

普萘洛尔对急性髓系细胞白血病 U937 细胞增殖和凋亡的影响

武汉大学中南医院 向伟 肖晖* 宋燕燕 肖慕然, 武汉 430071

摘要 目的: 探究普萘洛尔对急性髓系细胞白血病 U937 细胞的增殖和凋亡的影响及可能的机制。方法: 采用 CCK8 法检测不同药物对 U937 细胞增殖率的影响, 分别为普萘洛尔 (0、200、400、800、1000、2 000 $\mu\text{mol/L}$) 作用 24、48、72 h, 阿糖胞苷单用 (0、10、50、100、200、400、800 nmol/L) 24 h, 普萘洛尔 (400 $\mu\text{mol/L}$) 联合阿糖胞苷 (10、50、100、200、400、800 nmol/L) 作用 24 h。普萘洛尔 (0、200、400、800 $\mu\text{mol/L}$) 作用 U937 细胞 24 h 后, 用流式细胞术检测细胞的凋亡和周期、线粒体膜电位的变化, 用碱性彗星实验检测 DNA 的损伤, Caspase-Glo 试剂盒检测 Caspase-3、8、9 相对活性的变化, Western blot 法检测 Bcl-2、Bax 蛋白表达量的变化。结果: 普萘洛尔可以有效抑制 U937 细胞的增殖, 其效应具有一定的时间 (200、400 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$) 和剂量相关性 (0、200、400、800 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.01$), 普萘洛尔还可协同阿糖胞苷的抗肿瘤效应。流式、彗星、Caspase、Western blot 结果分别表明普萘洛尔可增加细胞凋亡率, 增加 G_0/G_1 期和减少 G_2/M 期细胞比例, 降低线粒体膜电位水平, 诱导 DNA 损伤, 增强 Caspase3、8、9 活性, 上调 Bax 的表达、下调 Bcl-2 的表达, 且在实验浓度范围内与剂量呈相关性 ($P < 0.05$)。结论: 普萘洛尔可抑制急性髓系细胞白血病 U937 的增殖并诱导其凋亡, 这一机制可能与其诱导 G_0/G_1 期细胞阻滞、损伤 DNA, 激活内、外源性凋亡途径有关。

关键词 急性髓系细胞白血病; 普萘洛尔; 增殖; 凋亡

中图分类号 R733.7 文献标识码 A DOI 10.11768/nkjwzzzz20190119

Effect of propranolol on proliferation and apoptosis of acute myeloid leukemia U937 cells XIANG Wei, XIAO Hui*, SONG Yan-yan, XIAO Mu-ran. Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Abstract Objective: To observe the effect of propranolol on proliferation and apoptosis of human acute myeloid leukemia cell line U937, and explore the possible mechanisms. Methods: The CCK8 was used to detect the proliferation rate of U937 cells after treatment by propranolol at different concentrations (0, 200, 400, 800, 1 000, 2 000 $\mu\text{mol/L}$) for 24, 48 and 72 h, cytarabine alone (0, 10, 50, 100, 200, 400, 800 nmol/L) and treated by cytarabine (0, 10, 50, 100, 200, 400, 800 nmol/L) combined with propranolol (400 $\mu\text{mol/L}$). Then, the U937 cells were treated by propranolol (0, 200, 400 and 800 $\mu\text{mol/L}$) for 24 h. We used a series of tests to detect the apoptosis rate, cell cycle, mitochondrial membrane potential, DNA damage and the change of the activity of Caspase-3, 8, 9, the expression of Bcl-2 and Bax. SPSS 19.0 was used to analyze the data. Results: CCK8 revealed that propranolol inhibited proliferation and cooperated with cytarabine in anti-proliferative effect on U937 cells and the effect has a certain time (200, 400 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.05$) and dose correlation (0, 200, 400, 800 $\mu\text{mol/L}$, $P < 0.01$). Flow cytometry showed that propranolol increased apoptosis rate and proportion in G_0/G_1 phase, decreased proportion in G_2/M phase and mitochondrial membrane potential in U937 cells ($P < 0.05$). The comet assay showed that propranolol induced DNA damage in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). Caspase-Glo assay showed propranolol enhanced the activity of Caspase-3, 8, 9. The expression of Bax was upregulated, and the expression of Bcl-2 was downregulated by Western blotting, and the effect is related to the dose in the experimental concentration range ($P < 0.05$). Conclusion: The propranolol can inhibit the proliferation and induce the apoptosis of U937 cells, which was involved in arresting cell cycle in G_0/G_1 phase, damaging DNA, and activating endogenous and exogenous apoptotic pathways.

