

doi:10.3969/j.issn.1672-5972.2019.02.003
文章编号:swgk2018-11-00210

论著·实验研究

γ分泌酶抑制剂对乏氧环境下骨肉瘤细胞增殖及侵袭力影响的实验研究

王淼¹ 袁冰² 刘平³ 李贺伟³ 刘洋² 邹利军^{4*} 郭朗⁵

[摘要] 目的 探讨乏氧状态下 γ 分泌酶抑制剂(γ -secretase inhibitors, DAPT)介导Notch1信号通路对骨肉瘤MG-63细胞系增殖、凋亡、侵袭、转移的影响及相关机制。方法以骨肉瘤细胞株MG-63为研究对象,分为正常组(NC)、乏氧组(Hypoxia)和含有DAPT的乏氧组作为实验组(Hypoxia+DAPT)。采用流式细胞仪检测处理后的细胞周期,CCK-8方法检测细胞的增殖能力,并使用Western Blot检测MG-63细胞株中Notch1、HIF-1 α 、Hes-1蛋白的表达情况,通过Transwell实验来验证其转移能力。同时探讨DAPT在乏氧环境下对细胞增殖和细胞周期方面的影响,分析其介导的Notch1下调情况及其抑制乏氧对MG-63细胞的促增殖作用。结果与正常组相比较,乏氧组细胞的增殖能力及侵袭能力均较正常组有显著的提升,差异具有统计学意义($P<0.05$)。而实验组与乏氧组相比较, γ 分泌酶抑制剂(DAPT)能显著降低其增殖及侵袭能力($P<0.05$)。Western Blot结果显示,与正常组相比,乏氧组和实验组均可上调Notch1、HIF-1 α 、Hes-1相关蛋白的表达;但是与乏氧组对比,实验组可显著下调Notch1、HIF-1 α 、Hes-1蛋白的表达水平($P<0.05$)。流式细胞仪结果显示:与正常组相比,乏氧组和实验组均可促进细胞由G1期转向G2期;而与乏氧组对比,实验组可显著抑制细胞由G1期转向G2期,使细胞周期停滞,差异具有统计学意义($P<0.05$)。增殖实验结果显示,与正常组相比,乏氧组和实验组均可促进细胞增殖;而与乏氧组对比,实验组可显著抑制细胞增殖,差异具有统计学意义($P<0.05$)。结论 γ 分泌酶抑制剂可通过下调Notch1通路显著抑制乏氧状态下骨肉瘤细胞株MG-63的增殖与侵袭,阻断Notch1表达可能是潜在的治疗骨肉瘤的机制之一。

[关键词] γ 分泌酶抑制剂(DAPT);乏氧环境;Notch1信号通路;骨肉瘤;细胞增殖

[中图分类号] R738.1

[文献标识码] A

Experimental study on the effect of γ -secretase inhibitor on proliferation and invasiveness of osteosarcoma cells in hypoxic environment

Wang Miao¹, Yuan Bing², Liu Ping³, et al. 1 Department of Otolaryngology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei, 430022; 2 Department of Orthopedics, Second Affiliated Hospital of Jianghan University (Wuhan Fifth Hospital), Wuhan Hubei, 430050; 3 Department of Orthopedics; 4 Department of Wound Repair, Liyuan Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan Hubei, 430077; 5 Urology Department, Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou Guangdong, 511400, China

