

[文章编号] 1007-385X(2008)03-0217-06

· 论 著 ·

抗 ATPase F1 α 抗体对人非小细胞肺癌血管内皮细胞的抑制作用

周俊平¹, 楼国良^{1*}, 朱海沫¹, 李敏玉¹, 张辅贤² (1. 第二军医大学附属长海医院 特诊科, 上海 200433; 2. 上海交通大学附属新华医院胸 外科, 上海 200092)

[摘 要] 目的: 探讨一种新的抗 ATPase F1 α 抗体, 人血管抑制和肿瘤转移相关蛋白(human angiostatin interacting and tumor metastasis involving protein, HAI-TMIP)抗体((MAb3D5AB1, 简称 GX)对人非小细胞肺癌血管内皮细胞(non-small cell lung cancer-derived vascular endothelial cell, NSCLC-VEC)的抑制作用。方法: 从非小细胞肺癌患者手术切除标本分离和原代培养 NSCLC-VECs; 采用免疫荧光法检测 NSCLC-VECs 膜上 ATPase F1 α 的表达, RT-PCR 分析细胞 ATPase F1 α mRNA 的表达水平; CCK-8 法检测 GX 对 NSCLC-VECs 增殖的抑制效应, 划痕损伤实验检测 GX 对 NSCLC-VECs 迁移的抑制作用, FACS 检测 GX 对 NSCLC-VECs 凋亡的影响。结果: 倒置荧光显微镜检测显示, NSCLC-VECs 胞膜上有 ATPase F1 α 的显著表达; RT-PCR 的结果表明, 分别来源于肺腺癌、肺鳞癌的血管内皮细胞中 ATPase F1 α II 肽段基因片段大小为 668 bp。CCK-8 结果表明, 经 GX 处理, NSCLC-VECs 的增殖活力显著低于对照组($P < 0.01$); 划痕损伤实验结果显示, 经 GX 处理的 NSCLC-VECs 的迁移速度显著低于对照组($P < 0.01$); FACS 结果显示, GX 处理后 NSCLC-VECs 的凋亡率高于对照组($P < 0.01$)。结论: ATPase F1 α 在 NSCLC-VECs 膜上有较高的表达, GX 通过靶向作用于 ATPase F1 α 抑制 NSCLC-VECs 的增殖、迁移, 并诱导细胞凋亡。

[关键词] 非小细胞肺癌; 血管内皮细胞; ATP 合酶; 抗体; 靶向治疗

[中图分类号] R734.2; R730.54

[文献标志码] A

Inhibitory effect of ATPase F1 α antibody on human non-small cell lung cancer-derived vascular endothelial cells

ZHOU Jun-ping¹, LOU Guo-liang¹, ZHU Hai-mo¹, LI Min-yu¹, ZHANG Fu-xian² (1. Department of Special Clinic, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Thoracic Surgery, Xinhua Hospital, Jiaotong University, Shanghai 200092, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effect of human angiostatin interacting and tumor metastasis involving protein (HAI-TMIP) antibody (MAb3D5AB1, GX), a new anti-ATPase F1 α antibody, against proliferation, migration and apoptosis of non-small cell lung cancer-derived vascular endothelial cells (NSCLC-VECs). **Methods:** NSCLC-VECs were isolated and cultured from surgical specimens of NSCLC patients. The membrane expression of ATPase F1 α in NSCLC-VECs was observed by immunofluorescence means; RT-PCR was used to analyze the expression of ATPase F1 α mRNA. CCK-8 assay, wound-healing assay and fluorescence activated cell sorting (FACS) were used to assess the effects of HAI-TMIP antibody on NSCLC-VECs proliferation, migration and apoptosis. **Results:** ATPase F1 α expression was observed in NSCLC-VECs under inverted fluorescent microscope. RT-PCR showed the fragment length of the ATPase F1 α II peptide gene derived from pulmonary adenocarcinoma, squamous carcinoma was 668 bp. It was found that the proliferation and migration of NSCLC-VECs were significantly inhibited in HAI-TMIP antibody treated group compared with those in the control group ($P < 0.01$). FACS result showed that the apoptosis rate of and NSCLC-VECs in HAI-TMIP antibody group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.01$). **Conclusion:** ATPase F1 α is highly expressed on the membrane of NSCLC-VECs. HAI-TMIP antibody can efficiently inhibit the proliferation and migration of NSCLC-VECs and induce apoptosis through interacting with ATPase F1 α .

