

· 论 著 ·

[文章编号] 1007-385X(2008)02-0139-05

PUMA 基因转染胰腺癌 AsPC-1 细胞增强对 5-FU 致凋亡的敏感性

张克君,李德春*,朱东明(苏州大学附属第一医院 普外科,江苏 苏州 215006)

[摘 要] 目的:探讨 *PUMA* 基因转染是否增强胰腺癌 AsPC-1 细胞对 5-FU 致凋亡的敏感性。方法:采用脂质体转染法将 *PUMA*-pCEP4 和空载体 pCEP4 质粒转染入胰腺癌 AsPC-1 细胞中,G418 筛选阳性细胞。将系列浓度(0.01~100 $\mu\text{mol/L}$)的 5-FU 分别作用于 AsPC-1、AsPC-1/*PUMA* 和 AsPC-1/pCEP4 细胞 72 h,MTT 法测定各组细胞的存活率并计算 IC_{50} ,FCM、断裂 DNA 琼脂糖凝胶电泳和 TUNEL 法检测细胞凋亡情况,Western blotting 检测各组细胞 *PUMA* 蛋白表达的变化。结果:AsPC-1、AsPC-1/*PUMA* 和 AsPC-1/pCEP4 细胞的 5-FU IC_{50} 分别为(12 \pm 1.9)、(1.6 \pm 0.4)和(10.4 \pm 1.6) $\mu\text{mol/L}$,AsPC-1/*PUMA* 细胞对 5-FU 作用的敏感性增加了 7.5 倍。5-FU 以剂量依赖方式诱导 AsPC-1 细胞凋亡,但对 AsPC-1/*PUMA* 细胞所诱导的凋亡比 AsPC-1 和 AsPC-1/pCEP4 更明显。低浓度 5-FU(0.1 $\mu\text{mol/L}$)轻微引起 AsPC-1/pCEP4[(1.14 \pm 0.28)%]和 AsPC-1 细胞凋亡[(0.9 \pm 0.23)%],但能诱导 AsPC-1/*PUMA* 细胞明显凋亡[(6.47 \pm 1.42)%];高浓度 5-FU(1.0 $\mu\text{mol/L}$)诱导各组细胞凋亡,但 AsPC-1/*PUMA* 细胞凋亡率[(34.54 \pm 9.36)%]明显高于 AsPC-1[(12.8 \pm 3.74)%]和 AsPC-1/pCEP4 细胞[(15.8 \pm 5.15)%],差异均有统计学意义($P<0.01$);FCM、断裂 DNA 琼脂糖凝胶电泳和 TUNEL 方法检测显示相同的结果。*PUMA* 蛋白在 AsPC-1/*PUMA* 细胞中的表达明显高于 AsPC-1 和 AsPC-1/pCEP4 细胞。结论:*PUMA* 基因转染明显地增强了胰腺癌 AsPC-1 细胞对 5-FU 致凋亡作用的敏感性。

[关键词] *PUMA* 基因;胰腺癌;5-FU;凋亡

[中图分类号] R735.9; R730.54

[文献标志码] A

PUMA gene transfection increases sensitivity of pancreatic cancer cell line AsPC-1 to 5-FU-induced apoptosis

ZHANG Ke-jun, LI De-chun*, ZHU Dong-ming (Department of General Surgery, the First Hospital Affiliated to Suzhou University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China)

