

FLIP 干扰性小 RNA 促进大肠癌细胞的凋亡

孙保存, 臧凤琳, 牛瑞芳, 魏熙胤, 赵秀兰, 张诗武

孙保存, 臧凤琳, 牛瑞芳, 魏熙胤, 张诗武, 天津医科大学肿瘤研究所
天津市 300060
赵秀兰, 天津医科大学病理教研室 天津市 300070
天津市自然科学基金资助项目, No. 013611511
通讯作者: 孙保存, 300060, 天津市河西区体院北环湖西路, 天津医科大学
肿瘤研究所. baocunsun@eyou.com
电话: 022-23340123-5224
收稿日期: 2005-04-26 接受日期: 2005-05-14

Effect of FLIP small interfering RNA on apoptosis of colorectal cancer cells

Bao-Cun Sun, Feng-Lin Zang, Rui-Fang Niu, Xi-Yin Wei,
Xiu-Lan Zhao, Shi-Wu Zhang

Bao-Cun Sun, Feng-Lin Zang, Rui-Fang Niu, Xi-Yin Wei, Shi-Wu Zhang,
Institute of Oncology, Tianjin Medical University, Tianjin 300060, China
Xiu-Lan Zhao, Department of Pathology, Tianjin Medical University,
Tianjin 300060, China
Supported by the Natural Science Foundation of Tianjin, No. 013611511
Correspondence to: Bao-Cun Sun, Institute of Oncology, Tianjin Medical
University, Huanhuxi Road, Ti Yuan North, Hexi District, Tianjin 300060,
China. baocunsun@eyou.com
Received: 2005-04-26 Accepted: 2005-05-14

Abstract

AIM: To investigate the promotion effect of small interfering RNA of FADD-like IL-1 β converting enzyme inhibitory protein (FLIP) on the cell apoptosis in colorectal cancer.

METHODS: Human colorectal cancer cell line HT-29 was cultured *in vitro* and transfected with two siRNAs (different loci) of FLIP by electroporation technique. The level of FLIP mRNA expression before and after interfering was detected by semi-quantitative polymerase chain reaction (PCR). The specificity and time effect for interference and the interfering effect between the two siRNAs were compared. Then the cells were treated with agonistic anti-Fas antibody to induce apoptosis. The apoptosis before and after interfering was determined by Annexin V and DNA degradation.

RESULTS: The level of FLIP mRNA in HT-29 cells was inhibited by the specific siRNAs. The decrease of FLIP mRNA expression began to appear 24 hours after transfection. And the most apparent interfering efficiency was 65.02% 48 hours after transfection, which was markedly higher than that in the cells transfected with the control siRNAs. Both siRNAs (siRNA-F1 and siRNA-F2) from different loci had interfering effect on FLIP mRNA expression, but there

was no significant difference between them. Compared with those in non-transfected cells (1.76%), the apoptotic rates were significantly higher in siRNA transfected cells (29.50%) after treated with agonistic anti-Fas antibody.

CONCLUSION: Small interfering RNA of FLIP can markedly decrease the expression of FLIP mRNA and sensitize the Fas-mediated apoptosis of colorectal cancer cell line HT-29. The RNA interfering technique targeted on FLIP may provide a new method in the gene therapy of colorectal cancer.

Key Words: Colorectal cancer; FADD-like IL-1 β converting enzyme inhibitory protein; Small interfering RNA; Apoptosis

Sun BC, Zang FL, Niu RF, Wei XY, Zhao XL, Zhang SW. Effect of FLIP small interfering RNA on apoptosis of colorectal cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(13):1519-1523

摘要

目的: 研究对应 FLIP 基因的 siRNA 片段对大肠癌细胞株 HT-29 凋亡的影响, 明确 FLIP 在 Fas 介导的凋亡途径中的作用。

方法: 体外培养大肠癌细胞 HT-29, 通过电穿孔技术将特异性 siRNA 片段转染入细胞, 半定量 RT-PCR 法判断干扰前后 FLIP mRNA 水平的变化, 分析 RNA 干扰的特异性、时效性, 并比较对应不同位点的两个 siRNA 片段对 FLIP 的干扰效果。经凋亡诱导型抗体激活后, 以 Annexin V 染色法及 DNA 降解片段检测分析干扰前后 HT-29 细胞对 Fas 介导的凋亡敏感性的改变。

