

马尾松花粉多糖硫酸酯对肝癌HepG2细胞的诱导分化

刘芳, 刘靛雯, 蔡云, 王丽娟, 耿越

背景资料
天然多糖经过硫酸酯化修饰后, 由于空间结构的改变可增强某些活性或产生新的生物活性, 使多糖的硫酸酯化修饰及活性研究成为多糖研究领域中的一个热点。很多多糖硫酸酯表现出抗肿瘤活性, 其机制主要有增强免疫、诱导肿瘤细胞凋亡、诱导细胞分化、抑制核酸和蛋白质合成、抑制血管生成等。

刘芳, 菏泽市疾病预防控制中心 山东省菏泽市 274000
刘靛雯, 济南市传染病医院 山东省济南市 250021
蔡云, 王丽娟, 耿越, 山东师范大学生命科学学院动物抗性生物学省重点实验室 山东省济南市 250014
刘芳, 硕士, 主要从事免疫细胞生物学方向研究。
山东省自然科学基金资助项目, No. Y2008D13
作者贡献分布: 刘芳与耿越对此文所作贡献均等; 此课题由刘芳与耿越设计; 研究过程由刘芳、刘靛雯、蔡云、王丽娟及耿越操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由耿越提供; 数据分析由刘芳、蔡云及王丽娟完成; 本文写作由刘芳与耿越完成。
通讯作者: 耿越, 博士, 250014, 山东省济南市文化东路88号, 山东师范大学生命科学学院动物抗性生物学省重点实验室。
gengy@sdnu.edu.cn
电话: 0531-86180196
收稿日期: 2009-07-25 修回日期: 2009-09-13
接受日期: 2009-09-21 在线出版日期: 2009-10-18

Sulfated derivative of polysaccharide from *Pinus massoniana* pollen induces differentiation of human liver cancer HepG2 cells

Fang Liu, Jing-Wen Liu, Yun Cai, Li-Juan Wang, Yue Geng

Fang Liu, Shandong Heze Center For Disease Control and Prevention, Heze 274000, Shandong Province, China
Jing-Wen Liu, Jinan Infectious Disease Hospital, Jinan 250021, Shandong Province, China
Yun Cai, Li-Juan Wang, Yue Geng, Shandong Provincial Key Laboratory of Animal Resistance Biology, College of Life Sciences, Shandong Normal University, Jinan 250014, Shandong Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. Y2008D13
Correspondence to: Yue Geng, Shandong Provincial Key Laboratory of Animal Resistance Biology, College of Life Sciences, Shandong Normal University, 88 Wenhua East Road, Jinan 250014, Shandong Province, China. gengy@sdnu.edu.cn
Received: 2009-07-25 Revised: 2009-09-13
Accepted: 2009-09-21 Published online: 2009-10-18

Abstract

AIM: To determine whether sulfated derivative of polysaccharide from *Pinus massoniana* pollen (SPPM60) can induce the differentiation of human liver cancer HepG2 cells *in vitro* and explore the mechanisms involved.

METHODS: The proliferation of HepG2 cells was evaluated by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) colorimetric assay. Cell morphology was

observed using an inverted microscope and a transmission electron microscope. Cell cycle analysis was performed by flow cytometry. The concentration of cytosolic free calcium was measured by fluorescence spectrophotometry. The expression of alpha-fetoprotein (AFP) was detected by immunocytochemistry. The secretory amount of albumin (Alb) was determined using the bromocresol green method. The specific activity of gamma-glutamyltranspeptidase (γ -GT) was measured using the colorimetric method based on diazo reaction. Alkaline phosphatase (ALP) activity was measured by colorimetry.

