DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.07.014

论著

文章编号:1000-5404(2002)07-0786-04

阿司匹林对脂多糖和猪肺泡巨噬细胞 PKC 和 PTP 活性变化的影响

段玉忠,陈正堂,伍伟玲 (第三军医大学附属新桥医院全军肿瘤中心,重庆 400037)

提 要:目的 探讨脂多糖(LPS)刺激后猪肺泡巨噬细胞蛋白激酶C(PKC)、蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP)活性变化及阿司匹林的干预效果。方法 LPS刺激猪肺泡巨噬细胞(AM),并单独或联用阿司匹林、Calphostin C以及过氧钒酸盐进行干预,分别测定其胞质PKC和PTP活性。结果 LPS(1 μg/ml)刺激后,AM PKC活性在5 min即显著升高,并于10 min达到峰值;AM胞质内PTP相对活性水平则逐渐减低,低谷出现在LPS刺激后15 min。治疗剂量阿司匹林可抑制LPS引起的AM PKC活性增加,并明显抑制LPS引起的AM PTP活性降低。PTP抑制剂POV可相对增强LPS刺激后AM PKC活性,阿司匹林能减低该效应;PKC非特异性抑制剂Calphostin C可使LPS引起的AM PTP活性降低有轻微回升,阿司匹林与之具协同效应。结论 阿司匹林对可通过影响AM蛋白激酶-磷酸酶系统平衡,干预细胞内信号蛋白磷酸化反应发挥抗炎作用。

关键词:磷酸酶;蛋白激酶;阿司匹林;脂多糖
中图法分类号:Q538;R392.11;R971.1 文献标识码:A

Effects of aspirin on PKC and PTP activities induced by LPS in porcine alveolar macrophages *in vitro*

DUAN Yu-zhong, CHEN Zheng-tang, WU Wei-ling (Center of Onclogy, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract Objective To study the effects of aspirin on the changes of protein kinase C (PKC) and protein tyrosine phosphatase (PTP) activities induced by lipopolysaccharide (LPS) in cultured porcine alveolar macrophages (AM). Methods LPS was used to stimulate the AM with or without the intervention of aspirin, calphostin C and peroxovandium (POV), then the PKC and PTP activity was assayed respectively. Results The PKC activity in AM was increased markedly 5 min after being stimulated with LPS, and reached to the peak value at 10 min. On the contrary, the PTP activity reduced gradually, and to the bottom about 15 min after the stimulation with LPS. Aspirin inhibited the increase of PKC activity and the decrease of PTP markedly in AM induced with LPS. PTP inhibitor POV increased the PKC activity indirectly in AM, and aspirin weakened this effect. But the unspecific PKC inhibitor calphostin C increased the PTP activity gently, and aspirin had synergistic effects on it. Conclusion Aspirin can adjust the alteration of PKC and PTP activities in AM induced with LPS, suggesting that aspirin can exert its anti-inflammation effect by interfering the signal protein phosphorylation through its effect on the balance of protein kinase-protein phosphatase.

Key words phosphatase; protein kinases; aspirin; lipopolysaccharide

肺泡巨噬细胞(Alveolar macrophage, AM)是单核-巨噬细胞成员之一,由血液中单核细胞迁移到肺泡间隔后演变而来。AM除能够吞噬及清除由呼吸道侵入机体的微生物外,还分泌多种炎性介质[1],在许多肺部疾病尤其是急性炎症性疾病如急性肺损伤(Acute lung injury, ALI)发病中起重要作用。磷酸化和去磷酸化反应是活性蛋白与非活性蛋白之间可逆性构象变化的一种重要调节方式,以启动和调节细胞内信号传递。蛋白激酶和磷酸酶在这一动态平衡系统中发挥主要作用。Lallena等[2]发现蛋白激酶C(Protein kinase C, PKC)尤其是PKCζ在核转录因子κB(Nuclear transcription factor-κB, NFκB)活化中具有重要作用。本实验以蛋白酪氨酸磷酸酶(Protein tyrosine phosphatase, PTP)抑制剂过氧钒酸钠(Peroxovanadium, POV)、非选择性PKC抑制剂Calphostin C(CAL)以及非甾体类抗炎药阿司匹林(Aspirin)联合或单独应用于猪AM,观察AM受脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)刺激后胞质PKC以及PTP活性变化。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

