

## ·论 著·

## 大肠癌噬菌体抗体库的构建及初步鉴定

南清振<sup>1</sup> 高 蕾<sup>2</sup> 肖 冰<sup>1</sup> 杨希山<sup>1</sup> 张振书<sup>1</sup>

**【摘要】**目的 构建及初步鉴定大肠癌噬菌体抗体 Fab 呈现库。方法 分离大肠癌患者外周血淋巴细胞,提取淋巴细胞总 RNA,逆转录成 cDNA。用相应引物进行 PCR,扩增出轻链和重链 Fd 段基因,经酶切后分别和噬粒载体 pComb3 连接,再经电穿孔转化大肠杆菌 XL1-Blue 菌株,将轻链和重链 Fd 基因先后克隆入 pComb3 中。结果 从分离出的淋巴细胞中提取到高质量 RNA,RT-PCR 分别扩增出约 680 bp 大小的  $\kappa$ 、 $\lambda$  和 Fd 基因。PCR 产物和载体经纯化、双酶切后进行连接转化,成功地构建了人源性 Fab 抗体基因库,库容量达  $2.1 \times 10^7$ ,轻链  $\kappa$ 、 $\lambda$  和重链 Fd 基因均插入 pComb3 的重组率为 50%。结论 构建了大肠癌患者自然致敏抗体 Fab 段噬菌体呈现库,为筛选大肠癌相关抗体打下基础。

**【关键词】** 大肠癌;噬菌体抗体库;Fab 抗体

**Construction and identification of the phage display antibody library of human colorectal cancer** NAN Qing-zhen<sup>1</sup>, GAO Le<sup>2</sup>, XIAO Bing<sup>1</sup>, et al. 1 Institute of Digestive Diseases of Nanfang Hospital, South Medical University, Guangzhou 510515, China; 2 Department of Imaging, the Second Affiliated Hospital, Guangzhou, University of TCM, Guangzhou 510120, China

**【Abstract】Objective** To construct and to identify the Fab phage display antibody library of the colorectal cancer. **Methods** Total cell RNA extracted from peripheral lymphocytes of a colorectal cancer patient was reverse-transcribed into cDNA. The light chain gene and the heavy chain Fd gene were amplified by PCR using relevant primers, the amplification products and the expression vector pComb3 were ligated with T4 DNA ligase after had been cut with an excess of the restriction enzymes. Following ligation, they were transformed by electroporation into Escherichia coli XL1-Blue, and the light chain genes and the heavy chain Fd gene were inserted successively into the expression vector pComb3, respectively. **Results** The amplified fragments of  $\kappa$ ,  $\lambda$  and Fd genes by RT-PCR were about 680 bp. The amplification products and the expression vector pComb3 were ligated and were transformed by electroporation after purification, and were cut with the restriction enzymes. A human library of Fab antibodies was constructed, with the size being  $2.1 \times 10^7$ . Recombination ratio of 50% was got, and the  $\kappa$ ,  $\lambda$  and Fd genes were all inserted. **Conclusion** A natural immune Fab antibody phage display library of human colorectal cancer was constructed. Which may be useful for screening the related antibodies for colorectal cancer.

**【Keywords】** Colorectal cancer; Phage antibody library; Fab antibodies

随着 90 年代噬菌体抗体库技术的发展,人们能够绕开细胞杂交瘤技术,直接从基因水平制备特异性单链抗体,由此开创了简便、快速生产基因工程抗体的先河,这被认为是继杂交瘤技术后抗体生产技术的又一次革命<sup>[1,2]</sup>。该技术是将 Fab 分子表达在单链噬菌体的表面,把表型(与抗原特异性结合)和基因型(含有 Fab 段基因)联接起来,即把识别抗原的能力和进行再扩增的能力结合在一起,模拟生物体

内 B 淋巴细胞的某些特性——识别与扩增的统一,可通过“吸附-洗脱-扩增”筛选出特异性抗体,形成极为高效的筛选体系,使单抗的制备产生了突破性进展。该技术的问世,将恶性肿瘤的免疫治疗又向前推进了一步。

