

COX-2抑制剂联合survivin反义寡核苷酸抗胰腺癌BxPC-3细胞的效应

刘江伟, 张永久, 李开宗, 窦科峰, 许永华, 张东, 闫兵

背景资料
还氧化酶-2(COX-2)在各种肿瘤中高表达, 与促进肿瘤细胞的生长密切相关。COX-2选择性抑制剂celecoxib已被FDA批准用于家族性腺瘤性息肉的辅助治疗, 其在肿瘤的预防和治疗中的作用已引起学者的广泛关注。

刘江伟, 张永久, 张东, 闫兵, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院普外科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
李开宗, 窦科峰, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科 陕西省西安市 710032
许永华, 兰州军区乌鲁木齐总医院动物实验中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000
刘江伟, 博士, 副主任医师, 主要从事普外科临床与基础研究。
通讯作者: 刘江伟, 830000, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市友好北路41号, 兰州军区乌鲁木齐总医院普外科。
ljw273@sohu.com.
电话: 0991-4991759
收稿日期: 2007-05-28 修回日期: 2007-10-12

Antitumor effects of COX-2 inhibitor in combination with survivin antisense oligonucleotides on pancreatic cancer BxPC-3 cells

Jiang-Wei Liu, Yong-Jiu Zhang, Kai-Zong Li, Ke-Feng Dou, Yong-Hua Xu, Dong Zhang, Bing Yan

Jiang-Wei Liu, Yong-Jiu Zhang, Dong Zhang, Bing Yan, Department of general surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region of Chinese PLA, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Kai-Zong Li, Ke-Feng Dou, Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University of Chinese PLA, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China
Yong-Hua Xu, Department of Animal Experimental Center, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region of Chinese PLA, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China
Correspondence to: Jiang-Wei Liu, Department of General Surgery, Urumqi General Hospital of Lanzhou Military Region of Chinese PLA, 41 Youhao North Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. ljw273@sohu.com
Received: 2007-05-28 Revised: 2007-10-12

Abstract

AIM: To investigate the effects of proliferation and apoptosis in pancreatic cancer cells treated by COX-2 inhibitor celecoxib in combination with survivin antisense oligonucleotides (ASODNs) and their possible mechanism of action.

METHODS: This study was carried out on the human pancreatic cancer BxPC-3 cell line. Cells

were divided into four groups: A (control), B (celecoxib 80 $\mu\text{mol/L}$), C (survivin ASODN 300 nmol/L), and D (80 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib + 300 nmol/L survivin ASODN). Cell proliferation was detected with the MTT colorimetric assay, the apoptosis rate in cells was measured by flow cytometry, and caspase-3 activity was evaluated using a caspase-3 assay kit. Using (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction) RT-PCR, we examined mRNA for Bcl-2, survivin and Mcl-1.

RESULTS: BxPC-3 cells were treated with celecoxib (80 $\mu\text{mol/L}$) and survivin ASODN (300 nmol/L) alone or in combination for 24 and 48 hours. Cell viability in group D was significantly lower than that in group B or C (24 hours, 41.0% \pm 0.4% *vs* 71.0% \pm 2.2% and 63.3% \pm 4.5%; 48 hours, 34.2% \pm 1.1% *vs* 61.6% \pm 1.7% and 55.0% \pm 3%; $P < 0.01$). After 24 hours, apoptosis measured by flow cytometry in group D was significantly higher than that in groups B or C (30.33% \pm 3.49% *vs* 11.93% \pm 1.17% and 22.07% \pm 0.93%; $P < 0.01$). The caspase-3 activity was significantly increased in group B, C and D compared with the control group (0.04867 \pm 0.0021, 0.02967 \pm 0.0021 and 0.08767 \pm 0.0042 *vs* 0.007 \pm 0.0001; $P < 0.01$). Caspase-3 activity in group D was significantly higher than that in groups B and C (0.08767 \pm 0.0042 *vs* 0.04867 \pm 0.0021, 0.02967 \pm 0.0021; $P < 0.01$). BxPC-3 cells were treated with celecoxib (100 $\mu\text{mol/L}$) for 24 hours. The grey ratio of mRNA amplified products for survivin/ β -actin and Mcl-1/ β -actin was significantly lower in the experimental groups than in the control group (0.68 \pm 0.05 *vs* 1.05 \pm 0.06; $P < 0.01$). However, Bcl-2/ β -actin in the experimental and control groups did not differ significantly (0.99 \pm 0.02 *vs* 1.07 \pm 0.06; $P > 0.05$).

