

## 胃腺癌细胞株 SGC7901 中 Fas 及 FasL 的基因转录与表达

齐明, 周世庆, 汪素文, 真岩波, 张淑红

齐明, 周世庆, 汪素文, 真岩波, 张淑红, 山东大学临床医学院, 济南市中心医院消化内科 山东省济南市 250013  
 项目负责人: 周世庆, 250013, 山东省济南市解放路 105 号, 济南市中心医院消化内科  
 电话: 0531-5695061  
 收稿日期: 2004-11-01 接受日期: 2004-11-22

## 摘要

**目的:** 探讨胃腺癌细胞株 SGC7901 中 Fas 及 FasL 基因转录与表达情况, 为胃癌与 Fas 及 FasL 基因的相关研究提供帮助。

**方法:** 利用反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测胃腺癌细胞株 SGC7901 中 Fas 及 FasL 基因 mRNA 转录情况。采用免疫细胞化学染色鉴定胃腺癌细胞株 SGC7901 中 Fas 及 FasL 基因有无蛋白表达及其表达程度。

**结果:** 从提取的胃癌细胞总 RNA 中分别扩增出 Fas 及 FasL 的 DNA 片段, 免疫细胞化学染色亦显示胃腺癌细胞株 SGC7901 中存在 Fas 及 FasL 蛋白表达产物。

**结论:** 中国人胃腺癌细胞株 SGC7901 中存在 Fas 及 FasL 基因的 mRNA 转录及蛋白的表达。

齐明, 周世庆, 汪素文, 真岩波, 张淑红. 胃腺癌细胞株 SGC7901 中 Fas 及 FasL 的基因转录与表达. 世界华人消化杂志 2005;13(4):565-566  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/565.asp>

## 0 引言

Fas 又称 Apo1 或 CD95, FasL (Fas Ligand, Fas 配体) 又称 CD95L。目前的研究认为, FasL 是死亡因子, Fas 则是他的受体, 当一个细胞的 FasL 与另一细胞的 Fas 结合时, 可以导致表达 Fas 的细胞凋亡。国外已有研究表明<sup>[1, 7]</sup>, 胃癌组织中存在 Fas 和 FasL 的表达。已知胃腺癌细胞株 SGC7901 为国内研究胃癌常用的细胞株, 为此, 我们利用此株作为研究对象, 对其内 Fas 和 FasL 的基因转录和蛋白表达进行了检测。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胃癌细胞株 SGC7901 细胞由山东省医科院提供, 在 50 mL/L CO<sub>2</sub>, 温度 37℃ 条件下, 生长在含 100 mL/L 小牛血清的 RPMI-1640 培养液中。待细胞贴壁长满后, 收集细胞悬液以满足不同需要。

## 1.2 方法

**1.2.1 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测 Fas、FasL mRNA 的表达** 取生长良好的 SGC7901 细胞 5×10<sup>6</sup>, 以 Trizol 试剂(美国 GIBCO 公司)提取总 RNA, 以紫外分光光度计检验纯度并定量, 在 4 g/L 甲醛变性凝胶上电泳

验证 RNA 完整。RT-PCR 采用一步法试剂盒(日本 KaTaRa 公司), 按厂家推荐步骤进行。实验中以 β-actin 为内参照, 对样品模板用量标准化。引物设计: β-actin 上游: 5' ATCATGTTTGAGACCTTCAACA 3', 下游: 5' CATCTCTTGCTCGAAGTCCA 3'; Fas 上游: 5' CATGGCTTAGAAGTGAAAT 3', 下游: 5' ATTTATTGCCACTGTTTCAGG 3'; FasL 上游: 5' ATGTTTCAGCTCTTCCACCTACAGA 3; 下游: 5' AGAGAGAGCTCAGATACGTTGAC 3'。RT-PCR 循环条件: 94℃ 变性 1 min, 58℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环, 最后 72℃ 充分延伸 7 min。基因扩增产物在 15 g/L 琼脂糖凝胶上电泳, 以 Fluor-S 多功能成像系统(美国 BIO-RAD 公司)扫描拍照。

**1.2.2 免疫细胞化学染色** 取生长良好的 SGC7901 细胞进行免疫细胞化学染色, 采用爬片的方法制备细胞标本, 方法简介如下: 标本用 PBS 洗去培养基, 细胞经冷丙酮固定 10 min(室温)后, 按免疫细胞化学染色试剂盒(购自武汉博士德生物工程有限公司)说明步骤完成免疫细胞化学染色。一抗为兔抗人纯化抗体(1:500), 37℃ 孵育 1 h, 滴加二抗生物素化山羊抗兔 IgG(1:100) 37℃ 20 min, 以 PBS 替代一抗作为阴性对照。空白对照和替代对照均显示阴性的前提下, 以在细胞膜、胞质内出现棕黄色物且染色强度高于空白对照背景者为阳性。数 3 个以上高倍镜视野, 细胞数大于 500 个, 计算阳性率。

## 2 结果

**2.1 RT-PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳条带分析显示,** 胃癌细胞株 SGC-7901 细胞总 RNA 中分别扩出 339 bp 和 499 bp 大小的产物, 与引物设计的预期扩增片段大小一致, 提示胃癌细胞株 SGC7901 细胞中有 Fas、FasL 基因 mRNA 的表达(图 1)。

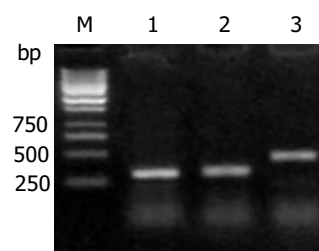


图1 胃癌细胞株 SGC7901 细胞中 Fas、FasL 基因 mRNA 的表达。M: DNA Marker; 1: β-actin; 2: Fas; 3: FasL。

