

全反式维甲酸联合长春新碱对视网膜母细胞瘤细胞增生的抑制作用

白海霞 李彬 张浩 项晓琳 申令 畅颖

【摘要】 背景 肿瘤细胞对传统化学治疗药物产生耐药性是视网膜母细胞瘤(RB)化学疗法失败的主要原因,如何提高化学治疗药物的敏感性是RB治疗过程中亟待解决的问题,已有研究表明全反式维甲酸(ATRA)能够抑制肿瘤细胞的生长,但其是否能够提高肿瘤细胞对传统化学治疗药物的敏感性尚不清楚。目的 观察 ATRA 联合长春新碱对 SO-RB50 细胞增生的抑制作用。方法 对 SO-RB50 细胞进行常规培养,培养液中分别添加不同浓度的 ATRA 或不同质量浓度的长春新碱,用细胞计数试剂盒-8(CCK-8)法分别测定 ATRA 及长春新碱作用 48 h 后对 SO-RB50 细胞的半数抑制浓度(IC₅₀)。将常规培养的 SO-RB50 细胞分为正常对照组、ATRA 组、长春新碱组和联合用药组,分别将不同药物根据 IC₅₀量添加至培养液进行细胞培养,采用 CCK-8 法于培养后每 24 小时检测细胞增生情况,连续测定 6 d,绘制细胞生长曲线。用流式细胞仪检测各组细胞用药 72 h 后不同细胞周期的比例,annexin V/碘化丙啶(PI)法检测各组药物处理 48 h 后 SO-RB50 细胞的凋亡情况。结果 ATRA 作用于 SO-RB50 细胞的 IC₅₀值为 12.84 μmol/L,长春新碱为 0.11 μg/ml。正常对照组 SO-RB50 细胞生长曲线随着培养时间的延长逐渐上升,但 ATRA 和长春新碱处理后细胞增生曲线平缓,以联合用药组细胞增生量最低,曲线最平缓。药物作用 48 h,正常对照组、ATRA 组、长春新碱组和联合用药组细胞的吸光度(A₄₅₀)分别为 1.078±0.022、0.611±0.038、0.596±0.031 和 0.483±0.030,药物作用 72 h 分别为 1.380±0.021、0.799±0.016、0.668±0.041 和 0.532±0.033,总体比较差异有统计学意义(F_{分组} = 1 115.207, P = 0.000; F_{时间} = 257.781, P = 0.000),ATRA 组、长春新碱组和联合用药组 A₄₅₀值均明显低于正常对照组,差异均有统计学意义(均 P = 0.000)。SO-RB50 细胞经药物处理后 72 h,各组细胞周期发生变化,与正常对照组比较,ATRA 组 G₀/G₁期细胞比例显著增加,S 期细胞百分数显著减少,长春新碱组 G₀/G₁期细胞百分数减少,而 G₂/M 期细胞比例显著增加,总体比较差异有统计学意义(F_{G₀/G₁} = 130.565、F_S = 57.435、F_{G₂/M} = 114.290,均 P < 0.05)。SO-RB50 细胞经药物处理 48 h 后,正常对照组、ATRA 组、长春新碱组及联合用药组细胞的凋亡率分别为(7.17±0.18)%、(27.34±1.36)%、(27.49±2.45)%和(34.50±1.84)%,总体差异有统计学意义(F = 147.555, P < 0.05),联合用药组的细胞凋亡率显著高于正常对照组、ATRA 组和长春新碱组,差异均有统计学意义(均 P = 0.000)。结论 ATRA 可以在一定程度上提高 SO-RB50 细胞对长春新碱治疗的敏感性,2 种药物的联合应用可增强对 SO-RB50 细胞的抑制作用,其作用机制可能与参与细胞周期调控、促进细胞凋亡有关。

