

四君子汤含药血清对 RNA 干扰后的大肠癌 SW480 细胞超微结构、端粒长度及 hTERT 表达的影响

黄晓燕 王 萌 刘礼剑 郑超伟 刘熙荣 李生发

(广西中医药大学第一附属医院,广西南宁 530023)

摘要 目的:运用四君子汤含药血清干预经RNA干扰后的大肠癌SW480细胞,观察其超微结构、端粒相对长度、端粒酶逆转录酶(hTERT) mRNA及蛋白表达变化,探讨四君子汤含药血清防治溃疡性结肠炎癌变的可能机制。方法:培养人大肠癌SW480细胞,经RNA干扰后,予低、中、高不同剂量的四君子汤含药血清,空白胎牛血清,美沙拉嗪含药血清,分别干预48h,运用透射电镜观察细胞超微结构,荧光定量PCR(SYBR Green法)和Western blotting技术检测端粒相对长度、hTERT mRNA及蛋白表达变化。结果:经不同剂量四君子汤含药血清和美沙拉嗪含药血清干预后, RNA干扰后的大肠癌SW480细胞出现了自噬现象。各给药组端粒长度均明显小于空白组($P<0.05$),其中四君子汤低剂量组端粒长度与美沙拉嗪组相当($P>0.05$),中、高剂量组端粒长度大于美沙拉嗪组($P<0.05$)。各给药组hTERT mRNA和蛋白表达明显低于空白组($P<0.05$),其中四君子汤中剂量组hTERT mRNA表达明显低于美沙拉嗪组($P<0.05$),低、高剂量组hTERT mRNA明显高于美沙拉嗪组($P<0.05$),低、中剂量组hTERT蛋白表达明显低于美沙拉嗪组($P<0.05$),高剂量组hTERT蛋白表达与美沙拉嗪组相当($P>0.05$)。结论:四君子汤含药血清可能通过诱导细胞自噬,减缓炎症反应,下调hTERT表达,降低端粒酶活性,缩短端粒长度,抑制癌细胞增殖,达到防治溃疡性结肠炎相关癌变的效用。

关键词 四君子汤含药血清;自噬;端粒酶;hTERT;人结肠癌细胞株;大鼠;实验研究

中图分类号 R735.34 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2019)03-0078-05

基金项目 国家自然科学基金(8146714);广西自然科学基金(2014GXNSFBA118183);广西中医药管理局面上项目(GZPT1209)

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种发病机制未明,具有难治性、易复发、癌变倾向特点的疾病,而大肠癌是UC最严重的并发症,也是UC的重要死亡原因。基于UC背景下出现的直结肠癌变,称为溃疡性结肠炎相关癌变(ulcerative colitis associated carcinogenesis, UCAC)。UCAC的危险因素与UC的病程、病变范围、炎症程度有关^[1]。目前用于防治UCAC的药物主要有5-氨基水杨酸、熊去氧胆酸、硫嘌呤类药物等,但长期服用上述药物产生的副作用可增加患者的死亡风险,且是否能减少UCAC的发病率尚未明确^[2-3]。中医药对轻中度UC疗效确切,在维持治疗和控制复发方面都有一定优势。课题组前期研究初步证实四君子汤有缓解UC炎症的效用,其靶点可能与端粒活性、端粒酶表达,肠上皮细胞凋亡及肠上皮屏障有关^[4]。已有研究证实,结肠的慢性炎症持续,与大肠癌的发生密切相关^[5-6],而自噬对炎症反应具有负调节作用。为进一步明确四君子汤含药血清干预结肠癌的有效靶点,课

题组通过离体研究,从大肠癌SW480细胞自噬、端粒长度及hTERT表达角度出发,分析四君子汤含药血清防治溃疡性结肠炎癌变的可能机制,现将结果报道如下。

1 实验材料

1.1 实验动物 SPF级雄性大鼠,体重(180~220)g,购自广西医科大学实验动物中心,实验动物许可证号:SCXK(桂)2014-0002,动物合格证号:45000300000106。

