

· 实验研究 ·

复方中药紫龙金克服肿瘤细胞多药耐药性的机制

邹珊珊 徐 榕 何琪杨

摘要 目的 探讨中药紫龙金(Zilongjin,ZLJ)对多药耐药肿瘤细胞的作用机制。**方法** 采用 MTT 法检测 ZLJ 对细胞增殖的影响;流式细胞术检测细胞周期以及罗丹明 123 的荧光强度变化;Western blot 方法检测相关蛋白的表达变化。**结果** ZLJ 分别处理人乳腺癌 MCF-7 和 MCF-7/DOX 耐药细胞,以及人口腔上皮癌 KB 和 KBV200 耐药细胞。MTT 法测定表明:ZLJ 作用耐药和敏感细胞的 IC₅₀ 值相近,耐药细胞对 ZLJ 没有交叉耐药性;无论对敏感和耐药细胞,流式细胞术分析发现 ZLJ 阻断细胞于 S 期;ZLJ 单独处理 MCF-7/DOX 和 KBV200 耐药细胞,可以微弱地降低其耐药性,分别与多柔比星(doxorubicin,DOX)和长春新碱(vincristine,VCR)合用,可以明显地增加 DOX 和 VCR 的活性;ZLJ 处理耐药细胞 MCF-7/DOX 后,检测到细胞内耐药蛋白 P-糖蛋白(P-glycoprotein,P-gp)呈时间依赖性降低。Western blot 检测表明,ZLJ 的抑制作用是通过使凋亡标志蛋白 PARP 出现切割,启动凋亡通路实现的。**结论** 中药 ZLJ 抑制耐药细胞增殖,没有交叉耐药性;其抑制作用与诱导细胞凋亡以及降低 P-gp 表达有关。

关键词 多药耐药性;肿瘤细胞;紫龙金;细胞凋亡;中药药理

Mechanism of Chinese Herbal Compound Zilongjin for Antagonizing Multi-drug Resistance of Tumor Cells
ZOU Shan-shan, XU Rong, and HE Qi-yang *Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing (100050)*

ABSTRACT Objective To explore the mechanism of action of Zilongjin (ZLJ) in antagonizing multi-drug resistance (MDR) of tumor cells. **Methods** MDR tumor cells, including human breast cancer cell line MCF-7 and MCF-7/DOX, and human oral epithelial cancer cells KB and KBV200, were treated with ZLJ. The inhibition of ZLJ on cell proliferation was determined with MTT assay; cell cycle and fluorescence dye Rhodamine123 intensity were detected by flow cytometry; and the expression of related proteins was examined by Western blot. **Results** IC₅₀ values in MDR cells after ZLJ treatment were similar to those in sensitive cells; MDR cells showed no cross resistance to ZLJ. Flow cytometric analysis showed that the cell cycles of either sensitive or MDR cells were arrested at S phase after exposure to ZLJ. Using ZLJ singly showed a weak inhibition on MDR of MCF-7/DOX and KBV200 cells, but when used in combining with doxorubicin or vincristine, it evidently increased their cytotoxicity. Expression of P-glycoprotein in MCF-7/DOX cells decreased after ZLJ treatment in a time-dependent manner. Western blot showed that ZLJ could cause the apoptosis marker protein PARP cleavage to initiate the apoptotic pathway. **Conclusions** The proliferation of tumor cells with MDR could be inhibited by ZLJ and they show no cross resistance to ZLJ. The inhibitory effect is related to the activation of apoptotic pathway and the decrease of P-glycoprotein expression.

KEYWORDS multi-drug resistance; tumor cells; Zilongjin; cell apoptosis; pharmacology for Chinese drugs

复方中药紫龙金(原名白龙片,Zilongjin,ZLJ),药

理研究表明:ZLJ 通过抑制 cAMP 和 PKC 双信使,具有明显的抗癌作用^[1]。临床研究显示 ZLJ 与细胞毒化疗药物联合应用,治疗肺癌、结肠癌、乳腺癌、胃癌等多种中晚期肿瘤患者,具有明显的减毒增效作用^[2]。

肿瘤细胞的多药耐药性(multidrug resistance, MDR)往往导致临床肿瘤化疗的失败。其机制主要与外排抗肿瘤药物的蛋白超表达、解毒酶系如谷胱甘肽

基金项目:国家自然科学基金(No. 30672482);科技部“重大新药创制”综合性大平台项目(No. 2009ZX09301-003)

