

世界华人消化杂志[®]

WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

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



11/2003

ISSN 1009-3079



9 771009 307001

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

'World Journal of Gastroenterology' at 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11月15日 第11卷 第11期 (总第115期)

述 评	1661 创办具有中国特色的国际先进水平的WJG: 2004年由月刊改为半月刊 马连生, 潘伯荣, 马景云, 徐家裕, 伍协宁, 王先林, 陆汉明, 夏华向, 张建中, 苏勤, 任师颜, 朱立, 朱丽虹, 吕有勇 1665 细胞分化与食管鳞状细胞癌 孔建华, 刘芝华, 吴昱 1670 轮状病毒感染机制研究进展 王大燕, 王健伟, 于修平, 洪涛
肝 癌	1674 小鼠甲胎蛋白基因的克隆真核表达载体构建及表达鉴定 田耕, 易维林 1677 原发性肝细胞癌中 PTTG 和 c-myc 基因表达的研究 金中元, 程瑞雪, 郑长黎, 郑晖 1682 肝细胞癌变过程中 cyclin D1 的异常表达与端粒酶活性的相关分析及意义 李宝杰, 王新红, 曲波 1686 HCC 合并阻塞性黄疸 ERCP164 例 薛彪, 潘亚敏, 沈丽, 胡冰, 吴萍, 王书智, 周岱云
基础研究	1690 胚胎细胞 Smed4 反义基因转移及对细胞外基质合成的抑制作用 徐新保, 冷希圣, 何振平, 梁志清 1694 冷保存再灌注期间离体肝组织内钙自由基及 $[Ca^{2+}]_i$ 对 p38MAPK 激活的影响 王雨, 田庆湖, 汤礼军, 张晓琳 1699 大黄素对大鼠结肠环行平滑肌细胞 $[Ca^{2+}]_i$ 的影响 马涛, 齐清会, 简序, 费乃昕 1703 大肠癌细胞可产生趋化因子 IP-10 杨春康, 陈道达, 田源, 张景辉 1706 吲哚美辛对野生型 p53 转染的结肠癌细胞株 SW480 的影响 张桂英, 徐美华, 谢兆霞, 何春梅 1711 大鼠胃黏膜损伤修复时早期应答基因 c-Jun 及 c-met 的表达 姚永莉, 徐波, 宋子刚, 张万岱
临床研究	1715 功能性消化不良患者症状分型、胃排空功能、胃肠激素水平的相关性 唐红卫, 黄裕新, 徐海峰, 高巍, 周润林, 高晶, 王庆莉, 高峰, 安晓丽 1720 肝硬化患者血清和腹水 CA125 升高 肖文斌, 刘玉兰 1723 α -2b 干扰素治疗慢性乙型肝炎的前瞻性研究 熊锦华, 胡大荣, 张成平, 范公恩, 刘勇, 闻炜
焦点论坛	1727 胃干细胞 三天佑, 展玉涛 1730 肠道干细胞 姜佳丽, 王虹, 展玉涛 1732 胃肠道间充质母细胞 王虹, 展玉涛 1735 肝脏干细胞 展玉涛, 任继萍 1738 肝脏卵圆细胞 展玉涛, 华春山 1740 胸腺干细胞 姜佳丽, 万小平, 张琳, 展玉涛
文献综述	1743 乙型肝炎病毒 e 抗原阴性慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗 董青, 成军 1749 HGF/SF、c-met 基因信号异常与胃肠道恶性肿瘤 李宏武, 单吉贤 1752 幽门螺旋杆菌对胃肠道激素的影响 郭玉, 郭霞, 姚希贤 1755 胃癌组织生长抑素及其受体的表达对 EGF、VEGF 的影响 李秋萍, 徐军全, 李红梅, 张利华 1760 结、直肠癌临床病理分期系统及其临床意义 御三华 1764 针灸机理及其纳米化前景 何萍, 吕凤林, 任建航, 何凤慈 1769 RNA 干扰的抗病毒效应 奉中, 范学工 1773 Peutz-Jeghers 综合征 赵喜荣, 康连春, 吕有勇 1777 食管癌中的等位基因缺失 李洁, 刘芝华 1782 溃疡性结肠炎发病机制及其研究进展 周峰, 林平, 潘慧, 梅林 1787 蛋白酶激活受体-2 与胃黏膜疾病的研究进展 朱雄伟, 王强, 钟先保, 李光申
研究快报	1793 轮状病毒胃肠炎与表皮生长因子关系初步研究 吴建春, 姚英民 1794 尿毒症患者血透前后胃肌电活动的研究 武立群, 王虹, 顾清, 张锐, 李松扬 1796 消炎痛和幽门螺旋杆菌在胃溃疡致病中的相互作用研究 迟晶, 赵金满, 于继红, 傅宝玉 1797 原发性肝癌乙酰肝素酶 mRNA 的表达及其意义 陈晓鹏, 刘颖斌, 时开国, 彭淑牖, 彭承宏, 史留斌, 沈宏伟 1800 MDM2 基因扩增和蛋白表达与胃癌相关性的研究 孙利平, 李岩, 张宁, 姜乃佳, 付伟, 薛一雷 1802 HBsAg 疫苗对非溶细胞性和溶细胞性细胞免疫应答的影响 熊一力, 贾彦征, 施理, 张宜俊

