

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.02.011

## 重组人 P53 腺病毒联合紫杉醇对宫颈癌 HeLa 细胞的抑制作用及其机制

郑小莉<sup>1</sup>, 王婷婷<sup>2</sup>, 付敏<sup>3</sup>, 周健<sup>3</sup>, 刘福民<sup>4</sup>△(1. 徐州医学院附属徐州市立医院 妇产科, 江苏 徐州 221002; 2. 徐州市第六人民医院 妇产科, 江苏 徐州 221006; 3. 徐州市妇幼保健院 妇科, 江苏 徐州 221009; 4. 徐州医学院附属医院 妇产科, 江苏 徐州 221002)

**[摘要]** **目的:**探讨重组人 P53 腺病毒(recombinant human adenovirus-P53, rAd-P53)联合紫杉醇对宫颈癌 HeLa 细胞增殖、凋亡及血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的影响。**方法:**MTT 法检测紫杉醇、rAd-P53 单独或联合应用后 HeLa 细胞的增殖;DAPI 染色法检测紫杉醇、rAd-P53 单独或联合作用 48 h 后 HeLa 细胞的凋亡;Western blotting 法检测紫杉醇、rAd-P53 单独或联合作用后 HeLa 细胞 VEGF 的表达情况。**结果:**紫杉醇、rAd-P53 单独或联合作用 24~72 h 均能抑制 HeLa 细胞的增殖,抑制作用具有时效和量效关系,且联合用药组对 HeLa 细胞的抑制率显著高于单用紫杉醇组及 rAd-P53 组( $P < 0.05$ );联合作用时的相互作用系数(coefficient of drug interaction, CDI)均  $< 1$ ,说明两者具有协同作用;rAd-P53 ( $5 \times 10^7$  VP/ml)联合紫杉醇( $3 \mu\text{g/ml}$ )作用 48 h 后,对 HeLa 细胞增殖的抑制率高于两药单用组[( $54.0 \pm 0.92$ )% vs ( $31.8 \pm 0.58$ )%、( $27.2 \pm 0.55$ )%,  $P < 0.05$ ]。联合用药组 HeLa 细胞的凋亡率也显著高于紫杉醇组、rAd-P53 单用组[( $83 \pm 0.07$ )% vs ( $36 \pm 0.04$ )%、( $62 \pm 0.05$ )%,  $P < 0.05$ ]。联合用药组 HeLa 细胞中 VEGF 的表达显著低于两单独用药组,HeLa 细胞中 VEGF 表达分别下降( $81 \pm 0.08$ )%、( $45 \pm 0.07$ )%和( $60 \pm 0.06$ )%( $P < 0.05$ )。**结论:**rAd-P53 和紫杉醇联合用药抑制 HeLa 细胞的增殖、诱导细胞凋亡的效果优于单独用药,其机制可能与下调 VEGF 表达有关。

**[关键词]** 重组人 P53 腺病毒;紫杉醇;宫颈癌;HeLa 细胞;VEGF

**[中图分类号]** R373.33; R730.54; R730.53 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2013)02-0192-05

## Inhibitory effect of recombinant human adenovirus-P53 combined with paclitaxel on human cervical cancer HeLa cells and its mechanism

Zheng Xiaoli<sup>1</sup>, Wang Tingting<sup>2</sup>, Fu Min<sup>3</sup>, Zhou Jian<sup>3</sup>, Liu Fumin<sup>4</sup>△(1. Department of Gynaecology and Obstetrics, Affiliated Xuzhou Municipal Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu, China; 2. Department of Gynaecology and Obstetrics, No. 6 People's Hospital of Xuzhou, Xuzhou 221006, Jiangsu, China; 3. Department of Gynaecology, Xuzhou Maternal and Child Health Hospital, Xuzhou 221009, Jiangsu, China; 4. Department of Gynaecology and Obstetrics, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu, China)

