

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.06.008

· 基础研究 ·

## 碱性成纤维细胞生长因子单克隆抗体联合洛铂对肺腺癌 A549 细胞增殖和凋亡的影响

赵凤芝<sup>a</sup>, 赵建夫<sup>a</sup>, 孙一帆<sup>b</sup>, 苏嘉敏<sup>a</sup>, 全强<sup>a</sup>, 罗镇明<sup>b</sup>, 向军俭<sup>b</sup>, 王宏<sup>b</sup>, 傅岳武<sup>a</sup>, 谭小玲<sup>a</sup>, 徐萌<sup>a</sup>(暨南大学 a. 附属第一医院; b. 生命科技学院抗体工程中心, 广东 广州 510630)

**[摘要]** **目的:** 研究碱性成纤维细胞生长因子单克隆抗体(monoclonal antibody to basic fibroblast growth factor, bFGF mAb)联合洛铂(lobaplatin, LBP)对肺癌 A549 细胞增殖和凋亡的影响及其可能机制。**方法:** CCK-8 法检测药物对 A549 细胞活性的影响。Annexin V-FITC/PI 检测细胞凋亡率。激光共聚焦显微镜观察细胞核的形态。Western blotting 检测细胞内凋亡相关蛋白表达。**结果:** CCK-8 法检测结果显示, 细胞培养 48 h 后, bFGF mAb 组和 LBP 组的细胞增殖受到抑制, 但两药联用后的增殖抑制作用明显高于单用 LBP 及 bFGF mAb ( $P < 0.05$ )。Annexin V-FITC/PI 结果显示, 联合组早期、晚期凋亡率分别为 ( $27.83 \pm 1.23$ )% 和 ( $39.32 \pm 1.01$ )%, 与 bFGF mAb 的 ( $6.25 \pm 0.19$ )%、( $14.54 \pm 0.25$ )% 和 LBP 的 ( $16.54 \pm 0.39$ )%、( $21.02 \pm 0.98$ )% 相比, 明显高于单药组的抑制率 ( $P < 0.01$ )。激光共聚焦显微镜显示联合用药诱导的细胞核裂解率较单用 bFGF mAb 及 LBP 的细胞核裂解率明显增多。Western blotting 检测结果显示联合组 BAX、Caspase-3、Caspase-9、PARP 表达量较药物单用组明显增加, 而 Bcl-2、cleaved-Caspase-3、cleaved-Caspase-9、cleaved-PARP 表达量明显降低。**结论:** bFGF mAb 联合 LBP 通过抑制 Bcl-2、cleaved-Caspase-3、cleaved-Caspase-9、cleaved-PARP 表达, 上调 BAX、Caspase-3、Caspase-9 和 PARP 蛋白表达, 对肺腺癌 A549 细胞起到抑制增殖和诱导凋亡的作用。

**[关键词]** 碱性成纤维细胞生长因子单克隆抗体; 洛铂; 肺腺癌; 细胞增殖; 凋亡

**[中图分类号]** R734.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2016)06-0783-06

## Effect of monoclonal antibody to basic fibroblast growth factor combined with lobaplatin on proliferation and apoptosis of lung adenocarcinoma A549 cell

ZHAO Fengzhi<sup>a</sup>, ZHAO Jianfu<sup>a</sup>, SUN Yifan<sup>b</sup>, SU Jiamin<sup>a</sup>, QUAN Qiang<sup>a</sup>, LUO Zhenming<sup>b</sup>, XIANG Junjian<sup>b</sup>, WANG Hong<sup>b</sup>, FU Yuewu<sup>a</sup>, TAN Xiaoling<sup>a</sup>, XU Meng<sup>a</sup>( a. The First Affiliated Hospital, b. Center of Antibody Engineering Research, School of Life Science and Technology, Jinan University, Guangzhou 510632, Guangdong, China )

