

· 基础研究 ·

Notch 信号通路小分子抑制剂 DAPT 的¹¹C 标记及在正常兔体内的初步动态显像研究

张姝 靳晓娜 党永红 霍力 李方

中国医学科学院北京协和医学院北京协和医院核医学科, 北京市核医学分子靶向诊治重点实验室 100730

通信作者: 李方, Email: lifang@pumch.cn

【摘要】目的 研究正电子核素¹¹C 标记 Notch 通路抑制剂(3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酰基-S-苯基甘氨酸叔丁酯(DAPT)的制备方法, 并进行正常兔 PET/CT 的初步动态显像。**方法** 采用细胞计数 Kit-8 法检测不同浓度 DAPT 和 CH₃-DAPT 对人胰腺癌细胞株 MiaPaCa-2 增殖的影响, 并计算半抑制浓度(IC₅₀)。以 DAPT 为前体, 使用全自动合成仪进行合成, 得到产物¹¹C-N-甲基-DAPT(简称¹¹C-DAPT), 并用高效液相色谱(HPLC)仪进行分离纯化。正常新西兰兔静脉注射 125.8 MBq(3.4 mCi)¹¹C-DAPT 后, 用 PET/CT 进行全身动态扫描。在不同器官勾画感兴趣区, 测量放射性浓度随时间的动态变化。**结果** DAPT 和 CH₃-DAPT 均可抑制人胰腺癌 MiaPaCa-2 细胞的增殖, 呈浓度依赖关系, 72 h 的 IC₅₀ 分别为 64.2、180.0 μmol/L。¹¹C-DAPT 合成过程大约 30 min, 未校正放射化学产率为 25%~35%, 放射化学纯度>95%。¹¹C-DAPT 主要经肾脏排泄, 全身脏器中肾脏摄取最高, 肝脏、肠道、肺和脑摄取低。静脉注射后 7 min 肝脏、肾脏摄取达到高峰, 28 min 后降低>50%。**结论** ¹¹C-DAPT 的合成过程简便、快速, 放射化学纯度高。PET/CT 的初步显像为进一步探索¹¹C-DAPT 作为胰腺癌新型靶向分子探针奠定了基础。

【关键词】 同位素标记; 正电子发射断层显像计算机体层摄影术; Notch 信号通路; γ 分泌酶抑制剂; (3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酰基-S-苯基甘氨酸叔丁酯; 分子探针

基金项目: 国家自然科学基金(81671722)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.01.009

¹¹C-labeling DAPT a small-molecular inhibitor of the Notch signaling pathway, and preliminary imaging study of dynamic distribution in a normal rabbit

Zhang Shu, Jin Xiaona, Dang Yonghong, Huo Li, Li Fang

Beijing Key Laboratory of Molecular Targeted Diagnosis and Therapy in Nuclear Medicine, Department of Nuclear Medicine, Peking Union Medical College Hospital Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100730, China

Corresponding author: Li Fang, Email: lifang@pumch.cn

【Abstract】Objective To label N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester(DAPT), an inhibitor of the Notch signaling pathway, with ¹¹C and perform preliminarily dynamic imaging in normal rabbit. **Methods** Proliferation of human pancreatic cancer cell line MiaPaCa-2 were assessed by cell counting kit-8 method after treatment with various concentrations of DAPT and CH₃-DAPT. Half-maximal inhibitory concentration(IC₅₀) was calculated. DAPT was then used as a precursor to prepare ¹¹C-N-methyl-DAPT(¹¹C-DAPT) with a fully automatic synthesizer. The final product was purified through semipreparative high performance liquid chromatography (HPLC). After intravenous injection of 125.8 MBq(3.4 mCi) ¹¹C-DAPT, a normal New Zealand rabbit was subjected to dynamic whole-body PET/CT scanning. The dynamic changes in radioactivity were measured by drawing regions of interest over different organs. **Results** DAPT and CH₃-DAPT

concentration-dependently inhibited the growth of the human pancreatic cancer cell line MiaPaCa-2. The IC_{50} values were 64.2 and 180.0 $\mu\text{mol/L}$ at 72 h after administration, respectively. ^{11}C -DAPT was synthesized for approximately 30 min. The uncorrected radiochemical yield was 25%–35%. Radiochemical purity was above 95%. ^{11}C -DAPT was mainly excreted through the kidney, the highest uptake was in the kidneys, and the uptake in the liver, intestine, lung, and brain was relatively low. The tracer uptake in the kidneys and liver peaked at 7 min after injection and decreased to >50% at 28 min.