1.1.1 LPS(Lipopolysaccharide E. Coli O26: B6),过氧化氢酶(Catalase),Calphostin C,二硫苏糖醇(DTT)及阿司匹林(Aspirin)均购自Sigma公司,PepTag® 活性检测试剂盒(Promega® 美国),对硝基苯磷酸二钠(pNPP)购自E. Merk(德国),偏钒酸钠($NaVO_3 \cdot 2H_2O$)购自北京四环制药,其它试剂为进口或国产分析纯。

1.1.2 过氧钒盐制备[3] PBS配制1 mmol/L偏钒酸钠和1 mmol/L过氧化氢(H_2O_2)30 ℃ 10 min,加入200 mg/ml的Catlase10 μl除去多余H_2O_2,配置后30 min内使用。

1.2 猪AM的分离与培养

重庆地区产健康成年杂种猪(100~150 kg,雌雄不拘),放血处死后,取出心、肺脏组织,用1× D-Hanks液灌洗双上肺各段,置于冰上硅化瓶收集所得灌洗液1 200 ml,4 ℃,1 200 r/min离心10 min,弃上清,细胞团用D-Hanks液重悬浮,同上离心,弃

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39800064)
作者简介:段玉忠(1972-),男,山东省沂水县人,博士,助教,主要从事急性肺损伤方面的研究。电话:(023)68755424
收稿日期:2001-11-14;修回日期:2002-01-20

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

上清。细胞团加无菌双蒸水 9 ml 10 s 溶解红细胞, 1 ml 9% NaCl 恢复等渗, 再同上离心后将细胞团接种于含 10% 小牛血清的 RPMI1640(Hyclone, 美国)培养基中, 37 ℃, 5%CO_2同 95% 空气中培养 2 h 使 AM 贴壁。用细胞刷(Hyclone, 美国)收获 AM, 苔盼蓝染色计数判断活细胞, 每只猪可获得约(1.2~2.0)×10^8细胞, 95% 苔盼蓝拒染。

1.3　实验方法

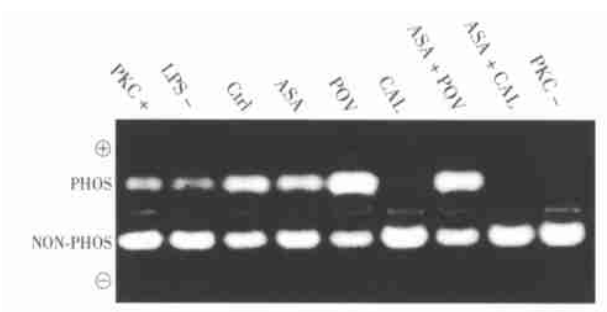
1.3.1　PKC 活性测定

1.3.1.1　LPS 刺激 AM 及 PKC 测定时相　　所获 AM 接种于无血清 RPMI1640 培养基的 24 孔培养板中, 每孔加入 1×10^6个细胞, 给予 LPS(终浓度 1 μg/ml, 后同)[4]刺激, 分别于 0、5、10、15、30、60 和 120 min 测定 PKC 活性。测定 3 组。

