

不同浓度哇巴因对白血病细胞增殖的影响

徐佳伟, 金润铭, 王艳荣, 林雯, 蒙冰

(华中科技大学同济医学院附属协和医院儿科, 湖北 武汉 430022)

[摘 要] 目的 近年来研究表明钠钾 ATP 酶通过与强心甙类固醇(CTS)特异性结合,可激活细胞内一系列信号级联反应,调节细胞的增殖与凋亡。该研究通过检测不同浓度的哇巴因对多种白血病细胞株增殖的影响,进一步探讨白血病的发病机制及钠钾 ATP 酶作为信号转导体的功能效应以及其在细胞增殖调控过程中的作用。方法采用 MTT 方法检测不同浓度的哇巴因(1 nmol/L、10 nmol/L)在不同作用时间(6 h、12 h、24 h)下对多种白血病细胞株增殖的作用,Western blot 检测白血病细胞株钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位表达水平的变化情况。结果 MTT 结果表明 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因可促进急性淋巴细胞白血病细胞株 B95、Jhhan 与巨核系白血病 M07e、Meg01 细胞株增殖,Western blot 结果显示 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因可使钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位表达升高。与空白对照组相比,1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因作用 24 h 时细胞增殖程度与钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位表达升高,差异具有显著性($P < 0.05$)。细胞增殖作用与哇巴因浓度与孵育时间成正比。结论 钠钾 ATP 酶具有信号传导功能,它能通过与哇巴因结合调节多种不同来源白血病细胞株的增殖。1 nmol/L 与 10 nmol/L 的哇巴因可促进白血病细胞株 B95、Jhhan、M07e、Meg01 增殖,增殖效应与哇巴因浓度与孵育时间呈正比。 [中国当代儿科杂志,2009,11(4):259-262]

[关键词] 哇巴因;钠钾 ATP 酶;细胞增殖;增殖调控;白血病细胞株
[中图分类号] R733.7 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2009)04-0259-04

Effects of ouabain at different concentrations on growth of leukemia cells

XU Jia-Wei, JIN Run-Ming, WANG Yan-Rong, LIN Wen, MENG Bing. Department of Pediatrics, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China (Jin R-M, Email: jinrunm@public.wh.hb.cn)

Abstract: Objective Cardiotonic steroids (CTS) can bind to Na^+ , K^+ -ATPase to activate complex intracellular signaling cascades regulating the proliferation and apoptosis of cells. The aim of this study was to investigate the effects of ouabain at different concentrations on growth regulation in various kinds of leukemia cell lines and explore the pathogenesis of leukemia, the functions of Na^+ , K^+ -ATPase as a signal transduction conductor and its effects on cell growth. **Methods** Using the MTT assay, the survival rates of leukemia cell lines were observed 6, 12 and 24 hrs after treatment with 1 or 10 nmol/L ouabain. The expression of Na^+ , K^+ -ATPase $\alpha 1$ subunit of leukemia cells was detected by Western blot. **Results** The MTT results showed that ouabain at 1 nmol/L or 10 nmol/L induced proliferation of lymphocytic leukemia B95 and Jhhan cell lines, as well as megakaryocytic leukemia M07e and Meg01 cell lines. Ouabain at 1 nmol/L or 10 nmol/L increased the expression of Na^+ , K^+ -ATPase $\alpha 1$ subunit. There were significant differences in the proliferation and the expression of Na^+ , K^+ -ATPase $\alpha 1$ subunit of the leukemia cell lines between the ouabain treatment and the blank control groups 24 hrs after ouabain treatment ($P < 0.05$). The proliferation effect of leukemia cell lines was in a direct proportion with the ouabain concentration and incubation time. **Conclusions** Na^+ , K^+ -ATPase plays an important role in signal transductions. Through binding to ouabain, Na^+ , K^+ -ATPase may regulate proliferation of leukemia cell lines of different origins. Ouabain at 1 nmol/L or 10 nmol/L may induce proliferation of lymphocytic leukemia cell lines (B95, Jhhan) and megakaryocytic leukemia cell lines (M07e, Meg01), and the proliferation effect was in a direct proportion with the concentration and incubation time of ouabain. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11 (4):259-262]

