文章编号:1000-5404(2011)18-1951-05

论著

依维莫司联合顺铂对胃癌细胞株SGC7901细胞周期的影响

张瑞瑞,刘 磊,刘 莹,孔庆宾 (221002 江苏 徐州,徐州医学院病理学教研室)

[摘要] **目的** 探讨哺乳动物雷帕霉素靶蛋白特异性抑制剂依维莫司(everolimus,RAD001)对胃癌细胞株SGC7901细胞周期的影响、作用机制及其联合顺铂对SGC7901细胞抑制是否具有协同作用。**方法** 体外培养SGC7901细胞,依维莫司单独及联合顺铂作用后,通过HE染色检测各组SGC7901细胞的形态学改变;流式细胞术检测细胞周期的改变;免疫细胞化学S-P法及Western blot检测细胞周期蛋白P21的表达。**结果** 依维莫司能抑制SGC7901细胞增殖,且呈浓度剂量依赖性;联合用药对细胞生长抑制有协同效应;SGC7901细胞停滞在$G_0 \sim G_1$期的细胞比例增加,其中联合组$G_0 \sim G_1$期细胞比例最高($P<0.05$)。药物干预48 h后SGC7901细胞中的P21蛋白表达上调,联合组明显高于相应单独用药组,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 依维莫司可以通过上调细胞周期蛋白P21的表达,阻滞胃癌SGC7901细胞周期进而抑制细胞增殖,联合用药对SGC7901细胞抑制具有协同效应。

[关键词] SGC7901细胞;依维莫司;细胞周期;P21
[中图法分类号] R979.1;R735.2;R966 [文献标志码] A

Effect of combined everolimus and cisplatin on cell cycle of gastric carcinoma cell line SGC7901

Zhang Ruirui, Liu Lei, Liu Ying, Kong Qingyan (Teaching and Research Section of Pathology, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China)

[**Abstract**] **Objective** To study the effect of a mTOR specific inhibitor, everolimus (RAD001), on cell cycle of gastric carcinoma cell line SGC7901 and the synergic inhibitory effect of combined RAD001 and cisplatin on proliferation of SGC7901 cells. **Methods** After SGC7901 cells were cultured *in vitro* and stained with HE, their morphology was observed after treated with RAD001 alone or in combination with cisplatin, and their cell cycle was assayed by flow cytometry. Expression of P21 in SGC7901 cells was detected by S-P immunecellchemistry and Western blotting, respectively. **Results** RAD001 could inhibit the proliferation of SGC7901 cells in a concentration-dependent manner. Combined RAD001 and cisplatin showed a synergic inhibitory effect on the proliferation of SGC7901 cells. The proportion of SGC7901 cells at G_0-G_1 was increased and significantly higher in combined RAD001 and cisplatin treatment group than in single RAD001 treatment group ($P<0.05$). The expression level of P21 in SGC7901 cells was significantly higher 48 h after combined RAD001 and cisplatin treatment than after single RAD001 treatment ($P<0.05$). **Conclusion** RAD001 can inhibit the proliferation of SGC7901 cells by up-regulating the expressions of P21 and blocking the cell cycle of SGC7901 cells. Combined RAD001 and cisplatin has a synergic inhibitory effect on the proliferation of SGC7901 cells.

[**Key words**] SGC7901 cells; RAD001; cell cycle; P21

Corresponding author: Liu Ying, Tel:86-516-83262045, E-mail: ly730723@yahoo.com

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin,mTOR)是一种进化十分保守的丝/苏氨酸蛋白激酶。目前发现mTOR与恶性肿瘤生长、增殖、分化、凋亡、代谢密切相关,因此mTOR信号通路调控异常与肿瘤发生密切相关[1-2]。依维莫司(everolimus,RAD001)是mTOR特异性抑制剂雷帕霉素的衍生剂,但目前国外研究较局限于将其作为免疫抑制剂在移植