[Abstract] Objective To investigate the effects of Notch1 signaling pathway mediated by γ -secretase inhibitor (DAPT) on proliferation, apoptosis, invasion and metastasis of osteosarcoma MG-63 cell line in hypoxia. Methods The osteosarcoma cell line MG-63 was divided into normal group (NC), hypoxic group (Hypoxia), and hypoxic group containing DAPT as experimental group (Hypoxia+DAPT). Flow cytometry was used to detect the cell cycle after treatment, CCK-8 method was used to detect the proliferation ability of cells, and Western Blot was used to detect the expression of Notch-1, HIF-1 α and Hes-1 proteins in MG-63 cell line. To verify its transfer ability through Transwell experiment. At the same time, the effects of DAPT on cell proliferation and cell cycle in hypoxic environment were investigated. The down-regulation of Notch1 and the inhibition of hypoxia on MG-63 cells were analyzed. Results Compared with the normal group, the proliferative capacity and invasive ability of the hypoxic group were significantly higher than those of the normal group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with the hypoxic group, the γ -secretase inhibitor (DAPT) significantly reduced the proliferation and invasion ability of the experimental group ($P<0.05$). Western Blot results showed that both the hypoxic group and the experimental group up-regulated the expression of Notch1, HIF-1 α , and Hes-1 related proteins compared with the normal group, but the experimental group significantly down-regulated Notch1 and HIF-1 α , Hes-1 protein expression level compared with the hypo-

作者单位: 1华中科技大学同济医学院附属协和医院耳鼻喉科,湖北武汉,430022;2江汉大学附属第二医院(武汉市第五医院)骨科,湖北武汉,430050;3华中科技大学同济医学院附属梨园医院3骨科;4创面修复科,湖北武汉,430077;5广州中医药大学第二附属医院泌尿外科,广东广州,511400

xic group. ($P<0.05$). Flow cytometry results showed that compared with the normal group, both the hypoxic group and the experimental group could promote the cell from G1 to G2 phase, but compared with the hypoxic group, the experimental group significantly inhibited the cell from G1 to G2 phase, making the cell cycle stagnant and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The results of proliferation experiments showed that compared with the normal group, both the hypoxic group and the experimental group could promote cell proliferation, but compared with the hypoxic group, the experimental group significantly inhibited cell proliferation, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). Conclusion γ -Secretase inhibitor (DAPT) can significantly inhibit the proliferation and invasion of osteosarcoma cell line MG-63 by down-regulating Notch1 pathway. Down-regulating Notch1 expression may be one of the potential mechanisms for the treatment of osteosarcoma.

[Key words] γ -Secretase inhibitors (DAPT); Hypoxic environment; Notch1 signaling pathway; Osteosarcoma; Cell proliferation

骨肉瘤好发于青少年，是最常见的恶性骨肿瘤^[1]，其恶性程度高，复发或转移是骨肉瘤患者死亡的最主要原因^[2]。因此研究新型、高效、低毒的抗肿瘤药物，对改善骨肉瘤患者的预后具有重要的意义，现已成为骨肉瘤治疗研究的重点之一^[3]。肿瘤组织具有缺血、缺氧的病理生理特点，目前普遍认为肿瘤缺氧与其侵袭转移特性密切相关^[4]。缺氧诱导因子 (hypoxia inducible factor, HIF) 在肿瘤缺氧应答体系中居于核心调控位置^[5]，而针对细胞缺氧反应最重要的介质是缺氧诱导因子 HIF-1 α 。Zanotti S 等^[6] 研究证实骨肉瘤细胞的增殖及分化主要由 Notch1 信号通路激活所致，并且其调控骨肉瘤干细胞更新、分化、存活及增殖。Notch1 通路的激活可调控下游靶基因，对骨肿瘤细胞增殖及分化具有重要作用^[7]。HIF-1 α 与 Notch1 通路在乏氧微环境中关系较密切，乏氧环境下 HIF-1 α 表达上调并促进 Notch1 的表达，同时诱导增殖、侵袭及引起分化阻滞等^[8-9]。Hes-1 是胚胎发育过程中的转录抑制因子，它可以调节祖细胞的功能，而 Notch1 转录因子是促进 Hes-1 基因表达的主要激活剂，在缺氧环境下已经证明了 Notch1 的表达上调能诱导 Hes-1 的表达，Notch-1 通路在多种细胞中主要通过 Hes-1 发挥作用^[10]。本研究通过体外试验探讨在乏氧微环境下阻断 Notch1 通路对骨肉瘤细胞生物学行为的影响，旨在为临床治疗骨肉瘤提供新的思路和依据。

