

效应,充分显示了DC的抗原提呈作用在抗癌免疫反应中重要地位.

4 参考文献

- 1 Okada H, Tahara H, Shurin MR, Attanucci J, Giezeman-Smits KM, Fellows WK, Lotze MT, Chambers WH, Bozik ME. Bone marrow-derived dendritic cells pulsed with a tumor-specific peptide elicit effective anti-tumor immunity against intracranial neoplasms. *Int J Cancer* 1998;78:196-201
- 2 Storkus WJ, Zeh HJ 3rd, Salter RD, Lotze MT. Identification of T-cell epitope:rapid isolation of class I-presented peptides from viable cells by mild acid elution. *J Immunother* 1993;14:94-103
- 3 巴德年. 当代免疫学技术与应用. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998:158-167

- 4 Runnels HA, Moore JC, Jensen PE. A structural transition in class II major histocompatibility complex proteins at mildly acidic pH. *J Exp Med* 1996;183:127-136
- 5 Sigal LJ, Reiser H, Rock KL. The role of B7-1 and B7-2 costimulation for the generation of CTL responses *in vivo*. *J Immunol* 1998;161:2740-2745
- 6 Angevin E, Andre F, Zitvogel L. Antitumor cellular immunotherapy: the breakthrough of dendritic cells. *Bull Cancer* 2000;87:107-115
- 7 Maehara Y, Tomisaki S, Oda S, Kakeji Y, Tsujitani S, Ichiyoshi Y, Akazawa K, Sugimachi K. Lymph node metastasis and relation to tumor growth potential and local immune response in advanced gastric cancer. *Int J Cancer* 1997;74:224-228
- 8 Kiertscher SM, Luo J, Dubinett SM, Roth MD. Tumors promote altered maturation and early apoptosis of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2000;164:1269-1276

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

食管癌发生发展过程中 RAR- β mRNA 的原位表达

王立峰, 张丽红, 刘明, 张伟, 王吾如

王立峰, 王吾如, 哈尔滨医科大学第一临床医学院病理科

黑龙江省哈尔滨市 150001

张丽红, 哈尔滨医科大学第一临床医学院放射科

黑龙江省哈尔滨市 150001

刘明, 哈尔滨医科大学第三临床医学院腹外科, 黑龙江省哈尔滨市 150040

张伟, 中国医学科学院肿瘤医院肿瘤研究所, 肿瘤生物检测中心

北京市 100021

项目负责人: 王立峰, 150001, 黑龙江省哈尔滨市南岗区邮政街 23 号, 哈尔滨医科大学第一临床医学院病理科. lfvvy@public.hr.hl.cn

电话: 0451-53604114

收稿日期: 2004-04-22 接受日期: 2004-06-10

摘要

目的: 研究 RAR- β mRNA 在食管癌发生发展过程中的作用, 探讨维 A 酸(RA, retinoid acid)在食管癌高危人群中化学预防和化学治疗中应用的可行性.

方法: 应用原位杂交方法检测了食管癌 70 例(原位癌 30 例, 鳞状细胞癌 20 例, 腺癌 20 例)及增生性病变 97 例(单纯增生 19 例, 不典型增生 I-III 分别为 20 例, 39 例, 38 例)和正常食管黏膜鳞状上皮组织 19 例中 RAR- β mRNA 表达情况.

结果: 在正常食管黏膜上皮、单纯增生、不典型增生上皮总体及其 I-III、原位癌、侵袭性鳞状细胞癌及腺癌中 RAR- β mRNA 表达的阳性率分别为 100%(19/19), 94.7%(18/19), 90%(18/20), 69.2%(27/39), 68.4%(26/38), 63.3%(19/30), 60%(12/20), 60%(12/20). 正常食管黏膜上皮较不典型增生总体、原位癌和侵袭性癌组织均有显著性差异($P < 0.05$).

结论: RAR- β mRNA 表达的丢失与食管癌的发生发展有关,

用 RA 对表达 RAR- β 高危人群进行化学干预可能会得到预期效果.

