

$p21^{WAF1}$ 基因对人胰腺癌细胞系 BxPC-3 增殖的抑制作用

张学彦, 姜仪增, 刘志强, 景德怀, 关景明, 刘伟

■背景资料

$p21$ 是细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 (CKI) 家族成员, 是胰腺癌中经常失活的基因, 与胰腺癌的发生、发展密切相关。P21 蛋白抑制 DNA 复制必需因子-增殖细胞核抗原 (PCNA) 和各种 Cyclin-CDK 复合物, 使得增殖细胞在 G_1 向 S 期过渡受阻。

张学彦, 刘志强, 景德怀, 关景明, 哈尔滨医科大学附属二院消化科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

姜仪增, 科尔沁区第一人民医院消化科, 内蒙古自治区通辽市 028000

刘伟, 哈尔滨医科大学附属二院分子实验中心, 黑龙江省哈尔滨市 150086

张学彦, 副主任医师, 医学博士, 主要从事消化系统肿瘤的防治研究。

黑龙江省科技计划攻关重点项目基金资助项目, No. GB05C401-09

黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. 11521191

黑龙江省卫生厅科研基金资助项目, No. 2007-304

作者贡献分布: 此课题由张学彦与关景明设计; 研究过程由张学彦、姜仪增、刘志强、景德怀及刘伟操作完成; 研究所用试剂及分析工具部分由刘伟提供; 数据分析与论文写作由张学彦完成。

通讯作者: 张学彦, 副主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市学府路 246 号, 哈尔滨医科大学附属二院消化科。zyxcxw@sina.com

电话: 0451-86605143

收稿日期: 2009-02-28 修回日期: 2009-04-30

接受日期: 2009-05-05 在线出版日期: 2009-06-08

Inhibitory effect of $p21^{WAF1}$ gene transfection on proliferation of human pancreatic cancer cell line BxPC-3

Xue-Yan Zhang, Yi-Zeng Jiang, Zhi-Qiang Liu, De-Huai Jing, Jing-Ming Guan, Wei Liu

Xue-Yan Zhang, Zhi-Qiang Liu, De-Huai Jing, Jing-Ming Guan, Department of Gastroenterology, the Second Hospital Affiliated to Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Yi-Zeng Jiang, Department of Gastroenterology, the Kerqin First People's Hospital, Tongliao 028000, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Wei Liu, Center of Molecular Biology Experiments, the Second Hospital Affiliated to Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Science and Technology Plan Tackle Key Problem Emphases Item Foundation of the Science and Technology Office Heilongjiang Province, No. GB05C401-09; the Scientific Research Foundation of the Education Office Heilongjiang Province, No. 11521191; and the Scientific Research Foundation of the Sanitation Office Heilongjiang Province, No. 2007-304

Correspondence to: Dr. Xue-Yan Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. zyxcxw@sina.com

Received: 2009-02-28 Revised: 2009-04-30

Accepted: 2009-05-05 Published online: 2009-06-08

■同行评议者

刘海林, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科; 陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

Abstract

AIM: To investigate the effect of $p21^{WAF1}$ ($p21$) gene transfection on the proliferation of human

pancreatic cancer line BxPC-3.

METHODS: According to the different transfected plasmid and whether the transfection was performed, 3 groups were formed. For $p21$ transfection group, pCDNA3.1 (+)- $p21$ was transfected into BxPC-3 cell by the vector of Lipofectamine2000. For empty plasmid transfection group, pCDNA3.1 (+)-neo plasmid was transfected into BxPC-3 cell with the same method as the blank control group. For non-transfection group, the BxPC-3 cell was not transfected as the negative control group. The expression of $p21$ was evaluated using RT-PCR and Western blot. The proliferation and apoptosis were determined by MTT, flow cytometry and transmission electron microscopy.

RESULTS: After transfection, the expression of $p21$ mRNA and P21 protein was up regulated, and the cell growth was decreased. High protein expression of P21 BxPC-3 cell cycle was arrested at G_1/S phase, the population of G_1 phase was significantly increased, compared with the empty plasmid transfection group or the non-transfection group ($59.887\% \pm 3.700\%$ vs $47.443\% \pm 6.354\%$, $49.223\% \pm 2.226\%$, $P < 0.05$), the S phase population was significantly decreased ($21.277\% \pm 2.080\%$ vs $35.247\% \pm 3.966\%$, $36.013\% \pm 1.540\%$, $P < 0.01$), and a Sub- G_1 peak (apoptosis peak) appeared. Cell apoptosis by transmission electron microscopy was observed in the pCDNA3.1 (+)- $p21$ transfection group BxPC-3 cells.

CONCLUSION: After $p21$ gene transfection, BxPC-3 cell proliferation is significantly arrested and apoptosis could be induced *in vitro*.

