

# 抑制 gankyrin 的表达对肝癌细胞系 HepG2 增殖的影响

杨诏旭, 窦科峰, 路凡, 卢兹凡, 赵忠良

杨诏旭, 窦科峰, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科  
陕西省西安市 710032  
路凡, 卢兹凡, 赵忠良, 中国人民解放军第四军医大学基础部分子生物学教研室 陕西省西安市 710032  
杨诏旭, 男, 1976-06-27 生, 山东省青岛市人, 汉族, 2002 年第四军医大学外科学硕士, 2002 年西京医院肝胆外科博士生。  
通讯作者: 窦科峰, 710032, 陕西省西安市, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科。yzxlc@163.com  
电话: 029-82500093  
收稿日期: 2005-02-14 接受日期: 2005-03-03

## Effects of suppressing gankyrin expression on proliferation of human hepatocellular carcinoma cell line HepG2

Zhao-Xu Yang, Ke-Feng Dou, Fan Lu, Zi-Fan Lu, Zhong-Liang Zhao

Zhao-Xu Yang, Ke-Feng Dou, Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China  
Fan Lu, Zi-Fan Lu, Zhong-Liang Zhao, Department of Biochemistry and Molecular Biology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China.  
Correspondence to: Ke-Feng Dou, Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, Shaanxi Province, China. yzxlc@163.com  
Received: 2005-02-14 Accepted: 2005-03-03

### Abstract

**AIM:** To explore the effect of suppressing gankyrin expression using RNA interference (RNAi) technique on the proliferation and cell cycle of hepatocellular carcinoma cell line HepG2.

**METHODS:** HepG2 cell line stably expressing shRNA targeted at gankyrin gene was established. The gankyrin expression was assessed by Western blotting analysis. Cell growth was evaluated by cell counting and MTT assay, and cell cycle was analyzed by flow cytometry.

**RESULTS:** The growth of HepG2 cells was inhibited significantly by suppressing the expression of gankyrin. Compared with the cells transfected with control plasmid, the number of the gankyrin-suppressed cells was much lower (d6:  $24.4 \times 10^3 \pm 5.2 \times 10^3$  vs  $123.3 \times 10^3 \pm 2.8 \times 10^3$ ,  $P < 0.05$ ). MTT assay showed cell proliferation was decreased (144 h:  $7.53 \pm 0.50$  vs  $16.30 \pm 0.38$ ,  $P < 0.05$ ), flow cytometric analysis demonstrated that the cell cycle was stuck at G1 phase (G1:  $71.63 \pm 3.60\%$  vs  $52.57 \pm 2.82\%$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Suppression of the expression of gankyrin in HepG2 cells leads to cell proliferation inhibition and cell cycle arrest. RNAi-mediated inhibition of gankyrin may be a useful therapeutic approach for human hepatocellular carcinoma.

**Key Words:** Gankyrin; RNA interference; Hepatocellular carcinoma

Yang ZX, Dou KF, Lu F, Lu ZF, Zhao ZL. Effects of suppressing gankyrin expression on proliferation of human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(8):988-992

### 摘要

**目的:** 探索通过 RNA 干扰技术抑制 gankyrin 的表达对肝癌细胞系 HepG2 增殖及细胞周期的影响。

**方法:** 建立稳定表达靶向 gankyrin 的 shRNA 的 HepG2 细胞系。通过 Western blotting 验证基因表达的抑制效果。采用细胞计数及 MTT 法检测细胞的增殖能力。流式细胞仪分析细胞周期。

**结果:** 抑制 gankyrin 基因的表达显著抑制了 HepG2 细胞的生长, 与转染阴性对照 shRNA 质粒细胞相比, 细胞计数示细胞数目明显减低 (d 6:  $24.4 \times 10^3 \pm 5.2 \times 10^3$  vs  $123.3 \times 10^3 \pm 2.8 \times 10^3$ ,  $P < 0.05$ ), MTT 分析显示细胞增殖率明显下降 (144 h:  $7.53 \pm 0.50$  vs  $16.30 \pm 0.38$ ,  $P < 0.05$ ), 流式细胞分析示细胞周期阻滞在 G1 期 (G1:  $71.63 \pm 3.60\%$  vs  $52.57 \pm 2.82\%$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 在 HepG2 细胞中抑制 gankyrin 的表达可有效抑制细胞生长并导致细胞周期的阻滞。利用 RNA 干扰技术抑制 gankyrin 的表达可能会成为一种有效的肝癌基因治疗手段。

