

# 大鼠肝癌细胞 HSV-*tk*/GCV 自杀基因系统的构建及其旁观者效应

谭宇蕙, 吴映雅, 杜标炎, 胡岳山, 赵 鹏, 李杰芬

谭宇蕙, 吴映雅, 胡岳山, 广州中医药大学生化教研室 广东省广州市 510405

杜标炎, 赵鹏, 广州中医药大学病理教研室 广东省广州市 510405

李杰芬, 广州中医药大学中医基础实验中心 广东省广州市 510405

谭宇蕙, 女, 1966-04-22生, 广东省恩平市人, 汉族, 2002年广州中医药大学中西医结合专业博士, 副教授, 生化教研室主任, 主要从事中西医结合分子肿瘤学研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30171201

广州市科技计划项目, No. 2002J1-C7041

通讯作者: 杜标炎, 510405, 广州市机场路12号, 广州中医药大学病理教研室. Tyuhui66@yahoo.com.cn

电话: 020-36585475

收稿日期: 2005-06-28 接受日期: 2005-07-16

## Construction of HSV-*tk*/GCV suicide gene system for hepatocarcinoma cells and its bystander effect in rats

Yu-Hui Tan, Ying-Ya Wu, Biao-Yan Du, Yue-Shan Hu, Peng Zhao, Jie-Fen Li

Yu-Hui Tan, Ying-Ya Wu, Yue-Shan Hu, Department of Biochemistry, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Biao-Yan Du, Peng Zhao, Department of Pathology, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Jie-Fen Li, Basic Experiment Center of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Supported by National Science Foundation of China, No. 30171201; and the Fund from Guangzhou Science and Technology Project, No.2002J1-C7041

Correspondence to: Biao-Yan Du, Department of Pathology, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, 12 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China.

Tyuhui66@Yahoo.com.cn

Received: 2005-06-28 Accepted: 2005-07-16

## Abstract

**AIM:** To construct the therapeutic system of HSV-*tk*/GCV suicide gene for hepatocarcinoma cell line, and to establish a cell model and method to examine the effect of HSV-*tk*/GCV system and its bystander effect.

**METHODS:** CBRH7919 cells was infected by the active retrovirus particle excreted by the packaging cell line PT67/*tk*, and then a high anti-G418 clone named CBRH7919/*tk* was obtained by G418 screening for 3 wk. The total DNAs of CBRH7919 and CBRH7919/*tk* cells were extracted. The cDNA fragments of HSV-*tk* were labeled with Digoxin and then hybridized with the

DNAs of CBRH7919, CBRH7919/*tk* cells and positive controls. The CBRH7919 and CBRH7919/*tk* cells were treated with different concentrations (0.1, 1, 10, 50, and 100 mg/L) of GCV, respectively. The mixture with different ratios of *tk* positive and negative cells was also treated with GCV. The survival rates of the cells were examined by MTT assay. The bystander effect was analyzed to determine a suitable proportion of *tk* positive cells for the successive experiments.

**RESULTS:** A high anti-G418 clone named CBRH7919/*tk* (*tk*<sup>+</sup>) was obtained. The HSV-*tk* gene was detected in the CBRH7919/*tk* cells, while it was not detected in the CBRH7919 cells. GCV showed significant cytotoxicity and inhibition on the proliferation of CBRH7919/*tk* cells in a concentration- and time-dependent manner. The CBRH7919(*tk*<sup>-</sup>) cells manifested low sensitivity to GCV. The killing rate of GCV to the mixtures containing 5% and 10% *tk* positive cells were 6.0% and 25.2%, respectively. The sensitivity of MTT assay in the detection of the bystander effect was relatively high, and the bystander effect was low when the mixture contained 5-10% *tk* positive cells.

**CONCLUSION:** The therapeutic system of HSV *tk*/GCV suicide gene for hepatocarcinoma cells in rats is successfully constructed, and the mixed cells containing 5-10% *tk* positive ones can be used for further study.

