

· 基础研究 ·

健脾解毒方对幽门螺杆菌诱发胃癌过程
微血管密度及环氧合酶表达的影响

刘宁宁 周利红 殷佩浩 王 炎 范忠泽 李 琦

摘要 目的 探讨健脾解毒方在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)长期感染诱发 C57BL/6 小鼠胃癌过程中对微血管密度(microvessel density, MVD)和环氧合酶-2(COX-2)的调控作用,为其治疗 *H. pylori* 相关性胃病提供实验依据。方法 用 *H. pylori* 标准株悉尼株(*H. pylori* SS1)灌胃的方法建立 *H. pylori* 感染 C57BL/6 小鼠诱发胃癌动物模型,分为对照组、模型组、健脾解毒方低剂量组 and 健脾解毒方高剂量组,每组 40 只小鼠。给药 72 周后处死小鼠,免疫组化法检测各组小鼠胃黏膜 MVD 的变化;实时荧光定量 PCR 法和免疫组化法检测各组小鼠胃黏膜 COX-2 mRNA 和蛋白的表达。结果 对照组、模型组、健脾解毒方低、高剂量组胃癌的发生率分别为 0.22.2%、11.1%和 10.0%;胃黏膜 MVD 分别为 (2.50 ± 1.54) 、 (18.56 ± 2.62) 、 (14.61 ± 3.60) 和 (7.39 ± 1.75) 个/cm²,模型组 MVD 较对照组明显增高($P < 0.01$),健脾解毒方低、高剂量组 MVD 显著降低($P < 0.01$)。模型组 COX-2 mRNA 和蛋白表达较对照组均明显增加($P < 0.01$);健脾解毒方低、高剂量组均可降低其表达,并呈现剂量依赖关系。结论 *H. pylori* 感染可增加 C57BL/6 小鼠胃黏膜 MVD,促进 COX-2 的表达,可能在 *H. pylori* 诱导的胃癌发生中起到促进作用;健脾解毒方可减少小鼠胃黏膜 MVD,抑制 COX-2 的表达,这可能是其防治胃癌的重要机制之一。

关键词 幽门螺杆菌;胃癌;血管新生;微血管密度;环氧合酶-2;健脾解毒方

Effect of Jianpi Jiedu Recipe on Microvessel Density and Cyclooxygenase-2 Expression in *Helicobacter pylori* Induced Gastric Cancer LIU Ning-ning, ZHOU Li-hong, YIN Pei-hao, et al Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (200062)

ABSTRACT Objective To investigate the regulatory effect of Jianpi Jiedu Recipe (JJR) on the microvessel density (MVD) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in long-term infection of *Helicobacter pylori* induced gastric cancer of C57BL/6 mice, thus providing experimental bases for its treatment of the *H. pylori* correlated gastropathy. Methods C57BL/6 mouse gastric cancer model induced by *H. pylori* infection was established by gastrogavage of *H. pylori* standard strain SS1. Mice were divided into the control group, the model group, low dose JJR group, and the high dose JJR group, 40 in each group. Mice were sacrificed after 72-week medication. Changes of the gastric mucosa MVD of mice in each group were detected by immunohistochemical method. Expressions of COX-2 mRNA and protein were detected by Real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction and immunohistochemical method. Results The occurrence rate of gastric cancer in the control group, the model group, the low dose JJR group, and the high dose JJR group was 0, 22.2%, 11.1%, and 10.0%, respectively. The gastric mucosa MVD (number/cm²) of mice in each group was 2.50 ± 1.54 , 18.56 ± 2.62 , 14.61 ± 3.60 , and 7.39 ± 1.75 , respectively. The gastric mucosa MVD in the model group increased more obviously than that in the control group ($P < 0.01$). The gastric mucosa MVD significantly decreased in the low dose JJR group and the high dose JJR group ($P < 0.01$). Expressions of COX-2 mRNA and protein in the model group increased more obviously than those in the control group ($P < 0.01$). Low dose JJR and high dose JJR could de-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30600844, 81072955);上海市卫生局科研项目(No. 2010019);上海市教委青年基金资助项目(No. 09JW44);上海市重点学科资助项目(No. S30302);上海市普陀区科委资助创新项目

