

Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位反义核酸逆转胃癌细胞多药耐药

韩全利, 张希东, 丁杰, 金晓维, 杨玲, 王新, 张学庸, 樊代明

■背景资料

肿瘤细胞的多药耐药(MDR)严重影响了肿瘤化疗的效果,是导致化疗失败的主要原因。因此,如何逆转MDR已是肿瘤研究的热点。应用反义RNA, RNAi等技术在基因水平阻断MDR相关分子的表达,从而逆转肿瘤细胞的MDR,是当前逆转肿瘤MDR的一个方向。

韩全利, 张希东, 金晓维, 杨玲, 空军总医院干部病房三区 北京市 100036

丁杰, 王新, 张学庸, 樊代明, 第四军医大学西京医院全军消化病研究所 陕西省西安市 710032

韩全利, 2003年第四军医大学博士毕业, 主要从事胃癌多药耐药的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30371623

通讯作者: 丁杰, 710032, 陕西省西安市长乐西路15号, 第四军医大学西京医院全军消化病研究所。 hanquanli@21cn.com

电话: 029-84775230 传真: 029-82539041

收稿日期: 2006-07-04 接受日期: 2006-08-10

Reversal of multidrug resistance in gastric cancer cell line by Ss-A/Ro ribonucleoprotein 60-ku subunit antisense nucleic acid

Quan-Li Han, Xi-Dong Zhang, Jie Ding, Xiao-Wei Jin, Ling Yang, Xin Wang, Xue-Yong Zhang, Dai-Ming Fan

Quan-Li Han, Xi-Dong Zhang, Xiao-Wei Jin, Ling Yang, Department of Geratology, General Hospital of Chinese PLA Air Force, Beijing 100036, China

Jie Ding, Xin Wang, Xue-Yong Zhang, Dai-Ming Fan, Department of Gastroenterology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30371623

Correspondence to: Dr. Jie Ding, Department of Gastroenterology, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. hanquanli@21cn.com

Received: 2006-07-04 Accepted: 2006-08-10

Abstract

AIM: To investigate the possible function of Ro 60 antisense nucleic acid in multidrug resistant cell line of gastric cancer.

METHODS: Ro 60 antisense eukaryotic expression vector was constructed using DNA recombination technique, then transfected into SGC7901-VCR by LipofectamineTM2000. Drug sensitivity assay was performed using MTT assay, and IC₅₀ values of gastric cancer cells to chemotherapy drugs were calculated. The intracellular accumulation of adriamycin in gastric cancer cells was measured using fluorescence-

activated cell sorting.

RESULTS: The expression level of Ro 60 in SGC7901-VCR cells was decreased after transfection with antisense genes. *In vitro* drug sensitivity assay show that SGC7901-VCR cells transfected with Ro 60 antisense genes showed significantly increased sensitivity to vincristine (IC₅₀: 7.66 ± 0.45 mg/L vs 19.56 ± 0.38, 17.48 ± 0.85 mg/L, *P* < 0.01), mitomycin (IC₅₀: 0.84 ± 0.03 mg/L vs 1.62 ± 0.06, 1.80 ± 0.03 mg/L, *P* < 0.01), cisplatin (IC₅₀: 0.51 ± 0.03 mg/L vs 0.87 ± 0.03, 0.88 ± 0.03 mg/L, *P* < 0.01) and adriamycin (IC₅₀: 0.22 ± 0.01 mg/L vs 0.52 ± 0.02, 0.43 ± 0.03 mg/L, *P* < 0.01), as compared with SGC7901-VCR and SGC7901-VCR-pcDNA3.1 cells. As showed by flow cytometry, the intracellular accumulation of adriamycin in the cells transfected with Ro 60 antisense gene was markedly increased in comparison with that in SGC7901-VCR or SGC7901-VCR-pcDNA3.1 cells (51.94 ± 1.26 mg/L vs 36.27 ± 0.98, 37.01 ± 0.91 mg/L, *P* < 0.01).

CONCLUSION: After transfected into multidrug resistant cell line of gastric cancer, Ro 60 antisense nucleic acid can inhibit the multidrug resistant phenotype of gastric cancer.