[Key words] carcinoma, non-small-cell lung; vascular endothelial cell; ATPase; antibody; targeted therapy

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(3): 217-222]

[基金项目] 全军医学科研“十一五计划”资助项目(No. 01MA159). Supported by the Medical Science Research “Eleventh Five-Year-Plan” of the PLA(No. 01MA159)

[作者简介] 周俊平(1974-), 男, 安徽省太湖市人, 博士研究生, 主治医师, 主要从事恶性肿瘤免疫治疗方面的研究

* Corresponding author. E-mail: gllou@hotmail.com

肺癌是当前严重威胁人类健康与生命的恶性肿瘤,非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是其临床上常见的组织学类型,其5年存活率仅10%~15%。近年来,NSCLC的靶向治疗取得了很大进展^[1-2],其中ATP合成酶(ATP synthetase, ATPase)是肿瘤靶向治疗的研究热点。ATPase在肿瘤血管内皮细胞的生长中发挥重要作用,利用抗体结合ATPase的 α 、 β 亚基或F1亚单位是抑制肿瘤生长的有效途径^[3]。F1亚单位抑制剂(IF1)可抑制肿瘤血管内皮细胞的增殖、分化^[4]。

上海国际抗体药物产业研究院利用PF-2D二维液相色谱分离法对复旦大学肝癌研究所建立的两株不同转移潜能的人肝癌细胞株MHCC97-H(高转移)和MHCC97-L(低转移)进行了差异蛋白质分析,获得了4种人血管抑制和肿瘤转移相关蛋白(human angiostatin interacting and tumor metastasis involving protein, HAI-TMIP)^[5-6],已证实HAI-TMIP与ATPase类同,其基因序列同源^[6];正常细胞膜表面尚未发现表达,肝癌、非小细胞肺癌、乳腺癌等肿瘤细胞膜表面高表达。课题组同时制备了可用来进行研究的抗HAI-TMIP抗体(MAb3D5AB1,简称GX)^[6]。本实验初步研究了抗HAI-TMIP抗体对人非小细胞肺癌来源的血管内皮细胞(NSCLC-derived vascular endothelial cell, NSCLC-VEC)的生物效应,并讨论其相关的临床意义,为靶向治疗NSCLC提供初步的实验依据。

1 材料与方法

1.1 标本、细胞及主要试剂

21例肺腺癌、肺鳞癌新鲜标本由上海新华医院胸外科手术室提供,置入预冷0℃F12培养液送回实验室;人非小细胞肺癌血管内皮细胞(NSCLC-VECs)由本实验室原代培养、保存,采用含10%胎牛血清的DMEM-F12培养液培养。

抗ATPase F1 α 单克隆抗体、FITC标记的兔抗人ATPase F1 α 单克隆抗体、F12培养液及标准胎牛血清为Gibco公司产品;IV胶原酶、胰蛋白酶、CCK-8为Sigma公司产品;Trizol、MML-V逆转录盒、Taq DNA聚合酶、Annexin V/PI凋亡试剂盒为Invitrogen公司产品;抗HAI-TMIP抗体^[6](下文简称GX)、SP2/0细胞培养上清由本实验室制备、保存。

1.2 NSCLC-VECs的分离和培养

标本用PBS液反复冲洗,剪成小于0.5 mm × 0.5 mm × 0.5 mm大小,匀浆器研磨200目钢筛网过滤,网上沉淀放入培养瓶中,0.2%胰蛋白酶消化

90 min;200目钢筛网过滤,网上沉淀以0.5%胶原酶37℃消化90 min,500目钢筛网过滤,挑出毛细血管薄膜样组织块,置入适量含医用肝素100 U/ml、10%胎牛血清的F12培养液的培养皿内,37℃、5%CO₂孵箱内培养。第3天换液,6~7 d后血管内皮细胞开始爬出,3周后弃去组织块继续培养,倒置显微镜观察从组织块长出的人NSCLC-VECs。

