

GOLPH3 在 6 种肿瘤中的表达特点*

于莉娜^{1,2}, 田燕^{1,2}, 赵佩佩^{1,2}, 翁雅倩¹, 刘桢³, 华兴⁴

(1. 南方医科大学南方医院 病理科, 广东 广州 510515; 2. 南方医科大学 基础医学院 病理学系, 广东 广州 510515; 3. 贵州医科大学 临床医学院 病理学教研室, 贵州 贵阳 550004; 4. 暨南大学医学院附属广州红十字会医院, 广东 广州 510220)

[摘要] 目的: 探讨反面高尔基网的癌基因 GOLPH3 在人胃腺癌 (STAD)、肝细胞癌 (HCC)、乳腺癌 (BRCA)、子宫内膜癌 (UCEC)、睾丸生殖细胞肿瘤 (TGCT) 及前列腺癌 (SART) 组织中的表达特点。方法: 应用生物信息技术对 GOLPH3 的肿瘤组织分布情况进行分析, 筛选出 GOLPH3 表达上调癌组织-STAD、BRCA、UCEC 及 TGCT; 应用免疫组织化学 SP 法分别检测人 STAD、HCC、BRCA、UCEC、TGCT 及 SART 组织 ($n=30$) 及其癌旁组织 ($n=10$) 中 GOLPH3 蛋白的表达水平, 采用逆转录定量 PCR (qRT-PCR) 技术检测人 STAD 细胞株、人 HCC 细胞株、人 BRCA 细胞株、人 SART 细胞株及其相对应的对照细胞株中 GOLPH3 mRNA 表达水平, 分析 GOLPH3 表达水平与恶性肿瘤的关系。结果: GOLPH3 广泛表达于多个人体正常组织, 在 STAD、HCC、BRCA、UCEC、TGCT、SART 肿瘤细胞中表达显著上调; 免疫组织化学及 qRT-PCR 结果显示, GOLPH3 的蛋白及 mRNA 在相应实体恶性肿瘤组织及细胞株中的表达水平较癌旁组织或对照细胞的表达水平显著升高, 差异具有统计学意义 ($P<0.01$)。结论: GOLPH3 表达上调可能在 STAD、BRCA、UCEC、TGCT、HCC 及 SART 的发生发展过程中发挥重要促进作用。

[关键词] GOLPH3; 肿瘤; 生物信息学; 免疫组织化学; qRT-PCR; 分子标志物

[中图分类号] R361.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2019)05-0530-06

DOI: 10.19367/j.cnki.1000-2707.2019.05.007

The Expression of GOLPH3 in Six Kinds of Tumors

YU Lina^{1,2}, TIAN Yan^{1,2}, ZHAO Peipei^{1,2}, WENG Yaqian¹, LIU Zhen³, HUA Xing⁴

(1. Department of Pathology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China; 2. Department of Pathology, School of Basic Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China; 3. Department of Pathology, School of Clinical Medical Sciences, Guizhou Medical University, Guiyang 550004, Guizhou, China; 4. Department of Pathology, Guangzhou Red Cross Hospital Affiliated to Medical College of Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate expression of GOLPH3, an oncogene of the reverse Golgi reticulum, in human gastric adenocarcinoma (STAD), hepatocellular carcinoma (HCC), breast cancer (BRCA), endometrial cancer (UCEC), testicular germ cell tumor (TGCT) and prostate cancer (SART). **Methods:** The distribution of GOLPH3 in cancer tissues was analyzed by using bioinformatics technology, and the up-regulated expression of GOLPH3 in cancer tissues (STAD, BRCA, UCEC and TGCT) was screened out. The expression levels of GOLPH3 protein in human STAD, HCC, BRCA, UCEC, TGCT and SART tissues and their adjacent tissues were detected by immunohistochemical SP method. The expression of GOLPH3 in human STAD cell lines, human HCC cell lines, human BRCA cell lines, human SART cell lines and their corresponding control cell lines were detected by quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (qRT-PCR). The relationship between GOLPH3 expression and malignant tumors was analyzed. **Results:** GOLPH3 was widely expressed in