[通信作者] 刘 莹,电话:(0516)83262045,E-mail: ly730723@yahoo.com

方面的应用。近年在肿瘤方面的研究不断增多[3-5]，我们前期研究发现 RAD001 通过抑制胃癌 MKN-28，N-87 细胞 mTOR 的活性，阻断下游的真核起始因子 4E 结合蛋白(4E-BP1)及核糖体 40s 小亚基 s6K 蛋白激酶(P70s6K)的磷酸化和蛋白质翻译进而调节着细胞周期以发挥抑制胃癌细胞生长的作用[6]。化疗是恶性肿瘤的传统治疗方法，顺铂是当前消化道肿瘤联合化疗中最常用的药物之一，但其药理作用的发挥往往需要很高剂量，从而导致较为严重的胃肠道等副反应，因此联合用药成为减少顺铂副反应的有效手段。通过药物的联合使用，不仅降低了顺铂的剂量，减少其毒副作用的发生，还能使得药物间发挥协同抗癌作用。Crazzolara 等[7]将 RAD001 与长春新碱合用后发现能显著延长急性粒细胞白血病小鼠的生存时间。前期研究 MTT 结果显示 RAD001 对 SGC7901 细胞有增殖抑制作用，抑制效应呈剂量依赖性并随时间的延长逐渐升高；金正均法检测 RAD001 联合顺铂 48 h 及 72 h 后对 SGC7901 细胞的生长抑制具有协同作用[8]。在本实验中将体外培养 SGC7901 细胞给予 RAD001、顺铂后检测细胞生长、细胞周期及细胞周期蛋白 P21 表达的改变，探讨 RAD001、顺铂对胃癌细胞株 SGC7901 细胞周期的影响及其机制，分析两者是否具有协同作用。

1 材料与方法

1.1 材料

胃癌细胞株 SGC7901 购自中国科学院上海细胞生物研究所，RPMI1640 培养基、胎牛血清均购自美国 GIBCO 公司，RAD001 购自美国 Sigma 公司，用二甲基亚砜(DMSO)配成 1 mmol/L 贮备液，实验时用 RPMI1640 稀释为实验所需浓度，P21(sc-6246)单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司。山羊抗小鼠 S-P 免疫组化试剂盒及 DAB 显色剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。顺铂购自江苏豪森药业公司，细胞周期检测试剂盒购自联科生物技术有限公司，其他试剂均为分析纯级。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 胃癌细胞株 SGC7901 在 37 ℃，5% CO_2 培养箱中培养。培养液含 10% 胎牛血清、100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素，用 0.25% 的胰酶消化传代，取对数生长期，细胞活力 >99% 的细胞用于本实验研究。

1.2.2 细胞爬片 实验分为对照组、顺铂(2.5 mg/L)组、RAD001(0.625、1.25、2.5、5、10、20 nmol/L)组、联合(顺铂 1.25 mg/L + RAD001 5 nmol/L)组。胰酶消化对数生长期细胞制成 1×10^5/ml 细胞悬液，置于覆有圆形盖玻片的 6 孔板内，体积 2 ml，次日待细胞完全贴壁后，加入含有药物的培养液。继续培养 48 h 后，弃上清，PBS 冲洗 3 遍，10% 福尔马林固定 40 min，PBS 冲洗 3 遍，室温晾干后即可用于后续常规 HE 染色和免疫细胞化学实验。

1.2.3 细胞形态学改变的检测 实验分组同前，苏木精-伊红(hematoxlin-eosin，HE)染色检测细胞形态学变化，将固定好的细胞爬片进行常规 HE 染色，中性树脂封片，普通光镜下观察细胞形态学变化并拍照。每组设置 3 个复孔。

1.2.4 细胞周期检测 实验分为对照组、顺铂(2.5 mg/L)组、RAD001(5、10、20 nmol/L)、联合(顺铂 1.25 mg/L + RAD001 5 nmol/L)组。胰酶消化对数生长期细胞制成 2×10^4/ml 细胞悬液 5 ml，置于 6 孔板内，次日待细胞完全贴壁后，加入含有药物的培养液，继续培养 48 h 后，收集各组细胞，PBS 洗 2 遍，弃上清，加入 1 ml 70% 预冷乙醇，吹打均匀，4 ℃ 冰箱固定过夜。PBS 洗 2 遍去乙醇，1 000 r/min，5 min，0.5 ml PBS 重悬细胞，加入碘化丙啶(PI)和 RNaseA 至终浓度 50 μg/ml，37 ℃ 水浴 30 min，上流式细胞仪检测细胞周期。每组设 3 个复孔。

