

# 生长抑素类似物通过细胞生长抑制和细胞溶解途径以 SSTR2 依赖的方式抑制癌细胞增殖

邹 奕, 肖小平, 李月琴, 张 欣, 周天鸿

(暨南大学生物工程学系, 广东 广州 510632)

**[摘 要]** 通过在两个具有不同内源性生长抑素受体(SSTR)表达谱的癌细胞系 capan-2 和 A549 中过表达 SSTR2, 用生长抑素类似物(SSA)奥曲肽或者伐普肽(RC-160)处理实验组的癌细胞, 对过表达 SSTR2 和生长抑素类似物的抗肿瘤增殖效果通过细胞增殖实验进行了研究, 而且进一步通过免疫印记的方法研究了 SSA/SSTR2 涉及的信号通路。结果表明, 过表达 SSTR2 明显抑制了内源性 SSTR2 表达阳性和阴性癌细胞增殖, 而单独使用奥曲肽或者伐普肽对癌细胞增殖影响甚微。然而, 在过表达 SSTR2 的癌细胞中奥曲肽或者伐普肽则可明显抑制癌细胞的增殖, 而且具有剂量依赖性。深入研究发现 SSA/SSTR2 是通过细胞周期阻滞和促凋亡来抑制细胞增殖。结果提示 SSTR2 可作为候选基因用于本身 SSTR2 表达阳性或阴性肿瘤的基因治疗, 细胞内 SSTR2 的水平可能是影响肿瘤进程和 SSA 治疗效果的一个关键因素。

**[关键词]** 生长抑素; 受体; 激酶; 奥曲肽; 伐普肽

**[中图分类号]** R394.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-9965(2009)03-0325-06

## Somatostatin analogs inhibited cancer cell proliferation in a SSTR2-dependent manner via both cytostatic and cytotoxic pathways

ZOU Yi, XIAO Xiao-ping, LI Yue-qin, ZHANG Xin, ZHOU Tian-hong

(Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

**[Abstract]** Exogenous human SSTR2 was overexpressed in two cancer cell lines, capan-2 cells and A549 cells, which have different expression profiles of endogenous SSTRs. The experimental cancer cells were treated with octreotide or RC-160 at different concentrations. The anti-tumor effects of SSTR2 overexpression and the treatment of octreotide/RC-160 were studied by cell proliferation assessment. The potential pathways involved in SST/SSTR2 signaling were investigated using immunoassays. The results presented in this study showed that overexpression of SSTR2 dramatically inhibited the proliferation of both SSTR2-positive and SSTR2-negative cancer cells. Application of octreotide/RC-160 alone resulted in minimal impact on cancer cell proliferation. However, Octreotide/RC-160 significantly inhibited the proliferation of cancer cells overexpressing SSTR2 in a dose-dependent fashion. Further investigations demonstrated that SSA/SSTR2 inhibited proliferation via both cell cycle arresting and promoting apoptosis. It suggested that SSTR2 could be a promising candidate for gene therapy for both SSTR2-positive and SSTR2-negative tumors. The cellular level of SSTR2 might be a critical factor that affects both tumor progression and the outcomes of somatostatin analogue treatment.

