

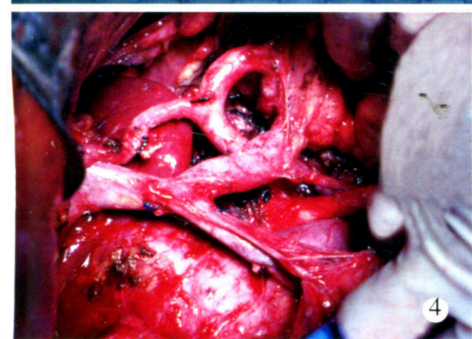
# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 5 月 15 日 第 11 卷 第 5 期

(Volume 11 Number 5)



**5/2003**

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. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 1.445. 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5月15日 第11卷 第5期(总第109期)

述 评	497 刮吸解剖法在肝门胆管癌手术切除中的应用 彭淑牖,刘颖斌 499 我国小肠疾病的研究现状 智发朝 502 2003年度国家自然科学基金医学和生物学项目指南概述 崔慧斐,江学良,马连生
食 管 癌	508 食管上皮癌变过程中环氧化酶-2表达上调 齐凤英,张林西,韩彩丽,左连富,林培中,郭建文 512 腺病毒介导的 p27kip1 对食管癌裸鼠模型抑制的作用 张卫国,吴清明,童强,于皆平 517 腺病毒介导的 cox-2 反义 RNA 对食管癌细胞株 DNA 和蛋白质合成的影响 李胜保,吴清明,王强,王小虎,谢国建
胃 癌	522 胃癌 SMAD4/DPC4 杂合性丢失的研究 朱亚青,尹浩然,朱正纲,刘炳亚,张奕,陈雪华,于颖彦,林言箴 526 胃癌增生凋亡与调节基因的表达 潘传敬,刘宽宇 531 慢性萎缩性胃炎胃泌素、生长抑素、表皮生长因子、血管活性肠肽的测定及临床意义 郭昱,郭霞,姚希贤
大 肠 癌	535 CD/5-FC系统对结肠癌细胞的杀伤作用 黎成金,马庆久,赖大年,鲁建国,王小军,王青,潘伯荣,武永忠,李金茂 540 大肠腺癌组织 Survivin 蛋白的表达意义 肖军,邓长生,朱尤庆
幽门螺杆菌	544 胃癌细胞系幽门螺杆菌感染对金属蛋白酶表达的影响 李新华,张桂英,罗非君,徐美华,李乾 547 表达幽门螺杆菌热休克蛋白 60 克隆的构建 白杨,黄文,林焕健,王继德,陈烨,张兆山,周殿元,张亚历 551 幽门螺杆菌感染者胃黏膜中内质网分子伴侣 Grp94 的表达 王孟春,方文刚,顾金歌,李岩 554 幽门螺杆菌 CagA 蛋白与胃癌组织中 Bcl-2、p53 蛋白表达的关系 杜雅菊,赵晶,赵瑞波,李宝杰 558 根除 <i>H. pylori</i> 后应用灭 <i>Hp</i> 煎剂对慢性胃炎病变的影响 王娜,姚希贤,张琳,白文元,冯丽英 562 <i>Hp</i> 对慢性萎缩性胃炎内皮素及一氧化氮水平影响的实验与临床研究 郭昱,郭霞,姚希贤
基 础 研 究	565 大蒜素对大鼠溃疡性结肠炎淋巴细胞凋亡及其调控蛋白的影响 徐细明,于皆平,何小飞,李军华,郑敏,於亮亮 569 泻剂结肠大鼠结肠中的 mu、kappa 阿片受体变化 刘宝华,莫平,张胜本 571 香砂平胃散对小鼠胃排空的影响 王学清,王秀杰,李岩 575 术香冲剂对小鼠胃肠动力的影响 李岩,王学清,张卫卫,王江玥 578 EGF 对小肠缺血再灌注后磷酸化 p44/42 MAPK 表达的影响 李平,邢峰,付小兵,杨银辉,郭宝琛
焦 点 论 坛	583 吻合方法对防止胰肠吻合口漏的重要性 彭淑牖,刘颖斌 584 胰十二指肠切除术的适应证 许斌,刘颖斌,王建伟,曹利平,彭淑牖 587 胰十二指肠切除术的主要并发症及诊断与治疗 邓贵龙,李海军,刘颖斌,牟一平,彭淑牖 589 胰十二指肠切除术后胰漏的发生机制 王建伟,许斌,蔡秀军,李海军,刘颖斌,彭淑牖 591 胰肠吻合方法的演进 白明东,刘颖斌,李海军,彭淑牖 593 彭氏捆绑式胰肠吻合术的临床应用 陈晓鹏,刘颖斌,李海军,许斌,王建伟,李江涛,王新保,吴育连 595 彭氏型捆绑式胰肠吻合术 史留斌,方河清,刘颖斌,李海军,王建伟,许斌 596 捆绑式胰肠吻合术防止胰漏的机制 刘颖斌,彭淑牖
文 献 综 述	598 人工肝生物反应器研究进展 向德栋,王英杰,王宇明 601 肝纤维化治疗的新热点-TIMPs 谢玉梅,聂青和 606 p63 基因研究进展 司少艳,张建中 610 老年期消化系疾病的诊疗特点 宋于刚

