

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.02.008

· 基础研究 ·

Raf 激酶抑制蛋白增强卵巢癌细胞的化疗敏感性

宋继文¹,高 燕²,林璨璨¹,李宏钊¹,姚 智¹,邓为民¹(1. 天津医科大学免疫学教研室,天津 300070; 2. 天津市中心妇产科医院 妇产科,天津 300070)

[摘要] 目的:探讨 Raf 激酶抑制蛋白(Raf kinase inhibitor protein, RKIP)对卵巢癌 SKOV-3 细胞化疗敏感性的影响。方法:以脂质体法将含有人全长 *RKIP* 基因的真核表达质粒 pcDNA3.1-ssRKIP 转染入 SKOV-3 细胞中,Western blotting 检测 SKOV-3 细胞中 RKIP 蛋白的表达。不同浓度顺铂作用转染后的 SKOV-3 细胞,MTS 法观察 *RKIP* 基因转染对顺铂处理后 SKOV-3 细胞增殖的影响,流式细胞仪检测 *RKIP* 基因转染对顺铂诱导 SKOV-3 细胞凋亡及细胞周期的影响。结果:pcDNA3.1-ssRKIP 转染的 SKOV-3 细胞 RKIP 表达明显升高。不同浓度顺铂处理细胞 24、48、72 h 后,*RKIP* 基因转染细胞增殖抑制率显著高于对照细胞($P < 0.05$)。用 $2.5 \mu\text{g/ml}$ 顺铂作用 SKOV-3 细胞 24 h 后,*RKIP* 转染细胞的凋亡率为 $(10.86 \pm 0.73)\%$,明显高于未转染细胞的 $(4.27 \pm 0.67)\%$ 和空质粒转染细胞的 $(4.02 \pm 0.43)\%$ ($P < 0.01$);在无顺铂作用情况下,*RKIP* 转染细胞的凋亡率为 $(3.11 \pm 0.78)\%$,仍然高于未转染细胞的 $(1.51 \pm 0.13)\%$ 和转染空质粒细胞的 $(1.97 \pm 0.46)\%$ ($P < 0.01$)。细胞周期检测结果显示,*RKIP* 转染细胞 G_0/G_1 期的比例下降,S 期的比例增加,转染的 SKOV-3 细胞发生 S 期阻滞。结论:*RKIP* 基因的转染可以增加卵巢癌 SKOV-3 细胞对化疗药物顺铂的敏感性。

[关键词] Raf 激酶抑制蛋白;卵巢癌;顺铂;化疗敏感性

[文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2010)02-0155-06

Raf kinase inhibitor protein enhances chemosensitivity of ovarian cancer cells

SONG Ji-wen¹, GAO Yan², LIN Can-can¹, LI Hong-zhao¹, YAO Zhi¹, DENG Wei-min¹(1. Department of Immunology, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Gynecology and Obstetrics, Central Maternity Hospital of Tianjin, Tianjin 300070, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of Raf kinase inhibitor protein (RKIP) on the chemosensitivity of ovarian cancer SKOV-3 cells. **Methods:** Eukaryotic expression plasmid pcDNA3.1-ssRKIP containing full-length human RKIP cDNA was transfected into ovarian cancer cell line SKOV-3 by lipofect assay. Expression of RKIP in SKOV-3 cells was determined by Western blotting analysis. pcDNA3.1-ssRKIP-transfected SKOV-3 cells were treated with different concentrations of cisplatin, and the effect of RKIP on the proliferation of SKOV-3 cells treated with cisplatin was measured by MTS assay. Flow cytometry was used to detect the effect of RKIP on changes of apoptosis and cell cycle of SKOV-3 cells after cisplatin treatment. **Results:** The expression of RKIP in SKOV-3 cells was significantly increased after transfection with pcDNA3.1-ssRKIP. The growth inhibitory rate of SKOV-3 cells in pcDNA3.1-ssRKIP transfection group was significantly higher than that in the control group after treatment with different concentrations of cisplatin for 24 h, 48h or 72 h ($P < 0.05$). After treatment with cisplatin at $2.5 \mu\text{g/ml}$ for 24 hours, pcDNA3.1-ssRKIP-transfected SKOV-3 cells showed a significantly higher percentage of apoptosis ($10.86 \pm 0.73\%$) than non-transfected cells ($4.27 \pm 0.67\%$) and empty vector-transfected cells ($4.02 \pm 0.43\%$). Without cisplatin treatment, the percentage of apoptosis for SKOV-3 cells transfected with pcDNA3.1-ssRKIP was $(3.11 \pm 0.78)\%$, which was significantly higher than those of the non-transfected cells ($1.51 \pm 0.13\%$) and empty vector-transfected cells ($1.97 \pm 0.46\%$). After cisplatin treatment, there were fewer cells in G_0/G_1 phase and more cells in S phase in pcDNA3.1-ssRKIP-transfected cells compared with the control cells, suggesting that cisplatin caused more S phase arrest in transfected cells. **Conclusions:** Over-expression of *RKIP* gene can increase chemosensitivity of ovarian cancer SKOV-3 cells to cisplatin.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 30670801);天津市科委基金资助项目(No. 06YFJMJC08300)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30670801), and the Foundation from Tianjin Municipal Science and Technology Commission (No. 06YFJMJC08300)

