

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, 袁海峰, 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

吴咸中

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

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, 何以救, 高上达, 杨发端, 薛恩生

林晓东, 林礼务, 何以救, 高上达, 薛恩生, 福建省超声医学研究所, 福建医科大学附属协和医院超声科 福建省福州市 350001
杨发端, 福建医科大学附属协和医院病理科 福建省福州市 350001
林晓东, 男, 1971-07-10生, 福建省福州人, 汉族. 1993年福建医科大学本科毕业, 主治医师. 主要从事超声介入治疗肝癌研究.
福建省科委基金资助课题, No. 2000Z138
项目负责人: 林礼务, 350001, 福建省福州市, 福建省超声医学研究所, 福建医科大学附属协和医院超声科. lxdghl@163.net
电话: 591-3357896 传真: 591-3357896
收稿日期: 2003-01-15 接受日期: 2003-02-19

Apoptosis and proliferation of hepatocellular carcinoma in nude mice with percutaneous intratumor injection of Chinese herbal medicine "Star-99"

Xiao-Dong Lin, Li-Wu Lin, Yi-Mi He, Shang-Da Gao, Fa-Duang Yang, En-Sheng Xue

Xiao-Dong Lin, Li-Wu Lin, Yi-Mi He, Shang-Da Gao, En-Sheng Xue, Department of Ultrasound, Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Fa-Duang Yang, Department of Pathology, Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China
Supported by the Research Programs of Science and Technology Commission Foundation of Fujian Province, No. 2000Z138
Correspondence to: Li-Wu Lin, Department of Ultrasound, Union Hospital of Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China. lxdghl@163.net
Received: 2003-01-15 Accepted: 2003-02-19

Abstract

AIM: To probe the anti-cancer effect of ultrasound-guided local injection with Chinese traditional medicine "Star-99" in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC).

METHODS: Twenty-eight human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 transplantation nude mice were randomly divided into Star-99 group containing (14 patterns), ethanol group (7 patients) and saline group (7 patterns). Ten days after transplantation, the medicine was injected into the tumors of all the nude mice every 5 days. On day 20 after the first injection, the nude mice were killed. Immunohistochemistry assay was adopted to detect the expression of Ki-67 antigen in HCC. The tumor tissues were sent for flow cytometry (FCM) and DNA analysis. Apoptotic cells were visualized by TUNEL assay. All the experiments were carried out under double blind.

RESULTS: The Ki-67 Labeling index in Star-99 group ($17 \pm 9\%$) and ethanol group ($21 \pm 11\%$) was significantly lower than that in saline group ($32 \pm 13\%$) ($P < 0.05$). The mean apoptotic index (AI: percentage of TUNEL signal positive cells) in Star-99 group ($49 \pm 5\%$) was significantly higher than that in ethanol group ($12 \pm 2\%$) and the saline group ($10 \pm 4\%$) ($P < 0.01$). FCM and DNA analysis showed that the appearance rate of the apoptosis peak in Star-99 group

was 93 %, markedly higher than that in ethanol group (14 %) and saline group (0 %) ($P < 0.01$).

CONCLUSION: Star-99 can inhibit cancer cells proliferation remarkably and induce the cancer cell apoptosis. It has strong effects of inhibiting and destructing cancer cells. Its curative effect is as good as the ethanol. Its major mechanisms can be as follows: (1) It can inhibit cancer cell proliferation. (2) It can induce cancer cell apoptosis. The mechanism of Star-99 is different from that of ethanol. The mechanisms of inhibiting cancer cell proliferation and inducing cell apoptosis is of great significance. This study will provide a new pathway for drug administration and an experimental basis for the treatment of HCC with traditional Chinese herbal. The study of Star-99 in the treatment of tumor is of profound significance and has good prospects.