1 材料与方法

1.1 实验细胞

骨肉瘤细胞系 MG-63 购自中国典型培养物保藏中心。采用体外分离培养获取后细胞培养至第 3 代时选取状态较好的细胞进行实验。

1.2 主要试剂

细胞培养主要试剂：二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO) (Sigma 公司，美国)； α MEM (Hyclone 公司，美国)；100 U/mL 青霉素、100 pg/mL 链霉素 (Hyclone 公司，美国)；胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购自 ScienCell 公司；胰蛋白酶 (Trypsin) 购自原培生物制品有限公司；磷

酸缓冲盐溶液 (phosphate buffered saline, PBS) (Hyclone 公司，美国)；Transwell 小室 (Corning 公司，美国)；台盼蓝 (Sigma 公司，美国)。

γ 分泌酶抑制剂 (DAPT) (Selleck Chemicals 公司，美国)；蛋白定量试剂盒 (江苏省碧云天公司)；ECL 发光试剂盒(武汉谷歌生物有限公司)；兔抗 GAPDH (cell signaling 公司，美国)；兔抗 NOTCH (武汉三鹰生物有限公司)；兔抗 Hes-1 (武汉三鹰生物有限公司)；兔抗 HIF-1 α (武汉三鹰生物有限公司)。细胞周期检测试剂盒 (401033，上海贝博公司)。Matrigel 基质胶 (BD 公司，美国)。结晶紫和多聚甲醛 (Sigma 公司，美国)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养及处理

骨肉瘤细胞株 MG-63 均培养于 37°C、5% CO₂ 培养箱的环境中。培养细胞所用完全培养基为 MEM (含有 10% 的胎牛血清，100 U/mL 的青霉素、链霉素)。细胞每 3 天换一次液，取对数期细胞用于实验，将其分为 3 种不同药物浓度梯度的处理组。每组在不同实验条件下分别按不同时间点 24 h、48 h、72 h 进行检测。最终确定的乏氧模型组以 37°C、CO₂ 浓度为 5%、O₂ 浓度为 1% 的培养箱处理 48 h 为主，并提取蛋白质。

1.3.2 实验分组

将骨肉瘤细胞株 MG-63 细胞置于乏氧 (37°C, 1% O₂, 5% CO₂) 环境下培养作为乏氧组，以正常氧环境 (37°C, 21% O₂, 5% CO₂) 下培养作为正常组，培养 24h、48h、72h，组别分为乏氧组、正常组和含有 DAPT 的乏氧组 (实验组)，其中 DAPT 的浓度分别为 1 μ M、5 μ M、10 μ M。

1.3.3 细胞增殖抑制率检测

采用 CCK-8 方法检测细胞的增殖能力，评估细胞生长抑制情况，每组实验重复 3 次，以 550 nm 和 750 nm 分别作为检测波长和参照波长测定各孔光密度值 (OD 值)，每组细胞增殖抑制率 (%) = (1 - 加药孔平均 OD 值/对照孔平

均 OD 值) ×100%。IC₅₀ 值, 即细胞增殖受抑制后所剩数目与全部细胞数之比等于 50%时所对应的浓度。采用 SPSS 11.5 软件进行计算, 并且将该 IC₅₀ 值作为后续实验浓度。

1.3.4 细胞转移实验

按照 9:1 的体积比用无血清培养基稀释 ECM 胶后, 以每孔 50 μL 的体积加到 Transwell 小室的上室, 并放入细胞培养箱孵育 4 h。待孵育完毕后, 小心吸弃上室因为 ECM 胶凝固而析出的液体之后, 每孔再加入 200 μL 无血清培养基于 37°C 环境下水化 30 min。小心移弃上室水化培养基, 离心收集消化下来的已处理的细胞, 用无血清培养基重悬并调整细胞浓度至 3×10⁵/mL, 于上室中加入 200 μL 含有细胞的悬液, 下室中加入预先配好的包含 30% FBS 浓度的培养基。培养 48 h 以后, 取出小室, 用多聚甲醛固定细胞后洗净再用结晶紫进行染色, 在用棉签仔细擦去上室细胞后, 于显微镜下分 9 个视野逐一观察小室下室穿过的细胞数目并拍照用于进一步的分析。

