

1,25-二羟基维生素 D₃ 增强卡铂对人肺癌 A549 细胞的杀伤效果

胡志勇^{1,2},周逸鹏¹,黎书炜¹,张锡彦¹,张鹤美¹,雷永良²,张增利¹,童建¹,李冰燕¹

1,25-dihydroxyvitaminD₃ Enhanced Killing Effect of Carboplatin on Growth in Lung Cancer Cell A549

Hu Zhiyong^{1,2}, Zhou Yipeng¹, Li Shuwei¹, Zhang Xiyan¹, Zhang Hemei¹, Lei Yongliang², Zhang Zengli¹, Tong Jian¹, Li Bingyan¹

1. Department of Toxicology, School of Public Health, Medical College of Soochow University, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Radiation Medicine and Protection, Suzhou 215123, China; 2. Li Shui Center for Disease Control and Prevention

Corresponding Author: Li Bingyan, E-mail: bingyanli@suda.edu.cn

Abstract: Objective To analyze vitamin D 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25(OH)₂D₃) and carboplatin (CBP) either drug alone and combined anti-tumor effects on human lung cancer A549 cells, and to explore the possible mechanism of action. Methods The cells were divided to 1,25(OH)₂D₃ group, CBP group and combined treatment group. Cell viability was determined by CCK-8; expression of VDR was measured by immunofluorescence. The distributions of cell cycle, reactive oxidative species(ROS) and mitochondrial membrane potential(MMP) were analyzed by flow cytometry. Results Our results showed that although each of the drugs alone displayed antiproliferative activity, the growth inhibition of A549 cells was significantly enhanced in the combination group. Meanwhile, higher VDR expression was detected in A549 cells. Flow cytometry analysis indicated that the distribution of G₀/G₁ phase cells in combined group was remarkably increased, whereas, S phase and G₂/M phase cells were significantly decreased. The trend is more evident in combination group. The content of ROS in combined group was significantly higher meanwhile MMP was lower than those in the alone drug group. Conclusion 1,25(OH)₂D₃ not only was able to suppress growth of A549 cells, but also enhance the anti-proliferative effect of CBP by inducing cell cycle arrest, increasing ROS and reducing MMP.

Key words: 1,25-dihydroxyvitamin D₃; Carboplatin; Lung cancer; A549 Cells

摘要: 目的 观察活性维生素 D[1,25-dihydroxyvitamin D₃, 1,25(OH)₂D₃]和卡铂(carboplatin, CBP)两种药物单独及联合作用对人肺癌 A549 细胞的抗肿瘤效应,并探讨其可能的作用机制。方法 本研究分 1,25(OH)₂D₃组,CBP 组以及联合作用组。用 CCK-8 法测定细胞抑制率,使用激光扫描共聚焦显微镜进行维生素 D 受体(vitamin D receptor, VDR)的鉴定,用流式细胞仪进行细胞周期、细胞活性氧(reactive oxidative species, ROS)及线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)的分析。结果 1,25(OH)₂D₃ 和 CBP 单独使用均可以抑制 A549 细胞的生长,且两者联合作用时具有协同作用,1,25(OH)₂D₃能显著提高 CBP 对 A549 细胞的抑制率。通过免疫荧光测得 A549 细胞中有较高维生素 D 受体的表达。细胞周期分析显示,经 1,25(OH)₂D₃ 和 CBP 处理后的 A549 细胞,细胞周期发生变化,G₀/G₁ 期细胞数增多,S 期和 G₂/M 期细胞相应减少。两者联合作用后,以上趋势更加明显。与正常对照组相比较,各处理组均可使细胞 ROS 的释放增加($P < 0.05$),MMP 下降($P < 0.05$),其中两种药物联合作用时细胞 ROS 的产生最多,MMP 下降最为显著。结论 1,25(OH)₂D₃可以抑制 A549 细胞的增殖,并且与 CBP 联合作用时能显著增强其对肺癌细胞的杀伤能力。1,25(OH)₂D₃与 CBP 的协同作用与阻滞细胞周期的有序进行有关,并通过提高 ROS 和降低 MMP 抑制肺癌细胞的增殖。

关键词: 1,25-二羟维生素 D₃; 卡铂; 肺癌; A549 细胞

收稿日期:2012-8-21;修回日期:2012-11-16

基金项目:1. 国家自然科学基金资助项目(81072286, 30972467);2. 江苏省高校自然科学基础研究资助项目(07KJB330108)

