

ISSN 1009-3079

CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 9 月 15 日 第 11 卷 第 9 期

(Volume 11 Number 9)



9/2003

ISSN 1009-3079



9 771009 307001

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology® 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 9 月 15 日 第 11 卷

第 9 期 (总第 113 期)

述 评	1269 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升, 尚克中 1273 胃食管反流病的内镜缝合治疗 杨云生, 令狐恩强
胃 癌	1275 α -连接素表达与胃癌生物学行为的关系 徐采朴, 周永宁, 陈渝 1279 老年人胃癌前黏膜癌变的胃镜随访 王孟薇, 杨少波, 张子其, 祝庆孚, 王刚石, 李晖, 姚晨, 吴本俨, 尤纬缔 1282 内皮抑素-血管内皮细胞抑制因子重组腺病毒对荷胃癌裸鼠的治疗 潘欣, 李喆, 张珉, 王泳, 潘卫, 戚中田 1286 PKC β 1 和 PKC β 2 在早期胃癌中的表达 冯瑞娥, 陈杰, 崔全才, 詹阳, 王振宇 1290 二烯丙基二硫对人胃癌 MGC803 细胞生长的影响 张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋 1294 胃黏膜癌变过程中 PTEN 基因编码产物的表达及意义 李异玲, 何向民, 郑华川, 吴东璘, 杨雪飞, 辛彦, 傅宝玉 1297 进展期胃癌病理和预后影响因素的关系 黄海力, 吴本俨, 尤纬缔, 申明识 1302 雌激素诱导基因 PS2/TFF1 在胃癌及癌前病变中的表达 李俊美, 罗和生, 姚宏昌 1306 GSTM1, GSTT1 基因多态与胃腺癌及幽门螺杆菌感染的关联 张友才, 邓长生, 周燕, 朱尤庆 1310 基质金属蛋白酶-7 表达与胃癌临床病理生物学行为的关系 孙晋民, 郑华川, 杨雪飞, 辛彦, 张荫昌 1314 毒物代谢酶基因多态与胃癌的关联 叶梅, 刘君炎, 邓长生 1318 胃癌中医证型相关基因的表达谱 刘莺, 李俊军, 朱文锋, 刘平
肝 癌	1322 MUC1 基因免疫抑制 H22 肝癌生长的实验研究 袁时芳, 王岭, 李开宗, 颜真, 韩苇, 张英起 1326 纺锤体组装关卡基因 hsMAD2 在人肝细胞肝癌中的表达及其意义 李擒龙, 王文亮, 张晓晖, 晏伟 1329 GnRH 类似物诱导肝癌细胞凋亡的体外研究 刘庆元, 窦科峰, 张金山, 孙岚, 黄鲁豫, 张远强 1333 bFGF 对人肝癌细胞系 Bel-7402 的生长调控 于卉影, 孙利平, 孙黎光, 丁晓慧 1337 经肝动脉注射 5-FU 白芨微球治疗兔 VX ₂ 移植性肝癌 李欣, 冯敦生, 郑传胜, 柳曦, 孔健 1341 KAI1 正反义基因对 MHCC97-H 肝癌细胞 KAI1 蛋白表达的影响 司遂海, 杨建民, 罗元辉, 房殿春, 周平 1345 中药复方胃肠安血清诱导肝癌 SMMC-7721 细胞分化 赵海磊, 刘成, 赵爱光 1349 肝癌患者乙型肝炎病毒 X 基因变异的研究 代志琰, 徐启桓, 李刚, 马会慧, 汤正好, 舒欣, 姚集鲁 1353 复方中药 99-克星超声介入治疗肝癌裸鼠移植瘤凋亡与增生 林晓东, 林礼务, 何以教, 高上达, 杨发端, 薛恩生 1357 羟基磷灰石纳米粒子诱导人肝癌细胞凋亡模型的构建 刘志苏, 唐胜利, 艾中立, 孙权, 钱群, 何跃明, 朱忠超 1362 β -catenin 和 Cyclin D1 在肝癌肝内转移中的作用 苏小康, 赵先明, 李锦清, 崔学教, 谢晓华, 杨海燕, 徐发彬, 石明 1365 DC 负载凋亡肝癌细胞后的免疫应答 郭建巍, 秦力维, 蔡美英, 吕同德 1369 TRAIL 诱导肝癌细胞系 SMMC-7721 的凋亡作用 李小安, 房殿春, 司佩任, 张汝刚, 杨柳芹, 秦建平
大 肠 癌	1372 大肠肿瘤组织线粒体形态结构定量研究 吴正蓉, 申洪 1375 IL-4 增强 IL-2 活化的 A-NK 细胞对人直肠癌 CC95 的抗肿瘤作用 王志华, 申宝忠, 史历 1378 人源性大肠癌抗原基因的 SEREX 筛选 刘宇虎, 张振书, 钟东, 武金宝, 但汉雷, 赖卓胜, 王亚东, 张亚历, 肖冰 1382 直肠癌组织 CD44v6, DNA 含量的联合检测及临床意义 丁志杰, 单吉贤, 都姝妍 1385 胃泌素拮抗剂增加 CD 自杀基因对结直肠癌细胞的杀伤作用 王小军, 马庆久, 赖大年, 黎成金, 李金茂, 武永忠, 王青 1389 aFGF 和 genistein 对大肠癌细胞株 CCL229 PKC 及 ERK 活性的影响 尚海, 张颐, 单吉贤
基础 研究	1392 牛磺酸对 CCl ₄ 诱导的大鼠肝纤维化的保护作用及其机制的研究 梁健, 杨光业, 张锡流, 庞玉生, 袁海锋, 梁劲松, 黄仁彬, 韦新, 韦明 1396 胰腺移植 ICAM-1 的表达及信号转导的因素 梁健, 王凤山, 刘永锋, 刘利民, 刘树荣, 崔宏, 邵春泉, 何三光

