

DOI:10.3971/j.issn.1000-8578.2011.09.005

神经酰胺促胃癌 SGC7901 细胞凋亡的实验

刘莹¹,朱祖安²,费素娟²,刘磊¹,孙旻²,张秋月²

Ceramide Promoting Apoptosis of SGC7901 Cell

LIU Ying¹, ZHU Zu-an², FEI Su-juan², LIU Lei¹, SUN Min², ZHANG Qiu-yue²

1. Department of Pathology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, China; 2. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College

Corresponding Author: ZHU Zu-an, E-mail: zuanwudi@yahoo.com.cn

Abstract: Objective To investigate the role of ceramide on apoptosis of human gastric cancer SGC7901 cells and its possible mechanism. **Methods** SGC7901 cells were incubated and treated with the different concentration of ceramide, DDP, DDP in combination with ceramide. Then the inhibitory effect, the apoptosis rate and the expressions of NF- κ B, Bcl-2, Bax were detected by MTT assay, flow cytometry, immunocytochemistry staining and western blot assay. **Results** The proliferation of SGC7901 cells was inhibited by ceramide at the concentration of 2.5 μ mol/L compared with control group ($P < 0.05$). Ceramide in combination with DDP showed significant differences compared with ceramide and DDP group respectively ($P < 0.05$), the q value at 24, 48, 72h was 1.05, 1.01, 0.99 respectively. Ceramide, DDP could induce apoptosis of SGC7901, the apoptosis rate of ceramide 5 μ mol/L, DDP 2.5 mg/L and Ceramide 5 μ mol/L in combination with DDP 2.5 mg/L group were (39.23 \pm 1.62)%, (47.27 \pm 1.13)%, (50.13 \pm 2.76)% respectively, which showed significant difference compared with control group [(18.46 \pm 1.64)%] ($P < 0.05$). Ceramide in combination with DDP showed significant differences compared with ceramide and DDP group respectively ($P < 0.05$). The expressions of NF- κ B, Bcl-2 were strong in SGC7901 [(74.10 \pm 2.69)%, (69.37 \pm 4.54)%], while Bax was weak [(24.60 \pm 3.73)%], the expressions of NF- κ B, Bcl-2 decreased in Ceramide 5 μ mol/L, DDP 2.5 mg/L group and Ceramide 5 μ mol/L in combination with DDP 2.5 mg/L group (65.13 \pm 1.71, 62.17 \pm 2.12, 44.8 \pm 3.65; 57.70 \pm 2.22, 55.13 \pm 5.77, 37.67 \pm 2.14), while Bax increased (33.80 \pm 1.10, 35.50 \pm 2.27, 51.73 \pm 3.76) ($P < 0.05$). The ratio of Bcl-2/Bax decreased after treated with ceramide, DDP and ceramide in combination with DDP. There is positive correlation between the expressions of NF- κ B and Bcl-2 (Spearman's $\rho = 0.9510$, Prob $> |t| = 0.0000$). **Conclusion** Ceramide can induce apoptosis by decreasing the expression of NF- κ B via changing the ratio of Bcl-2/Bax in gastric cancer SGC7901 cells.

Key words: SGC7901 cells; Ceramide; NF- κ B; Bcl-2; Bax

摘要:目的 探讨神经酰胺(Ceramide, Cer)对胃癌 SGC7901 细胞的促凋亡作用及可能作用机制。**方法** 体外培养人胃癌 SGC7901 细胞,分别给予 Cer、顺铂(DDP);DDP 联合 Cer 作用后,MTT 检测单独使用 Cer 及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞增殖的影响,流式细胞仪检测细胞凋亡率,免疫组织化学染色、Western blot 检测 SGC7901 细胞 NF- κ B、Bcl-2、Bax 蛋白表达。**结果** Cer 2.5 μ mol/L 及以上时可以抑制细胞增殖,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。Cer 联合 DDP 后,联合用药作用强于单独 DDP 及 Cer 组($P < 0.05$), q 值在 24、48、72 h 分别为 1.05、1.01、0.99。Cer、DDP 作用 48 h 可诱导 SGC7901 细胞凋亡,Cer 5 μ mol/L、DDP 2.5 mg/L 单独用药组及 Cer 5 μ mol/L 联合 DDP 2.5 mg/L 组凋亡率分别为:(39.23 \pm 1.62)%、(47.27 \pm 1.13)%、(50.13 \pm 2.76)%、与对照组[(18.46 \pm 1.64)%]相比差异有统计学意义($P < 0.05$),联合用药作用强于单独 DDP