Lin XD, Lin LW, He YM, Gao SD, Yang FD, Xue ES. Apoptosis and proliferation of hepatocellular carcinoma in nude mice with percutaneous intratumor injection of Chinese herbal medicine "Star-99". *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(9):1353-1356

摘要

目的: 探讨超声引导瘤内注射复方中药99-克星治疗肝癌SMMC-7721裸鼠移植瘤的抗癌作用。

方法: 取人肝癌SMMC-7721裸鼠皮下移植模型28只, 随机分为99-克星中药治疗组14只, 无水乙醇与生理盐水治疗组各7只. 全部裸鼠在接种10 d后每隔5 d向肿瘤内注入治疗药物共4次, 治疗20 d后处死. 应用免疫组织化学方法检测移植瘤细胞Ki-67抗原的表达并行流式细胞仪(FCM) DNA分析以及采用TUNEL方法对移植瘤细胞凋亡现象进行观察。

结果: 中药99克星组与乙醇组的Ki-67指数分别为 $17 \pm 9\%$ 、 $21 \pm 11\%$, 均显著低于盐水组的 $32 \pm 13\%$ ($P < 0.05$); 克星组凋亡指数高达 $49 \pm 5\%$, 显著高于乙醇组的 $12 \pm 2\%$ 和盐水组的 $10 \pm 4\%$ (均 $P < 0.01$); FCM DNA分析显示盐水组的异倍体峰出现率高达57 %, 明显高于克星组的7 % 与乙醇组的0 % (均 $P < 0.05$), 而克星组的凋亡峰出现率高达93 %, 明显高于乙醇组的14 % 与盐水组的0 % (均 $P < 0.01$).

结论: 复方中药99克星能显著抑制裸鼠移植瘤细胞的增生, 并诱发其凋亡. 研究结果表明复方中药99克星具有强大的破坏与抑制肿瘤细胞生长的作用, 其疗效不亚于无水乙醇, 其主要机制可能有: (1)抑制癌细胞的增生, (2)诱导癌细胞凋亡. 复方中药99-克星抗肿瘤的作用机制不同于无水乙醇, 尤其以抑制癌细胞增生和诱导癌细胞凋亡的作用

机制在抗肿瘤中具有重要的意义.本研究为传统中药治疗肝癌提供了一个新的给药途径与理论依据,其在肿瘤治疗研究中具有重要的意义和良好的发展前景.

林晓东, 林礼务, 何以枚, 高上达, 杨发端, 薛恩生. 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. 世界华人消化杂志 2003;11(9):1353-1356
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1353.asp>

0 引言

我国肝癌常见超声引导介入治疗肝癌的方法依然存在一定的局限性^[1-10].复方中药99-克星有强大的抑制肿瘤生长的作用,并且其作用机制明显不同于无水乙醇^[11,12].为进一步探讨超声引导经皮瘤内注射复方中药99-克星的疗效机制,我们通过应用免疫组织化学方法检测移植瘤细胞Ki-67抗原的表达并行流式细胞仪(FCM)DNA分析、TUNEL方法对细胞凋亡现象进行观察以评价99-克星抑制肝癌细胞增生与诱导肝癌细胞凋亡的生物效应.

1 材料和方法

1.1 材料 实验动物由厦门大学抗癌中心医学实验动物室(合格证号:闽医动字第23-007号)提供的5-8周龄BALB/CA裸鼠(SPF级,雌雄兼用),质量 18.0 ± 2.1 g,在无病原体的层流架内饲养,无菌操作下定期更换笼具、垫料、饮用水和标准饲料(由上海必凯公司提供).将人肝癌SMMC-7721细胞培养悬液离心后去上清,再加细胞培养液配成 5×10^{10} /L,在裸鼠背部皮下注射0.2 mL.当肿瘤长至1 cm左右时,无菌条件下取下部分瘤块,切成 $0.2 \times 0.2 \times 0.2$ cm瘤块,用套管针移植到另一只裸鼠背部皮下,形成皮下移植并传代.

1.2 方法 接种人肝癌移植瘤裸鼠28只,随机分3组:中药99-克星组(下称克星组,主要成分为天南星、丹参与黄芪等)14只,无水乙醇组(下称乙醇组)7只,生理盐水组(下称盐水组)7只.实验动物接种后10 d,采用高频超声(日本ALOKA-5500超声仪,探头频率10 MHz)测量肿瘤最大长径、宽径与厚径,并计算体积.以5号针头刺入肿瘤中心,缓缓注入各组药物0.1 mL,每隔5 d注射1次,共4次,在末次注射5 d后再超声测量肿瘤三径后将裸鼠处死.应用免疫组织化学方法检测Ki-67抗原的表达.石蜡标本4 μ m厚连续切片,免疫组化采用SP法.鼠抗人Ki-67单克隆抗体MIB1(即用型)、S-P免疫组化试剂盒购自福州迈新公司,参照说明书及文献操作.Ki-67抗原阳性产物定位于细胞核内,呈褐色或黄褐色颗粒状,胞质一般不着色.部分细胞核分裂时显示出整个细胞的阳性反应.采用北京航空航天大学CMIAS医学图像分析系统,每个标本在低倍镜($\times 100$)下观察并确定有代表性的Ki-67染色阳性视野,连续观察10个高倍视野($\times 400$),计算每个高倍视野瘤细胞中的阳性数.计算肿瘤Ki-67指数(Ki-67 Labeling index Ki-

