

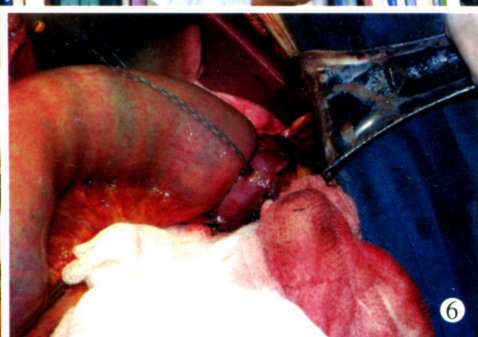
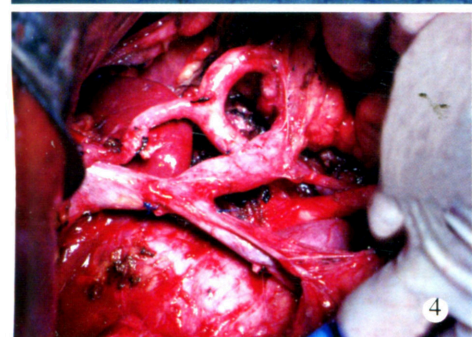
世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003 年 5 月 15 日 第 11 卷 第 5 期

(Volume 11 Number 5)



5/2003

ISSN 1009-3079

名誉总编辑
潘伯荣
总编辑
马连生



World Journal of Gastroenterology® 被 SCI®-E, Research Alert®, Current Contents®/Clinical Medicine, Journal Citation Reports®, Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 1.445. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

目次

2003 年 5 月 15 日 第 11 卷 第 5 期 (总第 109 期)

述 评	497 刮吸解剖法在肝门胆管癌手术切除中的应用 彭淑牖,刘颖斌 499 我国小肠疾病的研究现状 智发朝 502 2003 年度国家自然科学基金医学和生物学项目指南概述 崔慧斐,江学良,马连生
食 管 癌	508 食管上皮癌变过程中环氧化酶-2 表达上调 齐凤英,张林西,韩彩丽,左连富,林培中,郭建文 512 腺病毒介导的 p27kip1 对食管癌裸鼠模型抑制的作用 张卫国,吴清明,童强,于皆平 517 腺病毒介导的 cox-2 反义 RNA 对食管癌细胞株 DNA 和蛋白质合成的影响 李胜保,吴清明,王强,王小虎,谢国建
胃 癌	522 胃癌 SMAD4/DPC4 杂合性丢失的研究 朱亚青,尹浩然,朱正纲,刘炳亚,张奕,陈雪华,于颖彦,林言箴 526 胃癌增生凋亡与调节基因的表达 潘传敬,刘宽宇 531 慢性萎缩性胃炎胃泌素、生长抑素、表皮生长因子、血管活性肠肽的测定及临床意义 郭昱,郭霞,姚希贤
大 肠 癌	535 CD/5-FC 系统对结肠癌细胞的杀伤作用 黎成金,马庆久,赖大年,鲁建国,王小军,王青,潘伯荣,武永忠,李金茂 540 大肠腺癌组织 Survivin 蛋白的表达意义 肖军,邓长生,朱尤庆
幽门螺杆菌	544 胃癌细胞系幽门螺杆菌感染对金属蛋白酶表达的影响 李新华,张桂英,罗非君,徐美华,李乾 547 表达幽门螺杆菌热休克蛋白 60 克隆的构建 白杨,黄文,林焕健,王继德,陈烨,张兆山,周殿元,张亚历 551 幽门螺杆菌感染者胃黏膜中内质网分子伴侣 Grp94 的表达 王孟春,方文刚,顾金歌,李岩 554 幽门螺杆菌 CagA 蛋白与胃癌组织中 Bcl-2、p53 蛋白表达的关系 杜雅菊,赵晶,赵瑞波,李宝杰 558 根除 <i>H. pylori</i> 后应用灭 <i>Hp</i> 煎剂对慢性胃炎病变的影响 王娜,姚希贤,张琳,白文元,冯丽英 562 <i>Hp</i> 对慢性萎缩性胃炎内皮素及一氧化氮水平影响的实验与临床研究 郭昱,郭霞,姚希贤
基 础 研 究	565 大蒜素对大鼠溃疡性结肠炎淋巴细胞凋亡及其调控蛋白的影响 徐细明,于皆平,何小飞,李军华,郑敏,於亮亮 569 泻剂结肠大鼠结肠中的 mu、kappa 阿片受体变化 刘宝华,莫平,张胜本 571 香砂平胃散对小鼠胃排空的影响 王学清,王秀杰,李岩 575 术香冲剂对小鼠胃肠动力的影响 李岩,王学清,张卫卫,王江玥 578 EGF 对小肠缺血再灌注后磷酸化 p44/42 MAPK 表达的影响 李平,邢峰,付小兵,杨银辉,郭宝琛
焦 点 论 坛	583 吻合方法对防止胰肠吻合口漏的重要性 彭淑牖,刘颖斌 584 胰十二指肠切除术的适应证 许斌,刘颖斌,王建伟,曹利平,彭淑牖 587 胰十二指肠切除术的主要并发症及诊断与治疗 邓贵龙,李海军,刘颖斌,牟一平,彭淑牖 589 胰十二指肠切除术后胰漏的发生机制 王建伟,许斌,蔡秀军,李海军,刘颖斌,彭淑牖 591 胰肠吻合方法的演进 白明东,刘颖斌,李海军,彭淑牖 593 彭氏捆绑式胰肠吻合术的临床应用 陈晓鹏,刘颖斌,李海军,许斌,王建伟,李江涛,王新保,吴育连 595 彭氏型捆绑式胰肠吻合术 史留斌,方河清,刘颖斌,李海军,王建伟,许斌 596 捆绑式胰肠吻合术防止胰漏的机制 刘颖斌,彭淑牖
文 献 综 述	598 人工肝生物反应器研究进展 向德栋,王英杰,王宇明 601 肝纤维化治疗的新热点-TIMPs 谢玉梅,聂青和 606 p63 基因研究进展 司少艳,张建中 610 老年期消化系疾病的诊疗特点 宋于刚