1.3.1.2　药物干预实验分组　　将细胞接种于培养板中, 观察受到 LPS 刺激后细胞内 PKC 活性变化, 以及药物干预对该变化的影响。分 LPS 阴性对照组(LPS-), LPS 阳性对照组(LPS+), Aspirin(终浓度 3 mmol/L)[5]+LPS 组(LA), POV(终浓度 20 μmol/L)[3]+LPS 组(LP), CAL(终浓度 0.5 μmol/L)[6]+LPS 组(LC), Aspirin+POV+LPS 组(LAP), Aspirin+CAL+LPS 组(LAC), 干预药物均于 LPS 刺激前 30 min 加入, LPS 刺激 10 min 收获细胞进行 PKC 活性测定。实验进行 5 次。

1.3.1.3　AM 胞质蛋白提取与浓度测定　　细胞收获后, 按照文献[5,7]方法, 提取胞质蛋白: 4 ℃、11 500 r/min 离心 10 s, 弃上清, PBS(pH 7.6)重悬细胞, 同前离心, 细胞团重悬于 400 μl 裂解液 A 中(10 mmol/L HEPES pH 7.9, 10 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L EDTA, 0.1 mmol/L EGTA, 1 mmol/L DTT, 0.5 mmol/L PMSF), 冰浴 15 min, 加入 10% NP-40 25 μl, 强力涡动 10 s 溶解细胞膜, 4 ℃12 000 r/min 离心 10 s 后收集含有胞质蛋白的上清液, Brad-Ford 法测定蛋白浓度。

1.3.1.4　AM 胞质 PKC 活性测定　　每样本取含有 5 μg AM 胞质蛋白的裂解液进行 PKC 活性测定, 具体方法参照 Promega® PKC 活性测定试剂盒进行, 用凝胶密度扫描法根据试剂盒提供 PKC 阳性对照进行有激酶活性 PKC 定量。PKC 活性测定凝胶图像, 见图 1, 用 QuantiScan 软件进行密度单位扫描。



phos: Phosphorylated substrates; non-phos: Non-phosphorylated substrates

图 1　PKC 测定扫描图像

Fig 1　Image of PKC activity in the AM cytoplasm

1.3.2　PTP 活性变化的测定

1.3.2.1　LPS 刺激 AM 及 PTP 测定时相　　所获得的 AM 接种于无血清 RPMI1640 培养基的 24 孔培养板中, 每孔加入 1×10^6个细胞, 给予 LPS(终浓度 1 μg/ml)刺激, 分别于 0、10、15、30 和 60 min 测定 PTP 活性。重复 5 组。

1.3.2.2　药物干预实验分组同 1.3.1.2, LPS 刺激 15min 后收获细胞进行 PTP 活性测定。

1.3.2.3　AM 胞质蛋白提取与浓度测定　　同 1.3.1.3

1.3.2.4　PTP 活性的测定　　根据文献[8]进行: 以 5 mmol/L pNPP 为反应底物, 以 37 ℃在反应体系(0.1 mol/L NaAc-HAc pH 5.0, 1 mmol/L EDTA, 100 μl 胞质提取物)中反应 10 min, 加入 1 mol/L NaOH 10 μl 终止反应, 752 分光光度计测 A_{405}, 以 37 ℃时在上述条件下每分钟转化 1 μmol 底物的酶量定义为为一个活力单位, 公式计算: $A_{405}\times 910/(10\times 1.73\times 10^4)$, 式中 910 μl 为反应体积, 10 min 为反应时间, 1.73×10^4 mol·L^{-1}·cm^{-1}为对硝基苯酚摩尔消光系数, 计算结果最后以胞质蛋白浓度进行校正。

1.4　统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 用 SPSS 统计软件行方差分析。

2　结果

2.1　LPS 对 AM PKC、PTP 活性影响

LPS(1 μg/ml, 10 min)刺激 AM 后, 其细胞内 PKC 活性在 5 min 后即升至(11.26±0.09) ng, 与刺激前(7.67±0.19) ng 比较显著增高($P<0.01$)。LPS 刺激后 10 min 时达到峰值(15.42±0.78)ng, 其后逐渐回落, 至 LPS 刺激后 30 min 降至 LPS 刺激前水平, 见图 2。而 AM 胞质内 PTP 活性在给予 LPS 刺激后逐渐减低, 其最低值(0.50±0.01) U, 出现在 15 min 左右, 与 LPS 刺激前(0.53±0.01) U 相比显著降低($P<0.01$), 其后缓慢回升, 见图 3。

