果表明,尽管该重组蛋白对宿主菌的细胞壁肽聚糖提取物有明显的降解作用,并且对金黄色葡萄球菌的生长也有一定的抑制作用,但是,该重组蛋白的直接抑菌效果较弱,并且对其他革兰阳性细菌及革兰阴性细菌没有作用。一种推测是噬菌体 PaP1 仅在感染宿主菌时利用该内溶素破坏宿主细胞壁肽聚糖层,作用方式温和,不会引起宿主的瞬时死亡。另外一种可能是,铜绿假单胞菌为革兰阴性细菌,在细胞壁外侧还有一层外膜,细胞外膜作为屏障在空间上阻碍了内溶素作用于细胞壁肽聚糖层。因此采用从菌体外界直接将该内溶素重组蛋白作用于铜绿假单胞菌效果并不明显,而将宿主菌外膜除去可实现酶学活性。

根据报道,大部分噬菌体的内溶素由于缺少信号肽不能够穿透宿主细胞膜,通常需要噬菌体编码的一种穴蛋白(Holin)辅助才能够穿过宿主细胞膜,进入周间质进而作用于宿主细胞壁肽聚糖层[9,10]。对已测噬菌体 PaP1 部分基因组序列分析时未发现类似的穴蛋白基因或相似片段,推测该噬菌体的穴蛋白基因可能位于未测基因组序列上或者有其他基因调控内溶素的酶学活性,但这种推测还有待于噬菌体 PaP1 全基因组测序完成之后才能证实。另外,目前对内溶素的最适反应条件(比如离子浓度、pH 值等因素)尚未摸索成熟,还需在后续实验中进一步完善。

总之,本实验初步证明了噬菌体 PaP1 内溶素具有肽聚糖解聚功能和抑菌活性。根据研究结果,尽管目前该内溶素抑菌效果不明显,还不具有直接应用于抗微生物感染价值。但从分析来看,如果采用适当的手段去除革兰阴性细菌外膜或者发现介导该内溶素穿过宿主菌外膜的物质,则此类噬菌体内溶素将在抗感染方面具有深远的应用前景。

参考文献:

[1] Young R. Bacteriophage lysis: mechanism and regulation[J]. Microbiol Rev, 1992, 56(3): 430-481.
[2] 李 明, 申晓冬, 丛延广, 等. 难测序噬菌体基因组 PaP1 的大片段克隆及测序[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(6): 539-542.
[3] 李 明, 申晓冬, 周莹冰, 等. 铜绿假单胞菌噬菌体 PaP1 生物学特性的研究[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(9): 860-863.
[4] Clarke A J. Extent of peptidoglycan O acetylation in the tribe Proteeae [J]. J Bacteriol, 1993, 175(14): 4550-4553.
[5] Strating H, Clarke A J. Differentiation of bacterial autolysins by zymogram analysis[J]. Anal Biochem, 2001, 291(1): 149-154.
[6] Grinde B, Jolles J, Jolles P. Purification and characterization of two lysozymes from rainbow trout (Salmo gairdneri) [J]. Eur J Biochem, 1988, 173(2): 269-273.
[7] Borysowski J, Weber-Dabrowska B, Gorski A. Bacteriophage endolysins as a novel class of antibacterial agents[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2006, 231(4): 366-377.
[8] Morita M, Tanji Y, Orito Y, *et al*. Functional analysis of antibacterial activity of Bacillus amyloliquefaciens phage endolysin against Gram-negative bacteria[J]. FEBS Lett, 2001, 500(1-2): 56-59.
[9] Grundling A, Blasi U, Young R. Biochemical and genetic evidence for three transmembrane domains in the class I holin, lambda S[J]. J Biol Chem, 2000, 275 (2): 769-776.
[10] Ziedaite G, Daugelavicius R, Bamford J K, *et al*. The Holin protein of bacteriophage PRD1 forms a pore for small-molecule and endolysin translocation[J]. J Bacteriol, 2005, 187(15): 5397-5405.