*[基金项目] 国家自然科学基金(81472319); 广东省自然科学基金(2014A030310134); 广州市科技计划项目(201707010465)

网络出版时间: 2019-05-28 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/52.1164.R.20190528.0228.007.html>

many human normal tissues, and up-regulated in STAD, HCC, BRCA, UCEC, TGCT and SART tumor cells. Immunohistochemical and qRT-PCR results showed that the expression level of GOLPH3 protein and its mRNA in the corresponding solid malignant tumor tissues and cell lines was significantly higher than that in adjacent tissues or control cells ($P < 0.01$). **Conclusion:** Upregulation of GOLPH3 expression may play an important role in the occurrence and development of STAD, BRCA, UCEC, TGCT, HCC and SART.

[**Key words**] GOLPH3; cancer; bioinformatics bioinformatics; immunohistochemistry; qRT-PCR; molecular markers

反面高尔基网的癌基因 GOLPH3 (golgi phosphoprotein-3) 又名 GPP34/GMx33/MIDAS, 是定位于人类染色体 5p13.3、全长 3.1 kb、编码分子量为 34 kD 的磷酸化高尔基体膜蛋白, 亦是近年来发现的首个定位于反面高尔基网 (TGN) 的癌基因^[1]。以往研究认为, 定位于 TGN 的蛋白质与肿瘤的发生无直接相关性^[2]; 但近年研究显示, 在蛋白质的修饰中 TGN 发挥重要作用, 尤其在肿瘤表观遗传学中的作用可能远远超过预期, 定位于 TGN 的癌基因 *GOLPH3* 在多种实体瘤中的异常扩增现象就是有力佐证^[3]。目前关于 GOLPH3 在肿瘤领域所发挥的确切作用及其机制尚未明确, 且缺乏系统的研究和报道。本研究应用生物信息技术对 GOLPH3 的肿瘤组织分布情况进行分析, 筛选出表达上调的癌组织, 应用免疫组织化学 SP 法检查这些上调癌组织中 GOLPH3 蛋白的表达水平, 采用逆转录定量 PCR (qRT-PCR) 技术检测上调肿瘤细胞株中 *GOLPH3* mRNA 表达水平, 探究 GOLPH3 与这几种不同类型肿瘤发生发展的关系, 为阐明肿瘤的发生发展提供新的科学依据, 亦为肿瘤的治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 组织、细胞及试剂

1.1.1 组织 病例来源于广州市南方医院病理科 2013 年 1 月 ~ 2015 年 12 月确诊并经手术切除获得的胃腺癌 (STAD)、肝细胞癌 (HCC)、乳腺癌 (BRCA)、子宫内膜癌 (UCEC)、睾丸生殖细胞肿瘤 (TGCT) 及前列腺癌 (SART) 组织石蜡标本各 30 例, 选择其癌旁正常组织石蜡标本各 10 例作为对照组。采用连续切片的方式处理所有组织标本 (厚 4 μm)。

1.1.2 细胞株 人 STAD 细胞株 BGC-823、SGC-790, 正常胃黏膜上皮细胞株 RGM-1, 人 HCC 细胞

株 Hep G2、HHCC, 人永生化肝细胞株 THLE-2, 人 BRCA 细胞株 MCF7、SKBr-3, 人正常乳腺上皮细胞株 MCF10A, 人 SART 细胞株 LNCap、PC3, 人正常前列腺上皮细胞株 RWPE-1, 均购自美国 ATCC。

1.1.3 主要试剂 兔抗人 GOLPH3 多克隆抗体 (购自美国 Abcam 公司), 即用型 EliVision™ plus 试剂盒、DAB 显色试剂盒及磷酸盐缓冲液 (PBS, 购自福州迈新生物技术有限公司), 总 RNA 提取试剂 (购自美国 Invitrogen 公司), PrimeScript 逆转录试剂盒 (Perfect Real Time) 及 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒 (购自日本 TAKARA 公司)。