作者单位:1. 215123 苏州,苏州大学公共卫生学院卫生毒理教研室;2. 丽水市疾病预防控制中心

通信作者:李冰燕, E-mail: bingyanli@suda.edu.cn

作者简介:胡志勇(1983-),男,硕士,主要从事维生素 D 非经典作用的研究

中图分类号:R730.53; R734.2

文献标识码:A

0 引言

肺癌是最常见的肺原发性恶性肿瘤,居全世界肿瘤发病率的首位,也占癌症死因的首位^[1-2]。许多学者不断尝试新方法治疗肺癌。研究发现 1,25-二羟

维生素D₃[1,25-dihydroxyvitamin D₃,1,25(OH)₂D₃]除了调节体内钙磷代谢及骨骼的发育^[3]等经典作用外,对细胞的增殖分化和免疫功能也有重要作用^[4]。随着维生素D非经典作用研究的进展,许多研究者发现,1,25(OH)₂D₃对肺癌、前列腺癌、结肠癌、黑色素瘤、乳腺癌等多种肿瘤细胞的增殖具有明显地抑制作用^[5-6]。近年来,铂类药物在抗肿瘤治疗中被广泛应用,此类药物为细胞周期非特异性抗肿瘤药物,其疗效与剂量成正比,不良反应也与剂量相关,故临床工作中常考虑不良反应而限制其用量。国内外对1,25(OH)₂D₃或卡铂单独应用治疗肿瘤的研究较多,对两者联合应用报道甚少。本实验观察了1,25(OH)₂D₃和卡铂联合应用对肺癌细胞的作用,旨在为肺癌的综合治疗提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

1.1.1 主要试剂 1,25(OH)₂D₃(美国Sigma公司),溶于无水乙醇并配成储备液,-20℃储存备用。Cell Counting Kit-8(CCK-8)购自同仁化学研究所。mAb anti-vitamin D Receptor Antibody 购自 Novus Biologicals公司。IgG/FITC 购自 BT公司。碘化丙啶(PI)购自Sigma公司。DAPI(4,6-diamidino-2-phenylindole, dihydrochloride)、Alexa Fluor488 Annexin V/Dead Cell Apoptosis Kit试剂盒、荧光探针 H₂DCFDA 和 JC-1 均购自 Invitrogen公司,卡铂注射液(carboplatin,CBP)购自齐鲁制药有限公司。

1.1.2 细胞培养 将肺癌细胞株A549(购自中国科学院上海细胞所)置入DMEM(美国Gibco公司)完全培养液(含10%胎牛血清,100 u/ml青霉素,100 μg/ml链霉素)中,在37℃、5%CO₂的培养箱中常规条件培养。

1.2 方法

1.2.1 CCK-8法检测细胞抑制率 取对数生长期的A549细胞,2×10³个/孔接种于96孔培养板,置37℃、5%CO₂培养箱培养12 h,细胞贴壁后弃去培养液,加入含不同浓度药物的培养液200 μl。实验分为4组:对照组,单位DMEM培养液培养(100 ml/L胎牛血清);单纯1,25(OH)₂D₃组,浓度分别为1、10、100、200和500 nmol/L;单纯CBP组,浓度分别为2、20、40、80、160 mg/L;1,25(OH)₂D₃和CBP同时联用组,为1、10和100 nmol/L的1,25(OH)₂D₃分别与不同浓度的CBP(0、2、20、40、80和160 mg/L)联用;继续培养至加药后72 h,每组均设6个复孔。

每孔加入CCK-8 10 μl,继续孵育1 h后,用酶联免疫检测仪(Biotek公司)450 nm检测各孔吸光度OD值,按以下公式计算:细胞增殖抑制率=(对照组OD-实验组OD)/对照组OD×100%,取6复孔均值绘制抑制率与药物剂量关系曲线。

1.2.2 药物联合作用效果分析 采用联合作用指数(combined index,CI)判断1,25(OH)₂D₃和CBP联合作用的性质。 $CI = D_A/IC_{X,A} + D_B/IC_{X,B}$ (A、B代表两种不同药物, $IC_{X,A}$ 和 $IC_{X,B}$ 是两种药物单独使用使生长抑制率达X时的药物浓度,D_A和D_B是两药联合作用使生长抑制率达X时两种药物的浓度)^[7-8]。根据Soriano等^[8]的判断方法,CI>1.1为拮抗作用,0.9≤CI≤1.1为相加作用,0.8≤CI<0.9为低度协同作用,0.6≤CI<0.8为中度协同作用,0.4≤CI<0.6为协同作用,0.2≤CI<0.4为强协同作用。

