

现复鲨高、中剂量组能显著增强免疫低下功能小鼠 DNCB 所致的迟发型超敏反应。

胸腺是 T 细胞分化成熟的场所,因此,具有重要的免疫调节功能。脾脏除能贮存和调节血量外,也具有重要的免疫功能,它不仅是各类免疫细胞居住的场所,同时也是对血源性抗原物质产生免疫应答及产生免疫效应(如抗体)的重要基地。复鲨中、低剂量组和鲨鱼软骨素组的胸腺和脾指数明显高于茶瘤对照组,提示可促进胸腺的生长发育和促进脾脏的功能。

免疫功能的改善对增强体质、抵抗疾病有重要意义,本实验表明,复鲨兼有扶正、祛邪的功效,值得进一步系统的深入研究。

致谢:福建省医科所林建峰研究员对本实验进

行指导,李勇、黄慧琴、彭华毅、连建清同志参与实验。

#### 参考文献:

- [1] 苏开仲,魏炜明,魏文树等. 复方鲨鱼软骨素抑瘤作用实验研究[J]. 中国海洋药物,2001,20(6):14.
- [2] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000,703.
- [3] 徐叔云,卞如濂. 药理研究方法[M]. 北京:人民卫生出版社,2002,1704.
- [4] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 第1版,上海,上海科技出版社,1991,157.
- [5] 王劲,杨峰,张建雄等. 鲨鱼粉抗癌增效及调节免疫功能的研究[J]. 中国海洋药物,2000,19(2):14.

收稿日期:2005-06-08

## 雌激素及三苯氧胺对 MCF-7 乳腺癌细胞 BP1 基因表达的影响

王洋,郑唯强(第二军医大学长海医院病理科,上海 200433)

**摘要** 目的:检测乳腺癌 MCF-7 细胞在雌激素(E2)和三苯氧胺(TAM)作用后 BP1 基因的表达情况。方法:用雌激素(E2)和三苯氧胺(TAM)处理培养的处于对数生长期的 MCF-7 细胞,应用 MTT 比色分析法筛选最佳作用浓度。以筛选的浓度同步分组作用于 MCF-7 细胞 72h,同时设对照。用原位杂交法检测 BP1 基因在 ER 处于激活和抑制状态下的表达状况,用免疫组化检测 bcl-2 的表达,用 TUNEL 法检测细胞凋亡状况。分析 MCF-7 在 ER 处于不同表达状态下 BP1、bcl-2 的表达变化和细胞凋亡变化情况。结果:E2 在  $10^{-8}$  mol/L、TAM 在  $10^{-6}$  mol/L 的浓度时,刺激和抑制 MCF-7 细胞生长的作用最显著。在 E2 和 TAM 处理后,MCF-7 细胞 BP1 的表达率分别为  $95.0\% \pm 3.94\%$ 、 $58.5\% \pm 5.27\%$ , bcl-2 的表达率为  $80.9\% \pm 1.73\%$ 、 $37.8\% \pm 2.39\%$ ,凋亡指数分别为  $0.67 \pm 0.27$ 、 $6.7 \pm 0.76$ 。分别较对照组  $76.1\% \pm 6.54\%$ 、 $63.5\% \pm 3.28\%$ 、 $3.2 \pm 0.79$  之间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论:在 ER 阳性的乳腺癌细胞,BP1 的表达受到 ER 传导通路的调节,E2 可能通过调节 BP1 的表达水平而在乳腺癌的发生中起作用。BP1 可能在调节细胞凋亡的过程中起到抑制作用。BP1 阳性表达可能成为预后不良的标志。

**关键词** MCF-7 细胞;BP1;细胞凋亡;原位杂交;bcl-2;免疫组化

中图分类号:R965

文献标识码:A

文章编号:1006-0111(2005)04-0200-06

## Effects of estrogen and tamoxifen on the expression of BP1 in MCF-7, a human breast carcinoma cell line

WANG Yang, ZHENG Wei-qiang (Department of Pathology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the expression of BP1 gene after estrogen and tamoxifen effected on breast cancer cell line MCF-7 respectively. **Methods:** With screened concentration of estrogen ( $10^{-8}$  mol/L) and tamoxifen ( $10^{-6}$  mol/L) by MTT assay treated with MCF-7 72 hours, then detected the expressions of BP1 mRNA by in situ hybridization method and bcl-2 protein by immunohistochemistry. Determined quantitatively apoptosis cells of MCF-7 by TUNEL method. **Results:** The percents of BP1 mRNA expression of MCF-7 cells in E2 treated group and TAM treated group were ( $95.0\% \pm 3.94\%$ ) and ( $58.5\% \pm 5.27\%$ ), and those of bcl-2 protein were ( $80.9\% \pm 1.73\%$ ) and ( $37.8\% \pm 2.39\%$ ), howere, the expressions of BP1 and bcl-2 were ( $76.1\% \pm 6.54\%$ ) and ( $63.5\% \pm 3.28\%$ ) in control group respectively. There were all