临床研究	1399 聚乙二醇 4 000 治疗老年人功能性便秘 85 例 张长青, 张国伟, 张葵玲, 付奕其
焦点论坛	1402 胃肠道肿瘤的影像诊断和介入治疗 程英升 1402 胃肠道肿瘤的 X 线诊断 尚克中, 程英升, 吴春根 1404 胃肠道肿瘤 CT 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1406 胃肠道肿瘤 MRI 诊断 吴春根, 程英升, 尚克中 1408 胃肠道肿瘤超声诊断 胡兵, 周进祝 1410 胃肠道肿瘤核素诊断 陆汉魁 1413 胃肠道肿瘤血管和非血管双介入治疗 程英升, 尚克中
治疗指南	1416 肝细胞癌的诊断和治疗 陆嵘, 房静远
文献综述	1420 DNA 高甲基化与抑癌基因 刘仲敏, 刘芝华, 吴旻 1425 胃癌供血及其动脉介入化疗的研究进展 沈波, 朱金水 1429 腹膜粘连的分子机制及药物防治 曾健, 李晓辉 1433 肿瘤多药耐药和进展期大肠癌耐药细胞株建立研究进展 姚学清, 林锋 1436 肽转运载体的分子特征 韩飞, 施用晖, 乐国伟, 王立宽 1443 肝星状细胞与肝纤维化的研究进展 蒋业贵, 李兆申 1447 环氧化酶-2 与结直肠癌 姚红兵, 吴爱国, 朱卉娟 1451 幽门螺杆菌疫苗的研究进展 姜政, 黄爱龙, 陶小红, 王丕龙 1457 脂肪酸结合蛋白研究进展 冯爱娟, 陈东风 1460 肝移植后乙型肝炎病毒再感染相关因素的研究进展 王永刚, 王宇明
读者来信	1352 陈祖林 1368 汤伟
消息	1301 欢迎订阅 2004 年度世界华人消化杂志 1332 欢迎订阅 2004 年度 World Journal of Gastroenterology® 1424 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1450 WJG 搭建我国消化基础 and 临床研究惟一国际交流的平台 1464 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	巴松湖又名错宗湖, 在藏文里又是绿色湖水的意思, 位于西藏林芝地区工布江达县境内, 该湖湖面海拔 3464 m, 是川藏东部最大的淡水堰塞湖之一。湖水清澈见底, 四周雪山倒映其中, 湖周原始森林密布, 群山环绕, 景美如画。湖中央飘着一座秀丽的湖心小岛, 湖心岛上有一座错宗寺, 建于唐代末年。(马俐 马娜 摄影)。

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 2003-09-15

原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀

黄象谦

黎介寿

刘耕陶

裘法祖

汤钊猷

王宝恩

危北海

吴孟超

吴成中

张金哲

张学庸

赵东海

周殿元

社长总编辑 马连生

中文编辑 潘伯荣

王瑾晖

英文编辑 王先林

排版 李少华

校对 李天华

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: wjcd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社

100023, 北京市 2345 信箱

E-mail: wjcd@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(PJ)》

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

www.wjgnet.com

MUC1 基因免疫抑制 H22 肝癌生长的实验研究

袁时芳, 王 岭, 李开宗, 颜 真, 韩 苇, 张英起

袁时芳, 王岭, 中国人民解放军第四军医大学西京医院血管内分泌外科
陕西省西安市 710033

李开宗, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科 陕西省西
安市 710033

颜真, 韩苇, 张英起, 中国人民解放军第四军医大学科研部生物技术中
心 陕西省西安市 710033

袁时芳, 男, 1964-08-01 生, 安徽省马鞍山市人, 汉族. 1987 年第四军医
大学本科毕业, 主治医师, 讲师, 博士. 主要从事血管内分泌外科和肿瘤基因
疫苗的研究.

