

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2006)16-1449-04

全脑缺血再灌注损伤后 ERK 在大鼠海马的表达及热休克预处理对其表达的影响

吕建瑞, 马宏钟, 薛荣亮 (西安交通大学医学院第二附属医院麻醉科, 陕西 西安 710004)

Expression of ERK in rat hippocampus after global cerebral ischemia/reperfusion and effect of heat shock preconditioning on it

LÜ Jian-Rui, MA Hong-Zhong, XUE Rong-Liang

Department of Anesthesiology, Second Affiliated Hospital, Medical College, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China

【Abstract】 AIM : To investigate the expression of ERK in hippocampus of SD rats after global cerebral ischemia/reperfusion and the effect of heat shock preconditioning on it, and to clarify the role of ERK in global cerebral ischemia/reperfusion injury. **METHODS** : Ninety healthy male SD rats were divided into 3 groups randomly : sham operation group (SO group, $n = 30$), ischemia/reperfusion group (IR group, $n = 30$) and heat shock preconditioning group (HSP group, $n = 30$). Global cerebral ischemia/reperfusion model was produced by 4-VO method. The rats were put in 42°C for 15 min as heat shock preconditioning, then subjected to 6 min ischemia followed by 2, 6, 12, 24 h, 3, 5 d reperfusion, and all rats were executed at corresponding time points. HE staining, immunohistochemical staining and TUNEL staining of brain tissue section were performed. **RESULTS** : In CA1 of IR group, ERK was expressed 2 h after global cerebral ischemia/reperfusion, peaked at 24 h and still lasted at 5 d. Expression in CA3 was weaker than that in CA1 and cellular damage in CA1 was more obvious. Expression of ERK in CA1 and CA3 of HSP group were weaker than that in IR group at each time points ($P < 0.05$). At the same time, cellular damage was weaker and apoptotic cells decreased ($P < 0.05$). **CONCLUSION** : Overexpression of ERK after global cerebral ischemia/reperfusion participated in the neuronal injury procedure and heat shock preconditioning exerted its brain protective function through its suppressive effect on the overexpression of ERK.

【Keywords】 brain ischemia ; reperfusion injury ; heat shock pre-

conditioning ; extracellular signal-regulated MAP kinases

【摘要】目的 : 研究全脑缺血再灌注损伤后 ERK 在 SD 大鼠海马的表达及热休克预处理对其表达的影响, 以阐明 ERK 在脑缺血再灌注损伤中作用机制。方法 : 健康雄性 SD 大鼠 90 只, 随机分为假手术组(SO 组, $n = 30$), 缺血再灌注组(IR 组, $n = 30$), 热休克预处理组(HSP 组, $n = 30$), 以四血管法建立全脑缺血再灌注模型, 将大鼠置于 42°C 中 15 min 行热休克预处理, 全脑缺血 6 min 后 2, 6, 12, 24 h, 3, 5 d 再灌注后处死, 取海马组织行 HE 染色, ERK 免疫组化染色, TUNEL 法检测凋亡细胞。结果 : IR 缺血再灌注后 2 h ERK 在 CA1 区开始表达, 24 h 达到高峰, 5 d 仍有表达, CA3 区弱于 CA1 区, 同时 CA1 区细胞损伤明显, HSP 组 ERK 在 CA1 和 CA3 区相应时间点均弱于 IR 组 ($P < 0.05$), 细胞损伤轻微, 凋亡细胞减少 ($P < 0.05$)。结论 : 全脑缺血再灌注损伤后 ERK 过度表达参与了神经元损伤过程, 热休克预处理通过下调 ERK 过度表达具有脑保护作用。

【关键词】 脑缺血 ; 再灌注损伤 ; 热休克预处理 ; 细胞外信号调节 MAP 激酶类

【中图分类号】 R617 **【文献标识码】** A

0 引言

近来研究发现, 脑血流中断和再灌注使脑组织细胞产生损伤级联反应至少涉及 4 个不同机制: 能量障碍、兴奋性氨基酸毒性、梗死周围去极化、炎症及程序性细胞死亡, 上述机制均与信号通路调节有关^[1]。丝裂素活化蛋白激酶(MAPK) 家族成员是连接细胞膜表面受体与决定性基因表达之间重要调节酶, 但其成员之一 ERK1/2(细胞外信号调节激酶) 在脑缺血再灌注损伤中作用的研究结果却相互矛盾, 热休克预处理可通过诱发产生热休克蛋白而具有脑保护作用^[2], 因此我们观察 SD 大鼠全脑缺血再灌注损伤后 ERK 蛋白在海马的表达及热休克预处理对其表达的影响, 以阐明 ERK 在全脑缺血再灌注损伤中的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康雄性 SD 大鼠 90 只, 由西安交通大