**[Key words]** somatostatin; receptor; kinase; octreotide; RC-160

**[收稿日期]** 2008-11-18

**[基金项目]** 教育部科学技术研究重点项目(207144); 暨南大学引进优秀人才科研启动项目(51207016)

**[作者简介]** 邹 奕(1975-), 女, 讲师, 博士; 研究方向: 分子遗传。通讯作者: 周天鸿, 教授。Tel: 85228003

生长抑素受体(somatostatin receptor, SSTR)是细胞膜的一种糖蛋白,含有7个 $\alpha$ 跨膜螺旋域,属于G蛋白偶联型受体。其天然配体SST主要以14肽(SST14)和28肽(SST28)两种形式存在<sup>[1]</sup>。SST通过5个不同亚型的受体(SSTR1-5)充当神经递质或者对自分泌起调节作用,编码这5个受体亚型的基因分别定位于染色体14、16、17、20、22<sup>[1]</sup>。SSTRs的表达不仅具有时间和组织特异性,而且具有种间差异和亚型选择性。SSTRs在人体很多组织中表达,如脑、肠、脑下垂体、胰腺、肾上腺、甲状腺、免疫细胞<sup>[2-3]</sup>,其中,SSTR2表达最丰富。有报道认为在大多数肿瘤(如胰腺癌)中SSTR2的表达缺失与肿瘤转移进程相关,因此,SSTR2转基因治疗则成为了潜在的治疗SSTR2表达阴性癌症的手段<sup>[4-5]</sup>。在表达SSTR的肿瘤细胞中活化SSTRs一般会导致明显抑制肿瘤细胞增殖,这可能是通过间接活化抑制生长激素分泌活性直接激活SSTR信号途径<sup>[6]</sup>。因此,SST被用于某些临床癌症的治疗并且提高了生存质量和存活率。由于天然SST半衰期短,开发了一些具有代谢稳定性和亚型选择性的SST类似物,已经广泛用于SSTR表达阳性肿瘤的治疗<sup>[7-8]</sup>。然而,SSTRs抑制增殖的机制仍然不是很清楚,而且其涉及的信号途径也具有受体亚型和细胞型选择性。研究表明SSTR介导的抗增殖效应涉及细胞生长抑制和细胞溶解(凋亡)两个反应。例如,5个SSTRs都能调节PTP(protein tyrosine phosphatase)活性,从而下调Ras-MAPK表达,诱导细胞周期进程阻滞<sup>[9]</sup>。而有些效应则具有相对受体亚型选择性,例如,细胞凋亡被认为是通过SSTR3激发的,然而细胞周期阻滞被认为是由SSTR1、2、4和5调节MAPK通路所致<sup>[10]</sup>。然而,由于多种不同亚型的SSTR常常在细胞中重叠表达,提示各种亚型的SSTR可能协同作用。有实验数据显示,不同亚型受体可形成异二聚体调节下游信号通路强度。例如,促效剂诱导SSTR1/SSTR5形成异二聚体增强了他们抑制腺苷酸环化酶的能力<sup>[11]</sup>。

奥曲肽和伐普肽是SST-14的两个类似物,都和SSTR2和SSTR5有高亲和力<sup>[12]</sup>。这两种SSA在一些临床应用中治疗效果不佳,被认为和这些病人肿瘤组织中内源性SSTR2的表达缺失有关。本课题组研究了奥曲肽和伐普肽分别在两种不同癌细胞系capan-2和A549中的抗增殖效应。这两种细胞具有不用的内源性SSTR表达,capan-2细胞表达SSTR1、2、3、5而A549细胞表达SSTR1、4<sup>[13]</sup>。另外,为了研究SSA诱导的细胞抑制和细胞溶解反应,我们进一

步研究了用SSA处理后细胞内周期素依赖性蛋白激酶抑制因子P16,caspase和Ras-ERK2(胞外调节激酶)信号分子的表达水平,揭示了SSTR抑制癌细胞增殖的可能机制,并为将来临床应用SSA治疗肿瘤提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

