

替莫唑胺及甲泼尼龙对人胶质瘤细胞放射治疗敏感性的影响

李瑜 杨学军 曹永珍 元大发 王维 王华民 董雪涛 于圣平 张斌 明浩朗

【摘要】 目的 探讨替莫唑胺(TMZ)和甲泼尼龙(MP)对人胶质瘤细胞系 U251 放射治疗敏感性的影响,以期为临床优化治疗方案提供依据。方法 经体外传代培养的 U251 细胞根据治疗方案的不同,分为对照组、放射治疗(R)组、放射治疗+替莫唑胺(R+TMZ)组、放射治疗+甲泼尼龙(R+MP)组、放射治疗+替莫唑胺+甲泼尼龙(R+TMZ+MP)组,分别予以放射治疗(2 Gy/24 h)、替莫唑胺、甲泼尼龙及三者联合治疗。采用磺酰罗丹明 B(SRB)比色法、流式细胞术和 Western blotting 法分析 U251 细胞增殖率和凋亡率,观察凋亡相关蛋白 Bax 和 Bcl-2 表达变化。结果 放射线照射联合甲泼尼龙治疗后,U251 细胞存活率明显升高(均 $P=0.000$);但经体外培养 24 和 48 h 后,三者联合治疗组(R+TMZ+MP 组)U251 细胞增殖率显著高于放射治疗联合替莫唑胺组($P=0.000$)。除对照组外,不同抗肿瘤治疗组 U251 细胞凋亡率均呈现升高趋势($P=0.000$),但放射治疗联合甲泼尼龙组细胞凋亡率显著低于其他各组(均 $P=0.000$)。经放射线照射联合替莫唑胺和三者联合治疗后,U251 细胞 Bax 蛋白表达水平升高($P=0.000$),而放射线照射联合甲泼尼龙和三者联合治疗,Bcl-2 蛋白表达水平升高;其中以放射治疗联合替莫唑胺组 Bax/Bcl-2 比值最高($P=0.000$),放射治疗联合甲泼尼龙组最低($P=0.000$)。结论 甲泼尼龙可以诱导人胶质瘤细胞产生放射抵抗,而替莫唑胺对甲泼尼龙诱导的放射抵抗具有增敏作用。提示:胶质母细胞瘤患者在应用甲泼尼龙减轻放射治疗不良反应过程中所诱导的放射治疗抵抗可通过同时应用替莫唑胺而抵消。

【关键词】 神经胶质瘤; 替莫唑胺; 甲泼尼龙; 抗肿瘤联合化疗方案; 细胞凋亡; 流式细胞术; 细胞,培养的; 体外研究

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2011.03.016

Effect of temozolomide and methylprednisolone on the radiosensitivity in radiotherapy of human brain glioma cells LI Yu, YANG Xuejun, CAO Yongzhen, YUAN Dafa, WANG Wei, WANG Huamin, DONG Xuetao, YU Shengping, ZHANG Bin, MING Haolang. Department of Neurosurgery, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: YANG Xuejun (Email: ydenny@yahoo.com)

【Abstract】 Objective To investigate the effect of temozolomide (TMZ) and methylprednisolone (MP) on the radiosensitivity of human glioma cells (U251 cells), and to provide experimental evidence for optimal chemotherapy in malignant glioma. **Methods** Human U251 cells were used for this experiment, and treated respectively by 5 schemes: group C (control, not irradiated and no TMZ and MP), R (irradiated alone), R + TMZ (irradiated and TMZ), R + MP (irradiated and MP) and R + TMZ + MP (irradiated, TMZ and MP). Sulforhodamine B (SRB) assay was used to calculate the cell viability percentage. The apoptosis rate of U251 cells was determined by flow cytometry. The expression of Bax and Bcl-2 protein in the treated cells was detected by Western blotting. **Results** After treatment, the survival rate in group R + MP was significantly higher than group R, R + TMZ and R + TMZ + MP ($P=0.000$, for all). The proliferation rate of group R + TMZ + MP at 24 and 48 h was higher than group R + TMZ ($P=0.000$). The detection of apoptosis showed that the apoptosis rate in experimental groups increased obviously ($P=0.000$, for all), but not in

group C. In cell apoptosis elevated groups, the apoptosis rate of group R + MP increased less than group R, R + TMZ and R + TMZ + MP ($P=0.000$, for all). The Bax expression in group R + TMZ and R + TMZ + MP was clearly higher than group C, R and R + MP

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:30772228)

