

- 移率的影响. 中国中西医结合外科杂志 1996;2:402-404
- 20 李康. 辨证治疗胃癌 68 例临床探析. 中医函授通讯 1995;14:48
- 21 郭森仁, 黄皓春, 陈峻伟. 胃镜象与常见上消化道疾病辨证关系初探: 附 1000 例病例分析. 北京中医 1994;15:22-23
- 22 郭松云. 健脾理气养阴法对 24 例胃癌术后免疫功能影响的观察. 上海中医药杂志 1994;10:40
- 23 李长生, 周祝谦, 于红. 胃脘痛中医辨证分型的 X 线征象. 山东中医学院学报 1994;18:30-32
- 24 杨健武. 胃癌的中医病机证治. 云南中医学院学报 1993;3:34-38
- 25 周家明, 韩志文. 中西医结合治疗胃癌 81 例小结. 实用中医药杂志 1993;1:17-18
- 26 周维顺, 吴良村, 何任. 略论胃癌的诊治原则. 浙江中医学院学报 1993;17:9-10
- 27 张军, 周宝芹, 王挺, 李戈. 中医辨证施治配合六神丸治疗 70 例胃癌临床观察. 实用肿瘤学杂志 1993;2:73-74
- 28 崔同建, 林求诚, 庄子长, 林欣, 方公贤, 周美秀, 陈禹略. 胃癌本虚标实证型病理学基础探讨. 中国中西医结合杂志 1992;12:151-153
- 29 朱方石. 胃癌的中医药治疗进展. 河南中医 1992;12:197-198
- 30 翟淑芬, 伍海南. 102 例胃癌中医辨证分型与临床病理分型的关系探讨. 中西医结合杂志 1989;9:14-15
- 31 胡安黎. 辨证结合辨病治疗 39 例晚期胃癌疗效分析. 北京中医杂志 1988;5:21-22
- 32 朱云华, 何原思, 王雅和, 王黎, 姚莉, 戴华康, 夏友祥. 中虚气滞证胃癌的病理形态研究. 南京中医学院学报 1986;3:43-44
- 33 郭勇. 中医治疗胃癌的近况. 浙江中医学院学报 1986;4:54-56
- 34 全本娥, 李淑贞. 73 例胃癌根治术后胃肠功能紊乱患者的饮食调护. 黑龙江中医药 2000;3:45-45
- 35 戴继红, 王庭明, 陈继斌. 中西医结合治疗胃癌 30 例. 四川中医 1998;16:22-23
- 36 周爱国, 姚九香, 王明义. 蜈蚣丸加味治疗胃癌 13 例临床观察. 四川中医 1997;15:18
- 37 施俊, 许玲, 秦志丰, 魏品康. 仙人菇口服液治疗中晚期胃癌临床疗效观察. 成都中医药大学学报 2002;25:15-16
- 38 陈乃杰, 金源, 刘燕珠, 陈公莒. 羟基喜树碱配合中药治疗 41 例晚期胃癌的疗效观察. 福建医药杂志 1997;19:82
- 39 周荣耀, 吴丽英, 倪爱娣, 徐中伟. 抗炎 1 号静脉注射液治疗 24 例中晚期胃癌的临床观察. 上海中医药杂志 2000;34:15-16
- 40 徐晓燕, 石怀芝, 孙桂芝. 金龙胶囊合并中药治疗胃癌 33 例疗效观察. 北京中医 2001;20:61-62
- 41 钱心兰, 钱伯文, 钱力兰. 攻补兼施治疗胃癌 113 例. 上海中医药杂志 1996;2:7-9
- 42 齐元富, 钱伯文, 陈伟, 张永祥. 41 例胃癌兼挟血瘀证的临床研究. 辽宁中医杂志 1995;22:70-71
- 43 朱昌国. 中西医结合治疗晚期胃癌 27 例小结. 湖南中医杂志 1995;11:6-8
- 44 袁秀英, 范忠泽, 黄秀英. 消癌平注射液治疗 14 例晚期胃癌的临床观察. 上海医药 1996;6:12-13
- 45 代国平, 杨艳霞. 晚期胃癌的中西医姑息疗法. 黑龙江中医药 2000;5:59
- 46 陈伟, 钱力兰. 钱氏验方加减结合化疗治疗 152 例胃癌的临床观察. 上海中医药杂志 1995;8:10-12
- 47 黎治平, 罗凇. 中药治疗晚期胃癌 20 例临床观察. 江西中医药 1996;27:27
- 48 吴燕波, 蔡明明, 朱旭东. 中西医结合治疗晚期胃癌 5 a 随访观察. 南京中医药大学学报 1999;15:124
- 49 刘毅, 周洁. 中西医结合治疗晚期胃癌 30 例. 山东中医杂志 2002;21:164-165
- 50 周维顺, 谢长生, 吴良村, 刘鲁明, 陈培丰, 陈良良, 钱明山, 王小明. 中医中药结合动脉插管化疗治疗晚期胃癌 180 例临床观察. 中国实验方剂学杂志 1999;5:51-53

