

## 基础研究

## 索拉非尼联合热疗对肝癌 HepG-2 细胞中 Bax、Bcl-2 表达的影响

肖广显, 丁素银, 程英俊, 李青山, 丁素静

**[摘要]** 目的 探讨索拉非尼联合热疗对人肝癌 HepG-2 细胞株中 Bax 及 Bcl-2 蛋白表达的影响。方法 将实验细胞分为 4 组: 对照组(正常培养的 HepG-2 细胞)、索拉非尼组(索拉非尼药物浓度为 12  $\mu\text{mol/L}$ )、热疗组(加热温度为 43 $^{\circ}\text{C}$ , 加热时间为 2 h) 及索拉非尼联合热疗组。用免疫组织化学染色法观察各组人肝癌 HepG-2 细胞株中 Bax 及 Bcl-2 的表达情况。结果 肝癌 HepG-2 细胞 Bax 表达于胞浆和(或)胞膜, Bcl-2 主要表达于胞膜, 均呈棕黄色弥漫状分布; 索拉非尼及热疗均使人肝癌 HepG-2 细胞中 Bax 蛋白的表达有所增加( $P < 0.01$ ), 且均使 Bcl-2 蛋白的表达有所降低( $P < 0.01$ ), 与索拉非尼组及热疗组比较, 索拉非尼联合热疗组 Bax 蛋白的表达明显增加( $P < 0.01$ )、Bcl-2 蛋白的表达明显降低( $P < 0.01$ )。结论 索拉非尼联合热疗通过增加人肝癌 HepG-2 细胞中 Bax 蛋白的表达和降低 Bcl-2 蛋白的表达协同诱导肝癌细胞凋亡, 可能成为治疗肝癌的新方法。

**[关键词]** 肝肿瘤; HepG-2 细胞; 索拉非尼; 透热疗法; 基因, Bcl-2; 基因, Bax; 基因表达调控, 肿瘤

**[中国图书资料分类号]** R735.7 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-140X(2011)05-0001-04

### Effect on Bax and Bcl-2 Proteins Expression on Human Hepatocellular Carcinoma Cells Line HepG-2 by the Treatment of Sorafenib Combined with Hyperthermia

XIAO Guang-xian<sup>1</sup>, DING Su-yin<sup>2</sup>, CHENG Ying-jun<sup>2</sup>, LI Qing-shan<sup>3</sup>, DING Su-jing<sup>2</sup> (1. Department of Emergency, the 252<sup>nd</sup> Hospital of PLA, Baoding, Hebei 071000, China; 2. Department of Oncology, Baoding Hengxing Integrated Traditional and Western Medicine Hospital, Baoding, Hebei 071000, China; 3. Department of Chemo-radiotherapy for Tumor, Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde, Hebei 067000, China)

**[Abstract]** **Objective** To observe the effect on Bax and Bcl-2 proteins expression on human hepatocellular carcinoma HepG-2 cells by the treatment of Sorafenib combined with hyperthermia. **Methods** The HepG-2 cells were divided into 4 groups: control group (normal cultured HepG-2 cells), Sorafenib group (concentration of 12  $\mu\text{mol/L}$ ), hyperthermia group (43 $^{\circ}\text{C}$ , 2 h) and Sorafenib combined with hyperthermia group. Bax and Bcl-2 proteins expression on HepG-2 cells was examined with immunohistochemistry technique. **Results** Bax was expressed on cytoplasm and (or) envelope, Bcl-2 was expressed on Bcl-2, and both were buffy and asystematic. The levels of Bax proteins were lower in Sorafenib group and hyperthermia group when compared with those in the control group, and the levels of Bcl-2 proteins were lower in Sorafenib group and hyperthermia group when compared with those in the control group, and the differences were significant ( $P < 0.01$ ). Compared with those of Sorafenib group and hyperthermia group, Bax proteins increased in Sorafenib combined with hyperthermia group, but Bcl-2 proteins were lower ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** Sorafenib combined with hyperthermia may increase the expression of Bax and the decrease the expression of Bcl-2 proteins and induce HepG-2 cells into apoptosis. It is a new approach in the treatment of primary liver cancer.