Key Words: $p21^{WAF1}$; Gene transfection; Pancreatic cancer

Zhang XY, Jiang YZ, Liu ZQ, Jing DH, Guan JM, Liu W. Inhibitory effect of $p21^{WAF1}$ gene transfection on proliferation of human pancreatic cancer cell line BxPC-3. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(16): 1614-1620

摘要

目的: 探讨 $p21^{WAF1}$ ($p21$) 基因转染对人胰腺癌

细胞系BxPC-3细胞增殖的影响。

方法: 根据转染质粒的不同和是否进行质粒转染分为3组, *p21*转染组、空载体转染组和未转染组。应用RT-PCR和Western blot方法检测转染细胞的*p21*基因表达变化; 流式细胞仪分析细胞周期变化, 用MTT、流式细胞仪和透射电镜检测转染外源*p21*基因对BxPC-3细胞增殖和凋亡的影响。

结果: *p21*转染组细胞存在*p21* mRNA高表达和P21蛋白高表达; *p21*转染组细胞生长速度低于对照空载体转染组和未转染组; 流式细胞仪观察到P21蛋白高表达使BxPC-3细胞发生G₁/S阻滞, G₁期细胞比例显著高于空载体组和未转染组(59.887%±3.700% vs 47.443%±6.354%, 49.223%±2.226%, $P<0.05$), S期显著低于空载体组和未转染组(21.277%±2.080% vs 35.247%±3.966%, 36.013%±1.540%, $P<0.01$), 并出现亚G₁峰(凋亡峰)。透射电镜亦发现*p21*转染组发生细胞凋亡。

结论: *p21*基因转染可以抑制人胰腺癌细胞系BxPC-3细胞增殖并能诱导其发生细胞凋亡。

关键词: *p21^{WAF1}*; 基因转染; 胰腺癌

张学彦, 姜仪增, 刘志强, 景德怀, 关景明, 刘伟. *p21^{WAF1}* 基因对人胰腺癌细胞系BxPC-3增殖的抑制作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(16): 1614-1620

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1614.asp>

0 引言

p21^{WAF1} (*p21*) 是近年来发现的细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子(cyclin-dependent kinase inhibitors, CKI)家族成员, 可与cyclin-CDK复合物结合, 抑制其活性并诱导细胞周期阻滞^[1]。已证实胰腺癌的发生与*p21*基因表达降低有关。为探讨恢复*p21*表达是否有抑制人胰腺癌细胞增殖的作用, 我们采用脂质体介导将*p21*转染到人胰腺癌细胞系BxPC-3中, 以研究其对胰腺癌细胞生长的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 委托上海生工公司全基因合成*p21*的插入片段, 克隆构建*p21*真核表达质粒pCDNA3.1(+)-*p21*。BxPC-3细胞株购自中国科学院上海细胞所。TRIzol试剂盒是Gibco公司产品, Taq酶为上海生工公司产品, 逆转录试剂盒、限制性内切酶、转染级质粒中量提取试剂盒为Promega

公司产品。*p21*小鼠抗人单抗为Neo Markers公司产品。辣根酶标山羊抗小鼠IgG为北京中杉金桥公司产品。Actin beta(ACTB)抗体和Western blot发光试剂为Santa Cruz公司产品。脂质体Lipofectamine2000购于Invitrogen公司。T4连接酶是MBI公司产品。凝胶回收试剂盒为上海生工公司产品。引物由上海生工公司合成, 并进行质粒测序。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 人胰腺癌BxPC-3细胞系在37℃ 50 mL/L CO₂饱和湿度条件下, 用含100 mL/L胎牛血清的DMEM高糖培养基培养传代, 取对数生长期细胞进行相关实验。

1.2.2 *p21*真核表达质粒的克隆: 委托上海生工公司制备*p21*的插入片段, 两端设计添加BamH I 和EcoR I 酶切位点, 对此插入片段和pCDNA3.1(+)-空载体进行BamH I 和EcoR I 双酶切, 琼脂糖凝胶电泳, 回收酶切产物, 使用T4 DNA连接酶连接*p21*目的片段和pCDNA3.1(+)载体, 称为pCDNA3.1(+)-*p21*, 将其转化感受态大肠杆菌DH5α, 挑取单克隆, 双酶切鉴定后用pCDNA3.1(+)载体的测序引物T7测序。

