

胃癌30例及未分化型胃癌28例CdX2蛋白的表达. 结果显示, CdX2 基因蛋白在慢性胃炎中表达均为阴性; 重度异型增生(68%)及肠型胃癌组(71%)CdX2 蛋白表达阳性率, 较轻、中度异型增生组(13%、22%)、及未分化型胃癌组(35%)增高, 差异有显著意义( $P<0.01$ ); 但CdX2基因表达与胃癌的分期及淋巴结转移无关( $P>0.05$ ); 此结果与文献[5]报道相似. 因此认为, CdX2基因过度表达与胃黏膜上皮细胞的肠上皮化生、异型增生的形成及癌变有关, 可能是胃癌发生的早期事件, 特别是与肠型胃癌的形成关系密切. 但是, CdX2 基因在轻、中度异型增生及未分化癌中表达较低, 此结果同时提示, 未分化癌形成及部分异型增生的形成及癌变过程, 可能还有其他机制参与或多机制协同作用所致.

#### 4 参考文献

- 1 Ruggie M, Correa P, Dixon MF, Hattori T, Leandro G, Lewin K, Riddell RH, Sipponen P, Watanabe H. Gastric dysplasia: the Padova international classification. *Am J Surg Pathol* 2000; 24:167-176
- 2 Silberg DG, Sullivan J, Kang E, Swain GP, Moffett J, Sund NJ, Sackett SD, Kaestner KH. Cdx2 ectopic expression induces gastric intestinal metaplasia in transgenic mice. *Gastroenterology* 2002;122:689-696
- 3 Leung WK, Kim JJ, Kim JG, Graham DY, Sepulveda AR. Micosatellite instability in gastric intestinal metaplasia in patients with and without gastric cancer. *Am J Pathol* 2000;156: 537-543
- 4 Silberg DG, Swain GP, Suh ER, Traber PG. Cdx1 and Cdx2 expression during intestinal development. *Gastroenterology* 2000;119:961-971
- 5 Bai YQ, Yamamoto H, Akiyama Y, Tanaka H, Takizawa T, Koike M, Kenji Yagi O, Saitoh K, Takeshita K, Iwai T, Yuasa Y. Ectopic expression of homeodomain protein CDX2 in intestinal metaplasia and carcinomas of the stomach. *Cancer Lett* 2002;176:47-55

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 •

## 免疫性肝损伤中一氧化氮诱生对 CYP2E1 表达及代谢活性的影响

薛永志, 章国良, 步秀云, 李 丹, 王 昕

薛永志, 章国良, 步秀云, 李丹, 王昕, 北京大学医学部基础医学院药理学系 北京市 100083

国家自然科学基金, No. 30171097, No. 0371665

北京大学 985 项目—人类疾病相关基因研究中心资助课题, No. A2000-1

项目负责人: 章国良, 100083, 北京市海淀区学院路38号, 北京大学医学部基础医学院药理学系, 药物代谢与遗传药理学研究室. zhanggl168@mail.bjmu.edu.cn

电话: 010-82802725 传真: 010-82802725

收稿日期: 2004-03-18 接受日期: 2004-04-20

### 摘要

**目的:** 研究BCG诱发啮齿类免疫性肝损伤过程中NO诱生对CYP2E1表达及代谢活性的影响.

**方法:** 采用尾静脉注射BCG诱发小鼠及大鼠产生免疫性肝损伤, 紫外分光光度法测定肝微粒体中CYP450全酶含量, 免疫组化法测定肝组织CYP2E1蛋白表达, HPLC法测定经CYP2E1代谢的探针药物氯唑沙宗血药浓度经时变化.

**结果:** BCG刺激可致肝组织炎性细胞浸润形成大量肉芽肿, 肝微粒体CYP450全酶含量降低, 肝脏CYP2E1蛋白表达下调, CYP2E1代谢底物氯唑沙宗血药浓度-时间曲线右移. 选择性iNOS抑制剂氨基胍可逆转BCG所致肝脏CYP450全酶含量降低, 增加CYP2E1蛋白表达, 增强CYP2E1对探针药物氯唑沙宗的代谢活性.