Key words Acute myeloid leukemia; Propranolol; Proliferation; Apoptosis

急性髓系细胞白血病 (acute myeloid leukemia, AML) 是一组异质性疾病, 其特征是髓系造血干细胞失去了正常的分化功能, 致幼稚细胞克隆性扩增, 正常血细胞增殖受到影响^[1]。 β 受体阻断剂普萘洛尔 (Propranolol) 已被证实在胰腺癌^[2]、乳腺癌^[3]、前列腺癌^[4]、黑色素瘤^[5]、结肠癌^[6]、非小细胞肺

癌^[7]、卵巢癌^[8]中发挥广泛而强有力的抗肿瘤作用。本实验观察普萘洛尔对 AML 细胞 U937 增殖和凋亡的影响及其可能的机制, 报道如下。

材料与方法

材料 实验所用普萘洛尔、阿糖胞苷购于 Selleck 公司, RPMI 1640、PBS 购于 Hyclone 公司, 胎牛血清购于杭州天杭生物科技有限公司, CCK8 试剂

* 通信作者: 肖晖, E-mail: huixiao@whu.edu.cn

盒购于日本同仁公司,彗星实验试剂盒购于 Trevigen 公司,细胞凋亡、细胞周期、线粒体膜电位检测试剂盒购于广州碧云天公司,Caspase-3、-8、-9 活性检测试剂盒购于 Promega 公司,GAPDH、Bcl-2 一抗购于 Adcam 公司,Bax 购于 CST 公司,二抗购于 Aspen 公司。

细胞培养 配置含有 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液,培养 U937 细胞,将细胞置于含 5% CO₂、饱和湿度的 37℃ 恒温培养箱中。1~2 d 更换一次培养液,实验前需先培养细胞 1~2 周左右,使细胞状态良好,处于对数生长期。

CCK8 法检测细胞增殖 取对数生长期状态良好的细胞,配制成浓度为 1×10^5 个/mL 的细胞悬液,按每孔 100 μ L 细胞接种于 96 孔板,分成 3 组,分别加入不同浓度药物处理细胞:①普萘洛尔(0、200、400、800、1000、2 000 μ mol/L)作用细胞 24、48、72 h;②阿糖胞苷(0、10、50、100、200、400、800 nmol/L)作用细胞 24 h;③400 μ mol/L 普萘洛尔与阿糖胞苷(10、50、100、200、400、800 nmol/L)联合作用细胞 24 h。置于 37℃、5% CO₂ 恒温培养箱,培养时间根据实验目进行相应调整。每孔加入 10 μ L CCK8 试剂,培养箱中孵育 2 h,使用酶标仪在 450 nm 波长处读 OD 值,测定不同药物对 U937 细胞增殖率的影响。

流式细胞仪检测细胞凋亡 取对数生长期的细胞调整细胞密度为 1×10^6 /mL,接种于六孔板中,加入不同浓度(0、200、400、800 μ mol/L)的普萘洛尔,以加入普萘洛尔浓度 0 μ mol/L 组为对照组,对照组加入等量完全培养基,孵育 24 h。Annexin V-FITC/PI 双染法检测细胞凋亡,收集细胞,800 μ L 预冷的 PBS 洗涤细胞,离心,去上清,Binding Buffer 重悬细胞,加 Annexin V-FITC/PI 混匀避光 10 min,1 h 内上流式细胞仪检测。

流式细胞仪检测细胞周期、线粒体膜电位水平 取对数生长期的细胞调整细胞密度为 1×10^6 /mL,接种于六孔板中,加入不同浓度(0、200、400、800 μ mol/L)的普萘洛尔,以加入普萘洛尔浓度 0 μ mol/L 组为对照组,对照组加入等量完全培养基,孵育 24 h。①检测细胞周期:PBS 洗涤、重悬,300 μ L 的预冷乙醇 4℃ 固定 24 h,上机前 PBS 洗涤 2 次,去除固定液,加入 10 μ L 核糖核酸酶 A,PI 染色,避光孵育 30 min,于流式细胞仪检测 FL2 通道;②JC-1 法检测线粒体膜电位:离心去上清,加入 JC-1 染色工作液重悬细胞,37℃ 继续孵育 20 min,JC-1 缓冲液洗去多余的染料 2~3 次,重悬细胞后流式细胞

仪检测 FL1 和 FL2 通道。

碱性彗星试验检测 DNA 损伤程度 取对数生长期状态良好的 U937 细胞,离心重悬收集细胞制成 2.5×10^5 /mL 的细胞悬液,用不同浓度(0、200、400、800 μ mol/L)普萘洛尔孵育 24 h,以加入普萘洛尔浓度 0 μ mol/L 组为对照组,对照组加入等量完全培养基。依次完成制片、裂解、解螺旋、电泳、中和、脱水、避光染色,流水冲洗的步骤,在荧光显微镜 590 nm 激发光下拍照,并用 CASP 软件对图像进行处理分析。

Caspase-Glo 试剂盒检测半胱天冬酶活性 取对数生长期的 U937 细胞按每个孔 100 μ L 含 2.5×10^4 个细胞的密度接种于 96 孔板中,给予不同浓度的普萘洛尔(0、200、400、800 μ mol/L)孵育 24 h,以加入普萘洛尔浓度 0 μ mol/L 组为对照组,对照组加入等量完全培养基。裂解重悬取上清,检测蛋白浓度。分别加入对应的 Caspase-Glo 3、Caspase-Glo 8 和 Caspase-Glo 9 试剂,于室温下避光反应 1 h。应用微量发光仪检测器测量发光数值,然后作图得到活力单位跟 RLU 的曲线图,通过 RLU 推算对应的活力单位。