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

• 研究快报 •

肝硬化大鼠肠壁肌间氮能、胆碱能神经的变化

张忠平, 张志坚, 张捷, 王雯, 林克荣, 朱金照

张忠平, 张志坚, 张捷, 王雯, 林克荣, 朱金照, 中国人民解放军第一军医大学福州临床医院, 福州总医院消化科, 福建省福州市 350025
项目负责人: 张志坚, 350025, 福建省福州市西二环北路 156 号, 中国人民解放军第一军医大学福州临床医院, 福州总医院消化科. zzp180@163.com
电话: 0591-2859371
收稿日期: 2004-02-03 接受日期: 2004-02-24

摘要

目的: 探讨肝硬化大鼠肠壁肌间神经丛氮能、胆碱能神经元及神经纤维的变化。

方法: 30 只 SD 大鼠随机分为肝硬化组和正常组, 采用一氧化氮合酶(NOS)及乙酰胆碱酯酶(AchE)组织化学染色技术, 在铺片上观察肝硬化大鼠肠壁肌间氮能、胆碱能神经形态特征并对其分布进行定量研究。

结果: 肝硬化大鼠肠壁肌间NOS阳性神经丛排列杂乱, 染色模糊, 神经元数量减少; Ach阳性神经纤维明显变细。模型组大鼠肠壁肌间氮能、胆碱能神经分布的密度均显著低于对照组($P < 0.05$)。

结论: 肝硬化大鼠肠壁肌间氮能、胆碱能阳性神经受到损伤。

张忠平, 张志坚, 张捷, 王雯, 林克荣, 朱金照. 肝硬化大鼠肠壁肌间氮能、胆碱能神经的变化. 世界华人消化杂志 2004;12(6):1459-1461

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1459.asp>

0 引言

肝硬化患者常有不同程度的食欲不振、腹胀、恶心、便秘等胃肠道症状。国内外学者通过一系列实验证实肝硬化患者存在胃肠道动力学障碍。本文作者通过检测肝硬化大鼠肠壁肌间神经丛神经元及神经纤维分布和变化, 初步探讨肝硬化患者胃肠动力障碍发生与胃肠神经的关系。

1 材料和方法

1.1 材料 选用 SD ♂ 大鼠, 体质量 230-250 g/只。将 30 只 SD 大鼠随机分为正常组 10 只和肝硬化模型组 20 只。

1.2 方法

1.2.1 动物造模 肝硬化组大鼠给予500 mL/L四氯化碳石蜡油溶剂皮下注射,每次每只0.2 mL/100 g,2次/wk,共30次。取中叶肝脏,HE染色,光镜下检查有无典型假小叶,以证明肝硬化形成。

1.2.2 制作铺片 取正常组与模型组SD大鼠各10只,每只取空肠和结肠各约10 cm,置于40 mL/L多聚甲醛中固定2 h (4℃)。然后取出肠管用TBS缓冲液冲洗后再置于300 g/L蔗糖溶液24 h,将肠管剪成约1 cm长小段,用一玻璃棒伸入肠管使其被动扩张,然后用镊子在肠系膜附着处沿肠管纵轴划痕,用镊尖沿划痕剥离纵肌层,便制成肌间神经丛铺片标本,将其置于TBS中存放。染色采用Kamovsky-Roots直接法显示肠壁肌间神经丛乙酰胆碱能(AchE)神经;NADPH-d组化法显示氮能(NOS)神经。

1.2.3 图像分析 采用MAS-5图像分析系统。选取同一染色条件下AchE和NADP组化片,每张切片于200倍光镜下选取5个视野,观察肌间神经丛中阳性神经元的染色及分布情况,将图像扫描入计算机,通过计算机分析得到阳性表达密度。

统计学处理 数据以mean±SD表示。组间差异采用t检验。

2 结果

NADP阳性产物为蓝色沉淀。肌间神经丛主要由神经节、节间束及一些含膨体的阳性神经纤维纵横交织呈网格状分布。高倍镜下,阳性神经形态、大小不等,胞质呈蓝色,核不着色,胞体形态多样,有卵圆形、三角形及不规则形。与对照组(图1)比较,肝硬化组(图2)肌