67 LI), $Ki-67 LI = \text{阳性细胞总和} / \text{计数细胞总数} \times 100\%$.采用末端转移酶介导的dUTP切口末端标记方法(TUNEL)检测凋亡细胞.试剂盒(POD法)购自福州迈新公司(德国Boehringer Mannheim公司生产),参照说明书及文献操作.TUNEL染色以细胞核有明显棕黄色颗粒为阳性,采用北京航空航天大学CMIAS医学图像分析系统,每张切片观察10个高倍视野($\times 400$),随机计数不少于1 000个细胞的阳性细胞数.计算肿瘤细胞凋亡指数(Apoptotic index, AI), $AI = \text{凋亡细胞数} / \text{计数细胞总数} \times 100\%$.取新鲜肿瘤组织制备细胞混悬液行FCM DNA分析,FCM分析DNA的异倍体峰与凋亡峰的出现率.

统计学处理 实验数据经SPSS for Windows 8.0软件包行单因素方差分析和 χ^2 检验统计学处理,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义.

2 结果

99-克星组与乙醇组的Ki-67指数分别为 $17 \pm 9\%$, $21 \pm 11\%$,均显著低于盐水组的 $32 \pm 13\%$ ($P < 0.05$) (图1).克星组凋亡指数AI为 $49 \pm 5\%$,明显高于乙醇组的 $12 \pm 2\%$ 和盐水组的 $10 \pm 4\%$ ($P < 0.01$) (图2).盐水组中57% (4/7)出现异倍体峰(图3),显著高于未出现异倍体峰的乙醇组0% (0/7)与克星组的7% (1/14) ($P < 0.05$).另一明显特点是克星组有93% (13/14)见亚G₁期细胞形成的凋亡峰(图4),显著高于乙醇组的14% (1/7) ($P < 0.01$),而盐水组无1例出现凋亡峰.

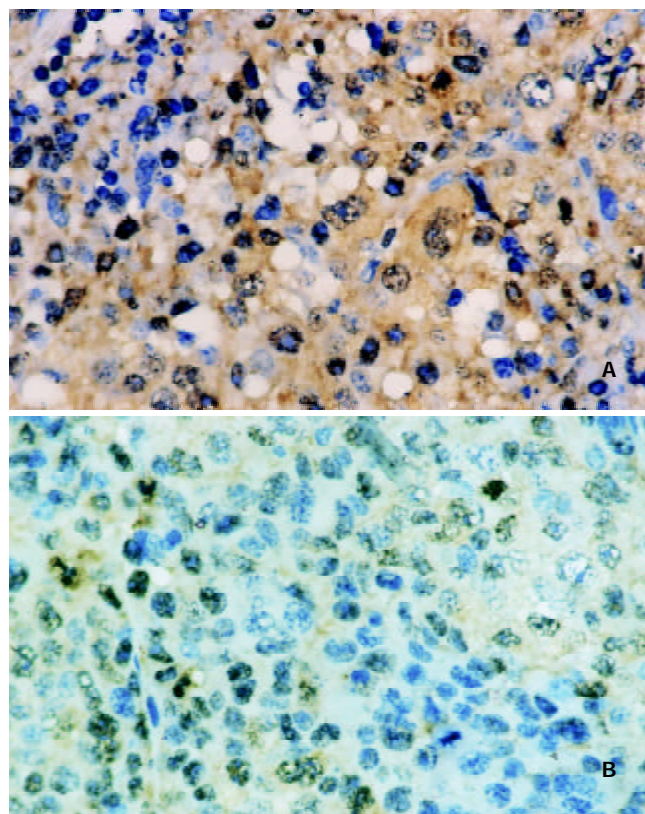


图1 裸鼠肝癌组织的Ki-67标记 $\times 400$ (细胞核有明显棕黄色颗粒为阳性).
A: 99-克星组;
B: 盐水组.

