艾迪注射液对人肝癌细胞株多药耐药性的逆转作用*

喻贡金[1,2]，李红霞[1,2]，喻 超[1,2]，刘兴贵[1,2**]
(1. 贵州医科大学附院 肝胆外科，贵州 贵阳 55004；2. 贵州医科大学 肝胆胰脾重点实验室，贵州 贵阳 550004)

[摘 要] **目的**：探讨艾迪注射液对人肝癌细胞株 Bel-7402/5-FU 多药耐药性(MDR)的逆转作用及可能机制。**方法**：采用 5-氟尿嘧啶(5-FU)药物浓度梯度递增法建立人肝癌 MDR 细胞株 Bel-7402/5-FU，采用 cck-8 法检测 Bel-7402 及 Bel-7402/5-FU 对 5-FU、阿霉素(ADM)、丝裂霉素(MMC)、甲氨蝶呤(MTX)、环玲酰胺(CTX)及顺铂(CDDP)6 种化疗药物的敏感性、并计算半数致死浓度(IC_{50})及 6 种化疗药物对 Bel-7402/5-FU 细胞的 IC_{50} 及耐药指数(RI)，同时观察不同浓度艾迪注射液对 Bel-7402/5-FU 细胞的抑制率，Western blot 法检测经过 IC_{50} 艾迪注射液处理的 Bel-7402/5-FU 细胞中多药耐药相关蛋白 1(MRP1)、P-糖蛋白(P-gp)、程序化死亡因子 5 蛋白(PDCD5)的表达水平。**结果**：6 种化疗药物对 Bel-7402/5-FU 细胞株的 IC_{50} 较 Bel-7402 细胞株明显升高，与 Bel-7402 细胞相比，Bel-7402/5-FU 细胞株中 MRP1、P-gp 表达明显升高，PDCD5 表达明显降低($P<0.05$)；经 IC_{50} 艾迪注射液处理后的 Bel-7402/5-FU 细胞中升高的 MRP1、P-gp 表达和 PDCD5 降低得到抑制($P<0.05$)。**结论**：艾迪注射液具有逆转肝癌细胞 MDR 的作用，其机制可能与下调多药耐药相关蛋白 MRP1、P-gp 表达，上调凋亡相关蛋白 PDCD5 的表达有关。

[关键词] 多药耐药；半数致死浓度；耐药指数；交叉耐药；艾迪注射液
[中图分类号] R73－36；R735.7；R285 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2017)07-0759-04
DOI：10.19367/j.cnki.1000-2707.2017.07.004

A Research on Reversal Effect of Aidi Injection to Multidrug-resistant Human Hepatocellular Carcinoma Cell Line

YU Gongjin[1,2], LI Hongxia[1,2], YU Chao[1,2], LIU Xinggui[1,2]
(*1. Department of Liver and Gall Surgery, the Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Key Laboratory of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China*)

[**Abstract**] **Objective**: To explore the reversal effect of Aidi injection to human hepatoma cell line, Bel-7402/5-FU, a multidrug-resistant strain, and the possible mechanism. **Methods**: The multidrug-resistant human hepatocellular carcinoma Bel-7402/5-FU was established by increasing concentrations of fluorouracil (5-FU). The sensitivities of BEL-7402 and Bel-7402/5-fu to six kinds of chemotherapy drugs (5-FU, ADM, MMC, MTX, CTX, and CDDP), and sensitivity of Bel-7402/5-FU to Aidi injection were tested with CCK-8 method. Half lethal concentrations (IC_{50}) of the 6 drugs to Bel-7402/5-FU, and resistence index (RI) of Bel-7402/5-FU to these drugs were calculated. The inhibitory rates of different consentrations of Aidi injection to Bel-7402/5-FU were observed. Expression levels of resistance related protein 1 (MRP1), P-glucose protein (P-gp), and programmed cell death 5 (PDCD5) in Bel-7402/5-FU cells treated by Aidi injection of IC_{50} concentration were detected with Western blot. **Results**: IC_{50}s of the 6 drugs to Bel-7402/5-FU were significantly higher than those to Bel-7402; In Bel-7402/5-FU cells, the protein expression levels of MRP1 and P-gp were obviously