[作者简介] 宋继文(1984-),男,河北省保定市人,硕士,主要从事肿瘤生物治疗研究。E-mail:songjiwen001@hotmail.com

[通信作者] 邓为民(DENG Wei-min, corresponding author), E-mail:dengwm67@yahoo.com.cn

[**Key words**] Raf kinase inhibitory protein(RKIP); ovarian cancer; cisplatin; chemosensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(2): 155-160]

Raf 激酶抑制蛋白(raf kinase inhibitor protein, RKIP)能与 Raf-1 结合,属于磷脂酰乙醇胺结合蛋白(phosphatidylethanolamine binding protein, PEBP)家族 4 个亚类之一^[1]。RKIP 在许多癌症中被列为肿瘤转移抑制因子之一,最近报道其在卵巢癌^[2]和乳腺癌^[3]中亦发挥了这样的作用,且表达水平同肿瘤转移能力呈负相关。Chatterjee 等^[4]用 *RKIP* 基因转染前列腺癌细胞系,观察到抵抗药物细胞株的化疗敏感性有所提高。卵巢癌细胞株是否有同样效果目前国内外均未见报道。顺铂(cisplatin, DDP)具有抗癌谱广、作用强等特点,作为卵巢癌一线化疗药物取得了良好的疗效。近年来顺铂与紫杉醇联合应用已成为卵巢癌化疗的最佳组合,但是卵巢癌细胞易对顺铂产生耐药,影响了临床的应用^[5]。本实验将 *RKIP* 基因转染卵巢癌 SKOV-3 细胞,检测其对化疗敏感性的影响,旨在探索降低顺铂耐药的途径,为卵巢癌的基因治疗开拓新的思路。

1 材料与方 法

1.1 主要实验材料

pcDNA3.1(+)是一种带有巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)启动子的质粒型真核表达载体, pcDNA3.1-ssRKIP 是一种带有 sense *RKIP* cDNA 的表达载体,其上游含有 CMV 启动子,由美国 Michigan 大学 Keller 教授馈赠。顺铂购自山东齐鲁制药有限公司。G418、转染试剂 Lipofectamine 2000 为美国 Invitrogen 公司产品, RKIP 抗体、内参抗体购自 Santa 公司,曝光 ECL 显色液为天根公司产品,单溶液细胞增殖分析试剂(MTS)购自 Sigma 公司,凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物技术公司。胎牛血清和含双抗、无双抗 RPMI 1640 培养基购自天润善达公司。菌种 *E. coli* DH5 α 、人卵巢癌 SKOV-3 细胞株由本教研室保存。SKOV-3 细胞株和其他本文涉及到的细胞株,均用含 10% 小牛血清的培养液置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱培养。流式细胞仪是美国 BD 公司产品。

1.2 *RKIP* 真核表达载体对 SKOV-3 细胞的转染

采用脂质体法将质粒转染到 SKOV-3 细胞中,按照 Lipofectamine 2000 转染试剂的说明书操作。步骤如下:接种 SKOV-3 细胞(5 \times 10⁵/孔)至 6 孔细胞培养板中,使其在转染时密度达 80% 左右。转染前 1 h 更换为无抗生素的完全培养基,2.5 ml/孔。对于每孔细胞,使用 250 μ l 无抗生素无血清的 RPMI

