

# 氯化两面针碱对 MCF-7 细胞增殖的抑制及对 P125 表达的影响

廖柳凤<sup>1</sup>, 欧贤红<sup>2</sup>, 刘华钢<sup>2\*</sup>, 吴琼<sup>1</sup>

(1. 广西医科大学 附属肿瘤医院, 南宁 530021; 2. 广西医科大学 药学院, 南宁 530021)

**[摘要]** **目的:**研究氯化两面针碱(NC)对体外培养的乳腺癌细胞(MCF-7)中 DNA 聚合酶  $\delta$  催化亚基 P125(P125)表达的影响,探讨氯化两面针碱对乳腺癌细胞增殖抑制作用的机制。**方法:**设定 NC(0.075,0.15,0.30,0.60,1.20,2.40,4.80 mg·L<sup>-1</sup>)组及空白组,应用噻唑蓝(MTT)比色法测定不同质量浓度 NC 对 MCF-7 细胞的生长抑制率;通过细胞克隆集落形成实验进一步验证 NC 对 MCF-7 细胞的生长抑制作用;实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)检测低、中、高质量浓度 NC(0.5,1.0,2.0 mg·L<sup>-1</sup>)对 P125 编码基因 DNA 聚合酶  $\delta$  催化亚基基因(POLD1),p53 基因(p53),细胞周期依赖性蛋白激酶抑制因子 p21(p21)mRNA 表达水平的影响;蛋白质免疫印迹法(Western blot)检测 3 种质量浓度 NC 对 P125 蛋白表达的影响,使用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 p53,p21 蛋白表达变化。**结果:**NC 对 MCF-7 细胞有明显的抑制作用,呈浓度依赖性,不同质量浓度 NC(0.075,0.15,0.30,0.60,1.20,2.40,4.80 mg·L<sup>-1</sup>)对细胞的抑制率分别是 0.16%,6.29%,19.56%,32.17%,44.46%,73.46%,83.21%。与空白组比较,NC 对细胞克隆集落形成有显著抑制作用( $P < 0.01$ ),不同质量浓度 NC 组对 POLD1 mRNA 表达有明显的抑制作用,同时明显降低 P125 蛋白表达( $P < 0.05$ );对 p53 mRNA 和蛋白的表达有明显的促进作用( $P < 0.01$ );高剂量 NC 组对 p21 mRNA 和蛋白的表达有显著增强作用( $P < 0.01$ )。**结论:**NC 能明显抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖,其作用机制之一可能与上调 p53 表达水平,抑制 P125 表达有关。

**[关键词]** 氯化两面针碱; 乳腺癌细胞 MCF-7; P125; P125 编码基因 DNA 聚合酶  $\delta$  催化亚基基因; p53; p21

**[中图分类号]** R285.5;R965.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)19-0085-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2016190085

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160804.1113.062.html>

**[网络出版时间]** 2016-08-04 11:13

## Effect of Nitidine Chloride on Inhibiting MCF-7 Cell Proliferation and Effect on P125 Expression

LIAO Liu-feng<sup>1</sup>, OU Xian-hong<sup>2</sup>, LIU Hua-gang<sup>2\*</sup>, WU Qiong<sup>1</sup>

(1. *Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China;*

2. *College of Pharmacy, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)*

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of nitidine chloride (NC) on expression of DNA polymerase  $\delta$  catalytic subunit P125 in breast cancer cells (MCF-7 cells), and investigate the mechanism of NC on inhibiting proliferation of breast cancer cells. **Method:** Different concentrations (0.075, 0.15, 0.3, 0.60, 1.20, 4.80 mg·L<sup>-1</sup>) NC groups and blank group were established. Methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay was applied to evaluate the inhibitory rate of cells after treatment with different concentrations of NC. At the same time, the clone form assay was used to further verify the inhibitory effect of different concentrations of NC on MCF-7 cells proliferation, the effects of different concentrations of NC (0.50, 1.00, 2.00 mg·L<sup>-1</sup>) on mRNA expressions of DNA polymerase  $\delta$  catalytic subunit gene POLD1, p53 and p21 were quantified by Real-time PCR. The protein expression of P125 was detected by Western blot, and the protein expressions of p53 and p21 were detected by