**结论:** NO诱生机制参与了BCG免疫性肝损伤中CYP450全酶含量降低, CYP2E1表达下调及代谢活性的下降.

薛永志, 章国良, 步秀云, 李丹, 王昕. 免疫性肝损伤中一氧化氮诱生对CYP2E1表达及代谢活性的影响. 世界华人消化杂志 2004;12(8):1973-1976

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1973.asp>

### 0 引言

细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)药物代谢酶系超家族是参与各种外源性药物或内源性激素等氧化代谢的关键酶源, 其中主要在肝脏表达的CYP2E1是重要的CYP450酶亚型之一. CYP2E1的动物实验对人临床药物代谢动力学研究有重要价值<sup>[1]</sup>. 近年来有关感染或炎症等免疫刺激因素对CYP2E1的影响及调节机制受到关注<sup>[2-7]</sup>. BCG所致免疫性肝损伤模型, 是确实可靠的iNOS诱生模型<sup>[8-9]</sup>. 我们以NOS抑制剂氨基胍及L-NAME作为工具药, 采用免疫组化法及高效液相色谱法(HPLC)等研究手段, 在CYP450全酶含量、CYP2E1酶蛋白表达及CYP2E1代谢活性等不同环节, 探讨免疫性肝损伤中NO诱生对CYP2E1代谢调节中的作用及机制.

### 1 材料和方法

**1.1 材料** BALB/c近交系小鼠,  $\delta$ , 体质量 $20 \pm 2$  g, 及SD大鼠,  $\delta$ , 体质量 $280 \pm 20$  g, 由北京大学医学部实验动物中心提供. BCG冻干粉及氯霉素对照品购自中国药品生物制品检定所. iNOS兔抗人IgG抗体购自北京中山生物技术有限公司. CYP2E1多克隆IgG抗体

购自美国 Research Diagnostics, INC 公司. Powervision 二抗为美国 Santa Cruz 产品, SP-9003 免疫组化染色试剂盒、AEC 酶底物试剂盒、GVA 封片剂购自北京中山生物技术有限公司. 氨基胍、L-精氨酸甲酯( $N^{\omega}$ -nitro-L-arginine methyl ester, L-NAME)、细菌脂多糖(LPS)为美国 Sigma 公司产品. 氯喹沙宗对照品、氯喹沙宗片剂, 山东省医药工业研究所. 乙腈, 加拿大 CALEDON 公司, 色谱纯.

M840 型高压液相色谱仪(美国 Waters 公司), 配以 510 泵, U6K 进样阀, M490 型全波长紫外检测器, SSEXSil ODS 色谱柱(150 mm  $\times$  4.6 mm, 5  $\mu$ m). XL-90 型超高速离心机(美国 Beckman 公司). 冰冻切片(德国 LEICA 公司). TU-1900 双光束紫外分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司). TGL-16G 低温高速离心机(上海安亭科学仪器厂).

