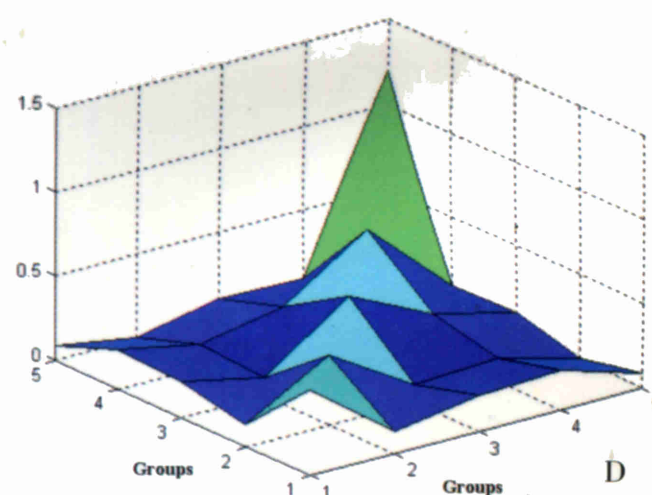
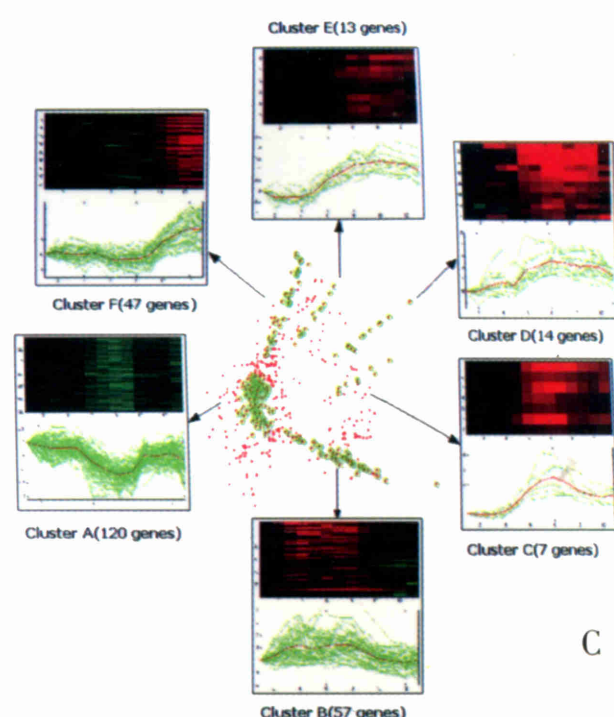


世界华人消化杂志®

**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-κB 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, 刘浔阳 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(P Ж)》
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

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

林万隆, 马小明, 孙培龙, 上海市闸北区北医院医学科 上海市 200435
李定国, 陈强, 陆汉民, 上海第二医科大学附属新华医院消化科
上海市 200092

林万隆, 男, 1974-01-29, 江苏省镇江市人, 在读博士, 研究方向消化道肿瘤
的早期诊断及综合治疗, 发表论文4篇。

项目负责人: 林万隆, 200092, 上海市共和新路4500号, 上海市闸北区北医
院医学科. linwanlong155@sohu.com

电话: 021-56995662

收稿日期: 2002-11-14 接受日期: 2002-12-07

Clinical efficacy and mechanism of oxaliplatin in treating human gastric carcinoma

Wan-Long Lin, Ding-Guo Li, Qiang Chen, Han-Min Lu,
Xiao-Ming Ma, Pei-Long Sun

Wan-Long Lin, Xiao-Ming Ma, Pei-Long Sun, Shibei Hospital, Shanghai
200435, China

Ding-Guo Li, Qiang Chen, Han-Min Lu, Xinhua Hospital, Shanghai Second
Medical University, Shanghai 200092, China

Correspondence to: Wan-Long Lin, Digestive Department, Shibei
Hospital, Shanghai 200435, China. linwanlong155@sohu.com

Received: 2002-11-14 Accepted: 2002-12-07

Abstract

AIM: To evaluate the therapeutic effect of oxaliplatin on human gastric carcinoma and to explore the mechanisms.

