

许多术中直视下貌似完整的浆膜,实际上已被各种水解酶溶解,癌细胞裸露并脱落入腹腔.进展期胃癌腹膜转移率约为10%<sup>[5]</sup>,而术后腹膜复发率高达50%<sup>[6]</sup>.但无论是复发或腹膜转移均与腹腔存在的癌细胞有关,检测这些癌细胞对于诊断和预测腹膜转移和复发有重要意义,但常规细胞学检查检出率低,尤其是那些无腹水或腹腔癌细胞较少的患者常会漏诊,这也是有些患者虽然细胞学阴性但术后仍有复发的原因之一.

近年来,RT-PCR方法已被用于检测微量癌细胞中的特殊mRNA,如淋巴结、肝脏和血液癌细胞的微转移检测,显示了较高的灵敏性.我们采用该方法检测腹腔冲洗液的游离细胞,因为腹膜间皮细胞不表达CEA,所以选择CEA的mRNA作为标志,从而明确地区分开皮细胞和肿瘤细胞.但值得注意的是,腹腔液中白细胞可以表达CEA相关基因,因此在进行PCR扩增的时候,应将退火温度控制在65℃以下,以避免由于白细胞表达CEA所造成的假阳性<sup>[7]</sup>.尽管5例胃良性病变的15个腹膜标本中有1个CEAmRNA阳性,使其特异性有所下降,这可能与白细胞少量表达CEA相关基因有关.作者认为,对胃癌患者术中切除少许网膜、腹膜组织行CEAmRNA的检查,至少可辅助证实腹腔液CEAmRNA的检测结果.我们以细胞系为标本作为阳性对照,获得阳性结果的最低细胞数量级为 $10^3$ ,说明RT-PCR实验可以检测很微量的癌细胞,并与细胞学检查进行比较,结果敏感性明显提高,特别在无明显大体腹膜转移以前,统计学表明有显著差异.结果表明,RT-PCR方法检测腹腔液CEAmRNA表达较细胞学检

查的敏感性显著升高,而且与淋巴结转移、肿瘤浸润深度、浆膜侵犯程度和TNM分期呈正相关,对腹膜组织同时行此检查,可进一步证实其结果.对于CEAmRNA表达阳性者可在随访中作为高危人群监测.

#### 4 参考文献

- 1 Koder Y, Yamamura Y, Torii A, Uesaka K, Hirai T, Yasui K, Morimoto T, Kato T, Kito T. Postoperative staging of gastric carcinoma. A comparison between the UICC stage classification and the 12th edition of the Japanese General Rules for Gastric Cancer Study. *Scand J Gastroenterol* 1996;31:476-480
- 2 Johnson PW, Burchill SA, Selby PJ. The molecular detection of circulating tumour cells. *Br J Cancer* 1995;72:268-276
- 3 Schoenfeld A, Luqmani Y, Smith D, O'Reilly S, Shousha S, Sinnett HD, Coombes RC. Detection of breast cancer micrometastases in axillary lymph nodes by using polymerase chain reaction. *Cancer Res* 1994;54:2986-2990
- 4 Koder Y, Nakanishi H, Yamamura Y, Shimizu Y, Torii A, Hirai T, Yasui K, Morimoto T, Kato T, Kito T, Tatematsu M. Prognostic value and clinical implications of disseminated cancer cells in the peritoneal cavity detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction and cytology. *Int J Cancer* 1998;79:429-433
- 5 Tsujitani S, Oka S, Suzuki K, Saito H, Kondo A, Ikeguchi M, Maeta M, Kaibara N. Prognostic factors in patients with advanced gastric cancer treated by noncurative resection: a multivariate analysis. *Hepatogastroenterology* 2001;48:1504-1508
- 6 Yoo CH, Noh SH, Shin DW, Choi SH, Min JS. Recurrence following curative resection for gastric carcinoma. *Br J Surg* 2000;87:236-242
- 7 Koder Y, Isobe K, Yamauchi M, Satta T, Hasegawa T, Oikawa S, Kondoh K, Akiyama S, Itoh K, Nakashima I. Expression of carcinoembryonic antigen (CEA) and nonspecific crossreacting antigen (NCA) in gastrointestinal cancer; the correlation with degree of differentiation. *Br J Cancer* 1993;68:130-136

