

白花丹醌对人肝癌SK-hep-1细胞增殖及侵袭的影响

曹晓淬 王卉 张红梅 刘怡雯 卢忠心

华中科技大学同济医学院附属武汉市中心医院检验科, 湖北 武汉 430014

[摘要] **背景与目的:** 白花丹醌是中药白花丹的主要活性成分, 对多种肿瘤细胞具有杀伤作用。本研究旨在观察白花丹醌对人肝癌SK-hep-1细胞增殖及侵袭的影响, 并初步探讨其作用机制。**方法:** 在体外应用MTS法、软琼脂克隆形成实验、流式细胞术及Transwell小室观察白花丹醌对细胞增殖及侵袭的影响; 并通过RT-PCR检测白花丹醌对p21、MMP-2及MMP-9的mRNA表达影响。**结果:** 白花丹醌能够明显抑制肝癌SK-hep-1细胞的增殖和克隆形成, 且具有剂量依赖性, 其半数抑制率为22.04 $\mu\text{mol/L}$ 。细胞周期分析显示, 白花丹醌处理后S期细胞数减少, G_0/G_1 期细胞增多; 并且白花丹醌能够抑制SK-hep-1细胞的黏附和侵袭转移。RT-PCR结果显示白花丹醌能够促进p21表达, 而抑制MMP-2及MMP-9的表达。**结论:** 白花丹醌可能是通过上调p21及下调MMP-2/MMP-9的表达水平, 抑制人肝癌SK-Hep-1细胞增殖和侵袭。

[关键词] 增殖; 肿瘤转移; 白花丹醌; 肝癌; SK-hep-1

DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2013.09.05

中图分类号: R735.7 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2013)09-0721-07

The effects of plumbagin on proliferation and metastasis in human liver cancer SK-hep-1 cells

CAO Xiao-cui, WANG Hui, ZHANG Hong-mei, LIU Yi-wen, LU Zhong-xin (Department of Clinical Laboratory, Wuhan Central Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei 430014, China)

Correspondence to: LU Zhong-xin E-mail: lzx71@yahoo.com

[Abstract] **Background and purpose:** Plumbagin is the main active components of traditional Chinese medicine of plumbago zeylanica. The present studies show that plumbagin has a killing effect on tumor cells. This study aimed to investigate the function and primary mechanism of plumbagin on invasion and metastasis of human liver cancer SK-hep-1 cells. **Methods:** With the treatment of plumbagin *in vitro*, cell proliferation and adhesion of SK-hep-1 cells were detected by MTS staining, cell cycle of SK-hep-1 cells were detected by flow cytometry, the self-renewal and propagation abilities of SK-Hep-1 cells were conducted by colony formation assay, invasion in cells were performed using transwell invasion assay, and the p21 and MMP-2/9 mRNA levels were detected by real-time RT-PCR. **Results:** With the treatment of plumbagin, SK-Hep-1 cells proliferation was decreased with plumbagin concentration-dependency and the IC_{50} value of plumbagin in SK-Hep-1 cells was 22.04 mmol/L . The colony formation ability of SK-Hep-1 cells was decreased and the percentage of cells in G_0/G_1 phase was increased in a dose-dependent manner, as compared to control. The cell adhesion and invasion abilities were decreased. The real-time RT-PCR showed that p21 mRNA expression was increased and the MMP-2/9 mRNA was decreased. **Conclusion:** Plumbagin could suppress the proliferation and invasiveness of human liver cancer SK-hep-1 cells *in vitro*, and these effects may be by up-regulation of p21 and down-regulation of MMP-2 and MMP-9.

