

论著

文章编号:1000-5404(2012)21-2176-05

伐地考昔对人鼻咽癌 CNE-2 细胞增殖的抑制及放射增敏作用

黄 静¹,梅家转²,刘桂举³,臧利娜¹ (450003 郑州,郑州人民医院:药务科¹,肿瘤内科²,肿瘤实验室³)

[摘要] 目的 探讨伐地考昔抑制人鼻咽癌 CNE-2 细胞增殖和增强其放射增敏的作用。方法 根据实验设计的处理情况将 CNE-2 细胞分为 6 组:对照组(DMSO)、顺铂组(50 $\mu\text{mol/L}$)、伐地考昔组(50 $\mu\text{mol/L}$)、伐地考昔+顺铂组(50 $\mu\text{mol/L}$ 伐地考昔+50 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂)、Wortmannin 组(1 $\mu\text{mol/L}$)和伐地考昔+Wortmannin 组(50 $\mu\text{mol/L}$ 伐地考昔+1 $\mu\text{mol/L}$ Wortmannin)($n=8$)。采用 MTT 法检测 CNE-2 细胞的生长情况;Hoechst 法检测细胞凋亡指数;流式细胞仪检测细胞周期;平板集落形成实验检测放射增敏效应;Western blot 检测 COX-2、Akt、p-Akt(Ser473)、NAG-1 蛋白水平。结果 ①单纯 50 $\mu\text{mol/L}$ 伐地考昔处理可升高 CNE-2 细胞的增殖抑制率和凋亡指数、增强细胞的放射增敏,导致细胞 G_0/G_1 期增加、S 期降低,COX-2、p-Akt、p-Akt/Akt 降低,NAG-1 蛋白水平上升,与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$);②与 50 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂或 1 $\mu\text{mol/L}$ Wortmannin(PI3K 抑制剂)联合使用可增强其影响细胞周期、增殖抑制及放射增敏作用($P<0.05$),且细胞 G_2/M 期也降低;③50 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂处理不影响 COX-2 蛋白、Akt、p-Akt(Ser473)、NAG-1 蛋白水平,与伐地考昔联用不影响伐地考昔对以上蛋白水平的改变($P>0.05$);④1 $\mu\text{mol/L}$ Wortmannin 可降低 p-Akt、p-Akt/Akt,升高 NAG-1 水平,与伐地考昔联用可增强伐地考昔对 p-Akt、p-Akt/Akt、NAG-1 的改变作用。结论 伐地考昔可能通过降低 COX-2 和 PI3K/Akt/NAG-1 来抑制人鼻咽癌 CNE-2 细胞的增殖、促进其凋亡及放射增敏。

[关键词] 伐地考昔;CNE-2 细胞;PI3K/Akt;COX-2;抑制作用;放射增敏

[中图分类号] R739.63;R966;R979.19

[文献标志码] A

Valdecoxib suppresses proliferation and enhances radiosensitivity in nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-2

Huang Jing¹, Mei Jiazhan², Liu Guiju³, Zang Lina¹ (¹Department of Pharmaceutical Affairs, ²Department of Oncology, ³Laboratory of Cancer, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou, Henan Province, 450003, China)

[Abstract] **Objective** To determine the effect of valdecoxib on the growth inhibition and radiosensitivity enhancement of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-2. **Methods** CNE-2 cells were divided into 6 groups, according to different treatment, such as control group (DMSO), cisplatin group (50 $\mu\text{mol/L}$), valdecoxib group (50 $\mu\text{mol/L}$), valdecoxib + cisplatin Group (both 50 $\mu\text{mol/L}$), wortmannin group (1 $\mu\text{mol/L}$) and valdecoxib + wortmannin group (50 $\mu\text{mol/L}$ valdecoxib + 1 $\mu\text{mol/L}$ wortmannin). MTT assay was employed to test the cell growth. Hoechst method was used to test apoptosis index and flow cytometry was applied to measure cell cycle. Tablet colony formation test was used to detect radiation sensitizing effect. Western blot analysis was used to detect COX-2 protein, Akt and p-Akt (Ser473), and NAG-1 protein. **Results** Valdecoxib of 50 $\mu\text{mol/L}$ resulted in increased proliferation inhibition and apoptotic index, elevated radiosensitization, increased cells at G_0/G_1 phase and S phase, reduced protein levels of COX-2, p-Akt, p-Akt/Akt and raised level of NAG-1 ($P<0.05$ vs control group). Combination with 50 $\mu\text{mol/L}$ cisplatin or 1 $\mu\text{mol/L}$ of wortmannin (PI3K inhibitor) enhanced the effect of valdecoxib on cell cycle, proliferation inhibition and radiosensitization ($P<0.05$) as well as in reducing cells at G_2/M phase. Cisplatin of 50 $\mu\text{mol/L}$ had no effect on COX-2, Akt, p-Akt (Ser473) and NAG-1 protein levels, while combination with cisplatin did not change the effect of valdecoxib on the above proteins ($P>0.05$). Wortmannin of 1 $\mu\text{mol/L}$ reduced p-Akt and p-Akt/Akt, and elevated NAG-1 level, and combination with valdecoxib enhanced the effect of valdecoxib on the above proteins ($P<0.05$). **Conclusion** Valdecoxib inhibits the proliferation of CNE-2 cells, promotes apoptosis and radiosensitization in possible mechanism of reducing COX-2 and PI3K/Akt/NAG-1.