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

• 临床经验 •

## 恶性消化道肿瘤晚期患者血TNF- $\alpha$ 与胰岛素抵抗和胰岛素分泌的功能关系

冯青青, 王占科, 吕小林, 刘亚诚, 余文, 涂云

冯青青, 王占科, 余文, 涂云, 解放军第九四医院 江西省南昌市 330002

吕小林, 江西医学院第一附属医院 江西省南昌市 330006

刘亚诚, 江西省人民医院 江西省南昌市 330006

通讯作者: 冯青青, 330002, 江西省南昌市, 解放军第九四医院.

收稿日期: 2005-07-19 接受日期: 2005-07-28

**Relations of plasma TNF- $\alpha$  with insulin resistance and insulin**

**excretion in terminal patients with malignant gastrointestinal tumor**

Qing-Qing Feng, Zhan-Ke Wang, Xiao-Lin Lv, Ya-Cheng Liu, Wen Yu, Yun Tu

Qing-Qing Feng, Zhan-Ke Wang, Wen Yu, Yun Tu, the 94<sup>th</sup> Hospital

of Chinese PLA, Nanchang 330002, Jiangxi Province, China  
Xiao-Ling Lv, the First Affiliated Hospital of Jiangxi Medical College, Nanchang 330002, Jiangxi Province, China  
Ya-Cheng Liu, the People's Hospital of Jiangxi, Nanchang 330002, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Qing-Qing Feng, the 94<sup>th</sup> Hospital of Chinese PLA, Nanchang 330002, Jiangxi Province, China

Received: 2005-07-19 Accepted: 2005-07-28

## Abstract

**AIM:** To explore the relations of plasma TNF- $\alpha$  with insulin resistance and insulin excretion in the disorder of glucose metabolism in the terminal patients with enteron malignant tumor.

**METHODS:** The levels of the fasting glucose, insulin, lactic acid, postprandial glucose, lactic acid were measured in 40 terminal patients with enteron malignant tumor as well as in 40 normal controls, and the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and HOMA- $\beta$  were calculated.

**RESULTS:** The levels of the plasma TNF- $\alpha$ , the fasting glucose, insulin and lactic acid, and the values of HOMA-IR and HOMA- $\beta$  in the terminal patients with enteron malignant tumor were significantly higher than those in the controls ( $3.27 \pm 0.92$  vs  $1.23 \pm 0.36$ ,  $P < 0.01$ ;  $5.19 \pm 0.75$  vs  $4.05 \pm 0.28$ ,  $P < 0.01$ ;  $14.24 \pm 6.52$  vs  $8.27 \pm 4.84$ ,  $P < 0.01$ ;  $7.11 \pm 0.69$  vs  $3.27 \pm 0.41$ ,  $P < 0.01$ ;  $3.48 \pm 0.85$  vs  $1.55 \pm 0.77$ ,  $P < 0.01$ ;  $181 \pm 39$  vs  $326 \pm 47$ ,  $P < 0.01$ ), but the content of the fasting glucose was in normal range. The level of the plasma TNF- $\alpha$  was positively correlated with the contents of the fasting glucose, insulin and lactic acid and the value of HOMA-IR ( $r = 0.4352$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.3136$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.7893$ ,  $P < 0.01$ ;  $r = 0.6531$ ,  $P < 0.01$ ), but negatively correlated with the value of HOMA- $\beta$  in terminal patients with enteron malignant tumor ( $r = -0.5874$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** The plasm TNF- $\alpha$  plays an important role in the insulin resistance, the hyposecretion of insulin and the disorder of glucose-metabolism in the terminal patients with malignant gastrointestinal tumor.