[Key words] Proliferation; Tumor metastasis; Plumbagin; Hepatocarcinoma; SK-hep-1

肝细胞癌是最常见的恶性肿瘤之一, 全球发病率居第5位, 死亡率居第3位, 而我国肝癌发病人数约占全球的55%, 发病率居我国恶性肿瘤

第2位^[1], 病死率在消化系统恶性肿瘤中居第3位, 仅次于胃癌和食道癌^[2]。目前肝癌的治疗主要采用外科手术切除, 而切除后使用化疗对肝癌的作用非常有限, 因此新药的研究十分必要。

白花丹醌是中药白花丹的主要活性成分, 具有抗菌消炎、抗生殖、抗凝等作用。目前有报道表明, 白花丹醌对多种肿瘤具有杀伤作用, 如Raja、Calu-1、HeLa及Wish等细胞^[3]。本研究旨在探讨白花丹醌对人肝癌SK-hep-1细胞增殖及侵袭的影响, 为治疗肝癌寻找新的治疗药物。

1 材料和方法

1.1 细胞株

人肝细胞癌细胞SK-Hep-1购自美国标准生物制品收藏中心(American Type Culture Collection, ATCC)。

1.2 主要试剂

白花丹醌购自Sigma公司, Transwell小室购自Corning公司, CellTiter 96[®] Aqueous MTS Reagent Powder、低熔点琼脂糖购自Promega公司(USA, 批号: 56966), 吩嗪硫酸甲酯(Phenazine methosulfate, PMS) 购自Sigma-Aldrich公司, MTT、碘化丙啶(Propidium Iodide, PI) 购自Sigma公司, FACS Optimized sheath fluid、Matrigel基质胶购自BD Biosciences Pharmingen公司, SYBR Green Realtime PCR Master Mix购自Toyobo公司。

1.3 细胞培养及药物处理

人肝细胞癌细胞SK-Hep-1以含有10%胎牛血清, 100 IU/mL青、链霉素, 1×丙酮酸钠及1×非必需氨基酸的MEM完全培养液, 在37 °C、CO₂体积分数为5%的培养箱内培养。白花丹醌溶解于二甲亚砜配成0.1 mol/L储备液, 并用无血清的MEM完全培养液配成1 mmol/L的工作液。

1.4 MTS法检测白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞的抑制率

处于对数期的SK-Hep-1细胞经胰酶消化、计数, 并用MEM培养液调整细胞浓度为 5×10^5 个/mL, 接种于96孔细胞培养板中, 每孔100 μL。CO₂体积分数为5%、37 °C的条件下温育24 h后, 往每孔中分别加入不同浓度的含

白花丹醌培养液, 每孔100 μL, 使白花丹醌的终浓度为2.5、5、10、20和40 μmol/L。每种药物浓度设5个复孔, 另设5个阴性对照孔。培养48 h后, 每孔中加入40 μL MTS工作液。37 °C温育2 h后用酶标仪于490 nm处检测A值。计算抑制率(%): 抑制率(%)=1- $A_{\text{实验组均值}}/A_{\text{对照组均值}} \times 100\%$ 。

1.5 流式细胞术检测

人肝癌SK-Hep-1细胞经5、10 μmol/L的白花丹醌处理12 h后, 用胰酶进行消化, 1 000 r/min离心5 min后收集细胞, 再用PBS洗涤2次。将收集的细胞用70%的冰乙醇重悬细胞于-20 °C固定过夜。1 000 r/min离心10 min去除乙醇, PBS液洗涤离心2次, 调整细胞浓度为 1×10^6 /mL。在细胞沉淀中加入终浓度为10 μg/mL的RNase A, 37 °C水浴30 min, 冰浴终止RNase A作用, 加入终浓度为0.1%的Triton X-100和50 μg/mL的PI染液, 混匀, 4 °C避光温育40 min。将细胞用400目筛网过滤, 上流式细胞仪检测, 每次检测 2×10^4 个细胞, FACScalibur流式细胞仪测定荧光强度, 激发波长488 nm, 使用CELLQUEST软件采集数据Modfit LT分析软件进行DNA含量分析, 确定细胞周期分布。

1.6 软琼脂克隆形成实验

将配制好的1.5%琼脂糖放置于水浴锅中融化。待其降温至37 °C时, 用MEM培养基将1.5%的琼脂糖稀释为0.5%琼脂糖, 加入12孔板中, 每孔1 mL, 凝固后备用。将预先用5 μmol/L、10 μmol/L的白花丹醌处理6 h的人肝癌SK-Hep-1细胞消化计数, 并用含0.3%琼脂糖MEM培养基将细胞浓度调整为200个/mL, 分别加入到预先铺好的半固体培养基的12孔细胞培养板中, 每孔1 mL, 使其形成双琼脂层。待上层琼脂凝固后, 置37 °C、CO₂体积分数为5%的温箱内培养。培养过程中每孔加入0.5 mL的MEM培养基, 使琼脂保持适当的湿度。2周后在12孔板中每孔内加入0.5 mL MTT (0.5 mg/mL)。37 °C避光温育30 min后, 显微镜下计数所形成细胞数大于50个的克隆数, 计算克隆形成率。克隆形