文献综述	613 胆道系统运动调节及功能性胆道运动异常的诊治 陈仕珠 619 肠黏膜屏障研究进展 武金宝,王继德,张亚历 624 线粒体 DNA 与消化性肿瘤关系的研究进展 韩琤波,李凡,辛彦 628 热休克蛋白在胃溃疡中的表达及意义 向廷秀,王丕龙 632 内镜技术在消化系疾病诊疗中的应用 韩英 635 幽门螺杆菌的研究进展 徐智民,张万岱,周殿元 640 肠镜检查在早期大肠癌诊断中的重要作用 张亚历,周殿元 643 超声内镜检查在胃肠疾病中的临床应用 郭文 646 老年期消化道出血的鉴别诊断与治疗措施 宋卫生,杨希山 649 老年期消化性溃疡临床用药的合理选择 白岚 651 肥大细胞与功能性胃肠疾病 彭丽华,杨云生 654 肝门胆管癌的超声影像学诊断 王彬,陈路增,赵建勋,孙占祺 656 Budd-Chiari 综合征的分型及诊断 许伟华,朱菊人 658 部分脾栓塞术国内应用现状 朱晓玲
研究快报	663 FAK 在大肠癌中的表达及其临床意义 杨红军,丁彦青 665 大黄对大鼠结肠动力及肠神经系统的影响 董卫东,张胜本,刘宝华,张连阳,黄显凯,高峰 668 胃癌患者血清 TNF- $\alpha$ 的水平及意义 陈剑群,许统俭,安侠,王营,陈玉林
临床经验	670 前列腺素 E <sub>1</sub> 对急性胰腺炎二十碳烯酸异常代谢调节的临床研究 李庭赞,孙丹莉,孙士其 671 肝硬化腹水并发肝肾综合征及低渗性脑病与限钠治疗关系的研究 刘建军,智红,吴晓英,李楠 673 金属夹联合内镜注射治疗胃肠道出血 王孟春,李立,常桂艳,孙思予,孙素云 675 内镜诊疗实现无痛苦操作的临床评价 游旭东,陈玲玲,郑晓蕾,王鹏,吴永伟,孔晓丽,许元印 677 经皮经肝胆囊引流治疗急性胆囊炎和重症胆管炎的价值 张国梁,朱春兰,任旭 679 进展期胰腺癌 299 例 王成锋,赵平,李文波,宋德余 681 食管、贲门癌染色体异常分析及意义 武珊珊,刘吉福,王明荣 684 空回肠出血 27 例 石力,田伏洲,李旭,周庆贤,赵碧,薛刚 686 食管鳞癌免疫组化彩色图像定量分析 韩永,徐燕杰,李宁,布和,宋晶莹,赵敏
病例报告	662 大肠 3 原癌 1 例 姚红兵,吴爱国,朱卉娟
封面故事	605 浙江大学医学院附属第二医院外科

# 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 2003-05-15  
 原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀	张金哲
黄象谦	张学庸
黄志强	赵东海
黎介寿	周殿元
刘耕陶	社长总编辑 马连生
裘法祖	中文编辑 潘伯荣
汤钊猷	王瑾晖
王宝恩	英文编辑 张建中
危北海	排版 李少华
吴孟超	校对 李天华
吴咸中	

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( )》  
 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  
 CN 14-1260/R

邮发代号 82-262  
 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  
 1401004000050



**COMMENTARY**

Application of scraping and suctioning dissection in surgical remove of cholangiocarcinoma in porta hepatis

Peng SY, Liu YB 497

Current status of intestinal diseases in China

Zhi FC 499

Introduction to application directory of National Natural Science Foundation of China (Medicine and Biology, 2003)

Cui HW, Jiang XL, Ma LS 502

**ESOPHAGEAL CANCER**

Up-regulation of cyclooxygenase-2 in carcinogenesis of esophageal epithelia

Qi FY, Zhang LX, Han CL, Zuo LF, Lin PZ, Guo JW 508

Inhibitory effect of p27kip1 mediated by adenovirus on model of esophageal carcinoma in nude mice

Zhang WG, Wu QM, Tong Q, Yu JP 512

Effects of adenovirus-mediated human cox-2 antisense RNA on synthesis of DNA and proteins in esophageal carcinoma cell line

Li SB, Wu QM, Wang Q, Wang XH, Xie GJ 517

**GASTRIC CANCER**

Loss of heterozygosity of SMAD4/DPC4 in gastric carcinoma

Zhu YQ, Yin HR, Zhu ZG, Liu BY, Zhang Y, Chen XH, Yu YY, Lin YZ 522

Proliferation/apoptosis and expression of P53 and Bcl-2 in gastric carcinoma

Pan CJ, Liu KY 526

Changes of gastrointestinal hormones in chronic atrophic gastritis and their clinical significance

Guo Y, Guo X, Yao XX 531

**LARGE INTESTINAL CANCER**

Killing effect of CD/5-FC system on human colon cancer cell lines SW 480 and LoVo

Li CJ, Ma QJ, Lai DN, Lu JG, Wang XJ, Wang Q, Pan BR, Wu YZ, Li JM 535

Expression of survivin protein in colorectal adenocarcinoma

Xiao J, Deng CS, Zhu YQ 540

***H.pylori***

Influence of expression of matrix metalloproteinase induced by *H. pylori* infection in gastric cancer cell line

Li XH, Zhang GY, Luo FJ, Xu MH, Li Q 544

Construction of clone expressing adhesin Hsp60 of *Helicobacter pylori*

Bai Y, Huang W, Lin HJ, Wang JD, Chen Y, Zhang ZS, Zhou DY, Zhang YL 547

Expression of glucose-regulation protein 94 in gastric mucosa infected

with *Helicobacter pylori*

Wang MC, Fang WG, Gu JG, Li Y 551

Relationship between expression of Bcl-2 and p53 protein and CagA<sup>+</sup> *Helicobacter pylori* in gastric cancer

Du YJ, Zhao J, Zhao RB, Li BJ 554

Histologic changes after *H.pylori* eradication with Killing *Hp* decoction for chronic gastritis

Wang N, Yao XX, Zhang L, Bai WY, Feng LY 558

Changes of nitricoxide and endothelin in *Helicobacter pylori* associated chronic atrophic gastritis before and after eradication: an experimental and clinical study

Guo Y, Guo X, Yao XX 562

**BASIC RESEARCH**

Effects of allitridi on lymphocyte apoptosis and its regulatory gene expression in rat ulcerative colitis

Xu XM, Yu JP, He XF, Li JH, Zheng M, Yu LL 565

Changes of mu and kappa opioid receptors in cathartic colon of rats

Liu BH, Mo P, Zhang SB 569

Effect of Xiangsha Pingweisan on gastric emptying motility in mice

Wang XQ, Wang XJ, Li Y 571

Effect of Zhuxiang powder on gastric and intestinal motility in mice

Li Y, Wang XQ, Zhang WW, Wang JY 575

Effects of EGF on expression of phosphorylated p44/42 MAPK in rat small intestine after ischemia-reperfusion injury

Li P, Xin F, Fu XB, Yang YH, Guo BC 578

**FOCUSED FORUM**

The significance of pancreaticojejunostomy method on prevention of pancreatic leakage