**[Key words]** Liver neoplasm; HepG-2 cell; Sorafenib; Diathermy; Gene; Bcl-2; Gene, Bax; Gene expression regulation, neoplastic

肝癌是我国常见恶性肿瘤之一,病理分型 90% 为肝细胞型肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC),在各种恶性肿瘤的死亡顺位中居第 2 位,全世界每年因肝癌死亡 20 多万人。大多数肝癌患者就诊时已属中晚期,中位生存期(MST)仅有 3~6 个月。因此,如何进一步提高患者的生存率成为目前临床研究的重要课题。索

拉非尼(Sorafenib)是一种口服的多靶点、多激酶抑制剂,既可通过抑制血管内皮生长因子受体(VEGFR)和血小板源性生长因子受体(PDGFR)阻断肿瘤血管生成,又可阻断 Ras/Raf/MEK/ERK 信号传导通路抑制肿瘤细胞增殖,从而发挥双重抑制、多靶点阻断作用。热疗(hyperthermia)是继手术、化疗、放疗和生物治疗后出现的第 5 种肿瘤治疗方法<sup>[1]</sup>,不同类型的肿瘤细胞对加热的敏感性及其可能的分子生物学机制是值得研究和探讨的课题。本研究重点探讨索拉非尼联合热疗对人肝癌 HepG-2 细胞株中 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响,以寻求肝癌治疗的新方法。

作者单位:071000 河北保定,解放军 252 医院急诊外科(肖广显);071000 河北保定,保定恒兴中西医结合医院肿瘤内科(丁素银、程英俊、丁素静);067000 河北承德,承德医学院附属医院肿瘤放疗科(李青山)

## 1 材料与方法

**1.1 试剂与仪器** 细胞选用人肝癌 HepG-2 细胞(南京凯基生物科技发展有限公司),在 37℃、5%的 CO<sub>2</sub> 电热恒温培养箱(日本 SANYO 公司)中培养,培养基含 10% 新生牛血清(北京元亨圣马生物技术研究所) RPMI1640(GIBCOBRL 公司)和含 1% 双抗(青霉素和链霉素)。索拉非尼(德国拜耳公司)用 100% DMSO 溶解,于 -20℃ 保存。MTT 购于华美生物技术有限公司,Bcl-2 单克隆鼠抗人及 Bax 单克隆鼠抗人购于北京中杉金桥生物技术有限公司。DAB 显色试剂盒及即用型快速免疫组化 MaxVision™ 均购于福州迈新生物技术开发有限公司。加热容器为 HWSY21-K4C 电热恒温水箱(北京市长风仪器仪表公司)。

**1.2 实验分组** 实验细胞采用随机对照原则分为 4 组:对照组(正常培养的 HepG-2 细胞)、索拉非尼组(索拉非尼药物浓度为 12 μmol/L)、热疗组(加热温度为 43℃,加热时间为 2 h)及索拉非尼联合热疗组(索拉非尼药物浓度为 12 μmol/L;加热温度为 43℃,加热时间为 2 h)。

