论著

文章编号:1000-5404(2010)03-0224-05

MAPK 信号通路对人胆管癌细胞 Fas 配体基因表达的调节及其机制的初步探讨

段世刚,李大江,陈 龙,刘子佩,王曙光 (400038 重庆,第三军医大学西南医院全军肝胆外科研究所)

[摘要] **目的** 观察 MAPK/ERK kinase(MEK)抑制剂 PD98059 对人胆管癌细胞 Fas 配体(Fas ligand, FasL)表达的影响及其作用机制。**方法** 用 RT-PCR 和 Western bolt 检测 PD98059 处理组及未处理组人胆管癌细胞(QBC939)中c-Myc、p-c-Myc 和 FasL 的表达;构建含 FasL 基因启动子的荧光素酶报告基因质粒,瞬时转染人胆管癌细胞,用 PD98059 处理后,检测荧光素酶相对活性,比较启动子活性的变化情况;染色质免疫共沉淀(ChIP)技术分析 p-c-Myc 和 FasL 基因启动子的结合情况。**结果** PD98059 处理组胆管癌细胞磷酸化 c-Myc(p-c-Myc)和 FasL 的表达均明显降低,而 c-Myc 未见明显变化;人胆管癌活细胞中 p-c-Myc 与 FasL 基因启动子有结合;PD98059 处理组胆管癌细胞荧光素酶活性与对照组相比下降约 80%。**结论** PD98059 通过抑制 MAPK/ERK kinase(MEK)的活性,降低 c-Myc 磷酸化水平,进而下调 FasL 基因启动子活性,从而抑制人胆管癌细胞 FasL 基因的表达。

[关键词] 转录因子;Fas 配体;启动子活性;报告基因 ;PD98059

[中图法分类号] R735.8; R394.2; R73-36 **[文献标志码]** A

MAPK signal pathway regulates Fas ligand expression in human cholangiocarcinoma cells and its mechanism

Duan Shigang, Li Dajiang, Chen Long, Liu Zipei, Wang Shuguang (Institute of Hepatobiliary Surgery, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of PD98059, an inhibitor of MAPK/ERK kinase(MEK), on Fas ligand (FasL) expression in human cholangiocarcinoma cells (QBc-939) and to study its mechanism. **Methods** QBc-939 cells were pretreated with PD98059 (20 μmol/L) or DMSO (vehicle) for 4 h and incubated with RIMP1640 for 24 h. Then, expression of FasL, c-Myc and phosphorylated c-Myc was detected by Western blotting and RT-PCR, and compared with that of parent QBc-939 cells not treated with PD98059. GAPDH mRNA served as an internal control. In addition, QBc-939 cells were transfected with luciferase reporter constructs of the FasL promoter (FasL-P1288), treated with PD98059 or DMSO for 4 h and incubated with RIMP1640 for 24 h. Dual-luciferase activity level was measured using the dual-luciferase reporter assay system. Finally, after treatment with PD98059, chromatin immunoprecipitation assay was performed. Chromatin-bound DNA selected by anti-p-c-Myc (Ser-62) was amplified with FasL-specific primers. **Results** PD98059, a specific MAPK-ERK cascade inhibitor, significantly attenuated the phosphorylation of c-Myc on Ser-62 and FasL up-regulation in QBc-939 cells. The luciferase reporter assay revealed that the FasL promoter activity level was significantly lower in cells treated with PD98059 than in those not treated with PD98059. Furthermore, chromatin immunoprecipitation assay showed that the phosphorylated c-Myc was bond to the human FasL promoter *in vivo*. **Conclusion** PD98059 inhibits FasL expression in human cholangiocarcinoma cells by inhibiting the MAPK-ERK kinase activity, decreasing the c-Myc phosphorylation level, and activating the FasL promoter.

