

参芪抑瘤方抑制胃癌细胞 MKN-45 增殖和侵袭转移作用机制

李红亮¹, 吴红彦^{1,2*}, 李海龙^{1,2}, 马春林¹, 张策¹, 师金凤¹, 张艳^{1,3}

(1. 甘肃中医药大学, 兰州 730000; 2. 甘肃省方药挖掘和创新转化实验室, 甘肃省中药新产品创制工程实验室, 兰州 730000; 3. 甘肃省中药药理与毒理学重点实验室, 兰州 730000)

[摘要] 目的:观察参芪抑瘤方(抑瘤方)血清抑制 MKN-45 增殖和侵袭转移作用,并探讨其作用机制。方法:采用噻唑蓝(MTT)比色法检测细胞活力;Trans-well 和划痕实验观察细胞侵袭与迁移能力;实时荧光定量 PCR(Real-time PCR)技术检测环氧合酶-2(COX-2)和人第10号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)mRNA 表达;免疫组化检测细胞 COX-2,PTEN 蛋白表达。结果:参芪抑瘤方含药血清(2.8 g·mL⁻¹)干预24,48,72 h后,抑制率为31.25%,33.09%,34.50%;参芪抑瘤方含药血清(2.8 g·mL⁻¹)干预48 h后,细胞侵袭能力、转移能力和迁移能力分别下降了36.18%,49.46%,36.46%;COX-2 mRNA 表达量下降90%,PTEN 升高89.72%;与空白血清组比较,参芪抑瘤方组 COX-2 蛋白表达减弱;PTEN 蛋白表达增强($P < 0.05$)。结论:参芪抑瘤方药物血清通过影响 COX-2,PTEN mRNA 和蛋白表达,抑制 MKN-45 细胞的增殖,减弱其侵袭转移能力。

[关键词] 参芪抑瘤方药物血清;胃癌细胞;侵袭转移;实时荧光定量 PCR;环氧合酶-2;人第10号染色体缺失的磷酸酶

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2016)22-0129-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016220129

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160919.1356.058.html>

[网络出版时间] 2016-09-19 13:56

Inhibitory Effect of Shenqi Yiliu Decoction on Proliferation and Metastasis of Gastric Cancer Cell Lines MKN-45

LI Hong-liang¹, WU Hong-yan^{1,2*}, LI Hai-long^{1,2}, MA Chun-lin¹,
ZHANG Ce¹, SHI Jin-feng¹, ZHANG Yan^{1,3}

(1. Gansu University of Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China; 2. Laboratory of Prescription Excavation, Innovation and Transformation of Gansu Province, Laboratory for New Traditional Chinese Medicine (TCM) Products Development Engineering of Gansu Province, Lanzhou 730000, China; 3. Gansu Province Key Laboratory of Pharmacology and Toxicology of TCM, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effect and mechanisms of Shenqi Yiliu decoction (Yi Liu decoction) medicated serum on proliferation and metastasis of gastric cancer cell line MKN-45. **Method:** Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) was employed to test the viability of gastric cancer cell lines MKN-45. Transwell test and scratch test were used to detect the invasion and metastasis abilities. Real-time PCR technique was used to detect the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) and phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN) mRNA. Immunocytochemical technique was used to test the protein expressions of COX-2 and PTEN. **Result:** After MKN-45 cell were treated by high-dose Shenqi Yiliu decoction medicated serum (2.8 g·mL⁻¹) for 24 h, 48 h and 72 h, the proliferation inhibition rates were 31.25%, 33.09% and 34.50%, respectively. After MKN-45 cell were treated by high-dose Shenqi Yiliu decoction medicated serum for 48 h, the

[收稿日期] 20151229(001)

[基金项目] 兰州市2015年人才创新创业扶持项目(2015-RC-24);甘肃省高等学校科研项目(2013A-088);甘肃省中药药理与毒理学重点实验室开放基金项目(2013B-005)

