

奥曲肽对多烯紫杉醇耐药肿瘤细胞DU145的增敏作用及机制



甄明慧¹, 冯国清², 杜 英¹, 李付光¹, 龚光明¹, 张 博¹, 朱 沙¹

Synergism and Mechanism of Octreotide on Docetaxel-resistant Cancer Cell DU145

ZHEN Minghui¹, FENG Guoqing², DU Ying¹, LI Fuguang¹, GONG Guangming¹, Zhang Bo¹, ZHU Sha¹

1. Department of Microbiology and Immunology, Basic Medical College of Zhengzhou University, Henan 450001; 2. Center of Functional Experiment

Corresponding Author: ZHU Sha, E-mail: zsha@zzu.edu.cn

Abstract: Objective To investigate the effects and possible mechanisms of Octreotide on the drug sensitivity of Docetaxel resistant DU145 cells *in vitro*. **Methods** The inhibitory effects of Docetaxel, Octreotide and Octreotide (100nM) combined with Docetaxel at different concentrations on DU145 cell were tested by MTT assay. The following-up experiments were divided into four groups, control group, OCT(100nM) group, DTX(10nM)/OCT(100nM) group and DTX(10nM) group. The mRNA levels of Homo sapiens vascular endothelial growth factor A (VEGFA), apoptosis-related cysteine peptidase (Caspase9), caspase 3, apoptosis-related cysteine peptidase (Caspase3) and ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1 (ABCB1) in human prostate cancer cell line DU145 were detected by RT-PCR; The migration ability of cells in each group was detected by scratch test. **Results** The proliferation inhibitory rate of DU145 cell in DTX(10nM)/OCT(100nM) group[$(55.70 \pm 0.08)\%$] was higher than that in Docetaxel [$(26.23 \pm 0.03)\%$] or Octreotide group [$(24.77 \pm 0.04)\%$], ($P < 0.01$). Octreotide increased the drug sensitivity of DU145 cells against Docetaxel, with IC_{50} value decreasing significantly [(24.55 ± 0.36) vs. (11.85 ± 0.25) nM, $P < 0.01$]. The gene expression of Caspase3 and Caspase9 in the drug combination group were higher than those in other groups, while the expression of VEGFA decreased in the drug combination group ($P < 0.01$). In addition, there was no difference of ABCB1 mRNA level in all groups. The cell ability of migration in the combination group was lower than those in other groups. **Conclusion** The increased drug sensitivity and reduced migration ability of DU145 cell lines affected by Octreotide may be related to the increased expression of Caspase3 and Caspase9 and reduced expression of VEGFA.

Key words: Docetaxel; Octreotide; Cell proliferation; Cell migration; Prostate cancer

摘要:目的 研究奥曲肽(Octreotide, OCT)对多烯紫杉醇(Docetaxel, DTX)耐药前列腺癌细胞DU145药物敏感度的影响及可能机制。**方法** MTT法检测DTX、OCT及OCT(100 nM)与各浓度DTX联合应用对DU145细胞的抑制作用, 后续实验分四组: 对照组、OCT组、DTX/OCT组及DTX组; RT-PCR检测各组VEGFA、Caspase9、Caspase 3及ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1 (ABCB1)的表达; 划痕实验检测各组细胞迁移能力。**结果** DTX/OCT联合用药抑制率为 $(55.70 \pm 0.08)\%$, 高于单独用药组DTX组 $(26.23 \pm 0.03)\%$ 和OCT组 $(24.77 \pm 0.04)\%$, P 均 < 0.01 。OCT增强DU145细胞株对DTX的药物敏感度, DU145对DTX的 IC_{50} 明显降低[(24.55 ± 0.36) vs. (11.85 ± 0.25) nM, $P < 0.01$]。联合用药组Caspase9($P < 0.01$)、Caspase3($P < 0.05$)表达增加, VEGFA表达下降($P < 0.01$), ABCB1的表达无变化。细胞迁移能力下降。**结论** OCT增强DU145细胞株对DTX的药物敏感度, 细胞迁移能力下降, 这可能与Caspase9、Caspase3表达上调而VEGFA表达下调有关。