**Key Words:** Malignant gastrointestinal tumor; TNF- $\alpha$ ; Insulin resistance; Insulin excretion; Glucose-metabolism; Lactic acid

Feng QQ, Wang ZK, Lv XL, Liu YC, Yu W, Tu Y. Relationship between plasma TNF $\alpha$  and Insulin resistance, Insulin excretion in terminal patients with enteron malignant tumor. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(17):2150-2153

## 摘要

**目的:** 证明恶性消化道肿瘤晚期患者血浆肿瘤坏死因子

$\alpha$ (TNF- $\alpha$ )与胰岛素抵抗和胰岛素分泌功能相关性, 阐明恶性消化道肿瘤晚期患者糖代谢障碍机制。

**方法:** 测定40例恶性消化道肿瘤晚期患者和40例正常人员血浆TNF- $\alpha$ 和空腹血糖、胰岛素、乳酸含量, 并计算稳态模式评估法胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)和胰岛素分泌指数(HOMA- $\beta$ )。

**结果:** 恶性消化道肿瘤晚期患者血浆TNF- $\alpha$ 、空腹血糖、空腹胰岛素、空腹乳酸、HOMA-IR和HOMA- $\beta$ 均明显高于正常对照组( $3.27 \pm 0.92$  vs  $1.23 \pm 0.36$ ,  $P < 0.01$ ;  $5.19 \pm 0.75$  vs  $4.05 \pm 0.28$ ,  $P < 0.01$ ;  $14.24 \pm 6.52$  vs  $8.27 \pm 4.84$ ,  $P < 0.01$ ;  $7.11 \pm 0.69$  vs  $3.27 \pm 0.41$ ,  $P < 0.01$ ;  $3.48 \pm 0.85$  vs  $1.55 \pm 0.77$ ,  $P < 0.01$ ;  $181 \pm 39$  vs  $326 \pm 47$ ,  $P < 0.01$ ), 但空腹血糖仍在正常参考范围内。恶性消化道肿瘤晚期患者血TNF- $\alpha$ 与空腹血糖、空腹胰岛素、空腹乳酸明显正相关( $r = 0.4352$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.3136$ ,  $P < 0.05$ ;  $r = 0.7893$ ,  $P < 0.01$ ), 与HOMA-IR明显正相关( $r = 0.6531$ ,  $P < 0.01$ ), 与HOMA- $\beta$ 明显负相关( $r = -0.5874$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:** 恶性消化道肿瘤晚期患者血浆TNF $\alpha$ 在胰岛素抵抗和胰岛素分泌功能下降及糖代谢障碍中发挥重要作用。

**关键词:** 消化道肿瘤; TNF- $\alpha$ ; 胰岛素抵抗; 胰岛素分泌; 糖代谢; 乳酸

冯青青, 王占科, 吕小林, 刘亚诚, 余文, 涂云. 恶性消化道肿瘤晚期患者血TNF- $\alpha$ 与胰岛素抵抗和胰岛素分泌的功能关系. *世界华人消化杂志* 2005;13(17):2150-2153

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2150.asp>

## 0 引言

恶性消化道肿瘤晚期患者一方面存在对外来葡萄糖消化吸收不足, 另一方面又存在糖代谢障碍, 不利于患者营养支持和康复。恶性肿瘤患者糖代谢障碍涉及胰岛素抵抗和胰岛素分泌功能下降, 但导致恶性肿瘤患者胰岛素抵抗和胰岛素分泌功能下降的详细机制尚未完全阐明。已经证实, 肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )在2型糖尿病及创伤糖代谢障碍中发挥重要作用<sup>[1,2]</sup>。但恶性肿瘤患者血浆TNF- $\alpha$ 与胰岛素抵抗和胰岛素分泌功能及糖代谢障碍之间的关系, 国内外报道不多。我们以恶性消化道肿瘤晚期患者为研究对象, 观察血浆TNF- $\alpha$ 与糖代谢相关指标及胰岛素抵抗和胰岛素分泌指数的相关性, 旨在探讨TNF- $\alpha$ 在恶性消化道肿瘤晚期患者糖代谢障碍中的作用, 为临床改善恶性消化道肿瘤晚期患者糖代谢障碍及其危害提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 我院2001-2004年收治的消化道恶性肿瘤晚期患者40例, 男27例, 女13例, 平均年龄61岁, 其中食管癌14例、胃癌12例, 结肠癌14例。所有患者临床和病理