**[Abstract]** **Objective:** To explore effect of monoclonal antibody to basic fibroblast growth factor ( bFGF mAb ) combined with lobaplatin ( LBP ) on proliferation and apoptosis of lung adenocarcinoma A549 cell and their possible mechanisms. **Methods:** Effect of the drugs on viability of the A549 cell was detected by CCK8 assay. Annexin V-FITC/PI assay was used to detect apoptosis rates of the A549 cell. Laser scanning confocal microscope was used to observe nuclear morphology of the cells. Expressions of related-apoptosis proteins in the cells were measured by Western blotting assay. **Results:** Outcomes of CCK8 assay shown that after culturing of the cell for 48 h, proliferations of the cells in bFGF mAb and LBP groups were inhibited, but inhibited proliferation of the cell in combination of both group was obviously higher than those in single LBP and single bFGF mAb groups ( $P < 0.05$ ). Results of Annexin V-FITC/PI assay suggested that early and later apoptosis rate in bFGFmAb combined with LBP group was ( $27.83 \pm 1.23$ )% and ( $39.32 \pm 1.01$ )% respectively, comparing with those in bFGF mAb group ( $6.25 \pm 0.19$ )% and ( $14.54 \pm 0.25$ )% ) and those in LBP group

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目( No. 81273814 ); 广东省新药创制重大科技专项资助( No. 2013A022100031 )。Project supported by the National Natural Science Foundation of China ( No. 81273814 ), and the Specific Project Foundation of Key Science and Technology for Development of New Medicine of Guangdong Province ( No. 2013A022100031 )

**[作者简介]** 赵凤芝 ( 1983 - ), 女, 山东菏泽人, 住院医师, 主要从事肿瘤临床及基础研究, E-mail: 358099920@qq.com

**[通信作者]** 徐萌 ( XU Meng, corresponding author ), E-mail: 646592256@qq.com

**[优先发表]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20161110.1117.004.html>

( $[16.54 \pm 0.39]\%$  and  $[21.01 \pm 0.98]\%$ ), early and later apoptosis rates of the combination group was significantly higher than those of the single drug groups ( $P < 0.01$ ). The result of laser scanning confocal microscope showed that cytonuclear fragmentation rate of the combination drugs group was more significantly increased than those of the single LBP and the single bFGF mAb groups. Western blotting assay displayed that in the combination group, expressions of BAX, Caspase-3, Caspase-9 and PARPs proteins obviously increased and expressions of Bcl-2, cleaved-Caspase-3, cleaved-Caspase-9 and cleaved-PARP proteins obviously decreased as comparing with those in both of the single drug groups. **Conclusion:** bFGF mAb combined with LBP could inhibit proliferation of lung adenocarcinoma A549 cell and induce apoptosis of the A549 cell via inhibiting expressions of Bcl-2, cleaved-Caspase-3, cleaved-Caspase-9 and cleaved-PARP proteins and up-regulating expression of BAX, Caspase-3, Caspase-9 and PAR proteins.

**[ Key words ]** monoclonal antibody of basic fibroblast growth factor ( bFGF mAb ); lobaplatin ( LBP ); lung adenocarcinoma; cell proliferation; apoptosis.

[ Chin J Cancer Biother, 2016, 23(6): 783-788. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.06.008 ]

肺癌是人类最常见的恶性肿瘤之一,是导致癌症死亡的主要原因<sup>[1-2]</sup>。以铂类为基础的两药化疗方案被认为是肺癌的主要治疗方案,洛铂(Lobaplatin LBP)是第三代铂类抗肿瘤药物。近年来以LBP为主的联合化疗方案已广泛应用于肺癌的治疗,并显示了较好的临床疗效。但是剂量依赖的毒性作用及其耐药性产生,限制了其应用。靶向治疗具有靶向性好、副作用小、患者耐受性好等优点,成为目前关注的热点。碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)及其受体(fibroblast growth factor receptors, FGFRs)在肺癌组织中高表达,其表达水平与肺癌预后呈负相关<sup>[3-5]</sup>。本实验室在国内最早成功制备中和bFGF的单克隆抗体(monoclonal antibody against bFGF, bFGF mAb),并已成功制备鼠源性抗bFGF单抗细胞株,通过使用杂交瘤细胞株接种小鼠获得了bFGF的腹水型单抗,经SDS-PAGE电泳鉴定和Protein G柱对腹水型单抗层析纯化,并用间接ELISA法和2H2法进行抗体的灵敏度检测,Protein G柱纯化法检测抗体效价,得到高纯度,高灵敏度和高效价的bFGF mAb,为下一步的实验做基础<sup>[6-7]</sup>。另外本课题组前期研究显示bFGF mAb对肺癌、黑色素瘤、乳腺癌显示较强的抗肿瘤活性,还可逆转乳腺癌细胞耐药<sup>[8-9]</sup>。鉴于LBP治疗肺癌疗效及前期研究显示的bFGF mAb靶向抗肿瘤作用,本文探讨bFGF mAb与LBP联合作用,对肺癌A549株细胞增殖及凋亡的影响,以解决临床肺癌治疗的瓶颈问题。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要材料与试剂