[Key words] valdecoxib; CNE-2 cell; PI3K/Akt/NAG-1; COX-2; inhibition effect; radiosensitization

Corresponding author: Huang Jing, E-mail: huangjing_zz@163.com

[通信作者] 黄 静, E-mail: huangjing_zz@163.com

鼻咽癌是一种恶性程度较高的头部肿瘤,易复发和转移,因此探索有效的治疗方法是提高治愈率的关键^[1-2]。近年来发现,非甾体抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drug, NSAID)除了常规的抗炎作用外,还具有抗肿瘤活性,因此受到普遍关注^[3]。NSAID的经典作用靶点是环氧化酶(cyclooxygenase, COX),而此酶包括COX-1和COX-2两种同工酶,其中后者是启动炎症反应的关键酶,同时在某些恶性肿瘤的发生发展中起作用^[4-5]。伐地考昔是常用的NSAID,主要是抑制COX-2发挥作用^[6]。除了COX-2依赖性途径外,研究发现COX-2抑制剂药物还具有COX-2非依赖性途径,如PI3K/Akt途径等^[7]。NAG-1蛋白对某些肿瘤的生长具有抑制作用,而NSAID处理可引起NAG-1蛋白的分泌增多^[8]。因此本研究采用伐地考昔来处理鼻咽癌CNE-2细胞,观察其对该细胞的增殖、凋亡及放射增敏的影响,并观察COX-2和NAG-1蛋白的变化及对PI3K/Akt信号通路的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人鼻咽癌细胞株CNE-2(美国ATCC);伐地考昔(美国Pfizer实验室);顺铂、Wortmannin、二甲亚砜(DMSO)、TEMED、SDS、DTT、Triton X-100、Tris(美国Sigma-Aldrich公司);小牛血清FCS、RPMI1640培养基、胰蛋白酶(美国Gibco公司);青霉素、链霉素、MTT、甘氨酸、RNase、丙烯酰胺、亚甲基双丙烯酰胺、琼脂、PI(美国Amresco公司);辣根过氧化物酶(HRP)标记鼠二抗、兔二抗单克隆抗体(美国Santa Cruz公司); β -actin(lot 8456)、COX-2(lot 4842)、Akt(lot 9272)、P-Akt(Ser473, lot 9271)多克隆抗体(美国Cell Signaling Technology公司);NAG-1(lot 07-217)多克隆抗体(意大利Millipore公司);Hoechst 33342(Vector Laboratories公司)。其他试剂均为分析纯(上海化学试剂厂)。

1.2 实验分组

根据实验设计中药物处理情况将CNE-2细胞分为6组,分别为对照组(DMSO)、顺铂组(50 μ mol/L)、伐地考昔组(50 μ mol/L)、伐地考昔+顺铂组(50 μ mol/L伐地考昔+50 μ mol/L顺铂)、Wortmannin组(1 μ mol/L)和伐地考昔+Wortmannin组(50 μ mol/L伐地考昔+1 μ mol/L Wortmannin);对照组为不接种细胞仅加入培养基($n=8$)。

1.3 方法

1.3.1 细胞传代培养 用RPMI1640培养基(含10%小牛血清)培养CNE-2细胞(37 $^{\circ}$ C、5% CO₂),倒置显微镜观察,待细胞生长到80%左右,移除培养基后用D-Hanks液清洗细胞3次,加入含0.25%胰蛋白酶的消化液(37 $^{\circ}$ C预热)消化细胞1 min(显微镜下细胞间隙变大),滴入5 ml RPMI1640培养基终止消化,1 500 r/min离心5 min后收集细胞沉淀。采用培养基重新悬浮细胞,以5 \times 10⁵/ml的密度将CNE-2细胞接种到60 ml的培养瓶中常规培养(37 $^{\circ}$ C、5% CO₂)。

