

丹参酮 II A对肝癌SMMC-7721细胞COX-2表达的影响

徐俊丽, 和水祥, 陈静宏, 符寒, 赵刚, 王艳丽, 任牡丹

■背景资料

研究表明, 肿瘤的发生不仅与肿瘤细胞增殖加快有关, 而且与肿瘤细胞死亡受抑制密切相关。诱导肿瘤细胞凋亡是一条有效的肿瘤治疗途径, 比杀伤肿瘤细胞的治疗有明显的优越性, 寻求高效低毒的肿瘤细胞凋亡诱导剂已成为目前肿瘤治疗的研究热点。

徐俊丽, 和水祥, 符寒, 赵刚, 王艳丽, 任牡丹, 西安交通大学医学院第一附属医院消化内科 陕西省西安市 710061
陈静宏, 西安交通大学医学院病原微生物与寄生虫系 陕西省西安市 710061
徐俊丽, 西安交通大学医学院2004级硕士生, 主要从事慢性肝病的基础与临床研究。

陕西省中医局科研基金项目, No. 2001-040

通讯作者: 和水祥, 710061, 陕西省西安市雁塔西路277号, 西安交通大学医学院第一附属医院消化内科. hesx123@163.net
电话: 029-85322401 传真: 029-85323560

收稿日期: 2006-01-03 接受日期: 2006-03-29

Effect of tanshinone II A on COX-2 expression in hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721

Jun-Li Xu, Shui-Xiang He, Jing-Hong Chen, Han Fu, Gang Zhao, Yan-Li Wang, Mu-Dan Ren

Jun-Li Xu, Shui-Xiang He, Han Fu, Gang Zhao, Yan-Li Wang, Mu-Dan Ren, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University Medical College, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China
Jing-Hong Chen, Department of Microorganism and Parasitology, Xi'an Jiaotong University Medical College, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China

Supported by Scientific Research Foundation of Shaanxi Traditional Chinese Medicine Office, No. 2001-040

Correspondence to: Dr. Shui-Xiang He, 710061, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University Medical College, 277 Yanta West Road, Xi'an 710061, Shaanxi Province, China. hesx123@163.net

Received: 2006-01-03 Accepted: 2006-03-29

Abstract

AIM: To observe the effect of Tanshinone II A on the proliferation and apoptosis of human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721 and its mechanism.

METHODS: The human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721 cultured *in vitro* was treated with different concentrations (final 0.5 mg/L) Tanshinone II A. The proliferation of the cells was measured by MTT assay, and the apoptosis of the cells was investigated by flow cytometry and transmission electron microscopy (TEM). The expression of Cyclooxygenase-2 (COX-2) was detected by immunocytochemistry. The levels of prostaglandin E₂ (PGE₂) in medium

were measured by radioimmunoassay.

RESULTS: Tanshinone II A inhibited the growth of SMMC-7721 cells in a dose-dependent manner. The inhibitory rate reached the peak (69.3%) after 0.5 mg/L Tanshinone II A was used for 48 h, which was significantly higher than that in the controls ($P < 0.01$). Typical features of apoptosis as cell shrinkage, nuclear chromatin condensation, fragmentation, and the formation of apoptotic bodies was found by TEM in the cells treated with Tanshinone II A. FCM analysis showed the apoptotic rates for 24, 48 and 72 h were $7.45\% \pm 0.33\%$, $6.59\% \pm 0.45\%$, and $4.78\% \pm 1.05\%$, respectively, when 5 mg/L Tanshinone II A was used, which were markedly higher than those in the controls (all $P < 0.01$). Both the expression of COX-2 ($P < 0.01$) and the production of PGE₂ ($40.18 \pm 1.37 \mu\text{g/L}$ vs $75.31 \pm 1.64 \mu\text{g/L}$, $P < 0.01$) were decreased significantly after Tanshinone II A treatment as compared with those in the controls.

CONCLUSION: Tanshinone II A inhibits the proliferation and increases the apoptosis of human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721 by down-regulation of COX-2 protein expression.

