

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.05.007

· 基础研究 ·

siRNA 干扰 *TWSG1* 基因表达对胃癌 MGC-803 细胞增殖及凋亡的影响

曾嘉丽^{1a}, 袁静怡^{1b}, 帅春², 刘玥^{1c,d} (1. 南方医科大学基础医学院 a. 2014 级基础医学专业, b. 2013 级基础医学专业, c. 生物化学教研室, d. 广东省单细胞技术与应用重点实验室, 广东 广州 510515; 2. 广东省妇幼保健院新生儿科, 广东 广州 510000)

[摘要] **目的:** 探讨扭转原肠胚形成同系物 1 基因(*twisted gastrulation protein homolog 1, TWSG1*)对胃癌 MGC-803 细胞增殖及凋亡的影响。**方法:** 设计 3 条 *TWSG1* 基因相关的 siRNA, 将对数生长期 MGC-803 细胞分为空白对照组、阴性对照组、siRNA1 干扰组、siRNA2 干扰组和 siRNA3 干扰组, 待细胞汇合率达 70%~80% 时分别转染空载体、连接 siRNA1、siRNA2 和 siRNA3 的载体。采用 qPCR 和 Western blotting 检测各组细胞 *TWSG1* mRNA 和 *TWSG1* 蛋白的表达水平, 筛选干扰效率最高的稳定细胞株。用 CCK-8 法检测各组细胞的增殖情况, 用流式细胞术检测各组细胞的凋亡情况。**结果:** 各转染组细胞中 siRNA1 干扰效率最高。与空白对照组和阴性对照组相比, siRNA 干扰组细胞 *TWSG1* 表达下调 ($P < 0.05$), 其细胞增殖显著增加 ($P < 0.05$), 凋亡显著减少 ($P < 0.05$)。**结论:** siRNA 干扰 MGC-803 细胞中 *TWSG1* 基因的表达后, 可促进细胞增殖、抑制细胞凋亡。

[关键词] *TWSG1* 基因; 胃癌; MGC-803 细胞; RNA 干扰; 增殖; 凋亡

[中图分类号] R735.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)05-0480-05

Effects of siRNA interfering *TWSG1* expression on proliferation and apoptosis of gastric cancer MGC-803 cells

ZENG Jiali^{1a}, YUAN Jingyi^{1b}, SHUAI Chun², LIU Yue^{1c,d} (1a. Grade 2014 Basic Medical Science, 1b. Grade 2013 Basic Medical Science, 1c. Department of Biochemistry, 1d. Guangdong Provincial Key Laboratory of Single-Cell Technology and Application, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China; 2. Neonatal Department, Women and Children's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou 510010, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of *twisted gastrulation protein homolog 1 (TWSG1)* gene on proliferation and apoptosis of gastric cancer MGC-803 cells. **Methods:** Three siRNAs for *TWSG1* gene were designed. The MGC-803 cells at logarithmic phase were divided into blank control group, negative control group (siRNA-NC), siRNA1 interference group, siRNA2 interference group and siRNA3 interference group by transfecting with relevant vectors. The mRNA and protein expressions of *TWSG1* in each group were identified by qPCR and Western blotting, respectively; and the stable cell line with highest interference efficiency was screened. The proliferation of cells in each group was detected by CCK-8 assay, and the apoptosis of three groups was detected by flow cytometry. **Results:** The results of qPCR and Western blotting showed siRNA1 exhibited highest interference efficiency. Compared with the blank control group and the negative control group, the expression of *TWSG1* in siRNA interference cell group was lower ($P < 0.05$), the cell proliferation significantly increased ($P < 0.05$), and apoptosis significantly reduced ($P < 0.05$). **Conclusion:** siRNA interfering *TWSG1* expression in MGC-803 cells can promote cell proliferation, inhibit cell apoptosis.

