维普资讯 http://www.cqvip.com

论 著 文章编号:0253-3626(2007)10-1049-06

EMs 异位及在位内膜间质细胞 Cx43 的表达及 GJIC 功能的体外研究

刘志能,姚珍薇,唐良茜,赵纯全,张建华

(重庆医科大学附属第一医院妇产科,重庆 400016)

【摘 要】目的:研究子宫内膜异位症(EMs)的异位与在位内膜间质细胞中 Cx43 的表达及间隙连接细胞间通讯(GJIC)功能,探讨间质细胞 GJIC 功能异常对 EMs 发病的影响。方法:取 24 例卵巢处子宫内膜异位灶、41 例 EMs 在位内膜以及 30 例正常子宫内膜,分离出间质细胞,加入雌、孕激素培养,建立体外间质细胞培养模型。利用激光共聚焦显微镜(LSCM)分别检测三组间质细胞的 Cx43 表达及 GJIC 功能。结果:间质细胞成功培养率分别为:异位内膜组 45.8%(11/24)、EMs 在位内膜组 92.7%(38/41)、对照组 93.3%(28/30),异位内膜间质细胞纯度为 95%,在位内膜间质细胞纯度达 98%。EMs 异位内膜间质细胞中 Cx43 表达水平及 GJIC 功能明显比其他两组低,正常对照组的 Cx43 表达水平及 GJIC 功能最高,且差异均有显著性($P<0.01$)。结论:(1)同时建立 EMs 异位内膜、在位内膜及正常内膜间质细胞的体外模型,有助于研究 EMs 的发病机制;(2)间质细胞中 Cx43 蛋白表达下调及其 GJIC 功能异常与 EMs 发生有关,调节 Cx43 表达或 GJIC 功能可能是潜在的治疗策略。

【关键词】子宫内膜异位症;细胞培养;间质细胞;连接蛋白 43;间隙连接细胞间通讯;荧光漂白后恢复技术

【中国图书分类法分类号】R711.71;Q2-33 【文献标识码】A 【收稿日期】2007-01-05

Study on Cx43 expression and function of GJIC in ectopic and eutopic endometrial stromal cells *in vitro*

LIU Zhineng, et al

(*Department of Gynecology and Obstetrics, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate Cx43 expression and gap junctional intercellular communication (GJIC) in ectopic and eutopic endometrial stromal cells in endometriosis (EMs), and to explore the influence of aberrant GJIC in stromal cells on pathogenesis of EMs. *Methods*: The stromal cells were isolated from samples including 24 ectopic endometriotic tissues located in ovaries, 41 eutopic endometria with endometriosis and 30 normal endometria. The endometrial stromal cells models were established *in vitro* by being cultured in manual conditions mimicked with estrogen and progesterone. Laser scanning confocal microscopy (LSCM) was used to determine the expression of Cx43 protein and the function of GJIC in three groups stromal cells. *Results*: The success rate of isolation and culture of endometriotic stromal cells was 45.8%(11/24); of eutopic endometrial stromal cells with EMs was 92.7 (38/41); of normal endometrial stromal cells was 93.3%(28/30). The purities of ectopic and eutopic endometrial stromal cells were 95% and 98% respectively. The level of Cx43 protein and the function of GJIC in stromal cells from ectopic endometrial tissues were much lower than those from the other two groups, the highest level of Cx43 protein and the function of GJIC were observed in normal endometrial stromal cells group, and the differences among these groups were significant ($P<0.01$). *Conclusions*: (1) It will be helpful to establish models of normal, ectopic and eutopic endometrial stromal cells *in vitro* simultaneously when investigating the pathgenesis of EMs. (2) Downregulation of Cx43 expression and aberrant function of GJIC are related to pathogenesis of EMs. Regulation of Cx43 or GJIC in endometrial stromal cells is implied to be a potential strategy to treat EMs.

【Key words】 Endometriosis (EMs); Cell culture; Stromal cell; Connexin43 (Cx43); Gap junctional intercellular communication (GJIC); Fluorescence recovery after photobleaching (FRAP)

子宫内膜异位症(Endometriosis,EMs)是指子宫内膜组织(包括腺体和间质)出现在子宫体以外的部位并引起临床症状。它在育龄妇女中的发病率高达 10%~15%,常造成患者盆腔疼痛、性交不适甚至