研究快报

1804 P27kip1、CyclinE 和 CyclinA 在胃癌中的表达及意义 金顺花, 朴熙培, 金海峰, 朴凤顺, 许强
1807 血管紧张素 II 对大鼠 HSC 合成 PAI-1 的影响及 NO 的干预作用 张晶, 李定国, 尤汉宁, 刘清华, 宗春华, 陆汉明

临床经验

- 1809 TFF1 在正常及损伤胃黏膜中的表达改变 任建林, 卢雅正, 王琳, 陈建民, 施华秀, 叶震世, 吴艳环, 钟燕, 林进汀, 林辉, 潘金水, 罗金燕
1811 肝性脊髓病 8 例 王春平, 冯永毅, 苏淑慧, 李迎新, 彭晓君
1812 直肠癌药物敏感检测 102 例 魏寿江, 王崇树, 赵国刚, 侯华芳
1814 功能性消化不良患者胃排空障碍与胃肠激素的关系 何美蓉, 宋子刚, 何春容
1816 上消化道癌流行病学研究 黄中华
1818 胃液抗 *Hp* IgA 测定对 *Hp* 根除治疗效果的判断 谢勇, 吕农华, 黄德强, 陈江, 徐萍, 王崇文
1820 原发性十二指肠癌 16 例 谢薇, 刘之武, 王志川
1822 丙型肝炎病毒母婴传播及羊水、乳汁和唾液的作用 王占英, 牛美智, 姜学恒, 李颖, 朱光彦
1824 十二指肠憩室 120 例 吴江, 邓长生
1825 乙肝病毒感染相关原发性肝癌 320 例 苏淑慧, 王春平, 李迎新, 冯永毅
1827 胆管癌组织 p53 和血管内皮生长因子表达与血管生成的相关性研究 陈勇军, 俞正虹, 丁志强
1830 奥曲肽治疗肠梗阻 25 例 张长青, 张黎玲, 吴伟岗, 黄寅毅
1832 理学检查慢性胃十二指肠炎 280 例 谭元熙, 李增芬, 谭汇泉
1835 艾滋患者群中 HCV、HBV 及 HGV 的感染状况 赖嘉拉, 杜希恩, 庄柯
1837 胆心反射及胆心综合征的诊治 卫洪波, 汪壮流, 杨柳, 李文胜, 陈勇, 唐秋林
1839 陕西部分农村 0-18 月龄婴幼儿肠道内微生物菌群状况研究 孙晓魁, 刘黎明, 郝炳华, 高文方, 贾梅, Acheson K
1841 糖尿病患者胆囊排空功能与胃肠激素的关系 王艳军, 徐永泉, 林艳, 李士星
1843 慢性小肠型腹泻中的 IBS 吴杰, 邓昊, 贾业贵, 陈时
1844 矿区居民幽门螺杆菌感染状况及危险因素分析 雷静静, 周力, 谭玉洁, 杨斌, 刘星峰, 杜纪恩
1848 直视微创剖腹手术 52 例 姜海青, 周建刚, 储军

病例报告

- 1851 分流联合断流治疗小儿原发性门静脉海绵样变 1 例 方驰华, 朱新勇, 方石尚
1852 马内非青春期病 1 例 尹安, 温先保, 郭晓平, 彭国林
1853 腹腔积液 8 例 王平, 廖勇, 古敏, 刘子沛, 李晓鸥
1855 肾移植术后回肠结核并出血、梗阻 1 例报告 金红旭, 张雷峰, 王正强

