女比1.26,年龄15-81(平均61.68)岁,其中以60-69岁最多,为36.54%.而1998-2004确诊的113例中,男62例,女51例,男女比1.22,年龄13-87(平均66.41)岁,其中以70岁以上组最多为33.6%.我院不同时期结肠憩室发病年龄的比较见表1.

2.2 临床表现 1989-2004结肠憩室患者的临床表现,以腹痛最多,其次有便秘、腹胀、腹泻及便血等,部分患者无症状.两组间临床症状比较,1998-2004组中便秘症状患者比1989-1997组明显增加,比较有显著性差异($P<0.05$),其余症状两组间比较均无显著性差异($P>0.05$).我院不同时期结肠憩室患者临床表现见表2.

2.3 结肠镜资料

2.3.1 憩室检出率 在1989-1997组结肠镜检查结肠憩室的检出率为1.47%(52/3526),其中单发为55.77%(29/52),多发为44.23%(23/52).在

1998-2004组其检出率为2.08%(113/5439),其中单发为47.79%(54/113),多发为52.21%(23/52).两组结肠憩室检出率比较有显著性差异($\chi^2 = 4.303, P<0.05$);两组间其单发及多发比较均无显著性差异($P>0.05$).

2.3.2 憩室部位及大小 憩室在全结肠均有发现,憩室开口处可见到局部肠壁薄弱,开口呈圆形或椭圆形,大小一般3-20 mm不等,多数在6-12 mm之间,憩室多位于大而厚的皱襞之间,另分别有2例及3例患者憩室内翻呈息肉状.两组间憩室部位分布比较,1998-2004组中发病部位乙状结肠为多见,与1989-1997组比较明显增加,有显著性差异($P<0.05$),其余发病部位两组间比较均无显著性差异($P>0.05$).另外,1989-1997组右半结肠(回盲部及升结肠)和左半结肠(降结肠及乙状结肠)检出率分别为22例(42.31%)和16(30.77%),1998-2004组右半结肠(回盲部及升结肠)和左半结肠(降结肠及乙状结肠)检出率分别为38例(33.63%)和(46.02%).两组其憩室部位分布范围见表3.

2.3.3 局部并发症 本组资料中,两组局部并发症的发生例数分别为23(44.2%)和39(34.51%),其中憩室炎分别为20(38.46%)和34(30.08%),憩室出血分别为3(5.77%)和5(4.42%),两组间并发症比较均无显著性差异($P>0.05$).

2.3.4 伴发病情况 两组资料中经结肠镜同时诊断有其他病变者分别为19(36.54%)和37(32.74%),其中肠易激综合征(IBS)6例和13例,结肠息肉分别为8例和13例,结肠黑变病分别为4例和10例,结肠癌分别为2例和3例,溃疡性结肠炎(UC)分别为4例和7例,以上伴发病单独发生或数病并发.两组间其并发症比较均无显著性差异($P>0.05$).

3 讨论

结肠憩室在西方发达国家十分多见,据统计约占人群的10%^[2-3],但我国尚缺乏确切的流行病学资料,姚希贤 *et al*^[5]综合国内大宗结肠镜检查的回顾性研究报告,统计出我国人群平均患病率仅为0.17%-1.87%.1989-1998以及1999-2004我院确诊结肠憩室占结肠镜检查总数分别为1.47%和2.08%,这两组资料显示,结肠憩室发生率逐渐增高.1989-1998组中60-69岁年龄组中占36.5%,平均年龄61.68岁,而1999-2004组中以70岁以上组中最多,占33.6%,平均年龄66.41岁.两组结果显示,近年来结肠憩室的发病率逐

表 1 不同时期结肠憩室发病年龄的比较(%)

年龄	n	15-39岁	40-49岁	50-59岁	60-69岁	70岁以上
1989-1997年	52	5(9.61)	6(11.54)	10(19.23)	19(36.54)	12(23.08)
1998-2004年	113	7(6.19)	11(9.73)	23(20.35)	34(30.09)	38(33.63)

表 2 不同时期结肠憩室临床表现的比较(%)

组别	n	腹痛	便秘	腹胀	腹泻	便血	无症状
1989-1997年	52	21(40.38)	8(15.38)	8(15.38)	7(13.46)	4(7.69)	8(15.38)
1998-2004年	113	37(32.74)	34(30.09) ^a	13(11.50)	12(10.62)	7(6.19%)	31(27.43)

^aP<0.05 vs 1989-1997年组.

表 3 不同时期患者结肠憩室的部位分布(%)

组别	n	右半结肠		横结肠	右半结肠		直肠	全结肠
		回盲部	升结肠		回盲部	升结肠		
1989-1997年	52	8(15.39)	14(26.92)	10(19.23)	7(13.46)	9(17.30)	0(0)	2(3.85)
1998-2004年	113	15(13.27)	23(20.35)	17(15.04)	15(13.27)	37(32.74) ^a	1(0.88)	5(4.42)

^aP<0.05 vs 1989-1997年组.

渐上升,并随着年龄增加,支持结肠憩室产生与年龄相关.其原因可能是人们饮食结构由高纤维膳食向低纤维膳食发展.低纤维饮食在结肠动力、肠内压力、肠壁结构等多方面产生影响导致憩室产生^[2-3];同时老年人肠壁中胶原、弹性蛋白、网状组织的增多致使结肠壁弹性降低,顺应性下降,调节压力能力下降,易发生憩室^[3].

结肠憩室发病部位存在明显地域上的差异.西方国家约75%-90%的结肠憩室发生于乙状结肠,而亚洲国家报道70%-90%发生在右半结肠^[4],梁浩 *et al*^[6]报道结肠憩室141例,位于右半结肠者90例(占63.8%),而乙状结肠仅7例(4.96%).陶中原 *et al*^[7]报道右半结肠与左半结肠憩室的检出率分别为35%和37%,两者极为相近.本组显示,两组结肠憩室右半结肠分别为22(42.30%)和38(33.63%),左半结肠分别为18(34.61%)和48(42.48%).发病部位的不同由于是否存在气候以及生活习惯不同,有待于进一步调查研究.

约80%-85%的大肠憩室为亚临床,可终身无症状,偶因钡灌肠、肠镜或尸体解剖时被发现^[4],仅少数患者有腹痛、腹胀和大便习惯改变.本组回顾性临床内镜分析,显示两组临床症状主要为腹痛、便秘、腹胀、腹泻、便血,可能是由于伴发其他疾病如IBS,UC以及结肠癌等以

及一些并发症憩室炎和憩室出血引起,少数可发生急性穿孔引起急性弥漫性腹膜炎,资料显示1998-2004组和1989-1997组均未见憩室穿孔,憩室炎分别为20(38.46%)例和34(30.08%)例,憩室出血分别为3(5.77%)例和5(4.42%)例,低于文献报道(52%和7%)^[7-8],考虑其原因是部分严重并发症者如憩室急性穿孔或破裂者未纳入结肠镜检查;此外,憩室炎和憩室出血均可自愈,结肠镜检查时机不同,影响其检出率.总之,结肠憩室的临床表现缺乏特异性,仅依靠症状诊断比较困难.