作者单位:上海中医药大学附属普陀医院肿瘤科,上海中医药大学中西医结合肿瘤介入研究所(上海 200062)

通讯作者:李 琦, Tel: 021-52669731, E-mail: Lzwf@hotmail.com

crease their expressions in a dose dependent manner. **Conclusions** *H. pylori* infection could increase the gastric mucosa MVD of C57BL/6 mice and promote COX-2 expressions, which might play a promoting effect in the incidence of *H. pylori* induced gastric cancer. JJR could decrease the gastric mucosa MVD and inhibit COX-2 expressions, which might be one of its important mechanisms of preventing and treating gastric cancer.

KEYWORDS *Helicobacter pylori*; gastric cancer; angiogenesis; microvessel density; cyclooxygenase-2; Jianpi Jiedu Recipe

胃癌是我国常见的恶性肿瘤,其发病率居恶性肿瘤的第 2 位,病死率居恶性肿瘤的首位^[1],幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染在胃癌发生过程中起着重要作用,但其引起胃癌发生发展的机制尚不清楚。研究表明^[2],*H. pylori* 感染引起胃癌发生与血管新生关系密切。环氧合酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)是花生四烯酸转化为前列腺素(prostaglandins, PGs)代谢中重要的限速酶,其不仅是启动炎症反应的关键酶,而且其表达和胃癌发生发展密切相关^[3,4]。我们既往的研究^[5]发现以健脾解毒方组方的中药对幽门螺杆菌相关胃病有良好的防治作用,但其确切作用机制尚不清楚。本研究旨在探讨 *H. pylori* 感染诱发 C57BL/6 小鼠胃癌的过程中对微血管密度(microvessel density, MVD)和 COX-2 表达的影响及健脾解毒方的调控作用,为阐明 *H. pylori* 感染诱导胃癌发生机制和健脾解毒方治疗 *H. pylori* 感染胃病提供实验依据。

材料与方法

1 动物标本 采用随机数字表法将 160 只 C57BL/6 小鼠[购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司,动物许可证号为 SCXK(沪) 2003-0002]分成 4 组:对照组、模型组、健脾解毒方(由生黄芪、白术、猪苓、八月札、野葡萄藤、石见穿等组成,由本院制剂中心将全方按比例煎煮,最后浓缩成含生药 1.33 g/mL 的口服液,每支 20 mL 含生药 26.6 g)低剂量组和健脾解毒方高剂量组。除对照组外,参见课题组前期研究^[6],其他 3 组每只小鼠用 *H. pylori* 标准株悉尼株(*H. pylori* SS1)菌液 1 mL(含 1×10^9 CFU)灌胃,间隔 1 天,共感染 5 次,对照组以 1 mL 灭菌 PBS 代替。在末次灌喂菌液后,健脾解毒方低、高剂量组每只小鼠灌喂健脾解

毒方口服液 10、20 mL/(kg·d)[10 mL/(kg·d)为临床用量,而 20 mL/(kg·d)为 2 倍临床用量],均为每天 2 次。72 周时,模型组 *H. pylori* 的定植率为 100%,健脾解毒方低、高剂量组 *H. pylori* 的定植率均为 0。病理检查发现,72 周时,对照组、模型组、健脾解毒方低、高剂量组胃癌发生率分别为 0、22.2%、11.1%、10.0%,参照课题组前期研究^[6]。表明经口灌喂 *H. pylori* 可长期定植 C57BL/6 小鼠胃黏膜,健脾解毒方可降低 C57BL/6 小鼠 *H. pylori* 的定植率;*H. pylori* 感染可诱发 C57BL/6 小鼠胃癌的发生,健脾解毒方可降低小鼠胃癌的发生率。本实验 C57BL/6 小鼠胃黏膜标本均来自既往研究所建立的 *H. pylori* 感染的小鼠,本实验室保存标本,标本存于上海中医药大学附属普陀医院肿瘤实验室。

