

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.12.042

· 生物医学教学 ·

荧光显微成像在医学细胞生物学实验教学中的应用探索*

吴 佼^{1,2} 李 勇³ 南 刚^{1,2} 边惠洁^{1,2} 陈志南^{1,2Δ}

(1 国家分子医学转化科学中心 陕西 西安 710032;

2 第四军医大学基础部细胞生物学教研室 陕西 西安 710032; 3 中国人民解放军第三二三医院综合内科 陕西 西安 710054)

摘要:医学细胞生物学是医学院校本科生的重要基础学科之一,其实验课程教学工作的改革与创新具有重要意义。本文深入分析了医学细胞生物学实验课程现状,认为课程普遍存在目的不明确、内容不新颖、缺乏整体性、临床联系少等问题。荧光显微成像是细胞生物学研究中的关键技术,利用这一技术设计具有整体性的科研实验对于培养医学生操作能力和科研素养具有重要意义。顺铂(cisplatin)为当前肿瘤联合化疗中最常用的药物之一,由于其抗癌机制涉及细胞增殖、细胞凋亡、细胞骨架等一系列细胞生物学知识,且与临床联系紧密,非常适合用于综合性实验设计。实验方案拟使用 BrdU 染色、Hoechst33258 染色及鬼笔环肽染色法,分别检测人肺癌细胞系 A549 顺铂处理后细胞增殖、细胞凋亡及细胞骨架重排情况。实验完成后,鼓励学生通过查阅文献得出综合的实验结论。希望能够通过科研与教学相融合的方式,更好的激发医学生的学习热情,提高医学生的科研素质,培养全方位的医学人才。

关键词:荧光显微镜;激光共聚焦显微镜;细胞增殖;细胞骨架;细胞凋亡

中图分类号:G642 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)12-2364-04

Application of Fluorescence Micro-imaging System in Experimental Teaching of Medical Cell Biology*

WU Jiao^{1,2}, LI Yong³, NAN Gang^{1,2}, BIAN Hui-jie^{1,2}, CHEN Zhi-Nan^{1,2Δ}

(1 National Translational Science Center for Molecular Medicine, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Cell Biology, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

3 Department of Oncology, the PLA 323 Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710054, China)

ABSTRACT: Medical cell biology is one of the most important basic subjects for undergraduate students in medical universities, and the reform and innovation of experiment course are of great significance. We analyzed the problems existing in the experiment course of medical cell biology. The experiment course lacks clear target, fresh content and integrality, and is not combined with clinical knowledge. The project of teaching reform using fluorescence micro-imaging system is presented based on subsistent problems in classical courses system. The fluorescence micro-imaging system is widely used for the study of cell biology, and we believed it necessary to design integral scientific research experiments for medical cell biology course based on this technique. Cisplatin is a chemotherapeutic drug that has become one of the most commonly used drugs against tumors, and cisplatin-based chemotherapy is always combined with other therapies. Cisplatin destroys tumor cells by binding to DNA strands, interfering with DNA replication. The mechanisms involved in cisplatin-mediated anti-cancer effect also include the induction of apoptosis and the remodeling of cellular cytoskeleton. Since these mechanisms are closely correlated with the knowledge in medical cell biology and clinic, it is very suitable to design an integral experiment involving cisplatin. We plan to determine the cell proliferation, apoptosis and cellular cytoskeleton remodeling of human lung cancer cell line A549 with cisplatin treatment by BrdU staining, Hoechst 33258 staining and phalloidin staining, respectively. After completion of the experiments, students should be encouraged to consult literature and draw comprehensive conclusion of the integral experiments. We hope the project that combines scientific research and teaching could stimulate students' enthusiasm, raise their research abilities and help to train qualified people to meet the needs of the country.

