

· 论 著 ·

阿苯达唑对耐顺铂肺癌细胞糖酵解、细胞周期及细胞凋亡的影响

何迎盈¹, 罗治彬², 李少林^{1△}

(1. 重庆医科大学基础医学院核医学教研室 400016; 2. 重庆市合川区人民医院肿瘤科 401520)

摘要:目的 研究阿苯达唑(ABZ)对人耐顺铂肺癌细胞(A549/DDP 细胞)糖酵解、细胞周期及细胞凋亡的影响。方法 用 MTT 比色法检测 ABZ 对 A549/DDP 细胞增殖的影响,求得抑制率为 0%、25%、50%、75% 所对应的 ABZ 浓度,并按抑制率将实验分为对照组、25% 抑制浓度(IC₂₅)组、半数抑制浓度(IC₅₀)组和 75% 抑制浓度(IC₇₅)组,每组给予相应浓度的 ABZ 处理,并按作用时间再将每组分为 12、24、36 h 亚组。按照分组,在设定时间点,用比色法测定己糖激酶(HK)和丙酮酸激酶(PK)活性,酶标仪测定乳酸脱氢酶(LDH)活性,RT-PCR 法测定 Akt 和 Myc mRNA 表达,流式细胞仪检测细胞周期和凋亡。结果 ABZ 抑制了 A549/DDP 细胞增殖,呈剂量依赖性,抑制率为 0%、25%、50%、75% 所对应的 ABZ 浓度分别为(0.00±0.00) μmol/L、(0.99±0.11) μmol/L、(5.73±0.65) μmol/L、(33.15±3.94) μmol/L。ABZ 明显降低了 A549/DDP 细胞 HK、PK、LDH 的活性,且下调了 Akt 和 Myc mRNA 表达,细胞周期阻滞,凋亡明显。结论 ABZ 能抑制 A549/DDP 细胞糖酵解酶活性,下调糖酵解相关基因表达,阻滞细胞周期,诱导细胞凋亡。

关键词:阿苯达唑;糖酵解;细胞周期;细胞凋亡;肿瘤细胞,培养的

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.18.009

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)18-1811-04

Effects of albendazole on glycolysis, cell cycle and cell apoptosis of cisplatin-resistant lung cancer cells

He Yingying¹, Luo Zhibin², Li Shaolin^{1△}

(1. Department of Nuclear Medicine, Basic School, Chongqing Medical University, Yuzhong, Chongqing 400016, China;

2. Department of Oncology, Hechuan People's Hospital, Hechuan, Chongqing 401520, China)

Abstract: **Objective** To investigate effect of albendazole(ABZ) on glycolysis, cell cycle and cell apoptosis of human cisplatin-resistant lung cancer cells(A549/DDP cells). **Methods** Effect of ABZ on proliferation of A549/DDP cells was detected by methyl thiazolyl tetrazolium(MTT) colorimetry, then according to inhibition concentrations(IC) of 0%, 25%, 50%, 75% to divide cells into 4 groups-control group, IC₂₅ group, IC₅₀ group, IC₇₅ group, moreover, based on ABZ action time to divide every group into 12, 24 and 36 h sub-groups. At the setting points of action time, activities of hexokinase(HK), pyruvate kinase(PK), dehydrogenase(LDH) were detected by colorimetry and ELISA, expression of Akt and Myc mRNA were detected by RT-PCR, cell cycle and cell apoptosis were detected by flow cytometry(FCM). **Results** ABZ inhibited proliferation of A549/DDP cells in a dose-dependent manner, IC₀, IC₂₅, IC₅₀ and IC₇₅ respectively were(0.00±0.00) μmol/L, (0.99±0.11) μmol/L, (5.73±0.65) μmol/L, (33.15±3.94) μmol/L. The activity of LDH, HK and PK of test groups decreased, expression of Akt mRNA and Myc mRNA was downregulated. Cell cycle was blocked, apoptosis was obvious. **Conclusion** ABZ can inhibit activity of glycolytic enzymes and expression of glycolysis-related genes, block cell cycle and induce apoptosis in vitro.