收稿日期 2006-03-20 ; 接受日期 2006-04-26

基金项目 陕西省科技攻关项目[2005K13-G4(1)]

通讯作者 薛荣亮. Tel : (029) 87679299

作者简介 : 吕建瑞. 硕士, 主治医师. Tel : (029) 87679599 Email :

WuG124@163.com

学医学院动物中心提供,鼠龄 50~60 d, 体重(300±12)g, 随机分为 3 组, 假手术组(SO, $n=30$)、缺血再灌注组(IR, $n=30$)和热休克预处理组(HSP, $n=30$), 各组 6 个时间段每时段 5 只。TUNEL 试剂盒购自德国宝灵曼公司, ERK 多克隆兔抗鼠抗体及辣根酶标记链霉卵白素试剂盒由美国 Santa Cruz Biotechnology 公司生产。

1.2 方法

1.2.1 动物模型制备 所有动物均以 20 g/L 戊巴比妥钠 40 mg/kg 行腹腔内注射麻醉, 待翻正反射消失后俯卧固定于手术台上, 在大鼠枕颈正中切开皮肤, 显露枕后三角, 在显微镜下于枕后三角外侧与第一横突之间找到椎动脉搏动后, 以 25 mV 电凝器凝断双侧椎动脉, 逐层缝合, 术毕回笼, 使其体温维持 37℃ 左右。24 h 后以同样方法麻醉, 在胸锁乳突肌后气管旁, 显露颈总动脉, 用无创动脉夹同时夹闭 6 min, 期间密切观察其瞳孔变化, 无瞳孔散大者予以剔除, 逐层缝合后回笼。给予 2, 6, 12, 24 h, 3, 5 d 再灌注后处死。HSP 组: 将 SD 大鼠置于可控温箱中 42℃ 15 min, 于 24 h 后和 IR 组同样处理。SO 组: 除不凝断椎动脉和夹闭颈总动脉外, 其他处理同 IR 组。

1.2.2 组织学检查 到要求时间时麻醉后于剑突下横向剪开腹壁, 显露膈肌, 将其沿胸壁左右向剪开, 将胸前壁离断掀起, 显露心脏, 用 9 号针从心尖插入心室, 剪开右心房, 先用生理盐水然后再用 4 g/L 多聚甲醛 200 mL 灌注至肝脏变白、四肢僵硬, 断头取脑, 在视交叉后 1 mm 及 4 mm 处冠状切面切开, 取中间块, 固定后石蜡包埋, 在海马齿状回互包平面连续冠状切片, 片厚 4 μm。行 HE 染色, 光镜下观察 SD 大鼠海马 CA1, CA3 区细胞形态学变化, 采用 TUNEL 法原位检测凋亡细胞, 显示细胞核有明显的黄棕色颗粒或斑片为阳性细胞, 即凋亡细胞, 定量分析方法为: 光镜下计算凋亡指数。凋亡指数(apoptosis index, AI)计算方法: 每只动物随机两张切片, 每张切片观察 CA1 或 CA3 区, 分别计算各区凋亡细胞数和总细胞数。AI = 凋亡细胞数/总细胞数 × 100%。

1.2.3 免疫组织化学 将切片脱蜡, 微波修复抗原, 置入 30 mL/L H₂O₂ 室温下孵育 10 min, 滴加正常山羊血清封闭液, 室温 10 min, 滴加 ERK 多克隆抗体, 为浓缩一抗, 使用时用 PBS 稀释为 1:50 进行滴定, 滴加辣根酶标记链霉卵白素, 37℃ 孵育 30 min, DAB 显色试剂显色。组织切片中显示细胞浆或细胞核有明显黄棕色颗粒或斑片为 ERK 阳性。