Peng SY, Liu YB 583

Diagnosis and treatment of principal complications of pancreaticojejunostomy

Deng GL, Li HJ, Liu YB, Mou YP, Peng SY 587

Mechanisms of pancreatic leakage after pancreaticoduodenectomy

Wang JW, Xu bin, Cai XJ, Li HJ, Liu YB, Peng SY 589

The development of pancreaticojejunostomy methods

Bai MD, Peng CH, Liu YB, Peng SY, Li HJ 591

The clinic application of Peng's binding pancreaticojejunostomy

Cheng XP, Wu YL, Liu YB, Peng SY, Li HJ 593

Type Peng's binding pancreaticojejunostomy

Shi LB, Fang HQ, Liu YB, Li HJ, Wang JW, Xu B 595

Mechanisms of binding pancreaticojejunostomy to prevent pancreatic leakage

Liu YB, Peng SY 596

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi \$

World Chinese Journal of Digestology  
Monthly \$ \$

**Founded** on 15th January, 1993

**Renamed** on 25th January, 1998

**Publication** date 15th May, 2003

**Honorary-Editor-in-Chief**

Bo-Rong Pan

**President and Editor-in-Chief**

Lian-Sheng Ma

**ISSN** 1009-3079 **CN** 14-1260/R

**Edited by** Editorial Board of World Chinese Journal of Digestology  
P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

**Published by** The WJG Press

77, Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Overseas Distributor** China International Book Trading Corporation  
P.O.Box 399, Beijing 100044, China **Code No.** M4481

**Mail-Order** Circulation Section, The WJG Press

P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

**Copyright © 2003 by The WJG Press**

**Indexed/**

**Abstracted by**

Chemical Abstracts

EMBASE/

Excerpta Medica

Abstract Journal

# EGF对小肠缺血再灌注后磷酸化p44/42 MAPK表达的影响

李平, 邢峰, 付小兵, 杨银辉, 郭宝琛

李平, 郭宝琛, 中国人民解放军第304医院麻醉科 北京市 100037  
邢峰, 中国人民解放军第二炮兵总医院麻醉科 北京市 100088  
付小兵, 杨银辉, 中国人民解放军第304医院创伤研究室 北京市 100037  
李平, 男, 1966年生, 北京市人, 汉族, 学士学位, 主治医师, 主要从事麻醉学与重症治疗的临床和研究工作。  
国家重点基础研究发展规划基金资助项目, No.G1999054204和国家自然科学基金, No.39900054  
项目负责人: 付小兵, 100037, 北京市海淀区阜成路51号, 中国人民解放军第304医院创伤研究室 fuxb@cgw.net.cn  
电话: 010-66867396  
收稿日期: 2002-05-11 接受日期: 2002-07-12

## Effects of EGF on expression of phosphorylated p44/42 MAPK in rat small intestine after ischemia-reperfusion injury

Ping Li, Feng Xin, Xiao-Bing Fu, Yin-Hui Yang, Bao-Chen Guo

Ping Li, Bao-Chen Guo, Department of Anesthesiology, 304 Hospital of PLA, Beijing 100037, China  
Feng Xin, Department of Anesthesiology, the Second Artillery General Hospital of PLA, Beijing 100088, China  
Xiao-Bing Fu, Yin-Hui Yang, Trauma Research Institute, 304 Hospital of PLA, Beijing, 100037, China  
Supported by the National Basic Science and Development Programme of China, No.G1999054204, and the National Natural Science Foundation of China, No.39900054  
Correspondence to: Xiao-Bing Fu, Trauma Research Institute, 304 Hospital of PLA, Beijing, China. fuxb@cgw.net.cn  
Received: 2002-05-11 Accepted: 2002-07-12

## Abstract

**AIM:** To investigate the effects of EGF on the characteristics of phosphorylated p44/42 MAPK expression and its biological significance in EGF-induced gut repair after ischemia-reperfusion (I/R) injury.

**METHODS:** A total of 80 Wistar rats were randomly divided into four groups, namely EGF treated group (E), normal saline control (R), ischemia group (I) and sham operated control (C). In group E and R, the rats were treated with intravenous EGF 100 µg/kg/rat or normal saline respectively after 45 minutes of superior mesenteric artery occlusion. Blood samples were collected at 2, 6, 12 and 24 hours after reperfusion and plasma D-lactate were determined. Tissue samples from intestine were also taken for histological analysis and immunohistochemical analysis of phospho-p44/42 MAPK.

**RESULTS:** The changes of histological structure and D-lactate indicated that the intestinal barrier was damaged after intestinal I/R injury, while EGF treatment significantly improved the outcome. In group C and I positive signals of phospho-p44/42 MAPK were mainly located in the cytoplasm of the intestinal villi and crypts, while in group I positive cells increased significantly ( $P < 0.05$ ). In group R, positive signals were

found in almost all the cells and the percentage of positive nuclei increased with the time of reperfusion, reaching its peak after 12h of reperfusion. In group E, the percentages were higher than those in group R and the peak of nuclear expression was earlier.

**CONCLUSION:** EGF administration improves the outcome of I/R induced intestinal damage. After I/R the expression and nuclear translocation of phospho-p44/42 MAPK increases with the time of reperfusion, suggesting its role in intestinal reconstitution. EGF treatment induces its early expression and translocation into the nucleus, suggesting the significance of p44/42 MAPK signaling pathway in EGF-induced gut repair.