作者简介:王洋(1975-),男,住院医师,助教. E-mail:docwy@sina.com.

significant difference between each two groups ( $P < 0.05$ ). There was a significant difference in apoptosis index in either group treated with E2 ( $0.67 \pm 0.27$ ) or TAM ( $6.7 \pm 0.76$ ) in comparing with that of the control group ( $3.2 \pm 0.79$ ) ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The expression of BPI mRNA was possibly regulated by ER mediated signal transduction pathway in ER positive breast carcinoma cell line, and BPI might play an important role in tumorigenesis of breast carcinoma through up-regulate expression mediated by E2 and apoptosis inhibition. BPI might serve as a poor prognostic markers of breast carcinoma.

**KEY WORDS** MCF-7 cell; BPI gene; apoptosis; in situ hybridization; bcl-2; Immunohistochemistry

BPI 是新近发现的同源盒基因,国内外学者的研究表明,BPI 与急性髓系白血病(AML)及乳腺癌密切相关。我们选用了雌激素(E2)和三苯氧胺(TAM)对 ER(+) 的 MCF-7 乳腺癌细胞系进行处理,观察在 ER 受到刺激和抑制时 BPI 基因的表达情况,以了解 ER(+) 的乳腺癌细胞 BPI 的表达是否受到 ER 传导通路的调节。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和细胞培养

**1.1.1 雌激素受体阳性、表达野生型 p53 的 MCF-7 乳腺癌细胞株**由第二军医大学肿瘤研究所提供。

**1.1.2 细胞培养试剂:**DMEM(美国 Gibco)、HEPES、胎牛血清(杭州四季清)、胰蛋白酶(美国 Gibco)等购自增健公司,胰岛素为丹麦诺和诺德公司生产(诺和灵 R),青霉素、链霉素购自长海医院药房。

**1.1.3 雌激素(E2)**为上海信谊药业有限公司生产的乙烯雌酚片,分子量 268.36,溶于 75% 乙醇,用三蒸水稀释成浓度  $10^{-4}$  mol/L 的贮存液。三苯氧胺(TAM)为上海复旦复华药业有限公司的枸橼酸他莫昔芬片,分子量 563.65,溶于无水乙醇,用三蒸水稀释成浓度  $10^{-3}$  mol/L 的贮存液。将上述两种贮存液置于冰箱备用。

**1.1.4 细胞培养:**将 MCF-7 细胞培养于加有 5.9g/L HEPES、100U/mL 青霉素、100 $\mu$ g/mL 链霉素、10% 胎牛血清、0.2U/mL 胰岛素的 DMEM 培养液,置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱内,每日观察生长情况,贴壁 3~5 天传代一次。传代用 0.25% 胰酶 + 0.02% EDTA。

**1.1.5 MTT 比色分析法筛选最佳浓度:**取对数生长期细胞,胰酶消化,吹打成单细胞悬液,计数后接种于 96 孔板,每孔 200 $\mu$ L 约  $10^4$  个细胞,37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱内过夜,待细胞贴壁。

试验分组如下:(1)空白对照组:仅加培养液(2)单细胞对照组:MCF-7 细胞(3)溶剂对照组:MCF-7 细胞 + 10% 乙醇(4)实验组 1:E2 处理,用培养液稀释 E2,浓度依次为  $10^{-6}$  mol/L、 $10^{-7}$  mol/L、 $10^{-8}$  mol/L、 $10^{-9}$  mol/L、 $10^{-10}$  mol/L、 $10^{-11}$  mol/L(5)实验组 2:TAM 处理,用培养液稀释 TAM,浓度

依次为  $10^{-5}$  mol/L、 $10^{-6}$  mol/L、 $10^{-7}$  mol/L、 $10^{-8}$  mol/L、 $10^{-9}$  mol/L、 $10^{-10}$  mol/L。

