DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.08.008


3.3 目的基因与腺病毒穿梭质粒的连接

在分子克隆过程中，当需进行某个目的基因亚克隆时，由于酶切位点的限制，不能找到粘性末端的限制性内切酶，此时只能用平端酶，由于平端连接比较困难，常规连接失败率较高，必须将 $T_4$ DNA 连接酶浓度提高，同时将连接时间延长后方能成功。如在我们实验中：目的基因 *lacZ* cDNA 是用 *Hind* Ⅲ和 *Sma* Ⅰ从质粒 pCMVβ 中切下的，*Sma* Ⅰ是平端酶；用于与之连接的载体是用 *Hind* Ⅲ和 *Eco*RⅤ线性化的，*Eco*RⅤ也是平端酶，这样目的片段与载体之间有一端是平端连接，常规方法连接几次均不能成功，当 $T_4$ DNA 连接酶浓度增大，连接时间延长后，成功得到 pAdCMVlacZ 的连接产物，经转化感受态细胞进行扩增后，酶切鉴定符合理论分析。

参考文献：

[1] Rosenfeld MA, Yoshimura K, Traphell B C. *In vivo* transfer of the human cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene to airway epithelium[J]. Cell, 1992, 68(1): 143-155.

[2] Dijkhuizen P A, Pasterkamp R J, Hermens W T, *et al*. Adenoviral vector-mediated gene delivery to injured rat peripheral nerve[J]. J Neurotrauma, 1998, 15(6): 387-397.

[3] Shinoura N, Satou R, Yashida Y, *et al*. Adenovirus-mediated transfer of Bcl-xl protects neuronal cells from Bax-induced apoptosis[J]. Exp Cell Res, 2000, 254(1): 221-231.

[4] Matsuoka N, Yukawa H, Ishii K, *et al*. Adenovirus-mediated gene transfer of Bcl-xl prevents cell death in primary neuronal culture of the rat[J]. Neurosci Lett, 1999, 270: 177-180.

[5] Nielsen L L, Gurnani M, Syed L, *et al*. Recombinant E1-deleted adenovirus-mediated gene therapy for cancer efficacy studies with p53 tumor suppressor gene and liver histology in tumor xenograft models[J]. Hum Gene Ther, 1998, 9(1): 68-694.

[6] Kremer E J, Perricaudet M. Adenovirus and adenovirus-associated virus mediated gene transfer[J]. British Med Bull, 1995, 51(1): 31-44.

[7] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 EF, 曼尼阿蒂斯 T, 等. 分子克隆实验指南[M]. 第2版. 北京：科学出版社, 1993. 34-340.

（编辑 薛国文）

# 个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)08-0668-02

## 原发性胃肠道恶性淋巴瘤64例临床分析

## Diagnosis and treatment of 64 cases of primary malignant lymphoma in gastrointestinal tract

张艳玲，梁 后杰 （第三军医大学附属西南医院肿瘤科，重庆 400038）

胃肠道是结外恶性淋巴瘤（Primary malignant lymphoma in gastrointestinal tract，PMLGT）最常累及部位，因其缺乏特异临床表现，误诊率较高[1]。为进一步加深认识，现将我院64例PMLGT的临床资料报告如下。

### 1 临床资料

选择1985至2000年收治的经病理学证实的PMLGT 64例，全部符合Dawson[2]标准。男44例，女20例，男女比为2.2∶1；年龄8～71岁，平均39.5岁；高发年龄18～45岁，占75%（48/64）。首发症状、体征与常见消化道疾病相似。其临床分期按Ann Arbor分期标准Ⅰ$_E$33例（51.56%）、Ⅱ$_E$14例（21.88%）、Ⅲ$_E$12例（18.75%）、Ⅳ 5例（7.81%）；以回盲部发病居多，占37.5%，病理分型以非霍奇金病B细胞型居多，占81.25%。本组误诊率为67.18%（43/64）。64例均行手术治疗，62例术后补充放疗和化疗，2例未行放、化疗。全部病例随访1～10年。生存5年以上者38例，最长者8年半，未满5年仍在继续追访者7例。术后未行放、化疗2例均于术后近期死亡。失访6例。放疗采用$^{60}$Co或直线加速器外照射。化疗者均使用CHOP或COPP方案。

