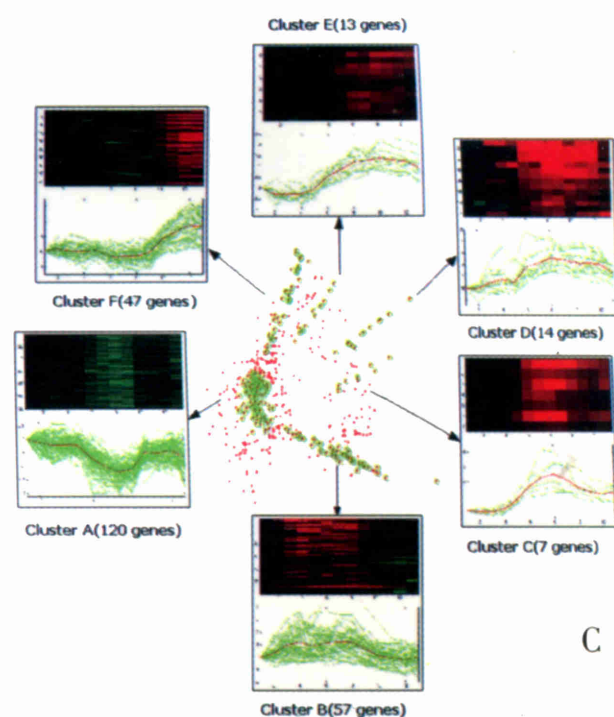
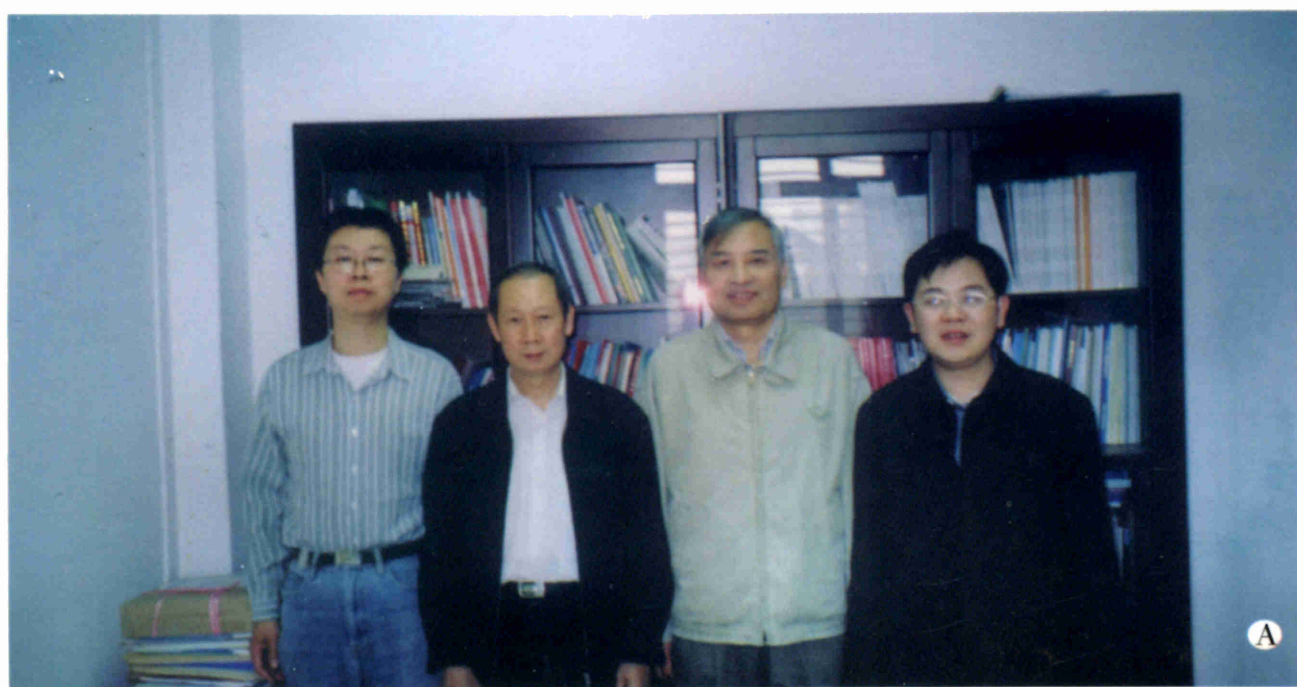


