

- Cancer Res* 2000;6:519-525
- 4 郭贵龙, 姚棒祥, 吴坚. 环氧化酶-2 基因在人乳腺癌中的表达及临床意义. *中华医学杂志* 2003;83:1661-1664
- 5 Hasegawa K, Ichikawa W, Fujita T, Ohno R, Okusa T, Yoshinaga K, Sugihara K. Expression of cyclooxygenase-2 (COX-2)mRNA in human colorectal adenomas. *Eur J Cancer* 2001;37:1469-1474
- 6 Zhang H, Sun XF. Overexpression of cyclooxygenase-2 correlates with advanced stages of colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2002;97:1037-1041
- 7 Akhtar M, Cheng Y, Magno RM, Ashktorab H, Smoot DT, Meltzer SJ, Wilson KT. Promotor methylation regulates *Helicobacter pylori*-stimulate cyclooxygenase expression in gastric epithelial cell. *Cancer Res* 2001;61:2399-2403
- 8 吴平, 陈念平, 黄冰, 何惠娟, 杨展. 环氧化酶-2 基因和蛋白在人胃癌组织中的表达及临床意义. *中国肿瘤临床* 2004;31:860-863
- 9 Saukkonen K, Nieminen O, van Rees B, Vilkkilä S, Harkonen M, Juhola M, Mecklin JP, Sipponen P, Ristimäki A. Expression of cyclooxygenase-2 in dysplasia of the stomach and in intestinal-type gastric adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2001;7:1923-1931
- 10 周琪, 阎晓初. 人类错配修复基因突变在大肠肿瘤发生中的作用研究新进展. *重庆医学* 2004;33:1044-1047
- 11 Furukawa T, Konishi F, Shitoh K, Kojima M, Nagai H, Tsukamoto T. Evaluation of screening strategy for detecting hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma (HNPCC). *Cancer* 2002;94:911-920
- 12 蔡崎, 陆洪芬, 孙孟红, 张太明, 施达仁. 散发性结直肠癌 hMLH1 和 hMSH2 蛋白表达. *临床与实验病理学杂志* 2003;19:521-525
- 13 Yamamoto H, Itoh F, Fukushima H, Hinoda Y, Imai K. Overexpression of cyclooxygenase-2 protein is less frequent in gastric cancers with microsatellite instability. *Int J Cancer* 1999;84:400-403
- 14 Karnes WE Jr. Implications of low COX-2 expression in colorectal neoplasms with defective DNA mismatch repair. *J Cell Biochem Suppl* 2000;34:23-27
- 15 Lee TL, Leung WK, Lau JY, Tong JH, Ng EK, Chan FK, Chung SC, Sung JJ, To KF. Inverse association between cyclooxygenase-2 overexpression and microsatellite instability in gastric cancer. *Cancer Lett* 2001;168:133-140

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

高低转移表型大肠癌细胞株蛋白质表达谱差异初步分析

童华生, 张亚历, 姜泊, 赖卓胜, 马文敏, 耿焱

童华生, 张亚历, 姜泊, 赖卓胜, 马文敏, 耿焱, 南方医科大学南方医院
医院消化病研究所 广东省广州市 510515

项目负责人: 姜泊, 510515, 广东省广州市, 南方医科大学南方医院消化病
研究所. drjiang@163.com

电话: 020-61641541

收稿日期: 2004-11-01 接受日期: 2004-11-22

摘要

目的: 应用蛋白质组学技术分析高低转移表型大肠癌 SW480 细胞株和 LoVo 细胞株间的蛋白质表达谱差异。

方法: 以双向电泳技术分离两种细胞株总蛋白质, 银染显色, 进行差异蛋白质分析。

结果: SW480 和 LoVo 细胞株双向电泳图谱蛋白质点数分别为 1184 ± 47 和 1124 ± 54 , 共获得 88 ± 5 的蛋白质差异点, 其中 48 ± 3 个点仅在 SW480 细胞株中表达或表达明显增强, 41 ± 3 个点仅在 LoVo 细胞中表达或表达明显增强。