王立峰, 张丽红, 刘明, 张伟, 王吾如. 食管癌发生发展过程中 RAR- β mRNA 的原位表达. 世界华人消化杂志 2004;12(8):1980-1982

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1980.asp>

0 引言

RA(retinoid acid, 维 A 酸)对食管癌细胞系的生长抑制和 RAR- β (retinoid acid receptor beta, 维 A 酸 β 受体)的表达和表达上调有关, 不表达 RAR- β 的细胞系对 RA 有抵抗力, 可以在软琼脂糖中形成集落^[1]. 为研究 RAR- β 在食管癌发展过程中表达的改变, 以及应用 RA 在食管高危人群中进行化学预防的可行性, 我们对 205 例一系列食管活检组织, 包括正常食管黏膜、单纯增生、不典型增生食管上皮、原位癌和侵袭性癌组织中 RAR- β mRNA 的表达情况用非放射性原位杂交方法进行了研究.

1 材料和方法

1.1 材料 取自河北磁县 1997 年食管癌普查食管活检组织 195 例, 经病理诊断: 侵袭性鳞状细胞癌 20 例, 原位癌 30 例, 腺癌 10 例, 不典型增生 I, II, III 级分别为 20 例, 39 例, 38 例, 单纯增生 19 例和正常食管黏膜鳞状上皮 19 例. 其中哈医大一院标本腺癌 10 例. 地高辛配基核酸标记和检测试剂盒为 Boehringer mannheim 公司产品. 质粒 PSG5(分别含 RAR- β -antisense

cDNA 和 RAR- β -sense cDNA, 酶切位点分别为 *sphI* 和 *BamHI*, 由中国医学科学院肿瘤医院生物检测中心提供. BL21 大肠杆菌由医科院基础所提供.

1.2 方法 探针的制备: 重组质粒的转化、扩增、提取、纯化、酶切及酶切片段回收纯化参照“分子克隆”的方法进行, 酶切电泳鉴定纯化质粒 DNA 及其酶切片段. 探针的标记按试剂盒说明操作. 杂交步骤按文献[2]方法进行, NBT/BCIP 显色, 用正义探针作阴性对照. 结果分析采用计数资料的结构相对数(%)表示, 统计学分析采用 Fisher's 检验.

2 结果

RAR- β mRNA 阳性信号位于细胞质, NBT/BCIP 染色为蓝紫色(图 1, 2). 正常黏膜、单纯增生、不典型增生总体及其 I, II, III 级、原位癌、侵袭性鳞状细胞癌、腺癌的杂交阳性率分别为 100%(19/19), 94.7%(18/19), 73.2%(71/97), 90%(18/20), 69.2%(27/39), 68.4%(26/38), 63.3%(19/30), 60%(12/20), 60%(12/20). 正常黏膜、单纯增生的阳性信号普遍高于或相当于不典型增生和侵袭癌组织.



图1 RAR- β mRNA 在食管不典型增生 II 中的阳性表达, 紫蓝色颗粒定位于细胞浆 $\times 200$.



图2 RAR- β mRNA 在食管不典型增生 III 中的阳性表达, 紫蓝色颗粒定位于细胞浆 $\times 200$.

3 讨论

维 A 酸及其衍生物对恶性与正常细胞的分化诱导和生长抑制起重要作用^[3-6], 维 A 酸的这些功能是由维 A 酸受体所介导的, 维 A 酸只有通过与其特异的核内受体结合才能发挥其生物学效应, 因此对所研究组织中维 A

酸受体的检测将对肿瘤发生研究有很大意义. 维 A 酸受体属于类固醇/甲状腺激素受体超家族, 现已发现两大类受体可调节维 A 酸及其内源性和合成的化合物的生物学作用, 即维 A 酸受体(RARs)和维 A 类 X 受体(RXR), 都有三个亚基 α , β 和 γ . 在动物实验和临床研究中, RAR- β 的表达与恶性实体瘤的密切相关.