1.2.4 灰度测定及结果判断 采用德国 Leica-Q550E 高清晰彩色图文分析计算机系统对阳性结果

进行半定量测定, 将摄影机镜头随机选取被测视野, 显示于高分辨监测仪上, 在此视野中按颜色监测阳性物质, 把选出阳性物质赋予棕黄色, 得出二值图, 并测出灰度, 每只动物选出 4 张切片, 每张切片再随机选取 3 个视野, 测定灰度取平均值。

统计学处理: 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 SPSS10.0 软件进行方差分析及 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ERK 在 IR 组 SD 大鼠海马 CA1 区 2 h 即有表达, 主要位于核膜, 12 h 出现于核内, 24 h 达到高峰, 5 d 时仍有表达; CA3 区较 CA1 区各时点表达弱 ($P < 0.05$)。6 h 出现于核膜上, 12 h 出现于核内, 24 h 至 5 d 位于胞浆。HSP 组各时点于各区表达均弱于 IR 组 ($P < 0.05$, 表 1)。SO 组高倍镜下细胞结构清晰可见, 核膜完整, 核仁明显。IR 组缺血再灌注 3 d 时细胞间质水肿明显, 神经元数目减少, 排列紊乱, 核膜界线不清, 核仁消失, CA3 区少数细胞结构不清, HSP 组变化不明显。

2.2 凋亡细胞 IR 组于缺血再灌注后 24 h 即出现凋亡细胞, 主要位于 CA1 区, 3 d 时达高峰, CA3 区于各时点少于 CA1 区 ($P < 0.05$), HSP 组于各时点各区凋亡细胞计数少于 IR 组 ($P < 0.05$, 表 2)。

3 讨论

MAPK(丝裂素活化蛋白激酶)家族成员是哺乳动物细胞内一组进化保守的酶, 是连接细胞膜表面受体与决定性基因表达间重要调节酶, 其作用涉及多层次的细胞调节, 对丝裂素、激素、生长因子等生理病理刺激如缺血缺氧等均可作出不同反应, 因而调控着细胞的适应、增殖分化、存活和程序性细胞死亡等几乎所有的生理功能和过程, 故又有细胞质及细胞核联系枢纽之称。目前已发现哺乳动物脑细胞组织中有 3 种 MAPK, 分别为: 细胞外信号调节激酶(ERK1/2), C-jun 氨基末端酶(JNK1/2/3), P³⁸ MAPK(P³⁸ α, β, γ)它们被上游激酶激活, 经过核转位可激活各自的核内转录因子, 再调节转录靶基因, 促进有关蛋白的合成及通路的改变, 完成对细胞外刺激的反应^[3]。

脑缺血再灌注损伤发生后, 通过各种细胞膜受体介导, 激活 PKC 途径, AC 途径, Ca²⁺-CaM 途径, 再激活 MAPK 级联反应的 ERK, JNK, P38 通路, 通过调控凋亡相关基因家族成员的差异性表达及 Caspase 家族的激活、Fas 配体的表达等, 参与调控细胞凋亡^[4-5], 一般认为 ERK 通路在促进神经元细胞增殖、

分化,抑制凋亡中发挥重要作用^[6],但对脑缺血再灌注损伤后 ERK 作用的研究结果却相互矛盾。ERK 激活后,可降低脑缺血再灌注损伤 NMDA 受体活性,抑

制 Ca^{2+} 内流,具有神经元保护作用^[7-8],而抑制脑缺血再灌注损伤后 ERK1/2 表达,可促进短暂局灶脑缺血后神经元的凋亡^[8-9]。

表1 SD大鼠缺血再灌注后各时点CA1区和CA3区ERK灰度值

($n=30, \bar{x} \pm s$)