Li P, Xin F, Fu XB, Yang YH, Guo BC. Effects of EGF on expression of phosphorylated p44/42 MAPK in rat small intestine after ischemia-reperfusion injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(5):578-582

## 摘要

**目的:** 观察表皮生长因子(EGF)对大鼠肠缺血-再灌注(I/R)后磷酸化细胞外信号调节激酶(phospho-p44/42 MAPK)表达的影响。

**方法:** 夹闭大鼠肠系膜上动脉根部45 min之后放松血管夹形成再灌注, 同时经颈静脉分别注入EGF 100 µg/kg或生理盐水, 分别于伤后2、6、12和24 h将动物活杀。设置对照组和单纯缺血组。检测血浆D-乳酸浓度, 取小肠组织进行形态学观察, 用免疫组织化学方法研究磷酸化p44/42 MAPK的表达。

**结果:** (1)再灌注后血浆D-乳酸水平升高, 小肠黏膜充血、水肿、炎细胞浸润及坏死糜烂, 再灌注后6 h最显著。EGF显著降低D-乳酸水平升高的幅度( $P < 0.05$ ), 明显改善I/R引起的病理损害。(2)磷酸化p44/42 MAPK染色显示, 正常大鼠的绒毛上皮、陷窝和固有层细胞均有阳性颗粒, 主要存在于胞质内。缺血和再灌注后阳性细胞数量显著增加, 随再灌注时间的延长, 阳性颗粒逐渐转位入核, 在12 h最显著。24 h主要表现为胞质内表达。EGF治疗后阳性细胞数量增多, 细胞核表达的数量增加。

**结论:** 肠道I/R损伤激活磷酸化p44/42 MAPK的表达, EGF促进p44/42 MAPK的早期表达与核转位, 从而参与细胞的应激反应和增生与分化。

李平, 邢峰, 付小兵, 杨银辉, 郭宝琛. EGF对小肠缺血再灌注后磷酸化p44/42 MAPK表达的影响. *世界华人消化杂志* 2003;11(5):578-582  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/578.htm>

## 0 引言

利用生长因子调控损伤修复的意义已经引起人们的重视<sup>[1]</sup>, 表皮生长因子(EGF)参与内脏损伤后的主动修复过程也已得到实验证实<sup>[2-5]</sup>. 与此同时, 细胞外信号调节激酶(extracellular-signal regulated protein kinase, p44/42 MAPK)在 EGF 等生长因子刺激引起的细胞反应中起重要调控作用<sup>[6-8]</sup>. 体外研究证实, EGF 可以通过激活 p44/42 MAPK 通路促进小肠细胞的增生反应<sup>[9-11]</sup>. 本实验利用大鼠肠 I/R 损伤模型, 给予大鼠静脉注射 EGF, 观察血浆 D-乳酸浓度的变化规律以及相应的病理学改变, 用免疫组织化学方法研究肠 I/R 引起的 p44/42 MAPK 的表达规律以及 EGF 对 p44/42 MAPK 表达的影响, 进而探讨其在创伤修复中的作用.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** Wistar 大鼠, 体质量 200-250 g(购自军事医学科学院动物中心), 随机分为对照组(C)、肠缺血组(I)、肠缺血-再灌注组(R)和 EGF 治疗组(E). 根据缺血后再灌注时间的不同将 R 组和 E 组又分成 2, 6, 12 和 24 h 共 4 组(R<sub>2</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>12</sub>, R<sub>24</sub> 以及 E<sub>2</sub>, E<sub>6</sub>, E<sub>12</sub>, E<sub>24</sub>), 每组 8 只动物. 实验前禁食 12 h, 自由饮水. 采用肠系膜上动脉(SMA)夹闭-松夹方式制成肠缺血-再灌注模型. 大鼠腹腔注射 30 g/L 戊巴比妥钠(35 mg/kg)麻醉, 常规消毒后取腹正中切口 3-4 cm, 钝性分离 SMA 根部. E 组和 R 组动物以血管夹夹闭 SMA 根部, 完全阻断血流 45 min 之后放松血管夹, 使肠道血流恢复形成再灌注, 在松开动脉夹的同时经右颈静脉注入 EGF 100 μg/kg(由中国科学院上海生物化学研究所提供)或生理盐水 0.5 mL. 假手术组仅分离 SMA 不作夹闭, I 组不注射 EGF 或生理盐水. 各组动物于关闭腹腔后皮下注射 10 ml 生理盐水抗休克.

**1.2 方法** 按照设定时间点将动物处死, 取动物肠道石蜡包埋后切片、HE 染色, 光镜下观察. 取门静脉血离心后分离血浆, -80℃ 保存, 用酶联紫外分光光度法测定血浆 D-乳酸水平. 动物肠道经 40 g/L 甲醛固定、脱水、石蜡包埋、切片后, 应用 PowerVision™ 二步法研究磷酸化 p44/42 MAPK 的表达. 采用磷酸化 p44/42 MAPK 小鼠单克隆抗体(cell signaling technology, Inc, 美国)以及相应的第二抗体(北京中山生物技术有限公司), DAB(二氨基联苯胺, 福州迈新生物技术公司), 按照试剂说明书要求进行免疫组织化学技术操作. 石蜡切片按常规脱蜡至水, 在体积分数为 30 ml/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中孵育 10 min, 以消除内源性过氧化物酶活性. PBS 冲洗, 置于 0.01 mol/L, pH6.0 的枸橼酸盐缓冲液中进行抗原热修复后, 滴加按 1:100 稀释的一抗, 37℃ 孵育 40 min. PBS 冲洗, 滴加辣根过氧化物酶(HRP)标记的二抗, 37℃ 孵育 20 min, PBS 漂洗后 DAB 显色, 苏木素复染, 常规脱水, 透明, 封片, 显微镜下观察, 结果以细胞质和/或细胞核着棕色者为阳性染色. 另用

PBS 代替一抗做阴性对照. 光镜下观察阳性细胞在小肠黏膜的分布. 每只大鼠观察 50 个纵向切开的陷窝和绒毛(陷窝腔和绒毛应保持完整), 统计阳性细胞百分率, 其结果以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, SAS 软件包统计各组间差异.

## 2 结果

大鼠 SMA 夹闭后, 肠道明显变紫, 蠕动减慢. HE 染色见黏膜上皮出现充血、水肿和炎细胞浸润以及糜烂、坏死, 以伤后 6 h 最明显, 在再灌注后 24 h 基本恢复正常的黏膜结构, E 组动物肠黏膜损伤的程度较 R 组明显减轻.

**2.1 血浆 D-乳酸浓度的变化** D-乳酸是肠道细菌特有的代谢产物, 血浆中 D-乳酸含量的变化可反映肠黏膜通透性的改变<sup>[12,13]</sup>. 肠缺血 45 min 后, D-乳酸浓度尚未发生明显改变. 再灌注 2 h 和 6 h, 各组动物血浆 D-乳酸浓度较假手术组均显著升高, 但 R 组升高的幅度显著高于 E 组(P < 0.01 或 P < 0.05, 图 1).

