

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2009.04.005

双氢睾酮耦联 *Ki67* 多肽核酸对激素非依赖性前列腺癌细胞的抑制作用

赖海标^{1*}, 吴松¹, 孔祥康¹, 杨秀静², 董燕²(1. 广州中医药大学中山附属医院泌尿外科, 广东中山 528400; 2. 广州中医药大学免疫研究所, 广东广州 510405)

[摘要] 目的: 探讨双氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)耦联 *Ki67* 多肽核酸(peptide nucleic acids, PNAs)对激素非依赖性前列腺癌 PC-3 细胞 *Ki67* 表达、细胞生长及凋亡的影响 方法: 人工合成针对 *Ki67* 基因的多肽核酸并与 DHT 耦联(DHT-PNAs)后转染 PC-3 细胞, 采用 RT-PCR、免疫细胞化学、Western blotting 检测 PC-3 细胞 *Ki67* 抗原的表达, CCK8 法检测 PC-3 细胞增殖, 原位末端标记法(TUNEL)检测 PC-3 细胞凋亡, 以上实验均以以 PNAs 组、DHT 组为对照组。结果: DHT-PNAs、PNAs 均能抑制非激素依赖性前列腺癌细胞系 PC-3 的 *Ki67* 表达, 诱导 PC-3 细胞凋亡, 使细胞生长受抑, 并且均具有浓度依赖性。DHT-PNAs 作用强度明显强于相同剂量的 PNAs, 3 $\mu\text{mol/L}$ DHT-PNAs 即可达到 9 $\mu\text{mol/L}$ PNAs 的作用强度。结论: DHT-PNAs 能有效增强 PNAs 阻抑 PC-3 细胞 *Ki67* 表达、诱导细胞凋亡及抑制细胞生长的作用。

[关键词] 双氢睾酮; *Ki67* 基因; 多肽核酸; 前列腺肿瘤

[中图分类号] R737.25; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2009)04-0342-05

Inhibitory effects of *Ki67* gene-targeting peptide nucleic acids linked with dihydrotestosterone on hormone-independent prostate cancer cells

LAI Hai-biao^{1*}, WU Song¹, KONG Xiang-lian¹, YANG Xiu-jing², DONG Yan²(1. Deptment of Urology, Zhongshan Hospital, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Zhongshan 528400, Guangdong, China; 2. Institute of Immunology, Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of *Ki67*-targeting peptide nucleic acids (PNAs) linked with dihydrotestosterone (DHT) on the *Ki67* expression, proliferation and apoptosis of hormone-independent prostate cancer cell line PC-3. **Methods:** *Ki67*-targeting PNAs were artificially synthesized and were covalently linked to DHT to yield DHT-PNAs. DHT-PNAs were then transfected into PC-3 cells. *Ki67* expression in PC-3 cells was examined by RT-PCR, immunohistochemistry and Western blotting assay. The proliferation of PC-3 cells was examined by CCK8 assay, and the apoptosis of PC-3 cells was detected by TUNEL assay. Groups treated with PNAs or DHT served as controls. **Results:** Both PNAs and DHT-PNAs inhibited the expression of *Ki67* in PC-3 cells, increased the apoptosis of PC-3 cells, and inhibited the proliferation of PC-3 cells in a dose-dependent manner. The therapeutic effect of DHT-PNAs at the same concentration was better than that of PNAs, with 3 $\mu\text{mol/L}$ DHT-PNAs (one-third of PNAs dose) reaching the same therapeutic effect of PNAs. **Conclusion:** DHT-PNAs can promote the effects of PNAs in inhibiting *Ki67* expression, inducing apoptosis and inhibiting proliferation of PC-3 cells.