文献综述	613 胆道系统运动调节及功能性胆道运动异常的诊治 陈仕珠 619 肠黏膜屏障研究进展 武金宝,王继德,张亚历 624 线粒体 DNA 与消化性肿瘤关系的研究进展 韩琤波,李凡,辛彦 628 热休克蛋白在胃溃疡中的表达及意义 向廷秀,王丕龙 632 内镜技术在消化系疾病诊疗中的应用 韩英 635 幽门螺杆菌的研究进展 徐智民,张万岱,周殿元 640 肠镜检查在早期大肠癌诊断中的重要作用 张亚历,周殿元 643 超声内镜检查在胃肠疾病中的临床应用 郭文 646 老年期消化道出血的鉴别诊断与治疗措施 宋卫生,杨希山 649 老年期消化性溃疡临床用药的合理选择 白岚 651 肥大细胞与功能性胃肠疾病 彭丽华,杨云生 654 肝门胆管癌的超声影像学诊断 王彬,陈路增,赵建勋,孙占祺 656 Budd-Chiari 综合征的分型及诊断 许伟华,朱菊人 658 部分脾栓塞术国内应用现状 朱晓玲
研究快报	663 FAK 在大肠癌中的表达及其临床意义 杨红军,丁彦青 665 大黄对大鼠结肠动力及肠神经系统的影响 董卫东,张胜本,刘宝华,张连阳,黄显凯,高峰 668 胃癌患者血清 TNF- α 的水平及意义 陈剑群,许统俭,安侠,王营,陈玉林
临床经验	670 前列腺素 E ₁ 对急性胰腺炎二十碳烯酸异常代谢调节的临床研究 李庭赞,孙丹莉,孙士其 671 肝硬化腹水并发肝肾综合征及低渗性脑病与限钠治疗关系的研究 刘建军,智红,吴晓英,李楠 673 金属夹联合内镜注射治疗胃肠道出血 王孟春,李立,常桂艳,孙思予,孙素云 675 内镜诊疗实现无痛苦操作的临床评价 游旭东,陈玲玲,郑晓蕾,王鹏,吴永伟,孔晓丽,许元印 677 经皮经肝胆囊引流治疗急性胆囊炎和重症胆管炎的价值 张国梁,朱春兰,任旭 679 进展期胰腺癌 299 例 王成锋,赵平,李文波,宋德余 681 食管、贲门癌染色体异常分析及意义 武珊珊,刘吉福,王明荣 684 空回肠出血 27 例 石力,田伏洲,李旭,周庆贤,赵碧,薛刚 686 食管鳞癌免疫组化彩色图像定量分析 韩永,徐燕杰,李宁,布和,宋晶莹,赵敏
病例报告	662 大肠 3 原癌 1 例 姚红兵,吴爱国,朱卉娟
封面故事	605 浙江大学医学院附属第二医院外科

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)

创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-05-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀	张金哲
黄象谦	张学庸
黄志强	赵东海
黎介寿	周殿元
刘耕陶	社长总编辑 马连生
裘法祖	中文编辑 潘伯荣
汤钊猷	王瑾晖
王宝恩	英文编辑 张建中
危北海	排版 李少华
吴孟超	校对 李天华
吴咸中	

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
E-mail: wcjd@wjgnet.com
出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd@wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话 (010)85381892
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 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)85381892
传真: (010)85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外
检索系统收录
美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志()》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息资源网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目次数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

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.