1.3 免疫荧光法检测NSCLC-VEC胞膜上ATPase F1 α 的表达

将NSCLC-VECs按 2×10^4 个/孔接种在96孔培养板中,37℃、5%CO₂培养箱中培养,24 h后细胞贴壁,取出96孔板,分为GX组、抗ATPase F1 α 抗体组、空白对照组,各组均设有3个复孔;室温下吸去孔内培养液,预冷PBS洗3次;各孔加入200 μ l 2%多聚甲醛固定15 min,弃固定液后加入500 μ l PBS洗1次;各孔加入100 μ l 1%羊血清封闭液,37℃孵育2 h;GX组和抗ATPase F1 α 抗体组各孔加封闭液稀释的对应一抗(GX和抗ATPase F1 α 抗体各加500 ng/200 μ l),空白对照组加等量的羊血清,37℃孵育1.5 h后PBS洗5次;各孔加二抗(FITC标记的兔抗人ATPase F1 α 抗体)100 ng/200 μ l,避光30 min后PBS洗5次;倒置荧光显微镜(Olympus IX-DP71)观察并照相记录细胞的荧光亮度。

1.4 RT-PCR法检测NSCLC-VEC中ATPase F1 α 基因的表达

将分别来源于腺癌和鳞癌的NSCLC-VEC按 1×10^4 个/孔接种24孔培养板,按Trizol说明书提取NSCLC-VEC膜蛋白总RNA。RT采用MML-V逆转录酶标准体系。引物扩增序列对应于ATPase F1 α II肽段,另以 β -actin为内参照。采用50 μ l反应体系:模板cDNA 0.2 μ l,10 × PCR反应缓冲液5 μ l,上游、下游引物各50 pmol,10 mmol/L dNTP Mix 1 μ l,TaqDNA聚合酶(5 U/ μ l)0.25 μ l。扩增条件:94℃、4 min预变性;94℃、30 s,60℃、30 s,72℃、30 s,35个循环后4℃延伸10 min。引物序列见表1。

1.5 CCK-8法检测GX对NSCLC-VECs增殖的影响

将NSCLC-VECs按 4×10^3 个/孔接种在96孔细胞培养板中,放入37℃、5%CO₂培养箱中培养,24 h后细胞贴壁,取出96孔板,共分4组,均设3个复孔。GX组各孔分别加2 000、1 000、500、250、125、62.5 ng/ml的GX 200 μ l;空白对照组为无细胞只加F12培养液;溶剂对照组为细胞孵育24 h后只加F12培养液;抗体对照组为细胞孵育24 h后加入

SP2/0 细胞培养上清。置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱内继续培养 48 h;取出 96 孔板,各孔加入 10 μ l CCK-8(5 mg/ml)继续培养 4 h,离心后弃上清,以空白对照孔调零,全自动酶标仪测定 450 nm 波长处的光密度值(D),参比波长为 650 nm。计算细胞增殖抑制率:抑制率(%) = (1 - 实验组 D /溶剂对照组 D) \times 100%

表 1 引物序列
Tab.1 Primers sequence

Gene	Primer sequence	bp
ATPase F1 α II	5'-CGGTATAATCAACTACGAGAG-3'	668
	5'-GGAACCAATTGGACCCTTC-3'	
β -actin	5'-TCTCCTTAATGTCACGCACGA-3'	368
	5'-ACAATGAGCTGCGTGTGGCT-3'	

1.6 划痕损伤实验^[7]检测 GX 对 NSCLC-VECs 迁移速度的影响

将 NSCLC-VECs 按 2×10^4 个/孔接种 24 孔培养板,37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养至细胞贴壁,取出 24 孔板,分为 GX 组(A 组)、SP2/0 细胞培养上清组(B 组)、空白对照组(C 组),各组均设有 3 个复孔。用无菌黄色 Gilson 吸管枪头轻轻刮擦培养孔内的单层细胞铺面,形成一条宽约 1 mm 的空白缝隙;培养孔用 PBS 轻轻洗 2 次后,A、B 组各孔加入 500 ng/ml 相应抗体,C 组加入等量的 F12 培养液,立即置于显微镜下检查空白缝隙,确证无细胞残留;再置入 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养 12 h,通过 Olympus IX-DP71 显微镜下观察,利用相关软件测量缝隙宽度,取同一缝隙的 10 个不同视野测量值 d_{12h} (μ m),空白缝隙两侧细胞联合迁移距离 Δd (μ m) = $1000 - d_{12h}$ 。

