

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.012

· 基础研究 ·

CREB 及 p-CREB 在前列腺癌细胞增殖中的作用

唐海斌, 马越云, 苏明权, 李蕊, 常亮, 高萌, 付晓蕊, 杨玉琪, 郝晓柯(第四军医大学西京医院检验科, 陕西西安 710032)

[摘要] **目的:** 探讨环磷腺苷效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)及磷酸化 CREB(p-CREB)在前列腺癌细胞增殖中的作用。**方法:** 采用组织芯片技术检测人正常前列腺、前列腺增生、不同分级前列腺癌组织中 CREB 及 p-CREB 的表达水平;免疫荧光及 Western blotting 检测人正常前列腺基质永生生化细胞 WPMY-1、前列腺癌细胞 PC3 及 LNCap 中 CREB 及 p-CREB 的表达水平;构建重组人源 CREB 质粒,并转染 PC3 及 LNCap 细胞,Western blotting 及 CCK-8 试剂盒检测转染效率及细胞增殖水平的变化。**结果:** CREB 及 p-CREB 在前列腺癌组织中表达率明显高于正常前列腺(96% vs 50%, 88% vs 40%, $P < 0.05$)和前列腺增生组织(96% vs 80%, 88% vs 60%, $P < 0.05$);CREB 及 p-CREB 蛋白水平在前列腺癌 PC3 及 LNCap 细胞中表达量显著高于正常前列腺基质永生生化细胞 WPMY-1[PC3 细胞:(5.10 ± 0.62) vs (2.31 ± 0.40), (4.31 ± 0.54) vs (2.02 ± 0.38); LNCap 细胞:(7.5 ± 0.83) vs (2.31 ± 0.40), (6.15 ± 0.69) vs (2.02 ± 0.38), 均 $P < 0.05$];转染重组质粒 CREB 可上调前列腺癌细胞 PC3 及 LNCap 中增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达(均 $P < 0.05$),且转染后的 PC3 及 LNCap 细胞增殖水平明显增加($P < 0.05$)。**结论:** CREB 及 p-CREB 在前列腺癌组织、体外培养前列腺癌细胞 PC3 及 LNCap 中高表达,并可上调 PC3 及 LNCap 中增殖相关基因 PCNA 的表达,提高细胞增殖水平。

[关键词] 环磷腺苷效应元件结合蛋白;磷酸化 CREB;前列腺癌;增殖

[中图分类号] R737.25; R730.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)02-0223-07

Roles of CREB and p-CREB in proliferation of prostate cancer cells

TANG Haibin, MA Yueyun, SU Mingquan, LI Rui, CHANG Liang, GAO Meng, FU Xiaorui, YANG Yuqi, HAO Xiaoke (Laboratory Medicine, Xijing Hospital Affiliated to Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate roles of cAMP-response element binding protein (CREB) and phosphoglated CREB (p-CREB) in proliferation of prostate cancer cells. **Methods:** Tissue microarray technology was adopted to examine the expression levels of CREB and p-CREB in normal prostate tissue, hyperplasia prostate tissue and prostate cancer tissues at different grades. Immuno fluorescence staining and Western blotting were performed to detect the expression levels of CREB and p-CREB in human normal prostatic stromal immortalized WPMY-1 cell line, prostate cancer PC3 and LNCap cell lines. Recombinant human plasmid CREB was constructed and transfected into the PC3 and LNCap cells. Efficiency of the transfection and proliferation changes of the cells were verified by Western blotting and CCK-8 kit respectively. **Results:** Expression rates of CREB and p-CREB in prostate cancer tissue were significantly higher than those in normal prostate tissue (96% vs 50% and 88% vs 40%, $P < 0.05$) and hyperplasia prostate tissue (96% vs 80% and 88% vs 60%, $P < 0.05$). Expression levels of CREB and p-CREB proteins in the prostate cancer PC3 and LNCap cell lines were significantly higher than those in the normal prostatic stromal immortalized WPMY-1 cell line [(5.10 ± 0.62 vs 2.31 ± 0.40), (7.5 ± 0.83 vs 2.31 ± 0.40), (4.31 ± 0.54 vs 2.02 ± 0.38), (6.15 ± 0.69 vs 2.02 ± 0.38), all $P < 0.05$]. Transfection with recombined CREB plasmid could up-regulate the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in the prostate tumor PC3 and LNCap cells (all $P < 0.05$), and proliferation levels of the PC3 and LNCap cells significantly increased after the transfection ($P < 0.05$). **Conclusion:** The CREB and p-CREB were highly expressed in human prostate cancer tissues and, the prostate cancer PC3 and LNCap cells cultured *in vitro*. In addition, the CREB and p-CREB could up-regulate the expressions of proliferation-related gene PCNA, and raise proliferation level of the cells.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81272619)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81272619)