结肠镜可准确的诊断结肠憩室已经得到了国内外专家的认同,进行充分肠道准备后,我们认为正确的内镜操作是提高本病诊断率的关键.在操作过程中应重视以下几点:(1)一般在肠镜操作中重视退镜时对全结肠征象进行观察,但我们发现进镜时的观察更有利于发现结肠憩室,因结肠憩室表现为圆形或卵圆形开口,且直径一般小于10 mm,这些憩室由于结肠节段性收缩,可被黏膜皱襞所掩盖,当进镜时少量注气,肠内压力增大可使憩室开口可由半闭合状态改为半开放状态,有利于憩室的观察.退镜时由于黏膜皱襞收缩或憩室口不能张开,无法充盈,使憩室不易发现;(2)憩室并发憩室炎者患者,表现局部肠壁黏膜充血水肿明显,注意憩室内有粪

■应用要点

通过对比各期临床表现不同,为临床作进一步指导,减少误诊率以及漏诊率;另外,文中提到几点需要注意又是广大临床以及内镜工作者容易忽视的问题,有明显实用价值,并对广大临床工作者起指导作用.

■同行评价

本文总结不同时期结肠憩室的临床特点及内镜下表现,对于结肠憩室的检出有一定的参考价值。

石嵌顿可能性大,镜下表现憩室口常被粪石堵塞或突出黏膜表面,触之较硬,经内镜下取出粪石后发现一般憩室口小腔大,周边黏膜水肿;(3)重视肠道憩室的其他形式的表现,我们发现2例憩室内翻呈息肉状隆起,经过充气扩张肠腔后明确诊断;(4)特别注意老年患者有无肠道憩室的可能;此外,憩室可多发,不要满足发现一个憩室。

4 参考文献

- 1 Bassotti G, Chistolini F, Morelli A. Pathophysiological aspects of diverticular disease of colon and role of large bowel motility. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2140-2142

- 2 Colecchia A, Sandri L, Capodicasa S, Vestito A, Mazzella G, Staniscia T, Roda E, Festi D. Diverticular disease of the colon: new perspectives in symptom development and treatment. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 1385-1389
- 3 Simpson J, Scholefield JH, Spiller RC. Pathogenesis of colonic diverticula. *Br J Surg* 2002; 89: 546-554
- 4 王吉耀. 消化道憩室病. 见: 陈灏珠主编实用内科学黏(第11版). 北京: 人民卫生出版社, 2001:1798-1800
- 5 姚希贤, 蒋树林. 结肠憩室病. *中国实用内科杂志* 2000; 20: 83-85
- 6 梁浩, 李丰雪, 杜红, 汪鸿志. 经结肠镜诊断结肠憩室病141例资料分析. *中华内科杂志* 1995; 34: 624
- 7 陶中原, 黄开红, 贾林, 李瑜元. 大肠憩室62例临床并发症及误诊分析. *新医* 2001; 32: 283-284
- 8 贾林, 黄开红, 陶中原, 李瑜元. 老年结肠憩室患者的临床特点和并发症. *中华老年医学杂志* 2000; 19: 265-267

电编 李琪 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

中华医学会第七次全国消化系疾病学术会议征文通知

本刊讯 中华医学会消化病学分会定于2007-05月上旬在山东省济南市召开第七次全国消化系疾病学术会议. 现将会议的征文内容及有关事项通知如下.

1 征文内容

消化系统疾病的流行病学、基础及临床(包括内镜诊断和治疗)研究. 因会议论文交流将按下列组别进行分会场交流, 故务必请在下列8个组别中选择1个您认为适合的交流组别, 并在论文摘要的右下角上标明.(1)功能性胃肠疾病及动力障碍性胃肠病(包括胃食管反流病); (2)幽门螺杆菌及其相关疾病; (3)胰腺疾病; (4)肝胆疾病; (5)胃肠道肿瘤; (6)炎症性疾病; (7)胃肠激素; (8)其他.

2 征文要求

请提供800字左右的中文摘要一份, 摘要内容包括: 目的、方法、结果、结论, 注明作者的姓名、单位和邮政编码. 并提供电脑打印稿(附软盘), 经所在的单位审查盖章后寄至中华医学会学术会务部刘亚君收(北京东四西大街42号 邮编 100710), 信封上请注明会议名称. 请最好同时通过本次会议专用网站(网址: www.assimilation2007.com)邮寄电子文稿和报名. 凡已在全国性学术会议上或全国公开发行的刊物上发表过的论文, 不予受理. 截稿日期: 2007年2月28日(以当地邮戳为准)

肿瘤M₂型丙酮酸激酶在结直肠癌粪便筛查中的临床价值

张波, 陈剑英, 王国斌

张波, 陈剑英, 王国斌, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科 湖北省武汉市 430022

通讯作者: 张波, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科.

unionzhang@yahoo.com

电话: 027-85726494 传真: 027-85756343

收稿日期: 2006-10-15 接受日期: 2006-11-10

Value of fecal tumor M₂ pyruvate kinase in diagnosis of colorectal cancer

Bo Zhang, Jian-Ying Chen, Guo-Bin Wang

Bo Zhang, Jian-Ying Chen, Guo-Bin Wang, Department of General Surgery, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Bo Zhang, Department of General Surgery, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. unionzhang@yahoo.com

Received: 2006-10-15 Accepted: 2006-11-10

Abstract

AIM: To evaluate the value of fecal M₂ pyruvate kinase (M₂-PK) as a screening biomarker for colorectal cancer.

METHODS: The tumor fecal M₂-PK was determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in colorectal cancer patients ($n = 80$) and healthy controls ($n = 80$), and the results were comparatively analyzed.

RESULTS: The cut-off value to discriminate patients from controls was established at 166.7 $\mu\text{kat/L}$ for tumor M₂-PK. The mean level of fecal tumor M₂-PK was significantly higher in colorectal cancer patients than that in the normal controls (713.41 $\mu\text{kat/L}$ vs 59.55 $\mu\text{kat/L}$, $P < 0.0001$), and the overall sensitivity and specificity were 77.5% and 92.5%, respectively. With the progression of colorectal carcinoma, the level of tumor M₂-PK as well as the sensitivity was increased ($F = 52.984$, $P < 0.0001$). In patients with Dukes A ($n = 11$), B ($n = 37$), C ($n = 25$), and D ($n = 7$) stages, the mean levels of tumor M₂-PK were 233.53,

522.58, 847.27 and 1998.04 $\mu\text{kat/L}$, respectively, and the sensitivities were 63.64%, 75.68%, 84% and 84%, respectively.

CONCLUSION: Tumor M₂-PK is detectable in the feces of colorectal cancer patients and correlated with the staging and metastasis of the carcinoma, and it can help to make early diagnosis of colorectal cancer in patients with sub-clinical symptoms.

