

从 OPG/RANKL/RANK 系统阐述补骨脂 - 蛇床子 抑制乳腺癌骨转移的机制

刘 胜¹ 吴春宇¹ 程旭锋¹ 杨顺芳² 宋晓耘¹

摘要 目的 从 OPG/RANKL/RANK 系统探讨不同比例补骨脂 - 蛇床子抑制乳腺癌骨转移的机制,发掘补骨脂 - 蛇床子抑制乳腺癌骨转移最佳配伍比例。方法 MDA-MB-231BO 注射裸鼠左心室制造乳腺癌骨转移模型,随机分为补骨脂:蛇床子 4:0 组、3:1 组、1:1 组、1:3 组、0:4 组、唑来磷酸组、生理盐水组,实验组在造模后 1 周给予中药煎剂灌胃干预,阳性对照组造模后 1 周腹腔注射唑来磷酸,阴性对照组造模后 1 周灌胃生理盐水。用药 6 周后,通过放射性核素骨显像和 X-ray 摄片找到转移病灶,然后取病变组织进行 RT-PCR 及 Western-blot 检测护骨素 (osteoprotegerin, OPG)、核因子 κ B 的受体激活剂配体 (receptor activator of NF- κ B ligand, RANKL)、白介素 8 (interleukin-8, IL-8)、甲状旁腺激素相关蛋白 (parathyroid hormone-related peptide, PTHrP)、巨噬细胞集落因子 (macrophage colony stimulating factor, MCSF) 的基因及蛋白表达量。结果 蛇床子、补骨脂及补骨脂 - 蛇床子不同配伍比例均对抑制骨转移基因有一定的作用,OPG 的表达量增高(蛇床子:补骨脂 1:1 组 mRNA 的表达量 (60.343 ± 6.274)), IL-8、PTHrP、MCSF、RANKL 的表达量均下降(蛇床子:补骨脂 1:1 组 IL-8、PTHrP、MCSF、RANKL mRNA 的表达量分别是 218.010 ± 12.802 , 232.399 ± 14.354 , 319.831 ± 5.322 , 195.701 ± 4.862)。中药蛇床子:补骨脂 1:1 组对相关抑制骨转移基因的 mRNA 表达量作用效果最为明显,与生理盐水组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。同时,蛇床子、补骨脂及蛇床子:补骨脂不同配伍比例均能够上调骨转移灶中 OPG、下调 RANKL、IL-8、PTHrP、MCSF 的蛋白表达。其中,补骨脂:蛇床子 1:1 组的效果最为明显,与生理盐水组比较差异有统计学意义。结论 补骨脂 - 蛇床子通过激活 OPG/RANKL/RANK 通路,抑制乳腺癌骨转移,其中 1:1 组效果最为明显,为最佳配伍比例。

关键词 骨转移;动物模型;蛇床子;补骨脂

Inhibitory Acting Mechanism of Psoralea-Osthole on Bone Metastasis of Breast Cancer—An Expatiation Viewing from OPG/RANKL/RANK System LIU Sheng, WU Chun-yu, CHEN Xu-feng, et al *Department of Traditional Chinese Medicine Surgery, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai (200032)*

ABSTRACT Objective To find the optimal proportion of *Composite Fructus Psoraleae* and *Fructus Cnidii* (CFPC) for inhibiting the bone metastasis of breast cancer by way of exploring its acting mechanism viewing from OPG/RANKL/RANK system. Methods The human bone metastasis of breast cancer model was established by injecting tumor cells of MDA-MB-231BO cell line into the left cardiac ventricle of nude mice. The modeled mice were randomly divided into seven groups: the blank group administered with normal saline by gastrogavage, the positive control group with zoledronic acid via peritoneal injection, and the 5 tested group with CFPC in different proportions of *Fructus Psoraleae* and *Fructus Cnidii*, i. e. (A, 4:0; B, 3:1; C, 1:1; D, 1:3, and E 0:4), given by gastric infusion. The treatment started from 1 week after modeling and lasted for six weeks. By the end of the experiment, the metastatic foci in bone were imaged by radionuclide tracing method and X-ray photograph, and separated for detecting gene and protein expressions of osteoprotegerin (OPG), receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL), interleukin-8 (IL-8), parathyroid hormone-related protein (PTHrP), macrophage colony stimulating factor (MCSF) by Real-time PCR and Western blot respectively. Results Inhibition of bone me-