Key words: Ouabain; Na^+ , K^+ -ATPase; Cell proliferation; Proliferation regulation; Leukemia cell line

强心甙类固醇(cardiotonic steroids, CTS)包括动物来源的布法林与植物来源的哇巴因、夹竹桃甙等,是一类能与真核细胞膜钠钾 ATP 酶特异性结合的化学物质^[1]。CTS 具有调节水钠代谢、血管收缩和心肌收缩等重要的生理功能,多年以来一直用于治疗充血性心力衰竭与心律失常等疾病。近年来研究发现纳摩尔范围(≤ 10 nmol/L)的 CTS 如夹竹桃甙与布法林等能够促进细胞增殖以及分化,并且能保

[收稿日期]2008-07-15;[修回日期]2008-08-22
[作者简介]徐佳伟,男,博士研究生。主攻方向:小儿血液系统疾病。
[通讯作者]金润铭,男,教授,主任医师,华中科技大学同济医学院附属协和医院儿科,邮编:430022。

护正常细胞和一些肿瘤细胞不产生凋亡,也有报道证实一些疏水性的 CTS 在非常低的浓度条件下就能导致一些肿瘤细胞凋亡或者死亡,然而高浓度 ($>10\text{ nmol/L}$) 的布法林或夹竹桃甙则能导致白血病细胞或其他肿瘤细胞发生凋亡^[2]。即 CTS 对肿瘤细胞具有促进增殖和诱导凋亡的双重效应,但目前对 CTS 促进细胞增殖与诱导凋亡的机制尚未完全明确。本实验以不同起源的白血病细胞株为研究对象,研究不同浓度哇巴因对各种白血病细胞株增殖的影响,为进一步明确白血病发病机制及钠钾 ATP 酶调控细胞增殖效应提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

四甲基偶氮唑盐 (MTT) 购于 Sigma 公司,新生牛血清、IMDM 培养基购于 Gibco 公司。抗钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位单克隆抗体 ($\alpha 6F$) (The Developmental Studies Hybridoma Bank at the University of Iowa)、HRP 偶联羊抗小鼠二抗、HRP 偶联羊抗兔二抗 (SantaCruz 公司产品)、Whatman 3MM 滤纸、Whatman NC 膜以及 ECL 底物增强发光试剂盒 (Pierce 公司产品) 均由美国俄亥俄医科大学药理系谢子健教授惠赠。

1.2 白血病细胞株的体外培养

急性 B 淋巴细胞白血病细胞株 B95, 急性 T 淋巴细胞白血病细胞株 Jhhan, 巨核细胞白血病细胞株 M07e, Meg01 由香港大学杨默教授惠赠。B95, Jhhan, Meg01 细胞在含 10% Gibco 新生牛血清 (NCS) 的 IMDM 中常规培养, M07e 必须在上述培养液中加入 $10\text{ }\mu\text{g/L}$ TPO。培养条件为 5% CO_2 , 37°C , 饱和湿度。所有实验细胞均取自于对数生长期, 台盼蓝拒染率均在 95% 以上。

1.3 方法

1.3.1 MTT 方法检测细胞增殖率 取对数生长期细胞, $1\text{ }000\text{ r/min}$ 离心 10 min 收集细胞, 用无血清培养基洗细胞一次, 调整细胞密度为 $1\times 10^5/\text{mL}$ 接种于 96 孔板, 首先进行无血清培养 24 h 然后再按下列分组加入不同浓度的哇巴因。培养细胞分为 7 组: 第 1 组 (空白对照组) 不加哇巴因; 第 2~4 组加入终浓度为 1 nmol/L 的哇巴因, 孵育时间分别为 6, 12, 24 h ; 第 5~7 组加入终浓度为 10 nmol/L 的哇巴因, 孵育时间分别为 6, 12, 24 h 。分别在孵育结束后, 每孔加入 MTT (5 g/L) $20\text{ }\mu\text{L}$, 继续孵育 4 h , 离心弃上清, 加入二甲亚砜 (DMSO) $150\text{ }\mu\text{L}$, 振荡 10 min

