鱼藤素抑制舌鳞癌细胞增殖及诱导裸鼠移植瘤细胞凋亡机制的研究

黄莹莹 裴浩

【摘要】 目的:探索鱼藤素(DEG)对舌鳞癌(TSCC)的体外及体内抗癌作用及其作用机制。方法:CCK-8 实验检测 DEG 对舌鳞癌细胞系 CAL27 细胞的增殖的影响,流式细胞术检测细胞凋亡及活性氧(ROS)水平。构建裸鼠移植瘤模型并分组处理,测量瘤体体积、质量及肿瘤抑制率;TUNEL 检测细胞凋亡;Western blot 实验检测 PI3K/AKT 信号通路相关蛋白表达。结果:DEG 对 CAL27 细胞具有增殖抑制和诱导凋亡作用;DEG 能够通过上调 CAL27 细胞中的 ROS 水平,抑制 PI3K/AKT 信号通路;体内实验证明 DEG 能够以浓度依赖性的方式抑制裸鼠移植瘤的生长,相同浓度下抑制效果强于顺铂,30 mg/kg 的 DEG 对瘤体的抑制率高达 72.6%。结论:DEG 对舌鳞癌细胞具有抑制增殖及诱导凋亡作用,其机制与调节肿瘤细胞中 ROS 以及 PI3K/AKP 信号通路有关。

【关键词】 鱼藤素;舌鳞状细胞癌;裸鼠移植瘤小鼠;PI3K/AKT 信号通路
【中图分类号】R739.8 【文献标志码】A 【doi】10.3969/j.issn.1001-3733.2022.03.009

开放科学(资源服务)标识码(OSID)

Deguelin inhibits the proliferation of tongue squamous cell carcinoma cells and induces cell apoptosis of transplanted tumor in nude mice

HUANG Yingying, PEI Hao. 473000, *Department of Stomatology, The First Affiliated Hospital of Nanyang Medical College, China*

【**Abstract**】**Objective:** To explore the anti-cancer effects and mechanism of deguelin (DEG) on tongue squamous cell carcinoma (TSCC) *in vitro* and *in vivo*. **Methods:** CCK-8 assay was used to detect the proliferation of TSCC CAL27 cells treated by DEG. Flow cytometry was used to detect cell apoptosis and reactive oxygen species(ROS). *In vivo* tumor model was established by transplantation of CAL27 cells in 30 nude mice and the mice were divided into 5 groups. After corresponding treatment, the tumor volume, mass and tumor inhibition rate were measured. Tumor cell apoptosis was detected by TUNEL assay. The PI3K/AKT signaling pathway related protein expression was examined by Western blot. **Results:** DEG inhibited the proliferation and induced the apoptosis of CAL27 cells. DEG inhibited PI3K/AKT signaling pathway by up-regulating ROS levels in CAL27 cells. *In vivo* experiments showed that DEG inhibited the growth of transplanted tumors in nude mice in a concentration-dependent manner. The inhibitory effect is stronger than that of cisplatin at the same concentration. The inhibitory rate of 30 mg/kg DEG on tumor was as high as 72.6%. **Conclusion:** DEG can inhibit the proliferation and induce apoptosis of tongue squamous cell carcinoma cells by regolating ROS and PI3K/AKP signling pathway.

【**Key words**】 *Deguelin; Tongue squamous cell carcinoma; Nude mice with transplanted tumor; PI3K/AKT signaling pathway*

舌鳞状细胞癌(tongue squamous cell carcinoma,TSCC)简称舌鳞癌,是口腔颌面部常见的恶性肿瘤之一,恶性程度及淋巴结转移率较高,同时具有很高的发病率和死亡率[1]。舌鳞癌的发病原因至今还没有明确,大量研究认定其发生与环境因素有关[2]。在近三十年的临床治疗中形成了以手术为主,放化疗为辅的综合治疗体系,然而舌鳞癌的五年生存率仍然处在非常低的水平,主要治疗瓶颈卡在化疗药物的选择上,当前的大部分化疗药物都存在一定的毒副作用,所以很多患者会受到很多的额外困扰[3-4]。鱼藤素(deguelin,DEG)是一种豆科植物鱼藤属的毛鱼藤根茎部提取出来的拟鱼藤酮类药物,同属黄酮类化合物。近年来的研究发现鱼藤素能够能增加多种肿瘤细胞对化疗药物和放射线的敏感性,具有很强的辅助治疗作用;多项体外研究表明鱼藤素对肺癌、乳腺癌、消化道癌等多种癌症产生明显的抗癌效果[5-8]。但是目前国内外对鱼藤素的抗癌作用并没有明确的研究结论。本课题用不同浓度 DEG 加药干预 TSCC 细胞,构建裸鼠移植瘤小鼠模型,探讨鱼藤素对舌鳞癌细胞的作用机