【关键词】 全反式维甲酸; 长春新碱; 视网膜母细胞瘤; 增生; 细胞周期; 凋亡

Inhibitory effect of all trans retinoic acid with vincristine on the proliferation of retinoblastoma cells Bai Haixia, Li Bin, Zhang Hao, Xu Xiaolin, Shen Ling, Chang Ying. Beijing Ophthalmology and Visual Science Key Laboratory, Beijing Institute of Ophthalmology, Beijing Tongren Eye Center, Beijing Tongren Hospital, Capital Medical University, Beijing 100005, China

Corresponding author: Li Bin, Email: libin43_99@163.com

【Abstract】 **Background** Drug resistance is the main cause of failure after chemotherapy of retinoblastoma (RB), and how to improve the sensitivity of RB cells to chemotherapeutic drug become an urgent issue. All trans retinoic acid (ATRA) can inhibit the growth of tumor cells. However, whether ATRA increases the sensitivity of RB cells to chemotherapeutic drug is unclear. **Objective** This study aimed to investigate the inhibitory effect of ATRA with

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.05.007

基金项目: 国家自然科学基金项目(81172393)

作者单位: 100005 北京, 首都医科大学附属北京同仁医院 北京同仁眼科中心 北京市眼科研究所 眼科与视觉科学北京市重点实验室(白海霞、李彬、项晓琳、畅颖); 100020 北京, 首都儿科研究所附属儿童医院眼科(张浩); 150001 哈尔滨医科大学附属第二医院眼科(申令)

通信作者: 李彬, Email: libin43_99@163.com

vincristine on the proliferation of SO-RB50 cells. **Methods** SO-RB50 cells were cultured routinely. Different concentrations of ATRA or vincristine were added into the medium for 48 hours for the determination of IC_{50} by cell counting kit-8 (CCK-8) method. Cultured cells were divided into normal control group, ATRA group, vincristine group and combined drug group. The cells were treated by ATRA or vincristine with the dose of IC_{50} , and the proliferation of the cells was detected every day at the 24-hour interval for 6 consecutive days. The percentage of the cells in different cell cycles was analyzed 72 hours after treatment using flow cytometry. Cell apoptosis rate was detected and calculated 48 hours after treatment by annexin V/propidium iodide (PI) method. **Results** The IC_{50} of ATRA was approximately 12.84 $\mu\text{mol/L}$, and that of vincristine was 0.11 $\mu\text{g/ml}$. The growth curve of SO-RB50 cells was gradually raised as the lapse of time, but the curves were relatively low in the ATRA group, vincristine group and combined drug group, with the lowest curve in the combined drug group. The proliferation values of the cells (A_{450}) were 1.078 ± 0.022 , 0.611 ± 0.038 , 0.596 ± 0.031 and 0.483 ± 0.030 in 48 hours after treatment, and those in 72 hours were 1.380 ± 0.021 , 0.799 ± 0.016 , 0.668 ± 0.041 and 0.532 ± 0.033 in normal control group, ATRA group, vincristine group and combined drug group, showing significant differences among the groups and various time points ($F_{\text{group}} = 1115.207, P = 0.000; F_{\text{time}} = 257.781, P = 0.000$). The A_{450} values of the ATRA group, vincristine group and combined drug group were significantly lower than those of normal control group (all at $P < 0.05$). The percentage of the cells in different cell cycles was changed after 72 hours' treatment and the differences were statistically significant ($F_{G_0/G_1} = 130.565, F_S = 57.435; F_{G_2/M} = 114.290, P < 0.05$). Compared with the normal control group, the percentage of G_0/G_1 phase cells was increased and S phase cells was decreased significantly in ATRA group, the percentage of G_0/G_1 phase cells was decreased and G_2/M phase cells was increased significantly in vincristine group ($P < 0.05$). The apoptotic rate of the cells was $(7.17 \pm 0.18)\%$, $(27.34 \pm 1.36)\%$, $(27.49 \pm 2.45)\%$ and $(34.50 \pm 1.84)\%$ in normal control group, ATRA group, vincristine group and combined drug group, with a significant difference among the groups ($F = 147.555, P < 0.05$), and the apoptotic rate in the combined drug group was remarkably lower than that of normal control group, ATRA group and vincristine group (all at $P = 0.000$). **Conclusions** ATRA can improve the sensitivity of SO-RB50 cells to chemotherapeutic drug. The combined application of ATRA and vincristine enhance the inhibitory effect on the cells probably by regulating cell cycle and inducing apoptosis.

