

# 世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2005 年 7 月 28 日 第 13 卷 第 14 期 (Volume 13 Number 14)**



**14/2005**

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,  
2003年百种中国杰出学术期刊,

《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学  
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.

世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,  
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,  
俄罗斯《文摘杂志》收录.

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2005 年 7 月 28 日 第 13 卷 第 14 期 (总第142期)

述 评	1645 进一步加强慢性肝炎、肝纤维化治疗研究 姚希贤, 崔东来 1650 胃肠道生理功能的再认识与肠衰竭 丁连安, 黎介寿
胃 癌	1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响 黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众
肝 癌	1658 Maxizyme对肝癌突变抑癌基因p53的抑制作用 李岩, 林菊生, 孔心涓 1663 肝癌组织中TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 1R II和NF- $\kappa$ B的表达 缪林, 张锁林, 季国忠, 范志宁, 刘政, 张平, 杨春 1667 肝细胞癌组织和外周血中肿瘤/睾丸抗原SSX-2和SSX-5的表达 吴力群, 王新建, 张斌, 卢云, 杨金镛 1673 肝细胞肝癌患者肿瘤/睾丸抗原SSX-1及NY-ESO-1mRNA的表达意义 吴力群, 王新建, 卢云, 张斌, 杨金镛 1679 重组人内皮抑素真核表达载体pCD-sEndo的构建和表达 邵俊伟, 刘然义, 易继林, 卢绮萍, 黄文林 1684 蛋白质芯片飞行质谱技术检测体外培养的肝癌细胞株与转染HBV的肝癌细胞株蛋白质的差异表达 丁守怡, 钱冬萌, 闫志勇, 宋旭霞, 牟文凤, 王斌
病毒性肝炎	1688 酵母双杂交技术筛选白细胞cDNA文库中新基因NS2TP蛋白结合蛋白基因 张黎颖, 成军, 邓红, 郭江, 郭风劲, 王巧侠 1692 抗HBV多聚酶TP区VH抗体体外可抑制HBV复制 于俊岩, 兰林, 王宇明, 丁世涛 1696 黑龙江地区乙型肝炎病毒耐药变异与基因型 李迪, 张淑云, 谷鸿喜, 程险峰, 王晓燕 1700 丙型肝炎病毒非结构蛋白2反式调节基因NS2TP的克隆化 张黎颖, 成军, 邓红, 刘妍, 王琳
基础研究	1705 苷脱氨酶基因对小鼠大剂量化疗的保护作用 路平, 王永来, 金锋, 陈波, 姚凡, 王舒宝, 陈峻青, 徐惠绵, 赵实诚 1713 三氧化二砷注射液对胰腺癌细胞系PC-3的体外作用 刘静冰, 秦叔逵, 李进 1717 消炎痛和阿斯匹林对C57BL/6和Balb/c小鼠胃酸分泌的效应 王昌成 1721 $^{103}\text{Pd}$ 诱导犬胆管增殖平滑肌细胞凋亡及对相关基因的影响 何贵金, 吴荣, 高沁怡, 许书河, 高红, 姜维国, 蒋涛, 戴显伟, 马凯
文献综述	1725 热休克蛋白家族与肝癌的关系 吴顺华, 成军, 郑玉建 1731 HCV的基因型及其变异与肝细胞癌的关系 韩苏夏, 刘正稳, 马瑾璐 1734 移植肝细胞基因调控研究 林勇, 曾欣 1737 三氧化二砷治疗肝癌的分子机制 吴顺华, 成军, 郑玉建 1744 丁酸钠抗肿瘤作用的新进展 崔路佳, 高善玲, 裴风华 1747 聚乙二醇 $\alpha$ -干扰素治疗慢性乙型肝炎的研究进展 周平, 谢仁江 1750 人类免疫缺陷病毒与黏膜免疫 杨贵波, 邵一鸣
研究快报	1760 胰腺外分泌功能研究大鼠模型的建立 陈小燕, 李兆申, 屠振兴, 曹晓鹏 1762 乳杆菌细胞壁表面黏附相关蛋白的提取和鉴定 王斌, 魏泓 1766 幽门螺杆菌和促胃液素在胃癌前病变中的作用 郑宗茂, 吴灵飞, 冯家琳, 李国平, 王炳周 1768 表皮生长因子及其受体mRNA在胃溃疡发生与愈合过程中的表达 谭永港, 舒晴, 邱猛进, 张永锋 1770 巢式PCR-RFLP法对湖南省乙型肝炎病毒Bj和Ba基因亚型的初步鉴定 温志立, 谭德明, 杨铁一, 徐铿 1773 阿霉素对胃癌细胞内游离 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的影响 邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛 1776 BALB/C小鼠炎症性肠病动物模型建立方法探讨 刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正

