

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.008

· 基础研究 ·

## 木鳖子单体化合物对羟基桂皮醛对食管癌移植瘤的抑制作用

崔雯萱<sup>a,b</sup>, 武一鹏<sup>b</sup>, 魏思思<sup>b</sup>, 单亚楠<sup>b</sup>, 马鸣<sup>a</sup>, 赵连梅<sup>a</sup>, 单保恩<sup>a</sup> (河北医科大学第四医院 a. 河北省肿瘤基因诊断、预防和治疗重点实验室; b. 科研中心, 河北 石家庄 050011)

**[摘要]** **目的:** 探讨木鳖子单体化合物对羟基桂皮醛(p-hydroxycinnamaldehyde, CMSP)对食管癌细胞增殖及在 BALB/c 裸鼠移植瘤生长的抑制作用。**方法:** 细胞计数法检测 CMSP 对食管癌细胞株 Kyse 30 和 TE-13 增殖的抑制作用, RT-PCR 法检测食管癌细胞中 *CEA* 和 *SCC* mRNA 的表达情况, Western blotting 法检测食管癌细胞中 C-myc 和 N-myc 蛋白的表达变化。构建裸鼠食管癌移植瘤模型, 分为对照组和 CMSP 处理组, 实验结束后测量移植瘤大小及体积; 免疫组织化学 SP 法观察移植瘤组织 C-myc 和 N-myc 蛋白的表达变化, H-E 染色后光镜下观察两组裸鼠移植瘤组织和肝、脾组织的病理学变化。**结果:** CMSP 对食管癌细胞 Kyse 30 和 TE-13 的增殖具有明显的抑制作用[(1.7 ± 0.3) vs (3.8 ± 0.3), (1.6 ± 0.2) vs (4.5 ± 0.4), 均  $P < 0.01$ ]。经 CMSP 处理后:(1) Kyse 30 和 TE-13 细胞中 *CEA* 和 *SCC* mRNA 表达降低( $P < 0.01$ ), C-myc 和 N-myc 蛋白表达明显低于对照组( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ); (2) 裸鼠移植瘤平均体积和质量明显降低( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 移植瘤组织中 C-myc 和 N-myc 蛋白表达水平低于盐水对照组肿瘤组织。CMSP 处理组和对照组中肝、脾组织并未发生任何病理改变。**结论:** 木鳖子单体化合物 CMSP 体外抑制食管癌细胞增殖, 体内抑制裸鼠食管癌移植瘤的生长。

**[关键词]** 木鳖子单体化合物对羟基桂皮醛; 食管癌; 移植瘤; 抑瘤作用

**[中图分类号]** R735.1; R730.52

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2017)02-0145-06

## Inhibitory effects of p-hydroxycinnamaldehyde on esophageal cancer xenograft tumor *in vivo*

CUI Wenxuan<sup>a,b</sup>, WU Yipeng<sup>b</sup>, WEI Sisi<sup>b</sup>, SHAN Yanan<sup>b</sup>, MA Ming<sup>a</sup>, ZHAO Lianmei<sup>a</sup>, SHAN Baoen<sup>a</sup> (a. Key Laboratory of Tumor Gene Diagnosis, Prevention and Treatment of Hebei Province; b. Scientific Research Center, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the inhibitory effects of p-hydroxycinnamaldehyde (CMSP) on the proliferation of esophageal cancer cells and the growth of their xenograft tumors on BALB/c nude mouse. **Methods:** The inhibitory effects of CMSP on the proliferation of Kyse 30 and TE-13 esophageal cancer cells were measured by cytometry. *CEA* and *SCC* mRNA expressions in esophageal cancer cells were detected with RT-PCR assay; the expression levels of C-myc and N-myc in esophageal cancer cells were detected by Western blotting; Esophageal cancer xenograft model was constructed on nude mouse, and the mice were divided into CMSP group and control group. After experiment ended, the tumor weight and size were measured. The expression levels of C-myc and N-myc in xenografts were detected by immunohistochemical SP assay; Morphological changes of liver, spleen and tumor tissues of nude mouse were observed by H-E staining under light microscope. **Results:** CMSP had obvious inhibitory effect on esophageal cancer cells Kyse 30 and TE-13 [(1.7 ± 0.3) vs [3.8 ± 0.3], [1.6 ± 0.2] vs [4.5 ± 0.4],  $P < 0.01$ ). Compared to the control group, after CMSP treatment, (1) the expressions of *CEA* and *SCC* mRNA in Kyse 30 and TE-13 cells were inhibited ( $P < 0.01$ ); the expressions of C-myc and N-myc proteins were significantly inhibited ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); (2) the average volume and weight of xenograft tumor in CMSP group significantly decreased ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); the expressions of C-myc and N-myc proteins