1.2 细胞株 人结肠癌细胞株SW480,购自中山大学实验中心细胞库。

1.3 药物与试剂 四君子汤由党参15g、白术12g、茯苓15g、炙甘草6g组成,中药饮片购自广西中医药大学第一附属医院;美沙拉嗪肠溶片(批准文号:H19980148),购自葵花药业集团佳木斯鹿灵制药有限公司;胎牛血清(Hyclone, Cat.No.SH30087.01);DMEM-高糖培养基(Hyclone, Cat.No.SH30022.01B);青链霉素(Hyclone, Cat.No.SH30010);PBS磷酸钾缓冲液(Hyclone, Cat.No.SH30256.01B)转染试剂;

Lipofectamin 3000 ;一抗: hTERT (Rabbit, Ab183105, 126kDa, abcam); 二抗: Goat anti-rabbit IgG-HRP (sc-2004, SANTA CRUZ); BeyoECL Plus (碧云天); SDS、TEMED (Sigma); 丙烯酰胺、过硫酸铵、甘氨酸 (Amresco); 甲叉双丙烯酰胺 (Fluka); PVDF膜 (Millipore); 显影粉、定影粉 (天津世纪奥博); DNeasy Blood & Tissue Kit, QIAGEN (69504), SYBR Premix EX Taq II Kit, TaKaRa (RR820A)。

1.4 主要仪器 96孔细胞培养板 (NEST, Cat.No.PPP-001-030); 细胞恒温培养箱 (Thermo scientific, HERACELL150i); 倒置荧光显微镜 (DMI6000B, Leica); 荧光定量仪 (7300, ABI); PCR仪 (C1000 Thermal cycler, 美国伯乐)。

2 实验方法

2.1 药剂制备 美沙拉嗪肠溶片用灭菌蒸馏水溶解制成1g/mL的溶液, 四君子汤中药用蒸馏水煎煮、浓缩配制含生药1g/mL的药液, 过滤分装, 4℃保存备用。

2.2 含药血清制备 选择SPF级雄性大鼠50只, 根据体重分为四君子汤低、中、高剂量组、美沙拉嗪组和空白组, 每组10只。参照文献[7]的报道, 按公式计算给药剂量: 给药剂量=临床常用量×动物等剂量系数×培养液内稀释度, 并参照文献[8]换算结果如下: 2.16g/kg为小鼠1/2剂量, 4.32g/kg为小鼠等效剂量, 8.64g/kg为小鼠2倍剂量。四君子汤组按此剂量分别予低、中、高剂量的四君子汤药液灌胃, 美沙拉嗪组予美沙拉嗪药液(0.4g/kg)灌胃, 空白组予等体积生理盐水灌胃。各组灌胃均2次/d, 连续7d, 于末次给药后1h严格无菌操作, 经腹主动脉采血, 血样置于10mL离心管, 静置2h以上, 4℃, 待血块收缩良好后, 3000r/min (离心半径12cm), 离心15min分离血清, 血清以55℃水浴处理30min, 用0.22μm微孔滤膜过滤除菌, 置-20℃保存备用。

2.3 SW480细胞培养 人结肠癌SW480细胞株接种于含10%胎牛血清的10%FBS+1640培养液中, 置于37℃、5%CO₂培养箱, 每间隔48h更换1次培养基。实验时, 取对数生长期细胞, 以消化液(含0.25%胰酶)对其消化, 收集细胞离心, 去上清液, 加培养液制细胞悬液并稀释成所需浓度, 在6孔培养板中进行铺板, 每孔细胞数为5×10⁵个, 并在37℃、5%CO₂培养箱中预培养过夜。次日, 对细胞进行换液, 每孔2mL 10%FBS+1640培养液。换液1h后, 对siRNA及转染试剂(lip3000)分别进行稀释, 并混合均匀。siRNA-lip3000混合液室温孵化5min后进行加样, 并在37℃、5%CO₂培养箱中继续培养24h。从3条hTRET siRNA+1条对照的转染对象(hTRET966、

hTRET2862、hTRET2985、Ncontrol-05815) 筛选一条hTRET siRNA进行转染。siRNA浓度: 100nmol/L, 转染24h。得到RNA干扰的细胞株。检测(q-PCR)结果, 最终确定hTRET 966为最适宜的siRNA。