Conclusions ^{11}C -DAPT can be easily and rapidly synthesized with high radiochemical purity. Preliminary PET/CT imaging can lay a foundation for further investigating ^{11}C -DAPT as a novel molecular probe.

【Key words】 Isotope labeling; Positron emission tomography computed tomography; Notch signaling pathway; γ -secretase inhibitor; N-[N-(3,5-Difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butylester; Molecular probes

Fund program: National Natural Science Foundation of China(81671722)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2019.01.009

Notch 信号通路是一种普遍存在于从果蝇到哺乳动物等众多生命体中具有高度保守性的关键信号通路,其功能是参与细胞发育、增殖、分化、凋亡、黏附及器官发育。Notch 信号通路是由 Notch 受体、Notch 配体和 CSL(CBF-1、suppressor of hairless、Lag 的合称)-DNA 结合蛋白 3 部分组成。Notch 受体和配体均在细胞膜上表达。Notch 受体胞外区是配体结合并激活 Notch 受体的部位,Notch 受体胞内区(Notch intracellular domain, NICD)为其活性成分,未成熟的 Notch 受体与邻近细胞配体结合后被激活,经过 3 次裂解产生活性成分 NICD。而关键的裂解发生在 S3 位点,即由 γ 分泌酶介导的切割作用而产生 NICD。当 NICD 进入核内后,激活下游靶基因的转录。近年来,许多研究结果发现 Notch 信号通路失调与包括胰腺癌在内的多种肿瘤的发生、发展过程密切相关,在这些肿瘤中发现 Notch 通路持续活化^[1-5]。(3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酰基-S-苯基甘氨酸叔丁酯(N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester, DAPT)是一种 γ 分泌酶抑制剂,能够通过阻断 Notch 信号通路,抑制肿瘤细胞的生长、转移和侵袭^[6-7]。本研究以 DAPT 为前体进行体外细胞学实验,合成 ^{11}C -N-甲基-DAPT(简称 ^{11}C -DAPT),初步研究其在正常新西兰兔体内的动态分布,为进一步开展此类肿瘤特异性显像剂的转化研究及指导同类肿瘤分子靶向药物的治疗奠定基础、提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

人胰腺癌细胞株 MiaPaCa-2 由德国海德堡大学 Freiss.H 教授惠赠。DMEM 培养液、胎牛血清、胰蛋白酶、PBS 均购自美国 Hyclone 公司; DAPT 购自美国 Selleck 公司; 二甲基亚砜购自美国 Sigma/Aldrich 公司。NucleoCounter NC-100 型全自动细胞计数仪购自丹麦 chemometec 公司; Sep-Pak QMA SPE 分离柱购自美国 Waters 公司。使用美国 GE 公司的 MINItace II 回旋加速器、TRACERlab FXC Pro 合成模块和 Elite PET/CT。

1.2 实验动物

普通级雄性新西兰兔 1 只,3 月龄,体质量 3 kg,许可证编号:SYXK(京,2015-0025)。

1.3 方法

1.3.1 细胞计数 Kit-8 (简称 CCK-8) 法检测 DAPT 和 CH_3 -DAPT 对胰腺癌细胞增殖的影响

人胰腺癌细胞株 MiaPaCa-2 培养于 DMEM 培养液(加 10% 胎牛血清),在 37℃、5% CO_2 培养箱中传代 3 代以上进行实验。经传代后的人胰腺癌细胞株 MiaPaCa-2 用 0.25% 胰酶进行消化,用 DMEM 培养液制成单个细胞悬液,用全自动细胞计数仪计数,调整细胞浓度至 3×10^4 个/mL,接种于 96 孔培养板,每孔体积 100 μL 。在 37℃ 5% CO_2 培养箱中培养 24 h,待细胞贴壁后,吸出培养液,分别加入不同浓度梯度的 DAPT(30、45、60、70、80、90、120 $\mu\text{mol/L}$) 和 CH_3 -DAPT(10、