后, 使用酶标仪测定 492 nm 处吸光度 OD 值。细胞增殖率公式为: 增殖率 (%) = (实验组 OD 值 - 空白对照组 OD 值 / 阴性对照组 OD 值) $\times 100\%$ 。每组设 3 个复孔, 以未加哇巴因的培养细胞与无细胞的培养液作为空白对照和阴性对照。

1.3.2 钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位的 Western blot 检测 细胞分组同前, 取各组细胞约 5×10^6 个, 离心收集细胞, 用预冷 PBS 缓冲液洗细胞后离心去上清, 加入裂解缓冲液 [含 50 mmol/L Tris-HCl ($\text{pH } 7.4$), 1% NP-40, 0.25% 脱氧胆酸钠, 150 mmol/L 氯化钠, 1 mmol/L 正钒酸钠, 1 mmol/L 氟化钠, 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L PMSF, 10 mg/mL 抑肽酶] $200\text{ }\mu\text{L}$, 置冰上裂解 30 min , $13\text{ }000\text{ r/min}$ 离心 20 min , 取上清, Bradford 法测蛋白浓度, 每份样品取 $60\text{ }\mu\text{g}$ 蛋白进行 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 并转至硝酸纤维素膜上, 经 5% 脱脂奶粉封闭后, 加入一抗 $\alpha 6F$, 4°C 过夜。然后加入二抗 HRP 偶联羊抗小鼠多克隆抗体孵育 1 h , 加 ECL 反应体系曝光显影, 条带用 MGIAS-1000 凝胶成像系统扫描计算条带面积。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 12.0 统计软件进行数据分析, 所有数据均以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两两均数比较采用 t 检验, 自身前后比较用配对 t 检验。 $P < 0.05$ 被认为差异具有显著性。

2 结果

2.1 各组白血病细胞增殖率

1 nmol/L , 10 nmol/L 哇巴因对 B95, Jhhan, M07e 及 Meg01 等白血病细胞株均有促增殖作用, 该促增殖作用与哇巴因作用浓度及孵育时间呈正比。与空白对照组相比, 1 nmol/L , 10 nmol/L 哇巴因孵育 24 h 实验组促白血病细胞增殖效应最为显著 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。在同样孵育时间条件下, 哇巴因 10 nmol/L 实验组增殖率高于哇巴因 1 nmol/L 实验组 ($P < 0.05$, 表 1)。

2.2 各组钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位的表达情况

B95, Jhhan, M07e, Meg01 白血病细胞株钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位蛋白表达量采用 Western blot 检测确定, 以相应条带面积与 β -actin 条带面积的比值来表示。未经处理的 B95, Jhhan, M07e, Meg01 白血病细胞株均有钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位表达, 经 1 nmol/L , 10 nmol/L 哇巴因处理后, 各种白血病细胞株钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位蛋白表达量均增加。与空白对照组相比, 1 nmol/L , 10 nmol/L 哇巴因 24 h

实验组细胞株钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位蛋白表达量差异有显著性 ($P < 0.05$)。而且在哇巴因同样孵育时

间条件下,哇巴因 10 nmol/L 实验组增殖率高于哇巴因 1 nmol/L 实验组 ($P < 0.05$), (图 1 ~ 4)。

表 1 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因分别孵育 6 h、12 h、24 h 后的白血病细胞株增殖率的比较 ($\bar{x} \pm s$)

细胞种类	空白对照组	哇巴因 (1 nmol/L) 组			哇巴因 (10 nmol/L) 组		
		6 h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h
B95	20.5 $\pm$ 1.1	27.7 $\pm$ 0.5	34.1 $\pm$ 1.7	39.8 $\pm$ 2.1 ^a	31.8 $\pm$ 1.2	37.6 $\pm$ 0.6	45.2 $\pm$ 0.5 ^{b,c}
Jhhan	16.7 $\pm$ 0.8	20.3 $\pm$ 0.4	25.3 $\pm$ 0.9	28.0 $\pm$ 1.1 ^a	24.2 $\pm$ 0.5	29.6 $\pm$ 0.1	33.8 $\pm$ 0.7 ^{b,c}
M07e	11.9 $\pm$ 1.7	20.5 $\pm$ 0.7	22.4 $\pm$ 1.1	25.7 $\pm$ 1.0 ^a	22.5 $\pm$ 0.9	25.9 $\pm$ 0.1	29.7 $\pm$ 0.7 ^{b,c}
Meg01	14.6 $\pm$ 0.5	16.8 $\pm$ 0.6	19.7 $\pm$ 1.2	24.8 $\pm$ 1.5 ^a	19.3 $\pm$ 1.0	23.9 $\pm$ 0.8	29.8 $\pm$ 0.5 ^{b,c}

a: 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b: 与空白对照组比较, $P < 0.01$; c: 与哇巴因 1 nmol/L 实验组比较, $P < 0.05$