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 288.00 元	1401004000050

COMMENTARY

Application of scraping and suctioning dissection in surgical remove of cholangiocarcinoma in porta hepatis

Peng SY, Liu YB 497

Current status of intestinal diseases in China

Zhi FC 499

Introduction to application directory of National Natural Science Foundation of China (Medicine and Biology, 2003)

Cui HW, Jiang XL, Ma LS 502

ESOPHAGEAL CANCER

Up-regulation of cyclooxygenase-2 in carcinogenesis of esophageal epithelia

Qi FY, Zhang LX, Han CL, Zuo LF, Lin PZ, Guo JW 508

Inhibitory effect of p27kip1 mediated by adenovirus on model of esophageal carcinoma in nude mice

Zhang WG, Wu QM, Tong Q, Yu JP 512

Effects of adenovirus-mediated human cox-2 antisense RNA on synthesis of DNA and proteins in esophageal carcinoma cell line

Li SB, Wu QM, Wang Q, Wang XH, Xie GJ 517

GASTRIC CANCER

Loss of heterozygosity of SMAD4/DPC4 in gastric carcinoma

Zhu YQ, Yin HR, Zhu ZG, Liu BY, Zhang Y, Chen XH, Yu YY, Lin YZ 522

Proliferation/apoptosis and expression of P53 and Bcl-2 in gastric carcinoma

Pan CJ, Liu KY 526

Changes of gastrointestinal hormones in chronic atrophic gastritis and their clinical significance

Guo Y, Guo X, Yao XX 531

LARGE INTESTINAL CANCER

Killing effect of CD/5-FC system on human colon cancer cell lines SW 480 and LoVo

Li CJ, Ma QJ, Lai DN, Lu JG, Wang XJ, Wang Q, Pan BR, Wu YZ, Li JM 535

Expression of survivin protein in colorectal adenocarcinoma

Xiao J, Deng CS, Zhu YQ 540

H.pylori

Influence of expression of matrix metalloproteinase induced by *H. pylori* infection in gastric cancer cell line

Li XH, Zhang GY, Luo FJ, Xu MH, Li Q 544

Construction of clone expressing adhesin Hsp60 of *Helicobacter pylori*

Bai Y, Huang W, Lin HJ, Wang JD, Chen Y, Zhang ZS, Zhou DY, Zhang YL 547

Expression of glucose-regulation protein 94 in gastric mucosa infected

with *Helicobacter pylori*

Wang MC, Fang WG, Gu JG, Li Y 551

Relationship between expression of Bcl-2 and p53 protein and CagA⁺ *Helicobacter pylori* in gastric cancer

Du YJ, Zhao J, Zhao RB, Li BJ 554

Histologic changes after *H.pylori* eradication with Killing *Hp* decoction for chronic gastritis

Wang N, Yao XX, Zhang L, Bai WY, Feng LY 558

Changes of nitricoxide and endothelin in *Helicobacter pylori* associated chronic atrophic gastritis before and after eradication: an experimental and clinical study

Guo Y, Guo X, Yao XX 562

BASIC RESEARCH

Effects of allitridi on lymphocyte apoptosis and its regulatory gene expression in rat ulcerative colitis

Xu XM, Yu JP, He XF, Li JH, Zheng M, Yu LL 565

Changes of mu and kappa opioid receptors in cathartic colon of rats

Liu BH, Mo P, Zhang SB 569

Effect of Xiangsha Pingweisan on gastric emptying motility in mice

Wang XQ, Wang XJ, Li Y 571

Effect of Zhuxiang powder on gastric and intestinal motility in mice

Li Y, Wang XQ, Zhang WW, Wang JY 575

Effects of EGF on expression of phosphorylated p44/42 MAPK in rat small intestine after ischemia-reperfusion injury

Li P, Xin F, Fu XB, Yang YH, Guo BC 578

FOCUSED FORUM

The significance of pancreaticojejunostomy method on prevention of pancreatic leakage

Peng SY, Liu YB 583

Diagnosis and treatment of principal complications of pancreaticojejunostomy

Deng GL, Li HJ, Liu YB, Mou YP, Peng SY 587

Mechanisms of pancreatic leakage after pancreaticoduodenectomy

Wang JW, Xu bin, Cai XJ, Li HJ, Liu YB, Peng SY 589

The development of pancreaticojejunostomy methods

Bai MD, Peng CH, Liu YB, Peng SY, Li HJ 591

The clinic application of Peng's binding pancreaticojejunostomy

Cheng XP, Wu YL, Liu YB, Peng SY, Li HJ 593

Type Peng's binding pancreaticojejunostomy

Shi LB, Fang HQ, Liu YB, Li HJ, Wang JW, Xu B 595

Mechanisms of binding pancreaticojejunostomy to prevent pancreatic leakage

Liu YB, Peng SY 596

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi \$

World Chinese Journal of Digestology
Monthly \$ \$

Founded on 15th January, 1993

Renamed on 25th January, 1998

Publication date 15th May, 2003

Honorary-Editor-in-Chief

Bo-Rong Pan

President and Editor-in-Chief

Lian-Sheng Ma

ISSN 1009-3079 **CN** 14-1260/R

Edited by Editorial Board of World Chinese Journal of Digestology
P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Published by The WJG Press

77, Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Overseas Distributor China International Book Trading Corporation
P.O.Box 399, Beijing 100044, China **Code No.** M4481

Mail-Order Circulation Section, The WJG Press

P.O.Box 2345, Beijing 100023, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