20、40、80、120、160、200 μmol/L)溶液,二者均溶于 DMEM 培养液。同时设置对照组和空白组,对照组加入相同体积的 DMEM 培养液,空白组无细胞只加培养液。DAPT 和 CH₃-DAPT(实验组)均设 5 个复孔。37℃ 5% CO₂ 培养箱中培养 72 h。CCK-8 法测定每组各孔的光密度(optical density, OD)值。

$$\text{抑制率(\%)} = 1 - \frac{\text{OD值(实验)} - \text{OD值(空白)}}{\text{OD值(对照)} - \text{OD值(空白)}} \times 100\%$$

使用 SPSS19.0 软件对数据进行 logit 回归分析,并计算半抑制浓度(half maximal inhibitory concentration, IC₅₀)

1.3.2 自动化合成¹¹C-DAPT

回旋加速器生产¹¹C-CO₂,在全自动合成仪上经 H₂ 还原得到¹¹C-CH₄,¹¹C-CH₄ 与 I₂ 反应生成¹¹C-CH₃I 后转入反应瓶;2 mg 前体 DAPT 溶于 0.4 mL 二甲基亚砜,预先置于反应瓶中,加入 7 μL 5 mol/L NaOH,充分振荡混匀。¹¹C-CH₃I 与 DAPT 混合,标记反应 80℃,反应时间 3 min,洗脱液终止反应,降温冷却至 35℃。产物使用高效液相色谱(high performance liquid chromatography, HPLC)仪进行分离纯化(C₁₈ 柱,洗脱液 300 mL 30% 乙醇,流速 2.5 mL/min,紫外线 254 nm),收集产物,生理盐水稀释,无菌滤膜过滤待用。¹¹C-DAPT 的合成路线见图 1。

1.3.3 正常兔¹¹C-DAPT PET/CT 显像

新西兰兔 1 只,耳缘静脉注射 125.8 MBq (3.4 mCi) ¹¹C-DAPT 后用 PET/CT 进行动态扫描,0、7、14、21、28 min 各采集 1 次,共 5 次。CT 扫描参数:电压 120 kV,电流 150 mA,层厚 5 mm;PET 扫描参数:1 min/床位,共 4 个床位。扫描结束后,对原始图像采用 OSEM 图像重建技术进行重建。获得 CT、PET 及二者融合图像。在主要脏器勾画 ROI,测量放射性浓度(kBq/mL)及其随时间的变化。

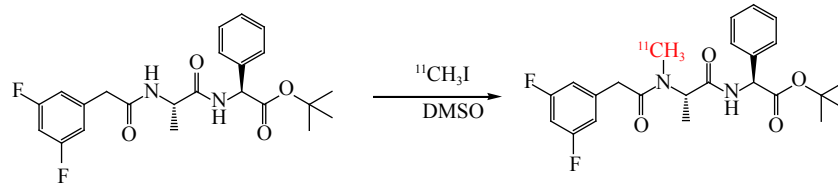


图 1 ¹¹C-(3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酸基-S-苯基甘氨酸叔丁酯(DAPT)的合成路线图

Fig. 1 Radiosynthetic route of ¹¹C-N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester(DAPT)

2 结果

2.1 不同浓度 DAPT 和 CH₃-DAPT 对胰腺癌细胞 MIAPaCa-2 增殖的影响

CCK-8 法检测结果显示, DAPT 和 CH₃-DAPT 对胰腺癌细胞株 MIAPaCa-2 增殖的抑制作用呈剂量依赖关系。DAPT 和 CH₃-DAPT 作用于胰腺癌细胞株 MiaPaCa-2 后 72 h, 细胞增殖的 IC₅₀ 分别为 64.2 μmol/L 和 180.0 μmol/L。