METHODS: 22 cases of stage IV gastric carcinoma patients received 4-6 (mean 4.6) cycles of first line combined chemotherapy with oxaliplatin (oxaliplatin 85 mg/m², ivgtt, 1 h, d 1; leukovorin 200 mg/m², iv, gtt, 1 h, d 1-5; 5-FU 300 mg/m², iv, d 1-2; 5-FU, continuously iv, gtt, 48 h; 1 cycle/2w). Response rate, progression-free survival (PFS), total survival time, toxic side effects were evaluated. The inhibitory effect of oxaliplatin on human gastric cell line SGC-7901 was calculated by MTT and IC₅₀ was measured. Flow cytometry and TUNEL were applied to evaluate the apoptosis of cell line induced by the drug. The expression of caspase-3 mRNA was detected by RT-PCR.

RESULTS: Total response (complete and partial) occurred in 9 (40.9 %) patients. Mean PFS was 4.2 months and mean total survival time was 7.2 months. Cumulative neurotoxicity (all grade I - II), vomiting and diarrhea, myelosuppression appeared in 93.5 %, 20 %, 32.9 % of the patients, respectively. Apoptosis index was elevated after incubating with 1 mmol/L oxaliplatin for 30 min, but without statistic significance ($P > 0.05$), but was much higher both by flowcytometry and TUNEL with statistical significance ($P < 0.05$) after incubating with 1 mmol/L oxaliplatin for 2 days. Caspase-3 mRNA expression was elevated in oxaliplatin treated cells and correlated with apoptosis induced by the drug.

CONCLUSION: Oxaliplatin is effective and well-tolerated on human advanced gastric carcinoma. Oxaliplatin could significantly inhibit the growth of human gastric cell line SGC-7901, inducing caspase-3 mRNA expression and cell apoptosis

Lin WL, Li DG, Chen Q, Lu HM, Ma XM, Sun PL. Clinical efficacy and mechanism of oxaliplatin in treating human gastric carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(10):1535-1539

摘要

目的: 评价奥沙利铂(Oxaliplatin, L-OHP)对人胃癌的疗效, 探讨其治疗胃癌的作用机制。

方法: IV期胃癌患者22例接受包含L-OHP的联合化疗方案(L-OHP 85 mg/m², 静脉点滴, 1 h, 第1 d; 四氢叶酸钙 200 mg/m², 静脉点滴, 1 h, 第1-5 d; 5-FU 300 mg/m², 静脉注射, 第1-2 d, 5-FU, 持续静脉点滴, 48 h; 2 wk 1疗程)4-6(平均4.6)个疗程。观察有效率, 无进展生存时间(progression-free survival, PFS), 总体生存时间及毒副作用。体外培养人中分化胃癌细胞株SGC-7901, 应用MTT法检测L-OHP对细胞生长的抑制作用, 并计算50 %抑制浓度(IC₅₀); 将不同浓度梯度的L-OHP与细胞株作用后, 应用流式细胞仪(ANEXIN-V标记)及TUNEL检测细胞凋亡情况。应用RT-PCR检测caspase-3m-RNA的表达。

结果: 有效(完全有效及部分有效)9例(40.9 %)。平均PFS 4.2 mo, 总体生存时间7.2 mo。蓄积性神经毒性(全部为I - II级), 呕吐及腹泻(1例III级腹泻), 骨髓抑制发生率分别为93.5 %, 20 %, 32.9 %。浓度为1 mmol/L的L-OHP与细胞株作用30 min, 流式细胞仪即可检测出细胞凋亡水平升高, 但无统计学差异($P > 0.05$), 1 mmol/L作用2 d, 流式细胞仪及TUNEL均可检测到细胞凋亡水平显著性升高($P < 0.05$)。L-OHP作用后的细胞caspase-3 m-RNA表达升高, 并与药物诱导的凋亡相关。

