

D112E 和 S83L 双突变与诺酮类药物耐药密切相关,此结果与 2002 年我国湖南张文波等^[2]和 2006 年浙江谢鑫友等^[4]报道相似,与 2003 年法国 Bebear 等^[3]和 2009 年英国 Beeton 等^[5]报道解脲支原体除存在与我们一致的 D112E 和 S83L 双突变外尚有 ParC 氨基酸序列第 125 位或 136 位的苏氨酸(Thr)替换丙氨酸(Ala)突变,提示解脲支原体 gyrA 和 parC 基因 QRDR 区与喹诺酮类耐药相关的突变类型与分布存在区域性差异,检测本地区解脲支原体 gyrA 和 parC 基因 QRDR 区点突变对于临床治疗药物的选择有参考价值。41 株耐药株中只有 1 株发生双突变菌株对 3 种药物都呈中介耐药,其余 35 株至少对 1 种喹诺酮类药物耐药,耐药程度高的菌株占 97.2%。41 株耐药株中 5 株不存在突变或只发生单位点突变,其中只有 1 株对环丙沙星耐药程度高呈耐药,其余 4 株只呈现中介耐药,耐药程度高的菌株占 20.0%。两者比较有显著性差异($P < 0.01$),提示 GyrA 和 ParC 氨基酸序列 D112 和 S83 突变发生与耐药密切相关且突变数目与耐药程度相关。

参考文献

1 Farkas B, Ostorházi E, Pónyai K, *et al.* Frequency and antibiotic re-

sistance of *ureaplasma urealyticum* and *mycoplasma hominis* in genital samples of sexually active individuals[J]. *Orv Hetil*, 2011, 152(42): 1698 - 1702

- 2 Zhang W, Wu Y, Yin W, *et al.* Study of isolation of fluoroquinolone - resistant *ureaplasma urealyticum* and identification of mutant sites[J]. *Chin Med J*, 2002, 115(10): 1573 - 1575
- 3 Bébear CM, Renaudin H, Charron A, *et al.* DNA gyrase and topoisomerase IV mutations in clinical isolates of *ureaplasma* spp. and *mycoplasma hominis* resistant to fluoroquinolones[J]. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2003, 47(10): 3323 - 3325
- 4 Xie X, Zhang J. Trends in the rates of resistance of *ureaplasma urealyticum* to antibiotics and identification of the mutation site in the quinolone resistance - determining region in Chinese patients[J]. *FEMS Microbiol Lett*, 2006, 259: 181 - 186
- 5 Beeton ML, Chalker VJ, Kotecha S, *et al.* Comparison of full gyrA, gyrB, parC and parE gene sequences between all *ureaplasma parvum* and *ureaplasma urealyticum* serovars to separate true fluoroquinolone antibiotic resistance mutations from non - resistance polymorphism[J]. *J Antimicrob Chemother*, 2009, 64(3): 529 - 538
- 6 Chen FJ, Lo HJ. Molecular mechanisms of fluoroquinolone resistance [J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2003, 36(1): 1 - 9

(收稿: 2012 - 01 - 16)

(修回: 2012 - 02 - 20)

大肠黏膜组织 sialyl lewis X 表达及生物学意义

于秀文 吴 甜

摘 要 **目的** 探讨大肠肿瘤 sLex(sialyl lewis X)表达及其与大肠癌临床病理参数的关系。**方法** 应用免疫组织化学方法对 55 例大肠腺癌、15 例远切端大肠黏膜及 20 例大肠腺瘤进行 sLex 检测。**结果** 大肠腺瘤、大肠腺癌 sLex 阳性表达率分别为 50.0% (9/18), 80.0% (44/55) ($P = 0.005$); 34 例大肠腺癌、相应的癌旁正常黏膜及相应远切端正常黏膜 sLex 阳性表达率分别为 79.4% (27/34), 41.2% (14/34), 5.88% (2/34) ($P < 0.05$); 55 例大肠腺癌 sLex 阳性表达与患者的性别、部位、浸润深度、淋巴结转移、Duke's 分期及生存时间无关 ($P > 0.05$), 而与分化程度有关 ($P = 0.021$)。**结论** sLex 是检测大肠肿瘤发生及大肠癌分化程度的重要生物学标志物。

关键词 大肠腺癌 sLex 免疫组织化学

Expression and Biological Significance of Sialyl Lewis X in Colorectal Mucosal Tissues. Yu Xiuwen, Wu Tian. Department of Pathology, Qiqihaer Medical College, Heilongjiang 161006, China