诊断明确,并伴有不同程度转移,无手术指征,无糖尿病史.正常对照组为南昌某干部修养所老干部体检正常人员40例,男26例,女14例,平均年龄63岁,无糖尿病史.正常对照组和消化道恶性肿瘤晚期组年龄、男女比例等指标均无显著性差异( $P>0.05$ ).中国人群空腹血糖正常参考范围为3.5-6.1 mmol/L,所有人员空腹血糖均高于3.5 mmol/L.40例恶性消化道肿瘤晚期患者中,除3例空腹血糖高于6.1 mmol/L外,其他均在正常参考范围内.

**1.2 方法** 血浆TNF- $\alpha$ 测定采用酶联免疫吸附试验标准曲线比色法(深圳晶美公司);血糖采用葡萄糖氧化酶动力学测定(中生公司);胰岛素采用放射免疫法测定(3V公司);乳酸采用乳酸氧化酶终点比色法测定(英国郎道公司).HOMA-IR=空腹胰岛素 $\times$ 空腹血糖/22.5, HOMA- $\beta$ =空腹胰岛素 $\times$ 20/(空腹血糖-3.5)<sup>[3]</sup>.各组人员抽血前情绪稳定,无剧烈运动.

**统计学处理** 各组数据均以mean $\pm$ SD表示,先对数据进行正态分布性检验,HOMA-IR和HOMA- $\beta$ 不呈正态分布,对其进行自然对数处理呈正态分布后,通过SPSS 11.0统计软件,行单因素方差分析( $t$ )检验. $P<0.05$ 为有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 恶性消化道肿瘤晚期患者糖代谢相关指标变化** 恶性消化道肿瘤晚期患者血浆TNF- $\alpha$ 、空腹胰岛素、空腹血糖、空腹乳酸均明显高于正常对照组( $P<0.01$ ) (表1).

**2.2 恶性消化道肿瘤晚期患者胰岛素抵抗和胰岛素分泌功能变化** 恶性消化道肿瘤晚期患者胰岛素抵抗指数明显高于正常对照组( $P<0.01$ ),胰岛素分泌指数明显低于正常对照组( $P<0.01$ ) (表2).

表1 恶性消化道肿瘤晚期患者血浆TNF- $\alpha$ 、空腹胰岛素、空腹血糖和空腹乳酸变化 (mean $\pm$ SD)

| 组别    | <i>n</i> | TNF- $\alpha$<br>( $\mu$ g/L) | 空腹胰岛素<br>(mIU/L)              | 空腹血糖<br>(mmol/L)             | 空腹乳酸<br>(mmol/L)             |
|-------|----------|-------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| 正常对照组 | 40       | 1.23 $\pm$ 0.36               | 8.27 $\pm$ 4.84               | 4.05 $\pm$ 0.28              | 3.27 $\pm$ 0.41              |
| 恶性肿瘤组 | 40       | 3.27 $\pm$ 0.92 <sup>b</sup>  | 14.24 $\pm$ 6.52 <sup>b</sup> | 5.19 $\pm$ 0.75 <sup>b</sup> | 7.11 $\pm$ 0.69 <sup>b</sup> |

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 正常对照组.

表2 恶性消化道肿瘤患者 HOMA-IR和HOMA- $\beta$ 变化 (mean $\pm$ SD)

| 组别    | <i>n</i> | HOMA-IR                      | HOMA- $\beta$             |
|-------|----------|------------------------------|---------------------------|
| 正常对照组 | 40       | 1.55 $\pm$ 0.77              | 326 $\pm$ 47              |
| 恶性肿瘤组 | 40       | 3.48 $\pm$ 0.85 <sup>b</sup> | 181 $\pm$ 39 <sup>b</sup> |

<sup>b</sup> $P<0.01$  vs 正常对照组.