**关键词:** Gankyrin; RNA 干扰; 肝细胞癌

杨诏旭, 窦科峰, 路凡, 卢兹凡, 赵忠良. 抑制 gankyrin 的表达对肝癌细胞系 HepG2 增殖的影响. *世界华人消化杂志* 2005;13(8):988-992  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/988.asp>

### 0 引言

肝细胞癌 (HCC) 是我国最常见的恶性肿瘤之一, 与肝炎病毒的感染以及多种肿瘤相关基因的异常表达密切相关。Gankyrin (癌性锚蛋白重复蛋白, GeneBank

NM-02814) 是近年来发现的癌基因<sup>[1]</sup>, 几乎在所有的肝癌组织中高表达<sup>[1-2]</sup>, 因此他也为我们对肝癌的基因治疗提供了一个潜在的靶点. 我们通过短发夹状RNA (small hairpin RNA, shRNA) 载体 pGenesil-1 (武汉晶赛生物技术公司提供) 携带靶向 gankyrin 的 shRNA 对肝癌细胞系中的 gankyrin 基因进行过 RNA 干扰研究, 发现针对靶序列 (AAGGACCATTATGAGGCTACA, gankyrin cDNA 的第 501-521 个碱基) 的 shRNA 可有效抑制 gankyrin 的表达, 现研究抑制 gankyrin 的表达对 HepG2 细胞增殖及细胞周期的影响.

### 1 材料和方法

1.1 材料 重组质粒 pGensil-1-gankyrin (转录靶向 gankyrin 的 shRNA 序列, 简称 PGG) 及阴性对照质粒 pGensil-1-control (转录与所有人鼠基因均不同源的 shRNA 序列, 简称 PGC) 为本室保存. 载体 pGenesil-1 含抗 G418 的耐药基因, 可在 G418 作用下筛选稳定转染的细胞. 同时携带绿色荧光蛋白 (EGFP) 基因, 可直接在正置荧光显微镜下观察转染效率并挑取成功转染的细胞克隆. 编码 shRNA 的引物序列插入到 *Bam*H I 和 *Hind*III 酶切位点之间, 由 U6 启动子启动转录 (图 1). 阴性对照 PGC 所编码的 shRNA 与所有人鼠基因均不同源 (图 2). Transfast 转染试剂购自 Promega. HepG2 细胞培养于 DMEM (Gibco) 培养基加 100 mL/L 胎牛血清中, 至对数生长期. 将  $1 \times 10^5$  个细胞接种于 24 孔板, 从而使细胞在转染时的汇合率达到 80-90%. 24 h 后按每孔 1  $\mu$ g 质粒分别将 PGG, PGC 质粒转染细胞 (操作按 Transfast 转染试剂盒说明进行). 48 h 后胰酶消化细胞并均匀铺于 24 孔板内. 按终浓度 500 mg/L 加入 G418, 筛选稳定表达 shRNA 的细胞克隆.

#### 1.2 方法

1.2.1 Western blotting 分析 将筛选的细胞克隆扩大培养. 取  $1 \times 10^6$  个细胞加入 100  $\mu$ L 细胞裂解液 (10 mmol/L Tris-HCL pH7.5, 10 g/L Triton X-100, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA PH8.0, 1 mmol/L EGTA,

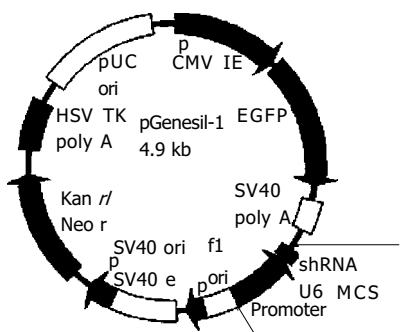


图 1 pGenesil-1 质粒结构. 5' -*Mlu*I | -*Sma*I | -*Hind*III | -*Sph*I | -*Pst*I | -*Sal*I | -*Xba*I | -*Bam*H I | -U6 promoter-*Ecc*R | -*Sal*I | -*Xba*I | -*Dra*III -3'.