作者单位:中国医学科学院北京协和医学院医药生物技术研究所(北京 100050)

通信作者:何琪杨,Tel: 010-63131856, E-mail: qyh2000bj@yahoo.com.cn

转移酶 π (glutathione S-transferase π) 活性升高及抗细胞凋亡等多种机制有关^[3]。

本研究通过细胞和分子生物学方法,研究紫龙金对耐药和敏感细胞的作用机制,以期为紫龙金的进一步临床应用提供可靠的实验证据。

材料与方法

1 药品 紫龙金由白英、龙葵、黄芪、当归等中药组成,其粉末由北京大学临床肿瘤学院王代树教授惠赠,粉末用双蒸水配制成 10 mg/mL 的药液,高压灭菌促溶后,6 000 r/min 离心 10 min,使用时用 RPMI 1640 培养液稀释。多柔比星 (doxorubicin, DOX) 和长春新碱 (vincristine, VCR) 购于 Sigma 公司;粉防己碱 (tetrandrine, Tet) 购于中国药品生物制品检定所。

2 仪器、试剂与抗体 细胞培养箱 (三洋公司),倒置显微镜 (COIC JAPAN),台式离心机 (Sigma),低温离心机 MIKRO 200R (LABWAY Science),可见紫外分光光度计 DU800 (Beckman),蛋白垂直电泳仪 (BIO-RAD),蛋白转膜系统 (Invitrogen X Cell II TM blot module),凝胶成像仪 ChemiImager 5500 (Alpha Innotech Co),酶标仪 Sunrise (TECAN),流式细胞仪 (BD FACS Calibur)。RPMI 1640 粉末 (Invitrogen),胎牛血清 (FBS,天津灏海生物制品科技有限责任公司),二甲基亚砜 (Dimethyl sulfoxide, DMSO)、碘化丙锭 (propidium iodide, PI)、RNA 酶、罗丹明 123 (Rhodamine 123)、牛血清白蛋白 (BSA)、MTT 购自 Sigma。其他试剂,如无水乙醇、氯仿、异丙醇均为国产分析纯。鼠抗 P-糖蛋白抗体 (C219) 购自 Calbiochem,兔抗 p53 抗体 (sc-126)、兔抗 actin 抗体 (sc-1616) 购自 Santa Cruz Biotechnology,兔抗 PARP 抗体购自 Cell Signaling Technology。

3 方法

3.1 细胞培养 本实验中所用人乳腺癌耐 DOX 的 MCF-7/DOX 多药耐药细胞及其亲本 MCF-7 敏感细胞来自美国国立癌症研究院。人口腔上皮癌 KB 细胞及 KBV200 多药耐药细胞由中国医学科学院药物研究所刘耕陶教授惠赠,使用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液,培养在 37 ℃,5% CO₂ 的培养箱中。

3.2 细胞增殖抑制的测定 采用 MTT 法测定。接种 96 孔板,MCF-7、KB、KBV200 分别接种 3 000 个/孔,MCF-7/DOX 接种 6 000 个/孔,37 ℃ 培养 24 h,加 ZLJ,浓度分别为 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mg/mL,72 h 后吸出培养液,加入 100 μ L 0.5 mg/mL 的 MTT,避光 37 ℃ 温箱 2 h,弃 MTT,加入 200 μ L DMSO,振荡

10 min,酶标仪测定 570 nm 处吸光度 (A) 值。细胞存活率 (%) = (加药细胞 A 值 - 本底 A 值) / (对照细胞 A 值 - 本底 A 值) $\times$ 100%。每检测点取 3 个平行孔的平均值,实验重复至少 3 次,计算 IC₅₀ 值。

3.3 细胞内罗丹明 123 的积累变化 采用流式细胞仪检测。对数生长期的细胞以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板,24 h 后加药处理,同时加入罗丹明 123 终浓度为 5 μ g/mL,37 ℃ 继续培养 1 h。PBS 清洗 2 次,消化收集细胞,置于预冷的无血清培养基中,流式细胞仪测定罗丹明 123 的荧光强度,确定肿瘤细胞耐药性的变化。