结果: 特异性 siRNA 片段能有效降低 FLIP mRNA 水平, 最大干扰效率达 65.02%, 明显高于作为对照的非相关片段; 干扰作用于转染后 24 h 即可出现, 48 h 达高峰, 72 h 稍有降低; 对应不同位点的两个 siRNA 片段对 FLIP 均可产生干扰作用, 彼此间差别不大。在诱导型抗体的刺激下, 与未转染细胞相比, 转染 siRNA 的 HT-29 细胞中凋亡细胞所占比例明显增加。

结论: 特异性 siRNA 片段可显著降低 FLIP 基因 mRNA 的表达水平, 并提高 HT-29 细胞对 Fas 介导的凋亡敏感性。以 FLIP 为靶点的 RNA 干扰技术可望成为大肠癌基因治疗的新方法。

关键词: 大肠癌; FLIP; siRNA; 凋亡

孙保存, 臧凤琳, 牛瑞芳, 魏熙瀚, 赵秀兰, 张诗武. FLIP干扰性小RNA促进大肠癌细胞的凋亡. 世界华人消化杂志 2005;13(13):1519-1523
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1519.asp>

0 引言

FLIP (FADD-like IL-1 β converting enzyme inhibitory protein) 是近年来发现的一类凋亡抑制蛋白. 现已证实, FLIP的高表达与恶性黑色素瘤^[1]、Burkitt淋巴瘤^[2]、卡波氏肉瘤^[3]等的发生、发展具有密切相关性. FLIP在蛋白水平上包括短型FLIP (FLIP_S) 和长型FLIP (FLIP_L) 2种形式, 前者只含有2个与caspase-8相似的死亡效应域 (DED), 后者除此之外还含有一个caspase同源结构域, 但其中具有催化功能的半胱氨酸残基被酪氨酸残基所取代^[4]. 因此, 虽然2种形式的蛋白均缺乏蛋白水解酶活性, 但FLIP_L与caspase-8在结构上似乎更为相近. 本研究以大肠癌细胞为研究对象, 采用新近发现的RNA干扰技术, 将对应FLIP_L的干扰性小RNA (small interfering RNA, siRNA) 片段转染入细胞, 观察肿瘤细胞对Fas介导的凋亡敏感性的变化, 以期对肿瘤的基因治疗提供新的靶点和思路.

1 材料和方法

1.1 材料 siRNA片段: 对应FLIP_L选用2对大小为20 nt的siRNA片段, 化学合成法制备, 由德国Stuttgart大学Harald Wajant教授惠赠, 对应序列: siRNA-F1 (FLIP_L 472-492): 正义5' -ACAUAAGGUGGAACCACAUCU-3', 反义5' -AGAUGUGGUCCACCUGAAUGU-3'; siRNA-F2 (FLIP_L 908-928): 正义5' -GUAACUUGUCCUGCUCCUUG-3', 反义5' -CAAGGAGCAGGGACAAGUUAC-3'^[5]. 对应I型人类T细胞白血病病毒转录激活区 (HTLV-1 Tax), 选用一条siRNA片段 (siRNA-H), 由国家新药筛选中心李佳副研究员惠赠, 对应序列: 正义5' -GAUGGACGCGUUAUCGGCU-3', 反义5' -AGCCGAUAACGCGUCCAUC-3'. 经BLAST检索, 该片段与FLIP_L之间不存在同源性, 故可作为非相关对照. 主要试剂及仪器: Hypo-osmolar电穿孔缓冲液购自Eppendorf公司; ImProm- IITM 反转录酶购自Promega公司, 其余RT-PCR试剂购自TaKaRa公司; 凋亡诱导型小鼠抗人Fas单抗 (CH-11)、Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒购自Beckman Coulter公司. 电穿孔仪 (Eppendorf Multiporator型), PCR仪 (Perkin Elmer GeneAmp PCR System 9700型), 凝胶成像分析仪 (Kodak 440CF型), 流式细胞仪 (Beckman Coulter公司 EPICS-XL型).