2.2 ¹¹C-DAPT 的鉴定结果

¹¹C-DAPT 整个合成过程大约 30 min, 放射化学产率 25%~35%(未校正, 3 次重复试验), 放射化学纯度>95%。HPLC 检测¹¹C-DAPT 与¹²C-DAPT 标准品保留时间一致, 大约在 5.3 min 时(图 2、3)。

2.3 ¹¹C-DAPT 在正常兔体内的分布

兔注射¹¹C-DAPT 后, 体内吸收迅速, 以肾脏分布较多, 肝脏、肠道、肺、脑等脏器摄取较低。7 min 时肝脏、肾脏摄取达到高峰, 28 min 后降低>50%(表 1)。注射后即刻扫描, 肠道、脑及肺的放射性摄取达到高峰, 随时间延长逐渐降低。0~21 min, 随时间延长, 膀胱的放射性摄取逐渐增高。兔喉部前方可见放射性摄取增高组织, 且随时间延长摄取逐渐降低, 但受 PET/CT 分辨率的影响, 无法明确具体器官来源。图 4 和图 5 显示注射¹¹C-DAPT 后正常兔的 PET/CT 图像。

3 讨论

近年来有研究结果发现, 多种恶性肿瘤的发生、发展与持续活化 Notch 信号通路相关^[8]。另外, Notch 信号通路能够促进癌症干细胞的形成和上皮间质转化, 并与肿瘤耐药性密切相关, 通过药物性阻断该通道能够抑制肿瘤的生长、克服化疗药物耐药性^[9-11]。Notch 信号通路药物性阻断剂包括单克隆抗体、γ 分泌酶抑制剂、小分子干扰 RNA 和天然化合物。其中 γ 分泌酶抑制剂靶向药为目前

最被广泛及深入研究的 Notch 信号通路药物性阻断剂, 包括 RO4929097、MK-0752 和 DAPT 等^[11-12]。

胰腺癌为消化系统较常见的恶性肿瘤, 5 年生存率低于 5%^[13]。胰腺癌对放化疗不敏感, 目前手术是治疗胰腺癌最有效手段, 大约 60% 的胰腺癌患者在确诊时已发生远处转移, 25% 为局部晚期患者, 且不能进行根治切除术^[14]。因此, 寻找和建立早发现、早诊断的方法, 开发靶向治疗药物, 成为提高胰腺癌诊疗效果的主攻方向之一。临床前研究结果证实, DAPT 能够抑制胰腺癌细胞的生长、促进凋亡, 与化疗药物联合使用可以提高化疗效果^[6-7, 15]。本研究观察了不同浓度的 DAPT 对人胰腺癌细胞系 MiaPaca-2 增殖的影响, 结果发现 DAPT 对该细胞株增殖的抑制作用呈剂量依赖性关系, 与杜潇等^[6]研究结果一致; 同时使用 CH₃-DAPT 作用于 MiaPaca-2 细胞, 结果表明其对该细胞株的增殖亦有抑制作用。虽然 CH₃-DAPT 的抑制作用弱于 DAPT, 但说明 CH₃-DAPT 未改变 DAPT 的生物学特性, 仍可作用于胰腺癌细胞, 发挥抑制增殖作用, 为¹¹C-DAPT 作为分子探针进行胰腺癌的显像提供了理论依据。

¹¹C 标记的分子探针通常是将¹¹C-CH₃ 标记到有机化合物中, 是 PET 放射性药物合成的重要手段之一。本研究使用¹¹C 标记 DAPT, 不会引起原生物分子化学性质的变化, 而且方法灵活、过程简单。查阅国内外相关文献, 未见关于 Notch 信号通路抑制剂分子探针的报道, 考虑到 DAPT 具有 3 个甲基化取代位点, 更容易被标记, 所以选择以 DAPT 作为前体, 整个合成过程由合成器自动完成, 经过多次实验、分析, 发现将淋洗液乙醇浓度调整为 30% 时, 合成效率为 25%~30%, 放射化学纯度大于 95%。整个合成过程简单、快