**2.2 免疫组织化学染色显示胃癌细胞株 SGC7901 细胞中有 Fas、FasL 蛋白的表达,** 两种蛋白主要分布在细胞质中, 呈棕黄色(图 2), 其阳性表达率分别为 42.8% 和 74.3%。

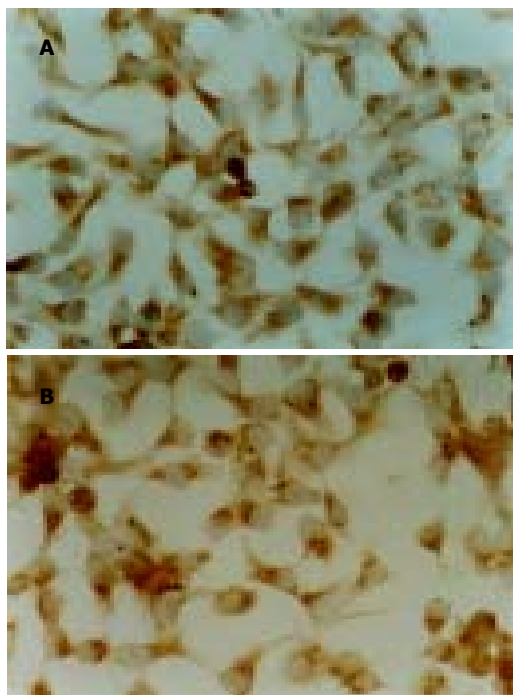


图2 胃癌细胞株SGC7901 细胞染色. A: Fas; B: FasL.

### 3 讨论

Fas 为 I 型跨膜蛋白, 属肿瘤坏死因子受体 (TNFR) 及神经生长因子受体 (NGFR) 家族成员, Fas 广泛存在于多种类型的细胞膜上; FasL 为 II 型跨膜糖蛋白, 属 TNF 家族成员, FasL 主要表达于活性 T 淋巴细胞<sup>[2]</sup>、NK 细胞及 LAK 细胞等免疫细胞的细胞膜上, 此外在免疫豁免组织 (脑、睾丸、眼) 的细胞膜上也有 FasL 的天然表达<sup>[3]</sup>. FasL 是一种细胞凋亡因子, 为 Fas 的配体, 当其与细胞表面的 Fas 结合后可激活细胞内凋亡信号, 引起 Fas 阳性细胞的凋亡<sup>[4]</sup>.

活性 T 细胞及 NK 细胞通过利用 Fas/FasL 系统介导的细胞凋亡作用, 清除体内的病毒感染细胞、异体移植体、衰老的单核细胞、中性粒细胞以及部分激活的 T、B 细胞来发挥细胞免疫、维持免疫平衡及调节免疫反应等重要作用. 在免疫豁免组织中, 由于这些组织的细胞膜上 FasL 表达, 可导致邻近的活性 T 淋巴细胞凋亡, 使这些部位免受炎症侵害, 从而起到免疫豁免作用. 由此可见, 通过 Fas/FasL 系统介导 Fas 阳性的细胞凋亡不仅可由活性 T 细胞引起, 而且表达 FasL 的细胞同样可以引起 Fas 阳性的活性 T 细胞凋亡, 以达到免疫下调作用. 研究发现, 许多恶性肿瘤细胞膜上 Fas 表达明显下调, 而 FasL 表达增高<sup>[5]</sup>, 这与免疫豁免组织中表现一致, 认为这些恶性肿瘤在机体内类似于免疫豁免组织, 使机体对肿瘤的免疫作用下调, 从

而逃避了机体对肿瘤细胞的免疫清除. 亦有学者认为在肿瘤的免疫逃避过程中起关键性作用的是 FasL 表达增高而不是 Fas 表达下调<sup>[2, 5]</sup>.

胃癌细胞株 SGC7901 是国内学者利用国人胃癌组织自行建株的细胞系, 也是国内研究胃癌病因及治疗中最常用的人胃腺癌细胞株<sup>[6]</sup>, 确定其有无 Fas 和 FasL 的基因转录和蛋白的表达, 将对利用 Fas 和 FasL 基因进行胃癌的治疗等相关研究提供极大帮助. Li *et al*<sup>[7]</sup> 研究发现, Fas 蛋白在胃癌组织中的表达为 19.0%, 在正常胃黏膜中为 64.2%; FasL 蛋白在胃癌组织中的表达为 63.8%, 在正常胃黏膜中为 45.3%. 我们通过 RT-PCR 和免疫细胞化学染色对 SGC7901 细胞株中 Fas 和 FasL 基因表达情况进行了检测, 发现此种细胞株均存在 Fas 和 FasL 基因的 mRNA 转录及较强的蛋白表达, 结果与 Li *et al* 的结果相符. 本研究不仅为以后科研人员利用这种胃癌细胞株进行 Fas 和 FasL 基因的相关研究提供了极大的方便, 同时也提示中国人胃腺癌细胞也存在 Fas 和 FasL 基因的表达, 且 FasL 的表达明显高于 Fas 的表达. 提示在胃癌的发生、发展过程中存在免疫逃逸机制, 上调 Fas 的表达或阻断 FasL 的表达, 将有助于对胃癌的治疗.