*[基金项目]国家自然科学基金项目(81560477)；贵州省卫生计生委科学技术基金(gzwjkj 2014－2－112)；贵州省科学技术基金[黔科合 J 字(2015)2013 号]；贵州省“肝胆胰脾疾病诊治”导师工作室[黔教研合 GZS(2016)09]；贵州省肝胆外科临床医学研究中心[黔科合平台人才(2017)5404]
**通信作者 E-mail：xinggui_liu@163.com
网络出版时间：2017－07－13 网络出版地址：http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20170713.2306.029.html

higher and the expression level of PDCD5 protein was lower than those in Bel7402 cells($P<0.05$); The expression of MRP1 and P-gp proteins was down-regulated after Aidi injection treatment, while the PDCD5 protein was significantly incrased($P<0.05$). **Conclusion**: The Aidi injection can reverse multi-drug resistance of the Bel-7402/5-FU cell line. The mechanisms might associate with down-regulation of MRP1 and P-gp, and up-regulation of PDCD5.

[**Key words**] multidrug resistance; half maximal inhibitory concentration; drug resistance index; cross-resistance; Aidi injection

原发性肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一,全世界每年约有50万例原发性肝癌的新发病例,其中50%发生在我国,发病率居全国恶性肿瘤的第4位[1-2]。肝癌由于起病隐匿、临床表现不典型、早期诊断率低,导致大部分病人在确诊时已达中晚期,仅约20%的肝癌患者适合行手术治疗,5年生存率极低[3]。近年来越来越多的学者将目光转移到肝动脉栓塞化疗(TACE)、无水酒精注射治疗(PET)、射频消融术(RFA)、化疗、放疗及生物治疗等非手术治疗途径上,尝试以这些非手术治疗的方法来提高肝癌患者的预后和生存率,尤其以化疗的使用最为广泛[4-7]。然而化疗并没有使肝癌患者的预后及生存率得到明显改善,其原因就是肿瘤细胞可对化疗药物产生多药耐药(multi-drug resistance, MDR),肝癌细胞对化疗药物存在MDR现象严重阻碍了化疗的效果[8]。因此,如何提高肝癌细胞对化疗药物的敏感性,逆转肝癌细胞的MDR现象是当前急需解决的问题。艾迪注射液是由斑蝥、人参、黄芪及刺五加组成,具有直接杀灭肿瘤细胞、促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管新生、MDR逆转、骨髓保护及免疫调节等作用[9-10],但因对其作用机制缺乏系统性研究,未被广泛接受和认可。本实验通过研究艾迪注射液对肝癌细胞的MDR的可能逆转作用机制及途径,为艾迪注射液在肝癌患者的临床应用提供理论依据,同时对传统医学的发展提供循证医学的依据。

1 材料与方法

1.1 细胞株及试剂

人肝癌细胞株Bel-7402(南京凯基生物科技有限公司),RPMI1640(Gibco),胎牛血清(Gibco),艾迪注射液(贵州益佰制药股份有限公司),CCk-8(北京索莱宝科技有限公司),氟尿嘧啶(5-FU,1 g/支,Sigma公司),阿霉素(ADM,10 mg/支,sigma公司),丝裂霉素(MMC,2 mg/支,sigma公司),甲氨蝶呤(MTX,5 mg/支,sigma公司),环玲酰胺(CTX,0.2 g/支,sigma公司),顺铂(CDDP,20 mg/支,sigma公司),鼠抗人多药耐药相关蛋白1(MRP1)抗体(美国Novus Biological公司),鼠抗人P-糖蛋白(P-gp)抗体(美国NeoMarker公司)、兔抗人程序化死亡因子5蛋白(PDCD5)抗体(北大生科院),cocktail裂解液(碧云天公司),ECL试剂(碧云天公司)。

1.2 方法

1.2.1 肝癌MDR细胞株Bel-7402/5-FU的建立 取对数生长期的人肝癌细胞Bel-7402,计数后接种于起始浓度为2 mg/L的5-FU培养夜中培养3~5 d,弃去上清及死亡后悬浮的细胞,更换含同等浓度的5-FU培养夜继续培养3~5 d,弃去上清及死亡后的悬浮细胞,加入含剂量加倍浓度的5-FU培养夜,重复上诉步骤。4个月后,细胞可在含20 mg/L的5-FU的培养液中稳定生长增值,将该细胞亚系命名为Bel-7402/5-FU。更换培养液,使Bel-7402/5-FU细胞在含5-FU浓度为20 mg/L的培养液中继续培养维持其耐药性,实验前2周撤去药物,以正常的RPMI 1640培养液培养,用于后续的研究。