读者来信

- 1698 徐新保
1705 Ferenc SZALAY

封面故事

- 1664 复方健脾益胃胶囊 II 期临床研究方案讨论会在福州举行

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 联席主编刊名

陈可冀 联席副主编刊名
(月刊)

创刊 1993-01-15

英文刊 1998-01-25

出版 2003-11-15

原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀

黄家驷

黄志骚

蔡介寿

刘耕南

裘法祖

汤润叔

王宝恩

危北海

吴孟超

吴成中

社长总编辑

高连生

张学虎

赵东海

周殿元

潘伯俊

王理晖

朱丽虹

牛少华

李天华

编辑 世界华人消化杂志社委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号

E-mail: wejd@wjgnet.com

出版 世界华人消化杂志社

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 北京科博印刷厂

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 世界华人消化杂志社发行部

(100023, 北京市 2345 信箱)

电话 (010)85381892

传真 (010)85381893

2003 年版权归世界华人消化杂志社所有

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》(Medline)

俄罗斯《文摘杂志》(PKO)

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

中医生物医学文献光盘数据库

《中文科技资料目录·医药卫生》

中国生物医学期刊全文数据库

中国医学文摘外科学分册(英文版)

中医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华人
消化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,
请向本刊编辑部投诉。

ISSN 1009-3079

邮发代号 26-262

国外代号 M 4481

国内定价

每期 24.00 元

全年 288.00 元

广告经营许可证

140100400

CN 14-1260/R

小鼠甲胎蛋白基因的克隆真核表达载体构建及表达鉴定

田 耕, 易继林

田耕, 易继林, 华中科技大学同济医学院附属同济医院普外科 湖北省武汉市 430030

田耕, 男, 1971-03-18 生, 陕西省宝鸡市人, 汉族, 博士, 主治医师。
项目负责人: 田耕, 430030, 湖北省武汉市汉口解放大道 1095 号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院普外科. geng_tian707@hotmail.com
电话: 027-83663402

收稿日期: 2003-03-08 接受日期: 2003-03-25

Gene cloning of murine α -fetoprotein gene and construction of its eukaryotic expression vector and expression in CHO cells

Geng Tian, Ji-Lin Yi

Geng Tian, Ji-Lin Yi, Department of General Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Geng Tian, Department of General Surgery, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China.

geng_tian707@hotmail.com

Received: 2003-03-08 Accepted: 2003-03-25

Abstract

AIM: To clone murine AFP gene, to construct the eukaryotic expression vector of AFP and express it in CHO cells.

METHODS: Total RNA was extracted from Hepa1-6 cells, then the murine AFP gene was amplified by RT-PCR and cloned into the eukaryotic expression vector pcDNA3.1. The recombinant vector was transformed into *E.coli*. DH5 α , the positive clones were selected and plasmid DNA was identified by restriction enzyme analysis and sequencing. After transient transfection of CHO-K1 cells with the recombinant vector, Western blotting was used to detect the expression of AFP.

RESULTS: The 1.8 kb murine α -fetoprotein gene was successfully cloned from the total RNA of Hepa1-6 cells. Result from restriction enzyme analysis and sequencing showed that the murine α -fetoprotein gene was successfully inserted into pcDNA3.1. Result from Western blotting showed that the recombinant vector could express murine α -fetoprotein in CHO-K1 cells.

CONCLUSION: The successfully constructed eukaryotic expression vector of murine α -fetoprotein could provide a basis for the research of immunotherapy for hepatocellular carcinoma with pmAFP.

Tian G, Yi JL. Gene cloning of murine α -fetoprotein gene and construction of its eukaryotic expression vector and expression in CHO cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(11):1674-1676

摘要

目的: 克隆小鼠甲胎蛋白(AFP)基因, 构建小鼠AFP真核表

达载体并进行表达鉴定。

方法: 从 Hepa1-6 细胞中提取总 RNA 进行 RT-PCR, 克隆出小鼠 AFP 基因, 亚克隆于 pcDNA3.1 载体, 重组阳性克隆进行酶切和测序鉴定。重组质粒瞬时转染CHO-K1细胞, Western blot 检测小鼠 AFP 的表达。

结果: 利用 RT-PCR 从 Hepa1-6 细胞总 RNA 中成功克隆出 1.8 kb 的小鼠 AFP 基因, 重组阳性克隆经酶切和测序鉴定证实目的基因已正确插入 pcDNA3.1 载体中, Western blot 结果证实重组质粒 pmAFP 能够在 CHO-K1 细胞中正确表达。