[Key words] transcription factor; Fas ligand; promoter activity; reporter gene; PD98059

Supported by the National Natural Science Foundation of China(30772109). Corresponding author: Wang Shuguang, Tel: 86-23-68754681, E-mail:sgwang90@yahoo.com

FasL 是一种约 40×10^3 的跨膜蛋白,属于肿瘤坏死因子超家族,当其与受体 Fas 结合后能够启动细胞凋亡[1]。目前,大量研究显示:FasL 不但在激活的 T 淋巴细胞上表达,而且在各种肿瘤细胞中表达,这与肿瘤细胞的免疫逃逸密切相关[2-5]。以往的资料包括我们的研究显示[6],在人胆管癌细胞中,层粘连素受体

[基金项目] 国家自然科学基金(30772109)

[通信作者] 王曙光,电话:(023)68754681, E-mail:sgwang90@yahoo.com

(LNR)过表达可诱导 Fas 配体的表达;而肿瘤细胞 LNR 表达上调能够激活 MAPK 信号转导通路,且 MAPK/ERK1/2 被相应的因子激活后,可将信号传递到细胞核内转录因子,从而增加与 DNA 的结合,促进和调节有关的基因表达。而肿瘤细胞 LNR 激活 MAPK 信号转导通路是否可调节肿瘤细胞 Fas 配体(Fas ligand, FasL)的表达目前还不清楚。PD98059 是 ERK1/2 信号通路中的一种细胞渗透性和选择性的特异性阻断剂,所以在本实验中,我们主要观察 MAPK/ERK kinase(MEK)抑制剂 PD98059 对人胆管癌细胞 Fas 配体表达的影响从而初步探讨 MAPK 信号通路对人胆管癌细胞 Fas 配体基因表达的调节及其机制,并为临床诊断及治疗提供一些新的思路。

1 材料与方法

1.1 试剂

RIMP1640 培养基、胰酶、胎牛血清均购自美国 Hyclone 公司;FITC 标记山羊抗小鼠 IgM 购自美国 eBioscience 公司;Fast™. Transfection Reagent 试剂盒为美国 Promega 公司;Real-time PCR 试剂盒为日本 TOYOBO 公司;Universal Genomic DNA Extraction Kit Ver. 3.0 (TaKaRa,大连);限制性内切酶:*Bam*HⅠ、*Hin*dⅢ (TaKaRa, 大连);DNA 连接酶:T_4 DNA Ligase (TaKaRa,大连);质粒抽提试剂盒:E. Z. N. A® Plasmid Mini-prep Kit (Omega Bio-tek, USA);凝胶回收试剂盒 E. Z. N. A® Gel Extraction Kit (Omega Bio-tek, USA);DNA PCR 试剂盒 TaKaRa LA PCR Kit Ver. 2.1 (TaKaRa,大连)。

1.2 细胞培养

人肝外胆管癌细胞株 QBC939 是由本研究所王曙光教授建株保存[7]。胆管癌 QBC939 细胞在 37 ℃, 5% CO_2 条件下,在含 10 % 胎牛血清、青霉素(100 U/ml) 、链霉素(100 μg/ml)的 RPMI1640 培养液进行细胞培养和传代。处理组 RPMI1640 培养液基中加入 PD98059(20 μmol/L),用该培养基培养 4 h 后继续用 RPMI1640 培养液培养 24 h,另 1 组用含溶解 PD98059 的 vehicle 的 RPMI1640 培养液基做假抑制组,对照组为未加任何试剂的 RPMI1640 培养液培养 24 h。

1.3 细胞免疫化学及激光共聚焦检测

参照免疫组化试剂盒说明方法,以兔抗人 FasL 多克隆抗体、c-Myc 抗体进行细胞免疫化学染色及免疫荧光染色后激光共聚焦检测。用 PBS 作空白性对照,其余步骤不变。

1.4 实时 RT-PCR 反应

不同的处理后,各组的总 RNA 用 Trizol 试剂提取。2 μg RNA 用反转录试剂合成 cDNA。实时定量 PCR 反应体系如下:1 μl cDNA;12.5 μl SYBR Green master mix (Applied Biosystems, Foster City, CA); 1 μl 前引物;1 μl 后引物;6.5 μl 水。引物如下:FasL 正义链:5′-TGTGATGAAGGACATGGCTTA-3′,反义链:5′-TCACATTTGGTGCAAGGGTCA-3′;c-Myc 正义链:5′-CTGGTGCTCCATGAGGAG-3′, 反义链:5′-AGGTGATCCAGACTCTGAc-3′; GAPDH 正义链:5′-ACCCATCACCATCTTCCAGGAG-3′, 反义链:5′-GAAGGGGCGGAGATGATGAC-3′。

