

· 论 著 ·

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2008 )03-0278-06

## 青蒿琥酯对人食管癌细胞的抑制作用及其可能的机制

刘 亮,王 静,郭建文,刘江惠,左连富\*( 河北医科大学 第四医院 肿瘤研究所 流式细胞室,石家庄 050011 )

**[ 摘 要 ]** 目的: 探讨青蒿琥酯( artesunate, Art )对人食管癌细胞的抑制作用及其可能的机制。方法: 将人食管癌细胞 Eca109 接种到裸鼠左前上肢, 建立食管癌荷瘤裸鼠动物模型, 腹腔注射用药, 第 1 组 Art 100 mg/kg, 第 2 组 Art 200 mg/kg, 第 3 组 Art 300 mg/kg, 第 4 组顺铂( cisplatin, 又称 DDP ) 3 mg/kg, 第 5 组生理盐水对照组。观察各组裸鼠移植瘤体积和质量的变化, 流式细胞术检测移植瘤组织的细胞周期、凋亡以及细胞分裂周期素 25A ( cell division cycle 25 A, CDC25A ), Smad3 和转化生长因子- $\beta$  ( transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$  ) 蛋白的表达, RT-PCR 检测移植瘤组织中 CDC25A、Smad3 和 TGF- $\beta$  mRNA 的表达水平。结果: 成功建立食管癌荷瘤裸鼠动物模型。Art 治疗后, 裸鼠移植瘤体积和质量均明显小于对照组 (  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  ), 其中 Art 200 mg/kg 组抑瘤作用最强, 与 DDP 组相当。Art 组与对照组相比, 细胞周期  $G_0$ - $G_1$  期显著增高 (  $P < 0.05$  ), S 期显著减少 (  $P < 0.05$  ), 凋亡率显著增高 (  $P < 0.05$  ); CDC25A 蛋白及 mRNA 显著减少 (  $P < 0.05$  ), Smad3 和 TGF- $\beta$  蛋白及 mRNA 显著增高 (  $P < 0.05$  )。结论: Art 具有抑制人食管癌细胞增殖的作用, 其机制可能与通过下调 CDC25A、上调 Smad3 和 TGF- $\beta$  的表达量而使肿瘤细胞停滞在  $G_0$ - $G_1$  期, 并诱导肿瘤细胞凋亡有关。

**[ 关键词 ]** 青蒿琥酯; 食管鳞状细胞癌; 细胞分裂周期素 25A; Smad3; 转化生长因子- $\beta$ ; 凋亡

**[ 中图分类号 ]** R735.1; R730.54 **[ 文献标志码 ]** A

## Inhibitory effect of artesunate on human esophageal carcinoma cells and the possible mechanism

LIU Liang, WANG Jing, GUO Jian-wen, LIU Jiang-hui, ZUO Lian-fu\* ( Department of FCM Analysis, Tumor Institute, The Forth Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China )

**[ Abstract ] Objective:** To explore the inhibitory effect of artesunate ( Art ) on human esophageal carcinoma cells and to study the related mechanism. **Methods:** Nude mice were inoculated with Eca109 cells subcutaneously on the left upper limbs to establish esophageal carcinoma model. The model mice were divided into 5 groups: first group received 100 mg/kg Art, second group 200 mg/kg Art, third group 300 mg/kg Art, forth group 3 mg/kg cisplatin ( DDP ), and the fifth group received normal saline. Mass and volume changes of transplant tumors in different groups were observed. Flow cytometry was used to detect the cell cycle, apoptosis, and the expression of CDC25A protein, Smad3 protein and TGF- $\beta$  protein in the transplanted tumors in mouse model. RT-PCR was used to detect the expression of CDC25A, Smad3 and TGF- $\beta$  mRNA in the transplanted tumors. **Results:** Nude mouse model bearing human esophageal carcinoma was successfully created. Compared with the control group, the volume and mass of transplant tumors in Art groups were significantly smaller (  $P < 0.05$  or  $P < 0.01$  ); the tumor inhibitory rate was highest in 200 mg/kg Art group, similar that in DDP group. The proportions of cells at  $G_0$ - $G_1$  phase in Art groups were higher and those at S phase were lower than those in the control group( both  $P < 0.05$  ). The apoptosis rate in the Art groups was higher than that in the control group(  $P < 0.05$  ). The expression levels of CDC25A protein and mRNA were lower in Art groups than in the control group(  $P < 0.05$  ); the expression levels of Smad3, TGF- $\beta$  protein and mRNA were higher in Art groups than those in the control group(  $P < 0.05$  ). **Conclusion:** Art can inhibit the proliferation of human esophageal carcinoma cells; the reason might be associated with the down-regulation of CDC25A and up-regulation of Smad3 and TGF- $\beta$ , which arrests cells at  $G_0$ - $G_1$  phase and induces tumor cells apoptosis.