**2.3 恶性消化道肿瘤晚期患者TNF- $\alpha$ 与胰岛素抵抗和胰岛素分泌相关性** 恶性消化道肿瘤晚期患者血TNF- $\alpha$ 与空

腹血糖、空腹胰岛素和空腹乳酸明显正相关( $P<0.05$ ),与胰岛素抵抗指数明显正相关( $P<0.01$ ),与胰岛素分泌指数明显负相关( $P<0.01$ ) (表3).

表3 恶性消化道肿瘤晚期患者血TNF- $\alpha$ 与胰岛素抵抗指数和胰岛素分泌指数相关系数分析 ( $n=40$ )

| 统计值      | 空腹血糖   | 空腹胰岛素  | 空腹乳酸   | HOMA-IR | HOMA- $\beta$ |
|----------|--------|--------|--------|---------|---------------|
| <i>r</i> | 0.4352 | 0.3136 | 0.7893 | 0.6531  | -0.5874       |
| <i>P</i> | <0.05  | <0.05  | <0.01  | <0.01   | <0.01         |

## 3 讨论

糖的有效利用障碍指机体葡萄糖生成CO<sub>2</sub>和水以及大量ATP的功能障碍,主要表现为高血糖反应和糖酵解增强造成的高乳酸血症.肿瘤组织存在糖有效利用障碍是肿瘤患者整体糖代谢障碍组成部分<sup>[4]</sup>.肿瘤患者尽管血糖不一定高于正常参考范围,但存在胰岛素抵抗和外来葡萄糖的有效利用障碍<sup>[5,6]</sup>,我们研究发现,尽管恶性消化道肿瘤晚期患者空腹血糖尽管正常,但空腹乳酸明显升高.由于血糖变化受多种因素影响,乳酸升高可能是恶性肿瘤患者糖代谢障碍的主要表现.高乳酸血症导致恶性肿瘤晚期患者酸中毒和电解质紊乱,应引起临床高度重视.

胰岛素抵抗指单位胰岛素在体内促进葡萄糖有效利用的功能下降.胰岛素分泌功能下降指机体胰岛素相对血糖的分泌不足胰岛素代偿分泌增多能够补偿胰岛素抵抗的后果,因此,胰岛素抵抗合并胰岛素相对血糖分泌不足,是导致糖代谢障碍的重要原因<sup>[7]</sup>.我们发现,恶性消化道肿瘤晚期患者存在胰岛素抵抗指数增加和胰岛素分泌指数下降,提示胰岛素抵抗和胰岛素分泌不足是恶性肿瘤晚期患者糖代谢障碍的重要原因.胰岛素是促进葡萄糖有氧氧化的主要激素,有效降低胰岛素抵抗程度和增强胰岛素代偿分泌功能可能是防治恶性肿瘤患者高乳酸血症及其危害的有效措施.恶性肿瘤晚期患者胰岛素分泌指数下降,但空腹血糖正常,这似乎难以理解.恶性消化道肿瘤晚期患者空腹血糖正常,可能与空腹血糖正常参考范围较大以及消化道糖营养吸收功能障碍有关.

胰岛素分泌指数下降可能与胰岛 $\beta$ 细胞凋亡及胰岛素抵抗进行性加重有关.我们的结果证实,恶性消化道肿瘤晚期患者血浆TNF- $\alpha$ 明显升高,并与胰岛素抵抗程度明显正相关,与胰岛素分泌指数下降明显负相关,与糖代谢障碍指标明显正相关,提示血浆TNF- $\alpha$ 升高通过诱导胰岛素抵抗和胰岛 $\beta$ 细胞功能下降,在恶性肿瘤患者糖代谢障碍中发挥重要作用.基础研究证实,血浆TNF- $\alpha$ 能够抑制胰岛素受体信号传导和胰岛 $\beta$ 细胞相对血糖分泌胰岛素功能障碍<sup>[8]</sup>.恶性肿瘤患者血浆TNF- $\alpha$ 主要来源于机体单核巨噬细胞和肿瘤细胞,恶性肿瘤患者单核巨噬细胞和肿瘤细胞分泌的TNF- $\alpha$ 可作用于肿瘤