作者单位:473000,南阳医学高等专科学校第一附属医院口腔科
通信作者:黄莹莹 E-mail:hyyfighting@126.com

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

制。

1　材料与方法

1.1　细胞株和动物分组

CAL27 细胞(中国科学院细胞研究所); HOK 细胞(人正常口腔上皮角质细胞)(上海通派生物科技有限公司),均用 10% FBS 的 DMEM 培养液,置于孵育箱中(37 ℃、5% CO_2)常规培养,取对数生长期细胞用于实验;SPF 级 BALB/c 雌性裸鼠(18~20 g,5~6 周龄)[动物许可证号:SCXK(京)2016-0006,北京维通利华实验动物技术有限公司]。分为空白组、顺铂组、低剂量鱼藤素组、中剂量鱼藤素组和高剂量鱼藤素组,每组 6 只。分别用生理盐水,30 mg/kg 顺铂,10 mg/kg 鱼藤素,20 mg/kg 鱼藤素和 30 mg/kg 鱼藤素处理,动物实验经过伦理委员会批准(批号:2020-xxgnk012)。

1.2　试剂与仪器

顺铂(CAS:15663-27-1,纯度≥98%)[华中海威(北京)基因科技有限公司]; DMEM 培养基(Gibco 公司,美国); 一抗和二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司); TUNEL 试剂盒(武汉菲恩生物科技有限公司); CCK-8 试剂盒(南京博研生物科技有限公司); BCA 蛋白浓度测定试剂盒(合肥莱尔生物科技有限公司); ECL 发光试剂盒(厦门仑昌硕生物科技有限公司)。

CQ-80L 二氧化碳培养箱(常州金坛良友仪器有限公司);汇松酶标分析仪 MB-580(济南欧莱博科学仪器有限公司);FACSCanto II 流式细胞仪(BD 有限公司,美国);Western blot 电泳仪及转膜仪(Bio-Rad 公司,美国)。

1.3　实验方法

1.3.1　CCK-8 检测增殖　当细胞满度约为 70%后换液处理,用 1% FBS 的 DMEM 孵育 2 h,分成空白组、5 μmol/L DEG、10 μmol/L DEG、20 μmol/L DEG、30 μmol/L DEG、40 μmol/L DEG 及 50 μmol/L 8 组进行加药处理,设置相同浓度的顺铂组实验。24 h 后加入 15 μL CCK-8 溶液,490 nm 波长重复 3 次测量吸光度值,计算细胞存活率和半数致死浓度(IC_{50} 值)。

1.3.2　Hochest/PI 双染检测细胞凋亡　选择恰好处于对数生长期的 CAL27 细胞接种于六孔板中,待细胞密度达到 75%左右时,加入不同浓度的鱼藤素(5、10、30 及 50 μmol/L),培养箱中继续培养 24 h 后,加入 Hochest/PI 染色剂,随后通过倒置荧光显微镜观察细胞凋亡情况,并对其进行拍照记录。

1.3.3　流式细胞术法检测细胞凋亡　将 CAL27 细胞接种至 6 孔板,过夜培养。按浓度为 IC_{50} 的 DEG 分别处理 CAL27 细胞 3、6、12 和 24 h,随后收集细胞于 Tube 管中,5 000 r/min 离心 4~5 min,舍去上层清液,按照试剂盒说明书将 1×结合缓冲液、Annexin V-FITC 及 PI 染料以 195∶3∶2 重悬细胞将细胞染色,流式细胞仪上机检测凋亡细胞比例。

1.3.4　流式细胞术检测活性氧(ROS)水平变化　用 IC_{50} 值为终浓度的 DEG 分别处理细胞 3、6、12 和 24 h 后,将细胞收集到 Tube 管中,PBS 清洗并重悬,加入 5 μL DCFH-DA 并置于 37 ℃ 恒温水浴锅中避光孵育 0.5 h,离心后用 PBS 重悬洗涤 1 次,500 μL PBS 重悬细胞后流式细胞仪检测细胞内活性氧水平。随后进一步检测加入 ROS 清除剂 NAC 之后 DEG 对 CAL27 细胞凋亡变化情况。