结论: 小鼠 AFP 真核表达载体构建成功, 为进一步研究其在肝癌免疫治疗中的作用奠定了基础。

田耕, 易继林. 小鼠甲胎蛋白基因的克隆真核表达载体构建及表达鉴定. 世界华人消化杂志 2003;11(11):1674-1676

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1674.asp>

0 引言

肿瘤生物治疗^[1]是继手术^[2-13]、放疗^[2, 14, 15]、化疗^[2, 16-18]后的一项有效的辅助治疗手段, 其中, 肿瘤疫苗又为肿瘤生物治疗的热点^[19, 20]。目前, 肿瘤疫苗主要包括全细胞疫苗、多肽疫苗、基因工程疫苗、DNA 疫苗^[21]、抗独特型抗体疫苗^[22]等多种形式。其中, DNA 疫苗技术是 1990 年代初发展起来的一项新兴免疫技术, 因其独有的特点而更受瞩目。肝细胞肝癌(HCC)作为常见消化系统肿瘤, 复发率高, 预后较差^[23-33]。AFP 作为肝癌的相关抗原存在 CTL 免疫显性表位, 完全可以作为肝癌免疫治疗的靶的^[34, 35]。我们构建了编码小鼠 AFP 的真核表达载体, 为进一步研究基于 AFP 的肝癌免疫治疗奠定了基础。

1 材料和方法

1.1 材料 小鼠肝癌细胞系 Hepa 1-6 由第二军医大学王皓博士惠赠; CHO-K1 细胞由中国典型培养物保藏中心提供; *E.coli*. DH5 α 菌种由华中科技大学同济医学院蔡俐琼硕士惠赠; 真核表达载体 pcDNA3.1/myc-His 购自 Invitrogen 公司; RT-PCR 试剂盒(Ver.2.1)、Ex Taq 高保真 Taq 酶、限制性内切酶、T4 DNA 连接酶和 DNA Marker (DL2000) 购自宝生物工程(大连)有限公司; Trizol 试剂和 RPMI1640 培养基为 Gibco 公司产品、胎牛血清为 Hyclone 公司产品; 脂质体 Lipofectamine 2000 和 Opti-MEM

培养基为Invitrogen公司产品; 质粒小量制备试剂盒和琼脂糖凝胶核酸纯化回收试剂盒为Omega公司产品; 羊抗人AFP多克隆抗体购自Sant Cruz公司; HRP标记的抗羊二抗体为北京中山生物工程公司进口分装产品; ECL显色剂为Pharmacia公司产品; 其余试剂均为国产或进口分析纯试剂。

1.2 方法

1.2.1 小鼠 AFP 基因的克隆 培养 Hepa 1-6 细胞至对数期, 收集细胞, 细胞数应在 $(5-10) \times 10^6$, 用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA。为了克隆包括分泌信号在内的 AFP 全长基因, 设计的引物为 P1、P2, P1: 5' -CTC AGGAATTGCCATGAAGTGGATCACA-3', 在 5' 端引入酶切位点 Eco RI; P2: 5' -CTCTGCTCTAGATTAC TCGAGAACGCCAAAGCATCACG-3', 在 3' 端引入酶切位点 Xba I。引物由上海博亚生物工程公司合成。利用 RT-PCR 试剂盒反转录出 cDNA 第 1 链, 引物采用 Oligo dT, 条件为: 42 °C 30 min、99 °C 5 min、5 °C 5 min。采用 Ex Taq 高保真 Taq 酶进行随后的 PCR。PCR 条件为: 94 °C 预变性 2 min、94 °C 30 s、60 °C 30 s、72 °C 2 min, 30 个循环, 末次 72 °C 延伸 5 min。取 PCR 产物 3 μl 进行琼脂糖凝胶电泳, 观察结果。

1.2.2 重组质粒的构建、酶切及测序鉴定 克隆的小鼠 AFP 基因经 Eco RI 和 Xba I 同时双酶切后, 琼脂糖凝胶电泳回收、纯化; 质粒 pcDNA3.1/myc-His 同样经 Eco RI 和 Xba I 同时双酶切后, 回收纯化。目的基因与质粒按 3 : 1 的比例混合, 加入 T4DNA 连接酶进行连接反应 (18 °C, 16 h)。构建的质粒命名为 pmAFP。将上述连接产物转化大肠杆菌 DH5α, 涂平板, 氨苄青霉素筛选阳性菌落。挑取单个菌落培养, 小量质粒制备。pmAFP 用 Eco RI 和 Xba I 进行单酶切或双酶切鉴定。酶切鉴定正确的质粒, 挑取相应菌落培养后送上海博亚生物工程公司进行双向测序。

