

# 幽门螺杆菌对胃上皮细胞Cox-2表达与凋亡的影响

余 琴, 刘南植, 龚建平

余琴, 刘南植, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科  
湖北省武汉市 430030  
龚建平, 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

余琴, 女, 1977-04 生, 湖北省宜昌市人, 汉族. 1998 年湖北医科大学本科  
毕业, 2003 年华中科技大学同济医学院硕士毕业, 主要从事胃癌的研究.

项目负责人: 刘南植, 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消化内科.

电话: 027-83663611

收稿日期: 2003-09-15 接受日期: 2003-11-13

## Cyclooxygenase-2 expression in gastric mucosal cells with *H pylori* infection and its relationship with apoptosis

Qin Yu, Nan-Zhi Liu, Jian-Ping Gong

Qin Yu, Nan-Zhi Liu, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital,  
Tongji Medical College, Hua Zhong University of Science and Technology,  
Wuhan 430030, Hubei Province, China

Jian-Ping Gong, Department of General Surgery, Tongji Hospital, Tongji  
Medical College, Hua Zhong University of Science and Technology,  
Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Dr Nan-Zhi Liu, Department of Gastroenterology,  
Tongji Hospital, Tongji Medical College, Hua Zhong University of Science and  
Technology, 1095 Jie Fang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Received: 2003-09-15 Accepted: 2003-11-13

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of Cox-2 in MKN28 and AGS gastric cells and gastric mucosal lesions with *H pylori* infection, to determine whether Cox-2 gene expression by *H pylori* infection could influence gastric cell apoptosis and to identify the relationship between Cox-2 and gastric carcinoma.

**METHODS:** The total *H pylori* proteins of various concentrations were incubated with MKN28 and AGS gastric cells *in vitro*. RT-PCR and S-P immunohistochemical staining were used to detect the expression of Cox-2 before and after the incubation. 40 patients who underwent endoscopy were detected with S-P method. Apoptosis induced by *H pylori* or selective Cox-2 inhibitor NS-398 or both was characterized by cell cycle kinetics with flow cytometry.

**RESULTS:** Expression of Cox-2 in MKN28 gastric mucosal cells incubated with *H pylori* was significantly higher than that in non-incubated cells. Expression of Cox-2 protein in MKN28 gastric cells before and after incubated with *H pylori* was 0.26 and 0.40 respectively ( $P < 0.05$ ), but in AGS gastric cells, the expression of Cox-2 protein was 0.29 and 0.31 before and after the incubation ( $P > 0.05$ ). Expression of Cox-2 protein in gastric carcinoma (GC) was higher than that in chronic superficial gastritis (CSG) and chronic atrophic gastritis (CAG) ( $P < 0.05$ ). The apoptosis rate when cells were incubated with *H pylori* for 24h and 48h was 1.0% and 5.7% ( $P < 0.05$ ). Apoptosis cells were also observed

after treated with 10, 100, 200  $\mu\text{mol/L}$  NS-398 for 24 h and 48 h, and apoptosis rate was 1.2%, 14.0% and 27.5%, and 1.5%, 31.4% and 51.8% respectively. However, the apoptosis induced by *H pylori* and NS-398 was lower than that induced by NS-398 alone ( $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** *H pylori* upregulates Cox-2 expression in MKN28 gastric mucosal cells *in vitro*. Cox-2 can inhibit the apoptosis, which may promote gastric carcinogenesis.

Yu Q, Liu NZ, Gong JP. Cyclooxygenase-2 expression in gastric mucosal cells with *H pylori* infection and its relationship with apoptosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(3):630-634

## 摘要

**目的:** 研究 Cox-2 在胃癌细胞中及胃黏膜组织中表达的意义, 探讨其表达与胃上皮细胞凋亡的关系.

**方法:** 将粗制 *H pylori* 总蛋白与胃上皮细胞株 MKN28, AGS 共同孵育, 用 RT-PCR 及免疫组化染色法测定孵育前后细胞 Cox-2 表达的情况, 同时检测了 40 例患者胃镜活检胃黏膜病变标本的 Cox-2 蛋白的表达及 *H pylori* 感染情况. 用流式细胞术观察 *H pylori*、选择性 Cox-2 抑制剂 NS-398 及二者共同诱导细胞凋亡的情况.