2.4 干预方法 取对数生长期的经RNA干扰的人结肠癌SW480细胞接种于6孔板中, 1mL/孔, 孵育24h后吸去培养孔中的培养液, 分别加入用培养液调至不同浓度的四君子汤含药血清、空白胎牛血清和美沙拉嗪含药血清, 设为四君子汤低、中、高剂量含药血清组和空白组、美沙拉嗪含药血清组, 继续培养48h。

2.5 检测指标

2.5.1 透射电子显微镜检测细胞超微结构变化 在倒置显微镜、透射电镜下进行观察。按实验分组细胞在处理12h, PBS洗2遍, 弃上清, 37℃孵育15min, 显微镜观察细胞形态变化。收集培养细胞, 用2.5%戊二醛前固定, 1%锇酸后固定, 梯度乙醇脱水后氧化丙烯浸透, 环氧树脂包埋, 超薄切片, 铅-铀染色, 在透射电镜下观察SW480超微结构改变。按实验设计分别处理SW480细胞(2×10⁶), 置于5%CO₂孵箱37℃孵育24h, 1000r/min (离心半径8.8cm), 5min离心收集细胞并电镜固定液固定, 以4%戊二醛1%锇酸缓冲液固定过夜, 环氧树脂包埋, 制成半薄切片进行定位, 再制成超薄切片, 醋酸铀及枸橼酸铅染色, 以JEM-2000EX电镜观察。

2.5.2 荧光定量PCR 检测hTRET的mRNA表达及端粒长度hTRET mRNA检测: 按2.3、2.4项下方法对SW480细胞培养和处理后, 收集细胞, 在GenBank上查找目的基因mRNA序列, 在CDS区设计特异性引物。引物序列: TERT (扩增片段长度106bp), 上游5' -CGTCATCGAGCAGACTCC-3', 下游5' -GTAGGACTTGCCCCTGATGC-3'; H-GAPDH (扩增片段长度95bp) 内参基因, 上游5' -GATTCCACCCATGGCAAATT-3', 下游5' -TCTCGCTCCTGGAAGATGGT-3'。合成公司: Sangon; 合成仪器: ABI 3900台式高通量DNA合成仪。应用Trizol法提取细胞RNA, 使用RNase-free的DNase I (Promega) 法去基因组, 用岛津(日本)UV-1750紫外分光光度仪测定RNA, 用凝胶成像系统检测RNA完整性, 逆转录试剂盒反转录合成cDNA, 荧光定量PCR仪扩增, 取得扩增曲线、扩增产物溶解曲线剂CT值, 通过仪器自带软件分析数据, 计算得hTRET mRNA相对表达量。

端粒长度检测: 在GenBank上查找目的基因mRNA序列, 在CDS区设计特异性引物: H-RPLPO,

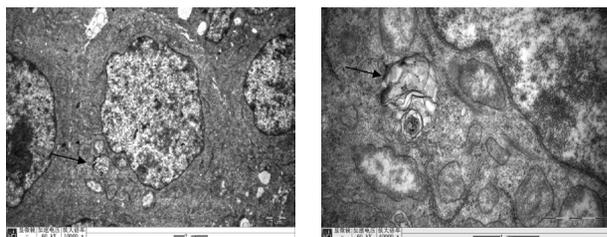
上游5' -CCCATTCTATCATCAACGGGTACAA-3', 下游5' -CAGCAAGTGG-GAAGGTGTAATCC-3', H-Tel, 上游5' -GGTTTTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGTGAGGGT-3', 下游5' -TCCCCACTATCCC TATCCCTATCCCTATCCCTATCCCTA-3'。具体步骤: DNA提取—酶切—制胶—转膜—预杂交—洗膜—室温下碘化吡啶化学发光—曝光—获取图像—图像分析—软件计算端粒DNA片段长度。运用相关软件分析, 计算所得数据, 最后得出结果。CT值: 每个反应管内的荧光信号达到设定的域值时所经历的循环数。每个模板的CT值与该模板的起始拷贝数的对数存在线性关系, 起始拷贝数越多, CT值越小。端粒(T)重复拷贝基因与单拷贝基因(S)的比率, 即T/S比率可以得出端粒的相对长度, 而T/S比率与端粒长度成正比关系。T/S计算公式如下: $T/S = [2CT(\text{telomeres}) / 2CT(\text{single copy gene})] = 2^{-\Delta CT}$ 。