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 大肠癌细胞株 HT-29 由天津肿瘤医院中心实验室保存, 常规培养在含100 mL/L胎牛血清、

青霉素100 U/mL、链霉素100 mg/L的RPMI1640培养基中, 培养条件为37℃、50 mL/L CO₂饱和湿度.

1.2.2 转染细胞 取对数生长期的HT-29细胞, 胰酶消化, 重悬于含5 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液中, 计数10⁶个细胞, 800 r/min离心, 以800 μ L的Hypo-osmolar电穿孔缓冲液轻柔重悬, 室温静置25 min, 加入100 nmol/L的siRNA片段, 于500 V、70 μ s条件下电穿孔 (4 mm gap width电转杯). 电转后室温静置5-10 min, 接种于6孔板 (每个转染条件接种3个复孔), 每孔加入2.5 mL含100 mL/L胎牛血清的RPMI 1640培养液, 37℃培养, 4 h后更换常规培养液, 继续培养. 实验中, 以未经任何处理的细胞为对照, 并设仅施以电穿孔组和转染非相关片段 (HTLV-1 Tax) 组.

1.2.3 RT-PCR 于转染后24、48、72 h, 收集细胞, PBS洗涤, 以TRIZOL试剂 (Gibco公司) 提取总RNA, 逆转录, 并进行PCR扩增 (按试剂说明操作). FLIP_L上游引物: 5' -ACCGAGACTACGACAGCTTTGTG-3', 下游引物: 5' -CAATGTGAAGATCCAGGAGTGGG-3', 扩增产物大小为429 bp^[6]; 内参照 β -actin上游引物: 5' -ATCATGTTTGAGACCTTCAACA-3', 下游引物: 5' -CATCTCTTGCTCGAAGTCCA-3', 扩增产物大小为318 bp. PCR反应条件为: 94℃预变性3 min; 94℃变性45 s, 65℃退火45 s, 72℃延伸2 min, 共35个循环, 最后72℃延伸7 min. 扩增产物经13 g/L琼脂糖凝胶电泳, 并用Kodak 440凝胶成像系统进行灰度扫描密度分析, 计算目的基因的相对含量及干扰效率. 目的基因相对含量 (%) = 目的基因Net. Int. / β -actin Net. Int. \times 100%; 干扰效率 = [未处理组FLIP相对含量 (%) - 处理组FLIP相对含量 (%)] / 未处理组FLIP相对含量 (%) \times 100%.

1.2.4 凋亡检测 以凋亡诱导型小鼠抗人Fas单抗 (CH-11) 刺激细胞, 37℃孵育16 h^[6-7], 收集细胞, PBS洗涤2次. 一方面, 取5 \times 10⁵个细胞加入5 μ L Annexin V-FITC溶液 (5 mg/L) 和2.5 μ L的PI溶液 (250 mg/L), 轻轻混匀, 冰上避光孵育10 min. 另一方面, 取10⁶个细胞, 加入950 mL/L冷乙醇4℃过夜, 离心后加入含Rnase的PI染料 (20 mg/L), 避光孵育30 min. 2种不同方式处理后的细胞均经流式细胞仪检测, 计数凋亡细胞百分比.

1.2.5 重复性评价 以上各种实验方法均独立进行3次以上.

2 结果

2.1 RNA干扰的特异性和时效性 以siRNA-F2为外源片段, 转染细胞, 半定量RT-PCR检测发现, 与未

处理的细胞相比, 仅进行电穿孔和转染 siRNA-H 的细胞中, FLIP_L mRNA 含量无明显变化, 而转染 siRNA-F2 后, FLIP_L mRNA 含量明显下降(图 1), 最大干扰效率达 65.02%; 于转染后 24 h, FLIP_L mRNA 的含量已出现下降, 最显著的干扰作用出现在转染后 48 h, 72 h 后 FLIP_L mRNA 的表达水平略有回升(表 1)。

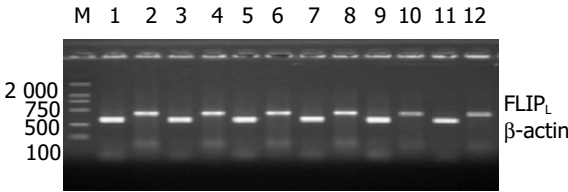


图1 特异性 siRNA 片段使 FLIP_L mRNA 含量降低. 1、2: 未处理细胞 β-actin、FLIP_L; 3、4: 仅电穿孔细胞 β-actin、FLIP_L; 5、6: 转染 siRNA-H 细胞 β-actin、FLIP_L; 7、8: 转染 siRNA-F2 24 h 后 β-actin、FLIP_L; 9、10: 转染 siRNA-F2 48 h 后 β-actin、FLIP_L; 11、12: 转染 siRNA-F2 72 h 后 β-actin、FLIP_L.

