

文章编号:1005-6947(2007)12-1166-05

· 基础研究 ·

五羟黄酮调节肝癌 HepG2 细胞 bax 基因表达诱导细胞凋亡的实验研究

马兴标¹, 张继红^{1,2}, 梁力建³, 黄洁夫³

(广东药学院 1. 附属第一医院 肝胆外科 2. 临床医学院 外科教研室, 广东 广州 510224; 3. 中山大学附属第一医院 肝胆外科, 广东 广州 510080)

摘要:目的 探讨三磷酸肌醇(IP_3)和 bax 基因表达变化在五羟黄酮(Quercetin)诱导肝癌细胞凋亡中的作用。方法 以肝癌 HepG2 细胞培养 72 h 为对照,以 20, 40, 60, 80 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin 作用于 HepG2 细胞 72 h 和 60 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin 作用于 HepG2 细胞 6, 12, 24, 48, 72 h, 应用同位素试剂盒检测细胞 IP_3 含量, RT-PCR 分析 bax mRNA 表达, Western blotting 分析细胞 bax 蛋白表达, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。结果 各浓度的 Quercetin 作用于肝癌 HepG2 细胞 72 h, IP_3 含量显著低于对照组 ($P < 0.01$), bax mRNA 和 bax 蛋白表达显著高于对照组, 细胞凋亡率显著高于对照组 ($P < 0.01$); 60 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin 作用于肝癌 HepG2 细胞 6, 12, 24, 48, 72 h, 各时相 IP_3 含量显著低于对照组 ($P < 0.01$); 12 h 后 bax mRNA 和 bax 蛋白表达显著高于对照组, 24 h 后各时相细胞凋亡率为显著高于对照组 ($P < 0.01$)。结论 Quercetin 能减少 IP_3 生成, 上调 bax 基因表达, 诱导肝癌细胞凋亡。

[中国普通外科杂志, 2007, 16(12): 1166-1170]

关键词: 癌, 肝细胞; 肿瘤细胞, 培养的; 五羟黄酮; 三磷酸肌醇; bax 基因; 细胞凋亡

中图分类号: R 735.7

文献标识码: A

Quercetin regulates bax gene expression and induces apoptosis in hepatocellular carcinoma HepG2 cells

MA Xing-biao¹, ZHANG Ji-hong², LIANG Li-jian³, HUANG Jie-fu³

(1. Department of Hopatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital 2. Department of Hepato-biliary Surgery, Clinical College, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510024, China; 3. Department of Hepato-biliary Surgery, the First Affiliated Hospital, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China)

Abstract: Objective To explore the role of 1, 4, 5-trisphosphate inositol (IP_3) and bax gene expression in apoptosis of HepG2 cells induced by Quercetin. **Methods** HepG2 cells were cultured for 72 h as control. HepG2 cells were treated with different concentrations including 20, 40, 60, 80 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin for 72 h, and treated with 60 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin for 12 h, 24 h, 48 h and 72 h. IP_3 , bax mRNA, bax protein and apoptosis rate were assayed by IP_3 -[^3H] Birtrak assay, RT-PCR, Western blotting and flow cytometry, respectively. **Results** In HepG2 cells incubated with each of the concentrations of Quercetin for 72 h, IP_3 content was lower than that of control ($P < 0.01$), bax mRNA expression and bax protein expression was higher than that of control, and the apoptosis rate was higher than that of control; in HepG2 cells incubated with Quercetin for 6 h, 12 h, 24 h, 48 h, 72 h, IP_3 content was lower than that of control ($P < 0.01$); bax mRNA and bax protein expression in groups incubated with 60 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin for 12 h was higher than that of control, and the apoptosis rate in groups incubated with 60 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin for

收稿日期: 2007-02-25; 修订日期: 2007-08-14。

作者简介: 马兴标, 男, 广东普宁人, 广东药学院附属第一医院主治医师, 主要从事肝胆胰脾外科疾病的基础及临床方面的研究。

通讯作者: 张继红 E-mail: zhjihong@hotmail.com

24h, 48h and 72h was significantly higher than that in control ($P < 0.01$). **Conclusions** Quercetin induces apoptosis of HepG2 cells by reducing IP_3 production and up-regulating bax gene expression.