作者单位:300052 天津医科大学总医院神经外科(李瑜、杨学军、王维、王华民、董雪涛、于圣平、张斌、明浩朗),肿瘤放疗科(曹永珍、元大发)

通信作者:杨学军(Email:ydenny@yahoo.com)

($P = 0.000$, for all). The Bcl-2 protein in group R + MP and R + TMZ + MP was expressed significantly higher than group C, R and R + TMZ ($P = 0.000$, for all). The highest Bax/Bcl-2 ratio was in group R + TMZ ($P = 0.000$), and the lowest Bax/Bcl-2 ratio was in group R + MP ($P = 0.000$). **Conclusion** MP could induce human glioma cells to resist radiation. TMZ could improve the radioresistant induced by MP. During the radiotherapy in malignant glioma, the radiation resistant effect induced by using MP to reduce radiotherapeutic adverse reaction could be offset by TMZ.

【Key words】 Glioma; Temozolomide; Methylprednisolone; Antineoplastic combined chemotherapy protocols; Apoptosis; Flow cytometry; Cells, cultured; In vitro

胶质母细胞瘤为临床常见的颅内原发性恶性肿瘤,具有恶性程度高、呈浸润性生长及导致神经功能障碍之特点。目前对胶质母细胞瘤的治疗方案主要采用手术治疗,辅助术后分割照射并口服小剂量替莫唑胺(TMZ, 75 mg/m²)的同步放射治疗和药物化疗方案,放射治疗4周后按标准治疗方案继续服用6个周期的替莫唑胺,剂量150~200 mg/m²(前5 d/28 d)^[1-3]。第2代烷化剂替莫唑胺为咪唑四嗪类衍生物,不经过肝脏代谢,可直接在胶质瘤组织的碱性环境中分解,生成活性物质5-(3-甲基三氮烯-1-基)咪唑-4-酰胺(MTIC),后者对肿瘤细胞具有较好的疗效且不良反应小,此外,替莫唑胺的高脂溶性、呈小分子及能透过血-脑脊液屏障的特点,亦被公认为治疗胶质瘤的首选药物^[2,4-6]。胶质母细胞瘤患者常伴有严重的瘤周水肿、术后反应性水肿或放射性脑水肿,需糖皮质激素如甲泼尼龙(MP)作为辅助治疗药物。然而,最近的一些研究证实,糖皮质激素有可能降低放射治疗或药物化疗所诱导的肿瘤细胞死亡^[7-13]。为此我们进行了相关体外研究,以观察甲泼尼龙在放射治疗联合替莫唑胺治疗过程中对U251细胞增殖、凋亡,以及凋亡相关蛋白Bax和Bcl-2表达的影响,拟从细胞和分子水平探讨替莫唑胺及甲泼尼龙对人胶质瘤细胞放射治疗敏感性的作用,为临床优化治疗方案提供理论依据。

材料与方 法

一、材料

1. 细胞系来源 实验用细胞系为人胶质瘤细胞系U251,购自中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所中国科学院细胞库,稳定传代10代后用于本实验。

2. 试剂与仪器 替莫唑胺纯药由天津天士力医药营销集团有限公司提供,溶于体积分数为10%的二甲亚砜(DMSO,美国Sigma公司)溶液中,储存液

质量浓度为100 mg/ml,使用时以DMEM(体积分数<0.1%)稀释至所需工作浓度,以免影响细胞生长。甲泼尼龙(质量分数为4%甲泼尼龙琥珀酸钠注射液)为美国辉瑞制药有限公司产品,溶于无菌去离子水溶液中,储存浓度为10 mmol/L,使用时以DMEM稀释至所需工作浓度。磺酰罗丹明B(SRB)购自美国Sigma-Aldrich公司。免疫组织化学染色试剂中I抗工作液[含兔抗人Bcl-2、Bax和小鼠抗人甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体,工作浓度均为1:1000]购自美国Santa Cruz公司;II抗工作液[含辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔和山羊抗小鼠IgG抗体,工作浓度均为1:1000]购自武汉博士德生物工程有限公司。免疫印迹化学发光(ECL)系统及聚偏二氟乙烯(PVDF)膜为美国Millipore公司产品。高糖DMEM培养液购自北京索莱宝科技有限公司。体积分数为10%的胎牛血清(FBS)由美国HyClone公司提供。