关键词: 多烯紫杉醇; 奥曲肽; 细胞增殖; 细胞迁移; 前列腺癌

中图分类号: R730.53; R392.5 文献标识码: A

收稿日期: 2013-04-24; 修回日期: 2013-08-05

作者单位: 1.450001 郑州, 郑州大学基础医学院微生物学与免疫学教研室, 2.机能实验中心

通信作者: 朱沙, E-mail: zsha@zzu.edu.cn

作者简介: 甄明慧, 女(1985-), 硕士在读, 主要从事肿瘤基础研究与免疫治疗

0 引言

多烯紫杉醇治疗前列腺癌易产生耐药性, 大部分患者接受治疗后发展成激素抵抗性或难治性前列腺癌。DU145细胞为多烯紫杉醇耐药细

肿瘤株, 且细胞表面高表达Somatostatin Receptor Subtype 2(SSTR2)和Subtype5 (SSTR5)受体。奥曲肽主要是通过与其靶细胞受体(SSTR)特异性结合后, 通过SSTR进行信号转导调控, 进而调控靶细胞的功能^[1]。奥曲肽具有抑制细胞增殖、诱导凋亡和抗肿瘤的作用, 且临床应用不良反应小。本实验通过采用多烯紫杉醇与奥曲肽联合应用对前列腺癌DU145细胞的体外肿瘤抑制作用研究, 旨在探讨奥曲肽对多烯紫杉醇耐药人前列腺癌DU145细胞株药物敏感度的影响及可能的机制, 为临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

前列腺癌细胞DU145由美国弗雷德癌症研究中心(FHCRC)惠赠。多烯紫杉醇购自Sigma公司, 奥曲肽(善宁)购自诺华公司。DMEM/F12 1:1高糖培养液与胎牛血清购自Thermo公司。RNA反转录试剂盒购自Fermentas life science公司。引物由苏州金唯智生物科技有限公司合成。引物序列(5'---3') CASP3-F: CTCATACCTGTGGCTGTGTATC, CASP3-R: GCTCCTTTTGGCTGTGATCTTC 498 bp。ACBC1-F: GTCGGAATGGATCTTGAAGGG, ACBC1-R: ACATCAAACCAGCCTATCTCC 500 bp。CASP9-F: AGAGATTCGCAAACCAGAGG, CASP9-R: CAAGATAAGGCAGGGTGAGG 493 bp。VEGFA-F: CCGAAACCATGAACCTTCTGC, VEGFA-R: CCTTTCCCTTTTCCTCGAACTG 456 bp。 β -actin-F: AAGGGCCATCCACAGTCTTC, β -actin-R: AGAAGGCTGGGGCTCATTG 250 bp。

1.2 方法

1.2.1 MTT法分别检测不同浓度多烯紫杉醇、奥曲肽及不同浓度多烯紫杉醇与奥曲肽(100 nM)联合应用对DU145细胞的增殖抑制作用

消化细胞, 制备单细胞悬液, 接种于96孔板, 每孔 3×10^3 个; 待细胞贴壁后, 加入不同浓度DTX(5、10、20、50、100 nM), 不同浓度OCT(10、 10^2 、 10^3 、 10^4 、 0.5×10^5 nM)及不同浓度DTX与奥曲肽(100 nM)联合作用, 每组5个复孔, 同时设不加药物为对照组及只加培养液的调零孔。每孔终体积为200 μ l, 置37℃的CO₂培养箱继续培养; 药物处理24 h后, 取出一块培养板, 弃培养液, 用PBS清洗两遍, 每孔加MTT 20 μ l, 培养液100 μ l, 继续孵育4 h。去上清液, 每孔加DMSO

150 μ l, 孵育15 min; 摇床混匀10 min, 酶标仪450 nm测各孔的吸光值, 计算抑制率。同样方法分别检测48 h及72 h的OD值。细胞增殖抑制率=[1-(实验组OD值-调零孔OD值)/(对照组OD值-调零孔OD值)] $\times 100\%$ 。实验重复三次根据MTT结果后续实验分四组: 空白对照组、DTX组、DTX/OCT组及DTX组, DTX浓度为10 nM, OCT浓度为100 nM。

