

复方苦参、奥沙利铂及重组人血管内皮抑素联合对人肝癌细胞株SMMC-7721凋亡的影响

姜子瑜, 华海清, 杨爱珍, 秦叔逵

■背景资料

临床上早期肝细胞癌的治疗以手术为主, 然而由于其恶性程度高, 起病隐匿, 早期诊断困难, 大多数患者确诊时已发展到晚期, 失去了手术及局部治疗的机会, 因此, 化疗、中药、免疫调节以及近年来兴起的分子靶向药物等成为肝癌的主要治疗方法。

姜子瑜, 南京中医药大学附属八一医院 江苏省南京市 210046

华海清, 杨爱珍, 秦叔逵, 中国人民解放军八一医院全军肿瘤中心 江苏省南京市 210002

姜子瑜, 南京中医药大学在读博士, 主要从事中西医结合临床肿瘤内科学的研究。

“十一五”军队中医药重大临床攻关基金资助项目, No. 2006051005

作者贡献分布: 实验由姜子瑜完成并撰写论文; 华海清审修; 课题由华海清设计; 秦叔逵指导; 杨爱珍提供实验指导。

通讯作者: 华海清, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 210002, 江苏省南京市, 中国人民解放军八一医院全军肿瘤中心。

huahaiqing@csc.org.cn

电话: 025-80864055

收稿日期: 2010-08-04 修回日期: 2010-09-14

接受日期: 2010-09-25 在线出版日期: 2010-11-18

Effects of Fufangkushen Injection in combination with oxaliplatin and recombinant human endostatin injection on apoptosis in human hepatoma cell line SMMC-7721

Zi-Yu Jiang, Hai-Qing Hua, Ai-Zhen Yang, Shu-Kui Qin

Zi-Yu Jiang, the 81st Hospital of Chinese PLA, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Hai-Qing Hua, Ai-Zhen Yang, Shu-Kui Qin, Cancer Center, the 81st Hospital of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Supported by: the Major Clinical Research Project of Chinese PLA During the “11th Five-Year Plan” Period, No. 2006051005

Correspondence to: Professor Hai-Qing Hua, Cancer Center, the 81st Hospital of Chinese PLA, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. huahaiqing@csc.org.cn

Received: 2010-08-04 Revised: 2010-09-14

Accepted: 2010-09-25 Published online: 2010-11-18

Abstract

AIM: To investigate the possible synergistic effects of Fufangkushen Injection, oxaliplatin and recombinant human endostatin (Endostar) on apoptosis in human hepatoma cell line SMMC-7721.

METHODS: Fluorescence microscopy and TUNEL assay were employed to evaluate apoptosis of SMMC-7721 cells. Immunohistochemistry

was used to detect the expression of apoptosis-associated proteins survivin, Bcl-2 and caspase-3 in SMMC-7721 cells.

RESULTS: Fluorescence microscopy analysis showed that the apoptosis index (AI) of cells treated with Fufangkushen Injection and oxaliplatin and those treated with Fufangkushen Injection, oxaliplatin and Endostar was 44.33% and 46.33%, respectively, with no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). TUNEL analysis showed that the AI of the above two groups of cells were 36.3% and 34.2%, respectively, with no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). Immunohistochemistry analysis demonstrated that, although the expression of survivin and Bcl-2 decreased and the expression of caspase-3 increased in the above two groups of cells (1.426 ± 0.007 , 1.442 ± 0.011 vs 2.485 ± 0.013 ; 1.308 ± 0.012 , 1.298 ± 0.008 vs 2.195 ± 0.021 ; 2.503 ± 0.017 , 2.526 ± 0.013 vs 1.536 ± 0.007 , all $P < 0.01$), there was no significant difference in the expression levels of these proteins between the two groups.

CONCLUSION: Combined Fufangkushen Injection, oxaliplatin and Endostar have comparable apoptosis-inducing ability to combined Fufangkushen Injection and oxaliplatin in SMMC-7721 cells. The above drugs induce SMMC-7721 cell apoptosis possibly by altering the expression of survivin, Bcl-2 and caspase-3.