国家自然科学基金资助, No. 39470683

项目负责人: 袁时芳, 710033, 陕西省西安市长乐西路 17 号, 中国人民解放军
第四军医大学西京医院血管内分泌外科. shifangy@fmmu.edu.cn

电话: 029-3375271

收稿日期: 2003-04-15 接受日期: 2003-06-02

Inhibitory effect of MUC1 gene immunization on H22 hepatocellular carcinoma growth

Shi-Fang Yuan, Ling Wang, Kai-Zong Li, Zhen Yan, Wei Han,
Ying-Qi Zhang

Shi-Fang Yuan, Ling Wang, Department of Vascular and Endocrine Surgery,
Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033,
Shaanxi Province, China

Kai-Zong Li, Department of Hepato-biliary Surgery, Xijing Hospital,
Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China
Zhen Yan, Wei Han, Ying-Qi Zhang, Biotechnology Center, Fourth
Military Medical University, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China

Supported by the National Natural Science Foundation of China, No.
39470683

Correspondence to: Shi-Fang Yuan, Department of Vascular and Endo-
crine Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an
710033, Shaanxi Province, China. shifangy@fmmu.edu.cn

Received: 2003-04-15 Accepted: 2003-06-02

Abstract

AIM: To investigate the special anti-H22 hepatocellular carcinoma growth effect of the MUC1 gene immunization.

METHODS: Balb/c mice were immunized intramuscularly with 100 μ g MUC1 cDNA 3 times at 3-weekly intervals. Three weeks after the last immunization, tumor challenge experiments were performed by using MUC1 expressing tumor cell line H22. Tumor growth inhibition and body protection were observed two weeks later. After 43d of challenge experiments, all mice were killed and tumors were weighed. Histological analysis of tumor tissue was carried out with HE staining.

RESULTS: After 43 d of challenge experiments, the volumes of H22 hepatocellular carcinoma in MUC1cDNA, pcDNA3.1 (+) and NS groups were 547 ± 59 mm³, 1185 ± 84 mm³ and 1220 ± 95 mm³ ($P < 0.01$), respectively. The average mass of H22 hepatocellular carcinoma in the three groups was 1.87 ± 0.96 g, 4.19 ± 1.34 g and 4.23 ± 1.32 g ($P < 0.01$), respectively. Tumorigenic rate was only 50 % in MUC1cDNA group, and was 100 % in pcDNA3.1(+) and NS group. H22

hepatocellular carcinoma growth in mice of MUC1cDNA group was significantly suppressed ($P < 0.01$), and a significant body protective effect was found in mice of MUC1cDNA group ($P < 0.05$), compared with control group. Histological analysis showed that the H22 hepatocellular carcinoma tissues were markedly necrosed in mice of MUC1cDNA group compared with that in control group.

CONCLUSION: MUC1 gene immunization can significantly suppress H22 hepatocellular carcinoma growth.

Yuan SF, Wang L, Li KZ, Yan Z, Han W, Zhang YQ. Inhibitory effect of MUC1 gene immunization on H22 hepatocellular carcinoma growth. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(9):1322-1325

摘要

目的: 观察 MUC1 基因免疫对 H22 肝癌生长的特异性抑制作用.

方法: 采用股四头肌肌肉注射法将构建的 MUC1 基因疫苗 pcDNA3.1-MUC1 免疫 Balb/c 小鼠, 每次 100 μ g, 3 wk/次, 共 3 次. 最后一次基因免疫后 3 wk, 接种表达 MUC1 的 H22 肝癌细胞. 2 wk 后观察、记录肿瘤的生长情况. 于肿瘤细胞接种后 43 d, 处死全部动物, 称肿瘤的质量. 荷瘤小鼠的瘤组织常规 HE 染色.

结果: 肿瘤细胞接种后 43 d, MUC1 预防组, 质粒 pcDNA3.1 对照组及生理盐水阴性对照组 H22 肝癌大小分别为 547 ± 59 mm³, 1185 ± 84 mm³ 和 1220 ± 95 mm³ ($P < 0.01$); 平均瘤质量分别为 1.87 ± 0.96 g, 4.19 ± 1.34 g 和 4.23 ± 1.32 g ($P < 0.01$); pcDNA3.1 对照组和生理盐水阴性对照组 100 % 可见瘤体形成, 肿瘤生长, 而 MUC1 基因疫苗预防组仅见 50 % (5/10) 的小鼠有瘤体形成, 与对照组相比, MUC1 预防组 H22 肝癌生长受到明显抑制 ($P < 0.01$); MUC1 预防组小鼠免疫保护有显著差异 ($P < 0.05$). 病理学检查结果显示, 与 pcDNA3.1 对照组相比, MUC1 DNA 疫苗预防组鼠 H22 肝癌组织大量坏死.