1640 稀释 4 μ g 质粒 DNA, 250 μ l 无抗生素无血清的 RPMI 1640 稀释 10 μ l Lipofectamine 2000 试剂。将稀释的 DNA 和稀释的 Lipofectamine 2000 混合在一起(总体为 500 μ l),在室温保温 20 min。直接将 500 μ l 复合物加入到每孔中,摇动培养板,轻轻混匀。转染 48 h 后加入新鲜的 RPMI 1640 选择培养基(含 20% FBS, 400 μ g/ml G418),每 2 ~ 3 d 更换 1 次,待至未转染的 SKOV-3 细胞(空白对照)全部死亡后,将 G418 浓度降至原浓度的 1/4(100 μ g/ml), 2 ~ 3 周后获得阳性克隆。挑取孤立良好的克隆,将其消化转移到 24 孔培养板并扩大培养,经鉴定后取 RKIP 表达最高组进行后续实验。

1.3 Western blotting 检测 SKOV-3 细胞 RKIP 蛋白的表达

转染 pcDNA3.1(+)-ssRKIP 组筛选出 10 个单克隆,命名为 ssRKIP#1 ~ ssRKIP#10,扩大培养并制备全细胞裂解液,经 BCA 蛋白定量后,各取 40 μ g 蛋白进行鉴定。SDS-PAGE 总蛋白分离后,湿转到 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉封闭 2 h 后,1:200 的 RKIP 抗体、1:5 000 的 β -actin 抗体孵育,4 $^{\circ}$ C 过夜。ECL 液显色后曝光。胶片扫描后用 Totallab2.01 软件分析。

1.4 MTS 法检测顺铂对 SKOV-3 细胞体外增殖能力的影响

将对数生长期的细胞分为未转染对照组、转染空载体 pcDNA3.1(+)对照组和转染质粒 ssRKIP 实验组(以下简称 SKOV-3 组, pcDNA3.1 组和 RKIP 组),调整细胞密度至 1 \times 10⁴/ml,接种于 96 孔细胞培养板中,100 μ l/孔,5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 下孵育 24 h。弃上清,每孔分别加入 100 μ l 培养基配置的不同浓度的顺铂,使其终质量浓度分别为 0.625、1.25、2.5、5、10 μ g/ml。每种细胞的每个药物浓度设 5 个平行不加药对照孔。5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 下分别孵育 24、48、72 h 后检测。向 2 ml 的 MTS 溶液(2 mg/ml, DPBS 配置)中加入 100 μ l 的 PMS(0.92 mg/ml, DPBS 配置),混匀,制成 MTS 工作液。每孔加入 20 μ l 的 MTS 工作液。5% CO₂、37 $^{\circ}$ C 下孵育 2 h,检测 490 nm 处 *D* 值,计算细胞生长抑制率(inhibition rate, IR), IR(%) = (1 - 给药组 *D* 值 / 对照组 *D* 值) \times 100%。实验重复 3 次。

1.5 流式术检测顺铂对 SKOV-3 细胞周期的影响

细胞分为同上 3 组,每组设置不加药对照。应用血清饥饿法使卵巢癌细胞同步化于 G₀ 期。取细胞于

6孔培养板,弃上清,PBS洗3次,完全去除血清作用。换用含0.05% FBS的1640培养基,5% CO₂ 37℃下孵育24h。细胞的药物处理:弃去原培养基,PBS冲洗细胞2次,加入含5% FBS的1640培养基稀释的顺铂,使其终质量浓度为2.5 μg/ml,每组5个平行孔。药物分别作用24h,收集标本,PBS离心洗涤2次,用70%冰乙醇(PBS配置)-20℃固定。上机前加入RNase A,水浴后PI染色,再加入0.1%的Triton X-100。ModfitLT软件进行细胞周期分析,全部标本的CV值均控制在5%以下。实验重复3次。

1.6 流式术检测顺铂对 SKOV-3 细胞凋亡的影响

分组、用药时间、剂量同上述。用不含EDTA的胰酶消化并迅速收集细胞,PBS洗涤细胞2次(离心1000×g,5min),加入500 μl的Annexin V结合缓冲液悬浮细胞,加入荧光标记的5 μl Annexin V-FITC、5 μl 碘化丙啶并混匀,室温、避光孵育10min,400目筛网过滤,经流式细胞仪检测,每次检测1×10⁵个细胞。实验重复3次。