Key Words: Fufangkushen Injection; Oxaliplatin; Endostar; Recombinant human endostatin injection; Human hepatoma cell; Apoptosis

Jiang ZY, Hua HQ, Yang AZ, Qin SK. Effects of Fufangkushen Injection in combination with oxaliplatin and recombinant human endostatin injection on apoptosis in human hepatoma cell line SMMC-7721. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(32): 3396-3401

摘要

目的: 探讨中药、化疗药物以及抗血管生成药物联合应用对人肝癌SMMC-7721细胞的协同增效作用及其相关机制。

■同行评议者

英卫东, 教授, 安徽省立医院肝胆外科

方法: 采用荧光显微镜、原位末端标记技术(TUNEL)观察两药组(复方苦参联合奥沙利铂)及三药组[复方苦参联合奥沙利铂和重组人血管内皮抑素(恩度)]对SMMC-7721细胞的诱导凋亡作用;应用免疫组织化学法观察药物作用后对凋亡相关基因Survivin、Bcl-2和caspase-3蛋白表达的影响。

结果: 荧光显微镜观察发现, 复方苦参注射液(50 mL/L)和奥沙利铂(1 mg/L)两药组以及同时联合恩度(12.5 mg/L)的三药组作用于SMMC-7721细胞后, 凋亡指数(AI)分别为44.33%和46.33%, 两组间未见明显差异($P>0.05$); TUNEL检测结果亦显示, 两药组与三药组比较, AI分别为36.3%和34.2%, 无明显差异($P>0.05$); 免疫组织化学法观察显示, 两药组与三药组均可使Survivin、Bcl-2蛋白表达减弱, caspase-3蛋白表达增强(1.426 ± 0.007 , 1.442 ± 0.011 vs 2.485 ± 0.013 ; 1.308 ± 0.012 , 1.298 ± 0.008 vs 2.195 ± 0.021 ; 2.503 ± 0.017 , 2.526 ± 0.013 vs 1.536 ± 0.007 , 均 $P<0.01$), 但两组之间亦无明显差异。

结论: 复方苦参注射液、奥沙利铂两药联合以及再与恩度的三药联合均能诱导人肝癌SMMC-7721细胞的凋亡, 但三药联合并未能增加诱导凋亡的作用; 其诱导凋亡的机制可能与调节细胞Survivin、Bcl-2、caspase-3蛋白的表达有关。

关键词: 复方苦参注射液; 奥沙利铂; 恩度; 重组人血管内皮抑素; 人肝癌细胞; 细胞凋亡

姜子瑜, 华海清, 杨爱珍, 秦叔逵. 复方苦参、奥沙利铂及重组人血管内皮抑素联合对人肝癌细胞株SMMC-7721凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2010; 18(32): 3396-3401
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/3396.asp>

0 引言

临床上早期肝细胞癌(以下简称肝癌)的治疗以手术为主, 然而由于其恶性程度高, 起病隐匿, 早期诊断困难, 大多数患者确诊时已发展到晚期, 失去了手术及局部治疗的机会, 因此, 化疗、中药、免疫调节以及近年来兴起的分子靶向药物等成为肝癌的主要治疗方法。我们前期的研究发现, 复方苦参注射液和奥沙利铂均可抑制肝癌SMMC-7721细胞的增殖并诱导其凋亡, 当两药联合时复方苦参对奥沙利铂有增效作用^[1]。恩度(endostar, YH-16)是我国自主开发的重组人血管内皮抑素, 他以血管内皮细胞为靶点抑制肿瘤新生血管生成, 已有III期临床研

究证实, 与化疗联用可以提高晚期肺癌的疗效。为了进一步探索提高肝癌疗效的综合治疗方案, 我们在复方苦参联合奥沙利铂的基础上加用恩度, 进行了两药联合与三药联合的比较研究, 现将其结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌SMMC-7721细胞株购自中科院上海细胞生物研究所。复方苦参注射液(简称复方苦参, 商品名岩舒): 山西振东金晶制药公司生产, 批号: 20080520; 注射用奥沙利铂: 南京制药厂生产, 批号: 20080505; 恩度: 山东先声麦得津生物制药有限公司生产, 批号: 20080901; Roche原位细胞凋亡检测(TUNEL)试剂盒、Survivin兔抗人多克隆抗体、Bcl-2鼠抗人单克隆抗体、caspase-3兔抗人单克隆抗体: 北京中杉生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 荧光显微镜观察细胞形态变化: 取对数生长期的SMMC-7721细胞, 消化制成单细胞悬液后, 以 5×10^4 /mL浓度接种于培养瓶中, 每瓶加培养液8 mL, 在37℃、50 mL/L CO₂饱和湿度条件下培养24 h后, 两药组予50 mL/L的复方苦参和1 mg/L的奥沙利铂联合处理, 三药组在两药组的基础上加用12.5 mg/L的恩度联合处理, 阴性对照组加等量普通培养液, 于37℃、50 mL/L CO₂条件下继续培养48 h, 0.25%胰蛋白酶消化后, 收集上清细胞及贴壁细胞, 细胞离心1 000 r/min×10 min, 弃上清液, 离心出的细胞用PBS洗涤2次, 1 000 r/min×10 min再次离心后, 吸尽上清液。离心出的细胞中加入200 μL培养液, 8 μL AO/EB染液, 制成细胞悬液, 取1滴于载玻片上, 盖以玻片, 在荧光显微镜下观察300个细胞, 分别计数活细胞(VN)、早期凋亡细胞(VA)、晚期凋亡细胞(NVA)和死细胞(NVM), 按照公式计算凋亡率: 凋亡率 = (VA+NVA)/(VA+NVA+NVM+VN)。