二、实验方法

1. 细胞培养 将经体外传至第10代的人胶质瘤细胞系U251置于含体积分数为10%胎牛血清的DMEM完全培养液中,37℃、体积分数为5%二氧化碳、饱和湿度培养箱常规培养,每2 d更换1次培养液,细胞增殖达80%融合时传代。将细胞密度为 200×10^3 /L、呈对数生长的U251细胞接种于6孔培养板,常规培养过夜后分为5组:对照组、放射治疗组(R组)、放射治疗+替莫唑胺组(R+TMZ组)、放射治疗+甲泼尼龙组(R+MP组)、放射治疗+替莫唑胺+甲泼尼龙组(R+TMZ+MP组)。其中R+TMZ组、R+MP组和R+TMZ+MP组分别加入替莫唑胺(终浓度为100 μmol/L)和(或)甲泼尼龙(终浓度为53 μmol/L),继续培养2 h,除对照组外,其余各组均采用德国Siemens Primus直线加速器对U251细胞进行照射,照射条件为6MV-X线垂直照射,剂量为2 Gy/24 h。

2. SRB 比色法检测不同处理组 U251 细胞增殖活性 采集呈对数生长的 U251 细胞,按照细胞密度 3×10^3 /孔接种于 96 孔培养板,每组设 4 个复孔。常规培养过夜后,R + TMZ 组、R + MP 组和 R + TMZ + MP 组分别加入替莫唑胺(终浓度为 $100 \mu\text{mol/L}$)和(或)甲泼尼龙(终浓度为 $53 \mu\text{mol/L}$),继续培养 2 h,予 2 Gy/24 h 放射治疗,分别于继续培养 24、48、72 和 96 h 后检测 U251 细胞增殖活性。三氯乙酸(TCA)固定,弃上清,每孔滴加质量分数为 0.4% 磺酰罗丹 B $100 \mu\text{l}$; 10 mmol/L 非缓冲 Tris 碱性溶液(pH 值 10.50) $150 \mu\text{l}$ 溶于已结合的磺酰罗丹 B 中,经美国 Bio-Rad 酶标仪测定每孔在 540 nm 下的光密度(OD)值,以 490 nm 作为参照。计算公式:细胞存活率(%) = 治疗组 OD 值/对照组 OD 值 $\times 100\%$ 。

3. Annexin V -FITC/PI 双染法定量检测 U251 细胞凋亡率 将处理 72 h 后呈对数生长的 U251 细胞消化为单细胞悬液,经 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 磷酸盐缓冲液冲洗 2 次,重悬细胞于 $100 \mu\text{l}$ 结合缓冲液中,调节细胞密度至 $1 \times 10^6/\text{L}$ 。滴加 $20 \mu\text{l}$ 异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 Annexin V 和 $5 \mu\text{l}$ 碘化丙啶(PI)溶液,摇匀,室温下避光染色 15 min,滴加 $400 \mu\text{l}$ 结合缓冲液,重悬后采用 FACS Calibur 流式细胞仪即刻行细胞凋亡率测定和 CELLQuest 软件分析,同时以不加 Annexin V-FITC 和 PI 的 U251 细胞作为阴性对照。

4. Western blotting 法检测 Bax 和 Bcl-2 蛋白表达水平 选择处于对数生长期并经治疗的 U251 细胞进行 Western blotting 检测。以 $100 \mu\text{l}$ 十二烷基磺酸钠(SDS)上样缓冲液煮沸法提取总蛋白, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 、离心半径 5.50 cm、 12000 r/min 离心 15 min, $20 \mu\text{l}$ 上样量,以体积分数为 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)分离蛋白质,电转移至 PVDF 膜后封闭,加入含兔抗人 Bax 和 Bcl-2 单克隆抗体的 I 抗工作液(1 : 1000)于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜,然后加入经辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG II 抗(1 : 1000)于室温下孵育 1 h。免疫印迹化学发光试剂按照比例(1 : 1)混匀后加于 PVDF 膜上,X 线适度曝光,行 GAPDH 二次杂交,即 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴洗膜 30 min[Tris-HCl 溶液(pH 值 6.80) 62.50 mmol/L ,体积分数为 2% SDS,以及 β -巯基乙醇 100 mmol/L],以小鼠 GAPDH 单克隆抗体(1 : 1000)作为内参照物。采用 UVI 光密度扫描仪(SYNGENE Chemigenius)检测靶蛋白与 GAPDH 每一杂交图像的峰面积值,以峰面积比值表示靶蛋白表达水平,每一样本共计检测 3 次,取其

