

腺病毒介导的 cox-2 反义 RNA 对食管癌细胞株 DNA 和蛋白质合成的影响

李胜保,吴清明,王 强,王小虎,谢国建

李胜保,吴清明,王强,王小虎,谢国建,郟阳医学院附属太和医院消化内科
湖北省十堰市 442000

李胜保,男,1970-09-21生,湖北省郟县人,汉族. 1994年郟阳医学院本科毕业,
2001年武汉大学医学院硕士研究生毕业,主治医师. 主要从事消化道肿瘤的
防治.

项目负责人:李胜保,442000,湖北省十堰市人民南路29号,太和医院消化内
科. libao2000@163.com

电话:0719-8801431

收稿日期:2002-08-10 接受日期:2002-08-23

Effects of adenovirus-mediated human
cox-2 antisense RNA on synthesis of
DNA and proteins in esophageal carcinoma
cell line

Sheng-Bao Li, Qing-Ming Wu, Qiang Wang, Xiao-Hu Wang,
Guo-Jian Xie

Sheng-Bao Li, Qing-Ming Wu, Qiang Wang, Xiao-Hu Wang, Guo-Jian Xie,
Department of Gastroenterology, Taihe affiliated Hospital, Yunyang
Medical college, Shiyan 442000, Hubei Province, China

Correspondence to: Dr. Sheng-Bao Li, Department of Gastroenterology,
Taihe Affiliated Hospital, Yunyang Medical College, 29 Renmin south
Road, Shiyan 442000, Hubei Province, China. libao2000@163.com

Received: 2002-08-10 Accepted: 2002-08-23

Abstract

AIM: To construct the recombinant adenovirus encoding human cox-2 antisense RNA, and to investigate its effect on synthesis of DNA and proteins in esophageal carcinoma cell line EC9706.

METHODS: The shuttle plasmid encoding antisense cox-2 was constructed by cloning cox-2 cDNA fragment in the reverse direction into the pHCMVSP1A. Then the plasmid pJM17 and the shuttle plasmid were cotransferred into 293 cells with lipofectamine for homologous recombination to acquire recombinant adenovirus confirmed by PCR. The expressions of cox-2 in esophageal carcinoma cell line EC9706 cells were evaluated, and its effects on cell proliferation were determined by cell growth rate, ^3H -TdR and ^3H -Leucine incorporation.

RESULTS: The recombinant adenovirus encoding antisense cox-2 fragment ad-ASHcox-2 was obtained with the titer of 0.86 ± 10^{12} PFU/ml. Ad-ASHcox-2 can reduce the expression of cox-2, and inhibit cell growth rate and cause cellular death. Meanwhile, The efficiency of ^3H -TdR and ^3H -Leucine incorporation was significant lower than that in the control group at 48, 72, 96 hours ($q_{48\text{h}} = 16.36$ vs 16.36 , $q_{72\text{h}} = 39.07$ vs 19.90 , $q_{96\text{h}} = 54.80$ vs 30.33 ; $P < 0.001$).

CONCLUSION: Reducing the expression of cox-2 may inhibit the proliferation of esophageal cancer cells through inhibiting

the synthesis of DNA and protein.

Li SB, Wu QM, Wang Q, Wang XH, Xie GJ. Effects of adenovirus-mediated human cox-2 antisense RNA on synthesis of DNA and proteins in esophageal carcinoma cell line. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(5):517-521

摘要

目的: 构建表达人 cox-2 反义 RNA 的腺病毒载体, 研究其对食管癌细胞株 DNA 和蛋白质合成的影响。

方法: 把人 cox-2 的 cDNA 片段反向克隆于穿梭质粒 pHCMVSP1A 的 CMV 启动子之下, 获得 pAd-ASHcox-2, 通过脂质体与 pJM17 共转染 293 细胞, 经同源重组产生编码 cox-2 反义 RNA 的重组腺病毒 -- Ad-ASHcox-2. 经 PCR 的方法鉴定为阳性克隆并大量扩增、纯化, 转染食管癌细胞 EC9706, 采用生长细胞计数, 免疫细胞化学、 ^3H -TdR、 ^3H -Leucine 掺入法, 研究对食管癌细胞生长、DNA 及蛋白质合成的影响。