成率(%)=形成克隆数/接种细胞数×100%。

1.7 细胞黏附率实验

将4℃预冷后的96孔板每孔加入25 μL Matrigel胶(0.2 mg/mL), 37℃温育12 h后, 每孔加入含2%BSA的PBS 20 μL, 封闭非特异性位点。将处于对数生长期的SK-Hep-1细胞, 经胰酶消化计数, 用含0.1% BSA的MEM调整浓度至 5×10^5 /mL, 100 μL/孔加入到已包被Matrigel胶的96孔板中, 每组设5个复孔, 实验组96孔板中每孔加入白花丹醌工作液, 使终浓度为1 μmol/L及2.5 μmol/L(经试验证明2.5 μmol/L的白花丹醌对细胞的增殖无影响, 故本研究中对侵袭和黏附能力的测定采用1 μmol/L及2.5 μmol/L两个浓度组), 对照组96孔板中加入无血清MEM培养基, 37℃、CO₂体积分数为5%的条件下温育1 h。

PBS冲洗弃去未黏附的细胞, 每个细胞培养孔中加入20 μL的MTS工作液。CO₂体积分数为5%、37℃下温育2 h, 490 nm处检测吸光度(A)值。计算细胞黏附率, 细胞黏附率(%)= $A_{\text{实验组均值}}/A_{\text{对照组均值}} \times 100\%$ 。

1.8 Transwell小室检测

Transwell小室4℃预冷, 将25 μL的趋化因子FN(0.2 mg/mL)涂在小室底部, 超净台内风干。再将25 μL的Matrigel胶(0.2 mg/mL)包被于小室上层, 37℃、CO₂体积分数为5%的环境中温育1 h后备用。取SK-Hep-1细胞, 用PBS溶液冲洗3遍, 计数, 用含0.1%BSA的MEM培养基调整浓度至 1×10^6 /mL, 用量100 μL, 加入到已包被Matrigel胶且底部涂有趋化因子FN的Transwell小室上层, 在24孔板中加入含血清的MEM培养基, 600 μL/孔, 将小室浸入24孔板的条件培养基中。将小室分为3组, 每组设3个

平行小室, 实验组在小室上层加入白花丹醌工作液, 使终浓度为1 μmol/L及2.5 μmol/L, 对照组小室中加入无血清MEM培养基, 37℃、CO₂体积分数为5%的环境中温育24 h。用棉棒擦去微孔滤膜上未侵袭的细胞, HE染色, 中性树脂封片。200倍光学显微镜下计数膜上、下、左、右、中5个视野穿过滤膜的细胞数, 计算平均值。

1.9 RT-PCR检测

5 μmol/L及10 μmol/L的白花丹醌处理人肝癌SK-Hep-1细胞12 h后, 用TRIzol提取细胞总RNA, 逆转录成cDNA, 然后进行RT-PCR试验。反应体系为每管反应体系如下: SYBR Green Real-Time PCR Master Mix 12.5 μL, 上游引物(2.5 μmol/L)2 μL, 下游引物(2.5 μmol/L)2 μL, cDNA工作液5 μL, ddH₂O 3.5 μL。PCR扩增条件为: 95℃预变性60 s; 然后95℃变性15 s, 退火15 s 60℃, 72℃延伸45 s, 扩增40个循环。每次延伸步骤结束, 掺入到DNA双链中SYBR Green的荧光强度, 反映当时的PCR产物形成量, 所以在每个循环延伸阶段采集数据。用β-actin基因的表达量作为内参, 校正目的基因的表达量, 计算公式为: 相对表达量= $2^{-\Delta CT}$, $\Delta CT = CT_{(\text{目的基因})} - CT_{(\beta\text{-actin})}$ 。引物序列检索自在线引物库primer bank, 引物由北京奥科生物技术有限责任公司合成并纯化。各检测基因及引物序列见(表1)。