结论: 高低转移表型大肠癌 SW480 细胞株和 LoVo 细胞株间的蛋白质表达谱存在一定的差异, 对这些差异点进行鉴定将为研究大肠癌转移机制提供一定的线索。

童华生, 张亚历, 姜泊, 赖卓胜, 马文敏, 耿焱. 高低转移表型大肠癌细胞株蛋白质表达谱差异初步分析. *世界华人消化杂志* 2005;13(1):109-112
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/109.asp>

0 引言

大肠癌是消化系统的一种常见肿瘤, 死亡率高, 主要与其广泛转移有关, 故此大肠癌的转移机制成为研究的热点, 而研究不同转移潜能的大肠癌细胞株间的分子表达谱差异可为其提供线索. 大肠癌 SW480 细胞株为一种原发的大肠腺癌, 具有低转移潜能^[1-5], 而 LoVo 细胞株来源于结肠腺癌的左锁骨上转移结节^[6], 是一种具有高转移潜能的细胞株^[7-12], 由于二者转移表型上存在着差异, 可作为研究肿瘤转移的细胞模型。

目前关于大肠癌转移分子机制有基因表达谱差异的报道, 而蛋白质研究方面多为强调单个或少数几个分子的作用^[13-15], 缺乏蛋白质水平的系统性、整体性研究. 近年蛋白质组学(proteomics)在探寻肿瘤早期发现和诊断肿瘤生物标记和新的抗肿瘤药靶, 评价药物疗效和毒性方面取得了进展, 为我们研究肿瘤转移提供了思路^[16]. 鉴于此, 我们采用蛋白质组学技术分析 SW480 和 LoVo 细胞株蛋白质表达谱, 对其差异作初步分析。

1 材料和方法

1.1 材料 人大肠癌 SW480 (ATCC 编号:CCL-228) 细胞株和 LoVo (ATCC 编号:CCL-229) 细胞株均来自 ATCC (美国组织

培养保藏中心), 由上海生物细胞所提供. 两细胞株均用 100 mL/L 小牛血清(fetal calf serum, FCS) + RPMI1640 培养液进行传代培养. IPG 干胶条 pH4-7 与相应的 IEF buffer 及三丁基磷(TBP)购自 Bio-Rad 公司; 超纯尿素、硫脲、碘乙酰胺、二硫苏糖醇(DTT)、甘油、亚甲叉双丙烯酰胺、四甲基乙二胺(TEMED)、矿物油、过硫酸胺和溴酚蓝均购自 Sigma 公司; 丙烯酰胺(和苯甲基磺酰氟(PMSF)购自 BEBCO 公司; 三羟甲基氨基甲烷(Tris)购自 Genview 公司; CHAPS 购自 Amresco 公司; 其余试剂均为分析纯以上. 主要的仪器有 Bio-Rad 公司的 PROTEAN IEF cell 系统和 Bio-Rad PROTEAN II xi 系统.

1.2 方法

1.2.1 样品的制备 细胞培养于 100 mL/L FCS+RPMI1640 培养基中, 待生长至对数生长期密度约为 80% 时用细胞刮下细胞离心收集. 按细胞/裂解液体积比 1:10 加入细胞裂解液(7 mol/L 尿素, 2 mol/L 硫脲, 40 g/L CHAPS, 65 mmol/L DTT), 同时加入 1 mmol/L 苯甲基磺酰氟(Phenylmethylsulfonyl, PMSF), 旋涡振荡, 反复液氮快速冻融 4 次, 加 Dnase I 50 mg/L 和 Rnase A 25 mg/L 室温作用 15 min, 4℃ 15 000 g 离心 1 h, 收集上清液 -80℃ 冻存备用, Bradford 法测定蛋白浓度^[17].