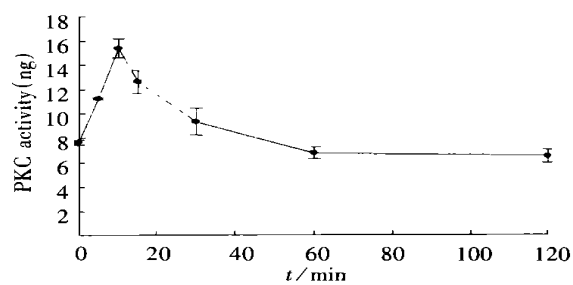


图 2　LPS 刺激后 AM 胞质 PKC 活性随时间变化曲线

Fig 2　Dynamic curve of PKC activity in the cytoplasm of AM after being stimulated with LPS

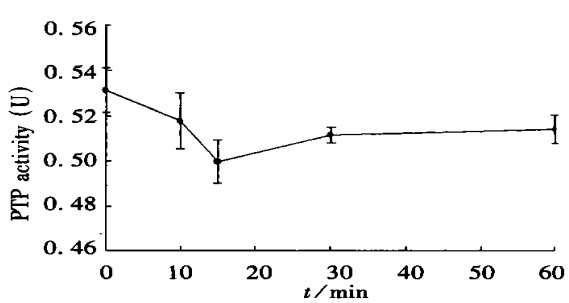


图 3　LPS 刺激后 AM 胞质 PTP 活性随时间变化曲线

Fig 3　Dynamic curve of PTP activity in the cytoplasm of AM after being stimulated with LPS

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

2.2 干预因素对AM PKC及PTP活性的影响

与LPS阳性对照相比较，单独应用治疗剂量Aspirin可抑制LPS刺激引起的AM PKC活性增加，但二者无显著性差异 LPS：(18.90±2.43) ng，LA：(16.18±1.39) ng，$P>0.05$，而单用Aspirin能够抑制LPS引起AM PTP活性降低 LPS：(0.49±0.01) U；LA：(0.46±0.01) U($P<0.01$)，见表1。PTP抑制剂POV可加剧LPS刺激引起的AM PTP活性减低 LPS：(0.21±0.01) U；LP：(0.46±0.01) U，$P<0.01$，而相对增强AM PKC活性，与阿司匹林联用能够减弱其效应。Calphostin C可明显抑制LPS引起的AM PKC活性上升 LPS：(18.90±2.43) ng；LC：(6.17±1.66) ng，$P<0.01$，阿司匹林可增强该效应，见表1。

表1 干预因素对LPS刺激AM胞质PKC与PTP活性的影响($n=5$，$\bar{x}\pm s$)

Tab1 Effects of interferring factors on PKC and PTP activities in AM after being stimulated with LPS($n=5$，$\bar{x}\pm s$)

	LPS−	LPS+	LA	LP	LC	LAP	LAC
PKC(ng)	10.59±1.04	18.90±2.43 *	16.18±1.39	25.91±4.00 *☆	6.17±1.66 *	21.12±3.91 △#	4.78±1.49 *△
PTP (U)	0.53±0.01	0.46±0.01 *	0.49±0.01 *	0.21±0.01 *☆	0.47±0.02	0.24±0.02 *△#	0.54±0.03 *△&

☆：$P<0.01$ *vs* LPS−；*：$P<0.01$ vs LPS+；△：$P<0.01$ *vs* LA；#：$P<0.01$ *vs* LP；$P<0.01$ *vs* LC