2.5.3 Western Blot技术检测hTRET蛋白表达 按2.5.1项方式处理和收集细胞, 依照步骤: SDS-PAGE胶制作—蛋白上样—分离电泳—转膜—封闭—hTRET—抗(1:1000)孵育—二抗(1:5000)孵育—显色—拍照(或扫描), 记录分析结果。蛋白相对表达量为目的条带灰度值/GAPDH灰度值。

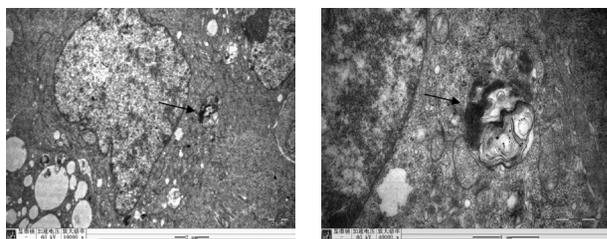
2.6 统计学方法 应用SPSS 22.0统计软件, 所有实验数据用($\bar{x} \pm s$)表示。当资料符合正态分布时采用单因素方差分析检验, 不符合正态分布及方差齐性时采用秩和检验来比较组间差异, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

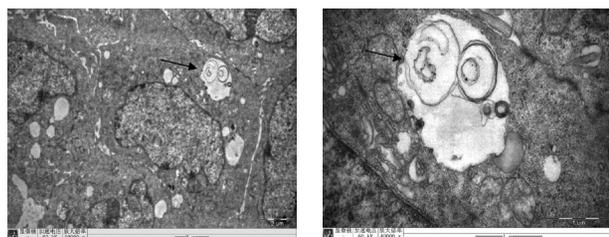
3.1 各组RNA干扰后大肠癌SW480细胞超微结构变化 见图1。除空白组以外, 其余各组均出现了细胞自噬现象。



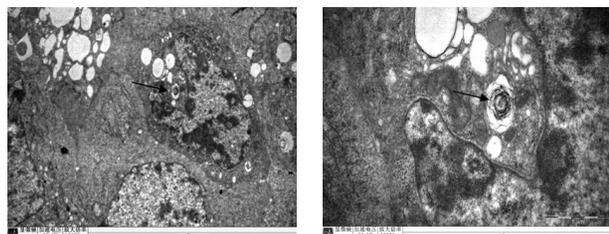
四君子汤低剂量含药血清组



四君子汤中剂量含药血清组



四君子汤高剂量含药血清组



美沙拉嗪含药血清组

图1 各组细胞超微结构(箭头示出现自噬作用的细胞, 左图×10000, 右图×40000)

3.2 各组RNA干扰后大肠癌SW480细胞端粒相对长度比较 见表1。四君子汤含药血清各剂量组和美沙拉嗪组T/S比率均明显低于空白组($P < 0.05$), CT值明显高于空白组($P < 0.05$), 说明各含药血清组端粒长度均小于空白组。四君子汤中、高剂量含药血清组CT值均明显低于美沙拉嗪含药血清组($P < 0.05$), T/S比率均明显高于美沙拉嗪含药血清组($P < 0.05$); 四君子汤低剂量含药血清组与美沙拉嗪含药血清组的CT值、T/S比率均无明显差异($P > 0.05$)。说明四君子汤低剂量含药血清组和美沙拉嗪含药血清组端粒长度无显著差异, 而四君子汤中、高剂量含药血清组端粒长度大于美沙拉嗪含药血清组。