[第一作者] 李红亮,在读硕士,从事方剂作用机制及药效物质基础研究,Tel:15719613226,E-mail:936376674@qq.com

[通讯作者] *吴红彦,教授,从事方剂作用机制及药效物质基础研究,Tel:15693111686,E-mail:wuhy@163.com

abilities of invasion metastasis and migration decreased by 36.18% , 49.46% and 36.46% , respectively , the expressions of COX-2 mRNA decreased by 90% , and the expression of PTEN increased by 89.72% . Compared with blank group , COX-2 protein expression was weakened in Shenqi Yiliu decoction medicated serum . PTEN protein expression was increased ($P < 0.05$) . **Conclusion** : Shenqi Yiliu decoction medicated serum inhibits the proliferation of MKN-45 cells and weakens the ability of invasion and metastasis by affecting the mRNA and protein expressions of COX-2 and PTEN .

[**Key words**] Shenqi Yiliu decoction medicated serum ; gastric cancer cell ; invasion and metastasis ; Real-time PCR ; cyclooxygenase-2 (COX-2) ; phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN)

消化道肿瘤以胃癌最多见,其病死率逐步升高^[1]。中医药在胃癌防控方面有其优势,但尚缺少理想的中成药,其探索尚需深化^[2]。近年来当归贝母苦参丸(苦参丸)加味治疗宫颈和前列腺的癌症取得了明显效果^[3]。研究表明苦参丸可以对顺铂化疗 H22 荷瘤小鼠肿瘤起到增效减毒的作用^[4-6]。抑瘤方由苦参丸加黄芪等组成,契合了肿瘤正气不足,痰(湿)浊、癌毒、瘀血内阻的病机^[7]。其组成中药所含有效成分黄芪多糖、当归多糖、阿魏酸、贝母碱、土贝母苷甲、苦参碱,全蝎蛋白组分等对多种癌细胞均有抑制作用^[8-10]。前期研究表明抑瘤方可抑制 H22 移植瘤的增殖^[11],苦参丸可抑制 SGC-7901 的增殖^[12-13]。但其机制并未完全阐明,本课题在前期研究的基础上采用抑瘤方药物血清干预 MKN-45 细胞的方法,选择侵袭转移相关的肿瘤标记物环氧合酶-2(COX-2)和人第 10 号染色体缺失的磷酸酶(PTEN),从分子水平探讨该方抑制胃癌侵袭转移的作用机制。

1 材料

1.1 动物和细胞 SPF 级 Wistar 大鼠 60 只,体重(200 ± 20)g,由甘肃中医药大学科研中心提供,合格证号 SCXK(甘)2011-0001。MKN-45 细胞株由北京协和肿瘤研究所提供。

1.2 试剂和药物 DMEM 培养基,胰蛋白酶(Hyclone 公司,批号分别为 NZH1205, J130025),胎牛血清(杭州四季青公司,批号 130215),噻唑蓝(MTT),二甲基亚砷(Sigma 公司,批号分别为 3BH0357, WXBB5403V),RNAiso™ Plus(Takara Bio 公司,批号 D9810A),the PrimeScript RT reagent, SYBR Premix Ex Taq™(Takara Bio 公司,批号分别为 DRRO37A, DRR081A);结晶紫(Solarbio 公司,批号 C8470);COX-2, PTEN 抗体(中杉金桥生物技术有限公司,批号均为 ZA0251);二抗(中杉金桥公司,批号 K135627C);抑瘤方(苦参 15 g,黄芪 30 g,当归 15 g,浙贝母 10 g 等)由甘肃中医药大学附属

医院中药房提供,经甘肃中医药大学附属医院杨仓锡主任药师鉴定为正品。

1.3 仪器 HFsafe-1200LC 型生物安全柜, HF212 型细胞培养箱(中国上海申力公司);CKX41 + DP21 型显微镜, CKX41/U-RFLT50 型荧光倒置显微镜(日本 Olympus 公司);iMark 型酶标仪, CFX96 型 PCR 仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 药物血清制备 将大鼠随机分为空白血清组和抑瘤方低、中、高剂量组(生药含量分别为 0.7, 1.4, 2.8 g·mL⁻¹),每组 15 只。低、中、高剂量分别为等效和 2, 4 倍剂量。给药量为 1 mL·100 g⁻¹·(2 d)⁻¹, ig 7 d, 于末次 ig 2 h 取血,分离取血清。