[Chinese Journal of General Surgery, 2007, 16 (12) : 1166 - 1170]

Key words: Carcinoma, Hepatocellular; Tumor Cells, Cultured; Quercetin; IP_3 ; bax gene; Apoptosis

CLC number: R 735. 7

Document code: A

细胞信号转导决定基因表达与细胞增殖和凋亡^[1]。细胞增殖、分化、凋亡失衡与肝癌的发生发展密切相关^[2-3]。失控性生长和增殖及细胞凋亡受阻是恶性肿瘤细胞的重要特征^[4]。因此,通过改变细胞信号转导状态以调节基因表达,进而抑制细胞增殖或/和诱导细胞凋亡将达到治疗肝癌的目的。磷酸肌醇通路信号转导异常增强,表现为催化这一通路的生化反应关键酶磷脂酰肌醇(PI)激酶、磷脂酰肌醇一磷酸(PIP)激酶活性增强和第二信使分子三磷酸肌醇(IP_3)和二酰基甘油(DG)产生增加,在肝癌生长、增殖和演进中起重要作用^[5-6]。Bax 基因表达产物上调有促进肿瘤细胞凋亡的作用,反之则抑制凋亡^[7]。Quercetin^[8-10]能同时抑制 PI 激酶和 PIP 激酶活性,但能否通过抑制磷酸肌醇通路信号转导影响肝癌细胞 bax 基因表达、进而诱导凋亡,目前尚罕见报道。本研究就该问题进行探讨,为应用磷酸肌醇信号通路抑制剂治疗肝细胞癌(HCC)提供理论和实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

肝癌 HepG2 细胞株(中山大学动物实验中心细胞库),RPMI-1640 培养基(Invitrogen 公司),新生牛血清(Hyclone 公司),Quercetin(美国 Sigma 公司,分析纯), IP_3 -^[3H] Birtrak Assay 试剂盒(Amersham 公司),RNA later(Ambion 公司),Trizol Reagent(MRC 公司),SuperScript II 逆转录酶(Gibco BRL 公司),Taq 酶(Takara 公司),胰酶(Sigma 公司),RNase 抑制剂,Oligo d(T)18 和 dNTP(上海生物工程技术服务有限公司),SDS(Roche 公司),Spanish 低熔点琼脂糖(Biowest 公司),Tris 及 EDTA(Sigma 公司),bax 鼠抗人单克隆抗体(Santa Cruz 公司), β -actin 鼠抗人单克隆抗体(Neomarker 公司),带化学发光物的抗小鼠免疫球蛋白(IgG,二抗)试剂盒(武汉博士德公司),PVDF 膜(Roche 公司);其他试剂均为分析纯。流式细胞仪(美国

Beckman-Coulter 公司,机器型号 ELITE,激光波长 488 nm,功率 15 mW)。

聚合酶链式反应(PCR)引物由上海生物工程技术服务有限公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 将 HepG2 细胞快速解冻,分装入 25 cm³ 培养瓶,加入含 10% 小牛血清、青霉素 1×10^5 U/L、链霉素 100 mg/L 的 RPMI-1640 培养基,单层培养和孵化于 5% CO₂ 和 95% 的湿润空气,37℃ 的细胞培养箱中,每 3 天更换培养液 1 次。待细胞覆盖培养瓶壁 80% ~ 90% 后给予传代培养。吸去陈旧培养基,用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤细胞 2 次,按 0.1 ~ 0.2 ml/cm² (瓶底面积)的数量加入 0.25% 含 0.1 mmol/L EDTA 的胰蛋白酶,于 37℃ 下消化。观察细胞形态,见细胞突起回缩、细胞形态近乎圆形时倾出胰蛋白酶,加入带血清的培养基 3 min 中止消化。吸取培养基吹打培养瓶底壁,待瓶底细胞脱落干净后,吸出培养基加入离心管,1 000 × g 离心 5 min,去除上清含酶的培养基。加入新培养基,混匀悬浮细胞后计数细胞,分装入新培养瓶中培养。