**结果:** 与 *H pylori* 孵育后的 MKN28 细胞株中 Cox-2 表达增加; Cox-2 蛋白在与 *H pylori* 共同孵育前后的 MKN28 细胞株中表达强度分别为 0.26 和 0.40 ( $P < 0.05$ ), AGS 细胞中为 0.29 和 0.31 ( $P > 0.05$ ); Cox-2 在胃癌中的表达明显高于浅表性胃炎(CSG)、萎缩性胃炎(CAG)组 ( $P < 0.05$ ). 流式显示, 与 *H pylori* 孵育 24, 48 h MKN28 细胞凋亡率分别为 1.0% 和 5.7% ( $P < 0.01$ ); 与 10, 100, 200  $\mu\text{mol/L}$  NS-398 孵育 24 h 及 48 h 的 MKN28 细胞凋亡率分别为 1.2%, 14.0%, 27.5% 及 1.5%, 31.2%, 51.8%, 具有浓度、时间依赖性 ( $P < 0.01$ ). 与 *H pylori*, NS-398 共同孵育 24, 48h 的 MKN28 细胞凋亡率分别为 12.2%, 25.0%, 其凋亡率低于单用 NS-398 ( $P < 0.01$ ).

**结论:** *H pylori* 感染上调 MKN28 细胞中 Cox-2 的表达; Cox-2 基因可抑制细胞凋亡, 在胃癌发生发展过程中起重要作用, 可能为胃癌形成的机制之一.

余琴, 刘南植, 龚建平. 幽门螺杆菌对胃上皮细胞 Cox-2 表达与凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2004;12(3):630-634

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/630.asp>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H pylori*)作为 I 类致癌因

子, 已得到公认<sup>[1-4]</sup>, 但尚无证据阐明 *H pylori* 感染如何引起胃癌的发生. *H pylori* 感染可诱导 Cox-2 的表达<sup>[5-8]</sup>, 并被认为是 *H pylori* 感染增加胃癌发生危险性的可能机制之一. Cox-2 过表达可引起局部产生较多的前列腺素 (PGs), 同时他可作为分化和生长因子, 发挥类似免疫抑制剂及血管合成药物样作用, 促进肿瘤的增生发展<sup>[9-12]</sup>. 研究表明, NSAID 药物的使用可以降低胃肠道肿瘤的发生<sup>[13-16]</sup>, NSAID 的作用靶点是 Cox, 即花生四烯酸转化成前列腺素代谢中的限速酶, 其至少有两种亚型, Cox-1 是一种看家基因, 其产生的前列腺素与胃肠道黏膜的完整性相关; Cox-2 则是一种早期诱导基因, 其与炎症及肿瘤发生相关. 为此, 研究了 *H pylori* 感染胃上皮细胞及胃黏膜病变 Cox-2 表达情况及其细胞生物学行为, 观察 *H pylori*, 不同浓度的选择性 Cox-2 抑制剂 NS-398 及二者共同诱导细胞凋亡的情况, 并对其凋亡的动力学及机制进行探讨.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胃癌细胞 MKN28(管状腺癌)由上海第二医科大学惠赠, AGS 细胞(腺癌)购于中科院上海细胞生物研究所. 胃镜活检 40 例作胃黏膜组织学检查, 其中慢性浅表性胃炎(CSG)7 例, 慢性萎缩性胃炎(CAG)7 例, 肠化(IM)10 例, 异型增生(Dys)6 例, 胃癌(GC)10 例, 其中低分化腺癌 2 例, 高分化腺癌 2 例, 黏液细胞癌 4 例, 印戒细胞癌 2 例.

**1.2 方法** 人胃腺癌细胞系 MKN28, AGS 生长于 RPMI1640 培养液中, 按贴壁细胞传代培养法, 胰酶消化每 2-3 d 传代 1 次. 自胃溃疡患者活检胃黏膜组织中分离 *H pylori*, 37 °C 微需氧环境(50 mL/L O<sub>2</sub>, 100 mL/L CO<sub>2</sub>)培养. 将其超声粉碎(60 μA × 5 min × 3 次, 间隔 15 s), 20 000 r/min 离心 20 min, 取上清. 调整细胞浓度为 1 × 10<sup>9</sup>/L, 加入相当于 10<sup>11</sup>CFU/L 活菌量的 *H pylori* 粗制总蛋白, 再加入 RPMI1640 2 mL, 放入 37 °C 孵育 24 h, 以不加 *H pylori* 的等体积的培养液为对照. RT-PCR: Cox-2 上游引物序列: 5'-TCTGGTGCCTGGTCTGATGATGTA-3'; 下游引物序列为: 5'-CAGAAGGGGATGCCAGTGATAGAG-3'. 用 Trizol 法提取总 RNA, 并进行逆转录. 待细胞与不同浓度的粗制 *H pylori* 总蛋白(相当于 10<sup>9</sup>-10<sup>11</sup>CFU/L 的活菌量)孵育 24 h 后, 用 SP 法检测 Cox-2 蛋白的表达. 同法检测 40 例胃镜标本中 Cox-2 蛋白表达的情况. 调整细胞浓度为 1 × 10<sup>9</sup>/L, 加入相当于 10<sup>11</sup>CFU/L 活菌量的 *H pylori*, 不同浓度的 NS-398(10, 100, 200 μmol/L)及 *H pylori* +NS-398 (10, 100, 200 μmol/L), 以不加 *H pylori* 及 NS-398 的空白细胞为对照. 分别于培养 24, 48 h 后, PI 染色(含 Rnase 100 mg/L)上机测定凋亡细胞百分率及细胞周期.