**[ 基金项目 ]** 河北省高校强势特色学科建设基金资助项目( No. 2005-52 ). Supported by the Super Excellent Subject Programm of Insititutions of Higher Learning in Heibei Province( No. 2005-52 )

**[ 作者简介 ]** 刘 亮( 1981- ), 男, 河北省邯郸市人, 博士研究生, 主要从事肿瘤病理学方面的研究, E-mail: aliangdaziran@163.com

\* Corresponding author. E-mail: zuolianfu4909@sina.com.

[ **Key words** ] artesunate; esophageal squamous cell carcinoma; cell division cycle 25A( CDC25A ); Smad3; transforming growth factor- $\beta$ ; apoptosis

[ Chin J Cancer Biother, 2008, 15( 3 ): 278-283 ]

青蒿琥酯( artesunate, Art )化学名为二氢青蒿素-1,2-a-琥珀酸单酯,是一种高效,低毒性的抗疟药物。随着研究的深入,人们发现 Art 还具有很多重要的药理活性,如抗心率失常、抗肿瘤等。尤其在抗肿瘤方面,近年文献<sup>[1,2]</sup>报道证实 Art 在体外对多种肿瘤细胞具有抑制作用,但其作用机制仍未明确。有学者<sup>[3]</sup>认为 Art 抗肿瘤作用主要依靠细胞周期阻滞。细胞周期调控有多种因素参与,细胞分裂周期素 25A( cell division cycle 25 A, CDC25A ), Smad3 和转化生长因子- $\beta$ ( transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$  )是调控细胞周期的重要因素<sup>[4,9]</sup>。本研究拟探讨 Art 抗人食管癌细胞的作用及其可能的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

Art 由桂林南药股份有限公司提供,实验前配制,用 5% NaHCO<sub>3</sub> 溶解配成质量浓度为 60 mg/ml 的母液再用生理盐水稀释至所需浓度。RT-PCR 试剂盒为 Promega 公司产品,引物为上海生工生物公司产品,鼠抗人 CDC25A 单克隆抗体(克隆系:DCS-120)、兔抗人 TGF- $\beta$  多克隆体(克隆系:SC-146)均为美国 Santa Cruz 公司产品,兔抗人 Smad3 单克隆体(克隆系:EP568 Y)为美国 Epit omics 公司产品。

### 1.2 细胞株与实验动物

人食管癌 Eca109 细胞株由本实验室传代培养,接种细胞于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液中(青霉素、链霉素各 100 U/L),培养器皿置于 37 °C 含有 5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中。BALB/c( nu/nu )裸鼠购自中国医学科学院实验动物研究所[动物许可证编号:SCXK(京)2004-0001]。4 周龄,雌雄各半,体重 18 ~ 20 g,饲养于屏障系统的洁净层流架内(SPF 级)。

### 1.3 裸鼠移植人食管癌模型建立

把 30 只裸鼠按随机分组方法分为 6 组,每只裸鼠左前上肢注射 200  $\mu$ l(含 6  $\times$  10<sup>6</sup> 个细胞) Eca109 细胞悬液。1 周后成瘤,瘤体呈椭圆形,开始腹腔注射用药,第 1 组 Art 100 mg/kg,第 2 组 Art 200 mg/kg,第 3 组 Art 300 mg/kg,第 4 组顺铂( cisplatin, 又称 DDP ) 3 mg/kg,第 5 组生理盐水对照组。每日腹腔注射 1 次,连续 7 d 为一疗程,休息 7 d 后继续第 2 疗程,观察用药 2 个疗程结束后的第 2 天,