1.7 统计学处理

采用SPSS13.0统计软件包进行统计学分析,多组数据比较采用单因素方差分析(one-way anova),两两比较用SNK(student-newman-keuls)法,两组数据采用t检验,P<0.05时为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RKIP 基因真核细胞表达载体的转染和鉴定

在G418筛选2周后,转染入RKIP基因的细胞不再死亡。扩大培养后鉴定,结果如图1所示。用Totalab2.01软件进行蛋白分析,与未转染的对照组细胞相比,空载体pcDNA3.1(+)转染组细胞的RKIP蛋白表达水平差别不显著,pcDNA3.1(+)-ssRKIP转染组细胞的RKIP蛋白表达水平明显增高,ssRKIP#1、ssRKIP#4、ssRKIP#10分别增高为对照

组水平的2.03、3.37和2.39倍(图1)。

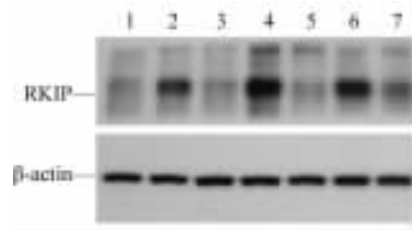


图1 pcDNA3.1(+)-ssRKIP转染后 SKOV-3 细胞 RKIP 蛋白的表达

Fig.1 Expression of RKIP protein in SKOV-3 cells transfected with pcDNA3.1(+)-ssRKIP
1: SKOV-3 cells; 2,4,6: SKOV-3 cells transfected with pcDNA3.1(+)-ssRKIP; 3,5,7: SKOV-3 cells transfected with pcDNA3.1(+)

2.2 RKIP 加强顺铂对 SKOV-3 细胞增殖的抑制

由图2可见,在不同浓度顺铂的作用下,各组细胞增殖均受抑制,但转染RKIP基因的细胞增殖能力明显低于其他组。除72h、10 μg/ml组外,在其他同等时间剂量条件下,pcDNA3.1组细胞的IR值与SKOV-3组细胞之间差异无显著性(P>0.05),RKIP组细胞与其他各组细胞的IR值差异均有统计学意义(P<0.05),细胞增殖抑制率上升。

2.3 RKIP 对顺铂致卵巢癌细胞增殖周期阻滞的影响

RKIP转染SKOV-3细胞、DDP作用SKOV-3细胞均可使G₀/G₁期缩短、S期延长(P<0.05)。DDP作用于RKIP转染的SKOV-3细胞(即RKIP+DDP)后,G₀/G₁期缩短和S期延长更明显(P<0.05),说明RKIP转染促进了DDP对SKOV-3细胞周期的S期阻滞作用。DDP作用于转染空质粒SKOV-3细胞(即pcDNA3.1+DDP),其效果与普通SKOV-3细胞相似,说明空质粒本身不能增加S期阻滞作用(图3,表1)。