1.3.5　构建裸鼠移植瘤模型及分组药物处理　将细胞密度为 2×10^7/mL 的 CAL27 以 5×10^6 个细胞/只的浓度以腋下接种的方式注入到裸鼠皮下,注入细胞后用指肚轻轻按压注射的位置,每天观察裸鼠及肿瘤状况。当接种裸鼠均出现直径大 5 mm^3 的皮下质硬结节时,将 30 只荷瘤鼠根据分组的实验方案,灌胃给药,每两天一次并持续 4 周,停药后牺牲裸鼠并剥离肿瘤。

1.3.6　对裸鼠瘤小鼠肿瘤体积及重量的测定　隔 2 d 用游标卡尺测量瘤体,通过公式 $V = 1/2\times$长径×短径^2 计算瘤体体积;实验周期完成后剥离肿瘤,记录瘤体质量;肿瘤抑制率计算公式为:(空白对照组瘤重均值-实验组瘤重均值)/空白组对照瘤重均值×100%。

1.3.7　检测组织中的凋亡细胞状况　OTC 包埋组织,调整切片机厚度为 4 μm 连续切片,并参照 TUNEL 检测试剂盒说明书对肿瘤组织中的细胞凋亡情况进行检测。在 400 倍的光学显微镜下观察计数,细胞凋亡率=凋亡细胞数/肿瘤细胞总数。

1.3.8　Western blot 检测相关蛋白变化　利用超声波破碎仪将组织中的蛋白裂解出来,在 4 ℃离心机中离心后取上清蛋白配样,将蛋白通过 10%~15%的 SDS-PAGE 凝胶分离,然后将凝胶转移至 NC 膜表层,将 NC 膜用脱脂乳封闭 2 h。随后用 PBS 洗去脱脂乳浮液,然后一抗加入 NC 膜上 4 ℃过夜,TBST 洗膜,随后二抗室温孵育 2 h,ECL 显色,再通过化学发光成像系统进行拍照、ImageJ 软件对蛋白条带进行灰度分析。

1.4　统计学分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,资料数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 Tukey's 检测,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2 结 果

2.1 CCK-8 实验检测 CAL27 细胞的增殖情况

从表 1 中可以看出,随着鱼藤素处理浓度的不断提升细胞存活率逐渐降低,具有明显的浓度依赖性,当 50 μmol/L DEG 处理 24 h 时,细胞存活率仅为 14.6%±3.3%,经计算 IC_{50} 为 17.8 μmol/L;对正常口腔上皮细胞的检测结果显示,鱼藤素对正常细胞的毒副作用较小,当 50 μmol/L DEG 处理 24 h 时,细胞存活率为 81.3%±1.9%。

2.2 鱼藤素对舌鳞癌 CAL27 细胞的诱导凋亡作用

鱼藤素对 CAL 27 细胞形态的影响如图 1,当处理浓度较小时,CAL27 细胞体积有所增大,细胞密度逐渐变得稀疏;处理浓度增大后,CAL27 细胞大量漂浮,细胞间隙明显增大。在荧光条件下,CAL27 细胞的红色荧光强度随着鱼藤素的处理时间逐渐增强,说明细胞出现凋亡。流式细胞术的结果如图 2,鱼藤素处理 6 h 后,细胞开始出现明显的凋亡,并且在处理 24 h 时,凋亡细胞比例达到最高 57.5%±3.2%。同时凋亡相关蛋白检测结果如图 3,Caspase-9 和 pro-caspase-3 表达量降低,cleaved-caspase-3 表达量升高。

表 1 鱼藤素对 CAL27 细胞和 HOK 细胞的增殖抑制作用 ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

Tab 1 The inhibitory effect of DEG on the proliferation of CAL27 and HOK cells ($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