本研究旨在构建人大肠癌自然致敏抗体 Fab 段噬菌体呈现库,为筛选大肠癌相关抗体奠定基础。

## 材料和方法

## 一、材料

1. 噬粒、菌株、细胞及主要试剂  
表达噬粒载体 pComb3、大肠杆菌菌株 XL1-

作者单位:1 510515 南方医科大学南方医院消化内科;  
2 510120 广州中医药大学第二附属医院影像科  
通讯作者:张振书,020-61641546

Blue和辅助噬菌体 VCSM 13 为本研究室保存。淋巴细胞分离液来自天津血液研究所,总 RNA 提取试剂盒为 invitrogen 产品,逆转录试剂盒为 Promega 公司产品,Taq 酶及 PCR 缓冲液为 TaKaRa 公司产品,DNA 凝胶纯化回收试剂盒为 TaKaRa 公司产品,各种限制性内切酶为 Promega 产品。LB、SB、SOC 培养基配置参照文献<sup>[1]</sup>。

2. PCR 引物

引物设计参照文献<sup>[2]</sup>,由上海生物工程有限公司合成。

序列如下:

人重链可变区 5'端引物:

- VH1a 5'-CAG GTG CAG CTC GAG CAG TCT GGG-3'
- VH1f 5'-CAG GTG CAG CTG CTC GAG TCT GGG-3'
- VH2f 5'-CAG GTG CAG CTA CTC GAG TCG GG-3'
- VH3a 5'-GAG GTG CAG CTC GAG GAG TCT GGG-3'
- VH3f 5'-GAG GTG CAG CTG CTC GAG TCT GGG-3'
- VH4f 5'-CAG GTG CAG CTG CTC GAG TCG GG-3'
- VH4gs 5'-CAG GTG CAG CTA CTC GAG TGG GGC-3'
- VH6a 5'-CAG GTA CAG CTC GAG CAG TCA GG-3'
- VH6f 5'-CAG GTA CAG CTG CTC GAG TCA GGT CCA-3'

人重链  $\gamma 1$  保守区 3'端引物:

CGIz 5'-GCA TGT ACT AGT TTT GTC ACA AGA TTT GGG-3'

人  $\kappa$  轻链可变区 5'端引物:

- VK1a 5'-GAC ATC GAG CTC ACC CAG TCT CCA-3'
- VK1s 5'-GAC ATC GAG CTC ACC CAG TCT CC-3'
- VK2a 5'-GAT ATT GAG CTC ACT CAG TCT CCA-3'
- VK3a 5'-GAA ATT GAG CTC ACG CAG TCT CCA-3'
- VK3b 5'-GAA ATT GAG CTC ACA CAG TCT CCA-3'

人  $\kappa$  轻链保守区 3'端引物:

CK1d 5'-GCG CCG TCT AGA ATT AAC ACT CTC CCC TGT GA AGC TCT TTG TGA CGG GCG AAC TCA G-3'

人  $\lambda$  轻链可变区 5'端引物:

- VL1 5'-AAT TTT GAG CTC ACT CAG CCC CAC-3'
- VL2 5'-TCT GCC GAG CTC CAG CCT GCC TCC GTG-3'
- VL3 5'-TCT GTG GAG CTC CAG CCG CCC TCA GTG-3'
- VL3' 5'-TCC TAT GAG CTC ACT CAG CCA CCC-3'
- VL4 5'-TCT GAA GAG CTC CAG GAC CCT GTT GTG TCT GTG-3'
- VL5 5'-CAG TCT GAG CTC ACG CAG CCG CCC-3'

- VL6 5'-CAG ACT GAG CTC ACT CAG GAG CCC-3'
- VL7 5'-CAG GTT GAG CTC ACT CAA CCG CCC-3'
- VL8 5'-CAG GCT GAG CTC ACT CAG CCG TCT TCC-3'
- VL9 5'-CAG TAT GAG CTC ACT CAG CCT CCC-3'
- VL1b/s 5'-CAG TCT GAG CTC ACT CAG CCA CC-3'

