

## 抗肿瘤药物诱导 NK/T 细胞淋巴瘤细胞株凋亡的研究\*

赵文娜<sup>1</sup>, 吴莉<sup>2△</sup>, 王季石<sup>3</sup>, 李杭<sup>2</sup>, 樊建民<sup>4</sup>, 李勇<sup>2</sup>

(1. 贵州医科大学研究生学院, 贵阳 550004; 2. 贵州省人民医院肿瘤科, 贵阳 550002;

3. 贵州医科大学附属医院血液科, 贵阳 550004; 4. 山东省郓城县人民医院血液科 274700)

**[摘要]** **目的** 探讨不同化疗方案对 NK/T 细胞淋巴瘤细胞株(SNK6)的抑制率,并对其进行可能的相关机制进行研究。**方法** 应用四甲基偶氮唑盐(MTT)法、流式细胞仪检测、琼脂糖凝胶电泳检测等方法,研究不同化疗药物对 SNK6 细胞的诱导凋亡作用;蛋白印迹法检测自噬蛋白 Beclin-1、LC3 II 表达,流式细胞仪检测细胞凋亡情况。**结果** 作用肿瘤细胞 48 h 的各药物的抑制率与 24 h 所得的抑制率相比,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );作用 72 h 的各药物抑制率与作用 48 h 相比,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。4 组化疗方案抑制率由高到低为:长春瑞滨+表柔比星、多西他赛+表柔比星、多西他赛+多柔比星、长春瑞滨+多柔比星;从实验组细胞中提取的 DNA 经电泳,紫外灯下可见“梯状带”。进行蛋白印迹法及流式细胞仪检测,抗肿瘤药物联合自噬抑制剂使自噬蛋白下调,细胞凋亡与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 长春瑞滨联合表柔比星诱导 SNK6 细胞凋亡作用最佳,3-MA 抑制 SNK6 细胞对化疗药物保护性自噬反应,增加 SNK6 细胞对抗肿瘤药物细胞毒杀伤作用的敏感性。

**[关键词]** 凋亡;自噬;NK/T 细胞淋巴瘤;3-甲基腺嘌呤**[中图分类号]** R551.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2016)25-2478-04

## The study of antitumor drugs to induce NK/T cell lymphoma cells apoptosis\*

Zhao Wenna<sup>1</sup>, Wu Li<sup>2△</sup>, Wang Jishi<sup>3</sup>, Li Hang<sup>2</sup>, Fan Jianmin<sup>4</sup>, Li Yong<sup>2</sup>

(1. Graduate School of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China; 2. Department of Oncology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550002, China; 3. Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China; 4. Department of Hematology, Yuncheng County People's Hospital, Heze, Shandong 274700, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the inhibitory rate of NK/T cell lymphoma cell line (SNK6) with different chemotherapy regimens, and to study its possible mechanism. **Methods** MTT assay, flow cytometry detector, agarose gel electrophoresis detection method were used to study the effect of different chemotherapeutic agents on the apoptosis of SNK6 cell line; the expression of autophagy protein Beclin-1 and LC3 II was detected by Western blot assay, and apoptosis was detected by flow cytometry. **Results** The inhibition rate of 48 h of the tumor cells was significantly different from that of 24 h, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ), there was no significant difference in the inhibitory rate between 72 h and 48 h ( $P > 0.05$ ). The chemotherapy inhibition rate in 4 groups of from high to low: Changchun vinorelbine + epirubicin, docetaxel + epirubicin, docetaxel + doxorubicin, Changchun vinorelbine + doxorubicin. The DNA extracted from the cells of the experimental group was treated by electrophoresis, and the ladder band was visible under the UV lamp. Western blot and flow cytometry showed that the anti tumor drugs combined with autophagy inhibitors reduced autophagy, apoptosis compared with the control group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** SNK6 cell lines induced apoptosis in vitro experiment, vinorelbine, epirubicin, docetaxel and doxorubicin achieve moderate sensitivity. Combination of vinorelbine and epirubicin has the best effect that induce SNK6 cells apoptosis. 3-MA inhibited autophagy protective response to chemotherapy drugs of SNK6 cell, then increase SNK6 cell's sensitivity that antitumor drugs damage effect.