1.3.5 细胞周期及凋亡

细胞处理完成后, 用于检测周期的细胞用 0.25% 的胰蛋白酶消化收集以后离心, PBS 反复清洗 2 次以后用预冷的浓度为 70% 的乙醇固定并于冰箱内过夜。用于检测凋亡的细胞消化后和培养基上清混合再常规离心进行收集。固定好的细胞进行离心后吸弃上清并用 PBS 清洗 2 次以后, 用 160 μL PBS 重悬细胞并加入 20 μL 浓度为 50 μg/mL 的 PI 以及 20 μL 浓度为 25 μg/mL 的 RNase-A 避光条件下 37°C 孵育 15 min。用于检测凋亡的细胞则用 500 μL 缓冲液重悬, 调整细胞浓度至 1×10⁶/mL, 然后加入 5 μL AnnexinV-FITC 以及 10 μL PI (20 μg/mL) 4°C 条件下孵育 15 min。最后把处理好的细胞混匀后移到流式管内, 用流式细胞仪进行检测。检测结束后用 Flowjo 软件分析统计数据, 所有试验独立重复 3 次。

1.3.6 细胞样本蛋白提取

首先, 用无菌 PBS 反复漂洗细胞 3 遍, 向样本中加入适量的含有 1% 浓度 PMSF 的 RIPA 强裂解液, 将细胞样本充分吹打洗刮后置于冰上 15 min。收集混合液于 1.5 mL EP 管后用超声细胞破碎仪破碎 2 次, 每次 2 s。再将 EP 管置于已经预冷至 4°C 的低温高速离心机中进行离心 (12 000 rpm, 10 min)。离心完成后小心转移上清至另一个 1.5 mL EP 管中, 随后用蛋白定量试剂盒对所提取蛋白质的蛋白浓度进行检测。最后, 向所得蛋白中加入 1/4 蛋白体积的上样缓冲液并煮沸 10 min 使蛋白质完全变性。

1.3.7 蛋白印迹实验测相关蛋白的表达

转膜完毕后, 打开转膜夹放入用 TBST 配制的 5% 脱脂牛奶内进行封闭, 并放置于摇床 1 h。取出 PVDF 膜, 用

TBST 洗涤 1 遍, 并按照抗体说明书上的建议稀释比例用一抗稀释液配制一抗, 将配好的抗体滴加一抗孵育盒内以覆盖住有目的蛋白面为宜, 将一抗孵育盒置于冰箱内 4°C 孵育过夜。孵育完毕后, 取出一抗中的 PVDF 膜, 放入 TBST 内并置于摇床上, 漂洗 15 min 重复 3 次, 并回收一抗。按照二抗说明书上的建议比例用 TBST 配制的 5% 脱脂牛奶配制二抗, 并将二抗孵育盒置于摇床上混匀, 待 PVDF 膜洗涤完毕, 将条带放置在二抗中孵育 1 h。1 h 后取出 PVDF 膜, 再放入 TEST 内摇床上漂洗 15 min, 重复 3 次。最后按照 1:1 的比例制备 ECL AB 发光液, 对 PVDF 膜进行曝光, 检测目的条带。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 11.5 软件进行统计学分析, 计量资料用均数±标准差表示; 采用 One-way ANOVA 分析和 t 检验; P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乏氧环境下及 DAPT 介导 Notch 下调抑制骨肉瘤细胞促增殖及周期的影响