[Key words] dihydrotestosterone; *Ki67* gene; peptide nucleic acid; prostate neoplasms

[Chin J Cancer Biother, 2009, 16(4): 342-346]

在我国,随着人口老龄化前列腺癌发病率逐步增加,加之该病常非体检查出,就诊时多已晚期。内分泌治疗是治疗晚期前列腺癌的主要手段,但绝大多数患者最终对内分泌治疗抵抗,对化疗、放疗均不敏感,因此迫切需要寻找新的治疗方法。反义核酸治疗是目前常用的基因治疗手段之一,肽核酸(peptide nucleic acids, PNAs)是人工合成的第三代反义核酸,具有高特异性、高稳定性、与碱基配对特异性

高等优点,但单纯 PNAs 不易进入细胞使其应用受到限制。PNAs 可与细胞特异受体的配体结合,并通

[基金项目] 广东省医学科学基金资助课题(No. A2005805)。Supported by the Medical Science Research Foundation of Guangdong Province (No. A2005805)

[作者简介] 赖海标(1968-),男,广东省紫金县人,硕士,教授,主任医师,硕士生导师,主要从事泌尿生殖系肿瘤生物治疗方面的研究

* 通信作者(Corresponding author)。E-mail: lhb8829@163.com

过胞吞的内化作用进入细胞,还能避免对非靶向细胞作用^[1]。本实验设计、合成针对肿瘤增殖基因 *Ki67* 的 PNAs,并与双氢睾酮(dihydrotestosterone, DHT)耦联(DHT-PNAs),研究该耦联物对激素非依赖性前列腺癌细胞生长及凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 细胞及主要试剂

激素非依赖性前列腺癌细胞系 PC-3 购自中国科学院上海细胞生物研究所。CCK8 试剂盒购自 Dojindo 公司,鼠抗人 *Ki67* 单克隆抗体、UltraSensitiveTMS-P 超敏试剂盒、DAB Kit 试剂盒购自福州迈新公司,*Ki67* 免疫组织化学试剂盒购自 Lab Vision 公司,原位末端凋亡检测试剂盒购自 R&D 公司。

1.2 DHT-PNAs 的设计与合成

根据 *Ki67* mRNA 起始密码子区域第 2 外显子 197~214 碱基序列设计与之互补的 PNAs,其碱基序列为 5'-G CGT CTC GTG GGC CAC AT-3'^[2-3],并经 BLAST 确认与 *Ki67* 以外的人类已知的基因序列无同源性,HPLC 纯化。配体 DHT 与 PNAs 的 5' 端共价耦联,由成都派德生物技术公司合成。

1.3 细胞培养及实验分组

PC-3 细胞以 Ham's F12 完全培养液在 37 °C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养,隔天换液,当细胞铺满培养皿底部达 90% 以上时,以 0.25% 胰酶(含 0.02% EDTA)消化并调整至所需密度。实验分组如下:空白对照组(培养液)、DHT 组(9 μmol/L)、PNAs 组(9 μmol/L)、DHT-PNAs 组(1 μmol/L,3 μmol/L,9 μmol/L)。每组设 3 复孔。

1.4 CCK8 法检测 DHT-PNAs 对前列腺癌 PC-3 细胞增殖的抑制作用

PC-3 细胞按 1×10^5 /ml 接种于 96 孔板,每孔体积 100 μl,24 h 细胞贴壁后进行相应的处理,按实验分组分别加入试剂作用 24 h,每孔加入 10 μl CCK8 试剂,2 h 时后以酶标仪测 D_{450} 并计算增殖抑制率。抑制率(%)=(空白对照 D_{450} - 实验组 D_{450})/空白对照 $D_{450} \times 100\%$

1.5 RT-PCR 法检测 DHT-PNAs 对前列腺癌 PC-3 细胞 *Ki67* mRNA 表达的影响

PC-3 细胞按 1×10^6 /ml 接种于 12 孔板,每孔体积 0.5 ml,培养 24 h 贴壁后按实验分组分别加入试剂作用 24 h,收集细胞,按照 TRIzol Reagent 说明书的步骤提取总 RNA,以随机引物逆转录为 cDNA 后进行 PCR 反应。*Ki67* 引物为 5'-ACTTGCCCTCCTA-ATACGCC-3' 及 5'-TTACTACATCTGC CCATGA-3',