1.7 FACS 检测 GX 对 NSCLC-VECs 凋亡的影响

按照 Invitrogen 公司 Annexin-V/PI 凋亡检测盒说明进行。将 NSCLC-VECs 按 1×10^6 个/孔接种在 96 孔细胞培养板中,37 °C、5% CO₂ 培养箱培养 24 h,去上清,PBS 洗 3 次;共分 2 组,各组设 3 复孔。GX 组各孔加入 500 ng/ml GX 100 μ l,空白对照组加入等量 F12 培养液,分别于 GX 处理后 12、24 h 弃上清并 BS 洗 2 次,再加 50 ng/ml FITC 标记的兔抗 ATPase F1 α 单克隆抗体 100 μ l;30 min 后收集细胞,用 4 °C 预冷的 PBS 洗 2 次,用稀释好的结合缓冲液 250 μ l 重新悬浮细胞,调节其密度为 1×10^6 /ml。取 100 μ l 的细胞悬浮于 5 ml 流式管中,加入 5 μ l

Annexin-V/FITC 和 10 μ l PI,混匀后室温避光孵育 15 min,在反应管中加入 300 μ l 结合缓冲液,流式细胞仪(BD FACS Calibur)检测。

1.8 统计学处理

所有计量资料均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,应用 Excel 行 t 检验, $P < 0.05$ 认为统计学差异显著。

2 结果

2.1 NSCLC-VECs 膜表面 ATPase F1 α 的表达

采用单盲法在荧光显微镜下观察荧光染色,GX 组和抗 ATPase F1 α 抗体组可观察到 ATPase F1 α 荧光,空白对照组见少量非特异染色;GX 组与空白对照组比较,细胞荧光强度有显著提高;GX 组与抗 ATPase F1 α 抗体组比较,荧光强度无显著差别(图 1)。

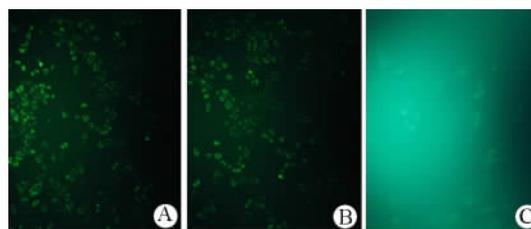


图 1 倒置荧光显微镜观察 NSCLC-VECs 膜表面 ATPase F1 α 的表达(A,B: $\times 100$;C: $\times 200$)

Fig.1 ATPase F1 α expression on membrane of NSCLC-VECs under inverted fluorescent microscope(A, B: $\times 100$; C: $\times 200$)

A: GX group; B: ATPase F1 α antibody group; C: Blank control group

2.2 NSCLC-VECs 中 ATPase F1 α 基因的表达

RT-PCR 法检测 ATPase F1 α 基因在 NSCLC-VECs 中的表达,结果显示,分别来源于肺腺癌、肺鳞癌的血管内皮细胞中 ATPase F1 α II 肽段基因 PCR 产物的电泳片段大小 668 bp,与预期一致(图 2)。

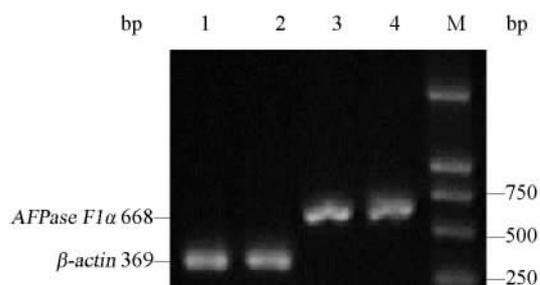


图 2 NSCLC-VECs 中 ATPase F1 α mRNA 的表达
Fig.2 Expression of ATPase F1 α II mRNA in NSCLC-VECs

1,2: β -actin, about 369 bp;3,4: ATPase F1 α II in vascular endothelial cells derived from adenocarcinoma, squamous cell carcinoma of lung, respectively, about 668 bp;M:Marker DL2000