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金资助项目(No. 81502032); 河北省医学科学研究重点课题计划资助项目(No. 20120120)。Project supported by the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (No. 81502032), and the Key Project of Medical Science Research in Hebei Province (No. 20120120)

**[作者简介]** 崔雯萱(1990-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫基础与临床研究, E-mail: cuiwx3366@163.com

**[通信作者]** 单保恩(SHAN Baoen, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫学、基因诊断、抗肿瘤中药研究和肿瘤生物治疗研究, E-mail: baoenshan@yahoo.com.cn

were decreased. No obvious morphological changes were found in liver and spleen tissues in both CMSP treatment group and control group. **Conclusion:** CMSP has inhibitory effects on both esophageal cancer cells *in vitro* and their nude mouse xenograft tumors *in vivo*.

[ **Key words** ] p-hydroxycinnamaldehyde; esophageal carcinoma; xenograft tumor; inhibitory effect

[ Chin J Cancer Biother, 2017, 24( 2 ): 145-150. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.02.008 ]

食管癌在全球癌症病死率中占第 6 位<sup>[1]</sup>,每年全球约有 310 400 例新增病例<sup>[2-3]</sup>,患者 5 年生存率低于 20%<sup>[4]</sup>。目前化疗药物治疗癌症较为普及,但用中草药中提取的抗肿瘤活性成分治疗肿瘤的疗效研究甚少,后者因其毒性小,故用其治疗肿瘤已成为近期的研究热点<sup>[5]</sup>。木鳖子(*cochinchina momordica seed*, CMS)是葫芦科植物木鳖干燥成熟的种子,始载于宋朝《开宝本草》,是一味散血热、除痈毒之要药<sup>[6]</sup>。虽然其作用机制尚不十分清楚,但其已广泛用于各种肿瘤的治疗<sup>[7-8]</sup>,且在治疗胃癌、肝癌的临床试验中显示效果良好<sup>[9-10]</sup>。对羟基桂皮醛(p-hydroxycinnamaldehyde, CMSP)是 CMS 乙醇提取物的新成员,本课题组前期研究<sup>[11]</sup>发现,CMSP 具有抑制黑色素瘤 B16 细胞增殖和诱导其分化的作用。为深入研究 CMSP 对食管癌的作用,通过构建裸鼠食管癌移植瘤模型,并用 CMSP 治疗该裸鼠模型<sup>[12]</sup>,检测食管癌细胞在体内的成瘤情况以及肿瘤组织中 C-myc 和 N-myc 表达水平,为其能成为临床治疗肿瘤的药物提供实验依据。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 主要试剂和动物

胎牛血清和培养基 RPMI 1640 购自 Gibco-BRL 公司,全反式维甲酸( ATRA )购自 Sigma 公司, C-myc、N-myc、β-actin 抗体均购自 Abcam 公司, cAMP、CEA、SCC 的 ELISA 试剂盒和 TRIzol reagent 均购自美国 Invitrogen 公司, Go Taq<sup>®</sup> qPCR Master Mix 购自 Promega 公司, RevertAid<sup>™</sup> First Strand cDNA Synthesis Kits 购自 MBI Fermentas 公司。中药 CMS 购自石家庄乐仁堂大药房(经华北制药有限公司新药研究中心任风芝教授鉴定为正品)。BALB/c-nu 裸鼠(雄性, 28 ~ 41 d, 实验动物合格证号: 11400700144136)。

#### 1.2 细胞培养

正常人食管上皮细胞株 HEEC、人食管癌细胞株 Kyse 30 由中国医学科学院肿瘤医院国家肿瘤分子生物学重点实验室惠赠, TE-13 细胞购自中国科学院上海生命科学研究细胞资源中心。所有细胞系培养于含 10 % 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基, 含 100 U/ml 青霉素和 100 μg/ml 链霉素, 于 37 °C、