1.2.2 原位末端标记法(TUNEL): 按试剂盒说明书TUNEL法染色后, 在光镜下观察, 凋亡细胞的细胞核呈黄褐色。10×10低倍镜下随机选取5个细胞均匀分布的视野, 10×20中倍镜下每个视野随机选50个细胞计数凋亡细胞数目和总的细胞数目, 计算凋亡指数(apoptosis index, AI) = 凋亡细胞数/总细胞数×100%。

1.2.3 免疫组织化学法(PV法): 按PV免疫试剂盒说明书步骤检测Survivin、Bcl-2、caspase-3蛋白的表达。10×10低倍镜下随机选取10个细胞均匀分布的视野, 10×20中倍镜下每个视野随

■ 研发前沿

在体外实验中, 复方苦参、奥沙利铂两药或与恩度三药联用均可诱导肝癌细胞凋亡, 但三药联用未能明显提高疗效; 其诱导凋亡的机制可能与抑制Survivin和Bcl-2蛋白的表达以及促进caspase-3蛋白的表达有关, 但是否还存在其他机制, 尚需进一步的探讨。

■ 相关报道

Yen等报道了奥沙利铂单药治疗晚期肝癌的II期临床研究,随后本课题组及国内外的一些学者开展的奥沙利铂联合氟尿嘧啶、卡培他滨、吉西他滨等治疗肝癌的临床研究,均显示了一定的疗效。

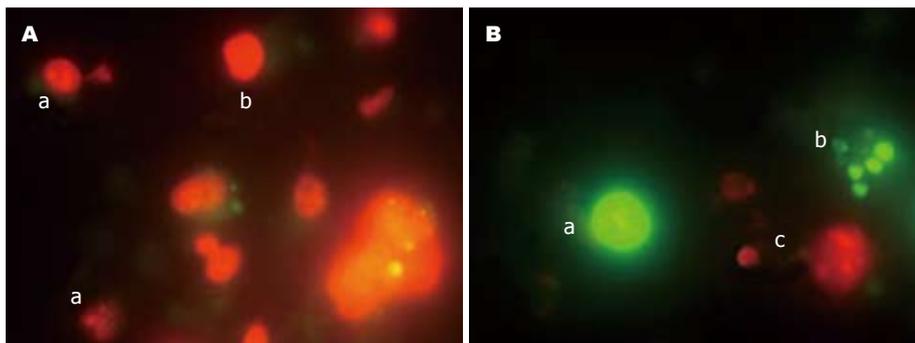


图1 荧光显微镜观察两药组和三药组处理后的细胞形态. A: 两药组, a: NVA; b: NVM; B: 三药组, a: VN; b: VA; c: NVA.