Key words: Fluorescence Microscope; Laser scanning confocal microscopy; Cell proliferation; Cellular cytoskeleton; Apoptosis

Chinese Library Classification (CLC): G642 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)12-2364-04

* 基金项目:国家自然科学基金项目(31401222, 31401190)

作者简介:吴佼(1986-),女,博士,讲师,主要研究方向:肿瘤分子网络, E-mail: jiaowubio@163.com

Δ 通讯作者:陈志南(1952-),男,博士生导师,教授,主要研究方向:细胞生物学, E-mail: znchen@fmmu.edu.cn, 电话:029-84774547

(收稿日期:2016-09-22 接受日期:2016-10-16)

前言

在我国生命科学发展规划中,细胞生物学、分子生物学、神经生物学和生态学并称为四大基础学科^[1]。作为基础医学中重要的研究型学科,医学细胞生物学从显微水平、超微水平和分子水平研究医学相关的细胞结构、功能及生命运行规律,并从中探究疾病发生原因,是推动医学发展的重要力量。

医学院校本科细胞生物教学包括理论课程和实验课程。实验课程是医学细胞生物学课程的重要组成部分,不仅可帮助学生复习理论知识,更是培养学生科研能力的重要手段。细胞生物学实验技术的发展日新月异,但是相当多先进的科研技术并没有转化为教学实验,不利于教学质量的提高和改善。因此,在医学细胞生物学实验课程改革中,应设计一批运用现代科学新技术的综合性实验,既能训练学生的基本知识和基本技能,又可培养学生的科研素质和创新能力。

1 医学细胞生物学实验课程现状

1.1 教学目的不够明确

实验课教学实践中,教师往往偏重于带领学生复习理论知识,而不重视培养学生的探究能力,其结果就是将实验课变成了理论课的附属品^[2]。上课时,教师教授实验内容,学生按部就班地操作,最后做出相似的实验结果,写出相似实验报告。这种教学模式难以发挥学生的主观能动性,启发学生的创造性思维,实现学生综合素质的培养。无论医学生将来从事临床医学或是基础医学工作,都要求学生必须具备较强的独立思考、独立实践能力,而这些能力正应该通过实验课程进行培养。必须明确实验课的重要意义,发挥实验课的实践性优势,注重培养学生独立操作能力,最大限度地增强学生的自主性与参与度,提高学生独立分析、创新思维和实践应用能力。

1.2 教学内容落后枯燥

临床医学专业的细胞生物学实验课程包括光学显微镜的使用、细胞骨架染色、细胞器观察、细胞有丝分裂时相观察等内容,与理论课内容相辅相成,可帮助学生进一步巩固理论课知识。但实验结果的观察还局限于使用普通光学显微镜,对于相差显微镜、荧光显微镜、共聚焦显微镜等在细胞生物学中应用广泛的显微镜只是略作介绍,并没有具体应用到实验中。细胞器观察等实验过多的依赖于观察永久切片,而没有给学生动手实验的机会;而需要操作的实验,如细胞骨架染色,采取的又多为传统的染色方法,在科研中已较少涉及。在科技日新月异的今天,仅仅拥有旧有的知识储备远远不能适应快速发展的社会对高科技人才的需求,这样很容易造成理论知识与实践能力相分离的状况,不利于发展学生的创新思维,分析问题和解决问题能力。因此,医学细胞生物学实验内容应跟上科学前沿,不断进行调整和更新,使实验内容与与时俱进。教师应更多地运用现代教育技术和网络教学平台网络资源丰富教学内容。

1.3 教学设计缺乏整体性

目前,细胞生物学实验教学全部是在规定的教学时间内完成选定的实验,实验之间没有连续性,缺乏涉及本课程的综合知识的系统性实验。而真正的科研实验多为综合性实验。比如要检测某种抗肿瘤药物效果,可以通过台盼蓝计数、DNA ladder、Tunel 染色、Annexin V-PI 染色等方法进行实验,并综合分