Western blot 法检测凋亡蛋白 取对数生长期状态良好的 U937 细胞,离心重悬收集细胞制成 2.5×10^5 /mL 的细胞悬液,经不同浓度普萘洛尔(0、200、400、800 μ mol/L)处理 24 h 后,收集、裂解细胞,提取蛋白并测量蛋白浓度。用质量分数为 12% 的 SDS-PAGE 电泳分离后转膜,以 5% 脱脂奶粉室温封闭 1.5 h,加入 Bcl-2、Bax 一抗 4℃ 孵育过夜,TBST 缓冲液充分洗膜,加入二抗,室温孵育 2 h,洗膜 4 次。应用 ECL 法依次行压片、显影、定影检测。

统计学处理 采用 SPSS 19.0 统计学软件,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,使用单因素方差分析进行多组间的比较,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

结 果

不同药物对 U937 细胞增殖的影响 普萘洛尔抑制 U937 细胞的增殖,并呈一定的剂量相关性(0、200、400、800 μ mol/L, $P < 0.01$) 和时间相关性(200、400 μ mol/L, $P < 0.05$),见图 1A;阿糖胞苷抑制 U937 细胞的增殖,呈一定的剂量相关性(10、50、100、200、400 nmol/L, $P < 0.01$),见图 1B;阿糖胞苷(10~800 nmol/L)单用、联合普萘洛尔(400 μ mol/L)作用 24 h,见图 1C,通过 CompuSyn 软件计算 CI 值,阿糖胞苷浓度为 10、50、100、200、400、800 nmol/L 时,测得 CI 分别为 0.93 ± 0.06 , $0.83 \pm$

0.11, 0.55 ± 0.11 , 0.63 ± 0.09 , 0.54 ± 0.15 , 0.85 ± 0.13 , 表明普萘洛尔($400 \mu\text{mol/L}$) 联合阿糖胞苷(10 、 50 、 100 、 200 、 400 、 800 nmol/L) 对 U937 细胞的增殖具有协同抑制作用。

普萘洛尔促进 U937 细胞凋亡 流式细胞仪检测结果示凋亡率明显增加,其效应与剂量呈一定的相关性($P < 0.05$),表明实验浓度的普萘洛尔可以促进 U937 细胞凋亡,见表 1,图 2。

普萘洛尔对 U937 细胞周期分布的影响 不同浓度普萘洛尔(0 、 200 、 400 、 $800 \mu\text{mol/L}$) 作用 24 h 后,细胞的周期分布发生了明显变化,表现为 G_0/G_1 期细胞比例增多, G_2/M 期细胞比例减少,其效应呈

剂量相关性($P < 0.05$),表明实验浓度普萘洛尔诱导 U937 细胞发生 G_0/G_1 期阻滞,见表 2,图 3。

普萘洛尔使 U937 细胞内线粒体膜电位水平降低 检测不同浓度普萘洛尔(0 、 200 、 400 、 $800 \mu\text{mol/L}$) 作用 24 h 后,U937 细胞内红色与绿色相对荧光强度比值随着普萘洛尔浓度的增加而逐渐减少(19.11 ± 1.61 , 7.90 ± 1.01 , 3.79 ± 0.52 , 1.77 ± 0.10),其效应与剂量呈一定的相关性($P < 0.05$),见图 4。线粒体膜电位较高时,JC-1 发出红色荧光,较低时发出绿色荧光,红/绿比值逐渐降低表明实验浓度普萘洛尔致 U937 细胞内线粒体膜电位的水平逐渐降低。

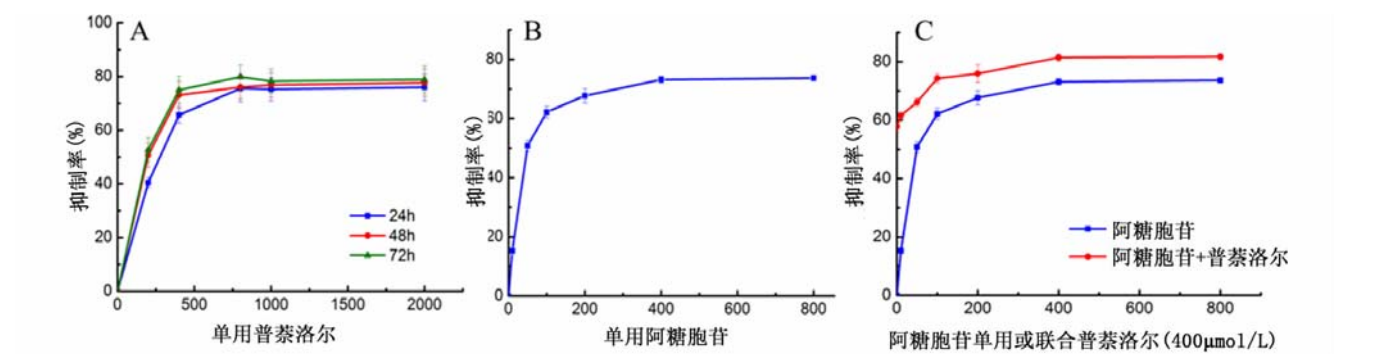


图 1 不同药物对 U937 细胞增殖的影响

表 1 不同浓度普萘洛尔对 U937 细胞凋亡率的影响 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	普萘洛尔($\mu\text{mol/L}$)			
	0	200	400	800
早期凋亡组	3.52 ± 0.55	$11.12 \pm 1.95^*$	$16.22 \pm 2.79^{* \#}$	$23.86 \pm 3.49^{* \# \Delta}$
晚期凋亡组	0.88 ± 0.10	$3.94 \pm 0.90^*$	$14.09 \pm 1.48^{**}$	$24.61 \pm 2.50^{**}$