3 讨论

肺泡巨噬细胞能够分泌和释放多种细胞因子，募集和趋化中性粒细胞等其他类型炎症性细胞到达肺泡间隙，在肺部急性炎症中发挥重要作用[1]，当其受到外来刺激时，细胞膜接受刺激信号，通过多种途径将其传导到细胞核，启动相应基因的转录和细胞因子的表达。磷酸化和去磷酸化作为一种重要的信号蛋白活性调节方式，在这一过程中发挥重要作用，而蛋白激酶与蛋白磷酸酶则是该过程中两种重要的调节蛋白。

在本实验中，观察到猪AM PKC活性在LPS刺激后5 min内即有明显升高，于10 min左右达到峰值，与LPS刺激前相比较升高近一倍，其后15 min内逐渐回落至LPS刺激前水平。应用PKC抑制剂Calphostin C后，明显降低LPS刺激诱导的AM PKC活性。LPS可通过直接作用或诱导裂解产生活化PKC[9]，PKC活化处于细胞内信号传导通路上游，故在受刺激早期其活性即有明显变化[10]，进而始动下游信号蛋白的磷酸化级联反应。随着LPS作用减弱，PKC活性逐渐恢复到原来水平。Calphostin C能够与PKC调节区二酰甘油(DAG)结合位点相互作用，故而能够特异性抑制PKC活性[9]。

与PKC活性相反，实验中观察到在LPS刺激后15 min内，AM PTP活性呈现下降趋势，其最低点出现在LPS刺激后15 min左右，其后逐渐回升至原来水平。应用PTP抑制剂POV后，AM活性即出现明显降低，与LPS刺激组及对照组相比均有显著差异。PTP为蛋白磷酸酶家族成员，含有240个氨基酸的催化域保守序列，能够专一水解磷酸化酪氨酸残基上的磷酸根基团，使磷酸化酪氨酸发生脱磷酸化，而致相关信号蛋白失活，在胞质中为非受体型。过氧钒盐作为特异性PTP抑制剂，可通过与其活性基团相互作用致其失活，在10～20 μmol/L水平即可明显抑制巨噬细胞内PTP活性[3,8]。

本实验还观察到，当应用LPS后，AM PKC与PTP活性在一定时间内呈现相反的变化；应用Calphostin C抑制PKC活性后，AM PTP活性有轻微上升，而用POV抑制PTP活性则可引起AM PKC活性升高。由于细胞内同时存在蛋白激酶和蛋白磷酸酶，在静息状态下二者处于一动态平衡中，细胞与机体可通过对其调节而影响细胞内电解质平衡、细胞生长发育及细胞因子分泌等生理过程。应用其中任何一种酶激动剂或抑制剂，均可引致该平衡失衡，而使细胞内一种酶活性占优势，引起细胞异常反应[11]。当用LPS刺激AM后，激活PKC同时对PTP活性产生不同程度的抑制作用，从而打破蛋白激酶－磷酸酶活性平衡，使细胞中激酶活性占有优势，进而激活其下游的信号蛋白。

阿司匹林是非甾体类抗炎药物的代表，研究[5,12]表明可通过抑制LPS激活巨噬细胞NFκB途径，抑制LPS引起的COX-2mRNA及PGE_2表达，从而发挥抗炎作用。本组实验观察到单独应用治疗剂量的阿司匹林可减轻LPS刺激诱导AM PKC活性，但与对照组相比较差异不显著，以POV抑制PTP活性，阿司匹林对AM PKC活性影响依然不显著；与对照组相较，阿司匹林可显著升高PTP活性，Calphostin C抑制PKC活性后，阿司匹林对AM PTP活性的影响更加显著，提示阿司匹林可通过影响蛋白激酶-磷酸酶活性平衡而发挥抗炎作用，并且其对磷酸酶活性的影响似乎占主要地位。