[Abstract] Objective: To investigate whether *PUMA* gene transfection can increase sensitivity of pancreatic cancer cells (PC) to 5-FU-induced apoptosis. **Methods:** *PUMA*-pCEP4 containing full length *PUMA* cDNA or pCEP4 was transfected into human pancreatic cancer cell line AsPC-1 by lipofectamine transfection, G418 selection was used to select positive cells. AsPC-1, AsPC-1/*PUMA* and AsPC-1/pCEP4 cells were separately treated with serial concentrations of 5-FU (0.01-100 $\mu\text{mol/L}$). MTT assay was used to determine the cell survival rate in each group and IC_{50} of 5-FU was calculated. TUNEL, FCM and DNA ladder observation were employed to study cell apoptosis. Western blotting was performed to detect the expression of *PUMA* protein. **Results:** The 5-FU IC_{50} values of AsPC-1, AsPC-1/*PUMA* and AsPC-1/pCEP4 cells were (12 \pm 1.9) $\mu\text{mol/L}$, (1.6 \pm 0.4) $\mu\text{mol/L}$ and (10.4 \pm 1.6) $\mu\text{mol/L}$, respectively, with the sensitivity of AsPC-1/*PUMA* cells increased by 7.5 folds. 5-FU induced cell apoptosis of AsPC-1 cells in a dose-dependent manner, with the apoptosis of AsPC-1/*PUMA* cells more prominent than those of AsPC-1 and AsPC-1/pCEP4 cells. Low concentration of 5-FU (0.1 $\mu\text{mol/L}$) induced few apoptosis of AsPC-1/pCEP4 cells [(1.14 \pm 0.28)%] and AsPC-1 cells [(0.9 \pm 0.23)%], and induced apoptosis in AsPC-1/*PUMA* cells [(6.47 \pm 1.42)%]. High concentration of 5-FU (1.0 $\mu\text{mol/L}$) induced apoptosis in all groups, with that in AsPC-1/*PUMA* cells [(34.54 \pm 9.36)%] significantly higher than those in AsPC-1/pCEP4 cells [(15.8 \pm 5.15)%] and AsPC-1 cells [(12.8 \pm 3.74)%], both $P<0.01$. FCM and electrophoresis showed the same results. Expression of *PUMA* protein in AsPC-1/*PUMA* cells was significantly higher than those in AsPC-1 and AsPC-1/pCEP4 cells. **Conclusion:** *PUMA* gene transfection greatly enhances the sensitivity of AsPC-1

[基金项目] 卫生部科学研究基金资助项目(No. WKJ 2004-2-001). Supported by the Science Research Foundation of Public Health (No. WKJ 2004-2-001)

[作者简介] 张克君(1967-),男,山东省青岛市人,主治医师,博士生,主要从事肝胆胰腺疾病的基础与临床方面的研究

* Corresponding author. E-mail:love5028@sohu.com

cells to 5-FU-induced apoptosis.

[**Key words**] p53 up-regulated modulator of apoptosis (*PUMA*); pancreatic neoplasms; 5-FU; apoptosis

[*Chin J Cancer Biother*, 2008, 15(2): 139-143]

由于胰腺癌疾病的特殊性,化疗成为其主要的辅助治疗手段。5-FU 是胰腺癌化疗的主要药物之一,但胰腺癌对 5-FU 作用的敏感性极为有限^[1-2],因此,5-FU 化疗增敏剂的研究在临床上具有重要意义。*PUMA*(p53 up-regulated modulator of apoptosis) 是 2001 年发现的 bcl-2 家族 BH-3 亚家族中的成员,是 p53 介导的下游促凋亡基因^[3-5]。*PUMA* 通过其下游的 Bax/Bak 及 Bcl-2/Bcl-Xl 相互作用,引起 Bax 活化、细胞色素 C 释放及 caspase 级联效应,导致细胞凋亡^[3-6]。体外实验表明^[4,6],转染外源性 *PUMA* 基因可以诱导肿瘤细胞的快速凋亡和抑制集落形成,并且 *PUMA* 基因转染明显增加体外食管癌、头颈细胞癌、绒膜癌、肺癌细胞的化疗和放疗敏感性,增加治疗效果^[7-10]。将野生型 *PUMA* 转染胰腺癌 PC-3 细胞,发现细胞的生长明显被抑制^[11]。本课题旨在研究转染野生型 *PUMA* 基因的胰腺癌细胞是否增强对 5-FU 诱导凋亡的敏感性。

1 材料与方法

1.1 细胞株与试剂

PUMA-pCEP4 和 pCEP4 由美国科学院 Volgelstein 教授赠送;鼠抗人 *PUMA* 多克隆抗体购自 Cell Signals 公司;G418、LipofectinamineTM 2000 购自 Gibco;Western blotting、TUNEL、MTT、和小量质粒快速抽提纯化试剂盒购自上海华舜公司;DNA Ladder 抽提试剂盒购自北京碧云天公司;硝酸纤维素膜购自 Amersham 公司;蛋白质分子量标准购自中国科学院上海生物化学研究所。胰腺癌细胞株 AsPC-1 购自中科院上海细胞所,用含 10% 胎牛血清的 1640 培养液培养,培养条件为 37 °C 恒温、饱和湿度和 5% CO₂,对数生长的细胞供实验使用。

