

中国医学科学院
中国协和医科大学

科学年会学术论文集

(1994 · 北京)

中国医学科学院中国协和医科大学科研处编

北京医科大学中国协和医科大学联合出版社

[京]新登字 147 号

图书在版编目(CIP)数据

科学年会学术论文集/医科院科研处编. —北京:北京
医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1994
ISBN 7-81034-436-6

I. 科… II. 医… III. 医学-年会-文集 N. R-53
中国版本图书馆 CIP 数据核字(94)第 10137 号

中国医学科学院
中国协和医科大学
科学年会学术论文集
(1994·北京)

责任编辑:徐允盛

*
北京医科大学
中国协和医科大学联合出版社出版
四方计算机照排中心排版
中国人民解放军第一二二厂印刷
新华书店北京发行所发行

*
787×1092 毫米 1/16 印张 25.75 千字 636
1994 年 9 月第一版 1994 年 9 月北京第一次印刷
印数:1—1000

ISBN 7-81034-436-6/R · 435
定 价:38.50 元

前 言

作为中国医学科学院应该是代表我国医学水平、参与国际竞争的重要科学研究基地。在这个基地里不断培育出新概念、新理论、新方法、新技术。学术交流有助于互相启迪、互相借鉴、互相学习,有助于活跃学术空气、净化学术环境。同时又是发现人才的好机会。举办学术交流,就是为科学家提供一个发表学术观点,报告科研成果,讨论学术问题的一个舞台。从中将会有一大批卓有成就的科学家,在报告他们自己工作的同时,也为广大群众传送严谨求实的科学精神,还会有一大批颇有见解、很有前途的中青年科学家,在学术交流过程中显现才干和水平,被大家所识别,被群众所认同。

医科院、协和医大决定每年召开一次科学年会的目的,就是要把医科院、协和医大的学术空气搞得浓浓的,把医科院、协和医大的科学研究工作提高到一个新水平。同时,为全院的科技工作者提供一个平等竞争、自由讨论、共同提高的机会。

希望这次年会圆满成功。

巴德年

一九九四年七月

目 录

一、大会交流论文

淋巴细胞功能相关基因表达调控的研究.....	沈珮菲等(3)
激素分泌性垂体瘤的临床和基础研究.....	史轶繁等(8)
食管癌癌基因和抗癌基因的研究进展	陆士新等(10)
三种中国产的红豆杉属(Taxus)植物的化学研究	陈未名等(13)
食管癌早期诊断的内窥镜研究	王国清(18)
与生殖发育有关的一些蛋白质基因的研究	王琳芳等(22)
新一代治疗慢性肝炎药的研究	刘耕陶等(25)
宫颈癌病毒病因及癌变原理的细胞与分子生物学研究	司静懿等(29)
128 例主动脉根部瘤的外科治疗	朱晓东等(33)
丁型肝炎病毒中国 Sh 株的 cDNA 克隆及基因变异分析	周思亮等(40)
我所西洋参引种栽培研究的现状与今后的发展	刘铁城等(45)
癌症和一些常见病的化学预防试验效果初步报告	黎钧耀(49)

二、小会交流论文

1. 基础医学(一)

人 β 珠蛋白基因红系特异增强子的系列研究	刘德培等(63)
红细胞终末分化调节因子的鉴别及其在自然去核和珠蛋白基因表达中的 调控作用	薛社普等(68)
$\alpha 1$ 抗胰蛋白酶变异型 Etokyo 的基因结构特征	周春水等(76)
跨膜信息传递机理研究的一些新进展	张德昌等(80)
癌基因及抗癌基因在实验性动脉粥样硬化斑块中的转录表达	汪浩川等(83)
p 53, c-k i-ras, c-myc 和 MDM-2 基因与食管癌高危家族遗传易感性	朱丹等(91)
转 Ren-2 基因大鼠的制备	田小利等(94)
树鼯高密度脂蛋白抗动脉粥样硬化的机理研究	梁平等(97)
用穿梭质粒研究非定标性突变及其序列特异性.....	张小山等(102)
经络和循经感传的神经生物学性质研究.....	谢益宽等(108)
核酶 Ripc 和 Z346 在细胞培养中对乙型肝炎病毒基因表达和复制的 作用.....	郭巨涛等(112)
脆性 X 智力低下基因的研究	吴冠芸等(117)
苯丙酮尿症基因诊断研究的新进展.....	黄尚志等(119)
抗纤维蛋白单克隆抗体可变区基因克隆及其表达.....	宋增璇等(123)
油酸钠刺激大鼠胰液分泌的机制.....	周吕等(124)

2. 基础医学(二)