2 主要试剂与仪器 总 RNA 抽提试剂 RNAiso Reagent,荧光定量 PCR 试剂盒,日本 TaKaRa 公司;兔抗鼠 CD34 多克隆他抗体,兔抗鼠血管内皮生长因子(VEGF)多克隆抗体,兔抗鼠 Ang-2 多克隆抗体,兔抗鼠 Tie-2 多克隆抗体,武汉博士德公司;Envision 试剂(HRP)即用型,丹麦 Dako 公司;Mastercycler ep 银质梯度 PCR 仪,德国 Eppendorf 公司;ABI7300 实时定量 PCR 仪,美国 ABI 公司;GalaxyS CO₂ 培养箱,英国 RS Biotech 公司;Image-Pro Plus(IPP)6.0 专业图像分析软件,美国 Media Cybernetics 公司。

3 引物和探针 甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)和 COX-2 引物探针由上海闪晶生物公司设计并合成,探针 5'端标记上报告荧光基团 FAM(6-carboxy-fluorescein-phosphoramidite),3'端标记上淬灭荧光基团 TAMRA(carboxy-tetramethyl-rhodamine)。引物探针序列见表 1。

表 1 C57BL/6 小鼠 GAPDH 和 COX-2 引物和探针序列

基因	引物	探针
GAPDH	Forward: 5' TCTGTCCGTCGTGGATCTGA3'	5' CCGCCTGGAGAACTGCCAAGTATG3'
	Reverse: 5' CCTGCTTACCACCTTCTTGA3'	
COX-2	Forward: 5' AATGAGTACCGCAAACGCTTCT 3'	5' CCTGAAGCCGTACACATCATTTG3'
	Reverse: 5' TTCTGCAGCCATTTCCTTCTC3'	

4 总 RNA 的提取 取 50 mg 的胃黏膜组织,放入研钵中,边加液氮边研磨,待组织彻底研碎后,加入 1 mL RNAisol,吹打混匀,每管再加入 4 ℃ 预冷氯仿 200 μL,颠倒混匀,室温静置 5 min,4 ℃,12 000 r/min 离心 15 min。吸出水层,加入等体积的异丙醇(约 500 μL),混匀,置于-20 ℃ 冰箱 30 min 后,4 ℃,12 000 r/min 离心 15 min,弃上清。用 1 mL 4 ℃ 预冷的 75% 乙醇(DEPC 处理水配制)洗涤沉淀,4 ℃,8 000 r/min,离心 5 min,吸弃上清。静置 5 min,加入 60 μL DEPC 处理水,溶解 RNA,生物分光光度计测定 RNA 浓度,OD260/OD280 为 1.8~2.0,RNA 产物置-80 ℃ 冰箱保存备用。

5 实时荧光定量 PCR 反应 首先将 mRNA 逆转录为 cDNA,按试剂盒说明,取 1 000 ng 的 mRNA,加入 5 × Buffer 4 μL,Oligo dT primer 1 μL,Random 6 mers 1 μL,PrimeScript™ RT Enzyme Mix 1 μL,再加入 Rnase Free dH₂O 至 20 μL,进行反转录反应,反应条件:37 ℃ 15 min,85 ℃ 5 s,所得 cDNA 于-20 ℃ 保存。荧光定量 PCR 反应体系如下:Premix EX Taq™ 10 μL,Rox Reference Dye 0.4 μL,上下游引物各 0.4 μL,荧光探针 0.8 μL,dH₂O 6 μL,cDNA 2 μL,20 μL 体系,反应条件如下:(1)预变性:95 ℃ 10 s;(2)变性:95 ℃ 5 s,退火、延伸:60 ℃ 31 s,40 个循环,数据采用 ABI 7300 SDS Software 分析。

6 相对 mRNA 表达水平的计算 每个样本靶基因(检测基因)的相对 mRNA 表达水平,能直接用样品各自的内源控制物 GAPDH 表达来标准化加入的初始 RNA 量。即每个样品的靶基因的相对 mRNA 表达水平可以用以下公式计算:相对 mRNA 表达 = $2^{-\Delta\Delta Ct}$, ΔCt 值 = 靶基因 Ct 值 - GAPDH Ct 值。以 GAPDH 作为内参照,同时以正常 MKN45 细胞作为基准,各组细胞 COX-2 mRNA 的表达量表示为正常 MKN45 细胞的 N 倍。 $N = \text{样品 COX-2 的表达量} / \text{基准 COX-2 的表达量} = 2^{-\text{样本}\Delta Ct} / 2^{-\text{基准}\Delta Ct}$,每组均做 3 个样本,取均数。