1.2.3 细胞形态的观察 4×10³个/孔A549细胞接种于细胞爬片(Fisher Scientific公司)上,置于24孔板内,细胞贴壁后加入不同药物,根据细胞增殖实验结果分为4组:对照组、1,25(OH)₂D₃(10 nmol/L)组、CBP(40 mg/L)组、1,25(OH)₂D₃(10 nmol/L)和CBP(40 mg/L)联合作用组。继续培养48 h,在倒置显微镜下观察各组细胞的变化,并固定后加入0.5 ml DAPI(10 mg/L),染色15 min后用PBS清洗,抗荧光淬灭液封片,使用TCS-SP2型激光扫描共聚焦显微镜(Leica公司,德国)观察细胞形态。

1.2.4 A549细胞中维生素D受体(vitamin D Receptor,VDR)的表达 A549细胞在爬片上生长融合到70%时,从培养箱中取出,用预温的磷酸盐缓冲液(PBS)洗3次,4%甲醛室温固定30 min,PBS洗3次,再用100%甲醇-20℃穿透10 min后,封闭液封闭1 h,PBS洗3次,加一抗(mAb anti-VDR Antibody,1:300)4℃过夜,PBS洗3次后在摇床振动10 min,再加二抗(IgG/FITC,1:400)室温孵育2 h,DAPI(4,6-联脒-2-苯基吲哚,4,6-diamidino-2-phenylindole)染核后共聚焦激光扫描显微镜观察。

1.2.5 流式细胞仪检测细胞周期的变化 取对数生长期细胞,以1×10⁵/皿接种于直径60 mm的培养皿中,24 h贴壁后弃去培养液,加入含不同浓度药物的培养液。根据CCK-8的实验结果,CBP浓度选40 mg/L,1,25(OH)₂D₃浓度选10 nmol/L,设对照组、1,25(OH)₂D₃组、CBP组、联合作用组共4组。加药72 h后收集细胞,用PI单染色法进行操作,使用FC-500型流式细胞仪(Beckman公司,美国)检测并分析。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞ROS及MMP的变化

取对数生长期细胞,以 1×10^5 /皿接种于直径 60 mm 的培养皿中,24 h 贴壁后弃去培养液,各组的加药顺序及浓度同上,对照组加入无水乙醇,终体积分数 $<0.1\%$ 。每组设 3 个平行样。

(1) 细胞活性氧 (reactive oxidative species, ROS) 浓度的测定 72 h 后将细胞消化,收集各组细胞,用 PBS 缓冲液洗两遍,加入 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的 H₂DCFDA(荧光探针),4 ℃ 避光染色 30 min,PBS 洗后用流式细胞仪(激发波长为 488 nm,发射波长为 525 nm)测定荧光强度,数据以荧光强度(x-mean)表示,它与细胞内 ROS 的释放量成正比。

(2) 细胞线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 的测定 细胞处理方法同上,荧光探针 JC-1 终浓度为 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$,4 ℃ 避光孵育 30 min,PBS 洗后用流式细胞仪(激发波长为 488 nm,发射波长为 526 nm 和 590 nm)测定荧光强度,数据以红/绿荧光强度的比值表示,其比值减少可以诱导线粒体去极化,细胞易发生凋亡。

1.3 统计学方法

各数据以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。采用 SPSS 13.0 统计软件进行方差分析和 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 1,25(OH)₂D₃和 CBP 单独作用时对 A549 细胞抑制率的影响

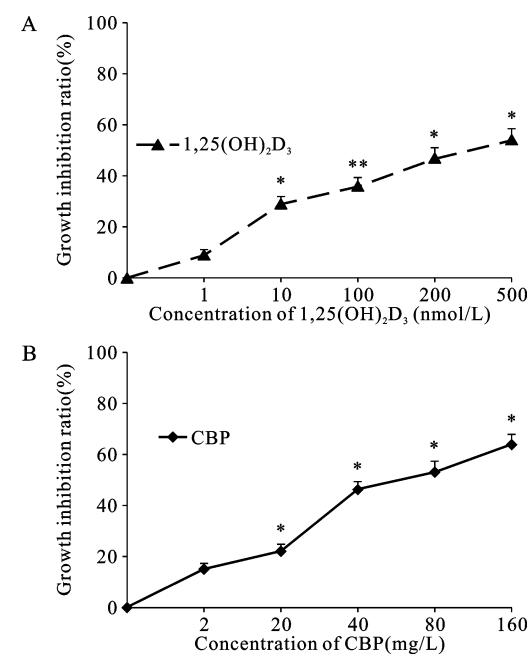
1,25(OH)₂D₃与 CBP 单独作用时,随着给药浓度的增加,对 A549 细胞的生长抑制作用也逐渐增加,并且存在明显的剂量-反应关系,见图 1。