结论: MUC1 基因免疫显著抑制 H22 肝癌生长.

袁时芳, 王岭, 李开宗, 颜真, 韩苇, 张英起. MUC1 基因免疫抑制 H22 肝癌生长的实验研究. 世界华人消化杂志 2003;11(9):1322-1325

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1322.asp>

0 引言

尽管化疗等有效的抗肿瘤治疗使癌症患者生存率不断提高^[1-4], 然而, 大多数癌症转移患者因不能被治

愈而死亡^[5-7]. 因此, 探索有效的治疗肿瘤的新途径十分必要^[8-10]. DNA疫苗以其简单而独特的免疫方式和良好的动物免疫效果而倍受关注^[11, 12]. 人 MUC1 基因的编码产物 Mucin 是一种 I 型跨膜蛋白. 研究发现, MUC1 在乳腺癌及肝癌等多种肿瘤中异常表达且由于糖基化不全, 导致新的抗原肽表位暴露, 是肿瘤主动特异性免疫治疗理想的靶分子^[13-17]. 我们探讨 MUC1 基因疫苗是否可以特异性抑制 H22 肝癌生长.

1 材料和方法

1.1 材料

小鼠肝癌细胞 H22 为本室保存. Balb/c 小鼠 20 只, 雌雄不限, 4-6 wk, 15-20 g, 第四军医大学实验动物中心提供. 含 32 tandem repeats 的 MUC1 质粒 pVax-MUC1 由英国 Imperial Cancer Research Fund 的 Taylor-Papadimitriou 教授惠赠, E.coli DH5 α 由本室保存. E.Z.N.A^R plasmid Miniprep Kit, 购自 Omega 公司; DMEM 购自 Gibco 公司; RPMI1640 培养液(Sigma 公司); 小牛血清购自杭州四季清生物工程材料研究所; MUC1 单克隆抗体为 Antibody Diagnostica 公司产品; 链霉素-卵白素-生物素-过氧化物酶复合物(SABC)试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司).

1.2 方法

MUC1 基因疫苗 pcDNA3.1(+)-MUC1 构建及表达见文献[18]. 碱裂解法大量制备重组质粒 pcDNA3.1-MUC1 及空载体 pcDNA3.1, 采用聚乙二醇沉淀法(PEG 法)纯化. 无菌生理盐水溶解质粒, 紫外分光光度计测 A_{260} 及 A_{280} 计算浓度, A_{260}/A_{280} 值达 1.8-2.0, 定量, 用无菌生理盐水稀释成浓度为 1 g/L, -20 °C 保存. 免疫组织化学法检测 H22 肝癌细胞 MUC1 表达 取少许 H22 肝癌细胞, 浓度以形成单细胞层为宜, 分别滴于多聚赖氨酸处理过的载玻片上, 经空气干燥后, -20 °C 冷丙酮固定 5 min, 接着在蒸馏水中洗一下, 空气中干燥, 4 °C 保存. ABC 法免疫染色, 封片待检. Balb/c 小鼠 20 只随机分为 3 组, pcDNA3.1-MUC1 实验组(MUC1 组)10 只, pcDNA3.1 空白对照组(pcD3.1 组)5 只, 灭菌生理盐水阴性对照组(NS 组)5 只. 每只小鼠 100 μ L (1 g/L) 质粒, 小鼠股四头肌肌肉丰厚处肌肉注射. 3 wk / 次, 共 3 次, 最后一次基因免疫后 3 wk, 实验组和对照组小鼠于右臀及大腿部皮下接种 0.2 mL (10^{10} /L) H22 肝癌细胞, 进行保护实验. 每周观察记录 1 次肿瘤的生长情况, 用游标卡尺测量肿瘤的长、短径. 肿瘤体积按公式 $V(\text{mm}^3)=0.4ab^2$ 计算^[19], a = 长(mm), b = 宽(mm), 比较肿瘤大小并绘制生长曲线. 于肿瘤细胞接种后 43 d, 处死全部存活动物, 称肿瘤的质量. 解剖并分离荷瘤 Balb/c 小鼠的瘤组织, 用 40 g/L 甲醛固定, 常规石蜡包埋, 切片, HE 染色镜检, 观察肿瘤的组织细胞结构.