平均值。

三、统计分析方法

本研究所得实验数据采用 SPSS 16.0 统计软件进行计算与分析。计量数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多个样本均数间的比较采用单因素方差分析,两两比较行 LSD-*t* 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、细胞增殖活性分析

与放射治疗组(R 组)相比,R + MP 组 U251 细胞增殖率升高($P = 0.000$);R + TMZ 组细胞增殖率降低($P = 0.000$),且于治疗 72 h($P = 0.000$)和 96 h($P = 0.000$)时组间差异最为明显。R + TMZ + MP 组 U251 细胞于 24 h($P = 0.000$)和 48 h($P = 0.001$)时增殖率高于 R + TMZ 组,且组间差异有统计学意义($P = 0.000$),但在 72 和 96 h 时两组之间细胞增殖率差异无统计学意义($P = 0.273$;图 1,表 1)。

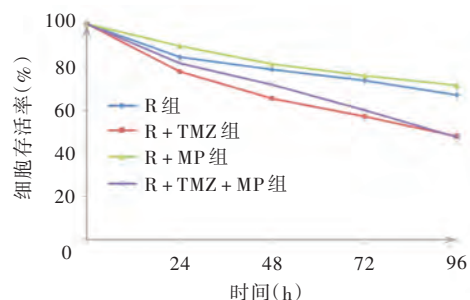


图 1 SRB 比色法分析不同处理组 U251 细胞存活率

表 1 不同处理组 U251 细胞各测量时间点细胞增殖活性的比较($\bar{x} \pm s, \text{OD}_{540 \text{ nm}}$)

组别	样本例数	24 h	48 h	72 h	96 h
对照组	3	1.12 \pm 0.01	1.52 \pm 0.02	1.75 \pm 0.03	2.23 \pm 0.03
R 组	3	0.94 \pm 0.02	1.18 \pm 0.02	1.29 \pm 0.02	1.47 \pm 0.02
R+TMZ 组	3	0.87 \pm 0.02	0.98 \pm 0.01	1.03 \pm 0.01	1.09 \pm 0.02
R+MP 组	3	1.01 \pm 0.02	1.22 \pm 0.02	1.33 \pm 0.02	1.57 \pm 0.01
R+TMZ+MP 组	3	0.91 \pm 0.02	1.06 \pm 0.02	1.09 \pm 0.01	1.12 \pm 0.02
F 值		28.385	172.736	210.847	703.672
P 值		0.001	0.000	0.000	0.000