1.2 方法<sup>[9]</sup> 取 BALB/c 小鼠 54 只, 随机分为 6 组, 每组 9 只, 即空白对照组、BCG 免疫损伤模型组、BCG + LPS 组、BCG + 氨基胍组、BCG + L-NAME 组及氨基胍对照组. 除空白对照组及氨基胍对照组外, 将免疫刺激各组小鼠经尾静脉 1 次注射 BCG(125 mg/kg, 2 wk), 制备免疫性肝损伤动物模型. BCG 刺激 1 wk 后, 给予 BCG + 氨基胍组隔日 1 次 ip 氨基胍(50 mg/kg,  $\times 3$ ), BCG + L-NAME 组隔日 1 次 ip L-NAME (50 mg/kg,  $\times 3$ ). 于 BCG 刺激 2 wk 后, 给予 BCG + LPS 组经尾静脉 1 次注射 LPS(125 mg/kg)刺激 12 h. 氨基胍对照组于实验 1 wk 给予空白鼠隔日 1 次 ip 氨基胍(50 mg/kg,  $\times 3$ ). 在 BCG 刺激 2 wk 后处死小鼠, 每组取 7 只小鼠肝脏经超高速离心法制备肝微粒体样本, 取另 2 只小鼠肝脏经 40 g/L 多聚甲醛固定, 石蜡包埋切片(5  $\mu$ m), 进行免疫组织化学测定. 取 SD  $\delta$  大鼠 15 只, 随机分为以下 3 组: 空白对照组、BCG 免疫性肝损伤模型组、BCG + 氨基胍组, 每组 5 只. 将免疫刺激各组大鼠经尾静脉 1 次注射 BCG(125 mg/kg, 2 wk). BCG 刺激 1 wk 后, 给予 BCG + 氨基胍组隔日 1 次 ip 给予氨基胍 50 mg/kg,  $\times 3$ . 上述 3 组大鼠均于实验 2 wk 后上午 08:00 经灌胃单次给予探针药物氯喹沙宗(50 mg/kg), 并分别于给氯喹沙宗后 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 h 各时间点从眼内眦静脉丛采血 0.5 mL, 离心取血浆, 保存在 -20  $^{\circ}$ C 冰箱中待用于 HPLC 测定. 以上动物实验均重复 3 次. 于卡介苗刺激 2 wk 后, 取上述 6 组小鼠颈椎脱臼处死, 立即用冰冷的生理盐水经肝门静脉插管灌流, 冲去肝组织内残血, 取肝脏, 摘除胆囊, 称肝, 冰浴中按 1:4 比例加入 0.3 mol/L 冷蔗糖溶液, 制备肝匀浆, 高速离心(9 000 g  $\times$  15 min, 4  $^{\circ}$ C)后取上清液, 超高速离心(10 000 g  $\times$  60 min, 4  $^{\circ}$ C), 弃去上清, 沉淀中加 0.15 mol/L Tris-HCl(pH 7.6) 5 mL, 吹打洗涤以除去污染的血红蛋白, 继续超高速离心(100 000 g  $\times$  60 min, 4  $^{\circ}$ C)弃去上清, 沉淀中按 1 mL/g 肝加入 0.3 mol/L 蔗糖-15 mmol/L Tris-HCl (pH 7.6)重悬(2 mL), 终产物

为肝微粒体混悬液, 置 -20  $^{\circ}$ C 冰箱中储存待测. 肝微粒体混悬液中按 1:4 比例加入预冷的 0.15 mol/L Tris-HCl 缓冲液, 通入 CO 气体 2 min, 联二亚硫酸钠还原样本后, 用紫外分光光度计测定 490-450 nm 处吸光度差值. 采用考马斯亮兰法测定肝微粒体中蛋白的含量, 以牛血清白蛋白作标准曲线, 计算每克肝微粒体蛋白中 CYP450 全酶含量.

1.2.1 肝组织 iNOS 及 CYP2E1 免疫组化染色 将裱贴于硅烷化载玻片上的小鼠肝组织切片, 常规系列乙醇脱蜡至水. 30 mL/L 过氧化氢阻断内源性过氧化氢酶, 微波加热法修复抗原, 5-10 mL/L 山羊血清封闭后, 滴加适当比例稀释的 CYP2E1 一抗 4  $^{\circ}$ C 过夜. 滴加生物素标记链酶卵白素二抗, AEC 显色, 自来水冲洗, 苏木精复染核后封片. 光镜下观察免疫组化染色结果. CYP2E1 抗体稀释度: 1:100.

1.2.2 HPLC 测定 CYP2E1 代谢活性<sup>[10]</sup> 通过测定血浆中探针药物氯喹沙宗药-时曲线及药代动力学参数的变化, 计算 CYP2E1 代谢活性. 色谱流动相为乙腈:5 g/L 醋酸 = 30:70, 检测波长为 287 nm, 紫外检测器灵敏度为 0.01 AUFS, 流速为 1 mL/min. 取大鼠血浆 0.2 mL, 加入氯霉素内标液 40  $\mu$ L (128 mg/L). 再加萃取剂乙酸乙酯 2 mL, 振荡 3 min 后离心 3 000 r/min  $\times$  10 min, 吸取上层有机相移至另一 5 mL 试管中, 将试管置于 37  $^{\circ}$ C 水浴中, 氮气缓慢吹干. 以 0.5 mL 流动相溶解残渣, 混匀后取 40  $\mu$ L 进样测定. HPLC 方法学考察: 氯喹沙宗色谱峰及氯霉素内标峰的保留时间分别为 9.66 min 和 5.77 min, 二者分离良好, 且无血浆中内源性物质所致杂峰干扰. 血浆样品中氯喹沙宗标准曲线在 0.5-10 mg/L 范围内的线性关系良好, 其相关系数  $r=0.9998$ . 血浆高中低三种氯喹沙宗药物浓度(1、2、5 mg/L)的回收率在 98.99-105% 之间, 其最低检测浓度(LOQ)为 200  $\mu$ g/L. 血浆样本检测的日内差异和日间差异(RSD)在 6.71-10.00% 范围内. 结果显示血浆样本 HPLC 法测定的特异性、线性范围和检测下限、回收率和精密度均可满足实验要求.