**Key Words:** HSV *tk*/GCV; Suicide gene system; Hepatocarcinoma; Rats; Bystander effect

Tan YH, Wu YY, Du BY, Zhao P, Hu YS, Li JF. Construction of HSV-*tk*/GCV suicide gene system for hepatocarcinoma cells and its bystander effect in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2005;13(17):2069-2073

## 摘要

**目的:** 构建针对大鼠肝癌细胞的HSV-*tk*/GCV(以下简称*tk*/GCV系统)自杀基因治疗系统, 建立比较*tk*/GCV系统作用效果及其旁观者效应大小的细胞模型和检测方法。

**方法:** 用包装细胞PT67/*tk*分泌的重组逆转录病毒的

活性颗粒感染大鼠肝癌CBRH7919细胞,用G418筛选3 wk获得高耐药性的重组子CBRH7919/*tk*,扩大培养.提取CBRH7919(*tk*<sup>-</sup>),CBRH7919/*tk*(*tk*<sup>+</sup>)细胞的DNA,把HSV-*tk*基因片段用Dig标记为探针后,与2种DNA及阳性对照DNA进行点杂交,以检测*tk*<sup>+</sup>细胞的DNA是否整合有HSV-*tk*基因.用0.1、1、10、50、100 mg/L的GCV体外作用于*tk*<sup>-</sup>、*tk*<sup>+</sup>细胞,MTT检测存活率.用GCV体外分别作用于含不同比例*tk*<sup>+</sup>细胞的*tk*<sup>+</sup>、*tk*<sup>-</sup>混合细胞,MTT检测存活率,比较分析各组旁观者效应大小,确定后续实验的合适*tk*<sup>+</sup>比例.

**结果:**用G418筛选3 wk后获到高耐药性的CBRH7919/*tk*(*tk*<sup>+</sup>)重组细胞.HSV-*tk*基因片段用Dig标记为探针后进行点杂交,检测到*tk*<sup>+</sup>细胞DNA上已整合有HSV-*tk*基因,而*tk*<sup>-</sup>细胞DNA不含HSV-*tk*基因.GCV对*tk*<sup>+</sup>细胞生长抑制和细胞毒作用明显,而且有浓度、时间依赖性,而*tk*<sup>-</sup>细胞对GCV不敏感,说明HSV-*tk*基因已表达且表达产物具有生物学活性.GCV对含5%和10%*tk*<sup>+</sup>的混合细胞杀伤率分别为6.0%和25.2%,结果表明5-10%的*tk*<sup>+</sup>混合比例下自杀基因系统自身的旁观者效应较低,而且用MTT检测旁观者效应大小时灵敏度比较高,可作为后续研究中药活性成分对旁观者效应增效作用的*tk*<sup>+</sup>、*tk*<sup>-</sup>混合比例.

**结论:**成功构建了针对大鼠肝癌的HSV1-*tk*/GCV自杀基因治疗系统,建立了体外快速筛选旁观者效应增效药物的稳定有效的细胞模型和检测方法.

**关键词:** HSV1-*tk*/GCV自杀基因系统;肝癌;大鼠;旁观者效应

谭宇慧,杜标炎,吴映雅,胡岳山,赵鹏,李杰芬.大鼠肝癌细胞HSV-*tk*/GCV自杀基因系统的构建及其旁观者效应.世界华人消化杂志2005;13(17):2069-2073  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2069.asp>

## 0 引言

HSV-*tk*/GCV对癌细胞的杀伤作用已进入III期临床实验<sup>[1-4]</sup>.旁观者效应(bystander effect)是肿瘤自杀基因疗法的突出优点,筛选旁观者效应增效药物的研究对推进自杀基因疗法的临床应用很有意义<sup>[5]</sup>.我们构建表达HSV-*tk*基因的大鼠肝癌重组细胞株CBRH7919/*tk*,建立针对大鼠肝癌的肿瘤自杀基因*tk*/GCV系统,通过测定*tk*/GCV系统对CBRH7919的杀伤作用和旁观者效应大小,建立快速筛选旁观者效应增效药物的细胞模型和筛选方法如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** PLXSN逆转录病毒表达载体购自美国Clontech公司;重组质粒PLXSN/*tk*和重组PT67/*tk*细胞由本课题组构建<sup>[5]</sup>;大鼠肝癌细胞株CBRH7919细胞