Key words: albendazole; glycolysis; cell cycle; apoptosis; tumor cells, cultured

肿瘤细胞主要靠糖酵解获取能量,其活跃的糖酵解与糖酵解酶的活化^[1-2]、Akt 及 Myc 基因的激活有关^[3-4]。阿苯达唑是临床常用的抗寄生虫药物,通过抑制寄生虫摄取葡萄糖,降低丙酮酸激酶(pyruvate kinase, PK)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)等活性,阻止三磷酸腺苷产生,耗竭糖原而杀灭寄生虫。国外学者发现,阿苯达唑(albendazole, ABZ)能阻止肿瘤细胞微管蛋白聚合诱导凋亡^[5],还能抑制肿瘤血管形成和缺氧诱导因子-1 表达^[6-7]。本研究 ABZ 对人耐顺铂肺癌细胞(A549/DDP 细胞)糖酵解、细胞周期和生存的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系 A549/DDP 细胞株购自中国医学科学院肿瘤细胞库。

1.1.2 主要试剂 胎牛血清和 RPMI 1640 培养基购自 Gibco 公司;ABZ 购自 AccuStandard 公司,纯度为 97.5%;MTT 和

二甲基亚砷(DMSO)购自 Sigma 公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天公司;己糖激酶(hexokinase, HK)、PK 和 LDH 活性测定试剂盒购自南京建成公司;RNA 抽提试剂盒、引物、逆转录试剂盒、β-actin、Taq 酶均购自 Takara 公司;Annexin V/PI 试剂盒购自 BD 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 A549/DDP 细胞接种于 96 孔板,加入含 ABZ 终浓度为 1、2、4、8、16、32、64、128 μmol/L 的培养液。每个浓度设 3 个复孔。培养 24 h 后加入 5 mg/mL MTT 20 μL, 4 h 后加入 150 μL DMSO,酶标仪 490 nm 处测定吸光 OD 值,计算细胞增殖抑制率。增殖抑制率(%)=[1-(实验孔 OD 值-空白对照孔 OD 值)/(阴性对照孔 OD 值-空白对照孔 OD 值)]×100%。按照实验结果,将实验分为对照组、25% 抑制浓度(IC₂₅)组、半数抑制浓度(IC₅₀)组和 75% 抑制浓度(IC₇₅)组。

表 1 引物序列及 PCR 反应条件

基因名称	引物	扩增长度(bp)	PCR 条件
Akt	上游:5'-GGC ACA CAC TCT AAC TGA AAG C-3'	333	94 °C 3 min, 94 °C 30 s, 58 °C 30 s 72 °C 30 s, 共 30 个循环, 再 72 °C 延伸 10 min
	下游:5'-GCT GCA TCT GTG ATC CCT TCT-3'		
Myc	上游:5'-CAG GAA CTA TGA CCT CGA CTA G-3'	328	94 °C 3 min, 94 °C 30 s, 59 °C 30 s 72 °C 30 s, 共 30 个循环, 再 72 °C 延伸 10 min
	下游:5'-GTC GCA GAT GAA ACT CTG GTT C-3'		
β-actin	上游:5'- ACT GTG CCC ATC TAC GAG G-3'	678	94 °C 3 min, 94 °C 30 s, 58 °C 30 s 72 °C 30 s, 共 32 个循环, 再 72 °C 延伸 10 min
	下游:5'- GAA AGG GTG TAA CGC AAC TA-3'		