Key Words: Gastric cancer; Ss-A/Ro 60-ku subunit; Multidrug resistance; Antisense nucleic acid

Han QL, Zhang XD, Ding J, Jin XW, Yang L, Wang X, Zhang XY, Fan DM. Reversal of multidrug resistance in gastric cancer cell line by Ss-A/Ro ribonucleoprotein 60 ku subunit antisense nucleic acid. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(27):2668-2672

摘要

目的: 对Ro 60反义核酸在逆转胃癌细胞多药耐药中作用进行研究。

方法: 克隆Ro 60编码基因, 构建Ro 60编码基因的反义真核表达载体, 将其转入SGC7901细胞, 应用半定量RT-PCR技术, 对基因转染细胞进行鉴定, 通过MTT法进行体外药物敏感性分析, 借助流式细胞仪检测细胞内蓄积的阿霉素。

结果: 成功构建了Ro 60反义真核表达载体, 应用脂质体介导法将其转入SGC7901-VCR, Ro 60反义真核表达载体转染SGC7901-VCR细胞后, Ro 60的表达量明显下降, 体外药物敏感性实验提示其对长春新碱、丝裂霉素、顺铂、阿霉素的敏感性增加, 转染反义表达载体的SGC7901-VCR细胞与未转染和转染空载体的细胞相比, IC_{50} 值(mg/L)有显著的下降(7.66 ± 0.45 vs 19.56 ± 0.38 , 17.48 ± 0.85 ; 0.84 ± 0.03 vs 1.62 ± 0.06 , 1.80 ± 0.03 ; 0.51 ± 0.03 vs 0.87 ± 0.03 , 0.88 ± 0.03 ; 0.22 ± 0.01 vs 0.52 ± 0.02 , 0.43 ± 0.03 , 均 $P < 0.01$), 细胞内阿霉素蓄积有显著的增加(51.94 ± 1.26 mg/L vs 36.27 ± 0.98 , 37.01 ± 0.91 mg/L, $P < 0.01$).

结论: Ro 60反义真核表达载体转染SGC7901后能够抑制胃癌细胞的多药耐药表型.

关键词: 胃癌; Ss-A/Ro 60 ku亚单位; 多药耐药; 反义核酸

韩全利, 张希东, 丁杰, 金晓维, 杨玲, 王新, 张学庸, 樊代明. Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位反义核酸逆转胃癌细胞多药耐药. 世界华人消化杂志 2006;14(27):2668-2672
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/2668.asp>

0 引言

肿瘤细胞的多药耐药(multidrug resistance, MDR)^[1-4]是导致肿瘤化疗失败的主要原因, 逆转肿瘤细胞的耐药性是提高肿瘤化疗疗效的关键. Ss-A/Ro ribonucleoprotein 60 ku subunit(Ro 60)是在耐长春新碱的胃癌细胞系SGC7901/VCR与SGC7901的差示比较中发现在SGC7901/VCR中高表达的基因^[5], 初步研究表明, Ro 60对胃癌的MDR起到促进的作用^[6-7]. 为了深入探讨Ro 60与MDR的关系, 同时也探讨在基因水平逆转MDR的方法, 我们以SGC7901/VCR耐药细胞株为靶细胞模型, 设计针对Ro 60 mRNA的反义核酸, 进行MDR逆转实验.

1 材料和方法

1.1 材料 人胃癌细胞耐药亚系SGC7901/VCR由第四军医大学消化病研究所保存; RPMI 1640及胰蛋白酶购自Hyclone公司; 胎牛血清购自浙江金华公司; T4 DNA连接酶、IPTG、X-gal及dNTP购自上海生工公司; DNA胶回收试剂盒购自华舜公司; Taq酶及各种限制性DNA内切酶购自TaKaRa公司; 质粒DNA提取试剂盒购自Omega公司; Lipofectamine™2000购自Gibco公司.