2.3 GX 对 NSCLC-VECs 增殖的抑制作用

以 CCK8 法检测 NSCLC-VECs 增殖活力的变化。结果显示:溶剂对照组 D 值为 (0.895 ± 0.006) , 浓度为 62.5、125、250、500、1 000、2 000 ng/ml 的 GX 组 D 值分别为 (0.61 ± 0.036) 、 (0.51 ± 0.008) 、 (0.16 ± 0.009) 、 (0.14 ± 0.006) 、 (0.11 ± 0.006) 、 (0.09 ± 0.008) , 以上浓度的 SP2/0 细胞培养上清(抗体对照) D 值组分别为 (0.57 ± 0.012) 、 (0.62 ± 0.026) 、 (0.57 ± 0.024) 、 (0.43 ± 0.014) 、 (0.34 ± 0.006) 、 (0.33 ± 0.010) 。GX 组和抗体对照组 NSCLC-VECs 的增殖活力均明显低于溶剂对照组 ($P < 0.01$); 浓度 ≥ 125 ng/ml 时, GX 组对 NSCLC-VECs 增殖的抑制作用明显强于对应各浓度 SP2/0 细胞培养上清的抗体对照组 ($P < 0.01$)。随着 GX 浓度升高, GX 对 NSCLC-VECs 的增殖抑制率逐步增高(图 3)。

2.4 GX 对 NSCLC-VECs 迁移的抑制

为了评价 GX 对 NSCLC-VECs 是否有迁移抑制作用, 本实验通过划痕损伤实验检测了 NSCLC-VECs 的迁移速度。结果显示:空白缝隙两侧细胞联

合迁移距离 Δd , 溶剂对照组为 (751.6 ± 14.26) , SP2/0 细胞培养上清抗体对照组为 (668.5 ± 20.72) , GX 组为 529.6 ± 14.66 。GX 组与 SP2/0 细胞培养上清抗体对照组和溶剂对照组比较统计学差异均有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 4)。

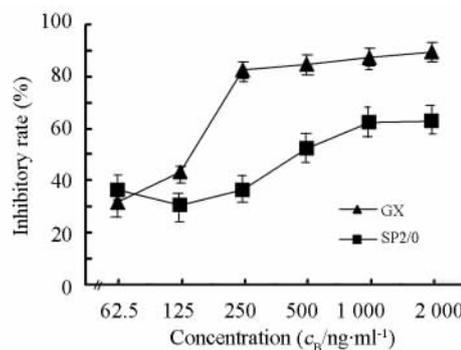


图 3 GX 对 NSCLC-VECs 增殖的抑制作用

Fig. 3 Inhibitory effect of HAI-TMIP antibody (GX) on NSCLC-VECs proliferation *in vitro*
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs SP2/0

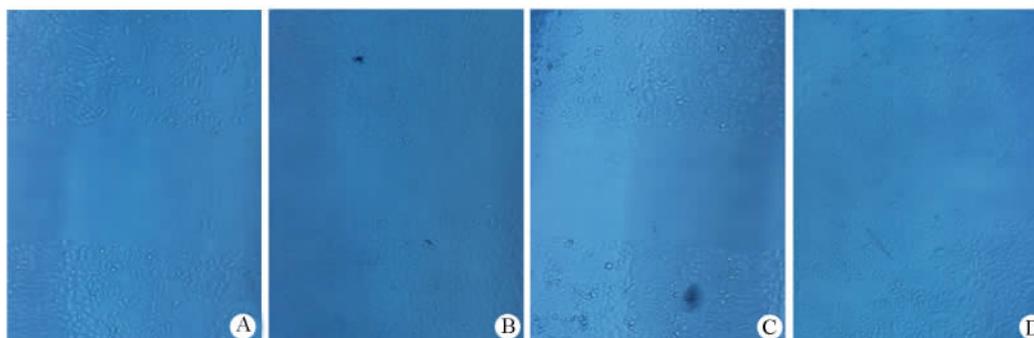


图 4 GX 对 NSCLC-VECs 迁移的抑制作用(×100)

Fig. 4 Inhibitory effect of HAI-TMIP antibody (GX) on NSCLC-VECs migration *in vitro* (×100)

A, B: GX group 0, 12 h after treatment, respectively; C, D: SP2/0 group 0, 12 h after treatment, respectively