RESULTS: SPPM60 treatment inhibited cell growth, induced the normalization of cell morphology, increased the number of cells in G₀/G₁ phase ($76.97\% \pm 0.91\%$ vs $64.62\% \pm 0.18\%$, $P < 0.05$), decreased the number of cells in S phase ($17.21\% \pm 0.71\%$ vs $24.26\% \pm 0.15\%$, $P < 0.05$) and G₂/M phase ($5.82\% \pm 0.20\%$ vs $11.13\% \pm 0.34\%$, $P < 0.01$), reduced the concentration of cytosolic free calcium, downregulated the expression of AFP, enhanced the secretion of Alb (6.77 ± 0.33 mg/10⁶ cells vs 4.87 ± 0.30 mg/10⁶ cells, $P < 0.05$), lowered the activity of γ -GT and ALP (16.3 ± 0.7 U/g vs 22.3 ± 1.2 U/g and 223.3 ± 15.7 U/g vs 311.1 ± 13.4 U/g, respectively; both $P < 0.05$ or 0.01), and reduced the percentage of heat-resistant ALP activity ($46.4\% \pm 1.5\%$ vs $62.5\% \pm 2.3\%$, $P < 0.05$). In contrast, cells treated with polysaccharide from *Pinus massoniana* pollen (PPM60) showed no remarkable changes.

CONCLUSION: SPPM60 exerts anticancer activity perhaps via a mechanism associated with decreasing the concentration of cytosolic free calcium, preventing cell cycle progression, and reversing the malignant phenotype of cancer cells.

Key Words: Sulfated polysaccharide; HepG2 cell; Cell proliferation; Cell differentiation

Liu F, Liu JW, Cai Y, Wang LJ, Geng Y. Sulfated derivative of polysaccharide from *Pinus massoniana* pollen induces differentiation of human liver cancer HepG2 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(29): 2990-2995

同行评议者
管冬元, 副教授, 上海中医药大学基础医学院实验中医教研室

摘要

目的: 观察马尾松花粉多糖硫酸酯(SPPM60)对人肝癌细胞株HepG2的诱导分化作用, 并对其机制进行初步探讨。

方法: MTT法检测HepG2细胞增殖活力; 倒置显微镜、HE染色及透射电镜观察细胞形态; 流式细胞技术检测细胞周期; 荧光分光光度计检测细胞内钙离子浓度的变化; 免疫细胞化学方法检测甲胎蛋白的表达, 溴甲酚绿法测定白蛋白含量; 重氮反应比色法测定 γ -谷氨酰转肽酶活力, 比色法测定碱性磷酸酶活力, 考马斯亮蓝法测定总蛋白含量。

结果: 经SPPM60处理后, HepG2细胞的增殖受到抑制; 细胞形态趋于正常; 与对照组相比, SPPM60组 G_0/G_1 期细胞数增加($76.97\% \pm 0.91\%$ vs $64.62\% \pm 0.18\%$, $P < 0.05$), S期细胞数减少($17.21\% \pm 0.71\%$ vs $24.26\% \pm 0.15\%$, $P < 0.05$), G_2/M 细胞数减少($5.82\% \pm 0.20\%$ vs $11.13\% \pm 0.34\%$, $P < 0.01$); $[Ca^{2+}]_i$ 降低; 甲胎蛋白表达降低, 白蛋白分泌量上升(6.77 ± 0.33 mg/ 10^6 细胞 vs 4.87 ± 0.30 mg/ 10^6 细胞, $P < 0.05$), γ -谷氨酰转肽酶与碱性磷酸酶活力降低(16.3 ± 0.7 U/g vs 22.3 ± 1.2 U/g; 223.3 ± 15.7 U/g vs 311.1 ± 13.4 U/g $P < 0.05$ 或 0.01), 胎盘型碱性磷酸酶的比例降低($46.4\% \pm 1.5\%$ vs $62.5\% \pm 2.3\%$, $P < 0.05$). PPM60组细胞没有明显变化。

结论: 硫酸酯化赋予了SPPM60抑制HepG2细胞的活性, 其作用机理可能是降低细胞内钙离子浓度, 阻滞细胞周期于 G_0/G_1 期, 诱导HepG2细胞分化逆转其恶性。

关键词: 多糖硫酸酯; HepG2; 细胞增殖; 细胞分化

刘芳, 刘靓雯, 蔡云, 王丽娟, 耿越. 马尾松花粉多糖硫酸酯对肝癌HepG2细胞的诱导分化. 世界华人消化杂志 2009; 17(29): 2990-2995
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/2990.asp>

0 引言

通过对多种天然或经修饰制备的多糖硫酸酯研究, 人们发现多糖的硫酸酯化衍生物具有突出或加强的抗肿瘤活性^[1-3]. 本实验从体外的角度, 考察马尾松花粉多糖PPM60及其硫酸酯SPPM60对人肝癌细胞株HepG2生长状态的作用, 明确硫酸酯化对PPM60体外抗肿瘤作用的影响, 以期为马尾松花粉多糖的开发利用提供理论支持, 并为肝癌的治疗提供