1.2.2 剂量依赖性和时间依赖性实验 按上述方法传代培养至瓶底贴壁细胞长满,将经同样传代的 HepG2 细胞制成细胞悬液,浓度调至 2×10^9 / L,分瓶后加入含 10% 小牛血清、青霉素 1×10^5 U/L、链霉素 100 mg/L 的 RPMI-1640 培养基培养。当细胞生长至对数生长期时进行以下实验。用 DMSO 溶解 Quercetin 配制成浓度 10 mmol/L 储存药液, -20℃ 保存,实验时应用上述含血清的完全培养基稀释成所需浓度,每种药液中 DMSO 的终浓度为 0.8% (V/V)。

(1) 剂量依赖性实验 在培养 HepG2 细胞中加入 DMSO 浓度为 0.8% (V/V) 的 RPMI 1640 培养基培养 72 h 为对照组。实验组在培养 HepG2 细胞 RPMI 1640 培养基中分别加入用 DMSO 溶解的 20, 40, 60, 80 μ mol/L Quercetin, 分别培养 72 h 取细胞进行相关指标检测。

(2) 时间依赖性实验 培养基中加入含 0.8% DMSO 培养 72 h 为对照组, 实验各组培养基中加入 60 $\mu\text{mol/L}$ 的 Quercetin 分别培养 6, 12, 24, 48, 72 h 取细胞进行相关指标检测。

1.2.3 IP_3 - $[\text{}^3\text{H}]$ Birtrak Assay 检测 IP_3 含量 按 IP_3 - $[\text{}^3\text{H}]$ Birtrak Assay 试剂盒操作说明操作。细胞计数后采用高氯酸沉淀法提取 IP_3 样品, 在反应体系中加入 100 μL 缓冲液、100 μL 标准品或样品、100 μL $[\text{}^3\text{H}]$ - IP_3 稀释液、100 μL 结合蛋白, 旋转混合, 冰上孵育 15 min, 4 $^\circ\text{C}$ 下 2 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液, 使沉淀完全干燥, 加入 1 mL 去离子水, 充分旋转混匀, 15 ~ 30 $^\circ\text{C}$ 下孵育 10 min 后再旋转混匀, 移入液闪瓶, 加入 10 mL 液闪液, 加盖混匀, 于 β -液闪计数器上进行液闪计数 4 min。按操作说明绘制标准曲线, 对照标准曲线求出各样品 IP_3 含量。

1.2.4 RT-PCR 检测 bax mRNA 表达 采用 Trizol Reagent 提取法进行 RNA 提取, 离心、沉淀 RNA, RNA 样品用 1% 琼脂凝胶电泳检测 RNA 完整性。RNA 定量后取总 RNA 2 μg 进行逆转录反应, 之后 50 μL 反应体系进行体外 PCR 扩增。bax 上游引物: 5'-CCACCAGCTCTGAACAGTTCATGA-3', 下游引物: 5'-TCAGCCCATCTTCTCCAGATGGT-3'; 扩增产物长度 507bp。DNA 热循环仪(美国 PE 公司) 扩增, 扩增条件: 94 $^\circ\text{C}$ 变性 5 min, 94 $^\circ\text{C}$ 60s, 55 $^\circ\text{C}$ 45s, 72 $^\circ\text{C}$ 60s, 28 个循环, 最后 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 10 min。 β -actin 上游引物: 5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3', 下游引物: 5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTC-3'; 扩增产物长度 548bp, 扩增条件: 94 $^\circ\text{C}$ 变性 5 min, 94 $^\circ\text{C}$ 60s, 58 $^\circ\text{C}$ 60s, 72 $^\circ\text{C}$ 60s, 35 个循环, 最后 72 $^\circ\text{C}$ 延伸 10 min。反应产物在凝胶中以 100V 电泳后于凝胶成像仪中观察拍照, 在图象分析仪上经 Gene Tools 软件进行半定量分析, 将测出各条带灰度与面积之积除以 β -actin 的灰度与面积之积, 得到一相对强度 (relative intensity, RI), 通过各浓度组和各时相组的 RI 值比较可得出基因表达的量变规律。