1.2.3 RT-PCR检测BxPC-3细胞*p21* mRNA表达: 用TRIzol试剂盒提取细胞总RNA。逆转录cDNA第一链合成: 反应体系20 μL, 含随机引物0.5 μg, 逆转录酶200 U, RNA 1.0 μg, dNTP 0.5 mmol/L, Rnasin 20 U, 37℃ 60 min, 95℃ 5 min。PCR反应: 反应体系25 μL, 含Mg²⁺ 2.5 mmol/L, dNTP 0.5 mmol/L, cDNA 2 μL, TaqDNA合成酶2 U, 上下游引物各0.4 μmol/L。*p21*引物(退火56℃, 产物218 bp): 上游5'-TGTCCTCAGAACCCATG-3', 下游: 5'-GTGGGAAGGTAGAGCTTGG-3'。β-actin引物(退火56℃, 产物100 bp): 上游: 5'-CC CAGCACAATGAAGATCAAGATCAT-3', 下游 5'-ATCTGCTGGAAGGTGGACAGCGA-3'。反应35个循环。产物经12 g/L琼脂糖凝胶电泳, 照相。

1.2.4 基因转染: (1)分组: 根据转染质粒的不同和是否进行质粒转染分为3组, 每组3个样本。*p21*转染组: 采用Lipofectamine2000脂质体介导转染, 将pCDNA3.1(+)-*p21*真核表达质粒导入BxPC-3细胞; 空载体转染组: 用pCDNA3.1(+)-neo空载体以上述相同方法转染, 作为阴性对照; 未转染组: 不进行转染的同期培养的BxPC-3细胞, 作为空白对照。(2)转染方法: 按照Lipofectamine2000说明书进行。采用6孔板转染细胞, 每孔用2 mL无抗生素生长培养基

■ 研发前沿

针对细胞周期进行的抗肿瘤治疗是研究热点, 基因治疗是抗肿瘤治疗的发展方向, 亟待研究的问题是选择何种恰当、有效的基因, 以何种安全、方便、有效的方式导入受体。

■相关报道

陆澄 *et al* 及杨勇 *et al* 发现 *p21* 基因失活在胰腺癌发生发展机制中起着重要作用, 认为 *p21* 的缺失是胰腺癌的早期事件, *p21* 对胰腺癌的转移有明显的抑制作用. Wang *et al* 发现 FoxM1 siRNA 通过增强 *p21* 表达而抑制了胰腺癌的侵袭力和血管生成.

含 5×10^5 个细胞制板, 每孔用 $5 \mu\text{g}$ DNA, $15 \mu\text{L}$ Lipofectamine2000. 转染48 h后加入G418终浓度为400 mg/L的选择培养基. 每2-4 d更换培养基, 4 wk后挑选阳性克隆扩大培养. (3)转染细胞 *p21* 基因检测: RT-PCR检测 *p21* 基因方法同上. Western blot检测外源P21蛋白. 提取细胞总蛋白, 用Bradford法定量. 50 g/L 积层胶、 120 g/L SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜, 进行一抗、酶标二抗孵育和显色, 并照相.

1.2.5 生长曲线(MTT法): 取对数生长期细胞按 $3 \times 10^6/\text{L}$ 接种96孔板, 每孔加入MTT溶液(5 g/L) $20 \mu\text{L}$, 37°C 温育4 h, 每孔加入 $180 \mu\text{L}$ 二甲基亚砜, 振荡10 min, 选490 nm波长, 在酶标仪上测定吸光度值, 每隔24 h测定1次, 连续测定7 d, 绘制细胞生长曲线, 计算生长抑制率. 生长抑制率 = (对照组A值-实验组A值)/对照组A值 $\times 100\%$.

1.2.6 流式细胞仪检测: 取各组细胞, 每组 1×10^6 个细胞, 用磷酸缓冲液(PBS)洗2次, 加入 700 mL/L 冷乙醇 4°C 固定24 h, PBS洗2次, 用RNA酶(50 mg/L)于 37°C 处理30 min, 加碘化丙啶(100 mg/L)染色, 避光30 min, 进行流式细胞仪测定.

1.2.7 透射电镜: 取各组细胞, 每组 1×10^6 个细胞, 用PBS洗2次, 1500 r/min 离心10 min, 加入 30 g/L 戊二醛固定1 wk, 按常规制备电镜标本, 送透射电镜检测.

统计学处理 数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 应用SPSS11.0统计软件, 采用单因素方差分析, 多个均数之间两两比较 *q* 检验.

2 结果

2.1 pcDNA3.1(+)-*p21* 质粒鉴定

2.1.1 限制性内切酶 *Bam*H I 和 *Eco*R I 双酶切鉴定: 重组质粒约5.9 kb, 双酶切后产生约5.4 kb、471 bp的2个片段, 分别为pcDNA3.1(+)载体及目的片段, 证明已将目的基因克隆入pcDNA3.1(+)载体(图1).

2.1.2 测序鉴定结果: 测序结果与GenBank比对, 证明pcDNA3.1(+)中插入片段为Homo sapiens cyclin-dependent kinase inhibitor 1A(*p21*, Cip1)(CDKN1A), transcript variant 1, mRNA. NM_000389.2; GI: 17978496. 无碱基序列突变(图2).

