

砷剂对实验性鼠肝癌血管生成的影响

谭兵, 黄介飞, 魏群, 张弘, 倪润洲

谭兵, 黄介飞, 倪润洲, 南通医学院附属医院消化内科 江苏省南通市 226001
魏群, 张弘, 南通医学院附属医院消化实验室 江苏省南通市 226001
谭兵, 女, 1976-03-05 生, 河南洛阳市人, 汉族, 1999 年河南医科大学本科毕业, 2003 年南通医学院硕士研究生毕业, 住院医师. 主要从事消化系统疾病的研究.

项目负责人: 黄介飞, 226001, 江苏省南通市西寺路 20 号, 江苏省南通市, 南通医学院附属医院消化内科.

电话: 0513-5806629

收稿日期: 2003-06-13 接受日期: 2003-08-18

Anti-hepatoma effect and its mechanism of arsenic trioxide on experimental liver cancer

Bing Tan, Jie-Fei Huang, Qun Wei, Hong Zhang, Run-Zhou Ni

Bing Tan, Jie-Fei Huang, Qun Wei, Hong Zhang, Run-Zhou Ni, Department of Digestive Medicine, the Affiliated Hospital, Nantong Medical College, Nantong 226001, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Dr. Jie-Fei Huang, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China.

Received: 2003-06-13 Accepted: 2003-08-18

Abstract

AIM: To study the synergistic anti-hepatoma efficacy of arsenic trioxide (As_2O_3) and matrine in the treatment of experimental rat hepatocellular carcinoma (HCC) induced by 2-acetamidofluorene (2-FAA) and to elucidate the possible mechanisms.

METHODS: SD rats (2 months old) were fed with 2-FAA for 8 weeks to induce HCC, then treated with As_2O_3 and matrine. On day 29, we weighed the liver and counted liver tumors. The histological changes of the liver were observed under microscope, and the cellular dynamic parameters were studied by flow cytometry. Immunohistochemistry (two-step method) was used to observe the expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and to show micro-vessel density (MVD) on consecutive sections. The pathological parameters were analyzed at the same time. The levels of serum AST, ALT, TBI and DBI were also investigated.

RESULTS: The number of liver tumors decreased significantly in groups treated with As_2O_3 , especially in middle-dose (1 mg/kg) group ($P < 0.01$). Treatment with As_2O_3 caused HCC cell death via apoptosis. Necrosis was seldomly found and apoptosis was common when the dose was appropriate (1 mg/kg). Proliferation index (PI) decreased sharply in middle-dose (1 mg/kg) group ($P < 0.01$), but not in another (0.2 mg/kg) group ($P > 0.05$). However, S phase fraction (SPF) decreased dramatically in the two groups, it reached the top only when the dose (1 mg/kg) was appropriate ($P < 0.01$), and it was obviously accompanied with accumulation of cells in G_0/G_1 (G_0/G_1 restriction). The inhibitory effects of As_2O_3 on HCC cells were not signifi-

cantly enhanced by matrine. Compared with single treatment with As_2O_3 1 mg/kg or 0.2 mg/kg, G_0/G_1 phase cells in the group of combination treatment with As_2O_3 1 mg/kg or 0.2 mg/kg and matrine 4.2 g/kg did not increased, and apoptotic cells with fractional DNA content did not increased either. The expression of VEGF and MVD was significantly lower in middle-dose (1 mg/kg) group ($P < 0.01$) than that in normal saline group. In comparison with normal saline group, administration of As_2O_3 or/and matrine lowered the levels of AST in serum ($P < 0.05$), but had no effect on the amount of serum AST, TBI and DBI ($P > 0.05$).

CONCLUSION: Arsenic trioxide inhibits growth of experimental hepatocellular carcinoma in rats induced by 2-acetamidofluorene, but As_2O_3 has no obvious effect on the normal hepatic cells. The mechanisms may involved in decreasing cell mitosis, accumulating cells in G_0/G_1 phase, inducing apoptosis of tumor cells, and having inhibitory effects on the angiogenesis through inhibiting vascular endothelial growth factor. Matrine with As_2O_3 has not significantly synergistic anti-hepatoma effects.

Tan B, Huang JF, Wei Q, Zhang H, Ni RZ. Anti-hepatoma effect and its mechanism of arsenic trioxide on experimental liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(1):32-37

摘要

目的: 研究三氧化二砷(As_2O_3)对大鼠体内实验性肝癌的治疗作用及其作用机制.

方法: 选择健康成年封闭群♂ SD大鼠(2月龄), 以含0.5 g/L 2-乙酰氨基芴(2-FAA)进行喂饲制备大鼠肝癌模型. 治疗组以两种浓度的 As_2O_3 溶液与复方苦参分别注射于大鼠腹腔, 1次/d, 2 wk后改为2次/wk, 总给药时间为4 wk; 同时设生理盐水对照组(NS). 治疗4 wk末处死大鼠, 获取肝脏组织和血清; 称肝湿重; 记录肝表面肿瘤结节分布情况; 肝肿瘤组织HE染色后在光镜下观察肝脏组织形态学变化; 流式细胞仪检测肿瘤细胞动力学变化; 并分别应用VEGF多克隆抗体和FⅧRag多克隆抗体染色的免疫组化方法检测致癌组织的血管内皮生长因子(VEGF)和微血管密度(MVD)表达情况; 并测定血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)、谷丙转氨酶(ALT)及总胆红素(TBI)和结合胆红素(DBI)水平.