分组	CAL 27 viability(%)		HOK viability(%)	
	DEG	Cisplatin	DEG	Cisplatin
空白组	100.0	100.0	100.0	100.0
5 μmol/L	83.4±3.6①	92.5±2.8①	95.9±2.6	92.8±3.7
10 μmol/L	68.6±1.8①	81.3±3.6①	92.7±1.8	85.4±1.6
20 μmol/L	48.5±2.6①	63.7±1.4①	86.8±3.5	75.6±3.2
30 μmol/L	29.2±1.5①	48.9±2.5①	83.5±2.4	68.7±2.7
40 μmol/L	14.6±3.3①	32.6±2.7①	81.3±1.9	60.3±3.1

注:①与 HOK 比较,$P<0.05$

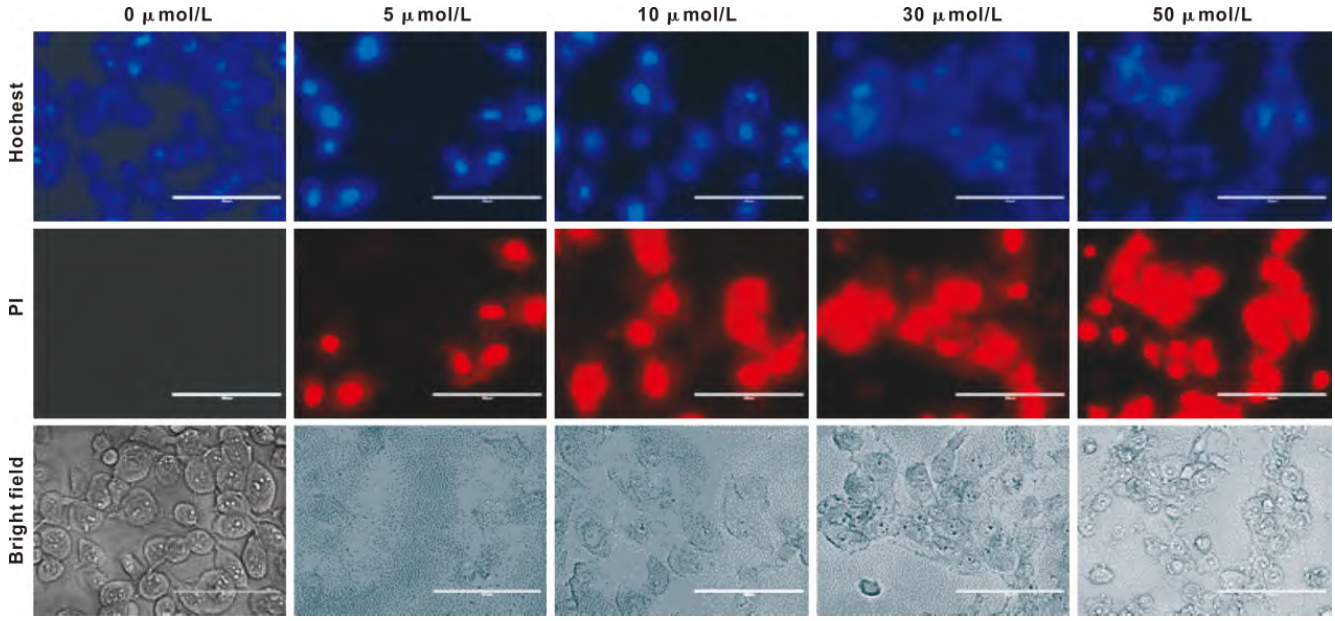

图 1 鱼藤素对 CAL27 细胞的诱导凋亡作用

Fig 1 The apoptosis effect of DEG on CAL27 cells

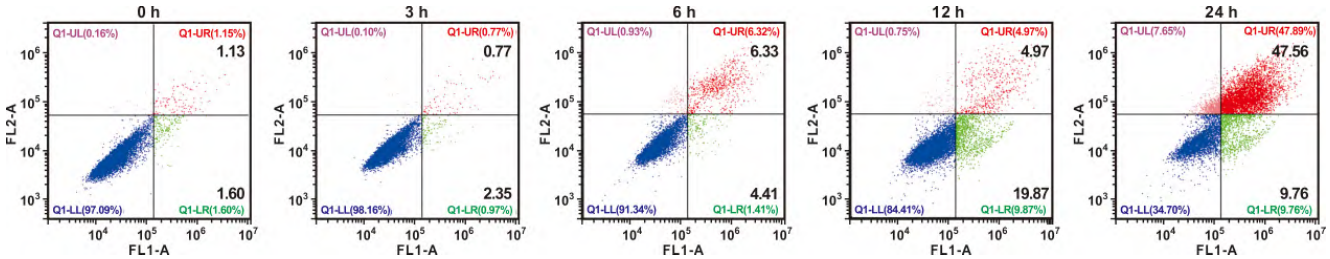

图 2 CAL27 细胞凋亡流式细胞术检测结果

Fig 2 The apoptosis of CAL27 cells examined by flowcytometry