2.5 GX 对 NSCLC-VECs 凋亡的影响

为评价 GX 是否促进 NSCLC-VECs 的凋亡, 本实验通过 FACS 法检测了 NSCLC-VECs 的凋亡率。结果显示, 空白对照组的凋亡率为 $(2.7 \pm 0.25)\%$, GX 处理 12 h 后的凋亡率为 $(70.3 \pm 0.64)\%$ 、24 h 后的凋亡率为 $(84.2 \pm 1.18)\%$, 三者间的差异具有统计学意义 ($P < 0.01$, 图 5)。

3 讨论

近 30 余年来, 我国肺癌发病率及病死率持续增高, 长期存活率很低。除了手术、化疗、放疗等治疗

模式, NSCLC 靶向治疗的研究取得了很大进展^[1-2], 其有效药物较多, 主要有吉非替尼(gefitinib)、埃罗替尼(erlotinib)、西妥昔单抗(cetuximab)、贝伐单抗(bevacizumab)等。其中吉非替尼应用较为广泛, 我国报道该药的最高缓解率为 30%^[8]。但是靶向治疗 NSCLC 的药物仍面临很多亟待解决的问题, 包括整体效率不高、毒性^[1]、进口药价格昂贵等, 限制了广泛使用。

研究^[9]表明, 肿瘤血管生成对实体瘤的生长及侵袭尤为重要, 没有局部新生血管的形成, 肿瘤直径可能不会超过 2~3 mm。所以, 目前大量的靶向治

疗研究是针对肿瘤血管内皮细胞且已找到一些对于肺癌恶性表型有重要作用且受到阻断干扰时将阻抑肺癌生长和扩散的某些靶点,尤其是膜表面的抗原性蛋白^[10]。ATPase 是一种合酶复合物,相对分子量为 500 000,分为球形的 F1 和嵌入膜中的 F0。F1 是由 5 种多肽组成 $\alpha_3\beta_3\gamma\delta\epsilon$ 复合体,具有 3 个 ATP 合成的催化位点(每个 β 亚基具有一个);F0 是由 3 种多肽组成 ab_2c_{12} 复合体,嵌入内膜,12 个 c 亚基组成一个环形结构,具有质子通道,可使质子由膜间隙流回基质^[11]。过去 ATPase 被认为是严格表达在线粒体膜上,后发现线粒体膜外表达 ATPase α 、 β 亚基,很多类型肿瘤细胞及内皮细胞膜上均表达 F1/F1F0^[12-16]。它可作为多种配体的受体参与各种过程,如内皮细胞分化以及肿瘤的免疫识别、脂代谢调节、细胞增殖控制、凋亡等^[4,17-18],其在肿瘤血管内皮细胞生长中具有重要地位,利用抗体结合 ATPase 是抑制肿瘤生长的有效途径^[3]。

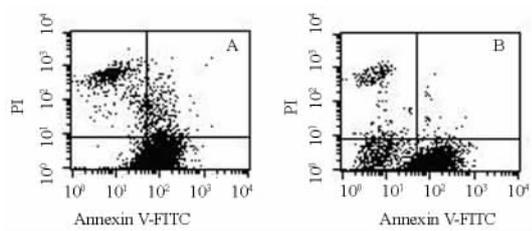


图5 GX 处理后 NSCLC-VECs 凋亡的检测

Fig. 5 Apoptosis of NSCLC-VECs after treatment with HAI-TMIP antibody(GX)

A:12 h after treatment;B:24 h after treatment

上海国际抗体药物产业研究院发现了人肝癌高转移细胞株 MHCC97-H 细胞膜蛋白 HAI-TMIP,并证明它与 ATPaseF1 α 的基因序列同源,通过腹腔内注射 HAI-TMIP 免疫家兔,从血清中采集、纯化可获得抗 HAI-TMIP 抗体(GX)^[6]。本实验采用免疫荧光法及 RT-PCR 证实了 NSCLC-VECs 膜表面表达 ATPase F1 α ;比较一抗分别为 GX 与抗 ATPase F1 α 单克隆抗体所获得的细胞荧光照片,两者无显著差别,这说明 GX 与抗 ATPase F1 α 单抗一样,能和 ATPase F1 α 结合。通过 CCK-8 分析、划痕损伤实验、FACS 研究了 GX 对 NSCLC-VECs 的增殖、迁移、凋亡的影响,结果表明 GX 能够抑制 NSCLC-VECs 的增殖与迁移速度,并诱导 NSCLC-VECs 凋亡,说明 GX 通过特异地与 NSCLC 血管内皮细胞膜上 HAI-TMIP 或 ATPase F1 α 结合,从而抑制 NSCLC 的生长、浸润、侵袭、转移,诱导肿瘤细胞凋亡。实验结果