1.2.2 RT-PCR检测各组细胞VEGF mRNA、Caspase9 mRNA、Caspase3 mRNA及ABCB1 mRNA的表达

实验分组同上, 各组药物处理24 h后使用Trizol总RNA提取试剂盒提取各组RNA, 反转录成cDNA, 按以下条件进行PCR反应: 预变性94℃ 5 min; 变性 94℃ 30 s; 退火 55℃~60℃ 45 s; 延伸, 共30~35个循环, 72℃ 45 s。最终延伸, 72℃ 7 min。琼脂糖凝胶电泳: 取5 μ l PCR产物与2 μ l 6 $\times$ loading buffer溶液混匀后加入到琼脂糖凝胶梳孔内, 另将DNA Maker上样至其他孔内。90 V电压条件下电泳(20~25) min, 在凝胶成像扫描仪中观察琼脂糖凝胶, 并拍照。Quantity one分析软件测得其灰度值, 以目的条带/ β -actin mRNA条灰度比值计算, 实验重复三次, 结果以均数 $\pm$ 标准差表示。

1.2.3 划痕实验检测人前列腺癌DU145各组细胞迁移能力

用记号笔在六孔板背后划线, 每隔1 cm一道线, 每孔至少穿过三条线, 消化细胞铺板。细胞密度长到80%~90%时, 用10 μ l枪头垂直六孔板背后横线划痕。弃旧培养液, PBS洗三遍, 加入2%培养液及药物, 实验分组同上。倒置显微镜下观察, 24 h后照相记录各交叉点结果, 实验重复三次。

1.3 统计学方法

实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 根据实验设计选择完全随机设计的单因素方差分析和 t 检验比较均值差异性。所有数据统计均采用SPSS 12.0统计软件完成。所有作图均采用GraphPad Prism 5.0软件完成。

2 结果

2.1 奥曲肽与多烯紫杉醇及联合用药对细胞生长的抑制作用

不同浓度的DTX(5 nM~100 nM)对DU145细胞的增殖均有明显抑制作用, 随着浓度和时间的增高抑制作用均增大, 100 nM DTX在72 h节点能完

全抑制DU145细胞的增殖。提示DTX对DU145细胞抑制作用具有时间剂量依赖性。多烯紫杉醇处理细胞72 h的 IC_{50} 值为 (24.55 ± 0.36) nM, 见表1、图1。

表1 多烯紫杉醇对DU145细胞的增殖影响

Table1 Effects of docetaxel on DU-145 cell proliferation

Docetaxel (nmol/L)	Time(h)		
	24	48	72
Control	2.33±0.02	1.50±0.02	0.36±0.03
5	1.84±0.01*	9.20±0.02*▲	15.30±0.07*▼
10	11.02±0.02**	15.38±0.02**▲	24.77±0.04**▼▼
20	19.81±0.06**	26.13±0.04**▲	48.93±0.02**▼▼
50	25.10±0.05**	33.49±0.05**▲	89.08±0.01**▼▼
100	33.60±0.11**	51.34±0.04**▲	99.98±0.15**▼▼

Notes: *: $P < 0.05$, compared with control and other DTX groups; ▲: $P < 0.01$, ▲: $P < 0.05$, compared with 24 h; ▼: $P < 0.01$, compared with 24, 48 h; ▼: $P < 0.05$, compared with 24 h

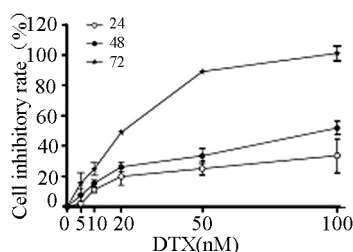


图1 多烯紫杉醇不同浓度及时间对DU145细胞的增殖影响
Figure1 Effects of docetaxel at different concentrations and time on DU-145 cell proliferation

OCT (10~0.5×10⁵ nM) 单独应用时对细胞具有一定的抑制作用, OCT在10 nM至10⁴ nM浓度范围内, 对细胞的抑制作用没有明显的剂量依赖性, 具有时间依赖性, 见图2、表2。0.5×10⁵ nM的OCT对DU145细胞的抑制作用非常明显, 镜下可观察到细胞凋亡。

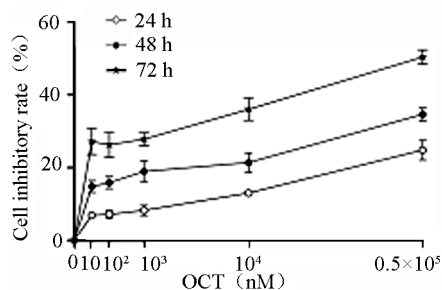


图2 奥曲肽不同浓度及时间对DU145细胞的增殖影响
Figure2 Effects of octreotide at different concentrations and time on DU-145 cell proliferation