作者介绍:刘志能(1975-),男,主治医师,博士生,主要研究方向:妇科肿瘤及子宫内膜异位症的治疗。

维普资讯.http://www.cqvip.com

不孕,严重危害着患病妇女的身心健康。目前 EMs 的发病机制尚未完全阐明,现有的手术及药物治疗效果均不甚理想。EMs 具有类似恶性肿瘤的侵袭、复发、种植及远处转移等生物学行为,提示二者之间可能具有某些相似的发病机制。近来大量研究表明间隙连接细胞间通讯(Gap junctional intercellular communication,GJIC)功能异常是细胞癌变、瘤灶转移、侵袭的重要机制之一[1],故推测 EMs 的发病过程中可能也出现了 GJIC 功能异常。由于子宫内膜间质细胞在 EMs 发病中起着极为重要的作用,且决定着上皮细胞的 GJIC 功能[2,3]。因此,我们运用间接免疫荧光法检测了正常内膜间质细胞和 EMs 的异位、在位内膜间质细胞中与 GJIC 相关的 Cx43 蛋白的表达,并应用荧光漂白后恢复技术(Fluorescence recovery after photobleaching,FRAP)研究了不同间质细胞 GJIC 功能,以探讨间质细胞 GJIC 功能改变在 EMs 发病中的作用,为临床寻找新的治疗策略奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 研究对象

实验组:选取重庆医科大学附属第一医院妇产科 2006 年 2 月 ~2007 年 1 月住院行手术治疗的内异症患者 41 例,患者年龄 24 ~ 48 岁,平均(35.8 ± 3.27)岁,41 例患者中合并 24 例单侧或双侧卵巢巧克力囊肿;取同期因子宫肌瘤行子宫全切术的患者(排除患有 EMs)30 例作为对照组,年龄 23 ~ 50 岁,平均(36.3 ± 4.06)岁。对照组与实验组患者年龄无差异显著性($P > 0.05$)。所有病例均在剖腹行子宫、附件全切术后,无菌条件下刮取靠近子宫底部的内膜组织或剥取卵巢巧克力囊肿的内壁,并立即放入含 50U/ml 青霉素、链霉素的无菌 D-HBSS 平衡盐溶液的小瓶中,于 20min 内送至实验室。所有病例均无其他内外科疾病,手术前 6 个月未接受激素治疗或化疗,均经开腹手术及术后病理确诊。采取标本均得到患者的同意,并签署了知情同意书。

1.2 主要试剂及设备

FD(F12/DMEM)培养基(不含酚红)、胶原酶 - Ⅰ、DNase Ⅰ均购自 Gibco 公司;胎牛血清购自杭州四季青生物制品有限公司;E2(17β-Estradiol)、P(progesterone)为 Sigma 公司产品;6-CFDA 购自 Fluka BioChemika 公司(№19586#),使用前先用二甲基亚砜(DMSO)配成浓度为 1mg/ml 的储存液,分装后置 -20℃保存;Cx43 单克隆抗体由 Zymed 公司提供(№13-8300#);vimentin 鼠抗人单克隆抗体系进口分装(即用型工作液);二抗为 FITC 标记的羊抗鼠单克隆抗体(进口分装,浓缩液);100 目(孔径 150μm)、400 目(孔径 35μm)的不锈钢丝细胞滤网购自重庆恒益仪器有限公司;倒置显微镜(带 viewcapture 摄像系统)为日本 Nikon TE2000-U 型;激光共聚焦显微镜为德国 Leica TCS-SP5 型。

1.3 方 法

1.3.1 细胞的分离、培养 在位子宫内膜及异位内膜组织细胞的分离、培养参考文献[4,5]并加以改良:将内膜组织标本置入冰冷的 D-HBSS 平衡盐溶液中反复冲洗,尽量去除血凝块,再将组织剪成 0.5~1.0mm³ 大小的碎块,转入刻度离心管内,加适量的 0.2%胶原酶 - Ⅰ,置 37℃、5%CO_2 细胞培养箱内消化 1~1.5h(其间每间隔 20min 用巴氏管吹打混匀 1 次);胶原酶 - Ⅰ消化结束后加入 DNase Ⅰ继续消化 30min,然后加含有胎牛血清的培养液终止消化,以 1000r/min 离心 5min,并用不含血清的培养液洗涤 2 次,将洗涤后的细胞悬液过 100 目的细胞滤网,以去除黏液和未消化的组织,所得滤液含单个间质细胞及腺上皮细胞团;再将滤液过 400 目的细胞滤网,此时所得滤液主要为间质细胞(反向冲洗未滤过的腺细胞团,收集用作其他实验),以 1×10^5/ml 的密度接种于铺有盖玻片的 6 孔板内,放入 37℃、5%CO_2 细胞培养箱内培养。30min 后将未贴壁细胞轻轻吸出,加入含 10%胎牛血清无酚红 FD 培养基继续培养。第 1 次 24h 后换液,以后每隔 2 天换液 1 次。用于 Cx43 免疫荧光及 GJIC 功能检测的细胞均加入生理剂量 E_2、P 进行培养 5 天(E_2 终浓度为 170pg/ml、P 终浓度为 200pg/ml)。