2.2 细胞培养 MKN-45 细胞常规培养,采用 DMEM 培养基[含 10% 灭活胎牛血清,青、链霉素(100 U·mL⁻¹)],隔 2 ~ 3 d 换液 1 次,取对数期细胞用于以下实验。

2.3 MTT 法检测细胞增殖 调整细胞密度为 1 × 10⁴ 个/mL, 100 μL/孔接种于 96 孔板,每组设 8 个复孔。设等量磷酸盐缓冲液(PBS)为调零孔。24, 48, 72 h 后,加入 MTT 20 μL,培养 4 h 后,加入二甲基亚砷 150 μL,测出吸光度 A,计算抑制率。

2.4 Trans-well 小室法检测细胞侵袭能力 调整细胞密度为 5 × 10⁵ 个/mL。Boyden chamber 小室包被后,放入 24 孔板。各上室加入细胞悬液 300 μL,贴壁后加入体积浓度为 5%, 10%, 15% 的药物血清。下室加完全培养液 200 μL,培养 48 h。取出小室固定,结晶紫染色,随机计数 9 个视野的细胞数。

2.5 划痕实验检测细胞迁移能力 调整细胞密度为 6 × 10⁴ 个/mL,接种于 6 孔板中,细胞密度达 90% 后,每孔划横 6 个。各组加入含血清的培养液 2 d,记录 0, 48 h 的划痕宽度,每孔测量 4 处,求平均值。

2.6 Real-time PCR 检测细胞 COX-2, PTEN mRNA 表达 调整细胞密度为 6 × 10⁴ 个/mL,接种于 6 孔板中,细胞密度达 90% 后,收集细胞,提取 RNA,检

测 RNA 浓度,用 Takara 逆转录试剂盒逆转录合成 cDNA。引物序列由宝生物工程(大连)有限公司合成,见表 1。用 CFX96 Real-time 荧光 PCR 仪扩增,PCR 扩增条件:95 ℃ 10 s,95 ℃ 10 s,60 ℃ 20 s,40 个循环。分析溶解曲线,确认扩增产物特异性,采取 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。

表 1 引物序列

Table 1 PCR reaction primer sequences

引物	引物序列(5'-3')	长度/bp
β -actin	GGAGATTACTGCCCTGGCTCTCA	150
	GACTCATCGTACTCTGCTGTGCTG	
COX-2	GCCTGAATGTGCCATAAGACTG	140
	AAACCCACACTGCTTGACACA	
PTEN	GACTCTGGAATATCCCTGGACA	106
	AGGTTTGCTGCATCGACATCTG	

2.7 免疫组化检测细胞 COX-2, PTEN 蛋白表达
调整细胞密度为 6×10^4 个/mL,将盖玻片置于 24 孔板中,每孔 500 μ L;各组加入含血清的培养基 50 μ L,每组设 3 个复孔。待细胞爬满盖玻片后,将

表 2 参芪抑瘤方血清对 MKN-45 细胞增殖抑制的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of Shenqi Yiliu decoction medicated serum on proliferation of MKN-45 cells($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	药物血清浓度 /%	24 h		48 h		72 h	
		A	抑制率/%	A	抑制率/%	A	抑制率/%
完全培养基	-	1.43 \pm 0.03	-	1.42 \pm 0.02	-	1.43 \pm 0.02	-
空白血清	10	1.34 \pm 0.05	0.03	1.41 \pm 0.02	0.01	1.42 \pm 0.01	0.00
参芪抑瘤方	5	1.14 \pm 0.03 ¹⁾	22.22	1.03 \pm 0.01 ¹⁾	28.16	1.11 \pm 0.04 ¹⁾	19.17
	10	1.04 \pm 0.04 ¹⁾	29.86	1.01 \pm 0.02 ¹⁾	27.46	0.94 \pm 0.02 ¹⁾	31.69
	15	0.98 \pm 0.23 ¹⁾	31.25	0.96 \pm 0.02 ¹⁾	33.09	0.92 \pm 0.01 ¹⁾	34.50