1.2.2 Bel-7402和Bel-7402/5-FU细胞对6种化疗药物的敏感性 采用cck-8法检测,取对数生长期的Bel-7402细胞和Bel-7402/5-FU细胞,常规消化制成1×10^8/L细胞悬液接种于96孔板,每孔终体积为200 μL,培养24 h后,使细胞贴壁良好,更换新鲜培养液,将细胞分为6组,分别给予5-FU、CTX(2.5、5.0、10.0、20.0、40.0及80.0 mg/L),ADM、CDDP(0.1、0.2、0.4、0.8、1.6及3.2 mg/L),MTX(0.25、0.5、1.0、2.0、4.0及8.0 mg/L),MMC(0.75、1.5、3.0、6.0、12.0及24.0 mg/L)处理细胞,每个浓度的药物设4个复孔,并设4个不加药的平行对照孔,4个不加细胞的PBS作为调零孔。继续培养48 h后,去除含药培养液,再换以新鲜培养液继续培养24 h。最后细胞中加入cck-8液

10 μL,培养 2 h 后,使用酶标仪在 450 nm 波长下读取吸光度值(OD),计算 6 种化疗药物对 Bel-7402 及 Bel-7402/5-FU 细胞的50%抑制率的浓度,计算 Bel-7402/5-FU 的耐药指数(RI),RI = Bel-7402/5-FU 的半数致死浓度(IC_{50})/Bel-7402 的 IC_{50}。

1.2.3 Bel-7402/5-FU 细胞对艾迪注射液的敏感性　采用 CCK-8 法检测,分为空白对照组(含 Bel-7402/5-FU 细胞的 RPMI 1640 培养液 200 μL,设置 4 个复孔)和艾迪注射液组(分别加入含 5、10、20、40、80 及 160 g/L 的培养液 200 μL,每组均设 4 个复孔),处理后的细胞采用酶标仪在 450 nm 波长下读取 OD 值,计算 Bel-7402/5-FU 细胞对艾迪注射液的 IC_{50}。

1.2.4 MRP1、P-gp 及 PDCD5 蛋白表达　Western blot 法检测,实验分为 Bel-7402 细胞组、Bel-7402/5-FU 细胞组及 IC_{50} 的艾迪注射液作用后的 Bel-7402/5-FU 细胞组,分别加入 200 μL 含 coktail 的裂解液提取总蛋白,测定蛋白浓度,取 50 μg 蛋白的溶液体积为上样量,各组样品加入上样缓冲液后于 37 ℃放置 40 min 使蛋白变性,于 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离 2 ~ 3 h,将蛋白电转移至 PVDF 膜,室温下用 5% 的脱脂粉摇动封闭 40 min,加入相应一抗中 37 ℃孵育 2 h,PBST 洗 4 次 × 8 min,加入二抗 37 ℃孵育 2 h,PBST 洗 4 次 × 8 min,然后加入 ECL 显色液暗色显色用凝胶图像分析软件分析目标带的 OD 值,以 β-actin 蛋白作为内参,用目的条带与内参(β-actin)条带 OD 值之比作为目的蛋白的相对表达量,每组重复 4 次。

1.3 统计学处理

数据采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,计算 Bel-7402 细胞和 Bel-7402/5-FU 细胞对 6 种化疗药物的 IC_{50}[11],计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据比较采用单因素方差分析;两样本均数比较采用独立样本 t 检验,$P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1 Bel-7402 细胞及 Bel-7402/5-FU 细胞对 6 种化疗药物的敏感性

与 Bel-7402 细胞对 6 种化疗药物的 IC_{50} 值比较,Bel-7402/5-FU 细胞对 6 种化疗药物均 IC_{50} 值均有升高($P < 0.05$),均表现出不同程度的耐药性,对 5-FU、ADM、MMC、MTX、CTX、CDDP 的 RI 分别为 21.21 ± 2.73、8.19 ± 0.53、10.05 ± 0.16、23.75 ± 2.75、5.59 ± 0.42、18.19 ± 0.04。见表 1。

表 1　肝癌 Bel-7402/5-FU 细胞耐药性检测结果($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1　Test results of drug resistance of hepatoma Bel-7402/5-FU cells($\bar{x} \pm s$)

化疗药物	IC_{50}(mg/L)		RI
	Bel-7402	Bel-7402/5-FU	
5-FU	12.787 ± 1.669	266.73 ± 0.41[(1)]	21.21 ± 2.73
ADM	1.37 ± 0.07	11.23 ± 0.09[(1)]	8.19 ± 0.53
MMC	2.21 ± 0.04	22.11 ± 0.64[(1)]	10.05 ± 0.16
MTX	0.26 ± 0.02	7.05 ± 0.62[(1)]	23.75 ± 2.75
CTX	4.82 ± 0.43	26.93 ± 0.36[(1)]	5.59 ± 0.42
CDDP	0.24 ± 0.15	4.45 ± 0.11[(1)]	18.19 ± 0.04