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 30772811);上海市教委曙光跟踪计划资助项目(No. 08GG12);上海高校创新团队中医外科学资助项目

作者单位:1. 上海中医药大学龙华医院中医外科(上海 200032);2. 上海交通大学附属胸科医院核医学科(上海 200030)

通讯作者:刘 胜, E-mail: yige823@yahoo.com.cn

tastasis gene was displayed to some extent in all the tested groups treated with CFPC, showing an increased level of OPG mRNA expression (It was 60.343 ± 6.274 in the tested group C), and decreased mRNA expressions of IL-8, PTHrP, MCSF, RANKL (218.010 ± 12.802 , 232.399 ± 14.354 , 319.831 ± 5.322 , and 195.701 ± 4.862 , respectively in the tested group C). The optimal effect was shown in the tested group C, showing significant difference to that in the blank group ($P < 0.01$). Meanwhile, the OPG in the bone metastatic foci could be up-regulated and protein expressions of RANKL/IL-8/PTHrP/MCSF down-regulated in all the tested groups. The optimal effect was shown in the tested group C, with significant difference from those of the normal saline group.

Conclusion CFPC could inhibit the bone metastasis of breast cancer through activating OPG/RANKL/RANK pathway. Among different proportions of *Fructus Psoraleae* and *Fructus Cnidii*, 1:1 was the best one.

KEYWORDS bone metastasis; animal model; *Fructus Psoraleae*; *Fructus Cnidii*

骨骼是恶性肿瘤转移最常累及的器官。约 70% 的乳腺癌会发生骨转移^[1],且骨转移往往不能治愈。乳腺癌骨转移后的 5 年生存率约 20%^[2]。多数乳腺癌骨转移患者的转移灶是溶骨性病变,由于骨质和骨膜的破坏,常造成进行性骨痛,病理性骨折,致命的高钙血症,脊髓受压以及其他神经压迫综合征,严重影响了患者的生活质量^[3]。目前,防治乳腺癌骨转移仍然是个世界性的医学难题。近年来,中药在抗肿瘤转移研究方面取得了较大的进展。因此,研究乳腺癌骨转移的机制,在中医学理论的指导下发掘治疗乳腺癌骨转移的有效中医治法和中药药对,对防治乳腺癌骨转移具有重大意义。本研究从 OPG/RANKL/RANK 系统阐述补骨脂-蛇床子对抑制乳腺癌骨转移机制,探寻补骨脂-蛇床子最佳配伍比例。

材料与方 法

1 动物 BALB/c 裸鼠,7~8 周龄,体重 20~25 g,雌性。由上海市肿瘤研究所提供,并在 SPF 环境下饲养。

2 肿瘤细胞株 亲骨性乳腺癌高转移细胞株 MDA-MB-231BO 由日本大阪大学口腔医学研究院生物化学系馈赠。培养条件为 L-15 培养基,内含 10% 胎牛血清及青霉素/链霉素(各 100 U/mL)。细胞培养环境为 37℃,5% CO₂。

3 试剂、药物及仪器 10% 胎牛血清及培养基购自 GIBCO 公司;放射性核素骨显像剂 ^{99m}Tc-MDP 由中美合资欣科药业有限公司提供;丙烯酸胺、N,N'-亚甲双丙烯酸胺、N,N,N',N'-四甲基乙二胺(TEMED)均购于 SIGMA 公司;甲醇购于上海振兴化工厂;唑来磷酸购自上海药物食品检验所(批号:100778-200501);蛇床子、补骨脂由上海龙华医院药剂科提供。放射性核素平面显像仪 SINMENS MULTI-SPECT (Siemens Medical Systems, Inc., Hoffman Estates, IL, USA);放射性核素