(编辑 薛国文)

文章编号:1000-5404(2008)13-1271-01

个案与短篇

中医治疗急腹症 1 例

陈 义 (贵州省思南县民族中医院中医科,贵州 思南 565100)

1 临床资料

患者,女性,60 岁,2003 年 7 月 1 日入院,自述四肢酸软,腹胀 4 d,精神萎靡不振,便秘 3 d。查腹膨隆,腹软无压痛、反跳痛,肝脾未扪及,血常规及电解质检查正常,患 2 型糖尿病 7 年,查血糖 10.8 mmol/L,给予二甲双胍、优降糖、青霉素和氨苄青霉素针静滴,并予生脉注射液静滴。治疗 3 d 后,患者自觉症状无明显改善,复查血糖升为 12.6 mmol/L,并加用胰岛素静滴,口服生地、石斛、玉竹、北沙参等滋阴清热的中药,2 d 后血糖降为 8.8 mmol/L,但腹胀症状未改善,并感胸闷而喘、恶心呕吐,不思饮食,食后腹胀、腹痛更为明显,查血清胰淀粉酶 130 U/L,嘱其禁食,患者次日无明显好转,并感皮肤发痒,小便黄,查肝功能转氨酶升至 64 U,黄疸指数为 18 U,血糖又升为 11.8 mmol/L,诊断考虑为糖尿病并发胰腺炎。患者精神欠佳,口干苦,不饮水,腹胀腹痛,压之则甚,皮肤及小便黄,大便数日未解,舌红而干,苔黄腻而燥,脉弦数而沉,中医诊为黄疸和腹痛,病机为湿热内阻中焦,阳明腑气不通,故予三仁汤和承气汤及茵陈蒿汤加减,虑其久病脾胃之气必衰,故重用太子参 45 g 益气生津,以益脾使其攻下之中不忘扶正,处方如下:杏仁 12 g、

(下转 1278 页)

作者简介:陈 义,男,贵州省思南县人,土家族,副主任医师,主要从事肝病、青少年脱发等方面的研究。发表论文 10 余篇。电话:(0856)7222371

收稿日期:2008-05-14 修回日期:2008-06-05

寡核苷酸使之表达水平下调，结果发现细胞增殖明显受抑，说明 Skp2 可能在小细胞肺癌的细胞增殖中发挥重要作用。

本研究表明，SPC-A-1 肺癌细胞内 Skp2 高表达，通过采用 RNAi 技术，构建针对 Skp2 基因特异性的 shRNA 干扰质粒。通过 RT-PCR、Western blot 技术检测肺癌细胞内 Skp2 mRNA 基因表达及蛋白表达情况，在转染干扰质粒后细胞内 Skp2 基因及蛋白表达在表达均有明显下降，表明构建的质粒能在基因水平上有效的抑制 Skp2 基因的表达。本实验通过流式细胞仪技术和 MTT 检测了 RNAi 技术抑制 Skp2 基因的表达对细胞周期和细胞增殖的影响：S 期细胞百分比明显下降，更多的细胞被阻滞在 G_0/G_1 期，细胞的生长受到抑制。提示 Skp2 与肺癌细胞的生长、增殖呈正相关，而抑制其表达能抑制细胞生长，与 Nelsen 等[11,12]的研究结果相符。其可能机制在于 Skp2 通过参与对细胞周期检查点的调控，促进细胞周期负性调节因子如 P27 蛋白的泛素化降解，从而加速 S 期进程，对细胞增殖有正性推动作用。通过 RNAi 技术抑制 Skp2 基因的表达后，P27 蛋白水平在细胞内得以蓄积，使细胞阻滞在 G_0/G_1 期，进入 S 期的细胞减少，从而抑制了细胞的生长增殖活性。

这一研究结果为今后进一步研究 Skp2 基因对细胞生物行为的影响及其在肿瘤发生、发展中的作用机制提供了一个有效的方法，并有望成为肺癌基因治疗的一个重要手段。

参考文献：

[1] Hao B, Zheng N, Schulman B A, *et al*. Structural basis of the Cks1-dependent recognition of p27(Kip1) by the SCF(Skp2) ubiquitin ligase[J]. Mol Cell, 2005, 20(1): 9 - 19.

[2] Fukuchi M, Masuda N, Nakajima M, *et al*. Inverse correlation between expression levels of p27 and the ubiquitin ligase subunit Skp2 in early esophageal squamous cell carcinoma[J]. Anticancer Res, 2004, 24(2B): 777 - 783.