断颈法处死裸鼠,剥离瘤结节。测量移植瘤的长径、短径及瘤重,按下面的公式计算瘤体体积,肿瘤体积( V ) = 1/2 长径  $\times$  短径<sup>2</sup>。将部分标本液氮保存,用于分子生物学检测;部分固定于 70% 乙醇,用于形态学观察和流式细胞术检测。

### 1.4 流式细胞术检测肿瘤细胞周期、凋亡和 CDC25A、Smad3、TGF- $\beta$ 蛋白的水平

细胞周期和凋亡的检测:网搓法制备单细胞悬液,取 0.1 ml(含 1  $\times$  10<sup>6</sup> 个细胞),加入碘化丙啶( PI ) 1 ml,在 4 °C 染色 30 min,以 500 目铜网过滤,使样品成为合格的单细悬液,即可上机检测。CDC25A、Smad3、TGF- $\beta$  蛋白的荧光标记检测:取单细胞悬液 0.1 ml(含 1  $\times$  10<sup>6</sup> 个细胞),分别加入 1:100 稀释的 CDC25A、Smad3 和 TGF- $\beta$  抗体 0.1 ml,室温孵育 30 min,加入 PBS 10 ml 洗涤 1 次,弃上清,加入 FITC-IgG 二抗工作液 100  $\mu$ l,避光室温孵育 30 min,加入 PBS 10 ml 离心同上,弃上清以除去未结合的荧光二抗,上机检测前加入 PBS 1.0 ml,经 500 目铜网过滤后上机检测。在对免疫荧光标记物测定时,分别设 PBS 代替一抗和二抗的阴性对照,以及只加一抗或二抗的同型对照。各蛋白表达量以平均荧光强度(均道值)表示。

### 1.5 RT-PCR 检测肿瘤细胞中 CDC25A、Smad3、TGF- $\beta$ mRNA 的表达

裸鼠瘤组织总 RNA 提取按 Gibco BRL 公司 Trizol 试剂说明书进行。反转录过程按美国 Promega 公司生产的 A3500 试剂说明书进行。取 10  $\times$  PCR 缓冲液 2  $\mu$ l, MgCl<sub>2</sub>( 25 mmol/L ) 2  $\mu$ l, 上下游特异引物( 10 pmol/ $\mu$ l ) 各 0.5  $\mu$ l, dNTPs( 2.5 mmol/L ) 0.5  $\mu$ l, cDNA 4  $\mu$ l, TaqDNA 聚合酶 2 U, 加去离子水至 20  $\mu$ l, 充分混匀,短暂离心; 94 °C 预变性 5 min, 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 进行 30 个循环后, 72 °C 延伸 5 min, 置 4 °C 保存。扩增产物 6  $\mu$ l EB 染色在 1.5% 琼脂糖凝胶上以 80 V 电压直流电泳,紫外光下成像并拍照,并用 Gel-proAnalyzer 3.1 软件分析扩增产物的光密度( D ),计算相对系数(相对系数 = 目的基因 D 值 / GAPDH D 值)作为目的基因的相对表达量,从而对目的基因进行光密度半定量分析。实验重复 3 次。PCR 引物详见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列

Tab. 1 Primers of each gene for RT-PCR

Gene	Primer	bp
CDC25A	Outer 5'-CTGGAGGTGAAGAACAAC-3'	456
	Inner 5'-CTCATCAGAACAAACTGGC-3'	
Smad3	Outer 5'-CGCTTGACTCACGCCTTCG-3'	422
	Inner 5'-TTCCTCTTGC GGCCACTT-3'	
TGF-β	Outer 5'-CTCTGAACCCTGAAGC-3'	440
	Inner 5'-CTCAACTTACCATCCCT-3'	
GAPDH	Outer 5'-CGGAGTCAACGGATTGGTCGTAT-3'	306
	Inner 5'-AGCCTTCTCCATGCTGCTGAAGAC-3'	