1.2.5 免疫细胞化学检测细胞周期蛋白 实验分组同 1.2.4，将固定好的细胞爬片，根据 S-P 免疫组化试剂盒说明书检测 P21 蛋白表达。P21 蛋白主要表达于细胞质，偶可见细胞核表达，阳性染色为深浅不一的黄棕色颗粒。每组随机观察 10 个 10×40 高倍视野，计数阳性细胞数占视野总细胞数的百分比。每组设置 3 个复孔。

1.2.6 Western blot 检测细胞周期蛋白 实验分组同 1.2.4。收集各组细胞，用预冷的 PBS 洗涤 2 遍，加入细胞裂解液，冰浴 30 min 充分裂解，提取蛋白。Forlin 酚法测蛋白浓度进行定量。取 100 μg/孔蛋白上样进行 12.5% Tris-甘氨酸 SDS 聚丙烯酰胺凝胶和 5% 的积层胶电泳、转膜、封闭。分别加入鼠抗人 P21 单克隆抗体及 β-actin 多克隆抗体，4 ℃ 冰箱孵育过夜，碱性磷酸酶标记山羊抗小鼠 IgG 孵育 2 h，四唑硝基蓝(NBT)/5-溴-4-氯-3-吲哚基-磷酸盐(BCIP)显色。一抗及二抗浓度均为 1∶300，用图像分析系统测定各条带的灰度值，并用 Image 图像分析软件分析。以 β-actin 为内参，表示 P21 蛋白的相对表达强度。

1.3 统计学处理

计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 16.0 统计软件，组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用 q 检验。