结论: L-OHP治疗进展期胃癌安全有效。L-OHP在体外可明显抑制胃癌细胞株SGC-7901的生长, 诱导细胞caspase-3m-RNA表达及凋亡。

林万隆, 李定国, 陈强, 陆汉民, 马小明, 孙培龙. 奥沙利铂综合治疗胃癌的疗效及机制. 世界华人消化杂志 2003;11(10):1535-1539

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1535.asp>

0 引言

胃癌是危害人民健康的主要恶性肿瘤之一, 其发病原因尚未明了。近年来药物治疗作为胃癌综合治疗的重要

组成部分日益受到重视.在消化道恶性肿瘤中,胃癌属于对药物治疗较敏感的肿瘤,目前普遍认为药物治疗有可能减少复发,延长生存期.奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)为第三代的铂类药物,抗癌活性强,与CDDP无交叉耐药,与5-Fu有协同作用,对多种肿瘤有效,毒副作用较低.目前用L-OHP治疗胃癌的临床及基础研究较少,我们总结包含L-OHP的联合化疗方案一线治疗IV期胃癌22例的疗效及毒副作用,并试图通过检测L-OHP诱导胃癌细胞株SGC-7901caspase-3 mRNA的表达及凋亡的作用,探讨其治疗胃癌的作用机制.

1 临床资料

1.1 对象 1999/2002年新华医院肿瘤中心住院IV期胃癌患者22例,男17例,女5例,年龄25-70(平均60.3)岁.均经术后病理或胃镜病理证实为低分化腺癌16例,印戒细胞癌6例.至少有一个可测量病灶直径大于或等于2 cm; WHO活动能力评分小于或等于2; 预计生存期大于或等于3 mo; 从未接受过化疗; 无外周神经疾病; 血液学,心脏,肝肾功能正常; 无其他抗肿瘤治疗.

1.2 方法 化疗方案: L-OHP 85 mg/m², 静脉点滴, 1 h, 第1 d; 四氢叶酸钙 200 mg/m², 静脉点滴, 1 h, 第1-5 d; 5-FU 300 mg/m², 静脉注射, 第1-2 d, 5-FU, 持续静脉点滴, 48 h; 2 wk 1疗程. 4-6 (平均4.6)个疗程. 化疗前检查: 体质评分, 身体质量, 身高, 体表面积, 全身系统检查, 神经系统检查, 心电图, 血象, 血糖, 肝肾功能, 电解质, 血CEA; 化疗后每周复查一次各项生物学检查(同化疗前); 按NCI标准作前一疗程耐受性评价; 神经系统检查; 不良反应记录. 治疗前及4, 6周期后肿瘤病灶评价评定. 入组患者4个周期化疗后进行全面疗效评估, 1 mo后再次确认. 如果病情稳定或有效则继续用药至第6个周期.

按WHO和UICC标准分为完全有效(complete response, CR), 部分有效(partial response, PR), 稳定(stable disease, SD), 病情进展(progress disease, PD); 按NCI毒性评定标准评定毒性; 按神经毒副作用乐沙定专用分级法评定神经毒性.

1.3 结果 有效率40.9%. 无进展生存期(progression free survival, PFS)1-12(平均4.2 mo), 总体生存时间4-12(平均7.2 mo). 值得指出的是有1例PR和1例SD患者病情至今依然无进展, PFS分别达10 mo和12 mo. L-OHP主要不良反应是消化道反应, 骨髓抑制, 神经感觉障碍. 消化道反应表现为呕吐(20%)和腹泻(20%), 其中Ⅲ级腹泻1例. 骨髓抑制以轻中度贫血为特点, 发生率32.9%, 而对白细胞及血小板抑制较轻, 分别为22.9%和10%, 全部为Ⅰ-Ⅱ级. 神经感觉障碍是L-OHP最主要的不良反应, 发生率达93.5%, 以Ⅰ级为主, Ⅱ级3例, 化疗间歇期可完全缓解.

2 实验资料

2.1 材料 人中分化胃癌细胞株SGC-7901, 购自中国科学院上海细胞所, 用含100 ml/L小牛血清的RPMI 1640培养基, 在37℃, 50 ml/L CO₂条件下培养, 生长至单层后, 以2.5 g/L的胰蛋白酶消化贴壁细胞, 调整细胞数至1×10⁵/L.

2.2 方法

2.2.1 MTT法及IC₅₀ 将收集的细胞接种于96孔培养板中, 5×10³/孔, 37℃, 50 ml/L CO₂条件下培养24 h. 设置6组浓度梯度, 每组3个孔, 加入L-OHP, 使终浓度分别为10, 1, 0.5, 0.1, 0.05, 0.01 mmol/L, 对照组加入相同体积的培养液. 37℃, 50 ml/L CO₂条件下培养48 h, 离心弃上清后, 每孔加入0.5 g/L的MTT 150 μL, 37℃, 50 ml/L CO₂条件下避光孵育4 h; 离心弃上清后, 加入DMSO 150 μL/孔, 置水平摇床上15 min, 在525 nm波长下测A值, 细胞生长抑制率=(对照组的A值-实验组的A值)/对照组的A值×100%.