1.2 方法

1.2.1 Ss-A/Ro 60的克隆 利用RNA提取试剂盒提取SGC7901/VCR的总RNA, 逆转录制备cDNA, 以RT-PCR克隆Ro 60编码基因, 上游引物: 5' ATA ACG AGG GAG AGG AGA AAG G 3'; 下游引物: 5'GTG TCC ACC TGC ACT CCA TGT C 3', 按Taq酶说明书中反应体系行PCR反应, PCR产物行10 g/L琼脂糖凝胶电泳分离, 并以DNA胶回收试剂盒回收纯化该片段.

1.2.2 Ro 60反义表达载体的构建及转染 本研究选取了Ro 60 cDNA中1011位-1733位, 长度为723 bp的片段作为反义RNA的靶序列, 应用EcoRV, BamH I 双酶切技术克隆此片段, 然后将此片段克隆重组至真核表达载体pcDNA3.1/V5-His中, 使该片段反向连接在pcDNA3.1/V5-His载体CMV启动子的下游. 按照脂质体说明书的操作步骤, 将Ro 60反义表达载体和pcDNA3.1/V5-His空载体分别转入对数生长中期的耐药胃癌细胞SGC7901/VCR中, 并用300 mg/L G418对转染细胞进行筛选.

1.2.3 转染细胞Ro 60基因表达的检测 应用半定量RT-PCR技术, 检测Ro 60在反义基因转染细胞及对照细胞中的表达.

1.2.4 体外药物敏感性实验 收获对数生长中期的基因转染细胞及其对照细胞, 按照每孔 10^3 接种入96孔板, 置于细胞培养箱中按常规培养; 将阿霉素(ADM)、顺铂(CDDP)、丝裂霉素(MMC)、长春新碱(VCR)按不同的浓度加入细胞中, 每个浓度设4个复孔, 继续培养72 h后, 按常规方法加入MTT及DMSO, 于490 nm处测A值, 计算细胞的存活率: 细胞存活率 = (实验组A值-空白对照组A值)/(阴性对照组A值-空白对照A值) × 100%; 同时计算细胞对每种药物的 IC_{50} 值.

1.2.5 细胞内ADM蓄积的检测 收获对数生长中期的细胞, 按照每孔 8×10^3 个细胞接种入6孔板中; 培养过夜后, 每孔加入ADM至终浓度为5 mg/L, 继续培养1 h, 收获细胞, 以PBS洗涤细胞后, 上流式细胞仪检测细胞内的ADM荧光强度^[8].

统计学处理 应用SPSS 11.0统计软件包, 对各组均数进行t检验.

2 结果

2.1 Ro 60编码基因的克隆及Ro 60反义表达载体的构建 通过对SGC7901/VCR细胞的cDNA进行PCR扩增(图1), PCR产物经与pUCm-T载体连接、转化感受态细菌, 获得了有阳性cDNA片段

■应用要点

本研究的结果表明, Ro 60可以作为逆转胃癌细胞耐药的候选分子, 具有一定的临床应用前景.

■名词解释

反义RNA技术: 根据碱基互补配对规律设计出能与靶基因特定区域结合的RNA或DNA片段, 从而阻抑从DNA到mRNA的转录或从mRNA到蛋白质的翻译过程。

表 1 Ro 60反义表达载体转染细胞及对照细胞对化疗药物的IC₅₀及细胞蓄积的ADM的平均荧光强度(mean ± SD, n = 4, mg/L)

分组	VCR	MMC	CCDP	ADM	荧光强度
SGC7901/VCR	19.56 ± 0.38	1.62 ± 0.06	0.87 ± 0.03	0.52 ± 0.02	36.27 ± 0.98
VCR-pc	17.48 ± 0.85	1.80 ± 0.03	0.88 ± 0.03	0.43 ± 0.03	37.01 ± 0.91
VCR-anti	7.66 ± 0.45 ^b	0.84 ± 0.03 ^b	0.51 ± 0.03 ^b	0.22 ± 0.01 ^b	51.94 ± 1.26 ^b