DTX (5~100) nM与OCT (100 nM) 联合应用时抑制率均高于单独用药组抑制率, 在72 h时最明显, 见图3。联合用药72 h后, DU145对多烯紫杉醇的 IC_{50} 与多烯紫杉醇组相比降低 $[(11.85 \pm 0.25) \text{ vs. } (24.55 \pm 0.36)]$, ($P < 0.01$)。表明OCT增强

表2 奥曲肽对DU145细胞的增殖影响

Table2 Effects of octreotide on DU-145 cell proliferation

Octreotide (nmol/L)	Time(h)		
	24	48	72
Control	2.33±0.02	1.50±0.02	0.36±0.03
10	6.87±0.00**	14.77±0.02**▲▲	27.12±0.04**▼▼
10 ²	7.11±0.01**	15.84±0.02**▲▲	26.23±0.03**▼▼
10 ³	8.20±0.01**	18.94±0.03**▲▲	27.76±0.02**▼▼
10 ⁴	12.99±0.01**	21.34±0.03**▲▲	35.97±0.03**▼▼
0.5×10 ⁵	24.76±0.03**	34.60±0.02**▲▲	50.37±0.02**▼▼

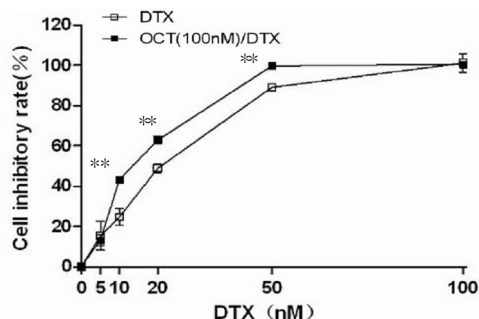
Notes: **: $P < 0.01$, compared with control groups; ▲▲: $P < 0.01$, compared with 24 h; ▼▼: $P < 0.01$, compared with 24, 48 h

了DTX对DU145细胞的药物敏感性。OCT (100 nM) /DTX(10 nM)联合用药组细胞抑制率均高于单独用药组, $[(55.70 \pm 0.08) \% \text{ vs. } (26.23 \pm 0.03) \%, (24.77 \pm 0.04) \%, (P < 0.01)]$, 见图4。

2.2 RT-PCR结果

RT-PCR检测多烯紫杉醇与奥曲肽联合用药24 h对DU145细胞VEGF mRNA、Caspase9 mRNA、Caspase3 mRNA及ABCB1 mRNA表达的影响。结果见图5~8, 其中A图为PCR电泳结果图, B图为数据统计图。

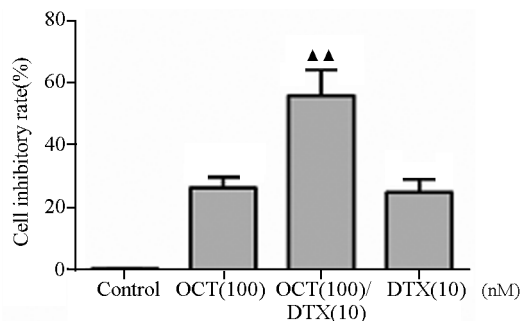
VEGF mRNA的相对表达量由图5可以观察到联合用药组与对照组、100 nM OCT组、10 nM



** $P < 0.01$, compared with DTX group

图3 奥曲肽增强DU145细胞对多烯紫杉醇的敏感性

Figure3 Octreotide enhanced the sensitivity of DU-145 cells to docetaxel



▲▲: $P < 0.01$, compared with OCT(100) group; DTX(10) group

图4 多烯紫杉醇与奥曲肽联合作用于DU-145细胞72 h的抑制作用

Figure4 Inhibitory effect of docetaxel and octreotide combinaton on DU-145 cells for 72 h