结果: As_2O_3 治疗组, 肝肿瘤结节明显少于生理盐水对照组, 尤以中剂量 As_2O_3 治疗组表现最为显著($P < 0.01$). 免疫组化显示 As_2O_3 治疗组 VEGF 表达强度及相应的 MVD 明显低于生理盐水对照组($P < 0.001$). 复方苦参和生理盐水对照组上述各项指标相比差异无显著性($P > 0.05$). 各治疗组的血清 AST 活性明显低于生理盐水对照组($P < 0.05$), 但各组之

间无显著性差异($P > 0.05$); 血清 ALT、TbI 及 DBi 水平各组之间以及与生理盐水对照组差异均无显著性($P > 0.05$).

结论: As_2O_3 对大鼠肝细胞肝癌生长具有明显抑制作用, 并且对肝功能又无明显毒副作用. 作用机制可能与抑制 VEGF 合成间接抗肿瘤血管形成有关. 复方苦参无明显治疗作用.

谭兵, 黄介飞, 魏群, 张弘, 倪润洲. 砷剂对实验性鼠肝癌血管生成的影响. 世界华人消化杂志 2004;12(1):32-37

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/32.asp>

0 引言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是消化系统常见的肿瘤^[1-10], 其恶性程度高, 预后差^[11-16]. 近年来, 已证实砷剂(主要成分三氧化二砷, As_2O_3)可通过诱导肿瘤细胞凋亡达到治疗的目的^[17-22], 肿瘤生长、转移依赖于新生血管的形成, 而血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)与肿瘤新生血管的形成有关, 但 As_2O_3 对实验性 HCC VEGF 的表达和微血管密度(micro-vessel density, MVD)的影响的研究国内尚未见报道. 我们通过建立大鼠肝癌模型并给予 As_2O_3 治疗后分别应用 VEGF 多克隆抗体及 F VIII RAg 多克隆抗体染色的免疫组化方法检测 HCC 的 MVD, 研究 As_2O_3 对体内 HCC 的治疗作用及其作用机制.

1 材料和方法

1.1 材料 选取 ♂ 封闭群 SD 大鼠(2 月龄)100 只, 体重 140-180 g (由南通医学院实验动物中心提供), 喂饲的颗粒饲料中拌入浓度为 0.5 g/kg 的致癌剂 2-乙酰氨基苄(2-FAA, 购自美国 Sigma 公司), 所有 SD 大鼠均以恒环境饲养. 致癌 3-5 wk 大鼠死亡较多, 其中 4 wk 开始死亡的大鼠尸体解剖均发现肝脏表面有肉眼可见的白色结节, 病理证实呈明显的异型性改变, 并且随造模时间的延长结节数量及大小亦呈增加趋势. 8 wk 末 100 只大鼠仅 50 只存活. 9 wk 开始所有大鼠均喂饲正常颗粒饲料.

1.2 方法 将上述 50 只致癌大鼠按体重大小均衡地分为四组: A 组, 用中剂量 As_2O_3 (1 mg/kg)(亚砷酸注射液, 哈尔滨伊达药业有限公司生产)治疗, 按 1:4 与生理盐水的体积稀释后腹腔注射, 1 次/d, 2 wk 后改为 2 次/wk; B 组, 用小剂量 As_2O_3 (0.2 mg/kg)治疗; C 组, 应用复方苦参(山西金晶药业有限公司惠赠)治疗, 剂量为 4.2 g/kg 质量, 给药途径和给药时间同上; D 组, 以生理盐水 1.5 ml/kg 质量, 治疗方法同上. 治疗开始后每日观察大鼠用药后情况及反应、每周称体重并按体重变化调整用药剂量. As_2O_3 治疗剂量的选择以 As_2O_3 治疗人白血病的剂量为依据(10 mL/d), 按人与大鼠间体表面积折算的等效剂量等值表^[23]计算得出, 以此为中等剂量(1 mg/kg), 并同时得出小剂量(0.2 mg/kg). 复方苦参剂量的选择根据药理实验小鼠化疗剂量(6.4 g/kg), 按小鼠与大鼠体表面积折算的等效剂量比^[23]值表计算得出. 治疗满 4 wk

时, 分别处死大鼠, 尽量手术获取肝肿瘤结节, 肿瘤结节固定于 40 g/L 中性甲醛中, 进行形态学和免疫组化检查.