PCR 产物大小为 438 bp^[4];内参 β -actin 引物为 5'-CTCCATCCTGGC CTCGCTGT-3' 及 5'-getgtcaccttcac-cgttcc-3',PCR 产物大小为 268 bp。反应条件:预变性 94 °C、3 min;94 °C、30 s,54 °C、60 s,72 °C、60 s,共 35 个循环;72 °C 继续延伸 8 min。PCR 所得产物经加有 Goldview 的 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,用凝胶成像仪进行图像分析。

1.6 免疫组织化学法检测 DHT-PNAs 对前列腺癌 PC-3 细胞 *Ki67* 蛋白阳性率的影响

PC-3 细胞按 1×10^5 /ml 接种于小培养皿,每个培养皿预先置放 1.8 cm × 1.8 cm 的防脱片处理后的盖玻片,实验分组及处理同方法 1.4。24 h 后取出盖玻片,经过固定、通透后,滴加 *Ki67* 抗体(鼠抗人)于室温下孵育 50 min,加入二抗(羊抗鼠),最后以 DAB 显色,苏木精复染,中性树脂胶封片。在高倍镜下随机选取 3 个视野计数 100 个细胞,细胞核内含棕色颗粒的为阳性细胞,计算阳性细胞百分率。

1.7 Western blotting 法检测 DHT-PNAs 对前列腺癌 PC-3 细胞 *Ki67* 蛋白表达量的影响

将 1×10^6 PC-3 细胞加入 60 ml 培养瓶中,培养至细胞贴壁,按分组加入不同试剂,继续培养 48 h,1 000 × g 离心 10 min 收集细胞。采用快速制备法提取核蛋白^[5],经电泳、转膜后,加入一抗、二抗、氮蓝四唑/5-噻-4-氯-3-吡啶磷酸(NBT/BCIP)显色,结果以图像处理仪分析处理。

1.8 TUNEL 法检测 DHT-PNAs 对前列腺癌 PC-3 细胞凋亡的影响

脱蜡、水化后,采用原位末端凋亡检测法(TUNEL),按试剂盒使用说明操作,在高倍镜下随机计数 5 个视野(200 个细胞),细胞核呈现黄褐色即为阳性,计算阳性细胞所占百分比。

1.9 统计学处理

用 SPSS10.0 统计软件处理,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用方差分析(ANOVA)检验。假设检验水准按 $\alpha = 0.05$ 判定。

2 结果

2.1 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞增殖的抑制作用

CCK8 法检测结果(表 1)显示:DHT-PNAs 9 μmol/L 组、3 μmol/L 组和 PNAs 组均能抑制 PC-3 细胞的增殖($P < 0.01$),DHT-PNAs 9 μmol/L 组对 PC-3 细胞增殖的抑制作用强于 DHT-PNAs 3 μmol/L 组、PNAs 组($P < 0.01$),DHT-PNAs 3 μmol/L 组和 PNAs 组对 PC-3 细胞增殖的抑制作用差异无统计学意义($P > 0.05$),DHT-PNAs 1 μmol/L

组、DHT 组对 PC-3 细胞的增殖无抑制作用($P > 0.05$)。

2.2 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞 *Ki67* mRNA 的影响

RT-PCR 法检测结果(图 1)显示, DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$ 组、DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$ 组和 PNAs 组均能降低 *Ki67* mRNA 的表达, DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$ 组 *Ki67* mRNA 表达低于 DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$ 组、PNAs 组, DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$ 组和 PNAs 组 *Ki67* mRNA 表达差异不显著, DHT-PNAs 1 $\mu\text{mol/L}$ 组、DHT 组对 *Ki67* mRNA 的表达无影响, 各组内参 $\beta\text{-actin}$ 基因条带的亮度无显著性差异。