Abstract Objective To explore relationship between expression sLex(sialyl lewis X) and clinicopathological parameters in colorectal tumors. **Methods** The expression of sLex was detected in 20 colorectal adenomas, 55 colorectal adenocarcinomas and 15 normal colorectal mucosal tissues by immunohistochemical method. **Results** The positive expression rates of sLex in colorectal adenoma and colorectal adenocarcinomas and normal colorectal mucosal tissues were 50.0% (9/18), 80.0% (44/55) ($P = 0.005$). The positive ex-

基金项目: 黑龙江省教育厅高等学校青年学术骨干支持计划项目基金资助项目(1155G66)

作者单位: 161006 齐齐哈尔医学院病理教研室

pression rates of sLex in 34 colorectal carcinoma and carcinoma adjacent mucosa were 79.4% (27/34), 41.2% (14/34), 5.88% (2/34) ($P < 0.05$). The colorectal adenocarcinomas sLex expression was unrelated to patient's sex, site, invasion, lymph node metastasis, Duke's stages and survival time ($P > 0.05$). The positive expression of sLex was related with differentiation of tumor ($P = 0.021$). **Conclusion** sLex is the detection of colorectal tumorigenesis and colorectal cancer differentiation degree important biological markers.

Key words Colorectal adenocarcinoma; sLex; Immunohistochemistry

大肠癌是消化系统常见恶性肿瘤之一,目前对于检测大肠癌的发生、分化、浸润、转移及预后还没有一个特异性的标志物。唾液酸化的路易斯寡糖 X (sialyl lewis X, 简称 sLex) 抗原是近年来发现的一种肿瘤标志物,关于 sLex 与大肠癌关系的报道观点不一^[1]。我们应用免疫组织化学方法检测大肠癌、癌旁正常黏膜、远切端黏膜及大肠腺瘤组织,探讨 sLex 在大肠肿瘤发生、大肠癌分化、浸润、转移及预后的价值,为临床诊断、治疗及预后的判断提供依据。

材料与amp;方法

1. 研究对象:随机选取黑龙江省齐齐哈尔医学院病理中心 2000 ~ 2005 年经手术切除的大肠癌组织标本 55 例(男性 29 例,女性 26 例,年龄 20 ~ 75 岁,平均年龄为 58.89 ± 14.72 岁,发生部位:结肠 20 例,直肠 35 例;根据 2004 年 WHO 肿瘤组织学分类:高分化 16 例,中分化 18 例,低分化 21 例;侵及肌层以上者 29 例,侵及浆膜和(或)浆膜以外器官 26 例;有淋巴结转移者 23 例,无淋巴结转移者 32 例;Duke's 分期:A 期 21 例,B 期 11 例,C 期 20 例,D 期 3 例;生存期 > 5 年者 27 例,< 5 年者 28 例),34 例带有癌旁正常黏膜(据癌组织 < 1.0cm)及远切端黏膜(据癌组织 > 10cm)。另外选取 18 例大肠腺瘤组织作对照研究。

2. 方法:采用免疫组织化学 SP 法(链酶卵白素 - 过氧化酶法)。一抗为多克隆兔抗 sLex - IgA (BD, Denmark A/S) 浓缩型抗体,工作浓度为 1:200;SABC 试剂盒为武汉博士德生物公司产品,DAB 试剂盒为北京中杉金桥生物技术有限公司产品。用 0.01mol/L, pH 值为 6.0 ± 0.1 柠檬酸缓冲液进行微波抗原修复,其余操作步骤按说明书进行。人的胃癌组织作为阳性对照,PBS 代替一抗作阴性对照。

3. 结果判定:采用综合评分法:sLex 定位于细胞膜或细胞质,随机观察 10 个高倍视野,每个视野记数 100 个细胞,根据其中阳性细胞的比率和染色强度分别进行综合评定。(1)按阳性细胞的比率评分:0 分为阳性细胞数占总细胞数 < 5%;1 分为 5% ~ 30%;2 分为 31% ~ 60%;3 分为 > 60%。(2)按染色强度评分:0 分为细胞无棕色颗粒与背景一致;1 分为出现淡棕黄色颗粒;2 分为出现明显的棕色或棕黄色颗粒;3 分为强棕色或棕黄色颗粒。(3)总分 = 阳性细胞的比率评分 × 染色强度评分:0 分为阴性(-);1 ~ 3 分为弱阳性(+);4 ~ 6 分为弱阳性(++);7 ~ 9 分为强阳性(+++)。

4. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 软件进行非参数检验,sLex 表达与生存时间的关系采用 Kaplan - meier 生存率曲线