Key Words: Tumor M₂ pyruvate kinase; Stool screening; Colorectal cancer

Zhang B, Chen JY, Wang GB. Value of fecal tumor M₂ pyruvate kinase in diagnosis of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(2):193-196

摘要

目的: 评估一种新的肿瘤标志物—肿瘤M₂型丙酮酸激酶(Tumor M₂-PK)在结直肠癌粪便筛查中的诊断价值。

方法: 采集80例结直肠癌患者以及80例正常健康对照者的粪便, 用酶结合免疫吸附测定(ELISA)法检测粪便中Tumor M₂-PK值, 并进行比较分析。

结果: 结肠癌患者粪便中Tumor M₂-PK的整体水平(713.41 $\mu\text{kat/L}$)显著高于健康人群(59.55 $\mu\text{kat/L}$)($P < 0.0001$), 其总体敏感性为77.5%, 总体特异性为92.5%(正常值定为 $<166.7 \mu\text{kat/L}$)。随着结肠癌的进展和转移, Tumor M₂-PK检测值随之升高, 检测的敏感性也随之升高, 11例Dukes A期患者的Tumor M₂-PK平均值为233.53 $\mu\text{kat/L}$, 敏感性为63.64%; 37例Dukes B期患者为522.58 $\mu\text{kat/L}$, 敏感性为75.68%; 25例Dukes C期患者为847.27 $\mu\text{kat/L}$, 敏感性为84%; 7例Dukes D期患者为1998.04 $\mu\text{kat/L}$ 敏感性为85.71%。

结论: Tumor M₂-PK在粪便中的检测可以区别大部分的结肠患者和健康人群, 且其敏感性明显高于粪便潜血实验, 他将适用于人群普查和绝大多数有亚临床症状患者的早期诊断。

■背景资料

结肠癌的早期诊断主要依赖结肠镜的广泛开展和特异性的肿瘤标志物检测, 如果在粪便中找到一种相对敏感的标志物用于结肠癌的早期诊断, 不仅适用于大规模的人群筛查, 而且与血清学标志物相比, 将提高结肠癌诊断的特异性。

■ 研发前沿

肿瘤M₂型丙酮酸激酶作为一种新的肿瘤标志物,在 高危结肠癌患者粪便中可以方便的检测,其敏感性显著高于粪便潜血实验,有较好的临床应用价值.

关键词: 肿瘤M₂型丙酮酸激酶; 粪便筛查; 结肠癌

张波, 陈剑英, 王国斌. 肿瘤M₂型丙酮酸激酶在结直肠癌粪便筛查中的临床价值. 世界华人消化杂志 2007;15(2):193-196
http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/193.asp

0 引言

结直肠癌是全球第三大癌症, 每年新增病例约945 000人, 死亡病例约49 200人, 其5 a总体生存率在不发达国家仍低于40%^[1-3]. 结肠镜检查虽然是结直肠癌早期诊断的金标准, 但由于技术难度和操作复杂性使其难于进行大规模、定期的人群普查^[4-5]. 丙酮酸激酶(pyruvate kinase)是糖酵解途径的关键激酶, 丙酮酸激酶同工酶M₂型在肿瘤细胞中明显过表达, 表现为肿瘤细胞特异性的代谢特征, 因此也称为肿瘤M₂型丙酮酸激酶(Tumor M₂-PK)^[6-8]. 临床研究显示, Tumor M₂-PK的浓度在多种实体肿瘤患者的外周血中明显升高^[9-13]. 我们通过对结直肠癌患者粪便中Tumor M₂-PK的检测, 评估这一新的肿瘤标志物在结直肠癌人群筛查和早期诊断中的价值.

1 材料和方法

1.1 材料 结肠镜和活检组织病理学诊断为原发性结直肠癌患者共80例, 平均年龄45.6岁, 其中男49例, 女31例. 根据Dukes分期, Dukes A期11例, Dukes B期37例, Dukes C期25例, Dukes D期7例. 80例健康人为对照组.

1.2 方法 所有患者收集手术前粪便标本1份, 并简要记录病史. 手术后记录肿瘤的大小、侵犯深度、淋巴结转移和病理学分型, 并进行Dukes分期. 健康对照人群收集常规粪便一份. 用德国ScheBo[®] Biotech公司生产的试剂盒, Tumor M₂-PK mAb和相应二抗用夹心法ELISA测定Tumor M₂-PK的浓度. 100 mg粪便标本用10 mL抽提液裂解, 1:100稀释于样品洗涤液中, 常规方法分别与Tumor M₂-PK抗体和二抗杂交, 过氧化物酶和链霉亲和素染色后, 分光光度计在450 nm处读数.

统计学处理 SPSS11.5统计软件比较数据的差异显著性.

2 结果

2.1 Tumor M₂-PK检测结果 80例结肠癌患者粪便中Tumor M₂-PK的平均值为713.31 μkat/L, 80例健康人的平均值为59.55 μkat/L. 结肠癌患者粪便中的Tumor M₂-PK值明显高于正常人($t = -8.219, P < 0.001$, 表1). 根据Dukes分期, 11例Dukes

表1 结肠癌患者与健康对照Tumor M₂-PK水平比较的统计值

分组	n	最小值	最大值	平均值	标准差	标准误
对照组	80	2.00	276.22	59.55	58.37	6.53
结肠癌组	80	7.50	3976.80	713.41 ^b	709.18	79.29

^b $P < 0.01$ vs 对照组.

A期患者的Tumor M₂-PK平均值为233.53 μkat/L; 37例Dukes B期患者为522.58 μkat/L; 25例Dukes C期患者为847.27 μkat/L; 7例Dukes D期患者为1998.04 μkat/L. 结果发现随着肿瘤的浸润和转移, 晚期结肠癌患者粪便中Tumor M₂-PK值升高明显($F = 52.984, P < 0.0001$). 组间两两比较发现, Dukes A期患者与对照组间无显著性差异, Dukes B、C和D期患者与对照组间差异显著(表2).

2.2 粪便中Tumor M₂-PK检测的敏感性 结肠癌患者粪便中Tumor M₂-PK检测的总体敏感性为77.5%, 其中Dukes A期患者为63.64%; Dukes B期为75.68%; Dukes C期为84%; Dukes D期为85.71%. 结果提示, 粪便中Tumor M₂-PK诊断的敏感性与肿瘤分期相关, 在早期结肠癌中其敏感性较低.

3 讨论

肿瘤细胞的代谢状态与正常增生细胞不同, 肿瘤细胞中有氧糖酵解途径增多, 而这一途径的增多与多种因素有关, 包括同工酶结构和活性的改变等. 丙酮酸激酶是糖酵解途径的关键激酶, 其有多种异构体形式存在, 包括丙酮酸激酶L型、R型、M₁型、M₂型和肿瘤M₂型, 这些激酶的表达具有组织特异性. L型主要见于肝脏和正常肾脏的近曲小管; 红细胞主要表达R型; M₁型主要存在于骨骼肌、心脏和脑, M₂型主要表达于肺、正常肾脏的远曲小管、胚胎和未分化或增生的组织. 所有这些异构体都以四聚体形式存在并为其活性状态^[14-15]. 丙酮酸激酶同工酶M₂型在肿瘤细胞呈明显过表达, 并转变为二聚体形式存在. 这些二聚体形式的丙酮酸激酶M₂型的浓度在肿瘤细胞中明显升高, 表现为肿瘤细胞特异性的代谢特征, 因此称为肿瘤M₂型丙酮酸激酶(Tumor type M₂ pyruvate kinase, Tumor M₂-PK).