37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养 72h。每孔加 5mg/mL (PBS 配) 噻唑蓝溶液(MTT)20 $\mu$ L,37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱内培养 4h。孔内出现蓝色结晶。倒出孔内液体,加 0.04N 盐酸异丙醇 100 $\mu$ L/孔,使沉淀溶解。在酶联免疫检测仪上 490nm 波长下测定各孔光吸收值。

结果判断:细胞存活率 = 试验组光吸收值/对照组光吸收值  $\times 100\%$

**1.2 原位杂交检测细胞内 BPI mRNA** 取三个直径 6cm 培养皿,各放两张涂胶无菌盖玻片,160 $^{\circ}$ C 烘烤 4h,去除 RNA 酶。细胞消化后接种其中过夜,待细胞贴壁。分别换培养液及用培养液稀释的 E2、TAM,37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养 72h。取出玻片,PBS 洗 3min  $\times 3$  次,在 4% 多聚甲醛 pH7.0 固定,4 $^{\circ}$ C,60min,系列乙醇脱水干燥,用中性树胶粘于载玻片上,43 $^{\circ}$ C 烘烤过夜,-20 $^{\circ}$ C 保存。

BPI cDNA 探针由上海申能博彩生物技术有限公司设计、合成,探针序列:biotin-ATTCTGCTTCAG-GAGCTTCTTATACTTGG。杂交所用器具常规清洁后均用 DEPC 处理,试剂均用 DEPC 水配置,去除 RNA 酶,并经高温高压灭活 DEPC 毒性。操作戴口罩、帽子、手套,防止 RNA 酶污染。

原位杂交染色步骤:(1)不同处理组细胞片用 PBS-DEPC 洗 5min,周围擦干。(2)0.1% Triton X-100 PBS 漂洗,37 $^{\circ}$ C,15min。(3)0.2% 甘氨酸-PBS 孵育,室温,15min。(4)1mg/mL 蛋白酶 K 用 TE 1:100 新鲜稀释,50 $\mu$ L/片滴于切片上,37 $^{\circ}$ C,15min。(5)0.2% 甘氨酸-PBS 孵育 4 $^{\circ}$ C,15min。(6)PBS-DEPC 洗 5min  $\times 2$  次,晾干,加杂交缓冲液(不含探针)42 $^{\circ}$ C 预杂交 2h。(7)探针用杂交缓冲液稀释至 80ng/mL。(8)滴加杂交液 20 $\mu$ L/片,石蜡膜封片,42 $^{\circ}$ C 孵育 16h。(9)42 $^{\circ}$ C 预温的 2 $\times$ SSC 浸泡切片,小心除去石蜡膜,浸泡 5min。(10)2 $\times$ SSC,42 $^{\circ}$ C 洗 10min  $\times 2$  次。(11)1 $\times$ SSC,42 $^{\circ}$ C 洗 10min  $\times 2$  次。(12)0.5 $\times$ SSC,42 $^{\circ}$ C 洗 10min  $\times 2$  次。(13)0.1 $\times$ SSC,37 $^{\circ}$ C 洗 10min  $\times 2$  次。(14)滴加碱性磷酸酶标记的 avidin(1:200),37 $^{\circ}$ C 孵育 4h。(15)TSM1 (pH7.5) 洗 5min  $\times 2$  次。(16)TSM2 (pH9.5) 洗

5min × 2 次。(17)新鲜配置的 NBT/BCIP 显色。(18)TSM2 洗 3min × 3 次。(19)核固红衬染,蒸馏水洗,系列乙醇脱水,明胶封片。

结果判断:阳性信号呈紫蓝色,着色部位位于细胞质。

以预杂交液代替杂交液为阴性对照。

1.3 免疫组化 玻片处理及细胞爬片等基本同原位杂交,固定液选用冷丙酮(4℃)固定 5min。bcl-2 购自 DAKO 公司。

染色步骤:(1)不同处理组爬片用 PBS 洗 3min。(2)3% 过氧化氢室温 20min;PBS 洗 3min × 3 次。(3)抗原修复液(博士德),室温,30min。(4)滴加正常山羊血清封闭液,室温 20min。(5)甩去多余液体,不洗,滴加一抗,37℃,2h。(6)PBS 洗 3min × 3 次。(7)滴加 Envision 二抗,室温 30min。(8)PBS 洗 3min × 3 次。(9)DAB 显色,苏木精衬染,中性树脂封片。