注:与本组 $0 \mu\text{mol/L}$ 比较, $^* P < 0.05$; 与本组 $200 \mu\text{mol/L}$ 比较, $^{\#} P < 0.05$; 与本组 $400 \mu\text{mol/L}$ 比较, $^{\Delta} P < 0.05$

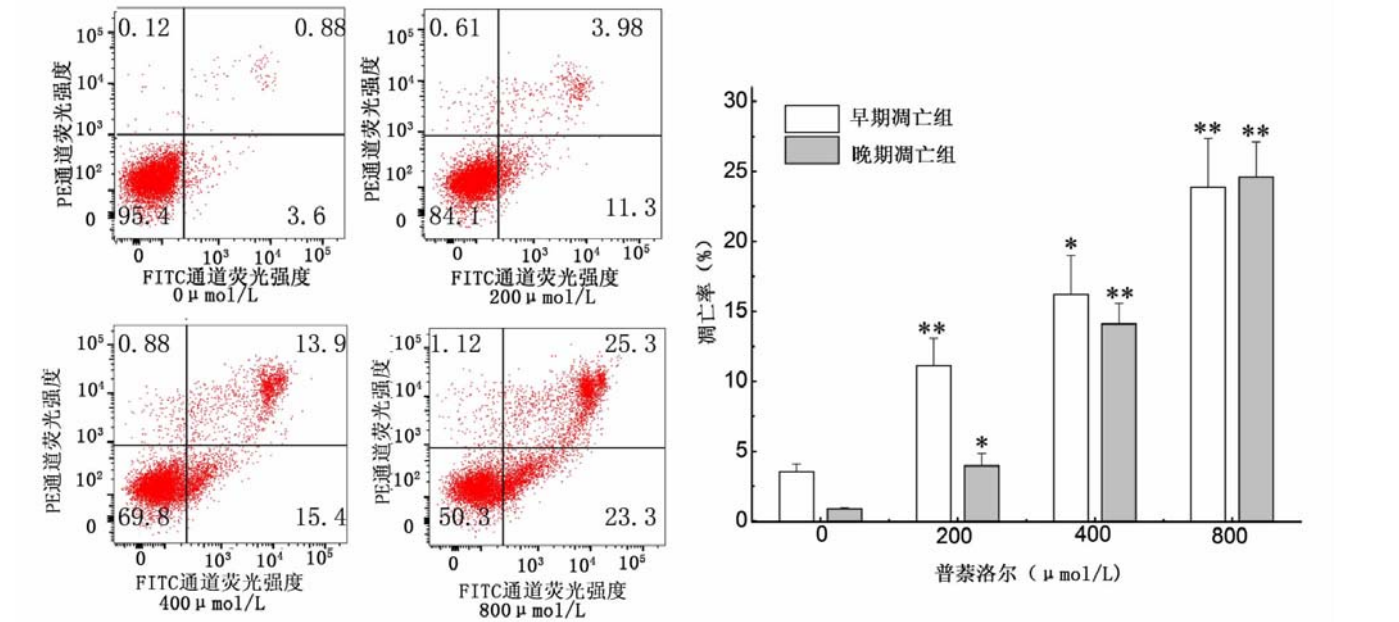


图 2 不同浓度普萘洛尔对细胞凋亡的影响($^* P < 0.05$, $^{**} P < 0.01$)

表2 不同浓度普萘洛尔对细胞周期的影响 ($\%$, $\bar{x} \pm s$)

药物浓度	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
0 μ mol/L	54.17 $\pm$ 3.00	24.41 $\pm$ 2.17	21.41 $\pm$ 1.02
200 μ mol/L	60.95 $\pm$ 1.98 *	24.62 $\pm$ 0.95	14.44 $\pm$ 1.07 *
400 μ mol/L	67.93 $\pm$ 2.98 **	23.65 $\pm$ 1.91	8.42 $\pm$ 1.33 **
800 μ mol/L	76.56 $\pm$ 4.31 ** Δ	16.77 $\pm$ 3.89 ** Δ	6.67 $\pm$ 0.66 ** Δ

注:与本组 0 μ mol/L 比较, * $P < 0.05$; 与本组 200 μ mol/L 比较, # $P < 0.05$; 与本组 400 μ mol/L 比较, $\Delta P < 0.05$