1.2.5 Western blotting 方法测定 bax 蛋白表达 取各时相组细胞, SDS 匀浆、离心, 上清液煮沸 5 min。上清进行聚丙烯酰胺凝胶电泳。将凝胶完整取下, 于转移缓冲液中转膜。取出 PVDF 膜, 封闭, 加入一抗 bax 鼠抗人单克隆抗体, 以 β -actin 单克隆抗体为内参, 4 $^\circ\text{C}$ 轻摇过夜。洗去 PVDF 膜上未结合的抗体, 加入二抗室温下共同孵育 2 h

后, 采用化学发光试剂显色, 电子计算机图像分析仪成像并进行半定量分析。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡 收集各组细胞, PBS 清洗 2 遍。用冷的 75% 的乙醇 4 $^\circ\text{C}$ 过夜固定细胞, 应用 PI 法检测细胞凋亡, 经仪器自带软件处理直接得出细胞的凋亡率。

1.3 统计学处理

所有实验重复进行 3 次, 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 12.0 软件进行统计学分析, 方差齐性者采用方差分析法进行分析, 方差不齐者进行秩变换后具备方差齐性, 然后进行方差分析。

2 结果

2.1 IP_3 含量变化

2.1.1 不同浓度 Quercetin 对 HepG2 细胞 IP_3 含量的影响 随着 Quercetin 浓度的增加 HepG2 细胞 IP_3 含量逐渐降低, 各浓度下 IP_3 含量均显著低于对照组 ($P < 0.01$) (表 1)。

2.1.2 60 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin 不同作用时间对 HepG2 细胞 IP_3 含量的影响 对照组 HepG2 细胞 IP_3 含量为 (29.2 \pm 0.6) pmol/106 细胞, 应用 60 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin 处理 6, 12, 24, 48, 72 h, 随着 Quercetin 作用时间的延长 HepG2 细胞 IP_3 含量逐渐降低, 各时相 IP_3 含量均显著低于对照组 ($P < 0.01$) (表 2)。

2.2 bax mRNA 表达的变化

HepG2 细胞在 40 $\mu\text{mol/L}$ 以上 Quercetin 作用下 bax mRNA 表达增加, 但不明显 (图 1)。半定量分析显示 Quercetin 各浓度下 bax mRNA 表达均显著高于对照组, 呈剂量依赖性 ($P < 0.05$) (表 1)。

半定量分析显示药物作用 12 h 后 60 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin 组各时相 bax mRNA 表达显著高于对照组 ($P < 0.05$) (表 2), 但随着 Quercetin 作用时间的延长, HepG2 细胞 bax mRNA 表达增加, 但不明显, 且无明显的时间依赖性 (图 1)。

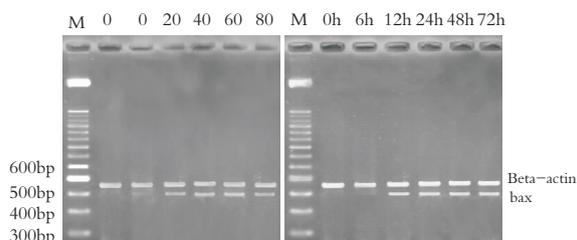


图 1 HepG2 细胞在不同浓度 Quercetin (左) 和不同时间 (右) 作用下的 bax mRNA 表达 (浓度单位 $\mu\text{mol/L}$)