[Key words] All trans retinoic acid; Vincristine; Retinoblastoma; Proliferation; Cell cycle; Apoptosis

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 是婴幼儿常见的眼内恶性肿瘤, 占小儿恶性肿瘤的 3% ~ 4%^[1-2], 严重威胁患儿的视力和生命, 发达国家患儿的生存率可达 95%, 而在世界范围内患儿的生存率仅为 50%^[3]。RB 的治疗方法包括手术、化学疗法、放射疗法及其他局部疗法等, 其中化学疗法在 RB 的治疗中发挥至关重要的作用, 但肿瘤细胞对药物产生耐药性是化学疗法失败的主要原因。因此, 寻找更为敏感的化学疗法是研究的热点。全反式维甲酸 (all trans retinoic acid, ATRA) 是常用的促细胞分化剂, 对细胞的增生有明显的抑制作用, 目前已有研究证实 ATRA 可提高肝癌、乳腺癌等多种肿瘤细胞的化学疗法敏感性^[4-5], 但其对 RB 化学疗法敏感性的影响鲜见报道。本实验观察 ATRA 联合长春新碱对 SO-RB50 细胞增生的抑制作用, 探讨 ATRA 是否可提高 RB 对传统药物长春新碱的敏感性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞来源 SO-RB50 细胞株由中山大学中山眼科中心病理室惠赠。细胞在含体积分数 10% 胎牛

血清 (fetal bovine serum, FBS)、质量分数 1% 青链霉素双抗的 RPMI/1640 培养液中进行培养, 培养条件为 37 °C、体积分数 5% CO_2 及饱和湿度, 细胞呈悬浮生长, 取对数生长期的细胞进行实验。

1.1.2 主要试剂及仪器 RPMI/1640 培养基、FBS (美国 Hyclone 公司); 长春新碱 (浙江海正药业公司); ATRA (美国 Sigma 公司); 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8) (日本 Dojindo 公司); 细胞周期检测试剂盒 (杭州联科生物技术有限公司); 细胞凋亡检测试剂盒 (北京四正柏生物科技有限公司)。 CO_2 培养箱 (日本 SANYO 公司); 流式细胞仪 (美国 BD 公司); 酶标仪 (北京普朗新技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 CCK-8 法测定 ATRA 及长春新碱作用于 SO-RB50 细胞的半数抑制浓度 将对数生长期的 SO-RB50 细胞以 5 000/孔均匀接种于 96 孔细胞培养板, 分别加入 2.50、5.00、10.00、20.00 和 40.00 $\mu\text{mol/L}$ ATRA 及 0.005、0.010、0.050、0.100、0.500 和 1.000 $\mu\text{g/ml}$ 不同质量浓度的长春新碱工作液, 每个浓度设立 5 个复孔。培养后 48 h 每孔加入 10 μl CCK-8 试剂, 37 °C 孵育 2 h, 用酶标仪测定 450 nm 波长处的吸光度 (A_{450}) 值。

1.2.2 CCK-8 法检测细胞增生 培养的细胞分为正常对照组(未处理)、ATRA 组、长春新碱组、联合药物组(ATRA 与长春新碱联合作用)。将对数生长期的 SO-RB50 细胞以 $2.5 \times 10^4/\text{ml}$ 的密度均匀接种于 96 孔培养板,每孔 200 μl ,按照分组情况分别在培养液中加入半数抑制浓度(IC_{50})的 ATRA (12.84 $\mu\text{mol/L}$)或长春新碱(0.11 $\mu\text{g/ml}$),每组设立 5 个复孔。采用 CCK-8 法每 24 小时测定 450 nm 波长处各组细胞的 A_{450} 值,连续测定 6 d,每组取平均值,绘制细胞生长曲线。