微孔针孔显像仪 GE Hawkeye4 Infinia Functional Imaging Scanner (GE Medical Systems, Inc., Waukesha, USA);X 线摄片仪(Philips Optimus Bucky Diagnost TS, Philips Healthcare, The Netherlands)。

4 左心室注射 MDA-MB-231BO 制备乳腺癌骨转移动物模型 取对数生长期体外培养的 MDA-MB-231BO,造模前 24 h 将其换上新鲜培养液,造模当天用平衡盐溶液 PBS 制成 1×10^7 /mL 的单细胞悬液。小鼠腹腔注射硫喷妥钠(0.75 mg/只,37.5 mg/kg)和腿部肌肉注射氯胺酮(1.5 mg/只,75 mg/kg)麻醉,将麻醉后的裸鼠呈仰卧状,消毒腹面皮肤,使用 29G 注射器(Terumo, 东京,日本)将肿瘤细胞注射入裸鼠左心室。细胞接种量为每只 8×10^5 /0.08 mL,进针角度与裸鼠腹面正中中线呈 45°,与皮肤呈 30°,进针深度约为 0.8 cm。当针尖见红色细柱状血液缓缓进入针筒说明针尖已经在小鼠左心室,此时慢慢推注肿瘤细胞悬液,速度为 0.08 mL/min。注射完毕后消毒裸鼠皮肤,将鼠放回笼中。裸鼠左心室注射造模两周后隔天称重,体重 < 16 g 时严密观察^[4-6]。

5 分组与用药 将 49 只 BALB/c 裸鼠制成骨转移模型。模型小鼠随机分为 7 组,每组 7 只。接种 1 周后开始按不同方案用药,共用药 6 周。每周称 2 次体重,观察小鼠一般情况(如有濒死死亡情况予以处死)。第 8 周全部处死。参考文献报道^[7],用药剂量如下:生理盐水组:灌胃量每次 0.4 mL/只,2 次/周,共 6 周。唑来磷酸组:唑来磷酸 0.2 mg/kg,2 次/周,共 6 周腹腔注射给药。实验组:补骨脂:蛇床子 4:0 组、3:1 组、1:1 组、1:3 组、0:4 组的生药量分别为补骨脂 400 g,补骨脂 300 g + 蛇床子 100 g,补骨脂 200 g + 蛇床子 200 g,补骨脂 100 g + 蛇床子 300 g,蛇床子 400 g。由龙华医院制剂室煎制,浓缩过滤得到 62.5 mL 水煎剂。中药煎剂浓度为人鼠等效剂量的 5 倍。药物浓度为 156.25 mg/mL;灌胃量每次 0.4 mL/只,2 次/周,共 6 周。

6 检测指标及方法

6.1 放射性核素骨显像 用药 6 周后裸鼠做同位素骨扫描。每只小鼠尾静脉注射骨显像剂 Tc-99 m MDP111MBq 0.1 mL, 5 ~ 6 h 后分别在 SIMMENS MULTI-SPECT (Siemens Medical Systems, Inc., Hoffman Estates, IL, USA) 行平面显像和在 GE Hawkeye4 Infinia Functional Imaging Scanner (GE Medical Systems, Inc., Waukesha, USA) 行微孔针孔显像。平面显像矩阵为 256 × 256, Zoom 为 2.67。采集计数为 300 ~ 500 K/帧;微孔针孔显像矩阵为 1024 × 1024, Zoom 为 1。采集体位为前后位、后前位、左侧位和右侧位^[8-9]。记录裸鼠放射性分布异常的骨组织, 无痛处死裸鼠后将可疑骨转移灶取出进行 RT-PCR 及 Western-blot 检测。

6.2 X 线摄片 用药 6 周后每周 1 次行裸鼠全身骨 X 线摄片 (Philips Optimus Bucky Diagnost TS, Philips Healthcare, The Netherlands)。将裸鼠麻醉后俯卧位固定, X 线胶片置于裸鼠下方, 摄片条件: 40 kV, 2 mA, 3 s, H: 28 cm^[5]。