Email: wcjd @ wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

Copyright © 2003 by The WJG Press

Indexed/

Abstracted by

Chemical Abstracts

EMBASE/

Excerpta Medica

Abstract Journal

食管上皮癌变过程中环氧化酶 - 2 表达上调

齐凤英,张林西,韩彩丽,左连富,林培中,郭建文

齐凤英,张林西,韩彩丽,河北医科大学病理学教研室 河北省石家庄市 050017
左连富,郭建文,河北省肿瘤研究所 河北省石家庄市 050011
林培中,中国医科院肿瘤医院实验病理室 北京市 100021
齐凤英,女,1945-08-22生,河北省昌黎县人,汉族,1974年河北医学院毕业,1991年天津医科大学获硕士学位,教授,博士生导师,主要从事消化道肿瘤病理研究。“九五”国家攻关课题, No.96-906-01-02; 河北省自然科学基金课题, No.301351
项目负责人:齐凤英,050017,河北省石家庄市中山东路 361 号,河北医科大学病理教研室. qifengying1945@yahoo.com.cn
电话:0311-6265724
收稿日期:2002-06-01 接受日期:2002-12-25

Up-regulation of cyclooxygenase-2 in carcinogenesis of esophageal epithelia

Feng-Ying Qi, Lin-Xi Zhang, Cai-Li Han, Lian-Fu Zuo, Pei-Zhong Lin, Jian-Wen Guo

Feng-Ying Qi, Lin-Xi Zhang, Cai-Li Han, Department of Pathology, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050017, Hebei Province, China
Lian-Fu Zuo, Jian-Wen Guo, Cancer Institute of Hebei Province, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China
Pei-Zhong Lin, Department of Experimental Pathology, Cancer Institute, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100021, China
Supported by The National 9th Five-year Plan Special Research Programs, No. 96-906-01-02 and Natural Science Foundation of Hebei Province, No.301351
Correspondence to: Prof. Feng-Ying Qi, Department of Pathology, Hebei Medical University, 361 Zhongshan Donglu, Shijiazhuang 050017, Hebei Province China. qifengying1945@yahoo.com.cn
Received:2002-06-01 Accepted:2002-12-25

Abstract

AIM: To detect the expression of cyclooxygenase-2 gene and cell cycle related genes in the carcinogenesis of esophageal epithelia, so as to provide theoretical clues to the chemoprevention of esophageal carcinoma.

METHODS: The samples of esophageal epithelial cells were collected from the high incidence area of esophageal carcinoma. Cell smear slides were made for the evaluation of cell differentiation. The expression of COX-2, p53, p21/WAF1 and CDK4 were detected by flow cytometry.

RESULTS: The expression of COX-2 gene increased with the progression of epithelial cells from low grade dysplasia (LGD) to high grade dysplasia (HGD) or carcinoma. The fluorescence index (FI) was 1.54 ± 0.27 in the carcinoma and suspected carcinoma groups, and the positive rate of COX-2 was 100 %. The expression of mutant p53 and CDK4 also increased as the epithelial cells progressed toward carcinoma. But the expression of tumor suppressor gene p21/WAF1 was on the opposite, and its expression sharply decreased in the HGD and carcinoma or suspected carcinoma.

CONCLUSION: The expression of COX-2 gene significantly increase in the carcinogenesis of esophageal epithelia, and

it also has the aberrant expression of cell cycle related genes.

Qi FY, Zhang LX, Han CL, Zuo LF, Lin PZ, Guo JW. Up-regulation of cyclooxygenase-2 in carcinogenesis of esophageal epithelia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2003;11(5):508-511

摘要

目的: 探讨环氧化酶-2基因在食管上皮癌变进程中的作用及细胞周期相关基因表达的改变,为环氧化酶-2抑制剂进行食管癌化学预防提供理论依据。

方法: 自食管癌高发区采集食管脱落上皮细胞,对细胞涂片进行病理诊断,应用流式细胞仪对环氧化酶-2、p53、p21/WAF1及CDK4等基因在食管上皮细胞中的表达进行定量检测。

结果: 环氧化酶-2的表达随食管上皮细胞异型性的增高而逐渐增高,在可疑癌及癌细胞中 $FI=1.54 \pm 0.27$, 100 % 阳性表达。突变型p53蛋白及CDK4的表达也随细胞异型性的增高而明显增高,而抑癌基因 p21/WAF1 的表达则相反,其表达在重度增生及可疑癌和癌细胞中明显缺失。

结论: 环氧化酶-2在食管上皮癌变进程中表达升高,并同时伴有细胞周期相关基因表达异常。

齐凤英,张林西,韩彩丽,左连富,林培中,郭建文. 食管上皮癌变过程中环氧化酶-2表达上调. *世界华人消化杂志* 2003;11(5):508-511

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/508.htm>

0 引言

近来研究发现,环氧化酶-2(Cyclooxygenase-2, COX-2)在结肠癌^[1]、胃癌^[2]等中表达显著增高,并可能与癌变有关。食管癌中 COX-2 的表达少见报道。我国食管癌前病变中关于 COX-2 表达的研究还未见报道。COX-2 在食管癌变中的作用机制目前还不清楚。为此,我们应用食管拉网法对我省食管癌高发区高危人群进行普查,获取食管上皮细胞标本,并应用流式细胞术对 COX-2 及细胞周期相关基因的表达进行定量检测,探讨 COX-2 在早期癌变过程中的表达规律及其可能的作用,为 COX-2 抑制剂即非类固醇类抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)用于高危人群进行化学预防奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料 自河北省磁县食管癌高发区现场采集食管上