株购自中山大学动物中心细胞库.细胞培养板等耗材购自Corning公司,Polybrene,G418,GCV等为Sigma公司产品;DMEM,RPMI-1640,胎牛血清为Gibco公司产品;新生牛血清为杭州四季青公司产品;高纯度质粒提取、DNA片段凝胶回收、基因组DNA提取等试剂盒购自上海Sangon生物工程技术公司;Dig标记及检测试剂盒购自Roche公司.主要仪器有BNA-3210型CO2培养箱(日本Espec),电泳系统(Bio-Rad),凝胶成像系统(Syngene),倒置显微镜(重庆COIC),酶标仪(BioRad),杂交仪(北京华运).

**1.2 方法** 细胞培养、复苏、传代、冻存、MTT检测(四甲基偶氮比色法)等实验技术方法参考文献<sup>[6-9]</sup>.将CBRH7919细胞以 $5 \times 10^3$ 个/孔接种于含梯度浓度G418(0,100,200,300,400,600,800 mg/L)的6孔培养板中,每4 d换液一次,每天观察细胞,选用5 d内细胞绝大多数死亡或2 wk内细胞全部死亡的最小G418浓度为筛选浓度.把已转染重组逆转录病毒的PT67/*tk*细胞复苏,培养至对数生长期,收集滴度为 $4 \times 10^7$  cfu/L的PT67/*tk*细胞上清液,经0.45  $\mu$ m孔径的过滤器过滤,吸取100  $\mu$ L加入对数生长期的CBRH7919细胞,随后加聚季丁胺(polybrene)至终浓度为8 mg/L,2 d后更换含G418的选择培养液,连续筛选2 wk后,获得抗性细胞克隆,命名为CBRH7919/*tk*.

**1.2.1 点杂交鉴定*tk*基因对CBRH7919的转染** 按试剂盒说明书方法提取质粒PLXSN/*tk*的DNA,经EcoRI/BamHI双酶切后,用凝胶回收试剂盒回收1.7 kb的*tk*基因片段,按Dig标记试剂盒说明书提供的方法用Dig(地高辛)试剂标记*tk*基因探针、检测标记效率.提取CBRH7919,CBRH7919/*tk*细胞的DNA,琼脂糖电泳检查后,把两种细胞各约1  $\mu$ g的DNA和1  $\mu$ g质粒PLXSN/*tk*的DNA(阳性对照),热变性后与标记好的*tk*探针进行杂交、显色反应.

**1.2.2 GCV对CBRH7919/*tk*的杀伤作用** 将CBRH7919(*tk*<sup>-</sup>)和CBRH7919/*tk*(*tk*<sup>+</sup>)按每孔 $5 \times 10^3$ 个细胞接种96孔板,每孔含培养液190  $\mu$ L,再分别加入GCV10  $\mu$ L使GCV终浓度分别为0,0.1,1,10,100 mg/L,每孔总体积200  $\mu$ L,各6个复孔,首列6孔为无细胞对照.培养48,72 h后用倒置显微镜观察细胞的变化,用MTT法检测*tk*<sup>-</sup>和*tk*<sup>+</sup>细胞在不同浓度GCV下的吸光度,计算各组存活率.

**1.2.3 *tk*<sup>+</sup>/*tk*<sup>-</sup>混合比例对*tk*/GCV系统旁观者效应的影响** 用高浓度的750 mg/L G418筛选已被GCV杀伤实验和点杂交鉴定的重组细胞株CBRH7919/*tk* 3 wk,以获得对G418高耐药的较纯化的*tk*<sup>+</sup>癌细胞集落.按*tk*<sup>+</sup>细胞占总细胞的0%,5%,10%,20%,30%,50%,70%,100%混合*tk*<sup>+</sup>和*tk*<sup>-</sup>细胞,培养12 h后均加入100 mg/L

的GCV; 另设不加GCV的 $tk^-$ 和 $tk^+$ 的空白对照组. 各组分别置于96孔培养板, 每孔200  $\mu$ L均接种 $5 \times 10^3$ 个细胞, 每组6个复孔, 于37 $^{\circ}$ C, 50 mL/LCO<sub>2</sub>培养72 h, 采用MTT法检测存活率.