2.3 bax 蛋白表达的变化

半定量分析显示各浓度 Quercetin 作用下 bax 蛋白表达均显著高于对照组 ($P < 0.01$) (表 1),但在不同浓度 Quercetin 作用下 HepG2 细胞 bax 蛋白表达增加,但无明显剂量依赖性(图 2)。

在 $60 \mu\text{mol/L}$ Quercetin 组随着 Quercetin 组作用时间延长, HepG2 细胞 bax 蛋白表达增加,有一定时间依赖性 ($P < 0.01$) (表 2, 图 3)。

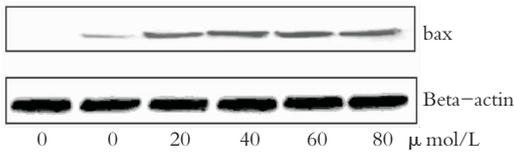


图 2 HepG2 细胞在不同浓度 Quercetin 作用下 bax 蛋白表达

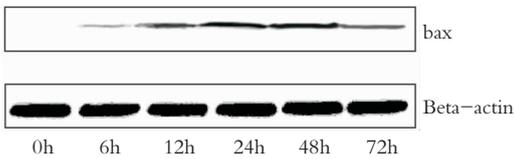


图 3 HepG2 细胞在 $60 \mu\text{mol/L}$ Quercetin 作用不同时间的 bax 蛋白表达

2.4 细胞凋亡

2.4.1 不同浓度 Quercetin 对 HepG2 细胞凋亡的影响 Quercetin 各浓度下细胞凋亡率均显著高于对照组 ($P < 0.01$),但当浓度达到 $60 \mu\text{mol/L}$ 以上时细胞凋亡率不再明显增加(表 1)。

2.4.2 Quercetin 不同作用时间对 HepG2 细胞凋亡的影响 随着作用时间延长细胞凋亡率逐渐增加,加入 $60 \mu\text{mol/L}$ Quercetin 24 h 后各时相细胞凋亡率均显著高于对照组,随着 Quercetin 作用时间延长, HepG2 细胞凋亡峰逐渐增高。 ($P < 0.01$) (表 2)。

表 1 不同浓度 Quercetin 对 HepG2 细胞 IP_3 , bax mRNA, bax 蛋白表达及细胞凋亡率的影响 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

药物浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	IP_3 ($\text{pmol}/10^6\text{cells}$)	bax mRNA (RI)	bax protein (RI)	细胞凋亡率(%)
0	29.4 ± 0.5	0.08 ± 0.01	0.01 ± 0.001	2.6 ± 0.1
20	$17.9 \pm 1.5^\dagger$	$0.23 \pm 0.03^\dagger$	$0.16 \pm 0.07^\dagger$	$11.2 \pm 1.1^\dagger$
40	$15.5 \pm 1.1^\dagger$	$0.28 \pm 0.03^\dagger$	$0.15 \pm 0.02^\dagger$	$15.5 \pm 1.1^\dagger$
60	$5.7 \pm 0.9^\dagger$	$0.30 \pm 0.06^\dagger$	$0.18 \pm 0.05^\dagger$	$26.8 \pm 2.5^\dagger$
80	$5.5 \pm 0.8^\dagger$	$0.33 \pm 0.07^\dagger$	$0.21 \pm 0.06^\dagger$	$27.1 \pm 1.5^\dagger$

注: † 与对照组相比 $P < 0.01$

表 2 Quercetin 不同作用时间对 HepG2 细胞 IP_3 , bax mRNA, bax 蛋白表达及细胞凋亡率的影响 ($n = 3, \bar{x} \pm s$)