1.2.2 HK、PK、LDH 活性检测 A549/DDP 细胞接种于 6 孔板,按组加入含 ABZ 终浓度为 0.0、1.0、5.5、35.0 μmol/L 的培养液(以下细胞接种和 ABZ 处理均同此处)。12、24、36 h,用 0.25%胰蛋白酶消化并收集细胞,生理盐水漂洗 2 次后制成 0.5 mL 细胞悬液移至 2 mL 玻璃匀浆管冰上匀浆 3 min。样本 -20 °C 保存。按 BCA 蛋白浓度测定试剂盒说明加样,酶标仪 562 nm 处测定吸光度,绘制标准曲线,计算各样本的蛋白浓度。按酶活性测试盒说明加样和处理,分光光度计 340 nm 处测 HK 和 PK 的 A1 和 A2 值,酶标仪 450 nm 处测 LDH 吸光值。按说明书计算酶活性,将各组测得的活性与对照组比较,求得相对活性。

1.2.3 半定量 RT-PCR 检测 Akt、Myc mRNA 表达 ABZ 作用 12、24、36 h,离心弃去培养液,加入磷酸盐缓冲液(phosphate buffer, PBS)轻洗离心两次。用 TRIzol 法提取总 RNA。经 Thermo Nanodrop 仪检测,提示所获样品无降解和蛋白污染。每个标本以 1 μg 总 RNA 为模板按逆转录试剂盒说明逆转录合成 cDNA。引物序列及 PCR 反应条件见表 1。2%琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,在凝胶成像系统下成像,Quantity One 软件分析灰度值,对比相应内参求出相对灰度值。

1.2.4 细胞周期和细胞凋亡率的流式细胞仪测定 ABZ 作用 12、24、36 h,转移孔内培养基至离心管, PBS 轻洗 2 次孔板并收集清洗液至离心管,胰蛋白酶消化细胞至离心管。室温下,1 000 r/min 离心 3 min,弃去上清液。

1.2.4.1 细胞周期检测 加 75%乙醇 1 mL 吹打均匀,4 °C 过夜后离心收集细胞,1 mL PBS 洗后,加入 500 μL 含 50 μg/mL 的 PI、100 μg/mL RNase A、0.2% Trion X-100 的 PBS 溶液,4 °C 避光孵育 30 min 后上机检测,Modfit 软件拟合数据。

1.2.4.2 细胞凋亡率检测 加缓冲液配成 1×10⁶/mL 的细胞悬液,取 100 μL 至 5 mL 培养管,加 PI、Annexin 各 5 μL,避光染色 15 min,再加缓冲液至 400 μL 后上机检测,CellQuest 软件拟合数据。

1.3 统计学处理 所得数据用 SPSS18.0 软件分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,样本均数的多重比较用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 分组实验结果 细胞增殖抑制率 0%、25%、50%、75% 所对应的 ABZ 浓度分别为:(0.00±0.00) μmol/L、(0.99±0.11) μmol/L、(5.73±0.65) μmol/L、(33.15±3.94) μmol/L。因此对照组、IC₂₅ 组、IC₅₀ 组和 IC₇₅ 组所对应的 ABZ 作用浓度分别为:0.0、1.0、5.5、35.0 μmol/L,再按 ABZ 作用时间将各组分 12、24、36 h 3 个亚组。