2.2 1,25(OH)₂D₃与 CBP 联合作用对 A549 细胞增殖的影响

不同浓度的 1,25(OH)₂D₃与 CBP 联合应用时,随着两药物浓度的增加联合组细胞抑制率逐渐增加,联合作用组均高于单独使用 CBP 组,见图 2。与单独使用 CBP 组相比较,1、10 和 100 nM 浓度的 1,25(OH)₂D₃与 CBP 联用后 CBP 的 IC_{50} (CBP 单独作用时 IC_{50} 为 47.8 mg/L) 明显降低,使其分别降低到 39.3、31.6 和 23.8 mg/L。当达到半数抑制率时,不同浓度组合的 1,25(OH)₂D₃与 CBP 的 IC_{50} 分别为 0.82、0.68、0.517,即 100 nM 1,25(OH)₂D₃与 CBP 联用达到协同作用,10 nM 1,25(OH)₂D₃与 CBP 联用达到中度协同作用,1 nM 1,25(OH)₂D₃与 CBP 联用达到低度协同作用。

2.3 1,25(OH)₂D₃与卡铂对 A549 细胞形态的改变

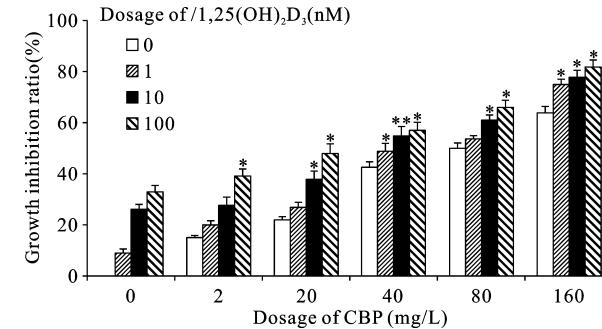
倒置显微镜下,对照组细胞呈单层贴壁生长,生



1,25(OH)₂D₃: 1,25-dihydroxyvitamin D₃; CBP: carboplatin; * : $P<0.05$, ** : $P<0.01$, vs. control group