Key Words: Tanshinone; Cyclooxygenase-2; Hepatocellular carcinoma; Apoptosis

Xu JL, He SX, Chen JH, Fu H, Zhao G, Wang YL, Reng MD. Effect of tanshinone II A on COX-2 expression in hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2006;14(14):1352-1356

摘要

目的: 观察丹参酮 II A对肝癌SMMC-7721细胞生长和凋亡的影响及其作用机制。

方法: 体外培养肝癌SMMC-7721细胞株, 经丹参酮 II A(终浓度0.5 mg/L)作用后, 采用四唑盐(MTT)比色法检测细胞增殖, 透射电镜观察细胞凋亡, 流式细胞仪检测细胞凋亡, 免疫细胞化学SABC法检测COX-2蛋白表达, 放射免疫法检测前列腺素E₂(PGE₂)含量。

结果: 丹参酮 II A 对肝癌细胞的生长有明显的抑制作用, 并呈剂量依赖性. 以 0.5 mg/L 作用终浓度抑制作用最明显, 其 48 h 的抑制率为 69.3%, 与对照组相比差异有显著性 ($P < 0.01$). 电镜下观察, 丹参酮 II A 作用后肝癌细胞表现为细胞皱缩、核染色质浓缩、核碎裂以及凋亡小体形成等凋亡特征性的形态改变. 5 mg/L 丹参酮 II A 作用后, 随着时间的延长, 凋亡率逐渐升高, 48 h 达到高峰, 随后逐渐下降 (24, 48, 72 h 凋亡率分别为 $7.45\% \pm 0.33\%$ 、 $6.59\% \pm 0.45\%$ 、 $4.78\% \pm 1.05\%$), 与对照组比较, 各处理组都有显著性差异 (均 $P < 0.01$), 丹参酮作用组肝癌细胞 COX-2 表达明显减少, 其培养液中 PGE_2 的产生量下降, 与对照组相比差异均有显著性 ($P < 0.01$).

结论: 丹参酮 II A 可能是通过下调 COX-2 mRNA 的表达水平发挥其对肝癌细胞生长抑制及促进凋亡作用.

关键词: 丹参酮; 环氧合酶-2; 肝癌细胞; 凋亡

徐俊丽, 和水祥, 陈静宏, 符寒, 赵刚, 王艳丽, 任牡丹. 丹参酮 II A 对肝癌 SMMC-7721 细胞 COX-2 表达的影响. 世界华人消化杂志 2006;14(14):1352-1356
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/14/1352.asp>

0 引言

丹参是常用的活血化瘀中药之一, 神农本草经记载丹参可破症除瘀. 近年研究表明, 丹参的有效成分丹参酮 II A 可通过杀伤肿瘤细胞, 诱导分化和凋亡等途径发挥其抑癌作用^[1], 但具体作用机制仍不清楚. 我们观察了丹参酮 II A 对肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡及其对 COX-2 表达的影响, 进一步探讨其抗肿瘤机制.

1 材料和方法

1.1 材料 丹参酮 II A 系由中国药物制品检定所提供的化学标准品, 溶解于二甲亚砜 (DMSO, 终浓度为 0.2 g/L) 中 4℃ 冷藏备用. RPMI 1640 培养液, 小牛血清购自 Gibco 公司, 四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 购自 Sigma 公司; 尼美舒利 (Nimesulide) 购自美国 Sigma 公司, DMSO 溶解, 4℃ 冷藏备用; COX-2 鼠抗人 mAb (工作浓度为 1:80) 及免疫细胞化学 SABC 试剂盒 (即用型) 均购自北京中山生物技术中心; PGE_2 放射免疫试剂盒购于武汉博士德试剂公司; 酶标仪为 Sigma 公司产品; FACSCalibur 购自美国 BD 公司. 人肝癌细胞株 (SMMC-7721) 由西安交通大学医学院第一附

属医院临床分子实验中心陈威主任惠赠, 用含 150 mL/L 小牛血清, 50 U/L 青霉素和 50 mg/L 链霉素的 RPMI 1640 培养液, 37℃ 恒温, 50 mL/L CO_2 密闭传代培养.