及 Cer 组 ($P < 0.05$)。NF- κ B、Bcl-2 在 SGC7901 细胞中较高表达 [(74.10 \pm 2.69)%, (69.37 \pm 4.54)%], Bax 在 SGC7901 细胞中表达较低 [(24.60 \pm 3.73)%], Cer 5 μ mol/L、DDP 2.5 mg/L 单独用药组及 Cer 5 μ mol/L 联合 DDP 2.5 mg/L 组 NF- κ B、Bcl-2 阳性表达率降低 (65.13 \pm 1.71、62.17 \pm 2.12、44.8 \pm 3.65; 57.70 \pm 2.22、55.13 \pm 5.77、

收稿日期:2010-09-30;修回日期:2011-05-20

基金项目:江苏省教育厅自然科学基金资助项目(05KJD320234);徐州医学院肿瘤生物治疗重点实验室开放课题资助项目(C0806);江苏省卫生厅科研课题资助项目(Z201016)

作者单位:1. 221000 江苏徐州,徐州医学院病理学教研室;2. 徐州医学院附属医院消化内科

通信作者:朱祖安, E-mail: zuanwudi@yahoo.com.cn

作者简介:刘莹(1973-),女,硕士,副教授,主要从事肿瘤病理的研究

37.67 ± 2.14), Bax 表达率上调(33.80 ± 1.10, 35.50 ± 2.27, 51.73 ± 3.76), Bcl-2/Bax 比值降低(1.71 ± 0.10, 1.56 ± 0.26, 0.73 ± 0.09), 与对照组相比差别有统计学意义($P < 0.05$), 联合用药作用强于单独 DDP 及 Cer 组($P < 0.05$)。相关性分析显示 NF- κ B 与 Bcl-2 呈正相关(Spearman's rho = 0.9510, Prob > |t| = 0.0000)。结论 Cer 通过下调 NF- κ B 进而调节 Bcl-2/Bax 比值诱导 SGC7901 细胞凋亡。

关键词: SGC7901 细胞; 神经酰胺; 核因子 κ B; Bcl-2; Bax

中图分类号: R735.2 文献标识码: A

文章编号: 1000-8578(2011)09-0991-04

0 引言

神经酰胺(Ceramide, Cer)是细胞膜组成成分,也是神经鞘磷脂信号途径的重要第二信使,其通过启动多种信号通路,在细胞增殖、分化和凋亡等多种生理病理过程中发挥调节功能,同时 Cer 还与血液、神经、消化、生殖系统等多种肿瘤的发生、发展密切相关^[1-3]。近年来 Cer 作为一种潜在的肿瘤细胞凋亡治疗剂引起了国内外学者的广泛关注,研究显示 Cer 在细胞内的累积可以有效抑制肿瘤细胞生长,化疗药物及小分子鞘磷脂(sphingomyelin, SM)抑制剂均可通过提高细胞内 Cer 的含量来抑制肿瘤细胞生长^[4-5]。另外,外源性 Cer 可诱导乳腺癌 MCF-7 细胞、结肠癌 HT-29 细胞凋亡和生长阻滞^[6-7],但 Cer 对于胃癌的作用研究尚未展开,因此本实验通过体外培养胃癌 SGC7901 细胞给予外源性 Cer 干预后观察肿瘤细胞生长、凋亡情况,探讨外源性 Cer 对胃癌细胞凋亡的诱导作用及可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人胃癌癌细胞株 SGC7901 购自上海细胞生物研究所。Cer 购自美国 Cayman 公司,用 DMSO 配成 80 μ mol/L 贮备液, -20 $^{\circ}$ C 保存,实验时用 RPMI1640 培养液稀释至实验所需浓度。顺铂(Cisplatin, DDP)购自山东齐鲁制药有限公司。RPMI1640 购自美国 Gibco 公司,无支原体小牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司,Avnnextin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物发展有限公司,四甲基偶氮唑蓝(MTT)购自美国 Amresco 公司, NF- κ B(sc-8008)、Bcl-2(sc-492)、Bax(sc-493)购自美国 Santa Cruz 公司, Marker 购自 Fermentas 公司,型号 00012835。其他试剂均为分析纯级。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养条件