**1.3 方法** Bax 和 Bcl-2 蛋白表达采用 Histostain TM-SP(链霉卵白素-辣根过氧化物酶)免疫组化法测定。具体步骤如下:①制作细胞爬片:取对数生长期的肝癌 HepG-2 细胞,消化离心后以密度为  $2 \times 10^4$ /ml 接种于事先放好小盖玻片的培养皿内,每片 0.8 ml。设置 8 个培养皿,每个里面放置 5 片小玻片。分为上述 4 组,每组 2 个培养皿。②处理方法:培养 24 h 后吸弃原培养液,对照组加正常培养液培养细胞 72 h;索拉非尼组加入含索拉非尼培养液,药物浓度为 12 μmol/L,加药后继续培养 72 h;热疗组仍用原培养液培养,培养至 64 h 时给予加热,加热温度为 43℃,加热时间为 2 h,加热后继续培养 6 h;索拉非尼联合热疗组加入含索拉非尼培养液,药物浓度为 12 μmol/L,培养至 64 h 时给予加热,加热温度为 43℃,加热时间为 2 h,加热后继续培养 6 h。③细胞免疫组化玻片制作:取出细胞爬片用甲醇固定 10 min。PBS 洗 5 min × 3 次,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-甲醇室温孵育 10 min 消除内源性过氧化氢酶的活性,PBS 洗 5 min × 3 次;置于 0.01% 枸橼酸盐缓冲液(pH = 6.0)中,微波炉抗原修复 5 min;PBS 洗 5 min × 3 次;滴加非免疫血清封闭液,室温湿盒内孵育 20 min,封闭非特异性抗原;滴加抗体:倾去血清后直接滴加 1: 80 的 Bcl-2 一抗或 1: 100 的 Bax 一抗 50 μl,使其完全覆盖细胞,于 4℃ 下过夜;PBS 洗 5 min × 3 次,滴加 50 μl 即用型 MaxVision™ 试剂,室温下孵育 10 ~ 15 min;PBS 洗 5 min × 3 次,DAB 显色:每片滴加 DAB 100 μl,显微镜下观察 3 ~ 5 min,至阳性显色明显时用自来水冲洗,终止显色。复染:用苏木素复染约 1 min,自来水充分冲

洗。70%、80%、90%、95%、100%、100% 梯度酒精脱水。二甲苯透明、中性树胶封片。

**1.4 结果判定** 免疫细胞化学染色中以已知胃癌阳性组织切片为阳性对照,各组均以 PBS 代替一抗作阴性对照。呈棕黄色颗粒,其强度大于背景非特异性染色者判定为阳性标准。Bcl-2 表达于胞膜,Bax 表达于胞浆。Bcl-2 和 Bax 在胞质中呈棕黄色阳性表达;以细胞未着色或轻微着色为阴性。免疫细胞化学染色结果根据阳性细胞百分比及着色强度进行综合分析:①阳性细胞百分比:随机选取 5 个高倍镜视野(×400),计数 100 个细胞中的阳性细胞数并计分,<5% (0 分),5% ~ 25% (1 分),25% ~ 50% (2 分),50% ~ 75% (3 分),>75% (4 分)。②着色程度:阴性为未着色(0 分),弱阳性呈淡黄色(1 分),中等阳性呈黄色或深黄色(2 分),强阳性呈褐色或棕褐色(3 分)。以阳性细胞率和染色强度分值的乘积作为每一例的积分<sup>[2]</sup>。

**1.5 统计学分析** 所有数据资料采用 SPSS 11.5 统计软件进行统计处理,以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。进行单因素方差分析,组间变量比较采用 *q* 检验。选取 4 组结果进行 2 × 2 析因设计的方差分析,分析索拉非尼与热疗两种处理因素之间是否存在交互作用。 $\alpha = 0.05$  为检验水准。

## 2 结果

**2.1 Bax、Bcl-2 蛋白在肝癌 HepG-2 细胞中的分布** 免疫组化结果表明,肝癌 HepG-2 细胞 Bax 表达于胞浆和(或)胞膜,呈棕黄色,弥漫状分布(图 1 ~ 4 见插 1);肝癌 HepG-2 细胞 Bcl-2 蛋白的表达主要在胞膜,呈棕黄色弥漫状分布(图 5 ~ 8 见插 1)。

### 2.2 Bax、Bcl-2 蛋白在肝癌 HepG-2 细胞中的表达

**2.2.1 Bax 蛋白在肝癌 HepG-2 细胞中的表达:** 对照组、索拉非尼组、热疗组和索拉非尼联合热疗组染色阳性的 HepG-2 细胞 Bax 蛋白阳性表达积分分别为  $1.15 \pm 0.37$ 、 $3.40 \pm 0.94$ 、 $3.80 \pm 0.62$ 、 $8.85 \pm 0.67$ 。后 3 组与对照组比较,细胞 Bax 蛋白表达均增加,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),索拉非尼联合热疗组与索拉非尼组和热疗组比较,Bax 蛋白表达增加更明显,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