[(1)] 与 Bel-7402 细胞相比,$P < 0.05$

2.2 艾迪注射液对 Bel-7402/5-FU 细胞的抑制率

不同浓度的艾迪注射液(5、10、20、40、80 及 160 g/L)对 Bel-7402/5-FU 细胞的抑制率分别为(3 ± 0.84)%、(14 ± 3.55)%、(25 ± 1.49)%、(30 ± 0.71)%、(34 ± 2.95)%、(47 ± 4.32)%,使用 SPSS19.0 计算艾迪注射液对 Bel-7402/5-FU 细胞的 IC_{50} 为(106.43 + 1.84)g/L。

2.3 MRP1、P-gp 及 PDCD5 蛋白表达

Western blot 结果显示,MRP1、P-gp 在 Bel-740/5-FU 细胞中的表达水平明显高于 Bel-7402 细胞,PDCD5 明显低于 Bel-7402 细胞($P < 0.05$);经过 IC_{50} 艾迪注射液作用后 Bel-7402/5-FU 细胞中升高的 MRP1、P-gp 蛋白表达水平和降低的 PDCD5 蛋白表达水平得到抑制($P < 0.05$)。见图 2,表 2。

表 2　三组细胞中 MRP1、P-gp 及 PDCD5 蛋白相对表达量(%)

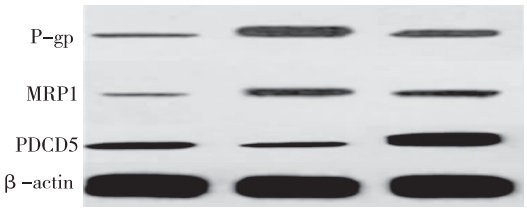
Tab. 2　Relatvie expression levels of MRP1, P-gp and PDCD5 proteins in 3 groups of cells

组别	MRP1	P-gp	PDCD5
Bel-7402	0.377 ± 0.684	0.442 ± 0.497	0.847 ± 0.451
Bel-7402/5-FU	0.925 ± 0.654[(1)]	0.991 ± 0.194[(1)]	0.507 ± 0.932[(1)]
Bel-7402/5-FU+S	0.619 ± 0.799[(2)]	0.686 ± 0.346[(2)]	1.193 ± 0.200[(2)]

[(1)] 与 Bel-7402 组比较,$P < 0.05$;[(2)] 与 Bel-7402/5-FU 组比较,$P < 0.05$

3　讨论

化疗是当前治疗肝癌的重要手段之一,在化疗



注:1 为 Bel-7402 细胞,2 为 Bel-7402/5-FU 细胞,3 为 Bel-7402/5-FU + 艾迪注射液

图 1 MRP1、P-gp 及 PDCD5 蛋白表达水平(Western blot)

Fig. 1 Western blot results showing expression levels of MRP1, P-gp and PDCD5 proteins

刚开始用于临床时,化疗效果较好,明显的减少了肝癌患者术后的复发及转移。然而,随着化疗药物在临床上的广泛应用,肝癌细胞对化疗药物逐渐产生多药耐药。有研究证实,90% 以上的肝癌患者化疗失败的原因都与不同程度的 MDR 有关,目前认为化疗出现 MDR 的原因主要涉及以下几个方面:(**1**)跨膜转运蛋白通过泵药作用,可将肝癌细胞内的化疗药物泵出细胞外,促进药物在肝癌细胞内的再分布,减少作用于肝癌细胞内的特点靶点的药物浓度,从而导致耐药[12];(**2**)肝癌细胞内酶系统发生改变,目前有研究证实,肝癌细胞内一系列酶的活化或失活也参与了肝癌细胞 MDR 的发生[13-15];(**3**)丝裂原活化蛋白激酶的激活可引起肿瘤细胞的 MAPK 信号转导通路的激活,从而导致肝癌细胞产生 MDR[16];(**4**)控制肝癌细胞凋亡的相关基因和蛋白的改变,控制肝癌细胞凋亡的基因和蛋白改变后可导致肝癌细胞抵抗和逃逸凋亡,从而引起肝癌细胞的 MDR 现象;(**5**)肝癌细胞微环境的改变可导致肝癌细胞形成新的血管、肝癌细胞代谢途径的改变以及肝癌细胞对缺氧环境的适应等,是肝癌细胞对化疗药物产生多药耐药的重要原因之一。