组别	2 h	6 h	12 h	24 h	3 d	5 d
CA1 区						
假手术	201.37 ± 21.57	209.70 ± 24.87	201.69 ± 25.94	193.76 ± 21.07	202.75 ± 21.31	202.27 ± 21.12
缺血再灌注	174.62 ± 23.91 ^a	150.22 ± 21.02 ^a	131.72 ± 24.78 ^a	115.63 ± 21.65 ^a	127.24 ± 21.38 ^a	144.55 ± 28.22 ^a
热休克预处理	176.47 ± 29.39 ^{ac}	152.13 ± 23.67 ^a	141.34 ± 23.48 ^{ac}	138.60 ± 20.82 ^{ac}	149.21 ± 20.79 ^{ac}	169.51 ± 23.69 ^{ac}
CA3 区						
假手术	197.54 ± 27.55	201.65 ± 21.97	206.69 ± 19.65	212.78 ± 20.78	204.41 ± 20.22	198.46 ± 29.39
缺血再灌注	175.52 ± 25.53 ^a	146.54 ± 24.38 ^a	143.38 ± 32.33 ^{ab}	145.63 ± 21.65 ^{ab}	152.15 ± 33.10 ^{ab}	159.23 ± 21.63 ^{ab}
热休克预处理	181.24 ± 23.56 ^{ac}	178.21 ± 25.40 ^{abc}	169.33 ± 27.06 ^{abc}	162.42 ± 21.15 ^{abc}	165.75 ± 31.75 ^{abc}	171.19 ± 27.04 ^{abc}

^a $P < 0.05$ vs 假手术, ^b $P < 0.05$ vs CA1, ^c $P < 0.05$ vs 缺血再灌注。

表2 SD大鼠缺血再灌注后各时点CA1区和CA3区凋亡指数

($n=30, \%$, $\bar{x} \pm s$)

组别	2 h	6 h	12 h	24 h	3 d	5 d
CA1 区						
假手术	0.26 ± 0.37	1.37 ± 0.77	1.52 ± 0.24	1.50 ± 0.81	2.26 ± 0.33	1.37 ± 0.62
缺血再灌注	2.75 ± 0.38 ^a	13.42 ± 5.18 ^a	28.37 ± 7.12 ^a	39.36 ± 8.17 ^a	42.39 ± 6.49 ^a	22.03 ± 5.43 ^a
热休克预处理	1.35 ± 0.6 ^{ac}	7.65 ± 2.32 ^{ac}	14.16 ± 3.39 ^{ac}	22.18 ± 3.27 ^{ac}	24.19 ± 5.43 ^{ac}	9.37 ± 3.15 ^{ac}
CA3 区						
假手术	0.25 ± 0.68	1.38 ± 0.27	1.51 ± 0.46	1.49 ± 0.79	2.42 ± 0.35	1.27 ± 0.29
缺血再灌注	1.38 ± 0.39 ^{ab}	9.02 ± 3.12 ^{ab}	20.18 ± 5.12 ^{ab}	31.24 ± 7.28 ^{ab}	34.26 ± 7.25 ^{ab}	17.08 ± 3.27 ^{ab}
热休克预处理	1.28 ± 0.56 ^{ac}	5.48 ± 1.68 ^{abc}	9.32 ± 6.36 ^{abc}	16.27 ± 3.64 ^{abc}	18.92 ± 3.15 ^{abc}	7.65 ± 2.41 ^{abc}

^a $P < 0.05$ vs 假手术, ^b $P < 0.05$ vs CA1, ^c $P < 0.05$ vs 缺血再灌注。

我们的实验结果显示,脑缺血再灌注后 ERK 在 SD 大鼠海马 CA1 区表达较 CA3 区强,同时伴有 CA1 区神经细胞变性坏死、细胞凋亡,说明 ERK 的过度表达参与了脑缺血再灌注损伤过程,其机制尚不清楚,可能与增加兴奋性氨基酸释放,从而增加兴奋性毒性致神经元死亡^[9]。

热休克预处理对大鼠缺血再灌注损伤具有保护作用,其机制为抗氧化调节其他蛋白质合成、维持细胞固有蛋白质形态结构、促进缺损蛋白质的修复、影响糖皮质激素的释放及代谢、干扰宿主的炎症反应对防止细胞凋亡有重要作用^[10-11]。我们的研究发现, HSP 组 ERK 在缺血再灌注后各时间点及各区的表达明显弱于 IR 组,同时细胞损伤及凋亡减弱,说明热休克预处理可下调 ERK 的表达,保护缺血再灌注损伤后的脑组织。