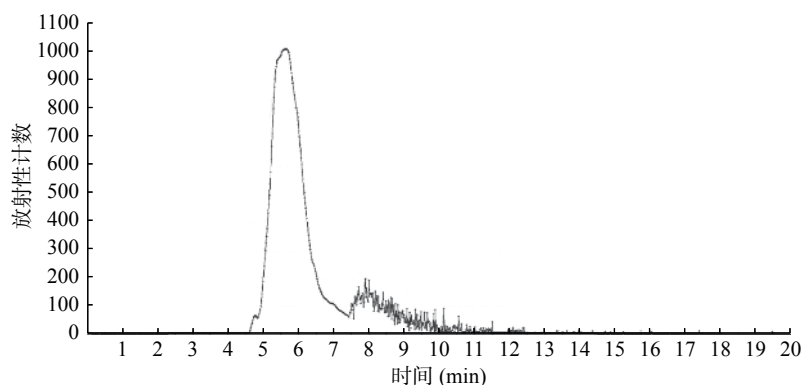


图 2 ¹²C-DAPT 标准品的 HPLC 保留时间图 图中, DAPT: (3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酸基-S-苯基甘氨酸叔丁酯; HPLC: 高效液相色谱。

Fig. 2 Retention time of reference substance ¹²C-N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester(DAPT) in analytic HPLC

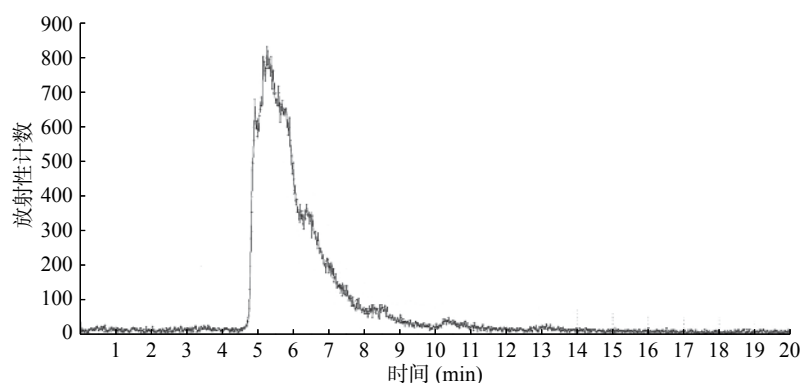


图 3 ¹¹C-DAPT HPLC 纯化后的保留时间图 图中, DAPT: (3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酸基-S-苯基甘氨酸叔丁酯; HPLC: 高效液相色谱。

Fig. 3 Retention time of ¹¹C-N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester(DAPT) purified by preparative HPLC

表 1 ¹¹C-DAPT 在正常新西兰兔体内的生物学分布 ($\bar{x} \pm s$, n=1)

Table 1 Biodistribution of ¹¹C-N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester(DAPT) in normal New Zealand rabbit

组织	ROI 的放射性浓度 (kBq/mL)				
	0 min	7 min	14 min	21 min	28 min
脑	38.3±1.53	26.6±0.58	23.3±0.58	16.0±1.00	14.0±0.00
肺	40.6±2.52	28.3±2.08	20.0±2.64	12.6±1.52	12.3±0.58
肝脏	57.0±1.73	66.7±0.58	50.3±0.58	45.3±1.57	30.0±1.00
肠道	43.3±3.51	35.0±3.00	27.3±1.53	21.3±1.53	16.7±0.58
肾脏	83.7±3.06	123.6±5.69	75.3±2.31	65.0±2.65	51.6±3.06
膀胱	2.3±0.58	3.3±1.15	29.7±0.58	60.0±0.00	49.7±0.58