3.4 细胞周期的变化 采用流式细胞仪检测。对数生长期的细胞以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板,24 h 后加药处理,处理的时间为 24 h,PBS 清洗两次,消化收集细胞,置于培养液中,离心 1 000 r/min,5 min,PBS 清洗两次,用 70% 乙醇固定,4 ℃ 过夜,加入 RNA 酶 (终质量浓度 100 μ g/mL),37 ℃ 孵育 30 min,加入碘化丙锭 (PI) 染色液至终浓度 50 μ g/mL,室温避光 1 h,细胞经 300 目尼龙网过滤后,流式细胞仪检测 PI 荧光强度,MODFIT 软件分析细胞周期的变化。

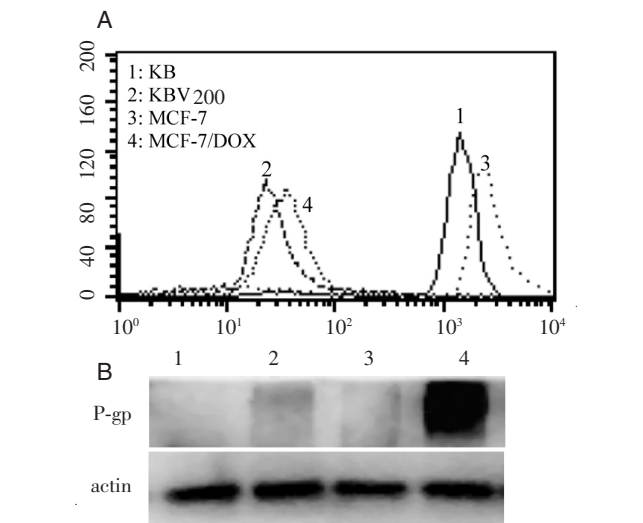
3.5 Western blot 收集药物处理后细胞,加入细胞裂解液 (25 mmol/L Tris-HCl pH 7.5,150 mmol/L NaCl,10% Glycerol,10 mmol/L glycerophosphate,2 mmol/L EDTA,5 mmol/L sodium pyrophosphate,5 mmol/L NaF,1 mmol/L Na₃VO₄,0.5% Triton X-100,使用前加入蛋白酶抑制剂 PMSF、Aprotinin 和 Leupeptin,使其终浓度分别为 1 mmol/L、2 μ g/mL 和 2 μ g/mL),冰浴充分裂解 30 min,4 ℃ 12 000 r/min 离心 15 min,取上清。蛋白浓度测定采用 Bradford 法。SDS-PAGE 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质,将蛋白质转移到 PVDF 膜上,常规孵育一抗和二抗,ECL plus 超敏免疫印迹检测试剂 Amersham 公司,检测蛋白表达,化学发光成像系统 Chemi Imager 5500 (Alpha Innotech 公司) 捕获图像。

4 统计学方法 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.0 软件进行统计,单变量多组资料之间比较采用单因素方差分析。

结 果

1 人乳腺癌 MCF-7/DOX 耐药细胞和人口腔上皮癌 KBV200 耐药细胞的耐药特征 MCF-7/DOX 细胞是用 DOX 长期处理敏感细胞 MCF-7 得到的,而 KBV200 细胞是用 VCR 长期处理敏感细胞得到。因为罗丹明 123 是 P-gp 的外排底物,通过流式细胞仪检测细胞内的荧光强度差异,可以判别耐药性的变化。

结果表明:耐药细胞中的罗丹明 123 荧光强度显著低于敏感细胞,MCF-7/DOX 细胞低 55 倍,KBV200 细胞低 31 倍,说明两株细胞的耐药特征明显(图 1A)。用抗 P-gp 的抗体检测耐药细胞中的 P-gp 表达,可以明显地观察到 MCF/DOX 细胞中 P-gp 的高表达(图 1B)。但是 KBV200 中 P-gp 的表达量较低,可能该细胞株中有其他耐药相关蛋白也出现超表达。