6.3 RT-PCR 法测定 OPG、RANKL、PTHrP、IL-8 及 MCSF 基因表达水平 采用 Trizol 一步法提取总 RNA。在组织中加入 1 mL Trizol 反复吹打几次, 转移至 EP 管中, 4 °C, 12 000 r/min, 离心 15 min; 吸取上清液, 15 ~ 30 °C 温育 5 min; 加 0.2 mL 氯仿, 盖上盖子, 用手剧烈震荡 15 s; 15 ~ 30 °C 温育 2 ~ 3 min; 4 °C 12 000 r/min, 离心 15 min; 吸取上清液, 加 0.8 mL 异丙醇, 混合均匀; 15 ~ 30 °C 温育 10 min, 4 °C 12 000 r/min 离心 10 min, 离心管底部白色沉淀即为 RNA; 倒掉上清, 加 1 mL 75% 乙醇洗涤 RNA, 4 °C 7 500 r/min 离心 10 min; 自然干燥或真空干燥 RNA, 溶于甲酰胺 (或 DEPC 处理过的超纯水) 中分装 (分装体积视组织和 RNA 浓度而定), -70 °C 保存; 将 RNA 反转录, OPG、RANKL、IL-8、MCSF 和 PTHrP 分别按 52.1、52.1、58.4、43.8、

43.8 °C 的退火温度进行退火 5 s, 72 °C 延伸 10 s 后进行荧光检测, 然后进行熔解曲线分析, 由 65 °C 以 0.1 °C/s 上升至 95 °C, 最后冷却至 40 °C。

表 1 OPG、RANKL、PTHrP、IL-8 及 MCSF 的 PCR 引物

基因名称	正向引物	反向引物
OPG	GCTCACAAGAACAGACTTTCAG	CTGTTTCACAGAGTCAATATCTT
RANKL	CGATGGTGGATGGCTCATG	TGAGCAAAAAGGCTGAGCTTCA
PTHrP	GTCTCAGCCGCCGCTCAA	GGAAGAATCGTCGCCGTAATA
IL-8	ACATGACTTCCAAGCTGGCCGT	CCTCTTCAAAAAGTCTCCACAAC
MCSF	GGACACCATCGGCTCAGA	GCAGCCCTGTCTCATCTCTT

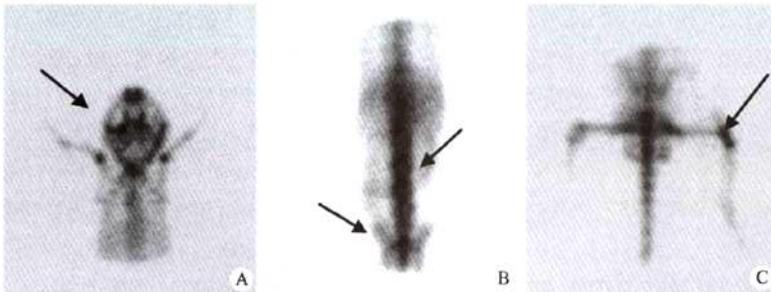
6.4 Western-blot 检测 OPG、RANKL、PTHrP、IL-8 及 MCSF 蛋白表达 提取组织总蛋白, 组织中加入电泳裂解缓冲液, 取 20 g 变性裂解蛋白进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 然后电转移至硝酸纤维素膜, 封闭后, 加入 OPG、RANKL、IL-8、MCSF、PTHrP 一抗, 室温下作用 2 h, TBST 摇洗, 后加入 AP 标记的二抗 (1:1000) 室温下作用 1 h, 加入 BCIP/NBT, 室温 10 ~ 20 min 后显色。

7 统计学方法 PT-PCR 用 Origin 7.0 数据分析软件。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用配对 *t* 检验。Western-blot 用 V3.0 图像分析软件分析, 分别计算灰度值与内参 GAPDH 灰度值。