capan-2(人胰腺癌细胞株)由中山大学馈赠。A549(人肺癌细胞株)由广州生物医药基地馈赠。HEK-293T细胞购自Microbix公司。表达hSSTR2 and LacZ重组病毒由本实验室保存。RPMI1640、MEM、胎牛血清(FCS)购自Invitrogen。DAB(3,3'-diaminobenzidine tetrachloride)、DTT(1,4-dithiothreitol)、MTT(3-[4,5-dimethyl-2-thiazolyl]-2,5-diphenyl-2H-tetrazolium bromide)、Dimethyl Sulfoxide DMSO(Dimethyl Sulfoxide)、青霉素、链霉素、X-gal(5-Bromo-4-chloro-3-indoxyl-beta-D-galactopyranoside)、苏木精、福尔马林及戊二醛购自Sigma。预览蛋白Marker(Blue Range™ Prestained protein Molecular Marker)购自Pierce。羊抗hSSTR2多克隆抗体、鼠抗p16单克隆抗体、鼠抗p21单克隆抗体、鼠抗caspase-3单克隆抗体、兔抗ERK-2多克隆抗体及羊抗 $\beta$ -actin多克隆抗体购自Santa Cruz。鼠抗ras单克隆抗体购自abcam。HRP交联的羊抗兔IgG,兔抗羊IgG及羊抗鼠IgG were 购自QED Bioscience。

### 1.2 方法

(1)腺病毒载体的扩增 携带有人SSTR2或者大肠杆菌 $\beta$ -半乳糖苷酶的重组腺病毒载体(Adv-SSTR2)或(Adv-LacZ)在293T细胞中增殖,使用Adeno-X™ Virus Purification Kit(Clontech)病毒纯化试剂盒纯化病毒,保存在-70℃冰箱。病毒滴度[PFU]的判定采用改良的标准噬菌斑测定方法计算出病毒滴度分别为 $6.3 \times 10^9$ /mL和 $3.2 \times 10^9$ pfu/mL,两种重组腺病毒各获得3 mL纯化病毒液。

(2)细胞培养以及确定转导效率 为了确定腺病毒的转染效率,细胞数 $3 \times 10^4$ /mL按1.0 mL/孔接种于24孔培养板,于含体积分数10%新生牛血清,100 U/mL青霉素和100  $\mu$ g/mL链霉素的MEM完全培养基中,37℃、体积分数5% CO<sub>2</sub>饱和湿度培养箱培养。24 h后,细胞生长汇合率约为80%~90%,此时进行感染。我们在本实验中使用MOI为100(multiplicity of infection)的重组腺病毒感染培养细胞,我们此前的研究已证实在此感染复数下,可达到近100%的感染率。

(3)细胞增殖检测 MTT 法测定细胞抑制率. 收集对数生长期 capan-2 细胞和 A549 细胞,调整为  $5 \times 10^3/\text{mL}$ ,接种于 96 孔培养板内,每孔 100  $\mu\text{L}$ ,用 MEM 完全培养基在 37  $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度条件下过夜培养. Ad-LacZ 对照组和 Ad-SSTR2 实验组分别加入 1  $\mu\text{L}$  的重组腺病毒,使 MOI 值 100,阴性对照孔加入 1  $\mu\text{L}$  PBS,每组设 3 个平行孔,置培养板于孵箱中 24 h,然后加入不同质量浓度的奥曲肽或伐普肽<sup>[14-15]</sup>,置培养板于孵箱中作用 4 h. 每孔加入 10  $\mu\text{L}$  MTT (5 mg/mL 用 PBS),继续培养 4 h. 加入 100  $\mu\text{L}$  DMSO (Sigma) 溶解,用微量振荡器振荡 15 min,于酶标仪 (Bio-RAD 550) 上以测定波长为 490 nm,参考波长为 450 nm,测定其吸光度. 绘制细胞生长曲线,据下面的公式计算出抑制率. 细胞生长增殖抑制率 (%) =  $(1 - \text{病毒感染细胞 A 值}/\text{对照组细胞 A 值}) \times 100\%$ .