1.6 统计学处理

采用 spss11.5 统计学软件,数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用配伍组方差分析、近一步两两比较采用 LSD 检验方法。

2 结果

2.1 Art 对 Eca109 细胞裸鼠移植瘤生长的抑制作用

肿瘤细胞接种于 1 周后,各组裸鼠均观察到有移植瘤生长,瘤体呈椭圆形。实验结束时,各实验组移植瘤的体积及重量均明显小于对照组 ( $P < 0.05$ ); Art 3 组中,200 mg/kg 组抑瘤率最大,与顺铂组相当; Art 抑瘤作用在一定范围内呈现量效关系(表 2)。顺铂组裸鼠出现进食减少、行动迟缓、皮肤干涩等现象,而 Art 组裸鼠至实验结束都没出现此不良反应。

2.2 Art 对 Eca109 细胞移植瘤细胞周期和凋亡的影响

流式细胞术结果显示,Art 组均使 S 期细胞减少,  $G_0 \sim G_1$  期细胞增高,凋亡率显著增高 ( $P < 0.05$ )。Art 使细胞周期阻滞在  $G_0 \sim G_1$  期,诱导细胞凋亡。对照组显示 S 期细胞占较高比例,说明肿瘤细胞增殖旺盛。其中 Art 200 mg/kg 组诱导细胞凋亡作用在 Art 3 组中作用最强,与顺铂组相当(表 3,图 1)。

表 2 Art 对裸鼠 Eca109 移植瘤生长的抑制作用

Tab. 2 Inhibitory effect of Art on the growth of transplanted Eca109 tumors in nude mice

Group	Dose (mg · kg <sup>-1</sup> )	Mass ( $\bar{x} \pm s$ , m/g)	Volume ( $\bar{x} \pm s$ , V/cm <sup>3</sup> )	Inhibitory rate (%)	
				Mass	Volume
Art	100	0.66 ± 0.27*	0.66 ± 0.29*	29.8	34.0
	200	0.37 ± 0.16**	0.28 ± 0.22**	60.6	72.0
	300	0.65 ± 0.19*	0.61 ± 0.38*	30.9	39.0
DDP	3	0.33 ± 0.05**	0.21 ± 0.07**	64.9	79.0
Control	0	0.94 ± 0.31	1.00 ± 0.30	—	—

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group

表 3 Art 对裸鼠移植瘤组织细胞周期及凋亡的影响

Tab. 3 Effects of Art on the cell cycle and apoptosis of transplanted Eca109 tumors in nude mice

Group	Dose (mg · kg <sup>-1</sup> )	$G_0 - G_1$ stage(%)	S stage(%)	$G_2 - M$ stage(%)	Apoptosis(%)
Art	100	45.14 ± 1.66*	23.66 ± 1.11*	31.20 ± 2.22*	22.68 ± 4.82*
	200	50.26 ± 1.64*	17.98 ± 1.83*	31.76 ± 2.58*	29.17 ± 10.35*
	300	46.74 ± 2.34*	22.96 ± 2.78*	30.30 ± 4.16*	22.71 ± 8.46*
DDP	3	51.12 ± 3.20*	22.04 ± 1.67*	26.84 ± 1.99*	29.00 ± 7.68*
Control	0	41.46 ± 1.88	34.42 ± 5.30	24.12 ± 6.59	13.09 ± 2.96

\*  $P < 0.05$  vs control group

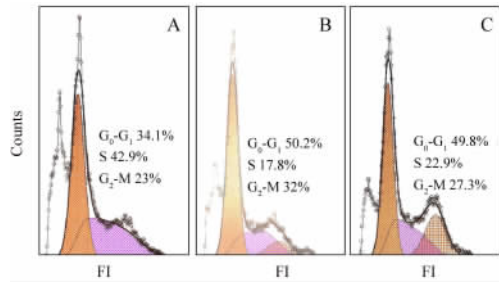


图 1 流式细胞术检测裸鼠移植瘤细胞周期和凋亡的变化

Fig. 1 Changes of cell cycle and apoptosis of Eca109 cells transplanted tumors in nude mice detected by FCM  
A: Control group; B: Art 200 mg/kg group; C: DDP group