5 g/L NP-40, 用前加入 1 mg/L aprotinin, 1 mg/L leupeptin, 1 mg/L pepstatin, 0.2 mmol/L PMSF) 进行裂解. 于冰上裂解 30 min, 所得裂解液, 于 12 000 g, 4 $^{\circ}$ C 离心 10 min. 蛋白定量按 BCA 蛋白定量试剂盒说明书进行. 取上清加入 1/4 体积的 5 $\times$  SDS 蛋白加样缓冲液, 煮沸 10 min. 所得蛋白样品, 经 120 g/L SDS-PAGE 分离后, 电转至硝酸纤维素膜上, 丽春红染色验证蛋白转移成功. 以 5 g/L 的脱脂奶粉封闭 2 h 后, 依次加入兔抗 gankyrin 抗血清 (室温 2 h, TTBS 洗 4 次), 及山羊抗兔 IgG-AP (室温 1 h, TTBS 洗 3 次, TBS 洗 1 次), 最后加入 NBT/BCIP 底物显色.

1.2.2 细胞增殖状况分析 将稳定转染 PGG, PGC 的 HepG2 细胞按  $5 \times 10^3$  个细胞每孔接种于 24 孔板, 每 24 h 取 3 孔, 用胰蛋白酶消化后, 分别进行细胞计数, 取平均值. 连续观察 7 d, 绘制生长曲线, 并按以下公式计算群体倍增时间 (population doubling time, PDT) =  $[\log 2 / (\log N_t - \log N_0)] \times t$ , 其中  $N_0$  和  $N_t$  分别代表接种时和培养  $t$  小时后的细胞数. 分别将上述细胞按  $1 \times 10^3$  个细胞每孔接种于 96 孔板, 分别于培养 6, 48, 96, 144 h 后, 加入 MTT (5 g/L, Sigma) 20  $\mu$ L, 继续培养 4 h, 移除培养液, 加 DMSO 200  $\mu$ L, 充分振荡 10 min, 在酶联免疫检测分析仪上测定吸光度 ( $A_{570nm}$ ). 细胞增殖率 =  $A_{570nm}$  (48, 96, 144 h) /  $A_{570nm}$  (6 h). 以只加培养液不加细胞的空白对照孔调零. 每一个实验点均设 3 组重复.

1.2.3 细胞周期分析 收集  $1 \times 10^6$  个细胞, 用 PBS 洗涤, 置于 4 $^{\circ}$ C 预冷的细胞固定液 (700 mL/L 酒精, 300 mL/L PBS) 中固定并于 4 $^{\circ}$ C 保存. 测量时去除乙醇用碘化丙啶 (PI) 染色, 于流式细胞仪分析细胞周期.

统计学处理 组间比较用 Student's  $t$  检验, 用 SPSS 10.0 进行分析.

### 2 结果

2.1 细胞转染 于 G418 筛选培养约 2-3 wk 后, 稳定转染 PGG 及阴性对照 PGC 质粒的细胞克隆形成. 于荧光正置显微镜下观察, 见部分克隆带绿色荧光, 取之进一步扩大培养 (图 3). Western blotting 结果验证在 PGG 细胞内 gankyrin 的表达被有效抑制 (图 4).

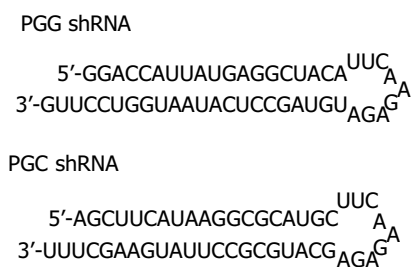


图 2 重组质粒 PGG, PGC 表达的 shRNA.