临床经验	1779 社会因素对老年人群幽门螺杆菌感染的影响 张玫, 汤哲, 汤欣, 蔡玲, 牛小羽, 孙书春 1781 口服药物致食管溃疡22例 王孟春, 张丽瑶, 钟琳琳 1782 经内镜乳头括约肌预切开术在困难ERCP中的应用 王庆, 秦明放, 勾承月, 李宁, 王震宇, 邹富胜 1785 肠镜检查肠道准备无效率的影响因素 蔡文智, 智发朝, 李凤伶, 陈秀云, 姜泊 1787 中国人与非洲黑人 <i>H. pylori</i> 相关胃十二指肠疾病发生情况比较及分析 廖常奎, Geojanna GA 1790 大肠癌术后时辰化疗联合中医时间医学治疗的临床研究 张思奋, 罗湛滨, 吴文江, 何晶, 范小华 1792 幽默疗法辅助治疗慢性萎缩性胃炎53例 阮鹏, 阮浩然 1794 肝炎肝硬化患者血清IL-10、IL-18水平及意义 谭永港, 刘俊, 丁世华, 刘新民 1797 暴发性胰腺炎时腹腔室隔综合征的联合治疗40例 孙早喜, 孙诚谊
致 谢	1800 致谢世界华人消化杂志编委
封面故事	1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响 黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众 世界华人消化杂志 2005;13(14):1652-1657 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.htm">http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.htm</a>
国际会议	13th United European Gastroenterology Week, UEGW October 15-20, 2005  American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting October 28-November 2, 2005  ISGCON 2005 November 11-15, 2005 <a href="mailto:isgcon2005@yahoo.co.in">isgcon2005@yahoo.co.in</a> <a href="http://isgcon2005.com">isgcon2005.com</a>  Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 <a href="http://www.asge.org/education">www.asge.org/education</a>  II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 <a href="mailto:gec@stradini.lv">gec@stradini.lv</a> <a href="http://www.gastroenterologs.lv">www.gastroenterologs.lv</a>  2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 <a href="mailto:c.chase@imedex.com">c.chase@imedex.com</a> <a href="http://www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm">www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm</a>  10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 <a href="mailto:isde@sapmea.asn.au">isde@sapmea.asn.au</a> <a href="http://www.isde.net">www.isde.net</a>

<div>世界华人消化杂志</div> <div>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</div> <div>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (半月刊)  创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2005-07-28 原刊名 新消化病学杂志</div> <div>名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生 编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁 英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪</div>	<div>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 出版 世界胃肠病学杂志社 100023, 北京市2345信箱 E-mail: <a href="mailto:wjgd@wjgnet.com">wjgd@wjgnet.com</a> <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a> 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893 印刷 北京科信印刷厂 发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱) 订购 全国各地邮电局 邮购 世界胃肠病学杂志社发行部 (100023, 北京市2345信箱) 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893</div>	<div>世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.</div> <div>特别声明 本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.</div> <div>2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有</div>
--	---	---

ISSN 1009-3079	邮发代号	国外代号	国内定价	广告经营许可证
CN 14-1260/R	82-262	M 4481	每期24.00元 全年576.00元	1401004000050

[www.wjgnet.com](http://www.wjgnet.com)

