

族信号传导途径的成员,参与细胞内信号传导.且DPC4在TGF- $\beta$ 信号传导途径中居于中心地位<sup>[10-12]</sup>.

在本研究中,DPC4蛋白表达缺失率在I期中是5.5%(2/36),在II期中是12.5%(1/8),在III期中是9%(1/11),在IV期中是36%(9/25),在VI期中是32%(7/22),缺失率随着肿瘤的进展而增加.显然,DPC4基因的突变发生在结肠组织癌变过程的晚期.在胰腺癌中也观察到了这种相似的现象<sup>[13-15]</sup>.这种现象对肿瘤生物学的研究有着重要的意义,因为其再次证明生物学特性的重大改变总是和特定基因的改变强烈的联系在一起.

在基因水平检测DPC4的突变是比较困难的,因为需要将肿瘤组织显微切割后以获比较纯的肿瘤样本而后分析,故基因水平的检测费时、费力、过程复杂、费用较高.Wilentz et al<sup>[16,17]</sup>(2 000)的研究表明DPC4蛋白的免疫组化分析是一种检测DPC4基因改变的特异、敏感的方法.且与基因分析相比还具有以下优点:其允许将基因的改变和组织病理分类直接联系起来;其费用较为经济,操作简便,可检测大量标本;可检测石蜡包埋固定的已存档的病理标本.

#### 4 参考文献

- 1 张振书,张亚历.中国大肠癌研究进展.世界华人消化杂志 2001;9:489-494
- 2 Hahn SA, Schutte M, Hoque AT. DPC4, a candidate tumor suppressor gene at human chromosome 18q21.1[J]. *Science* 1996;271:350-353
- 3 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
- 4 邱健,姜馨,何文宪. CDK1 p27Kip1 及其在结(直)肠肿瘤中的研究.世界华人消化杂志 2001;9:209-211
- 5 李铭,王灏,郁宝铭,郑民华. p53 基因突变和肿瘤标志物对大肠癌患者预后的影响.世界华人消化杂志 1999;7:425-426
- 6 乔庆,吴金生,张静,马庆久,赖大年. 凋亡相关基因 bcl-2, bax 在

- 7 人类大肠腺癌中的表达意义.世界华人消化杂志 1999;7:936-938
- 8 王青,吴金生,高德明,赖大年,马庆久. EGF 受体和转化生长因子  $\alpha$  mRNA 在人大肠癌组织的表达意义.世界华人消化杂志 1999;7:590-592
- 9 赖大年,解远峰,卞玲,要秀. 结肠癌细胞株 p16 基因甲基化的研究.世界华人消化杂志 1999;7:676-678
- 10 陈健,顾红光,林武华,罗元辉. 散发性结直肠癌 46 例微卫星不稳定性研究.世界华人消化杂志 2000;8:350-352
- 11 Wang D, Kanuma T, Mizunuma H, Takama F, Ibuki Y, Wake N, Mogi A, Shitara Y, Takenoshita S. Analysis of specific gene mutations in the transforming growth factor-beta signal transduction pathway in human ovarian cancer. *Cancer Res* 2000;60:4507-4512
- 12 Venkatasubbarao K, Ahmed MM, Mohiuddin M, Swiderski C, Lee E, Gower WR Jr, Salhab KF, McGrath P, Strodel W, Freeman JW. Differential expression of transforming growth factor beta receptors in human pancreatic adenocarcinoma. *Anticancer Res* 2000;20:43-51
- 13 Calonge MJ, Massague J. Smad4/DPC4 silencing and hyperactive Ras jointly disrupt transforming growth factor-beta antiproliferative responses in colon cancer cells. *J Biol Chem* 1999;274:33637-33643
- 14 Peng B, Fleming JB, Breslin T, Grau AM, Fojioka S, Abbruzzese JL, Evans DB, Ayers D, Wathen K, Wu T, Robertson KD, Chiao PJ. Suppression of tumorigenesis and induction of p15 (ink4b) by Smad4/DPC4 in human pancreatic cancer cells. *Clin Cancer Res* 2002;8:3628-3638
- 15 Chen WB, Lenschow W, Tiede K, Fischer JW, Kalthoff H, Ungefroren H. Smad4/DPC4-dependent regulation of biglycan gene expression by transforming growth factor-beta in pancreatic tumor cells. *J Biol Chem* 2002;277:36118-36128
- 16 Cullingworth J, Hooper ML, Harrison DJ, Mason JO, Sirard C, Patek CE, Clarke AR. Carcinogen-induced pancreatic lesions in the mouse: effect of Smad4 and Apc genotypes. *Oncogene* 2002;21:4696-4701
- 17 Wilentz RE, Iacobuzio-Donahue CA, Argani P, McCarthy DM, Parsons JL, Yeo CJ, Kern SE, Hruban RH. Loss of expression of Dpc4 in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence that DPC4 inactivation occurs late in neoplastic progression. *Cancer Res* 2000;60:2002-2006
- 18 Wilentz RE, Su GH, Dai JL, Sparks AB, Argani P, Sohn TA, Yeo CJ, Kern SE, Hruban RH. Immunohistochemical labeling for dpc4 mirrors genetic status in pancreatic adenocarcinomas: a new marker of DPC4 inactivation. *Am J Pathol* 2000;156:37-43