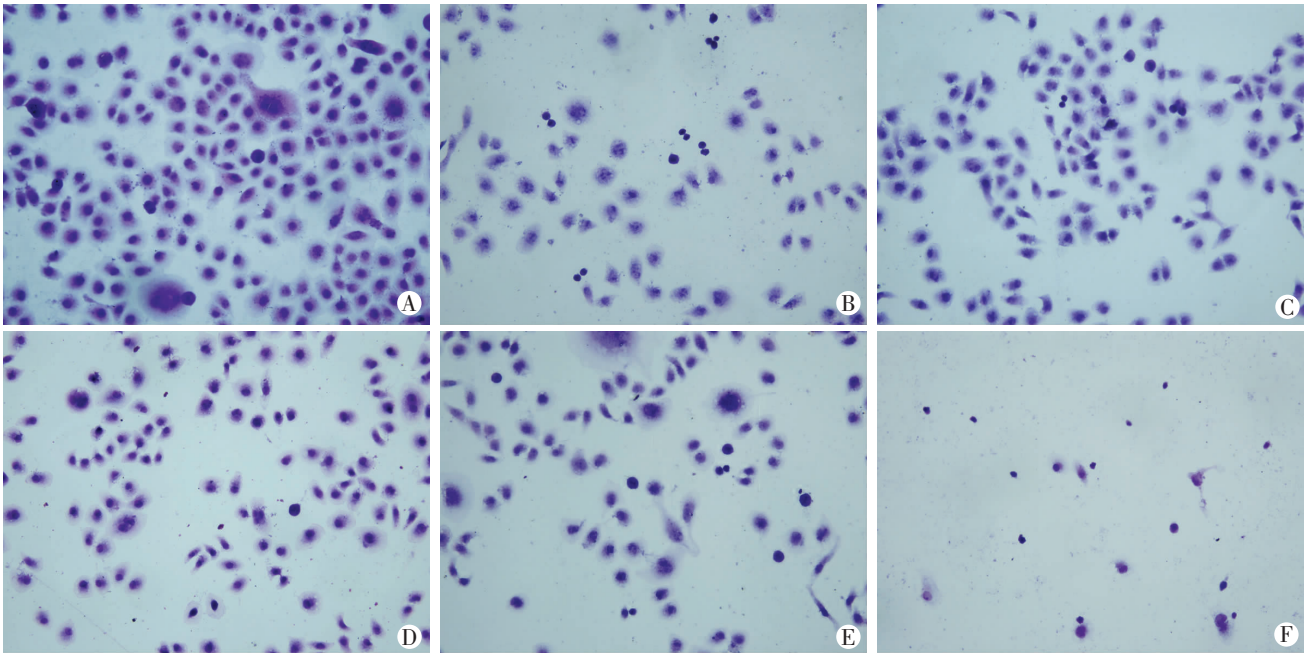
2 结果

2.1 RAD001 作用于 SGC7901 细胞后细胞形态学变化

光镜下可见胃癌 SGC7901 细胞呈不规则多边形，染色质丰富，核规则或不规则，体积大小不一；药物作用后细胞体积略变小变圆，细胞核细胞质浓缩，呈现增殖抑制状态。相同倍数视野下细胞数目随着 RAD001 浓度的增高而减少，其中联合组形态变化及数目减少最为明显(图 1)，说明 RAD001 对胃癌 SGC7901 细胞有增殖抑制作用，联合用药作用更显著。