注: 表中, DAPT: (3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酸基-S-苯基甘氨酸叔丁酯; ROI: 感兴趣区。

速, 放射化学纯度高。本研究的分布实验结果显示, 注射¹¹C-DAPT 后药物快速分布于各脏器, 在

肾脏摄取最多, 肝脏摄取较少, 肠道、脑和肺摄取低。在7 min 时肝脏和肾脏放射性浓聚达到高峰, 28 min 时降低>50%。而膀胱内放射性摄取随时间的增加逐渐增多, 这说明¹¹C-DAPT 主要通过肾脏排泄, 在体内清除快。胰腺和脾脏因体积较小, 且与邻近肠道组织难以区分, 勾画 ROI 较困难, 未测量放射性浓度。但是从图像观察, 除了肾脏, 腹腔内其他脏器放射性摄取较低, 具有较低的本底, 为进行胰腺病变的研究奠定了基础。另外, 本研究还发现喉部前方软组织内可见较高的放射性摄取, 随时间延长逐渐降低, 通过 PET/CT 大体的定位, 考虑为颌下腺的可能性大, 并且文献报道 Notch 信号通路调节唾液腺的发育以及再生, Notch1~4 受体在唾液腺细胞表面均有表达^[16-17]。在后续的实验, 将用小鼠做离体测量, 通过测量各器官(包括胰腺、脾脏、颌下腺等)的放射性计数, 进一步明确¹¹C-DAPT 的生物学分布。

综上, 本研究体外细胞实验结果证明, DAPT 甲基化未改变 DAPT 的生物学特性, 仍能够作用于胰腺癌细胞, 抑制其增殖, 在此基础上本研究成功制备了基于 Notch 信号通路抑制剂的分子探针¹¹C-DAPT, 合成过程简便、快速, 放射化学纯度高, 生物学分布提示¹¹C-DAPT 在肝脏、肠道的摄取低, 为¹¹C-DAPT 进行胰腺癌的显像奠定了基础。我们下一步将建立胰腺癌皮下移植瘤动物模型, 观察胰腺癌对¹¹C-DAPT 的摄取情况, 进一步探索¹¹C-DAPT 作为胰腺癌新型靶向分子探针的可能性。

利益冲突 本研究由署名作者按以下贡献声明独立开展, 不涉及任何利益冲突。

作者贡献声明 张姝负责实验的实施、论文的撰写; 靳晓娜负责细胞实验的指导; 党永红负责放射性药物标记实验的指导; 霍力、李方负责命题的提出与论文的审阅。

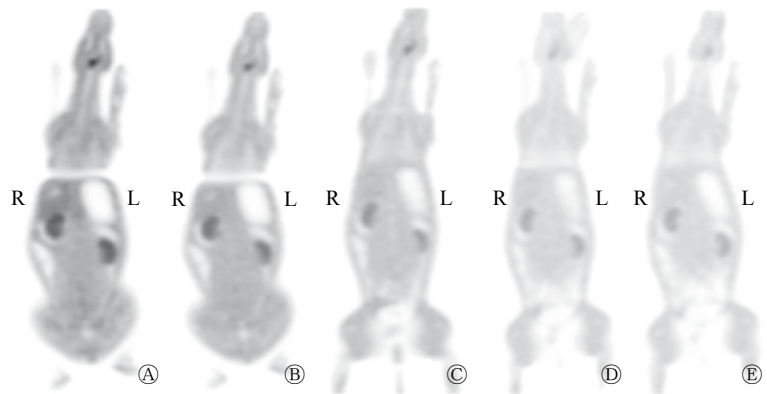


图 4 新西兰兔注射¹¹C-DAPT 后不同时间的 PET 冠状位图像 图中, A: 0 min; B: 7 min; C: 14 min; D: 21 min; E: 28 min。DAPT: (3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酸-S-苯基甘氨酸叔丁酯。

Fig. 4 Coronal PET images of New Zealand rabbit at different time point after injection of ¹¹C-N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester(DAPT)