1.2.1 病理组织学检查 取 40 g/L 甲醛液前固定后的肝组织, 再以 150 mL/L 酒精甲醛后固定, 经无水酒精脱水、浸蜡、包埋、机器切片 4 μ m、烘干、二甲苯脱蜡、蒸馏水洗涤后进行常规 HE 染色. 光镜标本在光镜下观察肝脏组织学变化. 观察肝组织内肿瘤形成情况及细胞凋亡形态学变化, 并用 OLYMPUS BH2BHS-313 显微摄影显微镜进行摄像.

1.2.2 免疫组化检测 分别应用 VEGF 多克隆抗体和 F VIII RAg 多克隆抗体染色的免疫组化方法检测致癌肿瘤组织的 VEGF 和 MVD 表达情况. Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)Ab-1 兔多克隆抗体(购自 Neomarkers 公司), 二步法免疫组化检测试剂 PV-9000(北京中山生物技术有限公司). F VIII RAg 多克隆抗体(北京中山生物技术有限公司). 冰冻切片(购自 LEICA CM3050S) (1) VEGF 免疫组化染色 按北京中山生物技术有限公司二步法免疫检测试剂盒的操作步骤执行, 每次染色过程, 均以 PBS 代替一抗作阴性对照, 已知阳性切片作阳性对照. VEGF 以肿瘤细胞胞质内出现棕黄色颗粒为阳性, 参照王影 et al^[24]标准, 每张切片分别观察 10 个高倍视野(200 \times), 每个高倍视野计数 100 个细胞的免疫染色阳性细胞数, 计算出每张切片的阳性细胞百分数并分为五个等级, 低于 10% 为阴性(-), 高于或等于 10% 为阳性, 其中 10-25% 为 +, 26-50% 为 ++, 51-75% 为 +++, 76% 以上为 ++++; 再将阳性细胞所占百分比打分: 0 分为小于或等于 10%、1 分为 10-25%, 2 分为 26-50%, 3 分为 51-75%, 4 分为大于或等于 76%. 每张切片有 2 名病理医师双盲观察. (2) MVD 免疫组化染色 按北京中山生物技术有限公司二步法免疫检测试剂盒的操作步骤执行, 每次染色过程, 均以 PBS 代替一抗作阴性对照, 已知阳性切片作阳性对照. MVD 的计数参照 Weidner (Am J Pathol 1995;147:9-15)报道的方法, 先在低倍镜(100 \times)下观察切片以确定肿瘤内血管密度最高处为检测区, 再在高倍镜(400 \times , 0.1885 mm²/视野)下, 以与周围肿瘤细胞和结缔组织成分明显区分的任何一个棕黄色染色的内皮细胞或幼稚内皮细胞(核不规则或无)形成的或细胞丛作为“一个血管”, 只要结构不相连, 其分支结构也作为“一个血管”计数, 有肌层及明显管腔的血管均不计数. 记录 3 个视野内的微血管数, 取其平均数作为标本的 MVD 值.

1.2.3 血清酶学检查血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性测定 采用 2, 4 二硝基苯胺显色法(赖式法)检测. 主要试剂: 丙氨酸氨基转移酶(ALT)测定试剂盒(购自上海玉兰生物技术研究). 血清谷丙转氨酶(AST)活性测定: 采用比色法检测. 主要试剂: 谷丙转氨酶测定试剂盒(购自上海玉兰生物技术研究). 血清总胆红素和结合胆红素测

定采用卫生部临检中心推荐方法(J-G法). 主要试剂: 血清总胆红素和结合胆红素测定试剂盒(购自上海玉兰生物技术有限公司).

统计学处理 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 EXCEL 和 STATA7.0 统计分析软件进行数据处理, 采用单因素方差分析等, $P < 0.05$ 被认为差异具有显著性.

2 结果

在中剂量三氧化二砷治疗的第 1 wk, 有个别 SD 大鼠有一过性呼吸急促、心跳加快, 四肢末梢紫绀, 约 6 h-1 d 后自行恢复. 另外各治疗组及对照组腹腔注射的局部出现皮肤硬结, 每天更换腹腔注射部位可避免皮肤硬结的形成.

2.1 形态学改变 致癌大鼠的肝脏与正常大鼠相比较, 颜色偏灰白, 肝脏质地变硬, 切面结节内偶有出血坏死; 体积和重量均明显增加, 肝表面呈多发结节样改变, 大小不一, 直径多在 1-6 mm 之间, 其中生理盐水对照组有一个结节直径达 9 mm; 部分肝叶上结节呈弥漫分布, 生理盐水对照组中表面弥漫分布的结节多为粗颗粒状, 且累及叶数多; 相比而言, As_2O_3 治疗组中结节弥漫分布于肝叶的数量少, 范围小, 且多呈细颗粒状; 其他各组界于二者之间(表 1).