**[收稿日期]** 20151119(022)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81260657)

**[第一作者]** 廖柳凤, 硕士, 药师, 从事中药药理学机制研究, Tel:0771-5653825, E-mail:leyxlff@163.com

**[通讯作者]** \* 刘华钢, 博士, 教授, 从事中药新剂型、新制剂及中药药理学作用机制研究, Tel:0771-5700208, E-mail:hgliu@263.net

enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Result:** NC had obvious inhibitory effect on MCF-7 cells in a concentration-dependent manner. NC with concentrations of 0.075, 0.15, 0.3, 0.60, 1.20, 2.40, 4.80  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  had an inhibitory rate of 0.16%, 6.29%, 19.56%, 32.17%, 44.46%, 73.46% and 83.21% respectively on the cells. As compared with the blank group, NC had significant inhibitory effect on the formation of cell colonies ( $P < 0.01$ ), in addition, the mRNA expression of POLD1 and the protein expression of P125 in various NC groups were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), the mRNA and protein expressions of p53 were significantly up-regulated ( $P < 0.01$ ), but the mRNA and protein expressions of p21 were significantly up-regulated only in the high dose NC group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** NC can significantly inhibit the proliferation of MCF-7, and one of the mechanisms may be associated with up-regulating the level of p53 expression and inhibiting the expression of P125.

[**Key words**] nitidine chloride; MCF-7; P125; DNA polymerase delta catalytic subunit gene 1 (POLD1); p53; p21

两面针在医药和日化产品方面都得到了广泛的研发和使用<sup>[1]</sup>。氯化两面针碱(NC)是从两面针根部中提取的一种具有明确生物活性的苯并吡啶类生物碱,属于苜基四氢异喹啉类化合物。本课题组前期研究结果发现,NC 对口腔鳞癌、鼻咽癌、肝癌、结肠癌、肾癌、宫颈癌等癌细胞均有明显抑制作用<sup>[2-4]</sup>,对多药耐药的肿瘤细胞还具有逆转作用<sup>[5]</sup>。探讨其机制发现,NC 可以通过激活含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)的活性,抑制 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)表达,诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[4,6]</sup>;体内实验发现 NC 能增强 S180 荷瘤小鼠血清中肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ),白细胞介素-2(IL-2)的含量<sup>[7]</sup>,表明其可能通过促进 TNF- $\alpha$  和 IL-2 的分泌,促进淋巴 T 和 B 细胞的增殖分化,增强自然杀伤细胞、单核巨噬细胞的杀伤活性,杀伤肿瘤细胞,从而抑制肿瘤增殖。DNA 聚合酶  $\delta$ (pol $\delta$ )是真核生物 DNA 复制过程中主要的复制酶之一,在 DNA 复制、损伤修复方面起着重要的作用。癌细胞的急速增殖需要 pol $\delta$  指导下的大量 DNA 合成,其聚合酶和外切酶的活性均位于 P125 上,P125 编码基因 DNA 聚合酶  $\delta$  催化亚基基因(POLD1)是 P125 的编码基因,癌细胞的恶性增殖可能与 POLD1 表达和 P125 活性的异常调控有关<sup>[8]</sup>。李锦源<sup>[9]</sup>通过检测乳腺癌组织和癌旁组织发现,POLD1 在癌组织中表达明显高于癌旁组织,其表达水平与临床分期有关。NC 对癌细胞增殖的抑制作用是否与 P125 调节的 DNA 复制通路有关,在乳腺癌方面还未见报道,本文以乳腺癌 MCF-7 细胞为对象,研究 NC 对 MCF-7 细胞的恶性增殖的抑制作用,并以 P125 蛋白为目标研究 NC 抑制乳腺癌细胞增殖的作用机制。