综上所述，当猪AM受到LPS刺激后，能够引起胞质内PKC活性增强，同时抑制PTP活性，打破细胞内蛋白激酶-蛋白磷酸酶活性系统平衡，使细胞内蛋白激酶活性占优势，引起磷酸化级联反应，活化细胞内信号传导途径，导致细胞大量细胞因子及炎症介质合成和释放，使机体发生过度炎症性反应。非甾体类抗炎药物阿司匹林可通过影响蛋白激酶-蛋白磷酸酶活性平衡，尤其通过影响蛋白磷酸酶活性，使细胞内磷酸化信号蛋白脱磷酸化失活，减轻LPS刺激引起的AM反应以及机体的炎症反应。但对于该抗炎作用的可能机制如是否通过影响IκB磷酸化降解，活化NF-κB等信号途径而发挥作用，尚需要进一步研究。

参考文献：

[1] Chistine M, Michael G, William H, *et al*. Endotoxin-stimulated alveolar macrophage recruitment of neutrophils and modulation with exogenous surfactant[J]. Crit Care Med, 1998, 26(8): 1414－1418.

[2] Lallena M J, Diaz-Meco M T, Bren G, *et al*. Activation of IκB kinaseβ by protein kinase C isoforms[J]. Mol Cell Biol, 1999, 19(3): 2180－2188.

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

[3] Maria J M, Diaz-Gueera, Antonio Castrillo, *et al*. Negative regulation by protein tyrosine phosphatase of IFN-γ-dependent expression of inducible nitric oxide synthase[J]. J Immuno, 1999, 162(11): 6 776—6783.
[4] Hawiger J, Veach R A, Liu X Y, *et al*. IkappaB kinase complex is an intracellular target for endotoxic lipopolysaccharide in human monocytic cells [J]. Blood, 1999, 94(5): 1 711—1 716.
[5] 蔡恩齐, 陈正堂, 伍伟玲. 脂多糖和抗炎药物对肺血管内巨噬细胞核因子κB 的影响[J]. 中华结核和呼吸杂志, 1999, 22(5): 283—286.
[6] Kobayashi E, Nakano H, Morimoto M, *et al*. Calphostin C (UCN-1028C), a novel microbial compound, is a highly potent and specific inhibitor of protein kinase C[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1989, 159 (2): 548—553.
[7] Arshad Rahman, Khandaker N, Anwar, *et al*. Protein kinase C-ζ mediates TNF-α-induced ICAM-1 gene transcription in endothelial cells[J]. Am J Physiol, 2000, 279(4): C906—C914.
[8] 周兴旺, 陈忠等. 活性过氧钒配合物对酪氨酸磷酸酶的抑制作用[J]. 生物化学与生物物理学报, 2000, 32(2): 133—138.
[9] Novotney M, Chang Z L, Uchiyama H, *et al*. Protein kinase C in tumoricidal activation of mouse macrophage cell lines[J]. Biochemistry, 1991, 30 (22): 5597—604.
[10] Shapira L, Takashiba S, Champagne C, *et al*. Involvement of protein kinase C and protein tyrosine kinase in lipopolysaccharide-induced TNF-alpha and IL-1 beta production by human monocytes[J]. J Immunol, 1994, 153(4): 1 818—1 824.
[11] Green S P, Hamilton J A, Phillips W A. Zymosan-triggered tyrosine phosphorylation in mouse bone-marrow-derived macrophages is enhanced by respiratory-burst priming agents[J]. Biochem J, 1992, 288(Pt 2): 427—432.
[12] 伍伟玲, 陈正堂, 蔡恩齐, 等. 脂多糖刺激肺血管内巨噬细胞环氧合酶—2 表达的意义[J]. 中华创伤杂志, 2000, 16(3): 154—156.