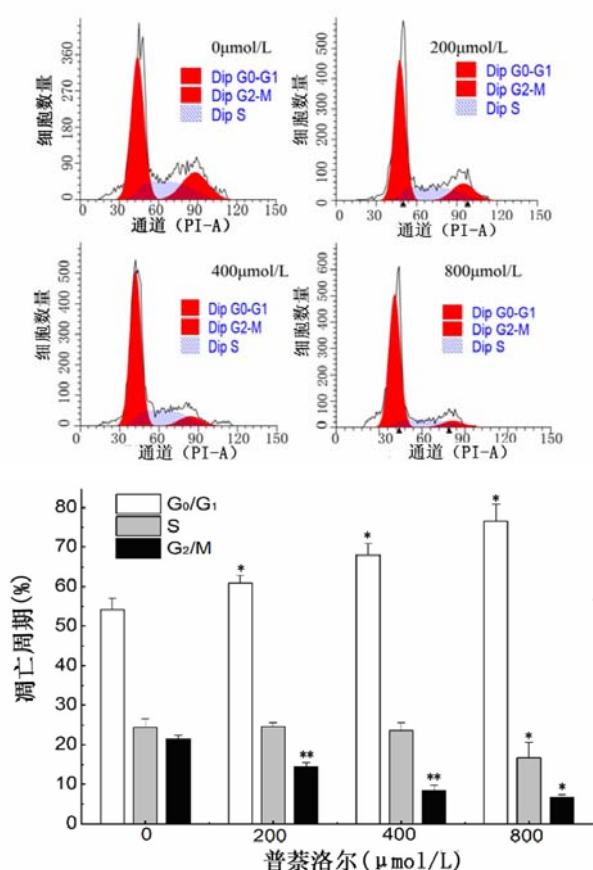


图3 不同浓度普萘洛尔对细胞周期的影响 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

普萘洛尔诱导 U937 细胞 DNA 的损伤 碱性彗星试验中,利用电场的作用使 DNA 碎片迁移出去,形成“彗星尾部”,DNA 碎片越多,形成的尾部越长,面积越大,未受损 DNA 在原位形成“彗星头部”。比较不同浓度普萘洛尔 (0、200、400、800 μ mol/L) 作用于 U937 细胞 24 h 后,通过 GASP 软件分析得出反映 DNA 损伤指标:尾长(碎片 DNA 迁移的长度)、彗星全长(DNA 的总长度)、尾矩和 Olive 尾矩(矩类指标是通过 GASP 软件相应公式分析得出,反映尾部的面积、DNA 含量和 DNA 百分比),发现随着普萘洛尔浓度增加,尾长、彗星长、尾矩和 Olive 尾矩都增加,说明 DNA 损伤更加显著,其效应呈剂量相关性 ($P < 0.05$),表明实验浓度的普萘洛尔可以诱导 U937 细胞 DNA 的损伤,见表 3。

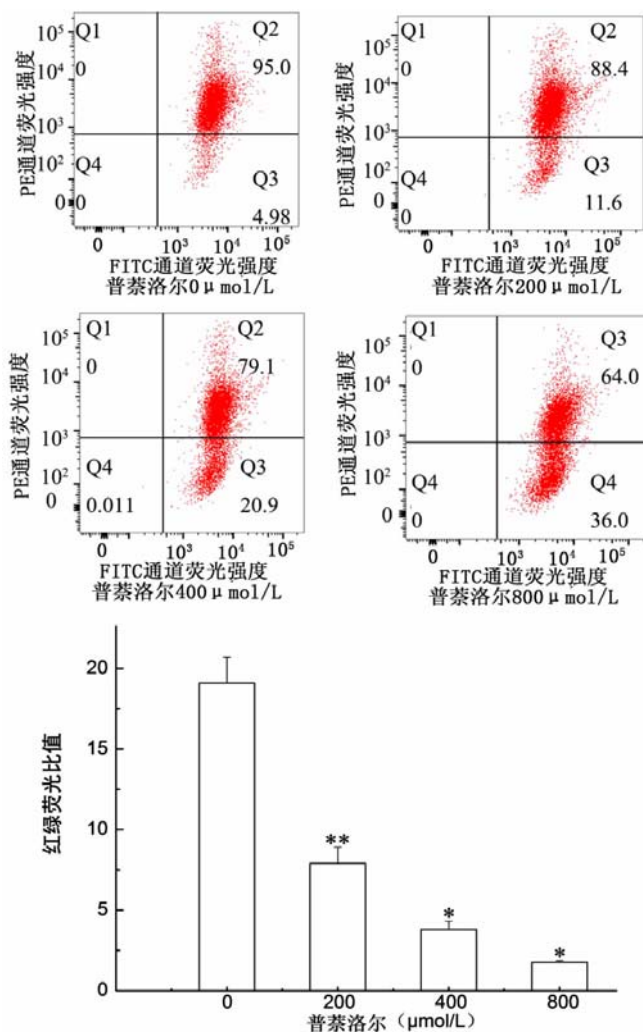


图4 不同浓度普萘洛尔对相对红色和绿色荧光比值的影响 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

普萘洛尔增加半胱天冬酶活性 用不同浓度普萘洛尔(0、200、400、800 μ mol/L)作用于 U937 细胞 24 h 后,测量半胱天冬酶活性,Caspase-3、8、9 的活性随普萘洛尔浓度升高呈上升趋势,其效应与剂量呈一定的相关性 ($P < 0.05$),表明普萘洛尔可以增加半胱天冬酶活性,见表 4。