^bP<0.01 vs SGC7901/VCR, VCR-pc细胞。

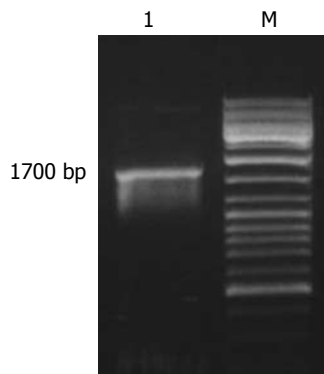


图 1 PCR产物琼脂糖凝胶电泳结果. 1: PCR产物; M: 100 bp DNA标记物。

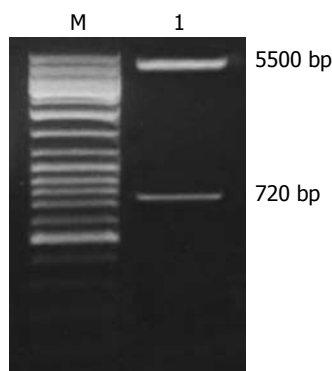


图 2 Ro 60反义表达载体的酶切鉴定结果. M: 100 bp DNA标记物; 1: pcDNA3.1-Ro 60经EcoRV, BamHI双酶切。

的重组T载体; 应用EcoRV, BamHI双酶切技术克隆Ro 60 cDNA中1011位-1733位的片段, 然后将此片段克隆重组至真核表达载体pcDNA3.1/V5-His中, 使该片段反向连接在pcDNA3.1/V5-His载体CMV启动子的下游, 并通过限制酶切技术对构建的反义表达载体进行了鉴定(图2)。

2.2 Ro 60反义表达载体的转染 将构建成功的Ro 60的反义表达载体和pcDNA3.1/V5-His空载体通过脂质体介导法分别转导入对数生长中期的耐药胃癌细胞SGC7901/VCR, 经过3 mo的G418筛选, 获得了稳定转染的抗性细胞, 分别将其命名为VCR-anti, VCR-pc。

2.3 转染细胞Ro 60表达的检测 应用半定量RT-PCR技术, 检测了Ro 60在反义基因转染细胞及

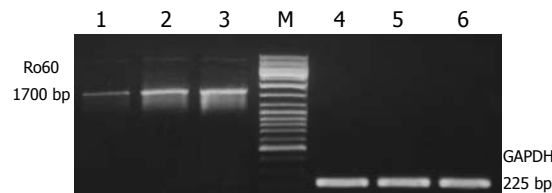


图 3 转染细胞Ro 60表达的半定量RT-PCR检测结果. 1: VCR-anti(Ro 60); 2: VCR-pc(Ro 60); 3: SGC7901/VCR(Ro 60); M: 100 bp DNA标记物; 4: VCR-anti(GAPDH); 5: VCR-pc(GAPDH); 6: SGC7901/VCR(GAPDH)。

对照细胞中的表达情况, 结果表明, 与SGC7901/VCR细胞和转染有空载体的SGC7901/VCR细胞相比, 转染有反义基因的SGC7901/VCR细胞中的Ro 60的表达量明显降低(图3)。

2.4 体外药物敏感性实验 下调Ro 60在耐药细胞SGC7901/VCR的表达, 可增加耐药细胞对VCR, MMC, CDDP和ADM的敏感性, 与SGC7901/VCR和VCR-pc细胞相比, P<0.01(表1)。

2.5 细胞内ADM蓄积的检测 流式细胞仪检测结果显示, 在反义转染细胞中, 与SGC7901/VCR细胞和SGC7901-pcDNA3.1细胞相比, SGC7901-Ro细胞内蓄积的ADM明显减低, 与SGC7901/VCR和SGC7901-pc DNA3.1细胞相比, P<0.01(表1)。

3 讨论

MDR是指肿瘤细胞对一种化疗药物产生耐药的同时, 对其他结构和作用机制不同的化疗药物也产生交叉耐药的现象, 是导致化疗失败的主要原因。因此, 如何逆转MDR已是肿瘤研究的热点。近年来, 反义RNA技术逆转MDR已有较广泛和深入的实验研究^[9-11]。其基本原理是, 根据碱基互补配对规律设计出能与靶基因特定区域结合的RNA或DNA片段, 从而阻抑从DNA到mRNA的转录或从mRNA到蛋白质的翻译过程^[12-13]。以前的研究发现, 在胃癌细胞的MDR中, 除了有P-gp, MRP, GST等经典的耐药分子参与外^[14-18], 凋亡基因的改变、蛋白激酶C以及某些离子通