时间 (hours)	IP_3 ($\text{pmol}/10^6\text{cells}$)	bax mRNA (RI)	bax protein (RI)	细胞凋亡率(%)
0	29.2 ± 0.6	0.08 ± 0.02	0.01 ± 0.001	2.6 ± 0.1
6	$23.3 \pm 1.4^\dagger$	0.09 ± 0.01	0.03 ± 0.03	2.8 ± 0.2
12	$16.8 \pm 1.1^\dagger$	$0.26 \pm 0.05^\dagger$	$0.16 \pm 0.03^\dagger$	4.5 ± 1.2
24	$10.0 \pm 1.8^\dagger$	$0.28 \pm 0.03^\dagger$	$0.19 \pm 0.03^\dagger$	$11.7 \pm 0.8^\dagger$
48	$7.3 \pm 1.2^\dagger$	$0.30 \pm 0.01^\dagger$	$0.20 \pm 0.05^\dagger$	$14.3 \pm 0.7^\dagger$
72	$4.9 \pm 0.5^\dagger$	$0.32 \pm 0.05^\dagger$	$0.18 \pm 0.07^\dagger$	$25.6 \pm 2.4^\dagger$

注: † 与对照组相比 $P < 0.01$

3 讨论

本实验结果显示,随着 Quercetin 浓度的增加和作用时间的延长,肝癌 HepG2 细胞内 IP_3 含量逐渐下降, bax mRNA 和 bax 蛋白表达上调,细胞凋亡率逐渐增加,提示 Quercetin 能有效诱导肝癌细胞凋亡可能与抑制磷酸肌醇通路信号转导,调节 bax 基因表达密切相关。

bcl-2 基因家族是目前广泛研究的一类细胞凋亡相关基因,其表达和调控是影响细胞凋亡的关键因素之一,在细胞凋亡信号转导途径中发挥重要作用,与肝癌发生发展有密切关系。bcl-2 和 bax 分别是 bcl-2 家族中最有代表性的抑制凋亡和促进凋亡基因,并且 bax 是 bcl-2 活性的主要调控因子。细胞受到死亡信号刺激后, bcl-2 家族中的促凋亡蛋白在蛋白酶作用下发生构像变化,从细胞浆移位至细胞器膜上,尤其是线粒体外膜上,并与细胞器膜上和膜内的抗凋亡蛋白相互作用,使抗凋亡蛋白丧失对凋亡的抑制作用,引起细胞器功能丧失和各种促凋亡因子的释放,最终导致细胞凋亡^[11]。bcl-2 和 bax 表达水平的高低与凋亡调控直接相关, bax 增高促进细胞凋亡, bcl-2 增高抑制细胞凋亡^[7]。bcl-2 在细胞生存与死亡问题上起决定性作用。bax 单独作用可加速细胞凋亡的发生,但当与 bcl-2 形成二聚体时, bax-bcl-2 则在凋亡过程中起制动作用,保护细胞使之不发生凋亡。bcl/bax 比值对决定细胞是否进入凋亡状态有重要意义。当细胞内 bcl-2 较多时, bcl-2 和 bax 的异源二聚体增多,凋亡趋势减弱;当细胞内 bax 较多时, bax 本身形成的同源二聚体占主导,易于发生凋亡^[7]。本研究结果显示, Quercetin 能上调 bax mRNA 和 bax 蛋白表达,诱导肝癌 HepG2 细胞凋亡;提示 Quercetin 抑制磷酸肌醇通路信号

转导, bax 基因表达上调, 参与了诱导细胞凋亡。

肝癌组织细胞增殖和凋亡速度均较正常肝组织明显增加, 但细胞增殖和凋亡平衡失调, 增殖速度超过凋亡速度在肝癌发生发展中起重要作用^[12-13]。因此, 抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡可用于 HCC 治疗。既往研究^[10]表明, Quercetin 可降低肝癌细胞 PI 激酶和 PIP 激酶活性, 导致 IP₃ 产生下降, 使细胞生长于 G₁/S 期, 结果表现为增殖能力下降、停止甚至引起细胞死亡。本研究提示抑制肝癌细胞磷酸肌醇通路信号转导, 可上调 bax 基因表达, 诱导细胞凋亡。说明 Quercetin 既可抑制细胞增殖, 又可诱导细胞凋亡。因此, 进一步开展应用磷酸肌醇信号通路抑制剂治疗 HCC 的研究, 将有可能为提高其综合治疗效果提供一种新的治疗方法。