### 4 参考文献

- Martin JH, Potthoff A, Ledig S, Cornberg M, Jandl O, Manns MP, Kubicka S, Flemming P, Athmann C, Beil W, Wagner S. Effect of *H pylori* on the expression of TRAIL, FasL and their receptor subtypes in human gastric epithelial cells and their role in apoptosis. *Helicobacter* 2004;9:371-386
- Hahne M, Rimoldi D, Schroter M, Romero P, Schreier M, French LE, Schneider P, Bornand T, Fontana A, Lienard D, Cerottini J, Tschoop J. Melanoma cell expression of Fas(Apo-1/CD95) ligand: implications for tumor immune escape. *Science* 1996; 274:1363-1366
- Medvedev AE, Johnsen AC, Haux J, Steinkjer B, Egeberg K, Lynch DH, Sundan A, Espevik T. Regulation of Fas and Fas ligand expression in NK cell by cytokine and the involvement of Fas-ligand in NK/LAK cell-mediated cytotoxicity. *Cytokine* 1997;9:394-404
- Dechant MJ, Fellenberg J, Scheuerpflug CG, Ewerbeck V, Debatin KM. Mutation analysis of the apoptotic "death-receptors" and the adaptors TRADD and FADD/MORT-1 in osteosarcoma tumor samples and osteosarcoma cell lines. *Int J Cancer* 2004;109:661-667
- Cui H, Sherr DH, el-Khatib M, Matsui K, Panka DJ, Marshak-Rothstein A, Ju ST. Regulation of T-cell death genes: selective inhibition of FasL but not Fas mediated function. *Cell Immunol* 1996;167:276-284
- 富志民, 刘亚伦, 唐国基. 人体胃癌细胞株 SGC7901 培养及其特性. *肿瘤临床* 1984;3:57-60
- Li Z, Wang Z, Zhao Z, Zhang Y, Ke Y. Expression of Fas, FasL and IFN-gamma in gastric cancer. *Beijing Daxue Xuebao* 2003; 35:386-389

## HSP90 $\alpha$ 蛋白在人结肠癌中的表达

李海军, 戴洁, 张林西, 金春亭, 李玉珍

李海军, 张林西, 金春亭, 李玉珍, 河北北方学院病理学教研室 河北省张家口市 075029  
戴洁, 首都医科大学教务处 北京市 100054  
河北省科技攻关计划项目, No. 00276162D  
河北省自然科学基金课题, No. 301427  
项目负责人: 戴洁, 100054, 北京右安门外西头条 10号, 首都医科大学教务处, sydaijie@cpums.edu.cn  
电话: 010-63051169  
收稿日期: 2004-11-09 接受日期: 2004-11-25

### 摘要

**目的:** 探讨 HSP90 $\alpha$  在我国结肠癌中的表达特点, 为应用 HSP90 $\alpha$  抑制剂治疗结肠癌提供依据。

**方法:** 应用免疫组化 SP 方法对 88 例人结肠癌组织中 HSP90 $\alpha$  的表达进行检测。

**结果:** HSP90 $\alpha$  在结肠癌细胞质表达, 胞质被染成深浅不一的棕黄色。HSP90 $\alpha$  表达在不同 Dukes 分期阳性率差异显著 ( $P < 0.01$ )。其在 Dukes B 期及 C 期的阳性率分别为 47.17%、80.0%。HSP90 $\alpha$  表达分别与患者性别、年龄、癌发部位、癌细胞分化程度及浸润深度等无显著相关性 ( $P > 0.05$ )。

**结论:** HSP90 $\alpha$  的表达与结肠癌的浸润进展密切相关, HSP90 $\alpha$  抑制剂可用于结肠癌的辅助治疗。

李海军, 戴洁, 张林西, 金春亭, 李玉珍. HSP90 $\alpha$  蛋白在人结肠癌中的表达. 世界华人消化杂志 2005;13(4):567-569  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/567.asp>

### 0 引言

结肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 其发生机制目前仍不清楚。随着对结肠癌研究的深入, 目前已发现多种基因表达异常与其形成有密切关系, 可能是多种基因突变的结果。近年来, 热休克蛋白 (heat shock protein, HSP) 与肿瘤的关系是研究的热点之一。已有研究表明, HSP90 $\alpha$  表达异常与消化道系统恶性肿瘤<sup>[1-4]</sup>、肺癌<sup>[5-6]</sup>及乳腺癌<sup>[7-9]</sup>等有关。而较少有对结肠癌中 HSP90 $\alpha$  表达状况的研究。我们应用免疫组化 SP 方法对 88 例结肠癌组织中 HSP90 $\alpha$  的表达进行检测, 探讨其与临床病理特征的关系, 为结肠癌的临床治疗及深入研究提供重要资料。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集河北北方学院附属第一医院 1999-06/2003-07 间结肠癌手术切除标本 88 例。其中男性 54 例, 女性 34 例, 平均年龄 54.8 岁。≥ 60 岁 51 例, < 60 岁 37 例。左半结肠癌 63 例, 右半结肠癌 25 例。高分化腺癌 41 例, 中分化腺癌 36 例, 低分化腺癌 11 例。浅肌层 8 例, 深肌

层 34 例, 浆膜层 46 例。Dukes A 期 0 例, B 期 53 例, C 期 35 例。所有病例均无同时患其他恶性肿瘤。患者手术前均未经放疗或化疗。HSP90 $\alpha$  抗体为兔抗人多克隆抗体, 美国 Santa Cruz 公司产品。SP 免疫组织化学染色试剂盒及 DAB 显色剂购自北京中山生物技术有限公司。