CONCLUSION: The combination of celecoxib and survivin ASODNs induces apoptosis, inhibits proliferation and enhances caspase-3 activity. Celecoxib-induced apoptosis may be partly mediated through survivin and Mcl-1 and has no relation to Bcl-2.

Key Words: Pancreatic cancer; Cyclooxygenase-2; Celecoxib; Survivin; Antisense oligonucleotide; Caspase-3; BxPC-3 cells

Liu JW, Zhang YJ, Li KZ, Dou KF, Xu YH, Zhang D, Yan B. Antitumor effects of COX-2 inhibitor in combination with survivin antisense oligonucleotides on pancreatic cancer BxPC-3 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007; 15(30): 3178-3183

摘要

目的: 探讨COX-2抑制剂和survivin 反义寡核苷酸联合应用对胰腺癌BxPC-3细胞的抗肿瘤效应及其可能机制。

方法: 应用胰腺癌BxPC-3细胞进行研究, 将BxPC-3细胞分为4组: A组(对照组), B组(Celecoxib 80 $\mu\text{mol/L}$)组, C组(300 nmol/L survivin ASODN), D组(80 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib+300 nmol/L survivin ASODN)。采用MTT检测细胞增殖, 流式细胞仪检测细胞凋亡率, caspase-3试剂盒检测caspase-3活性, 并用RT-PCR检测Bcl-2、survivin 和Mcl-1的mRNA的变化。

结果: 将80 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib 和300 nmol/L survivin反义寡核苷酸单独或联合作用于胰腺癌BxPC-3细胞24 h和48 h, D组细胞的存活率明显低于B, C组(24 h: 41.0% \pm 0.4% *vs* 71.0% \pm 2.2%, 63.3% \pm 4.5%; 48 h: 34.2% \pm 1.1% *vs* 61.6% \pm 1.7%, 55.0% \pm 3%; $P<0.01$)。作用24 h后, 流式细胞仪检测细胞凋亡率显示, D组细胞的凋亡率明显高于B, C组(30.33% \pm 3.49% *vs* 11.93% \pm 1.17%, 22.07% \pm 0.93%; $P<0.01$)。caspase-3活性在B, C, D组明显高于对照组(0.04867 \pm 0.0021, 0.02967 \pm 0.0021, 0.08767 \pm 0.0042 *vs* 0.007 \pm 0.0001; $P<0.01$)。D组细胞的caspase-3活性明显高于B, C组(0.08767 \pm 0.0042 *vs* 0.04867 \pm 0.0021, 0.02967 \pm 0.0021; $P<0.01$)。用100 $\mu\text{mol/L}$ 塞来昔布作用于胰腺癌BxPC-3细胞24 h后, survivin/ β -actin和Mcl-1/ β -actin的mRNA的比值明显低于对照组(0.68 \pm 0.05 *vs* 1.05 \pm 0.06, $P<0.01$)。而Bcl-2/ β -actin的mRNA的比值无明显变化(0.99 \pm 0.02 *vs* 1.07 \pm 0.06, $P>0.05$)。

结论: 联合应用COX-2抑制剂塞来昔布和survivin反义寡核苷酸可明显诱导胰腺癌细胞的凋亡, 抑制细胞增殖, 并能够明显提高caspase-3活性。COX-2抑制剂塞来昔布诱导细胞凋亡可能通过survivin和Mcl-1途径, 而非Bcl-2途径。

关键词: 胰腺癌; 环氧化酶-2; 塞来昔布; survivin;

反义寡核苷酸; Caspase-3; BxPC-3 细胞

刘江伟, 张永久, 李开宗, 窦科峰, 许永华, 张东, 闫兵. COX-2抑制剂联合survivin反义寡核苷酸抗胰腺癌BxPC-3细胞的效应. *世界华人消化杂志* 2007;15(30):3178-3183
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/3178.asp>