2.2.2 流式细胞仪 取对数生长期的细胞分为4组, 前3组加入L-OHP, 使终浓度分别为10, 1, 0.5 mmol/L, 第4组加入相同体积的培养液作为对照. 药物作用30 min后, 用2.5 g/L的胰蛋白酶消化, 离心后弃上清, 每组细胞数大于或等于1×10⁵/L, 参照ANEXIN-V (Roche)说明书操作, 于EPICS流式细胞仪(Beckman-Coulter)上进行分析.

2.2.3 TdT酶介导的dUTP缺口末端标记(TUNEL)应用 6孔板培养细胞, 取对数生长期的细胞, 细胞爬片. 试验组加入L-OHP, 对照组加入相同体积的培养液作为对照. 药物作用后, 弃上清后用培养液洗3次(图4), 所有标本均应用40 g/L多聚甲醛固定30 min, 用TdT酶将生物素标记的dUTP连接到DNA断裂的3' OH端, 加入ABC反应剂作用数分钟, 再加入DAB/H₂O₂溶液显色, 苏木精复染, 中性树胶封固.

2.2.4 RT-PCR 取对数生长期的细胞分为2组, 每组3个样本, 1组加入L-OHP, 使终浓度分别为1 mmol/L, 第2组加入相同体积的培养液作为对照. 药物作用30 min后, 用2.5 g/L的胰蛋白酶消化, 离心后弃上清, 每样本细胞数大于或等于1×10⁵/L, PBS洗3次. 采用Trizol一步法提取RNA, 具体步骤见GibcoBrl公司的Protocol; RT步骤参见AMV reverse transcriptase Protocol; PCR步骤参见Taq DNA Polymerase Protocol; PCR产物经20 g/L琼脂糖电泳, 电泳图谱由VDS凝胶图像分析系统测定条带的积分吸光度(IOD). Caspase-3基因相对表达值=caspase-3 PCR产物条带IOD值/β-Actin PCR产物条带IOD值. 引物序列如下. β-actin forward 5'-TGG AGG GCG CGG ACT CGT CA-3'; β-actin reverse 5'-CTT CCT TCC TGG GCA TGG AG-3'; 扩增DNA片段: 315 bp, caspase-3; Sense 5'-ATGGAAGAACTGAAAACCTCA-3'; Antisense 5'-TTAGTGATAAAAATAGAGTTC-3'; 扩增DNA片段: 834 bp

统计学处理 采用t检验.

2.3 结果

2.3.1 L-OHP 对胃癌细胞株 SGC-7901 的抑制作用 根据 3 次 MTT 实验结果计算平均值, 由 Graphpaol Prism 软件绘制, 并求得 IC_{50} 值为 0.71 mmol/L. 由此可见, 曲线呈典型的倒 S 形, 较为平坦, 较好地反映了细胞生存率随药物浓度的变化情况(图 1), 说明 L-OHP 有效地抑制 SGC-7901 细胞株的生长.

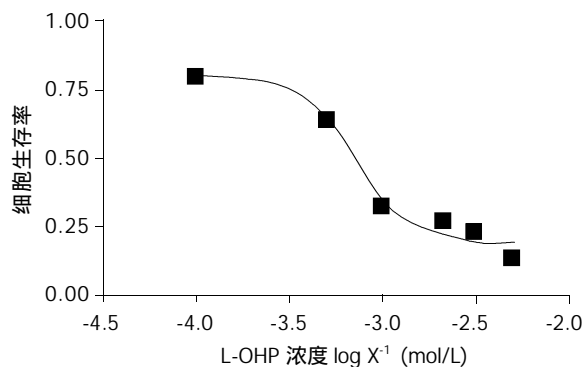


图 1 SGC-7901 细胞生存率与 L-OHP 浓度的相关性.