肺癌A549细胞株来源于美国国家癌症研究所(NCI),由本实验室保存;DMEM培养基、胰蛋白

酶和小牛血清购自广州天心药业股份有限公司, bFGF mAb由本实验室建立保存的杂交瘤细胞株MabD9分泌并纯化<sup>[4]</sup>;CCK-8(cell counting kit-8)试剂购自上海化学同仁研究所;鼠IgG(对照抗体)购自南京凯基生物科技发展有限公司;LBP购自海南长安国际制药; $\beta$ -actin兔多克隆抗体、抗Caspase-3、cleaved-Caspase-3、Caspase-9、cleaved-Caspase-9、PARP、cleaved-PARP兔多克隆抗体购自CST公司;抗Bcl-2、BAX兔多克隆抗体购自Signaling Antibody公司。

### 1.2 细胞培养

A549细胞株用含15%小牛血清、青霉素(100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )和链霉素(100  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )的DMEM培养液,置于37  $^{\circ}\text{C}$ 、饱和湿度、5%  $\text{CO}_2$ 培养箱中培养,经3~4次传代后取对数生长期细胞进行实验。

### 1.3 CCK-8法检测bFGF mAb、LBP及两药联合对A549细胞增殖的影响

取对数生长期肺腺癌A549株细胞,调整细胞密度至 $3 \times 10^3$ 个/ml,接种到96孔细胞培养板(100  $\mu\text{l}/\text{孔}$ )培养,共接种3个板,第1个板加药LBP,各孔药物质量浓度:0  $\mu\text{g}/\text{ml}$ (对照组)、0.1562、0.3125、0.625、1.25、2.5、5和10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ;第2个板加药bFGF mAb,各孔药物质量浓度:0.1562、0.3125、0.625、1.25、2.5、5、10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ 和鼠IgG 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ (对照组);第3个板各孔加上述质量浓度的LBP后每孔再加1.25  $\mu\text{g}$  bFGFmAb。每组设3个复孔。培养48 h后,每孔加不完全培养液20  $\mu\text{l}$ ,含CCK-8(10  $\mu\text{l}/\text{孔}$ ),继续培养2 h。酶联免疫检测仪检测450 nm处各孔光密度( $D$ )值,计算细胞增殖抑制率(inhibitory rate, IR)。IR(%) =  $(1 - \text{药物组 } D \text{ 值} / \text{对照组 } D \text{ 值}) \times 100\%$ 。联合治疗效果采用金正均Q值评价:  $Q = EA + B / (EA + EB - EA \times EB)$ 。其

中 EA 代表 A 药单独给药的抑制率,EB 代表 B 药单独给药的抑制率,EA + B 代表 A 和 B 两药联合给药的抑制率。 $0.85 \leq Q \leq 1.15$  为相加作用, $Q > 1.15$  为协同作用, $Q < 0.85$  为拮抗作用。实验重复 3 次。

#### 1.4 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞仪检测肺腺癌 A549 株细胞凋亡

取对数生长期肺腺癌 A549 株细胞制备成单细胞悬液,调整细胞密度至  $3 \times 10^4$  个/ml,接种到 6 孔细胞培养板(2 ml/孔)培养。分为实验组(1.25  $\mu\text{g}$  bFGF mAb 组、0.625  $\mu\text{g}$  LBP 组、1.25  $\mu\text{g}$  bFGFmAb + 0.625  $\mu\text{g}$  LBP 组)和阴性对照组(不含任何化疗药物)。各组加药后,继续培养 48 h。收集孔内细胞,按照 Annexin V-FITC/PI 试剂盒说明书操作。Annexin V-FITC 染色后流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

#### 1.5 激光共聚焦 DAPI 染色观察肺腺癌 A549 株细胞的细胞核形态

取对数生长期肺腺癌 A549 细胞株,制备成细胞悬液,调整细胞浓度至  $1 \times 10^4$  个/ml,接种于 WHB 激光共聚焦培养皿(4 ml/皿)培养。皿内的培养基按上述 1.4 节中的药物分组加入配制好的药物,持续作用 48 h。DAPI(4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )染色后置于激光共聚焦显微镜(激发波长 350 nm,发射波长 460 nm)下观察并拍照。实验重复 3 次。