结果判断:阳性信号呈棕色颗粒,着色部位位于细胞质。

用 PBS 代替一抗作为阴性对照。

1.4 TUNEL 法检测细胞凋亡 TUNEL 法染色步骤:(1)细胞爬片 PBS 洗 3min × 3 次;(2)TBS 新鲜配制的蛋白酶 K20μg/mL 37℃ 消化 20min;(3)0.1M 甘氨酸 - PBS 洗 5min,PBS 洗 3min × 3 次;(4)滴加 30μL/片 TUNEL 反应混合液,37℃,6min;PBS 洗 3min × 3 次;(5)滴加 20% 乙酸,室温 20min,PBS 洗 3min × 3 次;(6)碱性磷酸酶标记的 avidin 1 : 200,37℃,60min;PBS 洗 3min × 3 次;(7)0.02M (pH9.0)TBS - TritonX 100 洗 5min;(8)新鲜配制的 NBT - BCIP 显色液显色 120min;(9)核固红衬染,系列乙醇脱水,明胶封片。

结果判断:阳性细胞为紫蓝色。

PBS 代替 TUNEL 反应混合液为阴性对照。

1.5 统计学处理 数据采用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,统计检验采用 *t* 检验

## 2 结果

2.1 MTT 比色分析法筛选 E2 及 TAM 最佳作用浓度 培养液中加入 10% 的乙醇,对细胞的生长无明显影响。E2 在  $10^{-8}$  mol/L 的浓度时,刺激 MCF-7 细胞生长的作用最显著;TAM 在  $10^{-6}$  mol/L 的浓度时,抑制 MCF-7 细胞生长的作用最显著。用培养液稀释 E2 及 TAM 至  $10^{-8}$  mol/L 和  $10^{-6}$  mol/L,并分别作用于 MCF-7 细胞,制备细胞爬片。

2.2 E2 及 TAM 对 BP1 mRNA 表达的影响(见表 1) 以胞质中出现蓝紫色颗粒为阳性细胞(图 1),

计数 200 个细胞,计算阳性细胞百分数,重复三次后取均值。染色强度划分:浅蓝色为 +、蓝紫色为 ++、深蓝色为 +++。

两处理组之间及其与对照组之间,BP1 mRNA 的表达差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 原位杂交检测不同条件下 MCF-7 细胞 BP1 mRNA 表达情况

	BP1 mRNA 表达率(%)	染色强度
对照组	76.1 ± 6.54	++ ~ +++
E2 处理组	95.0 ± 3.94	+++
TAM 处理组	58.5 ± 5.27	+ ~ ++



图 1 BP1 mRNA 在 MCF-7 中的阳性表达 原位杂交

2.3 E2 及 TAM 对 bcl-2 蛋白表达的影响(见表 2)

表 2 免疫组化检测不同条件下 MCF-7 细胞 bcl-2 蛋白表达情况

	bcl-2 表达率(%)	染色强度
对照组	63.5 ± 3.28	+ ~ ++
E2 处理组	80.9 ± 1.73	++
TAM 处理组	37.8 ± 2.39	+ ~ ++

以胞质中出现棕黄色颗粒为阳性细胞(图 2),

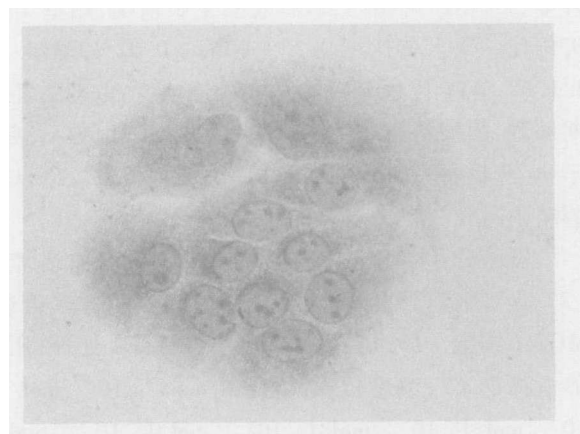


图 2 bcl-2 在 MCF-7 中的阳性表达 Envision 法

计数 200 个细胞,计算阳性细胞百分数,重复三次后取均值。染色强度划分:浅棕色为+,棕黄色为++,深棕色为+++。

两处理组之间及其与对照组之间,bcl-2 的表达差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.4 E2 及 TAM 对 MCF-7 细胞凋亡的影响(见表 3)** TUNEL 阳性细胞为紫蓝色(图 3)。普通光镜高倍镜下连续计数 200 个细胞,其中凋亡细胞占细胞总数的百分数即为凋亡指数(AI)。重复三次后取均值。