1.2.3 流式细胞仪检测细胞周期 将对数生长期的 SO-RB50 细胞以 $2.5 \times 10^4/\text{ml}$ 的密度接种于 6 孔培养板,每孔 2 ml,分别加入 IC_{50} 的 ATRA 或长春新碱,作用后 72 h, PBS 洗涤 2 次,离心半径 12 cm, 1 000 r/min 离心 5 min, 各组取 1×10^6 个细胞,用体积分数 70% 乙醇固定,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。PBS 洗涤 1 次,加入 100 μl 缓冲液(含体积分数 0.2% Triton X-100 和 100 $\mu\text{g/ml}$ RNA 酶)于 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育细胞 30 min,再加入 400 μl 碘化丙啶(propidium iodide, PI)染色液,4 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min,流式细胞仪检测不同细胞周期的细胞数并计算细胞比例。

1.2.4 Annexin V/PI 法检测细胞凋亡率 将对数生长期的 SO-RB50 细胞以 $2.5 \times 10^4/\text{ml}$ 的密度接种于 6 孔培养板,每孔 2 ml,分别加入 IC_{50} 的 ATRA 及长春新碱,作用后 48 h, PBS 洗涤 2 次,1 000 r/min 离心 5 min, 各组取 1×10^6 个细胞,加入 100 μl 结合缓冲液重悬细胞,再加入 5 μl PI 和 10 μl Annexin V-FITC,混匀后 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 15 min;加入 400 μl 结合缓冲液,流式细胞仪检测凋亡细胞比率。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件进行统计分析。本研究测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组均数经 Levene 检验方差齐。采用均衡分组多水平实验设计,正常对照组、ATRA 组、长春新碱组和联合药物组在处理不同时间点 A_{450} 值变化的总体差异比较采用区组设计两因素方差分析,组间多重比较采用 SNK- q 检验;4 个组间不同细胞周期细胞百分数及凋亡率的总体差异比较均采用单因素方差分析,组间多重比较采用 SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ATRA 组及长春新碱组作用于 SO-RB50 细胞的 IC_{50} 值

终浓度为 2.50、5.00、10.00、20.00 和 40.00 $\mu\text{mol/L}$ 的 ATRA 分别作用于 SO-RB50 细胞后,细胞增生抑制

率分别为 8.56%、31.21%、49.87%、65.02% 和 70.02%, ATRA 作用于 SO-RB50 细胞的 IC_{50} 值为 12.84 $\mu\text{mol/L}$ (图 1)。终质量浓度为 0.005、0.010、0.050、0.100、0.500 和 1.000 $\mu\text{g/ml}$ 的长春新碱分别作用于 SO-RB50 细胞后,细胞增生抑制率分别为 12.51%、22.58%、39.72%、53.69%、67.00% 和 73.92%,长春新碱作用于 SO-RB50 细胞的 IC_{50} 值为 0.11 $\mu\text{g/ml}$ (图 2)。

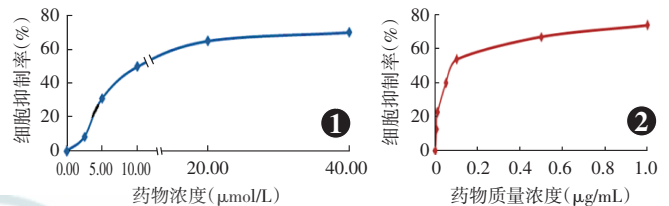


图 1 不同浓度 ATRA 作用于 SO-RB50 细胞 48 h 的细胞抑制率曲线 图 2 不同质量浓度长春新碱作用 48 h SO-RB50 细胞的抑制率曲线