结 果

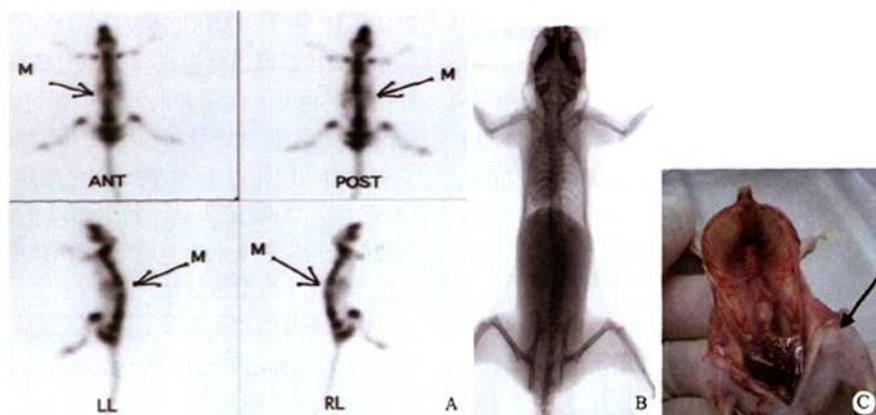
1 放射性核素骨显像 (图 1) 在肿瘤骨转移发生的早期由于局部血供的增强, 骨转移灶的表现多为放射性核素 Tc-99 m MDP 浓聚, 而在骨转移发生的晚期由于骨质溶骨性破坏严重, 肿瘤骨转移灶在骨扫描片上的表现为放射性核素 Tc-99 m MDP 减低或缺损^[6]。

2 X 线摄片结果 (图 2) 在解剖已明确证实骨转移并最终成功建模的情况下, X 线摄片检查结果仍为阴性。



注: A、B、C 为同一鼠 (箭头所指为骨转移部位), A 为下颌骨转移, B 为脊柱多发转移, C 为膝关节转移

图 1 肿瘤骨转移灶针孔核素骨显像



注:A:核素骨显像示腰椎溶骨转移(箭头所指)左上图-前位,右上图-后位,左下图-左侧位,右下图-右侧位;B:X片(-);C:解剖示腰椎转移(箭头所指)

图2 肿瘤骨转移灶 X 线摄片结果

3 各组骨转移相关 mRNA 表达比较(表 2) 蛇床子、补骨脂及蛇床子-补骨脂不同配伍比例均对抑制骨转移基因(RANKL, OPG, PTHrP, IL-8, MCSF)有一定的作用,其中 OPG 的表达量增高($P < 0.01, P < 0.05$),而 IL8, PTHrP, MCSF, RANKL 的表达量均下降($P < 0.01, P < 0.05$)。说明蛇床子-补骨脂是通过激活 OPG/RANKL/RANK 系统,抑制乳腺癌骨转移。6 个用药组与生理盐水组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

4 各组骨转移相关蛋白表达比较(表 3) OPG/RANKL/RANK 系统在骨吸收和重建中起关键作用。蛇床子、补骨脂及蛇床子-补骨脂不同配伍比例均能够上调骨转移灶中 OPG 的表达,下调 RANKL、IL-8、PTHrP、MCSF 的蛋白表达。说明该药对是通过激活 OPG/RANKL/RANK 通路,抑制乳腺癌骨转移。6 个用药组与生理盐水组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 2 各组骨转移相关 mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	mRNA 表达				
		OPG	IL-8	PTHrP	MCSF	RANKL
C	7	100.000 ± 0.000	100.000 ± 0.000	100.000 ± 0.000	100.000 ± 0.000	100.000 ± 0.000
Y	7	74.797 ± 7.584**	157.373 ± 12.021**	174.952 ± 9.168**	157.373 ± 12.021**	167.627 ± 7.345**
B	7	40.002 ± 3.750**	287.769 ± 7.113**	365.200 ± 11.334**	287.769 ± 7.113**	315.004 ± 3.998**
S	7	38.825 ± 0.974**	290.366 ± 13.031**	340.878 ± 9.858**	290.366 ± 13.031**	336.585 ± 11.011**
B:S=1:3	7	48.739 ± 1.848**	254.134 ± 12.965**	307.608 ± 8.370**	254.134 ± 12.965**	265.698 ± 3.145**
B:S=1:1	7	60.343 ± 6.274**	218.010 ± 12.802**	232.399 ± 14.354**	218.010 ± 12.802**	195.701 ± 4.862**
B:S=3:1	7	47.700 ± 0.850**	260.944 ± 13.728**	297.352 ± 2.110**	260.944 ± 13.728**	4232.482 ± 5.149**