考察队员在南极居留时心功能及神经体液内分泌的变化·····	薛全福等(127)
细胞和组织射频介电弛豫特性分析·····	鲁勇军等(134)
HI 系列单克隆抗体在血液学中的应用 ·····	沈德诚等(140)
囊虫病患者红细胞免疫功能的研究·····	徐之杰等(145)
新生隐球菌的生态学、流行病学、分子生物学及临床研究·····	吴绍熙等(149)
锂增强 LAK 细胞活性及抗肿瘤作用 ·····	吴易元等(155)
可溶性肿瘤抗原和抗-CD ₃ 单克隆抗体共同诱导杀瘤细胞及临床试用的研究·····	陈毓仙等(162)
淋球菌耐药性的分子生物学研究和流行病学监测·····	叶顺章等(169)
人胰腺癌的分子生物学研究·····	刘彤华等(175)
低硒及有关因素在克山病、大骨节病病因中的作用的比较研究 ·····	毕华银等(177)
人肝 F 蛋白分离和纯化 ·····	李怀芬等(182)
大鼠肠系膜微淋巴管自律运动特征的研究·····	张坚等(188)
肺血管构型重组与肺动脉高压的关系和药物阻抑效应观察·····	车东媛等(195)
KM-1d 突变株小鼠的模型建立及遗传分析 ·····	史顺娣等(204)
程控冻存对人单个核细胞产生 IL-1、IL-2 能力影响的研究 ·····	黄河等(208)
猴免疫缺陷病毒(SIV)猴模型的建立和中药实验治疗的观察 ·····	卢耀增(214)
3. 临床医学	
十年风湿病学研究·····	张乃峥(216)
羟基铬对人工生物瓣组织交联作用的实验研究·····	金磊等(221)
低氧放射治疗的研究·····	殷蔚伯等(229)
巨大心脏瓣膜替换术患者的临床形态分型及疗效的观察·····	胡盛寿等(232)
在我国不同人群中有关艾滋病知识、态度、信念、行为调查 ·····	廖苏苏等(237)
糖尿病性视网膜病变·····	张承芬等(241)
射频消融治疗快速心律失常 245 例临床分析·····	张奎俊等(244)
急性白血病化疗和自身骨髓移植治疗研究·····	卞寿庚等(247)
分枝型室性心动过速的临床和电生理研究·····	朱俊等(250)
盐敏感者在高血压人群中的分布及钠代谢改变·····	刘治全等(253)
中国老年收缩期高血压临床试验第二阶段小结·····	集体作者(258)
胃肠外营养与胃肠内营养支持及其进步·····	蒋朱明等(261)
全平面经食管超声探查切面初探·····	王国干等(266)
腭裂与腭咽闭合不全的综合根治手术·····	李森恺等(271)
我国医用诊断 X 射线工作者 1950~1990 年间恶性肿瘤危险分析 ·····	王继先等(276)
静脉蒂营养的静脉皮瓣成活过程及其临床应用可行性的研究·····	陈宗基等(284)
时间分辨荧光免疫分析测定微量尿白蛋白·····	赵启仁等(289)
4. 药物	
中草药化学成分的 X 衍射晶体结构研究 ·····	郑启泰(297)
肿瘤细胞多药耐药(MDR)基因及逆转研究 ·····	杨纯正(302)
药用昆虫的开发利用——五倍子繁殖增产技术研究概况·····	程惠珍等(304)

雷公藤抗炎免疫及抗生育有效成分研究的回顾及进展·····	郑家润等(308)
体育竞赛中违禁药物检测——人尿中蛋白同化激素的色质联用分析 及代谢研究·····	刘春胜等(311)
猪苓菌核结构及其与蜜环菌关系的超微结构研究·····	郭顺星等(317)
含羟基氨基酸小肽的合成及其抗孕酮生成活性·····	鲁桂琛等(319)
含烯二炔发色团的新抗生素 C1027 的抗肿瘤作用研究 ·····	甄永苏等(328)
番荔枝属植物抗肿瘤活性成分的研究·····	余竞光等(335)
雷公藤有效成分治疗类风湿关节炎的深入研究·····	于德泉(343)
右旋糖酐衍生的色谱凝胶的研制·····	郭洪(348)
常用中药藿香化学成分的研究·····	徐丽珍等(353)
黄皮酰胺促智作用机制的研究·····	张均田等(356)
几种柑橘皮提取物对蚜、螨类害虫杀虫活性的初步研究 ·····	樊瑛等(366)
第三代新维甲类化合物 R9158 的癌分化诱导作用及其作用机理研究 ·····	何小庆等(371)
5. 其他	
中国医学情报事业的发展战略·····	王汝宽(380)
卫生决策是如何作出的·····	高岚(386)
医学科技领域发展研究的战略思考·····	王汝宽(399)

一、大会交流论文

淋巴细胞功能相关基因表达调控的研究

沈翊珩 吴宁华 程小款 莽 锐 侯忠诚 穆修前 刘巨洪

施一江 衡凤燕 刘立德 杜 恺 边立军 黄 煌

医学分子生物学国家重点实验室

基础医学研究所分子生物学与生物化学系

北京 100005

真核基因表达的多级调控是当今分子生物学研究最活跃的前沿。揭示重要基因表达的调控机制是阐明生命现象本质的关键和基础。

淋巴细胞是人体免疫网络的中心，具有重要的调节和效应功能，与这些功能有关的基因在准确的时空控制下表达是保证人体健康的基本条件。自 1983 年以来，本课题组就开始从基因水平、转录水平和转译水平及转录调控机制对与人淋巴细胞功能相关的基因进行了系统的研究。