CCK-8 法检测结果显示如图 (见图 1), 表明乏氧状态下能促进骨肿瘤细胞 MG-63 增殖, 12 h 后随着时间延长, 乏氧的促进增殖作用明显增加, 在 48 h 常氧及乏氧对细胞增殖的作用可见明显差异; MG-63 细胞经过 DAPT 下调 Notch1 表达后置入乏氧环境下孵育 72 h, 细胞增殖作用明显下降, 在作用 48 h 后 MG-63 细胞增殖显著减慢, 证明 DAPT 确能通过 Notch1 通路来抑制 MG-63 细胞的增殖。流式细胞仪检测 MG-63 细胞在乏氧状态下 72 h 的细胞周期分布情况 (见图 2), 与正常组相比, 乏氧组 G0/G1 期细胞较正常组明显减少, 差异具有统计学意义; MG-63 细胞经过 DAPT 下调 Notch1 表达后置入乏氧环境下孵育 72 h, 细胞周期分布发生变化, 与正常组相比, 乏氧能明显促进细胞向 G2 期转化, 促进细胞增殖, 而实验组呈 G0 期阻滞。

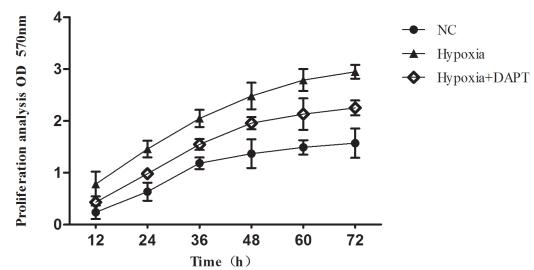


图 1 CCK-8 法检测细胞增殖(图中 NC 为正常组、Hypoxia 为乏氧组、Hypoxia+DAPT 为实验组)

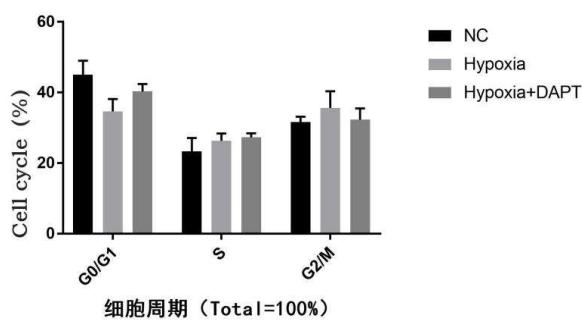


图2 流式细胞仪检测 MG-63 细胞在乏氧状态下 72 h 的细胞周期分布情况(图中 NC 为正常组、Hypoxia 为乏氧组、Hypoxia+DAPT 为实验组)

2.2 乏氧环境下及 DAPT 介导 Notch 下调乏氧环境下对 MG-63 细胞转移的影响

参照 Transwell 小室说明书, 同步化处理正常组与乏氧组的细胞, 倒置显微镜下观察并进行穿膜细胞计数。Transwell 实验结果如图 3 显示, 乏氧组比正常组在单位视野下, 48 h 内细胞穿膜数量增多。实验组比乏氧组在单位视野下, 48 h 内细胞穿膜数量减少。

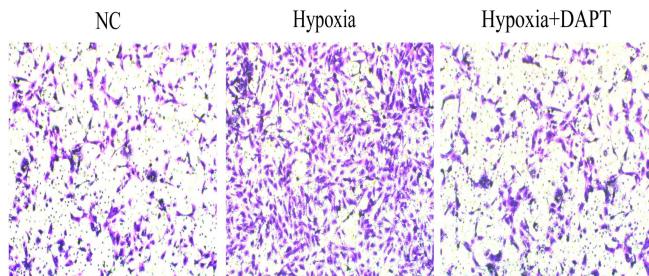


图3 Transwell 实验显示 48 h 内细胞穿膜数量来验证其转移能力(×400 倍, 图中 NC 为正常组、Hypoxia 为乏氧组、Hypoxia+DAPT 为实验组)

2.3 乏氧环境能调节骨肉瘤细胞的相关蛋白的改变

Western Blot 检测乏氧环境下 HIF-1 α 的表达明显上调。乏氧状态下乏氧组与正常组 MG-63 细胞相比, HIF-1 α 下游的 Notch1、Hes-1 蛋白表达情况如图 4 所示, 蛋白表达增强且呈时间依耐性(见图 4)。