SGC7901 细胞培养于含有 10% 小牛血清、

100 u/ml 青霉素和 100 μ g/ml 链霉素的 RPMI1640 培养液中,在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 饱和湿度培养箱中培养,用 0.5% 的胰酶消化传代,取对数生长期、细胞活力 > 99% 的细胞用于实验。

1.2.2 四唑蓝比色实验(MTT 法)检测 Cer 单独使用及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞增殖的影响

SGC7901 细胞 1×10^5 /ml 接种于 96 孔培养板,每孔 100 μ l,待 24h 细胞贴壁生长后换入含有 Cer、DDP 及联合药物的培养液干预,每组设 5 个复孔,重复 2 板。实验分为:阴性对照组; Cer 组(1、2.5、5、10 μ mol/L); DDP 组(2.5 mg/L); DDP (2.5 mg/L)联合 Cer 组(5 μ mol/L)。分别培养 24、48、72 h,弃上清液,每孔避光加入 5 g/L MTT 液 20 μ l,4 h 后每孔加入 150 μ l DMSO 振荡混匀,酶标仪测定 490 nm 处的吸光度,计算抑制率。抑制率 = (1 - 给药组 OD 值/空白组 OD 值) \times 100%。采用金正均法判断两药合用是否具有协同作用,公式: $q = (Ea + b) / [(Ea + Eb) - Ea \times Eb]$ 。公式中 Ea 为 Cer 组的抑制率, Eb 为 DDP 组的抑制率, Ea + b 为联合用药组的抑制率。q 值 > 1.15 表示两药有协同作用, q 值 < 0.85 表示两药有拮抗作用, q 值介于 0.85 ~ 1.15 之间表示两药有单纯相加作用。

1.2.3 流式细胞仪检测 Cer 单独使用及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞凋亡诱导作用

SGC7901 细胞以每孔 2×10^5 /ml 的细胞密度接种于 6 孔板,每孔 2 ml,每组设 3 个复孔,24 h 后换入含有 Cer、DDP 及联合药物的培养液干预。实验分为:阴性对照组; Cer 组(5 μ mol/L), DDP 组(2.5 mg/L); DDP(2.5 mg/L)联合 Cer 组(5 μ mol/L)。培养 48 h 后收集细胞,流式细胞术检测凋亡率。

1.2.4 免疫组织化学染色、Western blot 检测 Cer 单独使用及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞 NF- κ B、Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

1.2.4.1 SP 法检测 SGC7901 细胞 NF- κ B、Bcl-2、Bax 蛋白的表达

SGC7901 细胞以每孔 2×10^5 /ml 的细胞密度接种于覆有盖玻片的 6 孔板,每孔 5 ml,每组设 3 个复孔,24 h 后换入含有 Cer、DDP 及联合药物的培养液,实验分组同 1.2.3。培养 48 h 取出玻片, PBS 冲洗, 10% 中性甲醛固定进行 SP 法染色。Bcl-2、Bax 皆为胞质着色, NF- κ B 为胞质都着色,以胞质中出现淡黄至棕黄色为阳性细胞。光学显微镜高倍镜下观察,随机选取 10 个视野,计算 1000 个细胞的阳性细胞数(即阳性细胞占计数细胞的百分比)。

1.2.4.2 蛋白印迹 (Western blot assay) 检测 SGC7901 细胞 NF-κB、Bcl-2、Bax 蛋白的表达

SGC7901 细胞 2×10^5 /ml 6 ml, 置于 100 ml 培养瓶中, 24 h 后换入含有 Cer、DDP 及联合药物的培养液, 实验分组同 1.2.3。培养 48 h 后, 提取总蛋白, 蛋白定量后进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜后, 加入一抗: Bcl-2、Bax、NF-κB, 4°C 过夜, 室温二抗培养 30 min (碱磷酶标记的马抗小鼠、羊抗兔 IgG), NBT/BCIP 显色观察 NF-κB、Bcl-2、Bax 蛋白的表达。