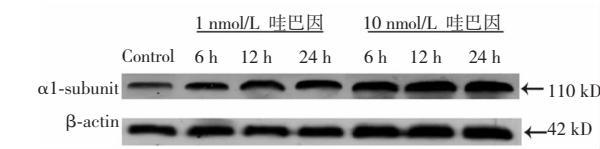


图 1 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因对 B95 白血病细胞株钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位蛋白表达的影响 哇巴因 1 nmol/L 组与对照组相比, $P < 0.05$; 10 nmol/L 哇巴因组较 1 nmol/L 组表达量明显增高, $P < 0.05$ 。

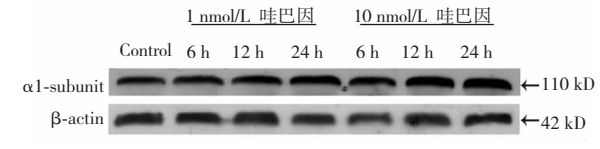


图 2 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因对 Jhhan 白血病细胞株钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位蛋白表达的影响 1 nmol/L 哇巴因组、10 nmol/L 哇巴因组与对照组相比, $P < 0.05$; 10 nmol/L 组较 1 nmol/L 组蛋白表达量明显增高, $P < 0.05$ 。

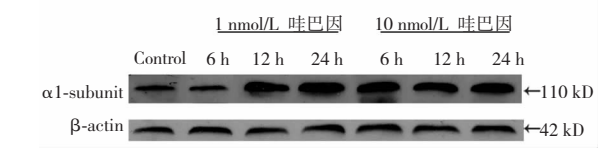


图 3 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因对 M07e 白血病细胞株钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位蛋白表达的影响 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因组与对照组相比, $P < 0.05$; 10 nmol/L 哇巴因蛋白表达明显高于 1 nmol/L 组, $P < 0.05$ 。

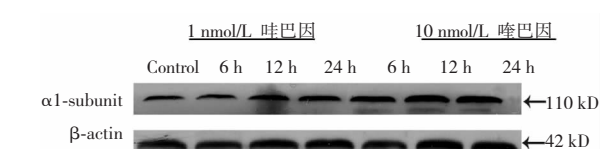


图 4 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因对 Meg01 白血病细胞株钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位蛋白表达的影响 1 nmol/L、10 nmol/L 哇巴因组与对照组相比, $P < 0.05$; 10 nmol/L 组较 1 nmol/L 组表达量明显增高, $P < 0.05$ 。

3 讨论

CTS 是一种特异性的钠钾 ATP 酶抑制剂, 它可与钠钾 ATP 酶的 α 亚单位特异性结合而阻断其离子泵功能, 导致细胞内 Ca^{2+} 浓度升高, 具有改善心肌收缩力与心脏泵功能等作用。近年来研究发现 CTS 除了强心等作用外, 还对肿瘤细胞的增殖与凋亡具有调节作用, 因此有学者认为 CTS 将可以用作肿瘤化疗的辅助治疗^[3]。目前国内外的研究证实纳摩尔范围 (≤ 10 nmol/L) 的 CTS 如夹竹桃甙与布法林等能够促进细胞增殖以及分化, 并且能保护正常细胞和一些肿瘤细胞不产生凋亡, 同时也有报道证实一些疏水性的 CTS 在非常低的浓度条件下就能导致一些肿瘤细胞凋亡或者死亡。然而高浓度 ($\geq 0.1 \mu\text{mol/L}$) 的布法林或夹竹桃甙则能导致白血病细胞或其他肿瘤细胞发生凋亡^[4]。但目前 CTS 促进细胞增殖与诱导凋亡的机制尚未完全明确。