5% CO<sub>2</sub> 湿润条件下培养。

#### 1.3 CMSP 的提取与分离

制备 CMSP。将 CMSP 以 1 mg/ml 的浓度溶解到 DMSO 中保存。细胞实验使用时用无牛血清培养基将其配成适合浓度, 动物实验用生理盐水将其稀释至需要浓度。

#### 1.4 细胞计数法检测 CMSP 对食管癌细胞增殖的影响

在 96 孔板中加入 2 ml 的 1 × 10<sup>4</sup> 细胞悬液, 37 °C 孵育 72 h 后。实验重复 3 次。

#### 1.5 RT-qPCR 法检测食管癌细胞中 CEA 和 SCC 基因的表达

用 TRIzol 提取 Kyse 30 和 TE-13 细胞中的总 RNA。用分光光度法检测 RNA 浓度, 琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量。取 1 μg 总 RNA 用反转录试剂盒 RevertAid<sup>™</sup> First Strand cDNA Synthesis Kits 反转录出 cDNA。所得 cDNA 产物用特异性引物 CEA、SCC 和 β-actin (表 1), 通过 Taq<sup>®</sup> qPCR Master Mix 进行 RT-qPCR 扩增。PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳分离。对每个靶基因的表达量用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 统计, ΔΔCt = (实验组靶基因 Ct 值 - 实验组 β-actin Ct 值) - (对照组靶基因 Ct 值 - 对照组 β-actin Ct 值)。

表 1 RT-PCR 检测所需要的引物序列  
Tab.1 Primer sequences for the RT-PCR

Gene	Primer sequence	Annealing temperature (t/°C)
β-actin	Forward 5'-GTTGTGATGGGTTCTGA-3'	60
	Reverse 5'-GAGCAATAGCGTCTGTG-3'	
CEA	Forward 5'-CGCTGAGTTCCTGCGTACC-3'	60
	Reverse 5'-TCTGCGGTGCTGTTGTGG-3'	
SCC	Forward 5'-GGCTCGATTGTTATTTCCAC-3'	60
	Reverse 5'-GGTTGTAGAATTAAGAATAGC-3'	

#### 1.6 Western blotting 检测食管癌细胞蛋白的表达

250 μl 裂解液裂解 Kyse 30 和 TE-13 细胞, 裂解

物 SDS-PAGE, 并电转到 PVDF 膜上。封闭液将 PVDF 膜室温孵育 2 h, 再放入不同抗体(一抗)中 4 °C 过夜, 抗体包括 C-myc(1:1 000)、N-myc(1:1 000)、 $\beta$ -actin(1:5 000)。第 2 天敷二抗后通过红外成像系统成像。根据  $\beta$ -actin 的表达量将每个样品蛋白水平归一化处理, 所有实验均至少重复 3 次。

### 1.7 食管癌移植瘤裸鼠模型的构建

每只裸鼠皮下注射食管癌细胞悬液 0.1 ml(细胞数为  $1 \times 10^6$  个), 每鼠 2 d 注射 1 次。将裸鼠随机分为 4 组(6 只/组): 生理盐水对照组、顺铂组(2 mg/kg)、CMSP 1 组(20 mg/kg)和 CMSP 2 组(10 mg/kg), 所有小鼠在 22 d 后处死。解剖分离出移植瘤、肝和脾, 置于 4% 甲醛溶液中保存。应用 H-E 染色, 光镜下观察肝、脾组织的形态变化, 并检测肿瘤组织中是否有凋亡细胞。

### 1.8 免疫组化 SP 法检测移植瘤组织 N-myc 和 C-myc 蛋白的表达

取固定的移植瘤标本, 按免疫组织化学 SP 法常规包埋、制片、脱蜡与水化后, 用 3%  $H_2O_2$  去离子水阻断内源性过氧化物酶活性 15 min, 1% 山羊血清抗体封闭后分别滴加 N-myc 和 C-myc 一抗, 37 °C 放置 3 h, 再分别滴加生物素标记二抗和链霉亲和素-生物素-辣根过氧化物酶复合物。选取 5 个高倍视野, 每个视野计数 500 个细胞, 根据阳性细胞百分比和染色强度观察和评分:  $\leq 10\%$  为 0 分,  $> 10\%$  且  $\leq 50\%$  为 1 分,  $> 50\%$  且  $\leq 75\%$  为 2 分,  $> 75\%$  为 3 分; 无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。上述 2 项评分相加: 0 分为“-”, 1~2 分为“+”, 3~4 分为“++”, 5~6 分为“+++”。将“-”和“+”定义为阴性表达, “++”和“+++”定义为阳性表达。