0 引言

环氧化酶-2(COX-2)和凋亡抑制因子survivin是目前肿瘤研究领域两个“热点”。我们先前的研究表明^[1-6], COX-2和survivin在胰腺癌组织中过表达, 而在相邻的正常组织中不表达, 这两种基因的过表达与胰腺癌细胞的增殖、血管生成和细胞凋亡的抑制有关, 而且在胰腺癌组织中COX-2的表达与survivin的表达密切相关。我们用COX-2抑制剂塞来昔布(celecoxib)或survivin反义寡核苷酸(ASODN)分别作用于胰腺癌BxPC-3细胞可抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 并增加胰腺癌细胞对化疗的敏感性。因此, 我们推测将COX-2抑制剂塞来昔布和survivin反义寡核苷酸联合应用可能发挥更大的抗肿瘤效应, 并且可以减少细胞毒作用, 可能是胰腺癌治疗的有效途径。我们还对其可能机制进行了探讨。

1 材料和方法

1.1 材料 survivin ASODN序列^[2,7]为5'-CCCA GCCTTCCAGCTCCTTG-3', 正义寡核苷酸(SODN)序列为: 5'-CAAGGAGCTGGAAGGC TGGG-3', 二者均经硫代磷酸化修饰(上海生工)celecoxib(Searle公司), 用1 kg/L二甲基亚砜(DMSO)溶解, 制成20 mol/L的储存液, -20℃保存。阳离子脂质转染剂(lipofectaminetm 2000)系Gibco公司产品, RNA提取液(TRIZol)购自Life Technologies公司, RT-PCR购自TaKaRa公司, 胰腺癌BxPC-3细胞系购自第四军医大学口腔生物细胞培养库, 以含100 mL/L的新生小牛血清(56℃, 灭活30 min)、100 kU/L青霉素、100 mg/L链霉素的RPMI1640培养基(Gibco公司), 在37℃, 50 mL/L CO₂饱和湿度条件下培养, 每2-3 d换液传代, 取对数期生长的细胞实验。MTT购自Sigma公司, Annexin V试剂盒购自Roche 公司, caspase-3比色检测试剂盒系Calbiochem 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 Celecoxib联合survivin ASODN对细胞增殖的影响 实验分为4组: 对照组不加入celecoxib或survivin ASODN, celecoxib(作用浓度为80 $\mu\text{mol/L}$)

相关报道

胰腺癌组织中COX-2的表达与survivin的表达密切相关。作者先前的研究用COX-2抑制剂塞来昔布(celecoxib)或survivin反义寡核苷酸(ASODN)分别作用于胰腺癌BxPC-3细胞可抑制细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 并增加胰腺癌细胞对化疗的敏感性。

应用要点
COX-2抑制剂和survivin反义寡核苷酸联合应用可在抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡过程中起协同作用,从而发挥更大的抗肿瘤效应,并且可以减少细胞毒作用,可能是胰腺癌治疗的有效途径。

组, survivin ASODN(作用浓度300 nmol/L)组, 80 μ mol/L celecoxib+300 nmol/L survivin ASODN组。脂质体包被的survivin ASODN转染方法同前^[2], 实验在96孔板上进行。联合实验组中, 在survivin ASODN转染24 h时更换培养液后加入celecoxib, 然后开始作用24 h和48 h。用MTT法^[2,4]检测各组作用24 h和48 h时的吸光度值, 设3个复孔与空白对照组相比, 计算各组的相对存活率。

1.2.2 流式细胞术检测联合作用组细胞凋亡率 实验分组同上。细胞在50 mL培养瓶中进行培养, 脂质体包被的survivin ASODN转染方法同前^[2]。在联合实验组中, 在survivin ASODN转染24 h, 更换培养液后加入celecoxib。各组作用BxPC-3细胞24 h, 收集细胞, 用Annexin V试剂盒在流式细胞仪检测细胞凋亡率, 方法同前^[2]。取3次实验的结果, 计算其平均凋亡率。

1.2.3 测定联合作用时caspase-3活性 实验分组同上。各组作用BxPC-3细胞24 h, 收集细胞, 用PBS冲洗, 离心2次。参照文献^[1]的方法应用caspase-3活性试剂盒, 实验重复2次用酶标免疫测定仪测定波长405 nm下的吸光度值来反映caspase-3相对活性的吸光度。

