

主要死因之一^[5]。及时合理地选用抗菌药物控制感染是治疗的关键^[6]。

本研究结果显示,矽肺患者病原菌感染以肺炎克雷伯菌、大肠埃希菌、卡他莫拉菌、铜绿假单胞菌、黏质沙雷菌、表皮葡萄球菌为主,真菌感染也呈上升趋势。主要致病菌对常用抗菌药物耐药性普遍升高。其中氨苄西林对主要致病菌耐药性最大,而以亚胺培南最小,而表皮葡萄球菌对常用抗生素的耐药性普遍较高。笔者认为抗生素不宜单用,长期服用一种或多种抗生素,特别是单独使用氨苄西林,应交替使用,并针对痰检结果合理联用抗生素,如患者痰液检测中发现革兰阴性菌及表皮葡萄球菌,应给予亚胺培南和庆大霉素,或亚胺培南和左氧氟沙星,但特别要注意的是庆大霉素的不良反应。此外,在革兰阴性杆菌、非发酵菌及铜绿假单胞菌感染中,首选药可选哌拉西林及头孢唑啉。因为庆大霉素的不良反应,青霉素仍为革兰阳性菌感染临床上首选^[7]。

总之,通过对矽肺患者病原菌及对抗生素耐药的监测,对临床上合理使用抗生素、预防双重感染以及细菌耐药性的防治都具有重要的指导意义,为临床合理用药提供科学依据。

参考文献

[1] 马月琴. 32 例矽肺合并呼吸道感染患者的临床治疗体会

[J]. 中国医疗前沿, 2010, 5(4): 27.
[2] 叶应抚, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 南京: 东南大学出版社, 1997: 560-561.
[3] 陈念光, 陈铿铿, 刘秋英, 等. 宝石矽肺患者肺部感染菌谱及药敏分析[J]. 职业与健康, 2008, 24(11): 1037-1038.
[4] 王朝森. 矽肺并发肺结核 150 例临床分析[J]. 浙江实用医学, 2007, 12(2): 97-98.
[5] 王巍, 姜平, 李洪敏, 等. 矽肺结核痰标本结核分支杆菌快速培养药敏的临床分析总结[J]. 中国抗生素杂志, 2004, 29(12): 764-766.
[6] 栗晓芳. 82 例矽肺患者痰标本病原菌分布及耐药性分析[J]. 现代检验医学杂志, 2010, 25(5): 41-42.
[7] 苟骁. 矽肺并发肺部感染常见的革兰阴性杆菌耐药性临床分析[J]. 中国医药指南, 2010, 8(11): 105-107.

(收稿日期: 2011-03-17)

• 临床研究 •

人生长激素对人胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响

曾树林, 夏 春(湖北省武汉市武昌医院 430063)

【摘要】 目的 探讨人生长激素对人胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响。**方法** 建立胰腺癌裸鼠移植瘤模型, 将 40 只裸鼠随机分为 4 组: 对照组、重组人生长激素(rhGH)组、曲古抑菌素 A(TSA)组和 rhGH+TSA 组, 各组腹腔注射给药, 2 周后, 观察各组药物对肿瘤生长的影响。MTF 法检测肿瘤细胞的增殖, 免疫组织化学检测肿瘤细胞增殖, 缺口末端标记(TUNEL)法检测移植瘤组织的细胞凋亡。**结果** 与对照组相比, TSA 组和 rhGH+TSA 组 S 期细胞、肿瘤质量及细胞增殖指数明显降低($P<0.05$), 凋亡指数、 G_0/G_1 期及 G_2M 期细胞明显升高($P<0.05$), 但 TSA 组与 rhGH+TSA 组以及 rhGH 组与对照组各项指标比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** 人生长激素在体内对人胰腺癌细胞既无明显的增殖作用, 也无明显的凋亡作用。

【关键词】 人生长激素; 人胰腺癌细胞; 增殖; 凋亡
DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 15. 042 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)15-1869-02