### 2 讨论

PMLGT的发病年龄多为青壮年，以男性为高；好发部位顺序为回盲部及回肠、胃、结肠。PMLGT存在显著的地理病理学差异[3]，欧美主要累及胃，以MALT淋巴瘤最常见；我国部分地区多见于肠道，以地中海淋巴瘤最常见。

#### 2.1 原发性胃肠道恶性淋巴瘤误诊原因

①发病率低。②缺乏特异性临床表现。③X线征象与癌、溃疡酷似。④小肠PMLGT仍缺乏特异性检查手段。⑤内镜及病理活检率低。⑥接诊医师对本病认识不足。⑦病理科医师满足于良、恶性病变的鉴别，缺乏对本病的警惕性。

#### 2.2 提高诊断率的措施

（1）熟悉本病临床特点。（2）熟悉X线特点：肠壁僵硬、狭窄、蠕动受限，单发或多发的圆形或不规则型充盈缺损，呈“鹅卵石样”改变，这点对小肠及内镜不能深入窥视者尤为重要。（3）熟悉内镜特点：① 病变质地较癌灶柔软，缺乏韧性；②局限

（下转672页）

作者简介：张艳玲（1966－），女，云南省昆明市人，硕士，主治医师，主要从事消化道肿瘤的基础与临床方面的研究，发表论文13篇。电话：(023)6875000－73133

收稿日期：2002-05-22；修回日期：2002-09-29

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

种骨基质蛋白如:纤维连接素、层粘连蛋白、玻璃体结合蛋白、Ⅰ型胶原、骨钙素、骨桥蛋白、骨连接素、碱性成纤维细胞生长因子等都已被证明具有促细胞粘附的作用,这些蛋白中均含有精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸序列(RGD)。这一序列被称作粘附序列,当它被细胞膜表面的整合素受体特异识别后激活细胞内的细胞骨架蛋白、蛋白酶、蛋白激酶、磷酸酶和信号传导系统,促使细胞发生一系列的生理生化反应,铺展而粘附于材料上[7]。目前对种子细胞粘附特性影响的研究大都集中在两个方向:不同化学成分的支架材料对细胞粘附特性产生的影响;支架材料不同表面形态、粗糙度对种子细胞粘附行为产生的影响以及一些蛋白质和多肽因子对种子细胞粘附特性的影响,这些方法均欠理想。

插入式细胞培养皿底面是一个微孔直径0.4 μm的薄膜,只许营养物质自由通过,而细胞则不能通过,从骨基质中溢出的因子能作用于细胞,这样就达到共培养的目的。

正常骨组织本身含有多种细胞,将单一细胞分离提纯后可能会因失去正常的细胞间作用而影响其粘附与增殖等生物学特性,因此我们设想应用同种活骨组织与骨髓基质细胞共培养的方法来提高其粘附性。结果发现,经过与用生理盐水浸泡的兔活骨组织共培养的同种骨髓基质细胞的贴壁率显著高于对照组($P<0.01$),而与用三蒸水浸泡的兔活性骨组织共培养的同种骨髓基质细胞的贴壁率最高。这种现象的机制目前还不清楚。可能是因为骨基质中的促细胞粘附因子优先作用于自身基质中的细胞,从骨基质中逸出的促细胞粘附因子或含粘附序列的肽段较少,而经过三蒸水浸泡的活性骨组织,其自身细胞处于低渗状态中,细胞因水肿变性而失活,至于用三蒸水浸泡活骨组织后,活骨组织中的细胞失活达到何种程度,我们将继续深入研究。经过这种方法处理的活性骨组织中有活性的细胞数量减少,因而从骨基质中逸出的促细胞粘附因子或含粘附序列的肽段较多。它们作用于骨髓基质细胞,更多的与骨髓基质细胞膜表面的β1整合素受体结合[8],激活细胞内的细胞骨架蛋白、蛋白酶、蛋白激酶、磷酸酶和信号传导系统,促使细胞发生一系列的生理生化反应;从而提高骨髓基质细胞的粘附能力,使其贴壁率增高。目前国内外学者们已把骨髓基质细胞作为骨组织工程中的种子细胞[9],因此本实验可能为解决骨组织工程中种子细胞与支架材料粘附的问题建立一个技术平台。但这还需要在以后的工作中进一步研究。