#### 1.6 Western blotting 检测细胞凋亡相关蛋白的表达

常规提取细胞总蛋白,BCA 法检测蛋白含量,行 12% SDS-PAGE 电泳,蛋白转印至 PVDF 膜,加一抗(抗 Caspase-3、抗 cleaved-Caspase-3、抗 Caspase-9、抗 cleaved-Caspase-9、抗 PARP、抗 cleaved-PARP、抗 Bcl-2 和 BAX 兔多克隆抗体)和二抗(羊抗兔多克隆抗体)反应后 X 线压片曝光显影。实验重复 3 次。

#### 1.7 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计学软件,多组间两两比较和多个处理组与一个对照组比较采用方差分析法(one-Way ANOVA)、方差齐性检验和多重比较, $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

#### 2.1 bFGF mAb、LBP 及两药联合抑制肺腺癌 A549 株细胞增殖

CCK-8 法检测结果(图 1)显示,bFGF mAb、LBP 及两药联合作用对肺腺癌 A549 细胞株的增殖均具有抑制作用。随着 bFGF mAb 及 LBP 的浓度增高对肺腺癌 A549 细胞株的增殖抑制作用增强,在不同

的药物分组作用下,1.25  $\mu\text{g}$  bFGF mAb + 10  $\mu\text{g}$  LBP 的联合抑制作用最强,可以达到  $(78.68 \pm 2.35)\%$ 。1.25  $\mu\text{g}$  bFGF mAb 联合不同浓度的 LBP 与 LBP 及 bFGF mAb 单药组相比增殖抑制作用明显增强( $P < 0.05$ )。观察 LBP 与 bFGFmAb 的协同性,可以看出不同浓度的 LBP(0.15、0.31、0.63、1.25、2.5、5 和 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )与 1.25  $\mu\text{g}$  bFGF mAb 联合使用,Q 值分别为 1.16、1.31、1.20、1.15、1.16、1.15 和 1.16,表现为相加和协同作用。

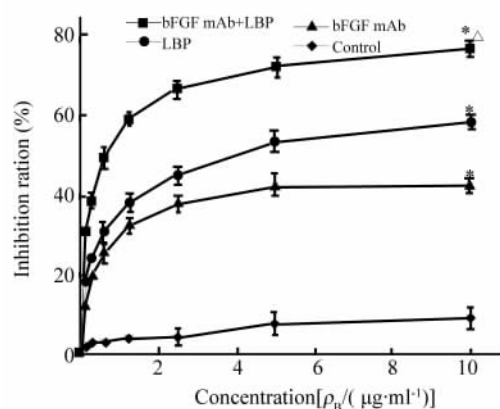


图 1 CCK-8 检测 bFGFmAb 联合 LBP 对 A549 株细胞的抑制率

Fig. 1 Inhibition rates of bFGFmAb combined with LBP on the A549 line cells detected by CCK-8 assay

\*  $P < 0.05$  vs control group;

Δ  $P < 0.05$  vs bFGF mAb or LBP group

#### 2.2 bFGF mAb 联合 LBP 促进肺腺癌 A549 株细胞的凋亡

Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术检测结果(图 2)显示,bFGFmAb + LBP 组肺腺癌 A549 细胞株早期凋亡率和晚期凋亡率分别为  $(27.83 \pm 1.23)\%$  和  $(39.32 \pm 1.01)\%$ ;bFGF mAb 组早期凋亡率为  $(6.25 \pm 0.19)\%$ ,晚期凋亡率为  $(14.54 \pm 0.98)\%$ ;LBP 组的早期凋亡率为  $(21.02 \pm 0.98)\%$ ,晚期凋亡率为  $(16.54 \pm 0.39)\%$ 。联合用药组肺腺癌 A549 细胞株凋亡率显著的高于两单药组( $P < 0.01$ ),两单药组凋亡率与对照组相比也有统计学意义( $P < 0.01$ )。

#### 2.3 bFGF mAb 联合 LBP 作用增加 A549 细胞核裂解

DAPI 染色激光共聚焦显微镜观察各实验组肺腺癌 A549 株细胞核变化的统计数据结果显示,当 bFGFmAb 组、LBP 组及 bFGFmAb + LBP 组作用 A549 细胞 48 h,细胞核呈现裂解,联合用药组与单

药组相比细胞核裂解率增多, 且差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。两单药组与对照组相比, 细胞核裂解