## 1 材料

**1.1 细胞** 人乳腺癌 MCF-7 细胞株购买于中国科学院上海细胞库。

**1.2 试剂和仪器** 氯化两面针碱单体,购于中国食品药品检定研究院,批号 110848-20001,纯度 > 98%。避光保存,临用前用二甲基亚砷溶解成高质量浓度溶液( $800 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ),使用时用细胞培养液稀释到相应浓度。细胞培养液 DMEM,胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司,批号分别为 752391,140714);噻唑蓝(MTT,美国 Amersco 公司,批号 298931);cDNA 合成试剂盒,DNA 快速纯化回收试剂盒,荧光定量 PCR 试剂盒 SYBR Green qPCR 试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司,批号分别为 KR104-01,24050T,FP203-02]。从 Gene Bank 查找 POLD1,p53,p21 及内参  $\beta$ -肌动蛋白( $\beta$ -actin)基因的全长序列,并由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,POLD1(109 bp):上游 5'-GCTCCGCTCCTACACGCT CAA-3',下游 5'-GGTCTGGTCTGCCATTCTGC-3';p53(156 bp):上游 5'-GGCCACTTCACCGTAC TAA-3,下游 5'-GTGGTTTCAAGGCCAGATGT-3';p21(145 bp):上游 5'-GCTCCGCTCCTACACGCT CAA-3',下游 5'-CGTGGGAAGGTAGAGCTTGG-3'; $\beta$ -actin(203 bp):上游 5'-AAGAAGGTGGTGAAG CAGGC-3',下游 5'-TCCACCACCTGTTGCTGTA-3'。羊抗 P125 抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号 E030170),内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(上海康成公司,批号 KC120210),兔抗山羊二抗(美国 KPL 公司,批号 E031310)。Model-450 型酶联免疫检测仪,Gel Doc2000 型凝胶电泳成像分析系统,Power/Pac300 型稳压稳流电泳仪(美国 Bio-Rad 公司),5810R 型

高速冷冻多用途离心机(德国 Ependof 公司),7500 型 iCycler iQ 型实时荧光定量 PCR 扩增仪(美国 ABI 公司),LI-COR 型 Odyssey 红外荧光扫描成像系统(美国 Biosciences 公司)。

## 2 方法

**2.1 细胞培养** 按照中国科学院上海细胞库提供的培养条件和方法。在 37 ℃ 5% CO<sub>2</sub> 下采用 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,隔天换液培养,培养至细胞铺满培养瓶 80%~90% 传代,即对数生长期时用于实验。

**2.2 生长抑制率测定** 调整细胞密度为  $2 \times 10^4$  个/孔,接种于 96 孔板,待细胞贴紧培养瓶后,分别设不同质量浓度 NC 组加入 NC,使终质量浓度分别为 0.075,0.15,0.30,0.60,1.20,2.40,4.80 mg·L<sup>-1</sup>,另外设空白组,平行做 3 个孔。培养 48 h 后加入 5 g·L<sup>-1</sup> MTT 10 μL 显色,酶标仪测定吸光度 A,按照抑制率 =  $(1 - A_{\text{NC组}}/A_{\text{空白组}}) \times 100\%$  计算细胞抑制率。

**2.3 细胞克隆集落形成能力测定** 调整细胞密度为 250 个/mL,按每孔 1 000 个细胞接种于 6 孔板,设 3 个复孔。12 h 细胞贴壁后分别加入 0,0.15,0.30,0.60 mg·L<sup>-1</sup> 的 NC,继续培养 10 d,使用吉姆萨染液染色,倒置显微镜下观察并拍照,按集落形成率 = 每组细胞集落数/接种细胞数 × 100% 计数克隆原细胞集落(细胞数 > 50 个)及集落形成率。