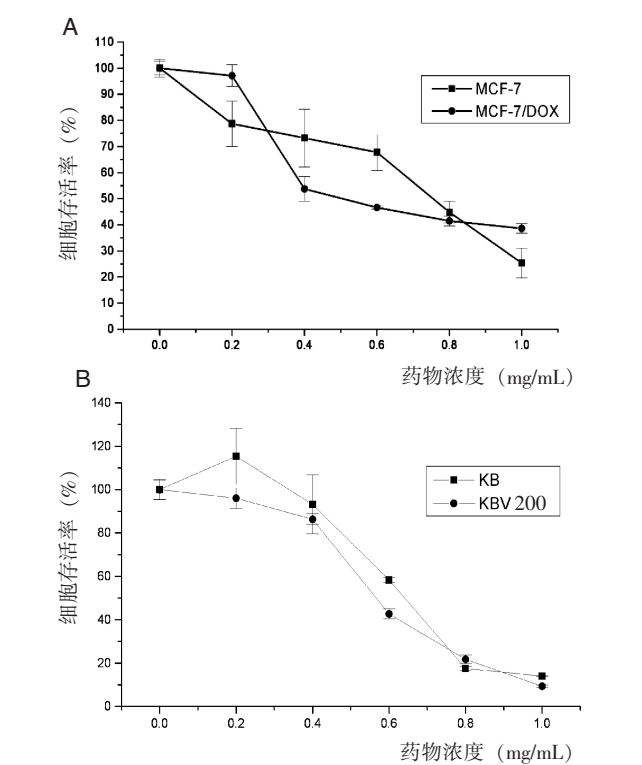
注:A. 罗丹明 123 荧光强度在敏感和耐药细胞中的变化;
B. P-gp 的表达变化; 1 为 KB; 2 为 KBV200; 3 为 MCF-7; 4 为 MCF-7/DOX

图 1 MCF-7/DOX 和 KBV200 耐药细胞的特征

2 ZLJ 抑制 MCF-7 细胞和 KB 细胞的增殖 使用相同的系列药物浓度,处理敏感和耐药细胞 72 h。MTT 法检测结果表明:MCF-7/DOX 对 ZLJ 没有交叉耐药性。在 0.2 mg/mL 药物浓度作用条件下,ZLJ 只是轻微抑制细胞增殖,在 1 mg/mL 药物浓度作用条件下,细胞抑制率分别为 25.3% 和 38.6%,在 0.4 ~ 0.8 mg/mL 浓度范围内,与 MCF-7 比较,MCF-7/DOX 对 ZLJ 更为敏感。ZLJ 对 MCF-7 和 MCF-7/DOX 生长抑制的 IC₅₀ 值分别为 0.69 mg/mL 和 0.65 mg/mL(图 2 A),统计学检验差异无统计学意义。

用 ZLJ 处理 KB 和 KBV200 细胞,也得到近似的结果(图 2 B),KBV200 对 ZLJ 也没有交叉耐药性,比 KB 细胞更为敏感。ZLJ 抑制 KB 和 KBV200 细胞的 IC₅₀ 值分别为 0.61 mg/mL 和 0.59 mg/mL,统计学检验差异无统计学意义。

3 ZLJ 影响 MCF-7 和 KB 细胞的细胞周期 分别用 0.3、0.6、0.9 mg/mL ZLJ 处理 MCF-7 和 MCF-7/DOX 以及 KB 和 KBV200,时间为 24 h,用流式细胞仪分析细胞周期。结果表明:ZLJ 阻断 MCF-7 和 MCF-7/DOX 细胞于 S 期,敏感株和耐药株具有相似的特征。



注:A. ZLJ 对人乳腺癌细胞 MCF-7 和 MCF-7/DOX 的生长抑制曲线; B. ZLJ 对口腔上皮癌细胞 KB 和 KBV 的生长抑制曲线

图 2 ZLJ 抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞和口腔上皮癌 KB 细胞的增殖

在 MCF-7/DOX 细胞中,随着 ZLJ 浓度的增加,S 期比例由 29.9% 升高到 45.7%。在 MCF-7 敏感细胞中,随着 ZLJ 浓度的增加,S 期比例依次升高,且由 25.1% 增加到 36.2%。此外,G2/M 期也有显著阻断作用,由 8.4% 升高到 29.9%,仅在 MCF-7 细胞观察到对该期细胞的阻断作用(表 1)。

用 ZLJ 处理 KB 和 KBV200 细胞也得到相似的结果,ZLJ 阻断 KB 和 KBV200 于 S 期。在 KB 细胞中,随着 ZLJ 浓度的增加,S 期比例由 30.5% 逐步升高到 58.2%;而在 KBV200 细胞中,S 期比例由 23.3% 增加到 43.6%(表略)。

表 1 ZLJ 对人乳腺癌 MCF-7 细胞周期的影响 (%)			
药物浓度 (mg/mL)	G1	S	G2/M
MCF-7 细胞			
0	66.5	25.1	8.4
0.3	63.0	25.5	11.5
0.6	58.4	27.5	14.1
0.9	3.9	36.2	29.9
MCF-7/DOX 细胞			
0	56.3	29.9	13.8
0.3	60.3	28.0	11.7
0.6	60.6	24.2	15.2
0.9	40.4	45.7	13.9