1.2 细胞转染

将对数生长期 AsPC-1 细胞按 2×10^5 /孔的密度悬于 2 ml 完全培养液中,接种在 6 孔板,37 °C、5% CO₂ 培养箱中过夜,至细胞长至约 60% ~ 70% 融合。用无血清和无抗生素的培养液冲洗每孔加入 2 μ l 目的基因质粒 *PUMA*-pCEP4 或空载体质粒 pCEP4 和 8 μ l 脂质体,然后置于 CO₂ 培养箱中 37 °C 培养 6 h。再将培养液换成加入含 20% FBS 的 DMEM 培养液培养 72 h,然后换用 G418 培养液继续培养(含 G418 3 mg/ml)进行筛选,3 ~ 5 d 换液

1 次,2 周后从稳定表达的细胞克隆中挑选出多个单细胞克隆继续培养。将 *PUMA*-pCEP4 和 pCEP4 转染的细胞分别命名为 AsPC-1/*PUMA* 和 AsPC-1/pCEP4。

1.3 MTT 法检测 *PUMA*/AsPC-1 对 5-FU 细胞毒性的敏感性

AsPC-1、AsPC-1/*PUMA* 和 AsPC-1/pCEP4 细胞分别接种在 96 孔培养板(1×10^4 /孔),次日每孔更换含系列浓度 5-FU (0.01、0.1、0.5、1、5、10、20、50、100 μ mol/L) 的培养液 100 μ l。48 h 后,每孔加入 10 μ l 的 MTT 溶液(2.5 mg/ml),继续孵育 4 h,去除培养液,每孔加入 100 μ l 的 DMSO(Sigma 公司),以溶解已形成的结晶,震荡 5 min,在波长 570 nm 处测定光密度值。设置空白对照:与实验孔平行设置,不加细胞只加培养液,其他相同,检测时以此为空白调零。实验进行 3 次,结果取平均值。细胞生存率(%) = (实验组 *D* - 空白对照 *D*) / 对照组 *D* - 空白对照 *D*) \times 100%。

1.4 流式细胞术检测肿瘤细胞的早期凋亡

将 AsPC-1、AsPC-1/*PUMA* 和 AsPC-1/pCEP4 细胞各按 1×10^6 /孔接种于 24 孔培养板培养过夜,第 2 天分别加入 1 μ mol/L 的 5-FU 100 μ l,常规培养 72 h,然后按照说明书加入 FITC 和 PI 双染色,上流式细胞仪检测。实验以不加 5-FU 做对照组。结果判断:凋亡细胞对所有用于细胞活性鉴定的染料如 PI 有抗染性,坏死细胞则不能;细胞膜有损伤的细胞的 DNA 可被 PI 着染产生红色荧光,而细胞膜保持完好的细胞则不会有红色荧光产生。因此,在细胞凋亡早期 PI 不会着染而没有红色荧光信号。正常活细胞与此相似。在双变量流式细胞仪的散点图上,左下象限显示活细胞,为(FITC⁻PI⁻);右上象限是非活性细胞,即坏死细胞,为(FITC/PI);而右下象限为凋亡细胞,显现(FITC/PI⁻)。

1.5 琼脂糖凝胶电泳检测肿瘤细胞晚期凋亡

将 AsPC-1、AsPC-1/*PUMA* 和 AsPC-1/pCEP4 细胞按 1×10^7 /孔接种于 24 孔培养板培养过夜,第 2 天分别加入 1 μ mol/L 的 5-FU 100 μ l,常规培养 3 d,然后按照说明书提取细胞 DNA。取部分抽提得到的基因组 DNA,琼脂糖凝胶电泳分析,照相。如果细胞发生凋亡,就可以观察到典型的 DNA ladder,而坏死细胞的 DNA 断裂点为无特征的杂乱片断,呈涂

血玻片样,利用此特征可以确定群体细胞的死亡,并可与坏死细胞区别。

1.6 TUNEL 法测定 5-FU 诱导的肿瘤细胞的凋亡

离心重悬各组细胞,接种细胞于内置盖玻片的 3.5 cm 培养皿(1 × 10⁸/皿),37 °C 温箱孵育 24 h 后加入 0.1 μmol/L 或 1 μmol/L 的 5-FU 10 μl 继续孵育 72 h,实验以不加 5-FU 组做对照.采用 TUNEL 试剂盒,按试剂盒说明书操作,计算每高倍视野下凋亡细胞数,每一样本随机计数 5 个视野。