两处理组之间及其与对照组之间,凋亡指数的差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )

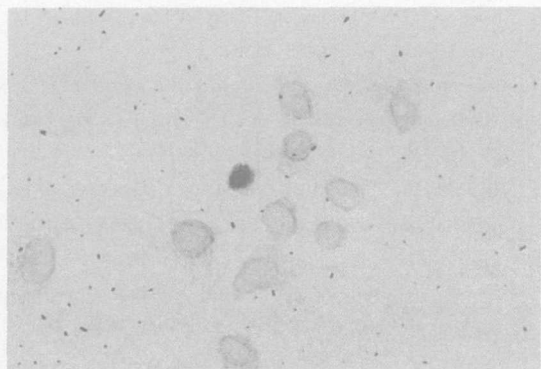


图 3 TUNEL 法检测凋亡细胞,阳性细胞呈紫蓝色

表 3 TUNEL 法检测不同条件下 MCF-7 细胞的凋亡情况

	凋亡指数(%)
对照组	3.2 ± 0.79
E2 处理组	0.67 ± 0.27
TAM 处理组	6.7 ± 0.76

### 3 讨论

生物体内每个细胞都贮存着该生物所有的遗传信息,但这些细胞在不同的时间和空间内却形成了不同的组织和器官,这主要取决于生长发育过程中哪些基因被活化和在什么时间被活化。同源盒基因在这一过程中起着至关重要的作用。同源盒基因编码的蛋白质含有 61 个氨基酸组成的保守区,称同源异型域,可以和 DNA 结合,对基因进行调控。因此,同源盒基因产物是可与 DNA 结合的转录调节因子<sup>[1]</sup>。

BP1 是新近克隆的同源盒基因,属于在早期发育过程中起重要作用的 DLX 家族成员,位于染色体 17q21-22,分子量为 26kDa, cDNA 全长 1251bp,与 DLX4、DLX7 互为异构重整体(isoform)。正常组织中只在胎盘、肾脏和胎肝中发现有表达。BP1 与 β 珠蛋白基因上游的沉默子 1、沉默子 2 结合负性调节

β 珠蛋白的表达,且与镰状细胞贫血的严重程度有关<sup>[2]</sup>。在白血病的研究中,国内外学者均发现 BP1 基因与急性髓系白血病有相关性<sup>[3,4]</sup>。

Fu 的研究显示 BP1 与乳腺癌也密切相关,在包括 MCF-7 的多种乳腺癌细胞系中均有表达,和 ER 表达呈负相关<sup>[5]</sup>。因此,我们选用 ER 阳性的 MCF-7 乳腺癌细胞系作为实验对象,分别用 E2 和 TAM 处理,观察 ER 在受到刺激和抑制时 BP1 的表达情况,以了解 BP1 与 ER 信号传导通路的关系。

大约 65% 的乳腺癌表达 ER,其中一半的肿瘤发生、生长依赖雌激素(雌二醇,17β - estradiol, E2)。E2 能部分抑制肿瘤坏死因子(TNF)诱导的 ER(+) MCF-7 细胞凋亡,说明雌激素结合受体可保护细胞免于凋亡。雌激素作为乳腺癌的危险因素之一,已证实可影响 bcl-2 家族成员的表达,使凋亡调节紊乱,进而促成乳腺癌的发生。有研究显示,E2 可以通过增加 bcl-2 的表达抑制 MCF-7 细胞的凋亡<sup>[6]</sup>。E2 刺激体外培养的 MCF-7 细胞,引起 bcl-2 mRNA 及蛋白表达升高,去除 E2 则显著降低,再次加入后 bcl-2 表达又明显增高<sup>[7]</sup>。

三苯氧胺(TAM)是一种非类固醇类抗雌激素药物,广泛用于乳腺肿瘤的治疗,在雌激素受体阳性的细胞内可加速细胞的死亡,已用于各期乳腺癌的治疗,明显减少了复发率与死亡率。一般认为,TAM 是通过与雌激素竞争雌激素受体,从而实现其抗雌激素作用。在乳腺癌的治疗中发现,雌激素受体阳性患者比阴性患者预后好,丢失雌激素受体有利于细胞的生长,并可降低细胞的分化程度。用人雌激素受体转染 MDA-MB-231 乳腺癌细胞系,发现未转染细胞明显比转染细胞生长快,在软琼脂中的克隆大,生长不能被 TAM 抑制<sup>[8]</sup>,说明雌激素受体(ER)在 TAM 的作用中占重要地位。Perry 等的研究表明,TAM 的作用与抑制 MCF-7 细胞生长、细胞形态学特异性改变和细胞凋亡密切相关,转化生长因子 β1(TGFβ1)可能是 TAM 诱导细胞凋亡的中介物质<sup>[9]</sup>。TAM 不但副作用少,而且与化疗有协同作用,还能诱导凋亡,逆转多药耐药等作用。MCF-7 细胞在 TAM 作用后 bcl-2 表达受到抑制,浓度越大,降低越明显,治疗反应与凋亡增高显著相关,提示 TAM 使 bcl-2 表达降低而致凋亡增加,增生下降<sup>[10]</sup>。