1.2 方法

1.2.1 GOLPH3 的数字化细胞表达谱分析 以 GOLPH3 为查询对象, 应用 GCBI-基因雷达数据库进行搜索, 统计 GOLPH3 在不同肿瘤细胞中的表达丰度。

1.2.2 免疫组织化学染色 组织标本均在同一条件下采用 SP 法进行免疫组织化学染色: 65 $^{\circ}\text{C}$ 烤片 2 h, 利用二甲苯及不同浓度乙醇试剂完成脱蜡及水化处理, 利用柠檬酸钠抗原修复液修复抗原后使用双氧水封闭内源性过氧化物酶, 山羊血清封闭液处理 1 h, 加入相应目的蛋白的一抗, 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 使用 PBS 清洗 3 次; 二抗室温孵育 2 h, 同样使用 PBS 清洗样本 3 次 (5 min/次), 通过 DAB 显色, 苏木素复染及树胶封片后, 使用光学显微镜采集图片及分析。选用已知阳性的肺腺癌标本作为阳性对照, PBS 液代替一抗作阴性对照。

1.2.3 qRT-PCR 检测 将各种细胞种植于 6 孔板中, 待细胞长满后加入 Trizol (1 mL/孔), 充分吹匀后转移至 1.5 mL 的 EP 管中, 冰上裂解 30 min; 加入三氯甲烷 200 μL , 剧烈震荡后, 静置 2 min, 在 4 $^{\circ}\text{C}$ 及 12 000 r/min 条件下离心 15 min; 将上层透明液体转移至新的 1.5 mL EP 管中, 加入等量的异丙醇, 缓慢轻柔地上下颠倒混匀, 冰上静置 10 min, 再在 4 $^{\circ}\text{C}$ 及 12 000 r/min 条件下离心 10 min。去上清, 加

入 75% 乙醇溶液清洗沉淀,在 4 ℃ 及 12 000 r/min 条件下离心 10 min;去上清,干燥沉淀后,加入适量的 DEPC 水溶解沉淀。使用微量紫外分光光度计检测样本 RNA 浓度。以 RNA 总量 1 000 ng 的标准进行逆转录反应获得 cDNA。*GOLPH3* 基因上下游引物序列分别为 5'-AAGCCGTTCTTGACAAATGG-3' 和 5'-ATTGGTGTGGCCTTCAGAC-3';内参 *GAPDH* 基因上下游引物序列分别为 5'-ACAGTCAGCCGCATCTTCTT-3' 和 5'-GACAAGCTTCCCCTTCTCAG-3',每个样本的检测均设立 3 个重复孔,利用 $\Delta\Delta C_T$ 算法计算目的基因的相对表达量。

1.2.4 结果判定 细胞质内出现棕黄色至深棕色颗粒为 *GOLPH3* 表达阳性细胞,符合以下标准:(1)细胞结构清晰,(2)阳性颗粒定位准确,(3)着色程度明显高于背景且对比清楚。按阳性细胞的数量评分(A):阳性细胞数 $\leq 15\%$ 记 1 分,阳性细胞数为 16%~75%记 2 分,阳性细胞数 $\geq 75\%$ 记 3 分;按细胞染色程度评分(B):无显色细胞记 0 分,

淡黄色记 1 分,棕黄色记 2 分,棕褐色记 3 分。总分数(T) = A \times B,T=0 时判定为“-”,T=1~2 时判定为“+”,T=3~4 时判定为“++”,T=6~9 时判定为“+++”,“+~+++”为阳性表达。随机选择 5~10 个高倍镜视野观察并评分。

1.3 统计学方法

数据均使用 SPSS 13.0 软件进行处理,计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,计数资料采用率(%)表示,数据比较采用单因素方法差分析、配对 *t* 检验、秩或检验或 χ^2 检验分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GOLPH3 的数字化组织表达谱