1.2.3 pmAFP 转染 CHO 细胞与蛋白表达检测 利用脂质体 Lipofectamine 2000 瞬时转染 CHO-K1 细胞, 按说明书进行操作, 同时做空载体对照。在 6 孔板每孔中加入 5×10^5 个 CHO-K1 细胞, 24 h 后加入分别稀释于 Opti-MEM 培养基的 4 μg 质粒和 10 μl Lipofectamine 2000, 48 h 后裂解细胞, 提取蛋白。蛋白质经电泳后, 半干法转印至硝酸纤维素膜上, 一抗为羊抗人 AFP 多克隆抗体, 然后用 HRP 标记的抗羊二抗孵育, ECL 显色。

2 结果

2.1 小鼠 AFP 基因的克隆 提取的总 RNA A260/A280 比值为 1.885, 表明总 RNA 较纯。以反转录的 cDNA 为模板, 用设计引物进行 PCR 扩增, 所得特异性条带均与预期长度为 1.8 kb 的目的基因相符(图 1)。

2.2 重组质粒酶切及测序鉴定 证明重组质粒带有相应的目的基因(图2)。对重组子进行测序, 结果与 Gene bank Blast 比对, 本实验克隆出的小鼠 AFP 基因与 Gene bank 所给出的小鼠 AFP 基因有 99.7 % 的碱基相同, 共有 5

个碱基不同, 其中有两个碱基为密码子的第 3 位碱基, 未改变所编码的氨基酸。

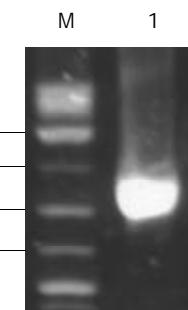


图1 RT-PCR获得小鼠 AFP 基因。M: DNA marker; 1: Murine AFP gene.

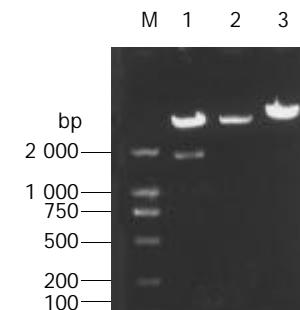


图2 重组质粒 pmAFP 酶切鉴定。M: DNA marker(DL2000); 1: pmAFP (Eco RI + Xba I); 2:pcDNA3.1(Eco RI); 3: pmAFP(Eco RI)。

2.3 Western blot 检测蛋白表达 利用脂质体 Lipofectamine 2000 (Invitrogen) 瞬时转染 CHO-K1 细胞, 48 h 后提取蛋白。Western blot 检测可检出转染细胞中有 M, 70 000 的特异性蛋白条带(图 3), 表明小鼠 AFP 基因在真核细胞内得到表达。

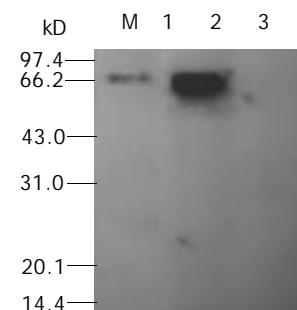


图3 Western blot 检测结果。1: CHO-K1/pmAFP; 2: Hepa 1-6; 3: CHO-K1/pcDNA3.1。

3 讨论

DNA 疫苗作为一种新的免疫接种手段, 问世不久就在感染性疾病及肿瘤的防治中显示出巨大的应用潜力。然而, 以往的研究显示, 肝癌抗原性弱, 缺少特异性抗原, 这成为肝癌免疫治疗的一个主要难点。随着基础免疫学与肿瘤免疫学的迅猛发展, 人们已认识到: (1)细胞免疫尤其是 CD8⁺ 的 T 细胞介导的特异性 MHC-I 类分子限制性细胞免疫功能在抗肿瘤免疫中起决定作用; (2)特异性 CD8⁺ T 细胞激活及杀伤靶细胞的前提是 TCR 同时识