1.2.2 第一向固相 pH 梯度等电聚焦 略加改动 Gorg *et al*^[18] 方法, 蛋白质样品 250 μg 加入重水化液(7 mol/L 尿素, 2 mol/L 硫脲, 20 g/L CHAPS, 50 mmol/L DTT) 至终体积 300 μL, 临时加入 2 mmol/L TBP 和 2 mL/L IEF buffer, 室温充分溶解. 然后移入胶条槽中, 胶面朝下放入 17 cm 固相 pH 梯度(immobilized pH gradient, IPG)干胶条, 避免产生气泡, 1 h 后覆盖 3 mL 矿物油, 20℃ 重水化 12 h. 取出重水化胶条转移至等电聚焦(isoelectric focusing, IEF)聚焦盘槽中, 加适量的矿物油后进行 IEF. IEF 条件: 250V 1/2 h → 500V 1 h → 1000V 1 h → 5000V 3 h → 10000V 70000Vh → 500V hold, 温度为 20℃, 最高电流为 50 μA.

1.2.3 胶条平衡 胶条依次在平衡液 I (5 mol/L 尿素, 20 g/L SDS, 50 mmol/L Tris-HCl, 20% 甘油, 2% DTT) 和平衡液 II (5 mol/L 尿素, 20 g/L SDS, 50 mmol/L Tris-HCl, 200 mL/L 甘油, 25 g/L 碘乙酰胺) 各 5 mL 中平衡 10 min.

1.2.4 二向垂直 SDS-PAGE 将平衡后的 IPG 胶条转移至 13% 凝胶的上方, 胶条一端置低分子量蛋白质标准, 5g/L 的琼脂糖封闭^[19]. 电泳参数如下: 12mA/胶 1/2 h, 24mA/胶直至溴酚蓝前沿抵达凝胶底部为止.

1.2.5 银染及图像可视化 银染步骤按以下程序进行: 固定→浸泡→漂洗→银染→显色→终止. 通过 PowerLook 1100 扫描仪获取图像, 用 Melanine 3 分析软件对图像进行分析.

2 结果

相同的实验条件和参数设置的情况下, 实验重复三次, 蛋白质上样量均为 250 μg, 测得 SW480 细胞株和 LoVo 细胞株双向电泳(two-dimensional electrophoresis,

2-DE) 图谱蛋白质斑点数为 1184±47 和 1124±54. 图 1 为两细胞株的 2-DE 图, 从中可看出两细胞株的蛋白质表达谱分布相似. 经对两细胞株 2-DE 图谱进行匹配分析, 有 88±5 的蛋白质差异点, 其中 48±3 个点仅在 SW480 细胞株中表达或表达明显增强, 41±3 个点仅在 LoVo 细胞中表达或表达明显增强. 图 2 为部分差异表达点局部放大示意图.

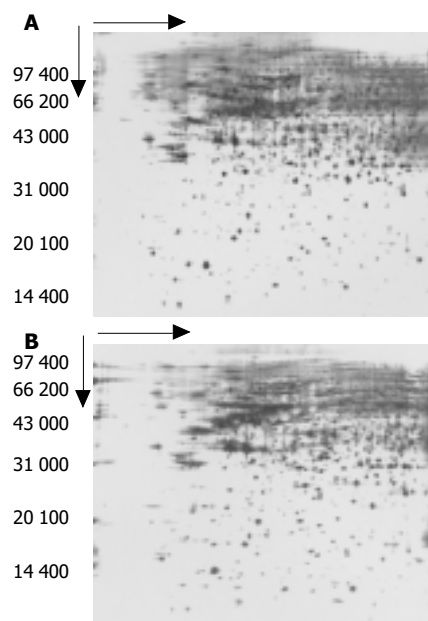


图 1 SW480 细胞和 LoVo 细胞蛋白质双向电泳图. A、B 图分别为 SW480 细胞系和 LoVo 细胞系双向电泳图, 第一向 IEF 应用 17cm pH4-7 IPG 干胶条; 第二向应用 13% 聚丙烯酰胺凝胶(银染), 蛋白质分子标准为 14 400-97 400 Da.