及 Log Rank 检验,所有统计检验均为双侧概率检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 大肠腺瘤及大肠腺癌组织 sLex 的表达:sLex 阳性染色位于细胞膜及细胞质,正常黏膜及大肠腺瘤组织 sLex 主要表达于腺腔的腔缘及细胞膜周围的细胞质,而癌细胞出现细胞膜及细胞质的弥漫表达(图 1)。大肠腺瘤、大肠腺癌 sLex 阳性表达率分别为 50.0% (9/18), 80.0% (44/55), 大肠腺癌 sLex 阳性表达率高于大肠腺瘤,具有统计学意义 ($P = 0.005$) (表 1)。

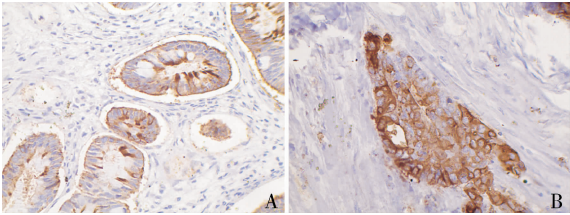


图 1 大肠腺瘤及大肠腺癌组织 sLex 的表达 (×400)
A. 大肠腺瘤; B. 大肠腺癌

表 1 大肠腺瘤及大肠癌组织 sLex 的表达

	n	-	+	++	+++	U(Z)	P
腺瘤	18	9	4	2	3	285	0.005
腺癌	55	11	6	15	23		

2. 大肠腺癌、癌旁正常黏膜及远切端正常黏膜 sLex 的表达:癌旁正常黏膜 sLex 阳性染色主要位于黏膜固有层深层的腺体,而大肠腺癌 sLex 阳性染色表现于癌细胞浸润越深表达越明显。34 例大肠腺癌、相应的癌旁正常黏膜及远切端正常黏膜 sLex 阳性表达率分别为 79.4% (27/34), 41.2% (14/34),

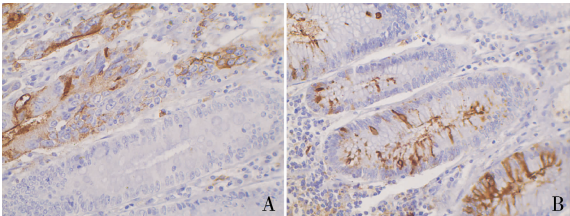


图 2 大肠腺癌及癌旁正常黏膜 sLex 的表达 (×400)
A. 大肠腺癌; B. 癌旁正常黏膜

5.88% (2/34), 大肠腺癌 > 癌旁正常黏膜 > 远切端正常黏膜, 具有统计学意义 ($P < 0.05$, 表 2)。

表 2 大肠腺癌、癌旁正常黏膜及远切端正常黏膜 sLex 的表达

病理类型	n	-	+	++	+++	U(Z)	P
腺癌	34	7	5	8	14	-4.359	0.000 ^a
癌旁正常黏膜	34	20	14	0	0	-3.464	0.001 ^b
远切端正常黏膜	34	32	2	0	0	-5.000	0.000 ^c

a. 腺癌与癌旁正常黏膜比较; b. 癌旁正常黏膜与远切端正常黏膜比较; c. 为腺癌与远切端正常黏膜比较

3. 大肠腺癌 sLex 的表达与临床病理参数的关系: 55 例大肠腺癌 sLex 阳性表达与患者的性别、发生部位、浸润深度、淋巴结转移及 Duke's 分期无关 ($P > 0.05$), 而与分化程度有关 ($P = 0.021$) (表 4)。

表 4 大肠腺癌 sLex 的表达与临床病理参数的关系

临床病理参数	n	-	+	++	+++	U	P
性别						371.000	0.915
男性	29	7	2	7	13		
女性	26	4	4	8	10		
部位						288.000	0.252
结肠	20	6	2	5	7		
直肠	35	5	4	10	16		
分化程度						7.737	0.021
高分化	16	4	1	6	5		
中分化	18	1	1	4	12		
低分化	21	6	4	5	6		
浸润深度						351.5	0.65
肌层	29	5	5	8	11		
浆膜	26	6	1	7	12		
淋巴结转移						278.5	0.107
无	32	9	3	9	11		
有	23	2	3	6	12		
Duke's 分期						278.5	0.107
A、B	32	9	3	9	11		
C、D	23	2	3	6	12		

4. 大肠腺癌 sLex 的表达与生存时间的关系: 55 例大肠腺癌 Kaplan - Meier 生存曲线 (图 3) 显示, sLex 阳性表达组的生存曲线位于阴性组的下方, 即 sLex 阳性表达率高者, 生存时间短, 但不具有统计学意义 ($\text{Log} - \text{rank} = 0.919, P = 0.338$)。