注:C 为生理盐水组,Y 为唑来磷酸组,B 为补骨脂组,S 为蛇床子组,B:S=1:3 为补骨脂:蛇床子=1:3 组,B:S=3:1 为补骨脂:蛇床子=3:1 组,B:S=1:1 为补骨脂:蛇床子=1:1 组;与 C 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;下表同

表 3 各组骨转移相关蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	蛋白表达				
		OPG	IL-8	PTHrP	MCSF	RANKL
C	7	100.000 ± 5.482	100.000 ± 4.090	100.000 ± 5.585	100.000 ± 1.193	100.000 ± 6.480
Y	7	133.484 ± 3.486**	81.921 ± 3.785*	64.827 ± 3.278**	213.143 ± 6.907**	76.244 ± 4.449**
B	7	120.657 ± 8.472*	86.399 ± 2.862*	65.564 ± 3.766**	426.707 ± 13.760*	82.192 ± 5.490*
S	7	130.780 ± 3.390**	75.501 ± 3.175**	72.933 ± 4.362**	410.960 ± 12.795*	83.687 ± 3.591*
B:S=1:3	7	131.886 ± 6.154*	72.788 ± 5.314*	64.561 ± 4.118**	396.419 ± 4.729**	67.081 ± 1.189**
B:S=1:1	7	137.817 ± 3.485**	73.927 ± 1.492**	64.370 ± 3.998**	319.831 ± 5.322**	66.403 ± 3.459**
B:S=3:1	7	153.940 ± 6.192**	67.600 ± 2.759**	52.601 ± 3.164**	363.068 ± 7.450**	59.663 ± 4.386**

讨 论

乳腺癌骨转移属中医“骨蚀”、“骨瘤”、“骨痿疮”、“骨痹”、“骨疽”等范畴,《素问》中指出:“肾主骨,生髓。”“肾其充在骨。”认为骨之强劲与脆弱是肾中精气盛衰的重要标志。乳腺癌骨转移发病机制为本虚标实,肾阳亏虚是乳腺癌骨转移的重要原因,治疗当以温肾为主。

补骨脂是临床常用的补肾中药,《本草纲目》谓其使人“元阳坚固,骨髓充实”;蛇床子的作用在《本草纲目》中阐述为“蛇床乃右肾命门、少阳,三焦气分之药。神农列之为上品,不独补助男子,而又有益妇人”。补骨脂-蛇床子作为药对使用在古文献中早有记载,宋代《太平圣惠方》卷九十八“补骨脂丸”中以补骨脂二两(微炒)加蛇床子一两相伍,共济补肾壮阳、强力健肌之效。

放射性核素骨显像是一种结合活体生理、生化、功能和代谢信息的四维显像方式,能够发现直径仅为 2 mm 的早期骨转移灶,且比 X 线检查能提前 2~18 个月^[10],已成为诊断恶性肿瘤骨转移的首选方法。X 线摄片是国际上研究肿瘤骨转移灶的常规技术,但检测效率较低,大多数模型动物在生存期内难以成功获检^[6]。骨骼的 X 线片显示骨骼的再吸收与修复的结果,当病变区骨矿物质的丢失接近 30%~50% 时 X 线片方可表现出来。而放射性核素骨显像反映骨的代谢活性,乳腺癌骨转移模型动物出现骨再吸收时,在 X 线片上不一定显示有足够的骨质破坏及矿物质丢失,但此时核素骨显像却可以明显阳性,可见放射性核素骨显像是一种灵敏、简便、安全有效的方法。