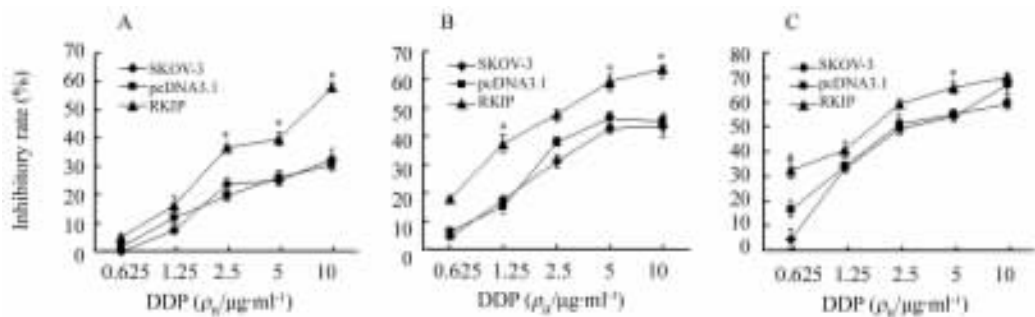


图2 RKIP 增强顺铂对 SKOV-3 细胞增殖的抑制

Fig.2 RKIP enhanced inhibitory effect of DDP on proliferation of SKOV-3 cells

A: 24 h; B: 48 h; C: 72 h. P<0.05 vs pcDNA3.1 or SKOV-3

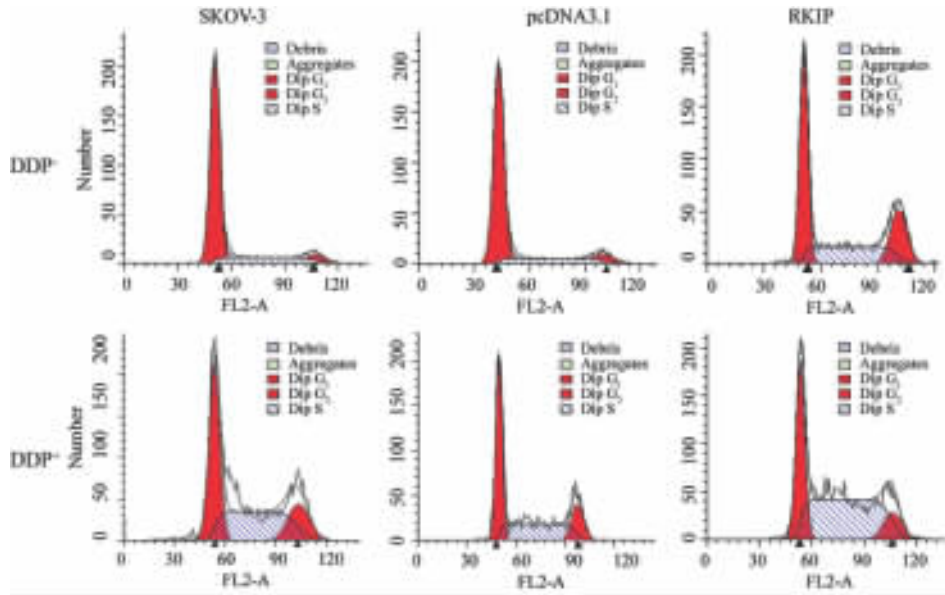


图3 流式细胞术检测 pcDNA3.1(+)-ssRKIP 转染后 SKOV-3 细胞的周期

Fig. 3 Cell cycle of SKOV-3 cells transfected with pcDNA3.1(+)-ssRKIP as detected by flow cytometry

表1 RKIP 增强 DDP 对 SKOV-3 细胞周期的阻滞(%)
Tab.1 RKIP enhanced cell cycle arrest of SKOV-3 cells induced by DDP (%)

Group	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
SKOV-3	70.18 ± 3.95	16.13 ± 0.98	14.87 ± 0.82
SKOV-3 + DDP	40.29 ± 1.29 ^Δ	41.69 ± 1.87 ^Δ	18.85 ± 0.65
pcDNA3.1	65.59 ± 0.55	16.77 ± 1.38	19.16 ± 0.39
pcDNA3.1 + DDP	39.77 ± 1.11	43.16 ± 2.90	19.61 ± 0.83
RKIP	44.12 ± 0.48	33.29 ± 1.12	22.21 ± 0.67
RKIP + DDP	31.22 ± 1.08*	57.29 ± 1.14*	10.81 ± 1.23

^Δ P < 0.05 vs SKOV-3, * P < 0.05 vs SKOV-3 + DDP

2.4 RKIP 增强顺铂对卵巢癌细胞的致凋亡作用

各组细胞凋亡经流式术检测(图4)显示, RKIP 转染 SKOV-3 细胞凋亡率为(3.11 ± 0.30)%, 高于 SKOV-3 的(1.51 ± 0.03)% 及 pcDNA3.1 的(1.97 ± 0.06)% (P < 0.01, 图5)。RKIP 转染 SKOV-3 细胞后 DDP 作用下凋亡率为(10.56 ± 0.53)%, 明显高于相应的 SKOV-3 细胞的(4.29 ± 0.67)% 及 pcDNA3.1 的(4.02 ± 0.43)% (P < 0.01, 图5), 说明 DDP 作用下, RKIP 转染的 SKOV-3 细胞(即 RKIP + DDP)更促进了的细胞凋亡。DDP 作用于空质粒转染 SKOV-3 细胞(即 pcDNA3.1 +