[Key words] *TWSG1* gene; gastric cancer; MGC-803 cell; RNA interference; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(5): 480-484. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.05.007]

胃癌占全世界常见恶性肿瘤的第 5 位, 病死率位于癌症病死率第 3 位^[1]。其超过 70% 的病例发生在发展中国家, 尤其以中国最高发^[2], 发病率占全世界的 42%, 病死率为欧美发达国家的 4~8 倍^[3]、且呈逐年增加趋势。扭转原肠胚形成同系物 1 基因(*twisted gastrulation protein homolog 1, TWSG1*)的产物是一种保守的分泌型 BMP 绑定糖蛋白, 与多种肿瘤和疾病有关^[4]。有研究^[5]发现, *TWSG1* 的表达异常会导致细胞

[基金项目] 广东省科技计划资助项目(No.2015A010107005); 广东省自然科学基金(No. 2017A030310022)。Project supported by the Guangdong Science and Technology Program (No. 2015A010107005), and the Guangdong Provincial Natural Science Foundation (No. 2017A030310022)

[作者简介] 曾嘉丽(1997-), 女, 本科生, 主要从事天然植物抗肿瘤和肿瘤相关基因研究, E-mail: yuanjylily@163.com

[通信作者] 刘玥(LIU Yue, corresponding author), 博士, 副教授, 主要从事天然植物抗肿瘤和肿瘤相关基因研究, E-mail: vliuyue-moon@163.com

凋亡缺陷,而有学者^[6]认为 *TWSG1* 与小鼠的发育异常有关。目前有关 *TWSG1* 基因在胃癌中具体的作用机制尚未明了。RNA 干扰(RNAi)是指由双链 RNA 诱发的基因沉默现象,通过降解目标 mRNA,导致目标基因表达沉默^[7-8]。RNAi 在肿瘤治疗方面表现出其独特的优越性,对于肿瘤的基因治疗具有高特异、高效率、多重作用和长效等优点^[9-10],且 RNAi 有助于明确肿瘤发生的机制^[11]。本研究应用 siRNA 干扰胃癌 MGC-803 细胞中的 *TWSG1* 基因,研究其对 MGC-803 细胞增殖及凋亡的影响,旨在为胃癌的临床治疗寻找新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞株、主要试剂和仪器

MGC-803 细胞由南方医院中心实验室提供。pLVX-shRNA1 质粒由本室保存。DEME 培养基、胎牛血清、PBS、胰蛋白酶、链霉素和青霉素购于美国 GIBICO 公司,嘌呤霉素购于美国 Sigma 公司,Lipofectamine 2000、TRIzol 购于 Invitrogen 公司,PrimeScript RT reagent Kit、SYBR Premix Ex Taq™ II Kit 购于 TaKaRa 公司,RIPA 细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒购于北京康为世纪生物科技有限公司,PVDF 膜购于 Millipore 公司,*TWSG1* 兔抗人多克隆抗体购于 Abcam 公司,HRP 标记的羊抗兔 IgG 购于北京天德悦公司,ECL 发光液购于美国 Thermo Scientific Pierce 公司,CCK-8 购自日本 DOJINDO, Annexin V-FITC 和 PI 购于中国江苏凯基生物技术股份有限公司,引物和 siRNA 由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。Biorad MJ Mini 梯度 PCR 仪(美国 BIO-RAD 公司),7500 Real-Time PCR System(美国 Applied Biosystems 公司),Infinite M200 多功能酶标仪(瑞士 TECAN 公司),EclipseTi-s 荧光倒置显微镜(日本 Nikon 公司),流式细胞仪(美国 BD 公司)。

1.2 细胞培养

胃癌 MGC-803 细胞于 DMEM 完全培养基中培养(内含 10% 的胎牛血清,100 μg/ml 链霉素,100 U/ml 青霉素)。所有细胞均置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养,并进行常规传代和换液,将培养至对数生长期的细胞用于后续实验。