参考文献:

- [1] 孙大业, 郭艳林, 马力耕. 细胞信号转导[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 2000. 1-9.
- [2] Duan XX, Ou JS, Li Y, *et al.* Dynamic expression of apoptosis-related genes during development of laboratory hepatocellular carcinoma and its relation to apoptosis[J]. *World J Gastroenterol*, 2005, 11(30): 4740-4744.
- [3] Kountouras J, Zavos C, Chatzopoulos D. Apoptotic and anti-angiogenic strategies in liver and gastrointestinal malignancies[J]. *J Surg Oncol*, 2005, 90(4): 249-259.
- [4] Baskin-Bey ES, Gores GJ. Caspase-8, death-receptor signaling, and hepatocarcinogenesis: the Fas and the furious[J].

- Gastroenterology, 2005, 129(5): 1790-1792.
- [5] Singhal RL, Look KY, Yeh YA, *et al.* Coordinated increase in activities of the signal transduction enzymes PI kinase and PIP kinase in human cancer cells[J]. *Life Sciences*, 1994, 55(19): 1487-1492.
- [6] Shen F, Xue X, Weber G. Tamoxifen and genistein synergistically down-regulate signal transduction and proliferation in estrogen receptor-negative human breast carcinoma MDA-MB-435 cells[J]. *Anticancer Research*, 1999, 19(3A): 1657-1662.
- [7] Yang E, Zha J, Jockel J, *et al.* Bad, a heterodimeric partner for Bcl-XL and Bcl-2, displaces bax and promotes cell death[J]. *Cell*, 1995, 80(2): 285-291.
- [8] Weber G, Shen F, Prajda N, *et al.* increased signal transduction activity and down-regulation in human cancer cells[J]. *Anticancer Research*, 1996, 16(6A): 3271-3282.
- [9] Csokay B, Prajda N, Weber G, *et al.* Molecular mechanism in the antiproliferative action of Quercetin[J]. *Life Sciences*, 1997, 60(24): 2157-2163.
- [10] Weber G, Shen F, Prajda N, *et al.* Regulation of the signal transduction program by drugs[J]. *Advan. Enzyme Regul*, 1997, 37: 35-55.
- [11] 连君, 曹雪涛, 于益芝. Bcl-2, bax 与肿瘤细胞凋亡[J]. *中国生物治疗杂志*, 2003, 10(3): 232-234.
- [12] Schulte-Hermann R, Bursch W, Low-Baselli A, *et al.* Apoptosis in the liver and its role in hepatocarcinogenesis[J]. *Cell Biol Toxicol*, 1997, 13(4-5): 339-348.
- [13] Grasl-Kraupp B, Ruttkay-Nedecky B, Mullaer L, *et al.* Inherent increase of apoptosis in liver tumors: implications for carcinogenesis and tumor regression[J]. *Hepatology*, 1997, 25(4): 906-912.

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊决定采用汉语拼音姓名的新写法

编辑学报 2007 年第 5 期刊登了我国台湾省留美学者许仲平教授提出的中国人汉语拼音姓名写法的建议: 姓在前, 名在后, 姓的字母全大写, 名只首字母大写, 双名间不加连接号, 名字不缩写。

例如: “杨为民” 写作 “YANG Weimin”, 不写作 “Yang Weimin” 或 “YANG Wei - min” 或 “YANG W M” 或 “YANG W”。这是一个有助于解决西方人对中国人姓名误解的好建议。

这一建议符合中国人的姓名习惯, 与现行有效的国家标准的规范也基本一致, 差别只在于建议的姓字母全大写, 而国家标准仅规定姓的首字母大写, 而这样做确实便于西方人清楚区别中国人的姓和名。目前本刊实行的是姓字母全大写, 双名间加连接号。经慎重研究, 决定从 2008 年起采用姓的字母全大写、双名间不加连接号的建议。