表1 各组RNA干扰后大肠癌SW480细胞端粒相对长度比较

组别	端粒重复拷贝基因 Ct 值	ΔCT	端粒与单拷贝基因 T/S 比率
空白组	25.09±0.08	2.733	0.150
四君子汤低剂量含药血清组	25.95±0.21 [▲]	3.190	0.109 [▲]
四君子汤中剂量含药血清组	25.22±0.15 [#]	2.753	0.148 [#]
四君子汤高剂量含药血清组	25.18±0.11 [#]	2.832	0.140 [#]
美沙拉嗪含药血清组	25.85±0.04 [*]	3.246	0.105 [*]

注: 与空白组比较, * $P < 0.05$; 与美沙拉嗪含药血清组比较, # $P < 0.05$, ▲ $P > 0.05$ 。

3.3 各组RNA干扰后大肠癌SW480细胞hTERT mRNA和蛋白表达的影响 结果见表2。与空白组比较, 各含药血清组hTERT mRNA、蛋白表达均明显降低($P < 0.05$); 与美沙拉嗪含药血清组比较, 四君子汤中剂量含药血清组hTERT mRNA表达明显降低($P < 0.05$), 低、高剂量组hTERT mRNA表达明显升高($P < 0.05$), 低、中剂量组hTRET蛋白表达明显降低($P < 0.05$), 高剂量组hTRET蛋白表达差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表2 各组RNA干扰后大肠癌SW480细胞hTERT mRNA和蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	样本数	hTERT mRNA	hTERT 蛋白
空白组	3	0.72±0.01	0.33±0.00
四君子汤低剂量含药血清组	3	0.69±0.01 [#]	0.26±0.01 [#]
四君子汤中剂量含药血清组	3	0.62±0.01 [#]	0.21±0.01 [#]
四君子汤高剂量含药血清组	3	0.68±0.01 [#]	0.27±0.02 [*]
美沙拉嗪含药血清组	3	0.67±0.00 [*]	0.27±0.01 [*]

注:与空白组比较,* $P<0.05$,与美沙拉嗪含药血清组比较,# $P<0.05$ 。

4 讨论

溃疡性结肠炎作为癌前病变已被业界广泛认同,溃疡性结肠炎相关性癌变发病率不断上升,其重要原因是炎症的反复刺激,“炎症—不典型增生—癌变”被认为是溃疡性结肠炎相关癌变的重要演变模式^[9]。慢性炎症是UCAC发生的重要环节,因此,对慢性炎症的有效缓解可起到防治癌变的作用。研究显示,自噬可通过降低炎症小体活性,对炎症反应发挥负调节作用。活性氧(ROS)在机体受到致炎因素刺激后被大量释放,由炎症小体识别,激活caspase1,导致炎症因子(如白细胞介素-1 β 和-18)的分泌增加,引起炎症反应,在炎症慢性反应过程中促使邻近细胞发生基因突变,甚至导致细胞癌变,促进肿瘤细胞增殖、生长和转移,抑制肿瘤细胞凋亡。研究发现,凋亡蛋白caspase Dcp-1可调控自噬潮,pro-Dcp-1在线粒体聚集,Dcp-1降低核苷酸转移酶SesB的稳定性,下调ATP的合成以启动细胞自噬,而细胞自噬对炎症反应具有负调节作用,能够抑制炎症小体的激活和清除过氧化物酶体及泄漏的线粒体,阻碍线粒体聚集,从而对胞内ROS发挥负调控作用,减少炎症反应^[10-11]。本研究结果显示,各含药血清组均出现了细胞自噬现象,提示四君子汤含药血清可能具有诱导细胞自噬,减缓炎症的效用。