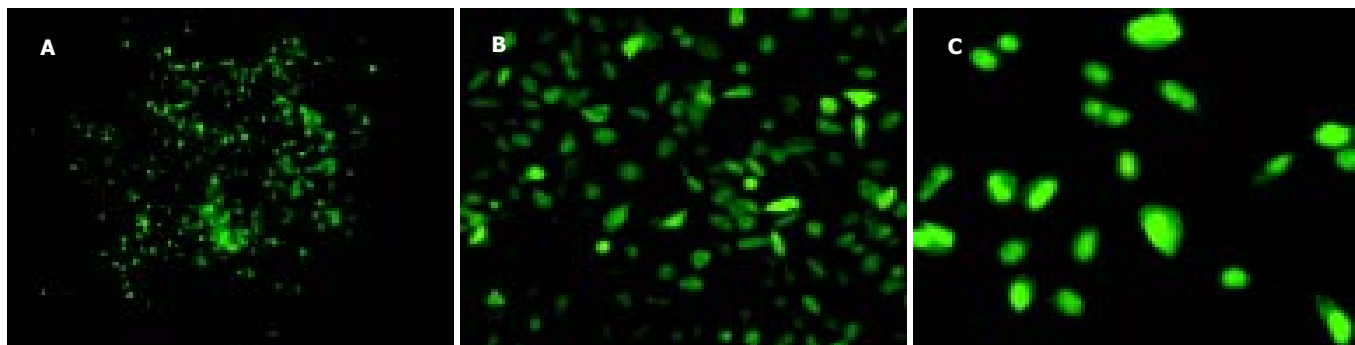


图3 荧光显微镜下观察细胞转染情况. A: 成功转染观察到绿色荧光.  $\times 100$ ; B: 将细胞克隆扩大培养.  $\times 200$ ; C: 将细胞爬片, 倒置荧光显微镜下观察.  $\times 400$ .

2.2 细胞生长特性 PGG 细胞的生长速度明显低于 PGC 细胞, 所绘制的生长曲线明显向右下移动(图 5), 群体倍增时间明显延长(61.05 h vs 28.41 h). MTT 分析结果显示在各个时间点上, PGG 细胞的增值率均明显低于 PGC 细胞(图 6). 二者均提示抑制 gankyrin 的表达引起 HepG2 细胞的生长抑制.

2.3 细胞周期的变化 PGG 细胞的 G1 期明显高于 PGC 细胞(71.63%  $\pm$  3.60% vs 52.57%  $\pm$  2.82%,  $P < 0.05$ ), G2 期(4.33%  $\pm$  1.31% vs 16.03%  $\pm$  1.81%,  $P < 0.05$ ) 及 S 期(24.03%  $\pm$  3.67% vs 31.40%  $\pm$  1.01%,  $P < 0.05$ ) 均明显低于 PGC 细胞. 提示更多的 PGG 细胞被阻滞在 G1 期(图 7).

### 3 讨论

癌基因的过表达被认为与多种肿瘤的发生发展密切相关, 同时也为肿瘤的治疗提供了一个潜在的靶点<sup>[3]</sup>.

RNA 干扰(RNA interference, RNAi)是近年来发展起来的新技术, 相对于传统的反义核酸技术, 对靶基因的抑制作用强、特异性高<sup>[4]</sup>. 而 DNA 载体介导的 shRNA 则可以稳定而持久地抑制靶基因的表达<sup>[5-10]</sup>. 近年来 RNAi 在基因功能、抗肿瘤和抗病毒基因治疗方面均有着广泛的应用<sup>[11-16]</sup>. 虽然发现肿瘤抑制基因 p53 及 p16<sup>INK4A</sup> 等的失活与肝癌的发生关系密切, 但其机制并不清楚, 且并没有发现在肝癌上普遍激活的癌基因<sup>[1, 17]</sup>. 2000 年 Higashitsuji *et al*<sup>[1]</sup> 通过比较肝癌组织与正常肝组织的 cDNA 首次发现在肝癌组织中存在 gankyrin 的过表达. 并分别有实验调查了 34<sup>[1]</sup> 及 64<sup>[2]</sup> 例肝癌患者, 结果 gankyrin 在癌组织中的过表达率分别为 100% (34/34) 及 96.9% (62/64), 而在正常的肝组织中则不存在 gankyrin 的表达<sup>[2]</sup>. 而我们也调查了 3 种肝癌细胞系 HepG2, SMMC-7721, HHCC, 结果显示均存在 gankyrin 的表达. Gankyrin 包含 6 个锚蛋

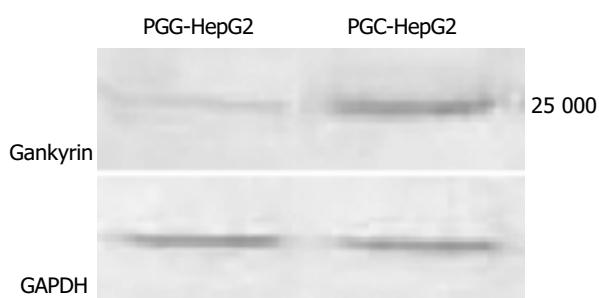


图4 Western blotting 分析.