二、细胞凋亡率分析

流式细胞术检测显示,除对照组外,其余各处理组 U251 细胞凋亡率均升高($P = 0.000$),其中 R +

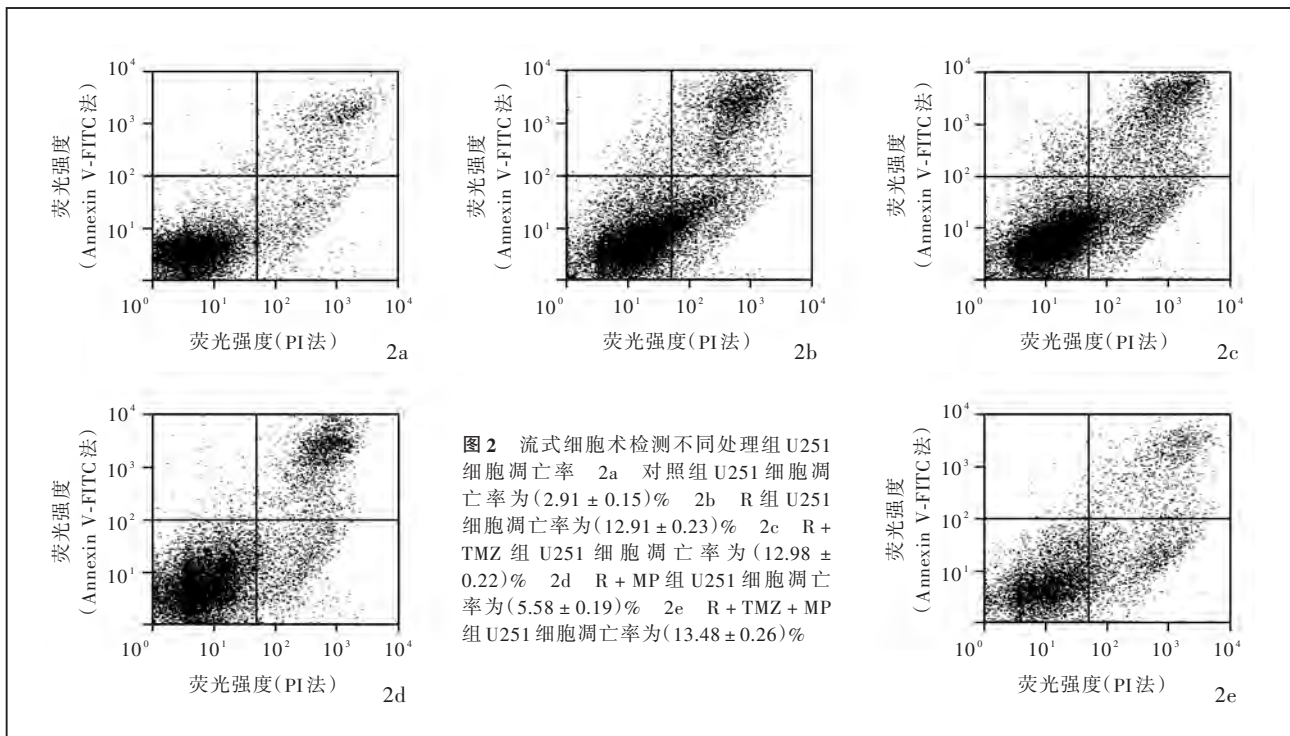


表 2 不同处理组 U251 细胞凋亡率的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	样本例数	细胞凋亡率	F 值	P 值
对照组	3	2.91 ± 0.15		
R 组	3	12.91 ± 0.23		
R+TMZ 组	3	12.98 ± 0.22	2543.000	0.000
R+MP 组	3	5.58 ± 0.19		
R+TMZ+MP 组	3	13.48 ± 0.26		

MP 组 U251 细胞凋亡率分别低于放射治疗组 (R 组, $P = 0.000$)、R + TMZ 组 ($P = 0.000$) 和 R + TMZ + MP 组 ($P = 0.000$), 但后 3 组之间细胞凋亡率差异无统计学意义 ($P = 0.391$; 图 2, 表 2)。

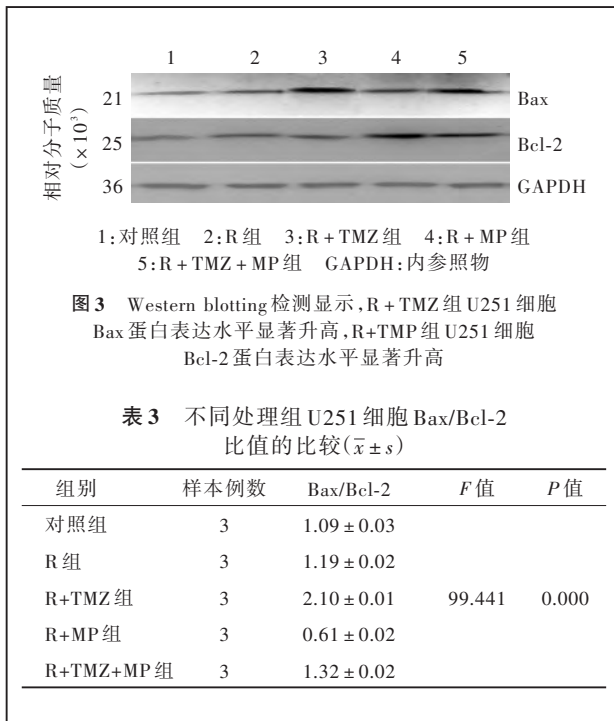
三、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达变化

Western blotting 检测显示, R + TMZ 组和 R + TMZ + MP 组 U251 细胞 Bax 蛋白表达水平高于对照组 ($P = 0.000$)、放射治疗组 (R 组, $P = 0.000$) 和 R + MP 组 ($P = 0.000$); 而 R + MP 组和 R + TMZ + MP 组 Bcl-2 蛋白表达水平则分别高于对照组 ($P = 0.000$)、放射治疗组 ($P = 0.000$) 和 R + TMZ 组 ($P = 0.000$)。不同处理组之间比较, 以 R + TMZ 组 Bax/Bcl-2 比值最高 ($P = 0.000$)、R + MP 组最低 ($P = 0.000$), 对照组、放射治疗组和 R + TMZ + MP 组之间比较差异无统计学意义 ($P = 0.191$; 图 3, 表 3)。