**[Key words]** apoptosis; autophagy; NK/T cell lymphoma; 3-methyladenine.

结外 NK/T 细胞淋巴瘤是 WHO(2008 年)对于淋巴和造血组织肿瘤分类中的一个独立类型,属于非霍奇金淋巴瘤的一种少见类型,占 NHL 的 2%~10%。亚洲和南美洲发病率较高,约占总发病人数的 70%,欧美发病约占 21%<sup>[1]</sup>。

NK/T 细胞淋巴瘤对传统治疗侵袭性 NHL 的 CHOP 方案不敏感,或短暂缓解后很快复发。国内外治疗结外 NK/T 细胞淋巴瘤研究显示,含左旋门冬酰胺酶(L-ASP)的化疗方案显示出较好的疗效,应用 L-ASP 治疗 CHOP 方案无效及耐药病例取得一定疗效,完全缓解率约 50%<sup>[2]</sup>。本研究拟采用

四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测不同化疗药物及化疗药物组合方案对肿瘤细胞的抑制率,流式细胞仪检测细胞凋亡,凝胶电泳检测凋亡梯度,同时抑制自噬后研究自噬对抗肿瘤药物诱导 NK/T 细胞淋巴瘤细胞凋亡作用,为 NK/T 细胞淋巴瘤临床化疗方案的选择提供实验室依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** NK/T 细胞淋巴瘤细胞株(SNK6,常州贝源鑫生物科技有限公司),MTT(美国 invitrogen 公司),FACSVantage 流式细胞仪(美国 BD 公司),数码相机(美国 BekmanCoulter

\* 基金项目:贵阳市科技计划项目(筑科合同[20151001]社 56 号)。

作者简介:赵文娜(1991-),在读硕士,主要从事血液、淋巴系统疾病研究。

△ 通讯作者, E-mail: wulishengyi@163.com。

公司), 荧光显微镜(日本 Olympus 公司), 倒置相差生物显微镜(日本 Olympus 公司), 酶标仪(美国 BIO-RAD 公司), 二氧化碳培养箱(美国 Thermo 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 取冻存细胞迅速放入 37 °C 水浴箱中摇动使其快速融化, 转入已装 4 mL 培养基的培养瓶中并放入含 5% CO<sub>2</sub> 的 37 °C 恒温培养箱中培养。当培养瓶中细胞汇合达到 80% 左右时, 可传代。

1.2.2 实验分组 13 个药物组, 每种药物设 0.50×终浓度、0.75×终浓度和 1.00×终浓度 3 个处理组, 检测单药处理细胞 24、48、72 h 的细胞抑制率。选单药敏感的药物组合 2~3 方案, 各方案中药物设 0.25×终浓度、0.50×终浓度、1.00×终浓度 3 组, 检测化疗药物组合方案处理细胞的细胞抑制率、凋亡率和凋亡梯度。据所得敏感药物组合方案, 设空白对照组、长春瑞滨(10 mg/L)+表柔比星(1 mg/L)组、3-甲基腺嘌呤(3-MA 5 mmol/L)组和长春瑞滨(10 mg/L)+表柔比星(1 mg/L)+3-MA(5 mmol/L)组, 检测药物组合方案处理的细胞凋亡率及自噬相关蛋白表达水平。

1.2.3 细胞增殖抑制试验 取对数期 SNK6 细胞, 稀释至 1×10<sup>5</sup> 个/mL, 接种于 96 孔板中。所有药物按说明书溶解成工作液。每种浓度的药物设 5 个复孔, 培养 24~48 h 后, 每孔各加入 50 μL MTT, 于 37 °C 恒温培养箱中培养 4 h。将 96 孔板 1 000 r/min 离心 5 min, 各加入 150 μL 二甲基亚砷(DMSO), 低速振动 5 min。自动酶标仪调零, 检测在 5 790 nm 处吸光度值(A 值)。抑制率=(1-实验组 A 值/对照组 A 值)×100%。同样方法检测化疗药物组合方案对 SNK6 细胞的抑制率。