一、淋巴细胞“自分泌”调节体系基因表达的研究

活化 T 淋巴细胞表达的白细胞介素 2 (IL2) 及其受体 (IL2R) 所组成的自分泌体系在淋巴细胞的生长、分化、增殖及凋亡的生命周期中具有重要作用。本组以 IL2 和 IL2R α 分别作为 T 细胞分化和增殖的标志，研究在不同刺激条件下它们的基因表达规律，发现：(1) 激活的人外周血 T 细胞中，IL2R α mRNA 的表达早于 IL2，Jurkat 细胞的 IL2R α 的峰值略后移；(2) IL2R α mRNA 的表达主要受 PHA 的诱导，表达强度与 DNA 的合成相关，佛波脂 (TPA) 可能参与稳定 PHA 诱导的中等水平表达；(3) TPA 在 IL2 mRNA 和活性蛋白质水平上的表达都起重要作用；(4) 升温不抑制 PHA/TPA 诱导的 IL2 mRNA 的表达和生物活性，有时还呈现增强作用；(5) 类固醇激素受体家族之一维生素 D3 受体 (VDR) 基因的过度表达有增强 IL2 及其受体基因转录的活性；(6) 为研究游离型 IL2R α 在自分泌调节中的功能，本组成功地构建了能稳定表达分泌型 IL2R α 基因的 CHO 细胞系。

二、IL2R α 基因细胞特异性转录调控机制

IL2R 在 T 淋巴细胞中的表达是淋巴细胞克隆扩增和产生一定强度免疫应答的前提。IL2R α 基因通常是由抗原、丝裂原诱导表达的；在某些病毒感染的淋巴细胞中该基因呈现持续性表达。B3D5 细胞是由 EB 病毒转化的人外周血 B 淋巴瘤母细胞系，用流式细胞仪检测 95% 的细胞表面 Tac 抗原 (IL2R α 链) 阳性，提示该细胞的持续表达性质；此外，由于该细胞基因

组中 IL2R α 基因 5' 旁侧-482bp 跨度内的 DNA 序列未发现任何缺失或突变, 提示反式因子对该基因的持续高表达起重要作用。本课题组进而从反式作用因子和顺式调控元件两方面对该基因在 B3D5 细胞中持续表达的转录调控机制进行了研究。

1. 高诱导活性体外转录体系的建立: 基因启动子和转录起始位点下游 DNA 模板的基本转录单位, 在加入全细胞提取物后, 可在体外转录出基础水平的模板全长 (Run-off) 转录产物。国际上直到 1990 年才证实体外无细胞全长转录体系具有细胞特异性的诱导活性。为研究 B3D5 细胞特异性转录因子及其特性, 本组首先成功地建立了 IL2R α 基因体外全长转录体系。

1) IL2R α 基因在 HeLa 全细胞提取物中的基础转录特点: HeLa 全细胞抽提物能够为任何含有真核细胞基因启动子区的 DNA 模板转录提供转录所必要的 RNA 聚合酶 I 和组成转录起始复合体有关的多种蛋白质因子, 然而所产生的只能是基础水平的转录。

在 HeLa 体系中, 我们的研究结果显示 IL2R α 基因的 5' 上游-482/-350bp 之间存在对转录起负调控作用的 DNA 元件; 并发现位于负调控元件附近-391/-380bp 有 12 个碱基正好与其下游-154/-143bp 的序列中 10 个碱基互补, 它们有可能借助蛋白质形成茎环状结构干扰其下游启动子区, 或干扰转录起始复合体的形成, 影响基础转录活性。

2) B 淋巴细胞核提取物 (NE) 对 IL2R α 基因的体外诱导转录活性: 在上述 HeLa 全细胞抽提物的体外转录体系中, 加入 B3D5 细胞的 NE 可高效诱导体外模板全长转录产物达 16~80 倍以上。特别值得注意的是: (1) 淋巴细胞 NE 对 HeLa 体系起始于 +1 的基础转录抑制有去阻扼或诱导作用; (2) 启动了位于上游-58bp 处的转录起始点。在体外无细胞体系中, 核因子参与转录起始点的选择性在国内外尚未见任何报道。

2. B 淋巴细胞中特异性 DNA 结合蛋白的检测: 用含有 IL2R α 基因上游负调控区及正调控元件的 DNA 片段作探针分别与 B3D5、PHA 活化的 Jurkat T 细胞 NE 和 HeLa 全细胞提取物进行凝胶迁移率变更分析, 发现三种细胞抽提物与负调控区的结合图谱明显不同; 在紫外交联分析中显示 HeLa 细胞中的结合蛋白分子量为 51kD, 而 B3D5 的 NE 中有 80kD 的负调控区结合蛋白; 在与正调控区结合分析中, 紫外交联分析测得 B 细胞中含有 71kD 的特异结合蛋白。