- Y, Mizokami M. Epidemiologic and virologic characteristics of hepatitis B virus genotype B having the recombination with genotype C. *Gastroenterology* 2003;124:925-932
- 16 刘映霞, 胡国龄, 谭德明. 湖南省乙肝病毒基因型分布及临床意义. *湖南医科大学学报* 2002;27:29-31
- 17 温志立, 谭德明. 多对型特异性引物巢式PCR检测湖南省乙肝病毒基因型. *世界华人消化杂志* 2004;12:332-335
- 18 Norder H, Hammas B, Lee SD, Bile K, Courouge AM, Mushahwar IK, Magnus LO. Genetic relatedness of hepatitis B viral strains of diverse geographical origin and natural variations in the primary structure of the surface antigen. *J Gen Virol* 1993;74:1341-1348
- 19 Borchani-Chabchoub I, Gargouri A, Mokdad-Gargouri R. Genotyping of Tunisian hepatitis B virus isolates based on the sequencing of preS2 and S regions. *Microbes Infect* 2000;2:607-612
- 20 杨洁, 骆抗先, 郭亚兵, 戴琳, 闫丽, 侯金林. 乙型肝炎病毒基因型(A-F)多引物PCR分型法的初步建立. *中华肝病杂志* 2002;10:55-57
- 21 王永忠, 周国平, 李夏亭, 周志武, 周胜生, 阮丽花, 陈敏, 邓为群. 乙型肝炎病毒基因型及临床应用研究. *中华实验和临床病毒学杂志* 2002;16:367-369
- 22 Kato H, Ruzibakiev R, Yuldasheva N, Hegay T, Kurbanov F, Achundjanov B, Tuichiev L, Usuda S, Ueda R, Mizokami M. Hepatitis B virus genotypes in Uzbekistan and validity of two different systems for genotyping. *J Med Virol* 2002;67:477-483
- 23 Li KS, Yamashiro T, Sumie A, Terao H, Mifune K, Nishizono A. Hepatitis B virus harboring nucleotide deletions in the core promoter region and genotype B correlate with low viral replication activity in anti-HBe positive carriers. *J Clin Virol* 2001;23:97-106
- 24 De Castro L, Araujo NM, Sabino RR, Alvarenga F, Yoshida CF, Gomes SA. Nosocomial spread of hepatitis B virus in two hemodialysis units, investigated by restriction fragment length polymorphism analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19:531-537
- 25 阎丽, 侯金林, 郭亚兵, 王战会, 林裕龙, 骆抗先. 乙型肝炎病毒基因型S基因PCR-RFLP分型方法的建立. *中华传染病杂志* 2001;19:224-228
- 26 丁红兵, 郭亚兵, 戴琳, 阎丽, 彭吉力, 周福元. RFLP基因分型在动态监测乙型肝炎病毒基因变异中的应用. *第一军医大学学报* 2001;21:81-84
- 27 王虹, 万成松, 王省良, 彭华国. 采用PCR微板核酸杂交ELISA技术进行HBV DNA基因分型的研究. *中华微生物学和免疫学杂志* 2001;21:234-236
- 28 苏冬娜, 吴诗品, 石之磷. HBV基因分型的检测及其意义. *临床荟萃* 2002;17:1303-1304
- 29 Sanchez-Tapias JM, Costa J, Mas A, Bruguera M, Rodes J. Influence of hepatitis B virus genotype on the long-term outcome of chronic hepatitis B in western patients. *Gastroenterology* 2002;123:1848-1856

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

• 研究快报 •

## 阿霉素对胃癌细胞内游离 $\text{Ca}^{2+}$ 浓度的影响

邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛

邢承忠, 路平, 刘瑾, 徐惠绵, 中国医科大学附属第一医院肿瘤科  
辽宁省沈阳市 110001  
郭晓临, 袁媛, 中国医科大学附属第一医院肿瘤研究所  
辽宁省沈阳市 110001  
辽宁省教育厅课题资助项目, No. 202013171  
通讯作者: 邢承忠, 110001, 沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院肿瘤科. xcz1966@yahoo.com.cn  
电话: 024-23256666-6227  
收稿日期: 2005-05-28 接受日期: 2005-06-13

### 摘要

**目的:** 探讨阿霉素诱导胃癌细胞凋亡过程中细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ )的变化特点及意义。

**方法:** 选择阿霉素诱导胃癌细胞凋亡, 采用光镜、电镜、琼脂糖凝胶电泳和流式细胞仪检测凋亡; Fura-2 荧光负荷技术测定  $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 。

**结果:** 4  $\mu\text{g/mL}$  阿霉素作用于胃癌细胞 24 h 出现典型的凋亡改变, 即光镜和电镜见凋亡小体、细胞皱缩、染色质固缩和片段化, 琼脂糖电泳观察可见DNA梯状条带,

流式细胞仪上见“凋亡峰”; 阿霉素诱导胃癌细胞凋亡过程中  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  于 1/120(30 s), 2, 6, 12 和 24 h 依次为 191, 177, 151, 170 和 146 nmol/L, 均明显高于对照组 127 nmol/L ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  的升高以凋亡早期更为明显。

**结论:** 阿霉素可以通过诱导胃癌细胞凋亡发挥抗癌作用, 其诱导胃癌细胞凋亡过程中细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度表现为上调趋势。

邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛. 阿霉素对胃癌细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的影响. *世界华人消化杂志* 2005;13(14):1773-1776  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1773.asp>