[作者简介] 唐海斌(1986-),女,湖南长沙市人,在职硕士生,主要从事前列腺肿瘤的基础及临床研究,E-mail: blusea_mao@163.com

[通信作者] 郝晓柯(HAO Xiaoke, corresponding author),E-mail: haoxkg@fmmu.edu.cn

[**Key words**] cAMP-response element binding protein (CREB); phosphoglated CREB (p-CREB); prostatic cancer; proliferation

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(2): 223-229. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.012]

环磷腺苷效应元件结合蛋白(cAMP-response element binding protein, CREB)是亮氨酸拉链(leucine-zipper)转录因子家族中的一种相对分子质量为 43 kD 的蛋白质^[1]。CREB 可通过募集共激活因子——组蛋白乙酰基转移 p300 结合于靶基因的启动子区,调控基因的转录,此过程中还涉及 CREB 肽链中第 133 位点丝氨酸的磷酸化,其靶基因可参与肿瘤的发生、发展和代谢等过程^[2]。有文献^[3-5]报道,多种肿瘤中可有 CREB 的过表达和过度活化,如乳腺癌、非小细胞肺癌、急性白血病。相反,在不同的肿瘤细胞系中下调 CREB 的水平可抑制细胞增殖并诱导凋亡,提示 CREB 在肿瘤的增殖中起重要作用^[6-8]。CREB 在前列腺癌细胞增殖中的作用尚未见报道。本研究采用组织芯片技术检测正常前列腺及病理前列腺组织 CREB 及 p-CREB 的表达,同时检测体外培养的前列腺基质细胞及癌细胞中 CREB 及 p-CREB 的表达,并通过构建人源重组 CREB 质粒并转染前列腺癌细胞,观察其对细胞增殖水平的影响,旨在初步研究 CREB 基因对前列腺癌细胞增殖功能的影响,以探讨其在前列腺癌发生发展中的作用。

1 材料与方 法

1.1 标本来源和主要试剂

前列腺组织芯片(包括人正常前列腺组织、前列腺增生组织及不同分级的前列腺癌组织)购自西安艾丽娜生物科技有限公司。前列腺癌 LNCap、PC3 细胞株,感受态 *E. coli* JM 109 均为第四军医大学西京医院检验科实验室保存。RPMI 1640 培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司。细胞爬片及多聚赖氨酸购自美国 Millipore 公司。RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、TaqDNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶、限制性内切酶、质粒抽提纯化试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司。重组载体测序由日本 TaKaRa 公司完成。Lipofectamine 3000 购自美国 Invitrogen 公司。细胞裂解蛋白提取试剂盒及 BCA 蛋白浓度定量试剂盒购自碧云天生物技术公司。兔源性 Anti-CREB 抗体、兔源性 Anti-p-CREB 抗体、兔源性 Anti-PCNA 抗体及核酸染料 Hoechst33342 均购自美国 Abcam 公司,鼠源性 Anti- β -actin 抗体购自美国 Sigma 公司。生物素化二抗及 DAB 显色试剂盒、驴抗兔 IgG 荧光二抗及 HRP 偶联

二抗均购自美国 Jackson 公司。CCK-8 细胞增殖检测试剂盒购自七海生物科技公司。

1.2 免疫组化检测 CREB 及 p-CREB 在人前列腺组织中的表达

石蜡切片经脱蜡、脱水、抗原修复处理;于甲醇-双氧水中封闭 10 min;加一抗:CREB(1:300),p-CREB(1:200)于 4℃ 过夜;加生物素化二抗室温孵育 1 h;DAB 显色 5 min,蒸馏水洗终止显色;苏木素复染、水洗、分化后充分水洗返蓝;常规脱水透明,中性树胶封片。普通荧光显微镜(BX51, OLYMPUS)下观察并采集图像,并记录不同样品类型的阳性率及阳性强度。

实验结果判断:随机选择每张切片的 6 个有代表性的高倍视野,从阳性细胞比例及细胞的着色强度两方面来分析;阳性细胞比例计分标准为:阳性细胞数 < 5% 计 0 分,5% ≤ 阳性细胞数 ≤ 30% 计 1 分,30% < 阳性细胞数 ≤ 70% 计 2 分,阳性细胞数 > 70% 计 3 分;着色强度计分:无着色为 0 分,淡棕黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为 3 分。然后将两者得分相加,0 分为阴性,1~2 分为弱阳性(+),3~4 分为中度阳性(++),5~6 分为强阳性(+++)