1.10 统计学处理

相关数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS 16.0统计软件进行one-way ANOVA及t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表1 Real-time PCR 引物基因名称引物序列

Tab. 1 Primer sequence for real-time PCR

Gene name	Primer sequence
p21	Forward primer: 5'-AGCAGAGGAAGACCATGTGGAC-3'
	Reverse primer: 5'-GGCGTTTGGAGTGGTAGAAATC-3'
MMP-2	Forward primer: 5'-CCCACTGCGGTTTTCTCGAAT-3'
	Reverse primer: 5'-CCCACTGCGGTTTTCTCGAAT-3'
MMP-9	Forward primer: 5'-AGACCTGGGCAGATTCCAAAC-3'
	Reverse primer: 5'-CGGCAAGTCTCCGAGTAGT-3'
β-actin	Forward primer: 5'-TTGCCGACAGGATGCAGAAGGA-3'
	Reverse primer: 5'-AGGTGGACAGCGAGGCCAGGAT-3'

2 结 果

2.1 白花丹醌抑制人肝癌SK-Hep-1细胞的体外增殖

MTS法检测结果显示, 不同浓度的白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞增殖均有抑制作用, 半数抑制率的浓度为22.04 $\mu\text{mol/L}$ (图1)。

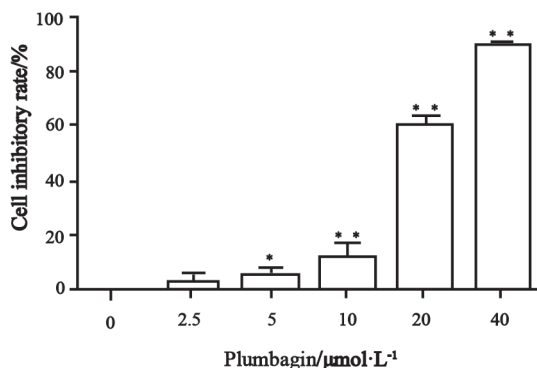


图1 白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞增殖抑制作用
Fig. 1 Inhibition effect of plumbagin on SK-Hep-1 cells proliferation.

*: $P < 0.05$ compared with the control; **: $P < 0.01$ compared with the control.

2.2 白花丹醌影响人肝癌SK-Hep-1细胞的周期分布

流式细胞仪检测结果显示, 5 $\mu\text{mol/L}$ 及10 $\mu\text{mol/L}$ 白花丹醌作用细胞后, 处于 G_0/G_1 期的细胞增多, 而处于S期及 G_2/M 期的细胞数减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图2, 表2)。

2.3 白花丹醌可抑制人肝癌SK-Hep-1细胞的克隆形成

软琼脂克隆形成实验结果显示, 人肝癌SK-Hep-1细胞经5 $\mu\text{mol/L}$ 及10 $\mu\text{mol/L}$ 的白花丹醌处理后其克隆形成能力明显降低(对照组的克隆形成率为12.67%, 5 $\mu\text{mol/L}$ 组为4.50%, 10 $\mu\text{mol/L}$ 组为2.50%, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图3)。

2.4 白花丹醌抑制人肝癌SK-Hep-1细胞黏附率

研究结果显示, 人肝癌SK-Hep-1细胞经白花丹醌处理后, 1 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞的黏附率为77.80%, 而2.5 $\mu\text{mol/L}$ 组细胞的黏附率为60.00%, 与对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$, 图4)。