1.2 方法 将丹参酮 II A 配制成 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10 mg/L 不同浓度, 以 0 mg/L 为阴性对照组, 并设终浓度为 300 $\mu\text{mol/L}$ 尼美舒利为阳性对照组^[2], 其余为处理组, 实验根据 MTT 结果选取最佳作用浓度的丹参酮 II A 处理肝癌细胞.

1.2.1 MTT 比色法检测 SMMC-7721 的增殖 传一代培养的 SMMC-7721 以 150 mL/L 小牛血清的 RPMI 1640 制备细胞悬液 $2 \times 10^8/\text{L}$, 接种于 96 孔板, 每孔 200 μL , 生长 24 h 后, 随机分 8 组, 每组 6 复孔, 1-7 组加入丹参酮 II A 终浓度分别为 0 (空白对照组), 0.1, 0.2, 0.5, 1, 5, 10 mg/L 的培养液, 第 8 组加入 300 $\mu\text{mol/L}$ 尼美舒利作为对照组, 分别作用 24, 48, 72 h 后每孔加新配置的 5 g/L MTT 贮存液 20 μL 继续孵育 4 h 后, 弃上清并每孔加 150 μL 二甲基亚砜溶解细胞内结晶, 酶标 490 nm 波长测定吸光度 (A) 值. 抑制率 = (对照孔 A_{490} - 实验孔 A_{490}) / 对照孔 $A_{490} \times 100\%$.

1.2.2 透射电镜观察 收集处于对数生长期的细胞, 接种于 T-25 培养瓶内, 随机分 3 组加药 (根据细胞毒性试验, 选用丹参酮 II A 0.5 mg/L 作为处理组, 0 mg/L 为阴性对照组, 300 $\mu\text{mol/L}$ 尼美舒利为阳性对照组), 每组各 6 瓶细胞. 药物处理细胞 48 h 后, 胰蛋白酶消化细胞, 置于 EP 管中, 2000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 加入 4℃ 预冷的 20 g/L 戊二醛固定 2 h, PBS 液清洗, 再用 10 g/L 锇酸固定 30 min PBS 液洗, 梯度乙醇脱水, 环氧树脂包埋, 超薄切片机切片, 醋酸铀和枸橼酸铅双色, 透射电子显微镜下观察并摄影.

1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡 收集浓度为 5 mg/L 丹参酮 II A 处理 0, 24, 48, 72 h 后的细胞, 用 2.5 g/L 的胰酶消化后制成单细胞悬液, 1500-2000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 沿管壁缓慢加入 700 mL/L 预冷 (-20℃) 乙醇固定, 4℃ 保存 12 h. 上机检测前 RNA 酶消化, 再加入 PI 染色液, 4℃ 避光 30 min. 采用 FACScort 流式细胞仪对样品进行检测, 每次计细胞数 20 000 个, 激发波长 488 nm, 分析软件 CellQuest 计算凋亡率.

1.2.4 免疫细胞化学染色 以胰蛋白酶消化对数生长期 SMMC-7721 细胞, 制成单细胞悬液, 接种在预先放置盖玻片的 24 孔板上, 随机分 3 组加药 (0, 0.5 mg/L 浓度的丹参酮 II A 组, 300 $\mu\text{mol/L}$ 尼美舒利组), 每组各 5 瓶细胞. 置 37℃ 培养箱中,

■ 研发前沿

目前研究证实 COX-2 在肿瘤的发生、发展过程中起了十分重要的作用, 他的激活是肿瘤发生的早期事件, 且与肿瘤的分级有关, 有促进肿瘤侵袭和转移的潜能, 而抑制或阻断 COX-2 的表达, 有助于抑制肿瘤生长, 减弱其侵袭力, 从而降低消化道肿瘤的发生率. 凋亡基因 COX-2 表达状态与肝癌的形成与转归关系密切, 可作为评价抗癌药物疗效及其作用机制的理想指标.