### 1.9 统计学处理

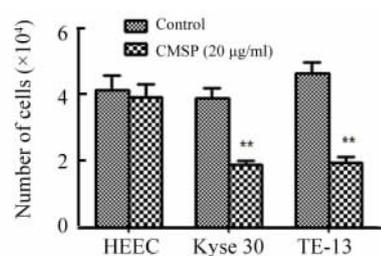
应用 SPSS 13.0 统计学软件, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CMSP 抑制多种食管癌细胞的增殖

细胞计数结果(图 1)显示, CMSP(20  $\mu\text{g/ml}$ ) 处理 72 h 后对食管癌细胞系 Kyse 30、TE-13、Ecal09 和 Kyse180 的增殖均有抑制作用, 其细胞数量显著降低( $t = 10.57, P < 0.01; t = 9.699, P < 0.01$ ), 而对正常食管上皮细胞 HEEC 的增殖并无显著影响。在上述食管癌细胞系中, 因 CMSP 对 Kyse 30 和 TE-13 细胞有更显著的抑制作用, 因此选取 Kyse 30 和

TE-13 细胞进行后续研究。



\*\*  $P < 0.01$  vs control group

图 1 CMSP 对食管癌细胞增殖的影响

Fig. 1 The effect of CMSP on the proliferation of esophageal cancer cells

### 2.2 CMSP 影响 Kyse 30 和 TE-13 细胞 CEA 和 SCC mRNA 的表达

RT-PCR 法检测结果(图 2)显示, 经 CMSP 处理后 Kyse 30 和 TE-13 细胞的 CEA 和 SCC mRNA 水平降低, 且有剂量依赖性( $F = 1 581.154, P < 0.01; F = 660.328, P < 0.01; F = 447.493, P < 0.01; F = 865.058, P < 0.01$ )。结果提示, CMSP 可能降低食管癌细胞的恶性程度。

### 2.3 CMSP 降低 Kyse 30 和 TE-13 细胞 C-myc 和 N-myc 蛋白表达

Western blotting 检测结果(图 3)显示, 与对照组相比, 经 CMSP 处理后 Kyse 30 和 TE-13 细胞 C-myc 和 N-myc 蛋白表达量显著降低, 且呈浓度依赖性( $F = 30.652, P < 0.01; F = 32.123, P < 0.01; F = 17.642, P < 0.01; F = 28.174, P < 0.01$ )。结果提示, 经 CMSP 处理后 Kyse 30 和 TE-13 细胞的恶性表型减轻。

### 2.4 CMSP 抑制裸鼠体内移植瘤的生长

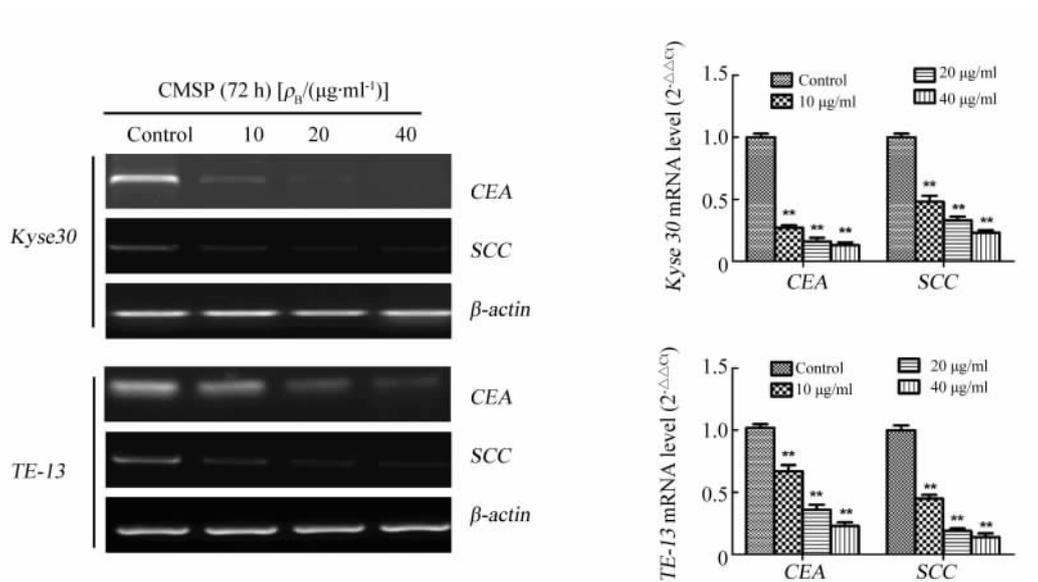
与生理盐水对照组相比, CMSP 20 mg/kg 组与 10 mg/kg 组移植瘤生长速度及大小明显降低( $t = 3.188, P < 0.01; t = 10.68, P < 0.05$ ), 并有剂量依赖性( $r = 8.839, P < 0.01$ ), 且前者与顺铂处理组肿瘤生长速度及大小差距较小(图 4)。此结果提示 CMSP 能显著抑制 Kyse 30 细胞在裸鼠体内的增长, 且有剂量依赖性。