### 0 引言

肿瘤不仅是增殖和分化异常的疾病, 同时也是凋亡异常的疾病, 在我国胃癌发病率和死亡率均居所有恶性肿瘤之首位, 是威胁人类健康的最重要疾病之一, 而胃癌的

发生、发展和浸润转移也与凋亡密切相关<sup>[1-3]</sup>.阿霉素是胃癌化疗的常用药物<sup>[4-5]</sup>,其抗癌过程的信号调控机制尚不十分清楚,  $\text{Ca}^{2+}$  是各种生命现象信号传导中的重要信号分子<sup>[6-7]</sup>,但在阿霉素诱导的胃癌细胞凋亡中的意义,尚未见报道.关于阿霉素的抗癌作用,大多认为通过抑制胃癌细胞增殖而发挥其作用,本研究采用阿霉素诱导人胃癌细胞系 BGC823 凋亡,检测胃癌细胞凋亡各阶段细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度 ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) 的变化,探讨阿霉素诱导胃癌细胞凋亡的作用以及该过程中细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度的变化特点及意义.

## 1 材料和方法

1.1 材料 RPMI 1640 为美国 LIFE TECH 公司产品;胰蛋白酶 (Trypsin) 为美国 Difco 公司产品;钙荧光指示剂 Fura-2/AM 为美国 Sigma 公司产品;人胃癌细胞系 BGC823 由北京肿瘤研究所惠赠.

### 1.2 方法

1.2.1 胃癌细胞培养和诱导凋亡检测 人胃癌细胞系 BGC823 复苏后培养于含 100 mL/L 小牛血清的 RPMI 1640 营养液中,置于  $\text{CO}_2$  培养箱 ( $37^\circ\text{C}$ , 50 mL/L 的  $\text{CO}_2$ , 950 mL/L 的相对湿度), 2-3 d 传代一次.取对数生长期细胞,加阿霉素至终浓度为 4 mg/L,选择不同时间点用光镜、常规透射电镜和扫描电镜制片,观察胃癌细胞凋亡的形态学变化.收集各时间点细胞 ( $10^6$  个),提取 DNA,用含溴化乙锭的 15 g/L 琼脂糖电泳观察 DNA 条带,照相;收集阿霉素处理的各个时间点细胞 ( $10^6$  个),制成细胞悬液,用流式细胞仪进行细胞周期分析,激光激发波长为 488 nm.

1.2.2 细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度测定 胃癌细胞系 BGC823 加阿霉素后不同时间收集细胞,消化后,用 100 mL/L 的 RPMI 1640 洗涤 2 次,细胞悬液  $37^\circ\text{C}$  预温 5 min,加入终浓度 5  $\mu\text{mol/L}$  Fura-2/AM,  $37^\circ\text{C}$ , 恒温振荡 45 min,持续通 950 mL/L  $\text{O}_2$ , 50 mL/L  $\text{CO}_2$  混合气,以一定量 HPSS 终止反应,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,再次洗涤 1 次(同上),最后细胞悬液于 HPSS 中调整细胞数为  $2 \times 10^9/\text{L}$ ,每次测细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度前再以 HPSS 离心洗涤 1 次(同上),然后  $37^\circ\text{C}$  复温 5 min,以分光光度计检测,发射光波长为 510 nm,激发光波长为 340 及 380 nm,两波长下最大荧光由加入终浓度为 2 g/L Triton 测得,最小荧光由加入终浓度为 8 mmol/L ( $\text{pH} > 8.5$ ) 的 EGTA 获得,每次测细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度前输入在上述两激发波下测得的细胞悬液自发荧光值及解离常数 (224 nmol/L),输入电脑软件运算可得出细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度.

统计学处理 用  $t$  检验,  $P < 0.05$  为有统计学意义.

## 2 结果

2.1 阿霉素诱导胃癌细胞系 BGC823 凋亡及其检测 4  $\mu\text{g/mL}$  阿霉素到终浓度为诱导凋亡,加药后 24 h 出现典型的凋亡改变,即相差显微镜:用阿霉素处理 24 h 后见细胞

核浓缩,细胞变圆,可见膜突起和起泡,细胞完整,见凋亡小体;透射电镜:收集阿霉素处理 24 h 细胞,电镜观察见典型凋亡所见,核染色质积聚边集,新月形或帽状,细胞器结构清晰,胞质浓缩或裂解成质膜包绕的碎片;扫描电镜:细胞变圆,可见胞膜突起和起泡,胞核浓缩;琼脂糖凝胶电泳:顺铂处理 24 h,在电泳带上呈现有一定间隔的梯状条带,对照组无此特征;流式细胞仪:阿霉素处理 24 h,见 G1 峰左侧出现亚二倍体细胞群的峰型.