DTX组[(0.50±0.04) vs.(0.87±0.02)、(0.72±0.03)、(0.78±0.03); ($P < 0.01$)]相比表达下降,单独用药组与对照组相比表达有下降($P < 0.05$),其中100 nM OCT组的表达低于10 nM DTX组($P < 0.05$);如图6所示各组均有Caspase9mRNA的表达,联合用药组与对照组、100 nM OCT组、10 nM DTX组[(0.90±0.06) vs.(0.53±0.03)、(0.55±0.04)、(0.51±0.04); ($P < 0.01$)]相比表达升高;各组均有Caspase3 mRNA的表达,联合用药组与对照组、100 nM OCT组、10 nM DTX组[(0.97±0.01) vs.(0.80±0.01)、(0.88±0.01)、(0.94±0.00); ($P < 0.05$)]相比相对表达量升高。其中10nM DTX组的表达高于100nM奥曲肽组($P < 0.05$),药物处理组均高于对照组($P < 0.05$),见图7。ABCB1 mRNA的表达相互之间没有差异。

2.3 多烯紫杉醇与奥曲肽对细胞迁移的影响

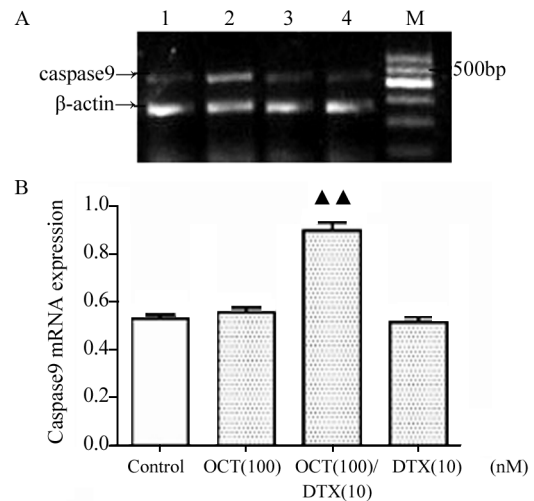
由图8可以观察到,A图为对照组细胞,划痕区几乎愈合;B图OCT(100nM)组和D图DTX(10nM)组划痕区均有细胞迁移,迁移距离均小于对照组,C图为OCT(100 nM)/DTX(10 nM)组细胞几乎没有迁移。结果表明两种药物均能抑制细胞的迁移能力,联合用药时抑制作用最大。

3 讨论

多烯紫杉醇诱导细胞凋亡主要通过增大Bcl-2磷酸化水平,下调Bcl-x_L蛋白表达水平,诱导p53和

抗血管生成因子的生成^[2]。此外凋亡还和特定基因的表达有关,如半胱氨酸酶(Caspases)家族。

Caspase家族以非活性酶原存在,被激活后,可以有序地引起各种Caspases参与下游细胞蛋白的连锁反应,引起细胞凋亡。实验组中细胞随着DTX药物浓度的增加,细胞形态发生变化:细胞变圆、

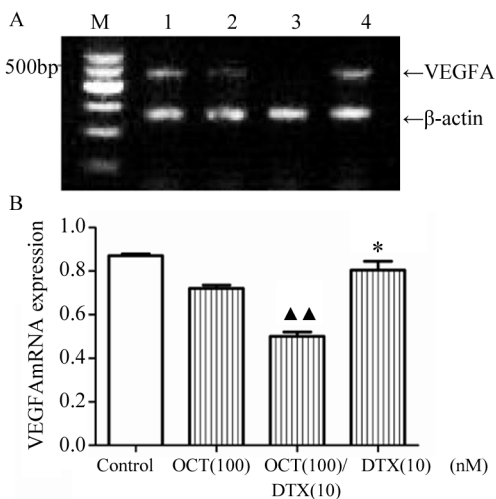


A :M: marker;1:control;2:OCT (100nM) ;3:OCT (100nM) /DTX (10nM) ;4:DTX (10nM)

B: ▲▲: $P < 0.01$, compared with OCT(100)group, DTX(10)group

图6 多烯紫杉醇与奥曲肽联合用药作用于DU145细胞24 h Caspase9 mRNA的表达

Figure6 Expression of Caspase 9 mRNA in DU-145 cells after docetaxel and octreotide combinaton treatment for 24h