注:与完全培养基组比较¹⁾ $P < 0.01$ 。

3.2 参芪抑瘤方血清对 MKN-45 细胞侵袭转移能力的影响
与完全培养基组比较,参芪抑瘤方血清干预 48 h 后,细胞穿过小室的数量减少($P < 0.05$),侵袭能力降低。见表 3,图 1。

表 3 参芪抑瘤方血清对 MKN-45 细胞侵袭转移及迁移能力的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effect of Shenqi Yiliu decoction medicated serum on invasion and migration of MKN-45 cells($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	药物血清浓度/%	侵袭细胞数/个	侵袭抑制率/%	转移细胞数/个	转移抑制率/%	划痕距离/mm	迁移抑制率/%
完全培养基	-	43.00 \pm 0.00	-	62.22 \pm 0.00	-	0.96 \pm 0.00	-
空白血清	10	43.00 \pm 4.15	-	61.33 \pm 4.90	-	0.92 \pm 0.03	-
参芪抑瘤方	5	32.89 \pm 9.07 ¹⁾	23.51	50.24 \pm 4.73 ¹⁾	19.25	0.79 \pm 0.01 ¹⁾	17.71
	10	32.89 \pm 6.73 ¹⁾	23.51	43.33 \pm 3.01 ¹⁾	30.36	0.70 \pm 0.02 ¹⁾	27.08
	15	27.44 \pm 7.38 ¹⁾	36.18	31.44 \pm 2.87 ¹⁾	49.46	0.61 \pm 0.01 ¹⁾	36.46

注:与完全培养基组比较¹⁾ $P < 0.05$ (表 4,5 同)。

3.4 参芪抑瘤方血清对细胞 COX-2, PTEN mRNA 表达的影响
与完全培养基组比较,参芪抑瘤方血清组中的 COX-2 mRNA 表达量降低($P < 0.05$), PTEN mRNA 表达量升高($P < 0.05$)。见表 4。

爬片置于 4% 多聚甲醛中过夜,滴加 0.1% Triton X-100 室温孵育,3% H_2O_2 室温孵育 30 min,加入 5% BSA 封闭液室温 20 min,加入 Rabbit Anti-collagen Type II (1:100),4 ℃ 孵育过夜,滴加生物素标记山羊抗兔 Ig,37 ℃ 20 min;滴加 SABC,37 ℃ 20 min, DAB 显色,苏木素复染,盐酸乙醇分化,氨水返蓝;梯度乙醇脱水,二甲苯透明,甘油封片。观察 3 个视野。使用 Leica Qwin 系统测定相对吸光度 IA。

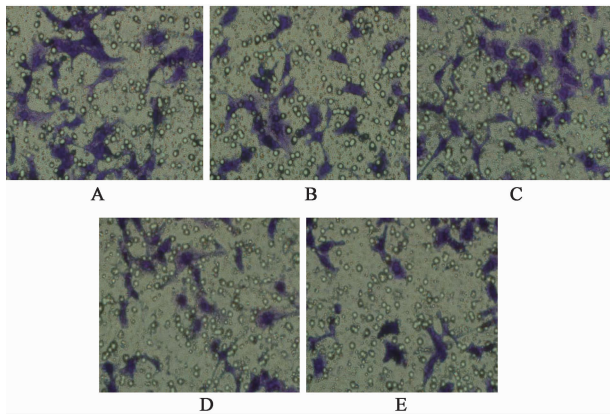
2.8 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计软件,采用 $\bar{x} \pm s$ 表示计量资料,根据方差齐性检验结果,组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 参芪抑瘤方血清对细胞活力的影响
与完全培养基组比较,参芪抑瘤方血清组的 A 显著降低($P < 0.01$)。其中参芪抑瘤方低剂量组 48 h 时抑制率明显较其他时间段高,中剂量组则相反,高剂量组抑制率呈时间依赖作用,低、高剂量组同一时间段的抑制率呈浓度依赖性。见表 2。

3.3 参芪抑瘤方血清对 MKN-45 细胞迁移能力的影响
与完全培养基组比较,药物血清干预 48 h 后,细胞迁移能力减弱($P < 0.05$),参芪抑瘤方低、中、高剂量组的划痕逐渐愈合。见表 3,图 2。