**2.2.2 Bcl-2 蛋白在肝癌 HepG-2 细胞中的表达:** 对照组、索拉非尼组、热疗组和索拉非尼联合热疗组染色阳性的 HepG-2 细胞 Bcl-2 蛋白阳性表达积分分别为  $10.24 \pm 0.47$ 、 $3.21 \pm 0.64$ 、 $3.43 \pm 0.72$ 、 $1.21 \pm 0.40$ 。后 3 组与对照组比较,细胞 Bcl-2 蛋白表达均降低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),索拉非尼联合热疗组与索拉非尼组和热疗组比较,Bcl-2 蛋白表达降低更明显,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。

### 3 讨论

在欧美国家,肝癌是第5位常见的恶性肿瘤<sup>[3]</sup>。由于乙型肝炎病毒(HBV)感染、丙型肝炎病毒(HCV)感染、黄曲霉毒素、饮水污染、酒精、肝硬化、性激素、亚硝胺类物质和环境污染等问题,我国已成为全球肝癌发病率、绝对数和病死率最高的国家<sup>[4]</sup>。

索拉非尼是 Bayer 和 ONYX 公司共同研制的一种多靶点的生物靶向新药。临床前研究和临床试验显示索拉非尼具有广泛的抗肿瘤作用,同时索拉非尼也是首个获准上市的口服多激酶抑制剂,能靶向作用于肿瘤细胞、肿瘤血管丝氨酸和(或)苏氨酸及受体酪氨酸激酶。索拉非尼具有抑制肿瘤细胞增殖和血管形成的双重抗肿瘤作用,一方面索拉非尼能抑制 RAF 激酶,即通过抑制 Ras/Raf/MEK/ERK 信号传导途径直接抑制肿瘤细胞的增殖;另一方面索拉非尼能够阻断几种与肿瘤新生血管形成有关的酪氨酸受体的活化,这些受体包括血管内皮生长因子受体-2 (VEGFR-2), VEGFR-3, 血小板衍生的生长因子受体- $\beta$  (PDGFR- $\beta$ ) 和 c-KIT 原癌基因, FIt3, p38- $\alpha$ <sup>[5]</sup>, 从而阻断肿瘤新生血管形成和切断肿瘤细胞的营养供应,间接抑制肿瘤细胞的生长,起到抗肿瘤的作用。根据 Abou Alfa 等<sup>[6]</sup>的II期临床试验结果,美国食品药品监督管理局(FDA)于2005年5月批准其为治疗肝癌的“孤儿药”。由于在临床研究中取得的突破性进展,2007年10月欧盟药品监督管理局(EMA)、2007年11月FDA以及2008年6月我国食品药品监督管理局(SFDA)相继批准了索拉非尼用于治疗不能手术切除的HCC。

热疗是用加热方式治疗肿瘤的一种方法,即利用有关物理能量在组织中沉淀而产生的热效应,使肿瘤组织温度上升到有效治疗温度,并维持一段时间使癌细胞凋亡,又不损伤正常细胞<sup>[7-8]</sup>。自1866年Busch第一次发现热效应与癌症之间的关系以来,热疗已成为较普遍的一种治疗手段<sup>[9]</sup>。热疗的抗癌机制是:①病理形态的特征致肿瘤组织血流速度慢、血流量低,仅为正常组织的1%~10%,进行热疗时正常组织有良好的血液循环可充分散热,所以温度升高不甚明显,而肿瘤组织局部温度高于邻近正常组织5~10℃。当这种热疗产生的选择性加热作用使得肿瘤细胞处于杀伤温度时,正常组织仍处于较低温度而不受损伤。②高热引起的肿瘤组织即时性代谢反应导致其血流量更加减少,热量更加聚集并伴pH值降低,氧及能量缺乏,从而引起肿瘤细胞的损伤。③影响生物膜的状态和功能。高热时膜脂质及蛋白质共同发生变化,膜通透性增加、低分子蛋白质外溢、膜内ATP酶消失,增加了对细胞的杀伤效应。④改变细胞骨架的排列。高热时肿瘤骨架散乱,细胞的许多重要功能受损,如溶酶体、线粒体破