统计学处理 所有实验数据以 mean±SD 表示. 采用 t 检验和精确概率法检验, 率的显著性差异检验选用方差分析, P < 0.05 认为差异有显著性.

## 2 结果

**2.1 MKN28 细胞 Cox-2 表达** MKN28 细胞的 RT-PCR 产物经电泳分析, 可见 1 条约 314 bp 的扩增带, 特异性好, 阴性对照无相应条带出现. 在与 *H pylori* 总蛋白孵育前后的平均 Cox-2/β-actin 为 0.2698 ± 0.0124 和 0.6720 ± 0.0206, 提示 Cox-2 mRNA 在孵育后的细胞中表达水平增强(P < 0.05, 图 1). MKN28 细胞分别与相当于 10<sup>11</sup>, 10<sup>10</sup>, 10<sup>9</sup>CFU/L 的 *H pylori* 粗制总蛋白孵育 24 h 的平均吸光度为 0.40 ± 0.13, 0.40 ± 0.08 和 0.30 ± 0.14; 未与 *H pylori* 孵育的 MKN28 Cox-2 表达的平均吸光度为 0.26 ± 0.18, 与 10<sup>11</sup>, 10<sup>10</sup>CFU/L *H pylori* 孵育后 Cox-2 的表达相差显著(P < 0.05)(图 2, 3).

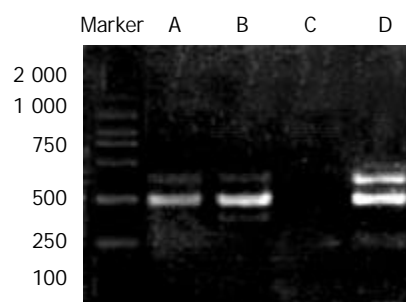


图 1 MKN28 细胞 Cox-2 mRNA 表达. A, B: 未与 *H pylori* 孵育; C: 空白对照; D: 与 *H pylori* 孵育后.

**2.2 AGS 细胞 Cox-2 表达** AGS 细胞未与 *H pylori* 孵育及与相当于 10<sup>11</sup>, 10<sup>10</sup>, 10<sup>9</sup>CFU/L 的 *H pylori* 粗制总蛋白孵育 24 h 的平均吸光度分别为 0.29 ± 0.22, 0.30 ± 0.19, 0.32 ± 0.24, 0.31 ± 0.15 (P > 0.05)(图 4, 5).

**2.3 胃黏膜 Cox-2 蛋白表达** CSG, CAG, IM, Dys 及 GC 中 Cox-2 表达呈平行递增趋势, GC 与 CSG, CAG 中的表达差异有显著性(P < 0.05, 表 1). Cox-2 主要表达在胃癌细胞中, 血管平滑肌细胞, 成纤维细胞, 炎症单核细胞及肠化上皮, 不典型增生腺上皮细胞亦表达, 胞质显色, 弥漫性分布; 胃炎, IM, Dys 中 *H pylori* 感染率与 GC 中 *H pylori* 感染率差异有显著性(P < 0.05)(图 6-12).

表 1 胃黏膜 Cox-2 蛋白的表达及 *H pylori* 感染率

| 病变  | n  | Cox-2 表达 | <i>H pylori</i> 感染 n (%) |
|-----|----|----------|--------------------------|
| GC  | 10 | 10 (100) | 0 (0.0)                  |
| Dys | 6  | 5 (83.3) | 4 (66.7)                 |
| IM  | 10 | 8 (80.0) | 6 (60.0)                 |
| CAG | 7  | 4 (57.1) | 6 (85.7)                 |
| CSG | 7  | 2 (28.6) | 6 (85.7)                 |

**2.4 MKN28 细胞凋亡** *H pylori* 可诱导 MKN28 细胞的凋亡, 且具有时间依赖性(表 2), NS-398 亦可诱导 MKN28 细胞的凋亡, 具有时间、剂量依赖性(表 3), *H pylori* + NS-398 对 MKN28 细胞凋亡, 也具有时间、剂量依赖性(表 4), 但其凋亡率低于单纯 NS-398 组.

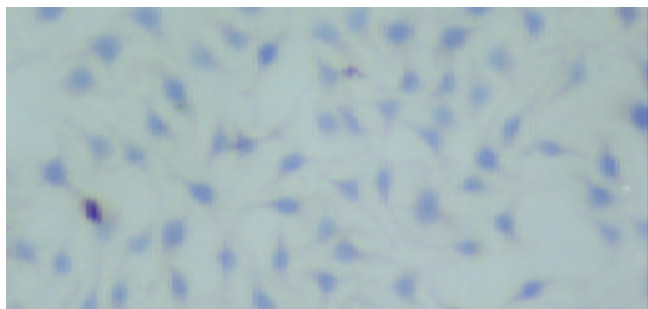


图2 未与 H pylori 孵育×100.