(4) Western 印迹分析 收集细胞,加入裂解 buffer (50 mmol/L Tris-HCl (pH 7.4), 100 mmol/L KCl, 体积分数 10% glycerol, 1 mmol/L EDTA, 体积分数 1% TritonX-100 and 1 mmol/L DTT protease inhibitors (Roche)). 肿瘤组织剪碎后用 PBS 清洗,加入裂解 buffer (50 mmol/L Tris-HCL (pH 8.5), 150 mmol/L NaCl, 0.2 g/L  $\text{NaN}_3$ , 0.1 g/L SDS, 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  PMSF, 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  aprotinin 和 10 g/L NP-40, 和 5 g/L sodium deoxycholate), 1 mL/100 mg, 用匀浆器加速裂解. 细胞或肿瘤组织裂解液冰上孵育 20 min. 然后 12 000  $g$  离心, 4  $^{\circ}\text{C}$  15 min. BCA 法测定蛋白浓度. 按每个泳道孔加入 70  $\mu\text{g}$  蛋白混合样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳 (质量分数 12%), 转移到 PVDF 膜 (Whatman). 先后加入一抗和二抗进行杂交反应. 用 ECL kit (amersham pharmacia) 进行显色反应. 结果用 alpha part II Ease (alpha innotech) 软件分析.

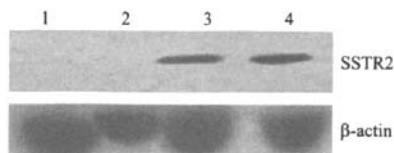
(5) 统计分析 用 SPSS 12.0 软件包对所得结果进行单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 腺病毒载体介导的外源性 SSTR2 的表达

我们使用针对 SSTR2 的特异单克隆抗体,免疫印迹结果显示, capan-2 细胞和 A549 细胞未能检测到内源性 SSTR2 表达与 Adv-LacZ 转染的对照相比, 转染了 Adv-SSTR2 的 capan-2 和 A549 细胞均成功表达了外源性 SSTR2 (图 1). 结果表明我们所构建

的重组腺病毒成功感染体外培养细胞并表达外源性 SSTR2.



1: 感染 Adv-LacZ 的 capan-2 细胞; 2: 感染 Adv-LacZ 的 A549 细胞; 3: 感染 Adv-SSTR2 的 capan-2 细胞; 4: 感染 Adv-SSTR2 的 A549 细胞; Actin 作为内源性对照

图 1 Western blot 分析 Ad-SSTR2 在 capan-2 和 A549 细胞中的表达

### 2.2 奥曲肽抑制癌细胞生长依赖 SSTR2

培养的 capan-2 和 A549 细胞用不同质量浓度的奥曲肽处理. 当单独使用奥曲肽处理时, 没有观察到明显对细胞增殖的影响 ( $P > 0.05$ ). 当奥曲肽质量浓度为 0.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  时, 仅观察到生长程度微弱降低 (图 2A). 与转染了 Adv-LacZ 的对照组相比, 过表达 SSTR2 之后明显抑制了转染了 Adv-SSTR2 的 capan-2 和 A549 细胞, 抑制率分别达到 42% 和 40% ( $P < 0.05$ ) (图 2A 和 2B). 转染了 Adv-SSTR2 的 capan-2 和 A549 细胞用 0.8  $\mu\text{g}/\text{mL}$  奥曲肽处理后, 增殖程度进一步降低, 抑制率分别达到 79% 和 77% ( $P < 0.05$ ). 另外, 转染 Adv-SSTR2 的癌细胞用奥曲肽处理, 其抗增值效应呈现剂量依赖性 (图 2C).

### 2.3 伐普肽抑制癌细胞生长效果和奥曲肽相似

培养的 capan-2 和 A549 细胞用不同质量浓度的伐普肽处理. 当单独使用伐普肽处理时, 在最大质量浓度 (8 mg/mL) 没有观察到明显对细胞增殖的抑制 ( $P > 0.05$ ) (图 3A 和 3B). 然而, capan-2 和 A549 细胞过表达 SSTR2 后, 明显提高了伐普肽的抗增殖效应. 与未转染 Adv-SSTR2 的对照组相比, 用 8 mg/mL 伐普肽处理, 转染了 Adv-SSTR2 的 capan-2 和 A549 细胞的生长抑制率分别达 80% 和 75% ( $P < 0.05$ ). 与用奥曲肽处理的结果类似, 伐普肽的抑增殖效应也呈现剂量依赖性 (图 3C). 但是, 在 capan-2 或 A549 细胞, 并没有观察到使用两种 SST 类似物处理有区别.