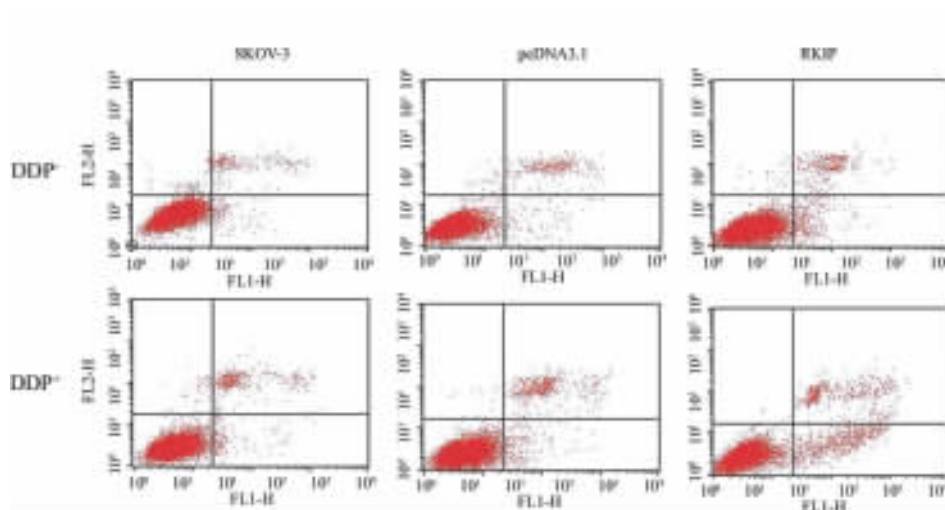


图4 流式细胞术检测 pcDNA3.1(+)-ssRKIP 转染后 SKOV-3 细胞的凋亡

Fig.4 Apoptosis of SKOV-3 cells transfected with pcDNA3.1(+)-ssRKIP as detected by flow cytometry

DDP),其效果与普通 SKOV-3 细胞相似,说明空质粒本身不能增加细胞的凋亡。

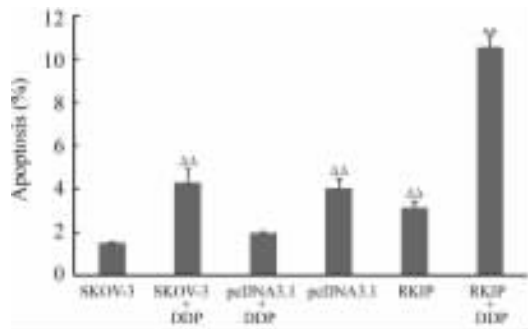


图5 RKIP 增强 DDP 对 SKOV-3 细胞的致凋亡作用

Fig. 5 RKIP enhanced apoptosis of SKOV-3 cells induced by DDP

$\Delta\Delta P < 0.01$ vs SKOV-3; $** P < 0.01$ vs SKOV-3 + DDP

3 讨论

RKIP 在多种组织不同类型的细胞中均有表达,定位于染色体 12q24.23^[6-7]。在信号转导通路中,*RKIP* 能抑制性结合 *Raf-1*, 干扰下游的 MAPK 通路^[8];它对 G 蛋白偶联受体信号转导通路具有正向调节作用^[9];抑制 *RKIP* 能增强 NF- κ B 的转录,过表达 *RKIP* 能减少 NF- κ B 基因水平的转录^[10]。这些信号通路在细胞生长、增殖、分化和肿瘤发生等多个过程中都发挥着调节作用。本实验室同 Michigan 大学合作对前列腺癌研究过程中,在寻找药物靶点的时候,发现了 *RKIP* 有抑制肿瘤转移的作用^[11]。因此,*RKIP* 基因在肿瘤治疗中有潜在的价值。

凋亡的生物学意义极其广泛,其激活失控可以导致包括癌症以及自身免疫病等一系列的疾病^[12]。目前大多数化疗药物就是通过诱导细胞凋亡清除肿瘤细胞,细胞凋亡路径的破坏导致了耐药的产生^[13]。顺铂是卵巢癌治疗的一线用药,但临床和实验均证实肿瘤细胞易对其耐药,影响了疗效,这是临床亟待解决的问题。