世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 10 月 15 日 第 11 卷 第 10 期 (Volume 11 Number 10)



10/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●		2003 年 10 月 15 日 第 11 卷 第 10 期 (总第 114 期)
述 评	1465 复杂性疾病生物信息学研究的策略与方法 李梢, 张学工, 季梁, 李衍达	
幽门螺杆菌	1470 幽门螺杆菌黏附素基因 babA ₂ 的克隆、序列测定及其生物信息学分析 白杨, 黄文, 王继德, 张兆山, 周殿元, 张亚历	
	1475 幽门螺杆菌 HspA 与大肠杆菌 LTB 基因融合及表达 郭红, 邹全明, 赵晓晏, 吴超	
	1480 人幽门螺杆菌热休克蛋白 A 编码基因的克隆、表达及抗原性研究 姜政, 蒲丹, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙	
	1485 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的分子基础 郝庆, 李岩, 高红, 张显忠	
基础研究	1488 氧化苦参碱对四氯化碳诱导的大鼠肝纤维化 I, III, IV 型胶原表达的影响 陆伦根, 曾民德, 茅益民, 李继强, 邱德凯, 杨文卓, 贾一韬, 曹爱平	
	1492 粉防己碱、大黄与潘生丁抗肝纤维化作用比较 王如涛, 陈颖伟, 卫新革, 徐芹芳, 李定国	
	1497 珍珠梅水提物对大鼠肝损伤的保护作用 张学武, 朴龙, 刘超, 孙权, 金海玲, 尹宗柱	
	1500 乙型肝炎病毒 S 基因系列单突变克隆人工构建 余祖江, 杨东亮, 张俊, 郝友华, 王宝菊, 郝连杰	
	1505 急性胰腺炎大鼠肝脏 NF- κ B 对 ICAM-1 表达的调控及其意义 石力, 田伏洲, 黄大熔, 李旭, 赵碧, 顾大勇, 唐旭东, 王雨	
	1508 丁酸钠对结肠癌细胞株 HT-29 组织蛋白酶 D 表达水平的影响 李曦, 罗和生, 李凡	
	1511 国人青年结直肠癌解剖部位分布及临床病理特点 谢正勇, 卿三华	
	1515 慢性乙型肝炎病毒清除自杀基因平衡制约载体系统的构建 阙全程, 余祖江, 雷延昌, 杨东亮, 郝连杰	
	1520 人工构建含丙型肝炎病毒核糖体插入位点的双顺反子表达载体 阙全程, 余祖江, 雷延昌, 杨东亮, 郝连杰	
	1524 溃疡性结肠炎患者肠黏膜 Th1/Th2 类细胞因子 m-RNA 的表达 崔海宏, 陈村龙, 杨玉捷, 张祚建, 张耀东, 崔耀升	
临床研究	1528 自膨胀金属支架治疗晚期食管癌吞咽困难 26 例 张朋彬, 赵晓晏, 李宜辉, 达四平	
	1531 胃癌组织 CD ₄₄ v9 和 MMP-2 基因的表达 张翠萍, 田宇彬, 赵清喜, 武军, 梁永信	
	1535 奥沙利铂综合治疗胃癌的疗效及机制 林万隆, 李定国, 陈强, 陆汉民, 马小明, 孙培龙	
	1540 聚合酶链反应检测 SEN 病毒 D 型和 H 型方法的建立及初步应用 唐蔚, 彭晓谋, 张瑛, 王辉, 蒋晓玲, 周伯平	
	1544 肝病患者血清 IGF-I 和 IGF-II 的变化 邵静鸣, 俞丽芬, 张曙, 吴云林	
	1547 ERCP 对儿童胰腺炎的诊断与治疗价值 李兆申, 许国铭, 施新岗, 邹晓平, 金震东, 孙振兴	
	1550 急性胆源性胰腺炎内镜诊治疗效及安全性 王东, 李兆申, 张文俊, 潘雪, 孙振兴, 邹晓平	
	1554 胰腺癌组织 ChAT, GAD65 和 PKC 酶活性的表达 杨竹林, 王群伟, 邓星辉, 李代强, 吕芳, 李永国	
	1558 国人胆囊结石的形态结构特征 吴杰, 杨海珉, 李静仪, 宋一德, 刘刚	
	1563 结核性腹膜炎与恶性腹水端粒酶活性 赵金满, 李福才, 于继红, 崔巍, 傅宝玉, 沙文阁	
科研方法	1566 山莨菪碱联用地塞米松治疗腹部外科疾病并发 MODS 临床研究的操作方案 岳茂兴	
文献综述	1569 门脉高压性肠病 尹朝晖, 刘浚阳	
	1572 肝纤维化治疗研究进展 叶方鹏, 肖冰, 张万岱	
	1576 现代肝脏局部解剖在活体部分肝移植应用的研究进展 方驰华, 朱新勇	
	1581 生长抑素类似物治疗肝细胞肝癌的抗肿瘤作用及其机制 冒海蕾, 黄介飞	
	1588 胰头部解剖在扩大胰十二指肠切除术中的应用 方驰华, 马俊勋, 钟世镇	
	1593 p53 基因在肿瘤基因治疗中的研究进展 张艳, 何凤田	
	1597 血管抑素的研究进展 陈建发, 黄宗海	
	1601 TGF β -Smad 信号转导通路与肝纤维化 吴晓玲, 曾维政, 王丕龙	
	1606 消化管发育中上皮细胞凋亡研究进展 李均, 汪维伟	
	1609 生物芯片技术及其在消化系统疾病研究中的应用 蒋业贵, 李兆申	