一种潜在的方法。

1 材料和方法

1.1 材料 马尾松花粉由新时代健康产业集团提供, 本实验室从中提取60%乙醇分级多糖(PPM60), 并制备硫酸酯(SPPM60, 取代度1.41). 人肝癌细胞株HepG2, 由本实验室液氮保存. RPMI 1640, Gibco. 新生牛血清, 杭州四季青. 胰蛋白酶、MTT、PI、EGTA, Sigma. DMSO, 上海生工生物公司. Fura-2/AM、F127, Dojin. Triton X-100, Amresco. 鼠抗人甲胎蛋白(AFP) mAb、二步法免疫组织化学检测试剂、浓缩型DAB试剂盒, 北京中杉金桥生物技术公司. 白蛋白(Alb)检测试剂盒、 γ -谷氨酰转肽酶(γ -GT)检测试剂盒、碱性磷酸酶(ALP)检测试剂盒、总蛋白检测试剂盒, 南京建成生物工程研究所。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HepG2细胞生长于含10%小牛血清、100 U/mL青霉素和100 U/mL链霉素的RPMI 1640培养基中, 置50 mL/L CO₂、37℃和950 mL/L空气湿度条件下培养。

1.2.2 MTT法: 取对数期生长的HepG2细胞, 调整浓度以 4×10^7 细胞/L接种于3个96孔培养板. 24 h后, 加入终浓度分别是25、50、100和200 mg/L的PPM60或SPPM60作用24、48和72 h, MTT法测定各孔吸光度值(A值). 阳性对照为终浓度2 mg/L的丝裂霉素. 每组设5个平行孔。

1.2.3 细胞形态: 200 mg/L的PPM60或SPPM60作用72 h后, 将实验组和对照组细胞分别进行倒置显微镜、HE染色和透射电镜观察, 并拍照。

1.2.4 细胞周期: 200 mg/L的PPM60或SPPM60作用细胞72 h后, 以PI标记DNA, 流式细胞仪检测. 每组设3个平行。

1.2.5 细胞内钙离子浓度: 200 mg/L的PPM60或SPPM60分别作用细胞40 min、24、48及72 h, 以Fura-2/AM为游离钙离子探针, 用荧光分光光度计在(340, 500)/(380, 500)双波长测定荧光比值(F). 加入Triton X-100, 测定最大荧光比值(F_{max}). 继续加入终浓度10 mmol/L EGTA, 测定最小荧光比值(F_{min}). 每组设3个平行. 根据下式计算出 $[Ca^{2+}]_i$. $[Ca^{2+}]_i = K_d(F - F_{min}) / (F_{max} - F)$. 在生理情况下, K_d 值为224。

1.2.6 AFP免疫细胞化学染色: 经200 mg/L的PPM60或SPPM60作用72 h的细胞爬片, PBS液洗涤, 冷丙酮固定, 免疫细胞化学染色, 封片后光镜观察。

1.2.7 Alb、 γ -GT、ALP的测定: 200 mg/L的

研究前沿

随着肿瘤细胞诱导分化研究逐渐成为肿瘤生物学和肿瘤治疗学热点研究领域, 各种肝癌细胞的分化诱导实验也并取得了一定的进展. 筛选和鉴定具有抑制肝癌细胞增殖、诱导肝癌细胞分化且对正常细胞无明显不良反应的分化诱导剂, 是肝癌研究的重要方向。

创新盘点

本研究从细胞增殖活力、形态学、细胞周期、细胞内游离钙离子浓度、生化指标等多方面进行研究,确定了SPPM60对HepG2细胞具有抑制作用,其机制可能是诱导细胞分化。同时对SPPM60与PPM60表现的作用进行了对比,明确了硫酸酯化对马尾松花粉多糖活性的影响。