1.3 统计学方法

采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理, 计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表达, 组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 相关性检验用 Spearman 相关分析, 相关性用相关系数 r 表示, 检验水准 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单独使用 Cer 及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞增殖的影响

SGC7901 细胞与不同浓度的 Cer 共同培养, 细胞的生长受到不同程度的抑制。当 Cer 浓度达 $2.5 \mu\text{mol/L}$ 及以上时, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 其抑制作用随浓度升高、时间的延长而增强。Cer 联合 DDP 后, q 值在 24、48、72 h 分别为 1.05、1.01、0.99, 均介于 0.85~1.15 之间, 表示两药有单纯相加作用, 联合用药作用强于单独 DDP 及 Cer 组 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 Cer 单独使用及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞凋亡的影响

Cer、DDP 作用 48 h 可诱导 SGC7901 细胞凋亡, Cer 单用或联合应用 DDP 与对照组相比差别有统计学意义 ($P < 0.05$), Cer 联用 DDP 作用强于 Cer、DDP 单用组, 见表 2。

表 2 单独使用 Cer 及联合 DDP 应用 48 h 对 SGC7901 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

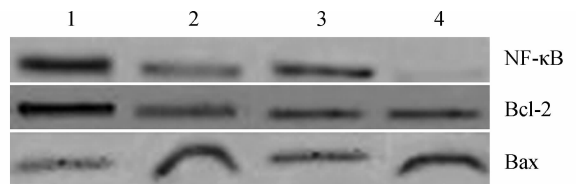
Table 2 The apoptosis rate of SGC7901 cells treated with ceramide and in combination with DDP ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Groups	Apoptosis rate(%)
Control	18.46 ± 1.64
Cer 5 μmol/L	39.23 ± 1.62 [△]
DDP 2.5 mg/L	47.27 ± 1.13 [△]
DDP 2.5 mg/L + Cer 5 μmol/L	50.13 ± 2.76 ^{△*}

Note: [△]: compared with control, $P < 0.05$; * : compared with Cer 5 μmol/L, group, DDP 2.5 mg/L group, $P < 0.05$

2.3 Cer 单独使用及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞 NF-κB、Bcl-2、Bax 表达的影响

NF-κB、Bcl-2 在 SGC7901 细胞中较高表达 [(74.10 ± 2.69)%, (69.37 ± 4.54)%], Bax 在 SGC7901 细胞中表达较低 [(24.60 ± 3.73)%], Cer 5 μmol/L 组、DDP 单独用药组及 Cer 5 μmol/L 联合 DDP 2.5 mg/L 组作用 48 h, NF-κB、Bcl-2 阳性表达率减少, Bax 表达率上调, Bcl-2/Bax 比值降低, 联合作用强于单独用药组 ($P < 0.05$), 见表 3。Western blot 检测显示: NF-κB、Bcl-2 条带在阴性对照组表达最强, Bax 条带在阴性对照组表达最弱, 在给予 Cer、DDP 及联合用药后, NF-κB、Bcl-2 条带表达越来越弱, Bax 表达越来越强, 与免疫组织化学结果一致, 见图 1。



1: control group, 2: Cer 5 μmol/L group, 3: DDP 2.5 mg/L group, 4: DDP 2.5 mg/L in combination with Cer 5 μmol/L group

图 1 Western blot 检测单独使用 Cer 及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞 NF-κB、Bcl-2、Bax 蛋白表达

Figure 1 The expressions of NF-κB, Bcl-2, Bax in SGC7901/DDP treated with ceramide and in combination with DDP detected by Western blot assay

