

文章编号 1006-8147(2016)04-0283-05

论著

神经酰胺诱导 LX-2 细胞凋亡抑制肝纤维发生的作用

李立楠, 李杉杉, 刘悦, 卢娜, 方步武

(天津医科大学基础医学院药理学系, 天津 300070)

摘要 目的:探讨神经酰胺对人源肝星状细胞株(HSCs)LX-2的影响以及在肝纤维化治疗中的作用,为寻求肝纤维化治疗的新方法提供理论依据。方法:体外培养人源肝星状细胞 LX-2,分为正常细胞对照组及神经酰胺 C2 给药组(C2 终浓度为 30、45、60 $\mu\text{mol/L}$),应用神经酰胺从头合成途径的限速酶即丝氨酸棕榈酰转移酶的特异性抑制剂多球壳菌素(myriocin)进一步分析神经酰胺的作用。四甲基偶氮唑盐(MTT)法检测 LX-2 的细胞增殖情况,酶消化法测定上清中羟脯氨酸(Hyp)的含量,比色法检测乳酸脱氢酶(LDH)的活性,Western blot 法检测 bax、bcl-2 及 caspase-3 的蛋白表达量。结果:C2 各浓度组对 LX-2 的增殖均有明显抑制作用,且具有剂量依赖性($P<0.05$);LX-2 经 C2 处理后细胞内羟脯氨酸含量显著下降($P<0.05$);LDH 活性与对照组比较均无显著性差异;C2 下调 LX-2 中抗凋亡蛋白 bcl-2 的表达,上调促凋亡蛋白 bax 与凋亡执行效应分子 caspase-3 的表达($P<0.05$),bax/bcl-2 比值增大。但是,以 myriocin 15 $\mu\text{mol/L}$ 作用 LX-2 细胞 24 h 后,细胞增殖较对照组增多,羟脯氨酸的含量明显升高($P<0.05$);LDH 活性与对照组比较无显著性差异;bcl-2 蛋白表达上调,bax、caspase-3 蛋白表达下调($P<0.05$),bax/bcl-2 比值减小。结论:神经酰胺可通过上调 bax 和 caspase-3 的表达,下调 bcl-2 的表达而诱导 LX-2 细胞凋亡,同时抑制其增殖,从而减少羟脯氨酸的生成,产生抑制肝纤维发生的作用。

关键词 肝纤维化;神经酰胺;多球壳菌素;羟脯氨酸; bax; bcl-2; caspase-3

中图分类号 R96

文献标志码 A

Effect of ceramide on promoting LX-2 cell apoptosis and inhibiting hepatic fibrosis

LI Li-nan, LI Shan-shan, LIU Yue, LU Na, FANG Bu-wu

(Department of Pharmacology, Basic Medical College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

Abstract **Objective:** To investigate the effects of ceramide on hepatic stellate cells(HSCs)(LX-2), and to study the treatment on hepatic fibrosis to provide a theoretical basis for new treatment of hepatic fibrosis. **Methods:** The cultured LX-2 were divided into control group and C2-ceramide-treated groups with 30, 45, 60 $\mu\text{mol/L}$. Myriocin as the inhibitor of serine palmitoyl transferase enzyme, ceramide de novo synthesis rate-limiting enzyme, was applied to further analyze the role of ceramide. The rate of cellular proliferation was detected by MTT assay, the content of hydroxyproline (Hyp) was determined by enzyme digestion method, the activity of LDH was determined by colorimetric method and the expression of bax, bcl-2 and caspase-3 were detected by Western blot. **Results:** The various concentrations of C2 could significantly inhibit LX-2 proliferation with a dose-dependent manner ($P<0.05$); the content of Hyp was significantly decreased ($P<0.05$); Activity of LDH had no statistically significance compared with control group. After treated with C2, the expression of bcl-2 decreased, the expression of bax and caspase-3 increased in LX-2 ($P<0.05$). But 15 $\mu\text{mol/L}$ myriocin could promote LX-2 proliferation and increase the content of Hyp after treated 24 h ($P<0.05$). Activity of LDH in myriocin group had no statistically significance. The expression of bcl-2 significantly increased, while the expression of bax and caspase-3 in LX-2 decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** Ceramide could increase the expression of bax, caspase-3 and decrease the expression of bcl-2 to induce apoptosis of LX-2, also inhibit the proliferation and decreased the synthesis of hydroxyproline to inhibit hepatic fibrogenesis.