结果: 成功构建并扩增、纯化得到编码 cox-2 反义 RNA 的重组腺病毒 Ad-ASHcox-2, 滴度达 0.86×10^{12} PFU/ml; Ad-ASHcox-2 感染肿瘤细胞后, cox-2 表达水平明显降低, ^3H -TdR、 ^3H -Leucine 掺入量明显减少, 与对照组在 48h、72h、96h 比较有显著性差异 ($q_{48\text{h}} = 16.36$ 及 16.36 , $q_{72\text{h}} = 39.07$ 及 19.90 , $q_{96\text{h}} = 54.80$ 及 30.33 ; $P < 0.001$); 同时发现食管癌细胞的生长明显受抑制。

结论: 表达 cox-2 反义 RNA 重组腺病毒感染人食管癌细胞后可降低 cox-2 表达水平, 使 DNA 合成降低、蛋白质合成减少, 且抑制食管癌细胞生长、增生, 提示抑制 cox-2 的表达可能是治疗食管癌的一种新途径。

李胜保, 吴清明, 王强, 王小虎, 谢国建. 腺病毒介导的 cox-2 反义 RNA 对食管癌细胞株 DNA 和蛋白质合成的影响. *世界华人消化杂志* 2003;11(5):517-521
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/517.htm>

0 引言 %

近年来, 流行病学资料研究表明长期坚持服用非甾体类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAID) 如阿司匹林等可使大肠癌的危险性降低 40-50%^[1,2], 使家族性腺瘤型息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP) 的癌变率和死亡率降低, 使息肉数量和体积减小^[3]. NSAID 类药物作用的中心环节是抑制环氧酶(cyclooxygenase,

cox)的活性,而cox是花生四烯酸转化为前列腺素(prostaglandins,PGs)的限速酶,他有两个同工异构体^[4]-cox-1和cox-2,其中cox-1为原生型,在机体大多数组织中都有不同水平的表达,经cox-1途径产生的PGs在机体中主要起生理性保护作用,因此cox-1又称“管家基因”(housekeeping gene);cox-2为诱生型,在机体大多数组织中无表达(平滑肌细胞血管内皮细胞、炎性细胞除外),多因各种生长因子、丝裂原、内毒素、前致癌物等刺激后迅速产生,在许多癌组织中高度表达,可能与癌症的发生、发展有关^[5]。本课题利用基因重组技术构建cox-2的反义RNA重组腺病毒,转染人食管癌细胞株EC9706,研究其对食管癌细胞生长、DNA合成的影响,进一步探讨cox-2的促癌机制。

1 材料和方法

1.1 材料 酶及主要试剂 内切酶BamHI、XbaI、T₄DNA Ligase 购自华美生物工程公司;1640、Lipofectamine 购自GIBCO/BRL公司,低熔点琼脂糖,X-gal 购自Promega公司;CsCl 购自Sigma公司;³H-TDR、³H-Leucine 购自北京原子能研究所;cox-1、cox-2 抗体购自Santa Cruz公司,SP试剂盒购自北京中山生物公司;cox-2cDNA及腺病毒PCR引物由赛百胜生物公司设计、合成。质粒和菌株Ad-LacZ由我分子生物学实验室王家宁博士惠赠,cox-2质粒PCRTM Vector由美国Vanderbilt University 管又飞博士惠赠,pHCMVSP1A和pJM17由军事科学院二所吴祖泽院士惠赠。DH_{5α}由北京医科大学第一医院心内科彭旭博士惠赠。细胞系293细胞为腺病毒E1区基因转化的人胚肾细胞系,培养条件为10%新生小牛血清的高糖DMEM培养液,在37℃、5%CO₂孵箱中培养。食管癌细胞株EC9706由中国医学科学院王明荣教授惠赠,培养条件为3%1640,在37℃、5%CO₂孵箱中培养。仪器高速冷冻离心机(Jouan,意大利),二氧化碳培养箱(sanyD,日本),超高速冷冻离心机(Hitachi,日本),倒置相差显微镜(Olympus IX-70,日本),PCR扩增仪(美国),液体闪烁计数仪(美国Beckman),紫外分光光度计(752型,上海),空气浴、水浴摇床。