2.2 CCK-8 法检测各组细胞增生情况

ATRA 及长春新碱分别处理 SO-RB50 细胞 6 d,正常对照组细胞的生长曲线随着时间延长逐渐升高,各药物作用组细胞生长曲线较正常对照组低平,联合用药组细胞的生长曲线最低(图 3)。药物处理后 48 h,正常对照组、ATRA 组、长春新碱组和联合用药组细胞 A_{450} 值分别为 1.078 ± 0.022 、 0.611 ± 0.038 、 0.596 ± 0.031 和 0.483 ± 0.030 ,药物处理后 72 h A_{450} 值分别为 1.380 ± 0.021 、 0.799 ± 0.016 、 0.668 ± 0.041 和 0.532 ± 0.033 ,总体比较差异均有统计学意义($F_{\text{分组}} = 1115.207, P = 0.000; F_{\text{时间}} = 257.781, P = 0.000$),药物处理后 48 h 联合用药组细胞 A_{450} 值较正常对照组、ATRA 组及长春新碱组明显降低,差异均有统计学意义(均 $P = 0.000$);药物处理后 72 h,联合用药组细胞的 A_{450} 值较正常对照组、ATRA 组及长春新碱组均明显降低,差异均有统计学意义(均 $P = 0.000$)。

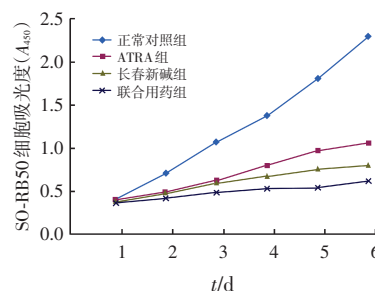


图 3 各组 SO-RB50 细胞的生长曲线 各药物作用组细胞生长曲线均低于正常对照组,以联合用药组最低 ATRA: 全反式维甲酸

2.3 不同药物作用后 72 h 各细胞周期 SO-RB50 细胞的比例

不同药物处理 SO-RB50 细胞 72 h 后, G₀/G₁ 期、S 期、G₂/M 期细胞比例的变化均有统计学意义 ($F = 130.565, 57.435, 114.290$, 均 $P < 0.05$)。与正常对照组相比, ATRA 组 G₀/G₁ 期细胞比例显著增加, S 期细胞比例显著减少, 差异均有统计学意义 (均 $P = 0.000$)。长春新碱组 G₀/G₁ 期细胞比例减少, G₂/M 期细胞百分数显著增加, 差异均有统计学意义 ($P = 0.002, 0.000$)。联合用药组与长春新碱组间各期细胞比例的差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (表 1, 图 4)。

表 1 不同药物作用后 72 h 各细胞周期 SO-RB50 细胞比例 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	样本量	不同周期的细胞百分数		
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
正常对照组	3	75.807±0.725	15.940±0.637	7.920±0.304
ATRA 组	3	87.450±2.223 ^a	5.873±1.400 ^a	6.680±0.944
长春新碱组	3	71.270±0.140 ^{ab}	14.513±0.896 ^b	14.213±0.803 ^{ab}
联合用药组	3	69.373±0.748 ^{ab}	15.523±1.254 ^b	15.103±0.555 ^{ab}
<i>F</i>		130.565	57.435	114.290
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

注: 与各自的正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与各自 ATRA 组比较, ^b $P < 0.05$ (单因素方差分析, SNK-*q* 检验) ATRA: 全反式维甲酸