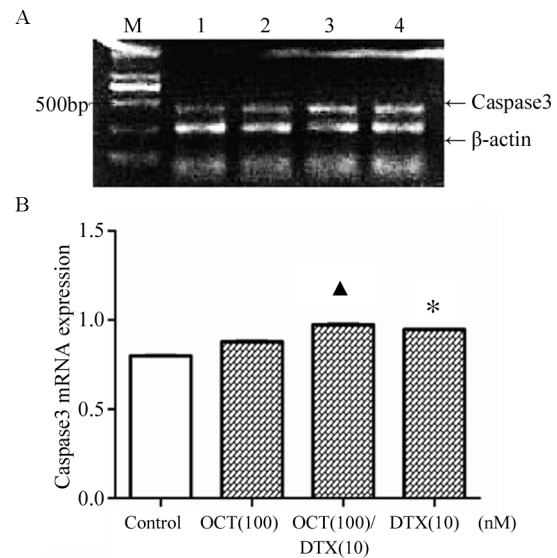


A: the result of PCR electrophoresis;M: marker;1.control;2.OCT (100nM) ;3.OCT (100nM) /DTX (10nM) ;4.DTX (10nM)

B: statistics;*: $P < 0.05$, compared with OCT(100)group; ▲▲: $P < 0.01$, compared with OCT(100)group, DTX(10)group

图5 多烯紫杉醇与奥曲肽联合用药作用于DU145细胞24 h VEGFAmRNA的表达

Figure5 Expression of VEGFA mRNA in DU-145 cells after docetaxel and octreotide combinaton treatment for 24h

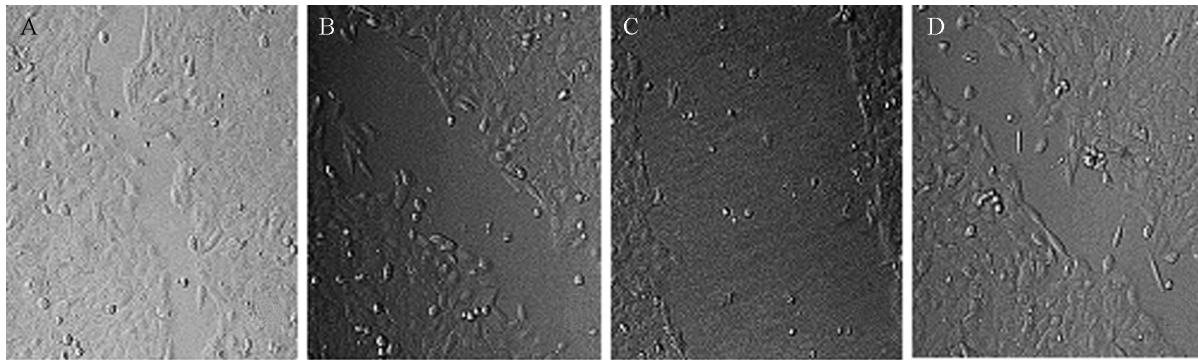


A:M:marker; 1:control; 2:OCT (100nM) ; 3:OCT (100nM) /DTX (10nM) ; 4:DTX (10nM)

B*: $P < 0.05$, compared with OCT(100)group; ▲: $P < 0.05$, compared with OCT(100)group,DTX(10)group

图7 多烯紫杉醇与奥曲肽联合用药作用于DU145细胞24 h Caspase3mRNA的表达

Figure7 Expression of Caspase 3 mRNA in DU-145 cells after docetaxel and octreotide combinaton treatment for 24h



A: control (×200); B: OCT (100nM) (×200); C: OCT (100nM) / DTX (10nM) (×200); D: DTX (10nM) (×200)

图8 多烯紫杉醇与奥曲肽联合用药作用于DU145对细胞迁移的影响

Figure8 Effects of docetaxel and octreotide combinaton on cell migration of DU-145 cells

脱落、胞质中出现空泡及胞膜皱缩等凋亡典型改变。并且浓度越高,时间越长,变化越明显。这从形态学上证实了多烯紫杉醇对DU145细胞的抑制作用。我们同时采用MTT法证实了DTX对人前列腺癌的抑制作用具有时间和剂量依赖性。

生长抑素(somatostatin, SST)是十四肽类抑制剂,具有多种分泌作用并参与多种细胞活动,包括抑制细胞分泌和增殖。这些细胞功能的实现是通过SST与6个G蛋白偶联受体(SSTR1, 2A, 2B, 3, 4和5)结合介导。SST作用的靶目标均表达不同亚型的SSTRs^[3]。多项体外实验证实SST与SSTRs之间连接具有特异性。所有的受体亚型(SSTR1-5)都介导细胞抑制作用,而SSTR2和SSTR5可以介导细胞凋亡。人类前列腺癌DU145细胞表达SSTR2和SSTR5。因此SSTRs可能成为治疗前列腺癌的潜在靶点。大量研究表明, SST及其类似物对多种实体瘤具有抑制作用,如胃癌、结肠癌、胰腺癌、肺癌、肝癌、前列腺癌等^[4]。这种抑制作用与SST诱导的肿瘤细胞凋亡有关^[5],并且SST及其类似物与其他化疗药物联合应用时可以增强多种肿瘤细胞对药物的敏感度^[6]。