Key words hepatic fibrosis; ceramide; myriocin; hydroxyproline; bax; bcl-2; caspase-3

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)存在于各种慢性肝脏疾病的病理变化过程中,其中心环节为肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)在各种致病因素作用下的活化、增殖并分泌过多胶原,使正常细胞外

基质(extracellular matrix, ECM)合成与降解失衡,ECM在肝脏内过度沉积而改变肝脏的内部结构,从而导致肝纤维化的发生发展^[1]。神经酰胺作为细胞凋亡外源和内源性途径中的重要介质,在调节细胞生长、活性、分化、凋亡以及应激反应等多种生物学活动中起着重要的作用^[2]。目前,诸多研究表明神经酰胺在抗肿瘤、动脉粥样硬化及糖尿病中发挥着重

基金项目 国家自然科学基金资助项目(30772856)

作者简介 李立楠(1990-),女,硕士在读,研究方向:中药药理学;

通信作者:方步武, E-mail: fangdch@aliyun.com。

要的作用,对其机制也有较多研究^[3-4],但神经酰胺诱导肝星状细胞凋亡的效应及在抗肝纤维化中的作用尚不明确。多球壳菌素(myriocin)为丝氨酸棕榈酰转移酶(serine palmitoyltransferase, SPT)的特异性抑制剂,能够特异性阻断神经酰胺从头合成途径而影响细胞内神经酰胺的合成^[5]。前期研究表明,多球壳菌素终浓度为 15 $\mu\text{mol/L}$ 时对肝星状细胞的作用最强。本研究利用外源性神经酰胺 C2 作用于肝星状细胞株 LX-2 观测其凋亡和增殖的情况,进一步利用多球壳菌素阻断神经酰胺的从头合成,分析 LX-2 细胞的增殖与凋亡的变化,探究神经酰胺抑制肝纤维化的作用,为寻求潜在的抗肝纤维化新药或药物靶标提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 由北京市地坛医院提供的人源肝星状 LX-2 细胞株(其表型为活化的肝星状细胞)。

1.1.2 药物及主要试剂 Myriocin ($\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{NO}_6$, Mr 401.54,批号 63150)为美国 CAYMAN CHEMICAL 公司产品,神经酰胺 C2 ($\text{C}_{20}\text{H}_{38}\text{NO}_3$, Mr 341.53,批号 A7191)、四甲基偶氮唑蓝[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-tetrazoliumbromide, MTT] 为美国 Sigma 公司产品,anti-bcl-2 抗体为美国 Santa Cruz 公司产品,anti-bax 抗体和 anti-caspase-3 抗体为 Cell Signaling Technology 公司产品,anti- β -actin 抗体、二抗羊抗小鼠和羊抗兔抗体、LDH 试剂盒以及 Western Blot 化学发光试剂盒购自碧云天生物技术有限公司,胎牛血清、DMEM 为 Gibco 公司产品,羟脯氨酸检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.1.3 仪器 恒温 CO_2 培养箱(美国 NAPCO series5400),DL-CJ-2NDI 洁净工作台(北京东联哈尔仪器制造公司),680 酶标仪(美国 BIO-RAD 公司),VIS-7220 紫外可见分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),Centrifuge5417R 型台式离心机(Eppendorf),蛋白电泳仪和转印仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 LX-2 培养及分组 将冻存于液氮中的 LX-2 细胞株复苏,用含 10%胎牛血清、添加适量抗生素 (1×10^5 U/L 青霉素和硫酸链霉素 0.1 g/L)的 DMEM 培养液,于 37 $^\circ\text{C}$ 、5% CO_2 混合气体及饱和湿度条件下的培养箱中培养,细胞换液时间为 2~3 d,当细胞单层生长呈致密状分布时,弃去原瓶内培养基,PBS 冲洗 3 次,用 0.25%胰蛋白酶进行消化,按 1:3 进行细胞传代。取生长状态良好且处于对数生长期细胞进行后续实验。调整单细胞悬液密度至

