DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.12.023

后该集落在G418浓度为800 μg/ml的条件下仍然存在,这就是我们需要的阳性克隆。由于采用"休克法"细胞死亡较多,残存的细胞需要的营养成分相对较少,故筛选过程中我们仅换液1次。实践证明此种方法是可行的。

从转染的重组质粒pIRES2-EGFP结构上分析,启动子PCMV IE顺序启动目的基因MyoD和报告基因EGFP的表达,但MyoD和EGFP由IRES相连,并未融合,故筛选后的细胞发出绿色荧光,并不能完全证明MyoD已表达,这就需要行MyoD检测,我们用RT-PCR的方法从RNA的水平对MyoD进行了检测,结果证实转染后的细胞中含有MyoD,而未转染的MSCs不含MyoD;同时免疫组化也从蛋白质水平证实只有转染后的细胞胞浆中有MyoD蛋白颗粒,由此充分证明报告基因EGFP表达时,目的基因MyoD也就同时表达了。

在肌分化过程中,首先是成肌细胞的定向分化,以表达myogenin为标志[7];反之,细胞表达了myogenin,则表明至少处于成肌细胞阶段,即myogenin可视为成肌细胞的特异标志之一[6]。MyoD是肌分化的"发动者",但MyoD并非直接激活下游基因,而是首先激活myogenin[9],紧接着才是myosin、myoglobin和desmin的表达,它们都是骨骼肌最早的成肌标志之一。同时,myosin和desmin分别是微丝和中间丝家族中代表肌分化的成员[10,11],结合免疫组化的结果,我们提示透射电镜所见的丝状结构可能是以myosin和desmin为主的微丝及中间丝结构。

综上所述,我们分离培养纯化扩增MSCs后,将重组质粒pIRES2-EGFP-MyoD用脂质体介导的方法成功地进行了转染,经G418筛选,获得了成肌细胞的阳性克隆。表明MSCs在质粒MyoD的调控下可以定向分化为成肌细胞,为进一步观察MSCs及成肌细胞对肌损伤的修复作用奠定了基础。

参考文献:

[1] Wakitani S, Saito T, Caplan A I. Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine [J]. Muscle Nerve, 1995, 18(12): 1 417—1 426.
[2] Dennis J E, Merriam A, Awadallah A, *et al*. A quadripotential mesenchymal progenitor cell isolated from the marrow of an adult mouse[J]. J Bone Miner Res, 1999, 14(5): 700—709.
[3] 周进明, 邹仲敏, 郭朝华, 等. 小鼠骨髓间充质干细胞的生物学特性及分化潜能鉴定[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(10): 58—61.
[4] Bruder S P, Kurth A A, Shea M, *et al*. Bone regeneration by implantation of purified, culture-expanded human mesenchymal stem cells[J]. J Orthop Res, 1998, 16(2): 1 551—1 562.
[5] 艾国平, 粟永萍, 闫国和, 等. 骨髓间充质干细胞的分离与培养[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(5): 553—555.
[6] 邹仲敏, 程天民, 罗成基, 等. 肌形成及其基因调控的研究进展[J]. 中国科学基金, 2000, 14(3): 137-142.
[7] F. 奥斯伯, R E 金斯顿, J G 塞德曼等著. 精编分子生物学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 311-312.
[8] 郭晓东, 杜靖远, 郑启新, 等. TGF-β1基因转染间充质干细胞的量效关系及安全性研究[J]. 同济医科大学学报, 2001, 30(2): 125—128.
[9] Hollenberg S M, Cheng P F, Weintraub H. Use of a conditional MyoD transcription factor in studies of MyoD trans-activation and muscle determination[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90(17): 8 028—8 032.
[10] Capetanaki Y, Milner D J, Weitzer G. Desmin in muscle formation and maintenance: knockouts and consequences[J]. Cell Struct Funct, 1997, 22(1): 103—116.
[11] Buckingham M E, Carvatti M, Minty A, *et al*. Skeletal muscle myogenesis: the expression of actin and myosin mRNAs[J]. Adv Exp Med Biol, 1982, 158: 331—334.