**1.2 方法** 手术切除结肠癌标本及时取材, 常规切取癌组织, 同时对区域淋巴结进行取材。标本经 40 g/L 中性甲醛溶液固定, 梯度酒精脱水、石蜡包埋, 每个检测蜡块进行连续切片 6-8 张, 厚度为 5  $\mu$ m。每例取一张做 HE 染色常规病理组织检查, 进行病理学诊断及分类, 剩余行免疫组化染色。切片用医用微波炉进行抗原修复, 按说明书进行免疫组化染色, DAB 显色, 苏木素复染, 常规脱水、透明及中性树胶封片。每批实验均设有已知阳性切片对照及 PBS 替代 I 抗的阴性对照。阳性对照片充分显色后终止显色。光镜下观察, 细胞质被染成大小不等、深浅不一的棕黄色颗粒的为阳性细胞。癌组织间质不着色。每张切片随机观察 6-8 个高倍视野, 阳性细胞数超过 5% 时即确定为染色阳性病例。染色结果判定参照 1996 年全国免疫组织化学技术与诊断标准化专题研讨会意见, 将染色结果分为: 阴性 (-), < 5% 的细胞着色; 弱阳性 (+), 细胞质或膜内有 5-24% 的细胞着色, 为浅黄色颗粒; 阳性 (++) , 25-50% 的细胞着色, 为黄色颗粒; 强阳性 (+++) , > 50% 的细胞着色, 为棕黄色颗粒。

**统计学处理** 实验资料应用 SPSS10.0 统计软件进行统计分析, HSP90 $\alpha$  阳性率的比较采用  $\chi^2$  检验,  $P < 0.05$  认为差异具有显著性。

### 2 结果

HSP90 $\alpha$  蛋白在结肠癌中的表达主要表现为癌细胞胞质呈棕黄色颗粒状 (图 1), 其表达的阳性率为 60.23% (53/88)。HSP90 $\alpha$  阳性表达分别与患者性别、年龄、癌发部位、分化程度及浸润深度无显著相关性 ( $P > 0.05$ )。但是其表达随浸润深度的增加有逐渐增高趋势。HSP90 $\alpha$  的表达与 Dukes 分期有关 (表 1)。HSP90 $\alpha$  在 Dukes B 期阳性率为 47.17%; Dukes C 期的阳性率为 80%, 组间差异具有显著性 ( $P < 0.01$ )。

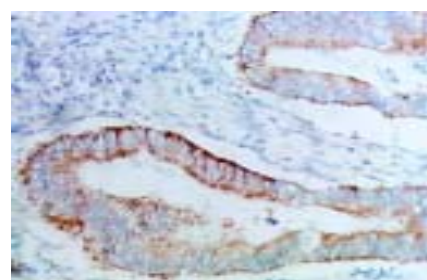


图 1 HSP90 $\alpha$  蛋白在结肠癌中的表达 (++++)。

表1 HSP90 $\alpha$  蛋白在结肠癌中的表达

临床病理特征		n	HSP90 $\alpha$ 表达	
			阳性例数(%)	P
性别	男	54	32(59.26)	0.815
	女	34	21(61.76)	
年龄	$\geq 60$	51	33(64.71)	0.314
	$<60$	37	20(54.05)	
部位	左半结肠	63	39(61.90)	0.610
	右半结肠	25	14(56.00)	
分化程度	高分化	41	25(60.98)	0.590
	中分化	36	20(55.56)	
	低分化	11	8(72.73)	
浸润深度	浅肌层	8	3(37.50)	0.328
	深肌层	34	20(58.82)	
	浆膜层	46	30(65.22)	
Dukes 分期	A	0	0	0.002
	B	53	25(47.17)	
	C	35	28(80.00)	

### 3 讨论

热休克蛋白(heat shock protein, HSP)是指细胞在应激原特别是环境高温诱导下所生成的一组高度保守性蛋白质,这一现象被称为热休克应答(heat shock response, HSR). HSP 的生成是普遍存在于从细菌直至人类的整个生物界的一种现象. 一般根据其同源程度以及分子量的大小可分为HSP110、HSP90、HSP70、HSP60、小分子HSP及泛素等几个家族. HSP 在进化过程中具有高度保守性,说明他们具有普遍存在的重要生理功能. 其主要是通过应在激状态下生成保护细胞生命活动必需的蛋白质以维持细胞的生存. HSP 通常与具有不同功能的多种蛋白质在细胞中形成复合体,并通过复合体的形成或者解离而参与有关蛋白的折叠、亚基的组成、细胞内运输以及蛋白质降解等过程,以调节靶蛋白的活性和功能,但又不参与靶蛋白的组成. 因此, HSP 又被认为是一种“分子伴侣(molecular chaperone)”或“伴侣蛋白”<sup>[10]</sup>.

近年研究发现, HSP 与肿瘤的发生、发展以及肿瘤患者的预后等都有密切关系. 但不同家族的HSP及同一家族内HSP的不同成员在肿瘤发生中各自所起的作用尚有待进一步研究. 目前,在众多HSP中对HSP70研究较多. 一些学者报道<sup>[11-12]</sup>, HSP70在一些肿瘤组织中表达增加. 但关于HSP90与肿瘤的关系特别是与结肠癌的关系的研究报道较少. HSP90 以是否含有丰富的谷氨酰胺片段而分为HSP90 $\alpha$ 和HSP90 $\beta$ 两类. HSP90 多以 $\alpha$ - $\alpha$ 和 $\beta$ - $\beta$ 同源二聚体形式存在. 在胰腺癌中, HSP90 $\alpha$ 呈选择性高表达<sup>[3]</sup>. 在本研究中,我们应用免疫组化方法,对HSP90 $\alpha$ 在结肠癌细胞中的表达进行了研究. HSP90 $\alpha$ 在结肠癌组织中表达的阳性率为60.23%(53/88),提示其可能与结肠癌的形成及发展有关.