本实验用携 *RKIP* 基因的真核细胞表达载体转染卵巢癌 SKOV-3 细胞株,构建了上调 *RKIP* 表达的卵巢癌细胞,以空载体对照排除了质粒载体的影响。应用 0.2 ~ 10 μ g/ml 的顺铂处理各组细胞,药物浓度符合人体血浆环境^[14]。MTS 检测细胞增殖较 MTT 步骤简化,对细胞损伤较小,结果更加可靠^[15]。本实验 MTS 结果表明,转染 *RKIP* 基因组与对照组数值有统计学差异 ($P < 0.05$),增殖抑制明显。Lee^[16]报道 *RKIP* 的下调对肝癌细胞的增殖和转移

起到促进作用,事实上这同本研究上调 *RKIP* 表达降低了细胞增殖的结论是一致的。本实验选取其中药物浓度较低、时间较短的 2.5 μ g/ml 剂量,对各组细胞作用 24 h 后使用流式细胞仪分析它们的周期、凋亡,发现转染组 G_0/G_1 期缩短、S 期延长。由此推测,这可能是 *RKIP* 基因参与细胞周期的某个调控点作用的结果。S 期阻滞可以对细胞的增殖起到抑制作用,也使细胞在 DNA 复制修复阶段更多的时间暴露于顺铂中。转染组的凋亡率上升,说明 *RKIP* 对卵巢癌在顺铂作用下的凋亡起到了增敏作用。Jazirehi 等^[17]发现在霍奇金细胞系中用利妥昔单抗上调 *RKIP* 的表达可以抑制 NF- κ B 途径,降低抗凋亡基因的表达,改变了抗凋亡和促凋亡信号通路的平衡。因此,药物抵抗的淋巴瘤 B 细胞系对药物介导的凋亡敏感。Baritaki 等^[18]认为 *RKIP* 通过抑制核转录因子 *YY1* (yin yang 1) 和上调 *DR5* (death receptor 5) 表达,提高了肿瘤细胞对 TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand) 介导凋亡的敏感性。近期的研究^[19-21]表明,新蛋白抑制因子 NPI-0052 抑制 Snail 蛋白、诱导 *RKIP* 表达,调节了 *RKIP*-NF- κ B-Snail 循环,达到对癌细胞的化疗药物增敏作用。*RKIP* 基因对卵巢癌细胞的药物增敏作用是否也由此传导通路介导,有待进一步实验证实。

基因治疗与其他治疗手段如化疗、放疗等联合应用,可以更大程度杀伤肿瘤细胞。分子靶向治疗有高度的针对性,可引起癌症细胞凋亡,现代肿瘤学对其十分重视。*RKIP* 参与了不同路径的信号转导,其编码基因和通路中其他蛋白基因可能就是潜在的治疗靶点。本实验结果表明了过表达 *RKIP* 能增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,其机制有待继续深入探讨。

[参考文献]

- [1] Zeng L, Imamoto A, Rosner MR. Raf kinase inhibitory protein (RKIP): a physiological regulator and future therapeutic target [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2008, 12(10): 1275-1287.
- [2] Li HZ, Wang Y, Gao Y, Shao J, Zhao XL, Deng WM, et al. Effect of Raf kinase inhibitor protein expression on metastasis and progression of human epithelial ovarian cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(6): 917-928.
- [3] Li HZ, Gao Y, Zhao XL, Liu YX, Sun BC, Yang J, et al. Effects of Raf kinase inhibitor protein expression on metastasis and progression of human breast cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2009, 7(6): 832-840.
- [4] Chatterjee D, Bai Y, Wang Z, Beach S, Mott S, Roy R, et al. RKIP sensitizes prostate and breast cancer cells to drug-induced apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(17): 17515-17523.