2.2 RNA 干扰的靶向位点性 分别转染 siRNA-F1、siRNA-F2 以及二者的等量混合物, 收集转染 48 h 后的细胞, 进行半定量分析. 结果发现, 转染 3 种不同类型的 siRNA 均可对 FLIP 产生干扰效果(图 2); 相对而

言, siRNA-F2 的干扰作用(64.73%)略强于 siRNA-F1(50.39%) 以及二者的等量混合物(54.68%), 但彼此间差别不大(表 2)。

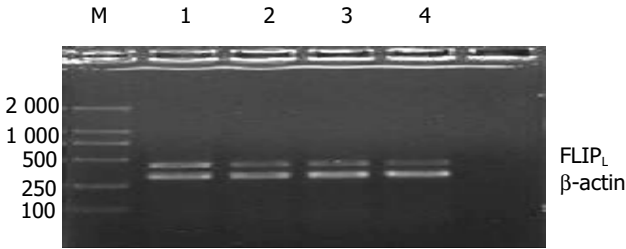


图2 对应不同位点的 siRNA 片段干扰效果比较. 1: 未处理细胞; 2: 转染 siRNA-F1(100 nmol/L)细胞; 3: 转染 siRNA-F2(100 nmol/L)细胞; 4: 转染 F1(50 nmol/L)+F2(50 nmol/L)细胞.

2.3 HT-29 细胞凋亡敏感性

2.3.1 AnnexinV 染色法判断胞膜的改变 与未处理的 HT-29 细胞相比, 转染 siRNA-F2 后细胞在各成分的组成上发生了明显的变化(图 3). 其中, 活细胞所占比例下降, 凋亡细胞和死细胞所占比例上升, 且凋亡细胞在细胞总体中所占的比例上升得尤为显著, 由 1.76% 升至 29.5%(表 3)。

表1 半定量 RT-PCR 分析 siRNA-F2 对 FLIP_L mRNA 的基因沉默

条带	扩增基因	分子量(bp)	净密度	相对含量(%)	干扰效率(%)
未处理组	1 β-actin	319.4	7 381.73	78.55	
	2 FLIP _L	444.4	12 957.70		
仅电穿孔组	3 β-actin	319.4	18 209.25	71.79	8.61
	4 FLIP _L	430.6	13 073.23		
siRNA-H	5 β-actin	319.4	17 978.57	72.96	7.12
	6 FLIP _L	430.6	13 117.16		
24 h 组	7 β-actin	319.4	18 726.56	50.69	35.47
	8 FLIP _L	430.6	9 492.42		
48 h 组	9 β-actin	305.6	20 367.85	27.48	65.02
	10 FLIP _L	430.6	5 597.09		
72 h 组	11 β-actin	305.6	19 230.38	31.96	59.31
	12 FLIP _L	416.7	6 146.03		

表2 RNA 干扰的靶向位点性比较

条带	siRNAs	扩增基因	分子量(bp)	净密度	相对含量(%)	干扰效率(%)
1	未处理组	β-actin	343.7	30 484.50	77.97	
		FLIP _L	437.5	23 768.76		
2	siRNA-F1 (100 nmol/L)	β-actin	328.1	26 850.23	38.68	50.39
		FLIP _L	437.5	10 385.67		
3	siRNA-F2 (100 nmol/L)	β-actin	328.1	28 411.53	27.50	64.73
		FLIP _L	453.1	7 813.17		
4	F1(50 nmol/L) +F2(50 nmol/L)	β-actin	343.7	29 146.41	35.34	54.68
		FLIP _L	453.1	10 300.34		