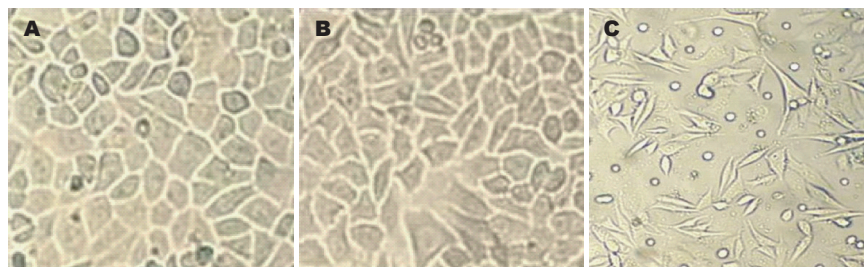


图1 HepG2细胞倒置显微镜观察($\times 400$)。A: 对照组; B: PPM60组; C: SPPM60组。

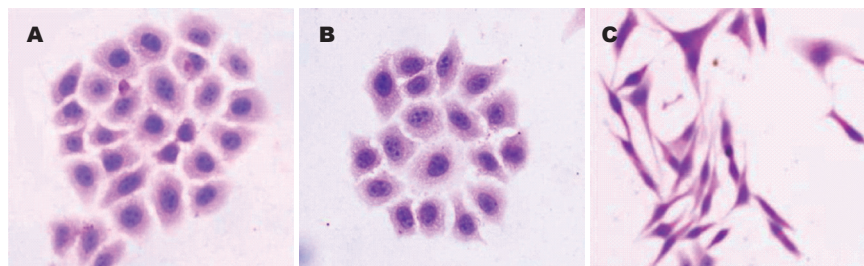


图2 HepG2细胞HE染色结果($\times 400$)。A: 对照组; B: PPM60组; C: SPPM60组。

表1 MTT法检测各组细胞4值

分组	24 h	48 h	72 h
对照组	0.372 ± 0.080	0.446 ± 0.099	0.565 ± 0.026
PPM60组(mg/L)			
25	0.344 ± 0.041	0.422 ± 0.060	0.679 ± 0.063
50	0.384 ± 0.041	0.427 ± 0.074	0.606 ± 0.064
100	0.406 ± 0.084	0.439 ± 0.065	0.565 ± 0.060
200	0.335 ± 0.049	0.440 ± 0.094	0.571 ± 0.074
SPPM60组(mg/L)			
25	0.353 ± 0.046	0.406 ± 0.040	0.507 ± 0.072
50	0.372 ± 0.038	0.363 ± 0.094^a	0.549 ± 0.053
100	0.393 ± 0.033	0.365 ± 0.082	0.374 ± 0.012^b
200	0.376 ± 0.020	0.291 ± 0.019^b	0.327 ± 0.015^b
丝裂霉素组	0.181 ± 0.035^b	0.106 ± 0.014^b	0.088 ± 0.049^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

PPM60或SPPM60作用细胞72 h, 收集培养液, 离心取上清真空冷冻干燥, 溶于PBS, 溴甲酚绿法测定Alb含量。同时收集细胞并计数, PBS洗涤, 加入含0.5% Triton X-100的0.05 mol/L Tris-HCl缓冲液(pH7.4), 冰浴下超声破碎细胞, 离心取上清用于检测。考马斯亮蓝法测定总蛋白含量、重氮反应比色法测定 γ -GT活力、比色法测定ALP活力。胎盘型ALP活性的测定于65℃加热30 min后, 测定剩余酶活力占总活力的百分比。

统计学处理 采用SPSS11.5统计软件进行数据分析, 结果以mean \pm SD表示, 用 t 检验进行显著性分析。

2 结果

2.1 SPPM60对HepG2细胞增殖能力的影响

SPPM60对HepG2细胞的增殖有抑制作用, 一定程度上具有剂量依赖性和时间依赖性, 200 mg/L浓度作用72 h抑制率达42.05%。PPM60对HepG2细胞没有显著性作用, 甚至在某些条件下有轻微的促进增殖作用。阳性对照丝裂霉素对细胞的抑制能力很强(表1)。