**[Abstract]** **Objective:** To evaluate the effect of recombinant human adenovirus-P53(rAd-P53) combined with paclitaxel on proliferation, apoptosis and vascular endothelial growth factor(VEGF) expression of cervical cancer HeLa cells. **Methods:** The effects of paclitaxel, rAd-P53 alone or in combination on the proliferation of HeLa cells were evaluated by MTT. The effects of paclitaxel, rAd-P53 alone or in combination on apoptosis of HeLa cells at 48 h were evaluated by DAPI stain. The effects of paclitaxel, rAd-P53 alone or in combination on VEGF expression in HeLa cells were examined by Western blotting. **Results:** Paclitaxel, rAd-P53 alone or in combination inhibited HeLa cell proliferation significantly at 24-72 h in dose-dependent and time-dependent manners. Furthermore, the inhibitory effect was more significant with rAd-P53 combined with paclitaxel than with paclitaxel or rAd-P53 alone group ( $P < 0.05$ ). The coefficients of drug interaction(CDI) of various doses of rAd-P53 combined with paclitaxel were less than 1, which indicated that there was a syn-

**[基金项目]** 江苏省卫生厅康莱特临床肿瘤研究基金资助项目(No. P200943)。Project supported by the Kanglaite Clinical Cancer Research Foundation from Health Bureau of Jiangsu Province (No. P200943)

**[作者简介]** 郑小莉(1978-),女,江苏省徐州市人,主治医师,主要从事妇科肿瘤方面的研究。E-mail: zxl9711143@163.com

**[通信作者]** 周健(Zhou Jian, corresponding author), E-mail: 9669@163.com; 刘福民(Liu Fumin, co-corresponding author), E-mail: liufumin820@163.com。△为共同通信作者

ergism between them. At 48 h of treatment, rAd-P53 ( $5 \times 10^7$  VP/ml) combined with paclitaxel ( $3 \mu\text{g/ml}$ ) showed stronger cell inhibition than the two drugs treated alone ( $[54.0 \pm 0.92]\%$  vs  $[31.8 \pm 0.58]\%$ ,  $[27.2 \pm 0.55]\%$ ,  $P < 0.05$ ). In addition, the combined group demonstrated more powerful ability in apoptosis induction than paclitaxel and rAd-P53 alone ( $[83 \pm 0.07]\%$  vs  $[36 \pm 0.04]\%$ ,  $[62 \pm 0.05]\%$ ,  $P < 0.05$ ), but the expression of VEGF in HeLa cells in the combined treatment group decreased more significantly than did the single drug groups ( $[81 \pm 0.08]\%$  vs  $[45 \pm 0.07]\%$ ,  $[60 \pm 0.06]\%$ ,  $P < 0.05$ ). **Conclusion:** rAd-P53 combined with paclitaxel shows more significant proliferation inhibition and apoptosis induction effects than does paclitaxel or rAd-P53 alone. Its mechanism may be associated with down-regulation of VEGF expression.

[ **Key words** ] recombinant human adenovirus-P53; paclitaxel; cervical cancer; HeLa cell; VEGF

[ Chin J Cancer Biother, 2013, 20(2): 192-196 ]

宫颈癌是妇科最常见的恶性肿瘤,早期宫颈癌可通过手术或放疗治愈,而晚期宫颈癌则失去手术机会。单独放疗的效果差,复发率高,且年轻患者放疗后损害内分泌功能,引起阴道上皮纤维化和阴道挛缩等,严重影响患者生活质量。自临床应用宫颈癌新辅助化疗(neoadjuvant chemotherapy, NACT)以来,大量资料<sup>[1-6]</sup>表明,晚期宫颈癌术前局部化疗可以有效缩小肿块,降低肿瘤分期,为手术治疗创造条件,提高手术疗效。但是在化疗过程中经常产生耐药性,影响治疗效果。有研究<sup>[7-8]</sup>证明,野生型 P53 基因突变在宫颈癌的发生发展中起重要作用,而多数肿瘤的化疗耐药性与肿瘤细胞 P53 基因的突变有关。本研究拟使用重组人 P53 腺病毒(recombinant human adenovirus-P53, rAd-P53)感染宫颈癌 HeLa 细胞,观察是否可以通过重建肿瘤细胞内 P53 基因,提高肿瘤细胞对紫杉醇化疗的敏感性,并通过检测紫杉醇作用后 HeLa 细胞中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的变化,探讨 rAd-P53 联合紫杉醇用于宫颈癌治疗的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料