**统计学处理** 用SPSS统计软件分析, 两组间比较用LSD法.

## 2 结果

经对G418的敏感试验确定CBRH7919/*tk*的筛选浓度为350 mg/L. 重组病毒PLXSN/*tk*转染CBRH7919后筛选3 wk, 获得对G418高耐药性的细胞集落, 命名为CBRH7919/*tk*( $tk^+$ 细胞), 扩大培养.

**2.1 点杂交鉴定 $tk$ 基因对CBRH7919的转染**  $tk$ 探针标记效率较高, CBRH7919的DNA不与 $tk$ 探针杂交, CBRH7919/*tk*的DNA和重组质粒PLXSN/*tk*的DNA均与 $tk$ 探针杂交显色, 说明 $tk$ 基因已转染CBRH7919并整合到CBRH7919/*tk*的DNA上.

**2.2 GCV对CBRH7919/*tk*的杀伤作用** 倒置显微镜下观察,  $tk^+$ 细胞密度随GCV浓度的增高和作用时间增加而逐步减少, GCV10 mg/L以上作用48 h和GCV1 mg/L以上作用72 h的各复孔均见细胞变圆, 胞膜皱缩, 部分细胞脱落悬浮, 并有大量凋亡小体及细胞碎片产生, GCV100 mg/L组作用72 h镜下几乎不见存活细胞, 但MTT检测存活率为29.1%. GCV对 $tk^+$ 细胞作用72 h的IC<sub>50</sub>为9 mg/L(图1, 表1). 而GCV作用于 $tk^-$ 细胞时小于100 mg/L各浓度组细胞生长良好, 与空白对照组比较细胞密度、存活率无显著差异. 只有GCV达100 mg/L、作用72 h时 $tk^-$ 细胞才有明显生长抑制, 存活率76.9%( $P < 0.05$  vs 对照组, 表1).

**2.3  $tk^+$ / $tk^-$ 混合比例对 $tk$ /GCV系统旁观者效应的影响** 含0%, 5%, 10%, 20%, 30%, 50%, 70%,

表1 GCV对 $tk^+$ 和 $tk^-$ 细胞的作用 (mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ )

| 细胞        | GCV (mg/L) | 存活率 (%)                     |                             |
|-----------|------------|-----------------------------|-----------------------------|
|           |            | 48 h                        | 72 h                        |
| 1 $tk^+$  | 0          | 100 $\pm$ 7.1               | 100 $\pm$ 3.7               |
| 2 $tk^+$  | 0.1        | 95.4 $\pm$ 12.1             | 74.8 $\pm$ 6.8 <sup>b</sup> |
| 3 $tk^+$  | 1          | 93.2 $\pm$ 16.5             | 63.2 $\pm$ 6.0 <sup>b</sup> |
| 4 $tk^+$  | 10         | 55.7 $\pm$ 8.2 <sup>b</sup> | 49.2 $\pm$ 3.0 <sup>b</sup> |
| 5 $tk^+$  | 100        | 37.2 $\pm$ 3.4 <sup>b</sup> | 29.1 $\pm$ 6.4 <sup>b</sup> |
| 6 $tk^-$  | 0          | 100 $\pm$ 9.3               | 100 $\pm$ 6.7               |
| 7 $tk^-$  | 0.1        | 97.9 $\pm$ 10.5             | 107.3 $\pm$ 5.9             |
| 8 $tk^-$  | 1          | 92.5 $\pm$ 0.7              | 97.9 $\pm$ 11.4             |
| 9 $tk^-$  | 10         | 100.6 $\pm$ 12.5            | 98.8 $\pm$ 3.7              |
| 10 $tk^-$ | 100        | 94.8 $\pm$ 11.6             | 76.9 $\pm$ 8.2 <sup>b</sup> |

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 组1.