3. IL2R α 基因转录起始位点的选择性应用: 为比较 IL2R α 基因的两个主要转录起始位点 (-58 及 +1bp) 在不同细胞中的转录活性, 分别构建了以荧光酶为“报告基因”, 其上游含有一58 和 +1, 以及只含有一58 转录起始位点的 IL2R α 基因启动子区和正调控区表达质粒, 并转染 Jurkat 和 B3D5 细胞。结果显示 B 细胞对 -58 转录起始点有明显的选择性, 而 T 细胞以 +1 起始为主。这些现象从另一个侧面提示 B3D5 细胞持续高水平表达 α 链亚基可能与该细胞中存在能特异地诱导 -58bp 位点及其上游 TATA 盒的转录活性的调控因子有关。

4. IL2R α 基因在活性染色质中的分布: 通过有机汞亲和层析柱将 B3D5 细胞染色质分成活性与非活性两部分。分别用 IL2R α 基因 cDNA 及含有该基因上游正调控区的片段作为探针, 进行杂交分析, 发现该基因编码区及调控区均分布在活性染色质部分, 提示 IL2R α 基因在 B3D5 细胞中还存在染色质水平的调控机制。

三、淋巴细胞中热休克蛋白基因双重调控表达的研究

热休克蛋白 (HSP) 是由升温 (热休克) 或其它理化、生物等因素诱导表达的一类保守蛋

白质,包括 HSP90、HSP70、小分子 HSP 及泛素等,它们对保护机体免受不良因素的损伤具有重要作用。鉴于升温可诱导 IL2 表达,机体天然免疫应答又经常伴有发热及 HSP 参与调节免疫抑制剂的功能等线索,为探讨 HSP 对淋巴细胞功能的影响,本组建立了 T 淋巴细胞体外激活和热休克的模型。从体内标记氨基酸参入和体外网织红细胞转译体系中发现热休克可诱导静止或活化 T 淋巴细胞至少合成十余种分子量不同的多肽,其中以 HSP70 和 HSP90 为主。与 HSP70 不同,HSP90 不仅在正常生理条件下的淋巴细胞中呈低水平表达,而且也在丝裂原激活的细胞中表达。由于两种诱导的动力学不同,我们提出了 HSP90 基因的表达受热休克和丝裂原“粗”、“细”双重调控的模式。

在 mRNA 水平对 HSP90 α 和 β 基因表达的研究中,发现 Jurkat 细胞未经诱导时以 β mRNA 表达为主,热休克导致 α/β 比值明显升高。PHA 激活时明显诱导 β mRNA 的表达。HSP90 α 和 β 在诱导表达中所呈现的差异可能是“粗”、“细”调节的基础,还提示这两种结构极相似的蛋白质在生理功能上可能不同。

四、人淋巴细胞中 HSP90 β 基因转录调控机制的研究

鉴于在淋巴细胞中 HSP90 β 是 HSP90 mRNA 表达的主要成分,又是丝裂原诱导表达的产物,本课题组研究了该基因的转录调控机制。典型的热休克应答是通过活化的热休克因子(HSF)与 HSP 基因上游热休克元件(HSE)的相互作用活化转录的。与别的热休克蛋白不同,HSP90 基因是 HSP 家族中唯一含有内含子的成员,而且 HSP90 β 基因上游区缺乏 HSE,只有几个 HSE 相似序列,但它的第一内含子中却含有三个典型的 HSE,并有较多的 SP-1 结合位点等 G、C 丰富区,本课题组首次通过真核转染研究了 HSP90 β 基因 5' 不同长度上游片段在各种刺激条件下对转录的影响,以阐明 HSP90 β 基因上游片段的转录诱导活性。

本课题组以人工合成的一对寡核苷酸为引物,以人外周血淋巴细胞 λ GEM-11 基因文库为模板,通过 PCR 扩增并克隆了人 HSP90 β 基因上游-1102/+68bp 片段。将该片段删切后克隆在报告基因——萤火虫荧光素酶基因 5' 上游,转染 Jurkat 细胞后测定在静止状态、PHA 诱导及热休克下细胞裂解液中的荧光酶活性,发现:(1) HSP90 β 基因上游片段在正常生理状态下介导较高水平的基础转录,这一活性只与启动子区有关;(2) 热休克时该片段介导一个负调控过程,主要的负调控区位于-554/-171bp 之间;(3) β 基因 5' 上游远端序列是 PHA 诱导的主要应答元件,启动子及其附近的序列对 PHA 的刺激不敏感。

五、人 HSP90 β 基因的染色体定位

基因定位是分子遗传学的一项重要基础性研究,可为人类基因组结构提供资料,并有可能为基因功能提供重要线索。目前,国内外文献中尚未见有关人 HSP90 活性基因的染色体定位的报道。本组以 β 基因上游序列为探针,首次直接将带有上游调控序列的人 HSP90 β 单拷贝基因定位于 5q13-5q22。通过该区基因的连锁分析,有助于阐明 HSP90 β 基因生理意义。