2.2 SPPM60对HepG2细胞形态的影响 对照组细胞呈多边形生长, 排列紧密, 能融合成片并铺满瓶底, 一些区域出现叠堆生长, 有多核仁现象(图1A, 图2A)。PPM60组细胞生长状况与对照组没有明显差别(图1B, 图2B)。SPPM60组细胞呈纺锤体形或树枝状, 分布较对照组稀疏, 细胞间距加大, 贴壁能力减弱, 核仁数量减少(图1C, 图2C)。透射电镜观察(图3), 对照组和PPM60组细胞, 核质比例大, 核仁体积大、数量多, 常染色质较多, 细胞器少, 不发达。SPPM60组细胞核变小, 核质比例减小, 核仁变小、减少, 异染色质比例增多, 线粒体、内质网、高尔基体等细胞器增多, 发育较完善。

2.3 SPPM60对HepG2细胞周期的影响 与对照组相比, SPPM60组G₀/G₁期细胞数显著性增加, 而S期和G₂/M期细胞数分别显著性和极显著性下降, 即细胞发生了G₀/G₁期阻滞。PPM60组与对照组G₀/G₁期细胞数有显著性差异, 但变化幅度很小(图4)。

2.4 SPPM60对HepG2细胞[Ca²⁺]_i的影响 动力学扫描40 min内(图5), SPPM60对[Ca²⁺]_i未表现出明显的作用。在24、48、72 h时间点(图6), SPPM60组[Ca²⁺]_i均比对照组显著性降低。PPM60组[Ca²⁺]_i与对照组各时间点均没有显著性差异(图5-6)。

2.5 SPPM60对AFP表达的影响 对照组细胞AFP免疫细胞化学反应呈阳性, 黄褐色反应产物主

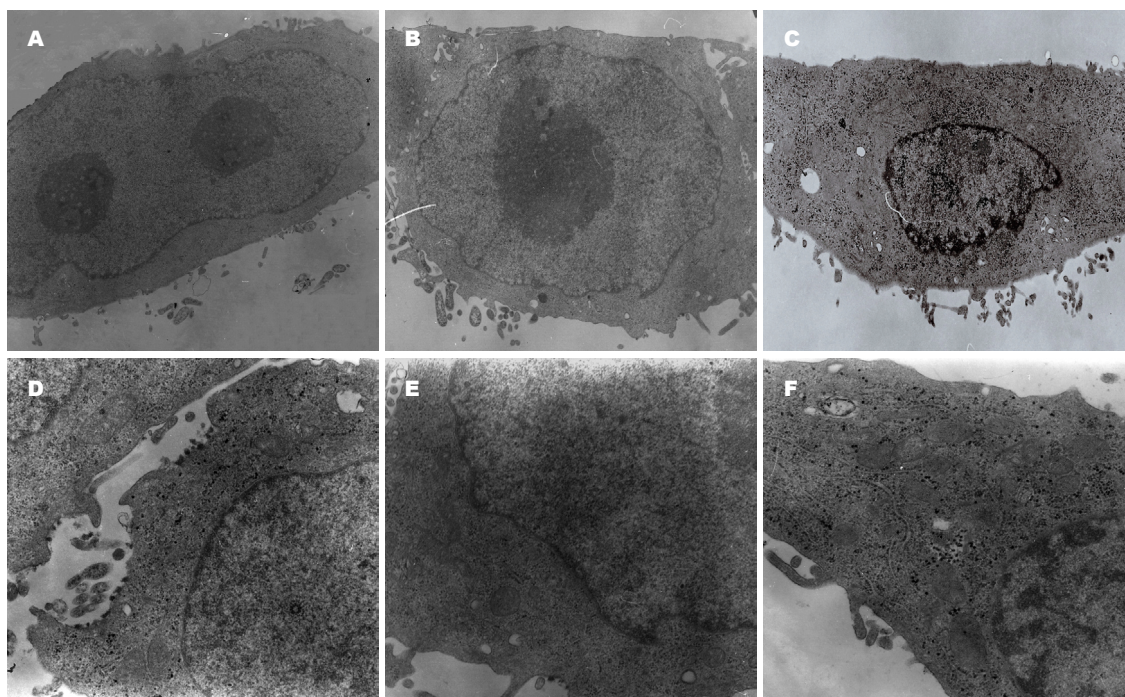


图3 HepG2细胞透射电镜。A: 对照组($\times 5000$); B: PPM60组($\times 5000$); C: SPPM60组($\times 5000$); D: 对照组($\times 15000$); E: PPM60组($\times 15000$); F: SPPM60组($\times 15000$)。