100% $tk^+$ 的混合细胞在100 mg/L GCV作用下存活率(%)分别为74.9  $\pm$  10.4, 70.4  $\pm$  2.2, 56.0  $\pm$  5.7, 47.3  $\pm$  2.0, 39.9  $\pm$  9.8, 28.4  $\pm$  2.6, 21.0  $\pm$  2.3, 23.5  $\pm$  1.1. 5% $tk^+$ 的混合细胞无明显旁观者效应, 10% $tk^+$ 细胞能杀伤25.2%癌细胞( $P < 0.05$  vs 空白对照组), 已有明显旁观者效应, 70%以上 $tk^+$ 的混合细胞与100% $tk^+$ 细胞杀伤率已没有差异(图2). 镜下观察到的细胞已从不规则多边形全部变圆, 苔盼蓝计数法检测活细胞也为零, MTT检测存活率却达20-30%, 明显偏高. 镜检发现凋亡小体、细胞碎片也能被MTT染色(图3), 这可能是MTT检测时细胞杀伤程度越高, 结果偏高越严重的原因.

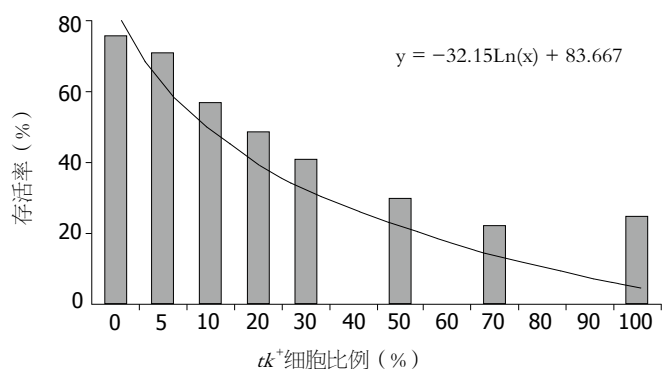


图2 GCV对含不同比例 $tk^+$ 的 $tk^+$ 、 $tk^-$ 混合细胞旁观者效应的影响.

## 3 讨论

用培养PT67/*tk*的含病毒上清液感染大鼠肝癌细胞株CBRH7919, 用G418筛选获得了稳定的抗性克隆, 与Dig标记的HSV *tk*基因探针点杂交实验证明CBRH7919/*tk*细胞的DNA已整合有HSV *tk*基因, 而CBRH7919细胞不含HSV *tk*基因. GCV在体外对CBRH7919/*tk*癌细胞有明显的杀伤作用, 而对CBRH7919对照组细胞无明显毒性, 表明HSV *tk*基因已在CBRH7919/*tk*细胞中表达且产物具有生物活性. 以上结果表明已成功构建了

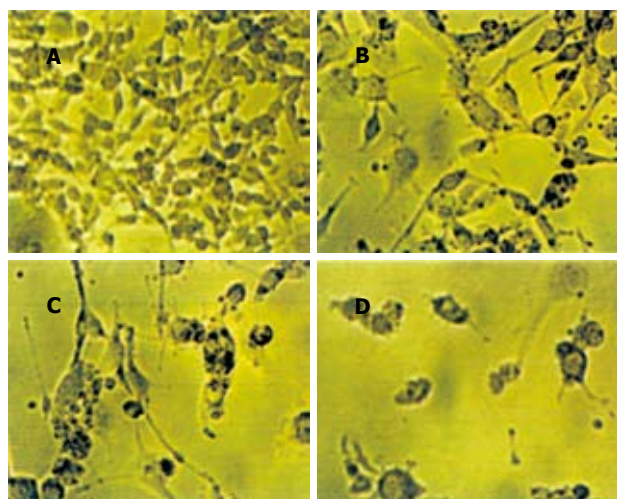


图1 GCV 72 h对 $tk^+$ 细胞的杀伤作用. A: GCV 0 mg/L; B: GCV 1 mg/L; C: GCV 10 mg/L; D: GCV 100 mg/L.