文献综述	1614 Wilson病的诊断和治疗 林连捷, 郑长青 1618 E- 钙粘蛋白与食管癌侵袭转移的关系 吴静, 薛群基, 刘维民, 王爱勤, 寇伟 1621 胰腺癌的光动力学治疗 丁新民, 顾瑛, 刘凡光 1624 Ets 转录因子家族在发育和肿瘤发生中作用的研究进展 张健, 高福禄, 刘芝华 1628 核因子-κB 与细胞凋亡关系的研究进展 於亮亮, 于皆平, 罗和生, 于红刚
研究快报	1632 paxillin 在胃腺癌中的表达及临床意义 田素芳, 熊永炎, 余少平, 汪必成 1634 丹参对 TGF-β1 刺激的 NIH/3T3 细胞 <i>c-fos</i> mRNA 表达和 AP1 蛋白结合活性的影响 胡旭东, 王晓玲, 童普德, 吴小江, 刘平 1636 左旋精氨酸对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用 郝悦, 周新民 1638 端粒酶在大肠癌细胞中的活性表达及临床意义 鲁明良, 林富林, 郑国宝, 姜朝晖 1640 多种因子在门脉高压大鼠结肠黏膜中的表达 尹朝晖, 刘浚阳, 黄飞舟, 黄穰浪, 任树平 1642 黄连素对 HT-29 人结肠癌细胞系 Ca ²⁺ 的抑制作用 台卫平, 罗和生 1645 DPC4 蛋白在不同病理分期的结肠肿瘤中的表达 唐朝晖, 邹声泉, 杨想平, 陈启奇 1646 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 1649 CO ₂ 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 1652 CO ₂ 气腹对大鼠胃肠肌电作用的实验研究 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿 1654 CO ₂ 气腹对胃黏膜血管活性肠肽及 P 物质含量的影响 周丁华, 卫冰, 李宁, 黎介寿
临床经验	1656 腹腔严重感染致多器官功能障碍的临床救治新对策 岳茂兴 1657 解毒固本冲剂治疗腹腔感染合并全身炎性反应综合征的临床研究 姜玉峰, 岳茂兴 1659 TIPSS 和 EVS 治疗食管静脉曲张破裂出血的临床分析 诸葛宇征, 王英德, 刘丽娜, 宫爱霞, 赵钢
消 息	1504 中国科技期刊走向世界的步伐正在加快 1568 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1571 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1580 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1613 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台 1655 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助
封面故事	1553 清华大学生物信息学研究所、生物信息学教育部重点实验室

