

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2005)08-0752-03

As₂O₃ 对裸鼠移植人乳腺癌组织 NF-κB p65 p53 c-Myc 和 hTERT 表达的影响

马银斌, 吴诚义, 陈鑫 (重庆医科大学附属第一医院普外科, 重庆 400016)

Effect of As₂O₃ on expression of NF-κB p65 p53 c-Myc and hTERT in heterologous graft model for human breast infiltrating duct carcinoma in nude mice

MA Yin-Bin, WU Chen-Yi, CHEN Xin

Department of General Surgery, First Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400016, China

【Abstract】 AIM: To investigate the effect of As₂O₃ on the expressions of NF-κB p65 p53 c-myc and hTERT protein in heterologous graft model for human breast infiltrating duct carcinoma in nude mice. METHODS: A model of nude mice bearing human breast infiltrating duct carcinoma was set up and divided randomly into four groups. The expressions of NF-κB p65 p53 c-myc and hTERT protein were examined in the tissues by immunohistochemistry. RESULTS: The positive expression rates of NF-κB p65 p53 c-myc & hTERT protein were high in the negative group of nude mice model. The positive expression of NF-κB p65 in experimental group 1 and 2 was gradually descending with the increase dosage of As₂O₃ ($P < 0.01$) and showed a remarkable descending tendency compared with that in the negative and male groups ($P < 0.01$). But the expressions of p53 c-myc and hTERT protein were not different among the four groups ($P > 0.05$). CONCLUSION: As₂O₃ inhibits the high expression of NF-κB p65 protein in heterologous graft model for human breast infiltrating duct carcinoma in nude mice in a dose-dependent manner and As₂O₃ does not affect the expression of p53 c-myc and hTERT protein. No relationship is found between NF-κB p65 p53 c-myc and hTERT.

【Keywords】 As₂O₃, breast neoplasms, mice, nude, genes

【摘要】 目的: 探讨三氧化二砷(As₂O₃)对裸鼠移植人乳腺癌浸润性导管癌组织中 NF-κB p65 p53 c-Myc 和 hTERT 蛋白表达的影响。方法: 复制人乳腺癌浸润性导管癌裸鼠移植瘤模型

22 例, 随机分为 4 组。用免疫组化法检测上述组织中各蛋白的表达。结果: NF-κB p65 p53 c-Myc 和 hTERT 蛋白在人乳腺癌浸润性导管癌裸鼠移植瘤阴性对照组中的阳性表达均高, 且有一致性。实验组 1、实验组 2 的 p65 阳性表达随着 As₂O₃ 剂量的增加而下降 ($P < 0.01$), 与阳性和阴性对照组的表达比较呈明显下降趋势 ($P < 0.01$)。p53 c-Myc 和 hTERT 蛋白在四组中的表达无差异性 ($P > 0.05$)。结论: As₂O₃ 通过抑制核因子 NF-κB p65 的活性抑制人乳腺癌浸润性导管癌细胞的生长作用, 而对 p53 c-Myc 和 hTERT 蛋白无影响。

【关键词】 三氧化二砷, 乳腺肿瘤, 小鼠, 裸, 基因

【中图分类号】 R737

【文献标识码】 A

0 引言

核因子-κB(nuclear factor kappa B, NF-κB) p65 与肿瘤的发生密切相关, 可在转录水平调控多种基因的表达。c-Myc 蛋白表达异常, 可激活端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT), 诱发恶性转化和肿瘤形成, 其基因启动子存在 NF-κB 的作用位点, 并在一定条件下被后者转录激活, 而 p65 又受 p53 的负性调节。As₂O₃ 对许多实体瘤有诱导凋亡的作用^[1,2] 对裸鼠移植人乳腺癌浸润性导管癌也有抑瘤作用^[3] 我们通过 As₂O₃ 对裸鼠移植人乳腺癌浸润性导管癌作用的研究以探讨其对上述 4 种基因的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 BALB/c-nu/nu 雌性裸鼠 22 只, 鼠龄 6 ~ 8 wk, 体质量 16.9 ~ 22.8 g, 裸鼠移植人乳腺癌浸润性导管癌瘤株第 36 代, 均由四川大学实验动物中心提供。As₂O₃ (1 g/L), DDR (5 g/L) 购于重庆医科大学附属第一医院药房。NF-κB p65 p53 c-Myc 和 hTERT 免疫组化一抗及二抗均购于北京中山生物公司。