E2、TAM 作用于乳腺癌 MCF-7 细胞时,可引起 bcl-2 的表达和肿瘤细胞凋亡发生改变。我们在实验中分别用免疫组化和 TUNEL 方法检测了 bcl-2 蛋白的表达和细胞的凋亡情况,以进一步验证乳腺癌 BP1 基因是否与 bcl-2 及凋亡相关。

实验结果显示,BP1 基因的表达因 ER 处于不同

状态而有所不同,在 ER 受到 E2 刺激后,BP1 的表达较对照组明显增强;而在 TAM 作用后,ER 受到抑制,BP1 的表达较对照组则明显减弱,三种不同状况下 BP1 的表达差异有统计学意义。说明 ER 阳性的乳腺癌细胞,BP1 的表达与 ER 的激活状态有相关性,受到 ER 传导通路的调节。E2 是乳腺癌的危险因素之一,E2 作用于 MCF-7 后 BP1 的表达明显增多,表明 E2 可能通过调节 BP1 的表达水平而在乳腺癌的发生中起作用。

与此同时,MCF-7 细胞在 E2 的作用下,bcl-2 的表达较对照组明显提高,细胞凋亡明显减少;在 TAM 的作用下,MCF-7 细胞 bcl-2 的表达较对照组明显减少,而细胞凋亡显著增多,与文献报道相符<sup>[11]</sup>。综上所述,MCF-7 细胞在 E2 和 TAM 作用下,ER 处于不同状态时,BP1 与 bcl-2 表达的变化规律相一致。在 ER 受到刺激的情况下,两者的表达均增强,此时细胞凋亡减少;在 ER 受到抑制时,两者的表达均减弱,此时细胞凋亡增多。bcl-2 是目前公认的凋亡抑制基因,表明 BP1 可能在调节细胞凋亡的过程中与 bcl-2 一样起到抑制作用。但是 Gadal 等用 E2 和 TAM 作用于 MCF-7 细胞 15h 后,应用消减杂交技术未能检测到 BP1 和 bcl-2 的差异表达<sup>[12]</sup>。说明 BP1 和 bcl-2 的表达变化尚与 E2、TAM 作用于 ER 的时间有关。

肿瘤与凋亡调节失控紧密相关,人们一直致力于通过阐明细胞凋亡机制来有效利用细胞凋亡去预防和治疗肿瘤。凋亡的调节机制十分复杂,有多种基因参与其过程中,如 caspases、MAPKs、NF- $\kappa$ B、bcl-2 家族成员等。bcl-2 最初在滤泡性非霍奇金 B 细胞淋巴瘤 t(14,18) 转位中发现,蛋白为 25kD ~ 26kD 的多肽。1988 年,Vaux<sup>[13]</sup> 首先报道了 bcl-2 有延长细胞生存时间、抑制细胞凋亡的作用。非整倍体肿瘤较整倍体肿瘤更过度表达 bcl-2,说明 bcl-2 可通过抑制凋亡而加强基因不稳定性<sup>[14]</sup>,过度表达的 bcl-2 在不影响细胞增生的情况下阻止细胞凋亡。bcl-2 参与了多种肿瘤的发生发展,其中包括乳腺癌。bcl-2 高表达且凋亡率低的乳腺癌患者预后较 bcl-2 低表达且凋亡率高的患者好,凋亡率越高,预后越差<sup>[15]</sup>。bcl-2 与 ER 呈正相关<sup>[16]</sup>,两者均是乳腺癌患者对 TAM 内分泌治疗敏感和预后良好的标志<sup>[17,18]</sup>。在髓母细胞瘤<sup>[19]</sup>、宫颈癌<sup>[20]</sup>、间质瘤<sup>[21]</sup>中 bcl-2 过表达均是预后不良的标志,而在乳腺癌中情况却刚好相反,目前尚难以明确的解释。鉴于 BP1 与 bcl-2 在 MCF-7 细胞表达规律的相似性,提示我们两者在功能上可能也具有相似之处,即抑制细胞凋亡;并且可能成为一个新的乳腺癌基因治疗和