率差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ) (图 3)。

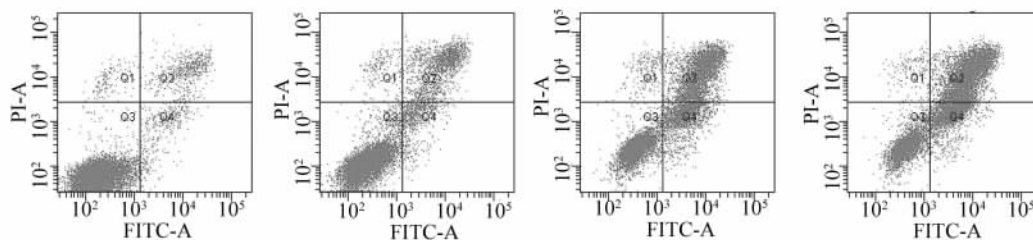


图 2 Annexin V-FITC/PIs 双染流式细胞术检测 bFGF mAb 联合 LBP 对 A549 株细胞凋亡的影响  
Fig. 2 Effect of bFGF mAb combined with LBP on apoptosis of the A549 line cells detected by flow cytometry assay with Annexin V-FITC/PI double staining

### 2.4 bFGF mAb 联合 LBP 对 A549 细胞内凋亡相关蛋白表达的影响

对照组、bFGF mAb 组、LBP 组、bFGF mAb + LBP 组肺腺癌 A549 细胞株的 bcl-2 蛋白表达量呈下降趋势, 而 BAX 蛋白的表达量呈上升趋势。为进一步研究 bFGF mAb 联合 LBP 诱导 A549 细胞凋亡的分子机制, 检测了 Caspase 家族蛋白表达情况。实验结果显示, 对照组、bFGF mAb 组、LBP 组和 bFGF mAb + LBP 组 A549 细胞株培养 48 h 后 Caspase-9 蛋白表达量呈上升趋势, 而 cleaved-Caspase-9 的表达量呈下降趋势。Caspase-9 下游 Caspase-3 蛋白在上述各组的表达量呈上升趋势, cleaved-Caspase-3 的表达量呈下降趋势。另外 Caspase-3 蛋白的底物 PARP 蛋白在同样条件下的表达量也呈上升趋势, cleaved-PARP 表达量呈下降趋势(图 4)。

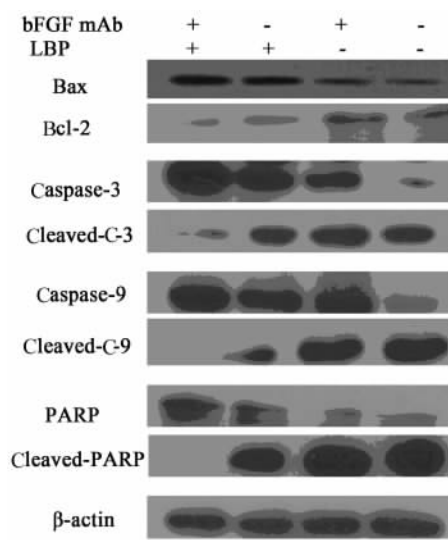


图 4 bFGF mAb 联合 LBP 对肺腺癌 A549 株细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Fig. 4 Effect of bFGF mAb combined with LBP on expressions of related-apoptosis proteins in the lung adenocarcinoma A549 line cell

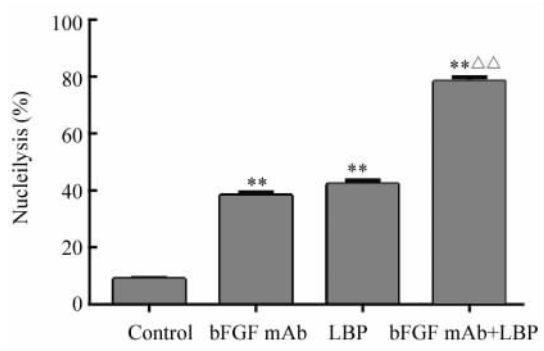


图 3 不同实验组肺腺癌 A549 细胞核裂解率  
Fig. 3 Nuclear fragmentation rates of the A549 line cell in various treatment groups