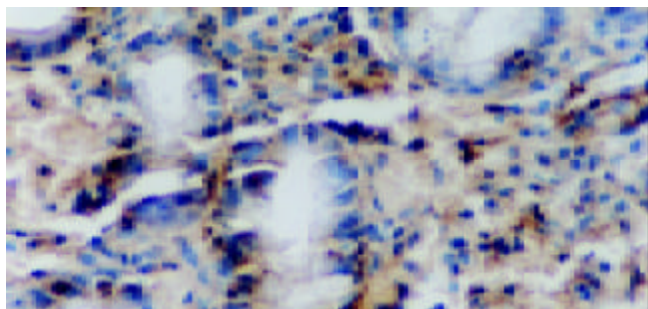


图7 CAG×200.

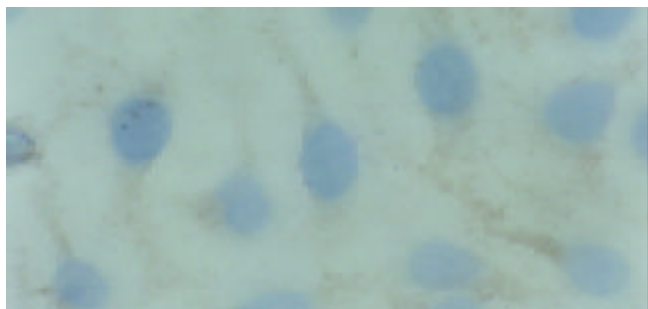


图3 与 H pylori 孵育后×400.

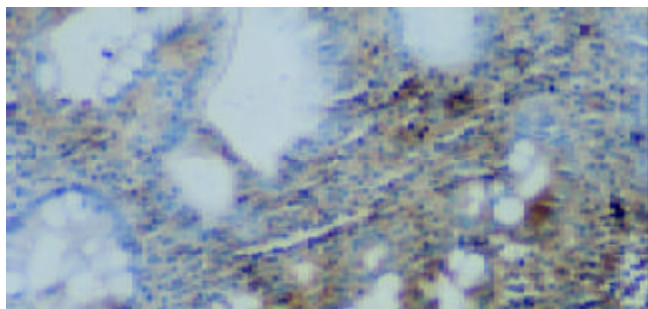


图8 IM×200.

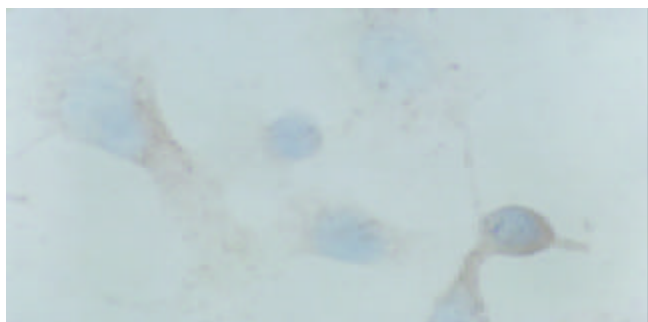


图4 未与 H pylori 孵育×400.

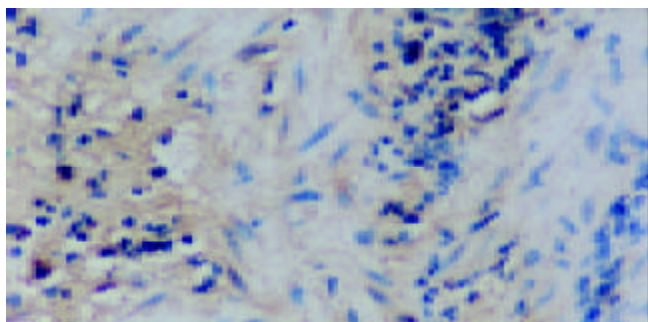


图9 DYS×200.

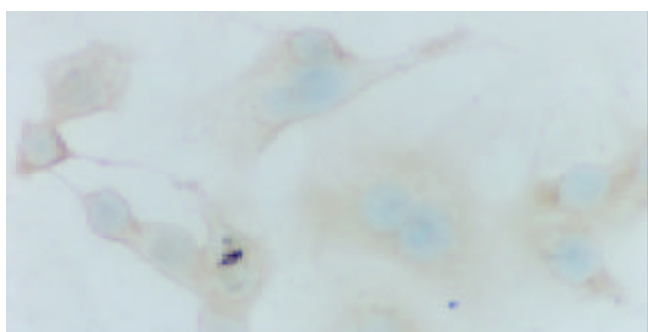


图5 与 H pylori 孵育×400.