普萘洛尔对 U937 细胞凋亡蛋白表达的影响 用不同浓度普萘洛尔(0、200、400、800 μ mol/L)孵育 U937 细胞 24 h 后,用 Western blot 法检测 Bcl-2、Bax 蛋白表达。结果表明促凋亡蛋白 Bax 的表达随普萘洛尔浓度增加呈上升趋势,而抗凋亡蛋白 Bcl2 的表达则呈下降趋势,其效应与剂量呈一定的相关性 ($P < 0.05$),见图 5。

讨论

AML 的发生发展与肿瘤细胞的增殖、凋亡失衡密切相关,最近的研究表明,普萘洛尔在体内实验中能够降低血管肉瘤的增殖指数^[9]。体外实验通过内源性线粒体凋亡途径抑制肝癌细胞增殖、诱导凋亡、

表 3 不同浓度普萘洛尔对 U937 细胞 DNA 的损伤情况

($\bar{x} \pm s$)

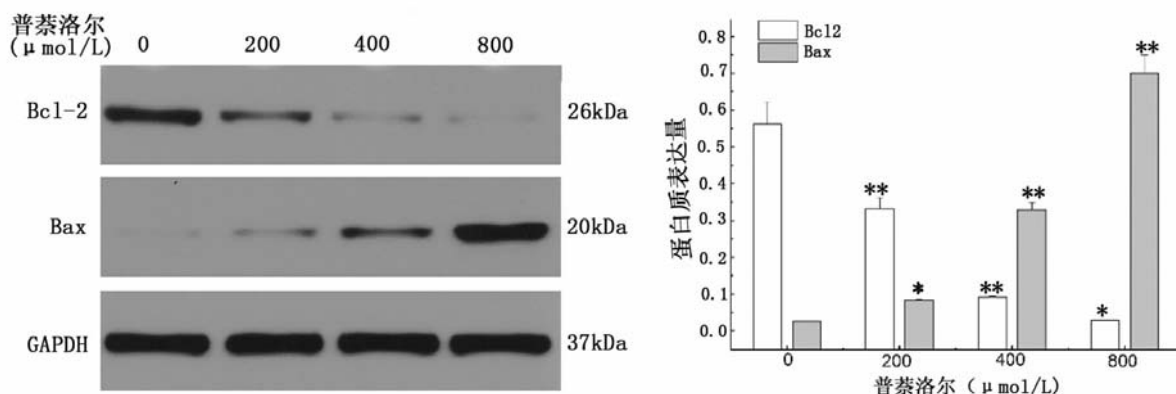
药物浓度($\mu\text{mol/L}$)	尾长	彗星长	尾矩	Olive 尾矩
0	50.00 $\pm$ 3.00	181.00 $\pm$ 5.20	6.84 $\pm$ 0.23	9.12 $\pm$ 0.35
200	109.33 $\pm$ 14.29 [*]	238.33 $\pm$ 15.95 [*]	17.17 $\pm$ 1.78 [*]	14.76 $\pm$ 2.08 [*]
400	165.67 $\pm$ 21.13 ^{*#}	292.67 $\pm$ 24.83 ^{*#}	33.50 $\pm$ 4.51 ^{*#}	20.33 $\pm$ 2.36 ^{*#}
800	300.00 $\pm$ 32.51 ^{*#△}	444.33 $\pm$ 37.53 ^{*#△}	113.67 $\pm$ 8.30 ^{*#△}	69.56 $\pm$ 4.59 ^{*#△}

注:与本组 0 $\mu\text{mol/L}$ 比较,^{*} $P < 0.05$;与本组 200 $\mu\text{mol/L}$ 比较,[#] $P < 0.05$;与本组 400 $\mu\text{mol/L}$ 比较,[△] $P < 0.05$

表 4 不同浓度普萘洛尔对 caspase -3,8,9 活性的影响

($\bar{x} \pm s$)

组别	普萘洛尔($\mu\text{mol/L}$)			
	0	200	400	800
Caspase-3	63.05 $\pm$ 0.73	72.5 $\pm$ 2.49 [*]	88.02 $\pm$ 3.45 ^{*#}	95.65 $\pm$ 4.47 ^{*#△}
Caspase-8	0.43 $\pm$ 0.01	0.52 $\pm$ 0.04 [*]	0.72 $\pm$ 0.05 ^{*#}	0.87 $\pm$ 0.07 ^{*#△}
Caspase-9	39.39 $\pm$ 0.81	43.07 $\pm$ 1.09 [*]	49.97 $\pm$ 2.20 ^{*#}	53.42 $\pm$ 2.47 ^{*#△}