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)

创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-10-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀
黄象谦
黄志强
黎介寿
刘耕陶
裘法祖
汤钊猷
王宝恩
危北海
吴孟超
吴咸中

社长总编辑 马连生
中文编辑 潘伯荣
王瑾晖
英文编辑 朱丽虹
排版 李少华
校对 李天华

张金哲
张学庸
赵东海
周殿元

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail: wcjd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内: 北京报刊发行局
国外: 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话: 010-85381892
传真: 010-85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(PЖ)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目次数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079	邮发代号	国外代号	国内定价	广告经营许可证
CN 14-1260/R	82-262	M 4481	每期 24.00 元 全年 288.00 元	1401004000050

www.wjgnet.com

- Tahara E. Telomerase activity in preneoplastic and neoplastic gastric and colorectal lesions. *Clinical Cancer Res* 1995;1:1245-1251
- 4 Tatsumoto N, Hiyama E, Murakami Y, Imamura Y, Shay JW, Matsuura Y, Yokoyama T. High telomerase activity is an independent prognostic indicator of poor outcome in colorectal cancer. *Clinical Cancer Res* 2000;6:2696-2701
- 5 Chadeneau C, Hay K, Hirte HW, Gallinger S, Bacchetti S. Telomerase activity associated with acquisition of malignancy in human colorectal cancer. *Cancer Res* 1995;55:2533-2536
- 6 Hastie ND, Dempster M, Dunlop MG, Thompson AM, Green DK, Allshire RC. Telomere reduction in human colorectal carcinoma and with ageing. *Nature (Lond)* 1990;346:866-868
- 7 Hiyama E, Gollahan L, Kataoka T, Kuroi K, Yokoyama T, Gazdar AF, Hiyama K, Piatyszek MA, Shay JW. Telomerase activity in human breast tumors. *J Natl Cancer Inst* 1996;88:116-122
- 8 Hiyama K, Hirai Y, Kyoizumi S, Akiyama M, Hiyama E, Piatyszek MA, Shay JW, Ishioka S, Yamakido M. Activation of telomerase in human lymphocytes and hematopoietic progenitor cells. *J Immunol* 1995;155:3711-3715
- 9 Hiyama K, Hiyama E, Ishioka S, Yamakido M, Inai K, Gazdar AF, Piatyszek MA, Shay JW. Telomerase activity in small-cell and non-small-cell lung cancers. *J Natl Cancer Inst* 1995;87:895-902
- 10 Counter CM, Hirte HW, Bacchetti S, Harley CB. Telomerase activity in human ovarian carcinoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994;91:2900-2904
- 11 Hiyama E, Hiyama K, Yokoyama T, Matsuura Y, Piatyszek MA, Shay JW. Correlating telomerase activity levels with human neuroblastoma outcomes. *J Neture Med* 1995;1:249-255
- 12 Engelhardt M, Drullinsky P, Guillem J, Moore MA. Telomerase and telomere length in the development and progression of premalignant lesions to colorectal cancer. *J Clinical Cancer Res* 1997;3:1931-1941
- 13 Ohta K, Kanamaru T, Yamamoto M, Saitoh Y. Clinical significance of telomerase activity in hepatocellular carcinoma. *Kobe J Med Sci* 1996;42:207
- 14 Rogalla P, Rohen C, Bonk U, Bullerdiek J. Telomeric repeat fragment lengths are not correlated to histological grading in 85 breast cancers. *Cancer Lett* 1996;106:155-161
- 15 骆成玉, 李世拥, 李鸿义, 赵丹宁, 曲军, 祝学光. 大肠癌患者粪便标本的端粒酶活性研究. *中华外科杂志* 2001;39:580-582

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 •

多种因子在门脉高压大鼠结肠黏膜中的表达

尹朝晖, 刘浔阳, 黄飞舟, 黄穰浪, 任树平

尹朝晖, 刘浔阳, 黄飞舟, 黄穰浪, 任树平, 中南大学湘雅三医院普外科湖南省长沙市 410013
项目负责人: 刘浔阳, 410013, 湖南省长沙市, 中南大学湘雅三医院普外科. yzh0451@yahoo.com.cn
电话: 0731-8618451
收稿日期: 2003-04-03 接受日期: 2003-05-19

摘要

目的: 探讨多种因子在门脉高压大鼠结肠黏膜中的表达及其意义.