7 免疫组化 Envision 法检测小鼠胃黏膜 MVD 和 COX-2 取出的小鼠胃黏膜在 10% 中性福尔马林固定液中固定。常规洗涤、各级酒精梯度脱水;二甲苯透明;浸蜡、包埋、切片。常规 4 μm 石蜡切片,58 ℃ 烤 24 h,常规二甲苯脱蜡至水;微波抗原修复,室温自然冷却;羊血清封闭;加入山羊抗小鼠一抗;滴加 EnVision 兔抗山羊二抗(HRP-R),显色;苏木素复染,常规树脂封片;镜下观察,阳性产物为棕黄色或棕褐色,背景为蓝紫色。每批染色均用已知的阳性切片做阳性对照,用 PBS 代替一抗做阴性对照。

8 免疫组化图像 MVD 分析 按照 Weidner^[7] 的方法,即在低倍视野(×40)下扫描整个黏膜组织切片,选择最密集的微血管标记区,低倍视野下确定微血管密集区后,然后在高倍镜下(×400,因小鼠胃黏膜较小,故选取 400 倍视野计数)选取 3 个不重复视野进行计数,求其平均数即作为该标本的 MVD 值。统计微血管的标准:CD34 阳性染色定位于血管内皮细胞,呈棕黄或棕褐色,黏膜组织内孤立的棕黄色或棕褐色内皮细胞或内皮细胞簇均计数为 1 个血管,肌层较厚及管腔红细胞数大于 8 个的血管不被计数。

9 COX-2 蛋白免疫组化分析 采用 Image-Pro Plus(IPP)6.0 专业图像分析软件定量分析,每张盖玻片在高倍镜(×400)下随机选取 3 个视野,摄像并存入计算机,然后用 IPP 进行分析,在“measure-calibration-intensity”中进行光密度校正和定义背景色,在“Count/Size”中将阳性目标从背景色中分离出来,用阳性细胞的积分光密度(IOD)值代表各蛋白表达量的多少^[8]。

10 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 PEMS 3.1 统计软件包进行统计分析。方差齐性检验后,多样本均数比较用单因素方差分析,均数间两两比较采用 Newman-Keuls 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

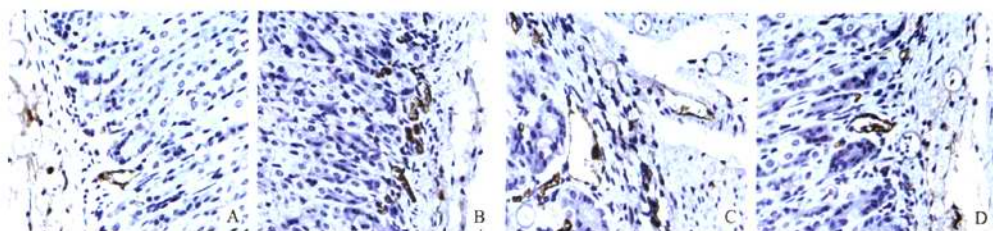
结 果

1 健脾解毒方对 *H. pylori* 感染诱发 C57BL/6 小鼠胃癌过程中 MVD 的影响(表 2,图 1) 与对照组比较,模型组 MVD 明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,健脾解毒方低、高剂量组 MVD 显著降低($P < 0.05$);健脾解毒方高剂量组与健脾解毒方低剂量组比较差异有统计学意义异($P < 0.01$)。

表 2 各组小鼠胃黏膜 MVD 比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	n	MVD(个/cm ²)
对照	6	2.50 ± 1.54
模型	6	18.56 ± 2.62 [*]
健脾解毒方低剂量	6	14.61 ± 3.60 [△]
健脾解毒方高剂量	6	7.39 ± 1.75 ^{△▲}