2×10^4 cells/mL,以每孔 100 μL 接种于 96 孔板并将细胞随机实验分为 3 组:(1)Control 组:正常细胞对照组;(2)C2 组:神经酰胺 C2 终浓度为 30、45、60 $\mu\text{mol/L}$ 处理细胞 24 h;(3)Myriocin 组:多球壳菌素终浓度为 15 $\mu\text{mol/L}$ 处理细胞 24 h。

1.2.2 MTT 试验检测 LX-2 的增殖情况 取 1.2.1 分组的细胞,用 0.4% FBS 的 DMEM 进行同步化处理。给药 24 h 孵育结束后,每孔加入 0.5% MTT 10 μL ,37 $^\circ\text{C}$ 反应 4 h,快速弃去培养液加 200 μL DMSO,用酶标仪双波长测定其吸光度(A 值),测定波长为 570 nm,参考波长为 630 nm,酶标仪所示 A 值为 A570 nm-A630 nm,以消除非特异性光吸收效应。按以下公式计算出细胞抑制率(inhibition rate,IR), $\text{IR}=(1-T/C) \times 100\%$,其中 T 为处理孔吸光度值(A 值),C 为对照孔吸光度值(A 值)。

1.2.3 测定细胞上清液中羟脯氨酸(Hyp)的活性 取 1.2.1 分组的细胞,根据细胞实验设计进行处理,收集各实验组作用 24 h 后的细胞上清液,并按照南京建成生物工程研究所提供的羟脯氨酸测定试剂盒说明书进行操作。计算公式:Hyp 浓度($\mu\text{g/mL}$)=(测定管吸光度-空白管吸光度)/(标准管吸光度-空白管吸光度) \times 标准管浓度(5 $\mu\text{g/mL}$) \times 样本测试前稀释倍数。

1.2.4 测定细胞培养上清液中乳酸脱氢酶(LDH)的活性 取 1.2.1 分组的细胞,根据实验设计进行给药处理并留取上清。按照碧云天生物技术研究所提供的乳酸脱氢酶细胞毒性检测试剂盒说明书进行操作。计算公式:LDH 活性=(样品孔吸光度-背景空白对照孔吸光度)/(标准管吸光度-标准空白管吸光度) \times 标准品浓度(mU/mL)。

1.2.5 Western blot 检测 bax,bcl-2 及 caspase-3 蛋白的表达 待 LX-2 细胞生长状态良好且处于对数生长期时,胰酶消化细胞,离心重悬,至密度为 5×10^4 cells/mL 的单细胞悬液,以每孔 2 mL 接种于 6 孔板,分别根据细胞实验设计进行随机分组及给药,待药物作用 24 h 后,弃板内培养液,用胰酶消化并离心收集细胞,加入适量 RIPA 蛋白裂解液,提取细胞总蛋白并用 BCA 法测定蛋白浓度。以 12% SDS-PAGE-电泳分离蛋白,以全湿式电转法将分离的蛋白转移至硝酸纤维素膜上,5%脱脂奶粉室温封闭 2 h,TBST 清洗 3 次,将条带分别与 anti-bax (1:1 000)、anti-bcl-2 (1:500)、anti-caspase-3 (1:1 000)及 β -actin (1:1 000)抗体在 4 $^\circ\text{C}$ 摇床上孵育过夜,次日与相应的 IgG(H+L)二抗(1:1 000)室温下摇床避光孵育 2 h。按照 ECL 免疫检测试剂盒进行显色。所

得图片用 Quantity One 进行分析,以相应蛋白条带的平均光密度值表示蛋白的相对表达量。

1.3 统计学方法 利用 SPSS 16.0 软件对实验所得数据进行统计学分析,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,样本均数间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA), $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 神经酰胺对 LX-2 增殖的影响 与细胞对照组比较,神经酰胺 C2 作用 24 h 后,在终浓度分别为 30、45、60 $\mu\text{mol/L}$ 时,对 LX-2 细胞增殖有明显的抑制作用且呈剂量依赖性 ($P < 0.05$);myriocin 在 15 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时可明显促进 LX-2 的增殖,且差异均有统计学意义($P < 0.05$)(表 1)。

表 1 C2 及 myriocin 对 LX-2 细胞的增殖抑制率($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Inhibition rate on LX-2 caused by C2 and myriocin($\bar{x} \pm s$)