**2.4 实时荧光定量 PCR 检测 POLD1, p53, p21 mRNA 表达** 参照文献[10],低、中、高质量浓度(0.5,1.0,2.0 mg·L<sup>-1</sup>) NC 处理细胞 48 h,收集细胞,提取总 RNA,逆转录为 cDNA,进行 PCR,反应条件为 95 ℃ 4 min,95 ℃ 20 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,40 个循环。测定循环阈值(C<sub>t</sub>),计算  $\Delta C_t, 2^{-\Delta\Delta C_t}$ ,表示 mRNA 表达相对表达量。

**2.5 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 NC 作用后 P125 的蛋白表达** 收集 NC 处理 48 h 的细胞,提取总蛋白,测定蛋白浓度后进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,转膜,封闭,一抗(p125,1:2 000;GAPDH,1:5 000)孵育,封闭,二抗孵育,化学发光,用远红外扫描仪扫描成像,并进行数据分析。

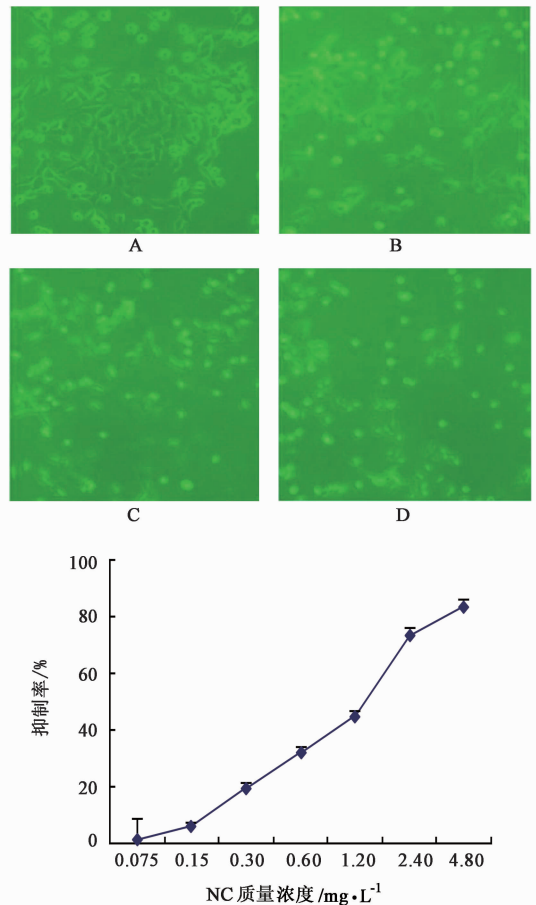
**2.6 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 p53, p21 蛋白含量** 收集 NC 处理 48 h 的细胞,提取总蛋白,测定蛋白浓度,按照 ELISA 试剂盒说明书制备样品并使用酶标仪分别测定 p53, p21 蛋白含量。

**2.7 统计学分析** 采用 SPSS 18.0 统计软件,运用 t 检验进行统计分析,计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, P <

0.05 为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 NC 对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用** NC 作用前,细胞生长状态良好,紧贴瓶壁,背景干净,细胞轮廓清晰,呈三角形或多边形。NC 作用 48 h 后,大部分细胞贴壁能力下降,分裂的细胞较少,细胞生长和增殖受到抑制。从生长抑制曲线图可以看出,在一定剂量范围内,NC 对 MCF-7 细胞增殖有明显的抑制作用,药物浓度越大,对细胞增殖的抑制作用越强,其抑制作用与药物浓度具有正向相关性。0.075 mg·L<sup>-1</sup> NC 对癌细胞的抑制作用很微弱,1.2 mg·L<sup>-1</sup> NC 作用后抑制率达到 44.46%, 4.8 mg·L<sup>-1</sup> NC 作用后抑制率达到 80% 以上。见图 1。



A. 空白组; B~D. NC(0.5,1.0,2.0 mg·L<sup>-1</sup>)组(图 3,4 同)  
图 1 氯化两面针碱对 MCF-7 细胞生长的抑制作用(×100)

Fig.1 Inhibitory effect of NC on MCF-7 cells proliferation(×100)