人宫颈癌 HeLa 细胞株来源于天津中国医学科学院血液病研究所,用含 10% 新生牛血清的 RPMI 1640,在 5% CO<sub>2</sub>、37 ℃、饱和湿度的培养箱中培养,0.25% 胰蛋白酶消化并传代,实验均取对数生长期细胞。重组人 P53 腺病毒注射液(规格为  $1 \times 10^{12}$  VP/支)购自深圳市赛百诺基因技术公司(批号为 No. 20090201),用 PBS 稀释。紫杉醇(规格为 30 mg/5 ml)购自扬子江药业公司(批号为 No. 09102901),鼠抗人 VEGF 单克隆抗体购自 Bioworld 公司,通用型 S-P9000 试剂盒购自北京中杉生物科技有限公司。蛋白电泳及电转移装置购自美国 Bio-

Rad 公司,图像处理仪购自美国 Gene 公司,荧光显微镜购自日本 Olympus 公司。

### 1.2 MTT 法检测紫杉醇、rAd-P53 单用及联合用药对 HeLa 细胞增殖的影响

实验分为空白对照组、紫杉醇组、rAd-P53 组、rAd-P53 联合紫杉醇组。紫杉醇组质量浓度分别设为 1.5、3、6  $\mu\text{g/ml}$ ; rAd-P53 组活性浓度分别设为  $5 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^8$  VP/ml; rAd-P53 联合紫杉醇组:  $5 \times 10^6$ 、 $5 \times 10^7$ 、 $5 \times 10^8$  VP/ml 的 rAd-P53 注射液分别加上 1.5、3、6  $\mu\text{g/ml}$  的紫杉醇。

取对数生长期 HeLa 细胞,调整细胞密度至  $5 \times 10^4/\text{ml}$ ,按每孔 200  $\mu\text{l}$  接种于 96 孔培养板。培养 24 h 后吸去上清液,分别加入含紫杉醇、rAd-P53 的培养液 200  $\mu\text{l}$ ,联合用药组先加入 rAd-P53,再加入紫杉醇,继续培养 24、48、72 h。同时设只加培养液的调零孔和不加药物的对照组,每组设 4 个复孔。终止培养前 4 h 向每孔加入含 0.5 mg/ml MTT 的新鲜培养液 20  $\mu\text{l}$ ,继续孵育 4 h 后,每孔加 200  $\mu\text{l}$  DMSO,酶标仪 490 nm 波长处以调零孔校正后测定各孔光密度值( $D$ )。实验重复 3 次。各组的细胞抑制率按下列公式计算:细胞抑制率( $\%$ ) =  $(1 - \text{药物组 } D / \text{对照组 } D) \times 100\%$ 。使用两药相互作用系数(coefficient of drug interaction, CDI)评价两药相互作用性质,CDI 按下式计算:  $\text{CDI} = \text{AB} / (\text{A} \times \text{B})$ , AB 是两药联合组与对照组  $D$  值的比值, A 或 B 是各单药组与对照组  $D$  值的比值。如  $\text{CDI} < 1$ ,则两药作用性质为协同;如  $\text{CDI} = 1$ ,则两药作用性质为相加;如  $\text{CDI} > 1$  则两药作用性质为拮抗。

### 1.3 DAPI 染色检测紫杉醇、rAd-P53 单用及联合用药对 HeLa 细胞凋亡的影响

HeLa 细胞接种于 24 孔板,细胞长至 50% 密度时加入紫杉醇( $3 \mu\text{g/ml}$ )、rAd-P53( $5 \times 10^7$  VP/ml)以及两药联合加入,并设不加药物的对照组,48 h 后 DAPI 染色检测 HeLa 细胞凋亡情况。具体操作