### 2.4 SSA 通过细胞生长抑制和细胞溶解途径抑制细胞增殖

SSR 介导的细胞生长抑制涉及细胞溶解途径, 而其余 4 个受体介导的细胞生长抑制涉及细胞生长抑制途径 (图 4). SSA/SSTR 对细胞周期和凋亡途径

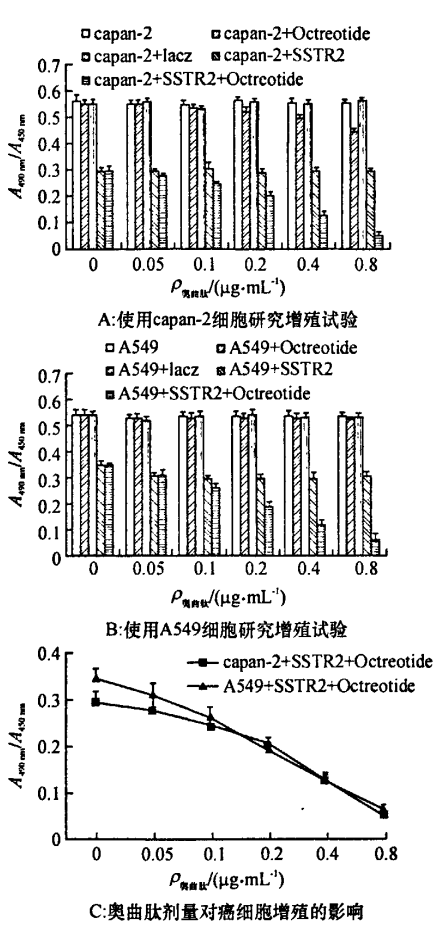


图2 过表达 SSTR2 及奥曲肽对癌细胞增殖的影响

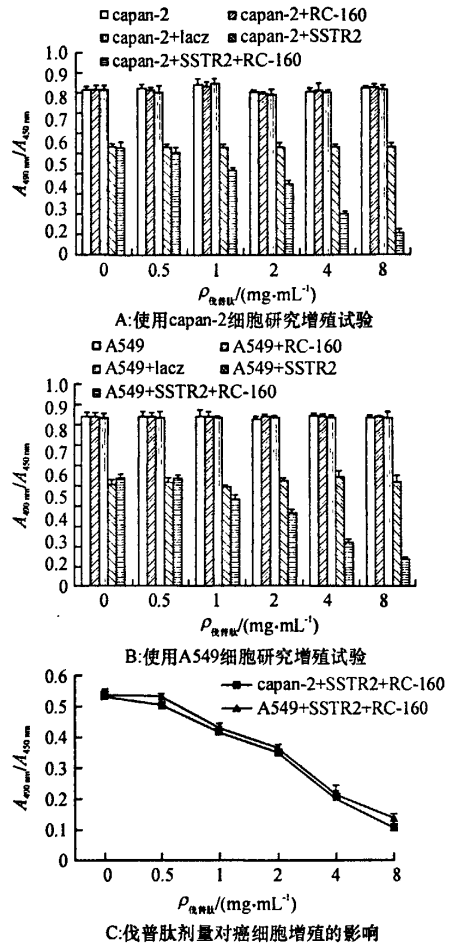
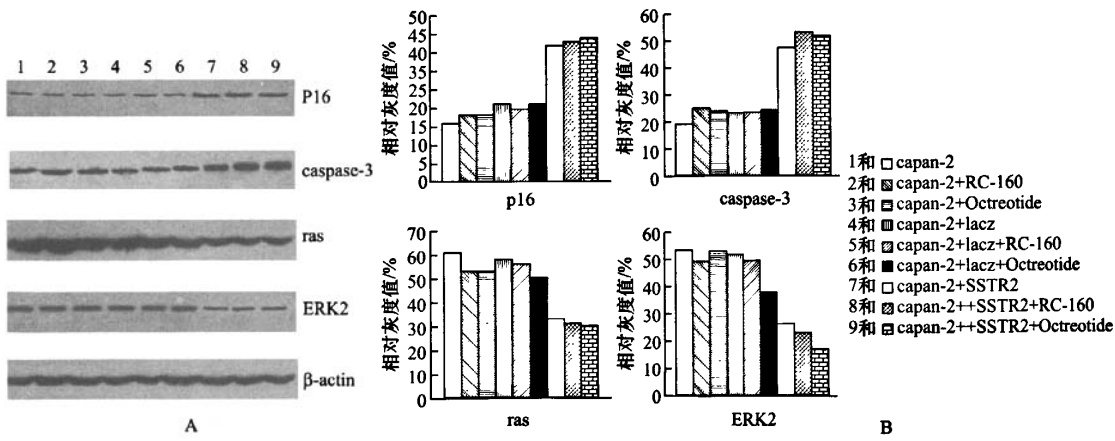