图 1 1,25(OH)₂D₃ 和 CBP 单独使用对 A549 细胞抑制率的影响

Figure 1 The inhibitory effect of 1,25(OH)₂D₃ and CBP alone on A549 cells

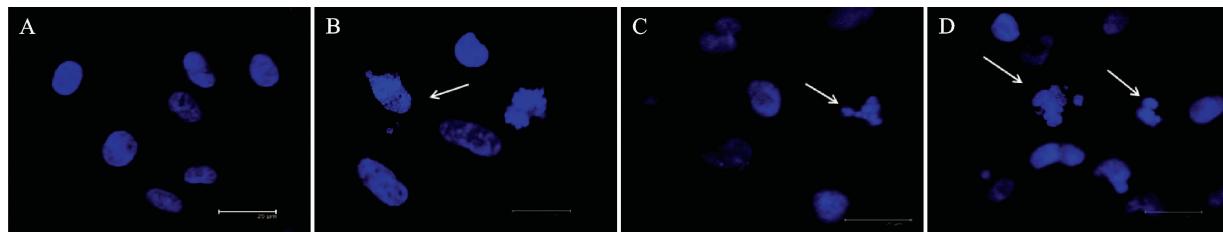


* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$, vs. CBP alone group

图 2 不同浓度的 1,25(OH)₂D₃与 CBP 联合作用时的细胞抑制率

Figure 2 The combined inhibitory effect of 1,25(OH)₂D₃ and CBP on A549 cells

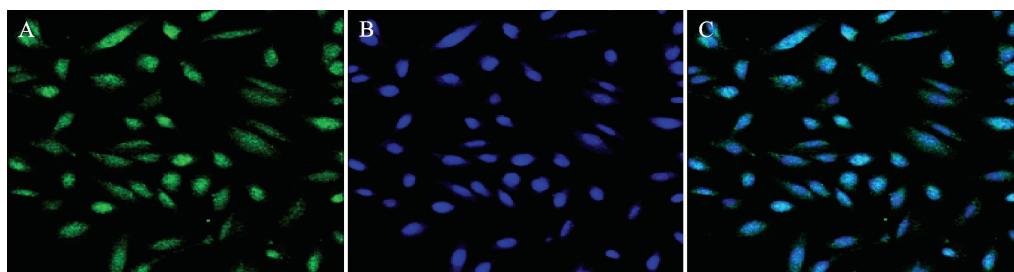
长舒展,几乎无脱落。经 1,25(OH)₂D₃与卡铂单独处理后,部分细胞出现变小变圆,脱落的现象,悬浮于培养液中;核颜色加深,折光性增强。而两者联合作用组的细胞上述现象更加明显。共聚焦激光扫描显微镜下,对照组细胞核大小均匀,界限清楚,呈正常结构;1,25(OH)₂D₃组可见少量含微核的细胞;CBP 组可以发现部分含微核的细胞及形态不规则的碎片;而联合作用组出现大量典型的凋亡细胞,并出现细胞核染色强度深浅不一,可见浓染致密的凝集,呈颗粒状、固缩状或团块状结构,见图 3。



A: control; B: 10 nM 1,25(OH)₂D₃ group; C: 40 mg/L CBP group; D: combined group of 10 nM 1,25(OH)₂D₃ with 40 mg/L CBP; arrow indicates to the abnormal cells

图3 1,25(OH)₂D₃与CBP诱导的A549细胞凋亡的DAPI染色(×200)

Figure 3 The combined effect of 1,25(OH)₂D₃ and CBP on nuclei of A549 cells visualized by DAPI staining(×200)



A: VDR expression; B: Nuclei stained with DAPI; C: A merged with B

图4 肺癌A549细胞中VDR的表达(×200)

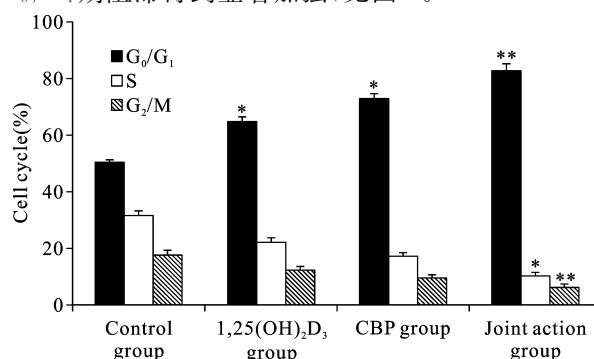
Figure 4 The expression of VDR in A549 cells(×200)

2.4 肺癌A549细胞中VDR的鉴定

在肺癌A549细胞中,发现了大量的VDR表达,其中VDR的表达在细胞核上最为明显,在细胞质上也有少量的表达,见图4。

2.5 1,25(OH)₂D₃与CBP对A549细胞周期的影响

与对照组比较,1,25(OH)₂D₃组和CBP组处于G₂/M期和S期比例的细胞有所下降,G₀/G₁期的细胞比例有所上升;而1,25(OH)₂D₃和CBP两者联合作用组可使G₂/M期和S期比例的细胞明显下降,G₀/G₁期的细胞比例显著上升($P<0.01$),使G₀/G₁期由对照组的55.64%升至82.19%,从而使G₀/G₁期阻滞得到显著加强,见图5。



*: $P<0.05$, **: $P<0.01$, vs. control

图5 1,25(OH)₂D₃与CBP对A549细胞周期的影响

Figure 5 Effect of 1,25(OH)₂D₃ and CBP on cell cycle distribution in A549 cells

2.6 1,25(OH)₂D₃与CBP对A549细胞ROS和MMP的影响

与对照组比较,两种药物单独应用以及联合应用均可以使细胞内ROS的产生明显增加,其中两种药物联合作用时细胞ROS的释放最多($P<0.05$),差异有统计学意义,见表1。线粒体膜电位的实验结果显示,与对照组相比,单独1,25(OH)₂D₃组、单独CBP组、CBP和1,25(OH)₂D₃联合作用组其Red/Green比值分别减少了18.1%、40.5%、54.5%,说明各处理组MMP均下降,而CBP和1,25(OH)₂D₃联合作用时MMP下降最为显著($P<0.01$),差异有统计学意义,见表1。