别MHC-I类分子与8-10个氨基酸残基组成的CTL表位肽。在此理论基础上，寻找肿瘤特异性或相关性抗原及其CTL表位用以构建CTL疫苗的研究方兴未艾并取得重大突破，对黑色素瘤、结肠癌、乳腺癌的免疫治疗研究已进入I、II期临床。运用这种方法对人AFP的研究发现，人的AFP存在4个CTL表位，这些免疫显性表位能诱导T细胞产生AFP特异性的CTL，产生针对AFP的抗肝癌免疫力^[34, 35]。研究已证实，基于AFP的免疫治疗在小鼠体内能够诱导T细胞产生AFP特异性的CTL，产生针对AFP的抗肝癌免疫力。

我们克隆出的小鼠AFP基因共有1818个碱基，与Gene bank所给出的小鼠AFP基因有99.7%的碱基相同，共有5个碱基不同，其中有两个碱基为密码子的第3位碱基，未改变所编码的氨基酸。存在差异的原因可能是Gene bank所给出的小鼠AFP基因来源于小鼠13d胚胎的肝脏。

4 参考文献

- 1 Liu XJ, Wang BM. Biological therapy on esophageal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohu Zazhi* 2000;8:1027-1029
- 2 Tang ZY. Clinical research of hepatocellular carcinoma in the 21st century. *China Natl J New Gastroenterol* 1995;1:2-3
- 3 Fan YZ, Cai TN, Wang BC. Studies on surgical operations and prognosis of extrahepatic bile duct cancer. *China Natl J New Gastroenterol* 1996;2:27-29
- 4 Bu P. Effect of remedies of supporting resistance and relieving blood stasis on metastasis of post-operative gastric cancer and ornithine decarboxylase. *China Natl J New Gastroenterol* 1997;3:129-130
- 5 Wang JH, Lin G, Yan ZP, Wang XL, Cheng JM, Li MQ. Stage II surgical resection of hepatocellular carcinoma after TAE: a report of 38 cases. *World J Gastroenterol* 1998;4:133-136
- 6 Wu MC. Clinical research advances in primary liver cancer. *World J Gastroenterol* 1998;4:471-474
- 7 Wu XY, Zhang XF, Yin FS, Lu HS, Guan GX. Clinical study on surgical treatment of esophageal carcinoma in patients after subtotal gastrectomy. *World J Gastroenterol* 1998;4(Suppl 2):68-69
- 8 Wu XY, Zhang XF, Yin FS, Cai JC, Guan GX. Surgical treatment of residual stomach cancer with a new technique of alimentary tract reconstruction. *World J Gastroenterol* 1998;4(Suppl 2):69-70
- 9 Qiu SQ, Wang JY. Diagnosis and treatment of malignant leioblastoma of small intestine. *World J Gastroenterol* 1998;4(Suppl 2):80
- 10 Lin CH. Resection of gastric carcinoma with preservation of pancreas and clearance of lymph nodes along splenic artery: theory, technique and results. *World J Gastroenterol* 1999;5:81-83
- 11 He XS, Huang JF, Liang LJ, Lu MD, Cao XH. Surgical resection for hepatoportal bile duct cancer. *World J Gastroenterol* 1999;5:128-131
- 12 Zou SC, Qiu HS, Zhang CW, Tao HQ. A clinical and long-term follow-up study of peri-operative sequential triple therapy for gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2000;6:284-286
- 13 Wang YF, Wu XN, Wu Q, Zhang XQ, Chen XF, Zhou XH, Wen WQ, Chen MY. Biological significance of serum soluble tumor necrosis factor receptor I in hepatoma patients. *China Natl J New Gastroenterol* 1996;2:89-91
- 14 Xiao ZF, Yang ZY, Zhou ZM, Yin WB, Gu XZ. Radiotherapy of double primary esophageal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2000;6:145-146
- 15 Shang KZ. Evolution of gastrointestinal double contrast radiography in China: researches, application and popularization. *World J Gastroenterol* 1998;4:197-201
- 16 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
- 17 Li GF, Xie SB, Sun H, Yang XH, Liu WJ, Zhai Q, Zhou YX, Li ZH, Zhang GM. An investigation of intra-arterial chemotherapy infusion and embolization combined with abdominal chemotherapy for advanced gastric cancer. *World J Gastroenterol* 1998;4(Suppl 2):71-72
- 18 Wu ZQ, Fan J, Qiu SJ, Zhou J, Tang ZY. The value of postoperative hepatic regional chemotherapy in prevention of recurrence after radical resection of primary liver cancer. *World J Gastroenterol* 2000;6:131-133