2.3 Art 对移植瘤组织中 CDC25A、Smad3、TGF-β 蛋白表达的影响

Art 组与对照组相比, CDC25A 蛋白的表达量显著减少, Smad3、TGF-β 蛋白的表达量显著增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。顺铂组与对照组比较 CDC25A 蛋白的表达量显著减少, Smad3、TGF-β 蛋白的表达量显著增加 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。Art 作

用在一定范围内呈现量效关系(表 4, 图 2)。

2.4 Art 对移植瘤组织中 CDC25A、Smad3、TGF-β mRNA 表达的影响

RT-PCT 方法检测到 Art 组与对照组相比, 裸鼠移植瘤中 CDC25A mRNA 表达量显著减少, Smad3、TGF-β mRNA 的表达量显著增加 ( $P < 0.05$ )。顺铂组与对照组比较, CDC25A mRNA 表达量显著减少, Smad3、TGF-β mRNA 的表达量显著增加 ( $P < 0.05$ )。200 mg/kg Art 组作用与顺铂组相当, Art 作用在一定范围内呈现量效关系(表 5, 图 3)。

3 讨论

近十年来研究表明, 肿瘤的发生和发展从本质上是细胞增殖和凋亡之间失去平衡所致。因此, 目前肿瘤的研究热点集中在抑制增殖、诱导和调控肿瘤细胞凋亡方面<sup>[10]</sup>。本实验从细胞周期与食管癌的关系方面研究, 发现 Art 可以使食管癌细胞发生周期阻滞, 使食管癌细胞周期被阻滞在  $G_0 \sim G_1$  期, 诱导肿瘤细胞凋亡, 从而起到了抑制肿瘤细胞生长的作用, 与 Li 等<sup>[11]</sup>研究结果相一致。

表 4 Art 对裸鼠移植瘤组织中 Smad3, TGF-β, CDC25A 蛋白表达的影响

Tab. 4 Effects of Art on the expression of Smad3, TGF-β, CDC25A protein in transplanted tumors in nude mice

Group	Dose (mg · kg <sup>-1</sup> )	Smad3	TGF-β	CDC25A
Art	100	418.22 ± 11.30 *	445.08 ± 41.13 *	513.58 ± 18.75 *
	200	454.66 ± 33.92 **	480.33 ± 23.21 **	470.07 ± 17.23 **
	300	418.99 ± 31.18 *	442.36 ± 33.24 *	512.55 ± 13.32 *
DDP	3	456.58 ± 37.30 **	488.51 ± 11.38 **	484.54 ± 25.94 **
Control	0	371.42 ± 23.23	396.01 ± 12.38	552.20 ± 22.01

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group

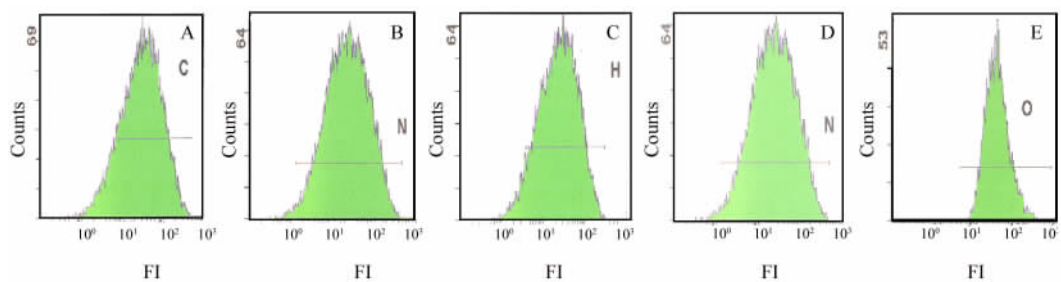


图 2 各组裸鼠移植瘤中 CDC25A 蛋白表达的变化

Fig. 2 Changes of CDC25A protein expression in transplanted tumors in nude mice of different groups

A: Art 100 mg/kg group; B: Art 200 mg/kg group; C: Art 300 mg/kg group; D: DDP group; E: Control group