[3] Gstaiger M, Jordan R, Lim M, *et al*. Skp2 is oncogenic and overexpressed in human cancers[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001, 98(9): 5043 - 5048.

[4] Yokoi S, Yasui K, Mori M, *et al*. Amplification and overexpression of SKP2 are associated with metastasis of non-small-cell lung cancers to lymph nodes[J]. Am J Pathol, 2004, 165(1): 175 - 180.

[5] Yokoi S, Yasui K, Saito-Ohara F, *et al*. A novel target gene, SKP2, within the 5p13 amplicon that is frequently detected in small cell lung cancers[J]. Am J Pathol, 2002, 161(1): 207 - 216.

[6] Semizarov D, Frost I, Sarthy A, *et al*. Specificity of short interfering RNA determined through gene expression signatures[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(11): 6347 - 6352.

[7] 辛海明，刘泽军，陈 杰. iASPP 特异性 RNAi 表达载体的构建及其干扰效果鉴定[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(9): 900 - 902.

[8] Miyagishi M, Taira K. U6 promoter-driven siRNAs with four uridine 3' overhangs efficiently suppress targeted gene expression in mammalian cells[J]. Nat Biotechnol, 2002, 20(5): 497 - 500.

[9] Kudo Y, Kitajima S, Ogawa I, *et al*. Down-regulation of Cdk inhibitor p27 in oral squamous cell carcinoma[J]. Oral Oncol, 2005, 41(2): 105 - 116.

[10] Harada K, Supriatno, Kawaguchi S, *et al*. High expression of S-phase kinase-associated protein 2 (Skp2) is a strong prognostic marker in oral squamous cell carcinoma patients treated by UFT in combination with radiation [J]. Anticancer Res, 2005, 25(3c): 2471 - 2475.

[11] Nelsen C J, Hansen L K, Rickheim D G, *et al*. Induction of hepatocyte proliferation and liver hyperplasia by the targeted expression of cyclin E and Skp2[J]. Oncogene, 2001, 20(15): 1825 - 1831.

[12] Masuda T A, Inoue H, Sonoda H, *et al*. Clinical and biological significance of S-phase kinase-associated protein 2 (Skp2) gene expression in gastric carcinoma: modulation of malignant phenotype by Skp2 overexpression, possibly via P27 proteolysis[J]. Cancer Res, 2002, 62(13): 3819 - 3825.

（编辑 王小寒）

（上接 1271 页）

苡仁 24 g、厚朴 12 g、通草 6 g、滑石 24 g、法夏 12 g、淡竹叶 18 g、太子参 45 g、大黄 12 g、芒硝 15 g(冲服)、枳实 18 g、郁金 24 g、茵陈 24 g、栀子 12 g。

2 结果

患者服此方 1 剂后，自觉腹痛及皮肤瘙痒减轻，有便意但仍未通，口干亦好转，故上方继用，患者服第 2 剂后，大便通畅，腹痛若失，精神明显好转，且能进食，苔黄微腻，脉滑，上方去大黄、芒硝，加茯苓、连翘，服 1 周后复查，血糖降为 8 mmol/L，患者自觉无不适感出院。

3 讨论

从西医来看，此例患者既有糖尿病，又考虑胰腺炎，但以中医的辨证来看，其病机为湿热内阻，气机不畅，内结阳明，腑实不通而致以上诸症，因六腑以通为用，故予三仁汤、茵陈蒿汤、大承气汤加减治疗，致使“通而不痛”，而当患者大便畅通后，则不宜再予大黄、芒硝攻下之品，但仍以清热退黄，健脾化湿为法而收全功。

中医对急症的治疗[1]：一是只要辨证准确，用药就应当机立断；二是不要忘记急则治标的根本原则(药量要足)，决不能因看到患者年老或病情复杂而裹足不前；三是中病即止，过犹不及，伤人正气，而致病情变化，虚者更虚，邪气虽去，正气难复。只要注意了这三点，中医在治疗急症方面是大有作为的，特别是对那些病情复杂不宜手术的患者更显突出，尤其能显示中医治疗的特色和优势。

关键词：中医；急腹症；三仁汤；承气汤
中图法分类号：R256.3 文献标识码：B

参考文献：

[1] 姜建国. 中医经典选读[M]. 北京：人民卫生出版社, 2005：227 - 284.

（编辑 冷怀明）