注:与本组 0 $\mu\text{mol/L}$ 比较,^{*} $P < 0.05$;与本组 200 $\mu\text{mol/L}$ 比较,[#] $P < 0.05$;与本组 400 $\mu\text{mol/L}$ 比较,[△] $P < 0.05$ 图 5 不同浓度普萘洛尔对 Bcl-2、Bax 表达的影响(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

发生 S 期阻滞^[10],进而减少肿瘤的进展,转移和复发,因此降低了肿瘤相关死亡率^[11]。

本研究中,CCK8 结果表明普萘洛尔抑制白血病细胞 U937 的增殖,并与剂量和时间呈一定的相关性,且证明了普萘洛尔协同阿糖胞苷的抗肿瘤效应^[12]。流式细胞仪还证明了普萘洛尔可诱导 U937 细胞凋亡,诱导凋亡作用与剂量呈正相关性。

本研究发现普萘洛尔呈剂量相关性的使 G_0/G_1 期比例增加、 G_2/M 比例减少,诱导 G_0/G_1 期阻滞,使增殖受到抑制;还使得线粒体膜电位下降,而肿瘤细胞处于高代谢状态需要更多的能量供给^[13],若线粒体功能受到损伤,将影响肿瘤细胞的增殖,线粒体膜电位的降低是凋亡早期的特征。JC-1 荧光探针法是常用的检测方法之一,膜电位较高时 JC-1 形成多聚体,产生红色荧光,较低时 JC-1 以单体的形式存在,产生绿色荧光,所以红绿荧光比值可反映细胞线粒体膜电位的水平。

本研究中彗星实验的拖尾现象证实了普萘洛尔造成了 U937 细胞 DNA 的损伤。若 DNA 损伤无法修复,细胞功能紊乱,可发生凋亡,凋亡时产生 180

~200 bp 或者整数倍大小的 DNA,在彗星图片上表现为特征性的“头小尾大”的现象,实验中普萘洛尔浓度达到 400、800 $\mu\text{mol/L}$ 时出现了这种情况,这与 Olive 等^[14]用 γ 射线诱导的凋亡细胞形态一致,说明普萘洛尔可损伤 U937 细胞 DNA,诱导其凋亡。

本研究证实普萘洛尔呈剂量相关性的增加了 U937 细胞 Caspase-3、-8、-9 的活性。细胞的凋亡和 Caspases 家族有关^[15],Caspase 促进凋亡,分为凋亡起始蛋白酶 Caspase-8、-9、-10 等,和凋亡效应蛋白酶 Caspase-3、-6、-7。Caspase-9 由内源性线粒体凋亡途径激活,Caspase-9/Apaf-1/CytC 组成凋亡小体以促进凋亡,Caspase-8 由外源性死亡受体凋亡途径激活,死亡配体包括肿瘤坏死因子- α 、FasL 及肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体,分别形成相应的蛋白复合物促进凋亡。内外源性途径都可激活 Caspase-3,实验结果表明普萘洛尔通过内源性线粒体途径和外源性死亡受体途径促进 U937 细胞的凋亡。

本研究发现普萘洛尔使凋亡相关蛋白 Bcl-2 表达减少,Bax 表达增多,效应呈剂量相关性。细胞的凋亡过程还受 Bcl-2 家族蛋白的调控,如 Bcl-2 阻碍

细胞色素 C (促凋亡) 从线粒体内释放到胞质,抑制凋亡,与内源性凋亡途径相关,Bax 与之相反促进凋亡^[16],这也证实了普萘洛尔通过内源性途径激活凋亡。

综上,普萘洛尔可抑制 AML 细胞 U937 的增殖并诱导其凋亡,这可能与诱导 G₀/G₁ 期阻滞、DNA 损伤,激活内外源性凋亡途径有关。

参考文献

- 1 Döhner H,Estey E,Grimwade D,et al. Diagnosis and management of AML in adults: 2017 ELN recommendations from an international expert panel[J]. Blood,2017,129(4):424-447.
- 2 Partecke L,Speerforck S,Käding A. Chronic stress increases experimental pancreatic cancer growth, reduces survival and can be antagonised by beta-adrenergic receptor blockade[J]. Pancreatol,2016,16(3):423-433.
- 3 Choy C,Raytis JL,Smith DD,et al. Inhibition of β_2 -adrenergic receptor reduces triple-negative breast cancer brain metastases: The potential benefit of perioperative β -blockade [J]. Oncol Rep,2016,35(6):3135-3142.
- 4 Cheng Y,Gao XH,Li XJ,et al. Depression promotes prostate cancer invasion and metastasis via a sympathetic-cAMP-FAK signaling pathway[J]. Oncogene,2018,37(22):2953-2966.
- 5 Jean Wrobel L,Bod L,Lengagne R,et al. Propranolol induces a favourable shift of anti-tumor immunity in a murine spontaneous model of melanoma[J]. Oncotarget,2016,7(47):77825-77837.
- 6 Coelho M,Moz M,Correia G,et al. Antiproliferative effects of β -blockers on human colorectal cancer cells[J]. Oncol Rep,2015,33