HSP90 $\alpha$  可通过调节细胞周期而促进细胞增生<sup>[12-13]</sup>. 本研究中, HSP90 $\alpha$ 在结肠癌组织中的表达分别与患者性别、年龄、癌的发生部位、分化程度及浸润深度无显著相关性( $P>0.05$ ). 但HSP90 $\alpha$ 的表达随癌细胞浸润深度的增加阳性率有增高趋势. 我们还发现, HSP90 $\alpha$ 表达与Dukes分期密切相关. 随Dukes分期的增高, HSP90 $\alpha$ 表达阳性率明显增高. Dukes B期为47.17%, Dukes C期为80%. 说明结肠癌的浸润进展及转移与HSP90 $\alpha$ 表达显著相关. HSP90 $\alpha$ 表达阳性率愈高,患者病期可能愈晚,可能已经发生了淋巴结转移,提示患者预后较差. 有研究认为<sup>[11, 13-14]</sup>, HSP可能是判断患者预后的标志物. HSP90在乳腺癌中高表达往往预示着预后较差<sup>[12]</sup>.

研究发现, HSP90 $\alpha$ 可能是新的抗癌药物治疗恶性肿瘤的新的分子靶点<sup>[15-17]</sup>. 目前, HSP90抑制剂如17AAG已经进入I期临床试验<sup>[17-18]</sup>, 针对HSP90分子靶点的对不同肿瘤的研究正在进行中<sup>[19-22]</sup>. 不久的将来HSP90抑制剂用来治疗结肠癌等恶性肿瘤将成为现实. 因此,对恶性肿瘤中HSP90表达水平的检测就显得尤为重要.

总之,机体在应答各种环境压力刺激时所产生的HSP对机体具有保护作用. HSP90 $\alpha$ 与肿瘤的关系尤其是在结肠癌的发生、预后评估和抗肿瘤治疗等方面的具体作用及机制有待更深入的研究.

### 4 参考文献

- Liu XL, Xiao B, Yu ZC, Guo JC, Zhao QC, Xu L, Shi YQ, Fan DM. Down-regulation of Hsp90 could change cell cycle distribution and increase drug sensitivity of tumor cells. *World J Gastroenterol* 1999;5:199-208
- Zuo DS, Dai J, Bo AH, Fan J, Xiao XY. Significance of expression of heat shock protein90alpha in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:2616-2618
- Ogata M, Naito Z, Tanaka S, Moriyama Y, Asano G. Overexpression and localization of heat shock proteins mRNA in pancreatic carcinoma. *J Nippon Med Sch* 2000;67:177-185
- Schueller G, Paolini P, Friedl J, Stift A, Dubsky P, Bachleitner-Hofmann T, Jakesz R, Gnant M. Heat treatment of hepatocellular carcinoma cells: increased levels of heat shock proteins 70 and 90 correlate with cellular necrosis. *Anticancer Res* 2001; 21:295-300
- Zhong L, Peng X, Hidalgo GE, Doherty DE, Stromberg AJ, Hirschowitz EA. Antibodies to HSP70 and HSP90 in serum in non-small cell lung cancer patients. *Cancer Detect Prev* 2003; 27:285-290
- Luo LY, Herrera I, Soosaipillai A, Diamandis EP. Identification of heat shock protein 90 and other proteins as tumour antigens by serological screening of an ovarian carcinoma expression library. *Br J Cancer* 2002;87:339-343
- Beliakoff J, Whitesell L. Hsp90: an emerging target for breast cancer therapy. *Anticancer Drugs* 2004;15:651-662
- Beliakoff J, Bagatell R, Paine-Murrieta G, Taylor CW, Lykkesfeldt AE, Whitesell L. Hormone-refractory breast cancer remains sensitive to the antitumor activity of heat shock protein 90 inhibitors. *Clin Cancer Res* 2003;9:4961-4971
- Solit DB, Basso AD, Olshen AB, Scher HI, Rosen N. Inhibition of heat shock protein 90 function down-regulates Akt kinase and sensitizes tumors to Taxol. *Cancer Res* 2003;63:2139-2144
- Gething MJ, Sambrook J. Protein folding in the cell. *Nature* 1992;355:33-45
- Lazaris AC, Theodoropoulos GE, Davaris PS, Panoussopoulos