小 结

本课题组以人淋巴细胞为对象,在国内率先开展了与其功能相关基因的表达、基因转录水平调控、基因结构与功能等方面的研究,取得了重要进展,并在此分子生物学活跃的前沿领域中跻身于国际先进行列。主要成绩如下:

1. 首先系统地研究了以 IL2 及其受体为代表的人淋巴细胞“自分泌调节体系”的基因在蛋白质活性、mRNA 水平上多因素诱导表达的规律性,以及基因的诱导转录调控机制。

2. 首次发现真核基因在体外全长转录体系中诱导高水平的、细胞特异的转录活性和转录起始位点的选择性。

3. 首次报道 B 淋巴细胞核提取物对 IL2R α 基因在 HeLa 细胞体系中的转录高诱导活性、对 5' 转录起始位点的特殊选择性,并可消除依赖上游序列的阻遏效应。

4. 首先研究并报道了人淋巴细胞中热休克蛋白基因表达的规律性,发现 HSP90 基因的双重诱导现象,首次提出 HSP90 基因的“粗”、“细”调节模式,并从 HSP90 α 、 β mRNA 在人淋巴细胞中表达的特点,及 HSP90 β 基因转录水平调控机制的研究中得到进一步的验证。

5. 首先报道了人 HSP90 β 活性基因定位于第 5 号染色体 5q13—5q22 区。

本课题有关工作目前正在深入研究中。

致谢:本所王世中教授为本项研究在国内的启动和开展给予了热情的支持,慷慨提供了部分资金和多种便利条件,朱立平教授慷慨提供了 B3D5 细胞,强伯勤教授热情指导了本研究,程在玉教授对基因的染色体定位给予了热情的指导和帮助,特此向他们表示衷心的感谢。

主要参考文献

1. 沈珥珩等. T 淋巴细胞基因表达的研究: I IL2 及其受体 mRNA 的表达. 第二次分子免疫研究进展学术讨论会论文摘要汇编, 南京, 1986.
2. 沈珥珩等. 升温(热休克)诱导的 T 淋巴细胞多肽合成. 生物化学杂志, 1986, 2: 21-28.
3. 沈珥珩等. 热休克与 ConA 激活对 T 淋巴细胞的双重作用. 生物化学杂志, 1986, 2: 35-39.
4. Shen Y F. Thermic effects on the expression of human lymphocyte genes. J Cell Phys Suppl, 1986, 4: 35-40.
5. 沈珥珩等. 热休克 T 细胞中 mRNA 的表达. 生物化学杂志, 1987, 3: 131-138.
6. Shen Y F. Molecular aspects of heat shock responses in human T lymphocytes. 《Current biochemical research in China》. New York: Academic Press, 1989; 233-243.
7. 沈珥珩等. 白细胞介素 2 基因的表达及热休克对它的影响. 中国医学科学院学报, 1988, 10: 209-214.
8. Shen Y F. The regulation of IL-2 receptor α gene expression in human T and B lymphocyte. in: “Recent advances in biochemistry” (Buun SM, et al. eds); Seoul, Korean Biochemistry Society, 1991, pp199-202.
9. Shen Y F. Trans acting factors in the regulation of human IL2R gene expression. Protein Research Conference, Hawaii, 1992.
10. Mu XQ et al. Studies on the mechanism of immune regulation by vitamin D3 receptor. 6th FAOB Congress, Shanghai, 1992, p30.

11. 王永俊等. 真核 RNA 聚合酶 II 无细胞体外转录体系的构建及其应用. 生物化学与生物物理进展, 1993, 20 (1) : 68-71.
12. Shen YF, et al. Inducible upstream sequence dependent *in vitro* transcription on IL-2R α Gene. Abs. in Cold Spring Harbour Meeting on "Mechanism of eukaryotic transcription". New York, 1993, p202.
13. 莽锐等. 白细胞介素 2 受体 α 链基因 DNA 结合蛋白的研究. 第五次基因结构、克隆与调控学术讨论会, 厦门, 1993. p89.
14. 沈翊珩等. 白细胞介素 2 受体 α 链基因的体外转录研究. 自然科学进展, 1994, 4 (5) : 96—101.
15. 黄煌等. HSP90 基因表达机制的探讨. 中国医学科学院学报, 1994, 16 : 26.
16. 刘巨洪等. 热休克蛋白 90 β 基因上游片段的转录诱导活性研究. 中国科学 (待发表).
17. Shi, YJ. et al. Chromosomal localization of human heat shock Protein 90 β Gene. Chin Med Sci J, 1994, 9 (3) : 178.
18. 刘立德等. 白细胞介素 2 受体 α 链基因转录起始点和 5'调控区结合蛋白的初步研究. 生物化学杂志, 1990, 6 (2) : 169—175.