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

• 研究快报 •

## Genistein 和 PD98059 对 aFGF 及 bFGF 诱导的 CCL229 细胞增生的抑制作用

尚海,张颐,单吉贤

尚海,辽宁省肿瘤医院肝胆胰外科 辽宁省沈阳市 110042  
张颐,中国医科大学附属第一医院妇科 辽宁省沈阳市 110001  
单吉贤,中国医科大学附属第一医院肿瘤外科 辽宁省沈阳市 110001  
项目负责人:尚海,110042,辽宁省沈阳市大东区小河沿路44号,辽宁省肿瘤医院. syzi@163.com  
电话:024-22711682  
收稿日期:2003-01-18 接受日期:2003-03-25

#### 摘要

目的:探讨酪氨酸蛋白激酶(TPK)抑制剂Genistein和细胞外

信号调节激酶(ERK)激酶MEK抑制剂PD98059对酸性及碱性成纤维细胞生长因子(aFGF, bFGF)诱导的人大肠癌细胞株 CCL229 细胞增生的抑制作用.

方法:以不同浓度的aFGF或bFGF刺激CCL229细胞,再对由aFGF或bFGF引起增生的细胞施加不同浓度的Genistein或PD98059,通过MTT比色法,观察Genistein及PD98059对细胞增生的抑制作用.

结果: aFGF 和 bFGF 均可使该细胞株增生比明显增加, 而 Genistein 和 PD98059 均可使该细胞株增生比明显下降, 其程度均随浓度增高而增强, 且 Genistein 的抑制作用强于 PD98059.

结论: 该细胞株中 aFGF 及 bFGF 受体有 TPK 活性, Genistein 对 aFGF 及 bFGF 引起的细胞增生具有抑制作用, 且 aFGF 及 bFGF 可能通过激活 TPK 受体从而激活 Ras-Raf-ERK 信号传导途径来调控 CCL229 细胞增生, PD98059 可有效阻滞此传导途径.

尚海, 张颐, 单吉贤. Genistein 和 PD98059 对 aFGF 及 bFGF 诱导的 CCL229 细胞增生的抑制作用. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1646-1649  
http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1646.asp

## 0 引言

酪氨酸蛋白激酶(tyrosine protein kinase, TPK)是一种催化蛋白质分子中酪氨酸残基磷酸化的蛋白激酶. 当生长因子与其受体结合后即可诱导受体 TPK 活性的激活, 从而使底物蛋白磷酸化, 调节细胞的分裂、增生<sup>[1]</sup>, Ras-Raf-ERK 为其下游信号传导途径之一. 本文应用 TPK 的特异性抑制剂 Genistein 及 ERK 激酶 MEK 抑制剂 PD98059, 观察以上 2 种抑制剂对 aFGF 或 bFGF 诱导的细胞增生的抑制作用, 进一步认识肿瘤细胞内的信号传导机制, 并为通过阻断信号传导途径而抑制肿瘤细胞增生提供依据.