1.3 免疫细胞化学法检测 WPMY-1、PC3 及 LNCap 细胞中 CREB 及 p-CREB 的表达

传代细胞于已包被玻片的 12 孔板中,待其生长良好,贴壁稳定;4% 多聚甲醛溶液固定细胞 30 min,3% BSA 封闭 1 h;加一抗 CREB(1:500),p-CREB(1:500)于 4℃ 过夜;加荧光二抗于室温避光反应 1 h;Hoechst33342 衬染细胞核;50% 甘油-PBS 封片。激光共聚焦显微镜(FV1200, OLYMPUS)下观察并采集图像,采集不同细胞时,激光共聚焦显微镜的设置参数保持一致,IPP 软件分析其荧光强度。

1.4 Western blotting 检测 WPMY-1、PC3 及 LNCap 细胞中 CREB 及 p-CREB 的表达

裂解细胞,蛋白定量;经 10% SDS-PAGE 分离蛋白样品后,转移至 PVDF 膜上,加一抗 CREB(1:800)、p-CREB(1:600)及 β -actin(1:5 000)4℃ 孵育过夜;加 HRP 标记二抗,室温孵育 1 h,Bio-Rad 成像系统扫描成像并分析条带灰度值。

1.5 重组质粒 pcDNA3.1-CREB 的构建

提取 LNCap 细胞总 RNA,反转录制备 cDNA 模板;Vector NTI 11.0 软件设计引物,上游引物为:5'-

CCGAATTCATGACCATGGAATCTGGAGC -3'(含 *EcoR*I 酶切位点), 下游引物为 5'-GGTCTAGATTAATCTGATTTGTGGCAGT-3'(含 *Xba*I 酶切位点); 进行 PCR 扩增, 扩增产物经核酸电泳初步鉴定, 胶回收, DNA 纯化; pcDNA3.1 载体质粒进行 *EcoR*I 和 *Xba*I 双酶切, 与纯化 DNA 连接后转化感受态 *E. coli* JM 109, 送菌液测序鉴定, 并将其命名为 pcDNA3.1-CREB。

1.6 载体质粒与重组质粒转染 PC3 及 LNCap 细胞

以 Lipofectamine 3000 试剂转染载体质粒 pcDNA3.1 与重组质粒 pcDNA3.1-CREB 于 PC3 及 LNCap 细胞, 其中 pcDNA3.1 转染的细胞为阴性对照, 转染 48 h 后, 收集细胞, 获得蛋白样品, Western blotting 检测 CREB、p-CREB 及细胞增殖相关分子 PCNA 在细胞中的表达。

1.7 CCK-8 检测细胞增殖

种细胞于 96 孔板中, 每组 8 孔, pcDNA3.1 及 pcDNA3.1-CREB 质粒分别转染 PC3 及 LNCap 细胞后 48 h, 加入 CCK-8 检测试剂反应 4 h, 并设置空白对照孔, 于酶标仪上测定 450 nm 处光密度值, 制作标准曲线, 并统计光密度值以分析细胞增殖水平。

1.8 统计学处理

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 Prism 5.0 统计软件进行统计分析, 多组间比较采用 One-Way ANOVA 方差分析。采用 Pearson 相关系数分析两组变量间的相关性。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CREB 及 p-CREB 在前列腺癌组织中高表达

免疫组化染色结果发现 CREB 及 p-CREB 在前列腺癌细胞中的表达高于正常及增生前列腺增生组织。CREB 及 p-CREB 阳性表达多定位于肿瘤细胞胞核, 少数位于胞质, 多为粗大颗粒形, 少部分为网状。两者的阳性表达主要分布在前列腺癌腺管样结构细胞中, 且呈异质性, 不同区域分布特点不同, 但在肿瘤中两者阳性表达的定位趋向一致(图 1)。CREB 及 p-CREB 蛋白水平在前列腺癌组织中表达明显高于正常前列腺、前列腺增生组织, 且随前列腺癌分级越高, 阳性率越高(表 1)。结果提示, 随前列腺组织增殖能力增强, CREB 及 p-CREB 的表达也升高。