1.3 筛选干扰 *TWSG1* 表达的稳定细胞株

使用 siDirect 针对 *TWSG1* 基因设计 3 条 siRNA 并合成,序列见表 1,并与载体 pLVX-shRNA1 连接。实验分为空白对照组(MGC-803 细胞, Ctrl)、阴性对照组(转染空载体, siRNA-NC)、siRNA1 干扰组(转染连接 siRNA1 的载体, siRNA1)、siRNA2 干扰组(转染连接 siRNA2 的载体, siRNA2)和 siRNA3 干扰组(转

染连接 siRNA3 的载体, siRNA3)。转染前一天进行细胞铺板,24 h 后待细胞汇合率为 70%~80% 时,采用 Lipofectamine 2000 转染。接着加入 1 μg/ml 嘌呤霉素筛选至出现单克隆,挑多个单克隆分别加入 0.5 μg/ml 嘌呤霉素继续培养,到细胞 80% 汇合时,采用 qPCR 和 Western blotting 进行鉴定,筛选干扰效率最高的稳定细胞株。

1.4 qPCR 法检测 MGC-803 细胞 *TWSG1* mRNA 的表达

收集各组细胞,采用 TRIzol 提取各组细胞总 RNA,PrimeScript RT reagent Kit 制备 cDNA,条件为 37 °C 5 min、85 °C 5 s。然后采用 PCR 仪检测 *TWSG1* mRNA 表达水平,以 *GAPDH* 为内参,引物序列见表 1。反应条件:95 °C 5 min,95 °C 15 s,60 °C 15 s,72 °C 32 s,共 40 个循环。*TWSG1* 相对表达量以 2^{-ΔΔCt} 表示,ΔΔCt=[(样本 Ct 目的基因-样本 Ct 内参基因)-(对照组 Ct 目的基因-对照组 Ct 内参基因)]。实验重复 3 次。

表 1 siRNAs 和引物序列

Tab.1 Sequences of siRNAs and primer sequences

Item	Primer sequence	Length (bp)
siRNA1	GTGTAATCCTCGAAATTATAG	21
siRNA2	GATACTCAGTTGAATTGGAAC	21
siRNA3	GAATCACTGAGCTGTAACAAA	21
<i>GAPDH</i>		
Forward	CAAGAAGGTGGTGAAGCAGGC	21
Reverse	CATACCAGGAAATGAGCTTGAC	21
<i>TWSG1</i>		
Forward	GGTCATATGAGAAGCAGGTG	20
Reverse	GTGTGCTAACAGTAGCACATG	21

1.5 Western blotting 检测 MGC-803 细胞 *TWSG1* 蛋白的表达

收集各组细胞,加入 RIPA 细胞裂解液提取蛋白,采用 BCA 法测定蛋白浓度,每组各取 50 μg 进行 SDS-PAGE 后转移蛋白至 PVDF 膜,封闭后加入兔抗人多克隆抗体(1:1 000 稀释)4 °C 孵育过夜,兔抗人多克隆抗体羊抗兔 IgG(1:6 000 稀释)室温孵育 1 h,ECL 化学发光,利用凝胶成像系统采集图像并进行图像分析,以相应目的蛋白条带的灰度值表示 *TWSG1* 蛋白的表达水平,筛选出干扰效率最高的稳定细胞株,进行后续功能检测实验。实验重复 3 次。

1.6 CCK-8 法检测 MGC-803 细胞的增殖

取对数生长期 MGC-803 细胞接种于在 96 孔板(细胞密度 1×10³/孔)。分为空白对照组、阴性对照组

和 siRNA 干扰组, 每组设置 3 个平行孔, 分别于培养后的 24、48 和 72 h 三个时间点进行检测。检测时每孔加入 CCK-8 溶液 10 μl, 继续培养 4 h 后, 用多功能酶标在 450 nm 波长处检测光密度(D)值。以时间(t)为横轴, 以 D 值为纵轴绘制 MGC-803 细胞的增殖曲线。实验重复 3 次。