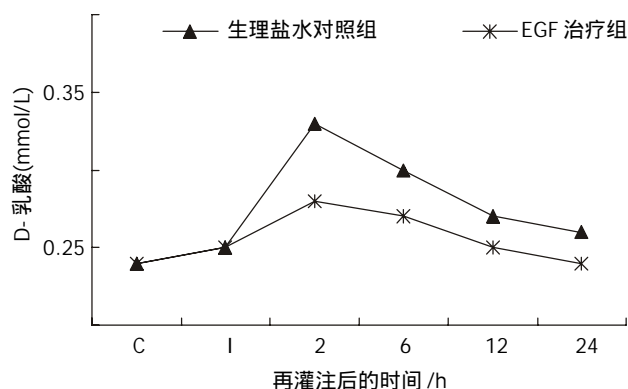
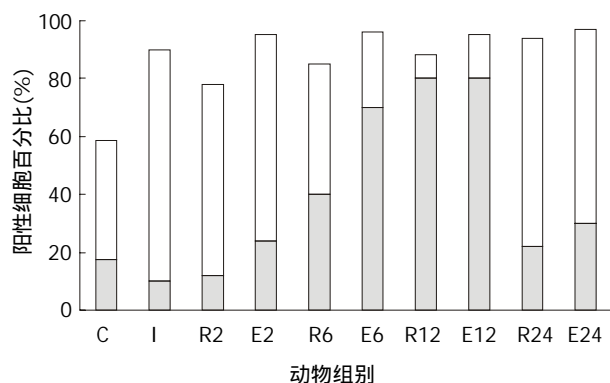


图 1 2 组动物门静脉血浆 D-乳酸浓度的变化趋势.

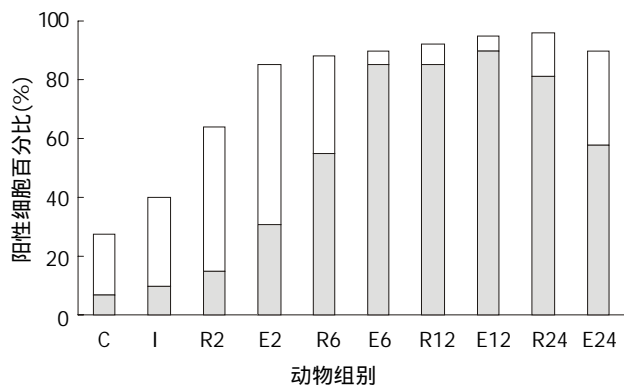
**2.2 磷酸化 p44/42 MAPK 的表达特征** C 组、I 组和 R 组: 在正常和伤后大鼠, 绒毛上皮、小肠陷窝和固有层均可见到染色阳性的细胞. 在 C 组大鼠的绒毛上皮和小肠陷窝, 阳性细胞的比例分别为 59% 和 27.5%, 表现为散在分布于胞质内的棕色颗粒, 大部分靠近细胞核, 少量细胞有核内表达. 小肠陷窝核内表达 p44/42 MAPK 的细胞主要位于陷窝的中下部, 相当于干细胞、短暂扩增细胞及其初级子代细胞的位置. 杯状细胞的胞质内也可见阳性颗粒. I 组大鼠 90% 绒毛上皮细胞和 40% 陷窝细胞的胞质内出现阳性颗粒, 核内表达无明显改变. R 组几乎全部绒毛上皮细胞和陷窝细胞表达磷酸化 p44/42 MAPK, 但随着再灌注时间的延长, 核内表达的比例增加. 在 R<sub>2</sub> 组和 R<sub>6</sub> 组阳性颗粒主要位于胞质中, R<sub>12</sub> 组则主要位于细胞核, R<sub>24</sub> 组核内表达的比例下降接近 C 组. 各组动物的黏膜固有层均有少量的阳性细胞, 正常情况下主要位于胞质, 随再灌注时间延长核内表达增多, 在 R<sub>12</sub> 组最显著(图 2-4). E 组绒毛上皮细胞和陷窝的阳性细胞数量均高于 R 组相应时相点, 核内

表达的比例也高于R组.E6和E12组主要表现为核内表达,以E6最为显著.E2和E24组主要为胞质内表达(图2-4).