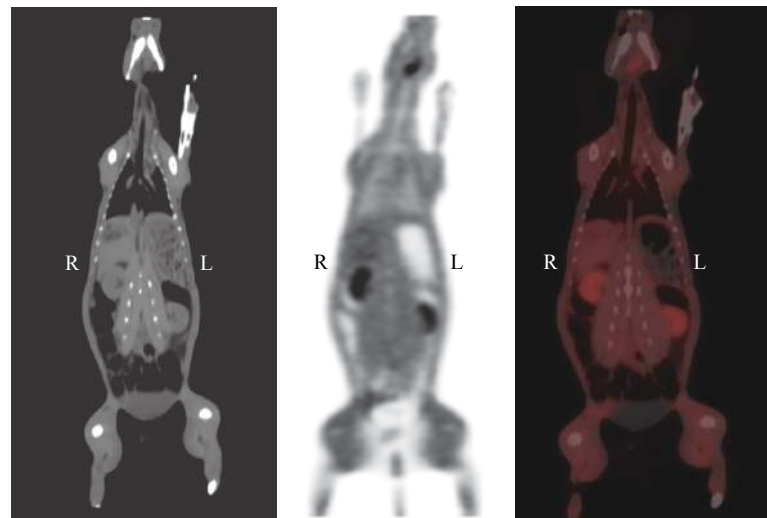


图 5 新西兰兔注射¹¹C-DAPT 14 min 后的 PET/CT 冠状位图像 图中, DAPT: (3,5-二氟苯乙酰基)-L-丙氨酸-S-苯基甘氨酸叔丁酯。

Fig. 5 Coronal PET, CT and fusion images of New Zealand rabbit at 14 min after injection of ¹¹C-N-[N-(3,5-difluorophenacetyl)-L-alanyl]-S-phenylglycine t-butyl ester

参 考 文 献

- [1] Ma J, Xia J, Miele L, et al. Notch Signaling Pathway in Pancreatic Cancer Progression[J/OL]. Pancreat Disord Ther, 2013, 3(114): 1000114[2018-10-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3767173/>.
- [2] Chiang MY, Radojcic V, Maillard I. Oncogenic Notch signaling in T-cell and B-cell lymphoproliferative disorders[J]. Curr Opin Hematol, 2016, 23(4): 362-370. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000254.
- [3] Kontomanolis EN, Kalagasidou S, Poulilious S, et al. The Notch Pathway in Breast Cancer Progression[J/OL]. Scientific WorldJournal, 2018:2415489[2018-10-22]. <https://www.hindawi.com/journals/tswj/2018/2415489/>.