1.3.2 细胞形态观察及纯度鉴定

直接应用 Nikon 倒置显微镜每日对细胞进行形态学观察,并用 viewcapture 系统摄像。采用免疫荧光技术鉴定细胞,并进行纯度分析:一抗 vimentin 鼠抗人单克隆抗体为工作液,二抗 FITC 标记的羊抗鼠单克隆抗体工作浓度为 1:100,阴性对照用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗,阳性对照利用子宫在位内膜组织或小鼠肝细胞。vimentin 阳性染色视为间质细胞[4-6]。

1.3.3 Cx43 免疫荧光测定

将分离纯化后的基质细胞置于生理剂量的 E_2、P 中培养 5 天,达到性激素水平同步化。间质细胞免疫荧光按常规及试剂说明书操作:细胞经 4%多聚甲醛室温固定 20min,加入的一抗 Cx43 单克隆抗体按 1:400 稀释,FITC 标记的二抗工作浓度为 1:100,采用 1%碘化丙啶(PI)染核,最后以 50%缓冲甘油封片,置共聚焦显微镜下观察、摄像,图像采用 Leica LAS AF 软件 quantify 程序进行荧光强度测定。

1.3.4 用 FRAP 法检测间质细胞的 GJIC 功能[7]

细胞在生理剂量的 E2、P 中生长 5 天后,取出贴壁单层生长的细胞爬片,HBSS 液清洗 3 次,转入空的 6 孔板中,加入 10μg/ml 6-CFDA 1ml(将储存液用含有 Ca^{2+}、Mg^{2+} 的 HBSS 缓冲液稀释而成),置 37℃、5%CO_2 细胞培养箱中孵育 10 ~ 15min。取出后用 HBSS 液洗涤,再加入少量不含血清的培养液,上机检测。实验中选择 3 种细胞:①周围与其它细胞紧密连接,需用激光去淬灭的细胞,作为漂白细胞;②孤立于其它细胞,也需用激光去淬灭的细胞,作为单个细胞,用于对

维普资讯 http://www.cqvip.com

照;③周围与其它细胞紧密连接的,但不需要激光淬灭的细胞,作为未漂白细胞,用于背景校正。用光标分别描绘出上述三种细胞的 ROI(Regions of interest)区域。整个光漂白实验采用 FRAP Wizard 程序在 30min 内完成,监测 3 种细胞 4 min,观察其荧光变化及恢复情况,每份标本测量 20 个间质细胞。仪器参数设置参照说明书。通过 ROI 漂白后不同时间的各次扫描图像(共 9 帧),获取漂白细胞荧光恢复及相邻接触未漂白细胞荧光的变化。数据通过 FRAP quantify 子程序获得。荧光漂白恢复率参照文献[9]的公式计算。

1.4 统计学处理

采用正版 SAS9.0 统计软件包处理,间质细胞培养成功率及 Cx43 阳性率用 χ^2 检验;计量资料的数值以均数 ± 标准差表示,各组比较采用 t 检验和方差分析进行显著性分析;FRAP 的数据经系统转换后,自动生成拟合曲线。

2 结 果

2.1 细胞分离培养情况及形态特点

如表 1 所示,EMs 在位内膜 41 例,间质细胞成功培养 38 例,成功率约 92.7%,未成功者 2 例因霉菌污染、1 例因术前诊刮造成内膜组织过少。24 例异位内膜组织仅成功培养间质细胞 11 例,成功率为 45.8%,13 例未获得间质细胞。对照组内膜 30 例,成功培养间质细胞 28 例,成功率约 93.3%,未成功的 2 例系细菌污染。在位和异位间质细胞接种 30min 开始贴壁,24h 后已完全贴壁。对照组和 EMs 在位内膜间质细胞体积略大,多呈梭形,偶见多角形,胞质薄而透明,核呈椭圆形,易出现平行排列生长,而 EMs 异位内膜间质细胞较在位内膜间质细胞体积略小,形态与在位内膜间质细胞极为相似,48h 内可见分散生长,3 天后亦出现并行排列生长。如图 1~3 所示。

表 1 3 组间质细胞分离培养成功率

组 别	总例数	成功培养例数	成功率(%)	P 值
EMs 异位内膜	24	11	45.8	$P < 0.01$
EMs 在位内膜	41	38	92.7	$P^* > 0.05$
正常对照组	30	28	93.3	