## 1 材料和方法

1.1 材料 人大肠癌细胞系 CCL229, 由中国医科大学细胞生物教研室提供. aFGF, bFGF 购自北京邦定科技有限公司; Genistein、DMEM 培养基、四甲基偶氮唑蓝(MTT)购自 Sigma 公司; PD98059 购自 Promega 公司; 二甲基亚砜(DMSO)为市售分析纯试剂. 酶联免疫检测仪为奥地利 TACAN 公司产品.

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 CCL229 细胞在含 100 mL/L 小牛血清, 100 U/mL 青霉素, 100 μg/mL 链霉素的 DMEM 培养基中贴壁生长, 于 37 °C, 50 mL/L CO<sub>2</sub> 培养箱中传代培养.

1.2.2 实验分组 消化处于指数增生期的细胞, 以  $5 \times 10^3$  个细胞/孔接种于 96 孔板, 在 37 °C, 50 mL/L CO<sub>2</sub> 及饱和湿度的条件下恒温密闭培养. 随机分组为: (1)空白对照组; (2)aFGF 组, 观察 aFGF 对细胞的作用; (3) bFGF 组, 观察 bFGF 对细胞的作用; (4)gen 组, 观察 genistein 对细胞的作用; (5)PD 组, 观察 PD98059 对细胞的作用; (6) aFGF+ gen 组, 观察 aFGF 和 Genistein 同时施加对细胞的作用; (7) bFGF+ gen 组, 观察 bFGF 和 Genistein 同时施加对细胞的作用; (8) aFGF +PD 组, 观察 aFGF 和 PD98059 同时施加对细胞的作用; (9) bFGF+PD 组, 观察 bFGF 和 PD98059 同时施加对细胞的作用.

1.2.3 施加因素 当细胞达到亚融合状态时, 吸出旧培养液, 每孔加入 200 μL 无血清培养液, 12 h 后吸出旧培养液. 按分组要求加入肝素 8 μL (2 μg/μL), 不同量的 aFGF, bFGF, Genistein, PD98059 及培养液, 使各孔终体积均为 200 μL. aFGF+ gen 组, 细胞与 Genistein 温育 30 min 后加入 aFGF; bFGF+ gen 组, 细胞与 Genistein 温育 30 min 后加入 bFGF; aFGF +PD 组, 细胞与 PD98059 温育 1 h 加入 aFGF; bFGF +PD 组, 细胞与 PD98059 温育 1 h 加入 bFGF. 各组具体剂量见表 1.

1.2.4 MTT 比色 将 96 孔板放回孵箱, 2 d 后倾出培养液, 每孔加 MTT 溶液(5 mg/mL) 20 μL. 继续孵育 4 h, 每孔加入 150 μL DMSO, 振荡 10 min, 用酶联免疫检测仪读取每孔 A 值(测量波长 620 nm, 参考波长 490 nm). 绘制细胞生长曲线, 根据公式  $B/A \times 100\%$  计算细胞的增生、抑制率(A, B 分别为对照组和实验组的光密度值). 实验重复 3 次, 每浓度均设 3 孔.

统计学处理 采用 SPSS 软件进行数据统计处理,  $P < 0.05$  有统计学意义.

表 1 各组施加因素剂量

分组	aFGF(μg/mL)				bFGF(ng/mL)				gen(μg/mL)				PD(μmol/L)			
对照组	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
aFGF 组	0.15	0.3	0.6	1.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
bFGF 组	0	0	0	0	25	50	75	100	0	0	0	0	0	0	0	0
gen 组	0	0	0	0	0	0	0	0	6	12	24	48	0	0	0	0
PD 组	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	100	150	200
aFGF+ gen 组	0.6	0.6	0.6	0.6	0	0	0	0	6	12	24	48	0	0	0	0
bFGF+gen 组	0	0	0	0	50	50	50	50	6	12	24	48	0	0	0	0
aFGF +PD 组	0.6	0.6	0.6	0.6	0	0	0	0	0	0	0	0	50	100	150	200
bFGF +PD 组	0	0	0	0	50	50	50	50	0	0	0	0	50	100	150	200

## 2 结果

2.1 aFGF 和 bFGF 对 CCL229 细胞增生程度的影响 随 aFGF 及 bFGF 浓度升高, aFGF 组及 bFGF 组增生比明显增加, 二者相比, bFGF 组增生程度更明显(表 2).