方法: 实验组大鼠行门静脉两步结扎加左肾上腺静脉结扎; 应用免疫组化SP染色法检测iNOS、ecNOS、ET-1、及TNF- α 在大鼠结肠黏膜中的表达情况.

结果: 实验组 iNOS、ET-1、及 TNF- α 表达较对照组增强(2.97 ± 0.51 vs 2.33 ± 0.76 ; 2.01 ± 0.32 vs 1.38 ± 0.74 ; 2.57 ± 0.64 vs 1.67 ± 0.36 , $P < 0.05$), ecNOS 无明显变化(2.01 ± 0.69 vs 1.87 ± 0.56 , $P > 0.05$).

结论: iNOS、ET-1、TNF- α 参与门脉高压大鼠结肠黏膜局部病变.

尹朝晖, 刘浔阳, 黄飞舟, 黄穰浪, 任树平. 多种因子在门脉高压大鼠结肠黏膜中的表达. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1640-1642

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1640.asp>

0 引言

随着门脉高压性结肠病变(portal hypertensive colopathy,

PHC)^[1]概念的提出, 局部体液因子的改变在 PHC 病因学中的作用渐受关注, 但有关此方面的报道甚少^[2]. 本文选取具有不同作用的一氧化氮合酶(NOS)、内皮素 1(ET-1)及肿瘤坏死因子 α (TNF- α), 应用免疫组化技术检测他们在门脉高压大鼠结肠黏膜局部的表达情况, 以期探讨门脉高压大鼠结肠黏膜病变中体液因子的变化及意义.

1 材料和方法

1.1 材料 (1)动物与分组: 20 只 δ SD 大鼠 (225-275 g, 购自中南大学湘雅医学院实验动物中心) 随机分成两组, 实验组行门静脉两步法结扎加左肾上腺静脉结扎手术; 对照组为假手术组. (2)试剂: 兔抗大鼠 ecNOS 多克隆抗体、兔抗大鼠 iNOS 多克隆抗体、兔抗大鼠 ET-1 多克隆抗体、山羊抗大鼠 TNF- α 多克隆抗体、通用型 S-P 染色试剂盒、生物素标记兔抗山羊 IgG 染色试剂盒及 DAB 购自北京中山生物技术有限公司.

1.2 方法 (1)动物模型制备: 对 Tanoue et al^[3]方法加以改进, 应用门静脉两步法结扎加左肾上腺静脉结扎制备门脉高压大鼠模型. (2)门静脉完全结扎后 2 wk, 将两组大鼠麻醉后开腹, 找到肠系膜上静脉, 剪一小口, 将一根充满生理盐水的硬膜外导管置入静脉近端, 以鼠右心房水平为“0”点, 测定门静脉压力. 其后小心切除

小段乙状结肠, 常规固定、脱水、透明、石蜡包埋。(3)免疫组化SP染色法 抗原修复(NOS、ET-1应用EDTA煮沸20 min; TNF- α 应用柠檬酸缓冲液煮沸20 min), 余同说明; DAB显色; PBS代替一抗作阴性对照。(4)判断标准: 反应产物的染色强度以光密度值(optical density, OD值)表示。选取结肠不同部位(黏膜、黏膜下层、肌层), 每一部位随机选5处, 应用计算机辅助HPIAS-1000图像分析系统测定反应产物的A值(若无记为0), 每一标本取平均A值。

统计学处理 应用SPSS10.0 for window 统计软件分析, 检测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料组间比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 一般情况及静脉压力 实验组大鼠腹壁血管、肠系膜血管扩张较对照组明显; 实验组大鼠有两只可见腹腔内有少量腹水生成, 余大鼠及对照组未见明显腹水生成; 实验组大鼠门静脉压力较对照组明显升高(20.90 ± 3.27 cm H₂O vs 11.43 ± 1.55 cm H₂O, $P < 0.01$)。