1.7 流式细胞术检测 MGC-803 细胞的凋亡

取对数期生长期 MGC-803 细胞接种于 6 孔板 (细胞密度 4×10⁵/孔), 分组同 1.6, 每组设置 3 个平行孔, 培养 72 h 后进行细胞凋亡检测。收集各组细胞, 加入 PBS 制成单细胞悬液, 再加入 5 μl Annexin V-FITC 和 10 μl PI, 轻柔涡旋混匀后, 室温避光反应 5 min, 30 min 内使用流式细胞仪检测细胞的凋亡率, UR 和 UL 计为凋亡细胞数。实验重复 3 次。

1.8 统计学处理

软件采用 SPSS19.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用 F 检验。以 P<0.05 或 P<0.01 表示差异具有统计学意义。

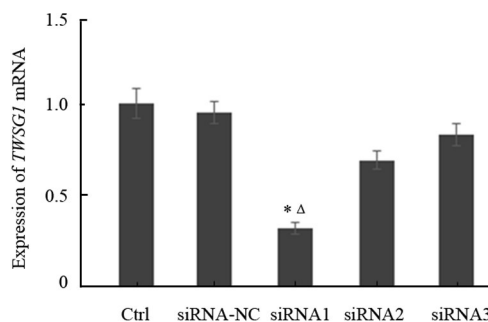
2 结果

2.1 siRNA1 干扰组 MGC-803 细胞 TWSG1 mRNA 表达最低

各组细胞 qPCR 检测结果(图 1)显示, siRNA1 干扰组 MGC-803 细胞 TWSG1 mRNA 表达的水平显著低于空白对照组和其他干扰组 (F=0.002, P<0.05), 干扰效率最高。

2.2 siRNA1 干扰组 MGC-803 细胞 TWSG1 蛋白表达最低

Western blotting 检测结果(图 2, 表 2)显示, siRNA1 干扰组中 TWSG1 蛋白表达受到显著低于其他各组 (F=0.036, P<0.05)。结合 qPCR 检测结果, 发现 siRNA1 干扰组的干扰效果最好, 因此选择 siRNA1 干扰组细胞进行后续实验。



*P<0.05 vs Ctrl or siRNA-NC group; ^ΔP<0.05 vs siRNA2 or siRNA3 group

图 1 干扰 TWSG1 后各组 MGC-803 细胞 TWSG1 mRNA 的表达

Fig.1 The expression of TWSG1 mRNA in each group after interference

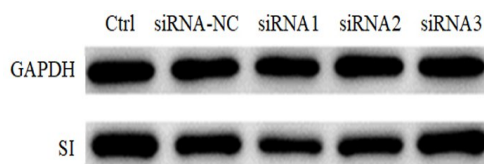


图 2 干扰 TWSG1 后各组细胞中 TWSG1 蛋白的表达

Fig.2 The expression of TWSG1 protein in each group after interference

表 2 干扰 TWSG1 后各组细胞中 TWSG1 蛋白的相对灰度值

Tab.2 Relative gray value of TWSG1 protein in each group after interference

Protein	Ctrl	siRNA-NC	siRNA1	siRNA2	siRNA3
GAPDH	93 282	98 406	91 950	95 106	97 134
TWSG1	100 554	98 884	57 370 ^{*Δ}	85 591	92 019
TWSG1/GAPDH	1.078	1.005	0.534	0.900	0.947

*P<0.05 vs Ctrl group; ^ΔP<0.05 vs siRNA-NC group

2.3 siRNA 干扰 TWSG1 基因表达促进 MGC-803 细胞增殖

CCK-8 法检测结果(图 3)表明, 干扰 TWSG1 表达后, MGC-803 细胞的增殖显著高于其他各组 (F=0.003, P<0.05)。

2.4 siRNA 干扰 TWSG1 基因表达抑制 MGC-803 细胞凋亡

流式细胞术检测结果(图 4)显示, siRNA1 干扰组细胞凋亡率显著低于空白对照组及阴性对照组

[(5.8±0.01)% vs (10.8±0.03)%、(9.4±0.02)%], F=0.156, P<0.05。结果表明, siRNA 干扰 TWSG1 基因能够抑制 MGC-803 细胞凋亡。