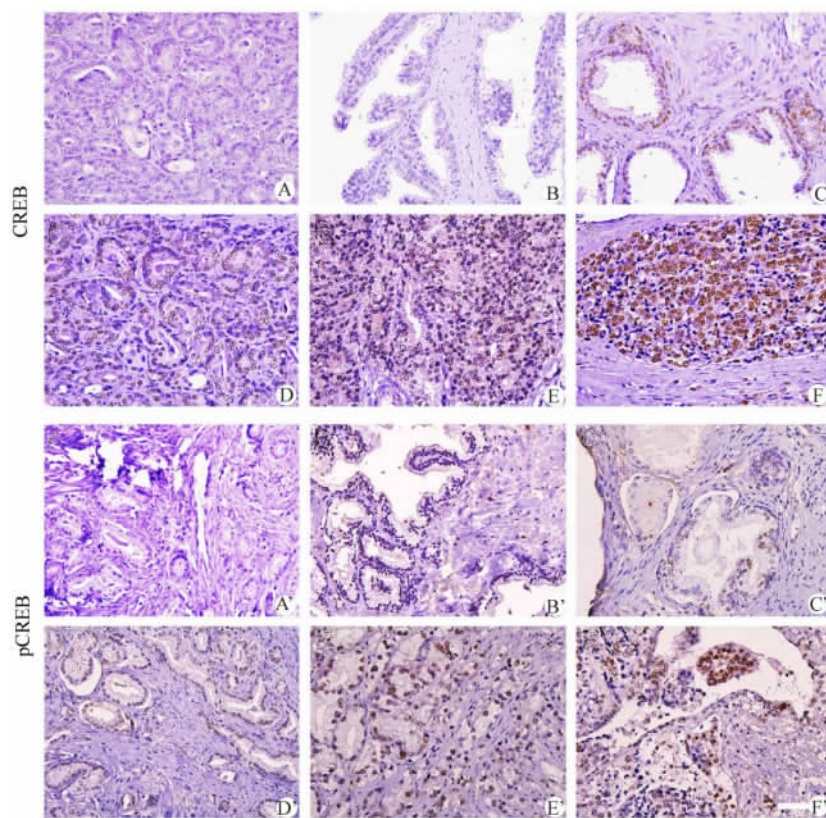


图 1 不同前列腺组织 CREB 及 p-CREB 免疫组化染色(×200)

Fig. 1 Immunohistochemistry of CREB and p-CREB in different prostate tissues (×200)

A, A': Negative control; B, B': Normal prostate tissue; C, C': Hyperplasia of prostate tissue;

D, D': Prostate cancer tissue Grade I; E, E': Prostate cancer tissue Grade II; F, F': Prostate cancer tissue Grade III

表 1 CREB、p-CREB 在三种组织中的表达
Tab. 1 Expressions of CREB and p-CREB in three different tissues

Clinical pathological features	n (N = 80)	CREB		Positive rate(%)	p-CREB		Positive rate(%)
		-	+ ~+++		-	+ ~+++	
Normal prostate	10	5	5	50.00	6	4	40.00
Prostatic hyperplasia	20	4	16	80.00	8	12	60.00
Prostate cancer grade I	10	1	9	90.00	3	7	70.00
Prostate cancer grade II	22	1	21	95.45	2	20	90.91
Prostate cancer grade III	18	0	18	100.00	1	17	94.44

2.2 CREB 及 p-CREB 在前列腺癌 PC3 及 LNCap 细胞中高表达

免疫细胞化学染色结果发现 CREB 及 p-CREB 的表达模式在不同种类细胞中不同,在人正常前列腺基质永生化细胞 WPMY-1 中主要表达在胞质中,极少数表达在胞核上,且表达强度较弱;在前列腺癌 PC3 细胞中主要表达在胞核上,且表达强度较高;而在前列腺癌 LNCap 细胞中 CREB 表达在胞核及核

周,p-CREB 表达在核上,且表达强度高。统计结果显示,前列腺癌 PC3 及 LNCap 细胞中 CREB 及 p-CREB 的表达量明显高于其在人正常前列腺基质永生化细胞 WPMY-1 中的表达水平,且差异有统计学意义[PC3 细胞:(5.10 ± 0.62) vs (2.31 ± 0.40)、(4.31 ± 0.54) vs (2.02 ± 0.38); LNCap 细胞(7.5 ± 0.83) vs (2.31 ± 0.40)、(6.15 ± 0.69) vs (2.02 ± 0.38);均 P < 0.05](图 2)。

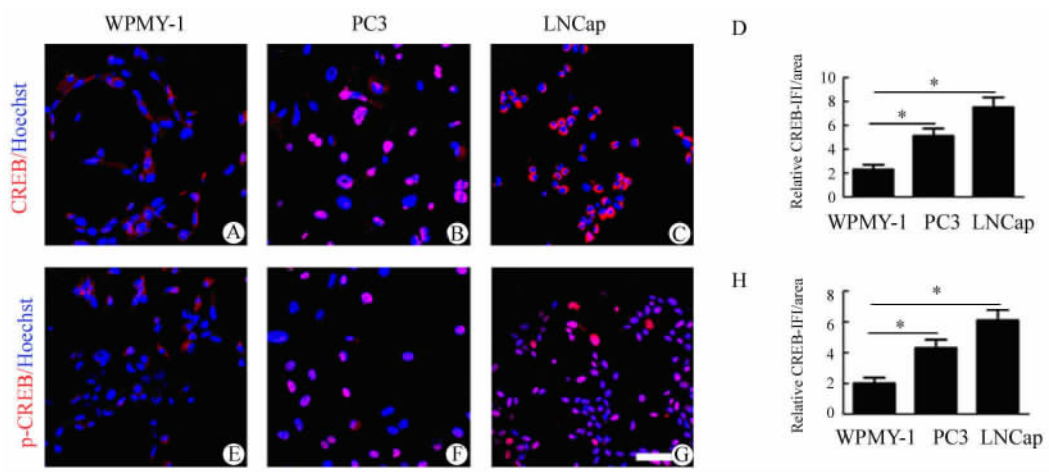


图 2 免疫组化检测 CREB 及 p-CREB 在不同前列腺细胞中的表达(× 400)