### 2.5 CMSP 对裸鼠移植瘤形态及 C-myc 和 N-myc 蛋白表达的影响

H-E 结果显示, 对照组和 CMSP 处理组没有凋亡细胞出现, 但顺铂处理组肿瘤组织出现明显的凋亡细胞(图 5); CMSP 处理组的肝、脾组织中未见明显病理组织学改变, 证明 CMSP 对小鼠肝和脾组织

无明显的毒副作用。SP 免疫组织化学染色结果发现, CMSP 处理组的移植瘤 C-myc 和 N-myc 蛋白表达量降低, 且 CMSP (20 mg/kg) 组降低更为明显。

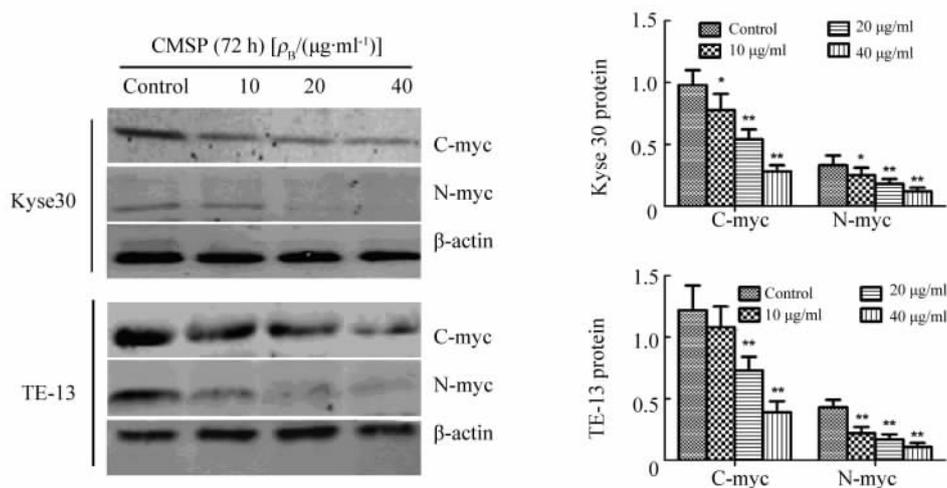
结果表明, CMSP 处理后可降低食管癌细胞的恶性表型。



\*\*  $P < 0.01$  vs control group

图2 CMSP 处理后 Kyse 30 和 TE-13 细胞 CEA 和 SCC mRNA 的表达

Fig. 2 Expressions of CEA and SCC mRNA in Kyse 30 and TE-13 cells treated with CMSP



\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group

图3 CMSP 处理后 Kyse 30 和 TE-13 细胞 C-myc 和 N-myc 蛋白的表达

Fig. 3 The protein levels of C-myc and N-myc proteins in Kyse 30 and TE-13 cells treated with CMSP