目前, 结肠癌的早期诊断主要依赖结肠镜的广泛开展和特异性的肿瘤标志物检测. 结肠镜检查由于操作复杂, 绝大部分无症状人群难以接受;

表 2 不同分期结肠癌患者Tumor M₂-PK水平比较的统计值

分组	n	最小值	最大值	平均值	标准差	标准误	P值
对照组	80	2.00	276.22	59.55	58.37	6.53	
Dukes A	11	21.00	501.60	233.53	159.09	47.97	0.172
Dukes B	37	7.50	1512.30	522.58	395.50	65.02	<0.0001
Dukes C	25	79.68	2107.92	847.27	570.57	114.11	<0.0001
Dukes D	7	48.84	3976.80	1998.04	1300.93	491.70	<0.0001

肿瘤标志物的检测因敏感性和特异性较差, 至今尚无结肠癌特异性的血清学标志物^[16-18]. 结直肠作为空腔脏器的特点, 粪便是其主要的分泌物, 如果能在粪便中找到一种相对敏感的标志物用于结肠癌的早期诊断, 一方面适用于大规模的人群筛查, 减轻筛查人群的负担; 同时与血清学标志物相比, 将提高结肠癌诊断的特异性^[19-22]. 既往的研究显示, 血清中Tumor M₂-PK的浓度在胃肠道肿瘤中明显升高, 同时在粪便中也可以检测到Tumor M₂-PK浓度的差异^[23-24]. 我们假设Tumor M₂-PK只能在胃肠道肿瘤患者的粪便中检测得到, 那么这种肿瘤标志物将非常有利于结肠癌的大规模人群普查. 我们的研究选取经结肠镜和病理活检证实的、不同分期的结肠癌患者, 检测其粪便中Tumor M₂-PK的水平与健康对照人群的差异, 结果显示, 结肠癌患者粪便中Tumor M₂-PK的整体水平(713.41 μkat/L)显著高于健康人群(59.55 μkat/L)($P < 0.0001$), 其总体敏感性为77.5%, 总体特异性为92.5%(正常值定为<166.7 μkat/L). 这说明Tumor M₂-PK在粪便中的检测可以区别大部分的结肠患者, 且其敏感性明显高于粪便潜血实验(24%)^[25-26]. 但是, 这些总体平均值和敏感性不能作为早期诊断的依据. 因此, 我们进一步分析Tumor M₂-PK的检测值与结肠癌分期的关系. 根据Dukes分期, 随着结肠癌的进展和转移, Tumor M₂-PK检测值随之升高, 检测的敏感性也随之升高(分别为63.64%, 75.68%, 84%和85.71%), 但统计学结果提示, Dukes B, C, D期患者Tumor M₂-PK平均值与对照组间差异显著(P 值分别为0.034, <0.0001, <0.0001), 而Dukes A期患者的Tumor M₂-PK平均值与对照组无显著性差异($P = 0.172$). 这说明该肿瘤标志物在结肠癌早期诊断中意义不大, 也就是说对于大多数没有临床症状的黏膜下结肠癌高危人群其临床价值较差. 尽管如此, 对于绝大多数Dukes B期以上患者, 其诊断的敏感性较高(>75%). 虽然对粪便中一些癌基因和抑癌基因的检测(如K-ras, p53, APC等基因)将得到更高

的特异性, 但由于个体患者的遗传异质性, 单个基因的检测不能提高诊断的敏感性, 而多个基因的检测又将提高检测的费用^[27-30]. 因此, 粪便中Tumor M₂-PK的检测将比癌基因和抑癌基因的检测敏感性更高, 他不仅检测手段方便、可靠, 检测标本稳定、容易采集, 而且非常适合大规模的人群普查.

总之, Tumor M₂-PK作为一种新的肿瘤标志物, 在高低危结肠癌患者粪便中可以方便的检测, 其敏感性显著高于粪便潜血实验. 在更大规模的临床检验后, 他将适用于人群普查和绝大多数有亚临床症状患者的早期诊断, 但对于很早期结肠癌的筛查仍有局限性, 如果将来配合癌基因和抑癌基因的突变筛查, 将极大的提高结肠癌的早期诊断率^[31].

4 参考文献

- Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- Ciccolallo L, Capocaccia R, Coleman MP, Berrino F, Coebergh JW, Damhuis RA, Faivre J, Martinez-Garcia C, Moller H, Ponz de Leon M, Launoy G, Raverdy N, Williams EM, Gatta G. Survival differences between European and US patients with colorectal cancer: role of stage at diagnosis and surgery. *Gut* 2005; 54: 268-273
- Lamberti C, Sauerbruch T. Early diagnosis of colorectal tumors. *Internist (Berl)* 2005; 46: 401-10
- Zhang YL, Zhang ZS, Wu BP, Zhou DY. Early diagnosis for colorectal cancer in China. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 21-25
- Mazurek S, Eigenbrodt E. The tumor metabolome. *Anticancer Res* 2003; 23: 1149-1154
- Mazurek S, Grimm H, Boschek CB, Vaupel P, Eigenbrodt E. Pyruvate kinase type M2: a crossroad in the tumor metabolome. *Br J Nutr* 2002; 87 Suppl 1: S23-S29
- Mazurek S, Grimm H, Oehmke M, Weisse G, Teigelkamp S, Eigenbrodt E. Tumor M2-PK and glutaminolytic enzymes in the metabolic shift of tumor cells. *Anticancer Res* 2000; 20: 5151-5154
- Hugo F, Fischer G, Eigenbrodt E. Quantitative detection of tumor M2-PK in serum and plasma. *Anticancer Res* 1999; 19: 2753-2757
- Schneider J, Morr H, Velcovsky HG, Weisse G,

■同行评价

本文观察了肿瘤M₂型丙酮酸激酶在结肠癌粪便筛查中的临床价值, 研究有较高的临床指导意义, 希望能开展前瞻性研究, 并加以推广.