表 1 单独使用 Cer 及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞增殖的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 The effect of ceramide and in combination with DDP on the proliferation of SGC7901 cells ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Groups	24 h		48 h		72 h	
	OD	IR	OD	IR	OD	IR
Control	0.569 ± 0.027	0	0.573 ± 0.025	0	0.589 ± 0.026	0
Cer 1 μmol/L	0.542 ± 0.027	0.047 ± 0.022	0.543 ± 0.030	0.052 ± 0.030	0.552 ± 0.031	0.064 ± 0.028
Cer 2.5 μmol/L	0.520 ± 0.014 [△]	0.085 ± 0.046 [△]	0.512 ± 0.019 [△]	0.105 ± 0.050 [△]	0.505 ± 0.018 [△]	0.141 ± 0.045 [△]
Cer 5 μmol/L	0.494 ± 0.026 [△]	0.132 ± 0.017 [△]	0.481 ± 0.028 [△]	0.162 ± 0.029 [△]	0.476 ± 0.022 [△]	0.193 ± 0.020 [△]
Cer 10 μmol/L	0.423 ± 0.018 [△]	0.256 ± 0.030 [△]	0.384 ± 0.021 [△]	0.330 ± 0.046 [△]	0.366 ± 0.027 [△]	0.379 ± 0.035 ^{△*}
DDP 2.5 mg/L	0.424 ± 0.024 [△]	0.255 ± 0.019 [△]	0.398 ± 0.032 [△]	0.307 ± 0.044 [△]	0.380 ± 0.032 [△]	0.354 ± 0.062 [△]
DDP 2.5 mg/L + Cer 5 μmol/L	0.356 ± 0.025 ^{△*}	0.371 ± 0.067 ^{△*}	0.331 ± 0.023 ^{△*}	0.423 ± 0.034 ^{△*}	0.309 ± 0.016 ^{△*}	0.476 ± 0.030 ^{△*}

Note: [△]: compared with control, $P < 0.05$; * : compared with Cer 5 μmol/L group, DDP 2.5 mg/L group, $P < 0.05$

表 3 单独使用 Cer 及联合 DDP 应用对 SGC7901 细胞 NF-κB、Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 The expressions of NF-κB, Bcl-2, Bax in SGC7901/DDP treated with ceramide and in combination with DDP detected by immunocytochemical staining($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Groups	NF-κB	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
Control	74.10 ± 2.69	69.37 ± 4.54	24.60 ± 3.73	2.88 ± 0.60
Cer 5 μmol/L	65.13 ± 1.71 [△]	57.70 ± 2.22 [△]	33.80 ± 1.10 [△]	1.71 ± 0.10 [△]
DDP 2.5 mg/L	62.17 ± 2.12 [△]	55.13 ± 5.77 [△]	35.50 ± 2.27 [△]	1.56 ± 0.26 [△]
DDP 2.5 mg/L + Cer 5 μmol/L	44.8 ± 3.65 ^{△*}	37.67 ± 2.14 ^{△*}	51.73 ± 3.76 ^{△*}	0.73 ± 0.09 ^{△*}

Note: [△]: compared with control, $P < 0.05$; * : compared with Cer 5 μmol/L group, DDP 2.5 mg/L group, $P < 0.05$

2.4 NF-κB、Bcl-2 相关性分析

NF-κB、Bcl-2 呈正相关 (Spearman's rho = 0.9510, Prob > |t| = 0.0000)。

3 讨论

Cer 的核心结构是以神经鞘醇为基础的鞘氨基醇,由丝氨酸和有活性的脂肪酸棕榈酰辅酶 A 缩合而成^[1],长度由 C14 到 C26 不等。Cer 在调节细胞增殖、存活和死亡中发挥重要作用^[8]。诱导细胞凋亡的各种因素大多也是激活 Cer 途径的因素,例如肿瘤坏死因子、低氧等,因此提示 Cer 可以促进细胞凋亡^[9]。鉴于 Cer 在调节细胞生长增殖中的作用,众多学者将其作用应用于肿瘤治疗,通过增加细胞 Cer 的含量来抑制肿瘤细胞生长,化疗药物如柔红霉素、喜树碱、吉西他滨等可通过从头合成途径或激活鞘磷脂酶来提高细胞内 Cer 的含量进而抑制肿瘤细胞生长^[4,5]。一些增加细胞内 Cer 的小分子抑制剂已经被作用于部分肿瘤并取得明显效果。另外,研究显示外源性的 Cer 作用于肿瘤细胞可诱导细胞凋亡和生长阻滞^[6-7,10]。本实验结果显示胃癌 SGC7901 细胞与不同浓度的 Cer 共同培养,细胞的生长受到不同程度的抑制。其抑制作用随浓度升高及时间的延长而增强,Cer 与 DDP 对肿瘤的抑制有相加作用,因此提示 Cer 可以抑制胃癌细胞生长,可以通过与 DDP 联合应用从而达到降低 DDP 临床用量减轻其不良反应的目的。