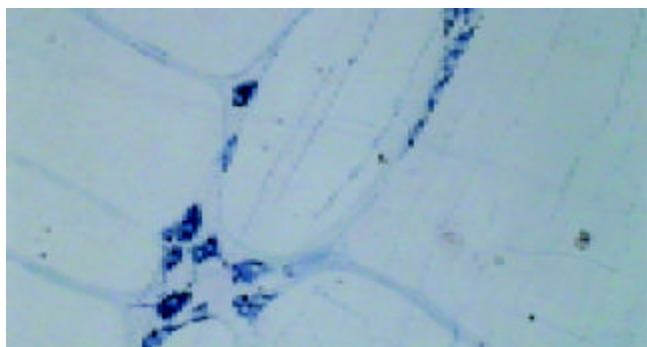


图1 对照组空肠肌间神经丛铺片NOS染色图像,神经纤维纵横交织呈网格状胞质呈蓝色,核不着色,×200。



图3 对照组空肠肌间神经丛铺片AchE染色图像,×200。

间NOS阳性神经丛排列杂乱,染色模糊,神经元数量减少。AchE阳性神经丛为红棕色沉淀。神经节和神经纤维交织形成网状。与对照组(图3)比较,肝硬化组(图4)肌间AchE阳性神经纤维明显变细。肠壁肌间神经丛AchE、NOS染色计算机图像分析结果见(表1)。

表1 肠壁肌间神经丛AchE、NOS染色结果(mean±SD, n=10)

组别	AchE	NOS
对照组空肠	11.34 ± 1.42	6.51 ± 0.70
模型组空肠	9.62 ± 1.25 ^a	5.80 ± 0.47 ^b
对照组结肠	13.18 ± 2.30	8.52 ± 0.64
模型组结肠	10.24 ± 0.97 ^a	7.71 ± 0.79 ^b

^aP < 0.05, ^bP < 0.01 vs 对照组。

3 讨论

国内外学者认为肝硬化患者出现一系列胃肠道症状,其产生机制主要与以下几方面相关:(1)神经-体液因素:自主神经;消化道内源性神经系统;神经递质与胃肠激素的改变。(2)炎症递质:白介素-1、干扰素可抑制摄食中枢,使食欲下降,反射性引起胃肠运动减弱。(3)肠道菌群失调:导致胃肠道黏膜病变、内毒素吸收增加、胃肠胀气、消化道出血。(4)内毒素血症:内毒素能造成复杂的病理生理效应,能对神经系统、消化系统等产生严重影响。(5)分泌、吸收障碍。(6)一氧化氮(NO)与一氧化氮合酶:NO重要活性之一是抑制平滑肌收缩,从而使血管扩

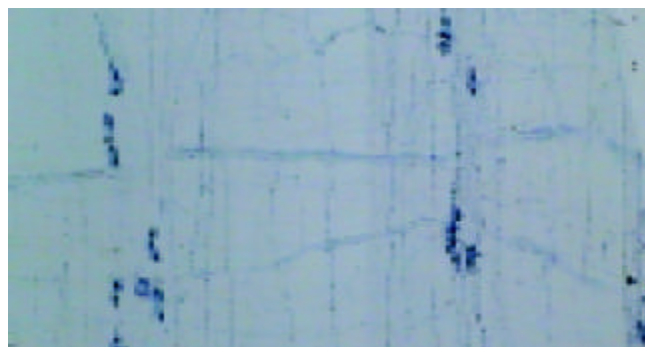


图2 模型组空肠肌间神经丛铺片NOS染色图像,神经丛排列杂乱,神经元数量减少×200。

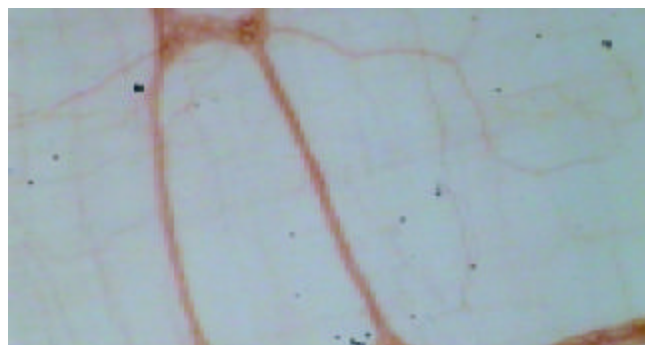


图4 模型组空肠肌间神经丛铺片AchE染色图像,神经纤维明显变细×200。

张.且有研究表明,肝衰竭大鼠近端小肠肠腔及血液内NO高于对照,并与胃肠平滑肌运动障碍显著相关^[1].

有学者将肝硬化大鼠胃肠黏膜制成石蜡及冰冻切片,通过免疫组织化学和一氧化氮组织化学染色等方法进行研究,发现各类NOS(NOS1,神经型、NOS2,诱导型和NOS3,内皮型)在胃肠道黏膜固有层有相似的分布,主要存在于黏膜固有层间质的中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞和部分淋巴细胞.另外NOS1还存在于胃肠道壁内肌间神经丛,NOS2存在于黏膜下层血管内皮细胞.肝硬化大鼠胃肠道各段NOS阳性细胞数均明显减少^[2].