1.3.2 细胞增殖的影响检测 采用胰蛋白酶消化处理对数

期的CNE-2细胞并通过吹打制备单细胞悬液,以每孔1 \times 10⁵细胞接种到96孔培养板中(100 μ l),培养24 h后待细胞贴壁,加入含有相应药物的培养基培养24 h,向每孔加入5 mg/ml MTT溶液10 μ l,培养4 h后终止培养,在酶标仪上测量492 nm下各孔的光密度值[D(492)],并根据公式计算不同药物处理的增殖抑制率。

$$\text{抑制率} = \frac{[D(492)_{\text{对照组}} - D(492)_{\text{空白组}}] - [D(492)_{\text{药物处理组}} - D(492)_{\text{空白组}}]}{[D(492)_{\text{对照组}} - D(492)_{\text{空白组}}]} \times 100\%$$

1.3.3 细胞凋亡指数 将高压灭菌过的小玻片预先置于12孔培养板底部,将CNE-2单细胞悬液接种,待细胞贴壁后弃掉培养基并加入相应药物的培养基培养24 h,将细胞玻片用4%多聚甲醛固定,PBS冲洗后(5 min \times 3次),加入5 μ g/ml Hoechst 33342于室温下染色30 min,封片后采用荧光显微镜观察细胞形态,并随机选取5个高倍镜视野,分别计数凋亡细胞数和总细胞数,并根据公式计算不同药物处理的凋亡指数。

$$\text{凋亡指数} = \frac{\text{凋亡细胞数}}{\text{总细胞数}} \times 100\%$$

1.3.4 细胞周期检测 以1 \times 10⁵/ml的密度将5 ml CNE-2细胞接种于50 ml的培养瓶,24 h后加入不同的药物处理,24 h后通过常温离心(1 000 r/min \times 5 min)获取细胞沉淀,采用70%冷乙醇重悬并在4 $^{\circ}$ C固定24 h,采用多次离心和PBS冲洗后,加入50 μ g/ml RNase处理(37 $^{\circ}$ C, 1 h),离心后向沉淀加入100 μ g/ml的PI溶液染色,避光染色30 min,尼龙网过滤,在流式细胞仪检查细胞周期。

1.3.5 放射增敏效应检测 收获对数期的CNE-2细胞,并接种于不同药物处理的培养基中,24 h后将细胞分为2组,在室温下采用precise直线加速器6MV X射线以2 Gy和4 Gy的剂量分别照射。采用胰酶消化并制成单细胞悬液,以200/皿的密度将期接种于60 mm培养皿中,更换不含药物的RPMI1640培养基,37 $^{\circ}$ C孵育,14 d后采用甲醇固定(10 min)和吉姆萨染色(20 min),冲洗干净后,肉眼观察集落数,并按照公式计算存活分数。

$$\text{存活分数} = \frac{\text{药物处理组集落数}}{(\text{接种细胞数} \times \text{PE})} \times 100\%$$

1.3.6 蛋白水平检测 收集不同药物处理的细胞,通过裂解液处理15 min,并通过振荡处理和离心(4 $^{\circ}$ C, 12 000 r/min \times 20 min)获取细胞沉淀,并采用BCA法测定蛋白浓度。将蛋白样品与加样缓冲液混合后煮沸5 min,离心取上清样10% SDS-PAGE凝胶电泳,常规操作,并采用半干转法转膜;5%脱脂蛋白封闭后,分别加入一抗孵育(1:300),24 h后洗膜再加入二抗(1:3 000),ECL法显色处理,获取蛋白条带,采用Gel-Pro analyzer软件分析各显影条带的光密度,结果表示各蛋白光密度与 β -actin的比值。

1.4 统计学处理

采用SPSS 16.0统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差进行多组之间比较,两两比较采用SNK法比较,放射增敏检验中同一处理两剂量之间比较采用成组 t 检验。

2 结果

2.1 伐地考昔对CNE-2细胞增殖和凋亡的影响

单纯50 μ mol/L伐地考昔、50 μ mol/L顺铂或1 μ mol/L Wortmannin(PI3K抑制剂)处理可升高CNE-2细胞的增殖抑制

率和凋亡指数,且与对照组相比均有统计学差异($P < 0.05$);而50 $\mu\text{mol/L}$ 伐地考昔与50 $\mu\text{mol/L}$ 顺铂或1 $\mu\text{mol/L}$ Wortmannin联合使用可增强其以上效果,与单纯伐地考昔相比有统计学差异($P < 0.05$);Hoechst 细胞染色情况见图1。