讨 论

近年来, 随着 fMRI、神经影像学引导的手术切除及术中唤醒技术的发展, 促进了恶性胶质瘤的最大限度的切除^[14]。新型辅助放射治疗和药物化疗的序贯方案进一步提高了胶质母细胞瘤的治疗效果, 但总体疗效仍不尽如人意。目前, 对于胶质母细胞瘤患者所伴发的严重瘤周水肿、术后反应性水肿和放射性脑水肿, 主要应用糖皮质激素如甲泼尼龙治疗, 通过降低毛细血管通透性, 降低瘤周水肿, 改善局部脑组织血流和葡萄糖代谢以缓解症状与体征。然而, 大量研究证实, 糖皮质激素对放射治疗或药物化疗所诱导的细胞死亡起反作用^[7-13]。本研究结果亦表明, 甲泼尼龙对放射治疗造成的细胞存活率下降具有抑制作用。因此, 阐明糖皮质激素类药物增强胶质母细胞瘤放射治疗抵抗作用的机制及如何抵消这种作用, 对指导临床放射治疗和药物化疗方案的调整, 具有重要意义。

肿瘤放射治疗的机制, 主要是通过放射线产生的氧自由基和损伤 DNA 来诱导肿瘤细胞凋亡, 其有效性已经多项肿瘤细胞放射线照射治疗研究所证实^[15-16]。而糖皮质激素类药物则可诱导产生放射治疗抵抗^[11]。糖皮质激素作为非酶类自由基清除剂, 可直接清除体内的自由基, 并抑制巨噬细胞一氧化



氮合酶(NOS)活性,减少巨噬细胞一氧化氮及自由基的生成,继而抑制细胞死亡。与此同时,糖皮质激素尚可清除自由基,减轻自由基对肿瘤细胞DNA的损伤,保护DNA,抑制细胞发生凋亡^[17]。凋亡信号转导通路通过促凋亡因子P53、Bax、Caspases蛋白与抗凋亡因子Bcl-2和凋亡抑制蛋白(IAP)之间的平衡对细胞凋亡进行调控^[18-19]。Bcl-2蛋白家族为重要凋亡调节因子之一,可与Bax蛋白形成异二聚体而抑制细胞凋亡过程、延长细胞寿命,从而参与肿瘤的发生与发展。Condon等^[20]经研究发现,Bcl-2高表达与肿瘤细胞放射治疗抵抗存在明显相关性,可诱导DNA被放射线破坏的肿瘤细胞继续增殖。Das等^[11]对外源性自由基损伤因素进行研究后发现,过氧化氢(H₂O₂)可明显提高Bax蛋白表达水平,促进胶质瘤细胞凋亡,而甲泼尼龙则增强Bcl-2蛋白表达水平,降低由过氧化氢所诱导的Bax/Bcl-2比值增高,从而抑制胶质瘤细胞凋亡。本实验结果表明,经甲泼尼龙预处理的U251细胞接受放射治疗后其细胞凋亡率明显降低,同时Bcl-2蛋白表达明显增强,而Bax/Bcl-2比值明显降低。提示:甲泼尼龙能够通过诱导Bcl-2蛋白的表达而降低Bax/Bcl-2比值,使胶质瘤细胞产生放射治疗抵抗。

目前,对于胶质母细胞瘤患者的综合治疗推荐放射线照射与替莫唑胺联合的同步治疗方案^[1-3]。虽然放射治疗中辅助应用甲泼尼龙可诱导胶质瘤

细胞产生放射治疗抵抗,但该项治疗方案联合甲泼尼龙是否对治疗效果产生影响尚不清楚。替莫唑胺为高脂溶性、小分子且能透过血-脑脊液屏障的烷化剂类抗肿瘤药物,由于其确切的临床疗效,给胶质母细胞瘤的药物化疗带来了希望,被公认为治疗胶质瘤的首选药物^[2,6]。多中心临床试验结果已证实,联合治疗组[放射治疗期间服用替莫唑胺,之后再行6个周期的替莫唑胺化疗方案(前5 d/28 d)],患者中位生存期和生存率显著优于单纯放射治疗组,且不增加化疗药物不良反应^[1,3]。我们也于体外对这一治疗序列进行模拟实验,经细胞水平研究发现,放射线照射与替莫唑胺联合治疗方案对肿瘤细胞的增殖抑制作用显著强于单纯放射治疗,且替莫唑胺还能抵消甲泼尼龙所诱导的放射治疗抵抗作用,不影响联合治疗方案之疗效。作为一线抗肿瘤药物,替莫唑胺可改变线粒体途径促凋亡因子Bax和抗凋亡因子Bcl-2的表达,主要是通过提高Bax蛋白表达从而增加Bax/Bcl-2比值来实现的^[21-23]。本研究显示,当放射治疗、替莫唑胺与甲泼尼龙联合应用时,Bax和Bcl-2蛋白表达水平显著升高,而Bax/Bcl-2比值则明显降低,与此同时,U251细胞凋亡率恢复至放射治疗组(R组)和R+TMZ组的水平,肿瘤细胞增殖率明显降低。这可能与替莫唑胺增强Bax蛋白表达、降低Bax/Bcl-2比值从而抵消甲泼尼龙增强Bcl-2蛋白表达所产生的放射抵抗作用有关。