为将培养的 HeLa 细胞用 PBS 洗 3 次, 4% 多聚甲醛 (溶于 0.1 mmol/L PBS 中, pH 7.4) 室温固定 15 min, PBS 洗 3 次, 加入 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$  DAPI, 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 30 min 后, 荧光显微镜下观察细胞情况。细胞凋亡的判定方法为: 细胞核边缘不规则, 细胞核染色质浓集, 着色较重, 并伴有细胞核固缩和细胞核碎片增加现象。凋亡率的计算方法为: 400 倍视野下每孔中随机选取 10 个视野, 计算出凋亡细胞总数占总细胞数的百分率。

#### 1.4 Western blotting 检测紫杉醇、rAd-P53 单用及联合用药对 HeLa 细胞中 VEGF 表达的影响

取对数生长期 HeLa 细胞, 调整细胞密度至  $1 \times 10^6$  个/ml, 接种 4 ml 于培养瓶中培养 24 h, 分别加紫杉醇 (终质量浓度 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ), rAd-P53 (终活性浓度  $5 \times 10^8$  VP/ml), 联合用药组加入 rAd-P53 和紫杉醇, 并设不加药物的空白对照组和溶剂组, 继续培养 48 h, 收集并裂解细胞。将裂解液进行蛋白浓度测定后, 等量蛋白样品经 10% SDS-聚丙烯酰胺电泳分离后, 以半干转法电转移至 NC 膜上。转移后的 NC 膜经 3% BSA 封闭后加入一抗 (抗 VEGF 抗体, 1:1 000) 约 10 ml, 4  $^{\circ}\text{C}$  过夜; 用洗涤液洗膜 5 次、每次 3 min, 加入二抗 (羊抗兔 IgG-AP, 1:2 000) 约 10 ml, 37  $^{\circ}\text{C}$  反应 2 h; 用洗涤液洗膜 5 次, 每次 3 min, 使用 NBT/BCIP 试剂盒, 将 NC 膜放在新鲜配制的 AP 显色液中显色, 流水洗涤终止反应。染色结果用 Image 图像分析软件处理。实验过程中, 以  $\beta$ -actin 作为内参进行检测, 保证结果的准确性。

#### 1.5 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计软件, 各组数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 rAd-P53 和紫杉醇联合用药明显抑制 HeLa 细胞的增殖

MTT 检测结果 (表 1) 显示, 不同药物浓度下紫杉醇、rAd-P53、rAd-P53 联合紫杉醇作用 24、48、72 h 均能抑制 HeLa 细胞的增殖, 药物作用效果具有一定的时效和量效关系。不同浓度下的 rAd-P53 联合紫杉醇在 24、48、72 h 对 HeLa 细胞增殖的抑制率均显著高于单用紫杉醇组或 rAd-P53 组。计算不同浓度 rAd-P53 与紫杉醇联合作用时的 CDI 均  $< 1$ , 故二者具有协同作用。

表 1 MTT 法检测紫杉醇和 rAd-P53 单用或联合对 HeLa 细胞增殖的影响 (%)

Tab. 1 Effect of paclitaxel and rAd-P53 alone or in combination on the proliferation of HeLa cells (%)

Group	24 h	48 h	72 h
Paclitaxel ( $\rho_B/\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ )			
1.5	13.9 $\pm$ 0.44	16.3 $\pm$ 0.21	11.2 $\pm$ 0.13
3	27.6 $\pm$ 0.68	31.8 $\pm$ 0.58	29.2 $\pm$ 0.14
6	36.3 $\pm$ 0.13	40.2 $\pm$ 0.23	39.3 $\pm$ 0.36
rAd-P53 ( $z/\text{VP} \cdot \text{ml}^{-1}$ )			
$5 \times 10^6$	10.4 $\pm$ 0.27	15.0 $\pm$ 0.77	19.5 $\pm$ 0.45
$5 \times 10^7$	26.0 $\pm$ 0.31	27.2 $\pm$ 0.55	30.4 $\pm$ 0.57
$5 \times 10^8$	34.7 $\pm$ 0.59	42.6 $\pm$ 0.25	47.2 $\pm$ 0.16
rAd-P53 + paclitaxel			
$5 \times 10^6 + 1.5$	34.6 $\pm$ 0.20*	43.2 $\pm$ 0.72*	46.8 $\pm$ 0.51*
$5 \times 10^7 + 3$	47.8 $\pm$ 0.10 $^{\Delta}$	54.0 $\pm$ 0.92 $^{\Delta}$	62.4 $\pm$ 0.16 $^{\Delta}$
$5 \times 10^8 + 6$	68.8 $\pm$ 0.43 $^{\diamond}$	78.8 $\pm$ 0.25 $^{\diamond}$	84.9 $\pm$ 0.28 $^{\diamond}$