- 19 Sheridan J, Bull T, Sumar N, Cheng J, Hermon-Taylor J. Bioinformatics and protein modelling of the GS element of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) and GS-encoded proteins as drug targets and vaccine components. *World J Gastroenterol* 2000;6(Suppl 3):11
- 20 Ma Z, Zhou SJ, Wu KC, Pan BR, Qiao TD, Chen BJ, Fan DM. Immuno-protective effect of tumor cell vaccine on Kunming mice bearing Ehrlich ascites tumor. *World J Gastroenterol* 1998;4:404-408
- 21 Han R, Cladel NM, Reed CA, Peng X, Budgeon LR, Pickel M, Christensen ND. DNA vaccination prevents and/or delays carcinoma development of papillomavirus-induced skin papillomas on rabbits. *J Virol* 2000;74:9712-9716
- 22 Wilkinson RW, Ross EL, Lee-MacAry AE, Laylor R, Burchell J, Taylor-Papadimitriou J, Snary D. A transgenic mouse model for tumour immunotherapy: induction of an anti-idiotype response to human MUC1. *Br J Cancer* 2000;83:1202-1208
- 23 Tang ZY, Sun FX, Tian J, Ye SL, Liu YK, Liu KD, Xue Q, Chen J, Xia JL, Qin LX, Sun SL, Wang L, Zhou J, Li Y, Ma ZC, Zhou XD, Wu ZQ, Lin ZY, Yang BH. Metastatic human hepatocellular carcinoma models in nude mice and cell line with metastatic potential. *World J Gastroenterol* 2001;7:597-601
- 24 Ikeda M, Okada S, Ueno H, Okusaka T, Kuriyama H. Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma with multiple lung metastases: a case report. *Jpn J Clin Oncol* 2001;31:454-458
- 25 Wang ZX, Hu GF, Wang HY, Wu MC. Expression of liver cancer associated gene HCCA3. *World J Gastroenterol* 2001;7:821-825
- 26 Tang ZY. Hepatocellular carcinoma-Cause, treatment and metastasis. *World J Gastroenterol* 2001;7:445-454
- 27 Cui J, Zhou XD, Liu YK, Tang ZY, Zile MH. Abnormal beta-catenin gene expression with invasiveness of primary hepatocellular carcinoma in China. *World J Gastroenterol* 2001;7:542-546
- 28 Huang XF, Wang CM, Dai XW, Li ZJ, Pan BR, Yu LB, Qian B, Fang L. Expressions of chromogranin A and cathepsin D in human primary hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2000;6:693-698
- 29 Liang Y, Lu B, Cui ZF, Li XD, Guo YJ, Lu YJ. The expression of Fas/FasL in hepatocellular carcinomas. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1364-1368
- 30 Lee JH, Ku JL, Park YJ, Lee KU, Kim WH, Park JG. Establishment and characterization of four human hepatocellular carcinoma cell lines containing hepatitis B virus DNA. *World J Gastroenterol* 1999;5:289-295
- 31 Parks R, Garden OJ. Liver resection for cancer. *World J Gastroenterol* 2001;7:766-771
- 32 Xu HY, Yang YL, Guan XL, Song G, Jiang AM, Shi LJ. Expression of regulating apoptosis gene and apoptosis index in primary liver cancer. *World J Gastroenterol* 2000;6:721-724
- 33 Lin NF, Tang J, Ismael HS. Study on environmental etiology of high incidence areas of liver cancer in China. *World J Gastroenterol* 2000;6:572-576
- 34 Butterfield LH, Meng WS, Koh A, Vollmer CM, Ribas A, Dissette VB, Faull K, Glaspy JA, McBride WH, Economou JS. T cell responses to HLA-A*0201-restricted peptides derived from human α -fetoprotein. *J Immunol* 2001;15:166:5300-5308
- 35 Meng WS, Butterfield LH, Ribas A, Dissette VB, Heller JB, Miranda GA, Glaspy JA, McBride WH, Economou JS. α -fetoprotein-specific tumor immunity induced by plasmid prime-adenovirus boost genetic vaccination. *Cancer Res* 2001;61:8782-8786



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

11>

A standard linear barcode representing the ISSN number 1009-3079, with the number 9 771009 307056 printed below it.