■ 相关报道

袁淑兰 *et al* 报道丹参酮杀伤肿瘤细胞、诱导其分化和凋亡等途径发挥其抑癌作用. 张必翔 *et al* 研究发现选择性 COX-2 抑制剂尼美舒利能够诱导肝癌细胞 HepG₂ 细胞凋亡, 说明凋亡基因 COX-2 表达状态与肝癌的形成与转归关系密切, 可作为评价抗癌药物疗效及其作用机制的理想指标.

■ 创新盘点

本试验采用免疫细胞化学法观察0.5 mg/L丹参酮II A处理肝癌细胞后COX-2表达情况,与对照组相比明显下调,其催化产物前列腺素E₂的释放水平亦明显下降,与对照组比较差异均有显著性($P<0.01$),考虑丹参酮可能是间接作用于COX-2,下调其表达水平,影响前列腺素E₂释放,发挥肿瘤抑制和凋亡作用。

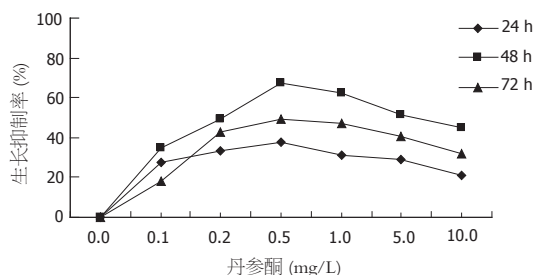


图1 丹参酮抑制SMMC-7721生长。^b $P<0.01$ vs 对照组。

48 h后取出,用PBS清洗,40 g/L多聚甲醛固定10 min后取出自然干燥, -20℃冰箱保存。采用SABC法免疫细胞化学染色,光学显微镜观察。结果判断:全面观察每张切片COX-2定位于细胞质和细胞膜,阳性细胞染色呈棕褐色或棕黄色为阳性,随机选择10个具有代表意义的高倍视野,每个视野计数100个细胞中的阳性细胞数,取平均数作为结果。其中无阳性细胞为(-),阳性细胞数<25%为(+), 25%-55%为(++), >55%为(+++);染色阴性计0分;淡黄色计1分;棕黄色计2分;棕褐色计3分。两种积分相加,积分为0-1分,表示阴性(-);积分为2-3分,表示阳性(+);积分为4-5分,表示阳性(++);积分为6-7分,表示阳性(+++). +视为低表达, ++, +++视为高表达^[3], 计算阳性细胞百分比。

1.2.5 PGE₂的含量测定采用丹参酮对SMMC-7721细胞分泌前列腺素E₂的能力的影响来反映他对COX-2活性的影响。取对数生长期细胞,随机分3组加药(0, 0.5 mg/L浓度的丹参酮II A组, 300 μmol/L尼美舒利组),每组各6瓶细胞。培养48 h后收集上清,存于-20℃备用。取上述细胞培养上清按PGE₂放射免疫试剂盒说明测定PGE₂。

统计学处理 所有实验数据均采用mean±SD表示,用SPSS 11.0软件进行t检验。

2 结果

2.1 丹参酮II A对细胞生长的影响 不同浓度丹参酮II A作用细胞后,细胞生长受到不同程度的抑制,这一抑制作用随丹参酮II A浓度的变化而变化;组间两两均有非常显著性差异($P<0.01$),并且浓度与抑制率间呈现明显的依赖效应(图1)。

2.2 透射电镜观察 未加药的肝癌细胞,细胞核较大,有凹陷,畸形核或分叶核,染色质均匀,细胞表面有毛细状突起(图2A)。给予0.5 mg/L丹参酮II A后,细胞体积缩小,表面出现粗大的突起,细胞器肿胀,核固缩,染色质边集于核膜下,形成新月形小体,核膜消失或突起呈小泡样,核质浓