1.2.4 检测celecoxib对细胞Bcl-2, Mcl-1和survivin mRNA的影响 分别用200 mL的培养瓶培养细胞至70%-80%铺满后, 根据加入的药物和浓度, 实验分对照组(未做处理)和100 μ mol/L celecoxib组。作用BxPC-3细胞24 h, 收获 5×10^6 细胞, 用RNA提取液(TRIzol, Life Technologies公司)提取总RNA。取1 μ g总RNA, 按试剂盒的方法组成20 μ L反应体系。用于逆转录合成cDNA的反应条件: 30 $^{\circ}$ C, 10 min; 42 $^{\circ}$ C, 30 min; 99 $^{\circ}$ C, 5 min; 5 $^{\circ}$ C, 5 min。分别取逆转录产物2 μ L为模板, 在25 μ L PCR扩增反应体系按以下组成配制成PCR反应液: 各体系分别加入survivin的引物序列为5'-GTGAATTTTGGAACTGGACAG-3'(F)和5'-CCTTTCCTAAGACATTGCTAAG-3'(R), 243 bp; 内参 β -actin引物序列为5'-CTTC TACAATGAGCTGCGTG-3'(F)和5'-TCAT GAGGTAGTCAGTCAGG-3'(R), 309 bp; Mcl-1为5'-ATCTCTCGGTACCTTCGGGAGC-3'(F)和5'-CTTGATGCCACCTTCTAGGTCC-3'(R), 444 bp; Bcl-2为5'-GACTTCGCCGAGATGTCCAG-3'(F)和5'-TCACTTGTGGCTCAGATAGG-3'(R), 390 bp。将反应液放置PCR循环仪中循环扩增, 扩增条件: 94 $^{\circ}$ C预变性2 min, 94 $^{\circ}$ C变性30 s, 退火30 s(survivin为51 $^{\circ}$ C, β -actin

为59 $^{\circ}$ C, Mcl-1、Bcl-2均为61 $^{\circ}$ C), 72 $^{\circ}$ C延伸90 s, 32个循环后, 72 $^{\circ}$ C延伸5 min。经过变性后进入循环。PCR产物5 μ L在20 g/L琼脂糖上电泳(含0.5 mg/L溴化乙锭), 经凝胶图像分析仪分析结果, 将survivin, Bcl-2和Mcl-1 PCR产物的电泳值分别与 β -actin的比值做为各基因相对定量值, 来反映celecoxib作用后各个凋亡相关基因的变化。实验进行3次, 取未处理的BxPC-3细胞做对照。

统计学处理 采用SPSS11.0进行作图和统计分析, 均数比较用 t 检验。

2 结果

2.1 Celecoxib联合survivin ASODN对细胞增殖的影响 24 h时, 单独应用celecoxib的细胞相对存活率为71.0% \pm 2.2%, 单独应用survivin ASODN为63.3% \pm 4.5%, 二者联合为41.0% \pm 0.4%。48 h时, 单独应用celecoxib的细胞相对存活率为61.6% \pm 1.7%, 单独应用survivin ASODN为55.0% \pm 3%, 二者联合为: 34.2% \pm 1.1%。在24 h和48 h, 与单独应用组相比, 联合组能明显降低细胞的存活率, 差异均有显著性($P<0.01$)。

2.2 联合作用对细胞凋亡的影响 作用24 h, 4组细胞凋亡率分别为0.26% \pm 0.06%, 11.93% \pm 1.17%, 22.07% \pm 0.93%和30.33% \pm 3.49%。联合组凋亡率与单独组相比, 差异显著($P<0.01$, 图1)

2.3 联合作用时caspase-3的活性 各实验组作用24 h, 4组caspase-3相对活性(A), 分别为0.007 \pm 0.0001, 0.04867 \pm 0.0021, 0.02967 \pm 0.0021和0.08767 \pm 0.0042, 联合组caspase-3相对活性与单独组相比, 差异显著($P<0.01$, 图2)。