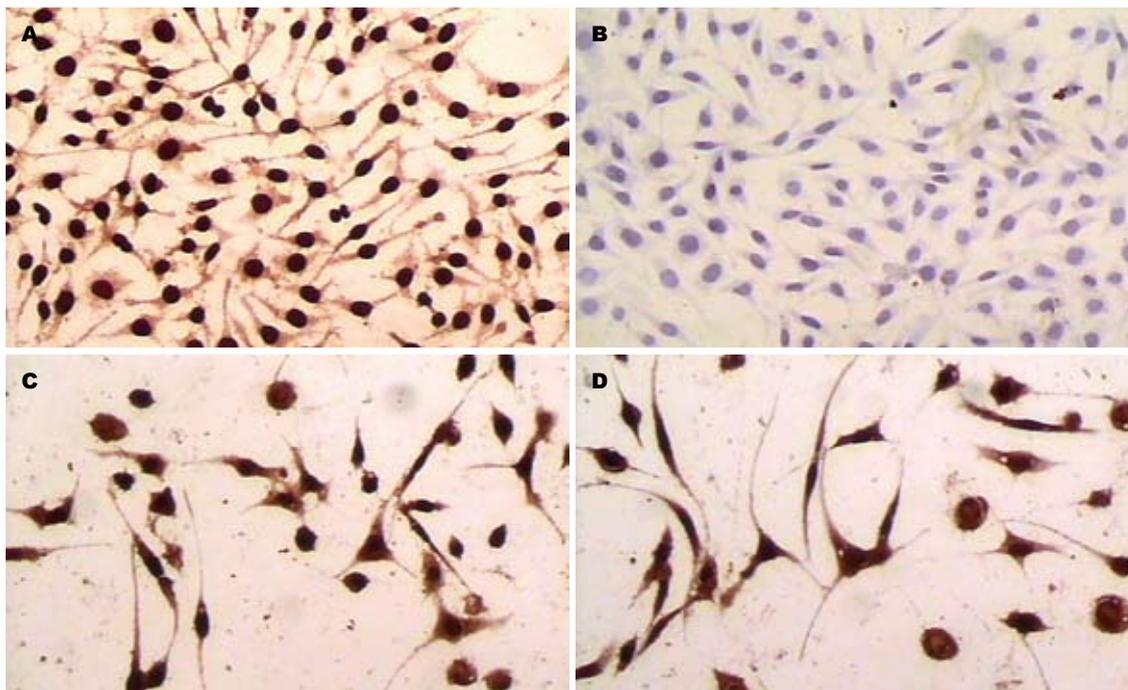


图2 TUNEL示各组细胞凋亡情况(×200). A: 阳性对照组; B: 阴性对照组; C: 两药组; D: 三药组.

机选50个细胞. 按着色强弱分为4个等级: 无着色0分, 淡黄色1分, 棕黄色2分, 棕褐色3分. 按公式 $HSCORE = \sum Pi(i+1)$ ($i = 0, 1, 2, 3$; Pi 表示评分为*i*的比例), 计算HSCORE得分.

统计学处理 采用统计学软件SPSS16.0对相关数据进行分析, 两样本均数比较采用配对*t*检验, 计数资料比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为有统计学意义.

2 结果

2.1 荧光显微镜观察结果 VN核染色质着绿色呈正常结构, VA核染色质着绿色呈固缩状或碎裂状, NVA核染色质着橘红色呈固缩状或碎裂状, NVM核染色质着橘红色呈正常结构(图1). 细胞凋亡率计算结果显示, 复方苦参、奥沙利铂和恩度三药联合组与复方苦参和奥沙利铂两药组比较凋亡率未见明显差异($P > 0.05$, 表1).

表1 药物作用48 h后的细胞凋亡率 (细胞总数, $n = 300$)

分组	VA	NVA	VN	NVM	凋亡率(%)
对照组	2	3	259	36	1.67
两药组	82	51	83	84	44.33 ^b
三药组	102	37	90	71	46.33 ^b

^b $P < 0.01$ vs 对照组. VN: 活细胞; VA: 早期凋亡细胞; NVA: 晚期凋亡细胞; NVM: 死细胞.

2.2 TUNEL观察结果 药物作用于SMMC-7721细胞后, 用TUNEL检测细胞核的染色情况, 凋亡细胞的细胞核塌陷固缩, 被染上深褐色(图2). 在阳性对照组, 经过脱氧核糖核酸酶 I (deoxyribonuclease I, DNase I) 处理后, 染色体DNA双链断裂较充分, 视野中细胞核几乎全部染成深褐色. 而在阴性对照组, 几乎没有细胞核被染上深褐色, 因此在苏木精复染时被染上了淡紫色.