将 RAR- β 基因转染至表达 RAR- β 的肺上皮样癌细胞中, 然后接种于裸鼠, 该细胞的生长受抑制, 不能形成肿瘤; 而在表达反义 RAR- β_2 的转基因鼠中, 则可形成肺癌^[7]. 在头颈部鳞状细胞癌中, RAR- β 在邻近头颈部肿瘤正常组织和单纯增生表达率为 70%, 不典型增生为 56%, 恶性肿瘤为 35%; RAR- α 分别为 94%, 77%, 70%; 而 RAR- γ 和 RXR- α , β 可在大部分头颈部肿瘤邻近正常组织、单纯增生、不典型增生和肿瘤中检测到^[2]; 在乳腺癌中, RAR- β 的表达率在邻近肿瘤正常组织为 98.0%, 导管原位癌 83.1%, 侵袭癌 51.6%; RAR- α 分别为 98.1%, 96.8%, 83.6%; RAR- γ 分别为 93%, 88.5%, 88.5%; 而 RXR- α 分别为 100%, 100%, 92%^[8]. 即在恶性肿瘤中 RAR- β 基因较其他受体基因表达下降明显, 故 RAR- β 表达的丢失与恶性实体瘤的关系较为密切. 为研究 RAR- β 在食管癌发展过程中表达的改变, 我们对 205 例一系列食管活检组织, 包括正常食管黏膜、单纯增生、不典型增生食管上皮、原位癌和侵袭性癌组织中 RAR- β 基因的表达情况用非放射性原位杂交方法进行了研究. 结果表明, RAR- β 在正常组织中 100% 表达, 不典型增生上皮中 70% 表达, 60% 的侵袭性鳞状细胞癌中表达阳性, 其表达丢失率与文献报道的头颈癌、乳癌和非小细胞肺癌的研究结果相似^[2, 8-9]. 这说明 RAR- β mRNA 表达的丢失与食管癌的发生发展有关, 我国是食管癌的高发区, 用 RA 对表达 RAR- β 阳性高危人群进行化学干预可能会得到预期效果.

虽然已经发现实体瘤的发生与 RAR- β 的表达丢失, 但其内在的机制仍不清楚^[10]. 我们知道 RAR- α , RAR- β 和 RAR- γ 定位在 17q21.1, 3p24 和 12q13; RXR- α , β 和 γ 分别定位在 9q34.3, 6p21.3 和 1q22-23. 然而定位于 3p24 的 RAR- β , 其 3p 的杂合性丢失仅在大约 30% 的食管癌检测到^[11], 且与 RAR- β 的表达无关. 我们知道 RXRs 和 RARs 在结合到 DNA 顺序前形成二聚体, 这些二聚体与位于靶基因启动子的维 A 酸作用反应元件(RARE)结合, RARE 以(A/G)GGTCA 用 2 个或 5 个核苷酸间隔的重复为特征, 从而调节靶基因的转录、表达, 发挥其作用. 因此在最近的研究中发现, 全反式 RAR 诱导的 β RARE 转录活性的丢失才可能是 RAR- β 表达丢失的主要原因. 但也可能有多重机制与 RAR- β 表达丢失有关, 有待进一步研究.

4 参考文献

- Xu XC, Liu X, Tahara E, Lippman SM, Lotan R. Expression and up-regulation of retinoic receptor- β is associated with

- retinoid sensitivity and colony formation in esophageal cancer cell lines. *Cancer Res* 1999;59:2477-2483
- 2 Xu XC, Ro JY, Lee JS, Shin DM, Hong WK, Lotan R. Differential expression of nuclear retinoid receptors in normal, premalignant, and malignant head and neck tissues. *Cancer Res* 1994;54:3580-3587
 - 3 Lotan R. Effects of vitamin A and its analogs (retinoids) on normal and neoplastic cells. *Biochim Biophys Acta* 1980;605:33-91
 - 4 Moon RC, Mehta RG, Rao KVN. Retinoids and cancer in experimental animals. *The Retinoids-Biology, Chemistry, and Medicine*, ed 2. New York, Raven Press, 1994:pp537-596
 - 5 Inayama Y, Kitamura H, Shibagaki T, Usuda Y, Ito T, Nakatani Y, Kanisawa M. *In vivo* growth and differentiation potential of tracheal basal cells of rabbits in vitamin A deficiency. *Int J Exp Pathol* 1996;77:89-97
 - 6 Han J. Highlights of the cancer chemoprevention studies in China. *Prev Med* 1993;22:712-722
 - 7 Berard J, Laboune F, Mukuna M, Masse S, Kothary R, Bradley WE. Lung tumors in mice expressing an antisense RAR- β transgene. *FASEB J* 1996;10:1091-1097
 - 8 Xu XC, Sneige N, Lin X, Nandagiri R, Lee JJ, Lukmanji F, Hortobagyi G, Lippman SM, Dhingra K, Lotan R. Progressive decrease in nuclear retinoic acid receptor β messenger RNA level during breast carcinogenesis. *Cancer Res* 1997;57:4992-4996
 - 9 Xu XC, Sozzi G, Lee JS, Lee JJ, Pastorino U, Pilotti S, Kurie JM, Hong WK, Lotan R. Suppression of nuclear retinoic acid receptor β in non-small-cell lung cancer *in vivo*: implications in lung cancer development. *J Natl Cancer Inst* 1997;89:624-629
 - 10 de The H. Altered retinoic acid receptor. *FASEB J* 1996;10:955-960
 - 11 Nakamura Y, Tokino T, Isomura M. Multistep carcinogenesis of esophageal carcinoma. *Molecular Pathology of Gastroenterology Cancer*. Edited by E Tahara. Tokyo, Spring-Verlag, 1997:pp15-21