1.2 方法 (1)cox-2反义RNA重组腺病毒载体的构建、鉴定、扩增、纯化、滴度测定 质粒pCRTMII-cox-2经XbaI BamHI双酶切获得COX-2 cDNA片段,反向克隆于穿梭质粒pAdHCMV SP1A的XbaI、BamHI两位点上;连接产物为pAd-AShcox-2,后者经转化大肠杆菌DH_{5α}进行质粒扩增,酶切鉴定为阳性质粒后进行大量扩增、纯化。Lipofectamin介导穿梭质粒pAd-AShcox-2与pJM17共转染293细胞,待293细胞出现病变、脱落细胞约20%再收集上清。取病毒上清提取病毒DNA,经PCR鉴定。cox-2上游引物:5'-TTG GCT TCA AGA CTG AGA TA-3',下游引物:5'-

AGC CCA AAT TAT TGG TTC;腺病毒引物上游引物:5'-TCG TTT CTC AGC AGC TGT TG-3',下游引物:5'-CAT CTG AAC TCA AAG CGT GG-3'。PCR反应体系:取病毒DNA 10 μl,20 μmol/L引物各10 μl(腺病毒引物为5 μl),10 × PCR buffer 5 μl,MgCl₂ 2 μl,2 mmol/L dNTP 5 μl,Taq酶1 μl,加水至PCR反应终体积50 μl,用矿物油覆盖,94℃变性5 min,然后94℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 60 s,循环30次,最后72℃延伸10 min,在1.0%琼脂糖凝胶中进行电泳,能同时扩增cox-2的cDNA片段和腺病毒片段为阳性重组克隆,不加模板进行PCR扩增作为阴性对照。鉴定为阳性重组腺病毒后反复转染293细胞,收集293细胞,反复冻融碎裂293细胞,用CsCl超速梯度离心2次,收集病毒,经透洗袋纯化病毒,最后用有限稀释法进行病毒滴度测定。(2)病毒感染率测定 用带有LacZ报告基因的重组腺病毒Ad-LacZ按不同的感染倍数(multiplicity of infection,MOI)感染食管癌细胞,48 h后固定细胞,X-gal染色,显微镜下计数被染成蓝色的细胞,即为LacZ基因表达的阳性细胞,确定蓝染百分率。(3)细胞生长曲线 细胞按1 × 10⁴/孔分别接种在24孔培养板中,细胞长至40-50%融合时,按一定的MOI感染癌细胞,定期消化收集细胞,每个时间点设三个平行组,计数取平均值及标准差,连续计数4 d。对照组包括加病毒Ad-LacZ组和不加病毒组。(4)食管癌细胞cox-2的表达的测定 分别取第24、48、72、96小时培养的癌细胞进行消化、收集、离心,PBS漂洗1次,吹散食管癌细胞,作细胞涂片,电风吹干后,用4℃冷丙酮固定10 min。此后按SP免疫细胞化学实验方法进行。(5)³H-TdR及³H-Leucine掺入试验 按1 × 10⁴/孔分别接种在24孔培养板中,待细胞长到40-50%融合时,实验组和对照组3%Fcs1640培养3 h后改为无Fcs1640,培养12 h,各组加入1 μCi ³H-TdR或³H-Leucine,分别于24 h,48 h,72 h用PBS漂洗1次,甲醇固定10 min,无水乙醇10 min,最后加0.1 M的NaOH 200 μl,经吹打后各取200 μl入5 ml闪烁液中混匀、过夜,次日测定³H放射强度(CPM);每组设三孔,重复三次。