1.2 方法 按白绍槐等^[4] (华西医科大学学报, 1999; 30: 220) 的方法复制裸鼠移植人乳腺癌浸润性导管癌模型, 共 22 只, 继续饲养于 SPF 环境, 待移植瘤长至长径 > 0.5 cm 后, 随机分为阴性对照组 (生理盐水) 和阳性对照组 (DDP 1.5 mg/kg), 每组 5 只裸鼠, 实验组 1 (As₂O₃ 1.5 mg/kg) 和实验组 2 (As₂O₃ 3.0 mg/kg), 每组 6 只。每组均经尾静脉注射用药 0.1 mL/d, 连续 7 d。停药 2 d 后处死动物, 取瘤组织作常规甲醛固定, 石蜡包埋, 切片厚 5 μm, 用免疫组化法检测瘤组

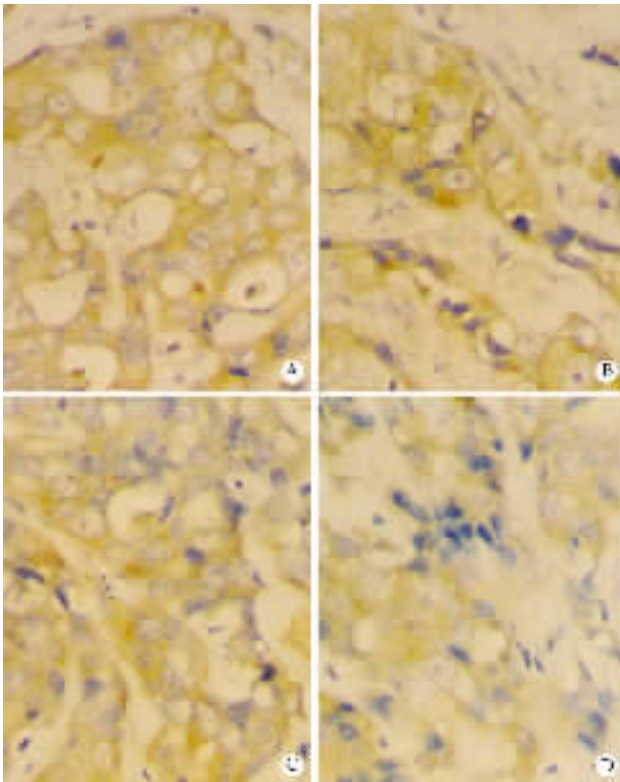
收稿日期 2004-12-22; 修回日期 2005-02-20

基金项目: 重庆市卫生局科研项目资助 (01-2-047)

通讯作者: 马银斌 (1968-), 男 (汉族), 四川省绵阳市人, 硕士, 现工作单位为绵阳市人民医院外科。Tel: (023) 68733645 Email: Mayingbin@etang.com

组织中 NF-κB p65 p53 c-Myc 和 hTERT 蛋白的表达,操作按试剂盒说明进行. p65: 阳性细胞为细胞质和细胞核染出现棕黄色颗粒沉淀(Fig 1 A ,B) p53: 阳性细胞为细胞核染出现棕黄色颗粒沉淀(Fig 1 C ,D). c-Myc hTERT 阳性细胞为细胞胞质出现棕黄色颗粒沉淀(Fig 2 A ,B ,C). 在高倍镜下随机选取 10 个视野,计数 1000 个细胞. 取视野阳性细胞占总数的百分比作为阳性细胞密度.

统计学处理: SPSS10.0 软件行多独立样本非参数 Kruskal-Wallis 和 Median 检验.



A : Negative group ; B : Positive group ; C : Experimental group 1 ; D : Experimental group 2.

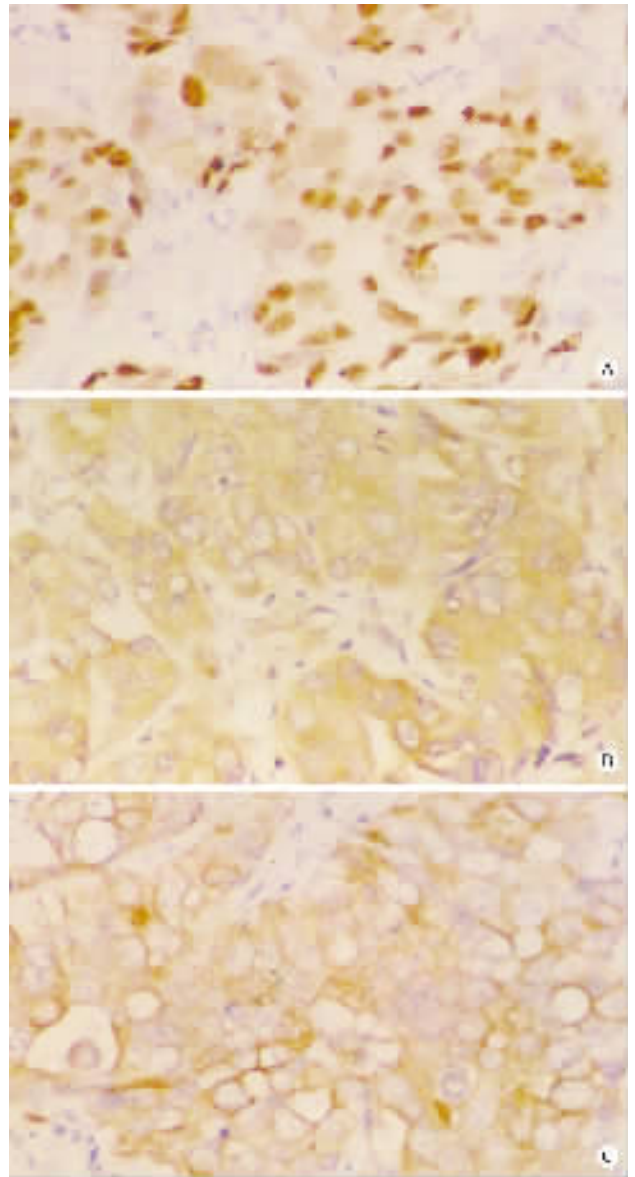
Fig 1 Expression of NFκB p65 protein in heterologous graft model for human breast infiltrating duct carcinoma SP ×400
图 1 蛋白在人乳腺浸润性导管癌裸鼠移植瘤中表达