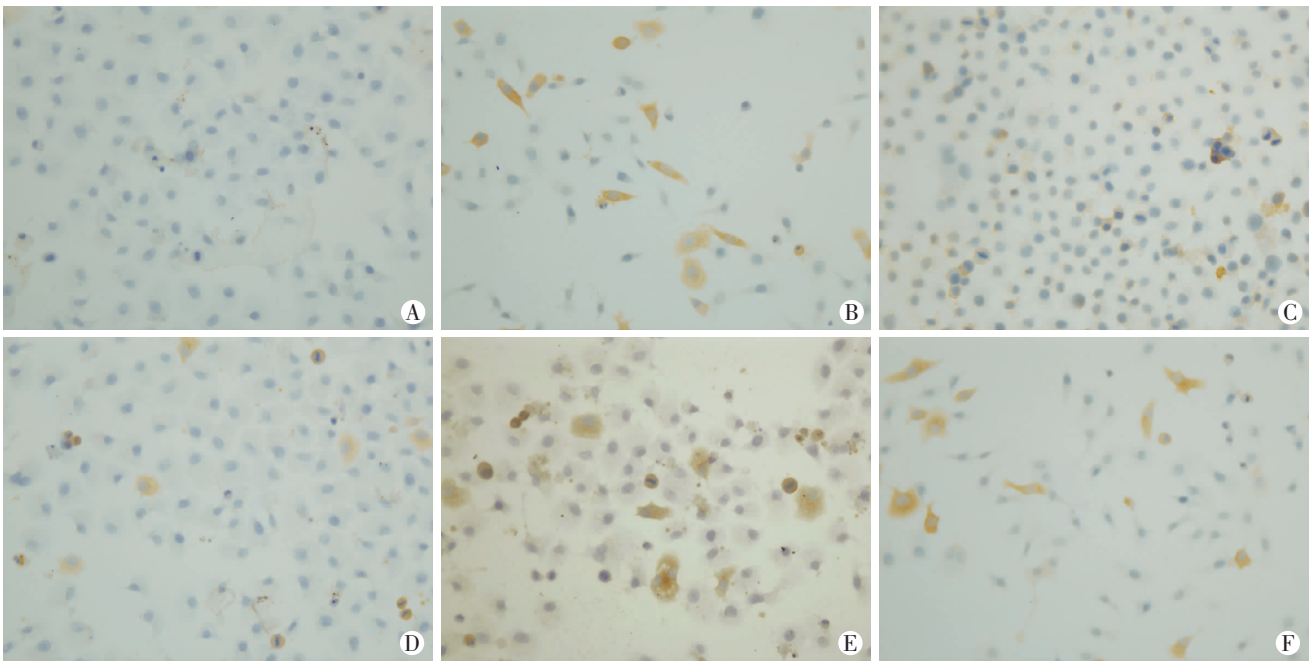
2.2 流式细胞仪检测细胞周期的改变

药物干预 48 h 后，SGC7901 细胞停滞在 $G_0\sim G_1$ 期的细胞比例均不同程度的增加，随着 RAD0001 浓度剂量的增加，停滞在 $G_0\sim G_1$ 期的细胞比例逐渐增加，明显高于对照组($P<0.05$)。联合组停滞在 $G_0\sim G_1$ 期细胞比例显著高于相应单独用药组($P<0.05$，表 1)。



A:对照组;B:顺铂 2.5 mg/L;C:RAD001 5 nmol/L;D:RAD001 10 nmol/L;E:RAD001 20 nmol/L;F:顺铂 1.25 mg/L +RAD001 5 nmol/L

图 1 RAD001 单独或联合顺铂 48 h 后 SGC7901 生长趋势及形态的改变 (HE ×400)



A:对照组;B:顺铂 2.5 mg/L;C:RAD001 5 nmol/L;D:RAD001 10 nmol/L;E:RAD001 20 nmol/L;F:顺铂 1.25 mg/L +RAD001 5 nmol/L

图 2 RAD001 作用 SGC7901 细胞 48 h 后 P21 蛋白的表达 (S-P ×400)

表 1 RAD001 作用于 SGC7901 细胞 48 h 后细胞周期改变 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	$G_0 \sim G_1$ 期(%)	S 期(%)
对照组	19.99 ± 1.58	80.01 ± 1.59
顺铂 2.5 mg/L	34.20 ± 1.31[a]	65.80 ± 1.32
RAD001 5 nmol/L	29.42 ± 3.80[a]	70.32 ± 3.38
RAD001 10 nmol/L	40.01 ± 0.27[a]	59.98 ± 0.27
RAD001 20 nmol/L	43.64 ± 0.17[a]	55.95 ± 0.55
顺铂 1.25 mg/L + RAD001 5 nmol/L	48.02 ± 4.34[ab]	51.97 ± 4.35

a: $P<0.05$, 与对照组比较;b: $P<0.05$, 与顺铂 2.5 mg/L 组及 RAD001 10 nmol/L 组比较

2.3 药物干预前后对细胞中 P21 蛋白表达的影响

免疫细胞化学检测示:P21 蛋白在 SGC7901 细胞中低表达,主要定位于细胞质,免疫染色呈棕黄色颗粒状(图 2)。药物作用 48 h 后,各组细胞中 P21 蛋白表达率均增加,与对照组相比差异有统计学意义($P<0.05$);联合组与顺铂组和 RAD001 10 nmol/L 组相比,蛋白表达率的差异亦有统计学意义($P<0.05$,表 2)。Western blot 检测示:药物干预组细胞 P21 蛋白表达均有不同程度的上调,明显高于对照组($P<0.05$)。其

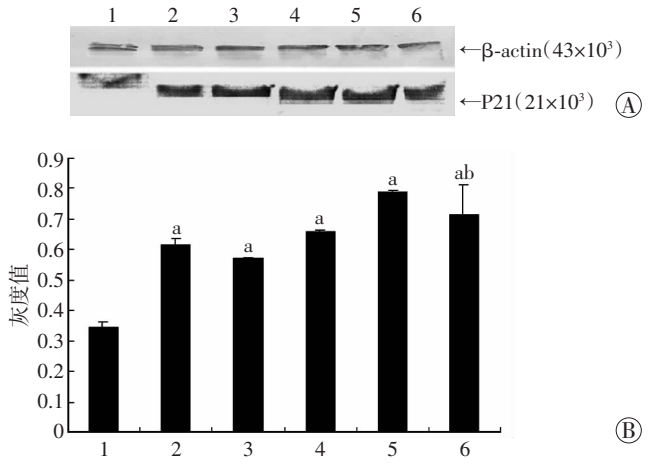
中联合组 P21 蛋白表达显著上调,与相应单独用药组相比,差异有统计学意义($P<0.05$,图3)。