人  $\lambda$  轻链保守区 3'端引物:

CL2 5'-CG CCG TCT AGA ATT ATG AAC ATT CTG TAG G-3'

划线处为限制性内切酶识别位点。

CTC GAG 为内切酶 Xho I 识别位点;ACT AGT 为内切酶 Spe I 识别位点;GAG CTC 为内切酶 Sac I 识别位点;TCT AGA 为内切酶 Xba I 识别位点。

二、方法

1. 标本制备、总 RNA 提取和 cDNA 的合成

抽取大肠癌患者的外周血 20 ml,用淋巴细胞分离液常规分离 PBMC,然后按试剂盒说明进行总 RNA 的提取,检测其完整性和纯度。

2. RT-PCR 反应

采用逆转录试剂盒。反应体积为 25  $\mu$ l,取淋巴细胞总 RNA 4  $\mu$ g,加入 0.5  $\mu$ g Oligo (dt),40 U RNA 酶抑制剂,2  $\mu$ l 250  $\mu$ mol/L dNTPs,40 U AMV 逆转录酶。于 42  $^{\circ}$ C 60 min,95  $^{\circ}$ C 5 min,合成单链 cDNA。然后进行 PCR 反应,反应体积各为 100  $\mu$ l。取上述合成的单链 cDNA 2  $\mu$ l 分别加入与  $\kappa$ 、 $\lambda$  轻链和重链 Fd 段分别配对的引物各 50 pmol/L,dNTPs 200  $\mu$ mol/L,10  $\times$  Taq 酶缓冲液 10  $\mu$ l,Taq 酶 5 U。循环参数为 93  $^{\circ}$ C 45 s,52  $^{\circ}$ C 60 s,72  $^{\circ}$ C 90 s,共 35 个循环。PCR 产物行 1%琼脂糖凝胶电泳分离后纯化回收。

3. 轻链表达载体的构建

纯化的  $\kappa$ 、 $\lambda$  轻链 PCR 产物与 pComb3 分别以适量 Xba I 及 Sac I 双酶切后仍经 1%琼脂糖凝胶电泳分离后纯化回收。回收的 PCR 产物等量混均后与线性 pComb3 连接,连接反应体系中线性 pComb3 与轻链 PCR 产物的 mol 比为 1:3,T4 DNA 连接酶 9 U,总体积 50  $\mu$ l,16  $^{\circ}$ C 反应 15 h。连接反应产物以 Promega DNA 纯化试剂盒纯化。电穿孔(25 kV,200  $\Omega$ ,25  $\mu$ F)转化大肠杆菌 XL1-Blue 后置 5 ml SOC 培养液中。37  $^{\circ}$ C 下振荡培养(250 rpm)1 h,加入预温的 SB 10 ml(含 20 ml/L Amp 和 10 mg/L Tet),混匀后即取出 10、1、0.1  $\mu$ l 铺在 LB 平板(含 50 mg/L

Amp及 10 mg/L Tet)上,37 °C过夜,测定转化率。余继续振荡培养 1 h 后调 Amp 浓度至 50 mg/L,再振荡培养 1 h,并入 100 ml SB (含 50 mg/L Amp、10 mg/L Tet),37 °C振荡培养(250 rpm)。从过夜培育的细菌中提取质粒,即得带轻链插段的 pComb3,即轻链表达载体。

#### 4. 抗体 Fab 段表达载体的构建(噬菌体抗体呈现库的构建)

将 PCR 扩增的重链 Fd 段基因和轻链重组质粒分别以 XhoI/SpeI 双酶切,按前法进行连接、转化、细菌扩增及转化子测定。在加入 100 ml SB 振荡 3 h 后,加入  $10^{12}$  pfu 的辅助噬菌体 VCSM 13,再培养 2 h 后,加卡那霉素至 70 mg/L,37 °C振荡过夜。次晨 4 °C,4 000 g 离心 15 min,向上清中加入固体聚乙二醇(PEG8000)及 NaCl,两者终浓度分别为 40 g/L 和 30 g/L,溶解后冰浴 30 min,4 °C,9 000 g 离心 20 min 弃上清,以 2 ml 10 g/L 牛血清白蛋白 Tris 缓冲液(BSA TBS)悬浮噬菌体沉淀,14 000 g 离心 5 min 以除去残留细菌碎片。上清加叠氮钠( $\text{NaN}_3$ )至 0.2 g/L,即得 Fab 噬菌体呈现原始库。