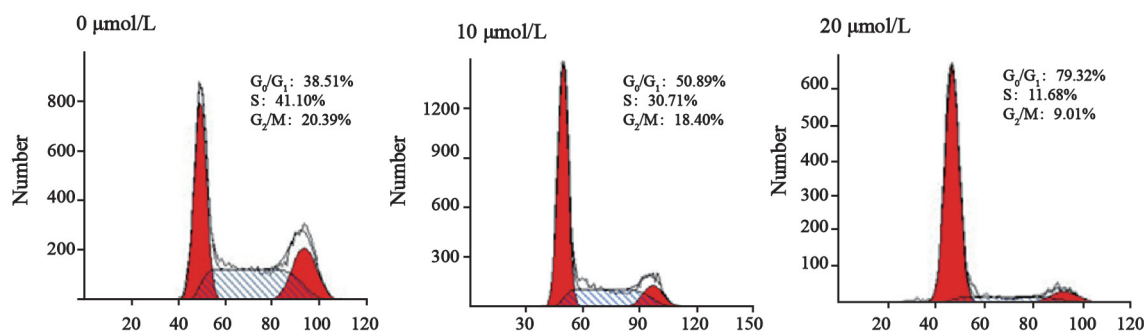


图2 白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞周期分布的影响

Fig. 2 Inhibition effect of plumbagin on SK-Hep-1 cells cell cycle distribution

表2 白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞周期分布的影响

Tab. 2 Inhibition effect of plumbagin on SK-Hep-1 cells cell cycle distribution

Plumbagin/ $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$	<i>n</i>	G_0/G_1 phase	S phase	G_2/M phase	(%)
0	3	38.51±0.36	41.10±0.11	20.39±0.47	
5	3	50.89±0.87**	30.71±0.94**	18.40±1.57	
10	3	79.32±1.02**	11.68±1.02**	9.01±1.21**	

** : $P < 0.01$, compared with control cells.

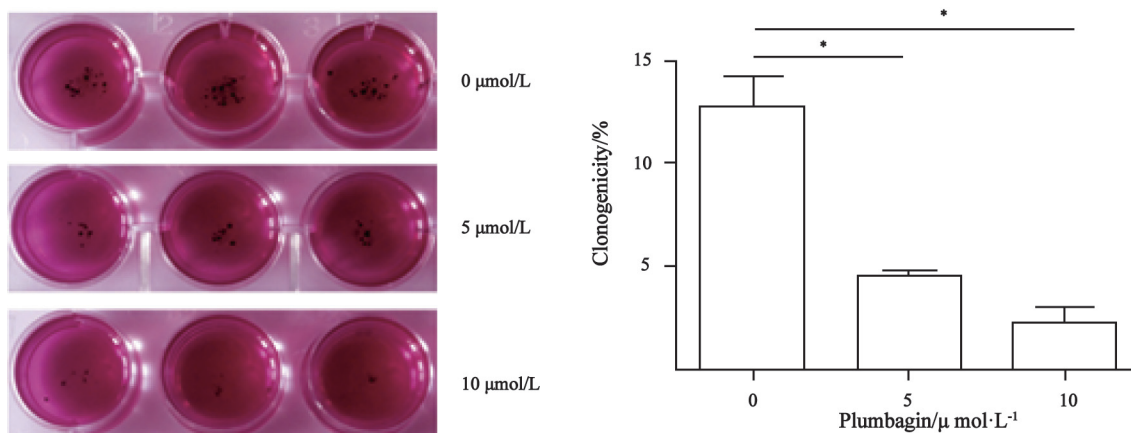


图3 白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞克隆形成率的影响

Fig. 3 Effect of plumbagin on SK-Hep-1 cells clonogenicity potential

A: The clone which dyed with MTT; B: The clone that contains more than 50 cells of 5 μmol/L and 10 μmol/L plumbagin groups compared with the control; Values represent the $\bar{x} \pm s$, $n=5$; *: $P < 0.05$ compared with the control.

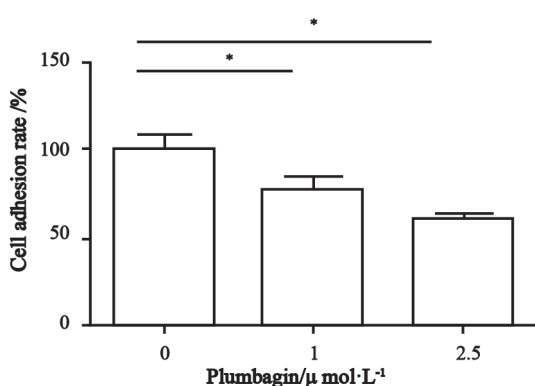


图4 白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞黏附能力的影响

Fig. 4 Inhibition effect of plumbagin on SK-Hep-1 cells adhesion potential

*: Compared with the control, $P < 0.05$.