2.2 BxPC-3细胞及转染细胞 *p21* 基因表达检测 RT-PCR发现未转染组和空载体转染BxPC-3细胞 *p21* 基因mRNA低表达, 而在 *p21* 转染细胞中 *p21* 基因mRNA高表达, 扩增得到218 bp片段, 可

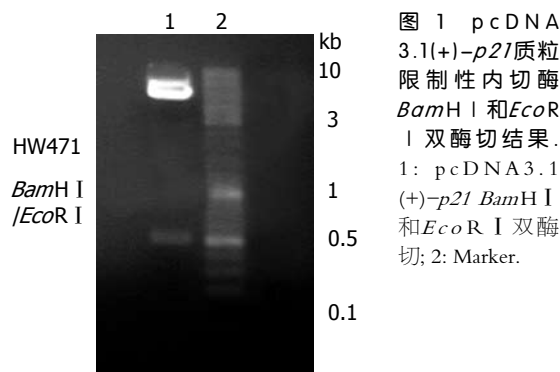


图1 pcDNA3.1(+)-*p21* 质粒限制性内切酶 *Bam*H I 和 *Eco*R I 双酶切结果. 1: pcDNA3.1(+)-*p21* *Bam*H I 和 *Eco*R I 双酶切; 2: Marker.

证明 *p21* 已成功转染入受体癌细胞并可高表达(图3). Western blot证实未转染和空载体转染组P21蛋白低表达, *p21* 转染组P21蛋白高表达, 可证明 *p21* 已成功转染入受体癌细胞并可高表达(图4).

2.3 生长曲线 空载体转染组和未转染组细胞的生长曲线较为接近, 而 *p21* 转染组细胞的生长曲线则位于前两者的下方, 说明neo转染后其增殖特性未受影响, 细胞在转染 *p21* 基因后其增殖特性受到抑制. 在第3天增殖开始被抑制, 生长抑制率为25.9%, 随时间延长抑制率逐渐升高, 至第7天生长抑制率达48.2%(图5).

2.4 细胞周期 P21蛋白高表达使BxPC-3细胞发生G₁/S阻滞, G₁期细胞比例显著高于空载体组和未转染组($59.887\% \pm 3.700\%$ vs $47.443\% \pm 6.354\%$, $49.223\% \pm 2.226\%$, $P < 0.05$), S期比例显著低于空载体组和未转染组($21.277\% \pm 2.080\%$ vs $35.247\% \pm 3.966\%$, $36.013\% \pm 1.540\%$, $P < 0.01$), 并出现亚G₁峰(凋亡峰)(图6, 表1).

2.5 细胞形态学变化 倒置显微镜可见细胞生长受到抑制, 细胞传代时间延长, 核分裂相减少, 细胞数量相对较少, 可见部分细胞缩小、变圆, 自瓶壁脱落, 悬浮于培养液中, 未转染组和空载体转染组细胞相比无明显差别, 生长旺盛, 贴壁良好, 细胞密度相对较大. 透射电镜可见空白对照及空载体转染组细胞生长状态较好, 未见凋亡形态学改变, 核浆比例大, 圆形核仁多, 细胞表面绒毛密集排列, 双层核膜结构清晰, 胞质内有丰富的游离核蛋白体. *p21* 转染组可见部分细胞发生凋亡, 细胞体积变小, 表面绒毛消失, 核固缩, 染色质形成高密度斑块. 细胞质内出现大量脂滴, 部分线粒体出现髓样变, 游离核糖体减少(图7).