3.5 参芪抑瘤方血清对细胞 COX-2, PTEN 蛋白表达的影响
完全培养基组细胞 COX-2 蛋白表达呈强阳性和阳性,药物血清组细胞 COX-2 蛋白表达逐渐变浅,呈弱阳性或阴性。完全培养基组细胞抑癌



A. 完全培养基组; B. 空白血清组; C~E. 参芪抑瘤方低、中、高剂量组(图 2~4 同)

图 1 参芪抑瘤方血清对 MKN-45 细胞体外侵袭力的影响(结晶紫染色, ×400)

Fig.1 Effect of Shenqi Yiliu decoction medicated serum *in vitro* invasion of MKN-45 cells(crystal violet staining solution, ×400)

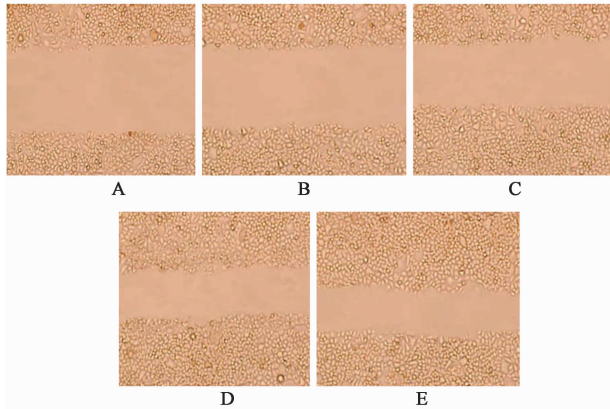


图 2 参芪抑瘤方血清对 MKN-45 细胞划痕区域的影响(×400)

Fig.2 Effect of Shenqi Yiliu decoction medicated serum on scratch area of MKN-45 cells(×400)

表 4 参芪抑瘤方血清对 MKN-45 细胞 COX-2, PTEN mRNA 表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effect of Shenqi Yiliu decoction medicated serum on expression of COX-2 and PTEN mRNA expressions in MKN-45 cells($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	药物血清浓度/%	COX-2	PTEN
完全培养基	-	1.00 ± 0.00	1.00 ± 0.00
空白血清	-	1.01 ± 0.26	0.62 ± 0.24
参芪抑瘤方	5	0.53 ± 0.03 ¹⁾	2.51 ± 0.23 ¹⁾
	10	0.19 ± 0.04 ¹⁾	5.84 ± 0.94 ¹⁾
	15	0.10 ± 0.01 ¹⁾	11.25 ± 1.26 ¹⁾

基因 PTEN 蛋白着色较浅,呈弱阳性或阴性,药物血清组 PTEN 蛋白着色逐渐变深,呈强阳性或阳性。统计结果表明,与完全培养基组比较,参芪抑瘤方血清组 COX-2 蛋白表达显著降低($P < 0.05$),PTEN 蛋白表达显著增强($P < 0.05$)。见图 3,4,表 5。

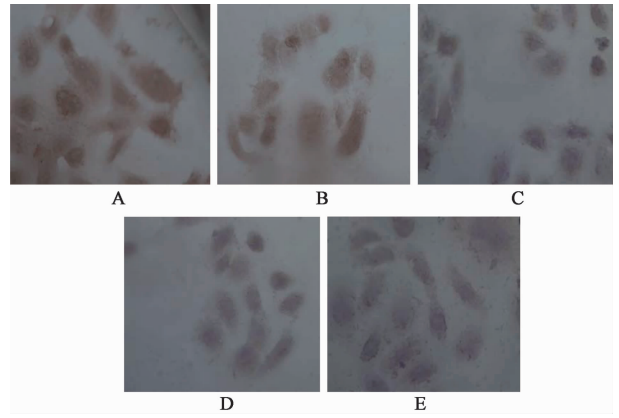


图 3 参芪抑瘤方血清干预后 COX-2 在 MKN-45 细胞中的表达(免疫组化, ×400)

Fig.3 Expression of COX-2 in MKN-45 cells after intervention of Shenqi Yiliu decoction medicated serum(IHC, ×400)