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

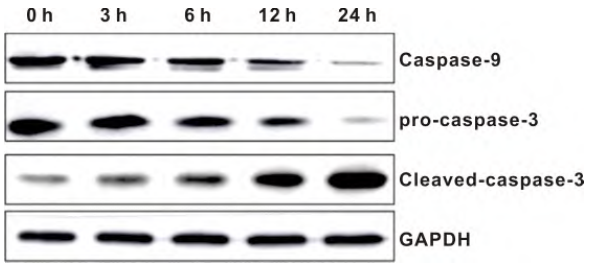

图 3　CAL27 细胞中凋亡相关蛋白的表达

Fig 3　Apoptosis related protein expression in CAL27 cells

2.3　鱼藤素对舌鳞癌 CAL27 细胞的 ROS 调控作用

为了探究鱼藤素诱导 CAL27 细胞发生凋亡是否与细胞内活性氧水平有关，以 IC_{50} 浓度的鱼藤素处理 CAL27 细胞不同时间(3、6、12 及 24 h) 后，加入 DCFH-DA 荧光探针，并通过流式细胞术检测细胞内活性氧水平变化情况。从图 4 中可以看出，随着鱼藤素处理时间的不断增加，CAL27 细胞中 ROS 水平呈现时间依赖性逐渐升高。在鱼藤素处理后再加入 ROS 清除剂 NAC 后，细胞凋亡情况被明显抑制，与鱼藤素处理组相比具有显著性差异(图 5) 。

2.4　鱼藤素上调 ROS 水平调节 PI3K/AKT 信号通路

Western blot 结果如图 6，鱼藤素处理组的 PI3K 和 p-AKT 的表达量降低，但是当鱼藤素和 NAC 共同处理后，PI3K 和 p-AKT 的表达量升高，基本恢复到与对照组相近的水平，说明 ROS 处于 PI3K/AKT 通路的上游。