坏,导致细胞死亡。⑤高热抑制肿瘤细胞的DNA、RNA及蛋白质的合成<sup>[10]</sup>。体外研究表明热疗通常存在一个临界温度,在临界温度以下诱导细胞凋亡为热作用的主要机制,而临界温度以上则主要引起细胞坏死。

细胞凋亡与某些凋亡相关基因的调节与表达有关,凋亡基因和抗凋亡基因的相互协调作用决定了凋亡的启动或抑制。Beerheide等<sup>[11]</sup>的研究显示,肝癌组织中的Bax蛋白表达水平和Bax/Bcl-2比值均明显低于正常组织。Bcl-2和Bax基因是目前研究最多的一对细胞凋亡调节基因。Bcl-2为凋亡抑制基因,其产物主要定位于细胞质膜,如线粒体膜、核膜、内质网膜,不影响细胞增殖,而是作为抑制剂调节细胞的凋亡,可抑制各种生理和病理刺激引起的细胞凋亡。Bax是近年来新发现的凋亡促进基因,Bax基因不但拮抗Bcl-2的凋亡抑制作用,而且有直接促进细胞凋亡的功能<sup>[12]</sup>。近年的研究显示,Bcl-2与Bax调节细胞凋亡,不仅取决于自身表达的高低,还与Bax/Bcl-2比值有关,Bax/Bcl-2升高,细胞接受凋亡信号刺激发生凋亡;Bax/Bcl-2降低则细胞不凋亡<sup>[13-14]</sup>。因此,Bax/Bcl-2在细胞内的表达率是决定细胞在体内受到某种刺激后发生凋亡的一个重要因素<sup>[15-16]</sup>。在多数HCC中Bcl-2高表达,其阳性率明显高于癌前组织,且HCC分化程度越低,Bcl-2表达越高<sup>[17]</sup>。本实验结果显示,索拉非尼组、热疗组、索拉非尼联合热疗组与对照组相比,细胞Bax蛋白表达增加,Bcl-2蛋白表达降低,说明索拉非尼与热疗二者单独或联合应用时均能增加HepG-2细胞Bax蛋白的表达而降低Bcl-2蛋白的表达。索拉非尼联合热疗组与索拉非尼组和热疗组相比,Bax蛋白表达增加更明显,Bcl-2蛋白表达降低更明显。

本研究表明了体外索拉非尼联合热疗具有明显的协同抗肿瘤效果,目前国内外尚未见对热疗联合分子靶向药物作用的研究。因此,对该方面进行深入、广泛的研究具有重要的临床意义。

#### [参考文献]

- [1] 张小润,徐伟,袁彬.热疗联合腹腔灌注化疗治疗晚期消化道肿瘤27例临床分析[J].中国煤炭工业医学杂志,2010,13(2):216-217.
- [2] Lo Muzio L, Staibano S, Pannone G, et al. Expression of the apoptosis inhibitor surviving in aggressive squamous cell carcinoma [J]. *Exp Mol pathol*, 2001,70(3):249-254
- [3] 储大同.当代肿瘤内科治疗方案评价[M].3版.北京:北京大学医学出版社,2010:178-189.
- [4] 孙燕,赵平.临床肿瘤学进展[M].北京:中国协和医科大学出版社,2005:613-691.
- [5] Strumberg D, Richly H, Hilger R A, et al. Phase I clinical and pharmacokinetic study of the novel Raf kinase and vascular endothelial growth factor receptor inhibitor BAY 43-9006 in patients with advanced refractory solid tumors[J]. *J*