统计学处理 采用 SPSS11.0 软件进行方差分析和 χ^2 检验.

2 结果

2.1 肿瘤生长

接种 H22 肝癌细胞后 43 d, MUC1 预防组、质粒 pcDNA3.1 对照组及生理盐水阴性对照组 H22 肝癌大小分别为 $547 \pm 59 \text{ mm}^3$, $1185 \pm 84 \text{ mm}^3$ 和 $1220 \pm 95 \text{ mm}^3$, 3 组肿瘤生长速度有非常显著的差异($F=198.29$, $P=0.0001$, 图 1), 差别主要在 MUC1 预防组与 pcDNA3.1 对照组和 MUC1 预防组与 NS 对照组之间($P<0.01$), MUC1 预防组 H22 肝癌生长受到明显抑制. MUC1 DNA 免疫对小鼠 H22 肝癌的瘤体质量为 $1.87 \pm 0.96 \text{ g}$, 比 pcD3.1 组 $4.19 \pm 1.34 \text{ g}$ 和 NS 组 $4.23 \pm 1.32 \text{ g}$ 轻($P<0.01$).

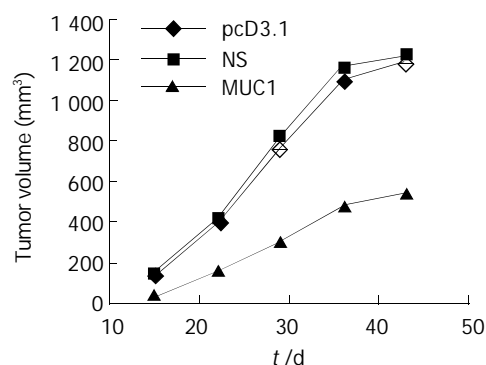


图1 小鼠 H22 肝癌生长曲线.

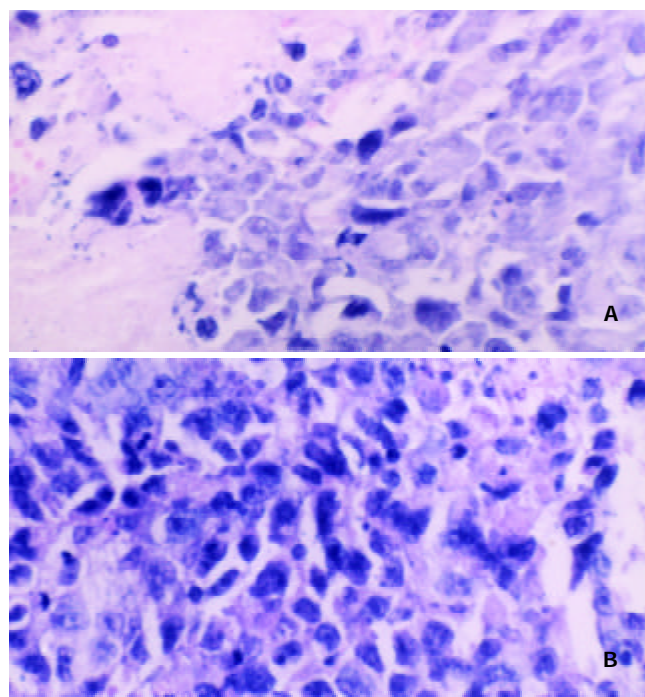


图2 MUC1 疫苗组 H22 肝癌组织细胞坏死.
A: MUC1 cDNA 组; B: 对照组.

2.2 体内免疫保护

小鼠接种 H22 肝癌细胞后观察 43 d, MUC1 基因疫苗预防组仅见 50%(5/10)的小鼠有瘤体形成, 而 pcDNA3.1 对照组及生理盐水阴性对照组 100 % 可见瘤体形成, 肿瘤生长. 与对照组相比, MUC1 预防组小鼠免疫保护有显著差异(校正 $\chi^2=4.27$, $P<0.05$). 与对照组相比, MUC1 DNA 疫苗预防组鼠 H22 肝癌组织中大量肿瘤细胞变性和坏死(图2). H22 肝癌细胞滴片

免疫组化呈阳性(图3)