\*  $P < 0.05$  vs paclitaxel or rAd-P53 group,  $^{\Delta} P < 0.05$  vs paclitaxel or rAd-P53 group;  $^{\diamond} P < 0.05$  vs paclitaxel or rAd-P53 group

### 2.2 rAd-P53 和紫杉醇联合用药促进 HeLa 细胞的凋亡

实验结果 (图 1) 显示, 空白对照组仅出现少量自然凋亡细胞, 紫杉醇 (3  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )、rAd-P53 ( $5 \times 10^7$  VP/ml) 单独或联合处理 HeLa 细胞后, 细胞出现染色质凝集, 荧光染色增强, 染色质呈致密浓染的块状或颗粒状荧光, 可见凋亡小体形成。经统计学分析, 空白对照组 HeLa 细胞的凋亡率为 (11  $\pm$  0.01)%, 紫杉醇组为 (36  $\pm$  0.04)%, rAd-P53 组为 (62  $\pm$  0.05)%, rAd-P53 联合紫杉醇组为 (83  $\pm$  0.07)%. 由此可见, 同单药组相比, rAd-P53 和紫杉醇联合用药后细胞凋亡率明显增加 ( $P < 0.05$ )。本研究还进行了其他给药剂量和药物作用时间的检测, 发现较低剂量紫杉醇和较短时间给药对 HeLa 细胞凋亡的促进作用不明显, 而较高剂量和较长时间给药时 HeLa 细胞死亡过分严重, 无法做 DAPI 检测 (结果未显示)。

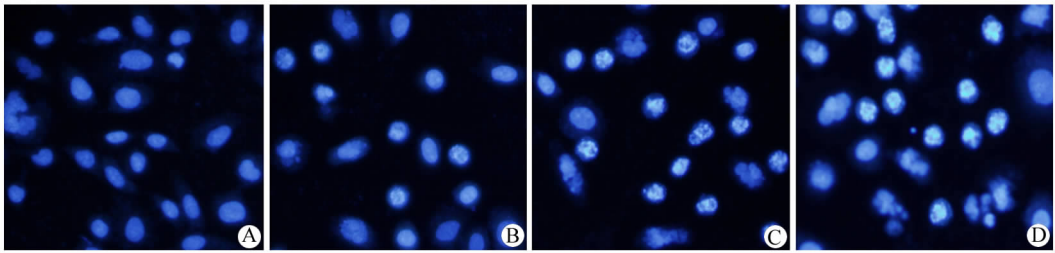


图1 紫杉醇、rAd-P53 单用或联合对 HeLa 细胞凋亡的影响( ×200 )

Fig.1 Effect of paclitaxel and rAd-P53 alone or in combination on the apoptosis of HeLa cells( ×200 )