**3.2 对细胞克隆集落形成能力的影响** 较低质量浓度 NC(0.15,0.30,0.60 mg·L<sup>-1</sup>) 处理细胞 10 d 后,细胞克隆大小及集落形成率随药物浓度增大而减小,NC 对 MCF-7 细胞增殖有显著抑制作用(P < 0.01)。见图 2。

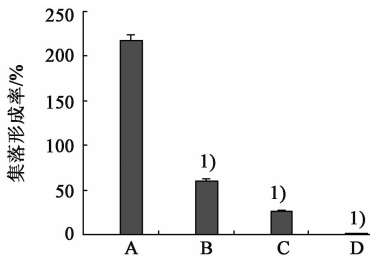
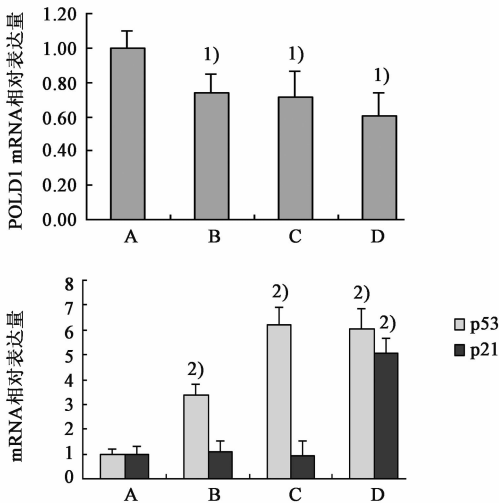


图 2 氯化两面针碱对 MCF-7 细胞集落形成的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Fig. 2 Effect of NC on colony formation of MCF-7 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 3.3 NC 对 POLD1, p53, p21 mRNA 表达的影响

与空白组比较,NC(0.5, 1.0, 2.0 mg·L<sup>-1</sup>)组 POLD1 mRNA 的表达明显下降( $P < 0.05$ );NC(0.5, 1.0, 2.0 mg·L<sup>-1</sup>)组 p53 mRNA 的表达显著增强( $P < 0.01$ );NC(0.5, 1.0 mg·L<sup>-1</sup>)组 p21 mRNA 表达无明显变化,但 NC(2.0 mg·L<sup>-1</sup>)组 p21 mRNA 表达显著增强( $P < 0.01$ )。见图 3。



与空白组比较<sup>1)</sup> $P < 0.05$ , <sup>2)</sup> $P < 0.01$ (图 4 同)  
图 3 氯化两面针碱对 MCF-7 细胞 POLD1, p53, p21 mRNA 表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Fig. 3 Effect of NC on expressions of POLD1, p53 and p21 mRNA in MCF-7 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

### 3.4 NC 对 P125, p53, p21 蛋白表达的影响

NC 作用 MCF-7 细胞后均可降低细胞 P125 蛋白表达水平,与空白组比较,NC(0.5, 1.0, 2.0 mg·L<sup>-1</sup>)作用后 P125 蛋白的表达明显下降( $P < 0.05$ ),见图 4。与空白组比较,NC(0.5, 1.0, 2.0 mg·L<sup>-1</sup>)组 p53 蛋白表达显著增强( $P < 0.01$ ),其中高剂量组增加更显著;NC(0.5, 1.0 mg·L<sup>-1</sup>)组 p21 蛋白表达无明显变化,2.0 mg·L<sup>-1</sup>组 p21 蛋白表达显著增强( $P <$

0.01)。见表 1。

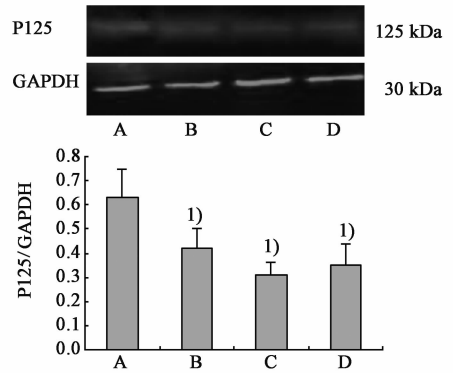


图 4 氯化两面针碱对 MCF-7 细胞 P125 蛋白表达的影响  
Fig. 4 Effect of NC on p125 protein expression in MCF-7 cells