- D, Nakopoulou L, Kittas C, Golematis BC. Heat shock protein 70 and HLA-DR molecules tissue expression. Prognostic implications in colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1995;38:739-745
- 12 Yano M, Naito Z, Tanaka S, Asano G. Expression and roles of heat shock proteins in human breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1996;87:908-915
- 13 Ciocca DR, Clark GM, Tandon AK, Fuqua SA, Welch WJ, McGuire WL. Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J Natl Cancer Inst* 1993;85:570-574
- 14 Hettinga JV, Lemstra W, Meijer C, Los G, de Vries EG, Konings AW, Kampinga HH. Heat-shock protein expression in cisplatin-sensitive and -resistant human tumor cells. *Int J Cancer* 1996;67:800-807
- 15 Solit DB, Scher HI, Rosen N. Hsp90 as a therapeutic target in prostate cancer. *Semin Oncol* 2003;30:709-716
- 16 Banerji U, Judson I, Workman P. The clinical applications of heat shock protein inhibitors in cancer - present and future. *Curr Cancer Drug Targets* 2003;3:385-390
- 17 Kamal A, Thao L, Sensintaffar J, Zhang L, Boehm MF, Fritz LC, Burrows FJ. A high-affinity conformation of Hsp90 confers tumour selectivity on Hsp90 inhibitors. *Nature* 2003;425:407-410
- 18 Burger AM, Fiebig HH, Stinson SF, Sausville EA. 17-(Allylamino)-17-demethoxygeldanamycin activity in human melanoma models. *Anticancer Drugs* 2004;15:377-387
- 19 Vasilevskaya IA, Rakitina TV, O'Dwyer PJ. Quantitative effects on c-Jun N-terminal protein kinase signaling determine synergistic interaction of cisplatin and 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin in colon cancer cell lines. *Mol Pharmacol* 2004;65:235-243
- 20 Braga-Basaria M, Hardy E, Gottfried R, Burman KD, Saji M, Ringel MD. 17-Allylamino-17-demethoxygeldanamycin activity against thyroid cancer cell lines correlates with heat shock protein 90 levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:2982-2988
- 21 Bisht KS, Bradbury CM, Mattson D, Kaushal A, Sowers A, Markovina S, Ortiz KL, Sieck LK, Isaacs JS, Brechbiel MW, Mitchell JB, Neckers LM, Gius D. Geldanamycin and 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin potentiate the in vitro and in vivo radiation response of cervical tumor cells via the heat shock protein 90-mediated intracellular signaling and cytotoxicity. *Cancer Res* 2003;63:8984-8995
- 22 Enmon R, Yang WH, Ballangrud AM, Solit DB, Heller G, Rosen N, Scher HI, Sgouros G. Combination treatment with 17-N-allylamino-17-demethoxy geldanamycin and acute irradiation produces supra-additive growth suppression in human prostate carcinoma spheroids. *Cancer Res* 2003;63:8393-8399

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## 2005北京协和国际消化疾病论坛征文通知

本刊讯 “北京协和国际消化疾病论坛”由北京协和医院主办，中华医学会北京分会、中华医学会继续教育部、中国医学论坛报、《中国卫生人才》、中国全科医学杂志社协办，现定于2005-10-20/2005-10-23在北京召开。会议将邀请国内外众多此领域具有较深造诣的知名专家参会作专题报告及内镜操作表演。国家继续教育委员会将授予与会人员I类继续教育学分8分。论坛期间还将举办药品及器械展览活动。

### 1 会议具体安排

地点：中国·北京京都信苑饭店（五星级）（暂定）。会务费：2005-08-15前付费¥800元；2005-08-15后（含）付费¥900元。付款方式：Bank Remittance（汇款），开户行：中国建设银行北京广安门直航，户名：北京世纪安德广告有限公司，账号：11001042200053000033。地址：北京市丰台区方城园一区17号楼A座1603室（组委会），邮编：100078。电话：010-58075131、58075132、58075088、58075099，传真：010-58075138，电子信箱：puidd@163.com。请在汇款时务必表明款项的用途为：2005北京协和国际消化疾病论坛会务费，2005北京协和国际消化疾病论坛秘书处 2005-1。

### 2 会议议题

会议的议题包括：（1）消化系统疾病的发病机制、诊断和治疗的研究进展；（2）消化系统肿瘤的发病机制、治疗及预防的进展；（3）消化系统内镜的应用现状及操作表演；（4）肝病及肝癌的研究进展；（5）消化系统疾病的外科治疗及研究现状。

### 3 其他事项

截稿日期：2005-07-15。大会秘书处联系人：李景南，北京协和医院消化内科 100730。电话：010-65295017，电子信箱：ljndr@yahoo.com。大会组委会联系人：王双、白雪。

## 中药方剂治疗早期急性重症胰腺炎68例

张顺, 申杰, 相亭海, 邱发波, 郭卫东, 张斌, 吴力群

张顺, 申杰, 相亭海, 邱发波, 郭卫东, 张斌, 吴力群, 青岛大学医学院附属医院肝胆外科 山东省青岛市 266003  
 项目负责人: 张顺, 266003, 山东省青岛市市南区江苏路19号, 青岛大学医学院附属医院, zhangshun@medmail.com.cn  
 电话: 0532-2911369  
 收稿日期: 2004-10-15 接受日期: 2004-11-04

### 摘要

**目的:** 探讨中药方剂在急性重症胰腺炎早期应用的临床治疗效果。

**方法:** 急性重症胰腺炎120例, 分为单纯非手术治疗组(对照组)和加用中药方剂治疗组(治疗组)。回顾性分析两组治疗后腹痛、腹胀、排便排气、生化指标的变化; 并发症发生率、死亡率、治愈率; 住院天数。

**结果:** 治疗组腹痛、腹胀消失快; 排便排气恢复快, 与对照组比较有显著性差异( $P < 0.01$ ); 治疗组生化指标的恢复时间缩短( $P < 0.01$ ); 缩短住院时间, 与对照组比较有显著性差异( $P < 0.01$ ); 并发症发生率和死亡率无差异。

**结论:** 中药方剂在急性重症胰腺炎早期有效。

张顺, 申杰, 相亭海, 邱发波, 郭卫东, 张斌, 吴力群. 中药方剂治疗早期急性重症胰腺炎68例. 世界华人消化杂志 2005;13(4):570-571  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/570.asp>