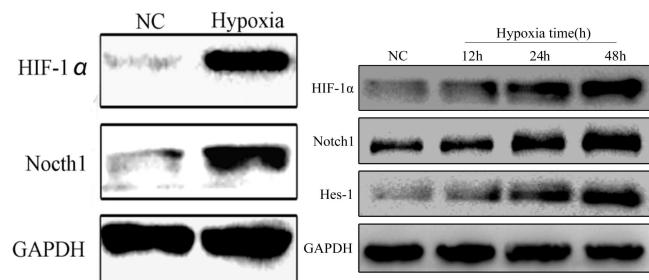


图4 乏氧状态下乏氧组与正常组 MG-63 细胞相比, HIF-1 α 下游的 Notch1、Hes-1 蛋白表达情况(图中 NC 为正常组、Hypoxia 为乏氧组)

2.4 乏氧环境下 DAPT 阻断 Notch1 通路对骨肉瘤细胞的 Notch 蛋白表达影响

Western Blot 检测不同条件下 MG-63 细胞骨肿瘤 Notch1-ICN 蛋白表达变化, 正常组、乏氧组和实验组蛋白表达分别为图 5 所示。在乏氧环境下, DAPT 阻断 Notch1 通路的 MG-63 细胞 Notch1、Hes-1 蛋白明显下调, 且与 DAPT 的浓度呈依耐性, 乏氧组与实验组 Notch1-ICN 蛋白表达具有明显差异($P<0.05$)。

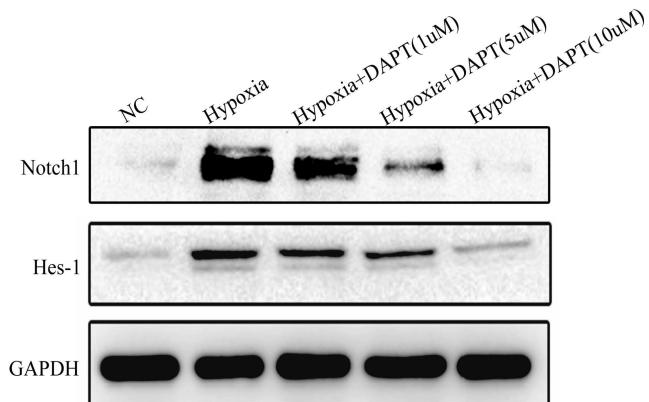


图5 乏氧环境下, DAPT 阻断 Notch1 通路的 MG-63 细胞 Notch1、Hes-1 蛋白明显下调, 且与抑制剂 DAPT 的浓度呈依耐性(图中 NC 为正常组、Hypoxia 为乏氧组、Hypoxia+DAPT 为实验组)

3 讨论

骨肉瘤是一种起源于间叶组织的骨原发性恶性肿瘤, 其恶性程度高、生长快且易转移, 临床预后差, 好发于儿童及青少年, 常规方法治疗效果仍不理想。随着近年来新辅助化疗和手术治疗的应用, 使得恶性骨肉瘤的保肢率及生存率有了较大提升, 但较高的死亡率使得骨肉瘤的临床治疗仍面临着巨大的挑战。恶性肿瘤的过度生长和异常增殖超过新生血管形成的速度而造成的氧扩散距离增加会引起慢性缺氧, 使得实体瘤内出现乏氧微环境, 缺氧将触发基因的表达变化, 它能通过几种机制来促进肿瘤的进展, 包括新生血管的形成和增加细胞的增殖、迁移、侵袭、耐药能力等。已经证实骨肉瘤存在乏氧微环境, 乏氧可促进骨肉瘤细胞增殖及侵袭能力增强等^[13]。在乏氧微环境下, HIF-1 α 在维持肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭及肿瘤耐药等方面发挥重要的作用。