表 1 肝脏表面肿瘤结节数量的变化

分组	n	直径 2-4 mm 结节数 (平均结节数/只)	直径 >4 mm 结节数 (平均结节数/只)	弥漫性分布肝叶数 (平均肝叶数/只)
A 组	8	0 (0)	1 (0.13)	0 (0)
B 组	9	50 (5.56)	9 (1.00)	17.5 (1.94)
C 组	8	137 (15.22)	13 (1.44)	29 (3.22)
D 组	8	223 (24.78)	49 (5.44)	39 (4.33)

在治疗 4 wk 末, A 组有 5 只大鼠肝脏表面未找到肉眼可见的结节, D 组有 3 只大鼠肝脏表面未找到肉眼可见的结节, 而同期生理盐水对照组肝脏表面均见有结节分布, 可见弥漫分布于肝叶的结节, 仅 1 只大鼠肝结节呈散在分布(图 1、2). 各治疗组治疗 4 wk 末, A 组大鼠肝表面肿瘤结节数及弥漫性分布肝叶数与 B、C 组相比差异具有显著性($P < 0.05$), B 组与 C 组相比差异无显著性($P > 0.05$), A 组与 F 组相比差异具有极显著性($P < 0.01$). 各组 2-FAA 致癌的 SD 大鼠肝脏组织显微镜下可见肝细胞变性, 卵圆细胞增生, 汇管区炎症细胞浸润、结缔组织增生, 有大小不等的再生结节和癌巢结节形成. 其中生理盐水对照组有较广泛炎症细胞浸润和假小叶形成, 肝细胞癌变形成较多的癌巢结节. A 组治疗组病理改变明显轻, 汇管区炎症细胞浸润少、再生结节相对较多, 部分细胞出现异型性改变, 但癌巢结节少或偶见(图 3). 治疗组中部分肝癌细胞呈现凋亡特征, 凋亡细胞与周围细胞分离, 呈圆形或卵圆形, 胞膜完

整, 核染色质固缩、边集或碎裂, 形成大小不等的胞内小体, 胞质皱缩, 嗜酸性增加, 周围无炎症细胞浸润(图 4). 复方苦参治疗组病理改变界于二者之间.

2.2 免疫组化检测结果

2.2.1 VEGF 表达的分布及强度 A 组 8 例中 VEGF 表达阳性 4 例(4/8, 50%), 多为 +, 4 例阴性(图 7、8), 积分与 D 组相比有显著性差异($P < 0.05$), 但与其他各组相比差异无显著性($P > 0.05$); 在生理盐水对照组则全部阳性, 多为 ++ - +++(图 9、10); 其他各组界于二者之间, 各组之间及与 D 组相比无显著性差异($P > 0.05$, 表 2). 阳性表达的癌细胞多见于浸润到间质的癌巢中, 呈灶性或弥漫分布. 在组织附近的血管内皮细胞也可见阳性反应.

表 2 VEGF、MVD 表达强度

分组	n	VEGF					积分	MVD
		-	+	++	+++	++++		
A	8	4	3	1	0	0	0.63 ± 0.74^a	15.75 ± 3.99^{bd}
B	9	1	5	2	1	0	1.33 ± 0.87	28.22 ± 9.28^b
C	8	1	1	3	3	0	2.00 ± 1.07	41.13 ± 7.70
D	8	3	4	0	1	0	2.44 ± 0.88	47.44 ± 13.41

^a $P < 0.05$ ^b $P < 0.01$, vs D 组; ^a $P < 0.01$, vs C 组.

2.2.2 MVD 的检测结果 F VIII RAg 免疫染色定位于肝癌组织中微血管内皮细胞. 癌区组织中微血管形态不规整, 分布不均, 癌灶边缘血管最密集, 呈簇状, 部分呈分芽状(图 11、12). As_2O_3 治疗 4 wk 后, 肝组织中微血管管腔相对规则, 中剂量 As_2O_3 治疗组所得组织中则分布较少而均匀. 除 C 组差异无显著性($P > 0.05$)外, 其他各组均明显低于生理盐水对照组($P < 0.001$); A 和 B 组、B 和 C 组($P > 0.05$); A 极显著低于 C 组($P < 0.001$), E 组也较 C 组明显低下($P < 0.001$, 表 2).

2.3 肝功能改变情况 在 4 wk 的治疗过程中, 各治疗组与生理盐水对照组相比, ALT, TBI, DBI 的差异均无显著性($P > 0.05$), AST 均低于生理盐水对照组($P < 0.05$), AST, ALT, TBI, DBI 在各治疗组差异均无显著性($P > 0.05$, 表 3).

表 3 AST、ALT、TBI、DBI 的变化($\bar{x} \pm s$)

分组	AST(μ L)	ALT(μ L)	TBI(μ mol/L)	DBI(μ mol/L)
A 组	61.46 ± 9.46^a	31.65 ± 9.25	0.52 ± 0.11	0.35 ± 0.15
B 组	63.75 ± 20.40^a	34 ± 12.58	0.62 ± 0.27	0.40 ± 0.24
C 组	61.18 ± 13.00^a	33.45 ± 16.44	0.51 ± 0.14	0.30 ± 0.12
D 组	108.98 ± 29.86	40 ± 16.12	0.47 ± 0.13	0.60 ± 0.28

^a $P < 0.05$, vs D 组.