图3 过表达 SSTR2 及伐普肽对癌细胞增殖的影响



A:免疫印迹分析 SSA/SSTR2 对细胞生长抑制和细胞溶解途径相关组分的影响, B:灰度分析 SSA/SSTR2 对细胞生长抑制和细胞溶解途径相关组分表达量变化

图4 SSA/SSTR2 通过多个途径抑制癌细胞增殖

信号分子的调节,同时通过免疫印迹的方法进一步研究了 Ras-ERK2 信号(图 4A)。在 capan-2 细胞,通过转染 Adv-SSTR2 过表达 SSTR2,用奥曲肽/伐普肽处理后,细胞周期依赖激酶抑制因子和凋亡途径的 caspase-3 表达上调(图 4B)。意味着活化 SSTR2 抑制细胞增殖是通过细胞周期阻滞和促凋亡来实现的。相反,与对照转染 Adv-LacZ 相比,用奥曲肽/RC160 处理 Adv-SSTR2 转染后的 capan-2 细胞,发现原癌基因 Ras 和 ERK2 表达下降,这与细胞增殖实验数据一致,单独使用奥曲肽/伐普肽处理不能明显改变这些基因的表达。在 A549 细胞中也观察到类似的结果(数据未显示)。

### 3 讨论

SSTRs 在胚胎和成年组织中以受体亚型选择性的方式广泛表达。在正常大脑,胰腺,胸腺,精母细胞以及大多数肿瘤包括垂体瘤,胰岛素瘤,乳腺癌,胰腺癌均有高表达。在这些组织中,SSTR2 表达量通常相对较低<sup>[6]</sup>。鉴于 SSTR 的抗肿瘤效应,SST/SSA 在临床上已经广泛应用于术后癌症治疗。与人们期望相反的是,很多病人对 SST 及其类似物治疗不敏感,其治疗效果不佳被认为是由于内源性 SSTR2 表达缺失所致<sup>[16]</sup>。在本研究中,我们使用了具有不同内源性 SSTR 表达谱的细胞系(有内源性 SSTR2 表达的 capan-2 细胞和 SSTR2 表达阴性的 A549 细胞)。我们观察到尽管有内源性 SSTR2 表达,但是仅用 SSA 处理对 capan-2 癌细胞的增殖影响相当有限。这和一些病人单独使用 SSA 治疗效果不佳的报道一致。但在 capan-2 细胞和 A549 细胞中过表达 SSTR2 则明显抑制了细胞增殖并且提高了对 SSA 的敏感性。此实验结果提示通过转移 SSTR 基因,特别是 SSTR2 基因,可能能作为治疗 SSTR2 表达阳性和阴性肿瘤的一种有效手段。