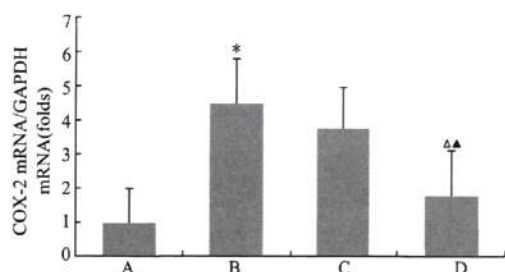
注:与对照组比较,^{*} $P < 0.01$;与模型组比较,[△] $P < 0.05$;与健脾解毒方低剂量组比较,[▲] $P < 0.01$

2 健脾解毒方对 *H. pylori* 感染诱发 C57BL/6 小鼠胃癌过程中 COX-2 mRNA 表达的影响(图 2) 模型组、健脾解毒方低、高剂量组 COX-2 mRNA 的相对表达量分别为对照组的(4.49 ± 1.28)倍、(3.74 ± 1.20)倍和(1.77 ± 1.34)倍。模型组较对照组显著上调($P < 0.01$);健脾解毒方高剂量组低于模型组($P < 0.01$),且低于健脾解毒方低剂量组($P < 0.05$)。



注: A 为对照组; B 为模型组; C 为健脾解毒方低剂量组; D 健脾解毒方高剂量组; 下图同; 对照组 MVD 较小, 而模型组 MVD 显著大于对照组, 健脾解毒方能够有效抑制小鼠胃黏膜 MVD, 呈剂量依赖关系

图 1 各组小鼠胃黏膜 MVD (Envision 法, $\times 400$)



注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与健脾解毒方低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$

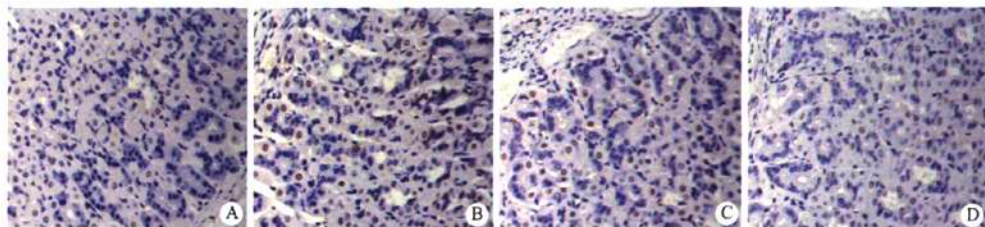
图 2 各组小鼠胃癌过程中 COX-2 mRNA 的表达

3 健脾解毒方对 *H. pylori* 感染诱发 C57BL/6 小鼠胃癌过程中 COX-2 蛋白表达的影响 (表 3, 图 3) 模型组 COX-2 蛋白 IOD 值较对照组显著升高 ($P < 0.01$), 健脾解毒方低、高剂量组均低于模型组 ($P < 0.01$), 健脾解毒方低剂量组与高剂量组比较差异也有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表 3 各组小鼠胃黏膜 COX-2 蛋白 IOD 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	COX-2 蛋白 IOD 值
对照	6	307.76 $\pm$ 261.03
模型	6	8360.47 $\pm$ 729.57*
健脾解毒方低剂量	6	5496.52 $\pm$ 909.58 Δ
健脾解毒方高剂量	6	1224.05 $\pm$ 390.34 $\Delta\Delta$

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.01$; 与健脾解毒方低剂量组比较, $\Delta P < 0.01$



注: 对照组 COX-2 蛋白表达量较低, 而模型组 COX-2 蛋白表达明显升高, 健脾解毒方可抑制小鼠胃黏膜 COX-2 的表达, 呈剂量依赖关系

图 3 各组小鼠胃黏膜 COX-2 蛋白表达 (Envision 法, $\times 400$)

讨论

H. pylori 是一种微需氧的革兰氏阴性细菌, 与胃癌密切相关^[9,10]。1998 年 Watanabe 等^[11]采用 *H. pylori* 感染蒙古沙土鼠, 成功诱发了胃癌, 首次从实验动物上直接证实 *H. pylori* 感染是胃癌的发病因素。*H. pylori* 感染引起胃癌的机制十分复杂, 至今尚不明确。本课题组既往研究^[6]表明, 经口灌喂 *H. pylori* 可长期定植 C57BL/6 小鼠胃黏膜。本研究病理检查发现, 72 周时, 模型组胃癌发生率分别为 22.2%, 表明 *H. pylori* 感染可诱发 C57BL/6 小鼠胃癌的发生, 而健脾解毒方可降低小鼠胃癌的发生率。