研究^[12]显示肿瘤的发生发展与 Notch 的活化关系密切, 其参与肿瘤细胞的增殖、侵袭及耐药等。Notch 的异常表达已经在人类许多实体瘤中发现, 在乳腺癌、前列腺癌、肉瘤、肺癌等恶性肿瘤疾病中存在异常表达^[13]。Notch 信号通路包括 Notch 配体、受体, 阴性和阳性调节剂以及 Notch 靶向转录因子。对于 Notch1 与骨肉瘤的研究, 国内学者李永刚等^[14]指出大蒜素和姜黄素能够通过下调 Notch1 信号通路和上调肿瘤抑制基因 miRNAs 来诱导骨肉瘤细胞周期阻滞、

凋亡增加来抑制骨肉瘤发生、发展，从而发挥抗骨肉瘤作用。国内外研究提示多种分子可通过激活 Notch 信号来增强骨肉瘤侵袭力及其增殖能力，研究 Notch1 信号通路的抑制剂将成为肿瘤治疗的新思路。实验研究表明，乏氧微环境下转录调控因子 HIF-1 α 被激活使其下游 Notch1 表达上调引起 Notch1 信号通路的激活，同时诱导肿瘤细胞增殖及肿瘤侵袭力增强等^[15]。这些发现提示骨肉瘤 Notch1 通路的抑制剂（ γ 分泌酶抑制剂）将成为 Notch 靶向治疗的有效靶点。

本研究中选用的骨肉瘤 MG-63 细胞系存在较高的 Notch1 信号表达。研究结果中图 1 显示骨肉瘤细胞在乏氧微环境下可以明显增殖，在图 2 中显示乏氧微环境下 G1/G2 期细胞减少，证明乏氧微环境能促使骨肉瘤细胞 MG-63 周期从 G0/G1 向 G2/M 转化，而实验组呈 G0 期阻滞增多说明 DAPT 对骨肉瘤细胞 MG-63 增殖的抑制作用明显。图 3 也印证了 DAPT 抑制骨肉瘤细胞转移能力。细胞增殖与乏氧微环境下 HIF-1 α 激活有关，图 4 中已经证实 在乏氧状态下 HIF-1 α 与 Notch 基因水平及蛋白水平均表达上调并且呈时间依耐性。图 5 应用 γ 分泌酶抑制 DAPT 下调 Notch1 能诱导乏氧环境下骨肉瘤细胞的增殖能力减弱，且强调了 Notch1 是乏氧的下游通路，阻断 Notch1 可以逆转乏氧对骨肉瘤细胞 MG-63 细胞的促增殖作用，提示 Notch1 是骨肉瘤细胞恶性增殖的有效分子靶点。图 5 显示 DAPT 作为 Notch1 通路的有效抑制剂其抑制作用呈浓度依耐性，本研究选取 10 μ M 浓度的 DAPT 作为本研究的实验浓度，在 10 μ M 的作用浓度下，基因水平及细胞周期都能发生阻滞，可见肿瘤细胞的侵袭力在 DAPT 的作用下得到有效抑制（见图 1、图 2、图 3）。上述结果均显示在乏氧微环境下 HIF-1 α 在骨肉瘤中的表达模式和生物学功能，同时初步阐明了其通过调控下游靶基因 Notch1 从而影响骨肉瘤细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力的作用机制，这为深入了解骨肉瘤发生发展机制提供了理论指导，同时为骨肉瘤的诊断和治疗提供了新的思路。

乏氧微环境下 HIF-1 α 活化是细胞乏氧应答的关键环节，HIF-1 α 的转录激活能增强肿瘤细胞的葡萄糖转运及糖酵解能力，调节肿瘤细胞的增殖及代谢的生理学过程^[16]。乏氧环境下 HIF-1 α 与 Notch 相互作用，诱导多种肿瘤的发生发展进程。

综上所述，本研究选取 HIF-1 α 及 Notch1 信号通路作为作用靶点进行细胞体外实验，研究结果显示 DAPT 可通过下调 Notch1 通路显著抑制乏氧状态下骨肉瘤细胞株 MG-63 的增殖与侵袭。 DAPT 作为骨肉瘤的靶向治疗药物，与传统药物相比具有更加光明的应用前景；接下来将进一步研究明确在体动物实验中 DAPT 对骨肉瘤 MG-63 细胞系生物学影响的具体作用机制，为将来 DAPT 临床应用治疗骨肉瘤提供新的思路和依据。