2.5 白花丹醌可抑制人肝癌SK-Hep-1细胞的体外侵袭

1 μmol/L及2.5 μmol/L白花丹醌均能够抑制人肝癌SK-Hep-1细胞的体外侵袭，其穿膜细胞数与对照组相比明显降低，平均穿膜细胞数对照组为216，1 μmol/L组为97，2.5 μmol/L组为35，差异均有统计学意义($P < 0.05$ ，图5)。

2.6 白花丹醌可抑制人肝癌SK-Hep-1细胞的p21、MMP-2及MMP-9 mRNA表达

本研究选择与细胞周期相关的基因p21以

及与侵袭相关的基因MMP-2及MMP-9进行了检测，结果显示，5 μmol/L和10 μmol/L白花丹醌处理组细胞p21 mRNA表达是对照组的172.67%和293.7% ($P < 0.05$)，MMP-2 mRNA表达是对照组的61.00%和25.33% ($P < 0.05$)，MMP-9 mRNA表达是对照组的51.33%和33.00% ($P < 0.05$)，表明白花丹醌可调节肿瘤增殖及转移相关基因的转录(图6)。

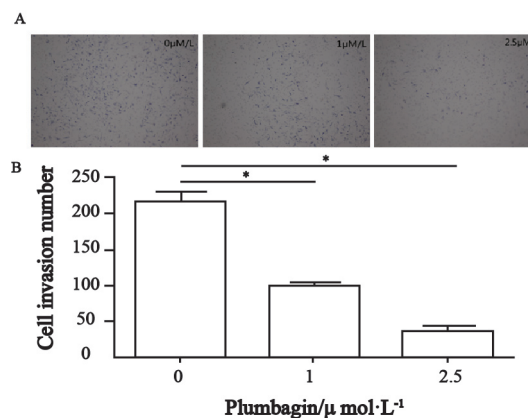


图5 白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞侵袭能力的影响

Fig. 5 Effect of plumbagin on SK-Hep-1 cells invasion potential.

A: Cells penetrated through Matrigel-coated Transwell chambers (8 μm pore size) and photographed at 200× magnification; B: The penetrated cells of 1 μmol/L and 2.5 μmol/L Plumbagin groups compared with the control; Values represent the $\bar{x} \pm s$; Bars indicate SD, $n=5$; *: $P < 0.05$ compared with the control.

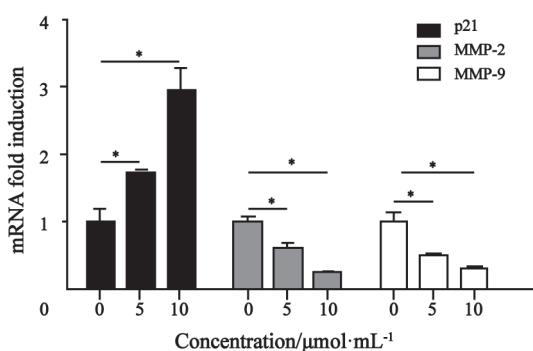


图6 白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞p21、MMP-2及MMP-9 mRNA表达的影响

Fig. 6 Effect of plumbagin on SK-Hep-1 cells p21, MMP-2 and MMP-9 mRNA expression

*: Compared with the control, $P < 0.05$.

3 讨 论

白花丹醌是从传统药物白花丹中提取出来的一种类似于维生素K3的药物成分^[4],具有抗炎、抗菌、抗凝^[5]、降低血脂^[6]等作用。有研究表明白花丹醌对多发性骨髓瘤、肺癌、宫颈癌、卵巢癌、胰腺癌等多种肿瘤细胞有明显的抑制作用^[7-11]。但鲜见白花丹醌抑制人肝癌SK-Hep-1细胞系增殖及侵袭能力的报道。