2.2 细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  浓度测定结果 未加阿霉素处理的对照组细胞内游离钙离子浓度波动于 124-130 nmol/L,平均浓度为  $127 \pm 3$  nmol/L.加阿霉素至终浓度 4 mg/L,诱导凋亡,检测处理 1/120 (30 s), 2, 6, 12 和 24 h 后细胞内游离钙离子浓度,结果表明,细胞凋亡各阶段细胞内游离钙离子浓度明显升高 ( $P < 0.05$ ),而以处理 30 s 时最高(表 1).

表 1 阿霉素诱导胃癌细胞凋亡过程中  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  变化 (mean  $\pm$  SD)

加药时间	$[\text{Ca}^{2+}]_i$ (nmol/L)	$P$
30 s	$191 \pm 12$	$< 0.01$
2 h	$177 \pm 15$	$< 0.01$
6 h	$151 \pm 9$	$< 0.01$
12 h	$170 \pm 13$	$< 0.01$
24 h	$146 \pm 10$	$< 0.05$
对照组	$127 \pm 3$	

## 3 讨论

我国胃癌发病率和死亡率均居所有恶性肿瘤之首位.胃癌发生机制的研究表明其是多阶段、多步骤和多因素共同作用的结果,包括细胞增殖过度、分化异常和凋亡减少<sup>[8-10]</sup>,近年来对凋亡在胃癌发生过程中的作用日趋受到重视,而凋亡的信号调控机制尚不十分清楚.细胞内信号传导过程主要包括三个信使系统<sup>[11-13]</sup>:腺苷酸环化酶系统,肌醇脂质系统和钙-钙调蛋白系统,三个信使系统中的主要信号分子包括环磷酸腺苷、三磷酸肌醇、蛋白激酶 C 和  $\text{Ca}^{2+}$  等.从分子水平探讨肿瘤细胞发生机制的研究日趋受到学者们的重视,对其信号传导机制的研究倍受关注,近年对钙信号传导的研究涉及包括肿瘤发生在内的很多生命现象<sup>[14-15]</sup>.研究<sup>[16]</sup>表明细胞内游离钙离子浓度的变化来源于细胞外  $\text{Ca}^{2+}$  通过细胞膜  $\text{Ca}^{2+}$  通道的跨膜转运和细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  池释放共同作用的结果,细胞膜  $\text{Ca}^{2+}$  通道分为受体操纵性钙通道和电压依赖性钙通道,钙通道开放可使细胞外钙进入,导致细胞内游离钙离子浓度升高,同时可以启动 Ryanodine 受体 (RyR) 系统而触发  $\text{Ca}^{2+}$  诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  释放 (CICR 机制).细胞内贮钙主要通过三磷酸肌醇受体 ( $\text{IP}_3\text{R}$ ) 系统和 RyR 系统来动员,  $\text{IP}_3\text{R}$  和 RyR 分布于各种细胞的肌浆网 (ER) 膜上,当细胞外信息通过 G 蛋白介导激活磷脂酶 C,水解磷脂酰肌醇 4, 5-二磷酸生成第二信使  $\text{IP}_3$  和二酰基甘油 (DG),  $\text{IP}_3$  激活 ER 上的  $\text{IP}_3\text{R}$ ,使  $\text{Ca}^{2+}$

释放增加(IICR 机制), 细胞内游离钙离子浓度升高<sup>[17]</sup>; 加之CICR机制, 二者协同作用使细胞内游离钙离子浓度升高. 研究<sup>[18-19]</sup>发现细胞内Ca<sup>2+</sup>信号是细胞多条信号传导途径的枢纽, 对钙信号的研究逐渐受到重视. 正常状态下Ca<sup>2+</sup>主要存在于细胞外, 细胞内游离Ca<sup>2+</sup>含量很低, 然而正是这些含量甚微的Ca<sup>2+</sup>却发挥着重要作用<sup>[20-21]</sup>. 因此, 本研究首先选择细胞内游离Ca<sup>2+</sup>作为研究阿霉素诱导的胃癌细胞凋亡的信号传导机制的突破点, 应用Fura-2为结合Ca<sup>2+</sup>的荧光指示剂测定阿霉素诱导的胃癌细胞凋亡各阶段细胞内游离钙离子浓度, 观察其动态变化.