- (5):2513-2520.
- 7 Hyun-Ji Jang,Hye-Jin Boo,Ho Jin Lee,et al. Chronic Stress Facilitates Lung Tumorigenesis by Promoting Exocytosis of IGF2 in Lung Epithelial Cells[J]. Cancer Res,2016,76(22):6607-6619.
- 8 McCarty MF. A role for cAMP-driven transactivation of EGFR in cancer aggressiveness - therapeutic implications [J]. Med Hypotheses,2014,83(2):142-147.
- 9 Chow W,Amaya CN,Rains S,et al. Growth Attenuation of Cutaneous Angiosarcoma With Propranolol-Mediated β -Blockade[J]. JAMA Dermatol,2015,151(11):1226-1229.
- 10 Wang F,Liu H,Wang F,et al. Propranolol suppresses the proliferation and induces the apoptosis of liver cancer cells [J]. Mol Med Rep,2018,17(4):5213-5221.
- 11 Tang J,Li Z,Lu L,et al. β -Adrenergic system, a backstage manipulator regulating tumour progression and drug target in cancer therapy [J]. Semin Cancer Biol,2013,23(6):533-542.
- 12 李亮. 去甲氧柔红霉素与柔红霉素在初治急性髓系白血病诱导治疗中的疗效与安全性分析[J]. 内科急危重症杂志,2017,23(5):403-404.
- 13 宋燕燕,肖晖,靳鸣,等. 从新陈代谢角度研究二甲双胍对多发性骨髓瘤细胞的作用及机制[J]. 现代肿瘤医学,2017,25(16):2552-2556.
- 14 Gorczyca W,Gong J,Darzynkiewicz Z. Detection of DNA strand breaks in individual apoptotic cells by the in situ terminal deoxynucleotidyl transferase and nick translation assays [J]. Cancer Res,1993,53(8):1945-1951.
- 15 李敏,林俊. 细胞凋亡途径及其机制[J]. 国际妇产科学杂志,2014,41(2):103-107.
- 16 García-Súez AJ. The secrets of the Bcl-2 family[J]. Cell Death Differ,2012,19(11):1733-1740.

(2018-11-26 收稿 2018-12-21 修回)

(上接第 30 页)

参考文献

- 1 齐见旭,李英. 参麦注射液联合无创正压通气治疗急性心源性肺水肿的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2015,31(6):415-417.
- 2 Walter JM,Matthay MA,Gillespie CT,et al. Acute hypoxemic respiratory failure after large-volume thoracentesis. Mechanisms of pleural fluid formation and reexpansion pulmonary edema[J]. Annals of the American Thoracic Society,2016,13(3):438-443.
- 3 Ijaz M,Adrish M. Outcomes in patients with acute lung injury/ARDS vs cardiogenic pulmonary edema[J]. Chest,2015,148(6):e194.
- 4 李进叶,宋歌声,宋吉清,等. 宝石能谱 CT 与常规超声对甲状腺结节良恶性诊断价值的对照分析[J]. 山东大学学报(医学版),2016,54(3):81-86.
- 5 何霖,万正国,尹喜,等. 低浓度低剂量对比剂宝石能谱 CT 肺动脉成像的初步研究[J]. 放射学实践,2016,31(1):59-63.
- 6 王增状,姜领,鞠衍松,等. 心源性肺水肿的 CT 征象分析[J]. 中国 CT 和 MRI 杂志,2014,12(6):36-39.
- 7 杨菲菲,王秋霜,黄党生,等. 应用肺部超声的肺水 B 线与 N 末端 B 型利钠肽原和 E/e' 评价急性心力衰竭患者肺水肿的相关研究

- [J]. 中国循环杂志,2018,33(4):355-359.
- 8 李梦颖,金凤强,李智勇,等. 肺浸润性腺癌能谱 CT 碘基物质分析与 Ki-67 表达的相关性研究[J]. 临床放射学杂志,2017,2(36):204-208.
- 9 Dabirrahmani D,Magnussen J,Appleyard RC. Dual-energy computed tomography-how accurate is gemstone spectrum imaging metal artefact reduction? Its application to orthopedic metal implants[J]. J Comput Assist Tomo,2015,39(6):925-935.
- 10 Nirengi S,Yoneshiro T,Sugie H,et al. Human brown adipose tissue assessed by simple,noninvasive near-infrared time-resolved spectroscopy [J]. Obesity (Silver Spring,Md.),2015,23(5):973-980.
- 11 李梦颖,金凤强,李智勇,等. 肺浸润性腺癌能谱 CT 碘基物质分析与 Ki-67 表达的相关性研究[J]. 临床放射学杂志,2017,36(2):204-208.
- 12 蒋娜,陈志民,方天舒,等. 宝石能谱 CT 临床应用进展[J]. 中国老年学杂志,2016,36(24):6319-6320.
- 13 江德胜,韦炜,李丹,等. 能谱 CT 定量分析对孤立性肺结节/肿块鉴别诊断的初步研究[J]. 安徽医科大学学报,2017,52(3):435-439.
- 14 周永明,李文强. 无创正压通气治疗急性心源性肺水肿的临床观察[J]. 内科急危重症杂志,2012,18(6):360-361.

(2017-10-23 收稿 2018-07-23 修回)