激素分泌性垂体瘤的临床和基础研究

史轶繁 任祖渊 邓洁英 劳远琇 陆召麟 尹昭炎 王直中
臧旭 金自孟 周觉初 王维钧 张涛 赵俊
北京协和医院, 100730

垂体腺瘤的尸检发现率为 8.8~22.6%, 有激素分泌功能的垂体瘤(简称垂体瘤)的发病率虽无确切数据, 但并非少见。垂体瘤主要有生长激素(GH)瘤, 促肾上腺皮质激素(ACTH)瘤和催乳素(PRL)瘤。垂体瘤对人体的危害有三方面: (1) 压迫鞍区结构, 如压迫视交叉可致视野缺损, 严重者可失明; (2) 激素过量分泌引起一系列的代谢紊乱和脏器损害, 如高血压、糖尿病、心血管病变及严重骨质疏松, 严重者可致死亡; (3) 肿瘤压迫使其他垂体激素分泌减少, 引起相应靶腺的功能减低。垂体瘤的好发年龄为青壮年, 对患者的生长、发育、劳动能力、生育功能有严重损害, 并造成一系列的社会心理影响。我院一直有较大数量的垂体瘤病人来诊, 但以前国内尚缺乏灵敏有效的 GH 瘤早期诊断手段, 对 ACTH 瘤及 PRL 瘤的认识不足, 缺少效果较好的治疗手段。1978 年, 我院开始成立有 7 个科参加的垂体瘤研究组, 对诊断、治疗及发病机理做了大量工作。在垂体瘤的诊断水平和治疗效果的主要方面达到了国际先进水平, 并在垂体瘤的病因、发病机制及微腺瘤引起视野缺损的原因等方面进行了较深入的探讨。

本研究的主要工作有五个方面:

一、研究表明垂体瘤是一组严重危害人类健康的疾病。通过国内外最大系列(1041 例)垂体瘤病例的临床分析, 总结出我国病例的特点。

垂体瘤在我院内分泌门诊病人中, 仅次于糖尿病和甲状腺疾病, 占第三位, 好发年龄为青壮年, GH 瘤有 54.3%、ACTH 瘤有 80%、PRL 瘤有 90%发生于 20~40 岁。垂体瘤向上生长压迫视交叉或干扰视交叉的血液供应, 造成视野和视力不同程度的损害。垂体瘤引起严重脏器损害, 突出表现为肥胖、高血压、糖尿病、骨质疏松; 月经紊乱、阳痿、不育; GH 瘤累及心脏较明显, 应用二维超声心电图发现肢端肥大症病人中心脏肥大的发病率为 85.5%, GH 瘤病人中有 42.6%患睡眠呼吸暂停综合征, 19.4%有周围神经病变; 垂体瘤病人死亡较早, 40 例死亡的 GH 瘤病人中, 平均死亡年龄为 46.5 ± 13.1 岁, 4 例死亡的 ACTH 瘤患者中, 平均死亡年龄为 34.5 ± 9.3 岁。

二、垂体瘤诊断方法的开拓和进步

1. 建立了一套先进的内分泌功能检查方法: 我们建立了七项激素的测定方法, 其中五项为国内首先建立。并测定了较大数量的国人正常值和病理值。在国内首次建立了 9 种下丘脑-垂体-靶腺功能试验, 包括 GH 葡萄糖抑制试验; GH 的 TRH、胰岛素低血糖、多巴胺和精氨酸兴奋试验; 溴隐亭敏感试验; N-POMC 和皮质醇胰岛素低血糖试验; 甲吡酮试验, 过夜大剂量地塞米松抑制试验等, 形成一整套垂体瘤的诊断方法, 使垂体瘤的早期诊断率及鉴别诊

断的准确性达到国际先进水平。

2. 改进了放射治疗诊断技术,提高了垂体微腺瘤的诊断水平:蝶鞍CT扫描采用了目前国际上先进的方法,即冠状位、直接增强、高分辨率、局部放大、薄层连续扫描及矢状重建等技术,对垂体瘤的高度、边缘形态、鞍骨质改变进行了细致的观察,提高了早期诊断水平,诊断微腺瘤147例,占初诊病例中的43.4%。

3. 对垂体瘤的视野改变有多项新发现:首先提出垂体瘤的首发视野改变为束状暗点,颞侧偏盲系一束束暗点叠加而成;垂体微腺瘤也可引起双颞侧视野缺损;空鞍症也可引起双颞侧全偏盲,需与垂体瘤相鉴别;发现一些垂体瘤卒中患者以失明为首发症状。

三、开展垂体瘤治疗新技术、新方法的研究,治疗效果明显提高

1. 国内最早引用并改良了经口鼻蝶窦显微外科及闭路电视监护技术切除垂体瘤,手术达400多例,居国内之首,在国际上也属于大系列。GH大腺瘤和微腺瘤手术后治愈和缓解率分别为68.3%和78.9%,ACTH瘤则为90.2%,达到国际先进水平,手术并发症和死亡率低于国外报道。