统计学处理 先F检验,后用q检验。

2 结果

2.1 表达cox-2反义RNA重组腺病毒的构建 将目的基因cox-2 cDNA片段反向克隆到pAdHCMVSP1A上,酶切鉴定挑选表达cox-2反义RNA的重组质粒pAd-AShcox-2(见图1),使其和pJM17共转染293细胞,经同源重组,产生编码cox-2反义RNA的复制缺陷型重组腺病毒Ad-AShcox-2,PCR鉴定结果(见图2),扩增产物为277 bp的cox-2 cDNA片段和860 bp的病毒基因骨架片段;Ad-AShcox-2经扩增、提取、纯化,经测定Ad-AShcox-2滴度达0.86 × 10¹²PFU/ml。

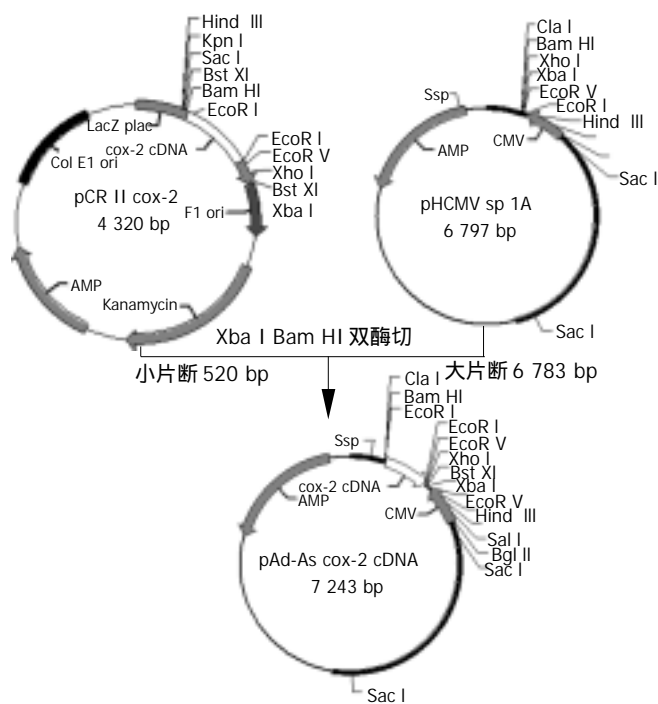


图1 基因重组图谱.