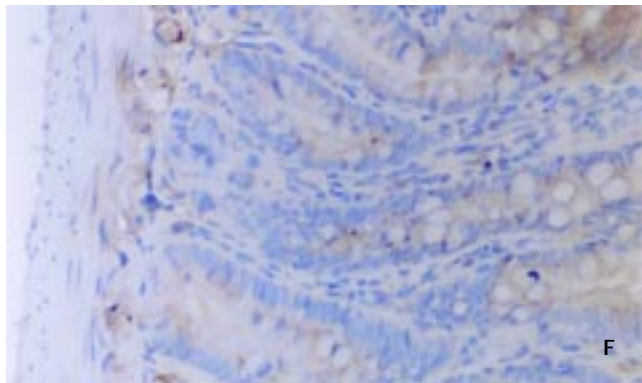
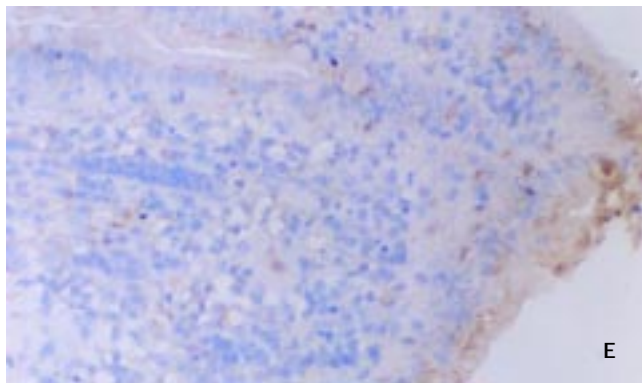
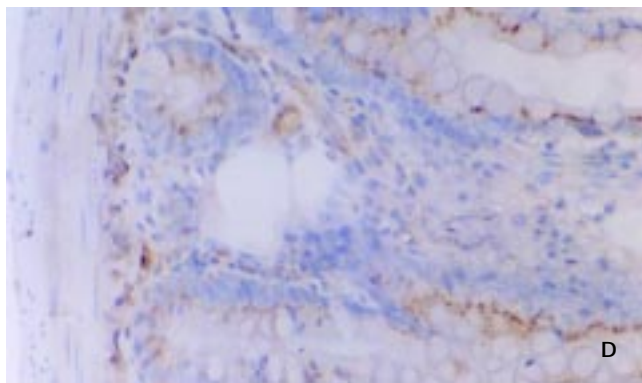
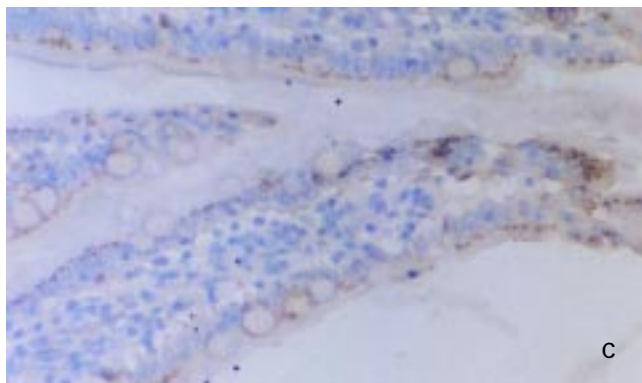
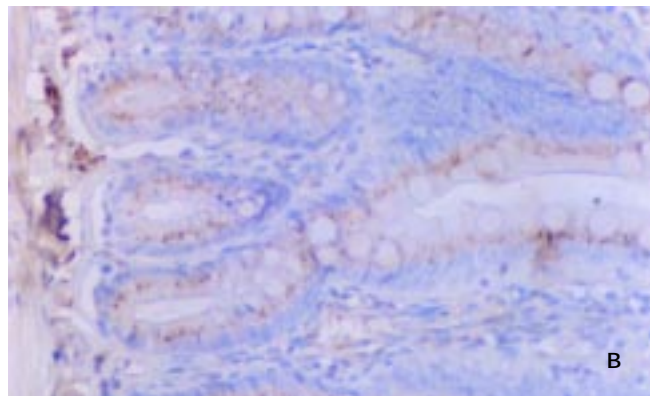
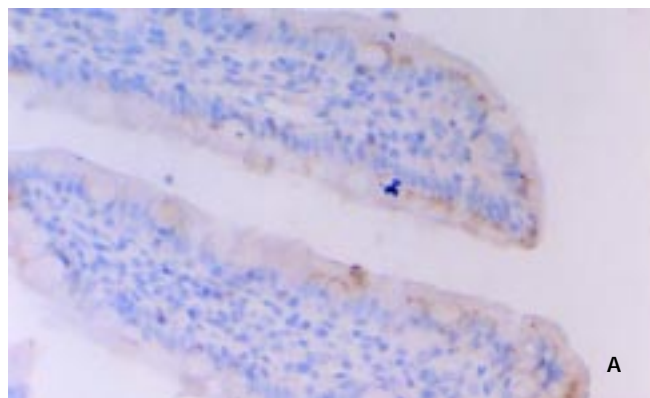
细胞核内出现阳性颗粒的细胞

图2 各组动物小肠绒毛上皮磷酸化 p44/42 MAPK 阳性细胞数量的变化趋势.



细胞核内出现阳性颗粒的细胞

图3 各组动物小肠陷窝磷酸化 p44/42 MAPK 阳性细胞数量的变化趋势.



A:C组小肠绒毛; B:C组小肠陷窝; C:R6组小肠绒毛; D:R6组小肠陷窝; E:E6组小肠绒毛; F:E6组小肠陷窝.  
图4 各组动物小肠磷酸化 p44/42 MAPK 的表达.

### 3 讨论

EGF 是强有力的促细胞分裂因子<sup>[14,15]</sup>, 对胃肠道黏膜细胞具有促进生长和增生的作用<sup>[16-21]</sup>, p44/42 MAPK 在胞质内广泛分布, 在未受刺激的细胞内, 主要表现为脱磷酸型, 其苏氨酸和酪氨酸残基被磷酸化后发生激活, 主要与细胞的增生通路有关<sup>[22,23]</sup>, 已证明 p44/42 MAPK 途径是 EGF 诱导表皮成纤维细胞、角质细胞、



小肠癌细胞 IEC-6 等细胞增生的主要细胞内信号传导通路<sup>[24-27]</sup>。在心、肾、肺等多种组织中, 均发现 I/R 损伤可迅速激活 MAPK 信号传导通路, 作为早期细胞内信号参与细胞对应激反应的调节。一般认为 I/R 时 p44/42 MAPK 活性的增加是细胞针对缺氧刺激启动修复过程、促进细胞存活的保护性机制, 对于经历了 I/R 损伤的细胞具有保护作用。在 MAPK 信号途径中的各个组成成分如 p44/42 MAPK、c-fos 的激活均具有相似的分子机制, 都需要保守位点上的双磷酸化作用, 信号转导最终通过基因表达来实现细胞调控, p44/42 MAPK 的磷酸化是 p44/42 MAPK 正在发生功能活动的标志<sup>[28]</sup>。EGF 与其受体(EGFR)结合后, 再与 ras 结合, 进而激活 raf-1, raf-1 接着激活 MEK1/MEK2(p44/42 MAPK 的上游激酶), 进而激活 p44/42 MAPK, 后者进入核内, 通过中间反应物介导原癌基因 c-myc、c-fos、c-jun、E1k1、TAL1 等的产生和磷酸化, 影响下游基因的表达, 最终导致细胞的增生反应<sup>[29-33]</sup>。p44/42 MAPK 被激活后也可以停留在胞质中, 作用于细胞表面分子如 EGFR、磷脂酶 A2, 启动多条细胞内信号传导通路, 介导胞外环境应激条件信号, 引起细胞内的抗应激反应。

p44/42 MAPK 被激活后, 可以表现为持久激活或短暂激活, 持久激活(活性高)的 p44/42 MAPK 可部分转入核内, 可以使相应的转录因子发生磷酸化, 而短暂激活(活性低)的 p44/42 MAPK 不能进入核内, 二者由于“入核量”的差异使细胞表达不同质或量的产物, 从而产生不同的细胞生物学效应, 因此 p44/42 MAPK 在转录水平上的差异可以使其产生不同的效应。