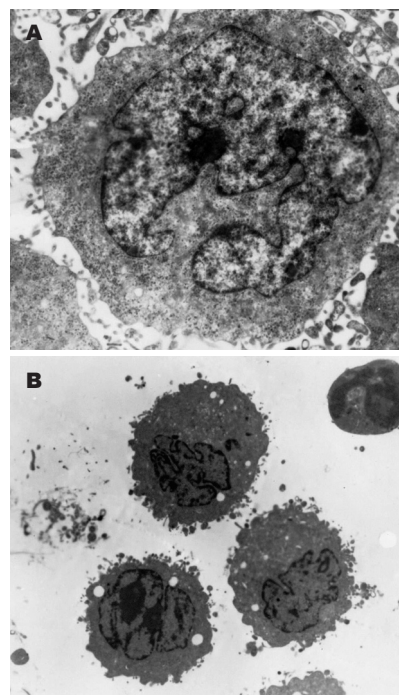


图2 肝癌细胞凋亡超微结构。A: 未加药组 (×5000); B: 丹参酮组 (×3000)。

表1 5 mg/L丹参酮诱导SMMC-7721细胞的凋亡率 (mean±SD)

时间 (h)	凋亡率 (%)
0	1.71 ± 0.06
24	7.45 ± 0.33 ^b
48	6.59 ± 0.45 ^d
72	4.78 ± 1.05 ^f

^b $P<0.01$, ^d $P<0.01$, ^f $P<0.01$ vs 对照组。

缩,发生碎裂,形成凋亡小体,呈早中期的凋亡表现的细胞数明显增多(图2B)。300 μmol/L尼美舒利组除可见凋亡细胞外,还可以见到部分细胞胀大,细胞器肿胀、破坏,辨认不清,细胞核破碎等细胞死亡征象。

2.3 流式细胞术检测丹参酮对SMMC-7721细胞凋亡的影响 FCM定量显示,5 mg/L丹参酮II A作用后,随着时间的延长,凋亡细胞增多,48 h的凋亡率达到最高值,随后逐渐下降,与对照组比较,各处理组都有显著性差异($P<0.01$,表1)。

2.4 SMMC-7721细胞中COX-2的表达 COX-2主要定位于肝癌细胞的胞质,棕黄色颗粒分布于整个胞质或沿核膜周边呈线状分布间质细胞染色差异较大,不计入阳性计数。在0.5 mg/L丹参酮II A组高表达率为73.3%, +++比例较大(图3B)。未加药组(图3A)和尼美舒利组(图3C)高

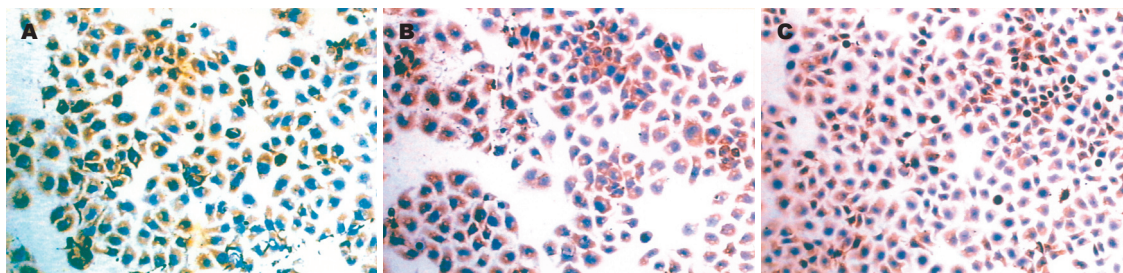


图3 SMMC-7721细胞COX-2的表达SABC法. A: 未加药组; B: 丹参酮组; C: 尼美舒利组.

■应用要点

随着对丹参酮 II A抗癌机制的不断深入研究, 将作为一种植物成分的新型抗癌类药物, 应用于临床治疗.

表2 不同处理组SMMC-7721细胞COX-2表达情况

分组	COX-2表达强度				高表达率 (%)
	-	+	++	+++	
未加药	0	3	6	6	80.0
尼美舒利	0	5	3	7	66.7 ^b
丹参酮	1	3	5	6	73.3 ^d

^b $P < 0.01$, ^d $P < 0.01$ vs 对照组.

表达率分别为80.0%和66.7%, 差异有显著意义($P < 0.01$, 表2).