#### 5. Fab 段表达载体的酶切鉴定

重链 Fd 段 PCR 产物和轻链重组质粒,同时经双酶切后进行连接,取电转化后少量细菌经适当稀释后铺板,计算出转化率后随机挑取 10 个菌落,扩增后提取质粒,分别用 XhoI/SpeI 及 Sac I/Xba I 进行双酶切,鉴定其重组率。

## 结 果

### 一、淋巴细胞的分离及总 RNA 的提取

常规淋巴细胞分离后计数,20 ml 外周血共分离出  $2 \times 10^7$  个淋巴细胞。淋巴细胞提取的总 RNA,经碱变性琼脂糖凝胶电泳,可见 RNA 完整,纯度(A260/A280)为 1.94。

### 二、RT-PCR 扩增出轻链和重链

将上述提取的总 RNA 逆转录合成单链 cDNA 后作为模板,PCR 扩增抗体 Fab 段  $\kappa$ 、 $\lambda$  轻链和重链 Fd 段的基因。可见除 VL7 未扩出条带外,其余均可扩增出约 680 bp 产物条带,与预期长度相符,从而获得人抗体 Fab 段  $\kappa$ 、 $\lambda$  轻链和重链 Fd 段的基因片段(见图 1)。

### 三、轻链表达载体的构建及插入效率测定

将扩增出约 680 bp 纯化后的  $\kappa$ 、 $\lambda$  轻链 PCR 产物重组入 pComb3,用纯化的连接产物转化感受态 XL1-Blue 细胞,取 15 ml 重组菌液中的 10、1、0.1

$\mu\text{l}$  分别铺带有 Amp 和 Tet 抗性的 LB 培养板。结果以 0.1  $\mu\text{l}$  转化细菌菌液所铺 LB 培养板上计数菌落有 268 个,则转化子数 =  $15(\text{ml}) \times 1\ 000 \times 268/0.1(\mu\text{l}) = 4.02 \times 10^7$ 。挑 10 个单菌落提取质粒,分别用 Sac I/Xba I 进行双酶切,测定插入效率。可见其中 8 个质粒中有 680 bp 的片段切出,即相应质粒中含有  $\kappa$ 、 $\lambda$  轻链基因,重组效率为 80%,实际轻链表达载体基因库的库容量为  $4.02 \times 10^7 \times 80\% = 3.216 \times 10^7$ 。

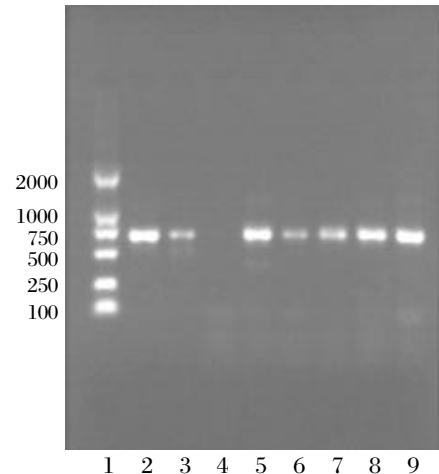


图 1 RT-PCR 扩增轻链和重链可变区基因。从左到右:1:2000Markers;2、3: $\kappa$  轻链 VK1a,VK3b;4、5、6、7: $\lambda$  轻链 VL7,VL1,VL4,VL8;8、9:重链 Fd 段 VH1a,VH4gs。可见除  $\lambda$  轻链 VL7 外,余引物均可扩增出 680 bp 大小的基因产物。