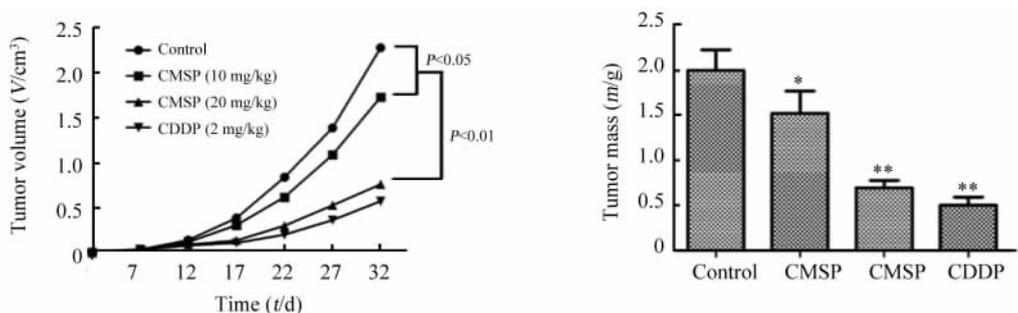
### 3 讨论

治疗癌症较好的办法就是找到诱导癌细胞分化的药物, 即“分化治疗”, 现已成为一种新的治疗方

法, 旨在使癌细胞的增殖速度减慢, 降低早期恶性肿瘤的特性<sup>[12]</sup>。本课题组前期研究<sup>[17]</sup>发现, CMSE 可以抑制 B16 细胞的增殖、诱导其分化。本研究发现, CMSP 抑制食管癌细胞增殖的作用显著, 且使肿

瘤标志物表达下降。事实上,一些药物能诱导食管癌细胞的分化进而抑制其增殖,如 cAMP 增强剂、ATRA、TPA 和腺苷酸环化酶激活剂等<sup>[13-16]</sup>。本研

究表明,从中药中提取出的抗肿瘤活性成分 CMSP 亦能抑制食管癌细胞的增殖。

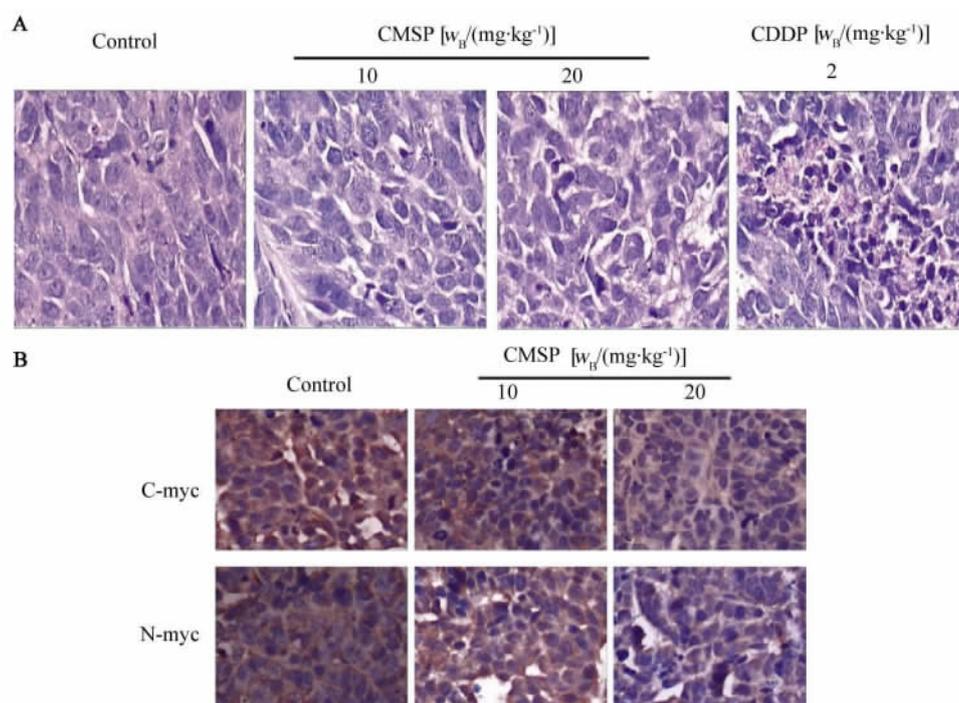


\*  $P < 0.05$ , CMSP group (10 mg/kg) vs control group;

\*\*  $P < 0.01$  CMSP group (20 mg/kg) vs control group

图4 CMSP 抑制 Kyse 30 细胞移植瘤的增殖

Fig. 4 CMSP treatment inhibited growth of Kyse 30 cell xenograft



A: Representative H-E images of histology of xenograft; B: Representative immunohistochemical images showing expression levels of C-myc and N-myc in two groups