分组	抑制率/%
Control	0.00±0.00
C2 30 $\mu\text{mol/L}$	9.62±0.35*
C2 45 $\mu\text{mol/L}$	28.55±0.78*#
C2 60 $\mu\text{mol/L}$	52.18±1.67*□
Myriocin 15 $\mu\text{mol/L}$	-18.25±1.28 [△]

与 Control 组比较,* $P < 0.05$;与 C2 30 $\mu\text{mol/L}$ 比较,* $P < 0.05$;与 C2 45 $\mu\text{mol/L}$ 比较,□ $P < 0.05$;与 Control 组比较,[△] $P < 0.05$

2.2 神经酰胺对细胞上清液中 Hyp 含量的影响 LX-2 经药物处理 24 h 后,与细胞对照组比较,神经酰胺 C2 各组 LX-2 细胞上清液中 Hyp 的含量明显减少,C2 浓度越大,Hyp 含量降低越显著,且各浓度之间的差异均具有统计学意义;myriocin 组 LX-2 细胞上清液中 Hyp 的含量则增加($P < 0.05$)(表 2)。

表 2 C2 及 myriocin 对 LX-2 分泌羟脯氨酸的影响($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of C2 and Myriocin on secretion of Hyp of LX-2($\bar{x} \pm s$)

分组	Hyp /($\mu\text{g/mL}$)
Control	1.307±0.032
C2 30 $\mu\text{mol/L}$	0.959±0.067*
C2 45 $\mu\text{mol/L}$	0.871±0.059*#
C2 60 $\mu\text{mol/L}$	0.74±0.018*□
Myriocin 15 $\mu\text{mol/L}$	1.615±0.071 [△]

与 Control 组比较,* $P < 0.05$;与 C2 30 $\mu\text{mol/L}$ 比较,* $P < 0.05$;与 C2 45 $\mu\text{mol/L}$ 比较,□ $P < 0.05$;与 Control 组比较,[△] $P < 0.05$

2.3 神经酰胺对细胞上清液中 LDH 活性的影响 给药作用 24 h 后,神经酰胺 C2 各浓度组与细胞对照组比较,上清中 LDH 活性无显著性改变;Myriocin 组细胞上清中乳酸脱氢酶活性亦无明显变化,差异均无统计学意义($P > 0.05$)(图 1)。

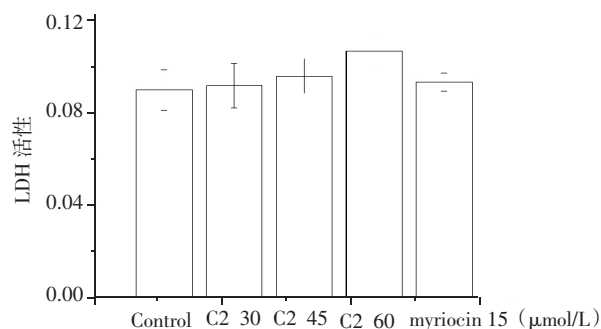
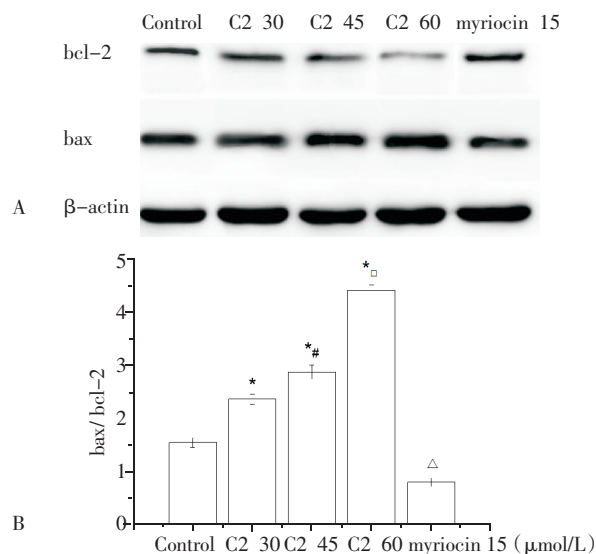