【参考文献】

- [1] Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: An integrated view [J]. Trends Neurosci, 1999, 22(9): 391-397.
- [2] Yang YL, Lin MT. Heat shock prorelin expression protects against cerebral ischemia and monoamine overload in rat heat stroke [J]. Am J Physiol, 1999, 276(6 pt 2): 1961-1967.
- [3] Kernie SG, Parada LF. The molecular basis for understanding neurotrophins and their relevance to neurologic disease [J]. Arch Neurol, 2000, 57(5): 654-657.
- [4] Kuan CY, Whitmarsh AJ, Yang DD, et al. A critical role of neural-specific JNK3 for ischemic apoptosis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(25): 15184-15189.
- [5] Wang X, Xu L, Wang H, et al. Mitogen-activated protein Kinase-activated protein (MAPKAP) kinase 2 deficiency protects brain ischemic injury in mice [J]. J Biol Chem, 2002, 277(46): 43968-43972.
- [6] Nozaki K, Nishimura M, Hashimoto N. Mitogen-activated protein kinases and cerebral ischemia [J]. Mol Neurobiol, 2001, 23(1): 1-19.

- [7] Nicole O, Ali C, Docagne F, et al. Neuroprotection mediated by glial cell line-derived neurotrophic factor: Involvement of a reduction of NMDA-induced calcium influx by the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *J Neurosci*, 2001 21(9): 3024-3033.
- [8] Wang X, Wang H, Xu L, et al. Significant neuroprotection against ischemic brain injury by inhibition of MEK1 protein kinase in mice: Exploration of potential mechanism associated with apoptosis [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003 304(1): 172-178.

- [9] 李军, 曹红. 曾邦雄审校. MAPK 级联反应与缺血性脑损伤 [J]. *国外医学麻醉学与复苏分册*, 2002 24(4): 232-235.
- [10] 马宏钟, 薛荣亮. 热休克蛋白与脑缺血再灌注损伤 [J]. *国外医学麻醉学与复苏分册*, 2004 25(1): 20-21.
- [11] 杨芬, 万琪. 短期学习记忆对小鼠脑组织中热休克蛋白表达的影响 [J]. *第四军医大学学报*, 2005 26(24): 2248-2258.

编辑 许昌泰

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2006)16-1452-01

淋巴绘图技术对胃癌前哨淋巴结定位检测的意义

任宏, 邓智平, 刘刚, 石景森 (西安交通大学第一医院肿瘤外科, 肝胆研究室, 陕西西安 710061)

【关键词】淋巴绘图技术, 前哨淋巴结, 胃癌

【中图分类号】R735.2 【文献标识码】B

1 临床资料 2000/2004 收治 T2 期胃癌 68 例. 年龄 (49 ± 10) 岁. 肿瘤大小平均 2.5 (0.7~5.0) cm, ≤2 cm 38 例, 3~4 cm 22 例, ≥5 cm 8 例. 每例平均获取淋巴结 21 (12~33) 枚, 前哨淋巴结 (SLN) 平均数 2.0 (1~7) 枚. 34 例作为第 1 组剖腹时未见浆膜受侵, 取 6 号针沿原发灶四周刺入浆膜下层, 仔细注入 10 g/L 亚甲蓝 (江苏济川制药厂生产) 10~15 mL 并轻轻按摩 5 min 即见有 SLN 染色. 作 D2 胃切除术, 沿大弯纵形切开胃标本, 固定于 40 g/L 甲醛液, 取下染色的淋巴结 (SLN) 和未染色的淋巴结 (非 SLN), 也于 40 g/L 甲醛液固定, 切成 2 mm 厚切片, 石蜡包埋, 作 5 μm 切片, 染色后观察. 记录各淋巴结的所在位置. 另外 34 例作为第 2 组在胃癌行整块根治性 D2 切除后, 将标本移至手术台下, 打开胃腔, 于肿瘤周围黏膜下分数点注入 10 g/L 亚甲蓝 10~15 mL 并轻轻按摩, 约 5~10 min 后即可发现有胃周淋巴结蓝染, 确定为 SLN 并予以切除, 单独送病理科行常规切片及连续切片检查, 其余胃标本行常规病理检查. 结果第 1 组 SLN 活检 2 例失败, 32 例检测成功 (94.1%), 其中 SLN 阳性 8 例, 计非 SLN 阳性 4 例, 非 SLN 阴性 4 例; SLN 阴性 24 例, 计非 SLN 阳性 2 例, 非 SLN 阴性 22 例. SLN 活检的阳性判断值、阴性判断值、敏感性和特异性分别为 100% (8/8), 91.7% (22/24), 80.0% (8/10) 和 100% (22/22). SLN 位于第 1 站淋巴结 27 例 (84.4%), 第 1 2 站淋巴结 3 例 (9.4%) 和第 2 站淋巴结 2 例 (6.3%). 免疫组化染色和细胞角蛋白测定未见微转移灶. 根据 SLN 活检可预测淋巴结状态, SLN 淋巴结状态 (N) 阴性 22 例, 阳性 10 例, SLN 阳性 8 例, SLN 阴性 24 例. 第 2 组 SLN 活检 34 例标本中有 33 例前哨淋巴结定位成功, 成功率 97.5%, 其中 SLN 阳性 10 例, 其中非 SLN 阳性 6 例, 非 SLN 阴性 4 例, SLN 阴性 23 例, 其中非 SLN 阳性 1 例, 非 SLN 阴