2.2 NOS表达情况 NOS表达阳性细胞为胞质内棕黄色颗粒, 可见于黏膜上皮、肠腺腔、黏膜下层血管内皮, 同时在黏膜表面及肌层也可见黄染产物。实验组中iNOS的表达强度明显高于对照组(2.97 ± 0.51 vs 2.33 ± 0.76 , $P < 0.05$), 但ecNOS的表达强度两组间无明显差异(2.01 ± 0.69 vs 1.87 ± 0.56 , $P > 0.05$)。

2.3 ET-1表达情况 阳性表达为棕黄色颗粒, 主要见于黏膜下层、黏膜上皮, 黏膜表面及肌层亦可见少量黄染。实验组表达强度高于对照组(2.01 ± 0.32 vs 1.38 ± 0.74 , $P < 0.05$)。

2.4 TNF- α 表达情况 阳性表达于黏膜层可见黄染产物, 阳性细胞为胞质内可见棕黄色颗粒; 实验组TNF- α 表达强度较对照组明显增高(2.57 ± 0.64 vs 1.67 ± 0.36 , $P < 0.01$)。

3 讨论

门脉高压症肠黏膜病变发病机制至今尚不清楚。既然分流手术可使PHC好转, 提示门静脉压力与PHC间有一定相关关系^[4-6], 然而也有研究发现PHC与HVPG无明显相关^[7], 故在PHC形成中门静脉压力升高可能并非惟一因素。随着对门静脉高压症胃黏膜病变认识的加深, 血管活性因子等体液因子在PHC中的作用受到关注, 初步研究提示局部体液因子参与PHC的发展进程^[2]。有学者研究认为门静脉结扎制作的大鼠门脉高压模型可用于PHC的研究^[2], 本研究中门静脉完全结扎后2 wk, 实验组大鼠门静脉压力较对照组明显升高, 认为门脉高压大鼠模型制作成功。

内源性NO是一种强烈的血管舒张因子, 也是新型的细胞内信使和神经递质, 在机体的病理生理过程中有重要作用^[8]。由于NO稳定性差, 半衰期甚短, 直接

测定十分困难, 作为合成NO的惟一限速酶NOS成为研究NO的重要手段。本研究中, 实验组结肠中iNOS的表达强度明显高于对照组($P < 0.05$), 但ecNOS在结肠中的表达强度两组间无明显差异($P > 0.05$)。其升高可能是由于升高的门脉压力使肠道回流受阻, 肠道淤血、水肿, 肠黏膜屏障受损, 毒素物质移位、入血, 同时由于回流受阻, 高毒素血液在肠局部较长时间的刺激血管内皮等, 使iNOS生成增加, 这必然使NO生成增加, 致血管扩张, 加重淤血。尚有学者认为NO使平滑肌舒张, 调节胃肠动力^[9], NO升高使结肠运动功能减弱, 延长了黏膜与损伤因素接触时间, 而加剧结肠黏膜损伤。本研究中结肠处ecNOS无明显变化, 可能在PHC不起重要作用。

ET-1可通过其受体起多效性的生物作用^[10], 对于门脉高压症肠道黏膜中ET-1表达情况尚未见报道。本研究中, ET-1在实验组表达强度高于对照组。一方面, 在通常情况下, 扩血管物质与缩血管物质的释放和激活处于一动态平衡, 以此提供一相对稳定的微环境, ET-1升高可保持局部微环境相对稳定; 另一方面, 由于ET-1尚可诱导黏膜损伤^[11], 过量表达的ET-1必使肠道黏膜进一步受损。

TNF- α 是一种细胞毒性蛋白, 研究表明TNF- α 不仅可激活NOS基因^[12, 13], 也可激活ET-1基因^[14]。本研究中TNF- α 在实验组表达强度高于对照组, 升高可能为回流受阻, 水肿、淤血使肠黏膜屏障受损, 毒素物质移位, 诱使肠道黏膜局部TNF- α 生成增加。TNF- α 升高既可激活ET-1、NOS基因, 而参与门脉高压症结肠黏膜病变过程; 同时TNF- α 尚可增加血管通透性^[15], 其升高也加重肠壁水肿、损伤黏膜屏障而加重局部病变。