3 讨论

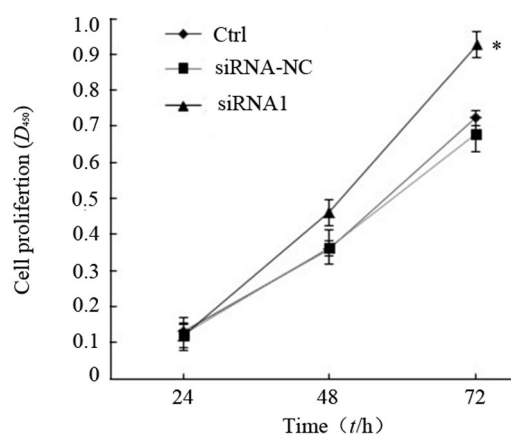
TWSG1 与多种疾病有关, 可调控早期胚胎发育^[12]; 参与血管细胞的动态平衡调节^[13], 与淋巴缺陷密切相关^[14]; 可表达于小鼠活化的 B 淋巴细胞, 与免疫功能有关^[15]; 还可抑制铁调素的表达, 提高使血红蛋白合

成的铁利用率^[16];在输血依赖的骨髓增生异常综合征患者中显著高表达^[17];在慢性高原病(chronic mountain sickness, CMS)大鼠肝组织中表达上调^[18]等。

TWSG1 在肿瘤发生发展中也有着重要作用。XIA 等^[19]研究发现, *TWSG1* 在淋巴结转移的甲状腺癌中高表达, 敲低 *TWSG1* 能够抑制甲状腺癌细胞的增殖和转移。KIM 等^[5]研究表明, *TWSG1* 高表达可促进结肠癌的发生。BERNSTEINE 等^[6]发现, *TWSG1* 在胆管细胞癌、肝细胞癌等恶性上皮性肿瘤中表达增多, 通过提高肿瘤细胞的生存力和促进分化, 导致人类恶性间皮瘤中肿瘤的异质性。 *TWSG1* 基因还对胚胎乳腺的发育起到调控作用, 在乳腺癌的发生中起到重要作用^[20]。

TWSG1 在胃癌中的研究较少。YOOH 等^[21]发现, NKX6.3 是小鼠胃部幽门中 G/D 细胞系的一种选择性调控因子, 通过直接结合 *TWSG1* 基因转录起始位点的启动子上游序列, 促进 *TWSG1* mRNA 和蛋白表达, 使 BMP-SMAD 信号通路失活, 从而抑制胃黏

膜的肠化生, 预防胃癌的发生。



* $P < 0.05$ vs Ctrl or siRNA-NC group

图3 干扰 *TWSG1* 后各组细胞的增殖曲线

Fig. 3 The proliferation curve of MGC-803 cell in three groups after interference