### 四、抗体 Fab 段表达载体的构建(噬菌体抗体呈现库的构建)及插入效率测定

将 PCR 扩增的重链 Fd 段基因重组入轻链重组质粒中的相应位点,得到抗体 Fab 段基因库。同上述法,测定转化子数为  $2.1 \times 10^7$ 。挑 10 个单菌落提取质粒,分别用 XhoI/SpeI 及 Sac I/Xba I 进行双酶切,鉴定其重组率。可见 7 个质粒有约 680 bp 的重链 Fd 段基因片段切出;8 个质粒中有约 680 bp 的  $\kappa$ 、 $\lambda$  轻链基因片段切出;5 个质粒均可切出轻重链基因片段(见图 2)。实际抗体 Fab 段表达载体基因库中均有轻重链基因的容量为  $2.1 \times 10^7 \times 50\% = 1.05 \times 10^7$ 。

## 讨 论

自 70 年代 Kohler 和 Milstein 利用细胞融合技术成功制备了杂交瘤单克隆抗体(McAb),其在疾病的预防、诊治和蛋白质提纯等方面显示出了重要作用,然在体内的应用则有诸多限制<sup>[9]</sup>。随着基因工程技术和抗体分子遗传学的深入研究,诞生出新型抗体-基因工程抗体,其中抗体库技术则是构建、表

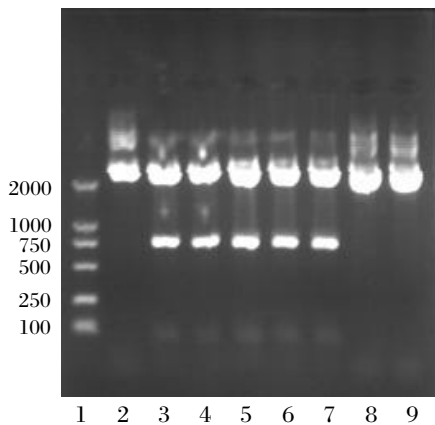


图2 双酶切鉴定重组体。从左到右:1:2000markers;2:对照未酶切质粒;3、4、8:用 Xho I 及 Spe I 双酶切各单重组质粒;5、6、7、9:用 Xba I 及 Sac I 双酶切各单重组质粒。可见3、4、5、6、7有680 bp的片段切出,说明其为阳性重组体;8、9未见有基因片段切出,说明为阴性重组体。

达基因工程抗体的研究热点<sup>[4]</sup>。建立在 PCR 技术和噬菌体表面呈现技术 (phage display) 上的噬菌体抗体库 (phage antibody library) 技术<sup>[5-7]</sup>, 有效地解决了鼠源性抗体应用于人体后产生的人抗鼠抗体 (HAMA) 反应<sup>[8]</sup>。利用该技术制备的多为小分子抗体片段, 分子量小、穿透性强、抗原性低, 可在原核系统表达以及易于基因工程操作, 并且可通过基因突变或链更替等技术对所获抗体进行改造, 制备出高亲和力的抗体; 便于与酶、毒素、T 细胞受体区域和白介素等融合, 构建成各种双功能抗体和碱性磷酸酶融合表达而成酶标抗体, 便于免疫检测; 携带放射性核素或细胞毒性药物, 进行导向诊断和治疗<sup>[5-10]</sup>。

自 90 年代初噬菌体抗体库技术出现以来, 使人们得以从应用 DNA 重组技术改造现有的单抗发展到利用基因工程技术克隆新的抗体分子, 抗体工程进入了一个全新的时期, 在感染性疾病的诊治、自身免疫性疾病与病毒性疾病的鉴别、肿瘤的影像分析和导向治疗或基因治疗, 抗原表位分析以指导疫苗分子的设计、新型药物设计、蛋白分子免疫识别机制的研究等多个领域显示出巨大的潜能和广阔的应用前景<sup>[9-12]</sup>。

从构建的自然抗体库中不仅可以筛选出许多针对外源抗原 (如 BSA、卵清溶菌酶、牛甲状腺球蛋白等) 的噬菌体抗体, 还可筛选出针对许多自身抗原 (如 TNF $\alpha$ 、CEA、CD4、黏蛋白、甲状腺球蛋白等) 的噬菌体抗体<sup>[13,14]</sup>。在所筛选的噬菌体抗体中, 不少具有较高的亲和力和特异性, 有着潜在的实用价值。