2.5　鱼藤素抑制舌鳞癌裸鼠移植瘤生长

与对照组相比，裸鼠移植瘤的瘤体积随着 DEG 剂量的加大而明显减小($P<0.05$) ，平均瘤重明显减轻

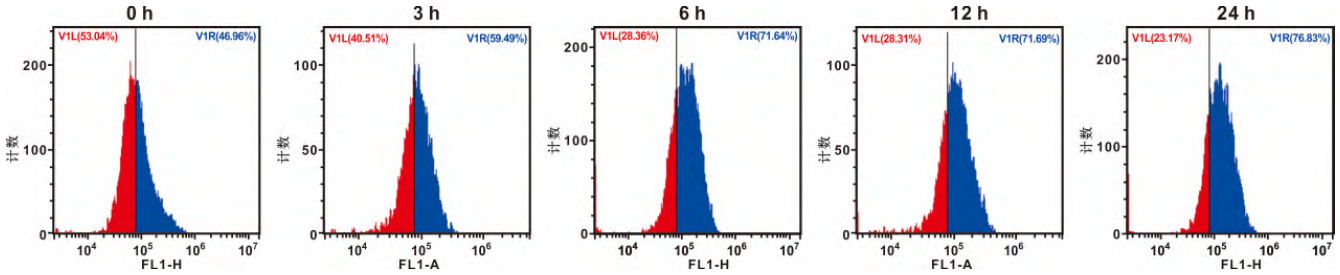

图 4　鱼藤素增强 CAL27 细胞的 ROS 水平

Fig 4　DEG enhances the level of ROS in CAL27 cells

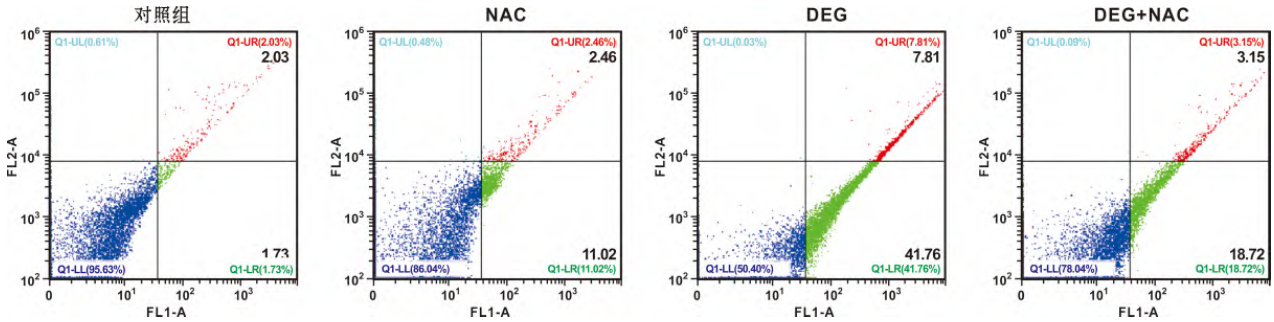

图 5　DEG 和 NAC 对 CAL27 细胞凋亡的影响

Fig 5　The effects of DEG and NAC on the apoptosis of CAL27 cells

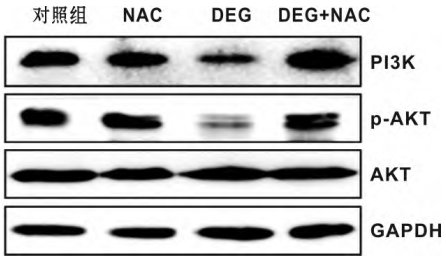

图 6　鱼藤素通过调节 ROS 水平来抑制 PI3K/AKT 信号通路

Fig 6　DEG inhibits PI3K/AKT signaling pathway by regulating ROS

($P<0.05$) (图 7) 。TUNEL 实验结果显示(图 7) ，随着鱼藤素处理剂量的不断增加，凋亡细胞数量逐渐增加，具有一定的浓度依赖性(图 7) 。经计算，DEG 低、中、高剂量组肿瘤抑制率和瘤重如表 2，分别为 20.1%，56.1%和 72.6%，与相同浓度的顺铂相比，DEG 的肿瘤抑制效果要更强($P<0.05$) ，表明鱼藤素能够在一定范围内以浓度梯度来抑制体内肿瘤的生长。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

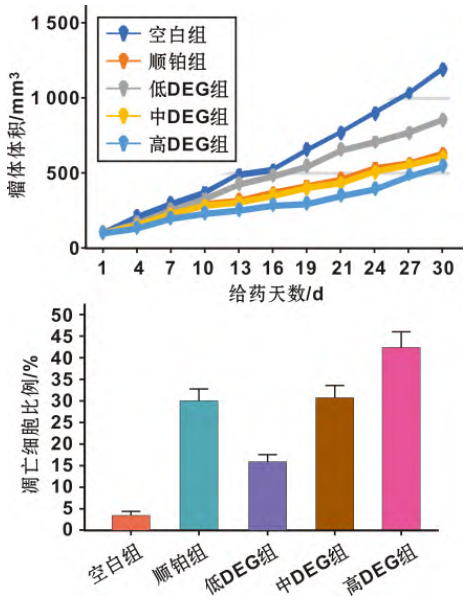

图 7 DEG 促进裸鼠移植瘤中细胞凋亡

Fig 7 DEG promotes tumor cell apoptosis in nude mice

表 2 DEG 对裸鼠移植瘤抑制率的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab 2 The effect of DEG on tumor suppression rate in nude mice ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

组 别	剂量	瘤重(g)	肿瘤抑制率(%)
空白组(%)	0.9 NaCl	1.574±0.26	—
顺铂组(mg/kg)	30	0.727±0.34	53.8
低 DEG 组(mg/kg)	10	1.257±0.17	20.1
中 DEG 组(mg/kg)	20	0.691±0.11	56.1
高 DEG 组(mg/kg)	30	0.432±0.07	72.6