2.4 细胞Bcl-2、Mcl-1和survivin mRNA 100 μ mol/L celecoxib作用BxPC-3细胞24 h, survivin, Mcl-1的表达明显低于对照组, 而Bcl-2的表达与对照组相比无明显变化。 经凝胶图像分析仪分析结果显示, 实验组和对对照组survivin/ β -actin分别为0.57 \pm 0.04和0.88 \pm 0.03, 两者之间差异具有显著性($P<0.01$); Bcl-2/ β -actin分别为0.99 \pm 0.02和1.07 \pm 0.06两者之间无显著性差异($P>0.05$); Mcl-1/ β -actin分别为0.68 \pm 0.05和1.05 \pm 0.06, 两者之间差异具有显著性($P<0.01$)(图3)。

3 讨论

survivin是凋亡抑制蛋白家族的新成员, 可能成为肿瘤治疗的“理想靶点”^[8]。COX-2在各种肿瘤中高表达, 与促进肿瘤细胞的生长密切相关。COX-2选择性抑制剂celecoxib已被FDA批准用

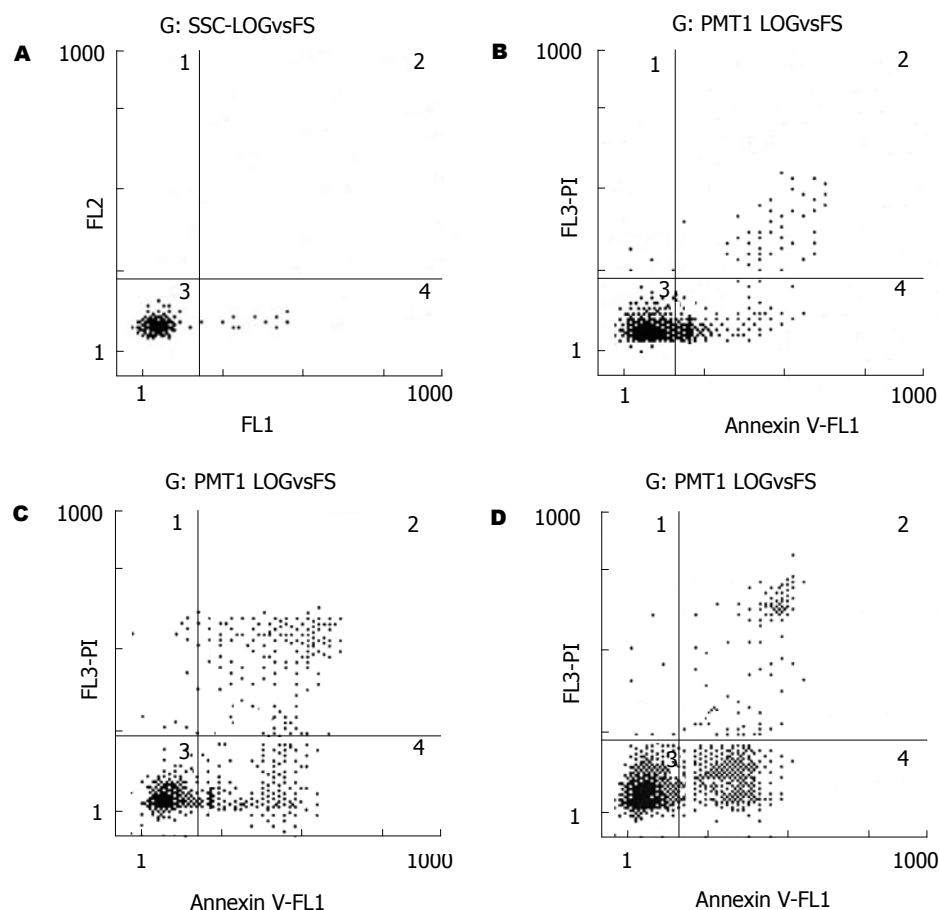


图 1 流式细胞术分析凋亡率. A: 对照组; B: celecoxib组; C: survivin ASODN; D: 联合组.