细胞及其他正常组织细胞,导致恶性肿瘤患者糖代谢障碍.恶性肿瘤细胞分泌TNF- $\alpha$ 及其调控的制,有待进一步研究.感染是单核巨噬细胞过度表达TNF- $\alpha$ 的主要诱导剂,有效避免恶性肿瘤患者感染,降低血浆TNF- $\alpha$ 水平,可能对改善恶性肿瘤患者糖代谢障碍具有重要意义.TNF- $\alpha$ 作为抗肿瘤的有效药物,其在糖代谢障碍中的作用,应引起临床高度重视.

#### 4 参考文献

- 1 韩萍,何冰,崔力,张金苹,张咏言. C反应蛋白和白细胞介素6以及肿瘤坏死因子 $\alpha$ 对2型糖尿病和代谢综合征发生的影响. 中国糖尿病杂志 2003;11:57-58
- 2 王占科,许霖水. 严重烫伤小鼠血浆TNF- $\alpha$ 与胰岛素抵抗相关性研究. 中华外科杂志 1998;36:260
- 3 Ikeda Y, Suehiro T, Nakamura T, Kumon Y, Hashimoto K. Clinical significance of the insulin resistance index as assessed by homeostasis model assessment. *Endocr J* 2001;48:81-86
- 4 黄勇奇,吴耀生. 己糖激酶- II 与肿瘤的糖代谢. 生命的化学 2004;24:342-344
- 5 Trevisan M, Liu J, Muti P, Misciagna G, Menotti A, Fucci F. Markers of insulin resistance and colorectal cancer mortality. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2001;10:937-941
- 6 杜炜,尘爱云,代进富. 肝癌的糖代谢、胰岛素和C肽变化的研究. 肿瘤防治研究 2000;27:199-200
- 7 张素华,任伟,李晨钟,余路,兰帆,汪志红,邱鸿鑫. 2型糖尿病家系胰岛素分泌功能的研究. 中华内分泌代谢杂志 1999;15:339-341
- 8 Yazdani-Biuki B, Stelzl H, Brezinschek HP, Hermann J, Mueller T, Kripl P, Graninger W, Wascher TC. Improvement of insulin sensitivity in insulin resistant subjects during prolonged treatment with the anti-TNF-alpha antibody infliximab. *Eur J Clin Invest* 2004;34:641-642

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

• 临床经验 •

## 肠道动静脉畸形的诊断与治疗8例

柴新群, 邓飞涛, 蒋春舫, 冯贤松

柴新群, 邓飞涛, 蒋春舫, 冯贤松, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科 湖北省武汉市 430022

通讯作者: 柴新群, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科. xinqunc@yahoo.com

电话: 027-85726399 传真: 027-85726399

收稿日期: 2005-07-19 接受日期: 2005-07-28

### Diagnosis and treatment of arteriovenous malformation of gastrointestinal tract: an analysis of 8 cases

Xin-Qun Chai, Fei-Tao Deng, Chun-Fang Jiang, Xian-Song Feng

Xin-Qun Chai, Fei-Tao Deng, Chun-Fang Jiang, Xian-Song Feng, Department of General Surgery, the Affiliated Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Dr. Xin-Qun Chai, Department of General Surgery, the Affiliated Union Hospital of Tongji Medical College,

Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. xinqunc@yahoo.com

Received: 2005-07-19 Accepted: 2005-07-28

### Abstract

**AIM:** To summarize the clinical diagnosis and treatment of gastrointestinal hemorrhage induced by arteriovenous malformation of the gastrointestinal tract.

**METHODS:** From December 1999 to January 2005, 8 patients were diagnosed with arteriovenous malformation of the gastrointestinal tract in our hospital, and their clinical data were retrospectively analyzed.

**RESULTS:** Of the 8 patients, enteroscopy was totally performed 12 times on 5 patients due to the hemorrhage of unknown reasons, but no lesions were found. Arteriovenous malformations were confirmed in 3 cases