2.2 伐地考昔对 CNE-2 细胞放射增敏影响

单纯伐地考昔、顺铂或 Wortmannin 均可增强细胞的放射增敏,且与对照组相比有统计学差异($P < 0.05$);而伐地考昔与顺铂或 Wortmannin 联合使用可增强其以上效果,与单纯伐地考昔相比有统计学差异($P < 0.05$);各组高剂量(4 Gy)的效果强于低剂量(2 Gy)($P < 0.05$),见表1。

表1 各组不同放射剂量处理的 CNE-2 细胞存活分数[$n=8, (\bar{x} \pm s)\%$]

组别	2 Gy	4 Gy
对照组	78.3 ± 1.5	49.5 ± 1.3
顺铂组	48.5 ± 2.9 ^a	32.7 ± 2.5 ^{af}
伐地考昔组	50.2 ± 3.1 ^a	32.8 ± 3.1 ^{af}
伐地考昔 + 顺铂组	38.7 ± 2.6 ^{abc}	26.6 ± 1.9 ^{abcf}
Wortmannin 组	57.4 ± 1.5 ^{abcd}	40.5 ± 1.8 ^{abcdf}
伐地考昔 + Wortmannin 组	29.4 ± 2.3 ^{abce}	21.8 ± 1.7 ^{abcef}

a: $P < 0.05$, 与对照组比较; b: $P < 0.05$, 与顺铂组比较; c: $P < 0.05$, 与伐地考昔组比较; d: $P < 0.05$, 与伐地考昔 + 顺铂组比较; e: $P < 0.05$, 与 Wortmannin 组比较; f: $P < 0.05$, 与照射剂量2Gy 比较

2.3 伐地考昔对细胞周期的影响

单纯伐地考昔、顺铂或 Wortmannin 均可导致细胞 G_0/G_1 期增加、S 期降低,且与对照组相比均有统计学差异($P < 0.05$);而伐地考昔与顺铂或 Wortmannin 联合使用可增强其以上效果,同时也降低 G_2/M 期,见图2。

2.4 伐地考昔对 COX-2 和 NAG-1 的影响

单纯伐地考昔处理可导致 COX-2 降低, NAG-1 蛋白水平上升,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$);单纯顺铂不影响以上蛋白水平,而单纯 Wortmannin 处理可升高 NAG-1 水平,且与伐地考昔组和对照组均有统计学差异($P < 0.05$);仅与 Wortmannin 联合时可增强伐地考昔对 NAG-1 的改变作用,见图3、表2。