EMs 异位内膜与两组在位内膜比较,$P < 0.05$;EMs 在位内膜成功率与正常对照组比较,$P^* > 0.05$

2.2 分离的间质细胞纯度

经 vimentin 染色后,间质细胞均显示较亮的绿色荧光。EMs 在位内膜及正常对照内膜间质细胞纯度均较高,达到 98%,EMs 异位内膜间质细胞纯度约为 95%。如图 4,5 所示。



图 1 正常内膜间质细胞 3 天(×200)



图 2 EMs 在位内膜间质细胞 3 天(×200)

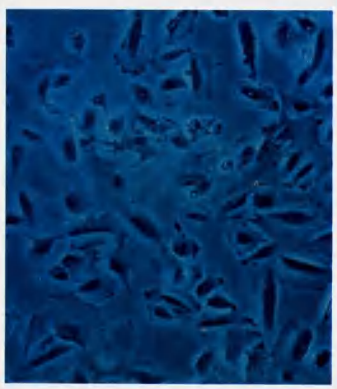


图 3 EMs 异位间质细胞 3 天(×200)



图 4 在位内膜间质细胞 vimentin 荧光(×100)

维普资讯 http://www.cqvip.com

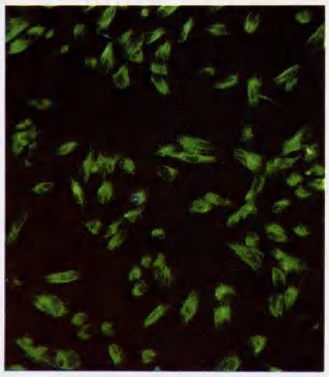


图 5 EMs 异位内膜间质细胞 vimentin 荧光(×100)

2.3 间质细胞 Cx43 蛋白表达

Cx43 主要在 EMs 在位内膜及正常内膜间质细胞的胞膜上表达，染色多呈斑点状的绿色荧光，偶见两个细胞间有短线条状荧光。胞质内亦有少许小点状荧光分布。而 EMs 异位内膜间质细胞少见、甚至缺少荧光染色。如图 6~8 所示。Cx43 蛋白表达量由 quantify 程序自动计算单位面积的荧光强度而获得，每病例至少随机计数 200 个细胞。设荧光强度为 10 以上记作阳性细胞，计算阳性率。对照组间质细胞的阳性率可达 98%，EMs 在位组为 80.5%，异位组阳性率最低，仅为 10.33%。测定 3 组间质细胞的荧光强度发现，EMs 异位内膜组 < EMs 在位内膜组 < 正常组，且差异均有显著性（$P < 0.01$）。如表 2 所示。

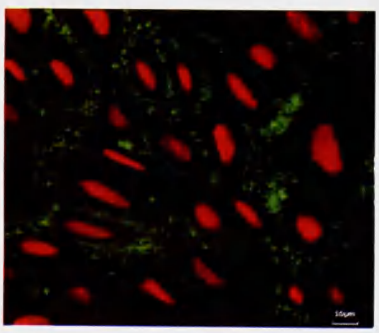


图 6 正常内膜间质细胞 Cx43 表达

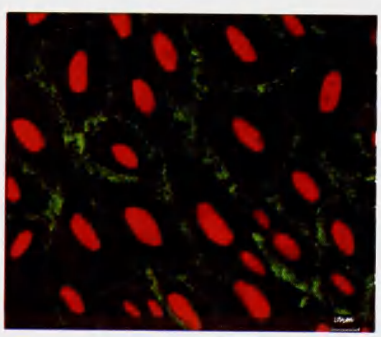


图 7 EMs 在位内膜间质细胞 Cx43 表达

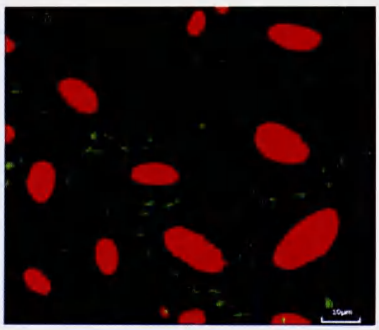


图 8 EMs 异位内膜间质细胞 Cx43 表达

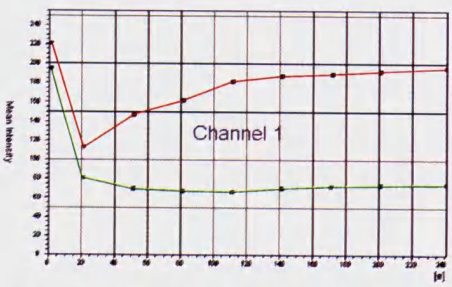
表 2 3 组间质细胞 Cx43 的荧光强度

组 别	阳性率(%)	荧光强度
EMs 异位内膜	11.00	14.317 ± 3.962
EMs 在位内膜	82.00	29.832 ± 5.725
正常对照组	98.00	45.958 ± 8.182