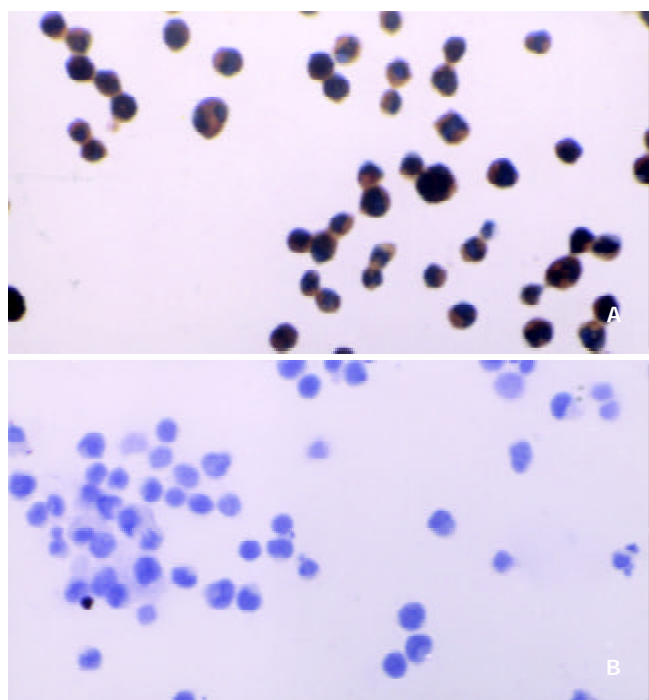


图3 H22 肝癌细胞 MUC1 免疫组化染色。
A: Positive; B: Negative.

3 讨论

基因免疫也称基因疫苗或 DNA 疫苗,是将编码某种抗原的基因片段克隆到真核表达质粒,再用该质粒 DNA 免疫动物,使之在机体细胞内持续表达具有天然构象的抗原蛋白,并刺激机体产生抗原特异的体液免疫和细胞免疫应答。他的突出优点是能通过不同途径诱导产生细胞毒 T 淋巴细胞(CTL),因此基因免疫在诱导抗肿瘤免疫方面比常规疫苗更具有优势。肿瘤基因疫苗是将肿瘤相关抗原(TAA)或肿瘤特异抗原作为抗肿瘤免疫攻击的靶点^[20]。人 MUC1 基因的编码产物 Mucin, 他的多肽骨架由胞外段、跨膜段和胞内段 3 部分组成,含有抗原表位的重复序列位于胞外段,是细胞表面最先与机体免疫系统接触的膜表面分子,可诱发特异性抗乳腺癌的 CTL 免疫应答^[21-26]。Takao et al^[16]报道, MUC1 在肝内胆管癌 65 % 高表达,且与癌灶肝转移及预后不良相关。Cao et al^[17]研究发现,人肝细胞癌(HCC)MUC1 阳性反应,可作为 HCC 的预后指标。MUC1 基因免疫是否可以抑制肝癌生长尚不清楚。我们用构建的编码 Mucin 蛋白的基因疫苗 pcDNA3.1-MUC1 质粒免疫 Balb/c 小鼠后,用表达 MUC1 的 H22 肝癌细胞接种,证实 MUC1 基因免疫可以在小鼠体内特异性抑制 H22 肝癌生长。

动物实验前,我们用免疫组织化学法检测 MUC1 在 H22 肝癌细胞表达。结果表明, H22 肝癌细胞滴片免疫组化均呈阳性染色结果。在其基础上,我们将 2×10^6 个 H22 肝癌细胞接种在 Balb/c 小鼠右臀及大腿部皮下,接种肿瘤细胞后 10 d 左右即可摸到皮下的瘤结节,肿瘤在不同个体的生长速度均匀,成瘤率 100 %。

稳定的 H22 肝癌荷瘤动物模型的建立,为下一步的免疫预防研究提供了条件。

基因免疫结果显示,接种 H22 肝癌细胞后 43 d, MUC1 预防组、质粒 pcDNA3.1 对照组及生理盐水阴性对照组 H22 肝癌大小分别为 $547 \pm 59 \text{ mm}^3$, $1185 \pm 84 \text{ mm}^3$, $1220 \pm 95 \text{ mm}^3$, 与对照组相比, MUC1 预防组肿瘤生长速度显著降低($P < 0.01$)。pcDNA3.1(pcD3.1)组和生理盐水(NS)对照组的肿瘤生长速度未见显著性差异($P > 0.05$)。小鼠接种 H22 肝癌细胞后观察 43 d, MUC1 基因疫苗预防组仅见 50 % (5/10)的小鼠有瘤体形成,而 pcDNA3.1 对照组及生理盐水阴性对照组 100 % 可见瘤体形成,肿瘤生长。与对照组相比, MUC1 预防组小鼠免疫保护有显著差异($P < 0.05$)。生长曲线、平均瘤重和病理学检查结果均表明,与对照组相比, MUC1 预防组 H22 肝癌生长受到明显抑制($P < 0.01$)。

总之,初步研究表明 MUC1 基因疫苗免疫接种,可显著抑制 H22 肝癌生长,对于 Balb/c 小鼠荷瘤有免疫保护作用。肝癌在我国及亚洲国家常见^[27-35],因此,本研究具有广阔前景。