本研究首先通过MTS法观察了人肝癌SK-Hep-1对白花丹醌的敏感性,本研究发现,5~40 $\mu\text{mol/L}$ 的白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞均有抑制作用,随着浓度的增高,细胞的增殖能力逐渐下降,其半数抑制率为22.04 $\mu\text{mol/L}$;并能够明显抑制人肝癌SK-Hep-1细胞的自我更新及无限增殖能力。Kuo等^[12]发现白花丹醌能使乳腺癌细胞G₂/M期阻滞,本研究发现,白花丹醌能使人肝癌SK-Hep-1细胞处于G₀/G₁期的细胞数增多,而处于S期及G₂/M期的细胞数减少,与上述文献报道一致。本研究还应用Matrigel胶Transwell小室重建BM(基底膜)的侵袭模型观察了白花丹醌对人肝癌SK-Hep-1细胞体外侵袭能力的影响,结果发现白花丹醌能够显著降低人肝癌SK-Hep-1细胞的体外侵袭能力。本研究对白花丹醌抑制人肝癌SK-Hep-1的增殖和体外侵袭能力的机制进行了初步

探讨。p21作为细胞周期抑制蛋白,可以通过抑制细胞周期蛋白依赖性激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)的活性来控制细胞由G期进入S期抑制增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的活性,从而抑制DNA的合成,使细胞停止分化,出现凋亡^[13]。MMPs能够降解细胞外基质和基底膜,参与许多生理和病理过程,是肿瘤浸润转移过程中最重要的调控分子之一,涉及肿瘤浸润和转移、血管的生成,在肿瘤的发展中起关键作用。MMP-2是一种锌依赖性蛋白酶,其作用底物为IV型胶原、VII型胶原、X型胶原和明胶,而它们是ECM和血管基底膜的主要成分,MMP-2的表达增高与结直肠癌转移密切相关,可作为临床判断结直肠癌转移及预后等生物学行为的重要参考指标^[14]。MMP-9是MMPs中降解基底膜最重要的蛋白酶之一,在组织中MMP-9以酶原的形式由细胞分泌产生,被各种活化因子激活,进而发挥酶解效应。近年来,国内外学者在许多肿瘤组织中都发现有较高的MMPs的表达,并且其表达程度与肿瘤的侵袭性有关^[15-16]。本研究结果还表明,白花丹醌促进p21 mRNA的表达,抑制MMP-2及MMP-9 mRNA的表达。

综上所述,白花丹醌能有效抑制人肝癌SK-Hep-1细胞的增殖及体外侵袭能力,而这种作用可能是与上调p21的表达以及抑制MMP-2及MMP-9的表达有关,表明白花丹醌具有抗肝癌作用。

[参 考 文 献]

- [1] 樊嘉, 王征. 肝移植治疗原发性肝癌的现状 [J]. 肝胆外科杂志, 2011, 19(5): 321-323.
- [2] 林惠珍. 原发性肝癌中晚期中医证候类型的临床流行病学研究 [J]. 南京: 南京中医药大学, 2011: 28-42.
- [3] LIN L C, YANG L L, CHOU C J. Cytotoxic naphthoquinones and plumbagic acid glucosides from *Plumbago zeylanica* [J]. *Phytochemistry*, 2003, 62(4): 619-622.
- [4] SANDUR S K, PANDEY M K, SUNG B, et al. Plumbagin, Vitamin K3 analogue, suppresses STAT3 activation pathway through induction of protein tyrosine phosphatase, SHP-1: potential role in chemosensitization [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8: 107-118.
- [5] SHEN Z, DONG Z, CHENG P, et al. Effects of plumbagin