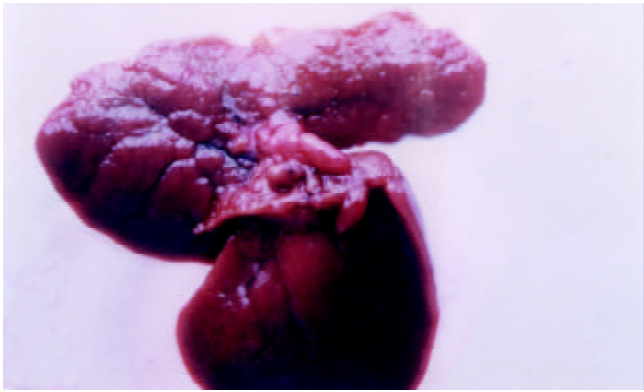


图1 实验4 wk 末生理盐水对照组肝脏大体观.

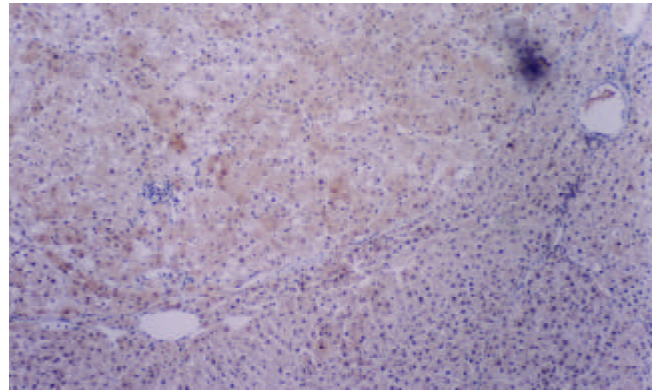


图5 实验4 wk 末生理盐水对照组 VEGF 强阳性表达($\times 10$).

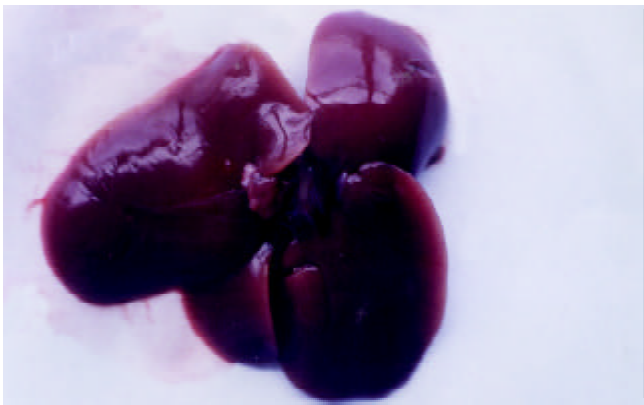


图2 实验4 wk 末中剂量三氧化二砷治疗组肝脏大体观.

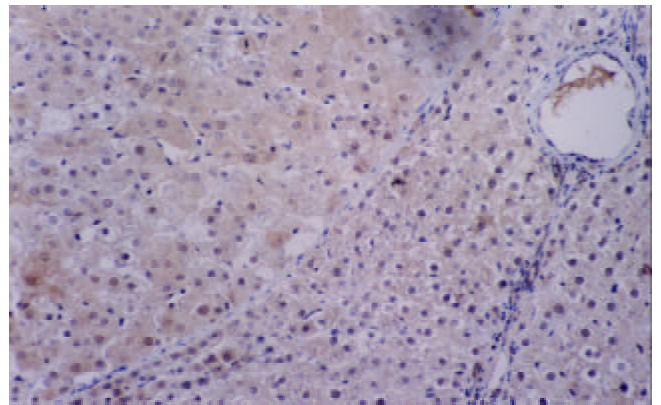


图6 实验4 wk 末生理盐水对照组 VEGF 强阳性表达($\times 20$).

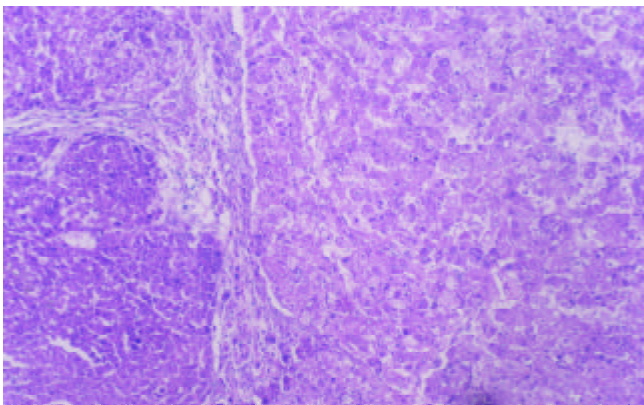


图3 实验4 wk 末生理盐水对照组的组织学改变(HE $\times 10$).