表 5 Art 对裸鼠移植瘤组织中 *Smad3*、*TGF-β*、*CDC25A* mRNA 表达的影响

Tab. 5 Effects of Art on the expression of *Smad3*, *TGF-β*, *CDC25A* mRNA in transplanted tumors in nude mice

Group	Dose ( mg · kg <sup>-1</sup> )	<i>Smad3</i>	<i>TGF-β</i>	<i>CDC25A</i>
Art	100	0.79 ± 0.04 *	0.67 ± 0.02 *	0.84 ± 0.05 *
	200	0.89 ± 0.08 *	0.74 ± 0.05 *	0.73 ± 0.06 *
	300	0.79 ± 0.06 *	0.68 ± 0.03 *	0.85 ± 0.05 *
DDP	3	0.89 ± 0.04 *	0.71 ± 0.06 *	0.69 ± 0.14 *
Control	0	0.69 ± 0.05	0.61 ± 0.04	0.97 ± 0.06

\* *P* < 0.05 vs control group

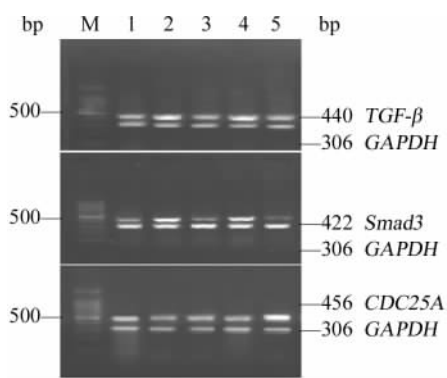


图 3 RT-PCR 检测各组裸鼠移植瘤中 *Smad3*、*TGF-β*、*CDC25A* mRNA 的表达

Fig. 3 *Smad3*, *TGF-β* and *CDC25A* mRNA expression in transplanted tumors in nude mice in different groups detected by RT-PCR

1: Art 100 mg/kg group; 2: Art 200 mg/kg group;  
3: Art 300 mg/kg group; 4: DDP group;  
5: Control group; M: Marker

本研究结果显示各浓度 Art 均有抑瘤作用。从 Art 各组的抑瘤率可以看出,中等质量浓度的 Art (200 mg/kg) 抑瘤效果最佳,与顺铂的抑瘤作用相当;Art 的抑瘤作用在一定的剂量范围内呈现量效关系。300 mg/kg Art 组抑瘤率较 200 mg/kg Art 组低,可能是由于 Art 浓度增加而增大了药物的不良反应,但需进一步做药物的毒性反应实验来证实。Art 各组用药前后生长、饮食、活动等情况良好,未观察到血尿和便血,体重变化无显著性差异。顺铂组用药后体重明显减轻,并出现进食减少、行动迟缓、皮肤干涩等现象。表明 Art 对裸鼠的毒性作用较小。流式细胞术检测到 Art 使移植瘤细胞周期被阻滞在 G<sub>0</sub> ~ G<sub>1</sub> 期,S 期明显减少,凋亡率增加,从而抑制肿瘤细胞的生长。

细胞周期紊乱及细胞周期调控因子分泌失衡是肿瘤细胞的典型特征。CDC25 双特异磷酸酯酶是

调控细胞周期的关键因子。目前人类细胞中已发现 3 种 CDC25 同型异构体,即 CDC25A、CDC25B 和 CDC25C。其中 CDC25A 通过活化 cyclinE( A )-Cdk2 推动细胞周期由 G<sub>1</sub> 期进入 S 期<sup>[12-16]</sup>。人体内 CDC25A 的表达水平主要通过泛素依赖的蛋白酶体降解途径加以调控。而 TGF-β 介导的信号转导可促进靶蛋白的泛素化,Smad3 则是这一过程的限速因子。最新的研究显示,多种肿瘤细胞系高表达 CDC25A 是由于泛素依赖的蛋白酶体降解途径的功能异常,同时伴有 TGF-β/Smad3 信号转导蛋白表达异常所引起;提示 TGF-β/Smad3 信号转导通路有可能通过调节泛素依赖的蛋白酶体降解途径而影响 CDC25A 的表达水平。