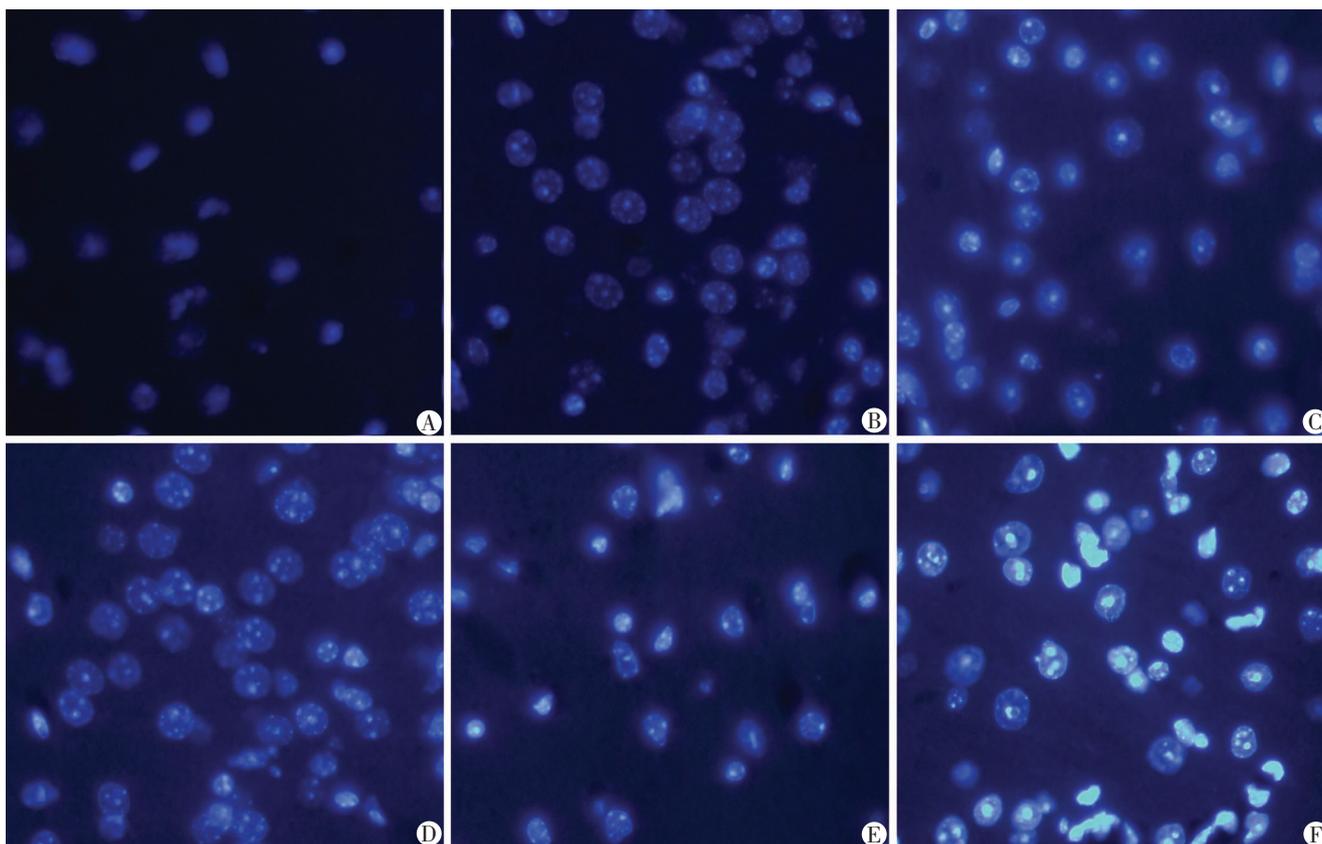
2.5 伐地考昔对 PI3K/Akt 信号通路的影响

单纯伐地考昔处理可导致 p-Akt、p-Akt/Akt 降低,与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.05$);单纯顺铂不影响以上蛋白水平,而单纯 Wortmannin 处理可降低 p-Akt、p-Akt/Akt 水平,且与伐地考昔组和对照组相比均有统计学差异($P < 0.05$);仅与 Wortmannin 联合时可增强伐地考昔对 p-Akt、p-Akt/Akt 的改变作用,见图3、表2。

表2 伐地考昔及不同处理对各组 CNE-2 细胞的 COX-2、NAG-1、Akt 和 p-Akt 蛋白的影响($n=8, \bar{x} \pm s$)