1.7 Western blotting 检测肿瘤细胞 PUMA 蛋白的表达

提取经 5-FU 或无 5-FU 作用 72 h 的细胞总蛋白进行 Western Blotting 检测。SDS-PAGE 上样量为 15 μg/L。SDS 电泳:恒流,每块板 20 ~ 40 mA,电泳时间约 2 h。转膜:恒流,每张膜 42 mA,时间为 3.5 h。

1.8 统计学处理

采用统计软件 SPSS11.0 进行统计学处理,采用 *t* 检验,以 *P* < 0.05 为有统计学意义。

2 结果

2.1 PUMA 基因导入增强胰腺癌细胞对 5-FU 细胞毒作用的敏感性

通过 MTT 法测定了胰腺癌细胞对 5-FU 细胞毒作用的敏感性。结果发现,5-FU 的浓度范围为 0.01 ~ 100 μmol/L 时细胞存活率与 5-FU 浓度之间均存在剂量依赖性,随着 5-FU 浓度增高,细胞生存率逐渐下降;与 AsPC-1 和 AsPC-1/pCEP4 细胞比,AsPC-1/PUMA 细胞生存率下降更为明显。利用 Excel 软件计算得出,AsPC-1 和 AsPC-1/pCEP4 细胞

的 IC₅₀ 分别为(12 ± 1.9)和(10.4 ± 1.6) μmol/L。相比之下,AsPC-1/PUMA 比 AsPC-1 细胞敏感 7.5 倍,其 IC₅₀ 为(1.6 ± 0.4) μmol/L (图 1)。由此可见,胰腺癌细胞转染 PUMA 基因可增加对 5-FU 作用的敏感性。

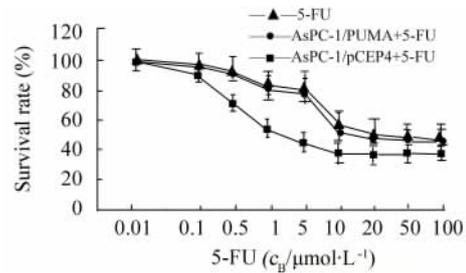


图 1 PUMA 基因转染增强 AsPC-1 细胞对 5-FU 细胞毒作用的敏感性

Fig. 1 PUMA enhances the sensitivity of AsPC-1 cells to 5-FU

2.2 AsPC-1/PUMA 细胞凋亡的 FCM 检测结果

细胞经 Annexin V-PI 标记后于流式细胞仪上检测其凋亡情况。细胞凋亡率如图 2 所示:AsPC-1 细胞的凋亡率为(5.53 ± 1.02)%,作用于 5-FU (1 μmol/L)后 AsPC-1 细胞凋亡率为(18.2 ± 2.14)%,而 5-FU 作用后 AsPC-1/PUMA 的细胞的凋亡率为(52.16 ± 10.4)%,明显高于与 AsPC-1 (*P* < 0.01)和 AsPC-1/5-FU 组(*P* < 0.05)。5-FU 作用于 AsPC-1/pCEP4 后的细胞凋亡率为(18.56 ± 4.32)%,与 AsPC-1/5-FU 细胞(18.04 ± 4.45)% 比无显著性差异(*P* > 0.05),提示 PUMA 转染增强 5-FU 的促细胞凋亡作用(图 2)。

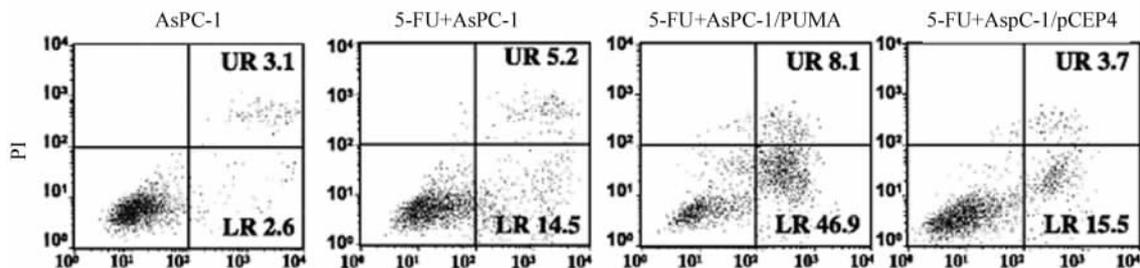


图 2 流式细胞仪检测 5-FU 诱导的 AsPC-1/PUMA 细胞的凋亡

Fig. 2 5-FU induced apoptosis of AsPC-1/PUMA cells as determined by FCM

2.3 AsPC-1/PUMA 细胞凋亡的 DNA Ladder 检测结果

凋亡细胞的 DNA 断裂点均有规律地发生在核小体之间,出现 180 ~ 200 bp 片段(DNA Ladder);而坏死细胞的 DNA 断裂点为无特殊的杂乱片段,利用此特征可确定群体细胞的凋亡,并可与坏死区别。