结果显示,*GOLPH3* 广泛表达于人类大多数正常组织,在 STAD、BRCA、UCEC 及 TGCT 等多种肿瘤细胞中的表达显著上调。见图 1。

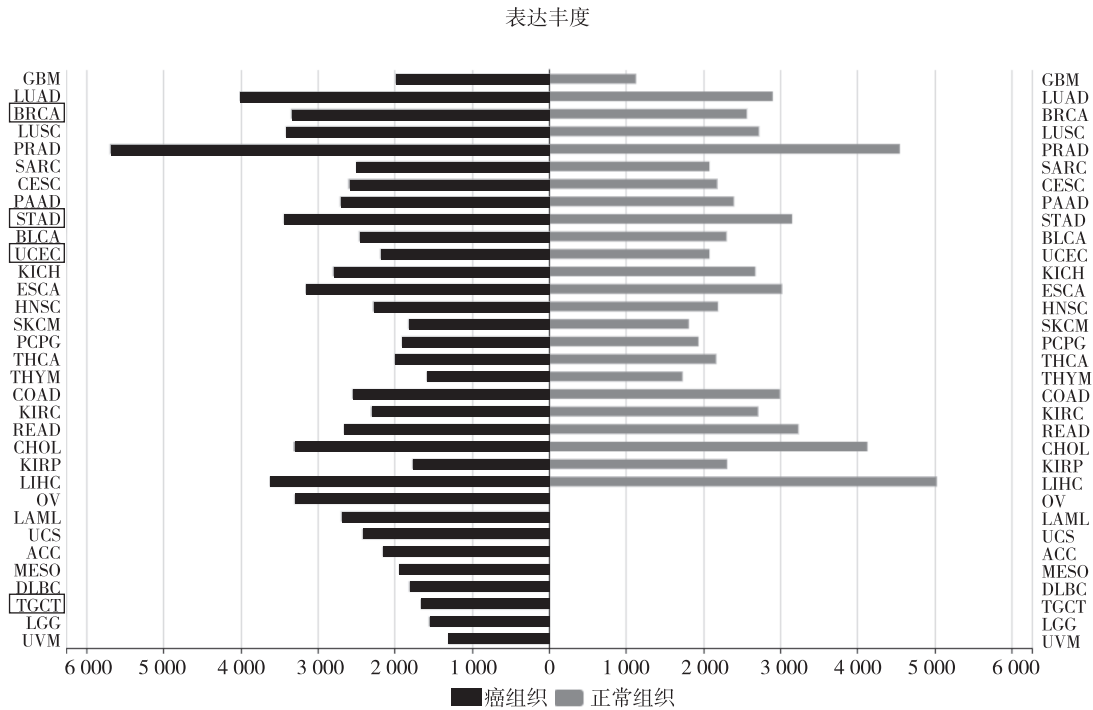


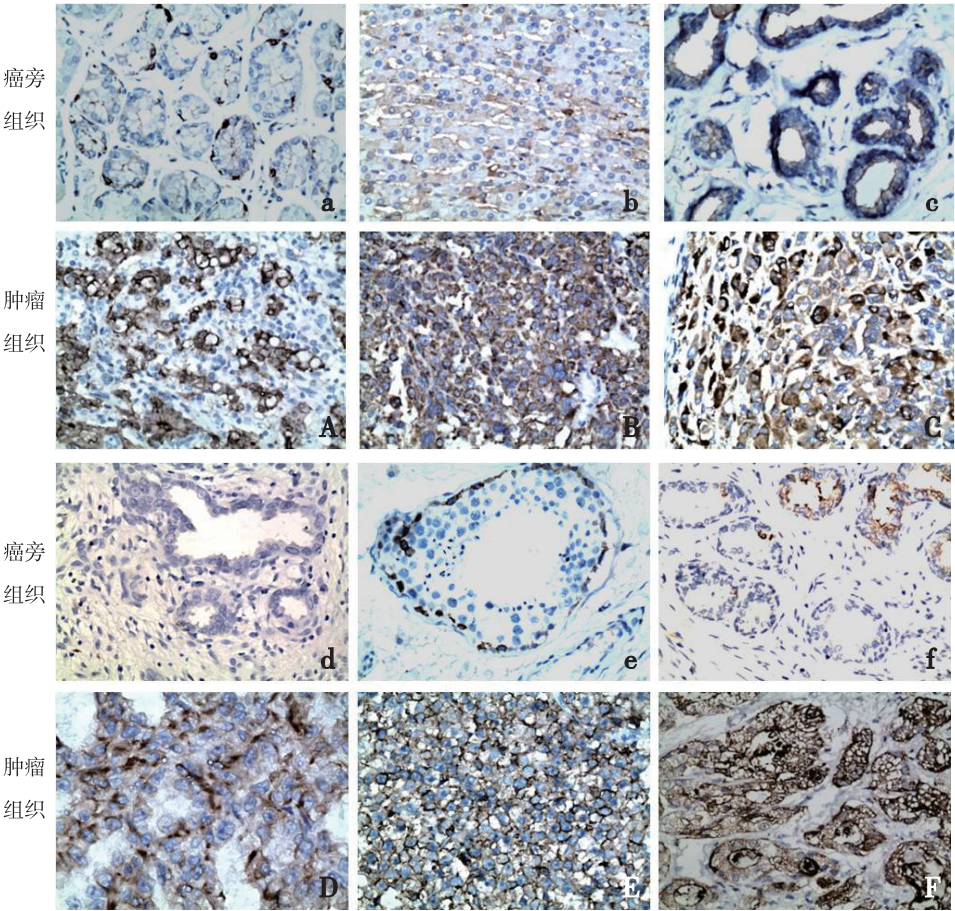
图 1 GOLPH3 在不同肿瘤细胞中的表达情况
Fig. 1 The expression of GOLPH3 in different tumor cells

2.2 GOLPH3 蛋白在 6 种常见恶性肿瘤中的表达
结果显示,*GOLPH3* 表达的阳性信号定位于细胞质内,在癌旁组织中多为弱阳性表达(+),中等强度阳性表达率仅为 8.3%,而在相应 STAD、HCC、BRCA、

UCEC、TGCT 及 SART 等肿瘤组织中,*GOLPH3* 的表达显著升高,多为中强表达(+++/+++)。中强度阳性表达率为 96.7%,与相应癌旁组织比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表 1、图 2。

表 1 GOLPH3 在 6 种恶性肿瘤组织与癌旁组织中的表达
Tab. 1 Expression of GOLPH3 in malignant tumors and adjacent normal tissues

组织	n	GOLPH3 表达(n,%)				P
		-	+	++	+++	
STAD	30	0 (0.0)	0 (0.0)	9 (30.0)	21 (70.0)	<0.01
STAD 旁组织	10	0 (0.0)	9 (90.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	
HCC	30	0 (0.0)	2 (6.7)	8 (26.6)	20 (66.7)	<0.01
HCC 旁组织	10	0 (0.0)	9 (90.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	
BRCA	30	1 (3.3)	0 (0.0)	10 (33.3)	19 (63.4)	<0.01
BRCA 旁组织	10	0 (0.0)	8 (80.0)	2 (20.0)	0 (0.0)	
UCEC	30	0 (0.0)	2 (6.7)	13 (43.3)	15 (50.0)	<0.01
UCEC 旁组织	10	1 (0.0)	9 (90.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
TGCT	30	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (13.3)	26 (86.7)	<0.01
TGCT 旁组织	10	2 (20.0)	8 (80.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	
SART	30	0 (0.0)	1 (3.3)	10 (33.3)	19 (63.4)	<0.01
SART 旁组织	10	0 (0.0)	9 (90.0)	1 (10.0)	0 (0.0)	



注:a 为胃、b 为肝、c 为乳腺、d 为子宫内膜、e 为睾丸、f 为前列腺、A 为 STAD、B 为 HCC、C 为 BRCA、D 为 UCEC、E 为 TGCT、F 为 SART