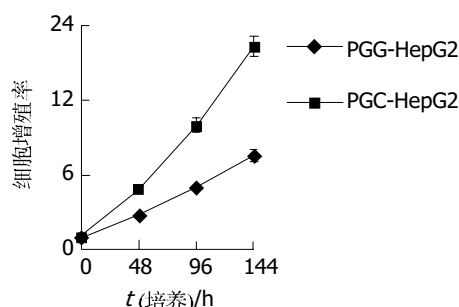


图6 MTT 法测定细胞增殖率.

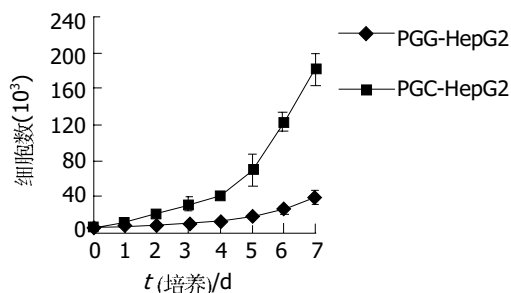


图5 细胞生长曲线.

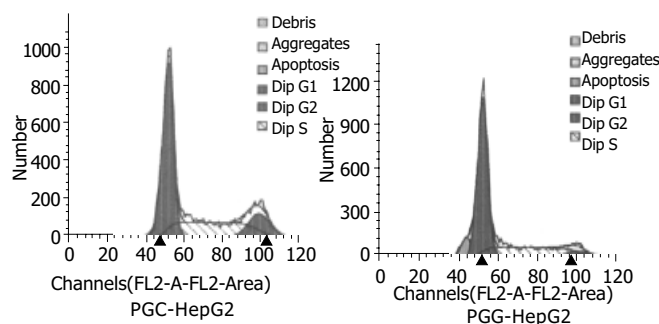


图7 细胞周期分析.

白重复序列, 是一个癌基因, 属于锚蛋白(ankyrin)重复序列家族的成员. 锚蛋白重复序列(ankyrin repeat)是生物体中广泛利用的一种序列模体, 他由数目不等的 ankyrin 串联起来, 形成种类众多但功能各异的 ankyrin 蛋白质分子. 其中 ankyrin 结构域介导蛋白质与蛋白质的相互作用, 他能够和多种配体结合, 实现纷繁复杂的生物功能. Gankyrin 可以与 Rb 蛋白结合, 促使其磷酸化, 降低 Rb 的稳定性, 释放出转录因子 E2F1 的活性, 而 E2F1 则是促使细胞进入增殖周期的重要因子, E2F 与其他一些癌基因共同转染可促进细胞的恶性转变<sup>[1, 17]</sup>. Gankyrin 同时可以与 Cdk4 结合, 对抗 p16<sup>INK4A</sup> 及 p18<sup>INK4C</sup> 对肿瘤生长的抑制作用<sup>[17-22]</sup>. 在一个肝癌形成的动物模型中, 发现从肿瘤发生的最初阶段, 即出现了 gankyrin 的过表达<sup>[23-24]</sup>. 而在爆发性肝坏死后的再生过程中, 也存在 gankyrin 的表达<sup>[25-26]</sup>. 这些结果表明, 在肝癌的发生过程及肝细胞的生长周期调控中, gankyrin 起着重要的作用, 同时也为肝癌的治疗提供了一个潜在的靶点. 利用新兴的 RNA 干涉技术, 如能有效抑制 gankyrin 的表达, 将有可能起到治疗肝癌的作用.