PCR 反应条件如下:5 min 94 ℃,和 35 个循环(30 s 94 ℃, 30 s 55 ℃ 和 30 s 72 ℃)。应用美国 Bio-Rad Quantity One 4.4.0 图像分析系统摄像分析,GAPDH 作为内参,所有反应重复 3 次。

1.5 Western blot 检测蛋白表达

各种因素处理后, 用 RIPA 细胞裂解液裂解胆管癌细胞。蛋白定量采用紫外吸收法,用 BCA 作标准曲线。每个泳道取等量的蛋白进行 SDS-PAGE 电泳。接着把蛋白转移到 PVDF 膜,用 TBS-T 冲洗后用无脂奶粉在室温下封闭 1 h。接着孵育一抗和二抗。用化学发光试剂检查蛋白条带,用凝胶成像系统捕捉图像。用美国 Bio-Rad Quantity One 4.4.0 图像分析系统分析蛋白含量,以 Volume 值表示(Volume: OD × mm^2)。以 GAPDH 作为内参。

1.6 FasL 基因启动子荧光素酶报告载体质粒构建

在 NCNI 中搜索下载 FasL 基因 5′端 1.2 bp 基因组 DNA 序列。利用 Primer 软件包设计上下游引物(由上海生工生物工程公司完成)。上游引物 5′-GGCGGTACCTGATATTTCAAAA-CAGAATAGAAATATGTATTTTA-3′,下游引物 5′-TGCAAGCT-TCATGGCAGCTGGTGAGTCAG-3′,并分别引入 *Bam*HⅠ和 *Hin*dⅢ限制性内切酶位点。用高保真的 KOD-Plus-酶扩目的基因。然后连接到 T 载体上。测序鉴定。最后与 pGL-3Basic 载体 luciferase 报告基因上游链接获得 pGL3-FasL-Pr。突变体的构建采用重叠 PCR 技术,突变位置为 FasL 启动子的 -127/ -121。

1.7 荧光素酶活性测定

在 Lipofectamin™ 2000 的介导下,PRL-TK 质粒和报告基因质粒按 1∶10 的混合质粒共转染 QBC939 细胞。转染过程按 Lipofectamin™ 2000 说明书进行。转染后连续培养 48 h 后收集各组细胞裂解液。接着采用双荧光素酶检测试剂盒测各组荧光素酶活性。实验步骤按说明书进行。每组细胞活性检测重复 3 次。

1.8 染色质免疫共沉淀(ChIP)分析

参照 ChIP 试剂盒说明方法。主要步骤如下:染色质的制备后用超声波处理染色质,将染色质打断成 500 bp 的小片段;通过加入 2 μl 抗体(抗 phospho-c-Myc Ser-62)免疫沉淀蛋白质 DNA 交联复合物,并 4 ℃孵育振摇过夜;常规聚合酶链反应(PCR)检测 DNA:为特异性扩增 FasL 基因的 phospho-c-Myc 结合位点, 根据其调控序列设计合成特异性引物(5′-CCACTGACCATTCTCCTGTAGC-3′,5′-CTGTAGAGGCTGAGGT-GTCAAG-3′),产物 131 bp。PCR 片段用 2.5% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.9 统计学分析

用 SPSS 10.0 软件进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 细胞免疫化学及激光共聚焦检测

QBC939 细胞免疫化学染色可见细胞膜和细胞质均有 FasL 的表达。激光共聚焦检测可见转录因子 c-Myc 及磷酸化 c-Myc 在细胞质及细胞核可见表达(图 1)。

2.2 PD98059对c-Myc和p-c-Myc表达的影响

PD98059处理组c-Myc蛋白与对照组及vehicle组相比,未见明显变化;PD98059处理组p-c-Myc显著低于正常对照组和vehicle组($P<0.05$)。见图2。