讨 论

sLex 是 Lewis X 抗原的唾液酸基衍化物, 属于 Lewis 血型决定簇抗原之一。其结构为 $\text{NeuAc}_{\alpha 2-3} \text{Gal}_{\beta 1-4} \text{Fuc}_{\alpha 1-3} \text{GcInAc}_{\beta 1-3} \text{Gal}_{\beta 1-4} \text{Glc}_{\beta 1-1} \text{Cer}^{[2]}$ 。正常

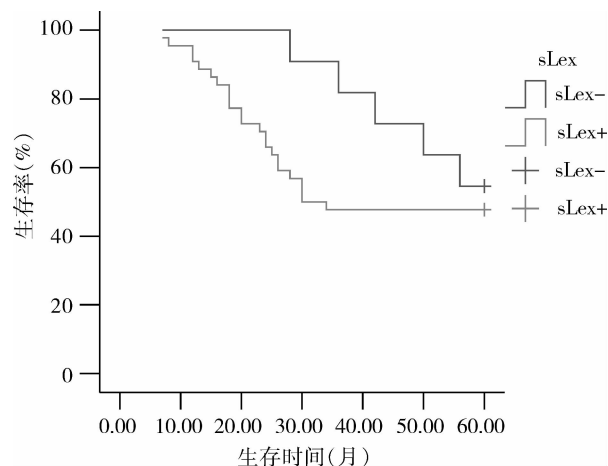


图 3 大肠腺癌 sLex 表达与生存时间的关系

情况下, sLex 主要表达于人体粒细胞和单核细胞表面。近年研究表明, 它是糖化的肿瘤相关抗原, 其表达是肿瘤恶性发展和预后不良的标志物^[3,4]。

关于 sLex 在大肠正常黏膜、腺瘤及腺癌的表达情况文献观点不一, Croce 等^[5]应用免疫组织化学方法检测了 88 例大肠癌, 22 例腺瘤和 23 正常黏膜 sLex 的表达, 大肠癌、腺瘤阳性率分别为 31%, 41%, 而在正常的黏膜中只有 2 例阳性。而 Portela 等^[6]研究表明, sLex 表达在大肠癌癌周正常组织为 sLex 为 6.7%, 腺瘤为 27.0%, 交界区及肿瘤组织分别为 25.6%、74.8%。本研究结果显示, 大肠腺瘤、腺癌 sLex 阳性表达率分别为 50.0% (9/18)、80.0% (44/55); 癌旁正常黏膜为 41.2% (14/34), 主要表达于固有层深部增生腺体; 远切端正常黏膜只有 2 例阳性, 其表达率为 5.88%。从远切端黏膜 - 癌旁黏膜 - 大肠腺癌 sLex 表达呈现明显的上升趋势, 提示 sLex 参与了大肠肿瘤的发生及恶性转化, 并且在这一过程中 sLex 表达部位出现了变化。文献报道 Fuc - TVI 调节 sLex 的生物合成^[7]。那么 sLex 表达与临床病理参数的关系, Nakamori 等^[8]将 132 例大肠癌分为 sLex 阴性、阳性两组, 研究表明, sLex 阳性组瘤细胞侵袭能力、淋巴结转移高于 sLex 阴性组, 尤其是肝转移能力增强, 而且患者 5 年生存率 sLex 阳性组 (58.3%) 低于阴性组 (93%)。本研究结果显示, sLex 的表达与患者性别、发生部位、浸润深度、淋巴结转移、Duke's 分期均无关, 而与分化程度有关, 而且通过 Kaplan - Meier 生存曲线及 Log - rank 检验显示, sLex 阳性表达率高者, 生存时间短, 但不具有统计学意义。提示 sLex 表达与不同分化的大肠癌相关, 即中低分化者, sLex 表达高, 而高分化者, sLex 表达低。

本研究应用免疫组化研究了大肠癌及腺瘤 sLex 表达,同时对大肠癌周围及远切端黏膜进行了 sLex 检测,结果表明 sLex 是检测大肠肿瘤发生及大肠癌分化程度的重要生物学标志物。

参考文献

- 1 Doekhie FS, Morreau H, de Bock GH, *et al.* Sialyl Lewis X expression and lymphatic microvessel density in primary tumors of node - negative colorectal cancer patients predict disease recurrence[J]. *Cancer Microenviron*,2008,1(1):141 - 151
- 2 Mannori G, Crottet P, Cecconi O, *et al.* Differential colon cancer cell adhesion to E - , P - , and L - selectin:role of mucin - type glycoproteins[J]. *Cancer Res*,1995,55(19):4425 - 4431
- 3 Hiratani K. The clinical significance of tumor - associated glycosylated antigen, sialylated Lewis[J]. *Nihon Kyobu Shikkan Gakkai Zasshi*, 1991,29(9):1096 - 1103
- 4 Jorgensen T, Berner A, Kaalhus O, *et al.* Up - regulation of the oligo-saccharide sialyl LewisX:a new prognostic parameter in metastatic pros-