普通切片制作方法只能从某一断面了解肌间神经丛细胞数量的多少,而运用铺片的制作方法却可以显示整个肠道肌间神经丛细胞的数量、形态及神经纤维结构.本文作者将肝硬化大鼠肠壁纵形平滑肌剥离制成铺片,进行NOS和AChE组织化学染色,并将铺片进行计算机图像分析.结果发现肝硬化大鼠肌间神经丛阳性神经元与对照组比较,均出现结构和染色强度的异常.图像分析发现模型组空肠及结肠肌间神经丛一氧化氮合酶、乙酰胆碱酯酶活性均下降,反映所对应神经元功

能受影响.乙酰胆碱是胃肠副交感神经的主要递质,对胃肠道的运动、排空有重要作用.现在发现一氧化氮是广泛存在于人体内的生物递质,对抑制平滑肌收缩,扩张血管、胃肠道平滑肌的正常活动起调节作用^[3-4].本组实验发现二者在肝硬化胃肠道肌间神经丛的异常,为肝硬化患者出现消化道症状可能与胃肠神经系统受损有关提供了一定的实验证据.

4 参考文献

- 1 Wang X, Zhong YX, Zhang ZY, Lu J, Lan M, Miao JY, Guo XG, Shi YQ, Zhao YQ, Ding J, Wu KC, Pan BR, Fan DM. Effect of L-NAME on nitric oxide and gastrointestinal motility alterations in cirrhotic rats. *World J Gastroenterol* 2002;8:328-332
- 2 王新, 闻勤生, 黄裕新. L-NAME对肝硬化大鼠胃肠道中一氧化氮合酶亚型表达的影响. *第四军医大学学报* 2001;22:817-820
- 3 Xu L, Carter EP, Ohara M, Martin PY, Rogachev B, Morris K, Cadnapaphornchai M, Knotek M, Schrier RW. Neuronal nitric oxide synthase and systemic vasodilation in rats with cirrhosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;279:F1110-1115
- 4 Yoneda S, Kadowaki M, Kuramoto H, Fukui H, Takaki M. Enhanced colonic peristalsis by impairment of nitrergic enteric neurons in spontaneously diabetic rats. *Auton Neurosci* 2001;92:65-71

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

• 研究快报 •

BAT-26 预测散发性大肠癌的复制错误

邱福铭, 宋永茂, 黄建, 郑树

邱福铭, 宋永茂, 黄建, 郑树, 浙江大学医学院附属第二医院肿瘤科
浙江省杭州市 310009
国家自然科学基金资助项目, No. 39600055
浙江省教育厅资助项目, No. 20000371
项目负责人: 黄建, 310009, 浙江省杭州市解放路88号, 浙江大学医学院附属第二医院肿瘤科. hjys@zju.edu.cn
电话: 0571-87784556 传真: 0571-87784556
收稿日期: 2004-03-18 接受日期: 2004-04-05

摘要

目的: 微卫星不稳定(microsatellite instability MSI)是DNA复制错误(replication error RER⁺)的标记, BAT-26系位于错配修复基因hMSH2中的单腺苷酸重复序列位点,曾被报道无需正常对照就可用于预测散发性大肠癌RER⁺状况,我们选择BAT-26并与其他双核苷酸重复序列位点进行比较加以验证与评价.

方法: 经病理确诊的散发性大肠癌肿瘤组织60例,常规抽提DNA,采用PCR-银染法分析6个(CA)_n双碱基重复微卫星序列和BAT-26位点,并用自动荧光DNA序列分析法检测BAT-26;同时以PCR-SSCP法检测RER⁺病例hMSH2基因5, 7, 8, 12, 13, 15外显子突变;RER⁺判断

依6个(CA)_n位点中出现2个或以上MSI为标准.

结果: RER⁺散发性大肠癌占18%(11/60), 6例RER⁺肿瘤检出hMSH2基因突变. 含hMSH2基因突变的6例RER⁺病例中有3例BAT-26不稳定(BAT-26⁺), 44例RER⁻散发性大肠癌均为BAT-26⁻. 与(CA)_n位点结果比较, BAT-26预测RER的阳性符合率为50%,阴性符合率为100%, BAT-26⁺在预测散发性大肠癌RER⁺特异性为100%,敏感性为50%. PCR-银染和自动荧光DNA序列分析两种方法检测BAT-26 MSI结果一致.

结论: 单用BAT-26作为预测RER状况的指标尚有缺陷,需结合其他微卫星位点进行综合分析.

邱福铭, 宋永茂, 黄建, 郑树. BAT-26预测散发性大肠癌的复制错误. 世界华人消化杂志 2004;12(6):1461-1463

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1461.asp>

0 引言

微卫星不稳定(MSI)可表现为RER⁺, 约90%以上遗传