2.3.2 L-OHP 诱导凋亡检测结果 浓度为 1 mmol/L 的 L-OHP 与细胞株作用 30 min 后, 流式细胞仪即可检测出细胞凋亡水平升高, 但无统计学差异($P > 0.05$). L-OHP (10 mmol/L, 30 min) 诱导胃癌细胞株 SGC-7901 凋亡为细胞凋亡明显增加(表 1, 图 2). TUNEL 实验空白对照组凋亡率为 0.38 %, 0.5 mmol/L 组为 4.63 %, 1.0 mmol/L 组为 7.35 %, 5.0 mmol/L 组为 14.35 %. 随药物浓度的增加, 细胞凋亡率显著上升($P < 0.01$)随时间变化, 对照组凋亡率无明显改变($P > 0.05$); 加药组凋亡率随时间延长明显上升($P < 0.01$), 第 4 d 达到峰值 7.93 % 和 10.15 %, 第 7 d 分别下降至 6.08 % 和 7.55 % (图 5). 图 2-4 为典型镜像.

表 1 L-OHP(10mmol/L, 30min)对 SGC-7901 细胞凋亡的影响

分组	R1	R2	R3	R4	AI
L-OHP 组	0.6	34.1	39.9	25.4	59.5
空白对照组	4.6	0.8	89.6	4.9	5.7

凋亡指数(apoptosis index, AI) = $(R2+R4)/(R1+R2+R3+R4)$.

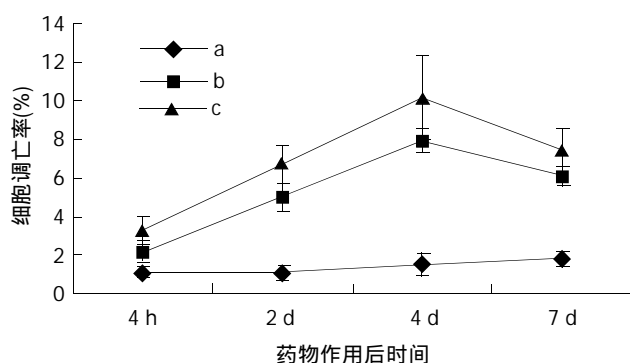


图 2 L-OHP 作用后时间对细胞凋亡率的影响.

2.3.3 RT-PCR 实验结果 图 5 为 L-OHP 诱导细胞表达 caspase-3 m-RNA 的琼脂糖电泳图谱, L-OHP 作用后的细胞 caspase-3 m-RNA 表达明显增强(图 5, 0.48 ± 0.47 vs 0.18 ± 0.20 , $P < 0.05$).

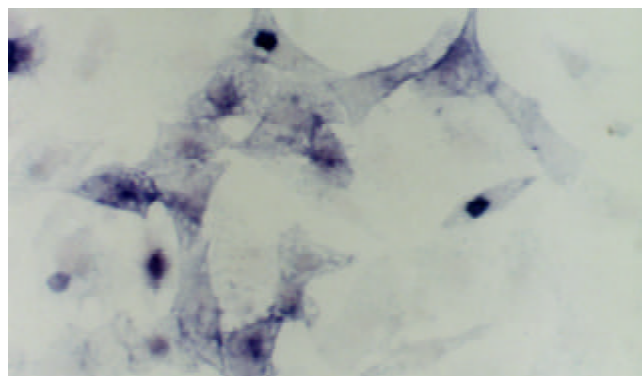


图 3 L-OHP 1 mmol/L 作用 30 min, TUNEL, 伊红复染 $\times 400$.

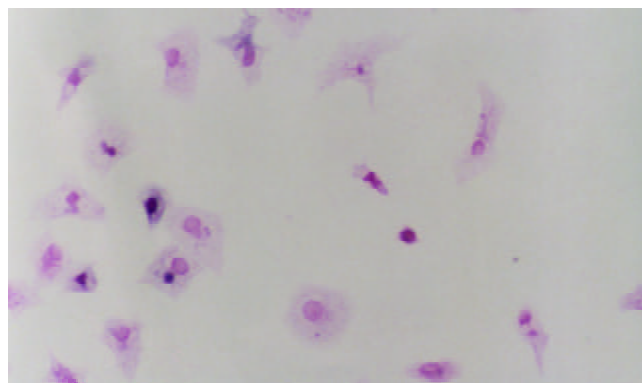


图 4 空白对照, TUNEL, 伊红复染 $\times 200$.