Fig. 2 Expressions of CREB and p-CREB in different prostate tissues by Immunocytochemistry (× 400)

A-C: Expressions of CREB in WPMY-1, PC3 and LNCap cells; E-G: Expressions of p-CREB in WPMY-1, PC3 and LNCap cells; D, H: Statistical analysis;

* P < 0.05 vs WPMY-1 cell

2.3 CREB 及 p-CREB 在 WPMY-1、PC3 及 LNCap 细胞中的表达

Western blotting 结果(图 3)显示,与人正常前列腺基质永生化细胞 WPMY-1 中 CREB 及 p-CREB 的表达水平相比,PC3 及 LNCap 中的表达明显升高,且其差别有统计学意义[PC3 细胞:(3.02 ± 0.32) vs (1.54 ± 0.16)、(2.82 ± 0.30) vs (0.82 ± 0.21); LNCap 细胞:(5.01 ± 0.54) vs (1.54 ±

0.16)、(5.91 ± 0.62) vs (0.82 ± 0.21);均 P < 0.05]。结果进一步支持 CREB 及 p-CREB 表达水平高低与前列腺细胞的增殖水平呈正相关关系(r = 0.23, P < 0.05)。

2.4 成功构建重组质粒 pcDNA3.1-CREB

构建好的重组质粒酶切后经 EcoR I 和 Xba I 双酶切后,于 1.0% 琼脂糖电泳后,凝胶成像系统下可在约 985 bp 处见特异条带,与预期片段大小一致

(图4)。于 TaKaRa 公司测序重组质粒,将测序结果于 Bio Edit 软件中读取,并在 NCBI blast 比对,证实与 Genebank 中的基因序列完全一致,表明重组质粒 pcDNA3.1-CREB 构建成功。

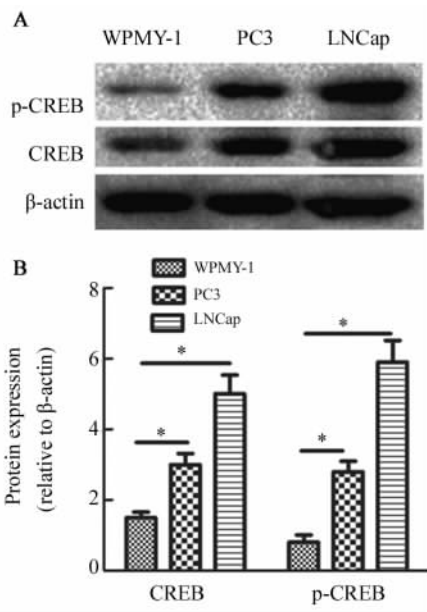


图3 Western blotting 检测 CREB 及 p-CREB 在不同前列腺细胞中的表达

Fig. 3 Expressions of CREB and p-CREB in different prostate tissues by Western blotting

A: Protein levels of CREB and p-CREB in WPMY-1, PC3 and LNCap cells; B: Statistical analysis; * $P < 0.05$ vs WPMY-1 cell

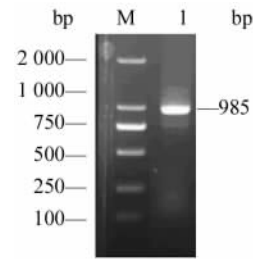


图4 重组质粒的鉴定

Fig. 4 Identification of CREB-recombinant plasmid

M: DNA marker(DL2000); 1: PCR product of CREB

2.5 转染 pcDNA3.1-CREB 可上调 PC3 及 LNCap 细胞内 PCNA 的表达

Western blotting 结果(图5)显示,与空白对照及阴性对照质粒组相比,转染重组质粒 pcDNA3.1-CREB 后,PC3 及 LNCap 细胞中的 CREB 含量上升,进一步验证了重组质粒的成功构建,并说明转染效率较高;p-CREB 表达也上调,说明转染进入细胞的外源性 CREB 与细胞内本身具有的内源性 CREB 一样可以被部分磷酸化。同时,增殖相关分子 PCNA 的表达显示出相似的表达模式,即转染 pcDNA3.1-CREB 质粒可上调其表达量,说明 CREB 及 p-CREB 含量水平与细胞增殖水平呈正相关($r = 0.22, P < 0.05$)。