（编辑　郭建秀）

文章编号: 1000-5404(2002)07-0789-01

个案与短篇

乳腺神经内分泌癌 3 例报告

Report of 3 cases of neuroendocrine carcinoma of the breast

何渝军, 何双梧　（第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所普通外科, 重庆 400042）

乳腺神经内分泌癌是乳腺癌的一种特殊类型, 较为罕见, 现将我们治疗的 3 例报告如下。

1　临床资料

例 1: 女, 50 岁, 因发现左侧乳房包块 1 年入院。查体: 左侧乳腺外上象限可触及 2.5 cm×3.0 cm×1.5 cm 包块, 质中, 边界清楚, 与皮肤和胸壁无粘连, 腋窝无肿大淋巴结。病理报告: 左乳腺神经内分泌癌, 免疫组化染色: Syn++, NSE+。

例 2: 女, 60 岁, 因发现左侧乳房包块 50 d 入院。查体: 左乳头内陷, 左侧乳腺内下象限近乳头处可触及 3.5 cm×5.0 cm×0.8 cm 包块, 表面皮肤可见散在的红色小结节, 质中, 边界较清楚, 表面不光滑, 酒窝征阳性, 腋窝未触及肿大淋巴结。病理报告: 左乳腺小细胞神经内分泌癌, 腋窝淋巴结显反应性增生。免疫组化染色: Syn++, NSE++。

例 3: 女, 48 岁, 因发现右侧乳房包块 4 月伴右腋窝包块 2 月入院。查体: 右侧乳腺外下象限近乳头处可触及 3.0 cm×4.5 cm×1.0 cm 包块, 质硬, 边界不清, 表面不光滑, 酒窝征阳性, 腋窝可触及 4.0 cm×3.5 cm 肿大淋巴结。病理报告: 右乳腺小细胞神经内分泌癌, 腋窝淋巴结有癌组织转移。免疫组化染色: Syn+++, NSE++。

3 例患者均采用乳腺癌改良根治术, 术后予环磷酰胺、氨甲喋呤和 5-氟尿嘧啶进行化疗, 其中例 3 还进行放射治疗。术后随访 10～18 个月未见转移及复发。

2　讨论

乳腺神经内分泌癌是乳腺癌的一种特殊类型, 较为罕见。它可原发于神经细胞, 也可来自乳腺导管上皮细胞不典型增生所致, 为粘液腺癌分化而成。常表现为乳腺单个无痛性包块, 边界清楚, 质硬, 固定, 可浸润皮肤或形成溃疡[1]。肿瘤呈黄白色, 无包膜, 具有弹性, 癌细胞较小, 呈圆形或卵圆形, 胞核深染, 胞质稀少, 分裂像多见。癌细胞可呈弥漫状、片状或条索状分布, 坏死灶常见。在电镜下癌细胞中可见到致密的核心颗粒, 有人认为是内分泌细胞, 但也有人认为不是神经内分泌细胞, 而是分泌乳清蛋白的细胞[2,3]。在诊断上可采用针吸细胞学检查, 除进行常规的病理学检查外, 还应行神经元特异性烯醇化酶 (Neurone-specific enolase, NSE)、突触素 (Synaptophysin, Syn)、嗜铬粒蛋白 (Chromogranin, Cg) 等免疫组化染色。一般采用根治性手术、化疗、放疗及内分泌治疗等综合手段, 对无淋巴结及远处转移者预后较好。

关键词: 乳腺肿瘤; 神经内分泌癌
中图法分类号: R737.9　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Fukunaga M. Neuroendocrine carcinoma of the breast with Merkel cell carcinoma-like features[J]. Pathol Int, 1998, 48(7): 557—560.
[2] 刘彤华. 诊断病理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1994. 588—589.
[3] Sapino A, Papotti M, Pietribiasi F, *et al*. Diagnostic cytological features of neuroendocrine differentiated carcinoma of the breast[J]. Virchows Arch, 1998, 433 (3): 217—222.

（编辑　郭建秀）

作者简介: 何渝军(1969—), 男, 江西省万安县人, 硕士, 主治医师, 讲师, 主要从事胃肠肿瘤和乳腺肿瘤方面的研究, 发表论文 7 篇。电话: (023)68757248
收稿日期: 2001-05-09; 修回日期: 2001-07-18

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