健康的骨骼依靠骨吸收和骨形成的动态平衡来维持。OPG、RANKL 和 RANK 是调节破骨细胞和骨吸收的重要因子,OPG/RANKL/RANK 系统在骨吸收和重建中起关键作用^[11]。OPG 在骨组织中发挥抑制破骨细胞分化,抑制成熟破骨细胞活性,诱导成熟破骨细胞凋亡等生物学功能;RANKL 能直接启动破骨细胞前体细胞或破骨细胞细胞内信号传导过程,维持破骨细胞活性;破骨细胞表面的 RANK 是 RANKL 刺激破骨细胞分化,成熟的唯一靶受体。研究发现 OPG 基因缺失小鼠表现为严重的骨质疏松;RANKL/RANK 基因敲除的小鼠,出现严重骨质疏松症^[11,12]。PTHrP 是主要的破骨细胞活性介导因子;MCSF 是破骨细胞分化,成熟的始动因子。另外,IL-8 可以促使破骨细胞分化、成熟,维持骨吸收活性^[13]。

在骨转移过程中,OPG 的表达量会很低,IL-8、

PTHrP、MCSF 和 RANKL 的表达量增加,这样就促使骨转移的发生。而当促进或抑制相关基因表达时,就能在一定程度上抑制骨的转移。通过 PT-PCR/Western-blot 检测,发现补骨脂和蛇床子均对相关基因产生了调控作用:促进 OPG 的表达,抑制 IL-8、PTHrP、MCSF 和 RANKL 的表达。其中尤以补骨脂-蛇床子两药配伍应用效果最为明显,在配伍组中,又以补骨脂-蛇床子 1:1 组效果最优。

由于补骨脂和蛇床子不仅可以抑制破骨细胞的骨吸收,还可以抑制肿瘤细胞的增殖以及促进成骨细胞的骨形成,因此补骨脂-蛇床子药对比双膦酸盐制剂更具治疗乳腺癌骨转移的优势,蛇床子-补骨脂药对抑制乳腺癌骨转移的作用和机制值得我们更深入研究。

参 考 文 献

- [1] Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis[J]. *N Engl J Med*, 2004, 350(16):1655-1664.
- [2] Coleman RE. Metastatic bone disease: clinical features, pathophysiology and treatment strategies[J]. *Cancer Treat Rev*, 2001, 27(3):165-176.
- [4] 杨顺芳,董强刚,姚明,等.高转移性人肺癌细胞株 SPC-A-1BM 的建立及其特性分析[J]. *肿瘤*, 2006, 26(12):1059-1063.
Yang SF, Dong QG, Yao M, et al. Establishment and characterization of a human lung adenocarcinoma cell line SPC-A-1BM with high metastases potency[J]. *Tumor*, 2006, 26(12):1059-1063.
- [5] Yang SF, Dong QG, Yao M, et al. Establishment of an experimental human lung adenocarcinoma cell line SPC-A-1BM with highly bone metastases potency by ^{99m}Tc-MDP bone scintigraphy[J]. *Nucl Med Biol*, 2009, 36(3):313-321.
- [6] 李琼,刘胜,杨顺芳.骨转移人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231BM3 及其动物模型的建立[J]. *肿瘤杂志*, 2009, 29(11):1031-1035.
Li Q, Liu S, Yang SF. Establishment of a human breast cancer cell line MDA-MB-231BM3 with high bone metastatic potency and its animal model in immune deficient mouse[J]. *Tumor*, 2010, 29(11):1031-1035.
- [7] 李琼,刘胜,杨顺芳.补骨脂与蛇床子抑制乳腺癌骨转移的体内试验[J]. *上海医药大学学报*, 2010, 24(1):53-58.
Li Q, Liu S, Yang SF. *in vivo* inhibition of bone metastasis from breast carcinoma by psoralen-osthole[J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharm Shanghai*, 2010, 24(1):53-58.
- [8] 杨顺芳,时梅萍,姚明,等.核素骨显像在建立人肺癌骨转移细胞株中的应用[J]. *肿瘤*, 2008, 28(11):933-937.
Yang SF, Shi MP, Yao M, et al. Application of radionu-