我们采用 shRNA 抑制 gankyrin 的表达. 由于脂质体转染试剂介导的细胞转染相对于病毒效率较低, 可能会影响基因沉默的效果, 所以我们采用稳定转染挑取细胞克隆. 为了防止自身耐药细胞的繁殖影响试验结果, 我们选择 pGenesil-1 作为 shRNA 载体. PGenesil-1 同时含 G418 耐药基因及绿色荧光蛋白(EGFP)基因, 通过可激发的绿色荧光可以直接在正置荧光显微镜下判断转染效率. 且在使用 G418 的同时, 可在直视下判断所形成的细胞克隆是否是成功转染的细胞. 由于有研究认为 siRNA 本身也具有细胞增殖的抑制作用<sup>[27]</sup>, 所以我们选择一段与人鼠基因均不同源的 shRNA 序列作为阴性对照.

我们的结果显示, 抑制 gankyrin 的表达将明显抑制 HepG2 细胞的增殖, 细胞生长曲线明显右移, 群体倍增时间显著延长, 细胞增长率明显降低. 流式细胞分析显示更多的 PGG-HepG2 细胞被阻滞在 G1 期, 由于 gankyrin 的过表达可引起 Rb 的磷酸化, 从而释放 E2F1 的活性, 抑制 gankyrin 的表达可能会使 E2F1 重新被抑制, 这可能是细胞周期变化的机制之一, 进一步的实验应测定 Rb 的磷酸化水平及 E2F1 的活性. 总之, 抑制 gankyrin 的表达可能会成为一种有效的肝癌基因治疗手段. 当然, 进一步应进行相应的体内试验以证明其可行性.

#### 4 参考文献

- Higashitsuji H, Itoh K, Nagao T, Dawson S, Nonoguchi K, Kido T, Mayer RJ, Arii S, Fujita J. Reduced stability of retinoblastoma protein by gankyrin, an oncogenic ankyrin-repeat protein overexpressed in hepatomas. *Nat Med* 2000;6:96-99
- Fu XY, Wang HY, Tan L, Liu SQ, Cao HF, Wu MC. Overexpression of p28/gankyrin in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance. *World J Gastroenterol* 2002;8:638-643
- Malumbres M, Barbacid M. To cycle or not cycle: a critical decision in cancer. *Nat Rev Cancer* 2001;1:222-231
- Bertrand JR, Pottier M, Vekris A, Opolon P, Maksimenko A, Malvy C. Comparison of antisense oligonucleotides and siRNAs in cell culture and in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;296:1000-1004
- Paul CP, Good PD, Winer I, Engelke DR. Effective expression of small interfering RNA in human cells. *Nat Biotechnol* 2002;20:505-508
- Sui G, Soohoo C, Affar el B, Gay F, Shi Y, Forrester WC, Shi Y. A DNA vector-based RNAi technology to suppress gene expression in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99:5515-5520
- McCaffrey AP, Meuse L, Pham TT, Conklin DS, Hannon GJ, Kay MA. RNA interference in adult mice. *Nature* 2002;418:38-39
- Brummelkamp TR, Bernards R, Agami R. A system for stable expression of short interfering RNAs in mammalian cells. *Science* 2002;296:550-553
- Tiscornia G, Singer O, Ikawa M, Verma IM. A general method for gene knockdown in mice by using lentiviral vectors expressing small interfering RNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:1844-1848
- Rubinson DA, Dillon CP, Kwiatkowski AV, Sievers C, Yang L, Kopinja J, Rooney DL, Ihrig MM, McManus MT, Gertler FB, Scott ML, Van Parijs L. A lentivirus-based system to functionally silence genes in primary mammalian cells, stem cells and transgenic mice by RNA interference. *Nat Genet* 2003;33:401-406
- Brummelkamp TR, Bernards R, Agami R. Stable suppression of tumorigenicity by virus-mediated RNA interference. *Cancer Cell* 2002;2:243-247
- Yang ZG, Chen Z, Ni Q, Xu N, Shao JB, Yao HP. Inhibition of hepatitis B virus surface antigen expression by small hairpin RNA in vitro. *World J Gastroenterol* 2005;11:498-502
- Zhang XN, Xiong W, Wang JD, Hu YW, Xiang L, Yuan ZH. SiRNA-mediated inhibition of HBV replication and expression. *World J Gastroenterol* 2004;10:2967-2971
- Ni Q, Chen Z, Yao HP, Yang ZG, Liu KZ, Wu LL. Inhibition of human La protein by RNA interference downregulates hepatitis B virus mRNA in 2. 2. 15 cells. *World J Gastroenterol* 2004;10:2050-2054
- Cheng SQ, Wang WL, Yan W, Li QL, Wang L, Wang WY. Knockdown of survivin gene expression by RNAi induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721. *World J Gastroenterol* 2005;11:756-759
- Jiang M, Rubbi CP, Milner J. Gel-based application of siRNA to human epithelial cancer cells induces RNAi-dependent apoptosis. *Oligonucleotides* 2004;14:239-248
- Nagao T, Higashitsuji H, Nonoguchi K, Sakurai T, Dawson S, Mayer RJ, Itoh K, Fujita J. MAGE-A4 interacts with the liver oncoprotein gankyrin and suppresses its tumorigenic activity. *J Biol Chem* 2003;278:10668-10674
- Dawson S, Apcher S, Mee M, Higashitsuji H, Baker R, Uhle S, Dubiel W, Fujita J, Mayer RJ. Gankyrin is an ankyrin-repeat oncoprotein that interacts with CDK4 kinase and the S6 ATPase of the 26 S proteasome. *J Biol Chem* 2002;277:10893-10902
- Yuan C, Li J, Mahajan A, Poi MJ, Byeon II, Tsai MD. Solution structure of the human oncogenic protein gankyrin containing seven ankyrin repeats and analysis of its structure-function relationship. *Biochemistry* 2004;43:12152-12161
- Krzywda S, Brzozowski AM, Al-Safty R, Welchman R, Dawson S, Fujita J, Higashitsuji H, Mayer RJ, Wilkinson AJ. Crystallization of gankyrin, an oncoprotein that interacts with CDK4