\*\*  $P < 0.01$  vs control group;  
△△  $P < 0.01$  vs bFGF mAb and LBP groups

### 3 讨论

bFGF 是一种具有肝素结合特性的多肽生长因子<sup>[10]</sup>, 可通过自分泌或旁分泌等途径促进细胞增殖、迁移和血管新生。本课题组前期研究发现 bFGF 及其受体 FGFR 在肺癌组织中高表达, 而且表达水平与肺癌预后呈负相关<sup>[5]</sup>, bFGF mAb 的小鼠药代动力学符合三室模型, 静脉注射后能迅速到达富含 bFGF 的肺组织。

本实验中 CCK-8 法检测结果显示 LBP 和 bFGF mAb 可抑制肺腺癌 A549 细胞的生长增殖, 并呈浓

度依赖性。1.25  $\mu\text{g}$  bFGFmAb 与不同浓度的 LBP 联用对 A549 细胞的作用比单用 LBP 显示更明显的增殖抑制作用,因此, bFGF mAb 不仅自身可抑制 A549 细胞的增殖,还可增强 LBP 抑制 A549 细胞增殖的作用,呈现相加和协同作用。

细胞凋亡在维持机体内环境稳定中扮演重要角色,是重要的生理调控机制<sup>[11]</sup>,因此诱导细胞凋亡是抗肿瘤治疗的有效途径之一。本实验 Annexin V-FITC/PI 检测结果显示, A549 细胞凋亡率在 bFGFmAb 组、LBP 组及两者联合用药组明显较对照组增加,两者联合用药组的细胞凋亡率也较单独用药能明显升高。说明 bFGFmAb 和 LBP 联合用药明显地引起 A549 细胞凋亡。凋亡过程可伴随一系列细胞形态和生化学的改变,具体表现为:胞膜突起、体积缩小变圆并与相邻细胞分离、胞质及胞浆浓缩、染色质固缩并边集。本实验通过 DAPI 染色共聚焦显微镜下观察不同分组细胞核形态的变化,可以看出两药联合组与单药组相比,细胞核发生变化的比例明显增多。细胞凋亡受一系列凋亡信号通路的严格调控, Bad 是第一个被直接证实的调节细胞凋亡及存活的靶基因, Bad 属于 Bcl-2 蛋白家族的一员,是 Bcl-2 同源结构域 3 相关蛋白,能够直接与抗凋亡因子 Bcl-2 形成促凋亡复合体,激活促凋亡成员,如 Bax,共同促进细胞凋亡<sup>[12]</sup>。Bcl-2 和 Bax 作为两类典型的调控细胞凋亡蛋白,通过调节其表达水平来诱导细胞凋亡<sup>[13-14]</sup>。本研究结果发现, bFGF mAb 与 LBP 联合用药组与两者单独用药组相比, Bcl-2 的表达水平明显降低,而 Bax 蛋白表达水平明显升高。因此可以说明 bFGF mAb 联合 LBP 可促进 A549 细胞的凋亡。另外, Caspase 家族作为半胱氨酸蛋白酶类,其相关蛋白在细胞凋亡中起着非常重要的角色<sup>[15]</sup>。其中最重要的是 Caspase-9<sup>[16]</sup>。Caspase-9 作为凋亡启动因子诱导线粒体细胞色素 C ( Cytochrome C, Cyt c ) 的释放, Cyt c 进一步与凋亡激活因子-1 ( apoptosis proteaseactivating factor-1 , Apaf-1 ) 结合,引起 Apaf-1 的构象发生寡聚化,当 Cyt c、Apaf-1 和 Caspase-9 三者形成复合物后启动细胞凋亡。本实验发现 bFGF mAb 与 LBP 联合作用组 A549 细胞 Caspase-9 活性显著增高,而 cleaved-Caspase-9 活性显著降低。Caspase-3 是效应凋亡蛋白酶,其被切割活化后,细胞凋亡则进入不可逆转阶段<sup>[17-19]</sup>。本实验发现当 bFGF mAb 和 LBP 作用于 A549 细胞后,与 bFGFmAb、LBP 组相比 A549 细胞 Caspase-3 蛋白表达逐渐升高且 cleaved-Caspase-3 降低。PARP 作为 Caspase-3 的底物参与 DNA 修复,当

Caspase-3 激活后可识别 PARP 中的 AspGlu ValAsp ( DVCD ) 的 DNA 序列,进一步对 PARP 进行剪切,形成 cleaved-PARP 失去正常功能,最终降解核小体间的 DNA 促使细胞发生凋亡<sup>[20]</sup>。激活的 Caspase-3 可裂解相应的胞核内底物 PARP,是 PARP 失去对损伤 DNA 修复功能,导致细胞转向凋亡<sup>[21]</sup>。本实验显示 bFGF mAb 联合 LBP 作用于 A549 细胞后,与对照组及两药单独作用组相比 A549 细胞内 PARP 表达水平逐渐升高,cleaved-PARP 表达水平渐渐降低。