- tate cancer[J]. *Cancer Res*,1995,55(9):1817 - 1819
- 5 Croce MV, Sállice VC, Lacunza E, *et al.* Alpha 1 - acid glycoprotein (AGP):a possible carrier of sialyl lewis X (slewis X) antigen in colorectal carcinoma[J]. *Histol Histopathol*,2005,20(1):91 - 97
- 6 Portela SV, Martín CV, Romay LM, *et al.* sLea and sLex expression in colorectal cancer:implications for tumourigenesis and disease prognosis [J]. *Histol Histopathol*,2011,26(10):1305 - 1316
- 7 Trinchera M, Malagolini N, Chiricolo M, *et al.* The biosynthesis of the selectin - ligand sialyl Lewis x in colorectal cancer tissues is regulated by fucosyltransferase VI and can be inhibited by an RNA interference - based approach[J]. *Int J Biochem Cell Biol*,2011,43(1):130 - 139
- 8 Nakamori S, Kameyama M, Imaoka S, *et al.* Increased expression of sialyl Lewisx antigen correlates with poor survival in patients with colorectal carcinoma: clinicopathological and immunohistochemical study [J]. *Cancer Res*,1993,53(15):3632 - 3637

(收稿:2011 - 12 - 12)

(修回:2012 - 01 - 04)

太白橐木抗肝损伤作用药效物质基础的初步研究

郭东艳 覃鸿恩 李 瑾 吕 杨 师延琼

摘 要 **目的** 初步确定太白橐木抗肝损伤作用的药效物质基础。**方法** 采用经典的系统溶剂法(极性由小到大:石油醚 - 氯仿 - 乙酸乙酯 - 正丁醇)依次对太白橐木提取液进行萃取,将各提取液分别灌胃给予四氯化碳(CCl_4)致急性肝损伤模型小鼠,检测血清及肝组织中丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性和丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - Px)的水平,比较各部位的抗肝损伤作用;将筛选出的活性部位用大孔吸附树脂进行分离纯化,不同浓度乙醇进行梯度洗脱,洗脱液分别灌胃给予肝损伤模型小鼠,检测血清及肝组织中 ALT、AST、SOD 的活性和 MDA、GSH - Px 的水平,比较各洗脱部位的抗肝损伤作用。**结果** 与模型对照组比较,正丁醇部位可明显降低 CCl_4 引起的 ALT、AST、MDA 升高,增加肝组织中 SOD 的活性和 GSH - Px 的水平;70% 乙醇洗脱的正丁醇提取物可明显降低 CCl_4 引起的 ALT、AST、MDA 升高,增加肝组织中 SOD 的活性和 GSH - Px 的水平,且洗脱液剂量与保肝作用有明显的正相关性。**结论** 太白橐木保肝作用的药效活性物质大多存在于 70% 乙醇洗脱的正丁醇部位,其抗肝损伤作用的活性成分可能与该部位主要成分皂苷类有关。

关键词 太白橐木 抗肝损伤 有效部位

Preliminary Study on Pharmacodynamic Material Basis of Aralia Taibaiensis in Anti - hepatic Injury. Guo Dongyan, Qin Hongen, Li Jin, Lv Yang, Shi Yanqiong. The Medicine College of Shaanxi University of Chinese Medicine, Shaanxi 712046, China

Abstract Objective To study the pharmacodynamic material basis of Aralia taibaiensis in anti - hepatic injury. **Methods** The experimental drugs were systematically extracted by solutions method (petroleum ether, chloroform, ethyl acetate, N - buoh) from Aralia taibaiensis according to solutions' polarity. The mice model of acute liver injury was established by carbon tetrachloride. Activities of ALT, AST, SOD were examined, and levels of MDA, GSH - Px were determined. The hepatic histological changes were observed by optical microscope. The effect of anti - hepatic injury was compared. The effective part was in macroporous adsorption resin to purification, with different concentration gradient itself on ethanol. Then the Same procedures were as above. And the effect of anti - hepatic injury was compared in each elution part. **Results** Compared with model control group, N - buoh extract of Aralia taibaiensis could significantly de-

基金项目:陕西省教育厅资助项目(09JS015,2010JK506);陕西省中管局资助项目(ZY30,ZY31)

作者单位:712046 西安,陕西中医学院药学院