析药物诱导肿瘤细胞凋亡的效果^[3-5]。这些成熟的综合性实验设计完全被充实进医学细胞生物学实验教学中。应通过增加综合性、设计性实验和开放性实验的比例,培养学生的设计和创新的实验能力,要求学生在充分理解细胞生物学基本原理的基础上,查阅相关文献和资料,了解自己已经具备的实验技能,和各种检测手段和实验方法,自行设计实验方案,确定实验方法,选用配套的仪器设备进行实验,对实验结果进行合理的分析和归纳总结,最后写出比较完整和详尽的实验报告。另一方面,传统的单向教学模式也应有所改进。在实验课之前,教师已准备好实验器材、试剂、细胞等材料,学生只需要根据教师讲解进行操作即可。因此,学生的参与度不高。要加大学生参与实验的强度,从最开始的实验试剂的配制、实验材料的处理,再到实验废料的处置、实验器皿的清洗,都要让学生分组轮流地参与进来,这样才可以更好地让学生认识和感受实验。

1.4 与临床医学联系不紧密

医学生往往对于基础医学课程存在偏见,认为课程内容枯燥乏味,对未来的职业生涯没有帮助。这种偏见一方面是由于基础医学课程本身不如临床课程内容生动,另一方面也与教师不善于将知识点与临床病例结合、未能激发医学生学习热情有关。医学高等院校教育的目的在于一方面可以培养优秀的基础医学科研储备人才;另一方面为临床输送兼具临床技能和科研素质的医务人员。教师若能利用本教研室先进的仪器设备,将教研室的科研成果引入到教学中,既可以让学生了解国内外医学发展的前沿内容,又可以提高实验课程的应用性,加强实验与临床的联系,从而激发学生的学习兴趣。

2 利用荧光显微成像技术设计医学细胞生物学实验教学方案

在现代医学领域,常需要在细胞内精确定位细胞器、特定的蛋白质或其他结构成分。荧光显微镜(fluorescence microscope, FM)以短光波的紫外光线为光源,观察的标本多用荧光色素染色,由于紫外线的照射,激发标本内的荧光物质,而呈现可见的荧光映像^[6]。因其光源波长短,具有超出传统显微镜分辨率极限的高分辨率,且能够直接显示标记微量荧光抗体等生物化学成分,在免疫学和临床诊断方面具有其他技术方法难以比拟的作用^[7]。

激光扫描共聚焦显微镜(laser scanning confocal microscopy, LSCM)则是在荧光显微镜成像基础上加装了激光扫描装置,利用计算机进行图像处理,对样本进行断层扫描和成像,兼具高敏感度与高分辨率^[8]。LSCM 不仅可对固定的细胞、组织切片进行荧光定量检测,还可以对活细胞的结构、形态、离子及动力学参数等进行实时动态观察和检测,成为了形态学、分子细胞生物学、神经科学、药理学、遗传学等多个领域中强有力的研究工具^[9]。

考虑到本教研室细胞生物学实验中荧光显微镜和激光扫描共聚焦荧光显微镜应用非常广泛,将两种设备的使用引入实验课教学中,设计一个具有整体性的连贯科研实验具有重要的理论和现实意义。

2.1 实验背景

顺铂(cisplatin)具有抗癌谱广、作用强、与多种抗肿瘤药有协同作用、且无交叉耐药等特点,为当前肿瘤联合化疗中最常用的药物之一^[10-12]。20 世纪 70 年代以来,顺铂已被广泛用于多

种恶性肿瘤的治疗,包括小细胞及非小细胞肺癌、宫颈癌、膀胱癌、卵巢癌及头颈部肿瘤等^[13]。顺铂进入细胞后,会与 DNA 发生反应,形成 DNA 内两点或两链的交叉连接,称为顺铂诱导性 DNA 加合物(cisplatin-induced DNA adducts),导致 DNA 断裂和错码,引起 DNA 复制障碍,抑制细胞增殖^[14]。正是由于顺铂诱导性 DNA 加合物的难修复性,这种结合在凋亡的发生机制中发挥重要作用^[15]。顺铂还可与细胞膜上的磷脂和磷脂酰丝氨酸、细胞骨架蛋白(如 F-actin)结合,破坏细胞膜和细胞骨架^[16]。