1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡 取对数生长期的 SNK6 细胞, 调整细胞浓度为 5×10<sup>5</sup>/mL 接种于 6 孔板中培养, 收集不同药物组作用的细胞, 用预冷磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 2 次, 离心弃上清液, 分别加入 FITc 标记的 AnnexinV 和 PI, 按试剂盒说明进行, 流式细胞仪检测各组细胞的荧光强度(激发波长 488 nm, 收集波长 630 nm), 得出各组细胞的凋亡百分比。

1.2.5 琼脂糖凝胶电泳检测凋亡梯度 收集不同药物组作用

24~48 h 的细胞, 进行裂解细胞, 结合 DNA, 漂洗 DNA, 洗脱 DNA 等步骤提取 DNA, 溶于 100 μL TE 缓冲液中备用。制备凝胶板, 加样后置入电泳池, 电泳 30 min 后取出凝胶板。紫外灯下观察凝胶板。

1.2.6 蛋白印迹法检测自噬蛋白 取对数生长期 SNK6 细胞, 分组加药处理细胞 24 h 后进行后续操作。裂解细胞, 提取 4 组细胞的蛋白, 蛋白定量后, 进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)、转膜、抗体封闭、洗膜、孵育一抗和二抗, 采用 ECL plus 试剂盒曝光后显影, 后期经过数码成像分析系统软件对图片进行扫描, 以 β-肌动蛋白(β-actin)作为内参照, 应用 image J 软件分析灰度值。计算各蛋白与 β-actin 的比值。实验重复 3 次。

1.3 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件。计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用  $\chi^2$  检验, 组间两两比较采用 SNK 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 13 种化疗药物对 NK/T 细胞淋巴瘤细胞的体外抑制作用 作用肿瘤细胞 48 h 所得的各药物检测抑制率中异环磷酰胺抑制率最低。与异环磷酰胺相比, 同一浓度的长春瑞滨、表柔比星、多西他赛、多柔比星、阿糖胞苷、美罗华、吉西他滨、门冬酰胺差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。作用肿瘤细胞 48 h 的各药物的抑制率与 24 h 所得的抑制率相比, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 作用 72 h 的各药物抑制率与作用 48 h 所得的抑制率相比, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 1、图 1。

2.2 组合方案

2.2.1 组合方案的设计 根据单药体外试验的敏感性及药物对肿瘤细胞周期特异性, 设计以下 4 种组合方案。A: 长春瑞滨+表柔比星、B: 长春瑞滨+多柔比星、C: 多西他赛+表柔比星、D: 多西他赛+多柔比星。在设定的单药药物浓度中, 作用肿瘤细胞 48 h 抑制率最佳, 故将 4 种组合方案的体外抑制时间定为 48 h。

2.2.2 4 种组合方案的体外抑制作用 见表 2。

表 1 13 种化疗药对 NK/T 细胞淋巴瘤细胞的体外抑制作用( $\bar{x} \pm s, \%$ )