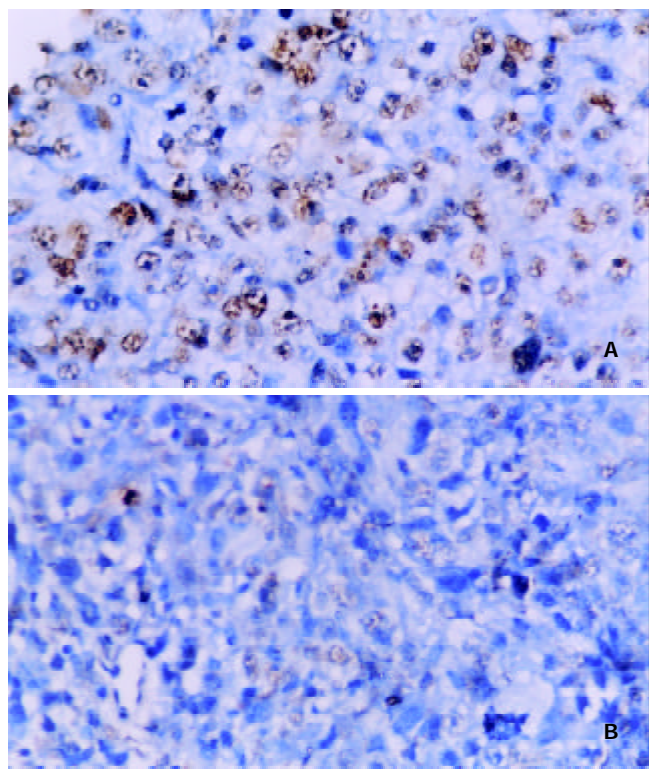


图2 裸鼠肝癌组织的TUNEL 标记 $\times 400$ (细胞核有明显棕黄色颗粒为阳性).
A: 99- 克星组.
B: 盐水组.

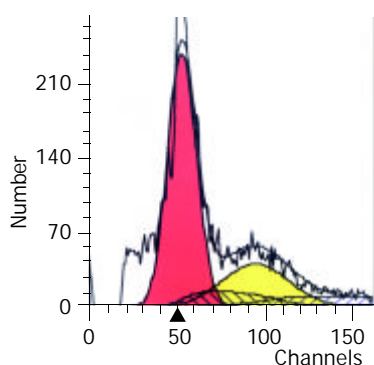


图3 注射生理盐水裸鼠肝癌组织 FCM DNA 分析出现异倍体峰(图中黄色峰).

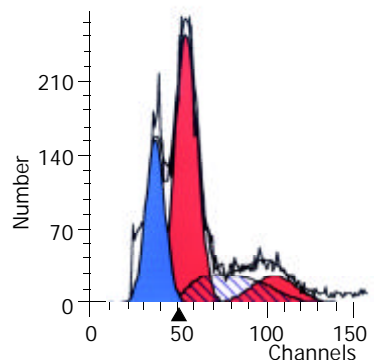


图4 注射 99- 克星裸鼠肝癌组织 FCM DNA 分析出现凋亡峰(图中蓝色峰).

3 讨论

临床上已有多种超声引导介入治疗肝癌的方法, 近年来国内外相继推出激光、微波、射频以及高能聚焦超

声等在超声引导下介入治疗肝癌, 其中有的疗效甚至可与外科手术切除相媲美^[2-5]. 但是以上多种方法依然存在一定的局限性^[6-10]. 我们发现 99- 克星有强大的抑制肿瘤生长的作用, 其疗效不亚于无水乙醇^[11, 12]. 病理细胞学和组织学观察也显示, 克星组肿瘤细胞出现肿胀、变性坏死与程序性坏死为主的特征性改变, 与乙醇组肿瘤组织呈凝固性坏死为主的改变明显不同. 更为独特的是, 克星组所有的变性肿胀肿瘤组织中同时出现许多淋巴细胞, 甚至形成淋巴细胞团, 而乙醇治疗组未见到明显的淋巴细胞. 这一发现提示复方中药 99- 克星能够促进机体局部组织炎症反应和淋巴细胞活跃, 其抑制或杀伤肿瘤细胞的作用很可能与细胞免疫功能增强机制有关, 他与无水乙醇单纯杀灭肿瘤细胞而缺乏组织反应的作用机制显然不同^[11, 12]. 因此值得进一步深入研究其作用机制.