我们进一步探索了 SSA/SSTR2 抗肿瘤的可能机制。有报道表明 SSTR2 通过 MAPK 依赖的方式上调细胞周期依赖蛋白激酶抑制因子的表达通过细胞抑制的方式抑制细胞增殖<sup>[17]</sup>。免疫印记结果表明过表达 SSTR2 导致细胞周期蛋白激酶(CDK2, CDK4 和 CDK6)抑制因子 p21 和 p16 表达上调,因此,停止 G1/S 相转变,阻止细胞周期进程。同时,我们认为 SSTR2 介导的抑制细胞增殖的凋亡途径可能起了一个中枢的作用。caspase-3 表达量明显增加,但是其下游靶蛋白 PARP(poly ADP-ribose polymerase)表达明显下调。在其他不同细胞系也得到

相类似的结果。意味着 SSTR2 能够通过抑制细胞生长和促进细胞溶解两方面来抑制细胞增殖。此前有研究猜测细胞生长抑制和细胞溶解可能是通过 SSTR 亚型之间形成异源二聚体直接引发的效应,如 SSTR2/SSTR5<sup>[18]</sup>。但是,鉴于在本实验中在 capan-2 细胞(表达 SSTR1, SSTR2, SSTR3, SSTR5)和 A549(表达 SSTR1 和 SSTR4)细胞中过表达 SSTR2 之后的细胞增殖抑制程度相似,我们推测在 SSTR2 介导的抗增殖作用中 SSTR2/SSTR5 异源二聚体的形成可能不是必须的,因为 A549 细胞没有内源性 SSTR5 表达。

Ras 是被发现经常在人肿瘤细胞中过表达的一个信号分子。激活的 Ras 能够活化 Raf,激活 MEK 最终促进肿瘤细胞的生长。ERK 则通过增强 RAS-MEK 途径和加速  $\beta$ -连环蛋白在 Wnt 通路富集来促进细胞增长。细胞质的  $\beta$ -连环蛋白重新定位到细胞核作为一个辅助因子和 T 细胞因子、淋巴因子增强因子调节靶基因表达。在我们的实验中,过表达 SSTR2 下调了细胞中 RAS 和 ERK 的表达,提示 SSTR2 可能通过干扰了 RAS-ERK 信号通路来抑制致癌信号的级联放大抑制细胞增殖。

本研究发现 SSTR2 可能是一个非常有望的治疗癌症的候选基因,可能可以广泛用于表达不同内源性 SSTR 的癌症的治疗。SSTR2 基因转移可以用于治疗 SSTR2 表达阳性癌症,同时,那些使用 SSA 治疗效果不佳的癌症通过外源表达 SSTR2 可以明显提高治疗效果。SSA/SSTR2 抗肿瘤效应涉及多个信号通路,包括细胞生长抑制和细胞溶解反应。进一步用亚型特异性 SST 类似物结合内源性的 SSTR 做进一步的研究可能可以更好阐明 SSTRs 的抗肿瘤机制。

### [参考文献]

- [1] PATEL Y C, GREENWOOD M T, PANETTA R, et al. The somatostatin receptor family: a minireview[J]. Life Sci, 1995, 57(13): 1249-1265.
- [2] KUMAR U, SASI R, SURESH S, et al. Subtype-selective expression of the five somatostatin receptors (hSSTR1-5) in human pancreatic islet cells: A quantitative double-label immunohistochemical analysis [J]. Diabetes, 1999, 48(1): 77-85.
- [3] BREDER C D, YAMADA Y Y, YASUDA K, et al. Differential expression of somatostatin receptor subtypes in brain[J]. Neurosci, 1992, 12(10): 3920-3934.
- [4] JANSON E T, GOBL A K, ALKNER K M, et al. A comparison between the efficacy of somatostatin receptor