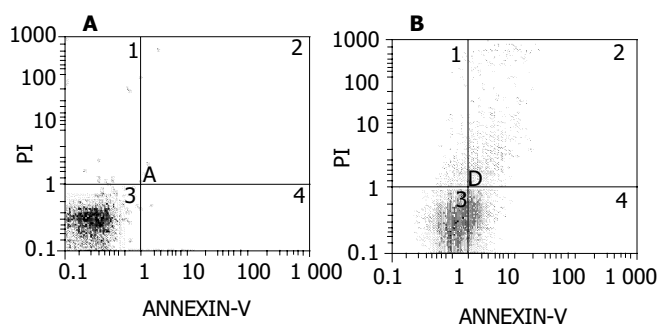


图3 RNA干扰对大肠癌细胞 HT-29 凋亡的作用(Annexin V 分析). A: 未处理细胞; B: 转染 siRNA-F2 细胞. 左下象限代表活细胞, 右上象限代表坏死细胞及细胞碎屑, 右下象限代表凋亡细胞.

表3 转染 siRNA-F2 对 HT-29 细胞凋亡的影响

细胞类型	活细胞(%)	凋亡细胞(%)	坏死细胞及碎屑(%)
未处理	96.7	1.76	0.35
转染 siRNA-F2	63.5	29.50	5.04

2.3.2 DNA 降解片段 转染 siRNA 后的细胞在 G0/G1 期前, 出现了明显的亚二倍体峰, 经软件分析确认其为凋亡峰; 未处理组中虽也存在一凋亡峰, 但峰值显然很低 (图 4).

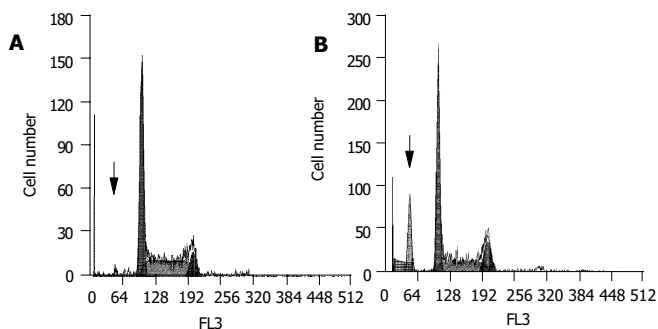


图4 RNA干扰前后, 细胞DNA降解片段分析. A: 未处理细胞; B: 转染 siRNA-F2 细胞.

3 讨论

FLIP 作为新近发现的凋亡相关因子, 由于其与 caspase-8 在结构上具有相似性, 故可竞争性与 Fas 相关死亡结构域 (FADD) 结合, 阻断 caspase 蛋白酶级联反应, 从而抑制 Fas、TNFR-1、DR5、TRAILR 等死亡受体介导的凋亡. 到目前为止, FLIP 对大肠癌的凋亡抑制作用尚未见报道. 在本研究中, 我们采用 RNA 干扰技术, 将对应 FLIP_L 的 siRNA 片段转染入大肠癌细胞株 HT-29, 在 mRNA 水平上封闭其表达, 从而推测大肠癌中 FLIP_L 在 Fas 介导的凋亡途径上起重要作用. RNA 干扰是由双链 RNA 始动的、序列特异性转录后基因沉默现象, 主要通过双链 RNA 被核酸酶切割成约 21-25 nt 大小的 RNA 双链复合物, 即 siRNA 介导识别并靶向切割同源性靶 mRNA 分子而实现^[8]. 研究发现, 转染对应 FLIP_L 的 siRNA 片段可特异性降低目的基因的

mRNA 水平, 而转染非同源的、对应 HTLV-1 Tax 的 siRNA-H 却几乎不产生任何干扰作用, 充分证实了 RNA 干扰的高度特异性. 此外, 对应某一基因可能设计出许多对 siRNA, 但并非所有的片段都能产生高效的沉默作用. 因此, 设计、选择最佳的 siRNA 片段已成为 RNA 干扰研究的关键点之一. 在目前的 RNA 干扰实验中, 常需设计 3-5 对不同的 siRNA 片段, 逐一实验以确定最有效的封闭位点. 在本实验中, 转染 100 nmol/L 的 siRNA-F1、siRNA-F2 48 h 后, 干扰效率分别为 50.39% 和 64.73%, 这提示对应这 2 个不同位点的 siRNA 片段均具有一定强度的基因沉默功能. Abedini *et al*^[9] 将对应另外 4 个不同位点的 siRNA 片段转染入人类卵巢癌细胞株, 也达到了较好的封阻效果. 但这种封阻能力的相接近性是否与细胞类型、FLIP_L 表达水平等因素有关, 还有待于进一步探讨.