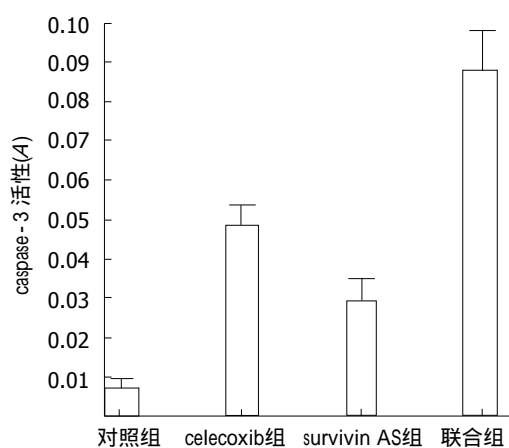


图 2 各实验组caspase-3的活性.

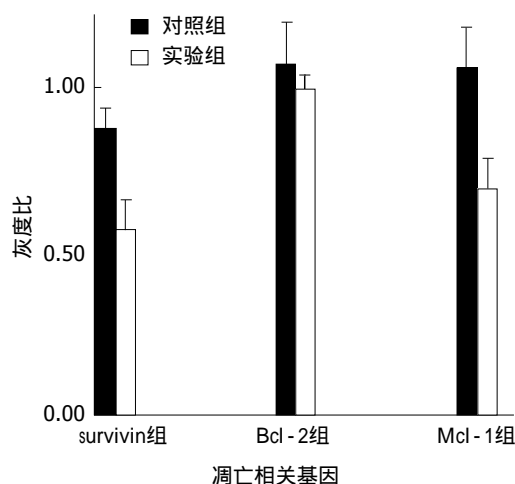


图 3 celecoxib作用BxPC-3细胞对survivin、Bcl-2和Mcl-1的影响.

于家族性腺瘤性息肉的辅助治疗, 其在肿瘤的预防和治疗中的作用已引起学者的广泛关注^[9]. 我们先前的研究发现, COX-2和survivin在胰腺癌组织中高表达, 而在相邻正常组织中不表达, 二者的高表达均与胰腺癌细胞增殖、血管生成、抗凋亡有关, 说明COX-2的表达和survivin密切相关^[1-6]. Krysan *et al*^[10]研究发现, COX-2 的

研发前沿
survivin是凋亡抑制蛋白家族的新成员, 是目前发现的最强的凋亡抑制因子, 因其在肿瘤组织表达具有特异性, 可能成为肿瘤治疗的“理想靶点”, 此二者为目前肿瘤研究领域的“热点”.

表达限制survivin的泛化, 保护survivin免受降解, 说明COX-2依赖的survivin表达在非小细胞肺癌的抗凋亡过程起关键作用. 最近Barnes *et al*^[11]发现, survivin在乳腺原位导管腺癌(DCIS)中的高表达与COX-2的表达密切相关, 二者的高表达

与DCIS的复发密切相关. 根据这些研究及我们先前的研究, 我们推测以此基因为联合靶点的基因治疗可能是治疗胰腺癌的有效途径. 本实验在先前研究的基础上^[2,4], 联合应用80 $\mu\text{mol/L}$ celecoxib和300 nmol/L survivin反义寡核苷酸单独和联合应用作用于胰腺癌细胞24 h和48 h, 均能明显降低细胞的存活率, 差异具有显著性 ($P<0.01$). 我们应用Annexin V试剂盒在流式细胞仪检测细胞凋亡率发现, 二者联合作用24 h, 细胞的凋亡率为 $30.33\% \pm 3.49\%$, 明显高于单独应用celecoxib(凋亡率 $11.93\% \pm 1.17\%$)和survivin ASODN($22.07\% \pm 0.93\%$), 差异具有显著性 ($P<0.01$). 因而我们的研究表明, COX-2抑制剂和survivin反义寡核苷酸联合应用能够明显抑制细胞的增殖和诱导细胞凋亡.

目前研究认为, survivin主要通过直接作用于凋亡蛋白酶级联通路的终末效应因子caspase-3和caspase-7而发挥抗凋亡作用^[12]. caspase-3是凋亡级联通路上的一个关键酶, 可被caspase-8和caspase-9通过死亡受体(Fas/Fas配体系统)或线粒体信号系统激活, 因此所有的凋亡是通过激活caspase-3实现的^[13]. Zhang *et al*^[14]研究表明, celecoxib抑制细胞增生伴随着cyclin D1、cyclin E和p-Rb表达的下调, P16(INK4a)和P27(KIP)表达的上调以及G1-S细胞周期捕获, celecoxib的促凋亡效应由caspase-3的活性介导. 我们发现, celecoxib和survivin反义寡核苷酸作用于胰腺癌细胞后均可使caspase-3的活性明显增加, 二者联合应用caspase-3的活性明显高于二者单独应用, 差异具有显著性 ($P<0.01$). 因而我们认为, COX-2抑制剂和survivin反义寡核苷酸诱导胰腺癌细胞凋亡, 可能在一定程度上通过激活caspase-3的活性实现的. 二者联合应用时细胞凋亡率明显增加, 可能是其共同启动caspase-3的活性的结果.