- scintigraphy and that of in situ hybridization for somatostatin receptor subtype 2 messenger RNA to predict therapeutic outcome in carcinoid patients[J]. *Cancer Res*, 1996, 56(11): 2561-2565.
- [5] KUMAR M, LIU Z R, THAPA L, et al. Mechanisms of inhibition of growth of human pancreatic carcinoma implanted in nude mice by somatostatin receptor subtype 2[J]. *Pancreas*, 2004, 29(2): 141-151.
- [6] GUILLERMET-GUIBERT J, LAHLOU H, CORDELIER P, et al. Physiology of somatostatin receptors[J]. *Endocrinol Invest*, 2005, 28 (11 Suppl International): 5-9.
- [7] HORIGUCHI K, YAMADA M, UMEZAWA R, et al. Somatostatin receptor subtypes mRNA in TSH secreting pituitary adenomas; a case showing a dramatic reduction in tumor size during short octreotide treatment[J]. *Endocr J*, 2007, 54(3): 371-378.
- [8] PAWLIKOWSKI M, MELEN-MUCHA G. Somatostatin analogs - from new molecules to new applications[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2004, 4(6): 608-613.
- [9] CATTANEO A G, TAYLOR J E, CULLER M D, et al. Selective stimulation of somatostatin receptor subtypes: differential effects on Ras/MAP kinase pathway and cell proliferation in human neuroblastoma cells[J]. *FEBS Lett*, 2000, 481(3): 271-276.
- [10] SHARMA K, PATEL Y C, SRIKANT C B. Subtype-selective induction of wild-type p53 and apoptosis, but not cell cycle arrest, by human somatostatin receptor 3[J]. *Mol Endocrinol*, 1996, 10(12): 1688-1696.
- [11] ROCHEVILLE M, LANGE D C, KUMAR U, et al. Receptors for dopamine and somatostatin: formation of hetero-oligomers with enhanced functional activity[J]. *Science*, 2000, 288(5463): 154-1547.
- [12] REUBI J C, SCHAR J C, WASER B, et al. Affinity profiles for human somatostatin receptor subtypes SST1-SST5 of somatostatin radiotracers selected for scintigraphic and radiotherapeutic use[J]. *Eur J Nucl Med*, 2000, 27(3): 273-282.
- [13] ZHOU T, XIAO X, Xu B, et al. Overexpression of SSTR2 inhibited the growth of SSTR2-positive tumors via multiple signaling pathways[J]. *Acta Oncol*, 2008, 29: 1-10.
- [14] LIU H L, HUO L, WANG L. Octreotide inhibits proliferation and induces apoptosis of hepatocellular carcinoma cells[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2004, 25(10): 1380-1386.
- [15] KIKUTSUJI T, HARADA M, TASHIRO S, et al. Expression of somatostatin receptor subtypes and growth inhibition in human exocrine pancreatic cancers[J]. *J Hepatobiliary Pancreat Surg*, 2000, 7(5): 496-503.
- [16] TABOADA G F, LUQUE R M, NETO L V, et al. Quantitative analysis of somatostatin receptor subtypes (1-5) gene expression levels in somatotropinomas and correlation to in vivo hormonal and tumor volume responses to treatment with octreotide LAR[J]. *Eur J Endocrinol*, 2008, 158(3): 295-303.
- [17] STIRNWEISS J, HARTRODT B, GREKSCH G, et al. Tyr-c[D-Orn-Tyr(Bzl)-Pro-Gly]: a novel antiproliferative acting somatostatin receptor agonist with mu-opioid receptor-sensitizing properties[J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 140(1): 13-22.
- [18] REN S G, TAYLOR J, DONG J, et al. Functional association of somatostatin receptor subtypes 2 and 5 in inhibiting human growth hormone secretion[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003, 88(9): 4239-4245.

[责任编辑:黄建军]