统计学处理 结果以平均值  $\pm$  标准差(mean  $\pm$  SD)表示, 显著性分析采用 ANOVA, Duncan's test, SPSS11.0 进行方差分析处理, 组间比较采用双侧  $t$  检验.

## 2 结果

2.1 抑制 NO 诱生对免疫性肝损伤中 CYP450 全酶含量的影响 BCG 组及 BCG + LPS 组 CYP450 全酶含量均显著低于空白对照组( $P < 0.05$ , 表 1). 在 BCG 刺激的基础上给予 NOS 抑制剂氨基胍(选择性)或 L-NAME(非选择性), 二者均可使被 BCG 抑制的 CYP450 全酶含量显著升高( $P < 0.05$ ). 而单独给予氨基胍组的 CYP450 全酶含量与空白对照组相比未见显著性差异.

2.2 抑制 NO 诱生对免疫性肝损伤中 CYP2E1 蛋白表达的影响 CYP2E1 在空白对照组肝细胞胞质中即有一定量红色阳性固有表达. BCG 刺激所致免疫性肝损伤模型

组可见 CYP2E1 蛋白表达明显减少, 在 BCG 刺激的基础上加用 LPS 则使 CYP2E1 蛋白表达进一步减少. 选择性 iNOS 抑制剂氨基胍(50 mg/kg)或非选择性 NOS 抑制剂 L-NAME(50 mg/kg), 均可使被 BCG 抑制的 CYP2E1 蛋白表达明显增强. 与空白对照组相比, 单独给予氨基胍(50 mg/kg)亦可使 CYP2E1 阳性表达染色略有增强.

表1 NO 诱生对 BCG 所致免疫性肝损伤小鼠肝质量、肝质量/体质量比值及肝微粒体 CYP450 全酶含量的影响(mean±SD)

Group	n	Liver mass (g)	Lmass / B mass (%)	n	CYP450 (μmol/g)
Control	10	1.21 ± 0.21	5.00 ± 0.60	7	1.94 ± 0.45
BCG (125 mg/kg)	10	1.84 ± 0.28 <sup>a</sup>	8.20 ± 0.50 <sup>a</sup>	7	0.97 ± 0.15 <sup>b</sup>
BCG+LPS (125 μg/kg)	10	1.63 ± 0.17 <sup>ac</sup>	7.20 ± 0.80 <sup>a</sup>	6	1.33 ± 0.29 <sup>a</sup>
BCG+氨基胍(50 mg/kg)	10	1.91 ± 0.17 <sup>a</sup>	8.70 ± 0.50 <sup>ac</sup>	7	1.86 ± 0.81 <sup>c</sup>
BCG+L-NAME(50 mg/kg)	10	1.83 ± 0.25 <sup>a</sup>	8.40 ± 0.70 <sup>a</sup>	7	1.92 ± 0.66 <sup>c</sup>
氨基胍(50 mg/kg)	10	1.43 ± 0.17 <sup>ac</sup>	5.80 ± 0.20 <sup>ac</sup>	7	1.95 ± 0.60 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01, vs 对照组; <sup>c</sup>P<0.05 vs BCG 组.

2.3 抑制 NO 诱生对免疫性肝损伤中 CYP2E1 代谢活性的影响 分别给予正常大鼠和 BCG 免疫性肝损伤模型大鼠单次口服经 CYP2E1 代谢的探针药物氯唑沙宗 50 mg/kg, 在给药后 10 h 内氯唑沙宗血药浓度与正常对照组大鼠相比, BCG 肝损伤组口服氯唑沙宗后, 各时间点血药浓度均显著增高, 氯唑沙宗母药代谢抑制(P<0.05, 表 2); 加用氨基胍则可使 BCG 刺激所抑制的氯唑沙宗各时间点血药浓度显著降低, 氯唑沙宗母药代谢增强(P<0.05).