2.2 HK、PK、LDH 活性检测结果 HK、PK、LDH 活性检测结果见表 2。ABZ 抑制 HK 活性有浓度依赖性和时间依赖性。

IC₇₅ 组 ABZ 抑制 PK 活性有时间依赖性。ABZ 抑制 LDH 活性呈浓度和时间依赖性。

表 2 各组 HK、PK、LDH 相对活性检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	HK	PK	LDH
对照组	12 h	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
	24 h	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
	36 h	1.00±0.00	1.00±0.00	1.00±0.00
IC ₂₅ 组	12 h	0.92±0.03	0.87±0.03 ^a	0.93±0.03 ^a
	24 h	0.75±0.04 ^{ad}	0.70±0.16 ^a	0.79±0.07 ^{ad}
	36 h	0.55±0.08 ^{ade}	0.33±0.06 ^{ade}	0.51±0.04 ^{ade}
IC ₅₀ 组	12 h	0.84±0.05 ^a	0.71±0.08 ^{ab}	0.79±0.03 ^{ab}
	24 h	0.60±0.09 ^{abd}	0.55±0.12 ^a	0.61±0.07 ^{abd}
	36 h	0.39±0.07 ^{abde}	0.27±0.04 ^{ade}	0.29±0.04 ^{abde}
IC ₇₅ 组	12 h	0.71±0.12 ^{abc}	0.62±0.05 ^a	0.63±0.02 ^{abc}
	24 h	0.42±0.06 ^{abcd}	0.40±0.09 ^{abd}	0.50±0.04 ^{abcd}
	36 h	0.21±0.05 ^{abcde}	0.18±0.03 ^{abcde}	0.22±0.03 ^{abcde}

^a: $P < 0.05$, 与同时间对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同时间 IC₂₅ 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与同时间 IC₅₀ 组比较; ^d: $P < 0.05$, 与同组内 12 h 时比较; ^e: $P < 0.05$, 与同组内 24 h 时比较。

表 3 各组细胞不同时间 Akt、Myc mRNA 表达结果($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	Akt	Myc
对照组	12 h	0.72±0.06	0.56±0.03
	24 h	1.26±0.05	0.56±0.01
	36 h	1.49±0.19	0.53±0.03
IC ₂₅ 组	12 h	0.66±0.06	0.52±0.02
	24 h	0.55±0.06 ^{ab}	0.47±0.01 ^{ab}
	36 h	0.44±0.04 ^{abc}	0.42±0.01 ^{abc}
IC ₅₀ 组	12 h	0.71±0.04	0.54±0.01
	24 h	0.55±0.04 ^{ab}	0.45±0.02 ^{ab}
	36 h	0.42±0.06 ^{abc}	0.41±0.01 ^{abc}
IC ₇₅ 组	12 h	0.71±0.05	0.55±0.02
	24 h	0.52±0.05 ^{ab}	0.45±0.02 ^{ab}
	36 h	0.40±0.05 ^{abc}	0.39±0.02 ^{abc}

^a: $P < 0.05$, 与同时间对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同组内 12 h 时比较; ^c: $P < 0.05$, 与同组内 24 h 时比较。