综上所述,尽管甲泼尼龙存在降低放射治疗敏感性的作用,但当放射治疗与替莫唑胺联合应用时,辅助应用甲泼尼龙并不影响同步放射治疗和药物化疗的临床效果。糖皮质激素类药物降低血管通透性、修复血-脑脊液屏障、改善脑水肿的作用,主要是通过继发性影响前列腺素生物合成即磷脂酶A2活性,改变血-脑脊液屏障通透性,此作用亦可通过抑制前列腺素生物合成的下游酶类如环氧合酶-2(COX-2)实现^[24]。Portnow等^[25]证实,COX-2抑制药在控制大鼠脑肿瘤模型瘤周水肿和延长存活率方面,可产生与糖皮质激素类似的治疗效果。而且,COX-2抑制药塞来昔布还具有促进肿瘤细胞凋亡、发挥放射治疗增敏作用^[26]。提示:此类药物可用于替代糖皮质激素应用于胶质母细胞瘤的瘤周水肿,但尚待进一步研究。

参 考 文 献

[1] Athanassiou H, Synodinou M, Maragoudakis E, et al.

- Randomized phase II study of temozolomide and radiotherapy compared with radiotherapy alone in newly diagnosed glioblastoma multiforme. *J Clin Oncol*, 2005, 23:2372-2377.
- [2] 杨学军, 江涛, 陈忠平. 治愈恶性胶质瘤从理想到现实: 临床医生还应做些什么. *中国现代神经疾病杂志*, 2008, 8:373-375.
- [3] Stupp R, Hegi ME, Mason WP, et al. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol*, 2009, 10:434-435.
- [4] 潘强, 杨学军, 高松, 等. 替莫唑胺改变人胶质瘤细胞系 U251 耐药机制的体外研究. *中国现代神经疾病杂志*, 2009, 9:583-588.
- [5] 高松, 潘强, 曾峥, 等. 沙利度胺联合替莫唑胺杀伤 U251 胶质瘤细胞机制的体外研究. *中国现代神经疾病杂志*, 2010, 10:533-539.
- [6] 林志雄, 谭淑莲, 周爱萍, 等. 影响替莫唑胺治疗脑胶质瘤效果的非病理级别因素初步探讨. *中国现代神经疾病杂志*, 2008, 8:437-441.
- [7] Weller M, Schmidt C, Roth W, et al. Chemotherapy of human malignant glioma: prevention of efficacy by dexamethasone? *Neurology*, 1997, 48:1704-1709.
- [8] Gorman AM, Hirt UA, Orrenius S, et al. Dexamethasone pre-treatment interferes with apoptotic death in glioma cells. *Neuroscience*, 2000, 96:417-425.
- [9] Benedetti S, Pirola B, Poliani PL, et al. Dexamethasone inhibits the anti-tumor effect of interleukin 4 on rat experimental gliomas. *Gene Ther*, 2003, 10:188-192.
- [10] Sur P, Sribnick EA, Patel SJ, et al. Dexamethasone decreases temozolomide-induced apoptosis in human glioblastoma T98G cells. *Glia*, 2005, 50:160-167.
- [11] Das A, Banik NL, Ray SK. Methylprednisolone and indomethacin inhibit oxidative stress mediated apoptosis in rat C6 glioblastoma cells. *Neurochem Res*, 2007, 32:1849-1856.
- [12] Das A, Banik NL, Ray SK. Modulatory effects of acetazolamide and dexamethasone on temozolomide-mediated apoptosis in human glioblastoma T98G and U87MG cells. *Cancer Invest*, 2008, 26:352-358.
- [13] Nieuwenhuis B, Lüth A, Kleuser B. Dexamethasone protects human fibroblasts from apoptosis via an SIP3-receptor subtype dependent activation of PKB/Akt and Bcl XL. *Pharmacol Res*, 2010, 61:449-459.
- [14] 杨学军. 现代神经肿瘤学研究新世纪十年进展. *中国现代神经疾病杂志*, 2010, 10:103-110.
- [15] Shimura T, Inoue M, Taga M, et al. P53-dependent S-phase damage checkpoint and pronuclear cross talk in mouse zygotes with X-irradiated sperm. *Mol Cell Biol*, 2002, 22:2220-2228.
- [16] Ogony J, Matthews R, Anni H, et al. The mechanism of elevated toxicity in HepG2 cells due to combined exposure to ethanol and ionizing radiation. *J Appl Toxicol*, 2008, 28:345-355.