3 讨 论

舌鳞癌患者的五年生存率近年来一直徘徊在50%左右,这一数字在晚期患者的身上则降为25%,已经严重危害了人类的健康和生存[9]。传统的治疗手段中化疗特异性低,毒副作用较大,所以寻找更安全有效的化疗药物是提高舌鳞癌患者生存率和生存质量的重点。鱼藤素是近年来被发现的 Akt 特异性抑制剂,对多种癌症均具有很强的抗癌效果,有研究显示,鱼藤素发挥作用主要是通过抑制前列腺癌、肺癌及乳腺癌等多种癌细胞的 Akt(Thr308)、PTEN(Ser380)和 PDK1(Ser241)的磷酸化有关,但是其上游的调控机制是如何进行的还尚不明确[10-11]。本研究首先验证了鱼藤素对舌鳞癌 CAL27 细胞的增殖抑制作用,可以看出鱼藤素能够以浓度依赖性的方式抑制 CAL27 细胞增殖,与阳性对照药物顺铂相比,鱼藤素的增殖抑制效果要更强。同时验证其对正常细胞的毒副作用发现,鱼藤素对人正常口腔上皮角质 HOK 细胞的毒副作用要低于顺铂。经计算,鱼藤素对舌鳞癌 CAL27 细胞的半数致死浓度(IC_{50})为 17.8 μmol/L,这也与文献报道的对其他癌症的半数致死浓度在相近的范围内。

虽然临床上常用的化疗药物具体的作用机制不尽相同,但是都有一个相同的“目的”——诱导癌细胞凋亡,以诱导细胞凋亡为方向来开发抗化疗药物已经逐渐被认可,并发展成为肿瘤治疗研究中的新热点[12]。在凋亡过程中可以在显微镜下观察到细胞体积缩小,结构更加紧密,胞膜不断出芽、脱落,细胞变成数个大小不等的凋亡小体。Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白在各类癌的发生、发展中都起着十分重要作用[13]。在凋亡过程中,pro-caspase-3 会被剪切成具有执行功能的 cleaved-caspase-3 执行凋亡“任务”。本研究双染实验结果可以初步看出,鱼藤素能够改变 CAL27 细胞形态,随后的流式细胞术进一步证明了鱼藤素能够诱导 CAL27 细胞发生细胞凋亡,并进行了 Western blot 实验检测凋亡相关蛋白的表达,从分子水平上证明了鱼藤素的诱导凋亡能力。

当癌细胞中的 ROS 水平过高后会直接调控细胞中的多条信号通路及多个信号因子,细胞中的多种生理进程会因此而改变,其中就包括细胞凋亡[14]。在鱼藤素处理后,CAL27 细胞中的活性氧水平逐渐升高,并且具有明显的时间依赖性,为了验证 ROS 水平上升是否和凋亡有关,加入了 NAC 后继续检测细胞凋亡情况,可以看出 NAC 大幅降低了鱼藤素诱导的细胞凋亡比例。PI3K/AKT 通路是一条经典的信号通路,鱼藤素被认为是 Akt 抑制剂,但是鱼藤素是怎样调控 Akt 信号通路的还尚不明确,在查阅了大量文献后得知 ROS 可以直接调控 Akt 的磷酸化,进而调控整条 PI3K/AKT 信号通路[15-16]。所以为了验证鱼藤素是否是通过上调 ROS 水平来实现对 Akt 通路的抑制的,加入 NAC 检测 Akt 通路蛋白的表达,可以看出鱼藤素和 NAC 共同处理组的 p-Akt 和 PI3K 表达量要远高于鱼藤素单独处理组,说明调控 ROS 水平是鱼藤素发挥 Akt 抑制剂作用的关键要素。

体内裸鼠瘤实验是验证药效和检测毒副作用的关键,有研究表明 30 mg/kg 顺铂对大部分瘤体的生长抑制较强,因此本研究同样选取了 30 mg/kg 顺铂为阳性对照组。从结果中可以看出鱼藤素能够抑制裸鼠移植瘤的生长,并且具有一定的浓度依赖性,相同浓度下对瘤体的抑制效果要强于顺铂,30 mg/kg 的鱼藤素对瘤

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

体的抑制率高达 72.6%,并且在实验过程中,小鼠没有死亡,体重也没有明显的变化,说明鱼藤素的体内毒副作用较小。

综上所述,Akt 抑制剂鱼藤素对舌鳞癌细胞具有很强的抑制增殖作用,其作用机制是通过上调细胞中 ROS 水平,进而抑制 PI3K/Akt 信号通路,最终引起舌鳞癌细胞发生凋亡,为中药鱼藤素在舌鳞癌中的应用提供了一定的基础。

参 考 文 献

[1] 李斌,王芳,李咏,等. 舌鳞状细胞癌中 Bmi-1 和 P16 的表达及对癌细胞侵袭的调控作用[J]. 实用口腔医学杂志,2019,35(4):514-518.