本实验利用 RT-PCR 方法检测瘤组织中 *TGF-β* 和 *Smad3* mRNA 表达情况,用药组均比生理盐水组表达高;*CDC25A* mRNA 表达用药组均比生理盐水组表达低。另外利用流式细胞术检测了瘤组织中 CDC25A、*TGF-β* 和 *Smad3* 蛋白的表达,结果同 RT-PCR 结果一致。因此,可以认为 Art 通过上调 *TGF-β* 和 *Smad3* 的表达从而抑制 *CDC25A* 表达,可以使细胞周期被阻滞在 G<sub>0</sub> ~ G<sub>1</sub> 期,使细胞生长停滞,诱导肿瘤细胞凋亡,起到抗肿瘤作用。在实验过程中还发现,Art 的不良反应比顺铂小,说明 Art 具有低毒的抗肿瘤活性,将其开发成为新型有效的化疗或辅助化疗药物运用于临床,具有良好的应用前景。

本研究结果提示,Art 具有抑制食管癌细胞生长的作用,其机制可能是通过上调 *TGF-β* 和 *Smad3* 水平来抑制 *CDC25A* 表达,使肿瘤细胞阻滞在 G<sub>0</sub> ~ G<sub>1</sub> 期,诱导肿瘤细胞凋亡,从而起到抑瘤作用。

[ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] Efferth T, Dunstan H, Sauerbrey A, et al. The anti-malarial artemisinin is also active against cancer[ J ]. Int J Oncol, 2001, 18 ( 4 ): 767-773.

- [ 2 ] Chen HH, Zhou HJ, Fang X. Inhibition of human cancer cell line growth and human umbilical vein endothelial cell angiogenesis by artemisinin derivatives *in vitro*[ J ]. *Pharmacol Res*, 2003, 48( 3 ): 231-236.
- [ 3 ] 李 哲, 袁守军, 聂丽平, 等. 青蒿琥酯诱导肿瘤细胞凋亡与抑制存活蛋白表达有关[ J ]. *中国临床药理学与治疗学*, 2004, 9( 6 ): 607-611.
- [ 4 ] Ray D, Terao Y, Nimbalkar D, *et al.* Transforming growth factor beta facilitates beta-TrCP-mediated degradation of Cdc25A in a Smad3-dependent manner[ J ]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25( 8 ): 3338-3347.
- [ 5 ] Fukuchi M, Nakajima M, Miyazaki T, *et al.* Lack of activated Smad2 in transforming growth factor-beta signaling is an unfavorable prognostic factor in patients with esophageal squamous cell carcinoma[ J ]. *J Surg Oncol*, 2006, 94( 1 ): 51-56.
- [ 6 ] Denner S, Itoh S, Vivien D, *et al.* Direct binding of Smad3 and Smad4 to critical TGF beta-inducible elements in the promoter of human plasminogen activator inhibitor-type1 gene[ J ]. *EMBO J*, 1998, 17( 11 ): 3091-3100.
- [ 7 ] Zhao H, Watkins JL, Piwnica-Worms H. Disruption of the checkpoint kinase 1/cell division cycle 25A pathway abrogates ionizing radiation-induced S and G2 checkpoints[ J ]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99( 23 ): 14795-14800.
- [ 8 ] Chen MS, Ryan CE, Piwnica-Worms H. Chk1 kinase negatively regulates mitotic function of Cdc25A phosphatase through 14-3-3 binding[ J ]. *Mol Cell Biol*, 2003, 23( 21 ): 7488-7497.
- [ 9 ] Donzelli M, Busino L, Chiesa M, *et al.* Hierarchical order of phosphorylation events commits Cdc25A to betaTrCP-dependent degradation[ J ]. *Cell Cycle*, 2004, 3( 4 ): 469-471.
- [ 10 ] 赵君宁, 何一然, 张振玉, 等. 青蒿琥酯对人胃癌细胞增殖及凋亡的影响[ J ]. *中国癌症杂志*, 2005, 15( 4 ): 347-350.
- [ 11 ] Li Y, Shan F, Wu JM, *et al.* Novel antitumor artemisinin derivatives targeting G<sub>1</sub> phase of the cell cycle[ J ]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2001, 11( 1 ): 5-8.
- [ 12 ] Sandhu C, Donovan J, Bhattacharya N, *et al.* Reduction of Cdc25A contributes to cyclin E1-Cdk2 inhibition at senescence in human mammary epithelial cells[ J ]. *Oncogene*, 2000, 19( 47 ): 5314-5323.
- [ 13 ] Lindqvist A, Källström H, Lundgren A, *et al.* Cdc25B cooperates with Cdc25A to induce mitosis but has a unique role in activating cyclin B1-Cdk1 at the centrosome[ J ]. *J Cell Biol*, 2005, 171( 1 ): 35-45.
- [ 14 ] Xiao Z, Chen Z, Gunasekera AH, *et al.* Chk1 mediates S and G2 arrests through Cdc25A degradation in response to DNA-damaging agents[ J ]. *J Biol Chem*, 2003, 278( 24 ): 21767-21773.
- [ 15 ] Falck J, Mailand N, Syljuåsen RG, *et al.* The ATM-Chk2-Cdc25A checkpoint pathway guards against radioresistant DNA synthesis[ J ]. *Nature*, 2001, 410( 6830 ): 842-847.
- [ 16 ] Rother K, Kirschner R, Sängler K, *et al.* p53 downregulates expression of the G<sub>1</sub>/S cell cycle phosphatase Cdc25A[ J ]. *Oncogene*, 2007, 26( 13 ): 1949-1953.