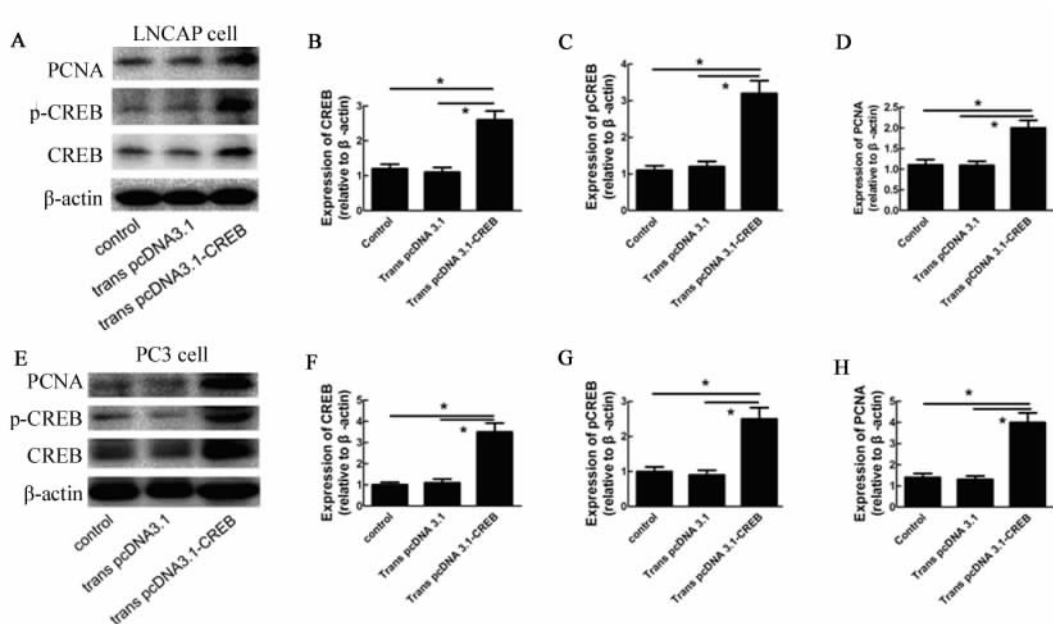


图5 转染 pcDNA3.1-CREB 对 PC3 及 LNCap 细胞增殖相关基因 PCNA 的影响

Fig. 5 Effects of transfection with pcDNA3.1-CREB on expressions of PCNA in PC3 and LNCap cells

A, E: Expression of CREB, pCREB and PCNA after transfection with pcDNA3.1-CREB

in PC3 and LNCap cells; B-D, F-H: Statistical analysis;

* $P < 0.05$ vs Control group and Trans pcDNA3.1 group

2.6 转染 pcDNA3.1-CREB 可提高 PC3 及 LNCap 细胞的增殖水平

以 CCK-8 法检测空白对照、阴性对照质粒组及转染 pcDNA3.1-CREB 后, PC3 及 LNCap 细胞的增殖水平。结果(图 6)显示, 与空白及阴性对照质粒组相比, 转染 pcDNA3.1-CREB 可提高 PC3 及 LNCap 细胞的增殖水平(1.90 ± 0.25 vs 1.21 ± 0.20 , 1.7 ± 0.25 vs 1.13 ± 0.20 ; $P < 0.05$)。

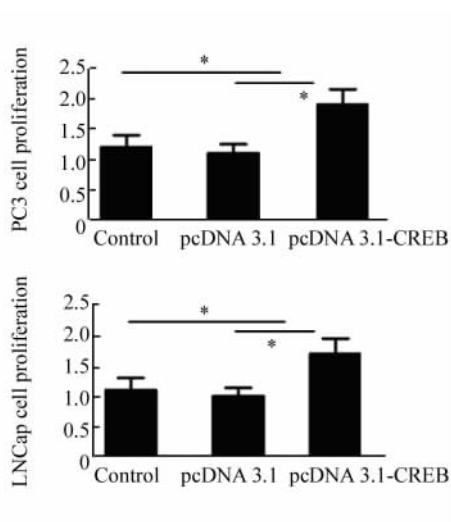


图 6 转染 pcDNA3.1-CREB 对 PC3 及 LNCap 细胞的增殖水平的影响

Fig. 6 Effects of transfection with pcDNA3.1-CREB on proliferations of PC3 and LNCap cells

* $P < 0.05$ vs Control group and pcDNA3.1 group

3 讨论

CREB 是一种刺激诱导的转录因子, 可被迅速磷酸化成 p-CREB 并与其他转录因子形成共刺激分子促进基因的转录^[9]。CREB 的激活可促进 5 000 多种靶基因的转录, 包括促癌基因, 如 *c-fos*^[10]、细胞周期蛋白 A1 及 D2^[11-12], 以及其他一些与生长、存活有关的基因^[13]。许多不同组织的肿瘤病灶与周围的非癌性组织相比, 显示出 CREB 的高表达, 提示 CREB 在肿瘤的发生、维持及进展中有一定作用^[14-16]。