本实验证实了 bFGFmAb 对 A549 细胞株有增殖抑制效应,且具有一定的剂量相关性;LBP 本身也有一定的凋亡诱导作用。bFGFmAb 和 LBP 对肺腺癌 A549 细胞的增殖抑制存在协同相加效应。bFGFmAb 增强 LBP 的抗肿瘤作用,为临床上肺腺癌的治疗提供了一定的理论基础,为进一步阐明 bFGFmAb 联合 LBP 高效低毒抗肺癌思路提供科学依据。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2013 [ J ]. CA Cancer J Clin, 2013, 63( 1 ):11-30. DOI: 10.3322/caac.21166.
- [ 2 ] JUNG K W, WON Y J, OH C M, et al. Prediction of cancer incidence and mortality in Korea, 2016 [ J ]. Cancer Res Treat, 2016, 48( 2 ):451-457. DOI: 10.4143/crt.2016.092.
- [ 3 ] JOENSUU H, ANTTONEN A, HERIKSSON M, et al. Soluble syndecan I and serum basic fibroblast growth factor are new prognostic factors in lung cancer [ J ]. Cancer Res, 2002, 62( 18 ): 5210-5217.
- [ 4 ] RUOTSALAINEN T, JOENSUU H, MATTSON K, et al. High pretreatment serum concentration of basic fibroblast growth factor is a predictor of poor prognosis in small cell lung cancer [ J ]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2002, 11( 11 ): 1492-1495.
- [ 5 ] ZHAO J F, XU M, ZHAO F Z, et al. Expression of bFGF in malignant tumor and its clinical pathological significance [ J ]. Chin J Pathophysiol, 2015, 31( 4 ):590-596. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.04.003.
- [ 6 ] Hu P H, Pan L H, Wong P T, et al. 125I-labeled anti-bFGF monoclonal antibody inhibits growth of hepatocellular carcinoma [ J ]. World J Gastroenterol, 2016, 22( 21 ):5033-5041. DOI: 10.3748/wjg.v22.i21.5033.
- [ 7 ] LI D, WANG H, XIANG J J, et al. Monoclonal antibodies targeting basic fibroblast growth factor inhibit the growth of B16 melanoma in vivo and in vitro [ J ]. Oncol Rep, 2010, 24( 2 ): 457-463. DOI:10.3892/or.00000879.
- [ 8 ] PAN L H, XU M, ZENG S B, et al. Pharmacokinetics of basic fibroblast growth factor monoclonal antibody in mice [ J ]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2011, 27( 11 ):1582-1585. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1978.2011.11.025.