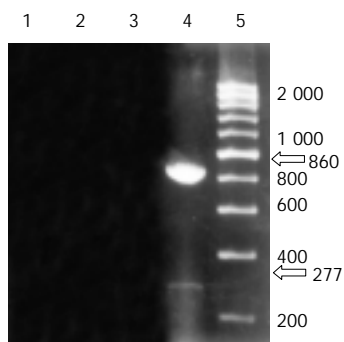


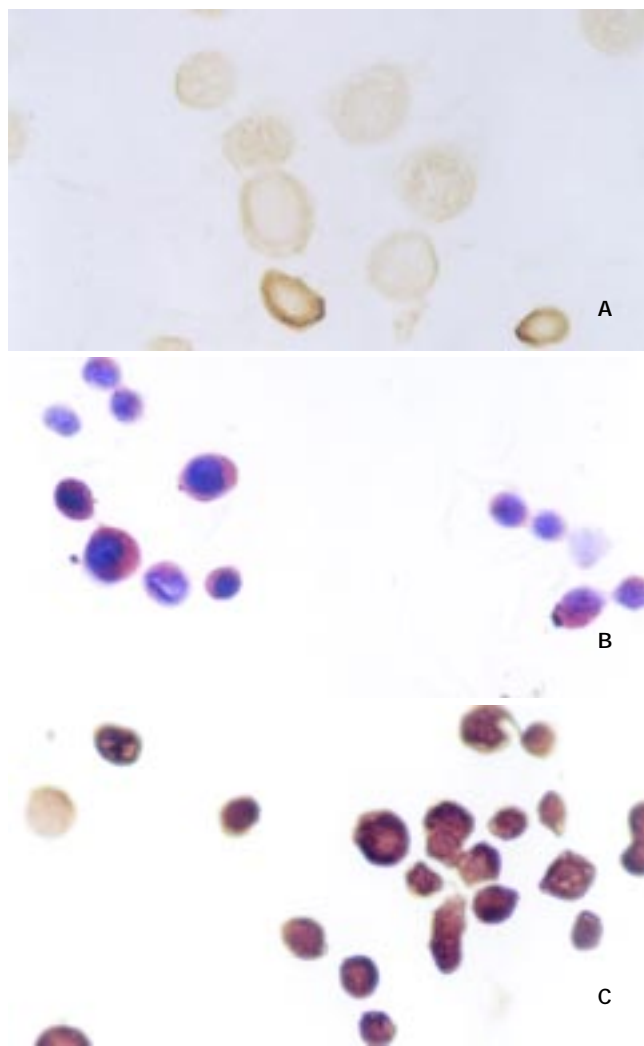
图2 琼脂糖凝胶电泳鉴定 Ad-ASHcox-2 的 PCR 扩增结果. 1:对照组; 2:pHCMVSP1A 组;3:pAd-ASHcox-2 组; 4:Ad-ASHcox-2 组;5: 200 bp Ladder.

2.2 重组腺病毒的转染效率 Ad-LacZ 按 MOI 为 25、50、100、200 的强度分别感染食管癌细胞, 48 h 后进行 X-gal 染色, 显示转染效率分别为 90 %、100 %、100 %、100 %, 表明 MOI >25 时, 90 % 以上的 EC9706 细胞被 Ad-LacZ 感染.

2.3 免疫细胞化学染色 结果显示:实验组 Ad-ASHcox-2 cox-2 表达与对照组 Ad-LacZ 组和空白对照组比较明显减少, 病毒转染第 3 天表达水平最低(见图 3).

2.4 细胞生长曲线 细胞生长曲线显示 Ad-ASHcox-2 组癌细胞计数随时间推移有明显降低的趋势, 第 96 小时细胞计数最少; 而 Ad-LacZ 组和空白对照组癌细胞计数随时间的推移有明显增多的趋势(见图 4).

2.5 Ad-ASHcox-2 对食管癌细胞 ³H-TdR 及 ³H-Leucine 掺入量的影响 Ad-ASHcox-2 组 ³H-TdR 及 ³H-Leucine 掺入量明显低于对照组(P < 0.001), 并随着时间的推移有下降的趋势, 以第 4 天最明显; 而 Ad-LacZ 组和空白对照组 ³H-TdR 及 ³H-Leucine 掺入量均在增加, 二者比较无统计学差异(P > 0.05)(见表 1, 表 2).



A Ad-ASHcox-2 组大部分 EC9706 细胞 Cox-2 表达明显减少. B Ad-LacZ 组 EC97076 细胞 Cox-2 高表达. C 空白对照组 EC9706 细胞 Cox-2 高表达. 图3 实验组 Ad-ASHcox-2、对照组 Ad-LacZ 组和空白对照组 cox-2 表达情况.

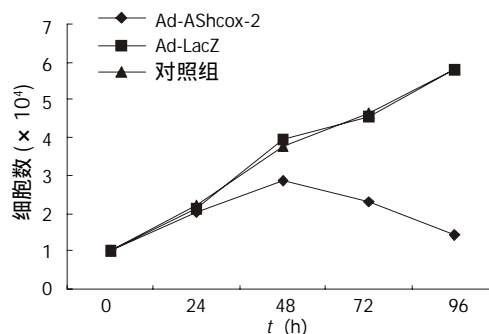


图4 Ad-ASHcox-2 及 Ad-LacZ 对食管癌细胞株 EC9706 生长的影响.