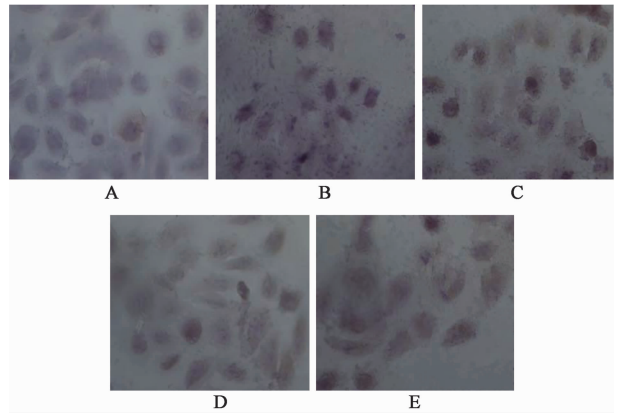


图 4 参芪抑瘤方血清干预后 PTEN 在 MKN-45 细胞中的表达(免疫组化, ×400)

Fig.4 Expression of PTEN in MKN-45 cells after intervention of Shenqi Yiliu decoction medicated serum(IHC, ×400)

表 5 参芪抑瘤方血清对 MKN-45 细胞 COX-2, PTEN 蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Effect of Shenqi Yiliu decoction medicated serum on COX-2 and PTEN protein expressions in MKN-45 cells($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	药物血清浓度/%	PTEN	COX-2
完全培养基	-	0.22 ± 0.12	1.02 ± 0.01
空白血清	-	0.20 ± 0.01	0.99 ± 0.02
参芪抑瘤方	5	0.45 ± 0.02 ¹⁾	0.78 ± 0.03 ¹⁾
	10	0.69 ± 0.04 ¹⁾	0.57 ± 0.01 ¹⁾
	15	0.89 ± 0.03 ¹⁾	0.23 ± 0.01 ¹⁾

4 讨论

胃癌的发生是多种因素导致癌基因、抑癌基因及细胞因子等的共同调控机制失调,打破了胃黏膜上皮细胞增殖和凋亡之间的动态平衡所致^[14]。中医学者认为胃癌虽表现于局部,但牵涉全身,主要病机为本虚标实,本虚为素体虚弱,或先天禀赋不足,标实为气滞、血瘀、痰凝、毒聚^[15]。目前中医药在胃

癌的防治方面有其特殊的角度,中医药抗胃癌的研究发展已到了细胞和基因阶段,这将成为中药医抗癌的新出路^[16]。

COX-2 的过度表达几乎是所有固体肿瘤的炎症标志^[17-18]。研究表明表达 COX-2 的细胞可破坏胃基底膜完整性,使肿瘤发生转移^[19]。幽门螺旋杆菌(Hp)黏附于胃黏膜上皮,释放毒力因子与上皮细胞接触后,损伤胃黏膜上皮,诱导 COX-2 表达,COX-2 的表达与 Hp 感染之间的相互作用,使胃癌病变的风险升高^[20]。具有磷酸酶活性的 PTEN 调节细胞生长,与细胞浸润、转移有关。PTEN 基因突变通过降低肿瘤组织中脂质磷酸酶活性,促其增殖^[21]。研究证实 PTEN 蛋白的表达与淋巴结转移、侵袭程度密切相关^[22]。检测 PTEN 基因可对胃癌组织增生、侵袭及转移情况做出初步判定。

研究发现参芪抑瘤方药物血清可以抑制胃癌细胞增殖及侵袭转移,可能抑制 COX-2 的表达量,减弱肿瘤细胞的侵袭能力;升高 PTEN 的表达量,增强其去磷酸化,阻滞细胞周期,诱导细胞分化,抑制细胞转移。本文仅从 COX-2 和 PTEN 的角度探讨了参芪抑瘤方药物血清可以抑制胃癌细胞增殖及侵袭转移的机制,有待进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 邹文斌,李兆申.中国胃癌发病率及死亡率研究进展[J].中国实用内科学杂志,2014,34(4):408-414.

[2] 李勇,范立侨.胃癌[M].北京:科学技术出版社,2010:328-341.