- [ 9 ] CHEN W H, XU M, DU C C, et al. Molecular mechanism of reversal effect of monoclonal antibody to basic fibroblast growth factor-mediated expression of P-glycoprotein on multiple drug resistance in adriamycin-resistant human breast cancer cell line MCF-7/ADM [ J ]. *Tumor*, 2013, 33( 1 ):8-14. DOI:10.3781/j.issn.1000-7431.2013.01.002.
- [ 10 ] PRESTA M, DELLERA P, MITOLA S, et al. Fibroblast growth factor/fibroblast growth factor receptor system in angiogenesis [ J ]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2005, 16( 2 ):159-178. DOI:10.1016/j.cytogfr.2005.01.004.
- [ 11 ] HUANG W S, WANG J P, WANG T, et al. ShRNA-mediated gene silencing of betacatenin inhibits growth of human colon cancer cells [ J ]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13( 48 ):6581-6587.
- [ 12 ] WANG J, LI W. Discovery of novel second mitochondria-derived activator of caspase mimetics as selective inhibitor of apoptosis protein inhibitors [ J ]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2014, 349( 2 ):319-329. DOI: 10.1124/jpet.113.212019. DOI:10.1124/jpet.113.212019.
- [ 13 ] LALIER L, CARTRON P F, JUIN P, et al. Bax activation and mitochondrial insertion during apoptosis [ J ]. *Apoptosis*, 2007, 12( 5 ): 887-896. DOI:10.1007/s10495-007-0749-1.
- [ 14 ] JIN C L, ZHAO S P, ZHANG Q Q, et al. The apoptosis of non-small cell lung cancer cells induced by artemisinin and its possible mechanism [ J ]. *Chin J cancer Biother*, 2015, 22( 6 ):729-733. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2015.06.009.
- [ 15 ] LE W S, LI H H, SHENG Y, et al. Cordycepin induces apoptosis in human liver cancer HepG2 cells through extrinsic and intrinsic signaling pathways [ J ]. *Oncol Lett*, 2016, 12( 2 ):995-1000. DOI: 10.3892/ol.2016.4706.
- [ 16 ] NAGAPPAN A, LEE H J, SARALAMMA V V, et al. Flavonoids isolated from citrus platymamma induced G2/M cell cycle arrest and apoptosis in A549 human lung cancer cells [ J ]. *Oncol Lett*, 2016, 12( 2 ):1494-1402. DOI:10.3892/ol.2016.4793.
- [ 17 ] JOHANSSON N, AHONEN M, KAHARI V M. Matrix metalloproteinases in tumor invasion [ J ]. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57( 1 ): 5-15. DOI:10.1007/s000180050495.
- [ 18 ] ZHAO Y, TAN Y, DAI J, et al. Exacerbation of diabetes-induced testicular apoptosis by zinc deficiency is most likely associated with oxidative stress, p38 MAPK activation, and p53 activation in mice [ J ]. *Toxicol Lett*, 2011, 200( 1-2 ): 100-106. DOI: 10.1016/j.toxlet.2010.11.001.
- [ 19 ] LIU G, WANG T, WANG T, et al. Effects of apoptosis-related proteins Caspase-3, Bax and Bcl-2 on cerebral ischemia rats [ J ]. *Biomed Rep*, 2013, 1( 6 ): 861-867. DOI:10.3892/br.2013.153.
- [ 20 ] RODRIGUEZ-LAFRASSE C, ALPHONSE G, BROQUET P, et al. Temporal relationships between ceramide, caspase activation and mitochondrial dysfunction in cell lines with varying sensitivity to anti-Fas-induced apoptosis [ J ]. *Biochem J*, 2001, 357( 2 ): 407-416. DOI:10.1042/bj3570407.
- [ 21 ] LI X, DARZYNKIEWICZ Z. Cleavage of ploy( ADP-ribose ) polymerase measured in situ in individual cells: relationship to DNA fragmentation and cell cycle position during apoptosis [ J ]. *Exp Cell Res*, 2000, 255( 1 ):125-132. DOI: 10.1006/excr.1999.4796.
- [ 收稿日期 ] 2016-06-17 [ 修回日期 ] 2016-10-30  
[ 本文编辑 ] 宋关鸿

· 读者 · 作者 · 编者 ·

## 文稿中计量单位使用的要求

本刊严格执行国务院颁发的《中华人民共和国法定计量单位》，全面贯彻国家标准 GB3100-3102-1993《量和单位》的规定，正确使用量和单位的名称和符号。(1)量符号以斜体拉丁和希腊字母表示(pH用正体除外)，例如 *m*(质量)、*t*(时间)、*c*(浓度)、*V*(体积)、*p*(压力)、*F*(力)等。(2)单位符号一律以正体拉丁或希腊字母表示，例如 kg(千克)、m(米)、h(小时)、mol/L(摩尔每升)等。(3)表示人体检验指标的量浓度或质量浓度时，一般使用 L(升)作为检验组含量单位的分母。(4)表示用药剂量单位时，不能写成 mg/kg/d 的形式，应写成 mg/(kg·d)或 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> 的形式。(5)单位符号常见书写错误：长度单位符号 A°(埃)已不用，应写作 0.1 nm；时间单位“小时”符号为 h(不是 hr)、“秒”符号为 s(不是 sec)；转速单位符号为 r/min(不是 rpm)；量浓度单位符号为 mol/L(不是 M、N，也不是 mol/mm<sup>3</sup>)；力的单位“牛顿”符号为 N[不是 dyn(达因)]、kgf(千克力)，换算 1 dyn = 10<sup>-5</sup> N；热量单位“焦耳”符号为 J[不是 cal(卡)、kcal(千卡)]，换算 1 cal = 4.187 J；放射性活度单位符号为 Bq[不是 Ci(居里)]，换算 1 Ci = 3.7 × 10<sup>10</sup> Bq。

(本刊编辑部)