增殖特性是肿瘤细胞具备的三大特性之一^[17], 而 CREB 在肿瘤原位的高表达提示其可能在肿瘤增殖中起重要作用。本文采用组织芯片法检测了人正常前列腺组织、前列腺增生组织、不同分级前列腺癌组织中 CREB 及 p-CREB 表达, 结果提示 CREB 及 p-CREB 在前列腺癌组织中高表达; 前列腺癌细胞系也观察到相同现象; 基于本研究的观察对象本身

具有不同的细胞增殖水平, 推测 CREB 及 p-CREB 在前列腺癌细胞的增殖中起重要作用, 于是构建了 CREB 重组质粒, 以研究其在体外培养的前列腺癌细胞中的增殖作用, 结果证实了 CREB 及 p-CREB 可促进前列腺癌细胞增殖的假设。

CREB 及 p-CREB 能否通过直接调节增殖相关基因 *PCNA* 的表达来影响细胞增殖活性尚不清楚, 本文发现 *PCNA* 的启动子区并无 CREB 的识别位点, 所以笔者推测 CREB 对前列腺癌细胞增殖作用的影响可能是通过另一个中间分子来发挥作用, 而此有待进一步研究。同时, 在肿瘤生长过程中, 激活 CREB 高表达的始发信号尚不清楚, 而近期的研究显示免疫微环境始终伴随肿瘤的发生发展^[18], 推测在前列腺癌发生发展过程中 CREB 的高表达及活化与其所在的免疫微环境可能也有一定关系。

许多研究^[19]都已证实 CREB 及 p-CREB 在肿瘤的发生进展起重要作用, 这也为以 CREB 及 p-CREB 作为靶点来诊断和治疗肿瘤提供了理论依据。但对于未来应用于前列腺癌的临床治疗, 还需解决的问题是哪些患者可以采用抑制 CREB 及 p-CREB 的治疗策略, 因为本研究的免疫组化染色检测发现, 还有少部分的前列腺癌组织并不表达 CREB 或 p-CREB, 对于 CREB 或 p-CREB 阴性的前列腺癌患者能否采用抑制 CREB 及 p-CREB 的方法治疗以及疗效如何仍需深入研究。

[参考文献]

- [1] STACHOWIAK M K, BIRKAYA B, ALETTA J M, et al. Nuclear FGF receptor-1 and CREB binding protein: an integrative signaling module [J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(5): 989-1002. DOI: 10.1002/jcp.24879.
- [2] OH K J, HAN H S, KIM M J, et al. CREB and FoxO1: two transcription factors for the regulation of hepatic gluconeogenesis [J]. *BMB Rep*, 2013, 46(12): 567-574. DOI: 10.5483/bmbrep.2013.46.12.2483.
- [3] PHUONG N T, LIM S C, KIM Y M, et al. Aromatase induction in tamoxifen-resistant breast cancer: role of phosphoinositide 3-kinase-dependent CREB activation [J]. *Cancer Lett*, 2014, 351(1): 91-99. DOI: 10.1016/j.canlet.2014.05.003.
- [4] PENG B, LEI N, CHAI Y, et al. CIP2A regulates cancer metabolism and CREB phosphorylation in non-small cell lung cancer [J]. *Mol Biosyst*, 2015, 11(1): 105-114. DOI: 10.1039/c4mb00513a.
- [5] VANDER SLIGTE N E, KAMPEN K R, TER ELSTIST A, et al. Essential role for cyclic-AMP responsive element binding protein 1 (CREB) in the survival of acute lymphoblastic leukemia [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(17): 14970-14981. DOI:10.18632/oncotarget.3911.