### 0 引言

急性重症胰腺炎(severe acute pancreatitis SAP)是普外科临床常见的急腹症, 其并发症多, 死亡率高, 疗程长, 费用高。随着对其发病机制的逐步深入了解, 近几年临床采用了个体化治疗方案, 使急性重症胰腺炎的疗效有了显著提高。现将我科近10 a用中药方剂对急性重症胰腺炎的个体化治疗效果总结如下。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 1993-2003年急性重症胰腺炎住院采用非手术治疗患者120例, 男75例, 女44例; 年龄25-76岁(平均为53.3)岁。根据患者入院时是否加用中药方剂, 将患者分为非手术治疗组52例(对照组); 加用中药方剂治疗组68例(治疗组)。中药方剂主由大黄9克、芒硝15克、厚朴30克、丹皮9克、柴胡15克、黄芪9克、姜半夏9克、竹茹9克、乌贼骨30克组成。每方剂取药液约200 mL, 冷却至温热备用。

**1.2 方法** 对照组严密监护下采用: (1) 禁食、胃肠减压; (2) 补充血容量、纠正水电解质酸碱平衡紊乱; (3) 抑制胰液分泌, 应用生长抑素; (4) 静脉应用抗生素预防感染;

(5) 外科营养支持治疗; (6) 胰外器官损伤的对症治疗, 如纠正低氧血症、保护肾功能等。治疗组在应用上述治疗方法同时, 给中药方剂100-200 mL经胃管中注入或口服。注药后监听肠鸣音变化, 肠鸣音变弱过程中, 随时注入中药方剂100-200 mL, 维持肠鸣音, 直至患者排便排气。观察两组患者临床腹痛、腹胀缓解时间; 恢复排便排气时间; 住院天数; 血、尿淀粉酶, 白细胞计数及乳酸脱氢酶恢复时间; 治愈率; 并发症发生率、死亡率。

**统计学处理** 计量资料以均值  $\text{mean} \pm \text{SD}$  表示, 经分析两组中的腹痛, 腹胀, 恢复排气排便, 住院天数及血淀粉酶等数据方差不齐且非正态分布, 采用秩和检验; 尿淀粉酶, 白细胞计数及乳酸脱氢酶等数据呈正态分布且方差齐, 采用  $t$  检验; 对治愈率、并发症及死亡的比较采用  $\chi^2$  检验。统计分析在 SPSS 10.0 软件进行,  $P < 0.05$  为有统计学显著性差异。

### 2 结果

治疗组与对照组相比较, 腹痛、腹胀时间, 恢复排气排便时间能明显缩短, 缩短住院时间, 能快速改善症状, 均有显著的统计学意义(表1)。血清乳酸脱氢酶(LDH)、血、尿淀粉酶, 白细胞计数显著改善, 均有显著的统计学意义(表2)。

治疗组的68例中有52例治愈, 治愈率为76.5%, 显著高于对照组的57.7%。并发症发生率的差别则无显著性(13/68 vs 17/52,  $\chi^2$  检验)。治疗组中13例并发症包括: 胰腺假性囊肿6例, ARDS 2例, 胰性脑病1例, 胰周脓肿4例; 对照组中17例并发症包括: 胰腺假性囊肿11例, ARDS 1例, 胰性脑病2例, 胰周脓肿3例。

表1 两组急性重症胰腺炎患者临床症状缓解天数比较(mean  $\pm$  SD)

组别	例数(n)	腹痛	腹胀	恢复排气排便	住院天数
治疗组	68	3.7 $\pm$ 2.6	4.1 $\pm$ 2.4	3.3 $\pm$ 1.7	18.1 $\pm$ 4.8
对照组	52	5.8 $\pm$ 4.0	5.2 $\pm$ 3.2	4.9 $\pm$ 2.5	22.2 $\pm$ 9.1

$P < 0.01$ , 治疗组 vs 对照组。

表2 两组急性胰腺炎患者临床检验指标的恢复天数比较(mean  $\pm$  SD)

组别	例数(n)	血淀粉酶	尿淀粉酶	白细胞计数	乳酸脱氢酶
治疗组	68	4.9 $\pm$ 2.4	6.4 $\pm$ 2.3	6.3 $\pm$ 2.1	4.8 $\pm$ 1.8
对照组	52	6.7 $\pm$ 2.5	8.4 $\pm$ 2.7	9.5 $\pm$ 2.1	7.2 $\pm$ 3.4