- on platelet aggregation and platelet-neutrophil interactions [J]. *Planta Med*, 2003, 69: 605-609.
- [6] SHARMA I, GUSAIN D, DIXIT V P. Hypolipidaemic and antiatherosclerotic effects of plumbagin in rabbits [J]. *Indian J Physiol Pharmacol*, 1991, 35: 10-14.
- [7] SANDUR S K, ICHIKAWA H, SETHI G, et al. Plumbagin(5-hydroxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone) suppresses NF-kappaB activation and NF-kappa B-regulated gene products through modulation of p65 and I kappa B alpha kinase activation, leading to potentiation of apoptosis induced by cytokine and chemotherapeutic agents [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281: 17023-17033.
- [8] HSU Y L, CHO C Y, KUO P L, et al. Plumbagin (5-Hydroxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone) induce apoptosis and cell cycle arrest in A549 cells through p53 accumulation via c-Jun NH2-Terminal kinase-mediated phosphorylation at serine 15 in vitro and in vivo [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006, 318: 484-494.
- [9] SRIMVAS P, GOPINATH G, BANERJI A, et al. Plumbagin induces reactive oxygen species, which mediate apoptosis in human cervical cancer cells [J]. *Mol Carcinog*, 2004, 40: 201-211.
- [10] THASNI K A, RAKESH S, ROJINI G, et al. Estrogen-dependent cell signaling and apoptosis in BRCA1-blocked BGI ovarian cancer cells in response to plumbagin and other chemotherapeutic agents [J]. *Ann Oncol*, 2008, 19: 696-705.
- [11] CHEN C A, CHANG H H, KAO C Y, et al. Plumbagin, isolated from *plumbago zeylanica*, induces cell death through apoptosis in human pancreatic cancer cells [J]. *Pancreatol*, 2009, 9: 797-809.
- [12] KUO P L, HSU Y L, CHO C Y. Plumbagin induces G₂-M arrest and autophagy by inhibiting the AKT/mammalian target of rapamycin pathway in breast cancer cells [J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5: 3209-2021.
- [13] 李作生, 李保庆. P21 和P27 基因多态性与肿瘤的相关性 [J]. *国际遗传学杂志*, 2006, 29(04): 317-320.
- [14] 肖秀英, 周晓燕, 孙孟红, 等. MMP-2和C-erbB-2在散发性结肠直肠癌原发及转移灶中表达及意义 [J]. *中国癌症杂志*, 2006, (1): 1-4.
- [15] BABYKUTTY S, SUBOJ P, SRINIVAS P, et al. Insidious role of nitric oxide in migration/invasion of colon cancer cells by upregulating MMP-2/9 via activation of cGMP-PKG-ERK signaling pathways [J]. *Clin Exp Metastasis*, 2012, 29(5): 471-492.
- [16] SUBOJ P, BABYKUTTY S, VALIYAPARAMBIL GOPI D R, et al. Aloe emodin inhibits colon cancer cell migration/angiogenesis by downregulating MMP-2/9, RhoB and VEGF via reduced DNA binding activity of NF- κ B [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 45(5): 581-591.

(收稿日期: 2013-06-06 修回日期: 2013-08-29)

复旦大学继续医学教育项目办班课程表

办班单位: 复旦大学附属肿瘤医院《中国癌症杂志》编辑部

日期	上课时间	授课方式	课程内容	授课教师	单位
2013. 08. 30	《中国癌症杂志》2013年第八期	函授	胰腺癌的病理诊断	王坚	复旦大学附属肿瘤医院
2013. 09. 30	《中国癌症杂志》2013年第九期	函授	胰腺癌的外科治疗	龙江	复旦大学附属肿瘤医院
2013. 10. 30	《中国癌症杂志》2013年第十期	函授	胰腺癌的放疗	蒋国梁	复旦大学附属肿瘤医院
2013. 11. 30	《中国癌症杂志》2013年第十一期	函授	胰腺癌的化疗和中医治疗	孟志强	复旦大学附属肿瘤医院
2013. 12. 30	《中国癌症杂志》2013年第十二期	函授	食管癌的病理诊断	周晓燕	复旦大学附属肿瘤医院
2014. 01. 30	《中国癌症杂志》2014年第一期	函授	食管癌的外科治疗	相加庆	复旦大学附属肿瘤医院
2014. 02. 30	《中国癌症杂志》2014年第二期	函授	食管癌的放疗	赵快乐	复旦大学附属肿瘤医院
2014. 03. 30	《中国癌症杂志》2014年第三期	函授	食管癌的内科治疗	王佳蕾	复旦大学附属肿瘤医院
2014. 04. 30	《中国癌症杂志》2014年第四期	函授	胃癌的病理分期及诊断	盛伟琪	复旦大学附属肿瘤医院
2014. 05. 30	《中国癌症杂志》2014年第五期	函授	胃癌的外科治疗	黄华	复旦大学附属肿瘤医院
2014. 06. 30	《中国癌症杂志》2014年第六期	函授	胃癌的诊断	杨秀疆	复旦大学附属肿瘤医院
2014. 07. 30	《中国癌症杂志》2014年第七期	函授	胃癌的化疗	郭伟剑	复旦大学附属肿瘤医院

约稿内容请侧重于知识的传播: 包括最新的研究进展、诊断标准、治疗规范等。