维普资讯 http://www.cqvip.com

化,使基因表达具有时空特点。正常组织细胞中,广泛表达的基因启动子区域 CpG 岛常处于非甲基化状态,肿瘤细胞中,这些 CpG 岛常变为甲基化状态,其相关基因的表达亦被关闭。对许多基因的研究也证实了这一点,其中包括:肿瘤抑制基因、细胞周期凋亡调节基因、抑制肿瘤转移和浸润基因、DNA 修复基因、激素受体基因、抑制血管形成基因等[3]。

因此,研究者们都锁定这一课题:如何通过控制 DNA 甲基化的表达来达到治疗的目的? DNA 甲基化状态主要是由 DNA 甲基转移酶和去甲基酶的活性来相互调节的。现应用较多的是 DNA 甲基转移酶抑制剂,如 5' - Aza - 2' - deoxycytidine 等。但据临床的研究发现其毒副作用和耐药性明显,患者的耐受性及依从性较差,故未得到普遍应用[4]。因此本实验希望从基因水平入手,减少 DNA 甲基转移酶产量,控制基因启动子区域的甲基化状态,使一些因超甲基化而沉默的基因重新激活,发挥其应有的抑制肿瘤功能。

编码 DNA 甲基转移酶的基因主要有:DNMT1、DNMT2、DNMT3。其中,DNMT1 主要是维持 DNA 的甲基化;DNMT2 可与 DNA 上特异性位点结合,但其具体作用尚不清楚;DNMT3 主要参与 DNA 的从头甲基化。本实验选择 DNMT1 作为研究对象。

现在抑制基因表达的方法比较多,现在最热门的是 RNA 干扰法,尤其是 siRNA[5,6]。许多研究表明在哺乳动物细胞中用 siRNA 能高效阻断某个特定基因的表达。它与正义、反义 RNA 基因干涉相比,具有效果最强;持续时间长,甚至可持续到下一代;具有基因序列特异性:不受注射部位的影响等优点。因此,应用 RNAi 抑制目的基因的表达将用于疾病的治疗成为新的热点。

本实验已经成功地构建了阻断 DNMT1 基因表达的 RNAi 序列,并已克隆至载体 pTZU6 + 1 中,为下一步的实验研究打好坚实基础,从而为肿瘤的基因治疗在细胞水平、分子水平、整体水平上提供新的方法。

参 考 文 献

[1] Esteller M. Relevance of DNA methylation in the management of cancer[J]. Lancet Oncol, 2003; 4(6): 351 - 358.

[2] J. 萨姆布鲁克, E. F. 弗里奇, T. 曼尼阿蒂斯, 主编. 分子克隆实验指南[M]. 第 2 版, 科学出版社, 1999; 16 - 340.

[3] Zhu WG, Srinivasan K, Dai Z, et al. Methylation of adjacent CpG sites affects Sp1/Sp3 binding and activity in the p21 (Cipl) promoter[J]. Mol Cell Biol, 2003; 23(12): 4056 - 4065.

[4] Sigalotti L, Altomonte M, Colizzi F, et al. 5 - Aza - 2' - deoxycytidine(decitabine) treatment of hematopoietic malignancies: a multimechanism therapeutic approach[J]? Blood, 2003; 101(11): 4644 - 4646; discussion 4645 - 4646.

[5] Kantarjian. HM, O'Brien SM, Estey E, et al. Decitabine studies in chronic and acute myelogenous leukemia [J]. Leukemia. 1997; 11 Suppl 1: S35 - 36.

[6] Czauderna F, Fechtner M, Dames S, et al. Structural variations and stabilising modifications of synthetic siRNAs in mammalian cells[J]. Nucleic Acids Res, 2003; 31(11): 2705 - 2716.