(编辑 陈聪连)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2002)12-1426-02

空回肠系膜血管淋巴管瘤1例

A case report of hemolymphangioma in mesentery of jejunoileum

李胜平[1], 韩仕碧[1], 唐小丽[1], 汪盛贤[2] (成都军区总医院:[1]妇产科;[2]病理科;成都 610083)

患者,女,66岁,农民。因下腹部逐渐增大4月,发现腹部巨大包块5 d于2001年5月21日入院,病案号256278。既往史:99年在外院因"右侧浆液性卵巢囊肿蒂扭转破裂出血,行次全子宫及双附件切除术"。入院时彩超检查:子宫体缺如,宫颈隐约显示。盆腹腔见一28 cm×14 cm×23.5 cm的囊性占位,壁薄,上界达肝下缘,占据整个腹腔。内可见多个条索状光带,分隔状,囊性暗区透声佳,后壁回声增强,彩色多普勒未见血流信号,考虑包块来自右附件可能性大。因患者既往有"右侧卵巢浆液性囊腺瘤"病史,在外院手术情况不详,遂于2001年5月25日行剖腹探查术。

术中见子宫及双附件缺如,空肠系膜上有一囊性多房性包块约38 cm×32 cm×20 cm大小,质地较软,色泽淡黄,包膜完整,活动度好,并与小部分回肠系膜粘连。有部分与肠壁间粘连,腹腔各脏器无粘连及转移结节。切开囊壁抽吸囊内液体约3 500 ml,淡黄透明。囊肿缩小后从蒂部将囊肿切除。病理报告:"空回肠系膜"血管淋巴管瘤,局部囊壁平滑肌恶变(低恶性)。免疫组化结果:瘤细胞actin(结蛋白+++),vim(波形蛋白++),ker(角蛋白-)。术后患者恢复良好,7 d拆线出院。因拒绝化疗,要求其门诊随访。

(下转1429页)

作者简介:李胜平(1970—),男,湖北省孝感市人,硕士,主治医师,主要从事妇科肿瘤耐药机制方面的研究。电话:(028)86570374

收稿日期:2001-07-12;修回日期:2001-12-05

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

合容量下降了25%, 48～72 h 才恢复正常, 表明在靶器官GC 下调自己的受体。Sun 等[6,7] 的研究表明, GC 可使GR、GR mRNA 下调, GR mRNA 水平在 8～10 h 下降到基础的 45%～50%, 3 d 后缓慢恢复到正常水平, GR 在给药后下降到 0, 逐渐恢复到正常水平。Kalinyak 等[8] 给大鼠一次性腹腔注射地塞米松 7 mg/kg, 观察 6 h 后各组织器官中 GR mRNA 的变化情况, 结果显示所有检测的组织中, GR mRNA 均有不同程度的减少(减少40%～60%)。

尽管生理条件下 GC 调控它自己的受体量, 但是应激性 GC 升高对 GR 调节还有争议。Svec 等[9] 认为给予外源性皮质酮 24 h 受体明显下调, 而应激并不影响受体水平, 而 Cvoro 等[10] 在高热应激研究中发现 GR 显著降低。Hu[11] 和 Mohaisen[12] 也认为在急性应激中血皮质酮水平增加了 3～4 倍, 并导致了 GR 的下降。从我们的研究结果发现烧伤后小鼠血清皮质酮和 GR 下降在时间上有一致性, 提示血清皮质酮应激性升高与 GR 的下降有一定联系。尽管小鼠烧伤后体内皮质酮 24 h 内均高于正常, GR 显著降低, 但 RT-PCR 结果表明 GR mRNA 仅仅在早期(烧伤后 2 h)有短暂降低, 而以后改变不明显。表明烧伤应激后下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴过度兴奋, 引起 GC 的升高与 GR 下调有关, 但不仅仅发生在 GR mRNA 水平上, 可能还存在其它因素。磷酸化/去磷酸化的循环在调节蛋白功能方面是通常机制。Webster 分析突变 GR 老鼠的多个磷酸化位点揭示尽管 GR 的磷酸化位点在激素诱导的核转位中不起重要作用, 但是降低磷酸化显著增加受体半衰期, 并发现在丢失 3 个或多个磷酸化位点时激素介导的 GR 基因自主调控消失[13]。众所周知烧伤应激后早期细胞因子明显增多, 其中 TNFα 等可使 GR 发生超磷酸化, 从而增加受体的降解, 引起 GR 水平下降。

参考文献:

[1] 王迪浔 主编. 病理生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 96－98.

[2] 徐仁宝. 糖皮质激素受体减少在休克发生中的作用——一个新假说[J]. 生命科学, 1997, 9(2): 78－80.