Ki-67 是一种敏感而特异的增生期细胞标记物, 他可能是一类新的细胞核非组织蛋白^[13-15], 与细胞周期密切相关. Ki-67 抗原与细胞 DNA 半保留复制相藕连, 在有丝分裂的 G1, G2, M, S 期都表达, 其中 G2, M 期表达最强, G0 期不表达^[16, 17]. 因其半衰期短, 细胞脱离增生周期后迅速降解, 检测结果的可靠性明显优于目前常用的半衰期长的增生期细胞标记物即增生细胞核抗原(PCNA), 肿瘤细胞增生越活跃, 肿瘤细胞 ki-67 表达水平亦相应增高, 因此被视为较可靠的全面反映细胞群体增生水平的指标^[18-20]. 本实验结果显示 99 克星组与乙醇组的 Ki-67 指数分别为 $17 \pm 9\%$ 、 $21 \pm 11\%$, 均显著低于盐水组的 $32 \pm 13\%$ ($P < 0.05$). 99 克星组与乙醇组移植瘤细胞 ki-67 表达明显减弱, 表明大量的癌细胞处于细胞增生周期的静止期, 提示 99 克星与乙醇一样能阻止癌细胞进入分裂期, 从而抑制肿瘤的生长. 这表明 99 克星与乙醇一样能显著抑制肝癌细胞的增生, 从而抑制裸鼠 SMMC-7721 移植瘤生长.

调控细胞凋亡成为目前肿瘤治疗研究的一个新热点^[21-25]. 我们应用 TUNEL 法检测发现克星组的凋亡指数高达 $49 \pm 5\%$, 显著高于乙醇组的 $12 \pm 2\%$ 和盐水组的 $10 \pm 4\%$ ($P < 0.01$), 这与 FCM 的 DNA 分析显示 99- 克星组中 93% (13/14) 出现典型的亚二倍体的凋亡峰, 乙醇组仅 1 例出现低值的凋亡峰, 而盐水组无 1 例出现凋亡峰的结果相一致. 值得提出的是从 DNA 分析与 TUNEL 检测以及 Ki-67 抗原表达检测结果均显示乙醇组虽然肿瘤细胞生长也受抑制, 但并不表现为以凋亡为主的改变. 相反克星组 DNA 分析以及 TUNEL 检测结果均表明其抑制肿瘤生长的主要机制之一是诱导肝癌细胞凋亡, 二者有明显差别.

本结果表明复方中药 99- 克星具有强大的抑制与破坏肿瘤生长的作用. 除了能直接杀灭肿瘤细胞以及增强细胞免疫功能外, 还能抑制肝癌细胞的增生并且诱导肝癌细胞凋亡, 明显不同于无水乙醇, 尤其以抑制肝癌细胞的增生及诱导肝癌细胞凋亡的作用机制具有重要