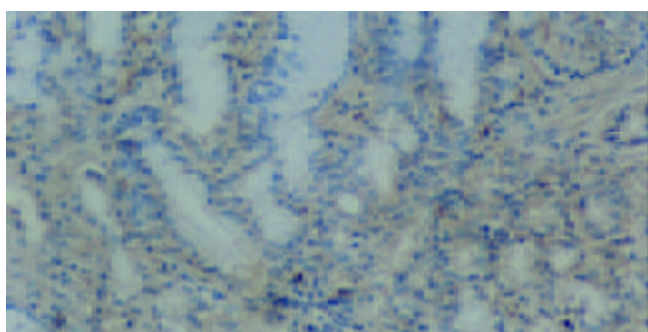


图10 腺癌×100.

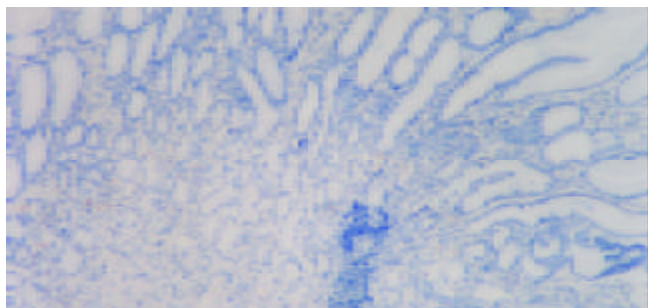


图6 CSG×100.

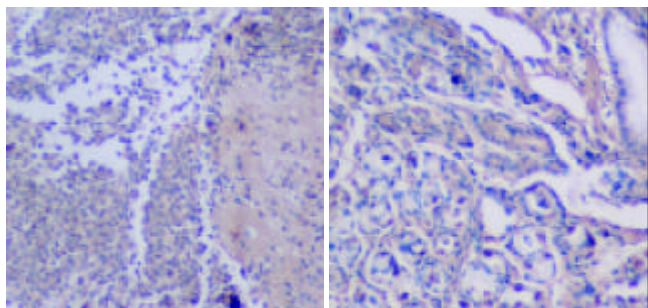


图11 黏液细胞癌×100.

图12 印戒细胞癌×100.

表2 H pylori 诱导 MKN28 细胞的凋亡(%)

|      | 凋亡率                    | G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> | S          | G <sub>2</sub> /M |
|------|------------------------|--------------------------------|------------|-------------------|
| 对照   | 0.4 ± 0.2              | 50.8 ± 2.1                     | 27.6 ± 1.8 | 21.8 ± 1.6        |
| 24 h | 1.0 ± 0.3              | 58.7 ± 2.5                     | 19.3 ± 1.6 | 21.5 ± 0.9        |
| 48 h | 5.7 ± 1.1 <sup>b</sup> | 58.3 ± 1.9                     | 17.2 ± 2.1 | 19.2 ± 1.4        |

<sup>b</sup>P < 0.01, vs 对照组.

表3 NS-398 诱导 MKN28 细胞的凋亡(%)

| NS-398     | 凋亡率                      | G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> | S          | G <sub>2</sub> /M |
|------------|--------------------------|--------------------------------|------------|-------------------|
| 24 h       |                          |                                |            |                   |
| 对照         | 0.5 ± 0.3                | 51.1 ± 2.6                     | 29.5 ± 1.6 | 19.9 ± 2.8        |
| 10 μmol/L  | 1.2 ± 0.8                | 48.1 ± 3.0                     | 28.1 ± 2.1 | 23.0 ± 1.9        |
| 100 μmol/L | 14.0 ± 2.1 <sup>bd</sup> | 44.8 ± 2.3                     | 15.5 ± 0.9 | 26.6 ± 1.3        |
| 200 μmol/L | 27.5 ± 1.5 <sup>bd</sup> | 34.9 ± 0.8                     | 5.8 ± 2.2  | 32.4 ± 2.3        |
| 48 h       |                          |                                |            |                   |
| 对照         | 1.0 ± 0.5                | 55.3 ± 3.0                     | 23.0 ± 1.7 | 21.2 ± 2.2        |
| 10 μmol/L  | 1.5 ± 1.1                | 53.5 ± 2.6                     | 22.9 ± 1.8 | 22.7 ± 2.7        |
| 100 μmol/L | 31.2 ± 2.5 <sup>b</sup>  | 33.1 ± 2.8                     | 15.3 ± 0.9 | 20.9 ± 2.0        |
| 200 μmol/L | 51.8 ± 2.2 <sup>b</sup>  | 25.2 ± 1.4                     | 8.2 ± 1.9  | 15.4 ± 3.0        |

<sup>b</sup>P < 0.01, vs 对照组, 10 μmol/L 组; <sup>d</sup>P < 0.01, vs 48 h 100 μmol/L 及 200 μmol/L 组.