道也参与了胃癌细胞MDR性的形成^[19-25]。为了深入研究胃癌细胞MDR的发生机制, 我们应用改良差示PCR技术比较了胃癌长春新碱耐药细胞SGC7901/VCR与药敏细胞SGC7901基因表达的差异, 结果表明, 与药敏细胞SGC7901相比, Ro 60在耐药细胞SGC7901/VCR中的表达明显上调。人Ro 60基因定位于1号染色体1q31, cDNA全长为1890 bp, 编码525个氨基酸残基, 分子量为60 kDa^[26-27]。Ro 60是多种自身免疫性疾病^[28], 如系统性红斑狼疮(SLE)、干燥综合症等疾病的自身抗原。Ro 60是一种RNA结合蛋白, 目前Ro 60的功能一直不是很清楚^[29-30], 初步研究表明, Ro 60对胃癌的MDR起到促进的作用。因此, 我们以SGC7901/VCR耐药细胞株为靶细胞模型, 设计针对Ro 60 mRNA的反义核酸, 进行MDR逆转实验, 探讨在基因水平逆转MDR的方法。

通过基因克隆、基因重组和转染, 我们获得了Ro 60反义基因转染的细胞, 应用半定量RT-PCR技术, 检测了Ro 60在反义基因转染细胞及对照细胞中的表达, 结果表明, SGC7901/VCR细胞转染Ro 60反义表达载体后其Ro 60表达下降, 表明我们成功构建了Ro 60表达下调的SGC7901/VCR细胞。体外药敏实验结果表明, 下调Ro 60在耐药细胞SGC7901/VCR的表达后, 细胞对VCR, MMC, CDDP及ADM的敏感性明显增加, 表明Ro 60在SGC7901/VCR细胞表达下调后SGC7901/VCR对多种化疗药物的耐药性减低。流式细胞仪检测结果表明, Ro 60反义基因转染的细胞后, 其细胞内蓄积的ADM明显增加, 这提示Ro 60反义核酸可以提高细胞内的药物蓄积, 使ADM累积增加, 细胞对ADM敏感性升高, 可能通过恢复MDR细胞的药物蓄积能力而恢复化疗药物对肿瘤的杀伤能力, 不同程度地使已产生耐药肿瘤细胞的MDR表型发生逆转。

本研究的结果进一步支持了Ro 60基因促进胃癌细胞的MDR表型这一观点, 同时也表明了反义核酸是一种对逆转肿瘤细胞MDR有效的特异性方法, Ro 60可以作为逆转胃癌细胞耐药的候选分子, 具有一定的临床应用前景。

4 参考文献

- 1 Roepe PD. The role of the MDR protein in altered drug translocation across tumor cell membranes. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1241: 385-405
- 2 Deng L, Tatebe S, Lin-Lee YC, Ishikawa T, Kuo MT. MDR and MRP gene families as cellular determinant factors for resistance to clinical