4 参考文献

- 1 Tang ZY. Hepatocellular carcinoma—cause, treatment and metastasis. *World J Gastroenterol* 2001;7:445-454
- 2 Shimoda M, Bando T, Nagata T, Shirosaki I, Sakamoto T, Tsukada K. Prophylactic chemolipiodolization for postoperative hepatoma patients. *Hepatogastroenterology* 2001;48:493-497
- 3 Huang YH, Wu JC, Lui WY, Chau GY, Tsay SH, Chiang JH, King KL, Huo TI, Chang FY, Lee SD. Prospective case-controlled trial of adjuvant chemotherapy after resection of hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 2000;24:551-555
- 4 Pacella CM, Bizzarri G, Ceconi P, Caspani B, Magnolfi F, Bianchini A, Anelli V, Pacella S, Rossi Z. Hepatocellular carcinoma: long-term results of combined treatment with laser thermal ablation and transcatheter arterial chemoembolization. *Radiology* 2001;219:669-678
- 5 Itamoto T, Katayama K, Fukuda S, Fukuda T, Yano M, Nakahara H, Okamoto Y, Sugino K, Marubayashi S, Asahara T. Percutaneous microwave coagulation therapy for primary or recurrent hepatocellular carcinoma: long-term results. *Hepatogastroenterology* 2001;48:1401-1405
- 6 Zheng N, Ye SL, Sun RX, Zhao Y, Tang ZY. Effects of cryopreservation and phenylacetate on biological characters of adherent LAK cells from patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002;8:233-236
- 7 Wakabayashi H, Ishimura K, Okano K, Izuishi K, Karasawa Y, Goda F, Maeba T, Maeta H. Is preoperative portal vein embolization effective in improving prognosis after major hepatic resection in patients with advanced-stage hepatocellular carcinoma? *Cancer* 2001;92:2384-2390
- 8 Huang JZ, Xia SS, Ye QF, Jiang HY, Chen ZH. Effects of p16 gene on biological behaviour in hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2003;9:84-88
- 9 Sun L, Zhou YX, Hao CQ, Feng ZH, Zhao J, Hu PZ, Fu Y, Ma FC, Chang JQ, Wang JP, Nie QH. Effect of DNA vaccine on anti-HCV infection in mice with subcutaneous inoculating tumor. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11:165-168
- 10 Ikeda K, Arase Y, Saitoh S, Kobayashi M, Suzuki Y, Suzuki F, Tsubota A, Chayama K, Murashima N, Kumada H. Interferon beta prevents recurrence of hepatocellular carcinoma

