

中文題目: 幽門螺旋桿菌引起食道鱗狀上皮細胞癌細胞株而非胃腺癌細胞株之凋亡

英文題目: *Helicobacter pylori* induces apoptosis in a esophageal squamous cell carcinoma cell line but not gastric adenocarcinoma cell line

作者: 吳孟杰¹ 吳宜珍^{1,2} 吳明蒼³ 陳玉桂² 陳和瑟^{4,5} 郭富珍^{3,6,7} 吳登強^{1,5,8}

盧建宇^{1,9*}

服務單位:高雄醫學大學附設醫院 胃腸內科¹

高雄醫學大學 醫學研究所² 職業安全衛生研究所³ 健康科學院⁸

中山大學 生醫所⁴

中山大學-高雄醫學大學跨校研究中心⁵

義大醫院 婦產部⁶

義守大學 醫學院健康管理學系⁷

行政院衛生署立屏東醫院內科⁹

前言: 近年來的研究大多發現幽門螺旋桿菌的存在與食道腺癌的發生呈負相關，但其與鱗狀上皮細胞癌的關係尚無定論，我們之前的流行病學研究發現二者間也存在著負相關[1]，但尚無理論解釋其中機轉。本研究的目的是在檢驗幽門螺旋桿菌是否可直接引起食道鱗狀上皮細胞癌細胞的凋亡，藉此提出一個假說。

材料和方法: 我們將一食道鱗狀上皮細胞癌細胞株(CE 81T/VGH)與幽門螺旋桿菌共同培養，並用一胃腺癌細胞株(AGS)作為對照。在二種細胞株中分別加了感染倍數(multiplicity of infection; MOI*)為 0、1/400 及 1/100 的幽門螺旋桿菌並培養 36 小時後，先用 Annexin-V-FITC 及 propidium iodide (PI) 染色，並用流式細胞儀(flow cytometry)加上 E4win-ESP 分析軟體來計算來檢驗細胞凋亡的比率。

Annexin-V-FITC 接合在早期凋亡細胞的磷脂外膜，PI 則可接合上所有凋亡或壞死(necrotic)的細胞。為進一步證實此現象的可信性，我們也用染色法觀察正常細胞和凋亡細胞的形態及加了幽門螺旋桿菌前後凋亡細胞的出現比率，Terminal transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) 染色物質可接合凋亡細胞的 DNA 片段(fragmentation)，同時加入的 4,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) 可將細胞核中的 DNA 染色以利觀察。另外，我們也用西方墨點法(Western immunoblot)來偵測細胞凋亡過程中常被活化的一中介物 Caspase-3 的表現是否上升。

結果和結論: 上述三種方法均發現在加了感染倍數為 1/100 的幽門螺旋桿菌並培養 36 小時後，CE 81T/VGH 而非 AGS 細胞株出現明顯的凋亡現象。純凋亡(Annexin-V-FITC 陽性而 PI 陰性)的 CE 81T/VGH 細胞由未加菌前的 0.95% 上升到 14.05%。同條件下，染色法也明顯看出 CE 81T/VGH 的凋亡細胞核呈 TUNEL 陽性，西方墨點法也出現活化的 caspase-3。但在 AGS 細胞或只加感染倍數為 1/400 的 CE 81T/VGH 細胞均維持不變。此三項實驗結果均經過三重覆實驗加以證實。我們發現幽門螺旋桿菌確實可引起食道鱗狀上皮細胞癌細胞的凋亡，此現象可為流行病學上二者間的負相關提供一種可能的機轉，但仍需要後續動物實驗等提供更有力的證明。

* 當幽門螺旋桿菌與細胞以 1:100 的倍率共同培養時，感染倍數 MOI 即為 1/100

參考文獻:

1. Wu, D.C., Wu, I.C. et al., *Helicobacter pylori* infection: a protective factor for esophageal squamous cell carcinoma in a Taiwanese population. *Am J Gastroenterol*, 2005. **100**(3): p. 588-93.