图 5 L-OHP 诱导细胞表达 caspase-3 m-RNA 的琼脂糖电泳图谱.

3 讨论

胃癌是危害人民健康的主要恶性肿瘤之一, 他的转移及复发是导致治疗失败及死亡的主要原因. 目前在临床上对于已经有转移的患者主要应用以药物治疗为主的综合治疗, 虽然胃癌对药物治疗较为敏感, 但联合化疗方案疗效仅为 40 % 左右, 且药物副作用较大^[1-8], 化疗药物的毒性与疗效是一对矛盾. 临床常用方案中以 EAP 方案(表阿霉素, 鬼臼乙叉甙, 顺铂)疗效较高, 最高达 70 %, 完全有效率达 15 %, 但治疗相关死亡率亦高达 11 %, 从而限制了临床推广. 顺铂为胃癌化疗的常用药物之一, 对胃癌具有确切的疗效, 但其严重的

肾脏毒性亦限制了临床使用. 因此临床需要一种相对低毒高效药物的问世.

L-OHP 是第三代铂类化合物, 化学名为左旋反式二氨基环己烷草酸铂, L-OHP 的药理学特性与其他铂类药物相似, 均以 DNA 为靶点, L-OHP 易与 DNA 链上的 G 共价结合, 并可能形成链间交联, 从而阻断 DNA 的复制及转录. 目前已知肿瘤细胞通过错误配对修复(mismatch repair)功能移去有铂类结合 DNA 的复制产物, 而这一过程将诱发细胞凋亡. 我们总结 L-OHP 一线治疗 22 例 IV 期胃癌, 有效率 40.9%. 平均 PFS4.2 mo, 总体生存时间 7.2 mo. 提示 L-OHP 对胃癌可能具有较高的抗瘤活性. 国外研究报道 L-OHP 毒性较小, 常规剂量下绝大多数患者均可耐受. 外周神经毒性是其剂量限制性毒性, 当累计剂量超过 600 mg/m² 时易出现感觉异常和肢端麻木, 常由寒冷触发, 但治疗期间注意保暖可以减轻症状, 且停药后可逐渐恢复. L-OHP 优于 CDDP 的特点之一为其无明显的肾脏毒性, 血液系统及消化系统毒性亦较轻. 目前普遍认为胃癌的发生及发展是一个多基因, 多步骤的长期过程. 细胞凋亡与肿瘤的发生, 发展, 治疗和预后均密切相关^[9-28]. 1980 年发现 bcl-2 基因家族与细胞凋亡及肿瘤存在密切关系以来, 多数认为细胞凋亡在分子水平是受到诸因素调控的. 目前一组门冬氨酸特异性的胱氨酸蛋白酶-caspase 家族渐成为细胞凋亡及肿瘤研究的热点之一. 目前认为在细胞色素 C 和 dATP 存在的条件下, Apaf-1 与 caspase-9 通过他们与 CED-3 相似的氨基端相结合, 从而导致 caspase-9 的活化, 而活化的 caspase-9 又继而激活 caspase-3 从而导致的细胞内重要蛋白的溶解和细胞死亡, 因此 caspase-3 的激活可能是导致细胞凋亡最后的共同通路^[29, 30].

细胞凋亡检测方法多种多样, 如光镜、电镜下形态学观察; DNA 末端原位标记染色法(TUNEL); DNA 片断凝胶电泳以及碘化丙啶(PI)染色后流式细胞仪, 等. TUNEL 应用较广泛, 但是无法区分死亡细胞与凋亡细胞. 而 PI 染色后流式细胞仪仅能检出已死亡的细胞. 目前发现细胞凋亡早期仅存于胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸会翻转到胞膜外侧, 而 Annexin V 能特异地与磷脂酰丝氨酸结合从而通过流式细胞仪检出凋亡早期的细胞. 故本文选用联合 TUNEL 法及 Annexin V 标记的流式细胞仪法检测细胞凋亡, 发现 L-OHP 在体外可以明显抑制胃癌细胞株 SGC-7901 的生长. 浓度为 1 mmol/L 的 L-OHP 与细胞株作用 30min, 流式细胞仪即可检测出细胞凋亡水平升高, 提示药物作用早期以细胞凋亡为主; 1 mmol/L 作用 2 d, 流式细胞仪及 TUNEL 均可检测到细胞凋亡水平显著性升高. 实验结果提示随药物浓度的增加及作用时间的延长, 细胞凋亡率及细胞死亡率均显著上升, 提示此时细胞凋亡与死亡并存. 因此, L-OHP 在体外对胃癌细胞株 SGC-7901 生长的抑制早期主要机制为诱导细胞凋亡, 随着作用时间的延长, 诱