表1 ³H-TdR 掺入量($\bar{x} \pm s$ CPM/Well)

组别	48 h	72 h	96 h
Ad-ASHcox-2	2 504.67 ± 340.74 ^a	2 372.22 ± 115.18 ^b	279.22 ± 45.36 ^b
Ad-LacZ	3 481.78 ± 114.57	3 656.44 ± 82.75	4 424.67 ± 82.75
Control group	3679 ± 99.51	3 750.67 ± 71.77	4 400.44 ± 381.56

三组之间的比较: $F_{48h}=76.75, F_{72h}=548.77, F_{96h}=995.80$ (P < 0.001); 反义基因组与空白对照组的比较: $q_{48h}=16.36, q_{72h}=39.07, q_{96h}=54.80$ (^bP < 0.001); LacZ 基因组与空白对照组的比较: $q_{48h}=2.75, q_{72h}=2.87, q_{96h}=0.32$ (P > 0.05)

表2 ³H-Leucine 掺入量($\bar{x} \pm s$ CPM/Well)

组别	48 h	72 h	96 h
Ad-ASHcox-2	546.22 ± 53.54 ^b	499.22 ± 24.76 ^b	232.44 ± 67.74 ^b
Ad-LacZ	989.33 ± 102.44	1 038.11 ± 83.07	1 024.56 ± 90.45
空白组	959.33 ± 62.11	1 081.567 ± 110.78	1 009.56 ± 70.37

三组之间的比较: $F_{48h}=8.02, F_{72h}=143.59, F_{96h}=312.75(P<0.05)$;反义基因组与空白对照组间的比较: $q_{48h}=16.36, q_{72h}=19.90, q_{96h}=30.33$ ($^bP<0.001$); LacZ基因组与空白对照组间的比较: $q_{48h}=1.18, q_{72h}=1.61, q_{96h}=0.58(P>0.05)$.

3 讨论

食管癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一,死亡率很高,近年来发病率呈上升趋势.对食管癌的治疗传统方法有手术、放疗、化疗和生物治疗^[6-9],但这些方法对中晚期食管癌效果差、并发症多,使临床应用受限;因此,寻求一种新的方法极为迫切.近几十年来,大量研究发现食管癌癌变过程是一个多因素、多阶段、多基因变异的综合过程,尤其基因结构的改变和表达异常是食管癌发生的分子基础.反基因技术就是针对这种机制设计治疗癌症的一种新方法^[10-16].

我们构建表达cox-2反义RNA重组腺病毒就是利用反义核酸技术的原理,能持续表达cox-2的反义RNA,封闭cox-2基因,使之表达减少.本研究结果显示Ad-ASHcox-2感染食管癌细胞株EC9706后,cox-2表达明显减少,这是因为Ad-ASHcox-2能抑制cox-2的转录、翻译,与mRNA结合使mRNA稳定性降低;另外与腺病毒的高效转导有关^[17].

大量的研究报道cox-2在胃癌、肝癌、大肠癌等^[18-21]消化道肿瘤中高度表达,而正常组织不表达或弱表达;我们前期的研究^[22]也证实cox-2在食管癌组织中高度表达,与淋巴转移有关;Tsujii et al^[23]将cox-2基因转染到小鼠肠上皮细胞时发现,cox-2高表达可使上皮细胞异型性增生,出现恶性表型,使抗凋亡基因表达下调;使用cox-2的抑制剂可对抗这种作用^[24-26],说明cox-2在癌症的发生、发展中可能扮演重要角色.本研究结果显示Ad-AScox-2转染食管癌细胞株后,细胞生长曲线呈下降趋势,而对照组呈上升趋势,表明Ad-AScox-2能抑制食管癌细胞的生长增生.吴汉平 et al^[27]也发现cox-2反义核酸转染胃癌细胞时癌细胞生长受限,提示cox-2可能成为癌症基因治疗的一个靶位. Ad-LacZ组与空白对照组食管癌细胞生长曲线几乎重叠,表明腺病毒对食管癌细胞无毒害作用.