2.3 Akt 和 Myc mRNA 表达结果 作用 12 h, ABZ 不能明显下调 Akt、Myc mRNA 表达,作用时间延长,两种基因表达

水平均明显下降,即 ABZ 下调作用有时间依赖性,见表 3,图 1、2。

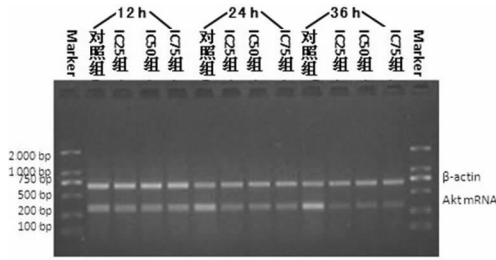


图 1 各组细胞不同时间 Akt mRNA 的 PCR 凝胶电泳图

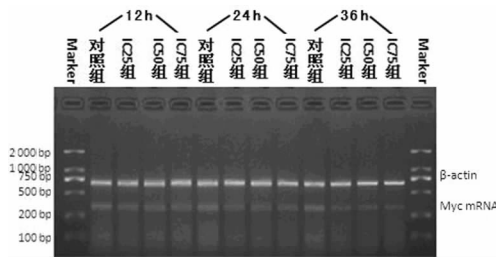


图 2 各组细胞不同时间 Myc mRNA 的 PCR 凝胶电泳图

2.4 各组细胞不同时间细胞周期和细胞凋亡率比较 各组细胞不同时间细胞周期分布见表 4,细胞凋亡率比较见表 5。

表 4 各组细胞不同时间细胞周期分布 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	时间	G ₁ 期	G ₂ 期	S 期
对照组	12 h	93.68±1.39	4.81±1.04	1.50±0.46
	24 h	89.62±1.47	2.36±0.65	8.02±1.08
	36 h	62.48±1.08	12.48±0.60	25.38±0.74
IC ₂₅ 组	12h	65.01±1.58 ^a	12.46±1.19 ^a	22.53±0.44 ^a
	24 h	52.98±1.80 ^{ab}	14.27±1.00 ^a	32.75±1.25 ^{ab}
	36 h	12.03±1.18 ^{abc}	53.09±2.92 ^{abc}	34.87±2.92 ^{abc}
IC ₅₀ 组	12h	64.97±2.21 ^a	13.50±0.93 ^a	21.53±1.60 ^a
	24 h	54.65±1.17 ^{ab}	14.78±0.79 ^a	31.41±1.08 ^{ab}
	36 h	11.37±0.92 ^{abc}	54.51±1.38 ^{abc}	34.12±2.00 ^a
IC ₇₅ 组	12h	65.67±1.42 ^a	13.46±1.23 ^a	20.87±2.62 ^a
	24 h	54.00±1.06 ^{ab}	14.06±0.66 ^a	31.94±1.68 ^a
	36 h	10.38±1.06 ^{abc}	54.52±2.15 ^{abc}	35.10±3.18 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与同时间对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同组内 12 h 时比较; ^c: $P < 0.05$, 与同组内 24 h 时比较。

表 5 各组细胞不同时间细胞凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

分组	时间	晚期凋亡细胞比例	正常细胞比例	早期凋亡细胞比例
对照组	12 h	1.28±0.18	94.39±0.69	1.95±0.10
	24 h	0.58±0.11	94.87±0.80	2.61±0.25
	36 h	1.53±0.33	93.23±1.23	2.54±0.37
IC ₂₅ 组	12 h	3.52±0.44	85.39±1.64 ^a	5.71±0.86 ^a
	24 h	5.46±0.45 ^{ad}	78.19±1.84 ^{ad}	9.74±1.25 ^{ad}
	36 h	10.27±1.37 ^{ade}	72.30±1.71 ^{ade}	9.80±1.10 ^{ad}
IC ₅₀ 组	12h	8.71±0.92 ^{ab}	77.78±1.31 ^{ab}	7.78±0.38 ^{ab}

续表 5 各组细胞不同时间细胞凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

分组	时间	晚期凋亡细胞比例	正常细胞比例	早期凋亡细胞比例
对照组	24 h	14.14±0.73 ^{abd}	60.82±1.55 ^{abd}	19.94±0.80 ^{abd}
	36 h	25.66±1.38 ^{abcde}	58.85±1.44 ^{abd}	7.94±0.46 ^{abc}
	IC ₇₅ 组	12h	11.75±2.32 ^{abc}	68.97±2.03 ^{abc}
IC ₇₅ 组	24 h	26.30±1.41 ^{abcd}	51.38±0.63 ^{abcd}	2.40±0.52 ^{bcd}
	36 h	37.62±1.13 ^{abcde}	35.28±1.44 ^{abcde}	9.11±0.64 ^{ae}

^a: $P < 0.05$, 与同时间对照组比较; ^b: $P < 0.05$, 与同时间 IC₂₅组比较; ^c: $P < 0.05$, 与同时间 IC₅₀组比较; ^d: $P < 0.05$, 与同组内 12 h 时比较; ^e: $P < 0.05$, 与同组内 24 h 时比较。