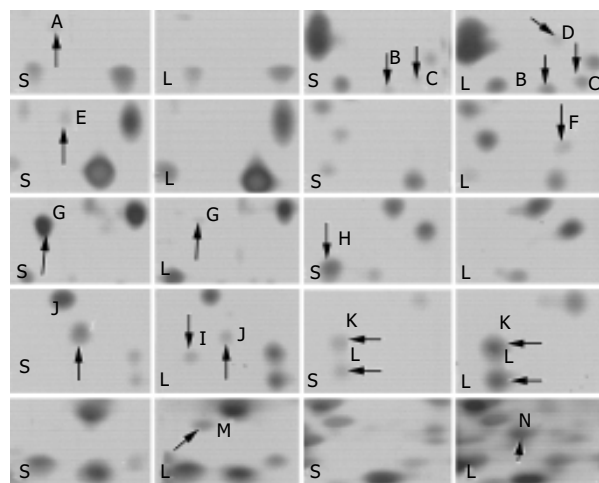


图 2 SW480 细胞和 LoVo 细胞差异蛋白质点局部放大示意图. SW480 和 LoVo 细胞株双向电泳局部放大图谱分别以左下角 S 和 L 表示, 白色箭头表示 SW480 和 LoVo 细胞株双向电泳蛋白质差异点(图示 A-N).

3 讨论

大肠癌是全球的第四大恶性肿瘤, 其死亡率与肿瘤分级关系密切, 大约有 95% 以上大肠癌转移患者是不可治愈的^[20], 因此研究大肠癌转移成为该领域中重要的环节之一. 目前基因组学技术已运用于大肠癌转移分子机制研

究, 并且发现了一系列的基因表达谱的差异^[21-23], 但基因与蛋白质的线性关系并非完全一致^[24]. 因此, 无论是从基因组的局限性, 还是从蛋白质自身发展的需要, 大规模、全方位的蛋白质研究势在必行^[25-26]. 1994年, Williams 和澳大利亚悉尼 Macquarie 大学的 Wilkins *et al* 首先提出了“蛋白质组(proteome)”名词^[27-28], 其含义是指一个基因组、一个细胞或组织内表达的全部蛋白质. 蛋白质组学(proteomics)则是一衍生概念, 其宗旨为通过对蛋白质的丰度和性质变化的考察, 揭示蛋白质的活动规律, 解释基因调控机制, 从而透视到生命的本质^[29]. 基于此, 我们采用蛋白质组学技术对不同转移潜能大肠癌细胞株 SW480 和 LoVo 进行蛋白质表达谱差异分析.

从我们的实验结果来看, 两种细胞株双向电泳图谱中多数蛋白质的分布和表达量是一致的, 这表明 SW480 和 LoVo 细胞株具有大肠癌的共同蛋白质表达谱, 提示二者有肠癌共有特性. 但是经过分析我们发现有 88±5 的蛋白质差异点, 其中 48±4 个点仅在 SW480 细胞株中表达或表达明显增强, 41±3 个点仅在 LoVo 细胞中表达或表达明显增强, 这些差异蛋白质可能在大肠癌的转移中发挥一定的作用. 我们推测一些涉及肿瘤转移过程各个阶段的蛋白质可能存在表达上的差异, 实验尚待下一步证实.

目前作为蛋白质组学的支撑技术—双向电泳的分辨率尚不能满足人类基因组编码的全部蛋白质(约5万个)^[30], 但应用该技术初步表明不同转移潜能的大肠癌细胞株蛋白质表达谱存在着一定的差异. 欲鉴定出这些差异蛋白质, 尚须进行 N 端测序、氨基酸组成分析、质谱分析、肽质谱及数据库搜寻等工作^[31]. 我们应注意到, 用银染的蛋白质进行鉴定有一定的困难存在, 而且对于一些低丰度差异蛋白质的鉴定仍是蛋白质组学的瓶颈. 由于这些低丰度蛋白质往往具有重要的生物学功能, 其鉴定失败将有可能意味着大肠癌转移重要相关分子的丢失. 尽管如此, 蛋白质组学技术毕竟在蛋白质整体水平研究方向迈出了重要的一步, 相信随着该技术的逐步完善, 我们将进一步认识大肠癌转移这一生物现象.

