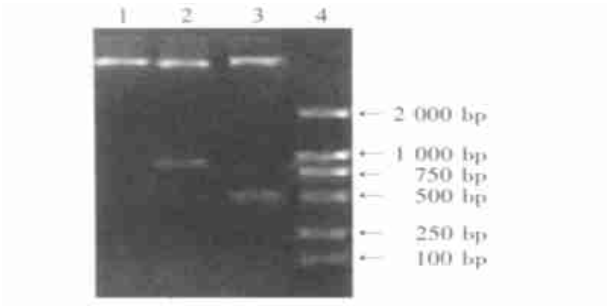
DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.06.016



1: pQE-80L/*Kpn* Ⅰ+*Hind* Ⅱ; 2: pQE-80L/BAFF/*Eco*RⅠ+*Sal* Ⅰ; 3: pQE-80L/BAFF128/*Kpn* Ⅰ+*Hind* Ⅲ; 4: DNA marker DL2000

图3 重组原核表达载体的酶切鉴定

Fig 3 Restriction map of recombinant prokaryotic expression vectors

3 讨论

人BAFF分子是由285个氨基酸组成的Ⅱ型跨膜蛋白,N末端在胞内无信号肽,C末端为胞外区,其中47~73氨基酸为跨膜区,74~285氨基酸为胞外区,133~285氨基酸为其发挥功能的主要区域。BAFF128~285位氨基酸残基区域含有与受体结合的结构域,其融合蛋白可以三聚体的形式发挥与全长BAFF一致的作用[6],在体外它们可以刺激B淋巴细胞的增生,诱导免疫球蛋白的产生,BAFF缺陷动物会出现成熟B细胞数目减少[7],而过度表达BAFF的动物则表现出成熟B细胞增生和自身免疫性疾病。因此,所获BAFF,可为自身免疫性疾病和免疫缺陷疾病的治疗奠定物质基础。本实验以人急性早幼粒白血病细胞系HL-60细胞总RNA为材料,经RT-PCR扩增出BAFF全长及BAFF128~285的cDNA序列,并构建了其原核表达载体,为进一步制备BAFF和研究BAFF在自身免疫性疾病等方面的作用创造了条件。

另外,我们所采用的原核表达载体pQE-80L是一种高效表达载体,该载体表达的目的蛋白量可达细胞蛋白总量的50%,表达蛋白的N端带有6×His-tag,便于纯化和检测。为此,本研究选择了该载体进行BAFF的表达。

参考文献:

[1] Wu Y, Bressette D, Carrell J A, *et al*. Tumor necrosis factor (TNF) receptor superfamily member TACI is a high affinity receptor for TNF family members APRIL and BLyS[J]. J Biol Chem, 2000, 275(45): 34478-34485.

[2] Mukhopadhyay A, Ni J, Zhai Y, *et al*. Identification and characterization of a novel cytokine, THANK, α TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factor-kappaβ, and c-jun NH_2-terminal kinase[J]. J Biol Chem, 1999, 274(23): 15978-15981.

[3] Nardelli B, Belvedere O, Roschke W, *et al*. Synthesis and release of B lymphocyte stimulator from myeloid cells[J]. J Immmunol, 2001, 166(1): 6-10.

[4] Zhang J, Viktor R, Kevin P B, *et al*. Cutting Edge: A Role for B Lymphocyte Stimulator in Systemic Lupus Erythematosis[J]. J Immunol, 2001, 166(1): 6-10.

[5] Huard B, Schneider P, Mauri D, *et al*. T cell costimulation by the TNF ligand BAFF[J]. J Immunol, 2001, 167(11): 6225-6231.

[6] Schneider P, MacKay F, Steiner V, *et al*. BAFF, a novel ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates B cell growth. J Exp Med 1999, 189(11): 1747-1756

[7] Batten M, Groom J, Cachero T G, *et al*. BAFF mediates survival of peripheral immature B lymphocytes[J]. J Exp Med, 2000, 192(10): 1453-1466.