DNA Ladder 属于凋亡较晚期的变化。DNA 电泳的结果显示,AsPC-1 和 AsPC-1/pCEP4 细胞被 5-FU (1 μmol/L)作用后可见较弱的 Ladder 条带,而 AsPC-1/PUMA 细胞在 5-FU (1 μmol/L)作用后梯形条带更明显(图 3)。

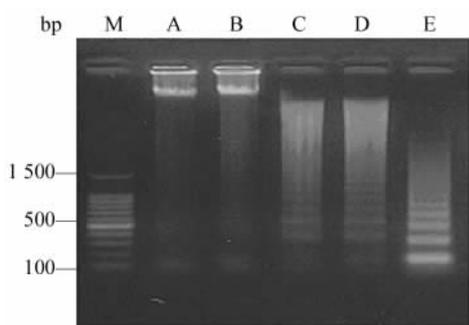


图3 DNA ladder 检测 5-FU 诱导的 AsPC-1/PUMA 细胞凋亡

Fig. 3 5-FU induced apoptosis of AsPC-1/PUMA cells by DNA ladder observation

M: Marker; A: AsPC-1; B: AsPC-1/pCEP4; C: AsPC-1 + 5-FU; D: AsPC-1/pCEP4 + 5-FU; E: AsPC-1/PUMA + 5-FU

2.4 AsPC-1/PUMA 细胞凋亡的 TUNEL 检测结果

0.1 μmol/L 的 5-FU 作用 72 h, AsPC-1/PUMA 细胞的凋亡率为(6.47 ± 1.42)%, AsPC-1 细胞和 AsPC-1/pCEP4 细胞凋亡率为(0.9 ± 0.23)% 和 (1.14 ± 0.28)%。1 μmol/L 的 5-FU 作用 72 h 后, 各组细胞中均见到凋亡细胞, AsPC-1 和 AsPC-1/pCEP4 细胞的凋亡率为(12.8 ± 3.74)% 和 (15.8 ± 1.15)%, AsPC-1/PUMA 细胞的凋亡率为(34.54 ± 9.36)%, 差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。

2.5 PUMA 转染和 5-FU 作用致胰腺癌细胞 PUMA 蛋白表达的改变

为研究 PUMA 转染是否与 5-FU 诱导的凋亡有关, 本研究分析了 PUMA 蛋白的变化。AsPC-1 细胞含有少量内源性 PUMA 蛋白表达, 经 5-FU 作用后 PUMA 蛋白表达增加; AsPC-1/PUMA 细胞被 5-FU 作用后, PUMA 表达增加更明显; 而 AsPC-1/pCEP4 细胞 5-FU 作用后, PUMA 的蛋白表达与 AsPC-1/5-FU 组相似(图 4)。

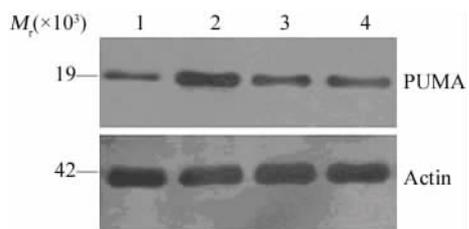


图4 5-FU 诱导的 AsPC-1/PUMA 细胞 PUMA 蛋白的表达
Fig. 4 Expression of PUMA protein in AsPC-1/PUMA cells induced by 5-FU

1: AsPC-1; 2: AsPC-1/PUMA + 5-FU; 3: AsPC-1/pCEP4 + 5-FU; 4: AsPC-1 + 5-FU

3 讨论

胰腺癌是极具侵袭性的恶性肿瘤, 预后极差。多数辅助治疗为术后放疗结合 5-氟脲嘧啶(5-FU)为基础的放化疗模式。作为化疗药物, 5-FU 治疗胰腺癌在临床上经历了 20 多年, 其总的有效率也只有 15% 左右。尽管 5-FU 常与多种药物联合使用以求增加疗效及减轻毒性作用, 但联合应用后并不能达到理想目的, 疗效也不显著, 而且半年生存率也没有明显提高^[12], 对 5-FU 极为有限的敏感性以及易耐药性是 5-FU 治疗胰腺癌的主要障碍^[1-2]。