无控制侵袭性生长是恶性肿瘤的主要特征, 与肿瘤组织中血管生成密切相关。新生肿瘤血管不仅为肿瘤细胞提供营养物质和氧气, 运走代谢废物, 还以旁分泌的形式刺激肿瘤生长。陶厚权等^[12]用化学致癌剂 N-甲基-N'-硝基-亚硝基胍 (MNNG) 诱发建立大鼠胃癌前病变及胃癌模型, 发现与增生期和轻度异型增生相比, 中、重度异型增生的 MVD 明显增高, 至浸润性癌期, 浸润前缘周围血管异常丰富, 肿瘤组织间质也有血管生成。本研究发现 *H. pylori* 感染 C57BL/6 小鼠 72 周时, 胃黏膜组织中 MVD 较对照组明显升高, 说明 *H. pylori* 长期感染可以增加胃黏膜的 MVD, 血管新生在胃癌发生的早期即已开始, 胃黏膜血液供应的增加

可能标志着其损害严重,代谢活动增强,所需营养增加,这可能是胃黏膜继发癌变的重要物质基础。

COX-2 与胃癌的发生发展密切相关,COX-2 的过度表达一方面能逃逸细胞凋亡,使细胞间具有异常的连接,从而获得浸润表型。COX-2 过度表达可增加前列腺素 E_2 (PGE_2) 的合成, PGE_2 诱导细胞增殖并刺激 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因 (*bcl-2*) 蛋白表达,降低介导凋亡的转化生长因子- β ($TGF-\beta$) 2 型受体水平,降低介导细胞间黏附的 E-钙粘蛋白 (*E-cadherin*) 活性,从而抵抗各种刺激诱导的细胞凋亡,促进胃黏膜细胞增殖,引起肿瘤的发生^[13-15]。

另一方面 COX-2 能上调肿瘤细胞周围的血管生成因子,促进肿瘤的血管生成。COX-2 不仅在肿瘤细胞内强烈表达,而且在肿瘤组织中的新生血管内皮细胞也强烈表达,且表达水平与肿瘤组织中的微血管密度及 VEGF mRNA 含量正相关,而 COX-2 选择性抑制剂可明显抑制新生血管的生成,这表明 COX-2 与肿瘤新生血管的生成密切相关^[16]。Yu HG 等^[17] 对 45 例胃癌患者的研究结果显示:胃癌组织中存在 COX-2 的高表达,COX-2 表达与 VEGF 表达显著相关,且 COX-2 和 VEGF 均阳性的胃癌组织 MVD 亦明显高于两者均阴性者。我们研究证实,*H. pylori* 感染 C57BL/6 小鼠 72 周后,模型组 COX-2 mRNA 和蛋白表达量较对照组显著上调,说明 *H. pylori* 可通过促进 COX-2 的表达,在胃黏膜的癌变过程中发挥作用。

近年来中医药在幽门螺杆菌相关性胃癌的防治中取得了很大的进展。我们通过大量的临床观察发现^[5,18,19],*H. pylori* 感染初期一般表现为实证、热证,随着疾病的进展,人体正气渐虚,出现脾胃虚弱的表现。其病位在胃,病本在脾,以本虚标实为特点。我们学科 90 年代开始以健脾解毒为主的治法防治 *H. pylori* 感染相关性胃病,并通过大量的临床和实验研究表明健脾解毒法在治疗 *H. pylori* 感染相关胃病中有着重要的地位,以健脾解毒为主方的辨证治疗疗效优于其他治法,但其治疗机制尚不清楚。健脾解毒方是我院内制剂,命名为肠胃清口服液,已获得国家发明专利。方中黄芪健脾扶正为君;白术、猪苓健脾化湿为臣;石见穿、野葡萄藤,八月札为佐使,解毒理气。

本研究发现,健脾解毒方能显著降低 *H. pylori* 感染小鼠致癌率,减少小鼠胃黏膜 MVD,减少血液供应,使胃黏膜的代谢活动减弱,这可能是其防治胃黏膜继发癌变的重要机制。健脾解毒方也可显著下调小鼠胃黏膜 COX-2 mRNA 和蛋白的表达,提示这可能是其抑制血管生成,防治胃癌的重要作用靶点。