我们经 RT-PCR, 从大肠癌患者外周血淋巴细

胞中扩增出抗体重链 Fd 及  $\kappa$ 、 $\lambda$  轻链基因, 其大小约 680 bp。以大肠癌患者外周血淋巴细胞为研究对象, 理论上讲, 经肿瘤抗原免疫, B 细胞抗体中轻链基因已经特异拼接和重排, 因此建立的人源性抗体库筛选抗体的目的性强。采用这种方法既可免去制备免疫性抗原和免疫小鼠的繁琐, 又能克服杂交瘤融合率低、抗原弱、稳定性差、抗体产量低及抗体为异源性的缺点。

目前所知的与大肠癌相关的抗体不仅有限, 而且特异性不高。选择噬菌体表面呈现技术构建人源性大肠癌抗体库, 并据此筛选出高亲和力、高特异性抗大肠癌相关抗原的抗体, 可对大肠癌进行诊断、治疗和预后判断。本研究成功构建了人大肠癌自然致敏抗体 Fab 段噬菌体呈现库, 为进一步研究打下了坚实的基础。

#### 参考文献

- Clackson T, Hoogenboom HR, Griffiths AD, et al. Making antibody fragments using phage display libraries. *Nature* 1991;352:624-628.
- Siegel DL, Chang TY, Russell SL, et al. Isolation of cell surface-specific human monoclonal antibodies using phage display and magnetically-activated cell sorting: applications in immunohematology. *J Immunol Methods* 1997;206:73-85.
- Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* 1975;256:495-497.
- Smith GP. Filamentous fusion phage: novel expression vectors that display cloned antigens on the virion surface. *Science* 1985;228:1315-1317.
- Son JH, Lee UH, Lee JJ, et al. Humanization of agonistic anti-human 4-1BB monoclonal antibody using a phage-displayed combinatorial library. *J Immunol Methods* 2004;286:187-201.
- Smith R, Turner IH, Hollenhorst M, et al. Localized expression of an anti-TNF single-chain antibody prevents development of collagen-induced arthritis. *Gene Ther* 2003;10:1248-1257.
- Zhang MY, Shu Y, Phogat S, et al. Broadly cross-reactive HIV neutralizing human monoclonal antibody Fab selected by sequential antigen panning of a phage display library. *J Immunol Methods* 2003;283:17-25.
- Sharifi J, Khawli LA, Hu P, et al. Characterization of a phage display-derived human monoclonal antibody (NHS76) counterpart to chimeric TNT-1 directed against necrotic regions of solid tumors. *Hybrid Hybridomics* 2001;20:305-312.
- Becerril B, Poul MA, Marks JD. Toward selection of internalizing antibodies from phage libraries. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;255:386-393.
- DeNardo DG, Xiong CY, Shi XB, et al. Anti-HLA-DR/anti-DOTA diabody construction in a modular gene design platform: bispecific antibodies for pretargeted radioimmunotherapy. *Cancer Biother Radiopharm* 2001;16:525-535.

- 11 Kelly KA, Jones DA. Isolation of a colon tumor specific binding peptide using phage display selection. *Neoplasia* 2003;5:437-444.
- 12 Brekke OH, Løset GA. New technologies in therapeutic antibody development. *Curr Opin Pharmacol* 2003;3:544-550.
- 13 Topping KP, Hough VC, Monson JR, et al. Isolation of human colorectal tumour reactive antibodies using phage display technology. *Int J Oncol* 2000;16:187-195.
- 14 Paus E, Almåsbak H, Børmer OP, et al. A single-chain-Fv-based immunofluorometric assay specific for the CEA variant NCA-2. *J Immunol Methods* 2003;283:125-139.