| 药物    | 24 h       |            |            | 48 h       |            |            | 72 h       |            |            |
|-------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|       | 0.50×终浓度   | 0.75×终浓度   | 1.00×终浓度   | 0.50×终浓度   | 0.75×终浓度   | 1.00×终浓度   | 0.50×终浓度   | 0.75×终浓度   | 1.00×终浓度   |
| 表柔比星  | 37.88±4.31 | 43.11±4.73 | 48.56±5.36 | 45.13±4.62 | 50.89±7.14 | 57.37±4.57 | 43.42±2.57 | 46.65±2.63 | 50.82±3.46 |
| 多西他赛  | 33.21±2.48 | 39.85±2.75 | 46.58±3.12 | 43.71±5.75 | 49.26±6.43 | 54.48±7.73 | 41.83±3.64 | 42.79±4.80 | 47.75±3.84 |
| 异环磷酰胺 | 10.95±6.04 | 11.39±5.44 | 16.98±5.67 | 13.35±6.56 | 15.48±5.93 | 19.05±5.37 | 19.67±1.64 | 24.63±1.86 | 25.38±2.11 |
| 多柔比星  | 40.13±5.27 | 41.59±5.75 | 47.74±5.13 | 40.37±6.48 | 46.71±5.35 | 53.98±5.83 | 37.03±4.56 | 41.94±4.88 | 44.49±5.05 |
| 紫杉醇   | 9.47±8.56  | 15.36±7.75 | 17.83±6.48 | 15.63±5.27 | 19.41±7.03 | 23.55±6.34 | 28.58±4.73 | 30.67±5.14 | 33.51±2.24 |
| 吉西他滨  | 35.23±1.73 | 26.66±1.92 | 27.39±2.05 | 33.64±3.49 | 36.18±5.21 | 37.59±2.35 | 34.35±2.61 | 37.92±3.44 | 38.25±4.70 |
| 阿糖胞苷  | 13.46±7.86 | 23.17±8.38 | 28.84±7.61 | 37.57±2.64 | 40.16±2.13 | 45.68±7.53 | 34.93±2.34 | 35.79±3.18 | 40.72±5.54 |
| 环磷酰胺  | 13.44±4.31 | 15.16±5.63 | 14.59±5.86 | 26.15±1.89 | 29.13±3.82 | 33.05±5.55 | 31.53±3.00 | 33.75±3.41 | 35.49±3.81 |
| 顺铂    | 9.71±3.47  | 13.45±3.84 | 19.16±3.91 | 13.75±3.88 | 20.45±3.51 | 24.29±4.94 | 28.21±3.43 | 31.93±3.74 | 34.26±2.78 |
| 长春瑞滨  | 48.56±4.32 | 50.55±6.00 | 51.18±5.74 | 51.72±3.47 | 55.31±4.07 | 62.66±1.84 | 49.85±2.17 | 53.66±2.48 | 57.37±3.03 |
| 长春新碱  | 8.60±5.46  | 10.08±3.49 | 13.66±3.63 | 13.53±8.06 | 19.14±4.83 | 22.52±3.00 | 21.64±4.51 | 23.97±4.15 | 25.47±3.87 |
| 门冬酰胺  | 19.34±2.11 | 24.58±2.58 | 23.08±2.94 | 29.26±4.57 | 37.99±2.76 | 47.08±7.53 | 38.44±3.25 | 40.78±2.32 | 43.49±4.29 |
| 美罗华   | 13.36±5.21 | 24.76±6.74 | 28.19±5.38 | 18.13±5.67 | 26.33±6.17 | 38.73±5.26 | 32.47±4.45 | 35.86±2.39 | 37.54±3.82 |

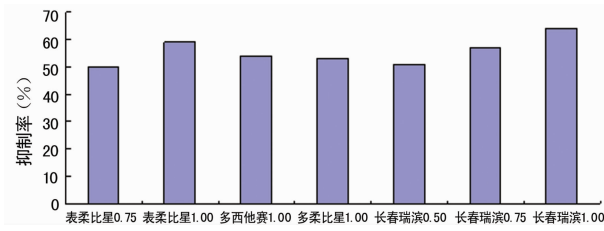


图 1 单药 48 h 达到中度敏感的药物

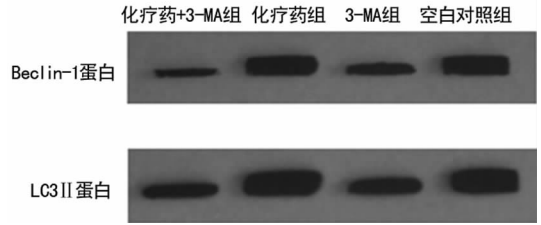


图 4 蛋白印迹法检测自噬蛋白表达

表 2 4 种组合方案对 NK/T 细胞淋巴瘤细胞的体外抑制作用

| 药物组合 | 抑制率( $\bar{x} \pm s, \%$ ) |            |            |
|------|----------------------------|------------|------------|
|      | 0.25×终浓度                   | 0.50×终浓度   | 1.00×终浓度   |
| A    | 47.89±8.13                 | 56.54±8.64 | 69.80±6.34 |
| B    | 51.34±1.76                 | 56.81±2.65 | 64.65±3.73 |
| C    | 46.79±5.61                 | 54.11±5.98 | 65.57±5.78 |
| D    | 40.64±5.51                 | 53.67±5.88 | 64.90±7.31 |