3 讨论

胰腺癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一, 严重

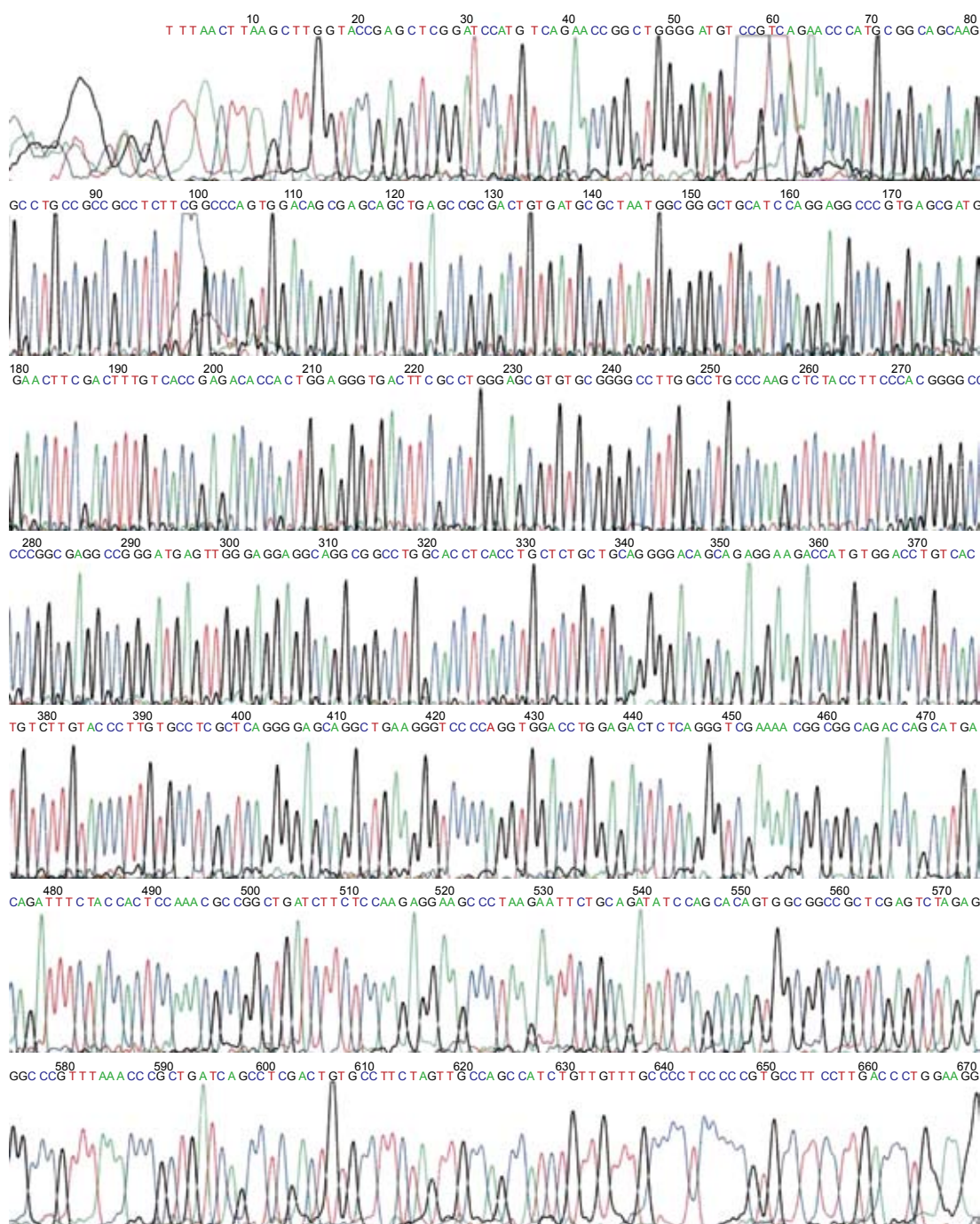


图 2 pcDNA3.1(+)-*p21*测序结果.

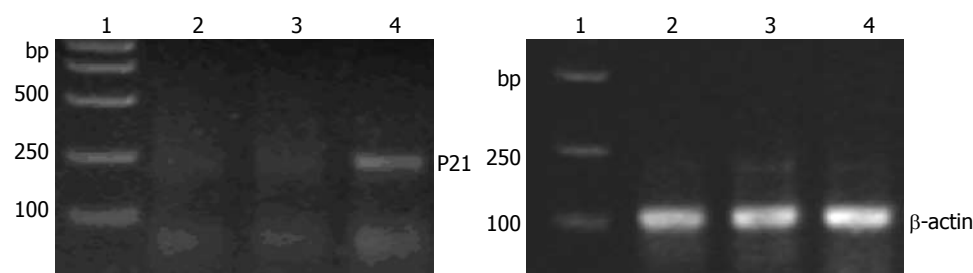


图 3 BxPC-3 细胞 *p21* mRNA 表达. 1: Marker; 2: 未转染组; 3: 空载体转染组; 4: *p21* 转染组.

威胁人类健康, 其临床特点是恶性度高, 侵袭力强, 普遍对化疗药耐药, 病死率高^[2]. 我国胰腺癌

的发病率逐年升高, 因此, 探索其基因治疗是当今攻克癌症的主要研究方向, 探寻胰腺癌新的

■创新盘点
本研究将*p21*转染到人胰腺癌细胞系 BxPC-3, 研究其对胰腺癌细胞生长的影响, 探讨恢复*p21*表达是否有抑制人胰腺癌细胞增殖的作用, 这可能是胰腺癌基因治疗的一种新途径.