- [6] RYU B J, LEE H, KIM S H, et al. PF-3758309, p21-activated kinase 4 inhibitor, suppresses migration and invasion of A549 human lung cancer cells via regulation of CREB, NF-kappaB, and beta-catenin signalings [J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 389(1/2):69-77. DOI: 10.1007/s11010-013-1928-8.
- [7] STEVEN A, LEISZ S, MASSA C, et al. HER-2/neu mediates oncogenic transformation via altered CREB expression and function [J]. *Mol Cancer Res*, 2013, 11(11): 1462-1477. DOI: 10.1158/1541-7786.
- [8] WANG P, HUANG S, WANG F, et al. Cyclic AMP-response element regulated cell cycle arrests in cancer cells [J/OL]. *PLoS ONE*, 2013, 8(6): e65661 [2015-08-02]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0065661>. DOI: 10.1371/journal.pone.0065661.
- [9] MUSCHAMP J W, CARLEZON W J. Roles of nucleus accumbens CREB and dynorphin in dysregulation of motivation [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2013, 3(2): a12005. DOI: 10.1101/cshperspect.a012005.
- [10] AHN S, OLIVE M, AGGARWAL S, et al. A dominant-negative inhibitor of CREB reveals that it is a general mediator of stimulus-dependent transcription of c-fos [J]. *Mol Cell Biol*, 1998, 18(2): 967-977. DOI:10.1128/mcb.18.2.967.
- [11] DESDOUETS C, MATESIC G, MOLINA C A, et al. Cell cycle regulation of cyclin A gene expression by the cyclic AMP-responsive transcription factors CREB and CREM [J]. *Mol Cell Biol*, 1995, 15(6): 3301-3309. DOI: 10.1128/mcb.15.6.3301.
- [12] WHITE P C, SHORE A M, CLEMENT M, et al. Regulation of cyclin D2 and the cyclin D2 promoter by protein kinase A and CREB in lymphocytes [J]. *Oncogene*, 2005, 25(15): 2170-2180. DOI: 10.1038/sj.onc.1209255.
- [13] ZHANG X, ODOM D T, KOO S H, et al. Genome-wide analysis of cAMP-response element binding protein occupancy, phosphorylation, and target gene activation in human tissues [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005, 102(12): 4459-4464. DOI: 10.1073/pnas.0501076102.
- [14] STEVEN A, HEIDUK M, RECKTENWALD C V, et al. Colorectal carcinogenesis: connecting K-RAS-induced transformation and CREB activity in vitro and in vivo [J]. *Mol Cancer Res*, 2015, 13(8): 1248-1262. DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-14-0590.
- [15] SIU Y T, JIN D Y. CREB-a real culprit in oncogenesis [J]. *FEBS J*, 2007, 274(13): 3224-3232. DOI: 10.1111/j.1742-4658.2007.05884.x.
- [16] 孟祥余, 庄海慧, 王雪, 等. 转录因子 CREB 及其相关 miRNAs 的独立和联合效应在肿瘤发生发展中的作用 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2015, 37(3): 416-421. DOI: 10.11844/cjcb.2015.03.0307.
- [17] FEITELSON M A, ARZUMANYAN A, KULATHINAL R J, et al. Sustained proliferation in cancer: mechanisms and novel therapeutic targets [J]. *Semin Cancer Biol*, 2015, 35(Suppl): S25-S54. DOI: 10.1016/j.semcancer.2015.02.006.
- [18] WANG H, CHEN L. Tumor microenvironment and hepatocellular carcinoma metastasis [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(Suppl 1): 43-48. DOI: 10.1111/jgh.12091.
- [19] XIAO X, LI B X, MITTON B, et al. Targeting CREB for cancer therapy: friend or foe [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2010, 10(4): 384-391. DOI: 10.2174/156800910791208535.
- [收稿日期] 2015 - 10 - 05 [修回日期] 2016 - 02 - 16
[本文编辑] 党瑞山

· 读者 · 作者 · 编者 ·

热烈庆贺本刊连续三次被评为“中文核心期刊”

提高期刊的综合质量和学术影响力,建设一流水平的名牌期刊是期刊建设永恒的主题,也是所有办刊人孜孜以求的奋斗目标。目前,期待已久的我国第七版“中文核心期刊”名单正式揭晓。据 2014 年版《中文核心期刊要目总览》公布的评价结果显示,我国正式出版中文期刊为 9 878 种,评出中文核心期刊 1 983 种(占 20.07%)。其中人文社科类核心期刊 740 种(占 37.32%),科学技术类核心期刊 1 243 种(占 62.68%)。在科技类核心期刊中,医药卫生类核心期刊共 250 种,占总数的 20.11%,其中临床医学分类中的肿瘤学核心期刊共 9 种,它们是《中华肿瘤杂志》、《肿瘤》、《中国肿瘤生物治疗杂志》、《中华放射肿瘤学杂志》、《中国肿瘤临床》、《中国癌症杂志》、《肿瘤防治研究》、《中国肺癌杂志》、《中华肿瘤防治杂志》。

《中国肿瘤生物治疗杂志》从 2008 年开始,连续三次被评为中文核心期刊,而且其核心期刊表中的排序名次从 2008 年版和 2011 年版的第六和第五名上升到了 2014 年版的第三名。本刊所以能取得这样的成绩,离不开肿瘤防治领域的广大专家教授、读者、作者的支持和帮助!成绩和荣誉是鞭策本刊编辑人员再接再厉、开拓进取的动力,我们定会发奋努力,不断创造新的业绩,以回报广大肿瘤防治工作者的厚爱和支持!

(本刊编辑部)