- 3 anticancer agents. *Cancer Treat Res* 2002; 112: 49-66
- 4 Luqmani YA. Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy. *Med Princ Pract* 2005; 14 Suppl 1: 35-48
- 5 Sawicka M, Kalinowska M, Skierski J, Lewandowski W. A review of selected anti-tumour therapeutic agents and reasons for multidrug resistance occurrence. *J Pharm Pharmacol* 2004; 56: 1067-1081
- 6 Wang X, Lan M, Shi YQ, Lu J, Zhong YX, Wu HP, Zai HH, Ding J, Wu KC, Pan BR, Jin JP, Fan DM. Differential display of vincristine-resistance-related genes in gastric cancer SGC7901 cell. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 54-59
- 7 韩全利, 丁杰, 郭长存, 王新, 乔泰东, 张学庸, 樊代明. Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位及其变异体在耐药胃癌细胞中的表达. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2278-2790
- 8 韩全利, 丁杰, 张龙方, 郭长存, 王新, 乔泰东, 张学庸, 樊代明. Ss-A/Ro核蛋白60 ku亚单位在胃癌MDR中的作用. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 256-260
- 9 郑国强, 韩复生, 刘叙仪, 徐光伟. 流式细胞分析在阿霉素耐药性研究中的重要作用. *中华医学检验杂志* 1997; 20: 16-19
- 10 Chan JY, Chu AC, Fung KP. Inhibition of P-glycoprotein expression and reversal of drug resistance of human hepatoma HepG2 cells by multidrug resistance gene (mdr1) antisense RNA. *Life Sci* 2000; 67: 2117-2124
- 11 Haga S, Hinoshita E, Ikezaki K, Fukui M, Scheffer GL, Uchiumi T, Kuwano M. Involvement of the multidrug resistance protein 3 in drug sensitivity and its expression in human glioma. *Jpn J Cancer Res* 2001; 92: 211-219
- 12 Kornmann M, Danenberg KD, Arber N, Beger HG, Danenberg PV, Korc M. Inhibition of cyclin D1 expression in human pancreatic cancer cells is associated with increased chemosensitivity and decreased expression of multiple chemoresistance genes. *Cancer Res* 1999; 59: 3505-3511
- 13 Agrawal S, Zhao Q. Antisense therapeutics. *Curr Opin Chem Biol* 1998; 2: 519-528
- 14 Pierce EA, Liu Q, Igoucheva O, Omarrudin R, Ma H, Diamond SL, Yoon K. Oligonucleotide-directed single-base DNA alterations in mouse embryonic stem cells. *Gene Ther* 2003; 10: 24-33
- 15 Ferte J. Analysis of the tangled relationships between P-glycoprotein-mediated multidrug resistance and the lipid phase of the cell membrane. *Eur J Biochem* 2000; 267: 277-294
- 16 Boumendjel A, Baubichon-Cortay H, Trompier D, Perrotton T, Di Pietro A. Anticancer multidrug resistance mediated by MRP1: recent advances in the discovery of reversal agents. *Med Res Rev* 2005; 25: 453-472
- 17 Mealey KL. Therapeutic implications of the MDR-1 gene. *J Vet Pharmacol Ther* 2004; 27: 257-264
- 18 Mizutani T, Hattori A. New horizon of MDR1 (P-glycoprotein) study. *Drug Metab Rev* 2005; 37: 489-510
- 19 Asakura T, Ohkawa K. Chemotherapeutic agents that induce mitochondrial apoptosis. *Curr Cancer Drug Targets* 2004; 4: 577-590
- 20 Zhao Y, You H, Liu F, An H, Shi Y, Yu Q, Fan D. Differentially expressed gene profiles between multidrug resistant gastric adenocarcinoma cells and their parental cells. *Cancer Lett* 2002; 185: 211-218

- 20 Zhao Y, Xiao B, Chen B, Qiao T, Fan D.

■同行评价

该研究通过克隆编码基因、构建其反义真核表达载体、半定量RT-PCR及基因转染细胞等多项先进的分子生物学技术, 探讨了Ro 60在基因水平逆转肿瘤细胞多药耐药的可行性, 对于揭示Ro 60基因逆转肿瘤细胞耐药性的机制具有重要的理论价值, 同时对提高肿瘤化疗疗效也有一定的临床指导意义。课题设计新颖, 科学性较强, 研究方法先进, 结论客观可信, 具有较高的学术价值。