表2 NO 诱生对 BCG 所致免疫性肝损伤大鼠口服氯唑沙宗后血药浓度的影响(mean±SD, n = 5)

t/h	氯唑沙宗血药浓度(mg/L)		
	Control	BCG	BCG+氨基胍
0.5	11.88 ± 3.17	16.27 ± 2.78 <sup>a</sup>	7.30 ± 2.73 <sup>c</sup>
1	12.54 ± 4.09	15.3 ± 5.41	5.01 ± 2.16 <sup>c</sup>
2	4.00 ± 1.43	9.95 ± 60	1.88 ± 0.69 <sup>c</sup>
3	1.46 ± 0.54	7.70 ± 3.11 <sup>a</sup>	0.98 ± 0.37 <sup>c</sup>
4	0.81 ± 0.79	4.90 ± 3.00 <sup>a</sup>	1.12 ± 0.64 <sup>c</sup>
8	0.26 ± 0.14	0.94 ± 1.13	0.34 ± 0.07

<sup>a</sup>P<0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>P<0.05 vs BCG 组.

表3 NO 诱生对 BCG 所致免疫性肝损伤大鼠口服氯唑沙宗后血浆药代动力学参数的影响(mean±SD, n = 5)

Group	Control	BCG	BCG + 氨基胍
AUC (h*mg/L)	23.32 ± 6.60	57.49 ± 18.79 <sup>a</sup>	13.73 ± 2.95 <sup>c</sup>
T <sub>1/2</sub> (h)	2.10 ± 0.43	1.64 ± 0.32	1.88 ± 0.22
C <sub>max</sub> (mg/L)	13.51 ± 3.47	18.58 ± 1.30 <sup>b</sup>	9.97 ± 4.18 <sup>c</sup>
T <sub>max</sub> (h)	0.80 ± 0.27	0.80 ± 0.27	0.60 ± 0.22
Ke (h <sup>-1</sup> )	0.34 ± 0.08	0.43 ± 0.09	0.37 ± 0.04

<sup>a</sup>P<0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>P<0.05 vs BCG 组.

如表 3 所示, BCG 模型组大鼠血药峰浓度(C<sub>max</sub>)较空白对照组增加了 37%(P<0.05), 药时曲线下面积(AUC)增加了 146%(P<0.05); 氨基胍则可使 BCG 刺激所增加的 C<sub>max</sub> 和 AUC 显著降低(P<0.05, 表 3). 而 3 组间的血浆半衰期(T<sub>1/2</sub>)、血药达峰时间(T<sub>max</sub>)和消除速率常数(Ke)未见显著性差异(P>0.1).

### 3 讨论

在肝脏由于感染与炎症等所诱生的大量炎性细胞因子, 可导致 CYP450 酶系对多种药物代谢的表型发生改变<sup>[11]</sup>. 可激活肝内居留的巨噬细胞(Kupffer 细胞), 诱生大量内源性的炎性细胞因子导致免疫性肝损伤<sup>[12]</sup>. 上述炎性细胞因子, 可诱导肝实质细胞或肝 Kupffer 细胞表达 iNOS, 继而生成大量 NO<sup>[13-14]</sup>. 结果显示, 在 BCG 免疫性肝损伤模型, 不仅可观察到大量 iNOS 的诱生及表达, 同时亦可观察到肝微粒体 CYP450 全酶含量显著下降. 在 BCG 刺激的基础上合用 LPS, 则使 iNOS 表达进一步增加, 并生成更多的 NO, 从而使 CYP450 全酶含量进一步降低. 给予 NOS 抑制剂氨基胍或 L-NAME 以减少 NO 的生成, 可逆转 BCG 所致肝微粒体 CYP450 全酶含量降低. 结果提示 NO 参与了 BCG 所致 CYP450 全酶含量下降, 抑制 iNOS 不仅可以保存 CYP450 全酶, 而且可以保存 CYP450 的基础表达.