皮细胞标本 952 例, 其中正常 101 例, 轻度增生 111 例, 重度增生 I 级 569 例, 重度增生 II 级 138 例, 可疑癌 14 例, 癌 19 例. 采用食管拉网法, 将拉网器网球上的脱落上皮细胞部分做细胞涂片, 进行细胞学诊断, 其余洗脱到 20 ml 生理盐水中, 以 260 目筛网过滤, 离心 1 500 转 / min, 5 min, 弃去上清后加入 70 % 冷乙醇固定, 放入 4 ℃ 冰箱中保存, 以备检测. 从中随机抽取 70 份样品进行 COX-2 基因蛋白的检测, 其中正常 5 例, 轻度增生 15 例, 重度增生 46 例, 可疑癌及癌 4 例. 再从中随机抽取 100 例进行 p53 蛋白表达的检测. 其中正常组 10 例, 轻度增生组 24 例, 重度增生组 62 例, 可疑癌及癌 4 例. 另抽取 70 份样品进行 CDK4 和 p21/WAF1 基因蛋白的检测, 其中正常 6 例, 轻度增生 15 例, 重度增生 39 例, 可疑癌及癌 10 例.

1.2 细胞学诊断标准 细胞学涂片经常规巴氏染色, 由二位富有经验的病理医师依据沈琼教授分级诊断标准进行细胞学诊断.

1.3 基因蛋白定量检测的样品制备

1.3.1 试剂 COX-2 为羊抗人多克隆抗体, p53 为小鼠抗人单克隆抗体, CDK4 为小鼠抗人单克隆抗体, p21/WAF1 为小鼠抗人单克隆抗体, 工作液浓度均为 1 : 100, Santa Cruz 公司产品. 第二抗体分别为兔抗羊 FITC-IgG、羊抗鼠 FITC-IgG, 工作液浓度为 1 : 100. Jackson Immunoresearch Laboratories, Inc 公司产品.

1.3.2 基因蛋白免疫荧光标记方法 采用间接免疫荧光标记方法. 去除样品中的 70 % 乙醇, 用 0.01 mol/L PBS 缓冲液洗涤 2 次, 将细胞数调整为 $1 \times 10^6/\text{ml}$, 每份样品加入第一抗体工作液 100 μL . 在 37 ℃ 水浴中温浴 30 min. 然后用 PBS 离心洗涤 2 次, 弃上清, 每份样品加入第二抗体工作液 100 μL , 37 ℃ 水中温浴 30 min, 再用 PBS 离心洗涤 2 次, 弃上清, 以除去未结合的多余荧光抗体. 上机检测前加入 1.0 ml PBS 缓冲液经 400 目筛网过滤, 即可上机检测. 同时设有 PBS 代替一抗和二抗的阴性对照, 以及只加一抗和二抗的阳性对照.

1.4 流式细胞术检测方法 采用美国 B-D 公司生产的 FACS420 型流式细胞仪, 激发光源为 2W 氩离子激光器, 输出功率 300mW, 激发波长为 488 nm, 分别进行单参数检测. 结果输入 HP-300Consort 30 计算机进行处理. 测定前以鸡血红细胞作为标准样品调整仪器的 CV 值在 5 % 以内.

1.5 COX-2、p53、CDK4 及 p21/WAF1 基因蛋白表达的定量分析 以对数方式采集数据, 并以荧光指数 (fluorescence index, FI) 表示他们的相对含量, 公式为: $\text{FI} = (\text{样品基因蛋白荧光强度} - \text{正常样品的平均荧光强度}) / \text{正常样品的平均荧光强度}$. 如果 $\text{FI} > 1.0$ 为阳性表达, $\text{FI} \leq 1.0$ 为阴性表达.

统计学处理 采用 SPSS10.0 统计软件进行统计分析. 各组间均数比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 Scheffe 法. $P < 0.05$ 时差异有显著性.

2 结果

2.1 COX-2 在食管上皮各病变组中的表达 COX-2 在正常上皮细胞有少量阳性表达, 因检测例数较少, 故表现为阳性率较高 (60 %), 但其表达量很低 (1.00 ± 0.09). 随上皮细胞异型性增高, COX-2 表达明显增高 (见图 1). 组间 COX-2 表达的差异具有显著性 ($F=8.146$, $P < 0.01$). 在可疑癌及癌细胞组 COX-2 表达的荧光指数 (FI) 高达 1.54 ± 0.27 , 100 % 阳性表达 (见表 1), 分别与前三组比较差异具有显著性 ($P < 0.05$).