表1 1,25(OH)₂D₃与CBP对A549细胞ROS和MMP的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

Groups	ROS(x-mean)	MMP(Red/Green)
Control	10.4 ± 0.52	$(48.6 \pm 1.51)\%$
1,25(OH) ₂ D ₃	19.7 ± 0.73	$(39.8 \pm 1.32)\%$
CBP(40mg/L)	$24.9 \pm 0.91^*$	$(28.9 \pm 2.01)\%$
1,25(OH) ₂ D ₃ +CBP	$29.5 \pm 1.03^{**}$	$(22.1 \pm 1.27)\%^{**}$

Note: *: $P<0.05$, **: $P<0.01$, vs. control group

3 讨论

Menezes等^[9]应用免疫组织化学法检测了肺癌组织和肺癌前病变组织的表达,结果发现,肺的整个

上皮存在较高浓度的维生素 D 受体。这与本实验中测得肺癌 A549 细胞中有较高的 VDR 的表达结果一致。从而为研究维生素 D 在肺功能中的作用提供了理论基础。近年来,流行病学专家发现肺癌的发生与体内的维生素 D 水平成负相关。Gorham 等^[10]研究了 111 个国家的肺癌发病率,发现紫外线照射量与肺癌的发病率有关,提示太阳紫外线照射量可通过促进维生素 D 合成而减少肺癌的患病风险。2008 年,Heist 等^[11]对血清 25(OH)₂D₃浓度、VDR 多态性与非小细胞肺癌患者(进展期 NSCLC)的预后进行了研究,结果发现其与进展期 NSCLC 患者的预后有关。近年来研究表明维生素 D 的代谢活性产物 1,25(OH)₂D₃具有抑制抗肿瘤细胞生长促进细胞分化和凋亡的作用^[12-14],已有研究者开始使用 1,25(OH)₂D₃诱导细胞分化,并希望 1,25(OH)₂D₃成为肿瘤综合治疗的一种组份^[15-16]。

我们在实验中观察到,1,25(OH)₂D₃和 CBP 单独使用对 A549 细胞生长具有抑制作用,并且具有浓度依赖性的特点,1,25(OH)₂D₃与 CBP 联合应用时,抑制率明显高于单用 1,25(OH)₂D₃或 CBP,而且 CI 小于 1,表明两者联用时表现出不同程度的协同作用,1,25(OH)₂D₃可以明显减低卡铂对 A549 细胞的 IC₅₀。通过 DAPI 染色荧光显微镜观察到经两者联合处理后的 A549 细胞出现大量凋亡,细胞核固缩,核内染色质浓集成块,聚集在核膜周边,可见凋亡小体形成。本实验还发现 1,25(OH)₂D₃在低于 100 nmol/L 时对永生化人支气管上皮细胞(实验结果没显示这部分内容,见附加实验数据)没有明显的抑制率作用,只有在高浓度时才表现出一定的抑制作用,这说明 1,25(OH)₂D₃具有双重作用,其对肿瘤细胞有较明显的抑制作用而对正常细胞抑制作用不明显,这有利于 1,25(OH)₂D₃应用于肿瘤患者,减少其对患者的不良反应。

细胞周期是一个复杂有序并受严格调控的过程,与细胞的增殖密切相关,细胞周期的长短取决于 G₀/G₁ 期,G₀/G₁ 期阻滞可使细胞增殖周期延长,增殖速度减慢。本研究通过流式细胞分析发现,经 1,25(OH)₂D₃和 CBP 处理后的 A549 细胞,细胞周期发生变化,G₀/G₁ 期细胞数增多,S 期和 G₂/M 期细胞相应减少。两者联合作用后,以上趋势更加明显。表明 1,25(OH)₂D₃通过 G₀/G₁ 期阻滞抑制了 A549 细胞的增殖,而 CBP 也主要作用于 G₀/G₁ 期,表现出较强的协同作用,从而使 A549 细胞停滞在 G₀/G₁ 期,抑制细胞进入 DNA 合成期和有丝分裂期,说明两者抑制细胞增殖可能与其阻滞细胞周期的有序进行有关。