2.3 PD98059对FasL表达的影响

PD98059处理组FasL显著低于正常对照组和vehicle组($P<0.05$)。见图3。

2.4 FasL基因启动子荧光素酶报告载体质粒构建

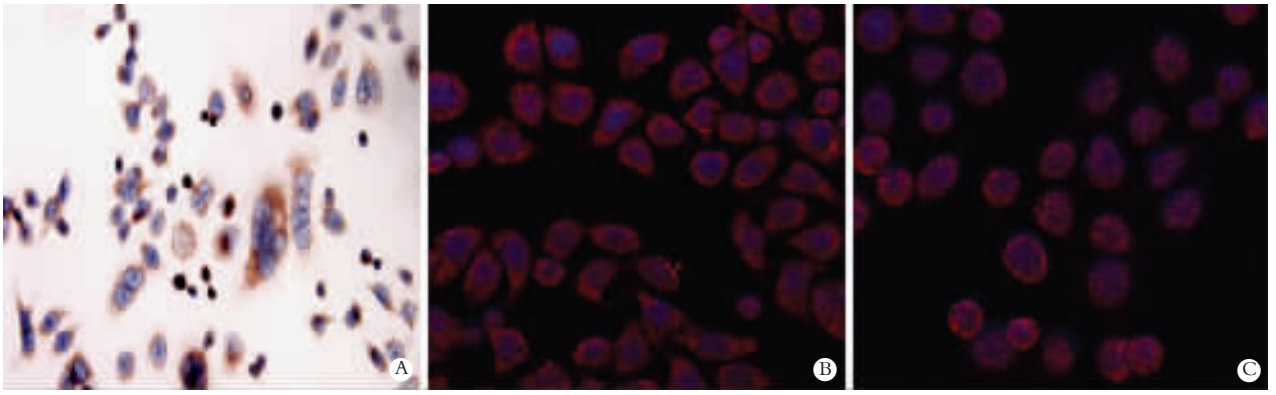
利用*Bam*HⅠ和*Hind*Ⅲ的酶切位点,将所得FasL基因启动子1.2 bp的片段和pGL-3Basic载体的luciferase报告基因上游链接,获得pGL3-FasL-Pr。pGL3-Fasl 1200-luc得到3 000 bp和1 280 bp的片段。突变体的构建采用重叠PCR技术,突变位置为FasL启动子的-127/-121。上述载体质粒均经双酶切鉴定(图4)及测序鉴定,表明含有FasL基因启动子及突变体荧光素酶报告载体质粒构建成功。

2.5 荧光素酶报告载体相对活性的测定

胆管癌细胞瞬时转染荧光素酶报告载体24 h后,用PD98059处理后,其荧光素酶相对活性比对照组下降约80%($P<0.05$)。

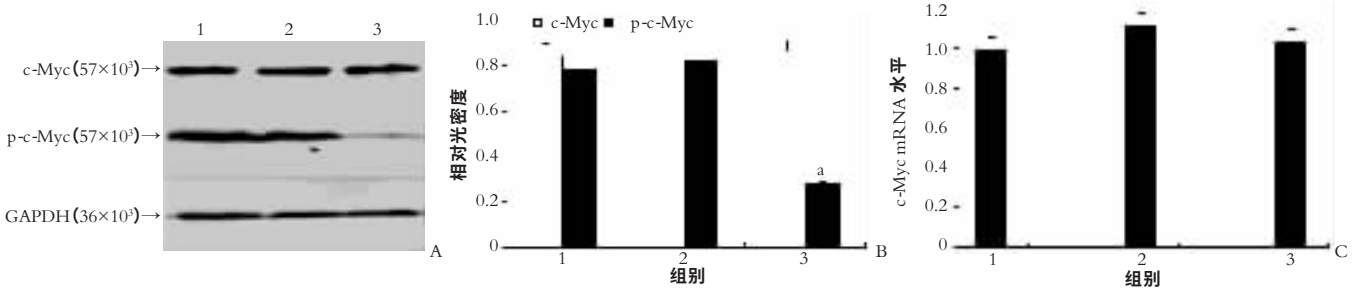
2.6 染色质免疫共沉淀分析

结果显示,phospho-c-Myc与FasL的启动子有结合,与对照组相比,PD98059抑制组电泳条带光密度值相对较弱(图5)。选择5和6作阴性对照,以确保反应中所用抗体的特异性和PCR反应引物的有效性。