增强 5-FU 的化疗敏感性的方法有很多, 除了传统的化疗药物联合外, 5-FU 联合基因治疗也是增强 5-FU 敏感性的最新方法, 并取得了明显的疗效^[13]。

PUMA 作为 P53 下游的凋亡促进基因, 在许多肿瘤细胞中表达缺失或低表达^[14-17], 增加细胞内 PUMA 表达能明显促进肿瘤细胞凋亡, 并且能明显增强肿瘤细胞对放化疗的敏感性^[6,7-11,18-19], 提示 PUMA 可以作为化疗增敏剂用于肿瘤治疗。

本研究观察 PUMA 基因转染是否增强 AsPC-1 细胞对 5-FU 的治疗敏感性。结果发现, 将系列浓度的 5-FU 作用于 AsPC-1/PUMA 细胞, PUMA 能明显地增强 AsPC-1 细胞对 5-FU 的治疗敏感性, 降低 IC₅₀ 平均值。进一步分析了 5-FU 是否通过诱导细胞凋亡而发挥作用, 结果表明, 0.1 μmol/L 的 5-FU 仅能诱导转染 PUMA 的细胞发生凋亡, 而不能诱导 AsPC-1 细胞和载体对照细胞的凋亡; 高浓度的 5-FU (1 μmol/L) 能诱导全部细胞系的细胞凋亡, 但凋亡率在转染 PUMA 的细胞中明显高于不转染 PUMA 的 AsPC-1 细胞和转染空载体的 AsPC-1 细胞。结果提示, PUMA 能增强 5-FU 诱导 AsPC-1 的凋亡作用。

细胞内 PUMA 蛋白表达检测发现, AsPC-1 细胞仅含有少量内源性 PUMA 表达, 经 5-FU 作用后 PUMA 蛋白表达增加, 转染 PUMA 基因的细胞作用 5-FU 后, PUMA 蛋白表达增加更明显, 所以 5-FU 化疗敏感性的增强是通过增加 PUMA 表达实现的。

本研究通过增加细胞内 PUMA 基因表达明显增强了 5-FU 的化疗敏感性。AsPC-1 细胞内 PUMA 低表达是造成 5-FU 化疗耐药的重要原因。因此, 开发相应能导致 PUMA 激活的 DNA 元件、转录因子及其他无毒性的小分子物质, 利用这些物质激活 PUMA 在肿瘤细胞内强表达是增强 5-FU 化疗敏感性的可行措施, 也是胰腺癌治疗的新方向。

[参考文献]