- Clin Oncol, 2005,23(5):965-972.
- [6] Abou Alfa G K, Schwartz L, Ricci S, *et al.* Rphase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma[J]. J Clin Oncol, 2006,24(26):4293-4300.
- [7] 韩春红,于忠和. 恶性肿瘤射频热疗 171 例护理体会[J]. 临床误诊误治,2010,23(7):691.
- [8] 韩大跃,张晨,隋欣,等. 榄香烯联合高频热疗治疗晚期肿瘤骨转移疼痛的疗效观察[J]. 临床军医杂志,2011,39(2):398-399.
- [9] Hjertaker B T, Froystein T, Schem B C. A thermometry system for quality assurance and documentation of whole body hyperthermia procedures [J]. Int J Hyperthermia, 2005,21(1):45-55.
- [10] Hildebrandt B, Wust P, Ahlers O, *et al.* The cellular and molecular basis of hyperthermia [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2002,43(1):33-56.
- [11] Beerheide W, Tan Y J, Teng E, *et al.* Downregulation of proapoptotic proteins Bax and Bcl-X(S) in p53 overexpressing hepatocellular carcinomas [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000,273(1):54-61.
- [12] Oltvai Z N, Milliman C L, Korsmeyer S J. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death [J]. Cell, 1993,74(4):609-619.
- [13] 赵士福,蔡文琴. 脑缺血过程中 B 细胞淋巴瘤-2 基因家族基因的表达及与细胞死亡的关系 [J]. 解剖学报,1998,29(2):119-123.
- [14] Choi J A, Park M T, Kang C M, *et al.* Opposite effects of Ha-Ras and Ki-Ras on radiation-induced apoptosis via differential activation of PI3K/Akt and Rac/p38 mitogen-activated protein kinase signaling pathways [J]. Oncogene, 2004,23(1):9-20.
- [15] Kagedal K, Johansson A C, Johansson U, *et al.* Lysosomal membrane permeabilization during apoptosis involvement of Bax? [J]. Int J Exp Pathol, 2005,86(5):309-321.
- [16] Schenka A A, Miller S, Fourni J J, *et al.* CD4 + T cells downregulate Bcl-2 in germinal centers [J]. J Clin Immunol, 2005,25(3):224-229.
- [17] Guo X Z, Shao X D, Liu M P, *et al.* Effect of bax, bcl-2 and bcl-xL on regulating apoptosis in tissues of normal liver and hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2002,8(6):1059-1062.

(收稿时间:2011-07-20 修回时间:2011-08-20)

## 快速冷冻切片制备方法的改进及结果观察

牛晓东,李艳霞

**[摘要]** 目的 探讨快速冷冻切片技术改进方法在病理诊断中的应用价值。方法 对我院 2010 年手术切除的乳腺、甲状腺、子宫、喉、脑组织等 600 例新鲜组织标本,采用医用耦合剂包埋,恒温式冰冻切片机制片,苏木素加热伊红快速染色后封片观察。结果 此方法制片时间约 8 min,镜下组织结构和组织切面完整,细胞形态清晰,染色佳,组织无冰晶形成及碎裂。结论 该方法简便快速,冷冻切片质量好,可为快速准确地进行病理诊断提供保证。

**[关键词]** 冷冻切片;组织包埋;染色与标记

**[中国图书资料分类号]** R774.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-140X(2011)05-0004-02

### Improvement and Observation of Quick Frozen Sections Preparation

NIU Xiao-dong, LI Yan-xia (Department of Pathology, the 251<sup>st</sup> Hospital of PLA, Zhangjiakou, Hebei 075000, China)

**[Abstract]** **Objective** To discuss the application value of improvement methods of quick frozen sections preparation in the pathological diagnosis. **Methods** 600 tissues of mammary glands, thyroid gland, uterus, larynx and brain selected in surgery during 2010 were observed using medical coupling agent, constant temperature type frozen section machine slice, fast staining of heating haematoxylin and eosin and sealing. **Results** The production time was 8 min, microscopical organization structure and slice organization were complete, cells form was clear-cut and dyeing was perfect, and there was no crystallization and cleft. **Conclusion** This method is simple, quick frozen sections are of good quality and can provide pathological diagnosis quickly and accurately.