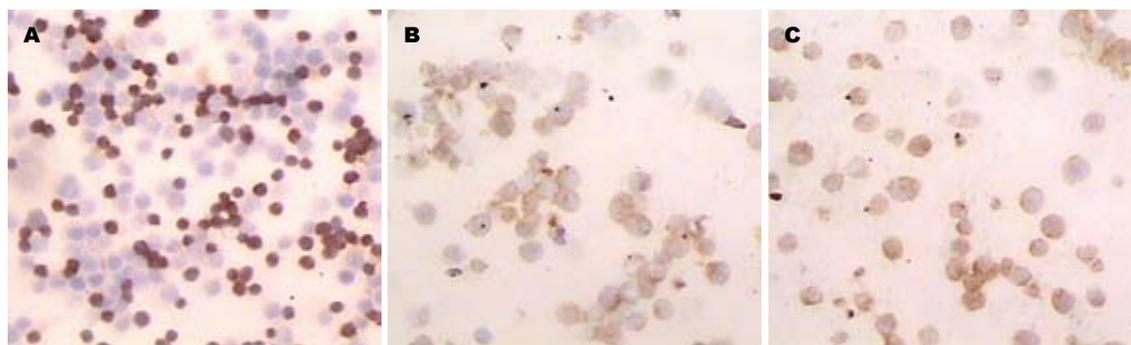


图 3 免疫组织化学示各组Survivin蛋白的表达($\times 200$). A: 对照组强阳性; B: 两药组弱阳性; C: 三药组弱阳性.

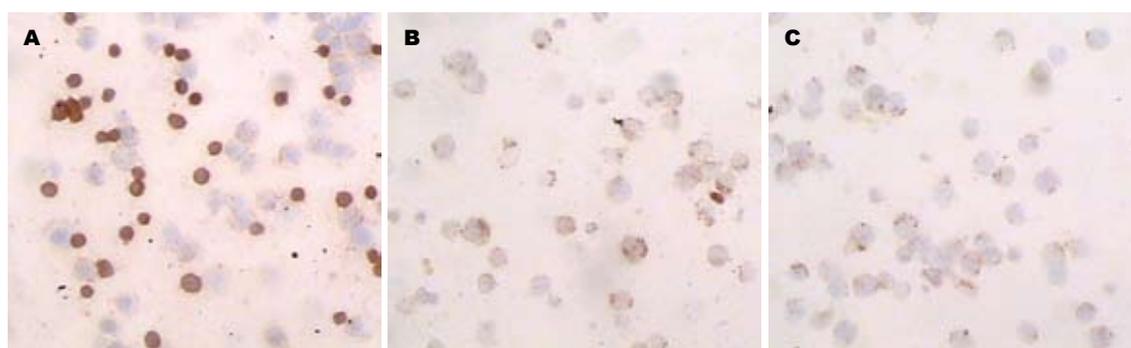


图 4 免疫组织化学示各组Bcl-2蛋白的表达($\times 200$). A: 对照组强阳性; B: 两药组弱阳性; C: 三药组弱阳性.

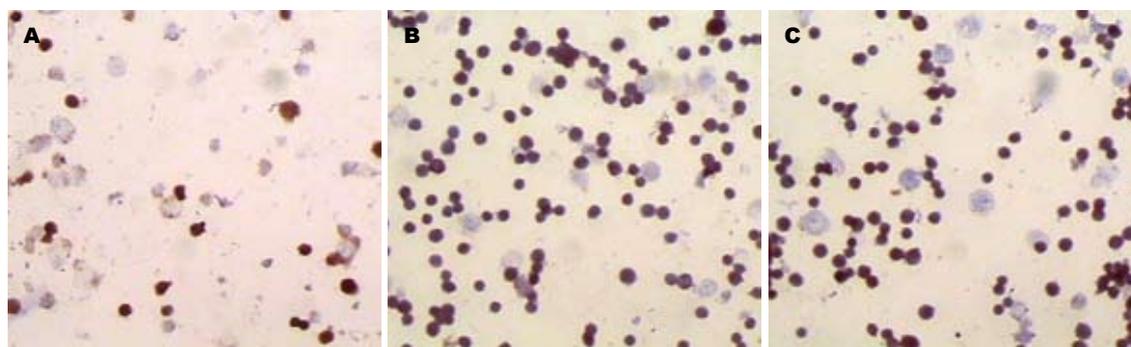


图 5 免疫组织化学示各组caspase-3蛋白的表达($\times 200$). A: 对照组弱阳性; B: 两药组强阳性; C: 三药组强阳性.

在药物组中, 因为非特异性吸附, 也有较多细胞被染上褐色, 但是仔细鉴别, 只有凋亡的细胞核不但染成深褐色, 而且颜色浓重, 体积较小, 符合凋亡时细胞核固缩的特征. 两药组凋亡率为36.3%, 而三药组为34.2%, 两组间差异无统计学意义($P>0.05$).