- Eigenbrodt E. Quantitative detection of tumor M2-pyruvate kinase in plasma of patients with lung cancer in comparison to other lung diseases. *Cancer Detect Prev* 2000; 24: 531-535
- 11 Roigas J, Schulze G, Raytarowski S, Jung K, Schnorr D, Loening SA. Tumor M2 pyruvate kinase in plasma of patients with urological tumors. *Tumour Biol* 2001; 22: 282-285
- 12 Hardt PD, Ngoumou BK, Rupp J, Schnell-Kretschmer H, Kloer HU. Tumor M2-pyruvate kinase: a promising tumor marker in the diagnosis of gastro-intestinal cancer. *Anticancer Res* 2000; 20: 4965-4968
- 13 Oremek GM, Sapoutzis N, Kramer W, Bickeboller R, Jonas D. Value of tumor M2 (Tu M2-PK) in patients with renal carcinoma. *Anticancer Res* 2000; 20: 5095-5098
- 14 Mazurek S, Boschek CB, Eigenbrodt E. The role of phosphometabolites in cell proliferation, energy metabolism, and tumor therapy. *J Bioenerg Biomembr* 1997; 29: 315-330
- 15 Eigenbrodt E, Kallinowski F, Ott M, Mazurek S, Vaupel P. Pyruvate kinase and the interaction of amino acid and carbohydrate metabolism in solid tumors. *Anticancer Res* 1998; 18: 3267-3274
- 16 Saha D, Roman C, Beauchamp RD. New strategies for colorectal cancer prevention and treatment. *World J Surg* 2002; 26: 762-766
- 17 Ouyang DL, Chen JJ, Getzenberg RH, Schoen RE. Noninvasive testing for colorectal cancer: a review. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1393-1403
- 18 Morikawa T, Kato J, Yamaji Y, Wada R, Mitsushima T, Shiratori Y. A comparison of the immunochemical fecal occult blood test and total colonoscopy in the asymptomatic population. *Gastroenterology* 2005; 129: 422-428
- 19 Kronborg O, Fenger C, Olsen J, Jorgensen OD, Sondergaard O. Randomised study of screening for colorectal cancer with faecal-occult-blood test. *Lancet* 1996; 348: 1467-1471
- 20 Ahlquist DA, Shuber AP. Stool screening for colorectal cancer: evolution from occult blood to molecular markers. *Clin Chim Acta* 2002; 315: 157-168
- 21 Brawley OW, Kramer BS. Cancer screening in theory and in practice. *J Clin Oncol* 2005; 23: 293-300
- 22 Woolf SH. A smarter strategy? Reflections on fecal DNA screening for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2004; 351: 2755-2758
- 23 Zhang B, Chen JY, Chen DD, Wang GB, Shen P. Tumor type M2 pyruvate kinase expression in gastric cancer, colorectal cancer and controls. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1643-1646
- 24 Naumann M, Schaum B, Oremek GM, Hanisch E, Rosch W, Mossner J, Caspary WF, Stein J. Faecal pyruvate kinase type M2--a valid screening parameter for colorectal cancer? Preliminary results from a multicenter comparative study. *Dtsch Med Wochenschr* 2004; 129: 1806-1807
- 25 Allison JE, Tekawa IS, Ransom LJ, Adrain AL. A comparison of fecal occult-blood tests for colorectal-cancer screening. *N Engl J Med* 1996; 334: 155-159
- 26 Ransohoff DF, Lang CA. Screening for colorectal cancer with the fecal occult blood test: a background paper. American College of Physicians. *Ann Intern Med* 1997; 126: 811-822
- 27 Ahlquist DA, Skoletsky JE, Boynton KA, Harrington JJ, Mahoney DW, Pierceall WE, Thibodeau SN, Shuber AP. Colorectal cancer screening by detection of altered human DNA in stool: feasibility of a multitarget assay panel. *Gastroenterology* 2000; 119: 1219-1227
- 28 de Noo ME, Tollenaar RA, Deelder AM, Bouwman LH. Current status and prospects of clinical proteomics studies on detection of colorectal cancer: hopes and fears. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6594-6601
- 29 Tagore KS, Lawson MJ, Yucaitis JA, Gage R, Orr T, Shuber AP, Ross ME. Sensitivity and specificity of a stool DNA multitarget assay panel for the detection of advanced colorectal neoplasia. *Clin Colorectal Cancer* 2003; 3: 47-53
- 30 Traverso G, Shuber A, Levin B, Johnson C, Olsson L, Schoetz DJ Jr, Hamilton SR, Boynton K, Kinzler KW, Vogelstein B. Detection of APC mutations in fecal DNA from patients with colorectal tumors. *N Engl J Med* 2002; 346: 311-320
- 31 Smith RA, Cokkinides V, Eyre HJ. American Cancer Society guidelines for the early detection of cancer, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 11-25; quiz 49-50

电编 李琪 编辑 王晓瑜

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志在线办公系统

本刊讯 自2005-12-15起, 世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>), 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、编者之间的信息反馈交流. 凡在在线办公系统注册的用户, 将可获得世界华人消化杂志最新出版消息.

世界华人消化杂志和World Journal of Gastroenterology 2006年工作总结

张海宁, 张焕兰, 王晓瑜, 张敏, 李琪, 江艳, 马景云, 王先林, 朱丽红, 王静, 张建中, 刘晔, 陆卫, 杨兴霞, 马文华, 刘文峰, 毕伶, 白少华, 潘伯荣, 马连生

张海宁, 张焕兰, 王晓瑜, 张敏, 李琪, 江艳, 马景云, 王先林, 朱丽红, 王静, 张建中, 刘晔, 陆卫, 杨兴霞, 马文华, 刘文峰, 毕伶, 白少华, 潘伯荣, 马连生, 世界胃肠病学杂志社, 北京百世登生物医学科技有限公司, 100023, 北京市2345信箱, 郎辛庄北路58号院怡寿园1066号.
l.s.ma@wjgnet.com
电话: 010-85381892 传真: 010-85381893

世界胃肠病学杂志社于2006-12-22在北京鹭鹭酒家东方店举行了第三次工作会议, 总结了2006年《世界华人消化杂志》和《World Journal of Gastroenterology》各项编辑出版工作, 国家自然科学基金委员会杂志部祖广安主任出席了这次会议, 并作了振奋人心的发言. 在此, 我们感谢国家自然科学基金委对WJG的资助, 也感谢各位领导、编委、编辑、朋友、对我们工作的大力支持! 现将2006年主要工作总结如下:

1 世界华人消化杂志2006年工作总结

截至2006-12-21, 世界华人消化杂志(WCJD)已顺利完成了2006年14卷36期的各项编辑出版工作, 为圆满完成2007年出版工作积累了经验. 2006年是WCJD努力奋进的一年, 我们在以下方面卓有成效.

1.1 编辑部的组成

经过多次邀请、评估、筛选, WCJD编委会共由317人构成, 其中总顾问9人, 名誉总编辑1人, 总编辑1人, 副总编辑11人, 常务编委9人, 编委286人. 以上成员遍布全国各大城市高校及附属医院, 其中北京、上海、武汉、哈尔滨、广州、重庆、南京、西安更是本刊编委聚集的重要城市, 从一定程度上保证了期刊的质量和稿源. 编辑部内部工作人员包括主任1人, 科学编辑2人, 电子编辑2人, 编务1人. 在一年内, 对以上人员进行有计划的岗位培训, 参加出版专业资格考试, 提高了编辑部内部工作人员的素质.

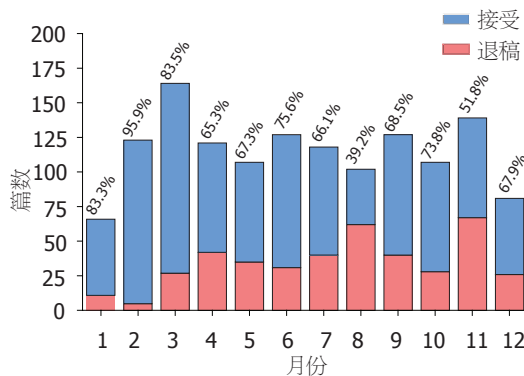


图1 2006-01-01/12-21, WCJD收到文章共计1362篇, 退稿率36%.

1.2 在线办公系统的应用

WCJD在线办公系统(<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>)于2005-12-15正式开通, 功能涉及投稿、审稿、编辑以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流. 在线办公系统的应用, 使得本刊的审稿周期大大缩短, 由原来的2-3 mo减少到1 wk-1 mo. 经不完全调查, 出版周期基本保持在100 d左右.

1.3 WCJD电子版点击及下载

自2003-04-15/2006-12-21, 电子版的点击次数为14249999, 平均每天点击10409次. 总下载次数171754, 平均每天下载126次.

1.4 开辟配发内容专栏

2006年WCJD在栏目与版型上作了重大调整, 开辟以下专栏: 背景资料, 研发前沿, 相关报道, 创新盘点, 应用要点, 名词解释, 同行评论. 以上调整增加了文章的可读性, 方便了读者.