ROS过多还会使染色体末端DNA单链发生断裂,加速端粒缩短,而端粒缩短和端粒酶活性的增高介导肠上皮细胞破坏肠黏膜屏障参与了UCAC的发生。我们前期研究发现活动期UC肠腔病变处及邻近的非病变处隐窝上皮细胞的凋亡增加,结肠黏膜损伤、溃疡,这种变化与端粒缩短、hTERT表达下降、端粒活性降低呈齐同改变。而研究已证实,大肠癌与UC中端粒酶表达水平完全相反,即端粒酶表达是升高的^[12-13]。端粒的长度和端粒酶活性与细胞的生长、衰老以及凋亡相关,端粒的缩短和端粒酶的再激活在干细胞如结肠隐窝干细胞、肿瘤干细胞的自我更新及功能上起着重要的调控作用^[14-15]。端粒的延长是肿瘤形成过程中的一个重要步骤,因此端粒延长是结肠癌的表现之一。本研究通过小分子干扰RNA大肠癌SW480细胞

后,再予含药血清干预,结果发现,四君子汤含药血清能够调节端粒的长度,并且这种调节能力与剂量存在一定的关系。hTERT是一种维持端粒长度的逆转录酶,是端粒酶的重要组成部分,是其限速亚单位,可与其他亚单位共同组装成端粒酶全酶,从而调控端粒酶的活性。研究证实,在结肠癌组织中端粒酶活性和hTERT的表达率明显增高^[13]。hTERT转录激活对端粒酶的激活尤为重要。另一方面,研究也发现端粒酶活性的降低,可通过RNA干扰(RNAi)沉默hTERT基因来实现,这种方法还可有效抑制SW480细胞生长,诱导肿瘤细胞凋亡^[16]。我们通过检测hTERT mRNA和蛋白表达,揭示了大肠癌SW480细胞hTERT mRNA和蛋白表达升高。端粒酶的表达与基因损伤密切相关,端粒酶在染色体的稳定中发挥作用,稳定性降低,突变而形成的不典型增生增多,为癌变提供了可能。本研究显示,四君子汤含药血清具有下调hTERT mRNA和蛋白表达,抑制端粒酶活性的作用。

四君子汤被认为是治疗脾胃气虚经典代表方药,方中四味皆为平和之品,温而不燥,补而不峻。课题组前期从UC到UCAC角度,以四君子汤干预UC小鼠,证实四君子汤具有促使上皮细胞凋亡恢复正常,促进肠道黏膜屏障修复,缓解UC的效用^[4]。通过本研究结果,我们推测四君子汤含药血清可能通过诱导细胞自噬,减缓炎症反应,下调hTERT表达,降低端粒酶活性,缩短端粒长度,抑制癌细胞增殖,发挥防治UCAC的效用。同时,本研究发现四君子汤含药血清对细胞的上述影响并未呈现出剂量梯度性,也发现RNA和蛋白表达不一致性。下一步,课题组将对其中的原因以及四君子汤血清药理学做进一步探讨,以期能阐明四君子汤发挥疗效作用的药理成分及剂量关系。

参考文献

- [1] EADEN J A. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis[J]. Gut, 2001, 48 (4): 526.
- [2] SMITH L A, BARAZA W, TIFFIN N, et al. Endoscopic resection of adenoma-like mass in chronic ulcerative colitis using a combined endoscopic mucosal resection and cap assisted submucosal dissection technique[J]. Inflammatory Bowel Diseases, 2008, 14 (10): 1380.
- [3] WOLF J M, RYBICKI L A, LASHNER B A. The impact of ursodeoxycholic acid on cancer, dysplasia and mortality in ulcerative colitis patients with primary sclerosing cholangitis[J]. Alimentary Pharmacology and Therapeutics, 2005, 22 (9): 783.
- [4] 黄晓燕, 张涛, 王因因, 等. 端粒缩短介导肠上皮细胞凋亡参与溃疡性结肠炎以及四君子汤干预研究[J]. 时珍国医国药, 2014, 25 (9): 2303.