奥曲肽(OCT)是人工合成的八肽SST类似物,与SSTR2和SSTR5亚型受体具有较高的亲和力。本实验发现不同浓度奥曲肽对细胞均具有一定抑制作用,抑制作用非常小,没有剂量依赖性,显微镜下观察细胞凋亡不明显。但是随着时间延长,细胞抑制作用增大,并且差异具有统计学意义。OCT对细胞的抑制作用具有时间依赖性。本实验使用的OCT是临床用药,采用不同稀释倍数处理细胞,实验使用的药物浓度受限于药物本身最大浓度。稀释的最大浓度是 0.5×10^5 nM。此时培养细胞72 h,可以观察到部分细胞有明显的凋亡形态改变。我们推测,随着细胞浓度的增

大,细胞凋亡会增加。

DTX是目前已知能够明显延长难治性前列腺癌生存时间的药物,但是其临床应用非常有限。DTX临床应用易产生耐药性,大部分患者经过DTX治疗后出现转移,并且DTX细胞毒性强,除了作用于肿瘤细胞也作用于正常细胞。这种不具有选择性的药物作用导致临床应用产生广泛的不良反应。血液系统不良反应有白细胞减少。神经毒性主要表现在四肢末梢麻木,并随着用药浓度的升高而加剧。此外还有严重的过敏反应等。而OCT在临床上应用非常广泛,不良反应少^[1]。关键点OCT和高表达SSTR2、SSTR5受体的前列腺癌细胞结合,靶向作用于癌细胞。本实验目的在于DTX与OCT联合应用于细胞,一方面减少DTX的用药剂量,降低不良反应和细胞耐药性,另一方面通过OCT靶向作用癌细胞提高药物疗效。MTT结果显示OCT能够明显增加DTX对DU145细胞的敏感度。

细胞凋亡是受基因调控的细胞自主启动的程序性死亡方式,是一种非常复杂病理和生理过程。近年来许多研究证实肿瘤的发生与凋亡密切相关。研究肿瘤细胞凋亡有可能为临床治疗肿瘤提供依据。实验研究表明所有动物细胞凋亡机制类似,其中Caspase家族在凋亡中具有重要作用。Caspase3是凋亡启动蛋白^[7]。活化的Caspase3既可以激活下游底物Caspase3、Caspase9,共同降解底物,也可以直接降解底物,如降解DNA,使其片段化等^[8]。本实验发现联合用药组Caspase3 mRNA和Caspase9 mRNA表达均升高,单独用药组Caspase9 mRNA表达无变化,单独用药组Caspase3 mRNA表达有差异,DTX组高于OCT组($P < 0.05$),提示联合用药可能激活Caspase3和Caspase9促进细胞启动凋亡机制。

恶性肿瘤最大的特点是转移和扩散,对肿瘤患者危害极大。肿瘤转移的首要条件是血管生成,是肿瘤生物学行为的重要因素^[9]。VEGFA是重要的血管生成因子,可以刺激内皮细胞增殖、迁移和增强血管通透性。目前VEGFA被认为是特异性高、作用最强的血管生成因子^[10]。VEGFA主要是通过VEGER1和VEGFR2特异性结合,受体磷酸化激活胞内信号转导通路发挥作用^[11]。最新的实验显示VEGFA还可以促进人淋巴血管内皮细胞的迁移和增生^[12]。多种肿瘤包括前列腺癌高表达VEGFA^[13],在胃癌、乳腺癌^[14]中发现VEGFA的表达和肿瘤的转移有关。本实验初步证实了VEGFA表达的变化和前列腺癌DU145细胞的迁移正相关。DTX及OCT部分抑制VEGFA的表达,OCT的抑制作用大于DTX的抑制作用,差异有统计学意义。OCT(100)/DTX(10)组抑制作用增强。实验结果表明OCT(100)/DTX(10)对细胞迁移抑制作用增强可能和VEGFA的表达有关。