图5 CMSP 对裸鼠移植瘤组织形态和 C-myc、N-myc 蛋白表达的影响( × 400 )

Fig. 5 The effects of CMSP on the histology of xenograft and the expressions of C-myc, N-myc proteins( × 400 )

本研究发现,10 ~ 40  $\mu\text{g/ml}$  的 CMSP 能有效抑制 Kyse 30 和 TE-13 细胞的增殖,并且有明显的剂量依赖性。CMSP 处理使移植瘤组织中肿瘤标志物 CEA、SCC 的表达明显降低,提示经 CMSP 处理后食管癌细胞的恶性表型逐步丢失。据报道<sup>[18-19]</sup>, C-

myc 和 N-myc 表达水平增高会通过细胞内致癌信号的改变来促进细胞增殖。此外,在其他多种癌症(包括食管癌)中 C-myc 和 N-myc 表达量明显增高,因此 C-myc 和 N-myc 可以被作为食管癌的恶性标志物<sup>[18-21]</sup>。经 CMSP 处理后 C-myc 和 N-myc 的表

达显著下降,提示 CMSP 减轻了 Kyse 30 和 TE-13 细胞的恶性表型。

体内实验结果证实,CMSP 处理组小鼠食管癌移植瘤的生长明显缓慢,荷瘤裸鼠肝、脾组织中无明显病理性变化,提示经 CMSP 处理对实验动物肝、脾组织并无毒性损伤。总之,从 CMS 中提取的 CMSP 体内外对食管癌细胞的增殖具有明显的抑制作用,其作用机制可能是通过诱导癌细胞分化而实现的,其进一步作用机制及相关靶基因还需要深入研究。