图 2 GOLPH3 在 6 种常见恶性肿瘤与癌旁正常组织中的表达水平(SP, ×200)

Fig. 2 The expression level of GOLPH3 in common malignant tumors and adjacent normal tissues

2.3 GOLPH3 mRNA 在 4 种常见恶性肿瘤细胞株的表达

结果显示, GOLPH3 mRNA 在人 STAD 细胞

株、人 HCC 细胞、人 BRCA 细胞株及人 SART 细胞株中的表达水平均显著高于其相对应的正常细胞株,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。见图 3。

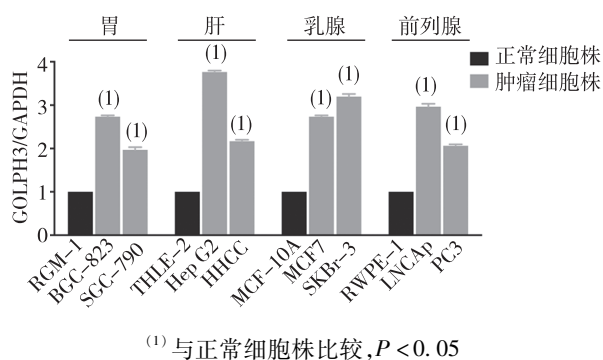


图3 *GOLPH3* mRNA在4种常见恶性肿瘤细胞株的表达(qRT-PCR)

Fig. 3 The expression of *GOLPH3* mRNA in four common malignant tumor cell lines and their corresponding control cell lines

3 讨论

近年来,随着分子生物学技术的突飞猛进,新发现的肿瘤相关基因也日益增多^[4-6]。在正常细胞基因组中,一旦发生突变或被异常激活后可使细胞发生恶性转化的基因称之为癌基因,癌基因反映的是一种功能的获得,即获得使细胞发生癌变的能力。但是这种功能的获得并不是癌基因的唯一作用^[7],正常细胞的生长、分化和增殖均需要原癌基因的参与^[8]。因此确切地说,癌基因是一类具有正常的生物学功能,仅在特殊条件下才会使细胞发生癌变的一类基因^[9]。

*GOLPH3*自首次报道以来,一直被认为是一种磷酸化的高尔基体膜蛋白,参与执行细胞正常的高尔基体的蛋白质分选功能^[10]。直到2009年Nature有文章提出,*GOLPH3*是首个定位于TGN的癌基因^[11],能够促进肿瘤的发生^[11-14]。随后这一研究成果引起医学界的广泛关注,认为*GOLPH3*是一个真正意义上的且具有强大转化能力的癌基因^[15-20]。目前关于*GOLPH3*癌基因功能的研究尚处于起步阶段,其在人体常见恶性肿瘤组织中是否均存在基因活化现象、是否也具有癌基因特性等尚缺乏系统性报道。

生物信息学技术是研究新基因并进行功能研究的重要手段,已广泛地渗透到医学的各个领域。本研究首先通过GCB数据库对*GOLPH3*的肿瘤组织分布情况进行初步分析,结果显示*GOLPH3*广泛表达于人类大多正常组织,在大部分肿瘤细胞株如STAD、BRCA、UCEC、TGCT及SART中存在显著的表达上调;随后,本研究选择临床较常见的相应肿瘤组织标本进行*GOLPH3*表达验证,结果显

示,*GOLPH3*蛋白在全身多器官癌组织旁的正常组织中多呈低表达(+),与GCB数据库分析结果一致,提示*GOLPH3*作为原癌基因在正常细胞中具有活性,参与细胞正常的生物学功能,而在STAD、HCC、BRCA、UCEC、TGCT及SART等恶性肿瘤组织中,*GOLPH3*的表达量相对其配对的正常组织显著升高,差异具有统计学意义。由于胃、肝、乳腺及前列腺肿瘤发病率高且严重危害人们生命健康,应用qRT-PCR技术从细胞水平检测了人STAD细胞株、人肝细胞癌细胞、人BRCA细胞株及人SART细胞株及其相对应的正常细胞株中*GOLPH3*mRNA表达水平,结果显示肿瘤细胞株中*GOLPH3*mRNA表达显著高于相对应的正常细胞株($P < 0.01$)。以上结果均提示在部分恶性肿瘤中*GOLPH3*作为原癌基因被活化,参与了相应肿瘤的发生。