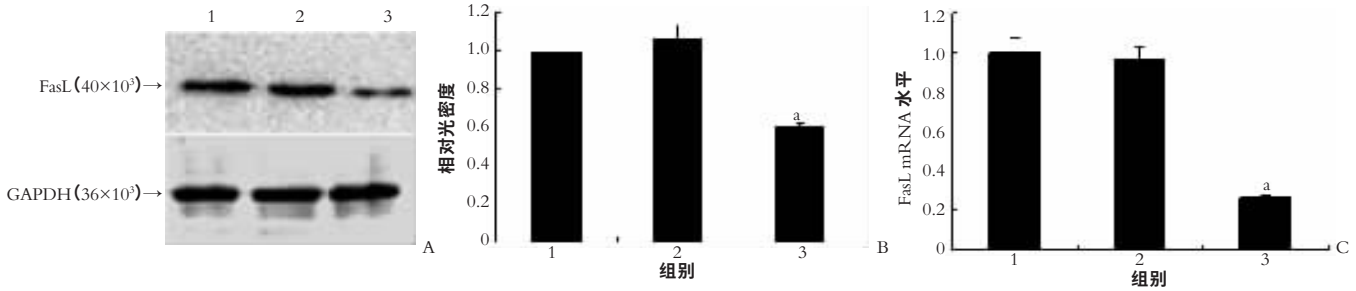
A:S-P染色结果; B~C:激光共聚焦观察结果 A:Fas-L;B:c-Myc;C:p-c-Myc

图1 细胞免疫化学及激光共聚焦检测QBC939 Fas-L,c-Myc,p-c-Myc的表达 (×200)



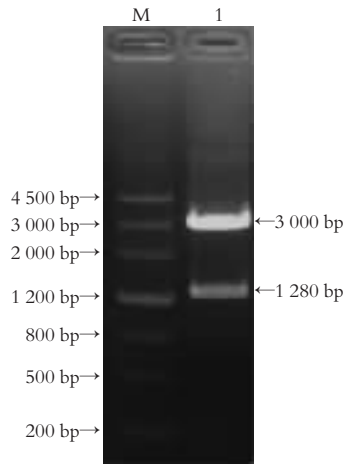
A:Western blot检测结果;B:半定量分析结果;C:RT-PCR结果 1:对照组;2:Vehicle组;3:PD98059处理组;a:$P<0.05$,与对照组和Vehicle组比较

图2 Western blot与RT-PCR检测PD98059对c-Myc和p-c-Myc的表达



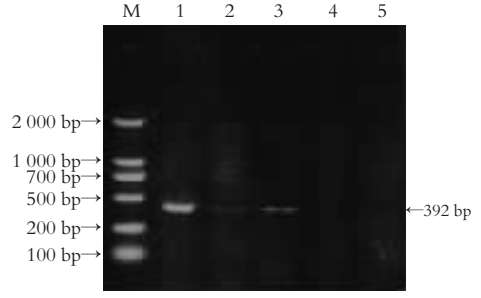
A:Western blot检测结果;B:半定量分析结果;C:RT-PCR结果 1:对照组;2:Vehicle组;3:PD98059处理组;a:$P<0.05$,与对照组和Vehicle组比较

图3 Western blot与RT-PCR检测PD98059对Fasl的表达



M:标准;1:目的片段

图 4 *Bam*H Ⅰ和 *Hind*Ⅲ双酶切结果



M:DNA 标准(DL2000);1:input,即在进行免疫沉淀前,取一部分断裂后的染色质做的 input 对照;2:PD98059 抑制组;3:对照组;4:非特异性 IgG;5:非特异性引物