意义, 因此其在肿瘤的治疗研究中具有重要的意义和良好的发展前景。

4 参考文献

- Lin LW, Ye Z, Xue ES, Gao SD, He YM. A study of percutaneous hepatic quantified ethanol injection in treatment of hepatocarcinoma. *Zhongguo Chaosheng Yixue Zazhi* 2000;16:514-516
- Arii S, Yamaoka Y, Futagawa S, Inoue K, Kobayashi K, Kojiro M, Makuuchi M, Nakamura Y, Okita K, Amada RY. Results of surgical and nonsurgical treatment for small-sized hepatocellular carcinomas: a retrospective and nationwide survey in Japan. The liver cancer study of Japan. *Hepatology* 2000;32:1224-1229
- Yamamoto J, Okada S, Shimada K, Okusaka T, Yamasaki S, Ueno H, Kosuge T. Treatment strategy for small hepatocellular carcinoma: Comparison of long-term results after percutaneous ethanol injection therapy and surgical resection. *Hepatology* 2001;34(4 Pt 1):707-713
- Bruix J, Llovet JM. Prognostic prediction and treatment strategy in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2002;35:519-524
- Morimoto M, Sugimori K, Shirato K, Kokawa A, Tomita N, Saito T, Tanaka N, Nozawa A, Hara M, Sekihara H, Shimada H, Imada T, Tanaka K. Treatment of hepatocellular carcinoma with radiofrequency ablation: Radiologic-histologic correlation during follow-up periods. *Hepatology* 2002;35:1467-1475
- Kato T, Reddy KR. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma: Help or hazard? *Hepatology* 2001;33:1336-1337
- Francica G. Complications of radio-frequency thermal ablation. *Radiology* 2001;220:554-554
- Goldberg SN. Comparison of techniques for image-guided ablation of focal liver tumors. *Radiology* 2002;223:304-307
- Tang ZY. Hepatocellular carcinoma-cause, treatment and metastasis. *World J Gastroenterol* 2001;7:445-454
- Llovet JM, Vilana R, Bru C, Bianchi L, Salmeron JM, Boix L, Ganau S, Sala M, Pagès M, Ayuso C, Solé M, Rodés J, Bruix J. Increased risk of tumor seeding after percutaneous radiofrequency ablation for single hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2001;33:1124-1129
- Lin LW, He YM, Gao SD, Yan FD, Ye Z, Xie XD, Yu LY, Li XF, Yang YH. Percutaneous intratumoral injection of Chinese traditional medicine "Star-99" in treatment of hepatic carcinoma: an experimental study. *Zhonghua Chaosheng Yixue Zazhi* 2002;11:45-48
- Lin LW, He YM, Gao SD, Yang HD, Ye Z, Xie ES. Percutaneous intratumoral injection of compound chinese medicine in inducing the apoptosis of the hepatic cancer cell. *Zhongguo Yixue Yingxiang Jishu* 2002;18:6-8
- Schluter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Becker MH, Ker G, Gerdes J. The cell proliferation-associated antigen of antibody Ki-67: a very large, ubiquitous nuclear protein with numerous repeated elements, representing a new kind of cell cycle-maintaining proteins. *J Cell Biol* 1993;123:513-522
- Liu FS, Chen JT, Liu SC, Shih A, Shih RT, Ho ES. Expression and prognostic significance of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in malignant ovarian germ cell tumors. *Zhonghua Yixue Zazhi (Taipei)* 1999;62:695-702
- Setälä L, Kosma VM, Lipponen P, Naukkarinen A, Nordling S, Hollmén S, Eskelinen M, Syrjänen K, Alhava E. Clinical relevance of p53 index and expression of proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in gastric cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 1998;124:497-502
- Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer* 1983;31:13-20
- Kameyama K, Takami H, Umemura S, Osamura YR, Wada N, Sugino K, Mimura T, Ito K. PCNA and Ki-67 as prognostic markers in human parathyroid carcinomas. *Ann Surg Oncol* 2000;7:301-304
- Nolte M, Werner M, Nasarek A, Bektas H, von Wasielewski R, Klempnauer J, Georgii A. Expression of proliferation associated antigens and detection of numerical chromosome aberrations in primary human liver tumors: relevance to tumour characteristics and prognosis. *J Clin Pathol* 1998;51:47-51
- Kodama T, Kawamoto K, Kono T, Shibuya Y, Setogawa T. Comparison of immunostainings for proliferating cell nuclear antigen and Ki-67 in human extraocular lesions. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1997;235:767-772
- Bozlu M, Orhan D, Baltaci S, Yaman O, Elhan AH, Tulunay O, Muftuoglu YZ. The prognostic value of proliferating cell nuclear antigen, Ki-67 and nucleolar organizer region in transitional cell carcinoma of the bladder. *Int Urol Nephrol* 2002;33:59-66
- Brown JM, Wouters BG. Apoptosis, p53, and tumor cell sensitivity to anticancer agents. *Cancer Res* 1999;59:1391-1399
- Ikeda M, Shomori K, Endo K, Makino T, Matsuura T, Ito H. Frequent occurrence of apoptosis is an early event in the oncogenesis of human gastric carcinoma. *Virchows Arch* 1998;432:43-47
- Li G, Tang L, Zhou X, Tron V, Ho V. Chemotherapy-induced apoptosis in melanoma cells is p53 dependent. *Melanoma Res* 1998;8:17-23
- Chresta CM, Arriola EL, Hickman JA. Apoptosis and cancer chemotherapy. *Behring Inst Mitt* 1996;97:232-240
- Yamamoto M, Maehara Y, Oda S, Ichiyoshi Y, Kusumoto T, Sugimachi K. The p53 tumor suppressor gene in anticancer agent-induced apoptosis and chemosensitivity of human gastrointestinal cancer cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 1999;43:43-49



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