CYP2E1 主要与酒精性肝病等化学肝损伤过程中的毒物代谢密切相关<sup>[15]</sup>. 免疫刺激诱生的 NO 亦有可能对 CYP2E1 代谢能力发挥重要影响<sup>[16-17]</sup>. 我们采用免疫组化法观察肝脏 CYP2E1 酶蛋白表达、高效液相色谱法(HPLC)检测 CYP2E1 对血浆中代谢底物氯唑沙宗浓度的经时变化等不同手段, 观察 NO 诱生对 CYP2E1 的影响. 结果显示, CYP2E1 在空白对照组小鼠肝脏中即显示有一定量的固有表达, BCG 免疫性刺激条件下, 可导致小鼠肝实质细胞中 CYP2E1 表达明显减少, 采用 BCG+LPS 刺激则使 CYP2E1 蛋白表达进一步减少. 反之, 选择性 iNOS 抑制剂氨基胍可逆转 BCG 对小鼠肝实质细胞内 CYP2E1 酶蛋白表达的抑制作用. 在无 BCG 免疫刺激条件下, 氨基胍亦可使空白对照组 CYP2E1 酶蛋白阳性表达增强. HPLC 结果显示, BCG 组在给予氯唑沙宗后各时间点血药浓度均较相同时间点对照组浓度增高, 即 CYP2E1 的肝脏特异性探针药物氯唑沙宗在单位时间内的全身消除减少. 氨基胍则可逆转 BCG 所致氯唑沙宗原形药的血药浓度-时间代谢曲线右移, 提示免疫性肝损伤过程中诱生的 NO 对 CYP2E1 酶蛋白在代谢活性水平亦有直接的抑制作用.

### 4 参考文献

- 1 Kirton SB, Baxter CA, Sutcliffe MJ. Comparative modelling of cytochromes P450. *Adv Drug Deliv Rev* 2002;54:385-406
- 2 Sun HC, Tang ZY. Preventive treatments for recurrence after curative resection of hepatocellular carcinoma-A literature review of randomized control trials. *World J Gastroenterol* 2003; 9:635-640

- 3 Silvestri L, Sonzogni L, De Silvestri A, Gritti C, Foti L, Zavaglia C, Leverì M, Cividini A, Mondelli M, Silini EM. CYP enzyme polymorphisms and susceptibility to HCV-related chronic liver disease and liver cancer. *Int J Cancer* 2003;104: 310-317
- 4 De Ledinghen V, Liu H, Zhang F, Lo CR, Subbaramaiah K, Dannenberg AJ, Czaja MJ. Induction of cyclooxygenase-2 by tumor promoters in transformed and cytochrome P450 2E1-expressing hepatocytes. *Carcinogenesis* 2002;23:73-79
- 5 Song Y, Shi Y, Ao LH, Harken AH, Meng XZ. TLR4 mediates LPS-induced HO-1 expression in mouse liver: Role of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$ . *World J Gastroenterol* 2003;9:1799-1803
- 6 You J, Zhuang L, Tang BZ, Yang WB, Ding SY, Li W, Wu RX, Zhang HL, Zhang YM, Yan SM, Zhang L. A randomized controlled clinical trial on the treatment of Thymosin-a 1 versus interferon-a in patients with hepatitis B. *World J Gastroenterol* 2001;7:411-414
- 7 Renton KW. Alteration of drug biotransformation and elimination during infection and inflammation. *Pharmacol Ther* 2001;92:147-163
- 8 Zhang GL, Wang YH, Teng HL, Lin ZB. Effects of aminoguanidine on nitric oxide production induced by inflammatory cytokines and endotoxin in cultured rat hepatocytes. *World J Gastroenterol* 2001;7:331-334
- 9 Zhang GL, Wang YH, Ni W, Teng HL, Lin ZB. Hepatoprotective role of *ganoderma lucidum* polysaccharide against BCG-induced immune liver injury in mice. *World J Gastroenterol* 2002;8:728-733
- 10 Chalasani N, Gorski JC, Asghar MS, Asghar A, Foresman B, Hall SD, Crabb DW. Hepatic cytochrome P450 2E1 activity in nondiabetic patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003;37:544-550
- 11 Vupputgalla R, Shah RB, Chimalakonda AP, Fisher CW, Mehvar R. Microsomal cytochrome P450 levels and activities of isolated rat livers perfused with albumin. *Pharm Res* 2003;20: 81-88
- 12 Zhang LJ, Yu JP, Li D, Huang YH, Chen ZX, Wang XZ. Effects of cytokines on carbon tetrachloride-induced hepatic fibrogenesis in rats. *World J Gastroenterol* 2004;10:77-81
- 13 Barakat MM, El-Kadi AOS, du Souich P. L-NAME prevents in vivo the inactivation but not the down-regulation of hepatic cytochrome P450 caused by an acute inflammatory reaction. *Life Sciences* 2001;69:1559-1571
- 14 Morgan ET, Ullrich V, Daiber A, Schmidt P, Takaya N, Shoun H, McGiff JC, Oyekan A, Hanke CJ, Campbell WB, Park CS, Kang JS, Yi HG, Cha YN, Mansuy D, Boucher JL. Cytochromes P450 and flavin monooxygenases- targets and sources of nitric oxide. *Drug Metab Dispos* 2001;29:1366-1376
- 15 Vernia S, Beaune P, Coloma J, Lopez-Garcia MP. Differential sensitivity of rat hepatocyte CYP isoforms to self-generated nitric oxide. *FEBS Letters* 2001;488:59-63
- 16 Hakkola J, Hu Y, Ingelman-Sundberg M. Mechanisms of down-regulation of CYP2E1 expression by inflammatory cytokines in rat hepatoma cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2003;304:1048-1054
- 17 Silvestri L, Sonzogni L, Gritti C. CYP enzyme polymorphisms and susceptibility to HCV-related chronic liver disease and liver cancer. *Int J Cancer* 2003;104: 310-317