表 1 氯化两面针碱对 MCF-7 细胞 p53, p21 蛋白表达的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )  
Table 1 Effect of NC on protein expressions of p53 and p21 in MCF-7 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	质量浓度/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	p53	p21
空白	0.0	4.77 ± 0.24	8.02 ± 0.24
NC	0.5	6.22 ± 0.08 <sup>2)</sup>	8.30 ± 0.22
	1.0	7.67 ± 0.14 <sup>2)</sup>	8.54 ± 0.12
	2.0	8.11 ± 0.16 <sup>2)</sup>	14.84 ± 0.28 <sup>2)</sup>

## 4 讨论

研究发现 NC 在有效的范围内,对消化、呼吸、生殖、乳腺等多个系统来源的肿瘤细胞生长均具有明显的抑制作用,并呈现良好的剂量依赖性<sup>[5]</sup>。本研究 NC 对乳腺癌 MCF-7 细胞的生长抑制结果与前期研究相符,在一定范围内,NC 对 MCF-7 细胞有明显抑制作用,抑制率与药物浓度呈正相关,浓度越大,抑制作用越明显。

DNA 大量复制是肿瘤细胞恶性增殖的物质基础,DNA 的复制受到 DNA 聚合酶  $\delta$  的调控,DNA 聚合酶  $\delta$  在 DNA 复制和修复过程中担任非常重要的角色<sup>[11]</sup>。P125 为 DNA 聚合酶  $\delta$  的催化亚基,是细胞周期调控网络的关键点,研究表明,P125 在癌组织中的表达高于癌旁组织<sup>[9,12-13]</sup>;通过反义 P125 的编码基因 POLD1,发现 POLD1 低表达组癌细胞增殖减缓<sup>[14]</sup>。说明 P125 与肿瘤细胞的恶性增殖息息相关。本研究发现 NC 能降低 P125 蛋白表达,同时对其编码基因 POLD1 也起到相应的下调作用,由此可以推测 NC 对乳腺癌 MCF-7 细胞生长的抑制作用可能与其降低 P125 的表达,抑制 DNA 聚合酶  $\delta$  活性有关。

P125 作为细胞周期调控网络的关键点,受到许

多 DNA 复制调控因子的互相调控。如在 P125 编码基因 POLD1 上游 65 ~ 89 核苷酸区域内有 p53 的结合位点, p53 经过与其他因子竞争结合到 POLD1 核苷酸区域后, 发挥抑制 P125 启动子活性的作用<sup>[15]</sup>, 从而降低 DNA 聚合酶  $\delta$  的生物活性, 以达到抑制 DNA 复制、抑制肿瘤细胞恶性增殖的作用。研究表明, 在人乳腺癌细胞中, 增强 p53 表达, P125 的编码基因表达受到抑制, 染色体免疫共沉淀和荧光素酶报告基因实验证明 p53 在细胞内与 P125 的编码基因 POLD1 启动子直接结合, 抑制其启动子活性<sup>[16]</sup>。本研究发现, NC 处理乳腺癌 MCF-7 细胞 48 h 后, p53 基因表达增强, 与空白组比较, NC 组 p53 mRNA 的表达明显增强, 由此推测 NC 可能通过增强 MCF-7 细胞 p53 基因的表达, 高表达的 p53 抑制 P125 启动子活性, 从而通过抑制 DNA 的复制, 抑制乳腺癌细胞的增殖。

p21 广泛参与细胞周期的调节, 在 DNA 复制和损伤修复、细胞分化、衰老、凋亡及肿瘤形成等过程也发挥重要作用。研究发现, P125 编码基因 POLD1 的表达水平与 p21 表达呈负相关, 增强 p21 表达时, POLD1 表达下降, 而干扰 p21 后, P125 的表达明显增强, 癌细胞增殖加快, 恶性度增强<sup>[17]</sup>。本实验发现与空白组比较,  $2.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NC 组 p21 mRNA 表达明显增强。这与同剂量组 NC 下调 P125 结果并不完全相对应, 中、低剂量组的 NC 对 P125 有抑制作用, 但对 p21 基因没有促进作用。由此推测 NC 对 P125 的抑制作用可能不直接通过上调 p21 实现, 具体途径还有待于进一步研究。