(编辑 薛国文)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2003)06-0500-01

3例Dieulafoy病内镜下的诊断和治疗

Diagnosis and therapy of 3 cases of Dieulafoy's disease under endoscopy

李向红,杨仕明,杨建民,王振华,房殿春 (第三军医大学附属西南医院全军消化专科中心,重庆 400038)

病例1 男,59岁,因"反复间歇性黑便9年,再发4 d"入院。1992年因黑便行胃镜检查,诊断为壶腹部溃疡伴出血,经治疗后好转。4 d前再次出现柏油样大便,不伴腹痛、反酸等症状,病前无饮酒及口服非甾体类药物病史。胃镜检查,发现壶腹部前壁小弯侧可见一线性瘢痕,粘膜聚集征明显,无活动性出血,胃腔内有中等量咖啡样液体,胃窦小弯侧可见少量鲜红色血液呈搏动性涌出,出血点周围粘膜正常,未见溃疡及糜烂,考虑为Dieulafoy病,行内镜下钛夹夹闭术,生理盐水冲洗出血部位,未见活动性出血后退镜。

病例2 男,39岁,因"反复间歇性黑便13年,再发2 d"入院。因黑便行胃镜检查,未发现异常,考虑急性胃粘膜病变可能性大,经制酸、止血治疗后好转。入院前2 d再次出现不明原因的黑便,不伴有反酸、嗳气、腹痛,无饮酒及服药史。胃镜示胃窦前壁小弯侧见暗红色血液覆盖,生理盐水冲洗后,可见较多鲜红色血液流出,无明显的搏动性,考虑Dieulafoy病内镜下

(下转504页)

作者简介:李向红(1970-),女,湖南省岳阳县人,主管护师,主要从事消化内镜护理方面的研究。电话:(023)68754678

收稿日期:2003-01-06;修回日期:2003-02-20

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

件,但其模拟的二级结构只能作为设计反义 RNA 的参考,而并不代表 RNA 在细胞内的真实结构;②形成的二聚体结构能否引发 RNase Ⅲ对靶 mRNA 的降解。RNase Ⅲ是专门针对双链 RNA 的核酸酶,但其激活的机制复杂,并非有双链 RNA 就能使其激活;③反义 RNA 在细胞内表达量的高低:任何基因的表达都受很多因素调控,反义 RNA 的表达也不例外;④反义 RNA 自身的稳定性:稳定的反义 RNA 对靶 mRNA 的作用比不稳定的反义 RNA 要好;⑤mRNA 的寿命:有的靶 mRNA 寿命很短,只有 1~2 min,它们和反义 RNA 结合的机会较少,因而较不敏感,反之,另一些 mRNA 则很稳定,寿命可达 10 多分钟,则其对相应的反义 RNA 的抑制作用就很敏感。本研究在证实重组细胞 LNCaP$^{as\text{-}AR}$有 AR 反义 RNA 表达后,需要进一步证实 AR mRNA 是否下降。采用 AR 下游引物 P2 作反转录,只有 AR mRNA 被反转录成 cDNA,采用引物 P1、P2 行 PCR,证实 LNCaP$^{as\text{-}AR}$的 AR mRNA 量较对照 LNCaP^{Neo}及亲代细胞 LNCaP 显著下降,表明是 AR 反义 RNA 导致了 AR mRNA 的降低,同时也证实我们所设计的反义 RNA 是有效的。

由于靶 mRNA 的减少及与反义 RNA 结合,势必导致蛋白质的合成降低。我们的试验结果显示,LNCaP$^{as\text{-}AR}$的 AR 蛋白质含量显著低于 LNCaP^{Neo}和 LNCaP,这充分说明我们所设计的反义 RNA 能有效抑制 AR 的表达。

本实验的结果表明,应用重组 AR 反义 RNA 逆转录病毒表达载体可显著抑制 LNCaP 细胞 AR mRNA 从而抑制 AR 蛋白表达,这可能导致 LNCaP 细胞的生物学特性变化,抑制细胞的生长增殖。

参考文献:

[1] Landis S, Murray T, Bolden S, *et al*. Cancer statistics 1999[J]. CA Cancer J Clin, 1999, 49(1): 8-31.

[2] 刘耀庭, 李秀霞, 程 伟. 泌尿外科肿瘤发病情况的变化[J]. 临床泌尿外科杂志, 1997; 12(1): 47-48.

[3] Koivisto P, Kolmer M, Visakorpi T, *et al*. Androgen receptor gene and hormonal therapy failure of prostate cancer[J]. Am J Pathol, 1998, 152(1): 1-9.

[4] Mendelsohn L G. Prostate cancer and the androgen receptor: strategies for the development of novel therapeutics[J]. Prog Drug Res, 2000, 55(2): 213-233.