A: Control; B: Paclitaxel; C: rAd-P53; D: rAd-P53 + paclitaxel

### 2.3 rAd-P53 和紫杉醇联合用药明显降低 HeLa 细胞中 VEGF 的表达

Western blotting 结果(图2)显示,紫杉醇(6 μg/ml)、rAd-P53(5 × 10<sup>8</sup> VP/ml)单药组以及两药联合作用 HeLa 细胞后,紫杉醇组 HeLa 细胞中 VEGF 的表达水平较空白对照组降低(45 ± 0.07)%, rAd-P53 组 VEGF 的表达水平较对照组降低(60 ± 0.06)%,联合用药组 VEGF 的表达水平较空白对照组降低(81 ± 0.08)%(*P* < 0.05)。本实验还进行了紫杉醇(1.5 μg/ml)、rAd-P53(5 × 10<sup>6</sup> vp/ml)及联合给药,以及紫杉醇(3 μg/ml)、rAd-P53(5 × 10<sup>7</sup> vp/ml)及联合给药的检测,但是 HeLa 细胞中 VEGF 表达降低不及紫杉醇(6 μg/ml)、rAd-P53(5 × 10<sup>8</sup> vp/ml)单药组及两药联合用药组明显(结果未显示)。

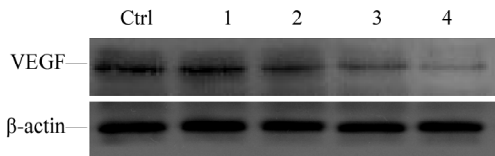


图2 紫杉醇、rAd-P53 单用或联合对 HeLa 细胞中 VEGF 表达的影响

Fig.2 Effect of paclitaxel and rAd-P53 alone or in combination on the expression of VEGF in HeLa cells

1: Vehicle; 2: Paclitaxel; 3: rAd-P53; 4: Ad-P53 + paclitaxel

## 3 讨论

研究<sup>[9]</sup>表明,P53 基因的突变不仅与宫颈癌的发病相关,而且与宫颈癌细胞对化疗的敏感性密切相关。一些研究<sup>[5, 10-11]</sup>已显示,重组 P53 制剂与放疗或光疗联合应用于宫颈癌可提高放疗和光疗的治疗效应。重组人 P53 腺病毒联合化疗也在多种肿瘤的治疗中呈现出比单独化疗更强的肿瘤抑制效

果<sup>[12-15]</sup>。重组人 P53 腺病毒 rAd-P53 以腺病毒为载体,将 P53 基因导入肿瘤细胞中,使外源 P53 基因在细胞内高度表达,产生细胞周期 G<sub>2</sub>/M 期阻滞,还可以通过活化 Bax 基因、抑制 Bcl-x 基因以及诱导前凋亡基因 Puma、Bak、Fas 的表达,促进肿瘤细胞的凋亡,提高多种肿瘤细胞对化、放疗的敏感性<sup>[8, 16-17]</sup>。

紫杉醇是从太平洋紫杉属短叶紫杉中提取的一种抗肿瘤药。细胞有丝分裂时微管的聚合和解聚是染色体分离所必需的,紫杉醇通过特异地结合到微管的 β 位上阻碍微管运动,导致细胞有丝分裂阻断和凋亡<sup>[18]</sup>。紫杉醇对卵巢癌、宫颈癌等多种恶性肿瘤具有抗肿瘤活性,但是与其他化疗药物一样,紫杉醇也面临着肿瘤细胞的耐药性问题。紫杉醇发挥作用需要保持肿瘤细胞中 P53 的稳定来降低耐药性,其机制可能与紫杉醇可引起细胞停滞在 G<sub>1</sub> 期,有选择性地介导细胞凋亡有关<sup>[8]</sup>。野生型 P53 基因对化疗药物引起的细胞周期阻滞和凋亡起促进作用,而变异的 P53 基因将失去这种功能,这是肿瘤细胞产生化疗耐药的重要原因之一。本研究通过 MTT 法及 DAPI 染色法检测发现,rAd-P53 联合紫杉醇后 HeLa 细胞的增殖抑制率与凋亡率均较单药作用组显著提高(*P* < 0.05)。计算不同浓度 rAd-P53 与紫杉醇联合作用时的 CDI,显示 CDI 值均 < 1,说明 rAd-P53 与紫杉醇具有协同作用。原理应该为紫杉醇和 rAd-P53 可以通过不同靶点作用于细胞增殖周期,更大程度上引起细胞增殖停滞和促进细胞凋亡,显然多靶点作用明显优于单一靶点作用。且 P53 基因通过腺病毒为载体导入 HeLa 细胞,维持细胞中 P53 的稳定性,降低了紫杉醇的耐药性,增强了化疗药物的作用。