本实验中, 在假手术组大鼠的小肠黏膜上皮细胞内, 磷酸化 p44/42 MAPK 主要存在于胞质, 核内表达较少。缺血 45 min 后, 单层柱状上皮和小肠陷窝阳性细胞的比例显著增加, 表明缺血可以迅速激活 p44/42 MAPK 通路, 此时仍主要为胞质内表达。随着再灌注时间的延长, 几乎全部细胞表达磷酸化 p44/42 MAPK, 而肠道组织学改变和血浆 D-乳酸水平的变化表明 I/R 引起肠道损伤, 提示 I/R 损伤持续激活 p44/42 MAPK 通路, 使其参与了 I/R 引起的应激反应。值得注意的是, 无论在绒毛还是陷窝, 核内表达磷酸化 p44/42 MAPK 的细胞数量均随再灌注时间延长而增加, 而进入核内是 p44/42 MAPK 发挥促进细胞增生作用的前提。R 组大鼠核内表达 p44/42 MAPK 的高峰在再灌注后 12 h, EGF 治疗组核内表达的时间较 R 组提前, 持续时间也较 R 组延长。由此看来, EGF 促进了 p44/42 MAPK 的早期激活和核转位。由于绒毛单层柱状上皮主要为分化细胞, 陷窝主要由干细胞、短暂扩充细胞和较初级的增生细胞组成, 磷酸化 p44/42 MAPK 在这些部位的活跃表达表明他与肠道细胞(包括干细胞)的增生与分化有密切联系。本结果表明, 外源性 EGF 参与了肠道内脏损伤的修复过程, 其作用是通过早期激活 p44/42 MAPK 通路, 参与细胞的应激反应, 促进细胞的增生与分化。该结果进一

步证实了我们以前所观察到的采用外源性补充生长因子对缺血性内脏治疗作用的理论<sup>[34]</sup>。

#### 4 参考文献

- 1 彭曦, 颜洪, 陶麟辉, 赵云, 王裴, 汪仕良. 早期肠道营养对烧伤大鼠肠黏膜损伤和修复的影响. 世界华人消化杂志 2000;8:1251-1254
- 2 Leeb SN, Vogl D, Falk W, Scholmerich J, Rogler G, Gelbmann CM. Regulation of migration of human colonic myofibroblasts. *Growth Factors* 2002;20:81-91
- 3 Rongione AJ, Kusske AM, Newton TR, Ashley SW, Zinner MJ, Mcfadden DW. EGF and TGF stimulate proabsorption of glucose and electrolytes by Na<sup>+</sup>/glucose cotransporter in awake canine model. *Dig Dis Sci* 2001;46:1740-1747
- 4 Dignass AU, Sturm A. Peptide growth factors in the intestine. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:763-770
- 5 Eizaguirre I, Aldazabal P, Barrena MJ, Garcia-Arenzana JM, Ariz C, Candelas S, Tovar JA. Effect of growth hormone, epidermal growth factor, and insulin on bacterial translocation in experimental short bowel syndrome. *J Pediatr Surg* 2000;35:692-695
- 6 Koul S, Chaturvedi LS, Sekhon A, Bhandari A, Menon M, Koul HK. Effects of oxalate on the re-initiation of DNA synthesis in LLC-PK1 cells do not involve p42/44 MAP kinase activation. *Kidney Int* 2002;61:525-533
- 7 Llorens F, Garcia L, Itarte E, Gomez N. Apigenin and LY294002 prolong EGF-stimulated ERK1/2 activation in PC12 cells but are unable to induce full differentiation. *FEBS Lett* 2002;510:149-153
- 8 Sah JF, Eckert RL, Chandraratna RA, Rorke EA. Retinoids suppress epidermal growth factor-associated cell proliferation by inhibiting epidermal growth factor receptor-dependent ERK1/2 activation. *J Biol Chem* 2002;277:9728-9735
- 9 Tanimura S, Nomura K, Ozaki K, Tsujimoto M, Kondo T, Kohno M. Prolonged nuclear retention of activated extracellular signal-regulated kinase 1/2 is required for hepatocyte growth factor-induced cell motility. *J Biol Chem* 2002;277:28256-28264
- 10 Lewis MD, Ham J, Rees DA, Lewis BM, Scanlon MF. Mitogen-activated protein kinase mediates epidermal growth factor-induced morphogenesis in pituitary GH3 cells. *J Neuroendocrinol* 2002;14:361-367
- 11 Marques SA, Dy LC, Southall MD, Yi Q, Smietana E, Kapur R, Marques M, Travers JB, Spandau DF. The platelet-activating factor receptor activates the extracellular signal-regulated kinase mitogen-activated protein kinase and induces proliferation of epidermal cells through an epidermal growth factor-receptor-dependent pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;300:1026-1035
- 12 黎君友, 盛志勇, 吕艺, 于勇, 胡森, 周宝桐. 严重创伤后肠屏障功能损伤及谷氨酰胺的保护. 世界华人消化杂志 2000;8:1093-1096
- 13 Sun XQ, Fu XB, Zhang R, Lü Y, Deng Q, Jiang XG, Sheng ZY. Relationship between plasma D(-)lactate and intestinal damage after severe injuries in rats. *World J Gastroenterol* 2001;7:555-558
- 14 陈宝雯, 王洪涛, 刘正新, 贾博琦, 马清钧. 外源性表皮生长因子治疗大鼠慢性胃溃疡对原癌基因表达的影响. 世界华人消化杂志 1999;7:504-506
- 15 Xia L, Yuan YZ, Xu CD, Zhang YP, Qiao MM, Xu JX. Effects of epidermal growth factor on the growth of human gastric cancer cell and the implanted tumor of nude mice. *World J Gastroenterol* 2002; 8:455-458
- 16 Chen DL, Wang WZ, Wang JY. Epidermal growth factor prevents gut atrophy and maintains intestinal integrity in rats with acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2000;6:762-765
- 17 Berlanga-Acosta J, Playford RJ, Mandir N. Gastrointestinal cell proliferation and crypt fission are separate but complementary means of increasing tissue mass following infusion of epidermal growth factor in rats. *Gut* 2001;48:803-807
- 18 Reindel JF, Gough AW, Pilcher GD, Bobrowski WF, Sobocinski GP, de la Iglesia FA. Systemic proliferative changes and clinical signs in cynomolgus monkeys administered a recombinant derivative of human epidermal growth factor. *Toxicol Pathol* 2001; 29:159-173
- 19 Avissar NE, Ziegler TR, Wang HT, Gu LH, Miller JH, Iannoli P, Leibach FH, Ganapathy V, Sax HC. Growth factors regulation of rabbit sodium-dependent neutral amino acid transporter ATB0