(收稿日期:2007-11-06)

(本文编辑:刘思德)

## ·短篇报道·

# 氩离子凝固术治疗 Barrett 食管 36 例

梁冬生

Barrett食管(BE)是指内镜下发现并被病理组织学证实为胃食管连接处(GEJ)以上出现的鳞状上皮被伴肠化生(即含杯状细胞)的柱状上皮所替代的现象<sup>[1]</sup>。BE是胃食管反流病的常见并发症之一,欧美报告反流性食管炎中BE检出率为10%~15%,国内报道BE的检出率为2.21%<sup>[2]</sup>。BE治疗的目的在于消除和逆转BE的肠化,在国内,内镜下黏膜切除术、激光治疗、光动力治疗、射频治疗、氩离子凝固治疗(APC)等均有报道,但病例数尚少。我院于2005年9月至2007年9月对36例确诊为BE患者行APC治疗,效果满意,现报告如下。

### 一、资料及方法

#### 1. BE的定义及分型

镜检下发现GEJ以上的异常黏膜组织取活检后病理发现含有特殊肠化生的柱状上皮存在。若SGJ(鳞-柱细胞连接处)与GEJ间距 $\geq 3$ cm为长段BE,若 $< 3$ cm为短段BE。依肠化黏膜的镜下形态分为环型、舌型及岛型。

#### 2. 组织活检

诊断及复查均采用靶向活检法<sup>[3]</sup>。即先于疑为BE病变的食管下段予0.5%亚甲蓝喷洒染色,亚甲蓝能使肠化上皮蓝染而鳞状上皮及胃黏膜不着色,依据着色区域大小取活检3~6块,病理发现含有杯状细胞之特殊肠化生的柱状上皮者,定为BE,治疗后复查时无着色区者,可于治疗前内镜所描述BE区域,岛状及舌状者每隔1cm取检1块,环状者行四相限取检。

#### 3. 病例资料

依上述标准共选取病例36例,年龄32~69岁,其中,男29例,女7例,长段BE15例,短段BE21例,岛型16例,舌型17例,环型3例。治疗前分别有上腹痛、反酸、烧心、吞咽不适等症状。

#### 4. 治疗方法

检查及治疗胃镜均使用OlympusCF-Q260AI型,氩气高频电刀为山东玉华公司AG9800型,术前准备同普通胃镜常规检查。进镜至食管下段后用清水冲洗并吸干视野,设置氩气流量为2L/min,功率50W,经内镜钳道插入APC治疗探头,探头伸出镜外1cm以上,以防损伤内镜CCD,在病灶上方0.3~0.5cm处以每次1~3s的时间施予APC至病灶凝固成焦黄或焦黑色,凝固范围应覆盖病灶边缘1cm以外。

术后处理及随访:术后2日冷流质饮食,口服洛赛克20mg, bid, 4周后复查胃镜并于前次胃镜所示病灶处取活检送病理,此后分别于第3、6、12个月复查并取活检,若病理检查发现复发即再行APC治疗。

### 二、结果

#### 1. 疗效

共治疗36例,其中28例治疗1次,5例治疗2次,3例治疗3次后BE消除,临床症状消失。16例已完成4次复查,11例已完成3次复查,6例完成2次复查,3例完成1次复查后仍有BE未继续治疗失访,为舌状BE。3例经第2次复查仍有BE而再行APC治疗,再经2次复查未见复发,均为环型BE。总有效率为91.6%。

#### 2. 不良反应

不良反应轻微,10例出现胸骨后痛,经口服洛赛克2~7天后消失。

### 三、讨论

对BE是否需干预治疗意见不一,基于BE属癌前病变,我们认为有效地干预治疗对预防食管下段腺癌的发生实属必要。BE的治疗目的为消除肠化的柱状上皮以逆转其潜在的恶化倾向,人为造成BE黏膜再损伤后,在无酸环境下再生的鳞状上皮发生肠化的概率很低,已证实APC能有效地损毁BE黏膜并诱导鳞状上皮再生<sup>[4]</sup>。APC为一种非接触性凝固治疗方法,高频电能通过电离的氩离子流传送到病灶组织表面使其形成一定深度(2~3mm)的热凝固变性,又由于氩