- and the S6b (rpt3) ATPase of the 19S regulator of the 26S proteasome. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 2003;59:1294-1295
- 21 Padmanabhan B, Adachi N, Kataoka K, Horikoshi M. Crystal structure of the homolog of the oncoprotein gankyrin, an interactor of Rb and CDK4/6. *J Biol Chem* 2004;279:1546-1552
- 22 Krzywdka S, Brzozowski AM, Higashitsuji H, Fujita J, Welchman R, Dawson S, Mayer RJ, Wilkinson AJ. The crystal structure of gankyrin, an oncoprotein found in complexes with cyclin-dependent kinase 4, a 19 S proteasomal ATPase regulator, and the tumor suppressors Rb and p53. *J Biol Chem* 2004;279:1541-1545
- 23 Park TJ, Kim HS, Byun KH, Jang JJ, Lee YS, Lim IK. Sequential changes in hepatocarcinogenesis induced by diethylnitrosamine plus thioacetamide in Fischer 344 rats: induction of gankyrin expression in liver fibrosis, pRB degradation in cirrhosis, and methylation of p16(INK4A)exon 1in hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2001;30:138-150
- 24 Lim IK. Spectrum of molecular changes during hepatocarcinogenesis induced by DEN and other chemicals in Fisher 344 male rats [Mechanisms of Ageing and Development 123 (2002) 1665-1680]. *Mech Ageing Dev* 2003;124:697-708
- 25 Iwai A, Marusawa H, Kiuchi T, Higashitsuji H, Tanaka K, Fujita J, Chiba T. Role of a novel oncogenic protein, gankyrin, in hepatocyte proliferation. *J Gastroenterol* 2003;38:751-758
- 26 Qin JM, Fu XY, Li SJ, Liu SQ, Zeng JZ, Qiu XH, Wu MC, Wang HY. Gene and protein expressions of p28/GANK in rat with liver regeneration. *World J Gastroenterol* 2003;9:2523-2527
- 27 Nagy P, Arndt-Jovin DJ, Jovin TM. Small interfering RNAs suppress the expression of endogenous and GFP-fused epidermal growth factor receptor (erbB1)and induce apoptosis in erbB1-overexpressing cells. *Exp Cell Res* 2003;285:39-49

编辑 潘伯荣 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

## WJG 和世界华人消化杂志全文网站免费开通

本刊讯 *World Journal of Gastroenterology* (WJG) 和世界华人消化杂志出版的电子版全文已上传, 于 2003-04-15 开通. WJG 包括: 1995-2004 年 1-12 期及特刊. 世界华人消化杂志包括: 1993-2004 年第 1-5 期及特刊.