由于顺铂的抗癌机制中涉及细胞增殖、细胞凋亡、细胞骨架等一系列细胞生物学知识,且与临床联系紧密,非常适合用于综合性实验设计。

2.2 实验目的

通过 BrdU 染色、Hoechst33258 染色及鬼笔环肽染色,分别检测人肺癌细胞系 A549 经不同浓度抗癌药物顺铂处理后细胞增殖、细胞凋亡及细胞骨架重排情况。从分子生物学及细胞生物学角度分析顺铂的抗癌作用,得出综合的实验结论。

2.3 实验方法

医学细胞生物学实验课程采取小班教学模式,每班 30 人。将学生分为 10 组,每组 3 人进行合作实验。

2.3.1 细胞培养 人非小细胞肺癌细胞系 A549 是 1972 年由 Giard DJ 通过肺癌组织移植培养建系的,源自一位 58 岁的白人男性。A549 细胞系由本科室冻存,使用含 10%小牛血清的 RPMI1640 培养液在 5% CO₂, 37 °C, 饱和湿度的细胞培养箱中进行培养,细胞呈贴壁生长。用含 0.25 %的胰酶和 0.02 % EDTA(1:1)的消化液传代,用于实验的细胞均处于对数生长期。

2.3.2 BrdU 免疫荧光法检测细胞增殖 BrdU (5- 溴脱氧尿嘧啶核苷)是胸腺嘧啶的衍生物,可于细胞周期 S 期代替胸腺嘧啶选择性的整合到复制细胞新合成的 DNA 中。这种掺入可以稳定存在,随着 DNA 复制进入子细胞中。BrdU 特异性抗体可用于检测 BrdU 掺入,再加入荧光二抗,即可在荧光显微镜下判断细胞的增殖能力^[17]。1) 细胞以 1.5×10^5 / mL 细胞数接种于 24 孔板中(内置一 1 cm × 1 cm 盖玻片),贴壁后,实验组加入顺铂(10 μg/mL),对照组加生理盐水培养 24 h;2) 加入 BrdU(终浓度为 0.03 μg/mL), 37 °C 培养 6 h;3) 弃培养基,PBS 清洗细胞爬片 2 次,每次 5 min,使用 4 %多聚甲醛固定 15 min;4) 用 0.3 %的 Triton X-100 作用 5 min 使细胞膜通透性增加;加 3 % BSA 室温孵育 20 min 以封闭非特异结合位点;5) 使用含 1 % BSA 的 PBS 稀释 BrdU 抗体至终浓度 6 μg/mL,滴加至细胞爬片上(每张爬片 50 μL),37 °C 湿盒孵育 60 min;6) PBS 清洗细胞爬片 2 次,每次 5 min。滴加 DyLight 488 结合的羊抗小鼠荧光二抗,37 °C 湿盒避光孵育 30 min。PBS 清洗细胞爬片 2 次,每次 5 min;7) 加入 1 μg/mL 的 DAPI 溶液浸染 3 min。PBS 清洗细胞爬片 2 次,每次 5 min;8) 甘油封片,于荧光显微镜下观察。实验组和对照组各拍摄 5 个高倍视野;9) 记录每个视野下增殖细胞数(BrdU 染色阳性)与总细胞数(DAPI 染色阳性)的比值,进行统计分析。

2.3.3 鬼笔环肽细胞骨架染色 鬼笔环肽(phalloidin,鬼笔鹅膏素),是从毒蕈类鬼笔鹅膏中分离得到的剧毒生物碱,环状七肽,无色,细针状结晶。鬼笔环肽与肌动蛋白微丝结合的能力要比与肌动蛋白单体结合的能力强很多,从而导致了微丝末端肌动蛋白亚基的解离常数降低。此外,鬼笔环肽还可抑制 F-Actin