siRNA 封阻 FLIP_L mRNA 表达后, 以凋亡诱导型抗体激活细胞, 通过检测凋亡早期细胞膜表面磷脂酰丝氨酸的变化, 并结合 DNA 降解片段分析, 发现 RNA 干扰组的细胞对 Fas 介导的凋亡敏感性明显上升, 从反向基因功能研究的角度证实在大肠癌细胞中 FLIP 对 Fas 介导的凋亡受体通路起到了阻断作用. 目前, 对于这种阻抑作用的机制仍未得到清晰的阐释. 比较公认的观点是: FLIP 主要通过阻断凋亡途径中的关键因子—caspase-8 的剪切和活化, 起到抑制凋亡的作用. 进一步研究发现, caspase-8 的活化由连续的两步酶切水解作用完成: 第一步反应依靠分子内部的蛋白酶即可完成, 但需要来自另一分子的 caspase 样区域作为其补足集团, 该集团可以来自具有催化活性的 caspase-8, 也可以来自无催化活性的 FLIP_L; 第二步反应则通过分子间的相互作用才能完成, 此时作为补足集团的 caspase 区域必须具有活性. 因而当 FLIP_L 过表达时, 胞质中可检测到第一步酶切产物 caspase-8 的 p10 亚基和 FLIP_L 的 p12 亚基, 而检测不到 caspase-8 的第二步酶切产物 p18 亚基, 无法形成完整的 caspase-8 活性形式, 从而阻断了后续的蛋白酶级联反应^[10].

本研究将特异性 siRNA 片段转染入肿瘤细胞, 为大肠癌细胞中存在 RNA 干扰现象提供了实验依据; 更重要的是, 封闭 FLIP 的表达后, 可显著提高大肠癌细胞对 Fas 介导的凋亡敏感性, 提示以 FLIP 为靶点的 RNA 干扰技术可望成为肿瘤基因治疗的新途径.

致谢:感谢 Harald Wajant 教授 (University of Stuttgart, Stuttgart, Germany) 和李佳副研究员 (国家新药筛选中心, 上海, 中国) 为本研究提供所需的特异性 siRNAs 片段.

4 参考文献

- 1 Bullani RR, Huard B, Viard-Leveugle I, Byers HR, Irmeler M,

- Saurat JH, Tschopp J, French LE. Selective expression of FLIP in malignant melanocytic skin lesions. *J Invest Dermatol* 2001; 117:360-364
- 2 Tepper CG, Seldin MF. Modulation of caspase-8 and FLICE-inhibitory protein expression as a potential mechanism of Epstein-Barr virus tumorigenesis in Burkitt's lymphoma. *Blood* 1999;94:1727-1737
- 3 Sturzl M, Hohenadl C, Zietz C, Castanos-Velez E, Wunderlich A, Ascherl G, Biberfeld P, Monini P, Browning PJ, Ensoli B. Expression of K13/v-FLIP gene of human herpesvirus 8 and apoptosis in Kaposi's sarcoma spindle cells. *J Natl Cancer Inst* 1999;91:1725-1733
- 4 Irmeler M, Thome M, Hahne M, Schneider P, Hofmann K, Steiner V, Bodmer JL, Schroter M, Burns K, Mattmann C, Rimoldi D, French LE, Tschopp J. Inhibition of death receptor signals by cellular FLIP. *Nature* 1997;388:190-195
- 5 Siegmund D, Hadwiger P, Pfizenmaier K, Vornlocher HP, Wajant H. Selective inhibition of FLICE-like inhibitory protein expression with small interfering RNA oligonucleotides is sufficient to sensitize tumor cells for TRAIL-induced apoptosis. *Mol Med* 2002;8:725-732
- 6 Nagaraju K, Casciola-Rosen L, Rosen A, Thompson C, Loeffler L, Parker T, Danning C, Rochon PJ, Gillespie J, Plotz P. The inhibition of apoptosis in myositis and in normal muscle cells. *J Immunol* 2000;164:5459-5465
- 7 Johnson DE, Gastman BR, Wieckowski E, Wang GQ, Amoscato A, Delach SM, Rabinowich H. Inhibitor of apoptosis protein hILP undergoes caspase-mediated cleavage during T lymphocyte apoptosis. *Cancer Res* 2000;60:1818-1823
- 8 Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001;411:494-498
- 9 Abedini MR, Qiu Q, Yan X, Tsang BK. Possible role of FLICE-like inhibitory protein (FLIP) in chemoresistant ovarian cancer cells in vitro. *Oncogene* 2004;23:6997-7004
- 10 Krueger A, Baumann S, Krammer PH, Kirchhoff S. FLICE-inhibitory proteins: regulators of death receptor-mediated apoptosis. *Mol Cell Biol* 2001;21:8247-8254