- after complete resection or ablation of the primary tumor -A prospective randomized study of hepatitis C virus-related liver cancer. *Hepatology* 2000;32:228-232
- 11 Bronte V. Genetic vaccination for the active immunotherapy of cancer. *Curr Gene Ther* 2001;1:53-100
- 12 Bhattachary R, Bukkapatnam R, Prawoko I, Soto J, Morgan M, Salup RR. Efficacy of vaccination with plasmid DNA encoding for HER2/neu or HER2/neu-eGFP fusion protein against prostate cancer in rats. *Int Immunopharmacol* 2002;2:783-796
- 13 Mukherjee P, Madsen CS, Ginardi AR, Tinder TL, Jacobs F, Parker J, Agrawal B, Longenecker BM, Gendler SJ. Mucin 1-specific immunotherapy in a mouse model of spontaneous breast cancer. *J Immunother* 2003;26:47-62
- 14 Rahn JJ, Dabbagh L, Pasdar M, Hugh JC. The importance of MUC1 cellular localization in patients with breast carcinoma: an immunohistologic study of 71 patients and review of the literature. *Cancer* 2001;91:1973-1982
- 15 von Mensdorff-Pouilly S, Snijdwint FG, Verstraeten AA, Verheijen RH, Kenemans P. Human MUC1 mucin: a multifaceted glycoprotein. *Int J Biol Markers* 2000;15:343-356
- 16 Takao S, Uchikura K, Yonezawa S, Shinchi H, Aikou T. Mucin core protein expression in extrahepatic bile duct carcinoma is associated with metastases to the liver and poor prognosis. *Cancer* 1999;86:1966-1975
- 17 Cao Y, Karsten U, Otto G, Bannasch P. Expression of MUC1, Thomsen-Friedenreich antigen, Tn, sialosyl-Tn, and alpha2, 6-linked sialic acid in hepatocellular carcinomas and preneoplastic hepatocellular lesions. *Virchows Arch* 1999;434: 503-509
- 18 Yuan SF, Li KZ, Han W, Yan ZH, Zhang YQ. Construction of eukaryotic expression vectors containing coding of human full length MUC-1 gene and its expression in COS-7. *Di Si Junyi Daxue Xuebao* 2002;23:1231-1234
- 19 Carr-Brendel V, Markovic D, Ferrer K, Smith M, Taylor-Papadimitriou J, Cohen EP. Immunity to murine breast cancer cells modified to express MUC-1, a human breast cancer antigen, in transgenic mice tolerant to human MUC-1. *Cancer Res* 2000;60:2435-2443
- 20 Mahvi DM, Shi FS, Yang NS, Weber S, Hank J, Albertini M, Schiller J, Schalch H, Larson M, Pharo L, Gan J, Heisey D, Warner T, Sondel PM. Immunization by particle-mediated transfer of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene into autologous tumor cells in melanoma or sarcoma patients: report of a phase I/IB study. *Hum Gene Ther* 2002;13:1711-1721
- 21 Yuan SF, Li KZ, Yan ZH, Han W, Zhang YQ. Suppressing effect of MUC1 gene vaccine on EMT6 breast cancer growth. *Di Si Junyi Daxue Xuebao* 2002;24:327-330
- 22 Snijdwint FG, von Mensdorff-Pouilly S, Karuntu-Wanamarta AH, Verstraeten AA, Livingston PO, Hilgers J, Kenemans P. Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity can be induced by MUC1 peptide vaccination of breast cancer patients. *Int J Cancer* 2001;93:97-106
- 23 Johnen H, Kulbe H, Pecher G. Long-term tumor growth suppression in mice immunized with naked DNA of the human tumor antigen mucin (MUC1). *Cancer Immunol Immunother* 2001;50:356-360
- 24 Musselli C, Ragupathi G, Gilewski T, Panageas KS, Spinat Y, Livingston PO. Reevaluation of the cellular immune response in breast cancer patients vaccinated with MUC1. *Int J Cancer* 2002;97:660-667
- 25 Miles DW, Taylor-Papadimitriou J. Therapeutic aspects of polymorphic epithelial mucin in adenocarcinoma. *Pharmacol Ther* 1999;82:97-106
- 26 Soares MM, Mehta V, Finn OJ. Three different vaccines based on the 140-amino acid MUC1 peptide with seven tandemly repeated tumor-specific epitopes elicit distinct immune effector mechanisms in wild-type versus MUC1-transgenic mice with different potential for tumor rejection. *J Immunol* 2001;166:6555-6563
- 27 Yuen MF, Cheng CC, Lauder IJ, Lam SK, Ooi CG, Lai CL. Early detection of hepatocellular carcinoma increases the chance of treatment: Hong Kong experience. *Hepatology* 2000;31:330-335
- 28 Chen TH, Chen CJ, Yen MF, Lu SN, Sun CA, Huang GT, Yang PM, Lee HS, Duffy SW. Ultrasound screening and risk factors for death from hepatocellular carcinoma in a high risk group in Taiwan. *Int J Cancer* 2002;98:257-261
- 29 Fan J, Wu ZQ, Tang ZY, Zhou J, Qiu SJ, Ma ZC, Zhou XD, Ye SL. Multimodality treatment in hepatocellular carcinoma patients with tumor thrombi in portal vein. *World J Gastroenterol* 2001;7:28-32
- 30 Yang YL, Dou KF, Li KZ. Correlation of UPAR and VEGF expression with invasion and metastasis in human hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2002;10:381-383
- 31 Li XM, Tang ZY, Qin LX, Zhou J, Sun HC. Serum vascular endothelial growth factor is a predictor of invasion and metastasis in hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 1999;18:511-517
- 32 Niu Q, Tang ZY, Ma ZC, Qin LX, Zhang LH. Serum vascular endothelial growth factor is a potential biomarker of metastatic recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2000;6:565-568
- 33 Zhou J, Tang ZY, Fan J, Wu ZQ, Li XM, Liu YK, Liu F, Sun HC, Ye SL. Expression of platelet-derived endothelial cell growth factor and vascular endothelial growth factor in hepatocellular carcinoma and portal vein tumor thrombus. *J Cancer Res Clin Oncol* 2000;126:57-61
- 34 Sun HC, Tang ZY, Li XM, Zhou YN, Sun BR, Ma ZC. Microvessel density of hepatocellular carcinoma: its relationship with prognosis. *J Cancer Res Clin Oncol* 1999;125:419-426
- 35 Shuto T, Hirohashi K, Kubo S, Tanaka H, Yamamoto T, Higaki I, Takemura S, Kinoshita H. Treatment of adrenal metastases after hepatic resection of a hepatocellular carcinoma. *Dig Surg* 2001;18:294-297



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