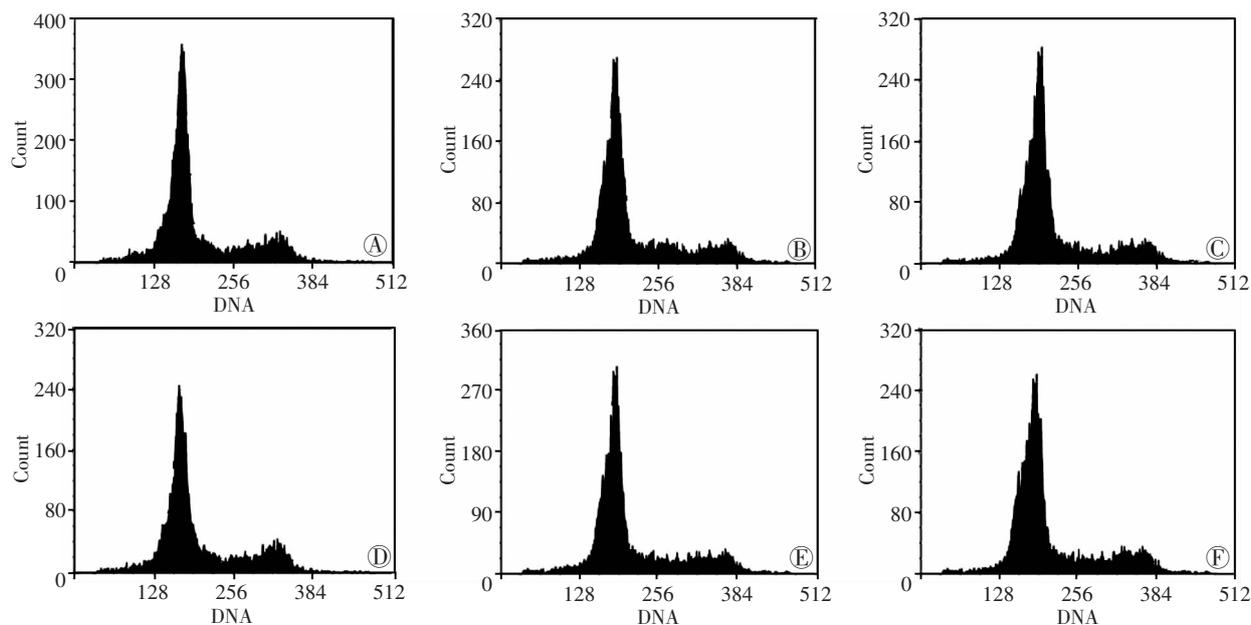
组别	COX-2	Akt	p-Akt	p-Akt/Akt	NAG-1
对照组	56.3 ± 3.2	59.7 ± 4.1	18.6 ± 2.8	28.4 ± 1.9	22.7 ± 1.7
顺铂组	59.5 ± 2.6	58.1 ± 2.3	20.2 ± 1.7	27.9 ± 1.8	23.5 ± 1.6
伐地考昔组	34.1 ± 1.9 ^{ab}	58.5 ± 2.6	12.5 ± 1.6 ^{ab}	20.3 ± 2.2 ^{ab}	29.5 ± 2.8 ^{ab}
伐地考昔 + 顺铂组	38.3 ± 1.8 ^{ab}	58.8 ± 2.2	11.3 ± 0.9 ^{ab}	18.7 ± 2.7 ^{ab}	31.8 ± 2.5 ^{ab}
Wortmannin 组	62.4 ± 3.7 ^{cd}	59.1 ± 4.2	17.8 ± 1.1 ^{abcd}	23.1 ± 1.4 ^{abcd}	28.3 ± 1.3 ^{abcd}
伐地考昔 + Wortmannin 组	38.5 ± 1.5 ^{abe}	59.8 ± 3.8	8.7 ± 1.3 ^{abcde}	11.7 ± 1.9 ^{abcde}	42.6 ± 2.1 ^{abcde}

a: $P < 0.05$, 与对照组比较; b: $P < 0.05$, 与顺铂组比较; c: $P < 0.05$, 与伐地考昔组比较; d: $P < 0.05$, 与伐地考昔 + 顺铂组比较; e: $P < 0.05$, 与 Wortmannin 组比较



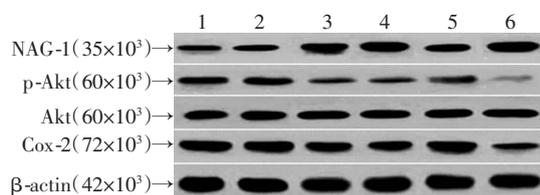
A: 对照组; B: 顺铂组; C: 伐地考昔组; D: 伐地考昔 + 顺铂组; E: Wortmannin 组; F: 伐地考昔 + Wortmannin 组

图1 荧光显微镜观察各组 CNE-2 细胞形态 (Hoechst × 400)



A: 对照组; B: 顺铂组; C: 伐地考昔组; D: 伐地考昔 + 顺铂组; E: Wortmannin 组; F: 伐地考昔 + Wortmannin 组

图2 伐地考昔及不同处理对各组 CNE-2 细胞周期的影响



1: 对照组; 2: 顺铂组; 3: 伐地考昔组; 4: 伐地考昔 + 顺铂组; 5: Wortmannin 组; 6: 伐地考昔 + Wortmannin 组

图3 Western blot 检测各组 COX-2、NAG-1、Akt 和 p-Akt 蛋白的表达

3 讨论

COX-2 在鼻咽癌的发生、发展中起着重要作用^[6,9]。伐地考昔是一种非甾体抗炎药 NSAID, 主要通过抑制 COX-2 来发挥抗炎作用。但研究^[7,10-11]发现同类药物还具有 COX-2 非依赖性途径, 如 PI3K/Akt 途径等。COX-2 缺陷的胃癌细胞中给予塞来昔布可诱导细胞凋亡, 提示 COX-2 非依赖性途径可能是该类药物发挥作用的另一重要方式^[11]。抑制恶性癌细胞激活的 PI3K/Akt 信号通路可达到治疗肿瘤的目的。此外, COX-2 抑制剂在提高癌细胞的放射增敏上效果较好^[13]。故推测伐地考昔可抑制人 CNE-2 的增殖, 促进其凋亡及放射增敏, 可能的机制是通过降低 COX-2 和 PI3K/Akt 来实现的。