图 1 C2 及 myriocin 对 LX-2 上清中 LDH 活性的影响

Fig 1 Effect of C2 and myriocin on the activity of LDH

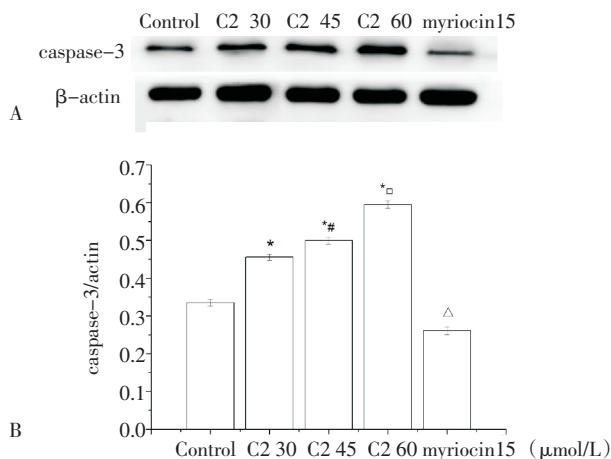
2.4 神经酰胺对细胞 bax、bcl-2 及 caspase-3 蛋白表达水平的影响 Western blot 结果显示,细胞对照组及药物作用组均可见 bax、bcl-2 及 caspase-3 的表达。经 β -actin 标准化后,可见 LX-2 经不同浓度神经酰胺 C2 作用 24 h 后,bcl-2 蛋白表达的灰度值随浓度的增加逐渐降低,bax 与 caspase-3 蛋白表达的灰度值逐渐增加,bax/bcl-2 比值与对照组比值比较显著增大,且随浓度的增加而显著增大,与对照组比较差异具有统计学意义;而多球壳菌素作用 LX-2 细胞 24 h 后,bcl-2 蛋白较对照组表达上升,bax 与 caspase-3 蛋白表达减少,bax/bcl-2 比值较对照组比值减小,且均有显著性差异($P < 0.05$)(图 2、3)。



与 Control 组比较,* $P < 0.05$;与 C2 30 $\mu\text{mol/L}$ 比较,* $P < 0.05$;与 C2 45 $\mu\text{mol/L}$ 比较,□ $P < 0.05$;与 Control 组比较,[△] $P < 0.05$

图 2 C2 及 myriocin 对 LX-2 内 bax、bcl-2 表达及 bax/bcl-2 比值的影响

Fig 2 Effects of C2 and myriocin on expression of bax, bcl-2 and bax/bcl-2 in LX-2 detected by Western blot



与 Control 组比较, * $P < 0.05$; 与 C2 30 $\mu\text{mol/L}$ 比较, # $P < 0.05$; 与 C2 45 $\mu\text{mol/L}$ 比较, □ $P < 0.05$; 与 Control 组比较, △ $P < 0.05$

图3 C2及myriocin对LX-2内caspase-3表达的影响

Fig 3 Effects of C2 and myriocin on expression of caspase-3 in LX-2 detected by Western blot

3 讨论

肝星状细胞的活化与增殖是肝纤维化发生发展的关键环节,因此,抑制HSCs的活化与增殖已成为国内外学者寻求新的抗纤维化方法的研究重点^[6]。神经酰胺作为鞘磷脂途径中的第二信使分子^[7],在应激反应级联以及细胞凋亡中发挥重要的作用^[8]。神经酰胺家族中,低分子量的C2和C6具有膜渗透性。已有研究表明,神经酰胺C2能使DNA发生断裂或染色质浓缩从而抑制肿瘤细胞增殖并诱导其凋亡^[9]。而神经酰胺潜在的抗肝纤维化的作用则鲜有报道。本研究利用神经酰胺C2能透过细胞膜的特点,在LX-2培养液中添加C2,结果显示,外源性神经酰胺C2能够抑制肝星状细胞LX-2增殖,且该作用具有剂量依赖性,故抑制HSCs增殖可能是神经酰胺抑制肝纤维发生的作用环节之一。

神经酰胺的合成代谢途径主要包括从头合成途径、鞘磷脂(SM)循环途径以及神经鞘氨醇-神经酰胺途径3种。丝氨酸棕榈酰转移酶为神经酰胺从头合成途径中的限速酶,能够催化小分子的丝氨酸(serine)与棕榈酰辅酶A(palmitoyl CoA)发生缩合反应,再经还原反应等最终生成神经酰胺。多球壳菌素myriocin,又称ISP-1,是日本学者Fujita于1994年从中药冬虫夏草中提取的一种新型免疫制剂,因与鞘氨醇结构相似,故在鞘磷脂生物合成的第一步中能够特异性抑制丝氨酸棕榈酰转移酶的活性,进而影响神经酰胺以及1-磷酸鞘氨醇等的合成,使细胞内产生的神经酰胺减少^[10-11]。本研究结果显示,15 $\mu\text{mol/L}$ 多球壳菌素刺激24 h引起LX-2细胞增