1.5 2006年收稿情况

自2006-01-01/2006-12-21, WCJD收到文章共计1362篇, 平均每月114篇. 已完成处理1166篇, 退稿414篇, 退稿率36%. 作者分布遍及全国各地(含香港), 绝大多数来自高等院校及附属医院. 文章接受的百分率图1.



世界胃肠病学杂志社社长马连生



国家自然科学基金委杂志部主任祖广安



WJG编委吕有勇



WJG语言编辑部主任马景云



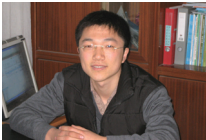
WJG语言编辑王先林



WCJD编辑部主任张海宁



WJG科学编辑部主任王静



WCJD科学编辑 王晓瑜



WCJD科学编辑 张焕兰



WCJD科学编辑 刘晔



WCJD电子编辑 张敏



WCJD电子编辑 李珺



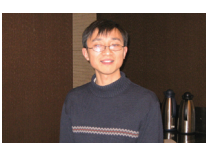
WCJD电子编辑 白少华



WCJD电子编辑 刘文峰



WCJD电子编辑 马文华



WCJD电子编辑 陆卫

1.6 WCJD 2006年文章发表的情况

2006年发表文章情况共发表文章704篇, 其中述评37篇(5%), 研究原著297篇(42%), 文献综述132篇(19%), 研究快报79篇(11%), 临床经验139篇(20%), 病例报告20篇(3%), 英文摘要509篇(72%), 国家基金资助文章138篇(20%), 省部级基金资助文章200(28%)。

1.7 WCJD 2007年工作重点与计划

2007年WCJD将会加强以下几个方面的工作: 审稿质量控制, 编辑质量监督, 排版校对监督, 提高编辑素质, 扩大国际检索, 按时完成出版。

2 World Journal of Gastroenterology 2006年工作总结

2.1 WJG 2006年发表文章的情况

WJG 2006年1-48期发表文章1386篇, 国际文章占76.05%; 其中社论87篇, 综述73篇, 专题亮点70篇, 文章922篇(基础研究和临床研究), 病例报告217篇, 读者来信17篇。评论性的文章占16.59%。文章的类别分布图2。

2.2 WJG 2006年发表文章的国家 and 地区分布

WJG 2006年1-48期发表文章1386篇, 分布60个国家和地区。10篇以上的国家和地区24个。中国332篇, 日本180篇, 德国97篇, 美国96篇, 意大利90篇, 南韩54篇, 希腊48篇, 土耳其47篇, 印度34篇, 中国台湾33篇, 英国30, 伊朗23篇, 匈牙利20篇, 法国22篇, 加拿大21篇, 泰国16篇, 荷兰15篇, 瑞典15篇, 墨西哥15篇, 巴西14篇, 澳大利亚14篇, 波兰13篇, 丹麦12篇, 巴基斯坦11篇, 西班牙11篇。

2.3 WJG 2006年文章的退稿率

2006-01-20/12-20 WJG共收到稿件1919篇, 退

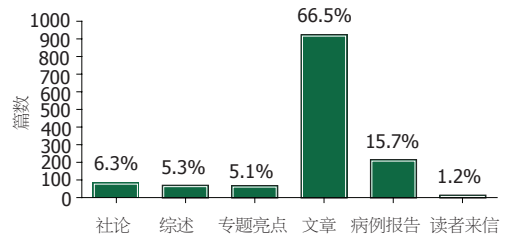


图2 WJG 2006年1-48期发表1386篇文章类别分布。

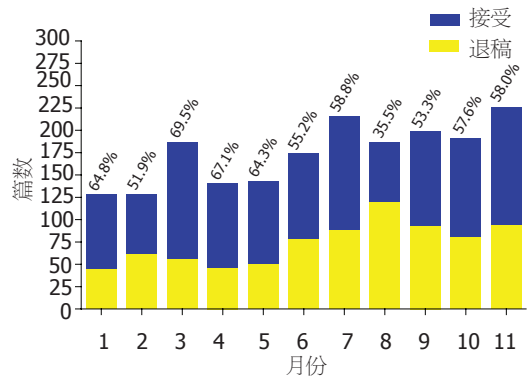


图3 2006-01-20/12-20, WJG收到文章共计1919篇, 退稿率42.6%。

稿数为817篇, 退稿率为42.57%。每月文章接受的百分率图3。

2.4 WJG 2006年1-48期发表文章的引文分析

2006年1-48期发表文章1386篇, 引用参考文献48325条, 平均每篇34.86条, 其中自引816条。

2.5 SCI重新收录WJG

Thomson/ISI 2006-07-14通知: 从2006年第12卷第一期开始WJG重新被Current Contents/Clinical Medicine和Science Citation Index-Expanded收录。

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志的同行评议

本刊讯 《世界华人消化杂志》对所有文章进行在线同行评议, 采用匿名方式。通常每篇文章邀请2-3位专家审阅, 至少2人通过方可录用, 否则退稿。每期最后一页致谢本期所有审稿人(含退稿)。文章等级评定: ○ A级 ○ B级 ○ C级 ○ D级 ○ E级 ○ 不清楚。其中A和B属于很好, C和D不算太好, E是很差, 还有一部分是不清楚。

世界华人消化杂志投稿须知

1 投稿总则

1.1 性质 世界华人消化杂志®, 国际标准刊号 ISSN 1009-3079, 国内统一刊号CN 14-1260/R, 大16开, 旬刊, 每期160页, 定价24元, 全年864元, 邮发代号82-262, 由世界胃肠病学杂志社出版。世界华人消化杂志主要报道消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化病理、消化预防医学、消化护理、消化医学、影像消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化诊断指南、消化治疗指南、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用、消化专家门诊。世界华人消化杂志被国际权威检索系统美国《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)》收录。国内为中国科技论文统计与分析(科技部列选为中国科技论文统计源期刊)、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国学术期刊文摘、中国生物医学文献光盘数据库、中文科技资料目录医药卫生、解放军医学图书馆CMCC系统、中国医学文摘外科学分册(英文版)、中国医学文摘内科学分册(英文版)收录。2005年度《世界华人消化杂志》的总被引频次为2079, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第51位, 内科医学类28种期刊的第4位。2005年《世界华人消化杂志》的影响因子为0.485, 位居全部1652种中国科技论文统计源期刊的第449位, 内科医学类28种期刊的第14位。《世界华人消化杂志》的即年指标0.070, 他引率0.66, 地区分布数26, 基金论文比0.43, 国际论文比0.02, 学科影响指标0.46。

1.2 栏目 述评, 食管癌, 胃癌, 肝癌, 病毒性肝炎, 大肠癌, 幽门螺杆菌, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。专家述评4 000字以内, 研究原著6 000字以内, 焦点论坛4 000字以内, 文献综述6 000字以内, 研究快报4 000字以内, 临床经验1 800字以内, 病例报告800字以内。

2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(International Committee of Medical Journal Editors)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals). 见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47.