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2004 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 研究快报 •

中国 *Helicobacter pylori* 感染者血清抗 *Helicobacter pylori* IgG 亚型的变化

王冬, 刘枫, 王闻雅, 屠振兴, 李兆申

王冬, 中国人民解放军第二军医大学长海医院科研科 上海市 200433
刘枫, 屠振兴, 李兆申, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科 上海市 200433
王闻雅, 中国人民解放军第二军医大学基础医学部免疫教研室 上海市 200433
欧共体国际合作课题专项研究基金资助项目 (ICA4-199-10010)
项目负责人: 李兆申, 200433, 上海市长海路 174 号, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科. zhsls@81890.net
收稿日期: 2004-05-12 接受日期: 2004-06-24

摘要

目的: 探讨中国 *H pylori* 感染者血清抗 *H pylori* IgG 亚型的变化及其与 *H pylori* 相关疾病的关系。

方法: 采用 ELISA 法检测中国广西和上海地区证实为 *H pylori* 感染者血清抗 *H pylori* IgG 亚型的水平。其中上海患者 55 例, 广西患者 74 例。

结果: 中国广西和上海感染 *H pylori* 的患者血清中 IgG 亚型 IgG₁ 和 IgG₂, IgG₃ 和 IgG₄ 的水平非常低, 上海和广西感染 *H pylori* 的患者 IgG 各亚型之间无显著差异。在上海和广西十二指肠溃疡患者血清中 IgG₂ 水平显著高于非溃疡性消化不良患者 ($P < 0.05$); IgG₁、IgG₃ 和 IgG₄ 水平在消化性溃疡患者和非溃疡性消化不良患者之间无显著差异。

结论: 抗 *H pylori* IgG₂ 水平可能是 *H pylori* 感染致十二指肠溃疡的预测因子。

王冬, 刘枫, 王闻雅, 屠振兴, 李兆申. 中国 *Helicobacter pylori* 感染者血清抗 *Helicobacter pylori* IgG 亚型的变化. *世界华人消化杂志* 2004;12(8):1982-1983
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1982.asp>

0 引言

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H pylori*) 是上消化道疾病的重要致病因素之一。目前很多研究致力于 *H pylori* 的致病因子及发病机制, 但宿主因素在 *H pylori* 感染者的临床转归中可能也具有重要作用。我们检测中国 *H pylori* 感染者血清中 IgG 亚型的变化及其与消化性溃疡 (PUD) 的相关性, 探讨抗 *H pylori* IgG 亚型改变在 *H pylori* 感染者临床转归中可能作用。

1 材料和方法

1.1 材料 血清标本 55 份来自第二军医大学长海医院患者, 男 32 例, 女 23 例, 平均年龄 50.1 ± 12.2 岁。均因消化不良症状而就诊, 其中十二指肠溃疡 17 例, 其余为非溃疡性消化不良患者 (NUD)。血清标本 74 份来自广西大学第一医院患者, 男 41 例, 女 33 例, 平均年龄 46.8 ± 11.1 岁, 也均因消化不良症状而就诊, 其中十二指肠溃疡 29 例, 其余为 NUD 患者。以上患者均经组织学检查、快速尿素酶试验或 ¹³C-尿素酶呼气试验证实为 *H pylori* 感染。主要试剂采用 CagA⁻ 的 *H pylori* 菌株经超声粉碎制备, 菌株由英国利兹 St James 医院提供。所用 IgG₁₋₄ 的二抗均购自 Novocastra laboratories。

1.2 方法 首先用包被缓冲液稀释 *H pylori* 抗原制备 ELISA 反应板, 然后用稀释缓冲液将标准血清倍比稀释由 1:200 至 1:12 800 加入至标准品孔内, 每份标准品设双孔, 每孔加入 1:7 500 稀释的生物素标记的二抗, 每次测定设阳性对照, 阴性对照和空白对照, 最后加入 1 g/L 硝基苯磷酸酯显色, 在酶联仪上读取 405 nm