[3] 李宜放,高向军,王晞星.王晞星应用当归贝母苦参丸治疗肿瘤的经验[J].山西中医,2011,27(12):4-7.

[4] 舍雅莉,闫德祺,刘永琦,等.当归贝母苦参丸对顺铂化疗 H22 荷瘤小鼠肿瘤及肝脏、肾脏和胸腺组织病理形态的影响[J].中国中医药信息杂志,2014,21(5):56-60.

[5] 闫德祺,刘永琦,李应东,等.当归贝母苦参丸对顺铂化疗 H22 荷瘤小鼠的抑瘤作用及对血清 HIF-1 α 和 LDH 的影响[J].中成药,2014,36(7):1351-1355.

[6] Yan D Q, Liu Y Q, Li Y D, et al. Tumor inhibition effects and mechanisms of *Angelica sinensis* and *Sophorae flavescens* ait decoction combined with cisplatin in xenograft mice[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(11):4609-4615.

[7] 梁云麒,沈克平,胡兵.中医胃癌病机与治法研究[J].中华中医药学刊,2014,32(3):513-515.

[8] 闫德祺.当归贝母苦参丸活性成分的抗癌作用及机制研究进展[J].中外医学研究,2013,11(29):151-152.

[9] 刘琦,程旭峰,张新峰,等.山慈菇-蜂房药对抑制人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞体外侵袭转移的机制研究[J].中药新药与临床药理,2014,25(4):389-392.

[10] 王晶娟,张贵君,吴明侠,等.全蝎蛋白药效组分对 Be17402 肿瘤细胞凋亡的影响[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(12):112-114.

[11] 荣倩倩.参芪抑瘤方对荷瘤小鼠 H22 肝癌的抑制作用及抗血管生成的机制研究[D].兰州:甘肃中医药大学,2015.

[12] 师金凤,李海龙,吴红彦,等.当归贝母苦参丸含药血清对胃癌细胞 SGC-7901 和侵袭转移能力和周期的影响[J].辽宁中医药大学学报,2014,16(10):30-33.

[13] 吴红彦,荣倩倩,李海龙,等.当归贝母苦参丸含药血清对胃癌细胞 SGC-7901 抑制作用机制的研究[J].中国实验方剂学杂志,2016,21(2):137-141.

[14] 李江波,贺修胜.胃癌的外科治疗进展[J].中国医学工程,2011,19(8):141-143.

[15] 廖楠君,王常松.胃癌及其术后中医病因病机临床研究进展[J].辽宁中医药大学学报,2013,15(9):219-221.

[16] 彭晔,李维娜,任双杰,等.中医药治疗胃癌研究述评[J].河南中医,2016,36(1):176-178.

[17] Uddin M J, Werfel T A, Crews B C, et al. Fluorocoxib A loaded nanoparticles enable targeted visualization of cyclooxygenase-2 in inflammation and cancer [J]. Biomaterials, 2016, 21(92):71-80.

[18] Cui Y, Sun Z, Li X, et al. Expression and clinical significance of cyclooxygenase-2 and interleukin-32 in primary gastric B-cell lymphoma[J]. Oncol Lett, 2016, 11(1):693-698.

[19] Sun K, Tang X H, Xie Y K. Paclitaxel combined with harmine inhibits the migration and invasion of gastric cancer cells through downregulation of cyclooxygenase-2 expression[J]. Oncol Lett, 2015, 10(3):1649-1654.

[20] Zhang Y, Pan K F, Zhang L, et al. Helicobacter pylori, cyclooxygenase-2 and evolution of gastric lesions: results from an intervention trial in China[J]. Carcinogenesis, 2015, 36(12):1572-1579.

[21] 刘斌,吴军正,孙安,等.PTEN 抑癌基因转染对黏液表皮样癌细胞系 M3SP2 增殖的抑制作用[J].华西口腔医学杂志,2002,20(5):361-363.

[22] 夏丹,张庆慧,许复郁,等.乳腺浸润性导管癌组织中 PTTG 及 COX-2 的表达及临床意义[J].中国现代普通外科进展,2007,10(5):420-423.

[责任编辑 张丰丰]