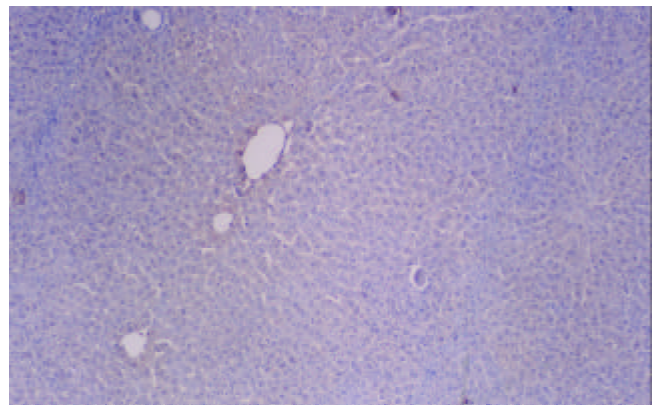


图7 实验4 wk 末中剂量三氧化二砷治疗组 VEGF 弱阳性表达($\times 10$).

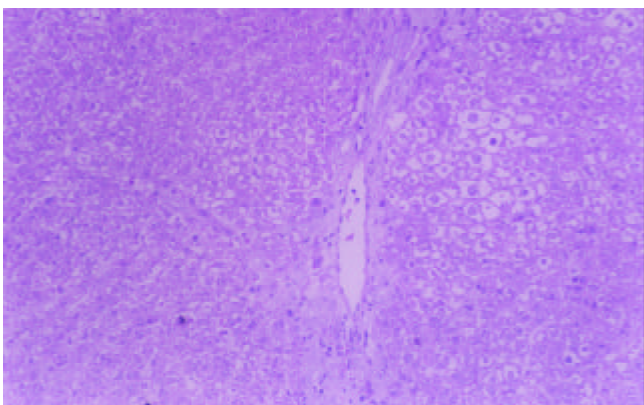


图4 实验4 wk 末中剂量三氧化二砷治疗组的组织学(HE $\times 10$).

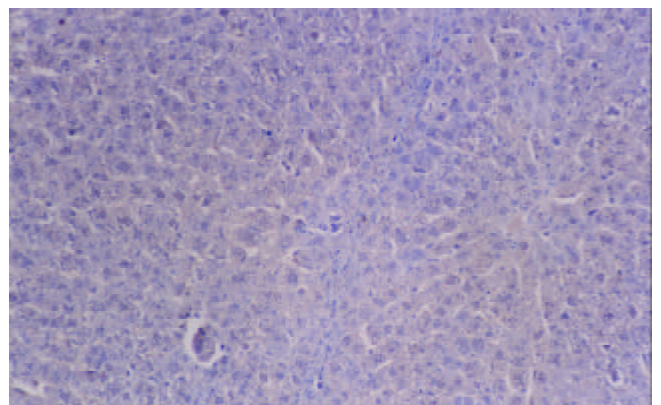


图8 实验4 wk 末中剂量三氧化二砷治疗组 VEGF 弱阳性表达($\times 20$).

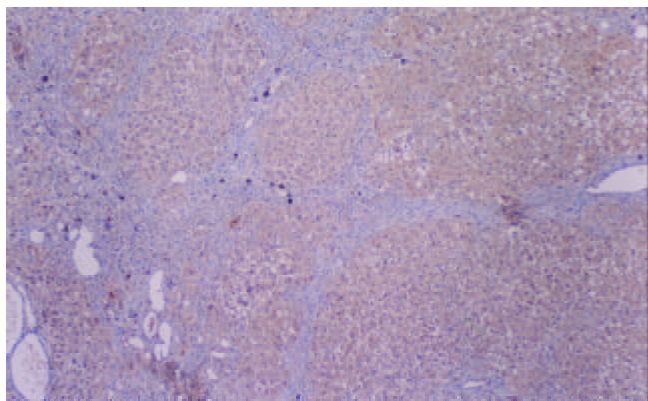


图9 实验4 wk末生理盐水对照组 FVIIIIRAg 强阳性表达($\times 10$).

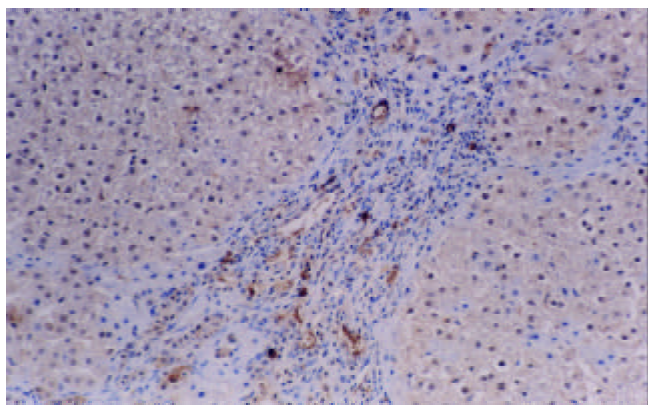


图10 实验4 wk末生理盐水对照组 FVIIIIRAg 强阳性表达($\times 20$).