导凋亡与细胞毒作用并存. RT-PCR 结果提示 L-OHP 作用后的细胞 caspase-3 mRNA 表达明显增强, 与 L-OHP 诱导凋亡作用相关, 提示药物诱导凋亡过程中有 caspase 家族的参与.

总之, L-OHP 对于进展期胃癌是一种相对低毒高效药物, 包含 L-OHP 的联合化疗方案临床疗效可与目前其他方案媲美, 但安全性明显提高. 诱导细胞 caspase-3 基因表达从而导致凋亡可能是其治疗胃癌的机制之一; 在细胞凋亡的早期检测中应用 ANEXIN-V 标记流式细胞仪检测的灵敏度较高. 然而 L-OHP 应用于临床时间不久, 对中老年胃癌的临床疗效及毒副作用还有待大样本的多中心随机双盲临床试验加以验证.

4 参考文献

- 1 Wang X, Lan M, Shi YQ, Lu J, Zhong YX, Wu HP, Zai HH, Ding J, Wu KC, Pan BR, Jin JP, Fan DM. Differential display of vincristine-resistance-related genes in gastric cancer SGC7901 cell. *World J Gastroenterol* 2002;8:54-59
- 2 Cao WX, Ou JM, Fei XF, Zhu ZG, Yin HR, Yan M, Lin YZ. Methionine-dependence and combination chemotherapy on human gastric cancer cells in vitro. *World J Gastroenterol* 2002;8:230-232
- 3 Liu S, Wu Q, Ye XF, Cai JH, Huang ZW, Su WJ. Induction of apoptosis by TPA and VP-16 is through translocation of TR3. *World J Gastroenterol* 2002;8:446-450
- 4 Tao HQ, Zou SC. Effect of preoperative regional artery chemotherapy on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:451-454
- 5 Shi XY, Zhao FZ, Dai X, Ma LS, Dong XY, Fang J. Effect of jianpiyiwei capsule on gastric precancerous lesions in rats. *World J Gastroenterol* 2002;8:608-612
- 6 Zhao AG, Zhao HL, Jin XJ, Yang JK, Tang LD. Effects of Chinese Jianpi herbs on cell apoptosis and related gene expression in human gastric cancer grafted onto nude mice. *World J Gastroenterol* 2002;8:792-796
- 7 Hu JK, Chen ZX, Zhou ZG, Zhang B, Tian J, Chen JP, Wang L, Wang CH, Chen HY, Li YP. Intravenous chemotherapy for resected gastric cancer: meta-analysis of randomized controlled trials. *World J Gastroenterol* 2002;8:1023-1028
- 8 Cao WX, Cheng QM, Fei XF, Li SF, Yin HR, Lin YZ. A study of preoperative methionine-depleting parenteral nutrition plus chemotherapy in gastric cancer patients. *World J Gastroenterol* 2000;6:255-258
- 9 Liu JR, Chen BQ, Yang YM, Wang XL, Xue YB, Zheng YM, Liu RH. Effect of apoptosis on gastric adenocarcinoma cell line SGC-7901 induced by cis-9, trans-11-conjugated linoleic acid. *World J Gastroenterol* 2002;8:999-1004
- 10 Liu DH, Zhang XY, Fan DM, Huang YX, Zhang JS, Huang WQ, Zhang YQ, Huang QS, Ma WY, Chai YB, Jin M. Expression of vascular endothelial growth factor and its role in oncogenesis of human gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2001;7:500-505
- 11 Cai L, Yu SZ, Zhang ZF. Glutathione S-transferases M1, T1 genotypes and the risk of gastric cancer: a case-control study. *World J Gastroenterol* 2001;7:506-509
- 12 He XS, Su Q, Chen ZC, He XT, Long ZF, Ling H, Zhang LR. Expression, deletion [was deletion] and mutation of p16 gene in human gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2001;7:515-521
- 13 Fang DC, Yang SM, Zhou XD, Wang DX, Luo YH. Telomere erosion is independent of microsatellite instability but related to loss of heterozygosity in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2001;7:522-526