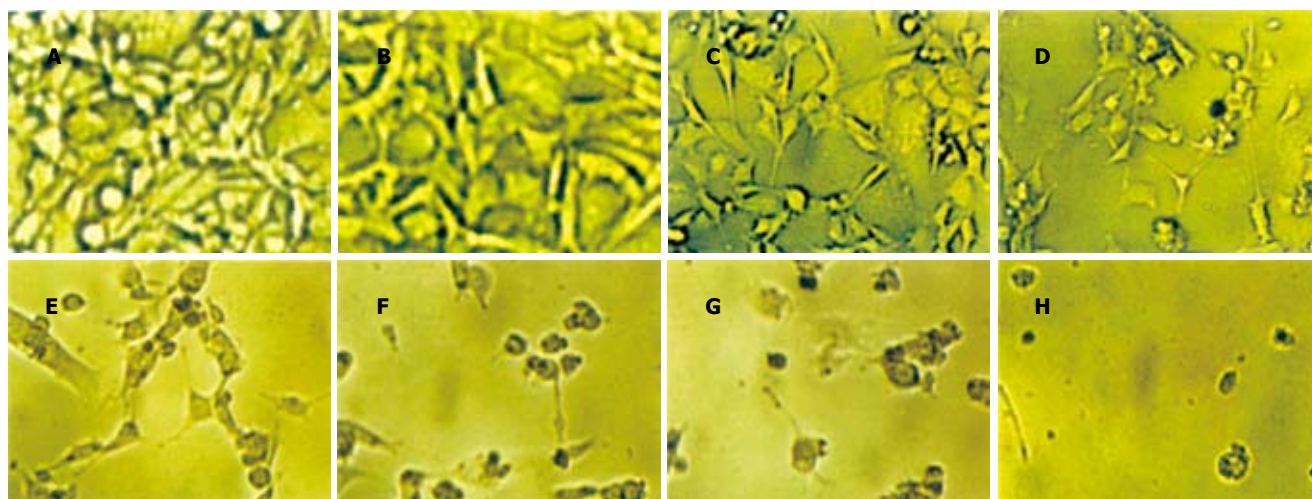


图3 GCV对含不同比例 $tk^{+}$ 的 $tk^{+}$ 、 $tk^{-}$ 混合细胞旁观者效应的影响. A: 0% $tk^{+}$ ; B: 5% $tk^{+}$ ; C: 10% $tk^{+}$ ; D: 20% $tk^{+}$ ; E: 30% $tk^{+}$ ; F: 50% $tk^{+}$ ; G: 70% $tk^{+}$ ; H: 100% $tk^{+}$ .

针对大鼠肝癌的 $tk$ /GCV系统. 旁观者效应机制主要有GJIC、细胞凋亡、免疫等介导<sup>[5, 10-17]</sup>, 但在细胞水平只能观测到通过GJIC或细胞凋亡等非整体因素介导的旁观者效应, 而不能观测免疫机制介导的旁观者效应. 我们建立了检测旁观者效应大小以及筛选其增效药物的细胞模型. 从含不同比例 $tk^{+}$ 的混合细胞旁观者效应测定结果看, (1)CBRH7919的自杀基因旁观者效应和已报道的其他细胞系比较, 属于比较低的类型(肿瘤细胞旁观者效应普遍比正常细胞系低), 5%和10% $tk^{+}$ 的混合细胞杀伤率分别为6.0%和25.2%, 旁观者效应仅使杀伤率增加了约1%和15%; (2)在5%和10% $tk^{+}$ 的混合比例下 $tk$ /GCV系统自身的旁观者效应程度较低, 有利于观察药物对旁观者效应的诱导促进作用; (3)用MTT法测定旁观者效应的大小变化时在5%和10%这两种比例下检测较灵敏: 5%组、10%组与20%组间存活率有显著差异, 而30-50%组间差异不显著, 70-100%组MTT法测定结果偏高. 另外, 10%左右 $tk^{+}$ 的混合比例还能模拟目前临床水平10%左右较低的体内基因转染率. 因此, 结合上述结果我们把5-10% $tk^{+}$ 确定为下一步体外筛选旁观者效应增效中药成分的 $tk^{+}$ 、 $tk^{-}$ 细胞混合比例.