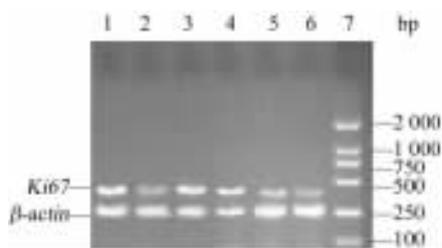


图 1 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞 *Ki67* mRNA 表达的影响

Fig.1 Effects of DHT-PNAs on expression of *Ki67* mRNA in PC-3 cells

1: Control; 2: PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$; 3: DHT; 4: DHT-PNAs 1 $\mu\text{mol/L}$; 5: DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$; 6: DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$; 7: DL2 000 Marker

2.3 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞 *Ki67* 蛋白表达影响

免疫细胞化学法和 Western blotting 法检测结果(表 1, 图 2, 图 3)显示, DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$ 组、DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$ 组和 PNAs 组的 PC-3 细胞 *Ki67* 蛋白表达阳性率及蛋白表达量均低于空白对照组($P < 0.01$), DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$ 组低于 PNAs 组($P < 0.01$), 高浓度 DHT-PNAs 组低于低浓度组(9 $\mu\text{mol/L} < 3 \mu\text{mol/L} < 1 \mu\text{mol/L}$, 均 $P < 0.01$), DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$ 组和 PNAs 组比较无显著差异性($P > 0.05$), DHT-PNAs 1 $\mu\text{mol/L}$ 组、DHT 组对 *Ki67* 蛋白表达阳性率及蛋白表达量无影响($P > 0.05$)。

2.4 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞凋亡率的影响

TUNNEL 检测结果(表 1, 图 4)显示, DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$ 组、DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$ 组和 PNAs 组的 PC-3 细胞凋亡率升高(均 $P < 0.01$), DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$ 组促进 PC-3 细胞的凋亡作用明显高于 PNAs 组($P < 0.01$), 高浓度 DHT-PNAs 组凋亡率高于低浓度组(9 $\mu\text{mol/L} < 3 \mu\text{mol/L} < 1 \mu\text{mol/L}$, 均 $P < 0.01$), DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$ 组和 PNAs 组对凋亡

的促进作用无显著差异性($P > 0.05$), DHT-PNAs 1 $\mu\text{mol/L}$ 组、DHT 组对 PC-3 细胞凋亡率无影响($P > 0.05$)。

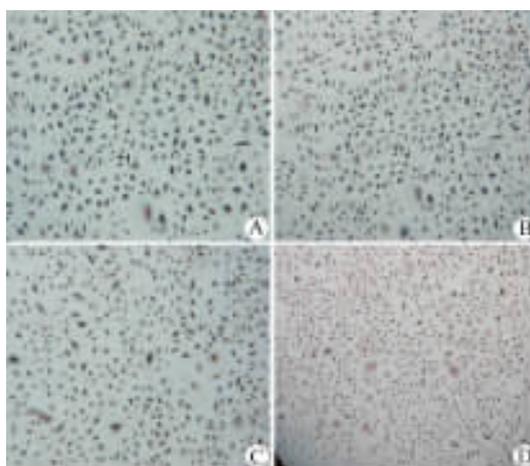


图 2 免疫细胞化学法检测 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞 *Ki67* 蛋白表达的影响(DAB, $\times 200$)

Fig. 2 Effects of DHT-PNAs on expression of *Ki-67* protein in PC-3 cells as detected by immunocytochemistry($\times 200$)

A: Control; B: DHT; C: PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$; D: DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$



图 3 Western blotting 法检测 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞 *Ki67* 蛋白表达的影响

Fig. 3 Effects of DHT-PNAs on expression of *Ki67* protein in PC-3 cells as detected by Western blotting

1: Control; 2: PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$; 3: DHT; 4: DHT-PNAs 1 $\mu\text{mol/L}$; 5: DHT-PNAs 3 $\mu\text{mol/L}$; 6: DHT-PNAs 9 $\mu\text{mol/L}$