致谢: 蛋白质双向电泳实验内容在南方医科大学肿瘤研究所完成, 在此感谢给予的帮助和指导.

4 参考文献

- Leibovitz A, Stinson JC, McCombs WB 3rd, McCoy CE, Mazur KC, Mabry ND. Classification of human colorectal adenocarcinoma cell lines. *Cancer Res* 1976;36:4562-4569
- Liang L, Ding YQ, Li X, Yang GZ, Xiao J, Lu LC, Zhang JH. Construction of a metastasis-associated gene subtracted cDNA library of human colorectal carcinoma by suppression subtraction hybridization. *World J Gastroenterol* 2004;10:1301-1305
- Hewitt RE, McMarlin A, Kleiner D, Wersto R, Martin P, Tsokos M, Stamp GW, Stetler-Stevenson WG. Validation of a model of colon cancer progression. *J Pathol* 2000;192:446-454
- Mc Donnell S, Chaudhry V, Mansilla-Soto J, Zeng ZS, Shu WP, Guillem JG. Metastatic and non-metastatic colorectal cancer (CRC) cells induce host metalloproteinase production in vivo. *Clin Exp Metastasis* 1999;7:341-349
- Lin JC, Cheng JY, Tzeng CC, Yeh MY, Meng CL. An animal model for colon cancer metastatic cell line with enhanced metastasizing ability. Establishment and characterization. *Dis Colon Rectum* 1991;34:458-463
- Drewinko B, Romsdahl MM, Yang LY, Ahearn MJ, Trujillo JM. Establishment of a human carcinoembryonic antigen-producing colon adenocarcinoma cell line. *Cancer Res* 1976;36(2 Pt 1):467-475
- 邓永键, 李祖国, 邱红明, 黄卓垣, 丁彦青, 朱梅刚. 人大肠癌细胞株的转移潜能及其相关特性的比较. *华人消化杂志* 1998;6:33-35
- 李小卫, 丁彦青, 蔡俊杰, 张素娟. 唾液酸化的路易斯寡糖-X 抗原在结直肠癌细胞系 LoVo、HT29 中的表达及其与转移潜能的相关性. *中华病理学杂志* 2000;29:119-122
- 孙青, 丁彦青, 张进华, 邱红明, 张素娟. 应用流式细胞仪检测大肠癌淋巴结微转移的研究. *中华医学杂志* 2001;81:102-104
- Kondo Y, Arai S, Mori A, Furutani M, Chiba T, Imamura M. Enhancement of angiogenesis, tumor growth, and metastasis by transfection of vascular endothelial growth factor into LoVo human colon cancer cell line. *Clin Cancer Res* 2000;6:622-630
- Daemi N, Vallet T, Thomasset N, Jacquier MF, Zebda N, Dore JF, Sordat B, Remy L. Expression of the alpha 6, beta 1 and beta 4 integrin subunits, basement membrane organization and proteolytic capacities in low and high metastatic human colon carcinoma xenografts. *Invasion Metastasis* 1995;15:103-115
- Liu L, Wu DH, Li ZG, Yang GZ, Ding YQ. Effects of KAI1/CD82 on biological behavior of human colorectal carcinoma cell line. *World J Gastroenterol* 2003;9:1231-1236
- Wang WS, Chen PM, Hsiao HL, Wang HS, Liang WY, Su Y. Overexpression of the thymosin beta-4 gene is associated with increased invasion of SW480 colon carcinoma cells and distant metastasis of human colorectal carcinoma. *Oncogene* 2004;23:6666-6671
- Baldus SE, Monig SP, Huxel S, Landsberg S, Hanisch FG, Engelmann K, Schneider PM, Thiele J, Holscher AH, Dienes HP. MUC1 and nuclear beta-catenin are coexpressed at the invasion front of colorectal carcinomas and are both correlated with tumor prognosis. *Clin Cancer Res* 2004;10:2790-2796
- de Albuquerque Garcia Redondo P, Nakamura CV, de Souza W, Morgado-Diaz JA. Differential expression of sialic acid and N-acetylgalactosamine residues on the cell surface of intestinal epithelial cells according to normal or metastatic potential. *J Histochem Cytochem* 2004;52:629-640
- Wu W, Hu W, Kavanagh JJ. Proteomics in cancer research. *Int J Gynecol Cancer* 2002;12:409-423
- Blomberg A, Blomberg L, Norbeck J, Fey SJ, Larsen PM, Larsen M, Roepstorff P, Degand H, Boutry M, Posch A. Interlaboratory reproducibility of yeast protein patterns analyzed by immobilized pH gradient two-dimensional gel electrophoresis. *Electrophoresis* 1995;16:1935-1945
- Gorg A, Obermaier C, Boguth G, Harder A, Scheibe B, Wildgruber R, Weiss W. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients. *Electrophoresis* 2000;21:1037-1053
- Gorg A, Obermaier C, Boguth G, Csordas A, Diaz JJ, Madjar JJ. Very alkaline immobilized pH gradients for two-dimensional electrophoresis of ribosomal and nuclear proteins. *Electrophoresis* 1997;18:328-337
- Lars P. Colorectal cancer. Cabriele BP 主编. Gastroenterology and Hepatology. 第1版. 西安:世界图书出版社, 2000:351-364
- Weng DS, Ding YQ, Sun Q. Differences in gene expression profile between high and low metastatic human colorectal cancer cell lines. *Di Yi Jun Yi Daxue Xuebao* 2004;24:256-259
- Li M, Lin YM, Hasegawa S, Shimokawa T, Murata K, Kameyama M, Ishikawa O, Katagiri T, Tsunoda T, Nakamura Y, Furukawa Y. Genes associated with liver metastasis of colon cancer, identified by genome-wide cDNA microarray. *Int J Oncol* 2004;24:305-312
- Yeaman TJ, Cher ML, Mao W, Wloch M, Tedesco T. Identifi-