表 2 aFGF 和 bFGF 对 CCL229 细胞增生的影响

aFGF 浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	bFGF 浓度( $\text{ng}/\text{mL}$ )	细胞 A 值	增生比(%)
0	0	$0.802 \pm 0.004$	100
0.15	0	$0.855 \pm 0.017$	107
0.3	0	$1.017 \pm 0.031^a$	127
0.6	0	$1.093 \pm 0.009^a$	136
1.2	0	$1.211 \pm 0.025^a$	151
0	25	$1.055 \pm 0.032^a$	132
0	50	$1.318 \pm 0.041^a$	164
0	75	$1.412 \pm 0.027^a$	176
0	100	$1.486 \pm 0.021^a$	185

<sup>a</sup>P < 0.05 vs 对照组.

表 3 genistein 对 aFGF 或 bFGF 诱导的 CCL229 细胞增生的影响

genistein 浓度( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	gen 组		aFGF+gen 组		bFGF+gen 组	
	A 值	增生比 (%)	A 值	增生比 (%)	A 值	增生比 (%)
0	$0.802 \pm 0.004$	100	$1.093 \pm 0.009$	100	$1.318 \pm 0.041$	100
6	$0.747 \pm 0.014^a$	93	$0.907 \pm 0.008^a$	83	$0.910 \pm 0.022^a$	69
12	$0.690 \pm 0.009^a$	86	$0.872 \pm 0.036^a$	80	$0.723 \pm 0.019^a$	55
24	$0.385 \pm 0.027^a$	48	$0.487 \pm 0.015^a$	45	$0.578 \pm 0.008^a$	44
48	$0.164 \pm 0.033^a$	20	$0.213 \pm 0.040^a$	19	$0.189 \pm 0.029^a$	14

<sup>a</sup>P < 0.05 vs 对照组.

表 4 PD98059 对 aFGF 或 bFGF 诱导的 CCL229 细胞增生的影响

PD98059 浓度( $\text{mmol}/\text{L}$ )	PD 组		aFGF+PD 组		bFGF+PD 组	
	A 值	增生比 (%)	A 值	增生比 (%)	A 值	增生比 (%)
0	$0.802 \pm 0.004$	100	$1.093 \pm 0.009$	100	$1.318 \pm 0.041$	100
50	$0.770 \pm 0.048$	96	$1.021 \pm 0.012^a$	93	$1.186 \pm 0.022^a$	90
100	$0.722 \pm 0.040^a$	90	$0.907 \pm 0.025^a$	83	$1.068 \pm 0.036^a$	81
150	$0.674 \pm 0.017^a$	84	$0.853 \pm 0.019^a$	78	$0.949 \pm 0.027^a$	72
200	$0.569 \pm 0.006^a$	71	$0.678 \pm 0.008^a$	62	$0.778 \pm 0.011^a$	59

<sup>a</sup>P < 0.05 vs 对照组.

与异常的细胞间信息传递密切相关<sup>[2-4]</sup>. 酪氨酸蛋白激酶信号系统是一条重要的信号传导途径. 许多生长因子受体具有 TPK 活性, 该蛋白激酶能以受体本身为底物, 发生自身磷酸化, 进而引起多种蛋白质的磷酸化, 与细胞增生密切相关<sup>[5-9]</sup>. 而 Ras-Raf-ERK 为其下游信号传导途径之一<sup>[10-12]</sup>, 二者相辅相成, 相互作用, 共同完成细胞内信号传导过程.

本实验观察到 aFGF 和 bFGF 均可促进大肠癌细胞株 CCL229 的增生, 且随浓度升高, 作用加强. 加入

2.2 genistein 对 CCL229 细胞增生的抑制作用 随 genistein 浓度增加, gen 组、aFGF+gen 组及 bFGF+gen 组细胞增生比下降程度明显增加; genistein 对 bFGF 引起的细胞增生抑制作用最强(P < 0.05), 对 aFGF 引起的细胞增生抑制作用也强于 gen 组(表 3).