本研究结果显示 1,25(OH)₂D₃及 CBP 处理后

均能增加肺癌细胞内 ROS 的释放,且两者联合应用时能显著提高肺癌细胞内 ROS 的含量。研究发现,几乎所有肿瘤细胞均有一个共同点,即细胞内抗氧化酶活性较正常细胞低,对 ROS 的清除效率低。因此提高肿瘤细胞内的 ROS 含量,无疑有利于对肿瘤细胞的损伤和抑制^[17]。有许多研究表明,ROS 是介导 P53 通路从而诱导细胞凋亡的信使因子^[18-19],ROS 与肺癌的形成机制研究还处在初步阶段,活性氧是否是 1,25(OH)₂D₃及 CBP 诱导 A549 细胞凋亡的关键因素仍然有待进一步研究。但可以确定的是,生物体内 ROS 的升高以及抗氧化应激系统的缺失对肺癌的发生发展起着一定的作用。线粒体跨膜电位的降低被认为是细胞凋亡级联反应过程中最早发生的反应,并出现于细胞核变化(染色质浓缩、DNA 断裂)之前。一旦线粒体跨膜电位剧变,诱导 PT 孔(permeability transition pore)开放,将触发线粒体基质内大量凋亡相关分子的释放^[20],可进一步引起线粒体膜通透性增高,促凋亡蛋白释放到胞质中,如细胞色素 C 等,进而激活 caspase 酶级联系统而引起细胞凋亡。我们通过流式细胞仪观察了 1,25(OH)₂D₃及 CBP 引起的线粒体膜电位变化,结果显示 1,25(OH)₂D₃及 CBP 各处理组 MMP 均下降,而 CBP 和 1,25(OH)₂D₃联合作用时 MMP 下降最为显著,提示两者可能通过线粒体途径促进 A549 细胞凋亡。

肺癌常规化疗的有效率较低,且具有一定的不良反应,本实验证实了 1,25(OH)₂D₃对 A549 具有抑制增殖作用,能增强卡铂的化疗敏感度,减少 CBP 的用量。由于克服了传统 CBP 的一些不良反应,1,25(OH)₂D₃有可能为肺癌的防治开辟新的途径,但维生素 D 的抗肿瘤作用及机制还有待进一步研究。随着 1,25(OH)₂D₃类似物的研究与开发,以及其抗肿瘤机制的进一步研究,维生素 D 将成为预防和治疗肿瘤很有前景的药物^[21]。

参考文献:

- [1] Paul Kotin. The role of atmospheric pollution in the pathogenesis of pulmonary cancer: a review[J]. Cancer Res, 1956, 16: 375-93.
- [2] Qian GS, Yu SC. The enlightenment and latest data of lung cancer epidemiology[J]. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi, 2012, 35(2): 86-9. [钱桂生,余时沧.肺癌流行病学最新资料启示[J].中华结核和呼吸杂志,2012,35(2):86-9.]
- [3] Grant WB. A critical review of Vitamin D and Cancer : A report of the IARC Working Group [J]. Dermatoendocrinol, 2009, 1(1): 25-33.
- [4] Norman AW, Manchand PS, Uskokovic MR, et al. Characterization of a novel analogue of 1alpha,25(OH)(2)-vitamin D (3) with two side chains; interaction with its nuclear receptor and cellular actions [J]. J Med Chem, 2000, 43(14): 2719-30.