证明了 GX 可能是潜在的靶向治疗 NSCLC 的抗体类药物,具有潜在应用价值。另外,实验中还初步探索了 GX 的浓度及作用时间对 NSCLC-VECs 增殖的影响,结果表明,浓度越高、作用时间越长,增殖抑制作用越明显,这与大多数药物类似。Angiostatin 通过抑制血管内皮细胞及肿瘤细胞表面的 ATP 合酶抑制血管内皮细胞的增殖、移行且诱导凋亡,是潜在的新生血管抑制剂^[19-22],这些作用与肿瘤细胞内外酸性环境有关,其他针对 ATPase 的单克隆抗体的作用机制与 angiostatin 相类似^[16,21-23],那么, GX 的作用机制是否与之类似? GX 是否还有其他的作用及机制?目前均不清楚,有待深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] Cascone T, Gridelli C, Ciardiello F. Combined targeted therapies in non-small cell lung cancer: a winner strategy[J]? *Curr Opin Oncol*,2007,19(2):98-102.
- [2] Gridelli C. Targeted therapies and non-smll cell lung cancer: new developments[J]. *Curr Opin Oncol*,2007,19(2):75-77.
- [3] Barinaga. M. A surprising partner for angiostatin[J]. *Science*, 1999,283(5409):1831.
- [4] Burwick NR. , Wahl ML, Fang J, *et al.* An inhibitor of the F1 subunit of ATP synthase (IF1) modulates the activity of angiostatin on the endothelial cell surface[J]. *Biol Chem*, 2005,280(3):1740-1745.
- [5] 彭 艳, 张 霞, 王 葵, 等. 不同转移潜能肝癌细胞株的差异蛋白质组的二维液相色谱分析[J]. *世界华人消化杂志*, 2007,15(13): 1482-1487.
- [6] Chi SL, Wahl ML, Mowery YM, *et al.* Angiostatin-like activity of a monoclonal antibody to the catalytic subunit of F1F0 ATP synthase [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(10): 4716-4724.
- [7] Meintanis S, Thomaidou D, Jessen KR, *et al.* The neuron-glia signal beta-neuregulin promotes Schwann cell motility via the MAPK pathway[J]. *Glia*, 2001, 34(1): 39-51.
- [8] 张晓彤, 李龙芸, 王树兰, 等. 吉非替尼治疗晚期非小细胞肺癌疗效观察[J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2005, 28(3):180-183.
- [9] Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease[J]. *Nat Med*, 1995, 1(1):27-31.
- [10] Ramalingam S, Belani CP. Recent advances in targeted therapy for non-small cell lung cancer[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2007, 11(2): 245-257.
- [11] Pedersen PL, Amzel LM. ATP synthases: structure, reaction center, mechanism, and regulation of one of nature's most unique machines[J]. *J Biol Chem*, 1993, 268(14): 9937-9940.
- [12] Burrell HE, Wlodarski B, Foster BJ, *et al.* Human keratinocytes release ATP and utilize three mechanisms for nucleotide interconversion at the cell surface[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(33): 29667-29676.
- [13] Eric Champagne, Laurent O. Martinez, *et al.* Ecto-F1Fo ATP synthase/F1ATPase: metabolic and immunological functions[J]. *Curr Opin in Lipidol*, 2006, 17(3):279-284.