表2 免疫细胞化学检测各组 SGC7901 细胞 P21 蛋白的表达

[$n=3$, $(\bar{x}\pm s)\%$]

组别	P21
对照组	16.50±0.03
顺铂 2.5 mg/L	36.57±0.02[a]
RAD001 5 nmol/L	30.57±0.06[a]
RAD001 10 nmol/L	37.37±0.01[a]
RAD001 20 nmol/L	45.33±1.14[a]
顺铂 1.25 mg/L +RAD001 5nmol/L	42.43±0.01[ab]

a:$P<0.05$, 与对照组比较; b: $P<0.05$,与顺铂 2.5 mg/L 组及 RAD001 10 nmol/L 组比较



1:对照组;2:顺铂 2.5 mg/L 组;3:RAD001 5 nmol/L 组;4 :RAD001 10 nmol/L 组;5:RAD001 20 nmol/L 组;6:顺铂 1.25 mg/L + RAD001 5 nmol/L 组; A: Western blot 检测结果; B: 半定量分析 a: $P<0.05$,与对照组比较; b: $P<0.05$,与顺铂 2.5 mg/L 组及 RAD001 10 nmol/L 组比较

图3 RAD001 作用于 SGC7901 细胞 48 h 后 P21 蛋白表达

3 讨论

胃癌早期诊断率较低,临床上发现的多数为进展期胃癌,所以化疗对于胃癌的治疗具有重要意义。mTOR 在细胞内最主要的功能是调控蛋白质合成,进而调控细胞的生长和增殖[9]。目前研究发现 mTOR 在许多人类恶性肿瘤如乳腺癌[10]、恶性胶质瘤[11]、胆管癌[12]、肾癌[13]、宫颈癌[14]、肝癌[15]等肿瘤中均呈高表达,其活性增强与肿瘤细胞的增殖、分化、血管生成密切相关[16-17]。近年研究发现 mTOR 在胃癌的发生发展过程中亦发挥了重要的作用[18-20]。针对 mTOR 的特异性抑制剂,有关雷帕霉素的研究较多,该药除了作为免疫抑制剂外,还对白血病[21]、食管癌[22]、小细胞肺癌[23]有效。RAD001 为 mTOR 特异性抑制剂雷帕霉素衍生物,同样可以与 mTOR 的 FKBP12 蛋白结合位点(FKBP12-rapamycin binding, FRBdomain)结合形成复合物后起到抑制作用。本研究采用体外给予 RAD001 干预胃癌 SGC7901 细胞,HE 染色发现药物作用后细胞体积较药物作用前略小,细胞核细胞质浓缩,呈现增殖抑制状态,相同倍数视野下细胞数目随着 RAD001 的剂量浓度梯度而不同程度的减少。这与我们前期 MTT 结果显示 RAD001 对 SGC7901 细胞有增殖抑制作用,且具有浓度剂量依赖性一致。本实验采用流式细胞仪检测细胞周期结果显示,药物干预后 SGC7901 细胞株停滞在 $G_0\sim G_1$ 期细胞比例均有不同程度的增加,随着 RAD0001 浓度剂量的增加,停滞在 $G_0\sim G_1$ 期的细胞比例逐渐增加。以上结果提示 RAD001 通过使 SGC7901 细胞停滞在 $G_0\sim G_1$ 期细胞比例增加从而阻滞肿瘤细胞进程发挥其抑制肿瘤细胞生长的作用。

顺铂抗肿瘤作用明显、价格低廉,是目前临床最常用的化疗药物之一。但是长期运用顺铂容易出现机体对其敏感性降低,增加顺铂剂量对机体会加大毒副作用,从而严重影响化疗效果。提高化疗的作用同时降低其毒副作用已成为临床上亟待解决的问题。本实验采用了 RAD001 联合顺铂作用于 SGC7901 细胞株探讨其作用是否有协同作用。结果显示联合组与单一用药组相比差异亦有统计学意义,进一步证实了联合用药具有协同效应。