参考文献

- [1] Lv C, Hu HY, Zhao L, et al. Intrathecal SRT1720, a SIRT1 agonist, exerts anti-hyperalgesic and anti-inflammatory effects on chronic constriction injury-induced neuropathic pain in rats[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(5): 7152-7159.
- [2] Herskovits AZ, Guarante L. SIRT1 in neurodevelopment and brain senescence[J]. Neuron, 2014, 81(3): 471-483.
- [3] 江哲珍, 祝少博, 余黎, 等. 左旋含羞草碱诱导骨肉瘤细胞凋亡作用及机制的体外实验研究[J]. 生物骨科材料与临床研究, 2018, 15(2): 1-4.
- [4] Kappler M, Taubert H, Eckert AW. Oxygen sensing, homeostasis, and disease[J]. N Engl J Med, 2011, 365(19): 1845-1846.
- [5] Greer SN, Metcalf JL, Wang Y, et al. The updated biology of hypoxia-inducible factor[J]. EMBO J, 2012, 31(11): 2448-2460.
- [6] Zanotti S, Canalis E. Notch Signaling and the Skeleton[J]. Endocr Rev, 2016, 37(3): 223-253.
- [7] Fryer CJ, White JB, Jones KA. Mastermind recruits CycC:CDK8 to phosphorylate the Notch ICD and coordinate activation with turnover[J]. Mol Cell, 2004, 16(4): 509-520.
- [8] Wu DL, Potluri N, Lu JP, et al. Structural integration in hypoxia-inducible factors[J]. Nature, 2015, 524(7565): 303-308.
- [9] Qiang L, Wu T, Zhang HW, et al. HIF-1alpha is critical for hypoxia-mediated maintenance of glioblastoma stem cells by activating Notch signaling pathway[J]. Cell Death Differ, 2012, 19(2): 284-294.
- [10] Zhang PY, Yang YW, Zweidler-McKay PA, et al. Critical role of Notch signaling in osteosarcoma invasion and metastasis[J]. Clin Cancer Res, 2013, 19(18): 5256-5257.
- [11] Wang SW, Liu SC, Sun HL, et al. CCL5/CCR5 axis induces vascular endothelial growth factor-mediated tumor angiogenesis in human osteosarcoma microenvironment[J]. Carcinogenesis, 2015, 36(1): 104-114.
- [12] Takebe N, Nguyen D, Yang SX. Targeting notch signaling pathway in cancer: clinical development advances and challenges[J]. Pharmacol Ther, 2014, 141(2): 140-149.
- [13] Rota E, Morelli N, Immovilli P, et al. Acquired pendular nystagmus from cerebellar nodulus acute ischemic lesion[J]. Neurology, 2012, 79(8): 832.
- [14] Li YG, Zhang JR, Ma DX, et al. Curcumin inhibits proliferation and invasion of osteosarcoma cells through inactivation of Notch-1 signaling[J]. FEBS J, 2012, 279(12): 2247-2259.
- [15] Zheng XF, Narayanan S, Zheng XW, et al. A Notch-independent mechanism contributes to the induction of Hes1 gene expression in response to hypoxia in P19 cells [J]. Experimental Cell Research, 2017, 358(2): 129-139.
- [16] Zhao W, Xia SQ, Zhuang JP, et al. Hypoxia-induced resistance to cisplatin-mediated apoptosis in osteosarcoma cells is reversed by gambogic acid independently of HIF-1alpha[J]. Molecular & Cellular Biochemistry, 2016, 420(1-2): 1-8.

[作者简介]王森(1980-)女,本科,主管护师、护士长。研究方向:护理管理。

*[通信作者]邹利军(1978-)男,硕士,主治医师。研究方向:创面修复外科。

(收稿日期:2018-11-30)