本研究首先用阿霉素诱导胃癌细胞凋亡, 以建立凋亡模型, 为下一步实验奠定基础, 结果表明, 加阿霉素到终浓度为4 mg/L诱导凋亡, 加药后24 h出现典型的凋亡改变. 关于阿霉素的抗癌作用, 大多数学者<sup>[22-24]</sup>认为通过抑制胃癌细胞增殖而发挥其作用, 而本研究结果显示阿霉素诱导胃癌细胞凋亡也是其抗肿瘤作用的重要机制, 说明阿霉素可以通过诱导胃癌细胞凋亡发挥抗癌作用.

为进一步研究阿霉素诱导胃癌细胞凋亡的分子机制, 特别是信号传导机制, 本研究选择细胞内游离Ca<sup>2+</sup>作为研究其信号传导机制的突破点, 细胞内游离钙离子浓度的变化来源于细胞外Ca<sup>2+</sup>通过细胞膜Ca<sup>2+</sup>通道的跨膜转运和细胞内Ca<sup>2+</sup>池释放共同作用的结果<sup>[25-26]</sup>, 本研究发现对照组细胞内游离Ca<sup>2+</sup>浓度为127 nmol/L, 加阿霉素诱导凋亡的过程中, 细胞内游离Ca<sup>2+</sup>浓度波动于191-146 nmol/L, 明显高于对照组, 提示Ca<sup>2+</sup>信号参与此凋亡过程, 并作为一个重要的信号分子发挥作用. 既往用其他药物诱导肿瘤细胞凋亡时, 也发现细胞内游离Ca<sup>2+</sup>浓度升高可激活Ca<sup>2+</sup>依赖核酸内切酶引起DNA片段化和细胞凋亡<sup>[27-28]</sup>. 本研究证明阿霉素诱导胃癌细胞凋亡时细胞内游离Ca<sup>2+</sup>浓度也升高, 与其他肿瘤细胞凋亡时细胞内游离Ca<sup>2+</sup>浓度变化一致, 说明Ca<sup>2+</sup>在阿霉素诱导胃癌细胞凋亡过程中也起重要作用.

本研究发现阿霉素诱导胃癌细胞凋亡是其抗癌作用重要机制, 钙离子信号可作为一个重要的信号分子, 参与阿霉素诱导胃癌细胞凋亡过程, 同时, 也为抗信号传导诱导胃癌细胞凋亡的研究奠定基础.

#### 4 参考文献

- 1 Ma L, Xie YL, Yu Y, Zhang QN. Apoptosis of human gastric cancer SGC-7901 cells induced by mitomycin combined with sulindac. *World J Gastroenterol* 2005;11:1829-1832
- 2 Yeo M, Kim DK, Kim YB, Oh TY, Lee JE, Cho SW, Kim HC, Hahm KB. Selective induction of apoptosis with proton pump inhibitor in gastric cancer cells. *Clin Cancer Res* 2004; 10:8687-8696
- 3 Lee JH, Soung YH, Lee JW, Park WS, Kim SY, Cho YG, Kim CJ, Seo SH, Kim HS, Nam SW, Yoo NJ, Lee SH, Lee JY. Inactivating mutation of the pro-apoptotic gene BID in gastric cancer. *J Pathol* 2004;202:439-445
- 4 Becker K, Mueller JD, Schulmacher C, Ott K, Fink U, Busch R, Botcher K, Siewert JR, Hofler H. Histomorphology and grading of regression in gastric carcinoma treated with neoadjuvant