图 5 染色质免疫共沉淀分析结果

3 讨论

肿瘤形成直至肿瘤细胞的广泛转移的先决条件是逃避机体的免疫监视,研究发现这与许多肿瘤细胞表面表达 FasL 有关,这些 FasL 不仅可以使肿瘤细胞耐受 Fas 介导的细胞凋亡,还可诱导 Fas^+ 的 T 细胞发生凋亡,从而使其对免疫系统进行主动攻击或反击。同样,我们发现 FasL 在胆管癌细胞中也呈高表达[8]。然而肿瘤细胞 FasL 基因表达调控目前还不十分清楚,而且,对 FasL 基因表达调控的研究,不仅能使我们对免疫系统的发育形成、肿瘤细胞的免疫赦免的建立机制有一个更深的理解,从而为临床诊断及治疗提供一些新的思路。

我们前期的研究显示当胆管癌 FasL 基因的表达与层粘素受体(LNR)的高表达关系密切[6]。而层粘素受体介导的信号通路是否参与了 FasL 基因的表达目前还不清楚。而肿瘤细胞 LNR 表达上调能够激活 MAPK 信号转导通路,且 MAPK/ERK1/2 被相应的因子激活后,可将信号传递到细胞核内转录因子,从而增加与 DNA 的结合,促进和调节有关的基因表达。在 T 淋巴细胞中,FasL 基因的表达是受转录因子调控,包括 NF-κB、AP-1、c-Myc 等。c-Myc 是一种原癌基因,与肿瘤的分化和发展密切相关。它和异二聚体 Max 一起形成转录因子复合体,介导了许多肿瘤生长基因的表达[9-12]。然而,c-Myc 不但可以引起细胞的增殖,而且可以诱导凋亡[13]。而其诱导凋亡的作用与 Fas 和 FasL 的表达有关[14]。

基于以上研究结果,我们我们就猜想肿瘤细胞 LNR 能否通过 MAPK/ERK1 /2 信号通路,影响转录因子 c-Myc 的活性,从而调控人胆管癌细胞 Fas 配体(Fas ligand, FasL)的表达。我们选取了人胆管癌细胞株,首先经免疫荧光激光共聚焦显示,FasL,c- Myc,磷酸化 c- Myc 在细胞中均有表达。而 MAPK/ERK1 /2 信号通路在这中间有什么关系呢。我们选择了 MAPK/ERK kinase(MEK)特异性抑制剂 PD98059,观察其对转录因子 c-Myc 的活性,FasL 的表达及对 FasL 启动子活性的影响。

结果显示:用 PD98059 处理胆管癌细胞前后,c-Myc 蛋白和 mRNA 表达均未出现明显的变化。有研究显示,c-Myc 在 Ser-62 位点上的磷酸化起着稳定 c-Myc表达的作用[15-18]。所以我们检测了在 Ser-62 位点上的磷酸化 c-Myc。我们发现,当胆管癌细胞经 PD98059 处理后,其 Ser-62 位点上的磷酸化 c-Myc 的表达明显下降。而跟随一起的 FasL 的表达也降低,这说明 Ser-62 位点上的磷酸化 c-Myc 在 FasL 转录调控方面起作用。进一步我们做了染色质免疫共沉淀分析,证明 Ser-62 位点上的磷酸化 c-Myc 与 FasL 基因的启动子在活体细胞内有结合,PD98059 处理组在 Ser-62 位点上的磷酸化 c-Myc 与 FasL 基因的启动子结合的片段 PCR 产生的信号相对较弱。

在激活的 T 淋巴细胞中,FasL 基因的表达是受转录因子和启动子区域的 DNA 的相互作用调控的[19]。而研究基因的启动子的转录活性,目前较好的方法就是构建含某基因启动子的荧光素酶报告质粒,由某基因的启动子来调控荧光素酶的活性,通过检测荧光素酶的活性,就可推断该启动子的活性;此外,由于荧光素酶敏感性高,检测方便,故是研究启动子活性功能的较好方法。为研究 QBC939 细胞中 MAPK/ERK1/2 特异性抑制剂 PD98059 对 FasL 基因启动子活性的影响,我们首先克隆了该基因 5′上游 1.2 bp 的调控序列,与荧光素酶报告质粒相连,经酶切鉴定及测序鉴定证实构建成功后转染入 QBC939 细胞后,经荧光素酶活性分析表明:PD98059 处理组胆管癌细胞瞬时转染荧光素酶报告载体 24 h 后,其荧光素酶相对活性比对照组下降 70% 以上。