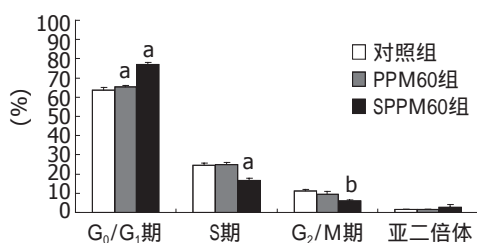


图4 药物对HepG2细胞周期分布的影响。^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组。

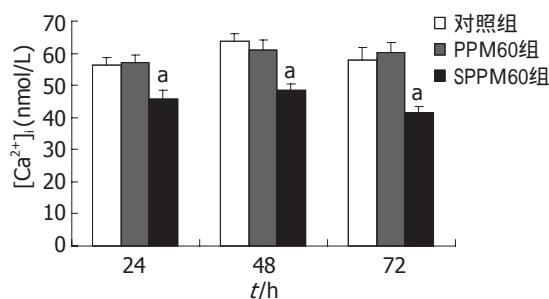


图6 药物作用不同时间[Ca²⁺]_i的变化。^a $P < 0.05$ vs 对照组。

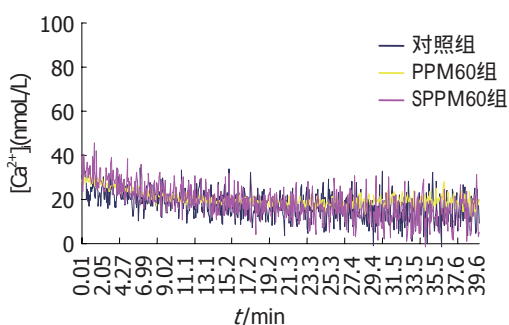


图5 动力学软件扫描[Ca²⁺]_i。

要分布于核周边的细胞质区域,同时细胞核内也有散在反应产物(图7A)。PPM60组AFP表达情况与对照组相似(图7B)。SPPM60组AFP免疫细胞化学反应很弱,浅黄色反应产物仅在细胞质中有少量分布,细胞核内呈阴性(图7C)。

2.6 SPPM60对分泌Alb、 γ -GT活力、ALP活力的影响 与对照组相比, SPPM60组细胞Alb分泌量

显著性升高; γ -GT比活力极显著性下降; ALP比活力显著性降低,其中胎盘型ALP所占的比例也显著性降低。PPM60组与对照组相比没有显著性差异(表2)。

3 讨论

细胞形态与超微结构是其行使功能的基础和表现,形态与超微结构的改变在一定程度上可反映细胞相关功能状态也发生了变化。SPPM60作用后HepG2细胞的形态与超微结构的变化和一些诱导分化剂处理肝癌细胞产生的结果一致^[4-5],提示SPPM60可能是诱导了HepG2细胞恶性表型逆转。SPPM60组细胞核、核仁及染色质的变化,表明细胞增殖相关基因表达减弱而分化相关基因表达增强,即与DNA复制、细胞分裂相关的蛋白质合成减少,而与细胞分化相关的蛋白质合成增多;细胞质内细胞器的变化表明细胞能

应用要点
本文通过对马尾松花粉多糖硫酸酯对肝癌HepG2细胞的抑制并诱导其分化作用的研究,可以为肝癌细胞诱导分化的研究提供更多的支持,为预防和治疗肝癌提供了一种潜在的方法,同时也为马尾松花粉充分有效的开发利用提供了理论依据。

名词解释

多糖硫酸酯: 也称硫酸酯化多糖, 是指多糖大分子链中单糖分子上某一个或几个羟基被硫酸根所取代而形成的一类化学结构复杂、生物活性多样、构效关系鲜明的多糖衍生物, 为聚阴离子化合物, 包括天然提取的多种硫酸多糖和人工合成的硫酸多糖。



图 7 免疫细胞化学检测AFP的表达($\times 250$). A: 对照组; B: PPM60组; C: SPPM60组.

表 2 SPPM60对细胞分泌代谢功能的影响

	对照组	PPM60组	SPPM60组
Alb(mg/10 ⁶ cells)	4.87 \pm 0.30	4.78 \pm 0.05	6.77 \pm 0.33 ^a
γ -GT(U/g)	22.3 \pm 1.2	21.5 \pm 1.2	16.3 \pm 0.7 ^b
ALP(U/g)	311.1 \pm 13.4	309.1 \pm 19.1	223.3 \pm 15.7 ^a
胎盘型ALP(%)	62.5 \pm 2.3	61.7 \pm 3.1	46.4 \pm 1.5 ^a

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 对照组.