- chemotherapy. *Cancer* 2003;98:1521-1530
- 5 Lee SH, Kang WK, Park J, Kim HY, Kim JH, Lee SI, Park JO, Kim K, Jung CW, Park YS, Im YH, Lee MH, Park K. Combination chemotherapy with epirubicin, docetaxel and cisplatin (EDP) in metastatic or recurrent, unresectable gastric cancer. *Br J Cancer* 2004;91:18-22
- 6 Delmas P, Padilla F, Osorio N, Coste B, Raoux M, Crest M. Polycystins, calcium signaling, and human diseases. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;322:1374-1383
- 7 Anyatonwu GI, Ehrlich BE. Calcium signaling and polycystin-2. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;322:1364-1373
- 8 Wang MC, Yang YM, Li XH, Dong F, Li Y. Maspin expression and its clinicopathological significance in tumorigenesis and progression of gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2004;10:634-637
- 9 Tu SP, Jiang XH, Lin MC, Cui JT, Yang Y, Lum CT, Zou B, Zhu YB, Jiang SH, Wong WM, Chan AO, Yuen MF, Lam SK, Kung HF, Wong BC. Suppression of survivin expression inhibits *in vivo* tumorigenicity and angiogenesis in gastric cancer. *Cancer Res* 2003;63:7724-7732
- 10 Eguchi H, Carpentier S, Kim SS, Moss SF. P27kip1 regulates the apoptotic response of gastric epithelial cells to *Helicobacter pylori*. *Gut* 2004;53:797-804
- 11 Tee AR, Manning BD, Roux PP, Cantley LC, Blenis J. Tuberosclerotic sclerosis complex gene products, Tuberlin and Hamartin, control mTOR signaling by acting as a GTPase-activating protein complex toward Rheb. *Curr Biol* 2003;13:1259-1268
- 12 Lee M, Hwang JT, Lee HJ, Jung SN, Kang I, Chi SG, Kim SS, Ha J. AMP-activated protein kinase activity is critical for hypoxia-inducible factor-1 transcriptional activity and its target gene expression under hypoxic conditions in DU145 cells. *J Biol Chem* 2003;278:39653-39661
- 13 Ong DB, Colley SM, Norman MR, Kitazawa S, Tobias JH. Transcriptional regulation of a BMP-6 promoter by estrogen receptor alpha. *J Bone Miner Res* 2004;19:447-454
- 14 Bootman MD, Thomas D, Tovey SC, Berridge MJ, Lipp P. Nuclear calcium signalling. *Cell Mol Life Sci* 2000;57:371-378
- 15 Hardingham GE, Arnold FJ, Bading H. Nuclear calcium signaling controls CREB-mediated gene expression triggered by synaptic activity. *Nat Neurosci* 2001;4:261-267
- 16 Lee HC. Mechanisms of calcium signaling by cyclic ADP-ribose and NAADP. *Physiol Rev* 1997;77:1133-1164
- 17 Zweifach A, Lewis RS. Slow calcium-dependent inactivation of depletion-activated calcium current. Store-dependent and independent mechanisms. *J Biol Chem* 1995;270:14445-14451
- 18 Fellner SK, Rybczynski R, Gilbert LI. Ca<sup>2+</sup> signaling in prothoracicotropic hormone-stimulated prothoracic gland cells of *Manduca sexta*: evidence for mobilization and entry mechanisms. *Insect Biochem Mol Biol* 2005;35:263-275
- 19 Hansen MR, Bok J, Devaiah AK, Zha XM, Green SH. Ca<sup>2+</sup>/calmodulin-dependent protein kinases II and IV both promote survival but differ in their effects on axon growth in spiral ganglion neurons. *J Neurosci Res* 2003;72:169-184
- 20 Young KW, Nash MS, Challiss RA, Nahorski SR. Role of Ca<sup>2+</sup> feedback on single cell inositol 1, 4, 5-trisphosphate oscillations mediated by G-protein-coupled receptors. *J Biol Chem* 2003;278:20753-20760
- 21 Xu HT, Yuan XB, Guan CB, Duan S, Wu CP, Feng L. Calcium signaling in chemorepellant Slit2-dependent regulation of neuronal migration. *Proc Natl Acad Sci* 2004;101:4296-4301
- 22 Obata T, Toyota M, Satoh A, Sasaki Y, Ogi K, Akino K, Suzuki H, Murai M, Kikuchi T, Mita H, Itoh F, Issa JP, Tokino T, Imai K. Identification of HRK as a target of epigenetic inactivation in colorectal and gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2003;9:6410-6418
- 23 Kang HC, Kim IJ, Park JH, Shin Y, Ku JL, Jung MS, Yoo BC, Kim HK, Park JG. Identification of genes with differential expression in acquired drug-resistant gastric cancer cells using high-density oligonucleotide microarrays. *Clin Cancer Res* 2004;10:272-284
- 24 Wohrer SS, Raderer M, Hejna M. Palliative chemotherapy for advanced gastric cancer. *Ann Oncol* 2004;15:1585-1595



- 25 邢承忠, 陈峻青. 细胞内游离钙浓度在胃癌细胞凋亡过程中的动态变化发生机制. *中华医学杂志* 1999;79:377-380
- 26 Takahashi E, Nagasu T. Expression pattern of voltage-dependent calcium channel  $\alpha 1$  and  $\beta$  subunits in adrenal gland of N-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel  $\alpha 1\text{B}$  subunit gene-deficient mice. *Mol Cell Biochem* 2005;271:91-99
- 27 Li W, Li J, Liu W, Altura BT, Altura BM. Alcohol-induced