**[Key words]** Frozen section; Tissue embedding; Staining and labeling

冷冻切片是借助低温恒冷条件,使组织迅速冻结达到一定硬度进行切片的一种方法。冷冻切片的质量直接影响病理报告的准确性<sup>[1]</sup>。由于各种组织结构不

同,故适宜的切片条件也有所不同,尤其是组织冷冻程度较难把握<sup>[2]</sup>,因此,能否一次制成优质冷冻切片是极其重要的。我们对组织包埋剂及染色方法做了改进,既缩短了染色时间,又不影响切片质量,现介绍如下。

### 1 材料与与方法

**1.1 材料和设备** 选用我院 2010 年手术切除的乳腺、

## 索拉非尼联合热疗对肝癌HepG-2细胞中Bax、Bcl-2表达的影响

(正文见1页)

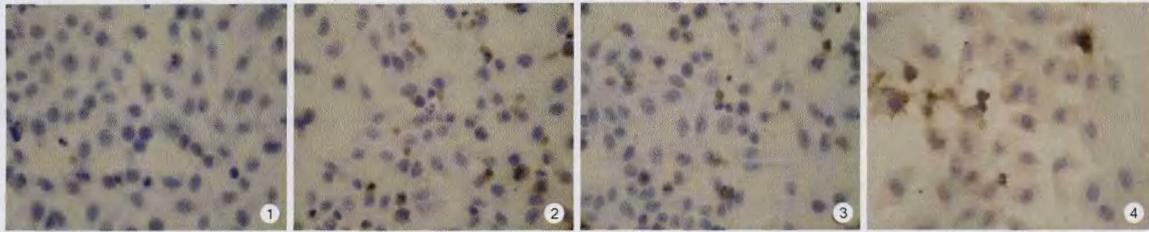


图1 Bax在肝癌HepG-2细胞对照组的表达 SP×400 图2 Bax在肝癌HepG-2细胞热疗组的表达 SP×400 图3 Bax在肝癌HepG-2细胞索拉非尼组的表达 SP×400 图4 Bax在肝癌HepG-2细胞索拉非尼联合热疗组的表达 SP×400

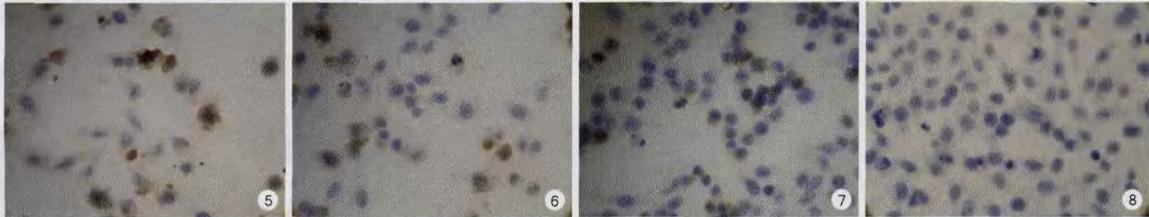


图5 Bcl-2在肝癌HepG-2细胞对照组的表达 SP×400 图6 Bcl-2在肝癌HepG-2细胞热疗组的表达 SP×400 图7 Bcl-2在肝癌HepG-2细胞索拉非尼组的表达 SP×400 图8 Bcl-2在肝癌HepG-2细胞索拉非尼联合热疗组的表达 SP×400

## 快速冷冻切片制备方法的改进及结果观察

(正文见4页)

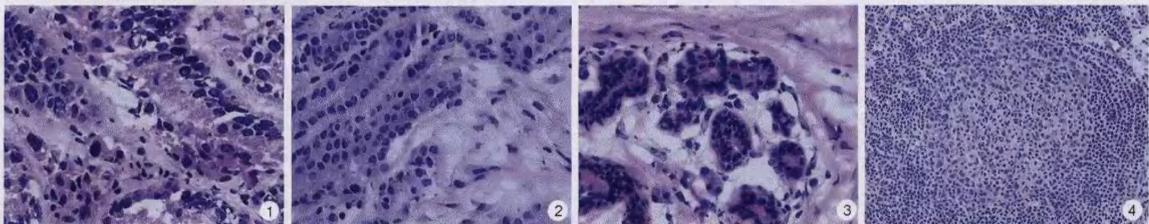


图1 胆管腺癌: 细胞核染色清晰, 核浆对比鲜明 HE×200 图2 甲状腺乳头状癌: 细胞核染色均一、清晰, 核浆对比鲜明 HE×200 图3 乳腺腺病: 乳腺小叶清晰可见, 细胞核染色清晰, 核浆对比鲜明 HE×200 图4 淋巴结反应性增生: 淋巴滤泡清晰可见, 细胞核染色均一、清晰 HE×100