[2] SHIRAKO Y,TAYA Y,SATO K,et al. Heterogeneous tumor stromal microenvironments of oral squamous cell carcinoma cells in tongue and nodal metastatic lesions in a xenograft mouse model[J]. J Oral Pathol Med,2015,44(9):656-668.

[3] 马垚,张磊,黄宇思,等. 华卟啉钠光动力疗法对人舌鳞癌 SCC-15 细胞的作用[J]. 实用口腔医学杂志,2019,35(4):562-567.

[4] 张立刚,易杰,姚礼,等. 舌癌动/静脉辅助化疗的临床疗效观察[J]. 实用口腔医学杂志,2019,35(2):215-218.

[5] 李明,赵卿,高峰. 鱼藤素抑制口腔鳞癌细胞的机制研究[J]. 临床口腔医学杂志,2019,35(9):522-525.

[6] 吕满霞,方琼彤,陈彦洁,等. 鱼藤素对非小细胞肺癌细胞体内外增殖的影响[J]. 中国药理学通报,2020,36(1):26-31.

[7] WU W,HAI Y,CHEN L,et al. Deguelin-induced blockade of PI3K/protein kinase B/MAP kinase signaling in zebrafish and breast cancer cell lines is mediated by down-regulation of fibroblast growth factor receptor 4 activity[J]. Pharmacol Res Perspect,2016,4(2):e00212.

[8] MURILLO G,KOSMEDER J W,PEZZUTO J M,et al. Deguelin suppresses the formation of carcinogen-induced aberrant crypt foci in the colon of CF-1 mice[J]. Int J Cancer,2003,104(1):7-11.

[9] 段阳芳,程晓雷,王玲,等. 舌鳞状细胞癌中 HuR 与端粒酶活性之间关系的研究[J]. 实用口腔医学杂志,2020,36(2):330-334.

[10] 陈洪波,江克华,胡晓辉,等. Akt 抑制剂鱼藤素对膀胱癌细胞生长的影响[J]. 国际泌尿系统杂志,2014,34(4):551-555.

[11] THAMILSELVAN V,MENON M,THAMILSELVAN S. Anticancer efficacy of deguelin in human prostate cancer cells targeting glycogen synthase kinase-3 β/β-catenin pathway[J]. Int J Cancer,2011,129(12):2916-2927.

[12] 苏嘉文,卜亚丽,李瑄,等. 黄芩苷对 Hela 细胞凋亡的影响[J]. 中成药,2020,42(1):209-212.

[13] PORTER A G,JÄNICKE R U. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis[J]. Cell Death Differ,1999,6(2):99-104.

[14] QIAN M,TAN H M,YU N,et al. Inactivated sendai virus induces ROS-dependent apoptosis and autophagy in human prostate cancer cells[J]. Biomed Environ Sci,2018,31(4):280-289.

[15] 王琳,刘新奎,师秀琴. Akt 通路在热化疗联合诱导人小细胞肺癌细胞凋亡中的作用[J]. 癌症,2010,29(4):429-433.

[16] 周凡,潘淑婷,邱嘉旋. 白花丹素通过 PI3K/AKT/mTOR 通路增强 PF 方案杀伤舌鳞癌细胞[J]. 实用口腔医学杂志,2018,34(4):512-517.

(收稿:2021-10-12　修回:2021-11-11)

本刊中、英文摘要的写作要求

"口腔基础医学研究"与"口腔临床医学研究"栏目文章中、英文摘要以 300 个实词为宜。撰写结构为:目的(Objective):研究的目的和任务,所涉及的主题范围;方法(Methods):所用的原理、方法、对象、材料、程序等;结果(Results):研究的结果、得出的数据、确定的关系、观察的结果等;结论(Conclusion):结果的分析、研究、比较、评价、应用、得到的启发、建议等。以第三人称过去式叙述,首次出现的英文缩写应标注相应的英文全称。

短篇报道和病例报告等指标性摘要以 150 个实词为宜。主要是介绍论文的论题、论文内容要点的具体总结或概括研究的目的,讲述论文的主体思想等。

(C)1994-2022 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net