表 1 裸鼠移植人乳腺浸润性导管癌组织 p65 p53 c-Myc 和 hTERT 蛋白表达细胞密度

Tab 1 Cell density of p65 p53 c-Myc and hTERT protein expressions in heterologous graft model for human breast infiltrating duct carcinoma in nude mice (% $\bar{x} \pm s$)

| Group | n | p65 ^b | p53 | c-Myc | hTERT |
|----------|---|------------------|--------------|--------------|--------------|
| Negative | 5 | 83.40 ± 6.73 | 76.91 ± 8.72 | 80.50 ± 7.91 | 82.13 ± 7.50 |
| Positive | 5 | 72.60 ± 3.17 | 74.01 ± 8.41 | 82.13 ± 4.76 | 81.65 ± 7.32 |
| Exp 1 | 6 | 64.40 ± 5.90 | 76.23 ± 3.31 | 79.01 ± 6.72 | 84.34 ± 4.55 |
| Exp 2 | 6 | 69.22 ± 10.47 | 76.52 ± 3.38 | 79.62 ± 7.22 | 83.62 ± 6.13 |

^bP < 0.01 among four groups.



A : p53 ; B : c-Myc ; C : hTERT.

Fig 2 Expression of p53 c-Myc hTERT protein in heterologous graft model for human breast infiltrating duct carcinoma SP ×400

图 2 p53 c-Myc hTERT 蛋白在人乳腺浸润性导管癌裸鼠移植瘤各组中表达一致

2 结果

p65 蛋白在阴性对照组中阳性表达率高,实验组 1 2 阳性表达率随 As₂O₃ 剂量的增加而下降,与阳性对照组和阴性对照组的表达比较呈明显下降趋势(Tab 1). 而 p53 c-Myc hTERT 蛋白在 4 个分组中均呈高表达,且无显著性差异(P > 0.05).

3 讨论

Nakshatri 等^[3]报道,在人乳腺癌细胞中 NF-κB

呈高表达。本研究经 As_2O_3 作用后,实验组 1,2 的 p65 阳性表达随着 As_2O_3 剂量的增加而下降,与阳性和阴性对照组的表达比较呈明显下降趋势。而 p53 在 4 组表达差异无显著性 ($P > 0.05$),表明 As_2O_3 的效应作用环节可能不是 p53,而是 p65,故可出现 p65 上游的 p53 不受影响,推测其原因可能为,在正常情况下,NF- κ B 的两个亚基单位 p50 和 p65 组成的异二聚体与其抑制 I κ B 结合,存在于静止期细胞的胞质中,当诱导因子作用时,通过 I κ B 的降解磷酸化作用,此二聚体激活进入细胞核,从而转录激活多种凋亡相关基因,导致肿瘤的发生、发展。 As_2O_3 可阻止 p50 和 p65 异二聚体与其抑制物 I κ B 分离,从而使 p65 一直处于静止状态而不能起转录激活靶基因的作用,随着 As_2O_3 剂量的增加,此种作用愈加强烈。但本实验 p65 变化而 c-Myc 和 hTERT 不变化,提示 c-Myc 和 hTERT 蛋白的阳性表达机制并非单一因素决定^[4]。