- cation of genetic alterations associated with the process of human experimental colon cancer liver metastasis in the nude mouse. *Clin Exp Metastasis* 1996;14:246-252
- 24 Anderson L, Seilhamer J. A comparison of selected mRNA and protein abundances in humor liver. *Electrophoresis* 1997; 18:533-537
- 25 Bradbury J. Proteomics:the next step after genomics?. *Lancet* 2000;356:50
- 26 Abbott A. And now for the proteome. *Nature* 2001;409:747
- 27 Blackstock WP, Weir MP. Proteomics:quantitative and physical mapping of cellular proteins. *Trends Biotechnol* 1999;17: 121-127
- 28 Wasinger VC, Cordwell SJ, Cerpa-Poljak A, Yan JX, Gooley

- AA, Wilkins MR, Duncan MW, Harris R, Williams KL, Humphery-Smith I. Progress with gene product mapping of the mollicutes: *Mycoplasma genitalium*. *Electrophoresis* 1995; 16:1090-1094
- 29 Anderson NL, Anderson NG. Proteome and proteomics :new technologies, new concepts, and new words. *Electrophoresis* 1998;19:1853-1861
- 30 俞利荣, 曾嵘, 夏其昌. 蛋白质组研究技术及其进展. *生命化学* 1998;18:4-9
- 31 Jensen ON, Larsen MR, Roepstorff P. Mass spectrometric identification and microcharacterization of proteins from electrophoretic gels:strategies and applications. *Proteins* 1998;(Suppl 2):74-89