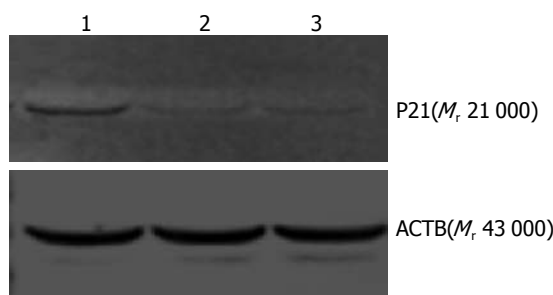
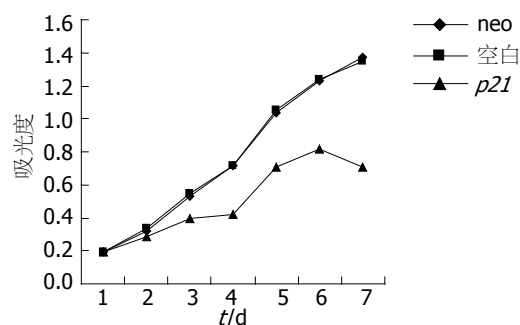
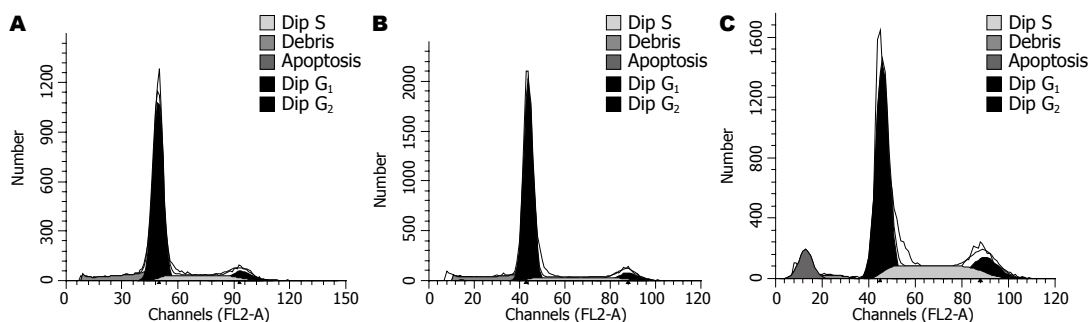
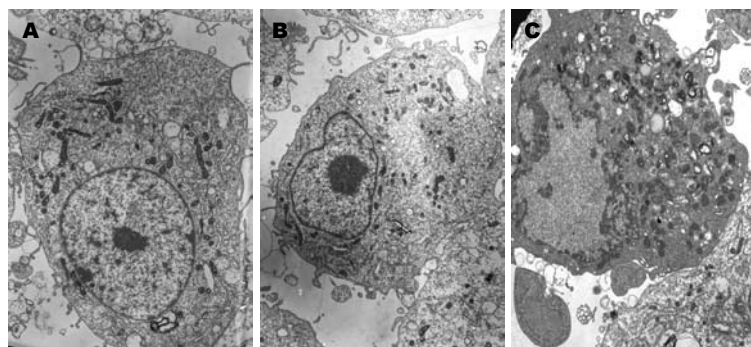
■应用要点

本研究提示 $p21$ 转染对胰腺癌有明显的生长抑制作用并能诱导细胞凋亡, $p21$ 转染的优点是其片段长度小, 克隆和转染操作比较方便, 是具有应用前景的基因治疗的很好的靶基因。

表 1 $p21$ 转染对BxPC-3细胞周期的影响 (% , mean \pm SD)

分组	细胞周期百分比			
	G ₀ /G ₁	G ₂ /M	S	凋亡率
未转染组	49.223 \pm 2.226	14.763 \pm 5.860	36.013 \pm 1.540	0.085 \pm 0.074
空载体转染组	47.443 \pm 6.354	17.310 \pm 3.703	35.247 \pm 3.966	0.105 \pm 0.059
$p21$ 转染组	59.887 \pm 3.700 ^a	18.837 \pm 5.778	21.277 \pm 2.080 ^b	10.907 \pm 2.278 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 空载体转染组, 空白对照组。

图 4 转染细胞P21蛋白检测. 1: $p21$ 转染组; 2: 空载体转染组; 3: 未转染组。图 5 $p21$ 转染BxPC-3细胞生长曲线。图 6 $p21$ 转染对BxPC-3细胞周期的影响. A: 未转染组; B: 空载体转染组; C: $p21$ 转染组。图 7 $p21$ 转染BxPC-3细胞电镜表现. A: 未转染组; B: 空载体转染组; C: $p21$ 转染组。

基因治疗方法具有重要意义。

$p21$ 是近年来发现的一类CKI分子, 编码由164个氨基酸残基组成的蛋白质, 相对分子质量为21 kDa, 是非常重要的抑癌基因。 $p21$ 也称野生型 $p53$ 激活片段1(wild-type $p53$ activated fragment 1, WAF1)、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子1A(cyclin-dependent kinase inhibitor

1A, CDKN1A)、细胞周期蛋白依赖性激酶相互作用蛋白1(cyclin dependent kinase interacted protein 1, CIP1)、CDK2结合蛋白20(CDK2-associated protein-20, CAP20)、衰老细胞释放的抑制因子(senescent cell-derived inhibitor, SDI)等, 这些名字从不同角度反映 $p21$ 的功能。 P21蛋白有C端和N端, C端抑制DNA复制必需因子-增