3 讨论

大部分学者认为肿瘤细胞活跃的糖酵解代谢与肿瘤细胞线粒体功能障碍^[8],酶谱改变,尤其是糖酵解关键酶活性增加和同工酶谱改变有关。HK 是肿瘤细胞糖酵解的限速酶,它在肿瘤细胞中活性明显增加,从而保证肿瘤细胞生长和增殖所需要的能量及物质^[9]。PK 是糖酵解的第 2 个关键酶,它的活性不依赖于氧含量,它与 ATP 净生成增加有关,从而保证了肿瘤细胞在低氧环境中也能生存^[10]。LDH 催化糖酵解产物变为乳酸,酸化微环境,有利于肿瘤生存与生长^[11]。另外,在糖酵解过程中,Akt 基因和 Myc 基因也发挥了重要作用。Akt 基因刺激肿瘤细胞选择有氧糖酵解,且使肿瘤细胞依赖糖酵解生存和生长^[12]。Myc 基因能够直接上调 GLUT-1 和 LDH 的表达,促进葡萄糖摄取和加强葡萄糖转化为乳酸^[13]。

肺癌的发病率和病死率极高^[14],耐药是临床面临的难题。糖酵解与肿瘤恶性程度及耐药相关^[15-16]。抑制糖酵解,阻断能量来源,可杀死肿瘤细胞^[17-20]。

本实验中,A549/DDP 细胞 PK 和 LDH 活性非常高,糖酵解相当活跃,这可能与其高度恶性及耐药有关。ABZ 作用后,HK、PK、LDH 活性明显降低,Akt、Myc 基因的表达明显下调,细胞周期阻滞在 G₂ 和 S 期,凋亡明显。

ABZ 作为安全有效且价格低廉的临床用药,抗肿瘤的作用机制广泛。微管蛋白是 ABZ 的主要靶分子,但通过抑制微管蛋白聚合诱导肿瘤细胞凋亡,非 ABZ 抗肿瘤的惟一机制^[21]。通过本实验,可以看出,ABZ 对耐药肿瘤细胞仍具有较强的抗肿瘤活性,可能与它抑制糖酵解,切断肿瘤的能量来源有关。作为一种经济、有效、低毒的临床用药,在肿瘤基础研究中,发现了 ABZ 抑制肿瘤细胞糖酵解,诱导肿瘤细胞凋亡的新用途,希望经过深入研究后,能使 ABZ 运用到临床肿瘤治疗中,给肺癌患者带来福音。

参考文献:

[1] Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: warburg and beyond[J]. Cell,2008,134(5):703-707.
 [2] Luo W, Semenza GL. Pyruvate kinase M2 regulates glucose metabolism by functioning as a coactivator for hypoxia-inducible factor 1 in cancer cells[J]. Oncotarget, 2011,2(7):551-556.
 [3] Robey RB, Hay N. Is Akt the “warburg kinase”? — Akt-energy metabolism interactions and oncogenesis[J]. Semin Cancer Biol,2009,19(1):25-31.