3 讨论

PNAs 是 20 世纪 80 年代生物化学家 Nielsen 研制合成的第 3 代反义治疗药物, 是以酰氨键连接骨架(NH-CO) 替代核酸天然核糖磷酸二酯键骨架的一种新型的序列特异性核酸制剂。其对核酸酶和蛋白酶均不敏感, 稳定性和亲和性和特异性均高于寡核苷酸(ODN), PNAs 能在基因复制、转录及翻译等多个阶段产生作用^[6]。在转录及复制阶段, PNAs 可与 DNA 形成稳定的三联体结构或链侵袭或链置换复合物, 通过空间阻隔作用妨碍并阻断 RNA 或 DNA 聚合酶的功能, 抑制 DNA 或 RNA 引物的延伸, 从而干扰 DNA 转录及复制^[7]; 在生理盐浓度下, PNAs 对

超螺旋状态下 DNA 的链侵袭和链置换复合物的形成明显快于线性 DNA 链,而具有转录活性的 DNA 恰恰表现为负超螺旋,在体内可以作为 PNAs 非常适宜的靶点^[8]。在翻译阶段,PNAs 同样通过其空间阻隔作用阻止 mRNA 进入核糖体,在 RNA 加工、转运或翻译的过程中抑制翻译,研究发现,覆盖 AUG 起始密码子的 PNAs 二聚体或三聚体可抑制翻

译的启动,两个与 mRNA 编码区结合的 PNAs 分子与具有 10~15 个同型嘌呤的靶序列 RNA 形成三联体则能阻止翻译的延伸^[6]。因此,PNAs 具有反基因及反义双重治疗作用。本研究发现,针对 *Ki67* mRNA 起始密码子区域第 2 外显子 197~214 碱基序列的 PNAs 或 DHT-PNAs 均能抑制 *Ki67* mRNA 和 *Ki67* 蛋白的表达,并且具有浓度依赖性。

表 1 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞增殖、凋亡及 *Ki67* 蛋白表达的影响

Tab.1 Effects of DHT-PNAs on proliferation, apoptosis and *Ki-67* protein expression of PC-3 cells

Group	Ki67 expression (%)		Proliferation inhibitory rate (%)	Apoptosis rate (%)
	Immunocytochemistry	Western blotting		
Control	84.0 ± 4.4	100.0	0	6.1 ± 5.4
DHT 9 μmol/L	85.3 ± 0.6	97.6 ± 5.3	2.07 ± 1.15	4.8 ± 4.6
PNAs 9 μmol/L	76.6 ± 5.3**	73.3 ± 6.6**	10.44 ± 3.05**	12.6 ± 5.7**
DHT-PNAs				
1 μmol/L	87.2 ± 4.7	96.2 ± 8.7	-1.37 ± 0.06	7.2 ± 4.7
3 μmol/L	74.6 ± 3.8**	70.6 ± 3.8**	9.48 ± 2.78**	14.4 ± 5.9**
9 μmol/L	60.4 ± 7.0**△△	58.4 ± 7.0**△△	22.24 ± 4.56**△△	22.3 ± 3.1**△△

** $P < 0.01$ vs control or DHT group; △△ $P < 0.01$ vs DHT-PNAs 1 μmol/L, DHT-PNAs 3 μmol/L or PNAs group

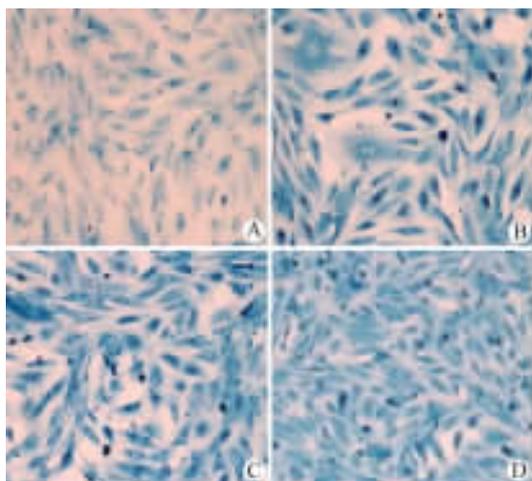


图 4 DHT-PNAs 对 PC-3 细胞凋亡的影响(DAB, ×400)