胰腺癌是临床常见的消化系统肿瘤之一, 且切除率低、预后差。近年来, 胰腺癌发病率呈上升趋势^[1]。国内外研究表明^[2-4], 重组人生长激素(recombinant human growth hormone, rhGH)能显著改善晚期恶性肿瘤患者的营养状况, 使其代谢调节和免疫调节作用加强, 提高患者治疗效果及耐受性。但 rhGH 作为恶性肿瘤患者的免疫、营养辅助治疗剂应用于临床, 至今仍存在争议^[5-6], 以至于医生及患者对 rhGH 安全性存在顾虑。本研究旨在探讨人生长激素对人胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响, 希望能为临床治疗胰腺癌提供实验及理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 4~6 周龄雌性 BALB/c 裸鼠, 体质量 14~25 g (中国科学院上海实验动物中心); 人胰腺癌细胞株 ASPC-1 (中国科学院细胞生物库); rhGH(上海联合赛尔生物工程有限公司, 批号: 20070621); 曲古抑菌素 A(TSA)(美国 Sigma 公司); 流式细胞仪(上海净化设备公司); 缺口末端标记(TUNEL)试剂盒(北京中杉金桥生物技术公司)。

1.2 实验方法
1.2.1 模型建立、分组及给药方法 将 2×10^7 个人胰腺癌细胞 ASPC-1 悬浮于 1 mL 的细胞悬液, 以每只 0.1 mL 接种于裸鼠的右臀部皮下。待瘤体长至长径 1.0 cm 左右, 处死裸鼠, 取出移植瘤, 把 2 mm×2 mm×2 mm 的瘤体包块接种于裸鼠臀部。接种后 21 d, 选取瘤体生长良好的裸鼠随机分成 4 组: 对照组、rhGH 组、TSA 组和 rhGH+TSA 组, 每组 10 只。分组后当日给药, 对照组皮下注射与 rhGH 组等体积的等渗盐水 0.2 mL, TSA 组 2 mg/kg TSA 溶液给予皮下注射, rhGH 组按 2.5 IU/kg rhGH 溶液给予皮下注射, rhGH+TSA 组同 TSA 组和 rhGH 组, 每天 1 次, 连续给药 2 周。
1.2.2 指标测定 (1)移植瘤质量: 将剥出的肿瘤去除血污、脂肪等非瘤组织, 称量瘤质量。(2)病理组织学检查: 取移植瘤组织约 0.3 cm, 用 10% 甲醛固定、脱水, 常规石蜡包埋切片, 苏木素-伊红染色, 光学显微镜观察计数 5 个以上不少于 1 000 个细胞的高倍视野。TUNEL 法检测凋亡细胞, 计算凋

亡指数(AI)。(3)流式细胞术:切取移植瘤瘤组织约 50 mg 制成单细胞悬液,离心,弃上清液,用 70%乙醇调整细胞浓度为 $1\times 10^6/\text{mL}$,4℃冰箱存放,用碘化丙啶染色,操作程序按试剂盒说明书进行,置室温 30 min 后过 300 目尼龙膜,于激发波长 490 nm 下分析。用流式细胞仪进行细胞周期检测 G_0/G_1 期、S 期和 G_2M 期人胰腺癌细胞数目,计算细胞凋亡率。细胞增殖指数(proliferation index, PI)按公式计算: $PI=(S+G_2M)/(G_0/G_1+S+G_2M)\times 100\%$ 。MTF 法检测细胞存活率,在酶标仪上读取吸光度(A)值,检测波长 490 nm。细胞存活率(%)

表 1 各组人胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响情况比较($\bar{x}\pm s$)

组别	肿瘤质量(g)	PI	AI	G_0/G_1 期	S 期	G_2M 期
对照组	0.491±0.032	18.31±0.94	5.04±0.87	62.32±6.07	16.34±2.47	13.64±4.53
rhGH 组	0.503±0.029	18.56±0.62	5.21±1.06	61.25±5.30	16.14±1.99	14.07±3.61
TSA 组	0.172±0.017*	9.47±0.54**	7.43±1.38*	72.48±6.01**	8.15±1.83**	19.82±3.59*
rhGH+TSA 组	0.180±0.024*	9.69±0.61**	7.83±1.29*	73.13±4.98**	8.11±2.05**	19.95±5.02*