由此可见, 门脉高压结肠黏膜病变是多因素共同作用的结果, 其机制尚有待进一步阐明。

4 参考文献

- 1 Naveau S, Bedossa P, Poynard T, Mory B, Chaput JC. Portal hypertensive colopathy. A new entity. *Dig Dis Sci* 1991;36: 1774-1781
- 2 Ohta M, Kaviani A, Tarnawski AS, Itani R, Sugimachi K, Sarfeh IJ. Portal hypertension triggers local activation of inducible nitric oxide synthase gene in colonic mucosa. *J Gastrointest Surg* 1997;1:229-235
- 3 Tanoue K, Kitano S, Hashizume M, Wada H, Sugimachi K. A rat model of esophageal varices. *Hepatology* 1991;13:353-358
- 4 Kozarek RA, Botoman VA, Bredfeldt JE, Roach JM, Patterson DJ, Ball TJ. Portal colopathy: prospective study of colonoscopy in patients with portal hypertension. *Gastroenterology* 1991; 101:1192-1197
- 5 Ganger DR, Preston A, Sankary H. Colonic lesions in portal hypertension. *Gastrointest Endosc* 1993;39:212-213
- 6 Ponce Gonzalez JF, Dominguez Adame Lanuza E, Martin Zurita I, Morales Mendez S. Portal hypertensive colopathy: histologic appearance of the colonic mucosa. *Hepatogastroenterology* 1998; 45:40-43
- 7 Chen LS, Lin HC, Lee FY, Hou MC, Lee SD. Portal hypertensive colopathy in patients with cirrhosis. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:490-494
- 8 Nathan C, Xie QW. Nitric oxide synthases: roles, tolls, and controls. *Cell* 1994;78:915-918

- 9 Sanders KM, Ward SM. Nitric oxide as a mediator of nonadrenergic noncholinergic neurotransmission. *Am J Physiol* 1992;262:G379-392
- 10 Levin ER. Endothelins. *N Engl J Med* 1995;333:356-363
- 11 Lazaratos S, Kashimura H, Nakahara A, Fukutomi H, Osuga T, Urushidani T, Miyauchi T, Goto K. Gastric ulcer induced by submucosal injection of ET-1: role of potent vasoconstriction and intraluminal acid. *Am J Physiol* 1993;265(3Pt 1):G491-G498
- 12 Lopez-Talavera JC, Cadelina G, Olchowski J, Merrill W, Groszmann RJ. Thalidomide inhibits tumor necrosis factor alpha, decreases nitric oxide synthesis, and ameliorates the hyperdynamic circulatory syndrome in portal-hypertensive

- rats. *Hepatology* 1996;23:1616-1621
- 13 Ohta M, Tarnawski AS, Itani R, Pai R, Tomikawa M, Sugimachi K, Sarfeh IJ. Tumor necrosis factor alpha regulates nitric oxide synthase expression in portal hypertensive gastric mucosa of rats. *Hepatology* 1998;27:906-913
- 14 Marsden PA, Brenner BM. Transcriptional regulation of the endothelin-1 gene by TNF-alpha. *Am J Physiol* 1992;262(4 Pt 1):C854-C861
- 15 Stephens KE, Ishizaka A, Larrick JW, Raffin TA. Tumor necrosis factor causes increased pulmonary permeability and edema. Comparison to septic acute lung injury. *Am Rev Respir Dis* 1988;137:1364-1370

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 •

黄连素对 HT-29 人结肠癌细胞系 Ca^{2+} 的抑制作用

台卫平, 罗和生

台卫平, 罗和生, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060
项目负责人: 罗和生, 430060, 湖北省武汉市武昌区解放路 238 号, 武汉大学人民医院消化内科. luotang@public.wh.hb.cn
电话: 027-88041919-2134
收稿日期: 2003-01-10 接受日期: 2003-02-19