Fig. 4 Effects of DHT-PNAs on apoptosis of PC-3 cells(×400)

A: Control; B: DHT; C: PNAs 9 μmol/L; D: DHT-PNAs 9 μmol/L

但 PNAs 不易进入细胞是其严重缺陷,直到 1998 年,核位点信号肽或人体内具有生物活性的激素如二氢睾酮(DHT)、神经紧张素(NT)作为载体与 PNAs 耦联成功,才使其应用取得突破性进展^[9]。

Boffa^[10]曾将针对 C-myc 的 PNAs 与 DHT 耦联,在体外证实 PNAs 与 DHT 耦联后大大提高前列腺癌细胞对 PNAs 的摄取且具有较强杀伤效应。本课题将针对 *Ki67* 基因的 PNAs 与 DHT 耦联后与 PC-3 细胞共同培养,结果同样证实 DHT-PNAs 抑制 *Ki67* mRNA 和 *Ki67* 蛋白表达的作用明显优于相同剂量的 PNAs,而且发现 DHT-PNAs (3 μmol/L) 仅需 PNAs 1/3 的剂量即可达到 PNAs (9 μmol/L) 的治疗作用。其可能的机制包括:(1)二氢睾酮(DHT)是人体内具有较强生物学活性的雄激素,可与前列腺癌细胞膜上的雄激素受体结合,与其耦联的 PNAs 则一起被靶细胞通过胞吞的方式摄入,从而大大促进了肿瘤细胞对 PNAs 的摄入。(2)前列腺癌膜表面特异性表达雄激素受体,DHT-PNAs 对前列腺癌组织具有极强的特异性、靶向性,能在肿瘤组织局部达到较高的药物浓度。肿瘤细胞增殖由多种信号途径介导,阻断某个或几个癌基因效果并不理想,*Ki67* 基因所编码的 DNA 结合蛋白,是肿瘤细胞增殖的必需组份,在 G_1 、S、 G_2 、M 期均有表达,且仅在增殖细胞中表达,静止细胞中无表达^[11-12],2003 年 Kausch 等^[2-3]发现 *Ki67* 在人骨髓瘤细胞(IM-9)、膀胱癌细胞(RT-4)、乳腺癌细胞(MCF-7)、肾透明细

胞癌及前列腺癌细胞(RM-11)等多种肿瘤细胞中均有强表达,且针对*Ki67*的反义核苷酸能抑制肿瘤细胞的生长。本实验结果显示,*Ki67* mRNA和*Ki67*蛋白表达的下调与PC-3细胞的凋亡相关,随着PC-3细胞*Ki67*表达率的下降,其凋亡率逐渐增加。Endl等^[12]证实*Ki67*通过参与有丝分裂影响细胞增殖,因此可能的原因是PC-3细胞进入有丝分裂期后由于缺乏*Ki67*蛋白的参与而不能完成细胞分裂,最终进入凋亡程序。

综上所述,PNA通过与DHT的耦联能有效增加PC-3细胞对PNA的摄取,并对其有极强的特异性、靶向性,能更高效地发挥其反义基因治疗作用,有望成为一种治疗晚期前列腺癌的有利工具。

[参考文献]