#### [参考文献]

[1] 张振山, 严萍, 谭志滨, 等. 两面针商品药材的质量评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(6): 57-61.  
[2] 刘丽敏, 刘华钢, 罗丹. 氯化两面针碱体外和体内的抗肿瘤作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2009, 23(3): 214-218.  
[3] 刘华钢, 秦三海, 王博龙, 等. 氯化两面针碱体外诱导两种鼻咽癌株的细胞凋亡[J]. 华西药理学杂志, 2007, 22(5): 514-516.  
[4] Ou X H, Lu Y, Liao L F, et al. Nitidine chloride induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells through a pathway involving p53, p21, Bax and Bcl-2 [J]. *Oncology Reports*, 2015, 33(3): 1264-1274.  
[5] 张华君, 刘华钢, 梁燕, 等. 氯化两面针碱体外逆转

KB/ADM 细胞多药耐药性的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(7): 87-90.  
[6] 李丹妮, 刘华钢, 刘丽敏. 氯化两面针碱诱导人肝癌细胞 SMMC-7721 凋亡及机制研究[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(5): 23-25.  
[7] 刘华钢, 刘丽敏, 罗丹, 等. 氯化两面针碱的体内抗肿瘤作用及其机制[J]. 华西药理学杂志, 2009, 24(1): 30-31.  
[8] Pavlov Y I, Shcherbakova P V. DNA polymerases at the eukaryotic fork-20 years later [J]. *Mutat Res*, 2010, 685(1/2): 45-53.  
[9] 李锦源. 乳腺癌组织 POLD1 基因的表达研究[D]. 南宁: 广西医科大学, 2014.  
[10] 廖柳凤, 欧贤红, 陆游, 等. p53 途径在氯化两面针碱抑制 SMMC-7721 细胞增殖中的作用[J]. 中药新药与临床药理, 2011, 22(4): 385-390.  
[11] Karkhanis V, Wang L, Tae S, et al. Protein arginine methyltransferase 7 regulates cellular response to DNA damage by methylating promoter histones H2A and H4 of the polymerase  $\delta$  catalytic subunit gene, POLD1 [J]. *Biol Chem*, 2012, 287(35): 29801-29814.  
[12] 欧贤红, 廖柳凤, 刘华钢, 等. POLD1 基因在原发性肝癌中的表达及其意义[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 2(9): 151-155.  
[13] Sanefuji K, Taketomi A, Iguchi T, et al. Significance of DNA polymerase delta catalytic subunit p125 induced by mutant p53 in the invasive potential of human hepatocellular carcinoma [J]. *Oncology*, 2010, 79(3/4): 229-237.  
[14] 吴琼, 黄文涛, 黄怡, 等. 反义 RNA 技术对抑制人肝癌细胞 SMMC-7721 中 POLD1 基因表达的研究[J]. 中国肿瘤防治杂志, 2013, 20(4): 241-244.  
[15] Li B Q, Lee M Y W. Transcriptional regulation of the human DNA polymerase delta catalytic subunit gene POLD1 by p53 tumor suppressor and Sp1 [J]. *Biol Chem*, 2001, 276(32): 29729-29739.  
[16] 朱晓宇, 徐恒, 李莉, 等. p53 亚细胞定位变化对 POLD1 基因启动子活性的影响[J]. 自然科学进展, 2006, 16(4): 555-562.  
[17] 谭晓虹, 徐恒, 韦长元, 等. RNA 干扰 p21 对肝癌细胞 SMMC-7721 增殖的影响[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(8): 827-831.

[责任编辑 张丰丰]