目前, 应用HSV1- $tk$ /GCV系统的基因疗法在国外已进入III期临床实验阶段. 然而与其他肿瘤基因治疗方案一样, 自杀基因疗法也存在缺乏高效转染载体的问题, 目的基因在体内的转染率仅为10%左右, 大大地影响了肿瘤基因治疗的临床推广应用<sup>[18-20]</sup>. 通过寻找天然低毒的中药增强旁观者效应来提高自杀基因疗法的疗效是很有前景的增效策略. 另外, 通过细胞凋亡、GJIC等机制增强旁观者效应的药物, 本身也有直接抗肿瘤作用<sup>[11-17]</sup>. 因此, 通过调整细胞生理, 诱导肿瘤细胞凋亡, 加强肿瘤与肿瘤细胞、肿瘤细胞与正

常细胞之间的GJIC功能, 从而使肿瘤细胞恶性生长逆转, 而且通过提高旁观者效应而增强自杀基因疗效, 有可能为肿瘤治疗提供新途径.

#### 4 参考文献

- 1 邓洪新, 魏于全. 肿瘤生物治疗研究进展. 世界科技研究与进展 2004;26:1-6
- 2 Niculescu-Duvaz I, Springer CJ. Introduction to the background, principles, and state of the art in suicide gene therapy. *Mol Biotechnol* 2005;30:71-88
- 3 Seth P. Vector-Mediated cancer gene therapy: An overview. *Cancer Biol Ther* 2005;4:512-517
- 4 Perry MJ, Todryk SM, Dalglish AG. The role of herpes simplex virus thymidine kinase in the treatment of solid tumours. *Expert Opin Investig Drugs* 1999;8:777-785
- 5 杜标炎, 谭宇蕙, 吴映雅, 苏宁, 何彦丽, 钟子健. 自杀基因联合中医药治疗治疗肿瘤的设想. 广州中医药大学学报 2002;19:1-5
- 6 徐如祥, 涂艳阳, 邹春芽, 杨志林, 陈一招, 蔡颖谦, 杜谋选. 尼莫地平增强HyTK/ACV自杀基因对脑胶质瘤细胞的杀伤作用. 肿瘤防治杂志 2003;10:1129-1133
- 7 Zhang A, Wang Q, Han Z, Wu S, Chen G, Li J, Liao G, Lu Y, Ma D. Relationship between the expression of connexin43 and bystander effect of suicide gene therapy in ovarian cancer. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2004;24:476-479
- 8 邢毅飞, 肖亚军, 鲁功成, 曾甫清, 张齐钧, 熊平. 芹黄素提高胸苷激酶基因系统治疗前列腺癌疗效的研究. 中华实验外科杂志 2003;20:1023-1024
- 9 Huang GQ, Song Y, Zhang J, Lu YR, Xiao L, Yang Y, Guo YB. Enhancement of the bystander effect by tanshinone IIA in HSV-tk/GCV system is related to expression of connexin 43 mRNA. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2004;26:146-149
- 10 Freeman SM, Whartenby KA, Freeman JL, Abboud CN, Marrogi AJ. In situ use of suicide genes for cancer therapy. *Semin Oncol* 1996;23:31-45
- 11 Kurozumi K, Tamiya T, Ono Y, Otsuka S, Kambara H, Adachi Y, Ichikawa T, Hamada H, Ohmoto T. Apoptosis induction with 5-fluorocytosine/cytosine deaminase gene therapy for human malignant glioma cells mediated by adenovirus. *J Neurooncol* 2004;66:117-127
- 12 陈道桢, 张丽珊. 自杀基因治疗中的旁观者效应及机制. 国外医学·遗传学分册 2002;25:199-201
- 13 Dilber MS, Abedi MR, Christensson B, Bjorkstrand B, Kidder