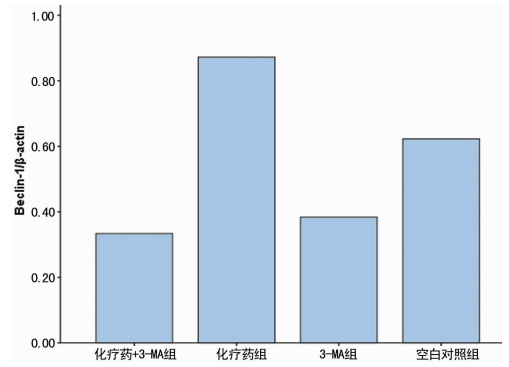


图 5 免疫印迹法检测 Beclin-1 蛋白表达

2.2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡 4 组实验的细胞凋亡率, 与对照组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 2。

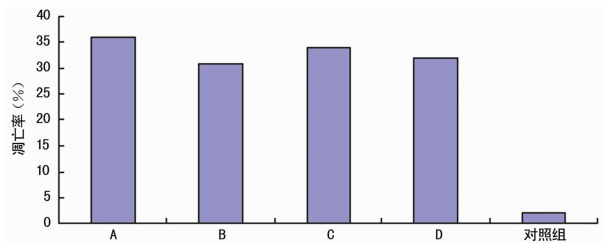


图 2 各组 SNK6 细胞的凋亡率情况

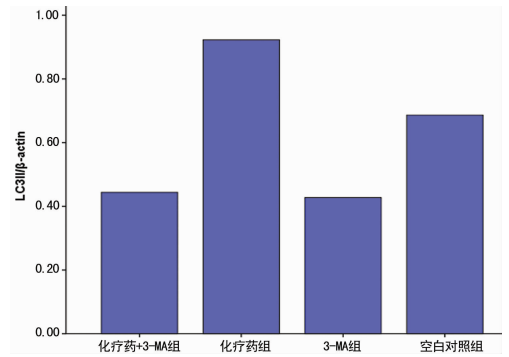


图 6 免疫印迹法检测 LC3 II 蛋白表达

2.2.4 凝胶电泳检测凋亡梯度 本结果显示 4 组细胞中提取的 DNA 经电泳后, 可见特征性的“梯状带”, 对照组 DNA 基因组条带位于加样孔附近。见图 3。

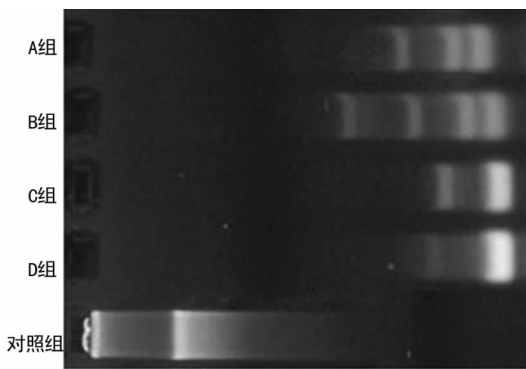


图 3 凝胶电泳检测凋亡梯度

2.3 蛋白印迹法检测自噬相关蛋白 化疗药组的 Beclin-1/ $\beta$ -actin 比率值显著高于空白对照组和化疗药+3-MA 组( $t = 14.501, 22.363, P < 0.05$ )。化疗药组的 LC3 II/ $\beta$ -actin 比率值显著高于空白对照组和化疗药+3-MA 组( $t = 7.382, 13.731, P < 0.05$ )。见图 4~6。

2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 3-MA 组、化疗药组的凋亡率分别为(6.57±2.52)%、(14.47±1.89)%显著高于空白对照组(2.60±0.53)%( $t = 11.725, 10.484, P < 0.05$ )。化疗药组的凋亡率(14.47±1.89)%显著低于化疗药+3-MA 组(44.17±0.38)%( $t = -26.719, P < 0.05$ )。