4 ZLJ 单独处理逆转耐药性的作用观察 为了进一步观察 ZLJ 处理后耐药性的变化,用罗丹明 123 染色,流式细胞仪检测荧光强度的变化(图 3)。24 h 药物处理后,MCF-7/DOX 和 KBV200 细胞在高浓度处理下的荧光强度略微增加,MCF-7/DOX 荧光强度增加了 71.2%,KBV200 荧光强度增加了 21.1%,说明 ZLJ 具有微弱逆转耐药性的作用。阳性药 Tet 逆转耐药性的作用明显。

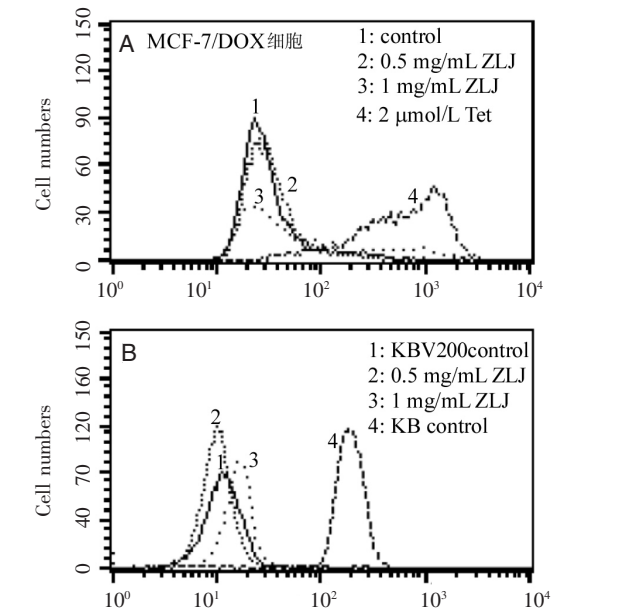


图 3 ZLJ 长时间(24 h)药物处理对两株耐药细胞耐药性的影响

5 ZLJ 增强 DOX 和 VCR 对耐药细胞活性的影响 (表 2) 为了观察 ZLJ 是否与其他抗肿瘤药物合用对耐药细胞具有增效作用,采用 ZLJ 和低浓度的 DOX、VCR 合用,MTT 法检测其对细胞增殖的影响。通过药物联合作用 CDI 分析,确定是否对耐药细胞有增效作用。结果表明:对于 MCF-7/DOX 细胞,低浓度 0.25 mg/mL ZLJ 处理,CDI > 1,细胞存活率没有变化;ZLJ

表 2 ZLJ 与 DOX 和 VCR 合用对耐药细胞存活率的影响 (x ± s)

MCF-7/DOX		KBV 200	
处理方法	细胞存活率(%)	处理方法	细胞存活率(%)
DOX 0 + ZLJ 0	100.00 ± 1.94	VCR 0 + ZLJ 0	100.00 ± 4.90
+ ZLJ 0.25	100.00 ± 0.64	+ ZLJ 0.25	96.13 ± 0.71
+ ZLJ 0.50	73.13 ± 4.20	+ ZLJ 0.50	50.34 ± 2.61
DOX 5 + ZLJ 0	75.87 ± 1.84	VCR 100 + ZLJ 0	87.42 ± 2.34
+ ZLJ 0.25	83.06 ± 2.61	+ ZLJ 0.25	85.61 ± 1.35
+ ZLJ 0.50	49.73 ± 2.88**	+ ZLJ 0.50	40.12 ± 3.28
DOX 10 + ZLJ 0	68.38 ± 2.25	VCR 200 + ZLJ 0	80.51 ± 1.30
+ ZLJ 0.25	71.37 ± 3.68	+ ZLJ 0.25	70.76 ± 3.45**
+ ZLJ 0.50	48.26 ± 5.74*	+ ZLJ 0.50	36.00 ± 2.54

注:DOX 的药物浓度单位为 mmol/L, VCR 的药物浓度单位为 nmol/L, ZLJ 的药物浓度单位为 mg/mL;与相应药物浓度单药组比较;*P < 0.05, **P < 0.01