- GM, Naus CC, Gahrton G, Smith CI. Gap junctions promote the bystander effect of herpes simplex virus thymidine kinase in vivo. *Cancer Res* 1997;57:1523-1528
- 14 Hamel W, Magnelli L, Chiarugi VP, Isvael MA. Herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir-mediated apoptotic death of bystander cells. *Cancer Res* 1996;56:2697-2702
- 15 王卫东, 陈正堂, 王志新. 缝隙连接与自杀基因旁观者效应研究进展. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2001;8:231-233
- 16 梁智勇, 史景泉. 缝隙连接细胞间通讯与肿瘤的关系. *临床与实验病理学杂志* 2001;17:432-434
- 17 Robe PA, Jolois O, N'Guyen M, Princen F, Malgrange B, Merville MP, Bours V. Modulation of the HSV-TK/ganciclovir bystander effect by n-butyrate in glioblastoma: correlation with gap-junction intercellular communication. *Int J Oncol* 2004;25:187-192
- 18 Fischer U, Steffens S, Frank S, Rainov NG, Schulze-Osthoff K, Kramm CM. Mechanisms of thymidine kinase/ganciclovir and cytosine deaminase/5-fluorocytosine suicide gene therapy-induced cell death in glioma cells. *Oncogene* 2005;24:1231-1243
- 19 扬文字, 黄宗海. 自杀基因治疗恶性肿瘤的载体效率及基因表达. *世界华人消化杂志* 2004;12:194-198
- 20 Hadaczek P, Mirek H, Berger MS, Bankiewicz K. Limited efficacy of gene transfer in herpes simplex virus-thymidine kinase/ganciclovir gene therapy for brain tumors. *J Neurosurg* 2005;102:328-335

编辑 潘伯荣 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 •

# 第五届全国消化道恶性病变内镜/介入治疗研讨会会讯

**本刊讯** 第五届全国消化道恶性病变介入治疗研讨会暨“消化道恶性梗阻的动脉内灌药联合内支架治疗应用技术”和“食管良恶性狭窄治疗新进展”国家级继续医学教育学习班定于2005-10-27至2005-10-30在江苏省南京市国际会议中心举行。“消化道恶性梗阻的动脉内灌药联合内支架治疗应用技术”是卫生部第二轮面向农村合基层适宜技术推广“十年百项”计划项目和上海市“重大医学成果转化”项目,也是国家级继续医学教育项目。本次会议由上海同仁医院和江苏省人民医院联合主办,中华消化内镜杂志、介入放射学杂志协办。会议内容涉及消化道肿瘤最新诊治进展、消化内镜操作及介入放射学操作技术。会议将邀请肖湘生、李麟荪、杨仁杰、徐克以及张齐联、林三仁、李兆生、吴云林、张志宏等国内著名的介入放射及消化内镜专家讲学研讨,并将进行食管、胆管及肠道支架安置和内镜操作技术演示。

## 1 会议具体安排

时间: 2005-10-27 全天报到, 2005-10-28 上午大会开幕仪式, 2005-10-28/10-29 讲座及研讨, 2005-10-30 操作演示。

地点: 南京国际会议大酒店(四星级), 会务费: 住宿代表 800 元, 非住宿代表 400 元, 未寄回执住宿代表加收 100 元。

## 2 会议主要议题

会议议题主要有: 消化内镜及介入医学发展现状与展望、消化道狭窄介入治疗进展、胃肠道肿瘤 CT 诊断、恶性梗阻性黄疸介入综合治疗的长期疗效及影响因素、胸腔胃痿的支架封堵技术、胃肠道支架应用技术、放疗支架临床应用、消化道恶性梗阻的动脉内灌药联合内支架治疗应用技术、食管、肠道支架并发症应对措施、胃肠道及胆道支架操作演示等。

## 3 其他事项

学分: 会议代表可获国家一类学分 12 分。

大会秘书处: 大会设有秘书处, 联系人程文芳、丁霞芬林征等。地址: 南京市广州路 300 号江苏省人民医院消化科。邮编: 210029。电话: 025-83674636 或 13062589271, 13851817168。Email: ruihuashi@126.com; maoaw@sohu.com。