COX-2发挥细胞保护作用的机制尚未阐明, 可能归因于促凋亡因子和抗凋亡因子表达失衡. Catalano *et al*^[15]研究发现, celecoxib以剂量和时间依从性方式诱导恶性间皮瘤细胞凋亡, 其过程包括Akt(又称蛋白激酶B)磷酸化减少, Bcl-2和survivin蛋白表达的缺失和caspase-3活性的增加. Wun *et al*^[16]研究揭示, celecoxib不影响B细胞淋巴瘤的Bcl-2、Bcl-xl和Bax的水平. 然而Akt, Mcl-1和磷酸化的SAP-激酶的水平降低. 在人类膀胱癌细胞, COX-2抑制细胞凋亡通过激活PI-3K/Akt途径并且可能通过增加Mcl-1的

表达来实现^[17]. Mcl-1是Bcl-2家族的抗凋亡成员, Mcl-1的过表达可保护肿瘤细胞免受药物诱导的细胞凋亡^[18]. 我们的研究发现, celecoxib作用于胰腺癌BxPC-3后, survivin和Mcl-1的表达明显降低, 而Bcl-2的表达无明显变化, 说明COX-2抑制剂诱导胰腺癌细胞凋亡的机制可能主要通过抑制survivin和Mcl-1来实现的.

总之, 我们的研究表明, COX-2抑制剂和survivin反义寡核苷酸联合应用可在抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡过程中起协同作用, COX-2抑制剂诱导胰腺癌细胞凋亡的可能机制主要是通过抑制survivin和Mcl-1以及提高caspase-3的活性来实现的.

4 参考文献

- 1 刘江伟, 张永久, 皇甫清风, 李开宗, 张东, 雷涛. Survivin反义寡核苷酸对胰腺癌荷瘤裸鼠的治疗作用. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2838-2843
- 2 刘江伟, 李开宗, 窦科峰, 苏明权, 于文彬, 张福琴. Survivin反义寡核苷酸诱导胰腺癌细胞凋亡并增加吉西他滨的化疗敏感性. 中华普通外科杂志 2004; 19: 401-403
- 3 刘江伟, 李开宗, 窦科峰, 马福成, 王映梅. 胰腺癌组织survivin和COX-2表达的相关性. 第四军医大学学报 2004; 25: 635-636
- 4 刘江伟, 李开宗, 窦科峰, 宋振顺, 苏明权, 于文彬. COX-2抑制剂联合顺铂对胰腺癌细胞增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1139-1143
- 5 刘江伟, 李开宗, 窦科峰. Survivin在胰腺癌组织中的表达及其血管内皮生长因子的相关性研究. 中华肝胆外科杂志 2003; 9: 486-488
- 6 刘江伟, 李开宗, 窦科峰. COX-2在胰腺癌组织中的表达及其与p53的相关性研究. 世界华人消化杂志 2003; 11: 229-232
- 7 Olie RA, Simoes-Wust AP, Baumann B, Leech SH, Fabbro D, Stahel RA, Zangemeister-Wittke U. A novel antisense oligonucleotide targeting survivin expression induces apoptosis and sensitizes lung cancer cells to chemotherapy. *Cancer Res* 2000; 60: 2805-2809
- 8 Dai DJ, Lu CD, Lai RY, Guo JM, Meng H, Chen WS, Gu J. Survivin antisense compound inhibits proliferation and promotes apoptosis in liver cancer cells. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 193-199
- 9 Maier TJ, Schilling K, Schmidt R, Geisslinger G, Grosch S. Cyclooxygenase-2(COX-2)-dependent and -independent anticarcinogenic effects of celecoxib in human colon carcinoma cells. *Biochem Pharmacol* 2004; 67: 1469-1478
- 10 Krysan K, Dalwadi H, Sharma S, Pold M, Dubinett S. Cyclooxygenase 2-dependent expression of survivin is critical for apoptosis resistance in non-small cell lung cancer. *Cancer Res* 2004; 64: 6359-6362
- 11 Barnes N, Haywood P, Flint P, Knox WF, Bundred NJ. Survivin expression in situ and invasive breast cancer relates to COX-2 expression and DCIS recurrence. *Br J Cancer* 2006; 94: 253-286
- 12 Shin S, Sung BJ, Cho YS, Kim HJ, Ha NC, Hwang JI, Chung CW, Jung YK, Oh BH. An anti-apoptotic protein human survivin is a direct inhibitor of