浓度为 0.5 mg/mL 时,与 5 mmol/L 和 10 mmol/LDOX 合用的 CDI 分别为 0.96、0.89,有微弱的增效作用。ZLJ 处理 KBV200 细胞,结果与 MCF-7/DOX 相似。ZLJ 浓度为 0.5 mg/mL 时,100 nmol/L 和 200 nmol/LVCR 合用的 CDI 分别为 0.91、0.89,有一定的增效作用。

6 ZLJ 诱导细胞凋亡 为了研究 ZLJ 对四株细胞的增殖抑制作用是否通过诱导细胞凋亡来实现的,用 Western blot 方法检测凋亡通路标志蛋白 PARP 以及调控蛋白 p53 的变化(图 4)。结果表明:经过 24 h 药物作用后,MCF-7、KB 和 KBV200 出现明显的 PARP 蛋白切割片断,说明 ZLJ 可以诱导细胞凋亡。虽然处理 MCF-7/DOX 细胞 24 h,未检测到 PARP 切割片断,延长处理时间到 48 h,也可明显地检测得到(结果未显示)。此外,MCF-7 和 KB 中 p53 表达均随药物浓度增加而升高,这表明药物作用敏感株细胞是与依赖 p53 的凋亡通路有关,相反,在 MCF-7/DOX 和 KBV200 中,p53 的表达降低,这在高浓度药物作用下尤为显著。

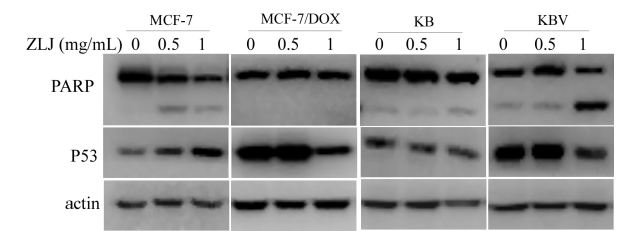
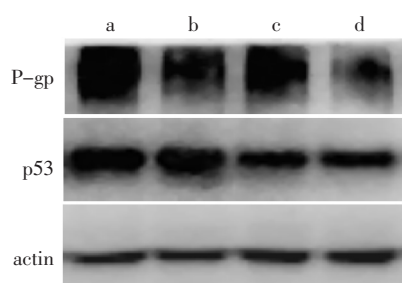


图 4 ZLJ 药物对细胞凋亡通路的作用

7 ZLJ 降低 MCF-7/DOX 细胞中的 P-gp 的表达 (图 5) 耐药株较敏感株的 P-gp 表达显著增加,ZLJ 的克服耐药性作用,可能会影响 P-gp 的表达。利用 Western blot 方法检测药物处理蛋白含量的变化,ZLJ 处理 MCF-7/DOX 细胞后,P-gp 的表达随处理时间逐渐降低,到 36h 已经十分明显。此外,p53 的表达在

ZLJ 处理 24 h 后就已经明显降低。



注: a: MCF-7/DOX control, b: ZLJ 处理 MCF-7/DOX 细胞 12 h, c: ZLJ 处理 MCF-7/DOX 细胞 24 h, d: ZLJ 处理 MCF-7/DOX 细胞 36 h

图 5 ZLJ 处理不同时间 MCF-7DOX 细胞中 P-gp 表达变化

讨 论

复方中药 ZLJ 是一种新型的抗癌中药,由白英、龙葵、黄芪、当归等中药组成,具有益气养血、清热解毒和化瘀消肿的功效,在临床上应用于胃癌、结肠癌、乳腺癌等常见肿瘤的治疗。早前有实验表明 ZLJ 主要是调控细胞周期失控的癌细胞向正常细胞周期逆转,而不损伤正常细胞,药物从多个层次,多靶位调节癌细胞的相关分子,可以使两条膜信号传导通路中的 cAMP/PKA 上调,DAG/PKC 下调,可以抑制癌基因 c-H-ras 和 c-myc 表达,增强抑癌基因 p53、p16、Rb 等的表达^[4,5]。

本研究对比了 ZLJ 抑制敏感株细胞和耐药株细胞的增殖作用,结果表明 ZLJ 不仅能抑制敏感株细胞的增殖,对多药耐药细胞也表现出相似的抑制效果,展示了可以使用 ZLJ 克服多药耐药性的可能,初步认为 ZLJ 不会导致肿瘤细胞产生多药耐药性。同时,ZLJ 分别与抗癌药物 DOX 和 VCR 合用可以增加 DOX 和 VCR 的活性,对抑制耐药细胞增殖有增效作用,为临床上联合用药提供了科学依据。ZLJ 的这个特点使得其在临床上的应用更为广泛,可以应用于由化疗药物等引起肿瘤细胞多药耐药性的患者。