编辑 王谨晖 审读 张海宁

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

• 消息 •

第一届北京国际消化疾病高峰论坛

本刊讯 第一届北京国际消化病高峰论坛定于 2005-11-04/06 在北京世纪金源大酒店举行, 本届论坛由中国医学论坛报社主办, 内容包括胃食管反流病、Barrett 食管和食管癌、胃癌和幽门螺杆菌、结直肠癌筛查、炎性肠病、慢性胰腺炎和胰腺癌、NASH/ 脂肪肝和病毒性肝炎等重要专题。

本届论坛很荣幸地邀请到 M. Brian Fennerty, J. Thomas LaMont, Meinhard Classen, David A. Johnson, David Lieberman, David J. Bjorkman, Manfred Stolte, Stuart Sherman 和 Atif Zaman 等欧美消化领域的知名专家, 以及萧树东、钱家鸣、斯崇文、欧阳钦、郑树、柯美云、王贵奇、周丽雅、罗金燕、贾继东等国内知名专家。他们将从临床研究和实践的角度总结 2005 年胃肠病学和肝病学的最新进展和发展动态, 并将根据自己掌握的关键性的第一手资料, 对上述疾病发病机制、诊断和治疗中的热点问题精彩演讲。希望通过参会的国内外高层专家们之间的深入探讨, 提高我国消化系统疾病的诊治水平。

为了加强国内外学术交流的深度和效果, 本届论坛语言采用中文和英文, 并配有同声传译系统。论坛热忱邀请全国医院消化中心的负责人和学术带头人、中青年专家参加本届论坛, 共同为东西方在消化疾病领域的高层学术交流与合作写下新的篇章。

1 主要议题

本届论坛的主要议题包括: (1) 胃食管反流病(GERD): 中国和美国的经验; (2) Barrett 食管和食管癌: 东西方的异同; (3) 胃癌和幽门螺杆菌: 东西方的看法是否相同? (4) 慢性胰腺炎和胰腺癌; (5) 病毒性肝炎治疗新进展; (6) 炎性肠病(IBD): 中国的现状; (7) IBD 的病理生理及临床治疗 — 2005 年新进展; (8) 结直肠癌筛查: 全球范围是否面临同样的问题? (9) 非酒精性脂肪性肝炎(NASH)/ 脂肪肝 — 新的流行病。

2 壁报征文

论坛将为参会者提供以壁报方式展示最新研究成果的机会。壁报摘要要求在 800 字以内, 需描述研究目的、方法、结果和结论。评审费为 500 元, 届时将评选优秀壁报 5 名, 获奖者将免注册费。申请截止日期为 9 月 15 日。10 月 1 日前通知作者壁报摘要录用情况。

3 大会秘书处

大会设有秘书处, 联系人为黄向东, 张莉, 詹宁育, 北京市鼓楼西大街 41 号, 中国医学论坛报社, 邮编 100009, 电话: 010-64002844, 传真: 010-64064469, Email: communications@gisummit.com。

本论坛欢迎全国医院消化中心的负责人和学术带头人、中青年专家参加, 详细注册及相关费用信息请咨询大会秘书处。