本研究采用伐地考昔处理 CNE-2 细胞发现可影响该细胞的生物学行为, 如升高增殖抑制率和凋亡指数, 增强细胞的放射增敏, 以上表明伐地考昔对鼻咽癌细胞有抑制作用, 并提高细胞对放射的敏感性。顺铂

为临床常用肿瘤治疗药物, 主要是通过抑制癌细胞的 DNA 复制过程发挥作用^[14]。与单纯顺铂相比, 伐地考昔抑制 CNE-2 细胞的效果没有差异, 但两者联合使用时的效果均强于单独使用, 一方面表明伐地考昔处理可获得与顺铂同等程度的效果, 更表明其在肿瘤治疗中的应用前景; 另一方面顺铂长期使用可机体的敏感性, 而单纯的通过增加剂量来维持化疗效果, 可引起大量的毒副作用, 而顺铂和伐地考昔可获得较好的效果, 提示可通过在顺铂的化疗过程中使用伐地考昔来达到提高化疗效果, 并降低化疗毒副作用的效果。PI3K/Akt 信号通路是影响细胞生长、凋亡等细胞学行为的主要信号通路^[15], 在肿瘤发生、发展中意义重大。Wortmannin 是一种常用的 PI3K 抑制剂, 具有较好的细胞通透性, 可特异的抑制 PI3K/Akt 通路^[16]。单纯 Wortmannin 可同样影响细胞的生物学行为, 但幅度低于单纯的伐地考昔 ($P < 0.05$), 提示 PI3K/Akt 通路在 CNE-2 细胞增殖和生长中的重要作用, 而与伐地考昔联用时的效果强于单独使用。化疗药物可通过影响肿瘤细胞的细胞周期发挥抗肿瘤作用^[17]。伐地考昔处理可影响 CNE-2 细胞的细胞周期, 如导致细胞 G₀/G₁ 期增加、S 期降低, 表明伐地考昔处理可增加停滞在 G₀/G₁ 期的细胞比例, 来抑制肿瘤细胞的生长, 推测其主要作用于 G₀/G₁ 期, 降低 S 期所占的比例; 此外, 当与顺铂或 Wortmannin 联用时可进一步增加伐地考昔改变细胞周期的效果, 也是协同作用的基础。

以往的研究^[4-5]表明 NSAID 通常通过抑制 COX-2 发挥作用, 而本研究发现伐地考昔可降低 COX-2 水

平,而单纯的顺铂和 Wortmannin 并不影响 COX-2 水平,同时联合应用后与单纯伐地考昔没有差异,表明伐地考昔可通过特异性抑制 COX-2 发挥抑制 CNE-2 细胞增殖、诱导其凋亡和增强放射增敏的效果。此外,本研究发现伐地考昔可降低 PI3K 活性,表现为 p-Akt/Akt 下降(PI3K 可将 Akt 磷酸化形成 p-Akt),提示其可通过 PI3K/Akt 信号途径发挥作用,同时伴随着 NAG-1 蛋白水平上调,而后者可抑制某些肿瘤细胞的生长。单纯 Wortmannin 处理可抑制 PI3K/Akt 通路,同时上调 NAG-1,表明 PI3K/Akt 信号通路可调节 NAG-1;Wortmannin 联合伐地考昔可导致 p-Akt/Akt 下降,NAG-1 升高,且与 2 组单纯处理有差异($P < 0.05$),以上表明伐地考昔还可通过 p-Akt/Akt/NAG-1 影响 CNE-2 细胞的生物学行为。

综上所述,伐地考昔可抑制人鼻咽癌 CNE-2 细胞的增殖,促进其凋亡及放射增敏,可能的机制是通过降低 COX-2 和 PI3K/Akt/NAG-1 来实现的。

参考文献:

[1] Rottey S, Madani I, Deron P, *et al.* Modern treatment for nasopharyngeal carcinoma; current status and prospects[J]. *Curr Opin Oncol*, 2011, 23(3): 254-258.

[2] 李明勇,黄培春. 芹菜素对人鼻咽癌 CNE-2Z 细胞化疗敏感性的增强作用[J]. *中国药理学通报*, 2012, 28(1): 88-92.

[3] Kang K B, Zhu C, Yong S K, *et al.* Enhanced sensitivity of celecoxib in human glioblastoma cells: Induction of DNA damage leading to p53-dependent G₁ cell cycle arrest and autophagy[J]. *Mol Cancer*, 2009, 8: 66.