- and oligopeptide transporter 1 mRNAs expression after enterotomy. *J Parenter Enter Nutr* 2001;25:65-72
- 20 Duh G, Mouri N, Warburton D, Thomas DW. EGF regulates early embryonic mouse gut development in chemically defined organ culture. *Pediatr Res* 2000;48:794-802
- 21 Stern LE, Erwin CR, O'Brien DP, Huang F, Warner BW. Epidermal growth factor is critical for intestinal adaptation following small bowel resection. *Microsc Res Tech* 2000;51:138-148
- 22 Zhao D, Letterman J, Schreiber BM. Beta-Migrating very low density lipoprotein (beta VLDL) activates smooth muscle cell mitogen-activated protein (MAP) kinase via G protein-coupled receptor-mediated transactivation of the epidermal growth factor (EGF) receptor: effect of MAP kinase activation on beta VLDL plus EGF-induced cell proliferation. *J Biol Chem* 2001;276:30579-30588
- 23 Buder-Hoffmann S, Palmer C, Vacek P, Taatjes D, Mossman B. Different accumulation of activated extracellular signal-regulated kinases (ERK 1/2) and role in cell-cycle alterations by epidermal growth factor, hydrogen peroxide, or asbestos in pulmonary epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2001;24:405-413
- 24 Kawahara E, Nakada N, Hikichi T, Kobayashi J, Nakanishi I. EGF and beta1 integrin convergently regulate migration of A431 carcinoma cell through MAP kinase activation. *Exp Cell Res* 2002;272:84-91
- 25 Cras-Meneur C, Elghazi L, Czernichow P, Scharfmann R. Epidermal growth factor increases undifferentiated pancreatic embryonic cells in vitro: a balance between proliferation and differentiation. *Diabetes* 2001;50:1571-1579
- 26 Thrane EV, Schwarze PE, Thoresen GH, Lag M, Refsnes M. Persistent versus transient map kinase (ERK) activation in the proliferation of lung epithelial type 2 cells. *Exp Lung Res* 2001;27:387-400
- 27 Harris VK, Kagan BL, Ray R, Coticchia CM, Liaudet-Coopman ED, Wellstein A, Tate Riegel A. Serum induction of the fibroblast growth factor-binding protein (FGF-BP) is mediated through ERK and p38 MAP kinase activation and C/EBP-regulated transcription. *Oncogene* 2001;20:1730-1738
- 28 Feng DY, Zheng H, Tan Y, Cheng RX. Effect of phosphorylation of MAPK and Stat3 and expression of c-fos and c-jun proteins on hepatocarcinogenesis and their clinical significance. *World J Gastroenterol* 2001;7:33-36
- 29 Lee JW, Juliano RL. The alpha5beta1 integrin selectively enhances epidermal growth factor signaling to the phosphatidylinositol-3-kinase/Akt pathway in intestinal epithelial cells. *Biochim Biophys Acta* 2002;1542:23-31
- 30 Oksvold MP, Skarpen E, Wierod L, Paulsen RE, Huitfeldt HS. Re-localization of activated EGF receptor and its signal transducers to multivesicular compartments downstream of early endosomes in response to EGF. *Eur J Cell Biol* 2001;80:285-294
- 31 Jost M, Huggett TM, Kari C, Rodeck U. Matrix-independent survival of human keratinocytes through an EGF receptor/MAPK-kinase-dependent pathway. *Mol Biol Cell* 2001;12:1519-1527
- 32 Pierce KL, Tohgo A, Ahn S, Field ME, Luttrell LM, Lefkowitz RJ. Epidermal growth factor (EGF) receptor-dependent ERK activation by G protein-coupled receptors: a co-culture system for identifying intermediates upstream and downstream of heparin-binding EGF shedding. *J Biol Chem* 2001;276:23155-23160
- 33 赵佐庆, 刘福兰, 张玲. 犬小肠缺血再灌注后 C-fos, PCNA 及 Bax 的表达意义. *世界华人消化杂志* 2001;9:1021-1026
- 34 Fu XB, Yang YH, Sun TZ, Gu XM, Jiang LX, Sun XQ, Sheng ZY. Effect of intestinal ischemia-reperfusion on expressions of endogenous basic fibroblast growth factor and transforming growth factor  $\beta$  in lung and its relation with lung repair. *World J Gastroenterol* 2000;6:353-355

## 世界胃肠病学杂志英文版获得第二届国家期刊奖百种重点期刊

**本报讯** 为了进一步繁荣期刊出版事业, 2002 年 9 月, 经中共中央宣传部同意, 新闻出版总署决定举办第二届国家期刊奖评选活动. 经过反复审核, 全国共推荐出参评科技期刊 522 种. 这些参评期刊经过评选办公室的参评资格审查、出版规范审查、广告内容审查后, 由专家组和评选工作委员会进行评选. 2002 年 12 月初产生评选入围期刊, 并将初评结果在《光明日报》、《科技日报》、《中国新闻出版报》和《中国图书商报》公示, 接受全社会的监督, 最终评出国家期刊奖科技类 30 名, 国家期刊奖提名奖 50 名, 国家期刊奖百种重点期刊 99 名. 世界胃肠病学杂志英文版 (World Journal of Gastroenterology) 获得第二届国家期刊奖百种重点期刊, 并荣获获奖证书、奖杯和获奖徽标.

国家期刊奖是期刊业中最权威的、也是最具影响的奖项. 我们衷心感谢全体编委及作者、读者对世界胃肠病学杂志英文版的支持, 希望在今后能继续得到大家的关心爱护和大力支持, 争取更大的成绩. (世界胃肠病学杂志社 2003-01-23)



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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