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD₅₀, HBsAg, HCV RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊, 中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊。

《世界华人消化杂志》为中国科技论文统计源核心期刊(国家科技部, 2003年)和中文核心期刊要目总览(北京大学图书馆, 2004年版)收录的学术期刊。世界胃肠病学杂志社, 100023, 北京市2345信箱郎辛庄北路58号院怡寿园1066号, 电话: 010-85381901 Email: wjcd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com.

ig. s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60=Bq, pH不能写PH或P^H, *H pylori*不能写成HP, $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T_{1/2}, Vmax不能Vmax, μ 不写为英文u. 需排斜体的外文字, 用斜体表示. 如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种. 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn.var.*glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylacetanilide(*N*-甲基乙酰苯胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸). 拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq), ρ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L), ϕ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径), T_{max} , C_{max} , *Vd*, $T_{1/2}$ *CI*等. 基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白.

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位. 原来的“分子量”应改为物质的相对分子质量. 如 30 kD 改为*M_r* 30 000或30kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A_r*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体). 计量单位在+、-、±及-后列出. 如37.6±1.2°C, 45.6±24岁, 56.4±0.5 d. 3.56±0.27 pg/ml应为3.56±0.27 ng/L, 131.6±0.4 mmol/L, *t* =28.4±0.2°C. BP用kPa(mmHg), RBC数用×10¹²/L, WBC数用×10⁹/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L. *M_r*明确的体内物质以mmol/L, nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示. 1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸. 长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm×6 cm×4 cm. 生化指标一

律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO₂结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B₁、维生素B₂、维生素B₆、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B₁₂用pmol/L. 年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁. 例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 七年, 7 a; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU=16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1×10⁻³ g与5×10⁻⁷ g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm. 国际代号不用于无数字的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d. 在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一. 单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs. 半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10年, 10 a; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L酒精; 5% CO₂, 50 mL/L CO₂; 1:1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm=45×10⁻⁶; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示.

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ²; (4)样本的相关系数用英文小写*r*; (5)自由度用希文小写*ν*; (6)样本数用英文小写*n*; (7)概率用英文斜体大写*P*. 在统计学处理中在文字叙述时平均数±标准差表示为mean±SD, 平均数±标准误为mean±SE. 统计学显著性用^a*P* <0.05, ^b*P* <0.01(*P* >0.05不注). 如同一表中另有一套*P*值, 则^c*P* <0.05, ^d*P* <0.01; 第三套为^e*P* <0.05, ^f*P* <0.01等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5±

0.5 mmol/L等。测量的数据不能超过其测量仪器的精密度,例如6 347意指6 000分之一的精密度。任何一个数字,只允许最后一位有误差,前面的位数不应有误差。在一组数字中的mean \pm SD应考虑到个体的变差,一般以SD的1/3来定位数,例如3 614.5 \pm 420.8 g, SD的1/3达一百多g,平均数波动在百位数,故应写成3.6 \pm 0.4 kg,过多的位数并无意义。又如8.4 \pm 0.27 cm,其SD/3=0.09 cm,达小数点后第2位,故平均数也应补到小数点后第2位。有效位数以后的数字是无效的,应该舍。末尾数字,小于5则舍,大于5则进,如恰等于5,则前一位数逢奇则进,逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍。末尾时只可1次完成,不得多次完成。例如23.48,若不要小数点,则应成23,而不应该23.48 \rightarrow 23.5 \rightarrow 24。年月日采用全数字表达法,请按国家标准GB/T 7408-94书写。如1985年4月12日,可写作1985-04-12; 1985年4月,写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止,写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止,写作1985-04-12/06-16,上午8时写作08:00,下午4时半写作16:30。百分数的有效位数根据分母来定:分母 \leq 100,百分数到个位; 101 \leq 分母 \leq 1 000,百分数到小数点后1位; 余类推。小数点前后的阿拉伯数字,每3位间空1/4阿拉伯数字距离,如1 486 800.475 65。完整的阿位伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求,本刊论文中的句号都采用黑圆点;数字间的起止号采用“-”字线,并列的汉语词间用顿号分开,而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开,参考文献中作者间一律用逗号分开;表示终了的标点符号,如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半,通常不用于一行之首;而表示开头的标点符号,如括号及书名号的前一半,不宜用于一行之末。标点符号通常占一格,如顿号、逗号、分号、句号等;破折号应占两格;英文连字符只占一个英文字符的宽度,不宜过长,如5-FU。外文字符下划一横线表示用斜体,两横线表示用小写,三横线表示用大写,波纹线表示用黑体。

3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容,鲜

明而有特色,阿拉伯数字不宜开头,不用副题名,一般20个字左右,最好不超过26个字。避免用“的研究”或“的观察”等非特定词。

3.2 作者 论文署名作者不宜过多,一般不超过8人,主要应限于参加研究工作并能解答文章有关问题、能对文稿内容负责者,对研究工作有贡献的其他人可放入致谢中。作者署名的次序按贡献大小排列,多作者时姓名间用逗号,如是单名,则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格)。世界华人消化杂志要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献。第一方面是直接参与,包括:(1)酝酿和设计实验;(2)采集数据;(3)分析/解释数据。第二方面是文章撰写,包括:(1)起草文章;(2)对文章的知识性内容作批评性审阅。第三方面是工作支持,包括:(1)统计分析;(2)获取研究经费;(3)行政、技术或材料支持;(4)指导;(5)支持性贡献。每个人必须在第一至第三方面至少具备一条,才能成为文章的署名作者。世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者。

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码。格式如:张旭晨,梅立新,承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如:张旭晨,男,1966-02-26生,河北省定县人,汉族。1994年北京中医药大学硕士,讲师。主要从事消化系统疾病的病理研究。

3.5 基金资助项目 格式如:国家自然科学基金资助项目, No.30224801

3.6 通讯作者 格式如:通讯作者:马连生, 030001, 山西省太原市双塔西街77号, 太原消化病研治中心。wcjd@wjgnet.com

电话:0351-4078656 传真:0351-4086337

收稿日期: 接受日期:

3.7 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅,方便检索,英文题名以不超过10个实词为宜,应与中文题名一致。

作者 署名一般不超过8人。作者姓名汉语拼音拼写法规定为:先名,后姓;首字母大写,双名之间用半字线“-”分开,多作者时姓名间加逗号。格式如:“潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者,后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-

World Journal of Gastroenterology 自2005-01-01起为周刊发行,每月7、14、21、28日出版。北京报刊发行局发行,邮发代号:82-261。WJG出版的模式为开放存取+印刷版。免费通过<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>获取,即:阅读、下载、复制、打印和检索论文的全文。

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起为旬刊发行,每月8、18、28日出版。北京报刊发行局发行,邮发代号:82-262。《世界华人消化杂志》出版的模式为开放存取+印刷版。免费通过<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>获取,即:阅读、下载、复制、打印和检索论文的全文。

Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wjcd@wjgnet.com

收稿及接受日期 格式如: Received: Accepted:

摘要 包括目的、方法、结果、结论,书写要求与中文摘要一致。格式如下:

Abstract

AIM:

METHODS:

RESULTS:

CONCLUSION:

Zhang XC, Gao RF, Li BQ, Ma LS, Mei LX, Wu YZ, Liu FQ, Liao ZL. Effects of Weixibao nizhuanwan on gastric precancerous lesions 300 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006; 14:

3.8 中文摘要 必须在300字左右,内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的),方法(必须包括材料或对象。应描述课题的基本设计,双盲、单盲还是开放性,使用什么方法,如何进行分组和对照,数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则,对照组匹配的特征。如研究对象是患者,应阐明其临床表现,诊断标准。如何筛选分组,有多少例进行过随访,有多少例因出现不良反应而中途停止研究),结果(应列出主要结果,包括主要数据,有什么新发现,说明其价值和局限,叙述要真实、准确、具体,所列数据经用何种统计学方法处理;应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值;概率写 P ,后应写出相应显著性检验值),结论(全文总结,准确无误的观点及价值),中文摘要格式如下:

摘要

目的:

方法:

结果:

结论:

张旭晨, 高瑞丰, 李炳庆, 马连生, 梅立新, 吴玉珍, 刘凤芹, 廖振林. 胃细胞逆转丸治疗胃癌前期病变300例. *世界华人消化杂志* 2006;14:

3.9 正文标题层次为 0引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的

研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表 图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: …; B: …; C: …; D: …; E: …; F: …; G: …。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:^a $P<0.05$, ^b $P<0.01$ ($P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 P 值, 则^c $P<0.05$, ^d $P<0.01$; 第3套为^e $P<0.05$, ^f $P<0.01$ 。 P 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$, $t = 4.56$ vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 t/min , $c/(\text{mol/L})$, p/kPa , V/mL , $t/^\circ\text{C}$ 表达。黑白图请附黑白照片, 并考入磁盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小 $7.5\text{ cm}\times 4.5\text{ cm}$, 必须使用双面胶条黏贴在正文内, 不能使用浆糊黏贴。

致谢 致谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 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 *et al*”的右上角注角码号; 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 *et al*^[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年核心期刊为准, 引用被PubMed收录的期刊文献用英文表达, 请附引用文献网上摘要打印件, 包括PMID编号(摘要的左下方). 按顺序编号装订, 并考入磁盘内. 在引用参考文献页码末尾注明PMID编号; 无PMID编号的期刊请删除(重要文献必须保留者, 请附首页复印件). 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. 参考文献格式如下:

- 1 Ma LS, Pan BR. Strengthen international academic exchange and promote development of gas-troenterology. *World J Gastroenterol* 1998; 4: 1 [PMID: 11819215]
- 2 马连生, 潘伯荣, 马景云. 世界胃肠病学杂志英文版的现状. *世界华人消化杂志* 2001; 9: 855-863
- 3 Lam SK. Academic investigator's perspectives of medical treatment for peptic ulcer. In: Swabb EA, Azabo S, eds. *Ulcer disease: investigation and basis for therapy*. New York: Marcel Dekker, 1991: 431-450
- 4 尚克中, 陈九如. 胃肠道造影原理与诊断. 第1版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1995: 382-385

4 投稿须知

4.1 投稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函. 内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该文代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)可建议熟悉该专业的审稿人或因利益冲突而不适宜审阅该稿的审稿人姓名; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部, 所有来稿均需接受同行审阅.

4.2 审稿过程 所有来稿均经2位同行专家的严格评审, 所有审稿人的姓名对作者通常是保密的. 投稿时, 作者可以提出要求回避的同行专家名

单, 也可以推荐2位非本单位的审稿人, 尤其是本刊编委会成员. 审稿过程大约需要1 mo.

4.3 录用 来稿经本刊编辑部初审、2位同行专家评审, 将评审后的稿件分为优先发表、可以发表、修改后发表、修改后再审、退稿等项处理. 录用稿件作者需交纳发表费, 发表后可获得2本样刊及20套单行本(稿酬).

4.4 修改时间 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把原稿寄回给作者自行修改. 当原稿退还作者修改时, 作者必须于1 mo内将修改后的稿件及软盘寄回编辑部; 逾期寄回的, 作重新投稿处理.

4.5 版权 本论文发表后作者享有非专有版权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有. 编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》、《中文生物医学期刊/会议文献数据库》等媒体上长期发布; 作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.

4.6 投稿清单 (1)投稿函; (2)第1部分为题名及作者, 作者及单位, 第1作者简介, 基金资助项目, 通讯作者Email, 电话, 传真, 收稿日期, 接受日期; (3)第2部分英文摘要; (4)第3部分中文摘要; (5)第4部分为0引言, 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法, 统计学处理, 2 结果, 3 讨论, 致谢, 4 参考文献.

4.7 投稿地址 在线投稿: <http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>. 邮局寄送(已在线提交的稿件不必再寄): 请将打印的稿件一式2份(附高质量的图)、存有全文(文字、图表)的磁盘和其他信息(全部文件的清单, 各文件的名称、格式和使用平台等)寄往: 100023, 北京市2345信箱, 世界胃肠病学杂志社.

世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市2345信箱
郎辛庄北路58号院怡寿园1066号
电话: 010-85381901
传真: 010-85381893
Email: wcjd@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>

World Journal of Gastroenterology 创刊于1995-10-01, 原刊名《China National of New Gastroenterology》. 1995-06-27 国科发信字(95)225号批准国内外公开发行. 1998-02-12经国家科学技术部和国家新闻出版总署批准更名为WJG, 国科发信字(1998)027号. 2002-11-14经国家工商行政管理总局商标局核定使用商品(第16类), 获得商标注册证第2001158号.

致谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 本刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈其奎 教授

中山大学附属第二医院消化内科

党双锁 副教授

西安交通大学医学院第二附属医院感染科

董蕾 教授

西安交通大学第二附属医院消化内科

范志宁 主任医师

南京医科大学第二附属医院内镜中心

高毅 教授

南方医科大学珠江医院肝胆外科

韩天权 教授

上海交通大学医学院瑞金医院外科

黄恒青 主任医师

福建省第二人民医院消化内科

黄晓东 副主任医师

武汉市中心医院消化内科

黄志勇 副教授

华中科技大学同济医学院附属同济医院肝脏外科中心

季加孚 教授

北京大学临床肿瘤学院, 北京肿瘤医院外科

李涛 主治医师

北京大学人民医院肝胆外科

李旭 副教授

广州南方医院急诊科

李旭 副教授

广州南方医院急诊科

李增山 副教授

第四军医大学病理教研室

林胜璋 副教授

温州医学院附属二院肝胆外科

刘连新 教授

哈尔滨医科大学第一临床医学院普通外科

陆云飞 教授

广西医科大学第一附属医院胃肠外科

欧希龙 副教授

东南大学南京中大医院消化科

彭曦 副研究员

第三军医大学西南医院烧伤研究所烧伤外科

彭心宇 教授

新疆石河子大学医学院第一附属医院普外一科肝胆外科

秦环龙 教授

上海交通大学附属第六人民医院外科

秦仁义 教授

华中科技大学同济医学院同济医院外科

任建林 教授

厦门大学附属中山医院消化内科, 厦门市消化疾病研究所

邵永孚 教授

中国医学科学院肿瘤医院腹部肿瘤外科

田素礼 教授

哈尔滨医科大学附属第二临床医院普外三科

王学美 研究员

北京大学第一医院中西医结合研究室

杨希山 教授

广东省中医药局

郁宝铭 结直肠中心主任

上海市第八人民医院结直肠外科

朱春兰 主任医师

黑龙江省医院附属消化病医院消化二科

朱立元 主任医师

北京大学深圳医院胃肠外科