- [1] Hadaschik BA, Sowery RD, Gleave ME. Novel targets and approaches in advanced prostate cancer [J]. *Curr Opin Urol*, 2007, 17(3): 182-187.
- [2] Kausch I, Lingnau A, Endl E, et al. Antisense treatment against *Ki-67* mRNA inhibits proliferation and tumor growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Int J Cancer*, 2003, 105(5): 710-716.
- [3] Kausch I, Jiang H, Ewerdtwalbesloh N, et al. Inhibition of *Ki-67* in a renal cell carcinoma severe combined immunodeficiency disease mouse model is associated with induction of apoptosis and tumour growth inhibition [J]. *BJU Int*, 2005, 95(3): 416-420.
- [4] Bruch-Gerharz D, Schnorr O, Suschek C, et al. Arginase 1 over-expression in psoriasis: limitation of inducible nitric oxide synthase activity as a molecular mechanism for keratinocyte hyperproliferation [J]. *Am J Pathol*, 2003, 162(1): 203-211.
- [5] 梁国栋. 最新分子生物学实验技术[M]. 北京, 科学出版社, 2002: 3-4.
- [6] Lundin KE, Good L, Strömberg R, et al. Biological activity and biotechnological aspects of peptide nucleic acid [J]. *Adv Genet*, 2006, 56(1): 1-51.
- [7] Liu B, Han Y, Ferdous A, et al. Transcription activation by a PNA-peptide chimera in a mammalian cell extract [J]. *Chem Biol*, 2003, 10(10): 909-916.
- [8] Lundin KE, Ge R, Svahn MG, et al. Cooperative strand invasion of supercoiled plasmid DNA by mixed linear PNA and PNA-peptide chimeras [J]. *Biomol Eng*, 2004, 21(2): 51-59.
- [9] Pooga M, Soomets U, Hällbrink M, et al. Cell penetrating PNA constructs regulate galanin receptor levels and modify pain transmission *in vivo* [J]. *Nat Biotechnol*, 1998, 16(9): 857-861.
- [10] Boffa LC, Scarfi S, Mariani MR, et al. Dihydrotestosterone as a selective cellular/nuclear localization vector for anti-gene peptide nucleic acid in prostatic carcinoma cells [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(8): 2258-2262.
- [11] Endl E, Gerdes J. Posttranslational modifications of the *Ki-67* protein coincide with two major checkpoints during mitosis [J]. *J Cell Physiol*, 2000, 182(3): 371-380.
- [12] Halvorsen OJ. Molecular and prognostic markers in prostate cancer. A study of cell-cycle regulators, angiogenesis and candidate markers [J]. *APMIS Suppl*, 2008; (123): 5-62.
- [收稿日期] 2009-04-18 [修回日期] 2009-06-15
[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ISSN 1007-385X; CN31-1725/R),双月刊,国内外公开发行。本刊为中国惟一的肿瘤生物治疗专业高级学术刊物,重点报道我国肿瘤生物治疗领域基础理论与临床应用的最新研究成果、新理论、新技术及新经验,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(基础研究,临床研究)、研究快报、技术方法、文献综述、学术争鸣、专题讲座、科技动态等。本刊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。

本刊为中国中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),已被美国《化学文摘》(CA)、美国《剑桥科学文摘》(CSA)、美国《乌利希国际期刊指南》(Ulrich IPD)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、荷兰《医学文摘》(EMbase)、英国《国际农业和生物科学研究文摘》(CABI)、英国《公共健康研究数据库》(GH)、波兰《哥白尼索引》(IC)等多个国际著名检索系统收录;已被中国科技论文与引文数据库(CSTPCD)、中国科学引文数据库(CSCD)、中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)等国内所有知名检索系统和专业相关权威文摘期刊收录。本刊在肿瘤学领域的学术地位和影响力名列前茅,在国际学术界的显示度日益广泛和增强。

本刊发表论文的周期平均在4个月左右;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。投稿方式不限,将电子版发至电子信箱、通过网络投稿系统投稿,或纸质稿件邮寄均可。

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(邮编200433)

联系人:王莹,韩丹;联系电话:021-55620605×22;021-81871002×22;传真:021-81871007

网址:www.biother.org;电子邮箱:cjcb@biother.org