中医药治疗儿童功能性便秘研究进展

张璇¹ 姚笑²

(1. 山东中医药大学针灸推拿学院, 山东济南250014; 2. 山东中医药大学附属医院, 山东济南250011)

摘要 近年来,有临床报道中医药治疗儿童功能性便秘(FC)取得了显著的疗效,主要包括中医内治法、中医推拿疗法、针灸疗法、穴位贴敷、直肠给药、中药药浴以及中医内外治法联合应用等。虽然在研究中显示了中医独特的优势,但仍存在一些问题,如临床实验对象的纳入标准、疗效评价不一,无随访记录或随访次数不足,且中医药治疗儿童FC的研究中没有客观的评价指标、缺乏客观的基础实验数据支持等,还有待今后做进一步研究。

关键词 功能性便秘;综述;中医药疗法;儿童

中图分类号 R256.35 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2019)03-0082-04

儿童功能性便秘(Functional Constipation, FC)是指结肠、直肠未发现明显器质性病变而已有功能性改变为特征的排便障碍^[1],是最常见的儿童功能性肠胃病之一^[2],西医的保守治疗虽有见效快、短期效果好的特点,但长期大量应用会使患儿对药物产生依赖^[3],中医以辨证论治为基本原则治疗儿童FC,以其显著的疗效而日益成为临床研究的热点。现将近年来中医治疗儿童FC研究进展概述如下。

1 中医内治法

儿童FC在中医学中属“便秘”的范畴,也称之为“脾约”“后不利”“大便难”。中医学从整体观念出发,认为本病是由人体五脏六腑功能协调失常所引起,《素问·五脏别论》中的“魄门亦为五脏使”即说明了便秘受多脏器的影响,是各个脏腑共同作用的结果,其病位主要在大肠,发病病机为大肠传导功能失常,中医内治法治疗儿童FC具有明显疗效,根据病因病机,可将其分为以下3类。

- [5] MANTOVANI A, ALLAVENA P, SICA A, et al. Cancer-related inflammation[J]. Nature, 2008, 454 (7203): 436.
- [6] COLOTTA F, ALLAVENA P, SICA A, et al. Cancer-related inflammation, the seventh hallmark of cancer: links to genetic instability[J]. Carcinogenesis, 2009, 30 (7): 1073.
- [7] 李仪奎. 中药药理实验方法学[M]. 2版. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 24.
- [8] 施胜英, 林海楨, 周激, 等. 加味四君子汤含药血清对肝癌Hep-G2细胞的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22 (18): 88.
- [9] 李景南. 溃疡性结肠炎癌变机制的研究进展: 从炎症到肿瘤[J]. 中华消化杂志, 2011, 31 (3): 183.
- [10] SHORT B. Mitochondrial caspase keeps autophagy in flux[J]. The Journal of Cell Biology, 2014, 205 (4): 431.
- [11] 于卫华, 周庆彪, 刘颖, 等. 活性氧调控炎症诱发肿瘤机制的研究进展[J]. 癌变·畸变·突变, 2016, 28 (2): 158.
- [12] SHOJI Y, YOSHINAGA K, INOUE A, et al. Quantification of telomerase activity in sporadic colorectal carcinoma[J]. Cancer, 2000, 88 (6): 1304.
- [13] 谢裕安, 葛莲英, 刘剑仑, 等. 端粒酶在大肠癌组织中表达的临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2006, 14 (2): 186.
- [14] SUN J W, FAN L J, LI M N, et al. Decreasing Pin1 suppresses telomerase activity by NF- κ B in HCT116 cells colorectal carcinoma[J]. The Chinese-German Journal of Clinical Oncology, 2013, 12 (4): 181.
- [15] KLEIDEITER E, FRIEDRICH U, MÖHRING A, et al. Telomerase activity in chronic inflammatory bowel disease[J]. Digestive Diseases and Sciences, 2003, 48 (12): 2328.
- [16] 葛莲英, 刘爱群, 罗小玲, 等. RNA干扰沉默hTERT基因对大肠癌SW480细胞生物学特性的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2012, 29 (2): 195.

第一作者: 黄晓燕(1979—), 女, 医学博士, 副主任医师, 研究方向为中医药防治消化系统疾病。
huangxiaoyan0705@163.com

收稿日期: 2018-10-26

编辑: 吴宁