- [14] Moser TL, Kenan DJ, Ashley TA, *et al.* Endothelial cell surface F1-F0 ATP synthase is active in ATP synthesis and is inhibited by angiostatin[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(12): 6656-6661.
- [15] Arakaki N, Nagao T, Niki R, *et al.* Possible role of cell surface H⁺-ATP synthase in the extracellular ATP synthesis and proliferation of human umbilical vein endothelial cells[J]. *Mol Cancer Res*, 2003, 1(13): 931-939.
- [16] Chi SL, Pizzo SV. Angiostatin is directly cytotoxic to tumor cells at low extracellular pH; a mechanism dependent on cell surface-associated ATP synthase[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(2): 875-882.
- [17] Scotet E, Martinez LO, Grant E, *et al.* Tumor recognition following Vgamma9 Vdelta2 T cell receptor interactions with a surface F1-ATPase related structure and apolipoprotein A-I[J]. *Immunity*, 2005, 22(1): 71-80.
- [18] Watabe M, Nakaki T. ATP depletion does not account for apoptosis induced by inhibition of mitochondrial electron transport chain in human dopaminergic cells[J]. *Neuropharmacology*, 2007, 52(2): 536-541.
- [19] Cao Y, Xue L. Angiostatin[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2004, 30(1): 83-93.
- [20] Soff GA. Angiostatin and angiostatin-related proteins[J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2000, 19(1-2): 97-107.
- [21] Moser TL, Stack MS, Asplin I, *et al.* Angiostatin binds ATP synthase on the surface of human endothelial cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1999, 96(6): 2811-2816.
- [22] Wahl ML, Kenan DJ, Gonzalez-Gronow M, *et al.* Angiostatin's molecular mechanism: aspects of specificity and regulation elucidated[J]. *J Cell Biochem*, 2005, 96(2): 242-261.
- [23] Wahl ML, Owen CS, Grant DS. Angiostatin induces intracellular acidosis and anoikis in endothelial cells at a tumor-like low pH [J]. *Endothelium*, 2002, 9(3): 205-216.
- [收稿日期] 2008 - 02 - 21 [修回日期] 2008 - 04 - 15
[本文编辑] 王莹

· 简讯 ·

《中国肿瘤生物治疗杂志》征稿启事

《中国肿瘤生物治疗杂志》是由中国免疫学会和中国抗癌协会联合主办的国家级医学学术期刊(刊号为CN31-1725/R),双月刊。本刊为中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊,已被《中国科技论文与引文数据库》、《中国科学引文数据库》、《中国学术期刊综合评价数据库》、《中文生物医学期刊文献数据库》、《中国核心期刊(遴选)数据库》、《中国学术期刊文摘》、《中国医学文摘》及美国《化学文献》(CA)、荷兰《医学文摘》(EMBASE)、美国《科学剑桥文摘》(CSA)、英国《国际农业和生物科学中心数据库》(CABI)、波兰《哥白尼索引》(IC)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich IPD)等国内外多家权威数据库和文摘刊物收录。

本刊为中国肿瘤生物治疗领域唯一的高级学术刊物,重点报道我国肿瘤生物治疗方面基础研究与临床应用的最新研究成果、新实验技术及其学术进展,宣传我国肿瘤生物治疗的政策和发展策略。主要栏目有述评、院士论坛、专家论坛、论著、研究快报、学术争鸣、技术方法、文献综述、专题讲座、科技动态等。以肿瘤防治专业的中高级临床和科研工作者、医药院校师生及其他相关学科的科技人员为读者对象。本刊为双月刊,A4开本,每双月底出版,国内外公开发行。本刊发表论文的周期平均在4个月以内;如创新性论文,可作研究快报发表,周期可缩短至2个月以内。热忱欢迎海内外广大生物医学科研和临床工作者踊跃投稿;特别欢迎重大科技成果论文和各类科学基金资助课题论文,该两类论文一经录用,将优先快速发表。

《中国肿瘤生物治疗杂志》每期定价8.00元,全年定价48.00元,邮发代号:4-576,请通过邮局订阅。若错过,可从本刊编辑部补订,请将48.00元(优惠免邮资)寄本刊编辑部,并注明详细通讯地址及邮政编码,编辑部将负责如期寄至您手中。

联系地址:上海市翔殷路800号第二军医大学免疫楼

《中国肿瘤生物治疗杂志》编辑部

联系人:王莹,韩丹

邮政编码:200433

联系电话:021-55620605×22;021-25070316×22;传真:021-25074547

http://www.biother.org; E-mail: cjcb@biother.org