- [5] Mandic A, Vujkov T, Malbasa Z. Paclitaxel or docetaxel combined with platinum in advanced ovarian cancer [J]? J BUON, 2003, 8(1): 19-22.
- [6] Vallée BS, Tauc P, Brochon JC, Maget-Dana R, Lelièvre D, Metz-Boutigue MH, *et al.* Behaviour of bovine phosphatidylethanolamine-binding protein with model membranes. Evidence of affinity for negatively charged membranes [J]. Eur J Biochem, 2001, 268(22): 5831-5841.
- [7] Odabaei G, Chatterjee D, Jazirehi AR, Goodglick L, Yeung K, Bonavida B. Raf-1 kinase inhibitor protein: structure, function, regulation of cell signaling, and pivotal role in apoptosis [J]. Adv Cancer Res, 2004, 91: 169-200.
- [8] Yeung K, Janosch P, McFerran B, Rose DW, Mischak H, Sedivy JM, *et al.* Mechanism of suppression of the Raf/MEK/extracellular signal-regulated kinase pathway by the Raf kinase inhibitor protein [J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(9): 3079-3085.
- [9] Krosiak T, Koch T, Kaba E, Höllt V. Human phosphatidylethanolamine binding protein facilitates heterotrimeric G protein-dependent signaling [J]. J Biol Chem, 2001, 276(43): 39772-39778.
- [10] Tang H, Park S, Sun SC, Trumbly R, Ren G, Tsung E, *et al.* RKIP inhibits NF-kappaB in cancer cells by regulating upstream signaling components of the IkappaB kinase complex [J]. FEBS Lett, 2010, 584(4): 662-668.
- [11] Fu Z, Peter CS, Zhang LZ, Rubin MA, Dunn RL, Yao Z, *et al.* Effects of Raf kinase inhibitor protein expression on suppression of prostate cancer metastasis [J]. J Natl Cancer Inst, 2003, 95(12): 878-889.
- [12] Solary E, Dubrez L, Evmin B. The role of apoptosis in the pathogenesis and treatment of diseases [J]. Eur Respir J, 1996, 9(6): 1293-1305.
- [13] 曾益新. 肿瘤学 [M]. 2版. 北京:人民卫生出版社, 2004:228.
- [14] 李杰, 安鸿志, 刘彩玉. 高效液相色谱法测定人血浆中顺铂的含量 [J]. 中国药房, 2006, 17(18):1399-1400.
- [15] 王琳, 贾琴, 范能全. 评价细胞毒性方法的探讨 [J]. 泸州医学院学报, 2005, 28(2): 132-134.
- [16] Lee HC, Tian B, Sedivy JM, Wands JR, Kim M. Loss of Raf kinase inhibitor protein promotes cell proliferation and migration of human hepatoma cells [J]. Gastroenterology, 2006, 131(4): 1208-1217.
- [17] Jazirehi AR, Vega MI, Chatterjee D, Goodglick L, Bonavida B. Inhibition of the Raf-MEK1/2-ERK1/2 signaling pathway, Bel-xL down-regulation, and chemosensitization of non-Hodgkin's lymphoma B cells by rituximab [J]. Cancer Res, 2004, 64(19): 7117-7126.
- [18] Baritaki S, Katsman A, Chatterjee D, Yeung KC, Spandidos DA, Bonavida B. Regulation of tumor cell sensitivity to TRAIL-induced apoptosis by the metastatic suppressor Raf kinase inhibitor protein via Yin Yang 1 inhibition and death receptor 5 up-regulation [J]. J Immunol, 2007, 179(8): 5441-5453.
- [19] Wu K, Bonavida B. The activated NF-kappaB-Snail-RKIP circuitry in cancer regulates both the metastatic cascade and resistance to apoptosis by cytotoxic drugs [J]. Crit Rev Immunol, 2009, 29(3): 241-254.
- [20] Bonavida B, Baritaki S, Huerta-Yepez S, Vega MI, Chatterjee D, Yeung K. Novel therapeutic applications of nitric oxide donors in cancer: roles in chemo-and immunosensitization to apoptosis and inhibition of metastases [J]. Nitric Oxide, 2008, 19(2): 152-157.
- [21] Baritaki S, Yeung K, Palladino M, Berenson J, Bonavida B. Pivotal roles of Snail inhibition and RKIP induction by the proteasome inhibitor NPI-0052 in tumor cell chemosensitization [J]. Cancer Res, 2009, 69(21): 8376-8385.
- [收稿日期] 2009-11-29 [修回日期] 2010-02-08
[本文编辑] 王莹

· 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(锕)—NO(氧化氮),Ba(钡)—Ra(镭),Nb(铌)—Nd(钕)—Np(钷),HF(氟化氢)—Hf(铪)等。 (本刊编辑部)