顺铂属细胞周期非特异性药物,具有细胞毒性,可抑制癌细胞的 DNA 复制过程。为进一步探讨 RAD001 对细胞周期调控的作用机制,本实验中还检测了 RAD001 单独及联合顺铂作用后 SGC7901 细胞中细胞周期蛋白 P21 表达的变化。P21 蛋白是由原癌基因 RAS 家族(K-ras, H-ras, N-ras)所编码的一种蛋白质,当 RAS 基因发生突变时,可以导致原癌基因激活,使 P21 异常表达,参与肿瘤的发生和发展[24]。研究显示 P21 蛋白是细胞周期中重要的调控因子,属于细胞周期素依赖性激酶抑制蛋白(cyclin-dependent kinase inhibitors, CKIs)家族重要成员,对细胞周期具有负调控作用,能广泛抑制 cylclinD/CDK 复合物的活性。它们可减弱 cylclinD/CDK 复合物对 Rb 蛋白的磷酸化作用,使细胞发生 G_1/S 期阻滞,从而对细胞周期发挥负调控作用[25]。本实验采用 S-P 免疫细胞化学及 Western blot 检测药物作用后 P21 蛋白表达,结果显示其有不同程度的上调,提示 RAD001 可以通过上调周期蛋白 P21 的表达,调节 SGC7901 细胞周期进而抑

制胃癌细胞的增殖,且 RAD001 联合顺铂后,与单一药物作用相比 P21 蛋白的表达明显增强,进一步证实了 RAD001 与顺铂都可以通过上调周期蛋白 P21 的表达发挥协同作用,抑制胃癌 SGC7901 细胞的生长。

但本实验仅为体外实验,下一步将会应用 RAD001 联合顺铂作用于裸鼠异种移植性胃癌模型,揭示 RAD001 在胃癌治疗上的潜在应用价值,为今后该技术应用于胃癌治疗的新靶点提供实验依据。

参考文献:

[1] Baldo P, Cecco S, Giacomin E, *et al*. mTOR pathway and mTOR inhibitors as agents for cancer therapy[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2008, 8(8): 647 – 665.

[2] Lang S A, Gaumann A, Koehl G E, *et al*. Mammalian target of rapamycin is activated in human gastric cancer and serves as a target for therapy in an experimental model[J]. Int J Cancer, 2007, 120(8): 1803 – 1810.

[3] Xu B, Wu Y, Shen L, *et al*. Two-dose-level confirmatory study of the pharmacokinetics and tolerability of everolimus in Chinese patients with advanced solid tumors[J]. J Hematol Oncol, 2011, 4(1): 3 – 9.

[4] Lim T, Lee J, Lee D J, *et al*. Phase I trial of capecitabine plus everolimus (RAD001) in patients with previously treated metastatic gastric cancer[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2011, 68(1): 255 – 262.

[5] Lee K H, Hur H S, Im S A, *et al*. RAD001 shows activity against gastric cancer cells and overcomes 5-FU resistance by downregulating thymidylate synthase[J]. Cancer Lett, 2010, 299(1): 22 – 28.

[6] 刘莹, 朱祖安, 崔涛. 4E-BP1、p70S6K 在 RAD001 抑制胃癌 MKN-28、N-87 细胞生长中作用的实验研究[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2009, 29(4): 504 – 507.

[7] Crazzolara R, Cisterne A, Thien M, *et al*. Potentiating effects of RAD001 (Everolimus) on vincristine therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia[J]. Blood, 2009, 113(14): 3297 – 3306.

[8] 刘磊, 刘莹, 孔庆兖. RAD001 对胃癌 SGC7901 细胞生长的抑制作用及分子机制[J]. 南京医科大学学报: 自然科学版, 2011, 31(1): 31 – 36.

[9] Latres E, Aminl A R, Arakfi A A, *et al*. IGF-1 inversely regulates atrophy induced genes *via* the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. J Biol Chem, 2005, 280: 2737 – 2744.