有研究表明,ZLJ 在控制细胞周期水平上,是多层次、多靶点的,在 G1/S、G2/M 各期水平都有调节作用,如在前列腺癌细胞中,ZLJ 可以阻断 G1 期,提高 P16 的表达^[6];在某些癌细胞中,ZLJ 则是在 G2 期抑制 CDK4 向核内移位,延长 G2 期进入 M 期,推迟细胞分裂;S 期阻断 DNA 的合成。在本研究中,ZLJ 对人乳腺癌 MCF-7 细胞和人口腔上皮癌 KB 细胞,均对 S 期有明显的阻滞作用,与以前的研究有所不同,有可能是 ZLJ 对不同组织来源的肿瘤细胞作用不同所致。

抗肿瘤药物的抑瘤作用是通过引起肿瘤细胞凋亡

实现的,在细胞凋亡时,根据作用靶点的不同,激活线粒体凋亡通路或细胞膜凋亡通路^[7,8]。ZLJ 处理耐药细胞后,也检测到了凋亡标志蛋白 PARP 被切割,表明启动了凋亡通路。另外,在检测 ZLJ 引起细胞凋亡时,发现 MCF-7/DOX 在 24 h 没有出现 PARP 的切割,该现象我们在研究其他抗肿瘤药物作用时也出现过。至于 ZLJ 处理后 P-gp 的含量降低,其原因可能与凋亡有关,在细胞凋亡过程中 Caspase-3 活化,而 P-gp 是 Caspase-3 的底物^[9]。

近年来,随着各种“组学”的研究广泛开展,出现了从整体和整合角度研究生命的系统生物学,给疾病的预防和预测提供了新思路^[10],也给中西医结合找到了交汇点。在对药物发展研究中,2008 年出现了网络药理学(network pharmacology)的新概念^[12],指出了现代药学研究中从单一靶点发展药物的缺陷和临床风险,强调从多靶点角度发展药物。而 ZLJ 的多靶点、多层次作用显然与现代医学的大趋势相吻合,值得深入研究。

参 考 文 献

- [1] 王代树,梁云燕,穆育新,等. 细胞分子调节剂抑癌中药紫龙金的研制(信使、基因与细胞周期引擎分子调节)[J]. 医学研究通讯, 2003, 32(4): 21-22.
Wang DS, Liang YY, Mu YX, et al. Studies on cell molecular modulator-antitumor Chinese medicine Zilongjin (molecular regulation of messages, genes and cell cycle check)[J]. J Med Res, 2003, 32(4): 21-22.
- [2] 章新奇,刘淑俊,梁云燕,等. 白龙片配合化疗治疗中晚期恶性肿瘤的临床研究[J]. 中国中西医结合杂志, 1998, 18(1): 24-25.
Zhang XQ, Liu SJ, Liang YY, et al. Clinical study on treatment of middle and advanced stage cancers by Bailong Tablet combined with chemotherapy[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 1998, 18(1): 24-25.
- [3] Gottesman MM, Fojo T, Bates SE. Multidrug resistance in cancer: role of ATP-dependent transporters[J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(1): 48-58.
- [4] 李宝元,梁云燕,王代树,等. 中药白龙与环六亚甲基二乙酰胺对人胃癌不同周期细胞生长与表型调节的共性研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(5): 354-358.
Li BY, Liang YY, Wang DS, et al. Regulative effect of Bailong and hexamethylene bisacetamide on growth and phenotype of human gastric cancer cells in cell cycle[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2001, 21(5): 354-358.
- [5] 王代树,施学东,梁云燕,等. 中药白龙与 HMBA 对人癌周期 CKI-p16 的调控[J]. 中国中西医结合杂志,