- [4] Rodriguez JM, Miranda D, Bunout D, et al. Folates Induce Colorectal Carcinoma HT29 Cell Line Proliferation Through Notch1 Signaling[J]. *Nutr Cancer*, 2015, 67(4): 706–711. DOI: [10.1080/01635581.2015.1011285](https://doi.org/10.1080/01635581.2015.1011285).
- [5] Chiamonte R, Colombo M, Bulfamante G, et al. Notch pathway promotes ovarian cancer growth and migration via CXCR4/SDF1alpha chemokine system[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2015, 66: 134–40. DOI: [10.1016/j.biocel.2015.07.015](https://doi.org/10.1016/j.biocel.2015.07.015).
- [6] 杜潇, 程中, 李昉, 等. γ 分泌酶抑制剂 DAPT 对胰腺癌细胞生长的影响[J]. 四川大学学报(医学版), 2013, 44(5): 699–702. Du X, Cheng Z, Li Y, et al. Suppressive Effects of γ -secretase Inhibitor DAPT on the Proliferation of Pancreatic Cancer Cells[J]. *J Sichuan Univ(Med Sci)*, 2013, 44(5): 699–702.
- [7] Cook N, Basu B, Smith DM, et al. A phase I trial of the γ -secretase inhibitor MK-0752 in combination with gemcitabine in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Br J Cancer*, 2018, 118(6): 793–801. DOI: [10.1038/bjc.2017.495](https://doi.org/10.1038/bjc.2017.495).
- [8] Brzozowa-Zasada M, Piecuch A, Michalski M, et al. Notch and its oncogenic activity in human malignancies[J]. *Eur Surg*, 2017, 49(5): 199–209. DOI: [10.1007/s10353-017-0491-z](https://doi.org/10.1007/s10353-017-0491-z).
- [9] Feng Z, Xu W, Zhang C, et al. Inhibition of gamma-secretase in Notch1 signaling pathway as a novel treatment for ovarian cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(5): 8215–8225[2018-10-22]. <http://mct.aacrjournals.org/content/5/3/483.long>. DOI: 10.18632/oncotarget.14152.
- [10] Wang Z, Zhang Y, Li Y, et al. Down-regulation of Notch-1 contributes to cell growth inhibition and apoptosis in pancreatic cancer cells[J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(3): 483–493. DOI: [10.1158/1535-7163.MCT-05-0299](https://doi.org/10.1158/1535-7163.MCT-05-0299).
- [11] Wang L, Dai G, Yang J, et al. Cervical Cancer Cell Growth, Drug Resistance, and Epithelial-Mesenchymal Transition Are Suppressed by γ -Secretase Inhibitor RO4929097[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 4046–4053. DOI: [10.12659/MSM.909452](https://doi.org/10.12659/MSM.909452).
- [12] Yuan X, Wu H, Xu H, et al. Notch signaling: an emerging therapeutic target for cancer treatment[J]. *Cancer Lett*, 2015, 369(1): 20–27. DOI: [10.1016/j.canlet.2015.07.048](https://doi.org/10.1016/j.canlet.2015.07.048).
- [13] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 5–29. DOI: [10.3322/caac.21254](https://doi.org/10.3322/caac.21254).
- [14] 中国临床肿瘤学会胰腺癌专家委员会. 胰腺癌综合诊治中国专家共识(2014年版)[J]. *临床肝胆病杂志*, 2014, 30(10): 970–980. DOI: [10.3969/j.issn.1001-5256.2014.10.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-5256.2014.10.002). The Chinese Society of Clinical Oncology Pancreatic Cancer Expert Committee. Chinese consensus on pancreatic cancer diagnosis and treatment (2014 version)[J]. *J Clin Hepatol*, 2014, 30(10): 970–980. DOI: [10.3969/j.issn.1001-5256.2014.10.002](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-5256.2014.10.002).
- [15] Du X, Zhao YP, Zhang TP, et al. Alteration of the intrinsic apoptosis pathway is involved in Notch-induced chemoresistance to gemcitabine in pancreatic cancer[J]. *Arch Med Res*, 2014, 45(1): 15–20. DOI: [10.1016/j.arcmed.2013.10.001](https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2013.10.001).
- [16] Liu F, Wang S. Molecular cues for development and regeneration of salivary glands[J]. *Histol Histopathol*, 2014, 29(3): 305–312. DOI: [10.14670/HH-29.305](https://doi.org/10.14670/HH-29.305).
- [17] Dang H, Lin AL, Zhang B, et al. Role for Notch signaling in salivary acinar cell growth and differentiation[J]. *Dev Dyn*, 2009, 238(3): 724–731. DOI: [10.1002/dydy.21875](https://doi.org/10.1002/dydy.21875).

(收稿日期: 2018-10-23)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

关于关键词的使用

1. 关键词是为了便于编制文献索引、检索和阅读而选取的能反映文章主题概念的词或词组。一般每篇论文选取 2~5 个关键词。中英文关键词应一致。

2. 关键词尽量从美国国立医学图书馆的 Mesh 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=mesh>)中选取, 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, 建议排在最后。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。

3. 应特别注意首标关键词的选用, 该词应反映全文最主要的内容; 切勿将副主题词当作关键词列出。未被词表收录的词(自由词), 必要时可作为关键词使用, 但排序应在最后。

本刊编辑部