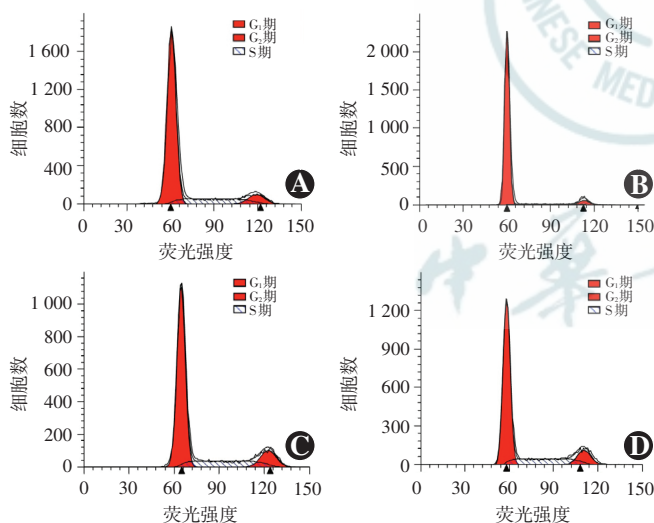


图 4 不同药物作用 72 h 各细胞周期 SO-RB50 细胞数 A: 正常对照组 B: ATRA 组 C: 长春新碱组 D: 联合用药组

2.4 不同药物作用 48 h SO-RB50 细胞的凋亡率

不同药物处理 SO-RB50 细胞 48 h, 正常对照组、ATRA 组、长春新碱组及联合用药组细胞的凋亡率分别为 $(7.17 \pm 0.18)\%$ 、 $(27.34 \pm 1.36)\%$ 、 $(27.49 \pm 2.45)\%$ 和 $(34.50 \pm 1.84)\%$, 总体差异有统计学意义 ($F = 147.555, P < 0.05$)。ATRA 组、长春新碱组、联合用药组的细胞凋亡率均显著高于正常对照组, 差异均有统计学意义 (均 $P = 0.000$)。联合用药组细胞凋亡

率显著高于 ATRA 组及长春新碱组, 差异均有统计学意义 ($P = 0.001$), 而 ATRA 组与长春新碱组细胞凋亡率的差异无统计学意义 ($P = 0.918$) (图 5, 6)。

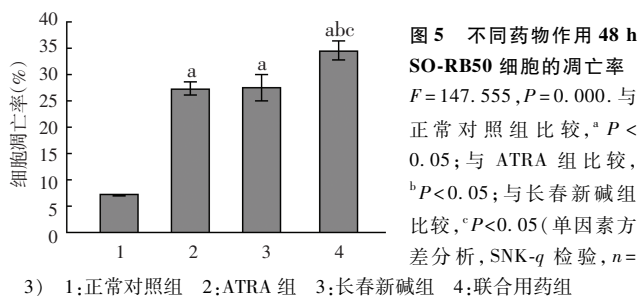


图 5 不同药物作用 48 h SO-RB50 细胞的凋亡率 $F = 147.555, P = 0.000$ 。与正常对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 ATRA 组比较, ^b $P < 0.05$; 与长春新碱组比较, ^c $P < 0.05$ (单因素方差分析, SNK-*q* 检验, $n =$

3) 1: 正常对照组 2: ATRA 组 3: 长春新碱组 4: 联合用药组

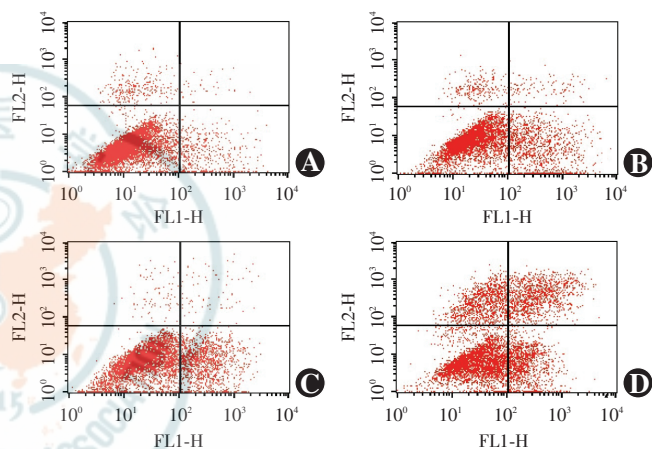


图 6 不同药物作用 48 h SO-RB50 细胞的流式细胞图 A: 正常对照组 B: ATRA 组 C: 长春新碱组 D: 联合用药组

3 讨论

近年来, RB 的治疗目标已从保护患儿生命转向提高患儿的生存质量^[6], 中国也逐渐以保守治疗的理念取代眼球摘除为主的治疗模式^[7]。化学疗法在很大程度上提高了 RB 的眼球保留率^[8-9], 但肿瘤细胞对传统化学治疗药物产生耐药性的问题成为治疗失败的主要原因。寻找有效的化疗增敏剂是目前的研究热点。