[ 收稿日期 ] 2008 - 02 - 21

[ 修回日期 ] 2008 - 04 - 15

[ 本文编辑 ] 郁晓路

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 化学元素和核素符号规范书写的要求

化学符号虽然是化学专业的学术交流语言,但在生物医学领域也有很广泛的使用。化学符号的书写有其特殊的规律和要求,生物医学论文中必须重视化学符号书写的规范化。根据 GB3102. 8 - 93《物理化学和分子物理学的量和单位》的规定,把化学元素和核素符号书写的规范要求介绍如下:

- (1) 元素或核素的单字母符号均用正体大写,双字母符号首字母正体大写,第二个字母用正体小写。
- (2) 核素的核子数(质子数)应标注在元素符号的左上角,例如:<sup>60</sup>Co, <sup>32</sup>P, <sup>99m</sup>Tc, <sup>125</sup>I 等;过去习惯把核子数标注在元素符号右上角的写法是错误的,例如:N<sup>14</sup>, Co<sup>60</sup>等。
- (3) 离子价态的字符应标注在元素符号的右上角,例如:H<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, O<sup>2-</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Al<sup>3+</sup>, PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> 等,不应写成 O<sup>-2</sup>, O<sup>-</sup>, Mg<sup>+2</sup>, Mg<sup>++</sup>, Al<sup>+++</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-3</sup> 等。
- (4) 激发态的字符(电子激发态用 \*; 核子激发态用正体 m, 也可用 \* )标注在元素或核素符号的右上角,例如:<sup>110</sup>Ag<sup>m</sup>, <sup>110</sup>Ag\*, He\*, NO\* 等。
- (5) 分子中核素的原子数标注在核素符号右下角,例如:H<sub>2</sub>, FeSO<sub>4</sub> 等。
- (6) 质子数(原子序数)标注在元素符号左下角,例如:<sub>82</sub>Pb, <sub>26</sub>Fe 等。
- (7) 对于形状相似的元素符号、化合物的化学式符号,书写时应注意区分,如:Co(钴)—CO(一氧化碳),No(锘)—NO(一氧化氮),Ba(钡)—Ra(镭),Nb(铌)—Nd(钕)—Np(镎),HF(氟化氢)—Hf(铪)等。

## 更正声明

本刊 2008 年第 2 期 P185 ~ 188 刊登作者孟祥姣的文献综述“CD133 在实体肿瘤干细胞研究中的作用”,该文的通讯作者为第一审阅者王秀问,特此更正声明。  
( 本刊编辑部 )