我们在同样条件下检测了耐药基因ABCB1的表达,各组间无差异。ABCB1是药物代谢转运通路中蛋白,在多药耐药中起主导作用。实验证实联合用药对耐药基因ABCB1的表达没有影响。

目前DTX是治疗前列腺癌的一线药,能够有效延长患者的寿命,但是延长时间有限。奥曲肽具有靶向抑制肿瘤细胞的作用,两者联合用药,可以降低多烯紫杉醇的剂量,减少不良反应及增大杀伤作用。但是奥曲肽作用于表达SSTR2与SSTR3的靶细胞才能发挥抑制作用和促凋亡作用。多烯紫杉醇与奥曲肽联合处理细胞能否应用于临床仍需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Hejna M, Schmidinger M, Raderer M. The clinical role of somatostatin analogues as antineoplastic agents: much ado about nothing?[J] Ann Oncol,2002,13(5):653-68.
- [2] Gligorov J, Lotz JP. Preclinical pharmacology of the taxanes: implications of the differences[J]. Oncologist,2004,9 Suppl 2:3-8.
- [3] Lo Nigro C, Maffi M, Fischel JL, *et al.* The combination of docetaxel and the somatostatin analogue lanreotide on androgen-independent docetaxel-resistant prostate cancer: experimental data[J]. BJU Int,2008,102(5):622-7.
- [4] Kewkkeboom DJ,Mueller-Brand J, Paganelli G, *et al.* Overview of results of peptide receptor radionuclide therapy with 3 radiolabeled somatostatin analogs[J]. J Nucl Med,2005,46 Suppl 1:62S-6S.
- [5] Bondanelli M, Ambrosio MR, Zatelli MC, *et al.* Regression of liver metastases of occult carcinoid tumor with slow release lanreotide therapy[J]. World J Gastroenterol,2005,11(13):2041-4.
- [6] Vuaroqueaux V, Dutour A, Briard N, *et al.* No loss of sst receptors gene expression in advanced stages of colorectal cancer[J]. Eur J Endocrinol,1999,140(4):362-6.
- [7] Mikati MA,Zeinieh M,Habib RA,*et al.* Changes in sphingomyelinases, ceramide, Bax, Bcl(2), and caspase-3 during and after experimental status epilepticus[J].Epilepsy Res,2008,81(2-3):161-6.
- [8] Sharma AK,Jordan WH,Reams RY,*et al.* Temporal profile of clinical signs and histopathologic changes in an F-344 rat model of kainic acid-induced mesial temporal lobe epilepsy[J].Toxicol Pathol,2008,36(7):932-43.
- [9] Schmidt T,Carmeliet P. Angiogenesis: a target in solid tumors, also in leukemia?[J] Hematology Am Soc Hematol Educ Program,2011,2011:1-8.
- [10] Guo XL,Wang BQ,Liu T,*et al.* The Expression of VEGF-A, VEGF-C and VEGF-R3 and its Relationship with Node Metastasis in Laryngeal Squamous Cell Carcinoma[J]. Shi Yong Ai Zheng Za Zhi,2009,24(1):15-8. [彭晓林,王斌全,刘涛,等.VEGF-A、VEGF-C、VEGF-R3 在喉癌中的表达及其与淋巴转移的关系[J].实用癌症杂志,2009,24(1):15-8.]
- [11] Luan N,Wang XF. The investigation and progression about VEGF-C in the course of metastasis of tumour[J]. Xian Dai Zhong Liu Yi Xue, 2009,17(9):1805-1807.[栾宁,王雪峰.VEGF-C 与肿瘤转移的研究进展[J].现代肿瘤医学,2009,17(9):1805-7.]
- [12] Hirakawa S,Kodama S,Kunstfeld R,*et al.* VEGF-A induces tumor and sentinel lymph node lymphangiogenesis and promotes lymphatic metastasis[J]. J Exp Med,2005,201(7):1089-99.
- [13] Hoeben A,Landuyt B,Highley MS,*et al.* Vascular endothelial growth factor and angiogenesis [J].Pharmacol Rev,2004,56(4):549-80.
- [14] Mohammed RA,Green A,El-Shikh S,*et al.*Prognostic significance of vascular endothelial cell growth factors -A, -C and -D in breast cancer and their relationship with angio- and lymphangiogenesis[J].Br J Cancer,2007,96(7):1092-100.

[编辑: 黄园玲; 校对: 杨 卉]