已有研究报道 ATRA 能够提高多种肿瘤的化疗法敏感性。Zhang 等^[4]通过体内外实验证明 ATRA 可诱导肝癌干细胞的分化, 增强肿瘤细胞对药物顺铂的敏感性。Arrieta 等^[10]在 II 期临床试验中发现, ATRA 联合顺铂、紫杉醇可提高晚期非小细胞肺癌患者的疗效。Bryan 等^[11]研究表明, ATRA 联合紫杉醇可使复发或转移性乳腺癌得到中等程度的缓解, 且患者能较好地耐受。本实验探究 ATRA 对 RB 经典化学治疗药物长春新碱作用敏感性的影响, 结果显示二者联合应用对 SO-RB50 细胞增生的抑制作用和促凋亡作用强于单独使用长春新碱者, 说明 ATRA 可以在一定程度

上提高 SO-RB50 细胞对长春新碱的敏感性。

ATRA 是维生素 A 的代谢产物,可以与细胞中相应受体结合以调控基因表达,进而抑制细胞增生并促进细胞分化^[12]。已有研究证明 ATRA 可以抑制白血病、神经母细胞瘤、胶质瘤等多种肿瘤细胞的增生^[13-15],在 RB 中也不例外^[16-17]。本实验用 CCK-8 法证实 ATRA 可抑制细胞增生,ATRA 作用后 G₀/G₁ 期 SO-RB50 细胞显著增加,S 期细胞显著减少,ATRA 将细胞阻滞于 G₀/G₁ 期而使细胞增生减慢,与张浩等^[18]的报道一致。长春新碱属于细胞有丝分裂抑制剂,通过与微管蛋白特异性结合阻止微管的形成,使有丝分裂的细胞停滞在分裂中期。本实验中显示,长春新碱处理 SO-RB50 细胞后 G₀/G₁ 期细胞显著减少,G₂/M 期细胞显著增加,这与 Tu 等^[19]的研究中发现长春新碱对神经母细胞瘤细胞的周期阻滞现象相符。长春新碱引起的细胞周期改变与其作用机制有关。ATRA 与长春新碱分别针对不同时期的细胞,可以发挥抑制细胞增生的协同作用。此外,本实验发现 ATRA 作用后细胞凋亡率增加,提示 ATRA 可能通过诱导凋亡而抑制细胞增生。

综上所述,本研究通过体外实验证实 ATRA 可以提高 SO-RB50 细胞对长春新碱治疗的敏感性,为探索 RB 新的联合用药方案提供了一定的理论依据。调控细胞周期和诱导细胞凋亡可能是其中的机制之一,是否还存在其他作用机制还有待进一步研究。