肿瘤血管生成是肿瘤发展过程中的关键步骤之一,大量研究<sup>[19]</sup>已证实,VEGF 是刺激肿瘤血管生长最关键的生长因子。VEGF 在宫颈癌组织中的表

达明显高于正常组织和癌旁组织<sup>[20]</sup>,还高于慢性宫颈炎和宫颈上皮内瘤样变组织<sup>[21]</sup>。另有研究<sup>[22]</sup>证实,接受新辅助化疗后的宫颈癌组织中 VEGF-C 抗原阳性表达率明显降低。本研究结果显示,rAd-P53 或紫杉醇均能抑制 HeLa 细胞中 VEGF 的表达,而 rAd-P53 联合紫杉醇比单独给药组对 HeLa 细胞中 VEGF 的表达抑制作用更明显。联合用药组 VEGF 表达受到明显抑制,则肿瘤血管生长明显抑制,直接导致 HeLa 细胞的增殖受到明显抑制,凋亡更明显。提示 rAd-P53 可能通过下调 HeLa 细胞中 VEGF 的表达,抑制肿瘤血管生长,抑制宫颈癌 HeLa 细胞的增殖,促进 HeLa 细胞凋亡,并增强紫杉醇的作用效果。上述研究结果为临床宫颈癌基因治疗与化疗联合应用提供了可靠的实验基础。合理的联合用药可以通过多渠道、多环节发挥药物的协同作用,在提高疗效的同时,还可以降低药物浓度,减少不良反应,延缓耐药性产生。

[ 参 考 文 献 ]

[ 1 ] Plante M, Lau S, Brydon L, et al. Neoadjuvant chemotherapy followed by vaginal radical trachelectomy in bulky stage IB1 cervical cancer: Case report [ J ]. Gynecol Oncol, 2006, 101( 2 ): 367-370.

[ 2 ] 程晓东, 吕卫国, 叶枫, 等. 局部晚期子宫颈癌新辅助化疗价值的评估 [ J ]. 中华妇产科杂志, 2006, 41( 2 ): 95-98.

[ 3 ] 李希聪, 何涛. 宫颈癌的新辅助化疗 [ J ]. 国际肿瘤学杂志, 2007, 34( 8 ): 621-623.

[ 4 ] 聂惠龙, 郭天棋. 两种治疗方案对巨型宫颈癌的近期疗效对比 [ J ]. 中国妇幼保健, 2012, 27( 14 ): 2102-2104.

[ 5 ] 李凯新, 张江灵. 深部热疗加同步放疗治疗局部晚期宫颈癌的临床研究 [ J ]. 现代肿瘤医学, 2012, 20( 3 ): 595-597.

[ 6 ] 覃焯. 紫杉醇联合铂类在局部晚期宫颈癌新辅助化疗中的作用 [ J ]. 中国医药科学, 2012, 2( 5 ): 69-71.

[ 7 ] Ecke TH, Schlechte HH, Schiemenz K, et al. TP53 gene mutations in prostate cancer progression [ J ]. Anticancer Res, 2010, 30( 5 ): 1579-1586.

[ 8 ] 刘宁, 娄金丽, 李宁. P53 基因治疗肿瘤的研究进展 [ J ]. 北京医学, 2010, 32( 9 ): 751-793.

[ 9 ] 张颖, 林晨, 钱海利, 等. Ad-TIMP-3 转染增加宫颈癌细胞对

顺铂的敏感性 [ J ]. 中华肿瘤杂志, 2007, 29( 1 ): 25-29.

[ 10 ] 孔为民, 孙建衡, 林晨, 等. 重组腺病毒载体介导的基因治疗及其与放射治疗联合应用对子宫颈癌 HeLa 细胞的作用 [ J ]. 中华妇产科杂志, 2002, 37( 6 ): 352-355.

[ 11 ] Lim DS, Bae SM, Kwak SY, et al. Adenovirus-mediated p53 treatment enhances photodynamic antitumor response [ J ]. Hum Gene Ther, 2006, 17( 3 ): 347-352.