综上所述,目前关于肿瘤标志物的研究发展飞速,迄今为止,*GOLPH3*是首个也是唯一被发现的定位于TGN的癌基因。本研究发现,*GOLPH3*表达量的上调与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关。随着对*GOLPH3*基因研究的进一步深入,将有力的推动肿瘤的表观遗传学研究,为多种常见恶性肿瘤的诊治提供新的思路和线索。

4 参考文献

- [1] KENNETH L S, OMAR K, MEI-CHIH L, et al. *GOLPH3* modulates mTOR signaling and rapamycin sensitivity in cancer[J]. Nature, 2009, 459(7250):1085-1090.
- [2] IRANNEJAD R, WEDEGAERTNER P B. Regulation of constitutive cargo transport from the trans-Golgi network to plasma membrane by Golgi-localized G protein betagamma subunits[J]. J Biol Chem, 2010, 285(42):32393-32404.
- [3] PUSAPATI G V, KRNDIJA D, ARMACKI M, et al. Role of the second cysteine-rich domain and Pro275 in protein kinase D2 interaction with ADP-ribosylation factor 1, trans-Golgi network recruitment, and protein transport[J]. Mol Biol Cell, 2010, 21(6):1011-1022.
- [4] 程亚楠,于津浦. 肿瘤大基因包高通量测序在临床中的应用进展[J]. 中国肿瘤临床, 2019, 2(46):94-98.
- [5] 雷雨,于娇,何莉. 靶向测序技术对铂类耐药卵巢癌多基因检测分析[J]. 贵州医科大学学报, 2017, 42(7):799-807.
- [6] SIRAVEGNA G, MARSONI S, SIENA S, et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2017, 14(9):531-548.
- [7] NAGAI H, HARADA H, EMI M. Oncogene and tumor suppressor gene[J]. Nihon Rinsho, 2000, 1(58):25-29.
- [8] 王晓辉,张浩,叶棋浓. 癌基因和抑癌基因研究进展

[J]. 生物技术通讯, 2006, 2(17): 242-244.

[9] KENNETH L, SCOTT, LYNDA C, et al. Signaling from the Golgi: mechanisms and models for golgi phosphoprotein 3-mediated oncogenesis[J]. Clin Cancer Res, 2010, 16(8): 2229-2234.

[10] CHRISTINE C W, RANDALL S, TAYLOR. GMx33: a novel family of trans-golgi proteins identified by proteomics[J]. Traffic, 2000, 1(12): 963-975.

[11] YUAN Z, ZHAO L, ZHANG Y, et al. Inhibition of glioma growth by a GOLPH3 siRNA-loaded cationic liposomes[J]. Neurooncol, 2018, 140(2): 249-260.

[12] WU S, FU J, DONG Y, et al. GOLPH3 promotes glioma progression via facilitating JAK2-STAT3 pathway activation[J]. Neurooncol, 2018, 139(2): 269-279.

[13] LIU H, WANG X, FENG B, et al. Golgi phosphoprotein 3 (GOLPH3) promotes hepatocellular carcinoma progression by activating mTOR signaling pathway[J]. BMC Cancer, 2018, 18(1): 661.

[14] TANG S, YANG R, ZHOU X, et al. Expression of GOLPH3 in patients with non-small cell lung cancer and xenografts models[J]. Oncol Lett, 2018, 15(5): 7555-7562.

[15] KUNA R S, FIELD S J. GOLPH3: a Golgi phosphatidylinositol(4)phosphate effector that directs vesicle trafficking and drives cancer[J]. J Lipid Res, 2019, 60(2): 269-275.