表 1 COX-2 在食管上皮各病变组中的定量表达

细胞学分级	<i>n</i>	FI ($\bar{x} \pm s$)	阳性 <i>n</i> (%)
正常组(1)	5	1.00 ± 0.09	3(60)
轻增组(2)	15	1.09 ± 0.10	12(80)
重增组(3)	46	1.24 ± 0.21	39(84.78)
可疑癌及癌(4)	4	1.54 ± 0.27	4(100)

2.2 p53 蛋白在食管上皮各病变组中的表达 p53 蛋白表达也随食管上皮细胞异型性的增高而逐渐增高, 尤其是在可疑癌及癌细胞组表现的尤为突出 (见图 1). 其表达的阳性率也是随细胞学分级的增高而逐步上升 (见表 2). 组间比较差异非常显著 ($F=27.285$, $P < 0.01$); 其中主要是正常组与重增、癌组, 轻增与重增、癌组差异有显著性 ($P < 0.05$).

表 2 P53 蛋白在食管上皮细胞各病变组的表达

细胞学分级	<i>n</i>	p53 FI ($\bar{x} \pm s$)	阳性 <i>n</i> (%)
正常组(1)	10	1.00 ± 0.11	0
轻增组(2)	24	1.10 ± 0.15	5(20.8)
重增组(3)	62	1.36 ± 0.32	34(54.8)
可疑癌及癌(4)	4	2.28 ± 0.20	4(100)

2.3 CDK4 及 p21/WAF1 的表达与细胞学分级的关系 随细胞异型程度的增高 CDK4 蛋白表达含量也明显增多 (见图 2), 在可疑癌及癌细胞组 FI 值达 1.50 ± 0.26 (见表 3); 各组间蛋白表达量差异具有显著性 ($F=5.25$, $P=0.003$), 主要是正常细胞组与可疑癌及癌细胞组间差异显著 ($P < 0.01$); 而抑癌基因 p21/WAF1 的表达含量随细胞异型性的增高而逐渐降低 (见图 2), 在可疑癌及癌细胞组减少最为明显 ($\text{FI}=0.71 \pm 0.08$). 各组间表达量的差异具有显著性 ($F=23.51$, $P < 0.01$). 组间两两比较, 除正常组与轻增组外, 其余各两组间差异具有显著性 ($P < 0.01$).

表 3 CDK4 及 p21/WAF1 在食管上皮各病变组的定量表达

细胞学分级	<i>n</i>	CDK4 FI ($\bar{x} \pm s$)	p 21 FI ($\bar{x} \pm s$)
正常组(1)	6	1.00 ± 0.10	1.00 ± 0.09
轻增组(2)	15	1.24 ± 0.18	0.96 ± 0.10
重增组(3)	39	1.29 ± 0.28	0.77 ± 0.11
可疑癌及癌(4)	10	1.50 ± 0.26	0.71 ± 0.08

2.4 CDK4 与 p21/WAF1 基因蛋白表达的相关分析 CDK4 与 p21/WAF1 表达呈显著负相关($r = -0.431$, $P < 0.01$).

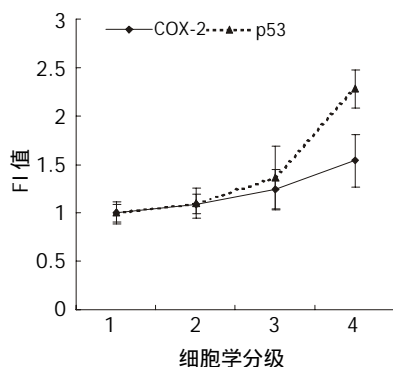


图1 COX-2 及 p53 在食管上皮癌变过程中的表达.

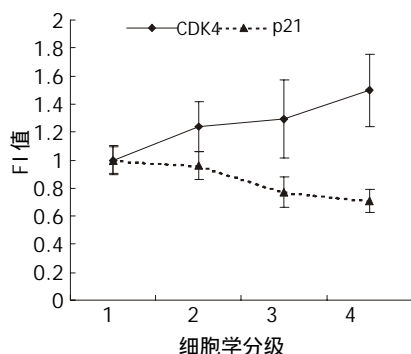


图2 CDK4 及 p21/WAF1 在食管上皮癌变过程中的表达.

3 讨论

近年来流行病学研究发现,长期服用阿司匹林等非类固醇类抗炎药(non-steroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)可降低食管、结肠及胃等部位癌的危险性^[3]. Funkhouser et al^[4]通过对美国 1.4 万居民跟踪 12-16 a 流行病学研究发现,经常服用阿司匹林可使形成食管癌的危险性降低 90%. 而阿司匹林、消炎痛等 NSAIDs 正是 COX 的抑制剂. 因此提示 COX 主要是 COX-2 可能在食管上皮细胞癌变中起重要作用. 因中国的食管癌发生具有明显的地域特征^[5], 这也为 NSAIDs 在高发区进行化学预防提供了新思路.