本研究在建立人肝癌 MDR 细胞株 Bel-7402/5-FU 后,通过 cck-8 法对亲本细胞 Bel-7402 及耐药细胞 Bel-7402/5-FU 对 6 种化疗药物的敏感性进行检测,结果发现耐药细胞株 Bel-7402/5-FU 对 6 种化疗药物的 IC_{50} 明显高于亲本细胞,通过 Western blot 法结果显示耐药细胞株 Bel-7402/5-FU 中 P-gp 及 MRP1 明显高于亲本细胞,而 PDCD5 明显低于亲本细胞,进一步证实了 BEL-7402/5-FU 的成功建立及肝癌细胞 MDR 的存在。同时,本研究还通过 IC_{50} 的艾迪注射液作用于耐药细胞株 Bel-7402/5-FU 后,跨膜转运蛋白及 MDR 蛋白较耐药细胞株的表达明显减少,而 PDCD5 的表达较耐药细胞株的表达明显增加,提示艾迪注射液具有逆转肝癌细胞 MDR 的作用,其机制可能与下调 MDR 相关蛋白 MRP1、P-gp 表达,减少细胞对化疗药物的外排,增加细胞内药物的浓度,并上调 PDCD5 蛋白的表达,抑制肿瘤细胞增值,促进肿瘤细胞凋亡,从而部分逆转肿瘤细胞的 MDR 性有关。通过本实验研究可以为艾迪注射液在肝癌的临床应用上提供一定的理论依据。

4 参考文献

[1] 郝捷,陈万青. 各部位恶性肿瘤的发病与死亡[M]. 北京:军事医学科学出版社, 2012:21-22.

[2] Ferenci P, Fried M, Labrecque D, et al. Hepatocellular carcinoma(HCC):a global perspective, J Clin Gastroenterol [J]. J Clin Gastroenterol, 2010(4):239-245.

[3] Zhou L, Rui JA, Wang SB, et al. Risk factors of microvascular invasion, portal vein tumor thrombosis and poor post-resectional survival in HBV-related hepatocellular carcinoma[J]. Hepatogastroenterology, 2014(134):1696-1703.

[4] Goldstein HM, Wallace S, Anderson HG, et al. Transcatheter occlusion of abdominal Tumors[J]. Radiology, 1976(3):539-545.

[5] Peng ZW, Zhang YJ, Chen MS, et al. Risk factors of survival after Transcatheter radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma[J], Surg Oncol, 2008(17):23-31.

[6] 夏雨,饶荣生,陶清亮,等. CT 引导微波治疗复发性肝癌的临床研究[J],中华肝胆外科杂志, 2005(7):496.

[7] Hata M, Tokuuye KS. Proton beam therapy for hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus [J]. Cancer, 2005(4):794-801.

[8] Bidler JL, Riehm H. Celluar resistance to actinomycin D in Chinese hamster cells in vitro:cross-resistance radioautographic, and cytogenetic studies[J]. Cancer Res, 1970(4):1174-1184.

[9] Zheng LH, Bao YL, Wu Y, et al. Cantharidin reverses multidrug resistance of human hepatoma Bel-7402/ADM cells via down-regulation of P-glycoprotein expression[J]. Cancer Lett, 2008(1):102-109.

[10] 张隽开,王忠裕,丁大朋,等. 黄芪对肝癌耐药细胞株 Bel/Fu 化疗敏感性的影响[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2008(4):398-402.

[11] 赵斌. 葛金芳. 朱娟娟. 等. 小议 MTT 法测细胞增殖抑制率中 IC_{50} 的计算方法[J]. 安徽医药, 2007(9):834-836.

(下转第 771 页)

添加于各类食品或作为药用,从而提高淫羊藿药渣的再开发利用价值。

4　参考文献

[1] 周达彪,唐懋华. 中药渣农业循环利用模式产业化探讨[J]. 上海蔬菜, 2007(6):112 – 115.

[2]庄毅,洪净. 药用真菌双向性固体发酵工程与中成药药渣再开发[J]. 中国中药杂志, 2006(22):1918 – 1919.

[3]付亮,袁璟亚,丁春邦,等. 淫羊藿药渣中多糖的提取及其体外抗氧化活性评价[J]. 食品工业科技, 2016(1):116 – 120.