- [5] Zittermann A. Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? [J]. Br J Nutr, 2003, 89(5): 552-72.
- [6] Li BY, Tong J, Zhang ZL. Effect of 1,25(OH)₂vitamin D₃ on the sensitivities of breast cancer cells to ionizing radiation[J]. Zhong Liu, 2007, 27(8): 620-2, 627. [李冰燕, 童建, 张增利. 1,25二羟基维生D3对乳腺癌细胞放射敏感性的影响[J]. 肿瘤, 2007, 27(8): 620-2, 627.]
- [7] Li YP, Hu CP, Wu ES. Growth inhibition of NS-398 combined with cisplatin on human lung adenocarcinoma cells and its mechanism[J]. Zhongguo Fei Ai Za Zhi, 2005, 8(1): 8-13. [李也鹏, 胡成平, 吴鄂生. NS-398 和顺铂联合作用对人肺腺癌增殖的影响及其机制初步探讨[J]. 中国肺癌杂志, 2005, 8(1): 8-13.]
- [8] Soriano AF, Helfrich B, Chan DC, et al. Synergistic effects of new chemopreventive agents and conventional cytotoxic agents against human lung cancer cell lines[J]. Cancer Res, 1999, 59(24): 6178-84.
- [9] Menezes RJ, Cheney RT, Husain A, et al. Vitamin D receptor expression in normal premalignant, and malignant human lung tissue[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2008, 17(5): 1104-10.
- [10] Gorham ED, Garland CF, Garland FC, et al. Optimal vitamin D status for colorectal cancer prevention: a quantitative meta-analysis[J]. Am J Prev Med, 2007, 32(3): 210-6.
- [11] Heist RS, Zhou W, Wang Z, et al. Circulating 25-hydroxyvitamin D, VDR polymorphisms, and survival in advanced non-small-cell lung cancer [J]. J Clin Oncol, 2008, 26(34): 5596-602.
- [12] Cedric G, Edward DG, Sharif BM, et al. Vitamin D for cancer prevention: global perspective [J]. Ann Epidemiol, 2009, 19(7): 468-83.
- [13] Reddy D, Patti R, Guttpapalli A, et al. Anticancer effects of the novel 1alpha, 25-dihydroxyvitamin D₃ hybrid analog QW1624F2-2 in human neuroblastoma [J]. J Cell Biochem, 2006, 97(1): 198-206.
- [14] Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of Vitamin D receptor ligands [J]. Endocr Rev, 2005, 26(5): 662-87.
- [15] Wang Q, Harrison JS, Uskokovic M, et al. Translational study of vitamin D differentiation therapy of myeloid leukemia: effects of the combination with a p38 MAPK inhibitor and an antioxidant[J]. Leukemia, 2005, 19(10): 1812-7.
- [16] Kriebitzsch C, Verilinden L, Eelen G, et al. The impact of 1,25(OH)₂D₃ and its structural analogs on gene expression in cancer cells-a microarray approach[J]. Anticancer Res, 2009, 29(9): 3471-83.
- [17] Groninger E, Meeuwesen-De Boer GJ, De Graaf SS, et al. Vinca-ristine induced apoptosis in acute lymphoblastic leukaemia cells: a mitochondrial controlled pathway regulated by reactive oxygen species? [J]. Int J Oncol, 2002, 21(6): 1339-45.
- [18] Polyak K, Xia Y, Zweier JL, et al. A model for p53-induced apoptosis[J]. Nature, 1997, 389(6648): 300-5.
- [19] Macip S, Igarashi M, Berggren P, et al. Influence of induced reactive oxygen species in p53-mediated cell fate decisions[J]. Mol Cell Biol, 2003, 23(23): 8576-85.
- [20] Pacher P, Hajnóczky G. Propagation of the apoptotic signal by mitochondrial waves [J]. EMBO J, 2001, 20(15): 4107-21.
- [21] Holick MF. Vitamin D: Its role in cancer prevention and treatment[J]. Prog Biophys Mol Biol, 2006, 92(1): 49-59.

[编辑:安凤;校对:杨卉]

• 简讯 •

《肿瘤防治研究》杂志征订征稿启事

《肿瘤防治研究》杂志创刊于1973年,是我国第一本独立的全国性肿瘤专业高级学术刊物。中华人民共和国卫生部主管,中国抗癌协会、湖北省肿瘤医院主办。杂志是中文核心期刊、中国科技论文统计源期刊、中国科学引文数据库来源期刊(CSCD)、湖北省优秀医学期刊、中国抗癌协会系列刊物。被美国CA、CSA、Ulrich PD、波兰IC、英国CABI、Global Health、日本JST及国内所有大型数据库收录。

主要栏目有:专题论坛、基础研究、临床研究、临床诊断、临床应用、流行病学、研究简报、技术交流、论著摘要、综述、短篇个案、简讯等。它是我国肿瘤防治研究领域的一面镜子和窗口。

新的一年,本刊将组织更多优秀的专题以回馈广大读者,希望广大朋友们一如既往地给予本刊以热忱的关注:将优秀稿件投往《肿瘤防治研究》以支持我国学术期刊的发展;订阅《肿瘤防治研究》以关注我国肿瘤防治研究事业取得的进步。

邮发代号:38-70;国外代号:MO6482;订价:15.00元/册;出版周期:月刊

中国标准连续出版物号:ISSN 1000-8578 CN 42-1241/R

投稿网站:<http://www.zlfzyj.com> E-mail:zlfzyjzz@vip.163.com

电话/传真:0086-27-87670126

通信地址:武汉市武昌卓刀泉南路116号《肿瘤防治研究》编辑部 邮政编码:430079