[5] Hobisch A, Culig Z, Radmayr C, *et al*. Distant metastases from prostatic carcinoma express androgen receptor protein[J]. Cancer Res, 1995, 55(14): 3068-3072.

[6] Ruizeveld de Winter J A, Janssen P J, Sleddens H M, *et al*. Androgen receptor status in localized and locally progressive hormone refractory human prostate cancer[J]. Am J Pathol, 1994, 144(4): 735-746.

[7] 王洛夫, 江 军, 方玉华, 等. 雄激素受体反义 RNA 逆转录病毒载体的构建及其鉴定[J]. 第三军医大学学报, 2001; 23(6): 641-643.

[8] 萨姆布鲁克, E F, 费里奇, T, 曼尼阿蒂斯 著. 金冬雁, 黎孟枫 译. 分子克隆实验指南[M]. 第 2 版. 北京: 科学技术出版社, 1992. 888-897.

[9] Brinkmann A O, Blok L J, de Ruiter P E, *et al*. Mechanisms of androgen receptor activation and function[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 1999, 69(1-6): 307-313.

[10] Lubahn D B, Brown T R, Simental J A, *et al*. Sequence of the intron/exon junctions of the coding region of the human androgen receptor gene and identification of a point mutation in a family with complete androgen insensitivity[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1989, 86(23): 9534-9538.

[11] Denhart D T. Mechanism of action of antisense RNA[J]. Ann N Y Acad Sci, 1992, 660(1): 70-76.

(编辑 郭建秀)

(上接 500 页)

喷散石明止血液后退镜。3 d 后复查胃镜,见原先出血部位仍有新鲜出血,周围粘膜未见异常,以钛夹 2 个夹闭出血点,生理盐水冲洗,未见新鲜血液流出后退镜。

病例 3 男,52 岁,因"腹痛、黑便、乏力半年,加重伴反酸、双下肢肿 20 d"入院。20 年前曾因"急性胃穿孔"行胃大部切除术,术前无饮酒及服药史。查体未见异常。胃镜检查见吻合口距门齿 50 cm,胃腔内可见新鲜血液,未见明显出血灶,以石明止血液 20 ml 喷散后退镜。2 h 后复查胃镜,见胃腔内仍有新鲜血液,吻合口粘膜大弯侧靠贲门方可见新鲜渗血,无明显搏动性,周围粘膜无溃疡及糜烂。考虑 Dieulafoy 病,遂以 3 个钛夹夹闭出血灶,以生理盐水冲洗,未见活动性出血后退镜。3 d 后复查胃镜,未见明确活动性出血。

讨论

Dieulafoy 病[1]是由于胃壁血管畸形,胃供血动脉进入胃粘膜下后,不是逐渐变细形成毛细血管,而是一直保持管径不变,凸出于胃腔,在食物和胃液的作用下引起畸形动脉破裂出血。结合本组病例,我们体会:①溃疡合并出血者,如果内镜下溃疡处无活动性出血,而胃腔内仍有新鲜出血的迹象,应仔细检查胃腔的其它部位,以排除 Dieulafoy 病。②Dieulafoy 病多位于距贲门 6 cm 以内的胃壁,因此,对于过去由于溃疡或肿瘤行远端胃大部切除的患者,在发生上消化道出血,内镜下没有发现溃疡或占位的情况下,亦要考虑是否为 Dieulafoy 病。③由于 Dieulafoy 病的出血来自畸形的动脉破裂,出血量较大,内镜下往往由于胃腔内有较多血液,影响观察,这时应该将积血抽尽后再仔细寻找出血部位。④Dieulafoy 病的治疗,主要包括手术切除和内镜下治疗两种。目前内镜下止血治疗 Dieulafoy 病已成为首选。内镜下治疗有多种方式,如喷散止血药、肾上腺素局部注射、硬化剂注射、热凝固(电凝或微波止血)、血管钳夹等。其中内镜直视下出血部位钳夹止血,由于方法简单,病人痛苦小,止血疗效显著,越来越受到内镜医师的欢迎。

关键词:Dieulafoy 病;内镜
中图法分类号:R573.2 文献标识码:B

参考文献:

[1] Kasapidis P, Georgopoulos P, Delis V, *et al*. Endoscopic management and long-term follow-up of Dieulafoy's lesions in the upper GI tract[J]. Gastrointes Endosc, 2002, 55(4): 527-529.

(编辑 刘洪娥)

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