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 •

## 食管癌细胞 RNA 致敏树突状细胞诱导特异性抗肿瘤免疫

王 健, 苏安英, 柴锡庆, 门金娥, 张向阳, 郑海萍, 田 珂

王健, 苏安英, 柴锡庆, 门金娥, 张向阳, 郑海萍, 田珂, 河北工程学院教务处 河北省邯郸市 056038  
河北省科技研究与发展计划项目资助, No. 00276168D  
项目负责人: 王健, 056038, 河北省邯郸市, 河北工程学院教务处.  
收稿日期: 2004-04-19 接受日期: 2004-05-13

### 摘要

**目的:** 观察人食管癌细胞株 RNA 致敏的树突状细胞(DC)所诱导的特异性抗肿瘤免疫效应, 探讨肿瘤细胞 RNA 直接致敏 DC 进行食管癌生物治疗的可能性.

**方法:** 食管癌细胞株 T. Tn 体外培养, 提取 RNA; 正常人外周血, 进行体外 DC 的培养扩增; 食管癌 RNA 直接致敏 DC, MTT 法检测食管癌 RNA 活化 DC 所诱生的淋巴细胞对食管癌 T. Tn、视网膜母细胞瘤 SoRb-70 的体外杀伤效应.

**结果:** 正常人外周血来源的 DC, 经食管癌 T. Tn 细胞株 RNA 直接致敏后, 成功诱导特异性抗肿瘤免疫反应, T. Tn RNA 组 CTL 在靶效比为 20:1 时对 T. Tn, SoRb-70 的杀伤率分别为 85.8%、1.9%, 而对照组对这两种细胞的杀伤率分别为 1.0% 和 0.5%.

**结论:** 肿瘤 RNA 致敏 DC 可以诱导特异性抗肿瘤免疫, 是一种有前景的食管癌治疗手段, 有进一步研究的价值.

王健, 苏安英, 柴锡庆, 门金娥, 张向阳, 郑海萍, 田珂. 食管癌细胞 RNA 致敏树突状细胞诱导特异性抗肿瘤免疫. 世界华人消化杂志 2004;12(8): 1976-1978

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1976.asp>

### 0 引言

食管癌的治疗手段包括手术、介入治疗、化疗、生物治疗等, 尽管手术技巧不断提高, 化疗药物不断更新, 生物治疗也进行了积极的探索, 但仍然无法彻底解决肿瘤复发与转移的问题. 大量研究表明, 通过骨髓、脐血、外周血等途径获取树突状细胞(dendritic cell, DC), 经体外培养、扩增、抗原负载及成熟, 可以打破肿瘤免疫耐受, 诱导强烈的特异性抗肿瘤免疫. 由于食管癌具有异质性大、抗原性弱, 缺乏特异性肿瘤抗原的特点, 和多数肿瘤一样不能激发有效的免疫反应<sup>[1]</sup>, 同时食管癌标本污染重, 难以体外培养及保证无菌等, 使得 DC 难以广泛用于食管癌的免疫治疗. 近年来文献[2-3]