参考文献

- Villegas VM, Hess DJ, Wildner A, et al. Retinoblastoma [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2013, 24(6) : 581-588. doi:10.1097/ICU.000000000000002.
- MacCarthy A, Draper GJ, Steliarova-Foucher E, et al. Retinoblastoma incidence and survival in European children (1978-1997). Report from the Automated Childhood Cancer Information System project [J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(13) : 2092-2102.
- Shields CL, Shields JA. Diagnosis and management of retinoblastoma [J]. *Cancer Control*, 2004, 11(5) : 317-327.
- Zhang Y, Guan DX, Shi J, et al. All-trans retinoic acid potentiates the chemotherapeutic effect of cisplatin by inducing differentiation of tumor initiating cells in liver cancer [J]. *J Hepatol*, 2013, 59(6) : 1255-1263. doi:10.1016/j.jhep.2013.07.009.
- Wang Q, Yang W, Uyttingco MS, et al. 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ and all-trans-retinoic acid sensitize breast cancer cells to chemotherapy-induced cell death [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(7) : 2040-2048.
- Shields CL, Shields JA. Retinoblastoma management: advances in enucleation, intravenous chemoreduction, and intra-arterial chemotherapy [J]. *Curr Opin Ophthalmol*, 2010, 21(3) : 203-212. doi:10.1097/ICU.0b013e328338676a.
- 李彬, 任若瑾. 视网膜母细胞瘤的综合治疗策略 [J]. *中华眼底病杂志*, 2009, 25(2) : 81-84. doi:10.3760/cma.j.issn.1005-1015.2009.02.001.
- Shields CL, Fulco EM, Arias JD, et al. Retinoblastoma frontiers with intravenous, intra-arterial, periocular, and intravitreal chemotherapy [J]. *Eye (Lond)*, 2013, 27(2) : 253-264. doi:10.1038/eye.2012.175.
- Abramson DH. Chemosurgery for retinoblastoma: what we know after 5 years [J]. *Arch Ophthalmol*, 2011, 129(11) : 1492-1494. doi:10.1001/archophthalmol.2011.354.
- Arrieta O, González-De la Rosa CH, Aréchaga-Ocampo E. Randomized phase II trial of all-trans-retinoic acid with chemotherapy based on paclitaxel and cisplatin as first-line treatment in patients with advanced non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2010, 28(21) : 3463-3471. doi:10.1200/JCO.2009.26.6452.
- Bryan M, Pulte ED, Toomey KC. A pilot phase II trial of all-trans retinoic acid (Vesanoic) and paclitaxel (Taxol) in patients with recurrent or metastatic breast cancer [J]. *Invest New Drugs*, 2011, 29(6) : 1482-1487. doi:10.1007/s10637-010-9478-3.
- Samarut E, Rochette-Egly C. Nuclear retinoic acid receptors: conductors of the retinoic acid symphony during development [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2012, 348(2) : 348-360. doi:10.1016/j.mce.2011.03.025.
- 许培权, 龚建平. 全反式维甲酸对 HL-60 细胞分化和凋亡的影响 [J]. *癌症*, 2004, 23(2) : 118-123.
- Andres D, Keyser BM, Petrali J, et al. Morphological and functional differentiation in BE(2)-M17 human neuroblastoma cells by treatment with Trans-retinoic acid [J]. *BMC Neurosci*, 2013, 14 : 49. doi:10.1186/1471-2202-14-49.
- Shi Z, Lou M, Zhao Y, et al. Effect of all-trans retinoic acid on the differentiation of U87 glioma stem/progenitor cells [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2013, 33(7) : 943-951. doi:10.1007/s10571-013-9960-5.
- 郭慧丽, 郭希让, 丁体英, 等. 全反式维生素 A 酸对抑制视网膜母细胞瘤增殖的实验研究 [J]. *中华眼科杂志*, 2004, 40(4) : 272-273.
- 李立, 唐罗生. 全反式维甲酸诱导的 Cx43 基因在 RB 细胞中的过表达及其对 RB 生长的抑制作用 [J]. *中华实验眼科杂志*, 2014, 32(10) : 910-915. doi:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2014.10.011.
- 张浩, 颜建华, 李永平, 等. 全反式维甲酸对视网膜母细胞瘤细胞增殖和分化影响的实验研究 [J]. *中华眼科杂志*, 2008, 44(6) : 549-553.
- Tu Y, Cheng S, Zhang S, et al. Vincristine induces cell cycle arrest and apoptosis in SH-SY5Y human neuroblastoma cells [J]. *Int J Mol Med*, 2013, 31(1) : 113-119. doi:10.3892/ijmm.2012.1167.

(收稿日期:2015-01-19)

(本文编辑:尹卫靖 杜娟)

读者·作者·编者

本刊对论文中关键词的著录要求

本刊投稿的论文请分别在中英文摘要下方标引 3~5 个关键词以便于编制文献索引。关键词应选取能反映文章主题概念的词或词组,中英文关键词应一致。投稿作者可登陆 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh> 或 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=mesh> 网站从美国国立医学图书馆的 MeSH 数据库中选取关键词,其中文译名可参照中国医学科学院信息研究所编译的《医学主题词注释字顺表》。未被词表收录的新的专业术语(自由词)可直接作为关键词使用,但应排序在最后。中医药关键词应从中国中医科学院中医药信息研究所编写的《中医药主题词表》中选取。关键词中的缩写词应按《医学主题词注释字顺表》还原为全称,各关键词之间用“;”分隔。

(本刊编辑部)