各组间阳性率两两比较，$P < 0.05$；各组间荧光强度两两比较，$P < 0.01$

2.4 不同组的间质细胞 GJIC 功能

如图 9，10 所示，正常内膜间质细胞漂白后荧光恢复较为迅速，在 150s 左右可达平台期，4min 时已恢复至漂白前荧光强度的 70%~85%，EMs 在位内膜组恢复程度较对照组弱（$P < 0.01$）。EMs 异位内膜间质细胞恢复程度最低，且平台期出现在 180s 左右，部分间质细胞的恢复曲线平直，未见恢复。EMs 异位内膜间质细胞荧光恢复程度较两组在位内膜间质细胞明显降低，差异有显著性（$P < 0.01$）。如表 3 所示。



红色为第一类细胞（周围有多个细胞相邻），荧光有恢复；绿色为第二类细胞（孤立的），未见荧光恢复。图中纵坐标代表荧光强度，横坐标代表时间

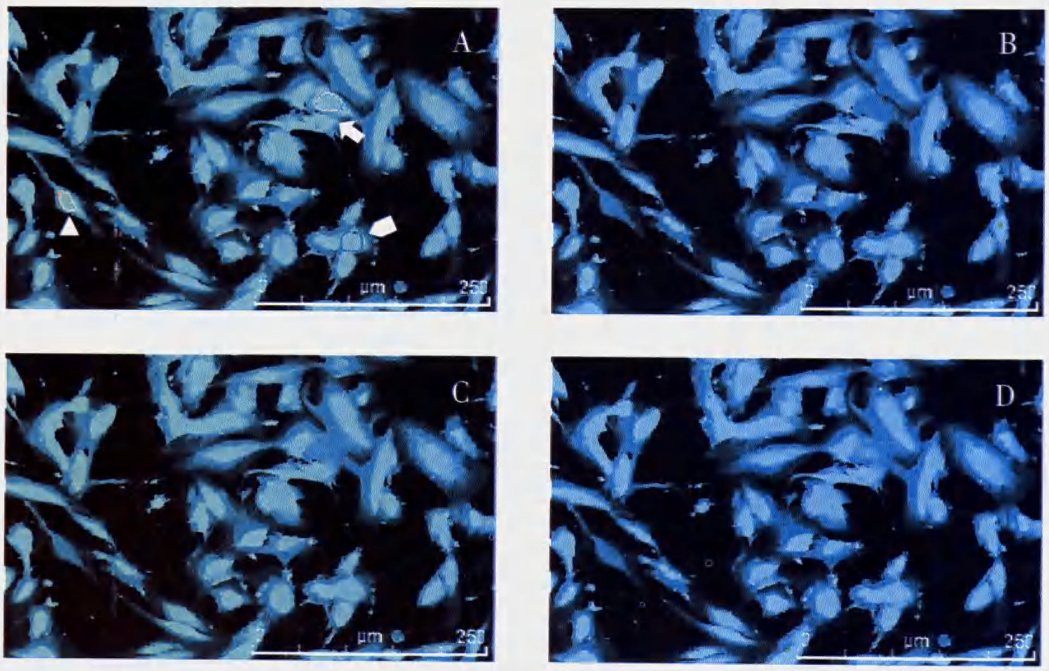
图 10 正常间质细胞恢复强度-时间曲线

表 3 3 组间质细胞平均荧光恢复率

组 别	病例数	测量的细胞数	平均荧光恢复率 (%/min，$\bar{x} \pm s$)
EMs 异位内膜	24	480	1.962 ± 1.018
EMs 在位内膜	38	760	14.617 ± 3.917
正常对照组	30	600	20.057 ± 3.209

各组间平均荧光恢复率两两比较，$P < 0.01$

维普资讯 http://www.cqvip.com



A 为漂白前：⬆标记为第一类细胞，需要漂白，▲标记为第二类细胞，用于对照的孤立细胞，也需要漂白，◀标记为第三类细胞，用于背景校正，不需要漂白；B 为漂白后；C 为漂白后 2min；D 为漂白后 4min。

图 9　正常间质细胞 FRAP 实验

3　讨　论

3.1　建立体外细胞培养模型的意义

以往大多数关于 EMs 的实验研究是在人工诱导的动物模型上进行的，但在动物体内诱导出的 EMs 样变化不是自然发生的疾病，不能完全代表人体内的情况；此外 EMs 在位内膜细胞与正常内膜细胞的差异尚无定论，异位内膜间质细胞不同于在位内膜间质细胞的功能状态；而体外培养的宫内膜细胞接近人体内的生长、分泌等特性，因此体外同时进行 EMs 在位、异位内膜及正常对照内膜间质细胞的原代培养，能够提供细胞在组织原位的部分信息，为进一步研究 EMs 的发病机制提供了一个可供比较研究的实验模型。