[16] TANG S, PAN H, WEI W, et al. GOLPH3: a novel biomarker that correlates with poor survival and resistance to chemotherapy in breast cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(62): 105155-105169.

[17] WU W, WU F, WANG Z, et al. CENPH inhibits rapamycin sensitivity by regulating GOLPH3-dependent mTOR signaling pathway in colorectal cancer[J]. J Cancer, 2017, 8(12): 2163-2172.

[18] XING M, PETERMAN M C, DAVIS R L, et al. GOLPH3 drives cell migration by promoting Golgi reorientation and directional trafficking to the leading edge[J]. Mol Biol Cell, 2016, 27(24): 3828-3840.

[19] RIZZO R, PARASHURAMAN S, D'ANGELO G. GOLPH3 and oncogenesis: What is the molecular link[J]. Tissue Cell, 2017, 49(2): 170-174.

[20] BUSCHMAN M D, RAHAJENG J, FIELD S J. GOLPH3 links the Golgi, DNA damage, and cancer[J]. Cancer Res, 2015, 75(4): 624-627.

(2019-02-12 收稿, 2019-04-21 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

(上接第 523 页)

[13] 祖健, 刘少伟, 庾利, 等. 湖北利川喀斯特洞穴放线菌多样性及抗菌活性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2016, 41(3): 378-381.

[14] KANG Y Q, MING H, GONOI T, et al. *Gordonia iterans* sp. nov. isolated from a patient with pneumonia[J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2014, 64(10): 3520-3525.

[15] 王梅竹, 王颜颜, 曹煜, 等. 贵州地区 149 株临床白念珠菌对抗真菌药物的敏感性[J]. 贵阳医学院学报, 2014, 39(5): 617-620.

[16] XIAO M, FAN X, CHEN C A, et al. Antifungal susceptibilities of *Candida glabrata* species complex, *Candida krusei*, *Candida parapsilosis* species complex and *Candida tropicalis* causing invasive candidiasis in China: 3 year national surveillance[J]. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2015, 70(3): 802-810.

[17] 王梅竹, 曹煜, 赵亮, 等. 贵州地区临床酵母菌种类组成和分布[J]. 山东大学学(医学版), 2014, 52(8): 94-97.

[18] 刘波. 临床患者深部真菌感染菌群分布情况及耐药性分析[J]. 中国当代医药, 2017, 3: 135-137.

[19] AFSARIAN S M, BADALI H, SHOKOHI T, et al. Molecular diversity of *Candida albicans* isolated from immunocompromised patients, based on MLST method[J]. Iran J Public Health, 2015, 44(9): 1262-1269.

[20] GIBBERD R. Globocan 1: cancer incidence and mortality worldwide[J]. Statistics in Medicine, 2015, 19(19): 2714-2715.

[21] 詹萍, 李福连. 产抗菌活性红树林放线菌 G15 发酵条件的优化[J]. 中国酿造, 2012, 31(7): 77-80.

[22] 唐彤彤, 孙星, 董元华, 等. 对番茄枯萎病具防效的海洋源赤杆菌 YH-07 的发酵条件探究[J]. 中国生物防治学报, 2018, 34(5): 108-116.

[23] 倪孟祥, 毕启瑞, 郭润妮, 等. 南极放线菌 N-1 产抑菌成分的响应面优化[J]. 中国海洋药物, 2013, 32(3): 11-20.

[24] 张莉, 倪孟祥. 海洋放线菌 AM8 发酵条件的优化及抑菌活性物质的初步研究[J]. 化学与生物工程, 2017(6): 759-762.

[25] 姚蓉. 海洋来源放线菌 *Kocuria* sp. 的次级代谢产物研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2017.

[26] SA-UTH C, RATTANASENA P, CHANDRAPATYA A, et al. Modification of medium composition for enhancing the production of antifungal activity from, *Xenorhabdus stockiae*, pb09 by using response surface methodology[J]. International Journal of Microbiology, 2018, 2018: 1-10.

(2019-03-03 收稿, 2019-05-07 修回)
中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 丁廷森