综上所述,我们的研究揭示了 MAPK/ERK1/2 特异性抑制剂 PD98059 对胆管癌细胞的 FasL 基因

mRNA 及蛋白的表达具有明显抑制作用,初步探索了其作用机制可能为:PD98059 抑制了转录因子 c-Myc 的磷酸化,从而降低了 c-Myc 与 FasL 基因启动子的结合,进而抑制了 FasL 基因启动子的活性。对于肿瘤细胞 FasL 基因的表达调控,目前仍不十分清楚,有无其他信号通路及其他转录因子的参与协同作用,目前仍需进一步研究。在其他肿瘤细胞中,是否会出现我们研究的结果,也待进一步阐明。对胆管癌细胞 FasL 基因的表达调控的研究,我们也还在进一步研究。

参考文献:

[1] Nagata S, Golstein P. The Fas death factor[J]. Science, 1995, 267(5203): 1449-1456.

[2] Walker P R, Saas P, Dietrich P Y. Tumor expression of Fas ligand (CD95L) and the consequences[J]. Curr Opin Immunol, 1998, 10(5): 564-7572.

[3] Asanuma K, Tsuji N, Endoh T, *et al*. Survivin enhances Fas ligand expression via up-regulation of specificity protein 1-mediated gene transcription in colon cancer cells[J]. J Immunol, 2004, 172(6): 3922-3929.

[4] Whiteside T L. The role of death receptor ligands in shaping tumor microenvironment[J]. Immunol Invest, 2007, 36(1): 25-46.

[5] Adachi K, Fujino M, Kitazawa Y, *et al*. Exogenous expression of Fas-ligand or CrmA prolongs the survival in rat liver transplantation[J]. Transplant Proc, 2006, 38(8): 2710-2713.

[6] 高占峰,李天宇,王曙光,等.胆管癌细胞层粘连素受体过表达上调 Fas 配体的研究[J]. 中华消化外科杂志, 2008, 7(1): 53-55.

[7] 王曙光, 陈长宏, 李大江, 等. 胆管癌细胞层粘连蛋白受体表达下调对蛋白水解酶尿激酶型纤维蛋白溶解酶原激酶 mRNA 表达的影响[J]. 中华医学杂志, 2004, 84(19): 1642-1644.

[8] 李子禹, 张林, 邹声泉. FasL 在人肝门部胆管癌组织和胆管癌细胞中的表达及其对细胞凋亡的诱导作用[J]. 中华医学杂志, 2002, 82(9): 606-609.

[9] Amati B, Alevizopoulos K, Vlach J. Myc and the cell cycle[J]. Front Biosci, 1998, 3: d250-d268.

[10] Schmidt E V. The role of c-myc in cellular growth control[J]. Oncogene, 1999, 18(19): 2988-2996.

[11] Boxer L M, Dang C V. Translocations involving c-myc and c-myc function[J]. Oncogene, 2001, 20 (40): 5595-5610.

[12] Facchini L M, Penn L Z. The molecular role of Myc in growth and transformation: recent discoveries lead to new insights[J]. FASEB J, 1998, 12 (9): 633-651.

[13] Evan G I, Wyllie A H, Gilbert C S, *et al*. Induction of apoptosis in fibroblasts by c-myc protein[J]. Cell, 1992, 69 (1): 119-128.

[14] Hueber A O, Zornig M, Lyon D, *et al*. Requirement for the CD95 receptor-ligand pathway in c-Myc-induced apoptosis [J]. Science, 1997, 278(5341): 1305-1309.