内脏型黑热病 1 例

夏 红[1], 周 智[2], 张全海[2], 黄 英[2], 张大志[2], 任 红[2]

(1. 重庆市大足县人民医院内二科, 重庆 402360; 2. 重庆医科大学第二临床学院感染病科, 重庆 400010)

黑热病是由利什曼原虫引起的慢性地方性传染病,分布遍及亚、非、欧、美各洲,我国建国前在长江以北 16 个省、市、自治区的广大农村有流行,1958 年在我国范围内已接近消失。近年来于由于人口流动性增大、局部环境和生态的变化,黑热病发病率有上升趋势,临床表现不典型,给诊断和治疗带来困难。本例患者发病前先后到甘肃汶县,新疆塔城打工,3 月后出现发热、脾大和贫血,先后到国内多家大医院就诊,未明确诊断,最后经骨髓穿刺涂片和免疫学检测得以确诊,报道如下。

1 临床资料

患者男性,重庆江津县人,24 岁,因不规则发热、贫血和肝脾肿大 1 年入院,起病前先后在甘肃新疆打工。1 年前患者出现持续性不规则发热,体温 38.5 度 ~ 39.7 度,后为间断发热(T37.5 ~ 38.5 度),共计 4 月,伴消瘦、乏力、食欲不振,头晕、冷汗、鼻衄等,在外先后用多种抗菌素及纠正贫血等对症治疗,症状似有改善,其后 8 月,自觉症状消失,基本恢复正常生活,但易疲倦,夜间多汗。此次因腹胀,乏力明显加重,出现巨脾、低热 1 月入院。查体:神志清、(下转第 287 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

两类：以 Bcl－2、Bcl－XL 为代表的凋亡抑制基因和以 Bax、Bcl－XS 为代表的凋亡诱导基因。研究认为，Bcl－2 发挥抑制凋亡的作用必须通过与其同系物 Bax 结合成异源二聚体 Bcl－2/Bax 来实现。若异源二聚体 Bcl－2/Bax 比例大于同源二聚体 Bax/Bax，则细胞凋亡被抑制，反之细胞发生凋亡。Bcl－2 表达的下调和 Bax 表达的增高同样能导致细胞凋亡。另外，丁酸钠还能直接影响 Bcl－XL 的表达。在只表达 Bcl－XL 的间皮瘤，丁酸钠通过下调 Bcl－XL 的表达同样诱导了凋亡的发生[4]。可见，Bcl－2 基因家族和丁酸引起的肿瘤细胞凋亡密切相关。

根据最新的研究表明[5~7]，Bcl－2 的表达和 MPT 的重要组分 PBR(Peripheral benzdiazepine recepter)的表达在时间上密切相关。Bcl－2 和 Bcl－XL 能够抑制 MPT 开放和维持$\triangle\psi m$，进而阻止线粒体内细胞色素 C 和 AIF 的释放。Bcl－XL 也能特异的结合细胞色素 C，从而降低胞浆内细胞色素 C 的可利用性。相反，Bcl－XS 则阻止 Bcl－XL 和细胞色素 C 的结合。我们认为，这可能就是丁酸钠通过 Bcl－2 基因家族调控 SHG－44 细胞发生线粒体途径凋亡的机理所在。

一个非常值得关注的问题是，对于肿瘤细胞，在经过丁酸钠的处理后到底是向成熟分化还是发生凋亡呢？比如，为什么 2mmol/L 的丁酸钠更多的是诱导 SHG－44 细胞分化[1]，而 4mmol/L 的丁酸钠却是诱导细胞凋亡呢？对此目前并没有明确的解释，有待进一步研究证实。

参 考 文 献

[1] 詹 彦，支兴刚. 丁酸钠对人脑胶质瘤细胞系 SHG－44 增殖分化的影响[J]. 第三军医大学学报，2003；25(11)：993－996.

[2] Engelhard HH, Duncan HA, Kim S, et al. Therapeutic effects of sodium butyrate on glioma cells in vitro and in the rat C6 glioma model[J]. Neurosurgery, 2001；48(3)：616－625.