- apoptosis of canine cerebral vascular smooth muscle cells: role of extracellular and intracellular calcium ions. *Neurosci Lett* 2004;354:221-224
- 28 Lang F, Gulbins E, Szabo I, Lepple-Wienhues A, Huber SM, Duranton C, Lang KS, Lang PA, Wieder T. Cell volume and the regulation of apoptotic cell death. *J Mol Recognit* 2004;17:473-480

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

• 研究快报 •

## BALB/C 小鼠炎症性肠病动物模型建立方法探讨

刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正

刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正, 中国医科大学第二临床学院辽宁省沈阳市 110001

通讯作者: 刘敬军, 110001, 辽宁省沈阳市和平区北二马路 92 号, 中国医科大学第二临床学院. shylj@yahoo.com.cn

电话: 024-23281706 传真: 024-23280417

收稿日期: 2005-05-08 接受日期: 2005-06-08

### 摘要

**目的:** 对三硝基苯磺酸(TNBS)、葡聚糖硫酸钠(DSS)及恶唑酮三种外源性化学刺激物建立的 BALB/C 小鼠炎症性肠病(IBD)模型的特征加以比较探讨, 以筛选合适的克罗恩病(CD)和溃疡性结肠炎(UC)的动物模型。

**方法:** 将 BALB/C 小鼠 50 只随机平均分成 5 组, 即恶唑酮组、TNBS 组、DSS 组、A 对照组(500 mL/L 乙醇灌肠)、B 对照组(自由饮用蒸馏水), 每组小鼠给药后观察并记录每只小鼠一般变化, 实验第 8 d 处死全部小鼠, 留取结肠标本, 行病理切片检查。

**结果:** 恶唑酮组、TNBS 组、DSS 组小鼠给药后均出现 IBD 的一般表现, 恶唑酮组、TNBS 组及 DSS 组小鼠 DAI 计分分别较 A 对照组及 B 对照组有统计学差异( $P < 0.05$ )。恶唑酮组、DSS 组小鼠病理改变类似人 UC 病理改变, 病理计分较 A、B 对照组有统计学差异( $P < 0.05$ ); TNBS 组小鼠病理改变类似人 CD 病理改变, 病理计分较 A 对照组有统计学差异( $P < 0.05$ )。

**结论:** BALB/C 小鼠恶唑酮致敏后灌肠及自由饮用 DSS 能够诱导出较理想的病理改变类似于人 UC 的动物模型; TNBS 灌肠能够诱导出较理想的病理改变类似于人 CD 的动物模型。

刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正. BALB/C 小鼠炎症性肠病动物模型建立方法探讨. *世界华人消化杂志* 2005;13(14):1776-1778  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1776.asp>

### 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性非特异性胃肠道炎症性疾病, 包括克罗恩病(Crohn disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。本病呈世界性分布, 也是严重危害我国人民健康的疾病, 且近年来其发病率呈逐年上升趋势。IBD 病因至今不明, 发病中有免疫因素<sup>[1-3]</sup>和各种炎症递质的参与。目前临床以水杨酸制剂、皮质激素和免疫抑制剂等药物治疗为主, 但疗效不够满意, 且长期应用有较多副作用, 因此建立理想的动物模型对阐明该病的病因、发病机制及观察药物疗效有重要意义。由于 IBD 的病因、发病机制复杂, 所以很难建立理想的动物模型。通过外源性化学刺激物诱导鼠肠道黏膜产生免疫反应来建立 IBD 动物模型是一种常用的方法。本研究应用最为常见的三硝基苯磺酸(2, 4, 6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)、葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium, DSS)、恶唑酮(oxazolone)三种外源性化学刺激物分别建立 BALB/C 小鼠 IBD 模型, 以期对该方法做一较为全面的探讨, 以筛选合适的 CD 和 UC 的动物模型。

### 1 材料和方法

**1.1 材料** 动物选用 6-8 wk SPF 级 BALB/C ♀ 小鼠, 体质量约 20-25 g, 由中国医科大学附属第二临床学院动物实验中心提供。恶唑酮、TNBS、DSS ( $M_r$  5 000)均由 Sigma 公司提供。

**1.2 方法** 取 50 只小鼠随机分为 5 组, 分别为恶唑酮组、TNBS 组、DSS 组、A 对照组、B 对照组, 每组 10 只。实验前 5 d 30 g/L 恶唑酮无水乙醇溶液 0.15 mL 涂抹恶唑酮组小鼠腹部皮肤暴露部位, 范围 2 cm × 2 cm。实验