Cer 通过核因子 κB (nuclear factor-kappaB, NF-κB)^[11]、Bcl-2 蛋白家族^[4]、Fas 蛋白^[12]、Caspase 蛋白等^[13]一系列信号转导途径调节着细胞周期、细胞分化与细胞凋亡。NF-κB 为一转录因子家族,参与感染、炎症、免疫反应的调节,同时 NF-κB 通过调节 Bcl-2、Bax、IAP 家族、Caspase、cyclinD 等基因的表达与细胞凋亡、细胞分化等肿瘤发生、浸润和转移过程密切相关^[14-16]。Bcl-2 蛋白家族是参与细胞凋亡调节的关键因子^[17]。该蛋白家族现已发现 15 个成员,依其功能可分为抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-x_L 等和促凋亡蛋白 Bax、Bid、Bim 等。Bcl-2 蛋

白家族、线粒体细胞色素 c 和 Caspases 是细胞内凋亡信号通路的基本成分^[18]。Bax 可促进细胞色素 c 释放,导致细胞凋亡,而 Bcl-2 及 Bcl-x_L 抑制细胞色素 c 释出,阻断细胞凋亡通路。当 Bcl-2 或 Bcl-x_L 形成同源或异源二聚体时可抑制细胞凋亡,而 Bax 与 Bid 形成的异源二聚体 Bid/Bax 或其自身形成的同源二聚体 Bax/Bax 可促进细胞凋亡,Bcl-2 与 Bax 形成的异源二聚体使彼此的抗凋亡和促凋亡活性相互抵消,两者之间的相对比例决定了细胞凋亡的发生与否^[19-20]。本实验通过流式细胞仪检测凋亡率结果显示单独使用 Cer 可以诱导细胞凋亡,联合 DDP 与 Cer 使用后促凋亡作用强于单独用药组。单独使用 Cer 及联合 DDP 使用后 NF-κB、Bcl-2 阳性表达率减少,Bax 表达率上调,Bcl-2/Bax 比值降低,联合用药作用强于单独用药;相关性分析显示 NF-κB 与 Bcl-2 呈正相关。因此我们认为 Cer 通过下调 NF-κB 进而调节 Bcl-2/Bax 比值促使 SGC7901 细胞发生凋亡,联合使用 Cer 和化疗药物 DDP 促凋亡作用增强。

参考文献:

- [1] Bieberich E. Ceramide signaling in cancer and stem cells [J]. Future Lipidol, 2008, 3(3): 273-300.
- [2] Reynolds CP, Maurer BJ, Kolesnick RN. Ceramide synthesis and metabolism as a target for cancer therapy [J]. Cancer Lett, 2004, 206(2): 169-180.
- [3] Park JH, Schuchman EH. Acid Ceramidase and human disease [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1758(12): 2133-2138.
- [4] Ogretmen B, Hannun YA. Biologically active sphingolipids in cancer pathogenesis and treatment [J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(8): 604-616.
- [5] Futerman AH, Hannun YA. The complex life of simple sphingolipids [J]. EMBO Rep, 2004, 5(8): 777-782.
- [6] Struckhoff AP, Patel B, Beckman BS. Inhibition of p53 sensitizes MCF-7 cells to ceramide treatment [J]. Int J Oncol, 2010, 37(1): 21-30.
- [7] Wang J, Lv X, Shi J, et al. Ceramide induces apoptosis via a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent pathway [J]. Apoptosis, 2006, 11(11): 2043-2052.