2.3 PD98059 对 CCL229 细胞增生的抑制作用 加入 PD98059 后, PD 组、aFGF+PD 组及 bFGF+PD 组细胞增生比明显下降, 其下降程度随 PD98059 浓度增加而增加. 三组比较, PD98059 对 bFGF 诱导的细胞增生抑制作用最强(P < 0.05), 其次为 aFGF+PD 组.

2.4 genistein 和 PD98059 对 CCL229 细胞抑制作用的比较 genistein 对 CCL229 细胞的抑制作用及对 aFGF 或 bFGF 诱导的 CCL229 细胞增生的抑制作用均强于 PD98059 (P < 0.05, 表 3、4).

## 3 讨论

肿瘤细胞的侵袭、转移是一个多步骤、多因素的过程, 随着对细胞内信号传导途径研究的深入, 发现癌变

TPK 抑制剂 genistein 或 ERK 激酶 MEK 抑制剂 PD98059 后, 细胞增生明显受抑制, 随浓度升高, 抑制增强, 且 genistein 的抑制作用强于 PD98059, 说明 CCL229 细胞的增生主要由 TPK 活化介导, Ras-Raf-ERK 为其下游信号传导途径. 并且, aFGF+gen 组及 bFGF+gen 组对细胞的抑制程度明显大于 gen 组, aFGF+PD 组及 bFGF+PD 组对细胞的抑制程度也明显大于 PD 组, 说明 genistein 及 PD98059 对 aFGF 和 bFGF 诱导的细胞增生具有更强的抑制作用.

研究已证实大肠癌中存在 FGF 及其受体的过度表达<sup>[13-18]</sup>。本实验将为以阻断信号传导途径为靶点治疗大肠癌提供实验依据。

#### 4 参考文献

- 1 孙黎光, 马际, 侯伟健, 邢伟. Genistein 对 aFGF 诱导的 AGZY-83A 细胞增生的抑制作用. 中国医科大学学报 2000;29:11-14
- 2 颜春洪, 韩锐. Genistein 抑制 HT1080 人纤维肉瘤细胞的体外侵袭作用. 中华肿瘤杂志 1999;21:171-174
- 3 Kue PF, Taub JS, Harrington LB, Polakiewicz RD, Ullrich A, Daaka Y. Lysophosphatidic acid-regulated mitogenic ERK signaling in androgen-insensitive prostate cancer PC-3 cells. *Int J Cancer* 2002;102:572-579
- 4 Carnescchi S, Bradaia A, Fischer B, Coelho D, Scholler-Guinard M, Gosse F, Raul F. Perturbation by geraniol of cell membrane permeability and signal transduction pathways in human colon cancer cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;303:711-715
- 5 孙黎光, 邢伟, 刘素媛. aFGF 对人脐静脉内皮细胞 TPK, PKC 活性及  $Ca^{2+}$  浓度的影响. 中国生物化学与分子生物学报 2000;16:267-270
- 6 Shin EY, Ma EK, Kim CK, Kwak SJ, Kim EG. Src/ERK but not phospholipase D is involved in keratinocyte growth factor-stimulated secretion of matrix metalloprotease-9 and urokinase-type plasminogen activator in SNU-16 human stomach cancer cell. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002;128:596-602
- 7 Rao CV, Simi B, Hirose Y, Upadhyaya P, El-Bayoumy K, Reddy BS. Mechanisms in the chemoprevention of colon cancer: modulation of protein kinase C, tyrosine protein kinase and diacylglycerol kinase activities by 1, 4-phenylenebis-(methylene)selenocyanate and impact of low-fat diet. *Int J Oncol* 2000;16:519-527
- 8 Portela P, Howell S, Moreno S, Rossi S. In vivo and in vitro phosphorylation of two isoforms of yeast pyruvate kinase by protein kinase A. *J Biol Chem* 2002;277:30477-30487
- 9 Almeida RA, Calvinho LF, Oliver SP. Influence of protein kinase inhibitors on Streptococcus uberis internalization into bovine mammary epithelial cells. *Microb Pathog* 2000;28:9-16
- 10 Woessmann W, Chen X, Borkhardt A. Ras-mediated activation of ERK by cisplatin induces cell death independently of p53 in osteosarcoma and neuroblastoma cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002;50:397-404
- 11 Johnson GL, Lapadat R. Mitogen-activated protein kinase pathways mediated by ERK, JNK, and p38 protein kinases. *Science* 2002;298:1911-1912
- 12 Swiatkowski S, Seifert HH, Steinhoff C, Prior A, Thievensen I, Schliess F, Schulz WA. Activities of MAP-kinase pathways in normal uroepithelial cells and urothelial carcinoma cell lines. *Exp Cell Res* 2003;282:48-57
- 13 Grotowski M, Piechota W. Receptors of selected cytokines and angiokine bFGF in patients with colorectal cancer (a preliminary study). *Pol Merkuriusz Lek* 2001;11:398-401
- 14 Tabara H, Kohno H, Dhar DK, Kotoh T, Yoshimura H, Masunaga R, Tachibana M, Kubota H, Nagasue N. Concurrent expression of angiogenic growth factors and neovascularization during tumorigenesis in colorectal carcinoma patients. *Acta Oncol* 2001;40:622-628
- 15 Iwasaki K, Yamamoto M, Minami S, Komuta K, Yamaguchi J, Furui J, Kanematsu T. Human colon cancer produces a factor which induces the proliferation of venous endothelial cells. *Oncol Rep* 2001;8:1057-1061
- 16 Jayson GC, Vives C, Paraskeva C, Schofield K, Coutts J, Fleetwood A, Gallagher JT. Coordinated modulation of the fibroblast growth factor dual receptor mechanism during transformation from human colon adenoma to carcinoma. *Int J Cancer* 1999;82:298-304
- 17 Junquera F, Saperas E, de Torres I, Vidal MT, Malagelada JR. Increased expression of angiogenic factors in human colonic angiodysplasia. *Am J Gastroenterol* 1999;94:1070-1076
- 18 Arai N, Mitomi H, Uesugi H, Aihara S, Ohtani Y, Okayasu I. An aggressive desmoid tumor in a patient with familial adenomatous polyposis: immunohistochemical findings. *Am J Gastroenterol* 1999;94:530-532