[3] Kurihara I, Shibata H, Suzuki T, *et al*. Transcriptional regulation of steroid receptor coactivator-1 (SRC-1) in glucocorticoid action[J]. Endocr Res, 2000, 26(4): 1 033－1 038.

[4] Rosewicz S, McDonald A R, Maddux B A, *et al*. Mechanism of glucocorticoid receptor down-regulation by glucocorticoids[J]. J Biol Chem, 1988, 263(6): 2 581－2 584.

[5] Svec F. Corticosterone regulates the level of hepatic glucocorticoid receptors in mice[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1988, 188(4): 474－479.

[6] Sun Y N, DuBois D C, Almon R R, *et al*. Dose-dependence and repeated-dose studies for receptor/gene-mediated pharmacodynamics of methylprednisolone on glucocorticoid receptor down-regulation and tyrosine aminotransferase induction in rat liver[J]. J Pharmacokinet Biopharm, 1998, 26(6): 619－648.

[7] Sun Y N, DuBois D C, Almon R R, *et al*. Fourth-generation model for corticosteroid pharmacodynamics: a model for methylprednisolone effects on receptor/gene-mediated glucocorticoid receptor down-regulation and tyrosine aminotransferase induction in rat liver[J]. J Pharmacokinet Biopharm, 1998, 26(3): 289－317.

[8] Kalinyak J E, Dorin R I, Hoffman A R, *et al*. Tissue-specific regulation of glucocorticoid receptor mRNA by dexamethasone[J]. J Biol Chem, 1987, 262(22): 10 441－10 444.

[9] Svec F, Gordon S, Tate D. Glucocorticoid receptor regulation: the effects of adrenalectomy, exogenous glucocorticoid and stress on hepatic receptor number in male and female mice[J]. Biochem Med Metab Biol, 1989, 41(3): 224－233.

[10] Cvoro A, Dundjerski J, Trajkovic D, *et al*. Association of the rat liver glucocorticoid receptor with Hsp90 and Hsp70 upon whole body hyperthermic stress[J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 1998, 67(4): 319－325.

[11] Hu Y, Gursoy E, Cardounel A, *et al*. Biological effects of single and repeated swimming stress in male rats: beneficial effects of glucocorticoids[J]. Endocrine, 2000, 13(1): 123－129.

[12] Al Mohaisen M, Cardounel A, Kalimi M. Repeated immobilization stress increases total cytosolic glucocorticoid receptor in rat liver[J]. Steroids, 2000, 65(1): 8－15.

[13] Webster J C, Jewell C M, Bodwell J E, *et al*. Mouse glucocorticoid receptor phosphorylation status influences multiple functions of the receptor protein[J]. J Biol Chem, 1997, 272(14): 9 287－9 293.

(编辑　薛国文)

(上接 1426 页)

讨论

淋巴管瘤是一种先天性的良性错构瘤, 约半数在出生时即已存在, 这是胚胎发育过程中某些部位的原始淋巴囊与淋巴系统隔绝后所产生的畸形。90%的病例在 2 岁以内发现。好发于皮肤, 深部的疏松结缔组织, 多见于头颈部, 也可见躯干、纵隔、肠系膜、腹膜后、四肢等处。其病理变化为淋巴管扩张、增生和结构紊乱, 可向周围浸润性生长。如果淋巴管瘤中混杂有血管瘤组织, 则称血管淋巴管瘤[1], 又称脉管瘤。血管淋巴管瘤多在出生时就存在, 以后随年龄增长肿瘤逐渐长大, 不会突然增大。一般淋巴管瘤有自然消退趋势, 但血管淋巴管瘤不会自行消退。浅表淋巴管瘤诊断不难, 但组织深部病变常需借助 CT、B 超、X 线等辅助检查。过大或增长较快的淋巴管瘤应予手术将瘤组织完全切除, 对残存的囊壁可涂 0.5%的碘酒破坏内皮细胞以防复发。也可试用抗肿瘤药物(如博莱霉素, Bleomycin)局部注射。本例患者 1999 年曾行次全子宫及双附件切除术, 术后不到两年又发现如此巨大肠系膜血管淋巴管瘤, 说明第一次手术可能未行常规腹腔探查, 亦或对这种疾病认识不够, 对肿大的肠系膜误以为正常所致。故对此类少见病例临床上应予重视。

关键词: 血管淋巴管瘤; 肠系膜
中图法分类号: R733.4　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 汤钊猷 主编. 现代肿瘤学[M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1993. 1 135－1140.

(编辑　王　红)

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