2.3 药物对SMMC-7721细胞凋亡相关蛋白Survivin、Bcl-2、caspase-3表达的影响 药物作用于SMMC-7721细胞48 h后, 用免疫组织化学法检测细胞凋亡相关基因蛋白Survivin、Bcl-2、caspase-3的表达, Survivin表达定位在细胞质中, Bcl-2表达定位在细胞膜或细胞质中, caspase-3的阳性表达可见于细胞质和细胞核. 免疫组

织化学检测结果显示, 两药组与三药组中Survivin、Bcl-2表达均减弱($P<0.01$), caspase-3表达增强($P<0.01$), 但两组之间差异不明显($P>0.05$, 图3-5, 表2).

3 讨论

复方苦参是由苦参、白茯苓等提取制成的现代中药制剂, 研究表明, 该药可有效缩小或稳定瘤体, 改善患者疼痛、发热、出血、乏力等临床症状, 配合放化疗可减毒增效、抑制肿瘤生长^[2]. 实验研究发现, 复方苦参对肝癌SGC-7901、HepG2和BEL-7402细胞具有明显的体外杀伤作用, 影响SGC-7901及HepG2的细胞周期, 促进凋亡^[3];

■应用要点

复方苦参对肝癌SGC-7901、HepG2和BEL-7402细胞具有明显的体外杀伤作用, 影响SGC-7901及HepG2的细胞周期, 促进凋亡.

同行评价

本文新颖性较好,设计合理,讨论全面,为进一步探讨提高肝癌疗效的综合治疗方案提供了新思路。

表 2 药物作用48 h后细胞凋亡相关蛋白的表达变化 (mean ± SD, 分)

分组	HSCORE得分		
	Survivin	Bcl-2	caspase-3
对照组	2.485 ± 0.013	2.195 ± 0.021	1.536 ± 0.007
两药组	1.426 ± 0.007 ^b	1.308 ± 0.012 ^b	2.503 ± 0.017 ^b
三药组	1.442 ± 0.011 ^b	1.298 ± 0.008 ^b	2.526 ± 0.013 ^b

^bP<0.01 vs 对照组。

对人肝癌细胞SMMC-7721^[4]、人结肠癌细胞SW480^[5]、人前列腺癌细胞PC-3^[6]等也均有诱导凋亡的作用。第4代铂类药物奥沙利铂是临床常用的化疗药物,他以DNA为作用部位,铂原子与DNA结合后形成链内与链间交联,抑制DNA的合成与复制,起到抗肿瘤的作用。实验研究显示,奥沙利铂对多种肝癌细胞的抑制作用均较其他铂类显著,且毒性较低^[7]。2004年ASCO会议上,Yen等^[8]报道了奥沙利铂单药治疗晚期肝癌的II期临床研究,随后我们及国内外的一些学者开展的奥沙利铂联合氟尿嘧啶、卡培他滨、吉西他滨等治疗肝癌的临床研究^[9-12],均显示了一定的疗效。在此基础上,由秦叔逵等牵头在亚太地区开展了FOLFOX4方案(奥沙利铂+氟尿嘧啶+亚叶酸钙)与阿霉素对照治疗晚期原发性肝癌的III期临床研究,在今年的ASCO年会上报告了最终研究结果,显示FOLFOX4组在中位无进展生存期、中位总生存等方面优于阿霉素,首次证明了以奥沙利铂为主的系统性化疗可以延长肝癌患者生存^[13]。内皮抑素(endostatin, ES)是一种广谱的内源性血管形成抑制因子,具有强效和选择性抗血管生成作用。血管内皮抑素通过特异性作用于新生血管的内皮细胞并抑制内皮细胞迁移,诱导其凋亡而直接发挥抗血管生成作用;还可通过调节肿瘤细胞表面血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达及蛋白水解酶的活性,多靶点地发挥抗血管生成作用,间接导致肿瘤休眠或退缩^[14]。恩度是我国自主开发的重组人血管ES,其III期和IV期临床研究显示,恩度联合一线化疗方案治疗晚期非小细胞肺癌可显著提高客观有效率和疾病控制率,且没有显著增加化疗的不良反应^[15,16]。受此启发,我们开展了恩度联合化疗治疗多种恶性肿瘤的临床研究,并取得了一定的疗效,且安全性和耐受性较好^[17]。肝癌是典型的富血管肿瘤,肝内丰富的血管为肝癌细胞产生的VEGF发挥诱导血管内皮细胞迁移、增殖及肿瘤血管生