- 13 caspase-3 and -7. *Biochemistry* 2001; 40: 1117-1123
Janicke RU, Sprengart ML, Wati MR, Porter AG. Caspase-3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis. *J Biol Chem* 1998; 273: 9357-9360
- 14 Zhang GS, Liu DS, Dai CW, Li RJ. Antitumor effects of celecoxib on K562 leukemia cells are mediated by cell-cycle arrest, caspase-3 activation, and downregulation of Cox-2 expression and are synergistic with hydroxyurea or imatinib. *Am J Hematol* 2006; 81: 242-255
- 15 Catalano A, Graciotti L, Rinaldi L, Raffaelli G, Rodilossi S, Betta P, Gianni W, Amoroso S, Procopio A. Preclinical evaluation of the nonsteroidal anti-inflammatory agent celecoxib on malignant mesothelioma chemoprevention. *Int J Cancer* 2004; 109: 322-328
- 16 Wun T, McKnight H, Tuscano JM. Increased cyclooxygenase-2 (COX-2): a potential role in the pathogenesis of lymphoma. *Leuk Res* 2004; 28: 179-190
- 17 Choi EM, Kwak SJ, Kim YM, Ha KS, Kim JI, Lee SW, Han JA. COX-2 inhibits anoikis by activation of the PI-3K/Akt pathway in human bladder cancer cells. *Exp Mol Med* 2005; 37: 199-203
- 18 Okita H, Umezawa A, Fukuma M, Ando T, Urano F, Sano M, Nakata Y, Mori T, Hata J. Acute myeloid leukemia possessing jumping translocation is related to highly elevated levels of EAT/mcl-1, a Bcl-2 related gene with anti-apoptotic functions. *Leuk Res* 2000; 24: 73-7

同行评价
本文立意新颖, 课题设计合理, 严谨, 所用方法较先进, 实验结果可靠, 并且有一定的临床指导意义。

编辑 程剑侠 电编 李军亮

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2007年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第三届国际微创外科论坛暨 2007 年天津市 消化内镜学会征文通知

本刊讯 为了跟踪国际发展的最新态势, 加强该领域的交流与合作, 由天津市医学会主办, 天津市南开医院、天津市微创外科中心承办的“第三届国际微创外科论坛暨2007年天津市消化内镜学会”将于2007-11-02/04在天津举办。

本次会议还将邀请澳大利亚、奥地利、日本、香港等国家和地区及国内内镜、腹腔镜领域的知名专家与会, 以专题讲座及操作演示等方式展示当前微创外科(肝胆胰胃肠)领域的最新前沿技术, 其中包括: 大会专题演讲及大会论文交流, 微创手术实况演示, 内镜操作实况演示, 世界级大师精彩手术实况演示, 国家级继续教育项目, 微创手术新技术与新器械, 微创外科手术设备与器械展示。

1 征文内容和要求

征文内容: 凡是与本次会议内容相关的实验研究、临床工作总结、新方法、新技术、新器械等论文, 尚未在全国性学术会议上交流和尚未在国内外正式刊物上发表过的论文。征文要求: 论文、摘要、软盘各一份, 论文字数限4000字以内, 摘要800字以内, 按“目的、方法、结果、结论”。摘要中写明: “题目、作者、单位(包括城市和邮编)。

2 联系方式

邹富胜, 300100, 天津市南开区三纬路122号, 天津市南开医院. 注明会议论文。