目前通过研究证实肿瘤细胞如人类粒系白血病细胞株 HL-60, U937, K562 对 CTS 比较敏感, 低浓度 (≤ 10 nM) 的 CTS 可促进这些细胞增殖与分化, 但在高浓度 ($\geq 0.1 \mu\text{mol/L}$) CTS 则使这些细胞凋亡。我们以急性淋巴细胞白血病来源与巨核细胞白血病来源的细胞株作为研究对象, 通过使用低浓度的哇巴因 (1 nmol/L、10 nmol/L) 观察不同作用时间段 (6, 12, 24 h) 对不同白血病细胞株增殖的影响, 结果显示这些白血病细胞株均对低浓度的哇巴因敏感, 1 nmol/L 与 10 nmol/L 哇巴因作用下均表现出细胞增殖的趋势, 增殖效应与哇巴因作用时间成正比, 此研究结果与国外在其他细胞株检测报道的结果一致^[5]。

钠钾 ATP 酶 (也称钠泵) 作为离子通道蛋白, 其基本功能为维持细胞膜内外的 Na^+ , K^+ 浓度梯度, 稳定胞内 pH 值及 Ca^{2+} 水平, 驱动 Na^+ 依赖性的葡萄糖和氨基酸的继发性转运, 对维持细胞正常生理状态起非常重要的作用^[6]。近年来研究还发现, 钠

钾 ATP 酶除了离子泵功能外,还具有介导信号转导的功能,在调控基因表达、激活信号通路、调节细胞增殖分化与凋亡等方面具有重要的作用^[7]。钠钾 ATP 酶介导信号转导的功能主要通过 CTS 特异性结合而实现。其主要作用机制包括以下几点:一是哇巴因能激活 L 型电压依赖性的钙离子通道,使钙离子流入细胞内,导致 $[Ca^{2+}]_i$ 升高,并激活 MAPK,使得线粒体释放活性氧(reactive oxygen species, ROS)增加。而 ROS 与 Ca^{2+} 作为第二信使,在细胞的分裂、分化及凋亡中发挥重要的作用。ROS 释放增加还可激活 NF- κ B,后者能使肿瘤细胞增殖分化而避免发生凋亡;二是钠钾 ATP 酶可与 Src 激酶形成一种功能性复合体,当钠钾 ATP 酶与哇巴因结合后,使 Src 的激酶结构域从中释放出来并使之活化,钠钾 ATP 酶/Src 信号复合体的活化,导致多种蛋白酪氨酸磷酸化,进一步激活下游信号如 Ras/Raf/ERK1/2。而 ERK1/2 的激活与磷脂酶 C(PLC)能够与 Ca^{2+} 升高和 ROS 的释放产生协同效应,进一步使细胞增殖;三是哇巴因结合钠钾 ATP 酶后可激活蛋白激酶 C(PKC)并使 Src 活化,导致上皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)酪氨酸磷酸化,进而进一步激活 ERK1/2 与 Ras 等信号通路,使细胞增殖^[8,9]。

钠钾 ATP 酶是由具有催化作用的 α 亚单位与具有调节作用的 β 亚单位所组成。 α 亚单位有 4 种亚型,其中 $\alpha 1$ 分布最广,存在于大部分细胞中^[10]。我们的实验结果进一步证实了钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位在不同来源的白血病细胞株中均有表达。低浓度的哇巴因可诱导多种白血病细胞增殖,也使钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位表达相应升高,此正效应关系提示钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位在白血病细胞增殖方面扮演了重要的角色,其机制不是离子泵效应而是通过细胞信号转导实现的,此进一步证实了钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位具有传导细胞外信号的功能。最近 Mijatovic^[11] 在人非小细胞性肺癌细胞株中发现钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位与肿瘤细胞增殖密切相关,该项研究结果显示钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位高表达的人非小细胞性肺癌细胞对一些 CTS 敏感,这些 CTS 可以明显改变肌动蛋白和细胞骨架的结构,而导致细胞恶性增殖。这项研究还证明了在组织细胞中钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位的表达量并不是静止不变的,而是随着由细胞由良性转变成恶性而发生改变。Sakai^[12] 最近研究发现在结肠组织恶变的同时伴随钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位和 $\alpha 3$ 亚单位表达分别降低与升高。这些研究结果都证实了哇巴因在诱导细胞