成提供了良好的基础,因此,抗肿瘤血管生成治疗对于肝癌具有重要意义。

一般认为,中药与化疗药物联合应用,可减少患者的不良反应,提高机体免疫功能和改善生活质量,起到减毒增效作用^[18]。我们前期研究发现^[1],复方苦参、奥沙利铂均有诱导肝癌细胞株SMMC-7721凋亡的作用,当两者联合后,这种作用得到明显加强,提示中药与化疗药物联合有协同增效作用,那么在此基础上增加抗血管生成药物恩度能否进一步提高疗效?为此开展了进一步的研究。体外研究结果表明,无论是荧光显微镜观察法还是TUNEL均发现复方苦参和奥沙利铂联合应用对肝癌细胞株SMMC-7721有显著的诱导凋亡作用,但当在此基础上联合恩度后,这种作用却未能进一步提高。

Survivin是迄今发现的最强的凋亡抑制因子,其主要功能就是抗凋亡,在肝癌组织和几乎所有肝癌细胞株中均有高表达^[19]。Bcl-2蛋白表达在多种肿瘤中均出现异常,特别是他与Survivin蛋白在肝癌组织中的表达呈显著正相关,二者在肝癌的发展中起到协同作用^[20]。caspase-3是细胞蛋白酶级联反应的必经之路,有研究发现,Survivin表达阳性的肝癌组织中caspase-3的表达显著增高,推测Survivin对凋亡的抑制可能由caspase-3介导^[21]。因此,我们检测了复方苦参与奥沙利铂两药联合及其与恩度三药联合对Survivin、Bcl-2和caspase-3蛋白表达的影响,与对照组相比,两药组与三药组均下调了Survivin、Bcl-2蛋白的表达,上调了caspase-3蛋白的表达(P<0.05),因此推测两药联合及三药联合诱导肝癌细胞凋亡的作用可能是通过调节Survivin、Bcl-2、caspase-3蛋白的表达来实现的。但是与两药组比较,三药组对诱导肝癌细胞凋亡及蛋白表达的影响未见显著性差异(P>0.05),我们推测其原因主要是由于目前所知恩度的作用靶点在VEGF,通过抑制肿瘤新生血管的形成、切断肿瘤的营养供应起到抗肿瘤的作用,而体外培养的肿瘤细胞主要依赖于弥散获得营养,不像体内那样主要依靠新生血管供应养分,故在体外实验中复方苦参、奥沙利铂联合恩度未见效果增强。

总之,在体外实验中,复方苦参、奥沙利铂两药或与恩度三药联用均可诱导肝癌细胞凋亡,但三药联用未能明显提高疗效;其诱导凋亡的机制可能与抑制Survivin和Bcl-2蛋白的表达以及促进caspase-3蛋白的表达有关,但是否还存在

其他机制, 尚需进一步的探讨.