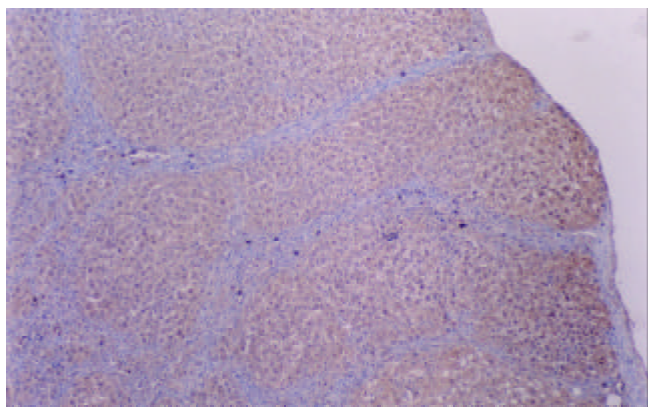


图11 实验4 wk末中剂量三氧化二砷治疗组 FVIIIIRAg 弱阳性表达($\times 10$).

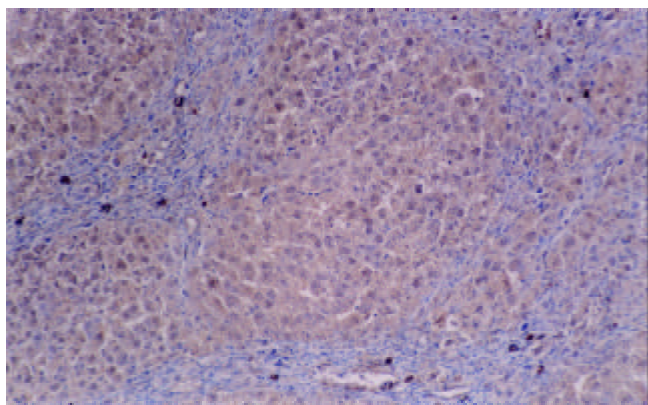


图12 实验4 wk末中剂量三氧化二砷治疗组 FVIIIIRAg 弱阳性表达($\times 20$).

3 讨论

对于不能手术切除的 HCC 的药物治疗的有关报道很多, 治疗效果都不太理想, 常由于严重的毒副作用, 患者耐受性差. 目前认为血管生成与实体肿瘤的发生、发展有着密切联系. 从血管新生的角度探讨肿瘤的发生和发展规律, 将有可能阐明肿瘤的发病机制, 并为肿瘤的治疗开辟新的途径. HCC 与所有实体肿瘤一样, 肿瘤细胞旺盛的代谢、增生需要充足的血液供应, 肿瘤新生血管形成与肿瘤发生、发展及预后密切相关. 肿瘤血管生成是一个非常复杂的过程, 他是有多多种血管生成因子(包括正、负调节因子)间相互协调的结果. 目前, 已识别的新生血管形成因子较多, VEGF 是最重要的一种, 他能增加血管通透性, 促进内皮细胞增生, 对活体血管形成有强烈的诱发作用. 在肿瘤的生长过程中, 肿瘤细胞分泌血管生长因子的急剧增加, 能够显著增加肿瘤血管形成, 加速肿瘤演进过程, 表现出转移特征^[25, 26]. 实验从 VEGF 和 MVD 的检测结果表明经中剂量 As_2O_3 作用后 VEGF 和 MVD 的表达强度均明显减弱, 即表明 As_2O_3 能通过抑制 VEGF 合成间接抗肿瘤血管形成, 以中剂量 As_2O_3 治疗组降低为著. 本实验还表明单用复方苦参对 HCC 无明显抑制 VEGF 合成间接抗肿瘤形成作用.

本实验中 As_2O_3 对大鼠形态学上改变亦能用其在细胞动力学方面的作用得到合理解释. 大体观察发现 As_2O_3 治疗组肝脏表面平均结节数及平均弥漫分布肝叶数少于生理盐水对照组, 以中剂量 As_2O_3 治疗组表现为著. 我们发现, 各治疗组的 HCC 大鼠血清 AST 活性低于生理盐水对照组, 各组 HCC 大鼠血清 ALT 活性差异无显著性, 说明 As_2O_3 和复方苦参对肝细胞无明显毒副作用.

总之, 人们对 As_2O_3 的抗肿瘤作用机制的认识已进入一个崭新的阶段. As_2O_3 因其对 HCC 增生的有效抑制以及诱导凋亡的作用, 又可通过抑制 VEGF 合成间接抗肿瘤血管形成, 加之中剂量又无明显的毒副作用, 故有望成为治疗 HCC 的一个依从性较好的有效药物, 这为肝癌的综合治疗有开辟了一个新的领域.