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

• 研究快报 •

## CO<sub>2</sub> 气腹对肠道菌群生物学特性影响的实验研究

周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿

周丁华, 卫冰, 中国人民解放军解放军二炮总医院普外科 北京市 100088  
 李宁, 黎介寿, 南京军区南京总医院全军普外研究所 江苏省南京市 210002  
 国家自然科学基金资助项目, No.30270406  
 中国博士后科学研究基金资助项目, No. 中博基 2001-14  
 项目负责人: 周丁华, 100088, 北京市西城区新街口外大街 16 号, 中国人民解放军解放军二炮总医院普外科. zhouhd@sina.com  
 电话: 010-66343608 传真: 010-66343055  
 收稿日期: 2003-03-07 接受日期: 2003-03-28

### 摘要

目的: 探讨 CO<sub>2</sub> 气腹对肠道菌群生物学特性的影响。

方法: 采用细菌显微培养、通用引物 PCR 及细菌形态学检测技术对 CO<sub>2</sub> 气腹后大鼠肠道菌群进行细菌鉴定, 并观察其繁殖及群集性能。

结果: CO<sub>2</sub> 气腹后肠道细菌繁殖能力最强的仍是大肠杆菌、乳酸杆菌、双歧杆菌和肠球菌, 并无特异性菌株生长与繁殖。随着 CO<sub>2</sub> 气腹持续时间的延长及压力的增高, 肠道细菌群集率、细菌潜生体检出率逐渐增大。CO<sub>2</sub> 气腹持续 2 h 后, 肠道菌群潜生体大量生长, 并可稳定传代, 有明显的群集现象。

结论: CO<sub>2</sub> 气腹后肠道细菌繁殖能力及适应能力显著增强, 应充分估计其对抗生素的耐受特性。

周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿. CO<sub>2</sub> 气腹对肠道菌群生物学特性影响的实验研究. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1649-1651

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1649.asp>