### 3 讨论

NK/T 细胞淋巴瘤是一种有特殊表现的结外 NHL, 好发于中青年, 发病中位年龄在 40 岁左右。CHOP 方案是治疗侵袭性 NHL 的经典方案, 但对 NK/T 细胞淋巴瘤的疗效欠佳。文献报道, 单纯 CHOP 样方案化疗后患者的完全缓解率一般低于 40%, 5 年无失败生存率为 25%~40%, 这可能与其高表达 P-糖蛋白导致的多药耐药有关<sup>[3]</sup>。早期接受放疗的患者具有较好的局部控制率和远期生存率, 但是联合化疗没有提高整体疗效。随着放疗技术的不断进步, 局限期 NK/T 细胞淋巴瘤治疗失败的主要原因已不再是局部复发, 而多是肿瘤系统性播散导致的死亡。因此, 化疗起着不容替代的作用。临床上恶性肿瘤的化疗主要是根据循证医学的研究结果或凭经验采用较为固定的化疗方案。据统计, 常用的化疗药物抗肿瘤治疗的有效性小于 70%, 20%~40% 的肿瘤患者有可能接受了错误的化疗药物治疗<sup>[4]</sup>。因此, 预测肿瘤患者对化疗药物的敏感性, 成为提高肿瘤患者化疗疗效、降低多药耐药性产生的必要前提。

本实验在设定的单药药物体外药敏试验中, 长春瑞滨、表柔比星、多西他赛、多柔比星达到中度敏感。其中长春瑞滨主要作用是微管蛋白结合, 使细胞在有丝分裂过程中微管形成障碍。长春瑞滨为周期特异药物, 作用近似长春新碱, 浓度大

于 12 nmol 时可阻断 G<sub>2</sub>-M 期,除了对 有丝分裂的微管以外,对轴突微管也有亲和力。多柔比星、表柔比星属于抗生 素类抗肿瘤药。为阿霉素的同分异构体,作用机制是直接嵌入 DNA 核碱对之间,干扰转录过程,阻止 mRNA 的形成,从而抑制 DNA 和 RNA 的合成。此外,表阿霉素对拓扑异构酶 II 也有抑制作用。多柔比星、表柔比星为细胞周期非特异性药物,与阿霉素相比疗效相等或略高,但对心脏的毒性较小。多西他赛属于周期特异药物,为紫杉类化合物抗肿瘤药,作用机制是加强微管蛋白聚合作用和抑制微管解聚作用,导致形成稳定的非功能性微管束,因而破坏肿瘤细胞有丝分裂。

有报道应用门冬酰胺酶治疗 CHOP 方案无效及耐药病例取得显著疗效,治疗的完全缓解率约为 50%。本实验中在设定的单药药物浓度体外抑制试验中,门冬酰胺酶作用肿瘤细胞 24、48、72 h 抑制率都未达到中度敏感。其中作用肿瘤细胞 48 h 的抑制率与作用肿瘤细胞 24 h 所得的抑制率相比,差异有统计学意义,说明化疗对 SNK6 细胞抑制作用所时间延长而明显增加;但作用 72 h 的抑制率与作用 48 h 所得的抑制率相比,差异无统计学意义,说明 48~72 h 门冬酰胺酶对 SNK6 细胞抑制作用随时间延长不再增加。分析其原因,作者认为 48~72 h 细胞生长进入衰退期,96 孔板培养基中营养物质消耗殆尽,代谢产物堆积,酸碱度改变,这些理化因素改变抑制细胞生长,促进细胞死亡;实验组和对照组的细胞因非实验因素大量死亡影响了 MTT 结果,致使本实验中门冬酰胺酶作用肿瘤细胞抑制率未达到中度敏感,最终未能入选组合方案。

本检测结果证明,在设定的单药药物浓度化疗药物诱导 SNK6 细胞凋亡体外试验中,有 4 种药物达到中度敏感:长春瑞滨、表柔比星、多西他赛、多柔比星。4 种组合方案,抑制率、凋亡率由高到低依次为:长春瑞滨+表柔比星、多西他赛+表柔比星、多西他赛+多柔比星、长春瑞滨+多柔比星。从实验组细胞中提取的 DNA 经电泳,紫外灯下可见特征性的“梯状带”,对照组 DNA 基因组条带位于加样孔附近,说明被检测的细胞中有细胞凋亡的存在。4 种组合方案的体外抑制率较相同条件下相对应的各个方案中单药的抑制率均有不同程度增加,体现了药物相互作用之中的协同作用。联合用药的目的是通过药物联合应用后产生有益的相互作用,包括增强药物疗效,减弱或减小用药剂量等。