编辑 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

凋亡相关基因 *bcl-2* 与 *bax* 在人食管鳞癌中的表达

张林西, 齐凤英, 左连富, 刘江惠, 郭建文, 石卫东, 金春亭, 李海军

张林西, 金春亭, 李海军, 河北北方学院病理学教研室 河北省张家口市 075029
齐凤英, 左连富, 刘江惠, 郭建文, 河北医科大学病理教研室 石家庄市 050017
石卫东, 河北省人民医院病理科 河北省石家庄市 050051
河北省自然科学基金课题, No. 301351
项目负责人: 齐凤英, 050017, 河北省石家庄市山东路361号, 河北医科大学病理学教研室. qifengying1945@yahoo.com.cn
电话: 0311-6265724
收稿日期: 2004-10-25 接受日期: 2004-10-25

摘要

目的: 探讨 *bcl-2* 及 *bax* 基因在我国食管鳞癌中的表达特点, 研究其在食管癌变中的可能作用。

方法: 应用原位杂交技术、流式细胞术及免疫组化方法对 81 例食管鳞癌中 *bcl-2* 及 *bax* 基因的表达进行检测, 并应用图像分析技术对原位杂交及免疫组化结果进行定量分析。

结果: *bcl-2* mRNA 在正常食管上皮无表达, 在癌旁上皮主要是上皮近基底部细胞中呈阳性表达。食管鳞癌细胞胞质可见明显的 *bcl-2* mRNA 表达。图像定量分析显示 *bcl-2* mRNA 表达与分化程度有显著相关性(灰度值 37.88 ± 11.40 vs 23.03 ± 8.71 , 19.90 ± 4.33 , 6.60 ± 3.36 , $P < 0.05$; 44.89 ± 15.26 vs 23.03 ± 8.71 , 19.90 ± 4.33 , 6.60 ± 3.36 , $P < 0.05$)。Bcl-2 蛋白在食管鳞癌中表达随癌组织的分化程度降低其表达显著增高并且在不同分化组间差异显著($F=8.738$, $P < 0.01$)。Bax 蛋白在食管鳞癌细胞中都有表达, 但各组间均无显著性差异。

结论: 在食管鳞癌中凋亡相关基因 *bcl-2*, *bax* 表达异常增高, 尤其是抗凋亡基因 *bcl-2* 可能在食管鳞癌癌变及浸润过程中起着重要作用。

张林西, 齐凤英, 左连富, 刘江惠, 郭建文, 石卫东, 金春亭, 李海军. 凋亡相关

基因 *bcl-2* 与 *bax* 在人食管鳞癌中的表达. 世界华人消化杂志 2005;13(1): 112-115
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/112.asp>

0 引言

食管癌是世界上最常见的十大恶性肿瘤之一, 在世界范围内居肿瘤死亡原因的第五位^[1]. 在我国其死亡率居所有恶性肿瘤的第二位, 严重威胁着我国高发区人民的生命和健康. 食管癌的发生可能是多种因素综合作用的结果^[2]. 细胞凋亡与肿瘤的发生、发展关系密切. 在肿瘤的细胞凋亡调控系统中, *bcl-2* 基因家族的作用备受重视. 我们应用原位杂交(in situ hybridization, ISH)技术、免疫组化及流式细胞术(flow cytometry, FCM)等方法, 对细胞凋亡相关基因 *bcl-2* 和 *bax* 在我国食管鳞癌中(squamous cell carcinoma, SCC)中的表达进行检测, 研究其在食管癌变中的可能作用。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 病例 河北医科大学第四医院 2001-08/11 食管癌患者手术切除标本共计 81 例. 男 50 例, 女 31 例. 年龄 30-71 岁, 平均年龄 55.9 岁. 其中高分化鳞癌 39 例, 中分化鳞癌 18 例, 低分化鳞癌 24 例. 同时取切端正常食管黏膜 5 例, 癌旁组织 10 例. 术后立即取材, 以 40 g/L 多聚甲醛 / 0.1 mol/L PBS (pH7.2) (内含 0.1% 焦碳酸二乙酯) 固定约 3 h, 常规脱水、浸蜡、包埋, 并进行连续切片, HE 染色, 由二位富有经验的病理医师分别进行病理组织学分级诊断. 同时在相同部位取材, 以 700 mL/L 冷乙醇固定,