的 ATP 酶水解活性,从而起到稳定 F-Actin 结构的作用。FITC 和 Rhodamin 等荧光物质标记的鬼笔环肽可特异的与真核细胞的 F-actin 结合,从而显示微丝骨架在细胞中的分布^[18,19]。1) 细胞以 1.5×10^5 / mL 细胞数接种于 24 孔板中(内置一 1 cm × 1 cm 盖玻片),贴壁后,实验组加入顺铂(10 μg/mL),对照组加生理盐水培养 24 h;2) PBS 清洗细胞 2 次,每次 5 min;4 %的多聚甲醛固定 20 min,PBS 清洗细胞 2 次;3) 加入 5 μg/mL 的罗丹明 - 鬼笔环肽室温染色 40 min,PBS 清洗细胞 2 次, 每次 5 min;4) DAPI 染细胞核 10 min,PBS 清洗细胞 2 次;5) 吸去多余水分,加荧光封片液,盖上盖玻片,共聚焦显微镜下观察并拍照;观察细胞经顺铂处理后,肌动蛋白骨架网络是否发生重排。

2.3.4 Hoechst33258 染色观察细胞凋亡 Hoechst 33258 为非嵌人性荧光染料。它们在活细胞中 DNA 聚 AT 序列富集区域的小沟处与 DNA 结合。活细胞或固定细胞均可从低浓度溶液中摄取该染料,从而使细胞核着色。Hoechst-DNA 的激发和发射波长分别 550 nm 和 460 nm。在荧光显微镜紫外光激发时,Hoechst-DNA 发出亮蓝色荧光。Hoechst 33258 染色常用于细胞凋亡检测。在荧光显微镜下,活细胞核呈均匀弥散荧光,而凋亡细胞的细胞核或细胞质内可见浓染致密的颗粒块状荧光^[20,21]。1) 细胞以 1.5×10^5 / mL 细胞数接种于 24 孔板中(内置一 1 cm × 1 cm 盖玻片),贴壁后,实验组加入顺铂(10 μg/mL),对照组加入生理盐水培养 24 h;2) 吸尽培养液,使用 4 %多聚甲醛固定 15 min。去固定液,用 PBS 洗两遍,每次 3 min;3) 加入 0.5 mL Hoechst 33258 染色液(终浓度为 0.5 μg/mL),染色 15 min;4) PBS 漂洗 3 次,每次 3 min;5) 甘油封片,于荧光显微镜下观察。实验组和对照组各拍摄 5 个高倍视野;6) 记录每个视野下调亡细胞数(细胞核明显变小,出现致密强荧光,可见凋亡小体),计算凋亡率。

2.4 结果分析及讨论

三次实验结束后,同学结合各自的实验结果分析以下问题。1) 顺铂是否可以抑制 A549 肺癌细胞增殖、诱导凋亡,并引起细胞骨架重排。2) 查阅文献,分析顺铂抗癌的具体机制,并提出自己的看法。3) 结合实验结果分析此实验有何临床意义。

通过此次实验,学生将熟悉以下实验技术:细胞无菌培养培养相关操作、荧光显微镜的使用方法、BrdU 免疫荧光染色检测细胞增殖、Hoechst 染色检测细胞凋亡、鬼笔环肽染色检测细胞骨架方法。

3 实施要点及实施细节

3.1 课前准备

3.1.1 学生需做好课前预习 综合性实验之间有一定的系统性,应倡导学生主动学习,独立思考。在课前,应提前将讲义及操作视频下发,让学生做好预习和准备。综合实验的具体操作比较复杂,需要学生具备一定的实践操作能力,因此可安排在课程后半部分,让学生在熟悉了基础操作后再进行。

3.1.2 教师需做好材料准备 综合性实验需要的实验前准备较多,且由于实验课时限制,细胞爬片及药物处理的步骤需要在课前进行。可将每班学生分为数组,由教师带领学生参与准备工作。