殖较对照组有显著性增加,表明当抑制LX-2细胞内丝氨酸棕榈酰转移酶活性,使神经酰胺生成减少时,促进了LX-2的增殖。此结果与前期设想相一致,证实了神经酰胺对肝星状细胞株LX-2的增殖具有抑制作用。

LDH是正常细胞质中一种稳定的胞质酶^[12],细胞膜受损后LDH即被释放到胞外。因此,通过检测细胞培养上清液中LDH的活性,可以估算细胞受损程度,从而反应药物的细胞毒性。本实验发现神经酰胺C2 30、45、60 $\mu\text{mol/L}$ 各组LDH活性较低,与对照组比较均无统计学意义,说明细胞质膜基本完整。由此可见上述神经酰胺对LX-2的抑制作用是神经酰胺本身对细胞产生的生物学效应,而不是非特异性细胞毒性所致。多球壳菌素对LX-2表现为促进增殖,LDH亦无显著性改变。

肝纤维化的发生与发展的基本特征为细胞外基质的大量沉积。ECM主要由胶原蛋白、蛋白多糖、糖蛋白和弹性蛋白组成,而胶原蛋白为其最丰富的结构蛋白。Hyp是一种非必需氨基酸,大部分存在于胶原蛋白中,且其含量恒定,故Hyp的含量能客观地反映纤维发生的程度和演变过程。本研究发现神经酰胺含量升高时LX-2中Hyp水平显著降低,多球壳菌素抑制神经酰胺合成后LX-2中Hyp含量增多,表明神经酰胺能显著地抑制肝的纤维发生。

细胞凋亡诱导因子Bcl-2家族与执行因子Caspase家族在内源性凋亡通路中起到重要的角色。Bcl-2家族中的bcl-2属于抗凋亡蛋白,bax为促凋亡蛋白,当细胞受到凋亡诱导因子刺激后是否会发生凋亡取决于bax/bcl-2的比率;bcl-2-bax形成的异源二聚体能够抑制bax-bax形成的同源二聚体诱导细胞凋亡的作用,bax/bcl-2比值被作为判定细胞凋亡被抑制或加强的主要标志之一^[13]。Caspase-3属于细胞凋亡中心环节的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶家族中的下游效应者,作为“刽子手”蛋白酶能使许多与细胞结构、细胞周期及修复等相关的蛋白或激酶失活,从而导致细胞凋亡^[14]。有报道影响LX-2细胞内bcl-2与bax的mRNA及其蛋白表达以及caspase-3蛋白的表达水平可调节肝星状细胞的凋亡^[15],但与神经酰胺之间的关系尚未明确。本研究采用不同浓度的外源性神经酰胺C2作用于肝星状细胞,能使bax/bcl-2比值增大,当用多球壳菌素抑制神经酰胺合成使其含量减少时,bax表达降低,bcl-2表达升高,bax/bcl-2值减小。结果表明神经酰胺能通过上调bax的表达和下调bcl-2的表达,提高bax/bcl-2比值来诱导肝纤维细胞凋亡,且有剂量-

效应依赖性。同时,也提高了 caspase-3 的表达,激活凋亡执行分子 caspase-3, 共同诱导肝星状细胞 LX-2 凋亡。文献报道也支持这一结果,神经酰胺 C2 能通过调控 Bcl-2 家族基因表达,影响线粒体膜的通透性,诱导人结肠癌细胞的凋亡^[16]。

神经酰胺诱导肝星状细胞凋亡的机制尚未完全阐明。本研究初步探讨了外源性神经酰胺 C2 诱导人源 LX-2 细胞凋亡的作用,为进一步研究神经酰胺在抗肝纤维化中的作用提供实验依据。此发现对探求肝纤维化治疗新药物有着积极的意义。

参考文献:

- [1] Yin C Y, Evason K J, Asahina K, et al. Hepatic stellate cells in liver development, regeneration, and cancer[J]. J Clin Invest, 2013, 123 (5): 1902
- [2] Kitatani K, Idkowiak-Baldys J, Hannun Yusuf A. The sphingolipid salvage pathway in ceramide metabolism and signaling[J]. Cell Signal, 2008, 20(6): 1010
- [3] Kasumov T, Li L, Li M, et al. Ceramide as a mediator of non-alcoholic fatty liver disease and associated atherosclerosis[J]. PLoS One, 2015, 10(5): e0126910
- [4] Galadari S, Rahman A, Pallichankandy S, et al. Role of ceramide in diabetes mellitus: evidence and mechanisms[J]. Lipids Health Dis, 2013, 12: 98
- [5] Kurek K, Wiesiolek-Kurek P, Piotrowska D M, et al. Inhibition of ceramide de novo synthesis with myriocin affects lipid metabolism in the liver of rats with streptozotocin-induced type 1 diabetes [J]. Biomed Res Int, 2014,2014: 980815
- [6] Karthikeyan S, Potter J J, Geschwind J F, et al. Deregulation of energy metabolism promotes antifibrotic effects in human hepatic stellate cells and prevents liver fibrosis in a mouse model [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 469(3): 463
- [7] Schiffmann S, Birod K, Männich J, et al. Ceramide metabolism in mouse tissue[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2013, 45(8): 1886
- [8] Grösch S, Schiffmann S, Geisslinger G. Chain length-specific properties of ceramides[J]. Prog Lipid Res, 2012, 51(1): 50
- [9] Cremesti A, Paris F, Grassmé H, et al. Ceramide enables fas to cap and kill[J]. J Biol Chem, 2001, 276(26): 23954
- [10] Mizukoshi K, Matsumoto K, Hirose R, et al. The essential structures of ISP-I that influence serine palmitoyltransferase inhibition in Chinese hamster ovary cells[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(8): 1349
- [11] Alsahli A, Kieffhaber K, Gold T, et al. Palmitic acid reduces circulating bone formation markers in obese animals and impairs osteoblast activity via C16-Ceramide accumulation[J]. Calcif Tissue Int, 2016, 98(5): 511
- [12] Peng L G, Fang B W, Wang Y, et al. Expression of p53 in the effects of artesunate on induction of apoptosis and inhibition of proliferation in rat primary hepatic stellate cells[J]. PLoS One, 2011, 6(10): 1
- [13] Friedman S L. Mechanisms of disease: Mechanisms of hepatic fibrosis and therapeutic implications[J]. Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol, 2004, 1(2): 98
- [14] Galluzzi L, López-Soto A, Kumar S, et al. Caspases connect Cell-Death signaling to organismal homeostasis[J]. Immunity, 2016, 44 (2): 221
- [15] Liu M, Li S J, Xin Y N, et al. Ferric nitrilotriacetate (Fe-NTA)-induced reactive oxidative species protects human hepatic stellate cells from apoptosis by regulating Bcl-2 family proteins and mitochondrial membrane potential[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(10): 18074
- [16] Zhang X F, Li B X, Dong C Y, et al. Apoptosis of human colon carcinoma HT-29 cells induced by ceramide[J]. World J Gastroenterol, 2006, 12(22): 3581

(2016-01-22 收稿)

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母,也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母 \bar{x} , 卡方的符号是希腊字母 χ^2 , 自由度的符号是希腊文“ ν ”, 不是拉丁文“V”。样本的相关系数是英文“ r ”, 不能误为希腊文“ γ ”。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号, 都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加“-”或“+”表示。例如 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 P^{3-} 等等, 不采用 Ca^{++} 、 P^{---} 、 Al^{+3} 、 O^{-2} 表示。核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角, 例如 ^{131}I 、 ^{32}P 。表示激发状态的 m 写在右上角, 例如: $^{99}\text{Tc}^m$ 、 $^{133}\text{In}^m$ 。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称, 即不能写成 131 碘、 133 铟^m 等。

近几年分子生物学发展很快, 并已渗透到许多学科, 大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式, 要对符号的来源及其内涵有深刻的了解, 使用时不致发生错误, 例如: RNA 有 rRNA (ribosomal RNA)、tRNA (transfer RNA)、mRNA (messenger RNA) 3 类。r、t、m 是表示类型的符号应小写, RNA 应大写。

(编辑部)