注:与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

3 讨 论

随着社会老龄化程度的加剧和人们的饮食结构不断地变化,我国胰腺癌的发病率也随之升高。因胰腺癌早期无明显的临床症状,且具有浸润转移和多发浸润生长等生物学特性^[7],给临床确诊带来一定的困难,致使一旦确诊已是胰腺癌中晚期。一般恶性肿瘤患者处于高分解状态,易产生严重的并发症,致使患者机体免疫功能低下,影响了患者的治疗效果及康复。以往研究表明,单纯给予静脉高价营养(TPN)注射不能显著改变患者高分解代谢和免疫功能低下状态,而生长激素可加强肿瘤患者的代谢调理,改善患者细胞和体液性的全身防御能力,促进创伤患者的正氮平衡、加速伤 El 愈合、减少并发症,增加了患者对治疗的耐受性,提高了其疗效^[8-10]。

本研究选择 TSA 为实验的阳性对照药,是因 TSA 作用于细胞周期的 S 期,且通过诱导细胞凋亡和周期阻滞两种途径抑制胰腺癌 PANC-1 细胞的生长,对人胰腺癌细胞有较强的杀伤效果^[11],本研究证实了这一观点。本研究结果显示,对照组与 rhGH 组间的各项指标差异无统计学意义($P>0.05$),表明人生长激素在体内对人胰腺癌细胞既无明显的增殖作用,也无明显的凋亡作用;TSA 组和 rhGH+TSA 组组间的各项指标差异无统计学意义($P>0.05$),揭示 rhGH 不影响 TSA 对人胰腺癌细胞生长的抑制作用,即不影响化疗药物的抗癌作用。本研究结果为 rhGH 可安全应用于人胰腺癌患者的治疗提供了实验依据,同时也为 rhGH 联合化疗药物应用于临床消化道恶性肿瘤患者的治疗提供了理论依据。

参考文献

[1] 蔡宝,魏为添,刘岸,等. 三氧化二砷对胰腺癌 BXPC-3 细胞移植瘤的体内抑制作用[J]. 中草药,2010,41(1):90-93.

[2] 梁道明,陈嘉勇,张毅,等. 人生长激素对人胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 成都医学院学报,2010,5(2):101-104.

[3] Tacke J, Bolder U, Herrmann A, et al. Longterm risk of gastrointestinal tumor recurrence after postoperative

=实验组 A 值/对照组 A 值 $\times 100\%$ 。

2 结 果

2 周,各组人胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响情况比较见表 1。实验结果显示,2 周后,与对照组相比,TSA 组和 rhGH+TSA 组的肿瘤质量、PI 及 S 期下降率明显优于对照组,AI、 G_0/G_1 期及 G_2M 期上升率明显优于对照组($P<0.05$),但 TSA 组与 rhGH+TSA 组以及对照组与 rhGH 组间的各项指标差异无统计学意义($P>0.05$)。

treatment with recombinant human growth hormone[J]. JPEN,2000,24(3):140-144.

[4] 陆贝,蔡阳,封光华,等. 全胃切除术后早期联合应用免疫增强型肠内营养与重组人生长激素的前瞻性研究[J]. 中华胃肠外科杂志,2007,10(6):550-554.

[5] Perboni S, Bowers C, Kojima S, et al. Growth hormone releasing peptide reverses anorexia associated with chemotherapy with 5-fluorouracil in colon cancer cell bearing mice[J]. World J Gastroenterol,2008,14(41):6303-6305.

[6] Renehan AG, Brennan BM. Acromegaly, growth hormone and cancer risk [J]. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab,2008,22(4):639-657.

[7] 陆晔斌,孙维佳,王志明,等. 胰腺癌组织中 HIF-1 α 与 P-gp、GST- π 的表达及其临床意义[J]. 中国普通外科杂志,2010,19(3):307-310.

[8] Rezende AC, Vieira AS, Rcgório F, et al. Effects of systemic administration of ciliary neurotrophic factor on Bax and Bcl-2 proteins in the lumbar spinal cord of neonatal rats after sciatic nerve transection[J]. Braz J Med Biol Res,2008,41(11):1024-1028.

[9] Biolo G, Iscra F, Bosutti A, et al. Growth hormone decreases muscle glutamine production and stimulates protein synthesis in hypercatabolic patients[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab,2000,279(2):E323-E332.

[10] Magistrelli P, Coppola R, Tonini G, et al. Apoptotic index or a combination of Bax/Bcl-2 expression correlate with survival after resection of pancreatic adenocarcinoma[J]. J Cell Biochem,2006,97(1):98-108.

[11] 汪理,周伟,张景辉,等. TSA 抑制人胰腺癌 PANC1 细胞生长的实验研究[J]. 中国普通外科杂志,2010,19(3):234-238.