2.5 丹参酮 II A对SMMC-7721细胞COX-2活性的影响 处理组的PGE₂释放水平, 其值为40.18 ± 1.37 μg/L, 与阴性对照组(75.31 ± 1.64 μg/L)及阳性对照组(51.67 ± 4.37 μg/L)相比, 差异有显著性($P < 0.001$). 说明丹参酮 II A处理后的肝癌细胞COX-2的活性下降, 导致其催化产物PGE₂释放水平下降.

3 讨论

现代医学研究表明, 肿瘤的发生不仅与肿瘤细胞增殖加快有关, 而且与肿瘤细胞死亡受抑制密切相关. 1972年Kerr *et al*^[4]首先提出细胞凋亡的概念以来, 随着对凋亡分子机制的逐步认识, 人们发现细胞凋亡抑制是肿瘤形成的一个共同的重要事件, 诱导肿瘤细胞凋亡是一条有效的肿瘤治疗途径. 比杀伤肿瘤细胞的治疗有明显的优越性, 故寻求高效低毒的肿瘤细胞凋亡诱导剂已成为目前肿瘤治疗的研究热点. 丹参酮 II A是从活血化瘀中药丹参中提取的有效成分, 有研究表明, 丹参酮 II A具有较强的抗癌活性^[5]. 袁淑兰 *et al*^[6]研究报告, 丹参酮杀伤肿瘤细胞, 诱导其分化和凋亡等途径发挥其抑癌作用. 本结果显示, 用不同浓度丹参酮 II A作用于人肝癌细胞后, 对其生长增殖具有较强抑制作用, 且与浓度呈明显的依赖效应. 用0.5 mg/L丹参酮 II

A处理人肝癌细胞48 h后透射电镜观察, 可见细胞体积缩小、核固缩、染色质边聚及凋亡小体形成等凋亡早中期形态学变化, 进一步证实丹参酮 II A可诱导人肝癌细胞凋亡.

研究表明, 肝癌的发生、发展与多种凋亡相关基因有关. COX-2是花生四烯酸代谢过程中的限速酶, 不但在结直肠癌有较高水平的表达, 而且在人类的其他许多肿瘤组织中也有表达, 如胃癌、肺癌、食管癌、乳腺癌、胰腺癌、胆囊癌等^[7-10]. 目前研究证实, COX-2在肿瘤的发生、发展过程中起了十分重要的作用^[11], 他的激活是肿瘤发生的早期事件, 且与肿瘤的分级有关, 有促进肿瘤侵袭和转移的潜能^[12], 而抑制或阻断COX-2的表达, 有助于抑制肿瘤生长, 减弱其侵袭力, 从而降低消化道肿瘤的发病率^[13]. 张必翔 *et al*^[14]研究发现, 选择性COX-2抑制剂尼美舒利能够诱导肝癌细胞HepG₂细胞凋亡, 说明凋亡基因COX-2表达状态与肝癌的形成与转归关系密切, 可作为评价抗癌药物疗效及其作用机制的理想指标. 我们发现0.5 mg/L丹参酮 II A处理肝癌细胞后COX-2表达明显下调, 其催化产物前列腺素E₂的释放水平亦明显下降, 与对照组比较差异均有显著性($P < 0.01$), 说明丹参酮 II A可以抑制肝癌细胞COX-2的表达并降低其活性. 同时电镜下及流式细胞术可以观察典型的细胞凋亡征象. 以上结果提示, 丹参酮 II A可能是通过下调COX-2 mRNA的表达, 发挥其对肝癌细胞生长抑制及促进凋亡作用的. 但是300 μmol/L尼美舒利作用组, COX-2表达率较丹参酮组下降, 且前列腺素E₂释放水平亦低于作用组, 考虑为尼美舒利直接选择性阻断或抑制了COX-2的活性, 而丹参酮可能是间接作用于COX-2, 下调其表达水平, 影响前列腺素E₂释放, 发挥肿瘤抑制和凋亡作用^[15]. 因此丹参酮 II A作为一种植物成分的新型抗癌类药物, 其具体的作用机制值得进一步探讨.