环氧化酶(cyclooxygenase, COX)又称前列腺素合成酶,是催化前列腺素合成的限速酶. 现知 COX 有两种异构酶: COX-1 和 COX-2, 二者的氨基酸序列有 60% 以上同源性. COX-1 在大多数哺乳动物组织呈常规表达, 执行“看家”功能, 而 COX-2 则呈诱导性表达. 目前, 对食管癌中 COX-2 表达的研究较少. 尤其是中国食管癌中 COX-2 表达的研究鲜见报道. 本研究采用食管拉网法获取食管上皮细胞, 应用流式细胞术对正常及各级病变中 COX-2 的表达进行定量检测. 这是对食管癌前病变中 COX-2 表达定量检测的首次报道. 研究发现在正常细胞组基本无 COX-2 表达, 但随上皮细胞异型性增高, COX-2 表达的荧光指数(FI)迅速增高, 尤其在重增组、可疑癌及癌细胞组表现尤为突出. Shamma et al^[6]对食管癌变过程中各种病变中 COX-2 表

达进行的检测发现, COX-2 表达在重度异型增生上皮中异常增高并认为 COX-2 对重度异型增生是敏感指标. 而另有学者^[7]认为 COX-2 可能在食管下段鳞癌形成中起一定作用. 食管下段更易发生腺癌, 所以又有人认为^[8] COX-2 表达可能与食管腺癌形成有关而与鳞癌无关. 总之, COX-2 在食管癌形成早期过度表达, 提示其过度表达可能参与了食管上皮的早期癌变进程. 但其作用机制目前还不清楚. 其可能的机制为: (1) COX-2 过度表达能促进肿瘤血管生成, 从而促进肿瘤的生长及血道转移^[1]; (2) COX-2 过度表达抑制了细胞凋亡. 因为有学者研究发现^[9,10], 用 COX-2 选择性或非选择性抑制剂可以抑制癌细胞的生长并诱导其发生凋亡. 但也有可能有其他途径存在^[11].

越来越多的资料表明: 食管癌的发生与多种癌基因的激活和/或抑癌基因的失活有关. P53 及 p21/WAF1 都是调节细胞周期中 G1/S 期转变的重要蛋白. 过去对 p53、p21/WAF1 等的研究, 大多集中在实体癌或癌旁组织. 部分研究显示^[12-17], p53 或 p21 在众多癌基因或抑癌基因中是预后标志物. 然而 p53 及 p21 等在癌前病变中的表达情况如何少见报道. 本研究中对食管癌高发区食管上皮细胞中 p53 蛋白的检测发现, 有 45.9% (39/85) 食管癌前病变中有 p53 蛋白的积聚, 且随异型性增高, p53 蛋白积聚也逐渐增多. 在重增组为 54.8% (34/61), 在可疑癌及癌细胞组其 FI=2.28 ± 0.20, 100% 阳性表达. 提示癌形成时 p53 蛋白明显积聚, 基本丧失了对细胞生长的抑制调控. 而抑癌基因 p21/WAF1 表达随上皮细胞异型性增高而显著减少. 这样抑癌基因 p21/WAF1 及 p53 逐渐丧失了对细胞周期的抑制, 尤其是对 CDKs 的抑制. 同时本研究发现, CDK4 表达随细胞异型性增高明显增高, 并且 CDK4 与 p21/WAF1 表达呈显著负相关. 而正常细胞周期的控制需要 CDK4 和抑制蛋白之间的平衡^[18]. 无论是抑制蛋白 p53 的异常积聚或/和 p21/WAF1 的表达减少/缺失, 还是 CDK4 的表达增高, 都最终导致食管上皮细胞的细胞增生周期失控, 从而异常增生发生癌变.

关于 COX-2 表达与细胞周期调控蛋白在食管上皮癌变中的作用国内外还未见报道. 是由于 COX-2 过度表达从而产生多种花生四烯酸代谢产物(如 PGE2、PGF2、PGI 等)从而导致的细胞相关基因表达的异常, 还是细胞周期紊乱后相关基因表达异常从而诱导 COX-2 基因过度表达, 目前还不清楚. 本研究发现, 在食管上皮癌变进展中, COX-2 与 p53 表达都明显升高, 说明 COX-2 与 p53 表达可能有一定的相关性. Rajnakova et al^[19]对胃癌中 COX-2 的研究发现, p53 阳性积聚的肿瘤中 COX-2 表达也增强. 并认为 COX-2 过度表达可促进无 p53 功能的肿瘤细胞生长. 但也有相反的报道^[20].

由此可见, 在食管上皮癌变过程中 COX-2 表达上调, 并同时伴有细胞周期相关基因表达异常. COX-2 在食管上皮癌变进程中的表达及其作用机制还有待进

一步研究. 虽然有关研究显示一些非类固醇类抗炎药(NSAIDs)可以诱导食管癌细胞的凋亡, NSAIDs 能否应用于食管癌高发区进行预防, 还需要广泛的进一步研究. NSAIDs 应用于实际对高危人群进行化学预防还不成熟.