- Upregulation of drug sensitivity of multidrug-resistant SGC7901/VCR human gastric cancer cells by bax gene transduction. *Chin Med J (Engl)* 2000; 113: 977-980
- 21 韩英, 时永全, 曹云新, 樊代明. 蛋白激酶C的激活剂及抑制剂对P-糖蛋白表达及功能的影响. *中华消化杂志* 2001; 21: 349-352
- 22 Xiao B, Shi YQ, Zhao YQ, You H, Wang ZY, Liu XL, Yin F, Qiao TD, Fan DM. Transduction of Fas gene or Bcl-2 antisense RNA sensitizes cultured drug resistant gastric cancer cells to chemotherapeutic drugs. *World J Gastroenterol* 1998; 4: 421-425
- 23 时永全, 肖冰, 苗继延, 赵燕秋, 尤涵, 樊代明. 构建fas基因真核表达载体逆转胃癌耐药细胞MDR表型. *世界华人消化杂志* 1999; 7: 309-312
- 24 韩英, 时永全, 李玲, 樊代明. 蛋白激酶C同工酶PKC- α 及PKC- β I在胃癌及其耐药细胞中的表达和功能. *中华肿瘤杂志* 2001; 23: 103-106
- 25 韩英, 时永全, 张宏博, 张森利, 王春梅, 樊代明. 肿胀激活状态下蛋白激酶C同工酶亚型在胃癌耐药细胞系的亚细胞分布变化及其意义. *中华医学杂志* 2001; 81: 328-331
- 26 Ben-Chetrit E, Gandy BJ, Tan EM, Sullivan KF. Isolation and characterization of a cDNA clone encoding the 60-kD component of the human SS-A/Ro ribonucleoprotein autoantigen. *J Clin Invest* 1989; 83: 1284-1292
- 27 Chan EK, Tan EM, Ward DC, Matera AG. Human 60-kDa SS-A/Ro ribonucleoprotein autoantigen gene (SSA2) localized to 1q31 by fluorescence in situ hybridization. *Genomics* 1994; 23: 298-300
- 28 von Muhlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Semin Arthritis Rheum* 1995; 24: 323-358
- 29 O'Brien CA, Wolin SL. A possible role for the 60-kD Ro autoantigen in a discard pathway for defective 5S rRNA precursors. *Genes Dev* 1994; 8: 2891-2903
- 30 Shi H, O'Brien CA, Van Horn DJ, Wolin SL. A misfolded form of 5S rRNA is complexed with the Ro and La autoantigens. *RNA* 1996; 2: 769-784

电编 李琪 编辑 张焕兰

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

国际肝胆胰协会中国分会第二届全国学术研讨会 暨第三届全国普通外科主任论坛通知

本刊讯 第二届国际肝胆胰协会中国分会学术会议将于2006-10在武汉举行。

在各方面的大力支持下, 国际肝胆胰协会中国分会第一届学术研讨会已于2004-12在武汉成功举办, 与会代表一千余人, 中国人大副委员长吴阶平院士、国际肝胆胰前主席刘允怡教授、Jim Tooli教授, 国际肝胆胰协会候任主席Büechler教授和欧洲肝胆胰协会主席Broelsch教授等亲自到会。会议受到国内外专家及到会代表的一致赞赏, 并受到国际肝胆胰协会的通报好评, 会议取得巨大成功。

第二届会议将邀请国内外著名专家做专题讲座, 针对国际国内肝胆胰外科进展及近年来的热点、难点问题进行讨论; 并交流诊治经验, 推广新理论、新技术、新方法, 了解国内外肝胆胰疾病诊断、治疗发展趋势; 同时放映手术录像。大会热烈欢迎全国各地肝胆胰领域的内科、外科、影像科各级医师以及科研人员积极投稿和报名参加。

会议同时召开第三届全国普外科主任论坛, 因此也欢迎从事医疗卫生管理的各级医院正、副院长及正、副主任积极投稿和报名参加。

本次会议已列入2006年国家继续医学教育项目, 参会代表均授予国家级继续医学教育学分10分。

来稿要求: 寄全文及500-800字论文摘要, 同时寄论文的软盘一份或发电子邮件。以附件的形式发送至 chenxp@medmail.com.cn, 也可将稿件打印后寄至: 武汉市解放大道1095号, 武汉华中科技大学附属同济医院肝胆胰外科研究所张志伟、黄志勇副教授(收), 邮编: 430030; 联系电话: 027-83662599。