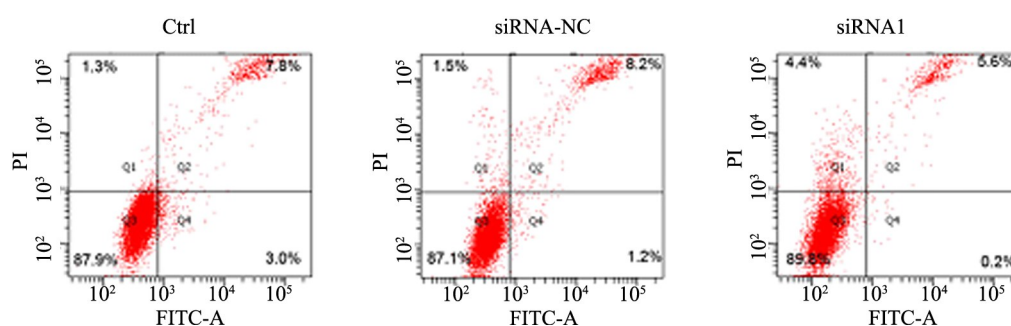


图4 干扰 *TWSG1* 后各组细胞的凋亡

Fig. 4 The apoptosis of MGC-803 in three groups after interference

肿瘤细胞生长的两个特征包括迅速增殖及抑制凋亡^[22]。本研究主要探讨 *TWSG1* 基因表达对胃癌 MGC-803 细胞增殖及凋亡的影响, 应用 RNAi 技术干扰了胃癌细胞系 MGC-803 细胞中 *TWSG1* 基因的表达, 发现 *TWSG1* 表达下调可促进 MGC-803 细胞增殖, 并且抑制 MGC-803 细胞凋亡。结果表明 *TWSG1* 基因表达水平对胃癌发生具有一定的调控作用, 很可能是一种抑癌基因, 提示 *TWSG1* 基因可能是潜在的胃癌治疗靶点。有研究者^[21]报道, *TWSG1* 能够调控 BMP 信号通路从而控制胃癌的发生, 由于 BMP 信号通路在影响细胞周期、肿瘤发展等方面有着重要意义, 笔者推测下调 *TWSG1* 表达可能影响 BMP 信号通路, 从而促进 MGC-803 细胞的增殖和抑制其凋亡, 是否如此还需进一步验证。由于胃癌与 *TWSG1* 的研究较少, 因此本研究对后续 *TWSG1* 基因在胃癌中的功能、分子机制的研究具有重大意义, 为胃癌发展的

机制研究、为胃癌的个性化治疗以及基因治疗提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] FERLAY J, SOERJOMATARAM I, DIKSHIT R, et al. Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012[J/OL]. Int J Cancer, 2015, 136(5): E359-386[2017-11-20]. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ijc.29210/abstract>. DOI: 10.1002/ijc.29210.
- [2] QU Y, DANG S, HOU P. Gene methylation in gastric cancer[J/OL]. Clin Chim Acta, 2013, 424: 53-65[2017-11-20]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0009898113001964?via%3Dihub>. DOI: 10.1016/j.cca.2013.05.002.
- [3] SIEGEL R, MA J, ZOU Z, et al. Cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2014, 64(1): 9-29. DOI: 10.3322/caac.21208.
- [4] OELESCHLAGER M, LARRAIN J, GEISSERT D, et al. The evolutionarily conserved BMP-binding protein twisted gastrulation promotes BMP signalling[J]. Nature, 2000, 405(6788): 757-763. DOI:

- 10.1038/35015500.
- [5] KIM M C, KIM N Y, SEO Y R, et al. An integrated analysis of the genome-wide profiles of DNA methylation and mRNA expression defining the side population of a human malignant mesothelium cell line[J]. *J Cancer*, 2016, 7(12): 1668-1679. DOI: 10.7150/jca.15423.
- [6] BILLINGTON C J, SCHMIDT B, MARCUCIO R S, et al. Impact of retinoic acid exposure on midfacial shape variation and manifestation of holoprosencephaly in *Twsg1* mutant mice[J]. *Dis Mod Mechanisms*, 2015, 8(2): 139-146. DOI: 10.1242/dmm.018275.
- [7] FIRE A, XU S Q, MONTGOMERY M K, et al. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*[J]. *Nature*, 1998, 391(6669): 806-811. DOI: 10.1038/35888.
- [8] BERNSTEIN E, CAUDY A A, HAMMOND S M, et al. Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference[J]. *Nature*, 2001, 409(6818): 363-366. DOI: 10.1038/35053110.
- [9] ŞALVA E, TURAN S Ö, EREN E, et al. The enhancement of gene silencing efficiency with chitosan-coated liposome formulations of siRNAs targeting HIF-1 α and VEGF[J]. *Int J Pharm*, 2015, 478(1): 147-154. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.10.065.
- [10] LI T S, YAWATA T, HONKE K, et al. Efficient siRNA delivery and tumor accumulation mediated by ionically cross-linked folic acid-poly(ethylene glycol)-chitosan oligosaccharide[J/OL]. *Eur J Pharm Sci*, 2014, 52: 48-61[2017-12-20]. <http://sciencedirect.com/science/journal/09280987>. DOI: 10.1016/j.ejps.2013.10.011.
- [11] 张勇,王振宁. RNA干扰技术及其在肿瘤研究领域的进展[J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2006, 13(18): 1436-1438. DOI:10.3969/j.issn.1673-5269.2006.18.025.
- [12] TROILO H, BARRETT A L, WOHL A P, et al. The role of chordin fragments generated by partial tolloid cleavage in regulating BMP activity[J]. *Biochem Soc Trans*, 2015, 43(5): 795-800. DOI: 10.1042/BST20150071.
- [13] HEINKE J, JUSCHKAT M, CHARLET A, et al. Antagonism and synergy between extracellular BMP modulators Tsg and BMPER balance blood vessel formation[J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 14): 3082-3094. DOI: 10.1242/jcs.122333.
- [14] PASSA O, TSALAVOS S, BELYAEV N N, et al. Compartmentalization of bone morphogenetic proteins and their antagonists in lymphoid progenitors and supporting microenvironments and functional implications[J]. *Immunology*, 2011, 134(3): 349-359. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2011.03495.x.
- [15] TSALAVOS S, SEGKLIA K, PASSA O, et al. Involvement of twisted gastrulation in T cell-independent plasma cell production[J]. *J Immunol*, 2011, 186(12): 6860-6870. DOI: 10.4049/jimmunol.1001833.
- [16] WANG C, FANG Z, ZHU Z, et al. Reciprocal regulation between hepcidin and erythropoiesis and its therapeutic application in erythroid disorders[J/OL]. *Exp Hematol*, 2017, 52: 24-31[2017-12-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4613500/>. DOI: 10.1016/j.exphem.2017.05.002.
- [17] 顾树程,宋晓丽,赵佑山,等. 骨髓增生异常综合征患者骨髓铁调素水平的研究[J]. *上海交通大学学报(医学版)*, 2013, 33(1): 56-61. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2013.01.011.
- [18] 刘玉洁,耿惠. 慢性高原病大鼠肝组织中扭转原肠胚形成同系物1、铁调素表达观察[J]. *山东医药*, 2017, 57(15): 31-34. DOI: 10.3969/j.issn.1002-66X.2017.15.008.
- [19] XIA S, JI R, XU Y, et al. Twisted gastrulation BMP signaling modulator 1 regulates papillary thyroid cancer cell motility and proliferation[J]. *J Cancer*, 2017, 8(14): 2816-2827. DOI: 10.7150/jca.18482.
- [20] FORSMAN C L, NG B C, HEINZE R K, et al. BMP-binding protein twisted gastrulation is required in mammary gland epithelium for normal ductal elongation and myoepithelial compartmentalization[J]. *Dev Biol*, 2013, 373(1): 95-106. DOI: 10.1016/j.ydbio.2012.10.007.
- [21] YOOH J H, CHOI S S, KIM O, et al. Inactivation of NKX6.3 in the stomach leads to abnormal expression of CDX2 and SOX2 required for gastric-to-intestinal transdifferentiation[J]. *Mod Pathol*, 2016, 29(2): 194-208. DOI: 10.1038/modpathol.2015.150.
- [22] 陈亚楠,杨如,许芝山,等. 过表达IL-18抑制人结肠癌细胞HCT-116的增殖[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(2): 142-147. DOI: 10.3872j.issn.1007-385X.2018.02.006.

[收稿日期] 2018-01-25

[修回日期] 2018-03-19

[本文编辑] 党瑞山