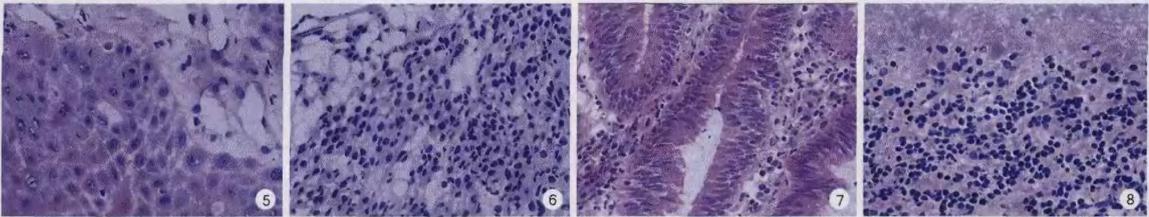


图5 喉鳞癌组织: 细胞核染色清晰, 核浆对比鲜明, 细胞间桥清晰可见 HE×200 图6 子宫平滑肌瘤: 细胞核染色清晰, 核浆对比鲜明 HE×200 图7 直肠腺瘤: 细胞核染色清晰, 核浆对比鲜明 HE×200 图8 小脑组织: 细胞核染色均一、清晰, 核浆对比鲜明 HE×200

## 切开复位带线锚钉内固定治疗内踝骨折11例临床体会

(正文见22页)

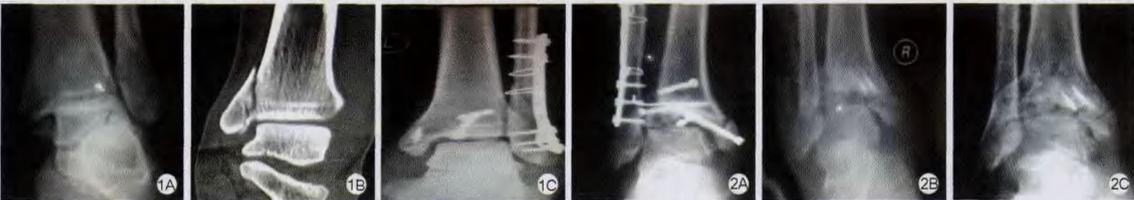


图1 男, 25岁。交通伤后3 d入院。A、B.入院后摄X线片(A)及CT(B)提示左内踝骨折; C.切开复位带线锚钉内固定术后复查X线片示骨折解剖复位。 图2 男, 32岁。右内踝骨折术后2年, 诊断: 右内踝骨折术后并骨不连。A.入院后摄X线片示右内踝骨不连; B.切开复位带线锚钉内固定术后复查X线片示骨折复位; C.术后6个月复查X线片示骨折愈合良好, 大量骨痂生长。

## 原发性阑尾乳头状腺癌一例

(正文见8页)

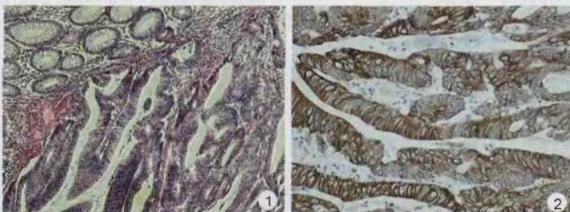


图1 肿瘤细胞呈乳头状生长, 与周围正常黏膜腺体有移行性 HE×100 图2 肿瘤细胞CK免疫组化染色阳性 Elivision Plus×200

## 先天性右冠状动脉缺如一例

(正文见53页)



图1 CT冠状动脉成像显示, 升主动脉扩张, 右冠状动脉未显影, 左冠状动脉开口无异常, 回旋支冗长。 图2 CT冠状动脉成像显示左旋支延伸至右冠状窦附近。