增殖细胞核抗原(proliferating-cell nuclear antigen, PCNA), N端抑制Cyclin-CDK, 并且N端Cyclin-CDK2抑制区也抑制细胞生长^[3]. P21蛋白可以和PCNA结合形成复合物(*p21*、CyclinE、cdk2及PCNA四联复合物), 抑制Rb磷酸化, 从而抑制DNA的复制而使细胞周期中止. P21蛋白广泛地抑制各种Cyclin-CDK复合物, 如CyclinD-CDK4、CyclinE-CDK2和CyclinA-CDK2. 通过对CDK和PCNA的双重抑制作用, P21可阻止DNA受损后进入S期, 使细胞有足够的时间进行DNA修复, 从而阻止被损伤DNA的修复, 维持细胞遗传信息的稳定性^[4], 从而使得增殖细胞在G₁向S期过渡受阻, 以便修复受损的DNA或最终导致细胞的凋亡.

*p21*在人的肿瘤细胞表达为可抑制肿瘤细胞的生长, 一旦*p21*丧失, 导致细胞周期失控; 有*p53*基因突变或缺失的细胞, *p21*产生减少或缺乏, 不能调节CDK复合物活性及PCNA的DNA复制功能, 不能协调细胞周期进程或产生异常的DNA复制, 从而导致基因组不稳定, 可导致细胞癌变^[4]. 在胃癌、结肠癌、膀胱癌、卵巢癌和胆管癌中*p21*基因的表达与肿瘤的预后明显相关^[5]. 通过改变*p21*基因的表达可以起到调节肿瘤生长的作用, 如陆丽华 *et al*^[6]发现药物氧化苦参碱通过上调细胞周期负调控因子*p21*基因表达, 来发挥其抗结肠癌肿瘤细胞作用. 耿长新 *et al*^[7]发现多烯紫杉醇使人肝癌细胞*p21*表达上调, 从而发挥对该肿瘤的生长抑制作用. 反之亦然, 郭晓榕 *et al*^[8]发现HBx基因可下调*p21* mRNA的表达, 从而促进细胞增殖、抑制细胞凋亡.

胰腺癌Smads失活报道很多, 相应其下游*p21*基因表达失活^[9]. *p21*基因失活在胰腺癌发生发展机制中起着重要作用^[10-12]. 而且多种药物和化合物抑制胰腺癌的作用机制与诱导*p21*基因表达有关^[2,13-22], Wang *et al*^[23]还发现FoxM1 siRNA通过增强*p21*表达而抑制了胰腺癌的侵袭力和血管生成. 上述发现说明*p21*可作为胰腺癌基因治疗的候选基因.

我们发现BxPC-3细胞在转染*p21*基因而产生P21蛋白高表达后, 其增殖明显受到抑制. 在接种第3天增殖开始被抑制, 随时间延长抑制率逐渐升高, 至第7天与对照组比较生长抑制率达48.2%. 流式细胞仪检测发现有明显的G₁/S期阻滞, 出现凋亡特征性的亚G₁峰, 透射电镜亦发现细胞凋亡发生. 本研究提示*p21*转染对胰腺癌有明显的生长抑制作用并能诱导细胞凋亡, 这为

胰腺癌的基因治疗提供了一种新途径, *p21*转染的优点是其片段长度小, 克隆和转染操作比较方便, 是具有应用前景的基因治疗的很好的靶基因.