[1] Rosenberg L. Treatment of pancreatic cancer[J]. Int J Pancre-

- atol. 1997, 22(1): 81-93.
- [2] Roll L. Adjuvant therapy in patients with pancreatic cancer[J]. Recent Results Cancer Res, 2008, 177: 49-56.
- [3] Yu J, Zhang L, Hwang PM, et al. PUMA induces the rapid apoptosis of colorectal cancer cell[J]. Mol Cell, 2001, 7(3): 673-682.
- [4] Nakano K, Vousden H. PUMA, a novel proapoptotic gene, is induced by p53[J]. Mol Cell, 2001, 12(7): 683-694.
- [5] Chipuk JE, Bouchier-Hayes L, Kuwana T, et al. PUMA couples the nuclear and cytoplasmic proapoptosis function of p53[J]. Science, 2005, 309(5741): 1732-1735.
- [6] Yu J, Wang Z, Kinzler KW, et al. PUMA mediates the apoptotic response to p53 in colorectal cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(4): 1931-1936.
- [7] Wang H, Qian H, Yu J, et al. Administration of PUMA adenovirus increases the sensitivity of esophageal cancer cells to anticancer drugs[J]. Cancer Biol Ther, 2006, 5(4): 380-385.
- [8] Sun Q, Sakaida T, Yue W, et al. Chemosensitization of head and neck cancer cells by PUMA[J]. Mol Cancer Ther, 2007, 6(12): 3180-3188.
- [9] Chen Y, Qian H, Wang H, et al. Ad-PUMA sensitizes drug-resistant choriocarcinoma cells to chemotherapeutic agents[J]. Gynecol Oncol, 2007, 107(3): 505-512.
- [10] Yu J, Yue W, Wu B, et al. PUMA sensitizes lung cancer cells to chemotherapeutic agents and irradiation[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(9): 2928-2936.
- [11] 张克君, 李德春, 朱东明, 等. P53 正向调节性凋亡促进基因抑制体外胰腺癌 PC-3 细胞生长[J]. 中华消化杂志, 2006, 25(11): 667-668.
- [12] DeCaprio JA, Mayer RJ, Gonin R, et al. Fluorouracil and high-doses leucovorin in previously untreated patients with advanced adenocarcinoma of the pancreas: results of a phase 2 trial[J]. J Clin Oncol, 1991, 9(12): 2128-2133.
- [13] Kelley JR, Fraser MM, Hubbard JM, et al. CaSm antisense gene therapy: a novel approach for the treatment of pancreatic cancer[J]. Anticancer Res, 2003, 23(3): 2007-2013.
- [14] Jansson A, Arlman G, Sun XF. mRNA and protein expression of PUMA in sporadic colorectal cancer[J]. Oncol Rep, 2004, 12(6): 1245-1249.
- [15] 江河, 江孝清, 周绪红, 等. 喉鳞状细胞癌中 PUMA、p53 基因的表达及其临床意义[J]. 武汉大学学报: 医学版, 2006, 27(1): 57-59.
- [16] Karst AM, Dai DL, Martinka M, et al. PUMA expression is significantly reduced in human cutaneous melanomas[J]. Oncogene, 2005, 24(6): 1111-1116.
- [17] 张克君, 李德春, 朱东明. PUMA 蛋白在胰腺癌组织中表达及意义[J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(5): 644-647.
- [18] Ito H, Kanzawa T, Miyoshi T. Therapeutic efficacy of PUMA for malignant glioma cells regardless of p53 status[J]. Hum Gene Ther, 2005, 16(6): 685-698.
- [19] Claude L, Mornex F. Chemoradiation in pancreatic carcinoma[J]. Cancer Radiother, 2003, 7(4): 254-65.
- [收稿日期] 2007-12-12 [修回日期] 2008-02-15
- [本文编辑] 韩丹

· 读者 · 作者 · 编者 ·

化学元素和核素符号规范书写的要求

化学符号虽然是化学专业的学术交流语言,但在生物医学领域也有很广泛的使用。化学符号的书写有其特殊的规律和要求,生物医学论文中必须重视化学符号书写的规范化。根据 GB3102.8-93《物理化学和分子物理学的量和单位》的规定,把化学元素和核素符号书写的规范要求介绍如下:

- (1) 元素或核素的单字母符号均用正体大写,双字母符号首字母正体大写,第二个字母用正体小写。
- (2) 核素的核子数(质子数)应标注在元素符号的左上角,例如: ^{60}Co , ^{32}P , $^{99\text{m}}\text{Tc}$, ^{125}I 等;过去习惯把核子数标注在元素符号右上角的写法是错误的,例如: N^{14} , Co^{60} 等。
- (3) 离子价态的字符应标注在元素符号的右上角,例如: H^+ , Cl^- , O^{2-} , Mg^{2+} , Al^{3+} , PO_4^{3-} 等,不应写成 O^{-2} , O^{--} , Mg^{+2} , Mg^{++} , Al^{+++} , PO_4^{-3} 等。
- (4) 激发态的字符(电子激发态用 *; 核子激发态用正体 m,也可用 *)标注在元素或核素符号的右上角,例如: $^{110}\text{Ag}^{\text{m}}$, $^{110}\text{Ag}^*$, He^* , NO^* 等。
- (5) 分子中核素的原子数标注在核素符号右下角,例如: H_2 , FeSO_4 等。
- (6) 质子数(原子序数)标注在元素符号左下角,例如: $_{82}\text{Pb}$, $_{26}\text{Fe}$ 等。
- (7) 对于形状相似的元素符号、化合物的化学式符号,书写时应注意区分,如:Co(钴)—CO(一氧化碳),No(锘)—NO(一氧化氮),Ba(钡)—Ra(镭),Nb(铌)—Nd(钕)—Np(镎),HF(氟化氢)—Hf(铪)等。

(本刊编辑部)