- [4] Dang CV. Rethinking the warburg effect with Myc micromanaging glutamine metabolism[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(3):859-862.
- [5] Chu SW, Badar S, Morris DL, et al. Potent inhibition of tubulin polymerisation and proliferation of paclitaxel-resistant 1A9PTX22 human ovarian cancer cells by albendazole[J]. *Anticancer Res*, 2009, 29(10):3791-3796.
- [6] Pourgholami MH, Cai ZY, Wang L, et al. Inhibition of cell proliferation, vascular endothelial growth factor and tumor growth by albendazole[J]. *Cancer Invest*, 2009, 27(2):171-177.
- [7] Pourgholami MH, Cai ZY, Badar S, et al. Potent inhibition of tumoral hypoxia-inducible factor 1 alpha by albendazole[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10(7):143-148.
- [8] Wu M, Neilson A, Swift AL, et al. Multiparameter metabolic analysis reveals a close link between attenuated mitochondrial bioenergetic function and enhanced glycolysis dependency in human tumor cells[J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 292(1):C125-136.
- [9] Marín-Hernández A, Rodríguez-Enríquez S, Vital-González PA, et al. Determining and understanding the control of glycolysis in fast-growth tumor cells. Flux control by an over-expressed but strongly product-inhibited hexokinase [J]. *FEBS J*, 2006, 273(9):1975-1988.
- [10] Mazurek S, Boschek CB, Hugo F, et al. Pyruvate kinase type M2 and its role in tumor growth and spreading[J]. *Semin Cancer Biol*, 2005, 15(4):300-308.
- [11] Fantin VR, St-Pierre J, Leder P. Attenuation of LDH-A expression uncovers a link between glycolysis, mitochondrial physiology, and tumor maintenance[J]. *Cancer Cell*, 2006, 9(6):425-434.
- [12] Elstrom RL, Bauer DE, Buzzai M, et al. Akt Stimulates Aerobic Glycolysis in Cancer Cells[J]. *Cancer Res*, 2004, 64(11):3892-3899.
- [13] Osthus RC, Shim H, Kim S, et al. Deregulation of glucose transporter 1 and glycolytic gene expression by c-Myc[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(29):21797-21800.
- [14] Siegel R, Ward E, Brawley O, et al. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(4):212-236.
- [15] Sattler UG, Mueller-Klieser W. The anti-oxidant capacity of tumour glycolysis[J]. *Int J Radiat Biol*, 2009, 85(11):963-971.
- [16] Milane L, Duan Z, Amiji M. Role of hypoxia and glycolysis in the development of multi-drug resistance in human tumor cells and the establishment of an orthotopic multi-drug resistant tumor model in nude mice using hypoxic pre-conditioning[J]. *Cancer Cell Int*, 2011, 11(4):3-12.
- [17] Gatenby RA, Gillies RJ. Glycolysis in cancer: a potential target for therapy[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2007, 39(7/8):1358-1366.
- [18] Kim W, Yoon JH, Jeong JM, et al. Apoptosis-inducing antitumor efficacy of hexokinase II inhibitor in hepatocellular carcinoma[J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(9):2554-2562.
- [19] Le A, Cooper CR, Gouw AM, et al. Inhibition of lactate dehydrogenase A induces oxidative stress and inhibits tumor progression[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107(5):2037-2042.
- [20] Priebe A, Tan L, Wahl H, et al. Glucose deprivation activates AMPK and induces cell death through modulation of Akt in ovarian cancer cells[J]. *Gynecol Oncol*, 2011, 122(2):389-395.
- [21] Sebastian M. Review of catumaxomab in the treatment of malignant ascites[J]. *Cancer Manag Res*, 2010, 2:283-286.

(收稿日期:2011-12-07 修回日期:2012-02-22)

(上接第 1810 页)

- Trauma(ReCONNECT)[J]. *Arch Surg*, 2009, 144(5):413-419.
- [15] Phelan HA, Velmahos GC, Jurkovich GJ, et al. An evaluation of multidetector computed tomography in detecting pancreatic injury: results of a multicenter AAST study [J]. *J Trauma*, 2009, 66(3):641-646.
- [16] Turaga KK, Hao Z, Ludwig WD, et al. Pancreatic duct transection: diagnosis and management [J]. *J Trauma*, 2010, 68(2):E39-41.
- [17] Ankouz A, Elbouhadouti H, Lamrani J, et al. Pancreatic transection due to blunt trauma [J]. *J Emerg Trauma Shock*, 2010, 3(1):76-78.
- [18] Nikfarjam M, Rosen M, Ponsky T. Early management of traumatic pancreatic transection by spleen-preserving laparoscopic distal pancreatectomy[J]. *J Pediatr Surg*, 2009, 44(2):455-458.
- [19] Pata G, Casella C, Di Betta E, et al. Extension of nonoperative management of blunt pancreatic trauma to include grade III injuries: a safety analysis [J]. *World J Surg*, 2009, 33(8):1611-1617.
- [20] Recinos G, Dubose JJ, Teixeira PG, et al. Local complications following pancreatic trauma [J]. *Injury*, 2009, 40(5):516-520.

(收稿日期:2012-01-08 修回日期:2012-03-01)