4 参考文献

- 1 Chen J, Killary AM, Sen S, Amos CI, Evans DB, Abbruzzese JL, Frazier ML. Polymorphisms of p21 and p27 jointly contribute to an earlier age at diagnosis of pancreatic cancer. *Cancer Lett* 2008; 272: 32-39
- 2 Arnold NB, Arkus N, Gunn J, Korc M. The histone deacetylase inhibitor suberoylanilide hydroxamic acid induces growth inhibition and enhances gemcitabine-induced cell death in pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 18-26
- 3 Chen J, Jackson PK, Kirschner MW, Dutta A. Separate domains of p21 involved in the inhibition of Cdk kinase and PCNA. *Nature* 1995; 374: 386-388
- 4 Datta K, Babbar P, Srivastava T, Sinha S, Chattopadhyay P. p53 dependent apoptosis in glioma cell lines in response to hydrogen peroxide induced oxidative stress. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 148-157
- 5 Rose SL, Goodheart MJ, DeYoung BR, Smith BJ, Buller RE. p21 expression predicts outcome in p53-null ovarian carcinoma. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 1028-1032
- 6 陆丽华, 冉志华. 氧化苦参碱对人结肠癌细胞P21, P27, Cyclin E1及CDK2表达的影响. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1353-1357
- 7 耿长新, 曾昭冲, 周宏, 王吉耀, 元玉琴. 多烯紫杉醇体内对肝癌放化疗及其对p21和bcl-2表达影响. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2848-2852
- 8 郭晓榕, 程斌, 郑要初, 林松挺, 黎培员. HBx基因下调p21对HepG2细胞增殖与凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2080-2085
- 9 Kloth JN, Kenter GG, Spijker HS, Uljee S, Corver WE, Jordanova ES, Fleuren GJ, Gorter A. Expression of Smad2 and Smad4 in cervical cancer: absent nuclear Smad4 expression correlates with poor survival. *Mod Pathol* 2008; 21: 866-875
- 10 陆澄, 曾水林, 张郭华, 杨鹏. 胰腺癌组织中P21(WAF1)、转化生长因子 α 、表皮生长因子受体表达与神经浸润转移的关系. *南通大学学报(医学版)* 2006; 26: 21-35
- 11 杨勇, 黄允宁, 苏刚, 杨世杰. P53、P21 WAF1和CDK4在胰腺癌组织中的表达. *宁夏医学杂志* 2008; 30: 199-201
- 12 杨勇, 曹农, 朱有权, 周彦明, 曾峰, 冯颖. 胰腺癌中和的p21WAF1、cyclinD1CDK4表达意义及其相互关系. *中国肿瘤临床* 2005; 32: 252-255
- 13 Cheng F, McLaughlin PJ, Verderame MF, Zagon IS. The OGF-OGFr axis utilizes the p21 pathway to restrict progression of human pancreatic cancer. *Mol Cancer* 2008; 7: 5
- 14 Haefner M, Bluethner T, Niederhagen M, Moebius C, Wittekind C, Mossner J, Caca K, Wiedmann M. Experimental treatment of pancreatic cancer with two novel histone deacetylase inhibitors. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3681-3692
- 15 Pellizzaro C, Speranza A, Zorzet S, Crucil I, Sava G, Scarlata I, Cantoni S, Fedeli M, Coradini D. Inhibition of human pancreatic cell line MIA PaCa2 proliferation by HA-But, a hyaluronic butyric ester:

■同行评价

本研究具有一定的探索性价值, 对治疗胰腺癌提供了一些有价值的信息.

- a preliminary report. *Pancreas* 2008; 36: e15-e23
- 16 Schwartz GG, Eads D, Naczki C, Northrup S, Chen T, Koumenis C. 19-nor-1 alpha,25-dihydroxyvitamin D2 (paricalcitol) inhibits the proliferation of human pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Biol Ther* 2008; 7: 430-436
- 17 Bader Y, Hartmann J, Horvath Z, Saiko P, Grusch M, Madlener S, Maier S, Oehler L, Fritzer-Szekeres M, Heller N, Alken RG, Krupitza G, Szekeres T. Synergistic effects of deuterium oxide and gemcitabine in human pancreatic cancer cell lines. *Cancer Lett* 2008; 259: 231-239
- 18 Shankar S, Ganapathy S, Hingorani SR, Srivastava RK. EGCG inhibits growth, invasion, angiogenesis and metastasis of pancreatic cancer. *Front Biosci* 2008; 13: 440-452
- 19 Wiseman DA, Werner SR, Crowell PL. Cell cycle arrest by the isoprenoids perillyl alcohol, geraniol, and farnesol is mediated by p21(Cip1) and p27(Kip1) in human pancreatic adenocarcinoma cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 320: 1163-1170
- 20 Donadelli M, Dalla Pozza E, Costanzo C, Scupoli MT, Piacentini P, Scarpa A, Palmieri M. Increased stability of P21(WAF1/CIP1) mRNA is required for ROS/ERK-dependent pancreatic adenocarcinoma cell growth inhibition by pyrrolidine dithiocarbamate. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763: 917-926
- 21 Salabat MR, Ding XZ, Flesche JB, Ujiki MB, Robin TP, Talamonti MS, Bell RH Jr, Adrian TE. On the mechanisms of 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced growth arrest in pancreatic cancer cells. *Pancreas* 2006; 33: 148-155
- 22 李智, 秦阳, 郭克建. 维生素D衍生物EB1089对胰腺癌细胞系生长抑制作用的实验研究. *沈阳医学院学报* 2005; 7: 78-80
- 23 Wang Z, Banerjee S, Kong D, Li Y, Sarkar FH. Down-regulation of Forkhead Box M1 transcription factor leads to the inhibition of invasion and angiogenesis of pancreatic cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 8293-8300

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志参考文献要求

本刊讯 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang *et al*”的右上角注角码;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码.如马连生^[1]报告……,潘伯荣 *et al*^[2-5]认为……;PCR方法敏感性高^[6-7].文献序号作正文叙述时,用与正文同角的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology*(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.(常务副总编辑:张海宁 2009-06-08)