本实验的 EMs 在位内膜及正常对照内膜间质细胞培养成功率分别为 92.7%、93.3%高于文献报道[4]，而异位内膜间质细胞的培养成功率仅为 45.8%，远低于在位内膜的成功率。这一方面是由于实验操作中反复过滤、离心，造成部分细胞丢失，细胞数目过少则不易培养成功；另一方面陈旧性出血的囊肿含内膜成份少，而有新鲜出血、囊内壁增厚者易于获得较多间质细胞，且活性较高。本实验中联合酶法消化、细胞滤网、不同细胞贴壁时间差而将间质细胞分离出来，在位内膜间质细胞纯度可达 98%，EMs 异位内膜间质细胞的纯度可达 95%，能够满足本研究的实验要求。

3.2　间质细胞 Cx43 的表达、GJIC 功能及其意义

GJIC 是相邻细胞间进行信息和能量交换的重要方式，它是通过间隙连接（Gap junction）的介导而实现的。cAMP、IP3、Ca^{2+}等第二信使及小分子物质可以自由通过间隙连接。完整的间隙连接由两个连接子构成，每个连接子由 6 个连接蛋白（Connexin，Cx）集聚而成，Cx 的不同表达量及活化程度决定着细胞的 GJIC 功能。GJIC 能调节细胞的新陈代谢、增殖和分化等生理过程，对机体的代谢平衡和生长发育起着重要作用。人体内 Cx 的表达受到性激素的调控，处于增生晚期时，内膜间质细胞 Cx43 的表达量达到峰值[9]，因此我们在体外模拟人月经周期 10~15 天的性激素水平，用相同浓度的 E_2、P 培养细胞 5 天，消除因取材时患者体内性激素水平差异对 Cx43 表达的影响[3]。

实验发现，Cx43 蛋白在异位及在位子宫内膜的间质细胞中均有不同程度表达。经相同浓度的 E_2、P 作用后，同一组内来自不同月经周期的内膜间质细胞表达 Cx43 的水平均趋于一致，而不同组之间存在明显的差异（$P < 0.01$）。EMs 在位内膜间质细胞

维普资讯 http://www.cqvip.com

Cx43 蛋白的表达低于对照组($P < 0.01$),表明 EMs 在位内膜间质细胞与正常内膜对 Cx43 蛋白表达的调控存在着差异。谯建等[10]对不同月经周期 EMs 在位内膜石蜡标本进行 Cx43 免疫组化分析也有类似的发现。本实验还发现 EMs 异位内膜间质细胞 Cx43 蛋白的表达较两组在位内膜显著减少,甚至不表达(未见荧光信号),这与 Regidor 等人的研究结果一致[11]。这些发现表明 EMs 发生与间质细胞 Cx43 表达下调有关。EMs 异位组和在位组 Cx43 蛋白表达下调提示这两组间质细胞中间隙连接数减少,小分子物质或调节信号在相邻细胞间的传输效率可能下降。

GJIC 是近年来研究的热点,研究者们发现肿瘤和转化细胞普遍存在 GJIC 功能缺陷。随着激光扫描共聚焦显微镜(Laser scanning confocal microscope,LSCM)的问世,FRAP 技术可用于对活细胞 GJIC 功能进行动态、定量的测定。本实验采用的荧光染料 6-CFDA 对细胞无毒性,并有膜通透性,它本身不发光,进入细胞后水解成 6-CF,6-CF 则可被波长为 488nm 的激光激发出黄绿色荧光且无膜通透性,因此荧光物质进入细胞后无法通过细胞膜出来,即只有通过细胞间隙连接通道才能相互交换。经激光漂白(荧光被淬灭)后,细胞内的荧光恢复速度与程度能较好地反映细胞的 GJIC 功能[7,12]。

FRAP 实验发现,EMs 异位内膜间质细胞的 GJIC 功能显著低于 EMs 在位内膜组,EMs 在位内膜间质细胞 GJIC 功能亦低于对照组。间质细胞 GJIC 功能状态与其 Cx43 蛋白表达量是一致的,即 Cx43 表达量高,GJIC 功能增强,Cx43 蛋白表达量低,GJIC 功能减弱。结果表明 Cx43 蛋白表达量决定了体外培养内膜间质细胞的 GJIC 功能,提示上调 Cx43 表达将是改善间质细胞 GJIC 功能的有效策略。