细胞自噬最早由 Ashford 和 Porten 于 1962 年用电子显微镜在人的肝细胞中发现,是广泛存在于真核细胞内的一种溶酶体依赖性降解途径。近年研究表明,自噬过程受一系列复杂信号分子的调控,调控机制的失调与肿瘤的发生有重要的联系<sup>[5]</sup>。Beclin-1 复合物是自噬的主要调控平台,其中包括 Beclin-1、Bcl-2 家族蛋白(能够抑制自噬)、III 类磷脂酰肌醇 3-激酶(VPS34)及 ATG14L(自噬所需要的)E33<sup>[6]</sup>。临床研究证实,

自噬相关蛋白 Beclin-1 异常表达与进展期肿瘤恶性表型及预后不良存在关联<sup>[7]</sup>。人类微管相关蛋白轻链 3(LC3)是哺乳动物细胞中酵母 ATG8 基因的同源物,LC3 II 定位于前自噬泡和自噬泡膜表面,常作为自噬的特异性标志物<sup>[8]</sup>。目前已经证明,自噬抑制剂 3-MA 通过抑制 III 型 PI3K 的活性抑制自噬形成。本结果证明,3-MA 对 SNK6 细胞的自噬有明显的抑制作用;长春瑞滨联合表柔比星能引起细胞自噬,并且自噬可以有效地被 3-MA 抑制,进一步考虑自噬可能与化疗药物诱导细胞凋亡的作用机制有关。同时,自噬抑制剂 3-MA 可诱导部分 SNK6 细胞凋亡,3-MA 联合化疗药物诱导 NK/T 细胞淋巴瘤细胞凋亡作用明显强于单用化疗药物。

综上所述,化疗药物长春瑞滨、表柔比星、多西他赛、多柔比星对 NK/T 细胞淋巴瘤细胞有诱导凋亡的作用,其中长春瑞滨联合表柔比星作用最佳,能增强细胞的自噬,抑制自噬有利于抗肿瘤药物诱导 NK/T 细胞淋巴瘤细胞凋亡作用。

### 参考文献

- [1] Sakuraba M, Masuda K, Hebisawa A. Diagnostic value of thoracoscopic pleural biopsy for pleurisy under local anaesthesia[J]. ANZ J Surg, 2006, 76(1): 8-10.
- [2] 勇威本, 郑文, 张云涛, 等. 中线鼻和鼻型自然杀伤/T 细胞淋巴瘤的治疗探讨[J]. 中华医学杂志, 2001, 23(3): 240-243.
- [3] 蒋明, 邹立群. 结外鼻型 NK/T 细胞淋巴瘤治疗现状与困惑[J]. 中国医学论坛报, 2012, 10(3): 252-253.
- [4] 府伟灵, 黄庆. 肿瘤个体化治疗[J]. 重庆医学, 2008, 37(3): 225-226.
- [5] Klionsky DJ, Abdalla FC, Abeliovich H, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy[J]. Autophagy, 2012, 8(4): 445-544.
- [6] 李宝秀, 李春燕, 彭瑞清, 等. 自噬相关蛋白 Beclin-1 在 III B 期结肠癌的表达及其与预后关系[J]. 中国肿瘤临床, 2009, 36(3): 146-149.
- [7] Djavaheri-Mergny M, Maiuri MC, Kroemer G. Cross talk between apoptosis and autophagy by caspase-mediated cleavage of Beclin 1[J]. Oncogene, 2010, 29(12): 1717-1719.
- [8] Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 conjugation system in mammalian autophagy[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2004, 36(12): 2503-2518.

(收稿日期:2016-03-26 修回日期:2016-05-18)

## 《重庆医学》开通微信公众平台

《重庆医学》已开通微信公众平台(微信号:ChongqingMedicine),《重庆医学》将以微信平台渠道向广大读者发送终 会动态报道、各期杂志目录、主编推荐文章、学术会议、《重庆医学》最新资讯等消息。欢迎广大读者免费订 阅。读者可以点击手机微信右上角的“+”,在“添加朋友”中输入微信号“Chongqing Medicine”,或在“添加朋友”中的“查找公众 号”一栏输入“重庆医学”,添加关注。