表4 H pylori+ NS-398 诱导 MKN28 细胞的凋亡(%)

| NS-398     | 凋亡率                     | G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> | S          | G <sub>2</sub> /M |
|------------|-------------------------|--------------------------------|------------|-------------------|
| 24 h       |                         |                                |            |                   |
| 对照         | 0.5 ± 0.3               | 51.1 ± 2.3                     | 29.5 ± 1.6 | 19.9 ± 2.8        |
| 100 μmol/L | 1.5 ± 0.8 <sup>d</sup>  | 49.6 ± 2.9                     | 11.6 ± 2.6 | 37.5 ± 3.1        |
| 200 μmol/L | 2.2 ± 2.2 <sup>bd</sup> | 40.4 ± 1.7                     | 8.4 ± 1.2  | 39.5 ± 3.2        |
| 48 h       |                         |                                |            |                   |
| 对照         | 1.0 ± 0.5               | 55.3 ± 3.0                     | 23.0 ± 1.7 | 21.2 ± 2.2        |
| 100 μmol/L | 4.5 ± 1.6               | 61.1 ± 3.1                     | 9.4 ± 0.9  | 25.2 ± 2.3        |
| 200 μmol/L | 25.0 ± 2.5 <sup>b</sup> | 30.7 ± 2.4                     | 17.6 ± 0.5 | 27.3 ± 2.2        |

<sup>b</sup>P < 0.01, vs 对照组, H pylori+ 100 μmol/L 组; <sup>d</sup>P < 0.01, vs 48 h H pylori+ 100 μmol/L 及 H pylori+200 μmol/L 组.

### 3 讨论

H pylori 感染与 GC 发生关系密切<sup>[17-23]</sup>, 而 Cox-2 是黏膜炎症和上皮细胞生长的重要调节物, 该基因表达是对 H pylori 感染直接的反应<sup>[5-6, 24-27]</sup>. 因此, Cox-2 的表达可能参与了 H pylori 相关胃炎向癌前病变和胃癌的演变过程. 我们发现, H pylori 感染可上调 MKN28 细胞中 Cox-2 的表达, 且具有浓度依赖性, 当 H pylori 小于或等于 10<sup>9</sup>CFU/L 时, 对 MKN28 Cox-2 的表达并无明显影响; H pylori 对 AGS 细胞中 Cox-2 表达无明显影响, 这可能与不同胃上皮细胞中 Cox-2 启动子甲基化水平相关. Akhtar et al<sup>[28]</sup>研究了 H pylori 感染的胃上皮细胞

中 Cox-2 启动子甲基化对 Cox-2 表达及其活性的影响. MKN28 细胞中的 Cox-2 启动子是未甲基化的, 而 AGS 细胞中 Cox-2 启动子是甲基化的. 用 H pylori 刺激 Cox-2 启动子未甲基化的 MKN28 细胞, 其 Cox-2 表达明显增加, 而用 H pylori 刺激 Cox-2 启动子甲基化的 AGS 细胞, 其 Cox-2 表达无明显增加. 但当用 H pylori 感染经去甲基化药物处理后的 AGS, Cox-2 表达呈 5-10 倍地增加, 表明 Cox-2 启动子甲基化的缺失可能促进了 Cox-2 表达和 H pylori 感染诱导胃癌的发生. 胃上皮细胞 Cox-2 启动子甲基化的缺失可能 H pylori 感染诱发胃癌的一个中心事件, 可促进 Cox-2 表达导致细胞凋亡和增生的失衡<sup>[29-31]</sup>.