参考文献:


[1] Khan S N, Bostrom M P, Lane J M. Bone growth factors[J]. Orthop Clin North AM, 2000, 31(3): 375-388.

[2] Howlett C R, Cave J, Williamson M, *et al*. Mineralization in *in vitro* cultures of rabbit marrow stromal cells[J]. Clin Orthop, 1986, (213): 251-263.

[3] 段小军, 杨 柳, 石宗利, 等. 新型组织工程化人工骨的体外初步构建[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(5): 553-555.

[4] Maniatopoulous C, Sodaek J, Melcher A H. Bone formation *in vitro* by stromal cells obtained from bone marrow of young adult rats[J]. Cell Tissue Res, 1988, 254(2): 317-330.

[5] Locklin R M, Williamson M C, Beresford J N, *et al*. *In vitro* effects of growth factors and dexamethasone on rat marrow stromal cells[J]. Clin Orthop, 1995, 313(4): 27-35.

[6] Ikada Y. Surface modification of polymers for medical application[J]. Biomaterials, 1994, 15(10): 725-736.

[7] Anselme K. Osteoblast adhesion on biomaterials[J]. Biomaterials, 2000, 21(7): 667-681.

[8] 郑 磊, 王 前, 魏宽海 等. 碱性成纤维细胞生长因子对成骨细胞粘附特性影响的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 2000, 14(5): 305-307.

[9] Deschamps A A, Claase M B, Sleijster W J, *et al*. Design of segmented poly(ether ester) materials and structures for the tissue engineering of bone [J]. J Control Release, 2002, 78(1-3): 175-186.


(编辑 张 宁)

(上接668页)

性增殖性单发或多发性结节病变,未侵及粘膜而区别于癌肿;③侵及周围粘膜时表现为糜烂,多发性溃疡及巨大皱壁;④PMLGT的溃疡表现为地图状、树枝状。(4)活检取材要多方位并在同一部位重复取样直到粘膜下。(5)经常规检查仍诊断不明应尽早剖腹探查。(6)对怀疑本病但光镜检查不能确诊者,应行免疫组化及电镜检查以与未分化癌、假性淋巴瘤、溃疡及炎症相区别。

### 2.3 PMLGT的治疗

尽管对PMLGT的治疗意见尚不一致,但目前学术界仍推崇手术治疗为首选[4],术后辅以化疗或放疗的综合性治疗。

关键词:胃肠道;恶性淋巴瘤
中图法分类号:R730.264;R735 文献标识码:B

参考文献:


[1] 丁 缤. 撩开误诊的面纱[M]. 北京:长征出版社, 1999. 135.

[2] Dawson I P M, Comes J S, Morson B C. Primary malignant lymphoid tumors of the intestinal tract[J]. Br J Surg, 1961, 49: 80.

[3] 张雅洁, 孙 渝, 绵贯勤. 胃肠道原发B细胞性淋巴瘤的病理学特征及播散机制[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2001, 8(1): 3-6.

[4] 傅诚强. 原发性肠道恶性淋巴瘤[J]. 国外医学外科学分册, 1995, 22(6): 338-340.


(编辑 张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net