4 参考文献

- 1 华海清, 姜子瑜, 杨爱珍, 秦叔逵. 复方苦参注射液联合奥沙利铂对人肝癌细胞株SMMC-7721增殖与凋亡的影响. 临床肿瘤学杂志 2010; 15: 10-15
- 2 陈坚, 梅琪, 徐迎春, 杜佳, 魏燕, 徐周敏. 复方苦参注射液对恶性肿瘤患者伽玛刀放射治疗后T淋巴细胞亚群的影响. 中西医结合学报 2006; 4: 78-79
- 3 李芮, 杜健鹏, 侯仰韶, 陈泽涛. 复方苦参注射液对SGC-7901, HepG2和BEL-7402肿瘤细胞作用的实验研究. 肿瘤研究与临床 2006; 18: 8-10
- 4 叶正青, 梁重峰, 丁海, 易永祥, 周继宗. 复方苦参注射液对人肝癌SMMC-7721肿瘤细胞作用的实验研究. 山东医药 2009; 49: 44-45
- 5 周林, 韩石平, 杨种, 金波, 梁保康. 复方苦参含药血清体外诱导人结肠癌细胞SW480的凋亡. 中国中西医结合外科杂志 2006; 12: 54-56
- 6 张晏, 冯传首. 复方苦参注射液对PC-3细胞凋亡及cyclinE蛋白表达的影响. 中国医院用药评价与分析 2008; 8: 287-288
- 7 钱军, 秦叔逵, 杨爱珍, 徐海军, 华海清, 刘沈林. 不同铂类药物对人肝癌细胞株抑制作用的实验研究. 临床肿瘤学杂志 2009; 14: 414-417
- 8 Yen Y, Doroshow J, Leong L, Lim D, Wagman L, Morgan R, Frankel P, Lenz H, Gandara D, Shibata S. Phase II study of oxaliplatin in patients with unresectable, metastatic or recurrent hepatocellular cancer. *J Clin Oncol*, 2004 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition) 2004; 22: 4169
- 9 秦叔逵, 曹梦苒, 钱军, 华海清, 王琳, 何泽明. 奥沙利铂为主的FOLFOX方案治疗晚期原发性肝癌. 临床肿瘤学杂志 2005; 10: 58-60
- 10 Boige V, Raoul JL, Pignon JP, Bouché O, Blanc JF, Dahan L, Jouve JL, Dupouy N, Ducreux M. Multicentre phase II trial of capecitabine plus oxaliplatin (XELOX) in patients with advanced hepatocellular carcinoma: FFC0 03-03 trial. *Br J Cancer* 2007; 97: 862-867
- 11 Louvet C, Labianca R, Hammel P, Lledo G, Zampino MG, André T, Zaniboni A, Ducreux M, Aitini E, Taïeb J, Faroux R, Lepere C, de Gramont A. Gemcitabine in combination with oxaliplatin compared with gemcitabine alone in locally advanced or metastatic pancreatic cancer: results of a GERCOR and GISCAD phase III trial. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3509-3516
- 12 Uhm JE, Park JO, Lee J, Park YS, Park SH, Yoo BC, Paik SW, Koh KC, Kang WK, Lim HY. A phase II study of oxaliplatin in combination with doxorubicin as first-line systemic chemotherapy in patients with inoperable hepatocellular carcinoma. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63: 929-935
- 13 Qin S, Bai Y, Ye S, Fan J, Lim H, Cho JY, Thongprasert S, Chao Y, Rau K, Sun Y. Phase III study of oxaliplatin plus 5-fluorouracil/leucovorin (FOLF-OX4) versus doxorubicin as palliative systemic chemotherapy in advanced HCC in Asian patients. *J Clin Oncol* 2010 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition) 2010; 28: 4008
- 14 Noël A, Foidart JM. [Preclinical features of anti-angiogenesis therapy] *Bull Acad Natl Med* 2000; 184: 569-577; discussion 578
- 15 王金万, 孙燕, 刘永煜, 于起涛, 张沂平, 李凯, 朱允中, 周清华, 侯梅, 管忠震, 李维廉, 庄武, 王东林, 梁后杰, 秦凤展, 卢辉山, 刘晓晴, 孙红, 张燕军, 王杰军, 罗素霞, 杨瑞合, 涂远荣, 王秀问, 宋恕平, 周静敏, 游丽芬, 王竞, 姚晨. 重组人血管内皮抑素联合NP方案治疗晚期NSCLC随机、双盲、对照、多中心Ⅲ期临床研究. 中国肺癌杂志 2005; 8: 283-290
- 16 Wang J, Sun Y, Qin S, Endostar Phase IV Study Group. Results of phase IV clinical trial of combining endostar with chemotherapy for treatment of advanced non-small cell lung cancer(NSCLC). *J Clin Oncol* 2010 ASCO Annual Meeting Proceedings (Post-Meeting Edition) 2010; 28: 7598
- 17 刘秀峰, 秦叔逵, 王琳, 钱军, 陈映霞, 何泽明, 龚新雷, 杨柳青. 恩度与化疗联合治疗多种晚期恶性肿瘤的临床观察. 临床肿瘤学杂志 2007; 12: 241-250
- 18 段萍, 肖敏伟, 肖文, 李平. 复方苦参注射液在晚期非小细胞肺癌化疗中的增效减毒作用. 中国新药杂志 2009; 18: 1760-1763
- 19 Ito T, Shiraki K, Sugimoto K, Yamanaka T, Fujikawa K, Ito M, Takase K, Moriyama M, Kawano H, Hayashida M, Nakano T, Suzuki A. Survivin promotes cell proliferation in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2000; 31: 1080-1085
- 20 李晓丽, 彭利, 张青云, 张萌, 王顺祥, 唐瑞峰, 张凤瑞. survivin、bcl-2在肝细胞肝癌组织中的表达及意义. 山东医药 2007; 47: 34-35
- 21 王颖, 吴亮, 王家. Survivin, Caspase-3在原发性肝癌中的表达及意义. 中西医结合肝病杂志 2005; 15: 329-333

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.