[ 12 ] 陈光侠, 郑丽红, 刘世育, 等. 重组人 P53 腺病毒联合奥沙利铂对胃癌细胞 BGC-823 的生长抑制作用 [ J ]. 江苏医药, 2012, 38( 5 ): 551-554.

[ 13 ] 刘婷婷, 孔为民, 孙立新, 等. Ad-P53 及联合顺铂治疗卵巢癌裸鼠腹腔移植瘤及腹水的实验研究 [ J ]. 实用妇产科杂志, 2010, 26( 6 ): 429-436.

[ 14 ] 黄波, 司勇锋, 兰桂萍, 等. rAd-P53 瘤内注射前后鼻咽癌原发灶 p53、p21/WAF1 蛋白的表达及意义 [ J ]. 广西医学, 2011, 23( 11 ): 1397-1400.

[ 15 ] 杨曼春. 重组人 P53 腺病毒注射液结合介入治疗妇科盆腔恶性肿瘤 [ J ]. 医药论坛杂志, 2010, 31( 15 ): 177-178.

[ 16 ] Swisher SG, Roth JA, Komaki R, et al. Induction of p53-regulated genes and tumor regression in lung cancer patients after intratumoral delivery of adenoviral P53 ( INGN 201 ) and radiation therapy [ J ]. Clin Cancer Res, 2003, 9( 1 ): 93-101.

[ 17 ] 刘明月, 王晚萍, 周云. 重组人 P53 腺病毒感染对携带不同 p53 状态胃癌细胞的影响 [ J ]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2012, 21( 8 ): 740-742.

[ 18 ] Wilson L, Jordan MA. Microtubule dynamics: Taking aim at a moving target [ J ]. Chem Biol, 1995, 2( 9 ): 569-573.

[ 19 ] 岳青芬, 张沛, 侯青霞. II b ~ III b 期宫颈癌综合治疗对细胞增殖及血管生成的影响和预后分析 [ J ]. 中国综合临床, 2011, 27( 7 ): 765-767.

[ 20 ] 张莉, 盛修贵, 王健, 等. 宫颈癌组织 VEGF-C 表达及其临床意义的初步探讨 [ J ]. 中国肿瘤防治杂志, 2011, 18( 16 ): 1252-1254.

[ 21 ] 李森, 钱智, 韩晓宇. 宫颈癌组织 Survivin 与 VEGF 表达及其生物学意义探讨 [ J ]. 中华肿瘤防治杂志, 2011, 18( 22 ): 1786-1788.

[ 22 ] 罗晓华, 张占薪, 杨立. VEGF-C 和 Ki-67 抗原在宫颈癌新辅助化疗前后的表达及意义 [ J ]. 医药论坛杂志, 2012, 33( 5 ): 63-64.

[ 收稿日期 ] 2012 - 11 - 20 [ 修回日期 ] 2013 - 02 - 25  
 [ 本文编辑 ] 王莹, 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

文稿中统计学符号规范化书写的要求

本刊严格遵守国家标准 GB 3358 - 93《统计学术语》的有关规定。为此,请作者书写统计学符号时注意以下要求:( 1 ) 样本的算术平均数用英文小写  $\bar{x}$ , 不用大写 X, 也不用 Mean 或 M; ( 2 ) 标准差用英文小写 s, 不用 SD; ( 3 ) 标准误用英文小写  $s_x$ , 不用 SE; ( 4 ) t 检验用英文小写 t; ( 5 ) F 检验用英文大写 F; ( 6 ) 卡方检验用希腊文小写  $\chi^2$ ; ( 7 ) 相关系数用英文小写 r; ( 8 ) 自由度用希腊文小写  $\nu$ ; ( 9 ) 样本数用英文小写 n; ( 10 ) 概率用英文大写 P; ( 11 ) 以上符号  $\bar{x}$ 、 $s_x$ 、t、F、 $\chi^2$ 、r、 $\nu$ 、n、P 均为斜体。请作者注意遵照执行。  
 ( 本刊编辑部 )