需准备的材料包括:1) 细胞:每次实验每班需准备 20 张细胞爬片,于 1 只 24 孔板中准备即可。其中 10 张为顺铂孵育的

实验组,10张为DMSO处理的对照组。2)试剂:顺铂(山东齐鲁制药厂),BrdU(博士德生物,中国),小鼠抗人BrdU一抗(博士德生物,中国),荧光(DyLight 488)标记羊抗小鼠IgG(博士德生物,中国)。Hoechst 33258(Sigma公司,美国),罗丹明-鬼笔环肽 rhodamine-phalloidin(Thermo Fisher Scientific,美国)。3)仪器:正置荧光显微镜(Olympus BX60,日本),激光共聚焦显微镜(Nikon A1R,日本)。4)其他:RPMI1640培养液、PBS、多聚甲醛、24孔板、封片甘油、DAPI、无菌盖玻片、载玻片等为本教研室日常自备。

3.2 课中实施

由于综合性实验步骤比较复杂,在实验的各个环节都有可能发生问题。比如细胞爬片密度直接影响染色效果,顺铂药物浓度必须控制在有效浓度之上,染色的洗涤时间过长或过短都会影响观察效果,等等。这就需要教师做好预实验,对可能出现的操作难点做到心中有数,并准备好应对方案。操作步骤应以直观的多媒体课件及短片的形式演示,并针对一些难点进行重点解释,以降低学生操作中的错误率。在操作过程中,教师应注意指导并及时纠正学生操作中可能出现的错误,并注意规范操作,帮助学生养成良好的科研习惯。

3.3 课后总结

学生整理实验结果并完成有个性的实验报告是综合性实验的重要一环,也是成绩评定的重要依据。一份正规的科研实验报告应包括实验目的、实验内容、实验步骤、实验结果和实验讨论几个部分,做到资料丰富、形式严谨、分析深入。实验结果包括荧光照片和统计结果,科学研究包含着巨大的模糊性和不确定,既存在成功的机会,也存在失败的可能。对于阴性的实验结果,教师应协助学生找出问题并提出可行的解决措施。每次实验结束后,有必要及时分析实验结果;全部实验完成后,应系统分析整个综合实验的结果,得出一定的结论并总结出此实验的意义。大学生正处于思维与创造性异常活跃的关键时期,应充分肯定学生的创造性,鼓励发散性思维。有必要鼓励学生自行查阅文献,通过对实验现象的讨论来挖掘其学术价值和临床应用价值,避免停留于感性认识阶段。

4 小结

如何以恰当的方式将具有新颖性的科研实验和具有基础性的教学实验相结合,是本科医学细胞生物学实验教学的改革重点。本文深入剖析了医学细胞生物学实验教学存在的问题,提出利用荧光显微成像技术设计综合性系列教学实验,规划了具体的实验方案,并对实验过程中的可能问题及实施细节做出了分析。相信这种“以科研促教学”的模式可以不断推动医学细胞生物学的教学改革,从而培养出兼具临床知识和科研素养的医学生。

参考文献(References)