预后判断的标志。BP1 阳性表达可能预示着预后较差。BP1 在 ER 阴性的乳腺癌患者中的表达率高于 ER 阳性的患者<sup>[5]</sup>,有研究显示<sup>[22]</sup> BP1 阳性表达与乳腺癌的组织学分级相关,级别越高,阳性率越高。我们认为,与 ER、组织学分级、凋亡指数等乳腺癌预后指标进行联合综合分析,对判断乳腺癌患者的预后可能更具有意义。

随着 BP1 同源盒基因表达的分子机制的深入研究,可能为提高对乳腺癌发生、发展的认识,以及了解肿瘤的细胞凋亡、肿瘤耐药和肿瘤的基因治疗等提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] Laughn A. DNA binding specificity of homeodomains [J]. *Biochemistry*, 1991, 30(48):11357.
- [2] Chase MB, Fu S, Haga SB, Davenport G, et al. BP1, a homeodomain-containing isoform of DLX4, represses the beta-globin gene [J]. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(8):2505.
- [3] Haga SB, Fu S, Karp JE, et al. BP1, a new homeobox gene, is frequently expressed in acute leukemias [J]. *Leukemia*, 2000, 14(11):1867.
- [4] 李 慧,徐开林,潘秀英,等. BP1 基因在成人急性白血病中的表达 [J]. *中华血液学杂志*, 2004, 25(1):38.
- [5] Fu SW, Schwartz A, Stevenson H, et al. Correlation of expression of BP1, a homeobox gene, with estrogen receptor status in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2003, 5(4):R82.
- [6] Burow ME, Tang Y, Collins-Burow BM, et al. Effects of environmental estrogens on tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis in MCF-7 cells [J]. *Carcinogenesis*, 1999, 20(11):2057.
- [7] Wang TT, Phang JM. Effects of estrogen on apoptotic pathways in human breast cancer cell line MCF-7 [J]. *Cancer Res*, 1995, 55(12):2487.
- [8] Shao Z, Jiang M, Yu L, et al. Estrogen receptor - negative breast cancer cells transfected with estrogen receptor exhibit decreased tumor progressive and sensitivity to growth inhibition by estrogen [J]. *Chin Med Sci J*, 1997, 12(1):11.
- [9] Perry RR, Kang Y, Greaves BR. Relationship between tamoxifen-induced transforming growth factor expression, cytostasis and apoptosis in human breast cancer cells [J]. *Br J Cancer*, 1995, 72(6):1441.
- [10] 郑 军,姚襟祥. 三苯氧胺对乳腺癌细胞凋亡和耐药性的影响 [J]. *中华肿瘤杂志*, 2000, 22(1):55.
- [11] Swiatecka J, Dzieciol J, Anchim T, et al. Influence of estrogen, antiestrogen and UV-light on the balance between proliferation and apoptosis in MCF-7 breast adenocarcinoma cells culture [J]. *Neoplasma*, 2000, 47(1):15.
- [12] Gadal F, Starzec A, Bozic C, et al. Integrative analysis of gene expression patterns predicts specific modulations of defined cell functions by estrogen and tamoxifen in MCF7 breast cancer cells [J]. *J Mol Endocrinol*, 2005, 34(1):61.
- [13] Vaux DL, Cory S, Adams JM. Bcl-2 gene promotes haemopoietic cell survival and cooperates with c-myc to immortalize pre-B cells