参 考 文 献

- [1] 孙秀娣,牧人,周有尚,等. 中国胃癌死亡率 20 年变化情况分析及其发展趋势预测[J]. 中华肿瘤杂志, 2004, 26(1):4-9.
Sun XD, Mu R, Zhou YS, et al. Analysis of the mortality rate of stomach cancer and its trend in twenty years in China[J]. Chin J Oncol, 2004, 26(1):4-9.
- [2] 刘宁宁,王炎,刘宣,等. COX-2 介导幽门螺杆菌诱导的人胃癌细胞 VEGF 表达[J]. 中国癌症杂志, 2010, 20(1):1-5.
Liu NN, Wang Y, Liu X, et al. COX-2 mediated VEGF expression in *Helicobacter pylori*-induced human gastric cancer MKN45 cells[J]. China Oncol, 2010, 20(1):1-5.
- [3] 李琦,范忠泽,孙珏,等. 幽门螺杆菌对人胃癌 MKN45 细胞 p38MAPK 信号通路激活作用的研究[J]. 中国癌症杂志, 2008, 18(11):801-805.
Li Q, Fan ZZ, Sun J, et al. Study of *Helicobacter pylori* on p38MAPK signal transduction pathway activation in gastric epithelial cancer cells line MKN45 [J]. China Oncol, 2008, 18(11):801-805.
- [4] 李琦,范忠泽,孙珏,等. 幽门螺杆菌诱导人胃癌 MKN45 细胞 COX-2 表达的信号转导研究[J]. 肿瘤, 2009, 29(2):108-112.
Li Q, Fan ZZ, Sun J, et al. Study on signal transduction pathway of *Helicobacter pylori*-induced COX-2 expression from gastric epithelial cell line MKN45 [J]. Tumor, 2009, 29(2):108-112.
- [5] 花根才,范忠泽,孙珏,等. 肠胃清口服液治疗慢性胃炎伴幽门螺杆菌感染临床观察[J]. 上海中医药杂志, 2003, 37(7):9-11.
Hua GC, Fan ZZ, Sun J, et al. Clinical observation of Changweiqing Oral Liquid in treating HP-related chronic gastritis [J]. Shanghai J Tradit Chin Med, 2003, 37(7):9-11.
- [6] 李琦,刘宁宁,赵成根,等. 幽门螺杆菌长期感染诱发 C57BL/6 小鼠胃癌模型的建立及对血管新生的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(16):1637-1642.
Li Q, Liu NN, Zhao CG, et al. Establishment of a mouse model of chronic *Helicobacter pylori* infection-induced gastric adenocarcinoma and its effect of *Helicobacter pylori* infection on angiogenesis [J]. World Chin J Dig, 2010, 18(16):1637-1642.
- [7] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors [J]. Breast Cancer Res Treat, 1995, 36(2):169-180.
- [8] 于萍,步宏,王华,等. 免疫组化结果的图像分析与人工计数方法的对比研究[J]. 生物医学工程学杂志,