- [1] 李小玲, 华智锐. 地方院校细胞生物学合作研讨式教学的实践与思考[J]. 工程, 2015, 34(26): 151-153
Li Xiao-Ling, Hua Zhi-Rui. Practice and thinking of local universities in cell biology teaching with discussion and cooperation [J]. Value Engineering, 2015, 34(26): 151-153
- [2] 孙铮, 孙媛, 王茜等. 探索细胞生物学综合性实验课促进科研与教学的紧密结合[J]. 中国细胞生物学学报, 2016, 38(6): 715-720
Sun Zheng, Sun Yuan, Wang Qian, et al. Exploring the integration experimental courses of cell biology: a proposed approach for promoting the combination of research and teaching [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2016, 38(6): 715-720
- [3] Chetty C, Bhooopathi P, Lakka SS, et al. MMP-2 siRNA induced Fas/CD95-mediated extrinsic II apoptotic pathway in the A549 lung adenocarcinoma cell line[J]. Oncogene, 2007, 26(55): 7675-7683
- [4] Seo EJ, Efferth T. Interaction of antihistaminic drugs with human translationally controlled tumor protein (TCTP) as novel approach for differentiation therapy[J]. Oncotarget, 2016, 7(13): 16818-16839
- [5] Yu X, Luo A, Liu Y, et al. MiR-214 increases the sensitivity of breast cancer cells to tamoxifen and fulvestrant through inhibition of autophagy[J]. Mol Cancer, 2015, 14: 208
- [6] Sanderson MJ, Smith I, Parker I, et al. Fluorescence microscopy[J]. Cold Spring Harb Protoc, 2014, 2014(10): pdb.top071795
- [7] de Boer P, Hoogenboom JP, Giepmans BN. Correlated light and electron microscopy: ultrastructure lights up [J]. Nat Methods, 2015, 12(6): 503-513
- [8] Paddock SW. Principles and practices of laser scanning confocal microscopy[J]. Mol Biotechnol, 2000, 16(2): 127-149
- [9] Fasanella V, Agnifili L, Mastropasqua R, et al. In vivo laser scanning confocal microscopy of human meibomian glands in aging and ocular surface diseases[J]. Biomed Res Int, 2016, 2016: 7432131
- [10] Yan D, An G, Kuo MT. C-Jun N-terminal kinase signalling pathway in response to cisplatin[J]. J Cell Mol Med, 2016, Jul 4[Epub ahead of print]
- [11] Alderden RA, Hall MD, Hambley TW. The discovery and development of cisplatin[J]. J Chem Educ, 2006, 83: 728-734
- [12] Fennell DA, Summers Y, Cadranell J, et al. Cisplatin in the modern era: The backbone of first-line chemotherapy for non-small cell lung cancer[J]. Cancer Treat Rev, 2016, 44: 42-50
- [13] Yue Z, Cao Z. Current strategy for cisplatin delivery [J]. Curr Cancer Drug Targets, 2016, 16(6): 480-488
- [14] Mehmood RK. Review of Cisplatin and oxaliplatin in current immunogenic and monoclonal antibody treatments [J]. Oncol Rev, 2014, 8(2): 256
- [15] Zhu H, Luo H, Zhang W, et al. Molecular mechanisms of cisplatin resistance in cervical cancer[J]. Drug Des Devel Ther, 2016, 10:1885-1895
- [16] Zeidan YH, Jenkins RW, Hannun YA. Remodeling of cellular cytoskeleton by the acid sphingomyelinase/ceramide pathway [J]. J Cell Biol, 2008, 181(2): 335-350
- [17] Qu A, Jiang C, Cai Y, et al. Role of Myc in hepatocellular proliferation and hepatocarcinogenesis [J]. J Hepatol, 2014, 60(2): 331-338
- [18] Wang SH, Chang JS, Hsiao JR, et al. Tumour cell-derived WNT5B modulates in vitro lymphangiogenesis via induction of partial endothelial-mesenchymal transition of lymphatic endothelial cells[J]. Oncogene, 2016, Sep 5[Epub ahead of print]
- [19] Hendzel MJ. The F-act's of nuclear actin [J]. Curr Opin Cell Biol, 2014, 28: 84-89
- [20] Khumalo T, Ferreira E, Jovanovic K, et al. Knockdown of LRP/LR induces Apoptosis in Breast and oesophageal cancer cells [J]. PLoS One, 2015, 10(10): e0139584
- [21] Ma K, Zhang C, Huang MY, et al. Crosstalk between Beclin-1-dependent autophagy and caspase dependent apoptosis induced by tanshinone IIA in human osteosarcoma MG-63 cells [J]. Oncol Rep, 2016, 36(4): 1807-1818