可影响患者的 5 年生存率,治疗因素可影响患者的 5 年生存率。这提示肾癌术后的辅助治疗可能有一定的意义,但仍需要进一步明确哪些患者能从辅助治疗中获得益处。

由于本研究是回顾性分析,在病例的入组研究和患者治疗上的选择均有一定的偏倚,可能对我们的研究结果产生一定的影响。本组研究表明肾癌 TNM 分期是决定患者远期生存最主要因素,肾癌术后的辅助治疗的地位仍未确立,部分患者可能从辅助治疗中获得益处,目前尚不能在治疗前根据已有的因素判断哪些患者可以获得益处,从而实施更好的个体化治疗。这需要大的、设计严谨的、随访时间长的 III 期临床试验来证实。

参考文献:

- [1] DeVita VT, Lawrence TS, Rosenberg SA. Cancer: Principles & Practice of Oncology[M]. 8th ed. Philadelphia: Von Lippincott Williams & Wilkins, 2008; 1331-1358.
- [2] Linehan WM, Walther MM, Zbar B. The genetic basis of cancer of the kidney[J]. J Urol, 2003, 170(6 Pt 1): 2163-2172.
- [3] Greene FL, Compton CC, Fritz AG, et al. AJCC cancer staging atlas[M]. 6th ed. Berlin: Springer, 2006; 323-328.
- [4] Halperin EC, Perez CA, Brady LW, et al. Principles and practice of radiation oncology[M]. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007; 1650-1663.
- [5] 郭三维,董柏君,黄翼然. 肾癌预后分析的研究进展[J]. 国际泌尿系统杂志, 2006, 26(3): 309-315.
- [6] 崔同跃,郭丽华,郭树宏,等. 影响肾癌预后的因素[J]. 现代泌尿外科杂志, 2009, 14(1): 42-44.

[编辑:刘红武;校对:安 凤]

(上接第 994 页)

- [8] Modrak DE, Gold DV, Goldenberg DM. Sphingolipid targets in cancer therapy[J]. Mol Cancer Ther, 2006, 5(2): 200-208.
- [9] Pettus BJ, Chalfant CE, Hannun YA. Ceramide in apoptosis; an overview and current perspectives[J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1585(2-3): 114-125.
- [10] Ji C, Yang B, Yang YL, et al. Exogenous cell-permeable C6 ceramide sensitizes multiple cancer cell lines to Doxorubicin-induced apoptosis by promoting AMPK activation and mTORC1 inhibition[J]. Oncogene, 2010, 29(50): 6557-6568.
- [11] Kim WH, Choi CH, Kang SK, et al. Ceramide induces non-apoptotic cell death in human glioma cells [J]. Neurochem Res, 2005, 30(8): 969-979.
- [12] Cremesti A, Paris F, Grassmé H, et al. Ceramide enables fas to cap and kill[J]. J Biol Chem, 2001, 276(26): 23954-23961.
- [13] Schenck M, Carpinteiro A, Grassmé H, et al. Ceramide: physiological and pathophysiological aspects [J]. Arch Biochem Biophys, 2007, 462(2): 171-175.
- [14] Vermeulen L, Vanden Berghe W, Haegeman G. Regulation of NF-kappaB transcriptional activity [J]. Cancer Treat Res, 2006, 130: 89-102.
- [15] Häcker H, Karin M. Regulation and function of IKK and IKK-related kinases [J]. Sci STKE, 2006, 2006(357): re13.
- [16] Lee SY, Yuk DY, Song HS, et al. Growth inhibitory effects of obovatol through induction of apoptotic cell death in prostate and colon cancer by blocking of NF-kappaB[J]. Eur J Pharmacol, 2008, 582(1-3): 17-25.
- [17] Fernández-Luna JL. Apoptosis regulators as targets for cancer therapy [J]. Clin Transl Oncol, 2007, 9(9): 555-562.
- [18] Topuridze ML, Kipiani VA, Pavliashvili NS, et al. Molecular mechanisms of apoptosis[J]. Georgian Med News, 2007, (150): 38-45.
- [19] Lalier L, Cartron PF, Juin P, et al. Bax activation and mitochondrial insertion during apoptosis [J]. Apoptosis, 2007, 12(5): 887-896.
- [20] Adams JM, Cory S. Bcl-2-regulated apoptosis: mechanism and therapeutic potential [J]. Curr Opin Immunol, 2007, 19(5): 488-496.

[编辑:安 凤;校对:刘红武]