[4] Bueno H, Bardaji A, Patrignani P, *et al.* Use of non-steroidal anti-inflammatory drugs and type-specific risk of acute coronary syndrome [J]. *Am J Cardiol*, 2010, 105(8): 1102-1106.

[5] Lim T G, Lee B K, Kwon J Y, *et al.* Acrylamide up-regulates cyclooxygenase-2 expression through the MEK/ERK signaling pathway in mouse epidermal cells[J]. *Food Chem Toxicol*, 2011, 49(6): 1249-1254.

[6] Dadiboyena S, Nefzi A. Recent methodologies toward the synthesis of valdecoxib: a potential 3, 4-diarylisoxazolyl COX-II inhibitor[J]. *Eur*

J Med Chem, 2010, 45(11): 4697-4707.

[7] Liu B, Shi Z L, Feng J, *et al.* Celecoxib, a cyclooxygenase-2 inhibitor, induces apoptosis in human osteosarcoma cell line MG-63 via down-regulation of PI3K/Akt[J]. *Cell Biol Int*, 2008, 32(5): 494-501.

[8] Yang H, Park S H, Choi H J, *et al.* The integrated stress response-associated signals modulates intestinal tumor cell growth by NSAID-activated gene 1 (NAG-1/MIC-1/PTGF-beta) [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(4): 703-711.

[9] Chen J, Ran Y, Hong C, *et al.* Anti-cancer effects of celecoxib on nasopharyngeal carcinoma HNE-1 cells expressing COX-2 oncoprotein [J]. *Cytotechnology*, 2010, 62(5): 431-438.

[10] Huang S, Sinicrope F A. Celecoxib-induced apoptosis is enhanced by ABT-737 and by inhibition of autophagy in human colorectal cancer cells[J]. *Autophagy*, 2010, 6(2): 256-269.

[11] Li G Q, Xie J, Lei X Y, *et al.* Macrophage migration inhibitory factor regulates proliferation of gastric cancer cells via the PI3K/Akt pathway [J]. *World J Gastroenterol*, 2009, 15(44): 5541-5548.

[12] Wallin J J, Guan J, Edgar K A, *et al.* Active PI3K pathway causes an invasive phenotype which can be reversed or promoted by blocking the pathway at divergent nodes [J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36402.

[13] Komaki R, Wei X, Allen P K, *et al.* Phase I study of celecoxib with concurrent irinotecan, Cisplatin, and radiation therapy for patients with unresectable locally advanced non-small cell lung cancer [J]. *Front Oncol*, 2011, 1: 52.

[14] Wang Y, Wei L, Zhao M, *et al.* Development of highly effective three-component cytoprotective adjuncts for cisplatin cancer treatment; synthesis and *in vivo* evaluation in S180-bearing mice [J]. *Metallomics*, 2011, 3(11): 1212-1217.

[15] 王强,余洁,王航,等. LXRs 激动剂 T0901317 通过 PI3K/Akt 增强人脐静脉内皮细胞的增殖能力[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(6): 481-484.

[16] Kim S H, Jang Y W, Hwang P, *et al.* The reno-protective effect of a phosphoinositide 3-kinase inhibitor wortmannin on streptozotocin-induced proteinuric renal disease rats [J]. *Exp Mol Med*, 2012, 44(1): 45-51.

[17] 樊锐太,胡勇,刘俊启,等. 硼替佐米对 U87 胶质瘤放射增敏及细胞周期分布的影响[J]. *第三军医大学学报*, 2012, 34(8): 758-760.

(收稿:2012-05-03;修回:2012-07-17)

(编辑 张 维)

第三军医大学 2012 年度国家自然科学基金工作再创新高

近日,从国家自然科学基金委员会传来喜讯,2012 年度第三军医大学共中标国家自然科学基金各类项目 247 项,批准经费 1.508 亿元,获批项目数和经费数再创新高,较历史最高水平分别增长 4.2% 和 30.4%,其中获批项目数在全国高校年度排名中居第 24 位。

近年来,第三军医大学基金工作在“实施一流发展战略,建设世界医学名校”总体办学思路的引领下,坚持“做一流科学、育一流人才、出一流成果”,不断强化“抓过程管理、抓产出管理、抓科学作风”的政策导向,各级科研管理部门精心组织,主动协调,加强申报环节管理,严格落实“三级论证”制度,基金工作不断取得新的进步和发展,在支撑学科人才建设、增强科技核心竞争力、提升综合办学水平等方面发挥了十分重要的作用。

(科技部计划处 供稿)