【参考文献】

- [1] 王光哲, 襄科峰, 武文红. 三氧化二砷对人胆管癌细胞系 QBC939 生长与凋亡的影响[J]. 第四军医大学学报, 2002, 23(18): 1669-1673.
Wang GZ, Dou KF, Wu WH. Effect of arsenic trioxide on the growth and apoptosis of human cholangil carcinoma cell line QBC939[J]. *J Fourth Mil Med Univ* 2002 23(18) 1669-1673.
- [2] 曾建新, 王文亮, 王知力, 等. 肝癌细胞凋亡相关基因分析[J]. 第四军医大学学报 2002 23(24) 2240-2243.
Zeng JX, Wang WL, Wang ZL, et al. Differentially expressed cDNA sequences homologous with known genes in apoptotic hepatocellular carcinoma cells[J]. *J Fourth Mil Med Univ*, 2002; 23(24): 2240-2243.
- [3] Nakshatri H, Goulet RJ Jr. NF-kappaB and breast cancer[J]. *Curr Probl Cancer* 2002 26(5) 282-309.
- [4] Bharti AC, Aggarwal BB. Nuclear factor-kappa B and cancer: its role in prevention and therapy[J]. *Biochem Pharmacol* 2002 64(5-6): 883-888.

编辑 潘伯荣

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2005)08-0754-01

造血干细胞移植患者的心理护理

徐 琪, 李鸿雁, 刘玉珍

(唐山市工人医院血液科, 河北 唐山 063000)

【关键词】造血干细胞移植, 心理护理, 整体护理

【中图分类号】R473.6 【文献标识码】B

1 临床资料 我院 2000-06/2003-06 共收治造血干细胞移植 42 例(男 22, 女 20) 年龄 16~42(平均 27)岁, 其中异基因外周血干细胞移植 12 例, 自体骨髓移植 10 例, 自体外周血干细胞移植 10 例, 异基因骨髓移植 10 例。自体骨髓移植及自体外周血干细胞移植为急性白血病, 异基因骨髓移植, 异基因外周血干细胞移植为慢性粒细胞白血病。研究组 21(男 10, 女 11)例, 对照组 21(男 12, 女 9)例。对照组入层流室后给予常规治疗和护理, 研究组入层流室后除进行常规治疗和护理外, 运用护理程序对患者进行评估, 将患者在不同治疗阶段的心理特点分为 3 期, 然后根据每期特点进行心理护理。具体措施: ① 焦虑孤独期为初进层流室患者突然与外界隔离, 易产生孤独感及焦虑情绪。护理人员要主动向患者介绍层流室的环境及其重要性, 尽量减少环境产生的陌生感。应多利用对讲系统, 加强患者与家属的联系与交流, 使患者情绪稳定, 有利于治疗的顺利进行。② 恐惧与猜疑期患者出现恶心呕吐和周身不适等症状^[1]。进入骨髓空虚期出现了高热、口腔溃疡、出血、

腹泻、乏力等不良反应, 这时护理人员应在进行大剂量化疗前, 给患者讲清楚在化疗时可能出现的反应及采取的应对措施, 使患者有心理准备, 帮助其度过危险期。③ 兴奋与抑郁期随着全血细胞的生长, 身体状况好转感到兴奋。但担心疾病复发, 护理人员要向患者解释移植的可靠性、先进性和科学性, 并且与家属取得联系, 情况允许可安排探视, 使患者感到生活是美好的、有意义的, 使其树立战胜疾病的信心, 重新扬起生命的风帆。结果研究组显效患者占 67%, 而对照组显效患者占 29%, 两者比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。研究组患者能够与护士建立密切良好关系的占 90%, 而对照组占 43%, 两者比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。研究组患者在治疗过程中出现恐惧、焦虑等不良心理反应占 20%, 而对照组占 76%, 两者比较差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

2 讨论 随着医学模式的改变, 护理工作已从疾病护理发展成为生物、心理、社会新医学模式观念为指导的整体护理^[2]。使我们认识到人是身心统一的整体, 疾病既给患者带来躯体不适, 又影响其心理状态。医疗上除重视患者的躯体健康外, 还必须重视其心理问题。这就要求护理人员除掌握相应的专业知识外, 还应掌握相应的心理知识, 这样才能做到有的放矢, 对症下药。在护理过程中还要重视建立良好的护患关系, 使其能主动配合治疗, 从而有利于健康的恢复^[3]。

【参考文献】

- [1] 张之南, 杨天, 郝玉书. 血液病学[M]. 北京: 人民卫生出版社 2003 2026.
- [2] 于翠华, 郭倩, 从友利, 等. 心理护理在临床中的重要性[J]. 中华实用中西医杂志 2003 3(4) 588.
- [3] 齐柳, 柏亚玲, 高军, 等. 术前心理障碍的原因及护理对策[J]. 第四军医大学学报 2002 23(19) 1756.

编辑 潘伯荣

收稿日期 2005-02-28; 修回日期 2005-03-12

作者简介 徐琪(1970-) 女(汉族), 河北省唐山市人。本科, 主管护师。Tel. (0315) 2822944 Ext 8555 Email. xuqi 701125@sina.com.cn