[10] Noh W C, Kim Y H, Kim M S, *et al*. Activation of the mTOR signaling pathway in breast cancer and its correlation with the clinicopathologic variables[J]. Breast Cancer Res Treat, 2008, 110(3): 477 – 483.

[11] Takeuchi H, Kondo Y, Fujiwara K, *et al*. Synergistic augmentation of rapamycin-induced autophagy in malignant glioma cells by phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B inhibitors[J]. Cancer Res, 2005, 65(8): 3336 – 3346.

[12] Herberger B, Puhalla H, Lehnert M, *et al*. Activated mammalian target of rapamycin is an adverse prognostic factor in patients with biliary tract adenocarcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(16): 4795 – 4799.

[13] Hanna S C, Heathcote S A, Kim W Y. mTOR pathway in renal cell carcinoma[J]. Expert Rev Anticancer Ther, 2008, 8(2): 283 – 292.

[14] 冀静, 顾婷婷, 郑鹏生. mTOR/P70S6K 信号通路在宫颈癌组织中的表达及其临床意义[J]. 西安交通大学学报:医学版, 2010, 31(1): 10 – 13.

[15] Wu B , Peng G Z. Expressions of mTOR/P70S6K signaling pathway in hepatocellular carcinoma and their clinical significance[J]. Shi Jie Hua Ren Xiao Hua Za Zhi, 2008, 10(29): 3279 – 3282.

[16] Mabuchi S, Altomare D A, Cheung M, *et al*. RAD001 inhibits human ovarian cancer cell proliferation, enhances cisplatin-induced apoptosis, and prolongs survival in an ovarian cancer model[J]. Clin Cancer Res, 2007, 13(14): 4261 – 4270.

[17] Philp A J, Campbell I G, Leet C, *et al*. The phosphatidylinositol 3'-kinase p85alpha gene is an oncogene in human ovarian and colon tumors[J]. Cancer Res, 2001, 61(20): 7426 – 7429.

[18] Murayama T, Inokuchi M, Takagi Y, *et al*. Relation between outcomes and localisation of p-mTOR expression in gastric cancer[J]. Br J Cancer, 2009, 100(5): 782 – 788.

[19] 徐大志, 夏良平, 林桐榆, 等. 磷酸化的哺乳动物雷帕霉素靶蛋白在胃癌组织中的表达[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2009, 30(3): 304 – 307.

[20] 潘军, 于观贞, 陈颖, 等. mTOR 和 VEGF 在胃癌中的表达及与预后关系的研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2008, 8(5): 695 – 699.

[21] Boehm A, Mayerhofer M, Herndlhofer S, *et al*. Evaluation of in vivo antineoplastic effects of rapamycin in patients with chemotherapy-refractory AML[J]. Eur J Intern Med, 2009, 20(8): 775 – 778.

[22] Yen C J, Izzo J G, Lee D F, *et al*. Bile acid exposure up-regulates tuberous sclerosis complex 1/mammalian target of rapamycin pathway in Barrett's-associated esophageal adenocarcinoma[J]. Cancer Res, 2008, 68(8): 2632 – 2640.

[23] Tsurutani J, West K A, Sayyah J, *et al*. Inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mammalian target of rapamycin pathway but not the MEK/ERK pathway attenuates laminin-mediated small cell lung cancer cellular survival and resistance to imatinib mesylate or chemotherapy[J]. Cancer Res, 2005, 65(18): 8423 – 8432.

[24] Koljonen V, Tukiainen E, H aglund C, *et al*. Cell cycle con trol by p21, p27 and p53 in Merkel cell carcinoma[J]. Anticancer Res, 2006, 26(3B): 2209 – 2212.

[25] Benadiba M, Dos-Santos R R, Silva Dde O, *et al*. Inhibition of C6 rat glioma proliferation by [Ru2Cl(Ibp)4] depends on changes in p21, p27, Bax/Bcl2 ratio and mitochondrial membrane potential[J]. J Inorg Biochem, 2010, 104(9): 928 – 935.

(**收稿**:2011-04-17;**修回**:2011-05-28)

(编辑 汪勤俭)