## [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] JEMAL A, BRAY F, CENTER M M, et al. Global cancer statistics[ J ]. CA Cancer J Clin, 2011, 61( 2 ): 69-90. DOI: 10.3322/caac.20107.
- [ 2 ] WANG L F, LU A, MENG F R, et al. Inhibitory effects of lupeol acetate of cortex periplociae on N-nitrosomethylbenzylamine-induced rat esophageal tumorigenesis[ J ]. Oncol Lett, 2012, 4( 2 ): 231-236. DOI:10.3892/ol.2012.717.
- [ 3 ] ZHAO LM, YAN X, SHI J, et al. Ethanol extract of Forsythia suspensa root induces apoptosis of esophageal carcinoma cells via the mitochondrial apoptotic pathway[ J ]. Mol Med Rep, 2015, 11( 2 ): 871-880. DOI: 10.3892/mmr.2014.2874.
- [ 4 ] QIAO Z, DANG C X, ZHOU B, et al. Downregulation of O-linked N-acetylglucosamine transferase by RNA interference decreases MMP9 expression in human esophageal cancer cells[ J ]. Oncol Lett, 2016, 11( 5 ): 3317-3323. DOI:10.3892/ol.2016.4428.
- [ 5 ] 耿艺曼,赵连梅,朱秀丽,等.木鳖子对羟基桂皮醛对黑色素瘤 B16 细胞分化的影响及其机制[ J ]. 中草药, 2013, 44( 14 ): 1951-1956. DOI:10.7501/j.issn.0253-2670.2013.14.016.
- [ 6 ] 赵连梅,韩丽娜,商晓辉,等.木鳖子醇提取物对黑色素瘤 B16 细胞增殖的抑制及其可能机制[ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2010, 17( 1 ): 13-18. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2010.1.003.
- [ 7 ] ZHAO L M, HAN L N, REN F Z, et al. An ester extract of Cochinchinamomordica seeds induces differentiation of melanoma B16 F1 cells via MAPKs signaling[ J ]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13( 8 ): 3795-3802. DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.8.3795.
- [ 8 ] 阚连娣,胡泉,巢志茂,等.木鳖子脂肪油不皂化物质的化学成分研究[ J ]. 中国中药杂志, 2006, 31( 17 ): 1441-1444. DOI: 10.3321/j.issn:1001-5302.2006.17.013.
- [ 9 ] 胡寅康,赖世龙,徐凯,等.枫苓合剂治疗肝癌的疗效及安全性[ J ]. 中国临床药理学杂志, 2007, 16( 5 ): 290-292. DOI:10.3969/j.issn.1007-4406.2007.05.007.
- [ 10 ] 胡寅康,赖世龙,徐凯,等.新的抗癌中药枫苓合剂的主要药理学[ J ]. 中国临床药理学杂志, 2006, 15( 3 ): 71-73. DOI:10.3969/j.issn.1007-4406.2006.03.012.
- [ 11 ] 赵连梅,耿艺曼,孙士萍,等.木鳖子单体化合物对羟基桂皮醛诱导小鼠黑色素瘤 B16 细胞的分化及其机制[ J ]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2014, 21( 3 ): 282-287. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2014.03.008.
- [ 12 ] LU T Y, LI W C, CHEN R Y, et al. Inhibition effects of all-trans-retinoic acid on the growth and angiogenesis of esophageal squamous cell carcinoma in nude mice[ J ]. Chin Med J ( Engl ), 2011, 124( 17 ): 2708-2714. DOI:10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2011.17.026.
- [ 13 ] MA M, ZHAO L M, YANG X X, et al. p-Hydroxycinnamaldehyde induces the differentiation of oesophageal carcinoma cells via the cAMP-RhoA-MAPK signalling pathway[ J ]. Sci Rep, 2016, 9( 6 ): 313-315. DOI: 10.1038/srep31315.
- [ 14 ] ZHANG J, ZHU Z L, LIU Y, et al. Diagnostic value of multiple tumor markers for patients with esophageal carcinoma[ J/OL ]. PLoS One, 2015, 10( 2 ): e0116951[ 2016-10-13 ]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4333286/. DOI: 10.1371/journal.pone.0116951.
- [ 15 ] WANG X B, JING X R, YU X Y, et al. Macrophage inhibitory factor 1 acts as a potential biomarker in patients with esophageal squamous cell carcinoma and is a target for antibody-based therapy[ J ]. Cancer Sci, 2014, 105( 2 ): 176-185. DOI: 10.1111/cas.12331.
- [ 16 ] CAO X, ZHANG L, FENG G R, et al. Preoperative Cyfra21-1 and SCC-Ag serum titers predict survival in patients with stage II esophageal squamous cell carcinoma[ J/OL ]. J Trans Med, 2012, 10:197[ 2016-01-13 ]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3548759/. DOI:10.1186/1479-5876-10-197.
- [ 17 ] 赵连梅,韩丽娜,单保恩,等.木鳖子提取物体外抗肿瘤活性的初步研究[ J ]. 癌变·畸变·突变, 2010, 22( 1 ): 19-23. DOI: 10.3969/j.issn.1004-616x.2010.01.005.
- [ 18 ] HAN B, LI W, SUN Y, et al. A prolyl-hydroxylase inhibitor, ethyl-3,4-dihydroxybenzoate, induces cell autophagy and apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma cells via up-regulation of BNIP3 and N-myc downstream-regulated gene-1 [ J/OL ]. PLoS One, 2014, 9( 9 ): e107204[ 2016-10-13 ]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4169646/. DOI: 10.1371/journal.pone.0107204.
- [ 19 ] WEI W, BRACHER-MANECKEJ C, ZHAO X Z, et al. Oncogenic but non-essential role of N-myc downstream regulated gene 1 in the progression of esophageal squamous cell carcinoma[ J ]. Cancer Biol Ther, 2013, 14( 2 ), 164-174. DOI:10.4161/cbt.22956.
- [ 20 ] VUČIĆEVIĆ D, GEHRE M, DHAMIJA S, et al. The long non-coding RNA PARROT is an upstream regulator of C-myc and affects proliferation and translation[ J ]. Oncotarget, 2016, 7( 23 ): 33934-33947. DOI: 10.18632/oncotarget.8985.
- [ 21 ] ZHOU W, FENG X, REN C, et al. Over-expression of BCAT1, a C-myc target gene, induces cell proliferation, migration and invasion in nasopharyngeal carcinoma[ J ]. Mol Cancer, 2013, 12( 53 ): 1-11. DOI: 10.1186/1476-4598-12-53.

[ 收稿日期 ] 2016 - 09 - 18

[ 修回日期 ] 2016 - 11 - 19

[ 本文编辑 ] 党瑞山