本结果表明, 从 CSG → CAG → IM → Dys → GC, Cox-2 表达率增加, 可能为胃癌形成的早期事件. CSG, CAG, IM, Dys 中 H pylori 感染率与 GC 中 H pylori 感染率差异有显著性, 这与胃癌所致胃内 H pylori 生存环境改变有关. 如果 Cox-2 为胃肿瘤形成的早期事件, 则胃内炎症及 H pylori 感染为胃癌的更早期事件. H pylori 感染致炎症, 产生大量的炎症因子激活 Cox-2, 这可能为诱发癌变的机制之一. Cox-2 除了使细胞凋亡、增生失衡外, 还可促进肿瘤细胞相关血管的生成, 增加癌细胞的侵袭性, 激活基质金属蛋白酶 2 降解细胞外基质, 产生促血小板凝集的血栓烷等, 从而有助于肿瘤的侵袭和转移<sup>[32]</sup>. 在体外, H pylori 粗制总蛋白可诱导细胞凋亡, 并且孵育时间越长, 细胞凋亡越多. 选择性 Cox-2 抑制剂 NS-398 能有效地促进 MKN28 细胞的凋亡, 且具有时间、浓度依赖性. 作用 24 h 时, 其凋亡率不很明显, 但细胞周期明显受阻, 停滞于 G<sub>2</sub> 期; 作用 48 h 时, 其凋亡率明显升高. 不同浓度 NS-398 对细胞凋亡影响亦不相同. 当用小剂量(10 μmol/L)作用时, 细胞凋亡不明显, 细胞周期受阻也不明显, 提示 10 μmol/L NS-398 并不能有效抑制 Cox-2, 诱导细胞凋亡; 而 100, 200 μmol/L NS-398 使 MKN28 细胞凋亡明显增加. 我们还发现, 尽管 H pylori 或 NS-398 单因素均可促进 MKN28 细胞的凋亡, 但二者同时作用于细胞时, 并未出现凋亡增加的情况, 相反, 其凋亡率竟远低于单纯用药组, 但其 G<sub>2</sub> 阻滞明显增加. 可能是由于 H pylori 感染上调了细胞 Cox-2 的表达, 而 Cox-2 促进了细胞的增生, 抑制了凋亡, 所以加同浓度的 Cox-2 抑制剂时, 其凋亡少于仅加同剂量的用药组.

总之, 我们认为 H pylori 感染增加胃癌发生的危险性, 可能与其上调 Cox-2 表达及其相关事件有关. 选择性 Cox-2 抑制剂的上市可望为胃癌的 NSAID 化学预防提供有利优势<sup>[33-34]</sup>.

### 4 参考文献

- Wang KX, Wang XF, Peng JL, Cui YB, Wang J, Li CP. School of medicine, Anhui university of science and technology, Huainan, Anhui Province, China. *World J Gastroenterol* 2003; 9:2501-2504