- 2001, 21 (10): 763-766.
- Wang DS, Shi XD, Liang YY, et al. Regulation of Chinese medicine Bailong and hexamethylene bisacetamide on cycline dependent kinase inhibitor p16 genes in human cancer cell[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2001, 21 (10): 763-766.
- [6] 李学松, 梁云燕, 王代树, 等. 复方中药紫龙金对前列腺癌细胞系 LNCaP 的体外作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2004, 24(7): 621-624.
- Li XS, Liang YY, Wang DS, et al. *In vitro* effect of Zilongjin on prostate cancer cell line LNCaP[J]. Chin J Integr Tradit West Med, 2004, 24(7): 621-624.
- [7] Johnstone RW, Ruefli AA, Lowe SW. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy [J]. Cell, 2002, 108(2): 153-164.
- [8] MacKenzie SH, Clark AC. Targeting cell death in tumors by activating caspases [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008, 8(2): 98-109.
- [9] Mantovani I, Cappellini A, Tazzari PL, et al. Caspase-dependent cleavage of 170-kDa P-glycoprotein during apoptosis of human T-lymphoblastoid CEM cells[J]. J Cell Physiol, 2006, 207(3): 836-844.
- [10] Hood L, Heath JR, Phelps ME, et al. Systems biology and new technologies enable predictive and preventative medicine[J]. Science, 2004, 306(5696): 640-643.
- [11] Hopkins AL. Network pharmacology: the next paradigm in drug discovery[J]. Nat Chem Biol, 2008, 4(11): 682-690.

(收稿: 2009-12-14 修回: 2010-03-23)

国际中医药防治艾滋病大会征文通知

“国际中医药防治艾滋病大会”定于 2010 年 10 月 15—17 日在北京召开。本次大会以“中医药防治艾滋, 促进免疫重建”为学术主题, 围绕中医药在促进艾滋病免疫重建中的角色, 将其疗效特点、作用机制以及相关专业领域热点问题加以探讨, 为从事中医药艾滋病防治的专业人员和制药企业提供一个国际学术交流平台, 为开展国内外科研协作、新药研发以及高层次人才培养提供良好的契机。同时, 通过与会专家的广泛参与, 汇集专家见解, 以科学证据为基本点, 形成艾滋病免疫重建中医综合治疗指南。

此次会议的举办是依托于国务院组织实施的“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项, 大会将邀请国内、外著名艾滋病学家、免疫学家进行精彩的报告, 并征集专业领域科研成果和实践经验, 力求全面准确的反映当前艾滋病防治领域的新观念、新进展, 努力将大会办成一次高水平的学术盛会。

征文通知 (1) 艾滋病流行病学现状与治疗进展; (2) 艾滋病免疫重建实验室指标研究及监测; (3) 中药促进艾滋病免疫重建的疗效及作用机制; (4) 抗艾滋病有效中药的活性筛选及作用靶点研究; (5) 艾滋病临床疗效评价研究; (6) 中药联合高效抗逆转录病毒疗法 (HAART) 的合理应用及耐药、不良反应的防治; (7) 多学科综合防治艾滋病新技术、新方法的研究; (8) 艾滋病的中医病因病机、证候分布特点及演变规律; (9) 中医药防治艾滋病临床科研平台建设; (10) 艾滋病的预防管理措施及方法; (11) 艾滋病患者人文关怀及社会心理学研究。

征文格式 (1) 文稿的撰写请提交全文和 1 000 字以内的中文摘要; (2) 文题应简明、扼要, 准确地反映文章的主题, 作者姓名在文题下按序排列, 并标明所在城市和单位; (3) 论著和综述须有中文和英文摘要。中文摘要应包括目的、方法、结果 (应有主要数据)、结论 4 部分内容; (4) 论文的正文由引言、材料和方法、结果、讨论、参考文献等组成; (5) 凡获得基金资助产出的文章, 应注明基金项目名称、编号; (6) 一律要求采用电子版文稿, 恕不接受纸质稿件。

投稿方法 请以电子邮件方式将文稿发送到中国中医科学院广安门医院免疫重建项目办公室专用邮箱: tcmaids@163.com, 邮件主题标明“国际会议投稿”字样, 务请写明第一作者或通讯作者的姓名、单位、科室、邮编、地址、联系电话 (手机) 以及电子邮箱。

论文截稿日期 2010 年 8 月 15 日。

大会组织委员会和学术委员会将邀请有关专家认真审阅和讨论来稿, 遴选出大会优秀论文, 予以奖励和颁发证书, 并作大会报告; 部分高质量论文将以壁报形式在会议期间展登交流; 其他文章将摘要集成汇编, 不影响向杂志投稿发表。凡被选为口头报告和壁报交流的论文作者, 大会秘书处将提前通知, 以便准备。

会议注册 详细信息查询请登陆中国中医药艾滋病网 <http://www.aidstem.com>