细胞³H-TdR掺入量的多少是细胞DNA合成快慢的标志^[28],³H-Leucine掺入量可以反映蛋白质合成的快慢^[29],本研究发现Ad-ASHcox-2组与对照组比较,³H-TdR及³H-Leucine掺入量均明显减少($P<0.001$),说明Ad-ASHcox-2使cox-2表达降低后,可抑制肿瘤细胞DNA和蛋白质的合成,使EC9706细胞有丝分裂所需原料合成减少,从而发挥抑癌作用.

另外,我们实验中还发现Ad-ASHcox-2转染癌细胞后,有大量癌细胞脱落、坏死、呈葡萄状改变,说明Ad-ASHcox-2对癌细胞有直接杀死作用,可能与诱导细胞凋亡作用有关^[30].

本研究结果显示表达cox-2反义RNA重组腺病毒感染人食管癌细胞后可降低cox-2表达水平,使DNA和蛋白质合成降低,且抑制食管癌细胞生长、增生,进一步说明cox-2与食管癌的发生发展有关;抑制cox-2的表达可能是治疗食管癌的一种新途径.

4 参考文献

- Williams CS, Smalley W, DuBois RN. Aspirin use and potential mechanisms for colorectal cancer prevention. *J Clin Invest* 1997; 100:1325-1329
- Wang Q, Fan LY, He J, Wang YH. Inhibitory effect of sulindac against chemically-induced primary colonic tumors by N-methyl-N-nitrosourea in mice. *China Natl J New Gastroenterol* 1997;3:16-18
- Giardiello FM, Spannhake EW, DuBois RN, Hyland LM, Robinson CR, Hubbard WC, Hamilton SR, Yang VW. Prostaglandin levels in human colorectal mucosa: effects of sulindac in patients with familial adenomatous polyposis. *Dig Dis Sci* 1998;43:311-316
- Williams CS, DuBois RN. Prostaglandin endoperoxide synthase: why two isoforms? *Am J Physiol* 1996;270(3 Pt 1):G393-400
- Williams CS, Tsujii M, Reese J, Dey SK, DuBois RN. Host cyclooxygenase-2 modulates carcinoma growth. *J Clin Invest* 2000;105:1511-1513
- 李方儒. 食管癌的放射治疗和化学治疗. 世界华人消化杂志 2000;8:1024-1026
- 王苑本, 余国行, 高友芝. 食管癌的治疗方法和实施原则. 世界华人消化杂志 2000;8:1021-1023
- 刘心娟, 王帮茂. 食管癌的生物治疗. 世界华人消化杂志 2000;8:1027-1029
- 陈克能, 徐光炜. 食管癌的诊断和治疗. 世界华人消化杂志 2000;8:196-202
- Tang YC, Li Y, Qian GX. Reduction of tumorigenicity of SMMC-7721 hepatoma cells by vascular endothelial growth factor antisense gene therapy. *World J Gastroenterol* 2001;7:22-27
- 范应方, 黄宗海. 结直肠癌基因治疗研究进展. 世界华人消化杂志 2001;9:427-430
- 冷建军, 陈玉强, 冷希圣. 胰腺癌的基因治疗. 世界华人消化杂志 2000;8:916-918
- Chen JP, Lin C, Xu CP, Zhang XY, Wu M. The therapeutic effects of recombinant adenovirus RA538 on human gastric carcinoma cells in vitro and in vivo. *World J Gastroenterol* 2000;6:855-860
- 何兴祥, 王家马龙. 肝癌基因治疗的现状与展望. 华人消化杂志 1998;6:158-159
- Cao GW, Qi ZT, Pan X, Zhang XQ, Miao XH, Feng Y, Lu XH, Kuriyama S, Du P. Gene therapy for human colorectal carcinoma using human CEA promoter controlled bacterial ADP-ribosylating toxin genes human CEA: PEA & DTA gene transfer. *World J Gastroenterol* 1998;4:388-391
- Zhang XY. Some recent works on diagnosis and treatment of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 1999;5:1-3
- Dixon DA, Kaplan CD, McIntyre TM, Zimmerman GA, Prescott SM. Post-transcriptional control of cyclooxygenase-2 gene Expression. The role of the 3'-untranslated region. *J Biol Chem* 2000;275:11750-11757
- Ristimaki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P, Harkonen M. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res* 1997;57:1276-1280
- Shiota G, Okubo M, Noumi T, Noguchi N, Oyama K, Takano Y, Yashima K, Kishimoto Y, Kawasaki H. Cyclooxygenase-2 expression in hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 1999;46:407-412
- Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994;107:1183-1188
- 郜恒骏, 于连珍, 孙亮, 缪琨, 白剑峰, 张小勇, 吕秀珍, 赵志泉. 胃癌及癌旁