- 2 Yang GB, Hu FL, Lu YY. Department of gastroenterology, first hospital, peking university, Beijing, China. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2003;83:1331-1335
- 3 Li BQ, Zhang JZ, Zou QH, He LH, Yan XM. Department of diagnosis, Institute for communicable disease control and prevention, chinese center for disease control and prevention, Beijing, China. *Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi* 2003;24:439-442
- 4 Bergin IL, Sheppard BJ, Fox JG. Division of comparative medicine, Massachusetts institute of technology, Cambridge, Massachusetts USA. *Dig Dis Sci* 2003;48:475-485
- 5 Guo XL, Wang LE, Du SY, Fan CL, Li L, Wang P, Yuan Y. Cancer institute, the first hospital, china medical university, shenyang 110001, liaoning province, China. *World J Gastroenterol* 2003;9:246-249
- 6 Guo X, Wang L, Yuan Y. Cancer institute, the first clinical college, china medical university, Shenyang, China. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2002;82:868-871
- 7 Wambura C, Aoyama N, Shirasaka D, Sakai T, Ikemura T, Sakashita M, Maekawa S, Kuroda K, Inoue T, Ebara S, Miyamoto M, Kasuga M. Second department of internal medicine and department of endoscopy, kobe university school of medicine, Japan. *Helicobacter* 2002;7:129-138
- 8 Romano M, Ricci V, Memoli A, Tuccillo C, Di Popolo A, Sommi P, Acquaviva AM, Del Vecchio Blanco C, Bruni CB, Zarrilli R. Dipartimento di biologiae patologia cellulare e molecolare "L. califano", universita federico ii, via pansini, napoli, Italy. *J Biol Chem* 1998;273:28560-28563
- 9 Ohno R, Yoshinaga K, Fujita T, Hasegawa K, Iseki H, Tsunozaki H, Ichikawa W, Nihei Z, Sugihara K. Second department of surgery, tokyo medical and dental university, Tokyo, Japan. *Cancer* 2001;91:1876-1881
- 10 Joo YE, Rew JS, Seo YH, Choi SK, Kim YJ, Park CS, Kim SJ. Department of internal medicine, chonnam national university medical school, gwangju, Korea. *Clin Gastroenterol* 2003;37:28-33
- 11 Shi H, Xu JM, Hu NZ, Xie HJ. Department of gastroenterology, the first affiliated hospital, anhui medical university, anhui province, China. *World J Gastroenterol* 2003;9:1421-1426
- 12 Yu HG, Li JY, Yang YN, Luo HS, Yu JP, Meier JJ, Schrader H, Bastian A, Schmidt WE, Schmitz F. Department of gastroenterology, renmin hospital of wuhan univeristy, jiefang road 238, China. *Cancer Lett* 2003;195:43-51
- 13 Wang WH, Huang JQ, Zheng GF, Lam SK, Karlberg J, Wong BC. Department of gastroenterology, first hospital, peking university, beijing, China. *J Natl Cancer Inst* 2003;95:1784-1791
- 14 Sorensen HT, Friis S, Norgard B, Mellemkjaer L, Blot WJ, McLaughlin JK, Ekbohm A, Baron JA. Department of clinical epidemiology, aarhus university and aalborg hospital, denmark. *Br J Cancer* 2003;88:1687-1692
- 15 Bosetti C, Gallus S, La Vecchia C. Istituto di ricerche farmacologiche "Mario negri", via eritrea 62, milan, Italy. *Eur J Cancer Prev* 2002;11:535-542
- 16 Akre K, Ekstrom AM, Signorello LB, Hansson LE, Nyren O. Department of medical epidemiology, karolinska institutet, Sweden. *Br J Cancer* 2001;84:965-968
- 17 Huang JQ, Hunt RH. Department of medicine, division of gastroenterology, mcmaster university medical centre, hamilton, Canada. *Can J Gastroenterol* 2003;17(Suppl B):18B-20B
- 18 Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ, Kwieciencin S, Pajdo R, Drozdowicz D, Stachura J, Karczewska E, Hahn EG. Department of medicine i, university of erlangen-nuremberg, erlangen, Germany. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003;15:745-754
- 19 Akre K, Ekstrom AM, Signorello LB, Hansson LE, Nyren O. Department of medical epidemiology, karolinska institutet, Sweden. *J Epidemiol* 2003;13:162-168
- 20 Touati E, Michel V, Thiberge JM, Wuscher N, Huerre M, Labigne A. Unite de programmation moleculaire et de toxicologie genetique, institut pasteur, paris, France. *Gastroenterology* 2003;124:1408-1419
- 21 Sasaki A, Kitadai Y, Ito M, Sumii M, Tanaka S, Yoshihara M, Haruma K, Chayama K. Dept. of medicine and molecular science, graduate school of biomedical sciences, hiroshima university, hiroshima, Japan. *Scand J Gastroenterol* 2003;38:153-158
- 22 Chen X, Wang MW, You WD. Department of gastroenterology, general hospital of PLA, Beijing, 100853, P.R. China. *Ai Zheng* 2003;22:244-247
- 23 Takeuchi K, Ohno Y, Tsuzuki Y, Ando T, Sekihara M, Hara T, Kuwano H. Department of surgery, tone chuo hospital, gunma, Japan. *J Clin Gastroenterol* 2003;36:321-324
- 24 Caputo R, Tuccillo C, Manzo BA, Zarrilli R, Tortora G, Blanco Cdel V, Ricci V, Ciardiello F, Romano M. Dipartimento di internistica clinica e sperimentalecattedra di gastroenterologia, seconda universita di napoli, Italy. *Clin Cancer Res* 2003;9:2015-2021
- 25 Seo JH, Kim H, Kim KH. Department of pharmacology and institute of gastroenterology, brain korea 21 project for medical science, yonsei university college of medicine, Korea. *Ann N Y Acad Sci* 2002;973:477-480
- 26 Kim H, Lim JW, Kim KH. Dept. of pharmacology and institute of gastroenterology, yonsei university college of medicine, Korea. *Scand J Gastroenterol* 2001;36:706-716
- 27 Xiao F, Furuta T, Takashima M, Shirai N, Hanai H. First department of medicine, hamamatsu university school of medicine, hamamatsu, Japan. *Aliment Pharmacol Ther* 2001;15:875-886
- 28 Akhtar M, Cheng Y, Magno RM, Ashktorab H, Smoot DT, Meltzer SJ, Wilson KT. Department of medicine, university of maryland school of medicine and veterans affairs maryland health care system, USA. *Cancer Res* 2001;61:2399-2403
- 29 Yu J, Leung WK, Lee TL, Tse PC, To KF, Sung JJ. Department of medicine and therapeutics, prince of wales hospital, the chinese university of Hong Kong, China. *Int J Oncol* 2003;22:1025-1031
- 30 Kikuchi T, Itoh F, Toyota M, Suzuki H, Yamamoto H, Fujita M, Hosokawa M, Imai K. First department of internal medicine, sapporo medical university, Japan. *Int J Cancer* 2002;97:272-277
- 31 Song SH, Jong HS, Choi HH, Inoue H, Tanabe T, Kim NK, Bang YJ. Cancer research institute, seoul national university college of medicine, Korea. *Cancer Res* 200;61:4628-4635
- 32 Joo YE, Rew JS, Seo YH, Choi SK, Kim YJ, Park CS, Kim SJ. Department of internal medicine, chonnam national university medical school, Korea. *J Clin Gastroenterol* 2003;37:28-33
- 33 Tang C, Wang C, Tang L. Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, China. *Chin Med J (Engl)* 2003;116:373-377
- 34 Li JY, Wang XZ, Chen FL, Yu JP, Luo HS. Department of gastroenterology, affiliated union hospital, fujian medical university, China. *World J Gastroenterol* 2003;9:915-920