在正常子宫内膜中,间质细胞对上皮细胞起着十分重要的支持和调节作用,间质细胞的生长及其产生的细胞因子、酶类和功能蛋白等生物活性物质,可影响上皮细胞的生长和功能,并对子宫新生肿瘤的发生有重要意义;正常内膜间质细胞尚可直接调节上皮细胞的 GJIC 功能[3]。因此笔者推测,在 EMs 的发病过程中,由于 Cx43 表达下调,造成了间质细胞 GJIC 功能异常,间质细胞 GJIC 功能异常一方面使间质细胞本身失去周围正常细胞的调控而容易获得自主性生长,另一方面导致了间质细胞对上皮细胞的支持和调控作用减弱,内膜细胞之间失去正常的调控信息,接触抑制和密度依赖性生长作用减弱,细胞相互间的粘附能力降低,导致部分细胞容易脱落,因而出现了类似与肿瘤细胞的异位种植和侵袭。但是 EMs 间质细胞 GJIC 功能异常的调节机制可能有别于肿瘤细胞,即 EMs 间质细胞只是在 Cx43 的基因转录或蛋白翻译、加工水平出现了下调,没有发生原癌基因的激活,亦无 Cx43 基因的突变,故 EMs 间质细胞的生长是可控的。但目前有关异位内膜间质细胞中 Cx43 基因及蛋白合成、加工的调控环节或信号转导途径还不清楚,需待进一步研究。

EMs 异位内膜间质细胞与对应的 EMs 在位内膜间质细胞在 Cx43 表达、GJIC 功能上均有差异,异位内膜与在位内膜的这种差异的原因可能系两者间质细胞之间存在表型差异,或者是子宫内膜组织由各种具有不同反应性的异源性细胞亚群组成[13]。在逆流入腹腔、卵巢等处的月经期内膜中,那些 GJIC 功能异常的细胞亚群可能因细胞间信号分子传递障碍而失去调控,逃避了免疫清除,获得了较强的生存能力,最终与部分上皮细胞一起发展成异位灶。

通过上调 EMs 内膜间质细胞 Cx43 的表达、恢复其 GJIC 功能,使细胞自身信号包括许多离子和小分子物质在细胞间正常流动,调控细胞增殖、分化按正常的程序进行,这可能是治疗 EMs 的潜在策略。

参 考 文 献

[1] Trosko JE,Ruch RJ. Gap junctions as targets for cancer chemoprevention and chemotherapy[J]. Curr Drug Targets,2002;3(6):465-482.

[2] 赵 昀,张 宏,李亚里,等.子宫内膜细胞的培养和侵袭性研究[J]. 解放军医学杂志,2003;28(5):425-427.

[3] Schlemmer SR,Kaufman,DG. Endometrial stromal cells regulate gap-junction function in normal human endometrial epithelial cells but not in endometrial carcinoma cells[J]. Mol Carcinog,2000;28(2):70-75.

[4] Matthews CJ,Redfern CP,Hirst BH,et al. Characterization of human purified epithelial and stromal cells from endometrium and endometriosis in tissue culture[J]. Fertil Steril,1992;57(5):990-997.

[5] 谭先杰,刘东远,郎景和,等.子宫内膜腺上皮及基质细胞分离、培养作为子宫内膜异位症体外细胞模型的探索[J]. 现代妇产科进

(下转第 1077 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

通过抑制环氧化酶活性，进而抑制前列腺素合成，使 TXA_2 生成减少，对血栓的形成有一定的抑制作用[5]。然而在本研究中，氯诺昔康复合曲马多组的 PT、APTT 较 I 组虽有延长，但均在正常范围内，无临床价值。

恶心、呕吐往往是患者在使用阿片类药物镇痛时难以接受的不良反应。氯诺昔康在减轻镇痛同时，在恶心呕吐反应上较沙菲组有明显的优势。氯诺昔康不引起肠胀气，术后排气时间较沙菲组明显提前。其镇静作用亦较沙菲组减轻，有利于患者起身活动，促进康复。在安全剂量下，氯诺昔康对肾功能无影响，两组患者移植肾均存活。

综上所述，在肾移植术后中到重度疼痛的患者中，经静脉 PCA 给药时，氯诺昔康复合曲马多和沙菲复合曲马多镇痛同样有效。相对于 I 组引起的恶心、呕吐，排气延迟和深度镇静，氯诺昔康具有更好的耐受性，适于临床推广使用。

参 考 文 献

[1] Zhao H, Ye TH, Gong ZY, et al. Application of lornoxicam to patient controlled analgesia in patients undergoing abdominal surgeries[J]. Chin Med Sci J, 2005; 20(1): 59-62.