- slide bone imaging in establishment of a human lung adenocarcinoma cell line SPC-A-1BM [J]. *Tumor*, 2008, 28 (11): 933 - 937.
- [9] 杨顺芳, 苏建中, 时梅萍, 等. 中国人肺腺癌细胞系 CPA-Yang2 的建立及其生物学特性[J]. *中国肺癌杂志*, 2009, 12 (10): 1055 - 1060.
- Yang SF, Su JZ, Shi MP, et al. Establishment and characterization of a novel Chinese human lung adenocarcinoma cell line CPA-Yang2 in immunodeficient mice [J]. *Chin J Lung Cancer*, 2009, 12 (10): 1055 - 1060.
- [10] Even-Sapir E. Imaging of malignant bone involvement by morphologic, scintigraphic, and hybrid modalities [J]. *J Nucl Med*, 2005, 46 (8): 1356 - 1367.
- [11] 傅正. OPG RANKL 和 RANK 在肿瘤骨转移中的作用 [J]. *中国肿瘤临床*, 2004, 31 (22): 1316 - 1318.
- Fu Z. The effect of OPG RANKL and RANK in bone metastasis of tumor [J]. *Chin J Clin Oncol*, 2004, 31 (22): 1316 - 1318.
- [12] 谢新荣. OPG/RANK/RANKL 系统与骨代谢的调节 [J]. *医学文选*, 2004, 23 (6): 800 - 803.
- Xie XR. OPG / RANK / RANKL system and the regulation of bone metabolism [J]. *Anthol Med*, 2004, 23 (6): 800 - 803.
- [13] Julie M Blair. Mechanisms of disease: roles of OPG, RANKL and RANK in the pathophysiology of skeletal metastasis [J]. *Nat Clin Pract Oncol*, 2006, 3 (1): 41 - 49.
- (收稿: 2010 - 05 - 24 修回: 2010 - 11 - 01)

第二十次全国中西医结合肝病学术会议征文通知

中国中西医结合学会肝病专业委员会拟于 2011 年 8 月 17—21 日, 在湖南省张家界市举行“第二十次全国中西医结合肝病学术会议”。会议将以常见慢性肝病(慢性病毒性肝炎、肝纤维化、肝硬化、肝癌、脂肪性肝病、酒精性肝病)的中西医结合防治研究进展和临床经验总结交流为重点内容, 并将邀请国内外知名专家举办专题讲座。参会代表将获国家级继续教育学分。

征文要求:

(1) 提交 500 - 1 000 字中文摘要。摘要须按照“目的、方法、结果、结论”格式撰写, 用于会刊印刷(注意结果中提供重要的数据资料)。另提交中文论文全文(用于评审优秀论文)。写明作者姓名、单位名称、电子邮箱、地址及邮编。通过电子邮件发送至 CARL95@163.com。本次征文不接受纸质文稿。

(2) 投稿论文文本格式如下: 中文标题用黑体、小四号字体, 作者姓名及单位用楷体小五, 正文宋体五号, 1.5 倍行距, 英文及数字用 Times New Roman 字体。

(3) 已在学术刊物公开发表过的论文, 不再受理。

(4) 征文截稿日期: 2011 年 5 月 31 日。会议筹备组联系人: 王晓柠。Tel: 021 - 51322444。

第十五次全国中西医结合儿科学术会议征文通知

中国中西医结合学会儿科专业委员会拟于 2011 年 8 月 20—22 日在甘肃省兰州市召开第十五次全国中西医结合儿科学术会议。届时将进行专题报告和论文交流, 内容涉及新生儿、呼吸、消化、肾脏、神经、心血管、内分泌、营养等各系统疾病的热点问题。参会者可获得继续教育学分 6 分和论文证书。

征文内容 (1) 中西医结合及中医、西医儿科临床论著、实验研究和专题综述; (2) 临床疑难、重症、少见病例的经验总结; (3) 中西医结合药理和诊断研究; (4) 中西医结合理论及方法研究等。

征文要求 (1) 尚未公开发表的论文。(2) 稿件应有全文及 400 ~ 800 字摘要。(3) 稿件一律用 Word 文档。(4) 稿件请注明作者单位、准确通信地址、邮政编码、电话及 E-mail 等联系信息。恕不退稿。(5) 稿件及参会者信息均请发送至 E-mail: zxyek@sina.com。(6) 征文截止日期: 2011 年 6 月 15 日。

联系人 杨惠静。联系方式: 电话 010 - 63138554; 手机 13621146657。