2. 放射治疗GH瘤和ACTH瘤300余例,治疗率和国际先进水平相近。

3. 药物治疗:(1)在国际上最早应用溴隐亭敏感试验预测溴隐亭治疗PRL瘤的疗效,符合率达93%。小剂量溴隐亭治疗99例PRL瘤病人,90%病人血PRL水平降到正常,86%女病人恢复月经或怀孕。(2)在国内最先使用生长抑素激动剂(SMS)治疗GH瘤,并创建了SNS敏感试验预测SMS的疗效及前瞻性观察了SMS对胆道系统功能的影响。

四、进行较深入的垂体瘤病理学研究

1978年在国内首先应用电镜研究垂体瘤398例,其中GH瘤127例,ACTH瘤67例,GH+PRL瘤51例,PRL瘤29例,其他混合激素分泌瘤124例。在PRL瘤中首先发现具有诊断价值的催乳素小体。1984年,在国内首先应用免疫细胞化学染色进行垂体瘤分类,检查243例,将其中200例染色结果与电镜结果比较,部分病例进行了免疫细胞化学双标记染色和免疫电镜研究,证实了多激素腺瘤细胞和多激素细胞分泌颗粒的存在。上述几种新的病理检查手段明显提高了我国垂体瘤病理诊断水平。

五、开展垂体瘤的基础研究

1. 在整体和体外细胞水平研究垂体瘤的发病机制:通过整体病人及体外单层培养的垂体GH瘤和ACTH瘤细胞对下丘脑激素及垂体前叶靶腺激素的反应,系统研究垂体瘤激素分泌的调节,明确得出2/3垂体GH瘤有受体及/或受体后异常的结果,说明垂体瘤的功能是自主的,但仍保留部分对下丘脑激素的反应。为手术治疗垂体瘤提供依据。

2. 通过对GH瘤细胞内第二信使的研究,说明生长激素释放激素(GHRH)受体及/或受其调节的Gs蛋白异常在GH瘤中是比较普遍的,约占GH瘤的81%;而生长抑素(SRIF)受体及/或受其调节的Gi蛋白异常占GH瘤的47.4%;有少数GH瘤(27.8%)Ca²⁺系统调节异常。这些结果进一步说明GH瘤的发病机制与瘤细胞第二信使的内在缺陷密切相关,不同瘤缺陷部位不同。同一瘤可存在第二信使系统多个环节的异常。这些研究提高了对垂体瘤发病机制的认识,并为垂体瘤新的分类、治疗方法的选择及新治疗方法的开发提供了理论依据。

3. 人体及胚胎视交叉血供应的研究:用显微解剖、血管墨汁后组织透明处理、血管铸型和血管X线造影等技术进行大系列人体视交叉血供养的解剖学研究,确定视交叉和垂体有共同血供,经计算机图像分析,证实视交叉中部微血管密度较低,为垂体瘤(尤其是微腺瘤)引起的视野缺损,找到了解剖学和病理学的依据。此结果引起了国内外同行的关注。

食管癌基因和抗癌基因的研究进展

陆士新 梁苑苑 李华川 郭永军

中国医学科学院肿瘤研究所

北京 100021

食管癌是世界上发展中国家的第四位常见的恶性肿瘤,在亚洲与非洲的一些地区,食管癌是肿瘤死亡的主要原因。我国也有多处食管癌高发区,在这些地区内,食管癌也占肿瘤死亡的首位。西方国家的科学家认为食管癌与饮酒及抽烟有关。而在我国,亚硝胺、霉菌和遗传易感性等因素受到了重视,进行了大量的研究,取得了大量的资料。在亚硝胺研究方法,在河南林县人的膳食、胃液、尿均发现有致食管癌的甲基苄基亚硝胺(NMBzA)或肌氨酸亚硝胺(NSAR),证明林县人暴露于NMBzA或NSAR。我们首次用NMBzA诱发了人胎儿食管上皮癌,这为证明亚硝胺与人类肿瘤发生的关系提供了直接证据。食管上皮细胞癌变的分子基础已成为世界研究的热点,我们对食管癌和用NMBzA诱发食管癌癌变的分子基础进行研究,并使癌变分子基础研究与人食管癌的发生学相结合,取得了新的进展。

一、食管癌组织中癌基因的表达与扩增

1. 人食管癌组织中H-ras, EGFr和C-myc基因的表达与扩增:我们对人食管癌组织中癌基因的表达与扩增进行了研究,并与癌旁上皮,正常胎儿食管上皮与非肿瘤患者尸检食管上皮进行了比较。食管癌及其癌旁组织均取自于食管癌高发区——林县人民医院。20例胎儿食管上皮和2例尸检食管上皮分别来自于北京与纽约。从食管癌等组织中提取Poly(A⁺)mRNA与DNA,以癌基因H-ras, C-myc和EGFr为探针进行Northern与Southern法核酸杂交。结果表明:13例食管癌组织及35例癌旁上皮有显著的H-ras, C-myc和EGFr基因表达,这表明食管癌及其癌旁上皮组织中H-ras, C-myc和EGFr基因转录产物明显增加。