[2] Nuutinen LS, Laitinen JO, Salomaki TE. A risk-benefit appraisal of injectable NSAIDs in the management of postoperative pains[J]. Drug Safety, 1993; 9(5): 380-393.

[3] StaunstruP H, Ovesen J, Kroner K, et al. Efficacy and tolerabllity of lornoxicam versus tramadol in postoperative pain[J]. J Clin Pharmaral, 1999; 39(8): 834-841.

[4] Thienthong S, Jirarattanaph0chai K, Krisanaprakornkit W, et al. Treatment of pain after spinal surgery in the recovery room by single dose lornoxicam: a randomized, double blind, placebo-controlled trial[J]. J Med ASSOC Thal, 2004; 87(6): 650-655.

[5] 区锦燕，吴征杰，廖荣宗，等.氯诺昔康治疗股骨骨折后疼痛对患者皮质醇及凝血功能的影响[J]. 中医正骨，2005；17(12)：3-5.

(上接第 1054 页)

展，2002；11(1)：30-32.

[6] Khan KN, Masuzaki H, Fujishita A, et al. Interleukin-6- and tumour necrosis factor alpha-mediated expression of hepatocyte growth factor by stromal cells and its involvement in the growth of endometriosis[J]. Hum Reprod, 2005; 20(10): 2715-2723.

[7] 周逢海，王养民，宋 波，等. 18β-GA 对遏尿肌不稳定缝隙连接介导细胞间通讯功能影响[J]. 中华实验外科杂志，2006；23(3)：369.

[8] Wade MH, Trosko J E, Schindler M. A fluorescence photobleaching assay of gap junction-mediated communication between human cells[J]. Science, 1986; 232(4749): 525-528.

[9] Jahn E, Classen-Linke I, Kusche M, et al. Expression of gap junction connexins in the human endometrium throughout the menstrual cycle[J]. Hum Reprod, 1995; 10(10): 2666-2670.

[10] 谯 建，姚珍薇，令狐华. CON43、CON26 蛋白在子宫内膜异位症中的表达及意义[J]. 实用妇产科杂志，2005；21(12)：732-734.

[11] Regidor PA, Regidor M, Schindler AE, et al. Aberrant expression pattern of gap junction connexins in endometriotic tissues[J]. Mol Hum Reprod, 1997; 3(5): 375-381.

[12] Abbaci M, Barberi-Heyob M, Stines JR, et al. Gap junctional intercellular communication capacity by gap-FRAP technique: a comparative study[J]. Biotechnol J, 2007; 2(1): 50-61.

[13] Mellor SJ, Thomas EJ. The actions of estradiol and epidermal growth factor in endometrial and endometriotic stroma in vitro[J]. Fertil Steril, 1994; 62(3): 507-513.

(上接第 1061 页)

tant or pseudo-null p53 in drug resistance associated with tubulin mutations in human cancer[J]. Oncogene, 2000; 19: 3078-3085.

[7] Christopher O, C Bellamy. p53 and poptosis[J]. British Medical Bulletin, 1997; 53: 522-538.

[8] A. Anelli, R. R. Brentani, A. P. Gadelha, et al. Correlation of p53 status with outcome of neoadjuvant chemotherapy using paclitaxel and doxorubicin in stage IIIB breast cancer[J]. Annals of Oncology, 2003; 14: 428-432.

[9] Daniela Kandioler-Eckersberger, Carmen Ludwig, Margarethe Rudas, et al. TP53 Mutation and p53 Overexpression for Prediction of Response to Neoadjuvant Treatment in Breast Cancer Patients[J]. Clinical Cancer Research, 2000; 6: 50-56.

[10] Ciardiello F, Caputo R, Pomatico G, et al. Resistance to taxanes is induced by c-erhB-2 overexpression in human MCF-10A mammary epithelial cells and is blocked by combined treatment with an antisense oligonucleotide targeting type I protein kinase A[J]. Int J Cancer, 2000; 85: 710-715.

[11] Estevez LG, Cuevas JM, Anton A, et al. Weekly docetaxel as neoadjuvant chemotherapy for Stage II and III breast cancer: efficacy and correlation with biological markers in a Phase II, multicenter study[J]. Clin Cancer Res, 2003; 9: 686-692.

[12] Shinji Kariya, Yasuhiro Ogawa, Akihito Nishioka, et al. Relationship between Hormonal Receptors, HER-2, p53 Protein, Bcl-2, and MIB-1 Status and the Antitumor Effects of Neoadjuvant Anthracycline-based Chemotherapy in Invasive Breast Cancer Patients [J]. Radiation Medicine, 2005; 23(3): 189-194.