[3] 曾益新. 肿瘤学[M]. 北京：人民卫生出版社，1999：154－156.

[4] Cao XX, Mohuiddin I, Ece F, et al. Histone deacetylase inhibitor downregulation of bcl－xl gene expression leads to apoptosis cell death in mesothelioma[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2001；25(5)：562－568.

[5] Yang E, Korsmeyer S. Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL－2 family and cell death[J]. Blood, 1996；88(2)：386－401.

[6] Wang HG, Reed JC. Mechanisms of Bcl－2 protein function[J]. Histol Histopathol, 1998；13(2)：521－530.

[7] Staunton MJ, Gaffney EF. Apoptosis: basis concepts and potential significance in human cancer[J]. Arch Pathol Lab Med, 1998；122(4)：310－319.

(上接第 272 页)中度贫血、消瘦体形、精神欠佳、皮肤无色素沉着及黄染，胸颈部数枚蜘蛛痣，无瘀点瘀斑，颈腋腹股沟扪及多个蚕虫大小活动的肿大淋巴结，甲床、睑结膜、舌质苍白，肝大，右肋下 4cm，剑下 5cm，质中，脾达左侧腹股沟，超过正中线 2cm，质硬无叩压痛、表面光滑。实验室检查肝功：白/球 22.7/79.7g/L，其余正常。肾功、尿常规正常，血：WBC2.3×10^9/L　RBC3.28×10^{12}/L　PLT71×10^9/L　Hb82g/L。B 超肝大，脾长径 29.8cm。免疫学检测 Kala－azar 诊断试条 Dipshck 法检测黑热病抗体阳性(为两条带，与阳性对照一致，图略)，骨髓涂片见红细胞内外均存在利一杜小体(图略)。

2 治疗方案

用葡萄糖酸锑钠(0.6 克/支)治疗两个疗程，其间间隔 7 天。第一疗程 10 天：1～10 天，每日 1 支，第二疗程 7 天：每日 1 支。用药过程中心电监护，观察心电图无异常。在第一疗程治疗过程中，患者仅感右下腹间隙性、痉挛性疼痛，可自行缓解。在第二疗程最后两天，腹痛加重，不能忍受，停药休息两天后缓解，最终完成治疗。治疗结束时复查：肝功白/球 30.9/103.6g/L，肾功、尿常规正常，血图：WBC 4.3×10^9/L，RBC3.78×10^{12}/L，PLT 71×10^9/L，Hb 106g/L。B 超脾长径 22.7cm。

3 讨 论

黑热病是由利什曼原虫引起的慢性地方性传染病，在流行病学上大致分为三种不同类型，即人源型、犬源型、自然疫源型，分别以印度地中海盆地，中亚细亚荒漠内的黑热病为典型代表，我国由于包括平原，山丘、荒漠三种不同类型的地区，故三种不同类型的黑热病在国内都能见到。中华白岭作为主要传播媒介，四季散发，10 岁以下儿童发病率高，成人少见。典型黑热病表现为长期不规则发热、消瘦、贫血、肝脾进行性肿大，全血细胞减少。但由于生态的变化、人口流动性增加，在不是疫区的地方出现病例，发病初期，症状不典型，如果认识不足，很容易漏诊和误诊。本例患者先后到过甘肃、新疆，以长期间隙发热、出汗、乏力等症状为突出症状，后来半年上述症状好转，随后多汗、乏力加重，不能坚持劳动。从发病到确诊共 13 月，辗转多家医院，患者的临床表现和体征较典型，延误诊断的根本原因是认识不足。由于该病早期临床症状不典型，后期临床表现无特异性，表现错综复杂，加之近年社会人口流动性大，非疫区至疫区的机会增多，故对非疫区长期无明原因发热者，均应警惕该病。锑剂治疗期间可因毒作用导致严重后果，需密切监测。