4 参考文献

- 1 Tomozawa S, Tsuno NH, Sunami E, Hatano K, Kitayama J, Osada T, Saito S, Tsuruo T, Shibata Y, Nagawa H. Cyclooxygenase-2 overexpression correlates with tumour recurrence, especially haematogenous metastasis, of colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000;83: 324-328
- 2 Ristimäki A, Honkanen N, Jankala H, Sipponen P, Harkonen M. Expression of cyclooxygenase-2 in human gastric carcinoma. *Cancer Res* 1997;57:1276-1280
- 3 Thun MJ, Namboodiri MM, Calle EE, Flanders WD, Heath CW Jr. Aspirin use and risk of fatal cancer. *Cancer Res* 1993;53:1322-1327
- 4 Funkhouser EM, Sharp GB. Aspirin and reduced risk of esophageal carcinoma. *Cancer* 1995;76:1116-1119
- 5 Wang SJ, Wen DG, Zhang J, Man X, Liu H. Intensify standardized therapy for esophageal and stomach cancer in tumor hospitals. *World J Gastroenterol* 2001;7:80-82
- 6 Shamma A, Yamamoto H, Doki Y, Okami J, Kondo M, Fujiwara Y, Yano M, Inoue M, Matsuura N, Shiozaki H, Monden M. Up-regulation of cyclooxygenase-2 in squamous carcinogenesis of the esophagus. *Clin Cancer Res* 2000;6:1229-1238
- 7 Kawabe A, Shimada Y, Uchida S, Maeda M, Sato F, Itami A, Imamura M. Expression of cyclooxygenase-2 is associated with carcinogenesis of the lower part of thoracic esophageal squamous cell carcinoma and p53 expression. *Oncology* 2002;62:46-54
- 8 Wang L, Zhang W, Wang W. A study on cyclooxygenase-2 protein expression in esophageal carcinoma and premalignant lesions. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2001;23:14-16
- 9 Souza RF, Shewmake K, Beer DG, Cryer B, Spechler SJ. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses growth and induces apoptosis in human esophageal adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2000;60:5767-5772
- 10 Aggarwal S, Taneja N, Lin L, Orringer MB, Rehemtulla A, Beer DG. Indomethacin-induced apoptosis in esophageal adenocarcinoma cells involves upregulation of Bax and translocation of mitochondrial cytochrome C independent of COX-2 expression. *Neoplasia* 2000;2:346-356
- 11 Li M, Wu X, Xu XC. Induction of apoptosis by cyclo-oxygenase-2 inhibitor NS398 through a cytochrome C-dependent pathway in esophageal cancer cells. *Int J Cancer* 2001;93:218-223
- 12 Natsugoe S, Nakashima S, Matsumoto M, Xiangming C, Okumura H, Kijima F, Ishigami S, Takebayashi Y, Baba M, Takao S, Aikou T. Expression of p21WAF1/Cip1 in the p53-dependent pathway is related to prognosis in patients with advanced esophageal carcinoma. *Clin Cancer Res* 1999;5:2445-2449
- 13 Nita ME, Nagawa H, Tominaga O, Tsuno N, Hatano K, Kitayama J, Tsuruo T, Domene CE, Muto T. p21/Waf1/Cip1 expression is a prognostic marker in curatively resected esophageal squamous cell carcinoma, but not p27 Kip1, p53, or Rb. *Ann Surg Oncol* 1999; 6:481-488
- 14 Kuwahara M, Hirai T, Yoshida K, Yamashita Y, Hihara J, Inoue H, Toge T. p53, p21(Waf/Cip1) and cyclin D1 protein expression and prognosis in esophageal cancer. *Dis Esophagus* 1999;12:116-119
- 15 Kobayashi S, Koide Y, Endo M, Isono K, Ochiai T. The p53 gene mutation is of prognostic value in esophageal squamous cell carcinoma patients in unified stages of curability. *Am J Surg* 1999;177:497-502
- 16 Hirai T, Kuwahara M, Yoshida K, Osaki A, Toge T. The prognostic significance of p53, p21 (Waf1/Cip1), and cyclin D1 protein expression in esophageal cancer patients. *Anticancer Res* 1999; 19:4587-4591
- 17 Xu M, Jin YL, Fu J, Huang H, Chen SZ, Qu P, Tian HM, Liu ZY, Zhang W. The abnormal expression of retinoic acid receptor-beta, p53 and Ki67 protein in normal, premalignant and malignant esophageal tissues. *World J Gastroenterol* 2002;8:200-202
- 18 Serrano M, Hannon GJ, Beach D. A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4. *Nature* 1993; 366:704-707
- 19 Rajnakova A, Mochhala S, Goh PM, Ngoi S. Expression of nitric oxide synthase, cyclooxygenase, and p53 in different stages of human gastric cancer. *Cancer Lett* 2001;172:177-185
- 20 Sakuma K, Fujimori T, Hirabayashi K, Terano A. Cyclooxygenase (COX)-2 immunoreactivity and relationship to p53 and Ki-67 expression in colorectal cancer. *J Gastroenterol* 1999;34:189-194



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