量代谢、蛋白质合成及运输趋于正常。

许多诱导分化实验中出现了细胞周期停滞的现象^[5-7], 表明细胞周期停滞是细胞分化所必需的条件。因此, 本实验流式细胞检测结果也提示SPPM60可能诱导了HepG2细胞分化。适宜的细胞内外Ca²⁺浓度对细胞的增殖是必需的, 在细胞增殖过程中, 胞质中Ca²⁺浓度增加被认为是细胞复制和增殖的原始信号, Ca²⁺在细胞周期的多个控制点处都发挥作用^[8]。基因水平的研究亦认为, 细胞内Ca²⁺浓度的改变可以调节一些原癌基因的表达, 这些原癌基因产物分布于细胞生长调控的各交叉点, 调控细胞的增殖^[9]。黄添友 *et al*^[10] 研究发现茯苓多糖和刺五加多糖对体外培养的肿瘤细胞S180有显著的抑制作用, 其机制之一是这2种多糖能显著抑制肿瘤细胞膜PI转换。视磺酸诱导人成神经细胞瘤细胞株LAN-1分化过程中, PI转换被显著抑制, IP3和DAG的量明显减少^[11]。本实验中, SPPM60对HepG2细胞[Ca²⁺], 短期内没有影响, 而长期作用下使其降低, 提示SPPM60可能是间接发挥作用的, 推测SPPM60通过诱导另一因素来抑制PI转换, 减少PIP2, 从而减少IP3, 使细胞持续增殖消耗的Ca²⁺得不到补偿, 导致[Ca²⁺]逐渐减少, 不能够满足细胞周期运转的需要, 抑制细胞增殖。

形态学、超微结构及细胞周期的结果均提示, SPPM60可能具有诱导HepG2细胞分化的活

性。为了探讨肝癌细胞分化的指标, 结合文献报道, 选用了4种可以反映肝细胞分化的酶和蛋白作为观察对象。AFP是肝癌特征性标志蛋白, 与肝癌的恶性程度密切相关^[12]。Alb是成熟肝细胞分泌的蛋白, 可作为肝细胞分化的标记蛋白^[13-14]。 γ -GT是肝癌的标志酶^[15]。ALP是消化系肿瘤的重要标志酶之一, 其代谢活性与细胞增殖密切相关^[16-17], 肝癌患者出现耐热型(即胎盘型)ALP同工酶^[18]。本实验结果提示SPPM60能诱导HepG2细胞分化, 逆转其恶性表型。

多糖经过硫酸酯化修饰, 构象发生变化, 而引起生物活性的变化。因此, 多糖的硫酸酯化衍生物常常具有突出或者加强的抗肿瘤活性, 其机制有促进机体免疫^[19], 诱导细胞凋亡^[20], 诱导细胞分化^[21], 抑制血管生成^[22]等。随着糖化学和糖生物学的研究不断深入, 多糖硫酸酯抗肿瘤机制及其构效关系将会得到系统的阐明, 多糖硫酸酯将可能成为一种具有良好开发前景的抗肿瘤药物。

4 参考文献

- Koyanagi S, Tanigawa N, Nakagawa H, Soeda S, Shimeno H. Oversulfation of fucoidan enhances its anti-angiogenic and antitumor activities. *Biochem Pharmacol* 2003; 65: 173-179
- Lin Y, Zhang L, Chen L, Jin Y, Zeng F, Jin J, Wan B, Cheung PC. Molecular mass and antitumor activities of sulfated derivatives of alpha-glucan from *Poria cocos* mycelia. *Int J Biol Macromol* 2004; 34: 289-294
- Wang Y, Zhang L, Li Y, Hou X, Zeng F. Correlation of structure to antitumor activities of five derivatives of a beta-glucan from *Poria cocos* sclerotium. *Carbohydr Res* 2004; 339: 2567-2574
- 曾小莉, 涂植光. 人参皂甙Rh2对人肝癌细胞SMMC-7721的诱导分化作用. *癌症* 2004; 23: 879-884
- Wu X, Chen D, Xie GR. Effects of Gekko sulfated polysaccharide on the proliferation and differentiation of hepatic cancer cell line. *Cell Biol Int* 2006; 30: 659-664
- Daubeuf S, Accaoui MJ, Pettersen I, Huseby NE, Visvikis A, Galteau MM. Differential regulation of gamma-glutamyltransferase mRNAs in four human tumour cell lines. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1568:

- 67-73
- 7 Herold C, Ganslmayer M, Ocker M, Hermann M, Geerts A, Hahn EG, Schuppan D. The histone-deacetylase inhibitor Trichostatin A blocks proliferation and triggers apoptotic programs in hepatoma cells. *J Hepatol* 2002; 36: 233-240
- 8 Takuwa N, Zhou W, Takuwa Y. Calcium, calmodulin and cell cycle progression. *Cell Signal* 1995; 7: 93-104
- 9 Todisco A, Takeuchi Y, Seva C, Dickinson CJ, Yamada T. Gastrin and glycine-extended progastrin processing intermediates induce different programs of early gene activation. *J Biol Chem* 1995; 270: 28337-28341
- 10 黄添友, 佟丽, 吴波, 梁谋, 梁念慈, 李吉来. 四种植物多糖对S180细胞膜磷脂酰肌醇转换的影响. *第一军医大学学报* 1995; 15: 211-212
- 11 Ponzoni M, Lanciotti M. Retinoic acid rapidly decreases phosphatidylinositol turnover during neuroblastoma cell differentiation. *J Neurochem* 1990; 54: 540-546
- 12 Wang XW, Xu B. Several new targets of antitumor agents. *Zhongguo Yaoli Xuebao* 1997; 18: 289-292
- 13 Hillaire S, Barbu V, Boucher E, Moukhtar M, Poupon R. Albumin messenger RNA as a marker of circulating hepatocytes in hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1994; 106: 239-242
- 14 赵海磊, 刘成, 赵爱光. 中药复方胃肠安血清诱导肝癌SMC-7721细胞分化. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1345-1348
- 15 Ogawa K, Solt DB, Farber E. Phenotypic diversity as an early property of putative preneoplastic hepatocyte populations in liver carcinogenesis. *Cancer Res* 1980; 40: 725-733
- 16 Skinner JM, Whitehead R. Carcinoplacental alkaline phosphatase in malignant and premalignant conditions of the human digestive tract. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 1981; 394: 109-118
- 17 任鹏. 木樨草素抑制肝癌SMC7721细胞增殖的研究. *生物技术通讯* 2007; 18: 798-799
- 18 Lu Y, Lu Q, Chen HL. Diagnosis of primary liver cancer using lectin affinity chromatography of serum alkaline phosphatase. *J Exp Clin Cancer Res* 1997; 16: 75-80
- 19 盛玉青, 尹鸿萍, 李海涛, 徐士君. 螺旋藻多糖硫酸酯化修饰前后抗肿瘤及免疫活性的研究. *药物生物技术* 2006; 13: 107-111
- 20 Berry D, Lynn DM, Sasisekharan R, Langer R. Poly(beta-amino ester)s promote cellular uptake of heparin and cancer cell death. *Chem Biol* 2004; 11: 487-498
- 21 Bourgougnon N, Roussakis C, Kornprobst JM, Lahaye M. Effects in vitro of sulfated polysaccharide from *Schizymenia dubyi* (Rhodophyta, Gigartinales) on a non-small-cell bronchopulmonary carcinoma line (NSCLC-N6). *Cancer Lett* 1994; 85: 87-92
- 22 Soeda S, Kozako T, Iwata K, Shimeno H. Oversulfated fucoidan inhibits the basic fibroblast growth factor-induced tube formation by human umbilical vein endothelial cells: its possible mechanism of action. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1497: 127-134

同行评价
本研究思路清晰,
设计合理, 具有一定
的创新性.

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

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

• 消息 •

WJG 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库。此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊, 并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求。

截至目前, 我国只有两本期刊被PMC收录。《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊。《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology, WJG*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录, 全文免费向公众开放, 见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive>(WJG编辑部主任: 程剑侠 2009-10-18)