- 14 Liu S, Wu Q, Chen ZM, Su WJ. The effect pathway of retinoic acid through regulation of retinoic acid receptor alpha in gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2001;7:662-666
- 15 Xue FB, Xu YY, Wan Y, Pan BR, Ren J, Fan DM. Association of *H pylori* infection with gastric carcinoma: a Meta analysis. *World J Gastroenterol* 2001;7:801-804
- 16 Yao XX, Yin L, Sun ZC. The expression of hTERT mRNA and cellular immunity in gastric cancer and precancerosis. *World J Gastroenterol* 2002;8:586-590
- 17 Song ZJ, Gong P, Wu YE. Relationship between the expression of iNOS, VEGF, tumor angiogenesis and gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2002;8:591-595
- 18 Ren J, Dong L, Xu CB, Pan BR. The role of KDR in the interactions between human gastric carcinoma cell and vascular endothelial cell. *World J Gastroenterol* 2002;8:596-601
- 19 Ren J, Dong L, Xu CB, Pan BR. Expression of sphingosine kinase gene in the interactions between human gastric carcinoma cell and vascular endothelial cell. *World J Gastroenterol* 2002;8:602-607
- 20 Su JM, Gui L, Zhou YP, Zha XL. Expression of focal adhesion kinase and alpha5 and beta1 integrins in carcinomas and its clinical significance. *World J Gastroenterol* 2002;8:613-618
- 21 Nie YZ, He FT, Li ZK, Wu KC, Cao YX, Chen BJ, Fan DM. Identification of tumor associated single-chain Fv by panning and screening antibody phage library using tumor cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:619-623
- 22 Zhao Y, Wu K, Xia W, Shan YJ, Wu LJ, Yu WP. The effects of vitamin E succinate on the expression of c-jun gene and protein in human gastric cancer SGC-7901 cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:782-786
- 23 Fang DC, Luo YH, Yang SM, Li XA, Ling XL, Fang L. Mutation analysis of APC gene in gastric cancer with microsatellite instability. *World J Gastroenterol* 2002;8:787-791
- 24 Wu K, Li Y, Zhao Y, Shan YJ, Xia W, Yu WP, Zhao L. Roles of Fas signaling pathway in vitamin E succinate-induced apoptosis in human gastric cancer SGC-7901 cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:982-986
- 25 Zhou YN, Xu CP, Han B, Li M, Qiao L, Fang DC, Yang JM. Expression of E-cadherin and beta-catenin in gastric carcinoma and its correlation with the clinicopathological features and patient survival. *World J Gastroenterol* 2002;8:987-993
- 26 Zhang H, Wu J, Meng L, Shou CC. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors KDR and Flt-1 in gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:994-998
- 27 Jiang YA, Zhang YY, Luo HS, Xing SF. Mast cell density and the context of clinicopathological parameters and expression of p185, estrogen receptor, and proliferating cell nuclear antigen in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:1005-1008
- 28 Guo DL, Dong M, Wang L, Sun LP, Yuan Y. Expression of gastric cancer-associated MG7 antigen in gastric cancer, precancerous lesions and *H pylori*-associated gastric diseases. *World J Gastroenterol* 2002;8:1009-1013
- 29 Li HL, Chen DD, Li XH, Zhang HW, Lu JH, Ren XD, Wang CC. JTE-522-induced apoptosis in human gastric adenocarcinoma [correction of adenocarinoma] cell line AGS cells by caspase activation accompanying cytochrome C release, membrane translocation of Bax and loss of mitochondrial membrane potential. *World J Gastroenterol* 2002;8:217-223
- 30 Li HL, Chen DD, Li XH, Zhang HW, Lu YQ, Ye CL, Ren XD. Changes of NF-kB, p53, Bcl-2 and caspase in apoptosis induced by JTE-522 in human gastric adenocarcinoma cell line AGS cells: role of reactive oxygen species. *World J Gastroenterol* 2002;8:431-435



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