[15] Pulverer B J, Fisher C, Vousden K, *et al*. Site-specific modulation of c-Myc cotransformation by residues phosphorylated in vivo[J]. Oncogene, 1994, 9(1): 59-70.

[16] Sears R, Leone G, DeGregori J, *et al*. Ras enhances Myc protein stability[J]. Mol Cell, 1999, 3(2): 169-179.

[17] Lutterbach B, Hann S R. c-Myc transactivation domain-associated kinases: questionable role for map kinases in c-Myc phosphorylation [J]. J Cell Biochem, 1999, 72(4): 483-491.

[18] Seo H R, Kim J, Bae S, *et al*. Cdk5-mediated phosphorylation of c-Myc on Ser-62 is essential in transcriptional activation of cyclin B1 by cyclin G1[J]. J Biol Chem, 2008, 283(23): 15601-15610.

[19] Kavurma M M, Khachigian L M. Signaling and transcriptional control of Fas ligand gene expression[J]. Cell Death Differ, 2003, 10(1): 36-44.

(**收稿**:2009-06-03;**修回**:2009-10-23)

(编辑 邓强庭)

(上接223页)

2 讨论

胃石的成分主要有植物性、毛发性、乳质性和混合性4种。胃内高酸环境是胃石形成的条件。国内大多学者将直径大于3 cm,不能经幽门自然排出的胃内结石定义为巨大胃石[2]。高祥英[3]曾报道约12 cm×7.5 cm巨大胃柿石合并胃角部急性期溃疡。郭秀云等[1]曾报道9 cm×4 cm巨大胃石合并胃底糜烂出血。如本例大小的巨大胃石,特别是毛发性胃石鲜有报道。毛发胃石多见于有异食症患者,患者吞食毛发后,毛发与胃黏液结成并相互缠绕成团,毛发可被胃酸和胃酶氧化,呈黑色。患者临床常见症状有恶心、呕吐,上腹胀痛,不适感等,60%~70%的患者可并发浅表性胃炎和胃溃疡,出现幽门梗阻、上消化道出血、体质量减轻等,查体可扪及上腹的可移动性包块。辅助检查首选胃镜,植物性胃石多呈黑色、深褐色或绿色,位于胃底或胃体部,形成团块状物或无定形球状物。CT、X线、B超检查等亦可诊断[4]。非手术治疗可采用胃镜下注入或口服α-糜蛋白酶、果胶酶碳酸氢钠、纤维素酶、番木瓜酶、乙酰半胱氨酸等将胃石溶解。适用于胃石形成时间短,胃石体积较小者,同时予促胃肠动力药物排石[5]。体积较大、形成时间较长的胃石,采取内镜下,通过活检钳、圈套器、外科剪刀或高频电切刀直接碎石并服用中西药物可获得满意疗效,一次性治愈率可达97%。据国内报道,经胃镜用微波、微型爆破、钬激光治疗,一次性治愈率分别为91%、70%、57%[6]。成石较久的巨大结石,特别是毛发胃石及非手术治疗失败或出现腹膜炎、梗阻、穿孔等严重并发症者则应及时选择外科手术治疗。

参考文献:

[1] 郭秀云, 王珂, 张金波, 等. 巨大胃石1例报告[J]. 中国临床实用医学, 2007, 2(7): 14.

[2] 陈会松,叶国良,程德希,等.内镜下药物注射并机械碎石对巨大胃石的治疗价值[J].浙江医学, 2007, 29(9): 956-957.

[3] 高祥英.巨大胃石症1例诊断及治疗[J]. 医用放射技术杂志, 2005,11:54.

[4] 汤淼, 文丽彬. 胃石1例并文献复习[J]. 江西医药, 2008, 43(4): 306-307.

[5] 段秀芳. 内镜下机械碎石与药物联合治疗胃石症30例分析[J]. 中国医师进修杂志, 2006, 29(8A): 69-70.

[6] 孟立峰. 胃石症的内镜下综合治疗[J]. 中华临床医学研究杂志, 2007, 13(18): 2621-2622.

(**收稿**:2009-07-29;**修回**:2009-09-03)

(编辑 王小寒)