性 22 例. SLN 活检的阳性判断值、阴性判断值、敏感性和特异性分别为 100% (10/10), 98.9% (22/23), 90.9% (10/11) 和 100% (22/22). SLN 位于第 1 站淋巴结 25 例 (75.8%), 第 1, 2 站淋巴结 5 例 (15.2%) 和第 2 站淋巴结 3 例 (9.1%). 免疫组化染色和细胞角蛋白测定未见微转移灶. 根据 SLN 活检可预测淋巴结状态, SLN 淋巴结状态 (N) 阴性 22 例, 阳性 11 例, SLN 阳性 10 例, SLN 阴性 23 例.

2 讨论 胃癌的临床诊断和外科治疗经过一个多世纪的历史演变, 进入到近于合理化、规范化阶段^[1]. 有资料显示美蓝在肿瘤周围和乳晕皮下联合注射可显著提高 SLN 的检出率及 SLN 预测腋窝淋巴结状态的准确率^[2]. 前哨淋巴结定位活检对早期胃癌的淋巴结清扫有很好的潜在价值^[3-4]. 相比较而言, 蓝染料法简单易行, 在任何医院都能实行, 但其鉴定方法带有主观性以及色素注射时间和淋巴管的追踪方法都要求熟练掌握等缺点^[5]. 我们通过应用蓝染料法分别在术中、术后对胃癌 SLN 的定位活检判断区域淋巴结的情况, 对部分的淋巴结清扫方法和范围可以改变, 对 SLN 阴性可以不必进行区域淋巴结清扫, 从而使一部分手术范围缩小, 减少手术创伤, 受益于微创手术, 有利于术后恢复及提高术后的生活质量, 并可提高术后肿瘤临床分期的准确性. 同时如果发现其他淋巴引流, 可扩大手术范围, 达到肿瘤根治的目的. SLN 检测技术在乳腺癌中应用相对比较成熟, 但在胃癌研究中病例数较少, 还需进一步改良完善. 下一步我们要应用新技术检验生物活性染料示踪剂寻找到的 SLN 的真伪, 提高实施 SLN 技术方法的准确性; 研究是否存在跳跃转移, 并如何检验, 还有待于进一步研究.

【参考文献】

- [1] 卜建石, 宋斌. 青年胃癌 189 例临床分析 [J]. *第四军医大学学报*, 2003 24(16): 225.
- [2] 郑兰东, 杨万广, 李灵霞, 等. 哨兵淋巴结活检用于早期乳腺癌诊断 93 例 [J]. *第四军医大学学报*, 2004 25(6): 534.
- [3] Kretschmer L, Hilgers R, Mohrle M, et al. Patients with lymphatic metastasis of cutaneous malignant melanoma benefit from sentinel lymphonodectomy and early excision of their nodal disease [J]. *Eur J Cancer*, 2004 40: 212-218.
- [4] Nieweg QE, Bartelink H. Implication of lymphatic mapping for staging and adjuvant treatment of patients with breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2004 40: 179-181.
- [5] Ryu KW, Lee JH, Kim HS, et al. Prediction of lymph nodes metastasis by sentinel node biopsy in gastric cancer [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2003 29: 895-899.

编辑 许昌泰

收稿日期 2005-11-17; 接受日期 2005-12-20

作者简介: 任宏, 副教授, 医学博士. Tel: 13909237351 Email: dzp752003@126.com