$P < 0.01$ , 治疗组 vs 对照组。

### 3 讨论

我们在急性胰腺炎患者入院后立即以临床表现, RANSON 指标和腹部CT评估, 符合重症胰腺炎, 排除胆石引起的急性梗阻性化脓性胆管炎后, 即刻采用非手术治疗, 治疗组加用SS-1中药方剂(胃管注入或口服), 刺激肠鸣音出现并维持至排便排气. 我们观察到患者排便排气后, 腹痛、腹胀明显缓解好转, 全身情况好转; 临床相关实验室指标逐渐恢复正常; 与对照组比较, 治愈率有明显的差异, 但并发症和死亡发生率则无明显差异, 可能有两方面的原因: (1)所观察的并发症和死亡病例数较少有关; (2)急性重症胰腺炎一旦发生多器官功能衰竭, 任何治疗方法疗效都差. 中药方剂在非手术综合治疗的前提下, 对急性重症胰腺炎的疗效显著优于对照组, 其机制有以下几个方面: 中药方剂中的大黄、芒硝等能通过刺激胃肠道黏膜和肌层间的局部神经-内分泌网络恢复肠道平滑肌的运动. 大黄素能与平滑肌肌球蛋白结合而表现胆碱能的作用, 他能抑制ATP酶的活性, 抑制 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 从肠腔转运至细胞, 使水分滞留在肠腔, 从而刺激肠道, 使其推进性蠕动增加而利于排便<sup>[1]</sup>. 我们观察到重症胰腺炎患者腹胀明显、肠鸣音减弱或消失, 证明胃肠道处于麻痹状态下. 经胃管注入中药方剂后即能听到肠鸣音, 一段时间后消失. 继续注入中药方剂肠鸣音仍能恢复; 如持续间断注入可维持肠鸣音持续存在直至出现排便排气. 说明胃肠道在接触中药时出现局部平滑肌运动, 而非腹腔神经丛调控的生理性运动. 胃肠运动的出现和排便排气的恢复, 能多方面改善局部和全身的病理生理变化: 改善胃肠道麻痹性梗阻, 降低胃肠道内压, 进而预防腹腔高压或腹腔间隔综合征的发生, 预防并改善呼吸功能不全、肾脏缺血; 增加回心血容量<sup>[2]</sup>; 排便排气能将肠道内大量富含细胞因子和炎性递质的液体排出体外, 减少吸收, 能预防和减轻全身炎症反应综合征的发生; 肠道内压和腹腔内压降低, 能改善肠壁血运, 纠正氧代谢障碍, 防治肠壁淤血水肿, 维持肠黏膜屏障完整, 防止细菌易位和内毒素吸收. 动物急性重症胰腺炎模型上发现, 发病后72 h内在门、腔静脉血和大小肠系膜淋巴结, 肺胰组织等部位找到大量易位细菌. 考虑为肠源性细菌易位<sup>[3]</sup>. 实验证实肠道膜菌群紊乱, 肠杆菌计数明显增多, 而双歧杆菌和乳酸杆菌明显

减少<sup>[4]</sup>. 肠黏膜的组织结构, 发现肠黏膜细胞间紧密连接开放, 通透性增加; 肠黏膜上皮细胞凋亡增加; 黏膜内pH值降低, 导致肠黏膜屏障破坏<sup>[5-7]</sup>. 上述菌群失调和黏膜完整性的破坏导致了重症急性胰腺炎的细菌易位和内毒素血症. 肠道内富含有害细胞因子液体的排出, 减少了对肠道黏膜层中肥大细胞的刺激和激活, 减少了大量细胞因子的释放<sup>[8]</sup>. 现代药理研究表明, 大黄所含的大黄素、大黄酸和芦荟大黄素等具有广谱抗菌的作用<sup>[9]</sup>. 中药方剂经局部神经-内分泌肠运动到达结肠, 抑制致病菌过度生长和产生内毒素, 恢复正常肠道内菌群, 同时大黄还能维持肠黏膜屏障<sup>[10]</sup>. 大黄素等药物能降低血液的浓聚黏稠状态; 可能通过抑制二十碳烯酸类异常代谢, 降低血小板活化因子(PAF)、血栓素A<sub>2</sub>(TXA<sub>2</sub>)、前列腺素I<sub>2</sub>(PGI<sub>2</sub>)、内皮素(ET)的血浓度, 改善胰腺微循环<sup>[11]</sup>. 在大鼠急性胰腺炎模型上观察到大黄素治疗后损伤的胰腺细胞中凋亡调控基因Bax mRNA显著升高, 诱导胰腺细胞凋亡, 减轻胰腺组织的炎症反应, 使胰腺组织形态基本恢复正常<sup>[12]</sup>.

### 4 参考文献

- 1 杨纯正. 大黄的生物活性及其有效成分. 国外医学. 中医中药分册 1986;8:27-30
- 2 Gecelter G, Fahoum B, Gardezi S, Schein M. Abdominal compartment syndrome in severe acute pancreatitis: an indication for a decompressing laparotomy. *Dig Surg* 2002;19:402-405
- 3 屠伟峰, 黎介寿, 朱维铭, 李珍大, 邵海峰, 肖光夏, 黎鳌. 猪急性重症胰腺炎与肠源性细菌/内毒素易位. 中国胃肠外科杂志 1998;1:22-25
- 4 葛萍, 卓越, 武荣国, 韩桂华, 郭公新, 孔心涓, 孙钰清. 急性重症胰腺炎肠道菌群变化研究. 黑龙江医药科学 1999;22:23
- 5 尚占民, 王宝恩, 张淑文. 急性重症胰腺炎大鼠肠黏膜超微结构的改变. 中国急救医学 2001;21:445-447
- 6 尚占民, 王宝恩, 张淑文. 急性重症胰腺炎大鼠肠黏膜内pH及氧代谢的改变. 中国危重病急救医学 2001;13:226-228
- 7 尚占民, 王宝恩, 张淑文. 细胞凋亡在急性重症胰腺炎肠道黏膜屏障功能障碍中的意义. 中国危重病急救医学 2000;12:394-396
- 8 张敏敏, 李兆申. 肥大细胞在急性胰腺炎发病过程的作用. 国外医学·消化系疾病分册 2003;23:300-302
- 9 曾庆良, 谢义明, 邹焰. 中西医结合“攻下”与手术治疗急性重症胰腺炎40例临床分析. 遵义医学院学报 1996;19:74-76
- 10 王海波, 关凤林. 清胰汤防治急性重症胰腺炎大鼠结肠黏膜损害实验研究. 中华中西医杂志 2002;3:1358-1359
- 11 吴建新, 徐家裕, 袁耀宗. 大黄素与善得定对重症胰腺炎缺血的影响及机制. 中国中西医结合杂志 1997;17:356-359
- 12 潘亮, 袁耀宗, 章永平, 乔敏敏, 翟祖康. 大黄素诱导急性胰腺炎胰腺细胞凋亡机制的实验研究. 胰腺病学 2002;2:214-217

编辑 潘伯荣 审读 张海宁