### 1 本系统的功能

电子杂志: 关键词搜索, 高级搜索(期刊全名、ISSN、年度、单位、题名、摘要、作者). 高影响力论文排序: 点击次数, 下载次数, 引用次数. 高影响力论文即特别受同行关注, 影响范围广, 被点击次数、下载次数、引用次数多的论文. 一篇论文如果能进入高影响力论文行列, 其研究成果一般多有创新性, 学术水平较高, 学术价值较大, 因而影响力大. 投稿须知包括: 投稿细则, 述评, 研究原著, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告等要求及书写格式.

### 2 网址

WJG (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.asp>)

世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.asp>)

### 3 论文摘要格式

岳茂兴, 邹德威, 闵庆旺, 牛恩喜, 杨善芝, 张坚, 刘志国, 崔少杰, 方伟武, 周雪峰, 高铁山, 化楠. 中国首次载人航天航天员主着陆场区医疗保障及救护. *世界华人消化杂志* 2004年 5月;12(5):1009-1014

中国首次载人航天航天员主着陆场区医疗保障及救护

岳茂兴, 邹德威, 闵庆旺, 牛恩喜, 杨善芝, 张坚, 刘志国, 崔少杰, 方伟武, 周雪峰, 高铁山, 化楠.

100101, 北京市, 中国人民解放军第306医院载人航天主着陆场医疗救护队. [yuemx@ns.cetin.net.cn](mailto:yuemx@ns.cetin.net.cn)

目的: 探讨中国首次载人航天主着陆场区航天员医疗保障及救护的经验体会. 方法: 结合我们参加中国首次载人航天航天员医疗保障及救护的体会, 8次在直升机上的医疗救护演练经验, 2次突发意外事故乘直升机远距离实施医疗救护的体会, 多次在载人航天医疗救护车上的医疗救护演练体会. 并参考国内外相关资料, 对载人航天航天员意外伤害提出有效的防治预案. 结果: 主要针对首飞载人航天航天员可能发生意外伤害的原因, 创新地把一个高质量的ICU全天候前移至草原上、沙漠里, 载体是载人航天医疗救护直升机及医疗救护车, 可以确保意外情况下航天员的安全. 创造了反应速度第一; 技术装备第一. 使救治规则、卫勤保障原则更趋于合理, 抢救成功率更高. 载人航天医疗保障系统在装备、方案、试验等方面能满足安全性的要求. 航天员主着陆场的医疗卫勤保障工作能够体现急救医学“快速反应, 立体救护”的理念. 载人航天医疗救护直升机在航天员的医疗保障及救护中起着十分重要的作用, 他有机动性强、速度快、飞行高度较低的优点, 在草原及沙漠地区都可着落实施救护. 结论: 返回着陆场区的航天员实施快速医疗救护, 能保障航天员安全, 圆满完成载人航天任务.

论文目次

目次网页包括: 岳茂兴, 邹德威, 闵庆旺, 牛恩喜, 杨善芝, 张坚, 刘志国, 崔少杰, 方伟武, 周雪峰, 高铁山, 化楠. 中国首次载人航天航天员主着陆场区医疗保障及救护. *世界华人消化杂志* 2004年 5月;12(5):1009-1014. 功能目次包括: 点击率: 71, 下载率: 9, 引用率: 0, 摘要, 相关文章, 被引用次数, HTML, PDF.

### 4 全文

全文网页包括: 投稿, 摘要, PDF, 被引用, 点击率: 72, 下载率: 9, 相关文章, 相关评论, 图片及参考文献外链接.

### 5 投稿查询

投稿查询网页包括: 编号, 刊名, 题目, 作者, E-mail, 收稿, 送审, 审回, 退稿, 接受, 审稿费, 出版费, 彩色图制作费, 黑白图制作费, 英文摘要加工费, 英文全文加工费, 加急费, 其他, 发票编号, 送修, 修回, 重修, 编辑, 入库, 卷号, 期号, 起止页. (世界胃肠病学杂志 2004-06-15)