摘要

目的: 探讨黄连素对人结肠癌细胞系 HT-29 的作用及与 Ca^{2+} 有关的机制, 为黄连素作为一种新的结肠癌化学治疗药物进行理论上的准备和提供相关实验结果。

方法: 0.1 $\mu\text{mol/L}$, 0.3 $\mu\text{mol/L}$, 3.0 $\mu\text{mol/L}$, 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 的黄连素加入到 HT-29 结肠癌细胞系培养液中. 分别在第 1 d, 第 2 d, 第 3 d 测量各有关值. 以 bapta-AM (33 $\mu\text{mol/L}$) 为细胞内 Ca^{2+} 螯合剂, verapamil (50 mmol/L) 为细胞膜 Ca^{2+} 通道拮抗剂, 分别抑制细胞内 Ca^{2+} 和细胞膜 Ca^{2+} 通道, 对比观察黄连素对细胞内 Ca^{2+} 的影响及结肠癌细胞在不同 Ca^{2+} 浓度条件下各有关值. 细胞记数检测细胞的生长和增生, 用免疫荧光分光光度法检测细胞内 Ca^{2+} 浓度。

结果: 黄连素在浓度大于 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 时则有明显的量效关系抑制结肠癌细胞的生长. 黄连素在浓度大于 0.3 $\mu\text{mol/L}$ 时对细胞内 Ca^{2+} 的释放有抑制作用。

结论: 黄连素能够抑制 Ca^{2+} 的释放可能为黄连素抑制 HT-29 细胞生长和增生的一个机制。

台卫平, 罗和生. 黄连素对 HT-29 人结肠癌细胞系 Ca^{2+} 的抑制作用. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1642-1644

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1642.asp>

0 引言

结肠癌是常见的恶性肿瘤之一, 他严重地危害着人们的身体健康. 目前临床上结肠癌常用的化疗药物毒副作用

用大, 寻找新的化疗效果好、毒副作用小的药物, 可以提高结肠癌患者的治疗效果, 提高患者的生存期及生存质量. 已有研究证实黄连素(berberine, ber)对平滑肌细胞内 Ca^{2+} 有作用^[1]. Ca^{2+} 作为第二信使可能以某种形式参与肿瘤生长和繁殖的调节^[2]. 本题采用细胞培养的方法, 将黄连素加入到结肠癌细胞培养环境中, 观察培养上清中细胞内 Ca^{2+} 的改变, 同时观察 ber 对结肠癌细胞生长、增生的影响, 为 ber 作为一种新的结肠癌化疗药物进行理论上的研究。

1 材料和方法

1.1 材料 细胞系: HT-29 细胞系购自中南大学湘雅医学院肿瘤研究所, 该细胞系由该所引自 ATCC. 主要试剂和仪器: berberine (Sigma), Fura-2/AM (Sigma), bapta-AM (Sigma), verapamil (Sigma), 日本产岛津 RF-5000 荧光分光光度计。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HT-29 以 RPMI-1640 为培养液, 加入 100 mL/L 热灭活的 FBS 及青霉素和链霉素, HT-29 细胞置于 37 $^{\circ}\text{C}$, 50 mL/L CO_2 培养箱中培养, 以 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 细胞接种 24 h 后, 分组加药: 终浓度为 0.1 $\mu\text{mol/L}$, 0.3 $\mu\text{mol/L}$, 3.0 $\mu\text{mol/L}$, 30.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 ber 加入到 HT-29 结肠癌细胞系培养液中. 以 bapta-AM (33 $\mu\text{mol/L}$) 为细胞内 Ca^{2+} 螯合剂, verapamil (30 mmol/L) 为细胞膜 Ca^{2+} 通道拮抗剂, 分别抑制胞内 Ca^{2+} 及胞膜钙通道, 对比观察黄连素对细胞内 Ca^{2+} 的影响. 24 h 后测量钙离子浓度。

1.2.2 生长曲线的绘制 采用氮兰四唑盐实验(MTT)法, 取对数生长期的 HT-29 细胞按传代方式制成单细胞悬液, 以每孔 4×10^3 个细胞接种于 96 孔培养板中, 培养 24 h 后, 弃去原细胞培养液, 实验组每孔加入 ber



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