- 组织中cox-2基因蛋白的表达. 世界华人消化杂志 2000;8:578-579
- 22 吴清明,李胜保,王强,王德华,李晓斌,刘重贞. 食管癌cox-2高表达与临床病理特征的关系. 世界华人消化杂志 2001;9:11-14
- 23 Tsujii M, DuBois RN. Alterations in cellular adhesion and apoptosis in epithelial cells overexpressing prostaglandin endoperoxide synthase 2. *Cell* 1995;83:493-501
- 24 Wu YL, Sun B, Zhang XJ, Wang SN, He HY, Qiao MM, Zhong J, Xu JY. Growth inhibition and apoptosis induction of sulindac on human gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2001;7:796-800
- 25 Tian G, Yu JP, Luo HS, Yu BP, Yue H, Li JY, Mei Q. Effect of nimesulide on proliferation and apoptosis of human hepatoma SMMC-7721 cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:483-487
- 26 Meyer-Siegler K. COX-2 specific inhibitor, NS-398, increases macrophage migration inhibitory factor expression and induces neuroendocrine differentiation in C4-2b prostate cancer cells. *Mol Med* 2001;7:850-860
- 27 吴汉平,吴开春,李玲,么立萍,兰梅,王新,樊代明. 人环氧合酶-2(hcox-2)编码基因的克隆及其反义核酸转染胃癌细胞的初步研究. 世界华人消化病杂志 2000;8:1211-1217
- 28 Lavezzi AM, Biondo B, Repetti ML, Varesi C, Masini B, Matturri L. Prognostic implications of the proliferation index (3H-TdR-labeling index) and ploidy in neuroectodermal tumors (astrocytomas and glioblastomas). *Minerva Med* 1992;83:115-119
- 29 Rabinovitz YM, Pinus HA, Kotelnikova AV. A study of dependence of protein synthesis in mitochondria on the transmembrane potential. *Mol Cell Biochem* 1977;14:109-113
- 30 Sheng H, Shao J, Morrow JD, Beauchamp RD, DuBois RN. Modulation of apoptosis and Bcl-2 expression by prostaglandin E2 in human colon cancer cells. *Cancer Res* 1998;58:362-366

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2003 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版目次

2003 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2003.htm> 2002 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2002.htm> 2001 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2001.htm> 2000 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/2000.htm> 1999 世界华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1999.htm> 1998 华人消化杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1998.htm> 1997 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1997.htm> 1996 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1996.htm> 1995 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1995.htm> 1994 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1994.htm> 1993 新消化病学杂志电子版 <http://www.wjgnet.com/1009-3079/contents/1993.htm>

2003 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2003.htm> 2002 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2002.htm> 2001 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2001.htm> 2000 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/2000.htm> 1999 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1999.htm> 1998 World J Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1998.htm> 1997 China Natl J New Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1997.htm> 1996 China Natl J New Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1996.htm> 1995 China Natl J New Gastroenterol 电子版 <http://www.wjgnet.com/1007-9327/contents/1995.htm>

以上电子版如您需要请 E-mail 回复, 免费提供您使用. E-mail 地址: wjg@wjgnet.com. 以后将新出版的世界华人消化杂志和 World J Gastroenterol 电子版用 E-mail 发给您收. 希望您推荐 10 位消化专业工作者的 E-mail 地址, 让您的朋友也能获得电子版.
(世界胃肠病学杂志社 2003-01-15)