对19例食管癌和71例癌旁上皮DNA进行了分析,发现多数癌组织及其癌旁上皮有EGFr与C-myc基因扩增,癌组织中EGFr基因扩增的强度比癌旁上皮高,癌旁上皮中EGFr基因的扩增强度又比胎儿与尸检食管上皮的高,经统计学处理有显著性差异。癌组织中C-myc基因扩增的强度高也高于癌旁上皮。

从H-ras, C-myc和EGFr基因表达明显的标本中提取DNA进行Southern法分析,观察到EGFr和C-myc基因的扩增,这表明食管癌及其癌旁上皮组织中EGFr, H-ras和C-myc基因表达的增强是由于EGFr和C-myc基因扩增的结果。

食管癌及其癌旁组织中H-ras, EGFr与C-myc基因的过度表达与扩增可能和人食管癌的发生有密切关系。

我们检测了林县的52例原发性食管癌标本中INT-2基因,发现23例(44.2%)有INT-

2 基因的扩增, 其中 1 例重排; 同组病人的 18 例癌旁上皮组织中, 7 例 (38.9%) 有扩增, 其中 1 例重排。结果提示, INT-2 基因的扩增在食管癌的发生发展中是一个比较常见的分子生物学改变。在 NMBzA 诱导的人胎儿食管上皮鳞癌组织中亦发现有 INT-2 基因的扩增, 表明 NMBzA 可能直接作用于食管上皮组织中的 INT-2 基因, 从而参与食管癌的发生发展过程。

姜伟等 (1992) 发现 20 例食管鳞状上皮癌中有 5 例 (25%) Cyclin D 与 hst-1 协同扩增。并发现两株食管癌细胞系有 Cyclin D 高转录水平, 这是首次证明人食管癌 Cyclin D 基因的扩增。Cyclin D 基因扩增可能是食管癌病理形成的重要因素。此外, 由于在许多人类肿瘤中, 发现 11q13 有扩增, 因此, CyclinD 基因的扩增, 在人类其他肿瘤发生发展中也可能起着重要作用。

在食管癌组织中, 约 48.3% 有两种或两种以上基因的改变, 而且这种改变大多发生于 II ~ III 期的病人, 提示肿瘤分化和基因改变之间可能存在一定的相关性, 组织分化愈差, 基因发生改变的频率和数量亦愈多。

2. NMBzA 对人和猴食管上皮癌基因的作用:

1) 人胎儿食管上皮经 NMBzA 处理 24 小时、一周或三周, 发现有癌基因 EGFr, c-myc, INT-2 的扩增。

2) 给恒河猴喂 NMBzA 后 1、2、3、5 天, 发现食管上皮中 EGFr 与 c-myc 癌基因有扩增。

上述结果与人原发性食管癌相同, 提示: NMBzA 在食管癌的发生中起重要作用。

二、食管癌组织中抗癌基因的研究

1. Rb 基因: 食管癌与 Rb 基因的关系尚未见报道。我们对河南林县的 21 例食管癌和 43 例食管癌旁组织进行了 Rb 基因的研究。在 21 例食管癌中, 7 例 Rb 基因结构异常, 占 33.3%; 43 例食管癌旁组织中有 15 例结构异常, 占 34.9%。结构异常包括完全或部分片段丢失以及重排。

10 例食管癌用直接测序方法分析 Rb 基因第 17 与 21 外显子的点突变, 发现 40% Rb 基因 17 外显子 501, 511 密码子有杂合性突变, 由 GAT→GGT (A→G), 天冬氨酸转变为甘氨酸。为了探索 Rb 基因变化的原因, 分析了 NMBzA 诱发的胎儿食管上皮癌, 发现 Rb 有部分丢失。用 PCR 扩增方法, 发现 NMBzA 诱发的人胎儿食管癌有 Rb 基因第 17, 21 外显子缺失。因此 Rb 基因的丢失在食管癌高发区食管癌的发生发展中可能起着重要作用, 而亚硝酸胺对 Rb 基因的丢失可能起着关键的作用。实验结果首次报道食管癌中 Rb 基因发生结构变化, 以及化学致癌物如亚硝酸胺能使抗癌基因丢失。

2. p53 基因: 为研究 p53 基因与食管癌的关系, 我们对 35 例食管癌和 7 例食管癌旁组织以及正常胎儿和尸检食管上皮 DNA, 分别进行了 p53 的分析, 发现 35 例食管癌中有 5 例结构异常, 占 14.3%, 其中 3 例重排, 占 8.57%; 2 例部分丢失, 占 5.7%。27 例食管癌旁中有 3 例结构异常, 占 11.1%, 其中 2 例重排, 占 7.4%, 1 例部分丢失, 占 3.7%。我们还发现 p53 基因在食管癌旁中呈甲基化状态。

p53 蛋白的高表达与 p53 基因的突变密切相关。我们 (1992) 对 18 例新鲜食管癌标本及其对应的癌旁上皮进行了 p53 表达的检测。结果发现, 18 例食管癌标本中, 7 例有 p53 的高表达; 对应的癌旁上皮中, 5 例有 p53 的高表达, 其中有 4 例其对应的癌组织中有 p53 的高表