■名词解释

丹参酮: 活血化淤中药丹参的有效成分, 为一组脂溶性菲醌类成分。包括丹参酮 I、丹参酮 II A、丹参酮 II B、隐丹参酮、二氢丹参酮等。他们通过杀伤肿瘤细胞, 诱导其分化和凋亡等途径发挥其抑癌作用。

4 参考文献

- 1 Mosaddik MA. *In vitro* cytotoxicity of tanshinones isolated from *Salvia miltiorrhiza* Bunge against P388 lymphocytic leukemia cells. *Phytomedicine* 2003; 10: 682-685
- 2 田耕, 于皆平. 尼美舒利对肝癌SMMC-7721细胞增殖、凋亡的干预作用. 武汉大学学报(医学版) 2002; 23: 37-39
- 3 Rodrigues NR, Rowan A, Smith ME, Kerr IB, Bodmer WF, Gannon JV, Lane DP. p53 mutations in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 7555-7559
- 4 Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-257
- 5 Wu WL, Chang WL, Chen CF. Cytotoxic activities of tanshinones against human carcinoma cell lines. *Am J Chin Med* 1991; 19: 207-216
- 6 袁淑兰, 王修杰, 魏于全. 丹参酮抗肿瘤作用及其机制的研究. 癌症 2003; 22: 1363-1366
- 7 Saukkonen K, Nieminen O, van Rees B, Vilkkki S, Harkonen M, Juhola M, Mecklin JP, Sipponen P, Ristimäki A. Expression of cyclooxygenase-2 in dysplasia of the stomach and in intestinal-type gastric adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1923-1931
- 8 Souza RF, Shewmake K, Beer DG, Cryer B, Spechler SJ. Selective inhibition of cyclooxygenase-2 suppresses growth and induces apoptosis in human esophageal adenocarcinoma cells. *Cancer Res* 2000; 60: 5767-5772

- 9 Singh B, Lucci A. Role of cyclooxygenase-2 in breast cancer. *J Surg Res* 2002; 108: 173-179
- 10 Kasper HU, Wolf H, Drebbler U, Wolf HK, Kern MA. Expression of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in pancreatic adenocarcinoma: correlation with microvessel density. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1918-1922
- 11 武爱文. COX-2与肿瘤的关系. 中国肿瘤临床 2002; 29: 603-606
- 12 Koga H, Sakisaka S, Ohishi M, Kawaguchi T, Taniguchi E, Sasatomi K, Harada M, Kusaba T, Tanaka M, Kimura R, Nakashima Y, Nakashima O, Kojiro M, Kurohiji T, Sata M. Expression of cyclooxygenase-2 in human hepatocellular carcinoma: relevance to tumor dedifferentiation. *Hepatology* 1999; 29: 688-696
- 13 冯莉, 江晓华, 吴云林. 环氧化酶在消化道肿瘤转化过程中的表达及其抑制剂的化学预防作用. 上海医学 2004; 27: 788-790
- 14 张必翔, 陈孝平, 张万广, 余红平, 朱虹, 罗顺峰, 王其, 吴在德, 裘法祖. 选择性COX-2抑制剂Nimesulide对肝肿瘤细胞HepG2增殖与凋亡的影响. 中华实验外科杂志 2004; 21: 430-432
- 15 Cianchi F, Cortesini C, Fantappie O, Messerini L, Sardi I, Lasagna N, Perna F, Fabbroni V, Di Felice A, Perigli G, Mazzanti R, Masini E. Cyclooxygenase-2 activation mediates the proangiogenic effect of nitric oxide in colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2694-2704

电编 张敏 编辑 潘伯荣

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2006年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第十八届全国中西医结防治消化系统疾病学术会议

本刊讯 第十八届全国中西医结防治消化系统疾病学术会议将于2006-08在哈尔滨举行, 现将征文通知公布如下:

1 稿件要求及截稿日期

全文(3000字), 结构性摘要(1000字), 电脑打印(附软盘)或E-mail, 2006-05-31截稿。

2 联系方式

哈尔滨市南岗区学府路45号解放军第211医院中医科 孙旗立; 邮编: 150080; 电话: 0451-57752440; E-mail: 211zyke@163.com