[4]马婷,王丽娜,李子坚,等. 淫羊藿苷抗肿瘤作用的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2017(9):1505 – 1508.

[5]许碧连,吴铁. 淫羊藿总黄酮药理作用的研究现状[J]. 中国临床药理学与治学, 2003(1):115 – 117

[6]刘江亭,林永强,张学兰,等. 白术麸炒前后饮片和水煎液中总糖、多糖含量测定比较[J]. 中医药学报, 2016(5):15 – 17.

[7]陈纬,邹焰. 人参、淫羊藿增强小鼠免疫功能的协同作用[J]. 遵义医学院学报, 2001(1):2 – 6.

[8]张俊生,陈莉华,汤小虎,等. 淫羊藿总黄酮的超声辅助提取及其抗氧化活性[J]. 生物加工过程, 2012(1):13 – 18.

[9]Srinivasa RK, Chaudhury PK, Pradhan A. Evaluation of anti – oxidant activities and total phenolic content of Chromolaena odorata[J]. Food & Chemical Toxicology An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association, 2010(2):729 – 731.

[10]高锦明,植物化学[M]. 北京:科学出版社, 1995:156 – 191.

[11]雷永涛,李莉,郝小燕,等. 淫羊藿总黄酮的提取和分离纯化工艺研究[J]. 贵阳医学院学报, 2012(2):137 – 140.

(2017-04-18 收稿,2017-06-26 修回)
中文编辑: 刘　平; 英文编辑: 赵　毅

(上接第 762 页)

[12]Martelli C, Dei S, Lambert C, et al. Inhibition of P-glycoprotein-mediated Multidrug Resistance (MDR) by N, N-bis(cyclohexanol)amine aryl esters: Further restriction of molecular flexibility maintains high potency and efficacy[J]. Bioorg Med Chem let, 2011(21):106 – 109.

[13]Burg D, Riepsaame J, Pont C, et al. Peptide-bond modified glutathione conjugate analogs modulate GSTpi function in GSH-cojugation, drug sensitivity and JNK signaling[J]. Biochem Pharmacol, 2006(3):268 – 277.

[14]Perez-Sayans M, Somoza-Martin JM, Barros-Angueira F, et al. Multidrug resistance in oral squamous cell carcinoma: The role of vacuolar ATPase[J]. Cancer Lett, 2010(2):135 – 143.

[15]Sun LR, Zhong Ji, Cui SX, et al. Modulation of P-glycoprotein activity by the substituted quinoxalinonc compound of QA3 in Adriamycin-resistant K562/A02 cells[J]. Pharmacol Rep, 2010(2):333 – 342.

[16]Ling X, He X, Apontes P, et al. Enhancing effectiveness of the MDR-sensitive compound T138067 using advanced treatment with negative modulators of the drug-resistant protein survivin[J]. AM J Transl Res, 2009(4):393 – 405.

(2017-02-18 收稿,2017-04-29 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 苏晓庆

(上接第 766 页)

[8]Reid JL, Wright TC, Stoler MH, et al. Human Papillomavirus oncogenic mRNA testing for cervical cancer screening[J]. American Journal of Clinical Pathology, 2015(3):473 – 483.

[9]Doorbar JJNM, Quint W, Banks L, et al. The Biology and life-cycle of human papillomaviruses[J]. Vaccine, 2012(Suppl. 5):F55 – F70.

[10]Schiller JTSM, Castellsague X, Garland SM. A Review of clinical trials of human papillomavirus prophylactic vaccines[J]. Vaccine, 2012(Suppl. 5):F123 – F138.

[11]吴芳, 安永康, 朱艳琴. 内质网应激与肿瘤细胞凋亡研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2014(9):2228 – 2231.

[12]Zhu G, Lee ASAU. Role of the Unfolded protein response, GRP78 and GRP94 in organ homeostasis[J]. Journal of Cellular Physiology, 2015(7):1413 – 1420.

[13]Dong D, Dubeau L, Bading J, et al. Spontaneous and controllable activation of suicide gene expression driven by the stress-inducible grp78 promoter resulting in eradication of sizable human tumors[J]. Human Gene Therapy, 2004(6):553.

[14]周玮. GRP78 的表达与肿瘤发生发展的关系—Meta 分析[D]. 武汉:华中科技大学, 2011.

(2017-04-07 收稿,2017-06-26 修回)
中文编辑: 刘　平; 英文编辑: 乐　萍