- 2003, 20(2): 288-290.
- Yu P, Bu H, Wang H, et al. Comparative study on image analysis and manual counting of immunohistochemistry [J]. J Biomed Eng, 2003, 20(2): 288-290.
- [9] Malferttheiner P, Bornschein J, Selgrad M. Role of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer pathogenesis; a chance for prevention [J]. J Dig Dis, 2010, 11(1): 2-11.
- [10] Li Q, Liu N, Shen B, et al. *Helicobacter pylori* enhances cyclooxygenase 2 expression via p38MAPK/ATF-2 signaling pathway in MKN45 cells [J]. Cancer Lett, 2009, 278(1): 97-103.
- [11] Watanabe T, Tada M, Nagai H, et al. *Helicobacter pylori* infection induces gastric cancer in Mongolian gerbils [J]. Gastroenterology, 1998, 115(3): 642-648.
- [12] 陶厚权, 邹寿椿, 王瑞年, 等. 血管生成与胃癌发生之间关系的实验研究[J]. 世界华人消化杂志, 2003, 11(1): 43-46.
- Tao HQ, Zou SC, Wang RN, et al. Relationship between gastric carcinogenesis and angiogenesis [J]. World Chin J Dig, 2003, 11(1): 43-46.
- [13] Fosslien E. Molecular pathology of cyclooxygenase-2 in neoplasia [J]. Ann Clin Lab Sci, 2000, 30(1): 3-21.
- [14] Crabtree JE, Court M, Aboshkiwa MA, et al. Gastric mucosal cytokine and epithelial cell responses to *Helicobacter pylori* infection in Mongolian gerbils [J]. J Pathol, 2004, 202(2): 197-207.
- [15] Moss SF, Sordillo EM, Abdalla AM, et al. Increased gastric epithelial cell apoptosis associated with colonization with *cagA*⁺ *Helicobacter pylori* strains [J]. Cancer Res, 2001, 61(4): 1406-1411.
- [16] Rofail M, Lee LR. Perfluoro-n-octane as a postoperative vitreoretinal tamponade in the management of giant retinal tears [J]. Retina, 2005, 25(7): 897-901.
- [17] Yu HG, Li JY, Yang YN, et al. Increased abundance of cyclooxygenase-2 correlates with vascular endothelial growth factor-A abundance and tumor angiogenesis in gastric cancer [J]. Cancer Lett, 2003, 195(1): 43-51.
- [18] 曹勤, 孙珏, 沈江帆, 等. 肠胃清抗幽门螺杆菌感染的临床前瞻性研究[J]. 中华消化杂志, 2000, 20(1): 70-72.
- Cao Q, Sun J, Shen JF, et al. Clinical prospective studies of Changweiqing Oral Liquid in anti-*Helicobacter pylori* infection [J]. Chin J Dig, 2000, 20(1): 70-72.
- [19] 孙绮文, 孙珏, 陈惠娟, 等. 肠胃清口服液根除幽门螺杆菌的疗效观察和实验研究[J]. 上海中医药大学学报, 2001, 15(3): 22-23.
- Sun QW, Sun J, Chen HJ, et al. Observation of therapeutic effect and experimental study of Intestine and Stomach-Cleaning Oral Liquid in eliminating *H. pylori* [J]. Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai, 2001, 15(3): 22-23.

(收稿: 2010-06-28 修回: 2010-12-28)

第十五届全国中西医结合疡科学术交流会征文通知

第十五届全国中西医结合疡科学术交流会暨第五届委员会委员换届大会拟于 2011 年 9 月中旬在湖南省张家界市召开。全国中西医结合疡科学术交流会已成功举办了十四届, 成果益丰, 影响不断扩大。2011 年是“十二五”的开局之年, 我会将进一步突出中西医结合的特点, 为广大疡科和相关学科, 以及医药界的同仁提供一个交流经验, 沟通信息, 拓展业务, 合作发展的机会。现将征文有关事项通知如下。

征文内容: (1) 有关国内外中西医结合疮疡、糖尿病足、周围血管病、肿瘤、骨伤科、烧伤、皮肤病、肛肠、乳腺病等的临床研究及其理、法、方、药的基础理论研究; (2) 剂型改革, 新药开发及推广, 剧毒及短缺药材代用品的开发等; (3) 治疗与检查仪器的开发及推广应用; (4) 应用引进国外新技术、新方法经验介绍。

征文要求: (1) 论文要以中西医结合为主要内容; (2) 文题显明、突出、层次清楚、标点准确, 一般不超过 4 000 字, 摘要字数 800~1 000 字, 包括题目、作者、单位、目的、方法、结果及结论等内容, 不含图表。 (3) 来稿请用 word 文档, 发送电子邮件至 yangkexuehui@sina.com; (4) 总结材料要有客观指标和数据、论证要充分, 有实用价值; (5) 论文须经本单位推荐并加盖公章; (6) 请自留底稿, 录用与否概不退稿。

论文邮寄地址: 天津市红桥区北马路 354 号 (邮编 300120), 天津市中医药研究院疮疡研究所李兰青收 (请于信封左下角注明: 会议稿件)。

联系电话: 022-27285209, 15822130335。

E-mail: yangkexuehui@sina.com

截稿日期: 2011 年 7 月底 (以邮戳为准)。