- [17] Baumeister P, Korn G, Berghaus A, et al. Chemopreventive action of dexamethasone and alpha-tocopherol in oxidative stressed cells. *Cancer Detect Prev*, 2009, 32(5/6):452-457.
- [18] Jarskog LF, Selinger ES, Lieberman JA, et al. Apoptotic proteins in the temporal cortex in schizophrenia: high Bax/Bcl-2 ratio without caspase-3 activation. *Am J Psychiatry*, 2004, 161:109-115.
- [19] Brakus SM, Govorko DK, Vukojevic K, et al. Apoptotic and anti-apoptotic factors in early human mandible development. *Eur J Oral Sci*, 2010, 118:537-546.
- [20] Condon LT, Ashman JN, Ell SR, et al. Overexpression of Bcl-2 in squamous cell carcinoma of the larynx: a marker of radioresistance. *Int J Cancer*, 2002, 100:472-475.
- [21] Das A, Banik NL, Patel SJ, et al. Dexamethasone protected human glioblastoma U87MG cells from temozolomide induced apoptosis by maintaining Bax: Bcl-2 ratio and preventing proteolytic activities. *Mol Cancer*, 2004, 3:36.
- [22] Shi L, Chen J, Yang J, et al. MiR-21 protected human glioblastoma U87MG cells from chemotherapeutic drug temozolomide induced apoptosis by decreasing Bax/Bcl-2 ratio and caspase-3 activity. *Brain Res*, 2010, 1352:255-264.
- [23] Zhang WB, Wang Z, Shu F, et al. Activation of AMP-activated protein kinase by temozolomide contributes to apoptosis in glioblastoma cells via p53 activation and mTORC1 inhibition. *J Biol Chem*, 2010, 285:40461-40471.
- [24] Masferrer JL, Leahy KM, Koki AT, et al. Antiangiogenic and antitumor activities of cyclooxygenase-2 inhibitors. *Cancer Res*, 2000, 60:1306-1311.
- [25] Portnow J, Suleman S, Grossman SA, et al. A cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitor compared with dexamethasone in a survival study of rats with intracerebral 9L gliosarcomas. *Neuro Oncol*, 2002, 4:22-25.
- [26] Schönthal AH. Exploiting cyclooxygenase-(in)dependent properties of COX-2 inhibitors for malignant glioma therapy. *Anticancer Agents Med Chem*, 2010, 10:450-461.

(收稿日期:2011-04-04)

第一届全国脊柱神经外科大会征文通知

由中国医师协会神经外科分会主办、首都医科大学宣武医院和青海仁济医院共同协办的第一届全国脊柱神经外科大会, 拟定于 2011 年 8 月 11-14 日在青海省西宁市举行。周定标和凌锋教授共同担任大会主席, 菅风增教授任大会秘书长。届时将邀请国内神经外科知名专家, 以及意大利、日本、韩国等国的专家作专题报告。会议采用专题讲座、自由发言、病例讨论、卫星会等多种形式进行交流, 欢迎神经外科同仁积极参会、踊跃投稿。参会者可授予国家级继续医学教育 I 类学分 8 分。

1. 征文内容 脊柱退行性疾病、脊髓肿瘤、先天性畸形等疾病的诊断与治疗新进展。

2. 征文要求 尚未在国内外公开发表、800~1000 字论文摘要 1 份, 按照目的、方法、结果和结论格式书写, 并于文题下注明作者姓名、工作单位、通信作者、联系方式 and Email 地址。

3. 投稿方式 仅接受 Email 投稿, 请发送至: chenzan66@163.com。

4. 联系方式 北京市宣武区长椿街 45 号首都医科大学宣武医院神经外科。邮政编码: 100053。联系人: 陈赞、刘群。联系电话: (010) 65664332; 65667556。传真: (010) 65667304。Email 地址: chenzan66@163.com; leon9@126.com。详情请登录 www.neurospine-china.com。