4 参考文献

- 1 Tang YW, Yao XX. Regulating effect of HCC cells on the activation of stellate cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9: 202-204
- 2 Cui J, Yang DH, Qin HR. Mutation and clinical significance of *c-fms* oncogene in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:392-395
- 3 Cheng H, Liu YF, Zhang HZ, Shen WA, Zhang SZ. Construction and expression of anti-HCC immunotoxin of sFv-TNF- α and GFP fusion proteins. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9: 640-644
- 4 Jiang YG, Wang YM, Li QF. Expression significance of HLA-DR antigen and heat shock protein 70 in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2001;9:1139-1142
- 5 Su YH, Zhu SN, Lu SL, Gu YH. HCV genotypes expression in hepatocellular carcinoma by reverse transcription *in situ* polymerase chain reaction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8: 874-878

- 6 Zhai SH, Liu JB, Liu YM, Zhang LL, Du ZP. Expression of HBsAg, HCV-Ag and AFP in liver cirrhosis and hepatocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000; 8:524-527
- 7 Fu JM, Yu XF, Shao YF. Telomerase and primary liver cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:461-463
- 8 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
- 9 Worman HJ, Lin F, Mamiya N, Mustacchia PJ. Molecular biology and the diagnosis and treatment of liver diseases. *World J Gastroenterol* 1998;4:185-191
- 10 He XX, Wang JL. The current status and prospect in the gene therapy of liver cancer. *Huaren Xiaohua Zazhi* 1998;6:158-159
- 11 Yang LJ, Wang WL. Preparation of monoclonal antibody against apoptosis-associated antigens of hepatoma cells by subtractive immunization. *World J Gastroenterol* 2002;8:808-814
- 12 Wang FS, Liu MX, Zhang B, Shi M, Lei ZY, Sun WB, Du QY, Chen JM. Antitumor activities of human autologous cytokine-induced killer (CIK) cells against hepatocellular carcinoma cells in vitro and *In vivo*. *World J Gastroenterol* 2002;8:464-468
- 13 Zhang G, Long M, Wu ZZ, Yu WQ. Mechanical properties of hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:243-246
- 14 Sun ZJ, Pan CE, Liu HS, Wang GJ. Anti-hepatoma activity of resveratrol *in vitro*. *World J Gastroenterol* 2002;8:79-81
- 15 Liu WW. Etiological studies of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 1999;7:93-95
- 16 程虹, 刘彦仿, 张惠中, 沈万安, 张菊, 张静. 抗肝癌单链免疫毒素基因修饰的 PBMCs 在动物体内的抑瘤作用. *世界华人消化杂志* 2003;11:708-711
- 17 陈惠英, 刘文虎, 秦叔逵. 三氧化二砷对肝癌细胞株凋亡的诱导作用. *世界华人消化杂志* 2000;8:532-535
- 18 刘连新, 姜洪池, 朱安龙, 周津, 王秀琴, 吴昊. 三氧化二砷对肝癌细胞凋亡的诱导及机制的探讨. *中华医学杂志* 2001;18:1526-1527
- 19 张恂, 王绍山, 齐清会. 砷剂作用下大鼠肝癌的形态学及细胞动力学变化. *肿瘤* 2001;21:101-105
- 20 刘琳, 秦叔逵, 陈惠英, 王锦鸿, 陈洪, 马军, 刘文虎. 三氧化二砷选择性诱导人肝癌细胞凋亡及相关基因的实验研究. *中华肝脏病杂志* 2000;8:367-369
- 21 陈洪, 秦叔逵, 潘麒麟, 陈惠英, 马军. 三氧化二砷抗肝癌作用的实验研究. *中华肝脏病杂志* 2000;8:27-29
- 22 苏颖, 陈增, 林可焯, 邹长梭, 林华妹. 三氧化二砷抑制肝癌细胞端粒酶表达及诱导细胞凋亡作用. *世界华人消化杂志* 2003;11:264-267
- 23 孙瑞元. 定量药理学. 第1版. 北京:人民卫生出版社, 1987:245
- 24 王影, 杨素琼, 王在国, 覃胜, 刘光中. 原发性肝细胞癌中 ras p21, C-erbB-2 和 p16 蛋白的表达意义. *世界华人消化杂志* 1999;7:207-209
- 25 Zagzag D. Angiogenic growth factors in neural embryogenesis and neoplasia. *Am J Pathol* 1995;146:293-309
- 26 Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, Dvorak AM. Vascular permeability factor/Vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis. *Am J Pathol* 1995;146:1029-1039

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

World Journal of Gastroenterology 获得2002年度百种中国杰出学术期刊

本刊讯 期刊的学术质量是一个综合指标, 1999 年中国科技信息所研制了中国科技期刊综合指标评价体系, 该指标体系已应用于中国科协一年一度的期刊择优资助工作中. 综合指标评价体系是根据期刊的多项重要指标, 如被引总频次、影响因子、即年指标、基金论文比、他引总引比、扩散因子等, 对期刊分学科进行综合打分. 通过对中国科技论文与引文数据库收录的科技期刊进行综合评定, 今年中国科学技术信息研究所评出了第二届中国百种杰出学术期刊. World Journal of Gastroenterology 荣获 2002 年度百种中国杰出学术期刊称号.

(世界胃肠病学杂志 2003-12-27)