增殖中的作用与钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位的表达水平密切相关。根据组织细胞来源或钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位的表达量不同,哇巴因对细胞的作用效应也有不同,它可以促进细胞增殖也可以诱导细胞凋亡。

自 1957 年由 Skou^[13] 发现钠钾 ATP 酶具有离子泵功能以来,近年来越来越多的研究证实了这个广泛存在于各种组织细胞的酶具有非常重要的信号转导功能。本研究结果也进一步证实了钠钾 ATP 酶 $\alpha 1$ 亚单位在多种白血病细胞株增殖过程中出现表达量升高。但相同浓度的 CTS 为何对不同组织来源的肿瘤细胞有不同的作用,这些问题需要进一步的研究来阐明。

[参 考 文 献]

- [1] Dmitrieva RI, Doris PA. Cardiotonic steroids: potential endogenous sodium pump ligands with diverse function [J]. *Exp Biol Med*, 2002, 227(8):561-569.
- [2] Ramirez OM, Maldonado LV, Melendez ZJ, Carrillo JF, Pastelín HG, Picazo PO, et al. Proliferation and apoptosis of HeLa cells induced by in vitro stimulation with digitalis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2006, 534(1):71-76.
- [3] Newman RA, Yang P, Pawlus AD, Block KI. Cardiac glycosides as novel cancer therapeutic agents [J]. *Mol Interv*, 2008, 8(1):36-49.
- [4] Manna SK, Sah NK, Newman RA, Cisneros A, Aggarwal BB. Oleandrin suppresses activation of nuclear transcription factor- κ B, activator protein-1 and c-Jun NH2-terminal kinase [J]. *Cancer Res*, 2000, 60(14):3838-3847.
- [5] Golden WC, Martin LJ. Low-dose ouabain protects against excitotoxic apoptosis and up-regulates nuclear Bcl-2 in vivo [J]. *Neuroscience*, 2006, 137(1):133-144.
- [6] Liu J, Tian J, Haas M, Shapiro JJ, Askari A, Xie ZJ. Ouabain interaction with cardiac Na^+/K^+ -ATPase initiates signal cascades independent of changes in intracellular Na^+ and Ca^{2+} concentrations [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(36):27838-27844.
- [7] Schoner W, Scheiner-Bobis G. Endogenous and exogenous cardiac glycosides: their roles in hypertension, salt metabolism, and cell growth [J]. *Am J Physiol Cell Physiol*, 2007, 293(2):C509-536.
- [8] Haas M, Askari A, Xie Z. Involvement of Src and epidermal growth factor receptor in the signal-transducing function of Na^+ , K^+ -ATPase [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(36):27832-27837.
- [9] Tian J, Cai T, Yuan ZK, Wang HJ, Liu LJ, Haas M, et al. Binding of Src to Na^+/K^+ -ATPase forms a functional signaling complex [J]. *Mol Biol Cell*, 2006, 17(1):317-326.
- [10] Scheiner-Bobis G. The sodium pump. Its molecular properties and mechanics of ion transport [J]. *Eur J Biochem*, 2002, 269(10):2424-2433.
- [11] Mijatovic T, Roland I, Van Quaquebeke E, Nilsson B, Mathieu A, Van Vynckt F, et al. The alpha1 subunit of the sodium pump could represent a novel target to combat non-small cell lung cancers [J]. *J Pathol*, 2007, 212(2):170-179.
- [12] Sakai H, Suzuki T, Maeda M, Takahashi Y, Horikawa N, Minamimura T, et al. Up-regulation of Na^+ , K^+ -ATPase alpha 3-isoform and down-regulation of the alpha1-isoform in human colorectal cancer [J]. *FEBS Lett*, 2004, 563(3):151-154.
- [13] Skou JC. Enzymatic basis for active transport of Na^+ and K^+ across cell membrane [J]. *Physiol Rev*, 1965, 45:596-617.

(本文编辑:吉耕中)