- [J]. *Nature*, 1988, 335(6189):440.
- [14] Zapata JM, Krajewska M, Krajewski S, *et al.* Expression of multiple apoptosis-regulatory genes in human breast cancer cell lines and primary tumors[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1998, 47(2):129.
- [15] Larsen SS, Heiberg I, Lykkesfeldt AE. Anti-estrogen resistant human breast cancer lines are more sensitive towards treatment with the vitamin D analogue EB1089 than parent MCF-7 cells[J]. *Br J Cancer*, 2001, 84(5):686.
- [16] Linjawi A, Kontogianna M, Halwani F, *et al.* Prognostic significance of p53, bcl-2, and Bax expression in early breast cancer [J]. *J Am Coll Surg*, 2004, 198(1):83.
- [17] Gasparini G, Barbareschi M, Doglioni C, *et al.* Expression of bcl-2 protein predicts efficacy of adjuvant treatments in operable node-positive breast cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 1995, 1(2):189.
- [18] Ciocca DR, Elledge R. Molecular markers for predicting response to tamoxifen in breast cancer patients[J]. *Endocrine*, 2000, 13(1):1.
- [19] Schuller U, Schober F, Kretzschmar HA, *et al.* Bcl-2 expression inversely correlates with tumour cell differentiation in medulloblastoma[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2004, 30(5):513.
- [20] Wootipoom V, Lekhyananda N, Phungrassami T. Prognostic significance of Bax, Bcl-2, and p53 expressions in cervical squamous cell carcinoma treated by radiotherapy[J]. *Gynecol Oncol*, 2004, 94(3):636.
- [21] Changchien CR, Wu MC, Tasi WS, *et al.* Evaluation of prognosis for malignant rectal gastrointestinal stromal tumor by clinical parameters and immunohistochemical staining[J]. *Dis Colon Rectum*, 2004, 47(11):1922.
- [22] 于满, 杨毅, 牛瑞芳, 等. 同源异型盒基因 Bp1 在乳腺癌组织中的表达及其临床意义[J]. *癌症*, 2004, 23(7):855-859.

收稿日期:2005-05-08

## 胃炎 1 号颗粒治疗慢性萎缩性胃炎实验研究

王少明<sup>1</sup>, 林才经<sup>1</sup>, 杨春波<sup>2</sup>, 施作霖<sup>1</sup>, 庄捷<sup>1</sup>, 阮君山<sup>1</sup> (1. 福建省立医院; 2. 福建省第二人民医院, 福建福州 350001)

**摘要** 目的:研究胃炎 1 号治疗慢性萎缩性胃炎的作用。方法:通过在动物身上复制慢性萎缩性胃炎模型, 以体重、及病理组织变化为指标, 观察以党参、白术等组成的胃炎 1 号方的治疗作用。为临床治疗和应用提供实验依据。结果:治疗组和模型组之间动物的体重差异没有显著性改变。胃炎 1 号能改善胃黏膜的萎缩, 对胃黏膜的炎症也有抑制作用。结论:该方药具有良好的作用。

**关键词** 慢性萎缩性胃炎; 胃炎 1 号; 实验研究

中图分类号: R965 文献标识码: A 文章编号: 1006-0111(2005)04-0205-03

## Experimental study on Weiyan Keli in treatment of chronic atrophic gastritis

WANG Shao-ming<sup>1</sup>, LIN Cai-jing<sup>1</sup>, YANG Chun-bo<sup>2</sup>, SHI Zuo-lin<sup>1</sup>, ZHUANG Jie<sup>1</sup>, RUAN Jun-shan<sup>1</sup> (1. Fujian Provincial Hospital; 2. Fujian Second People's Hospital, Fuzhou 350001, China)

**ABSTRACT Objective:** To research the mechanism of Weiyan Keli (WK) in treatment of chronic atrophic gastritis (CAG). **Methods:** CAG model of rats was made by synthetical methods. The rats were randomly divided into normal control group, model group and treatment group. The weight and pathohistologic change of CAG in the rats were observed. **Results:** After treatment with WK for 10 weeks, the change of the weight in the treatment group was not significantly different from that in the model group. Epithelial cellular morphosis and atrophic degree of gastro mucosal gland were obviously improved. Inflammation cells were reduced significantly. **Conclusion:** WK has the satisfactory effect in treating CAG.

**KEY WORDS** chronic atrophic gastritis; Weiyan Keli; experimental study

临床所见的慢性萎缩性胃炎(慢性萎缩性胃炎伴有重度不典型增生或 3 型肠上皮化生也称为胃黏

膜癌前病变)主要是由于长期的饮食、饥饱失调等原因导致幽门螺旋杆菌感染, 胃黏膜损伤, 加之长期、反复的慢性炎症破坏胃黏膜腺体所致。我们通过多年的临床和实验研究, 将慢性萎缩性胃炎辨证分型为(脾肾)气虚(气滞血淤)湿热和(脾肾胃)阴虚(气滞血淤)燥热。临床上以气虚湿热为多见, 给

基金项目:福建省卫生厅福建省中医药重点项目资助(1999017)

作者简介:王少明(1959-),男,副主任药师, Tel: (0591) 87557768-2037, E-mail: cnfjwsm@163.com.

通讯作者:林才经,男,主任医师,教授.