

沉默ABCE1基因电转染卵巢癌肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性

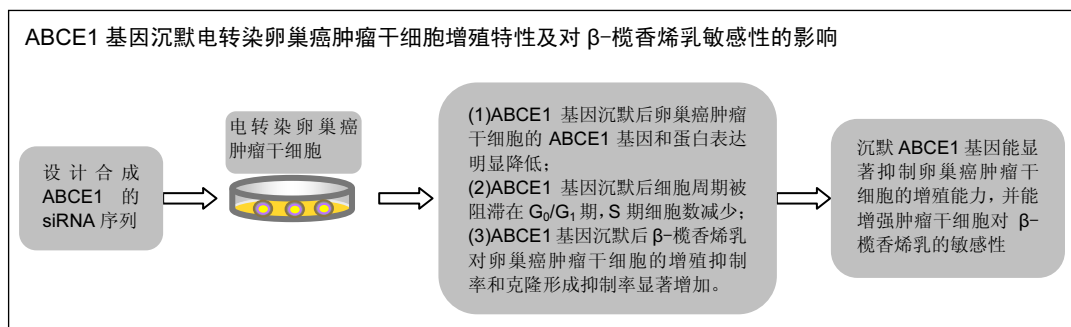
王 俊, 王建中(武汉钢铁(集团)公司第二职工医院肿瘤科, 湖北省武汉市 430085)

引用本文: 王俊, 王建中. 沉默 ABCE1 基因电转染卵巢癌肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(28):4149-4154.

DOI: 10.3969/j.issn.2095-4344.2016.28.007

ORCID: 0000-0002-9995-8862(王俊)

文章快速阅读:



王俊, 男, 1979 年生, 湖北省黄石市人, 汉族, 2004 年咸宁医学院毕业, 主治医师, 主要从事肿瘤及肿瘤疾病相关学科研究。

中图分类号:R394.2

文献标识码:A

文章编号:2095-4344

(2016)28-04149-06

稿件接受: 2016-05-04

文题释义:

ABCE1 基因: 属 ATP 结合盒转运子基因亚家族成员之一, 与细胞生长、发育和增殖、分化有密切关联, 其在人体各组织器官中均持续表达。相关研究表明, 在肿瘤细胞系中抑制 ABCE1 的表达能够显著抑制癌细胞的生长, 因此如能阻断肿瘤细胞中 ABCE1 的表达, 通过抑制肿瘤细胞的增殖分化、侵袭、迁移及蛋白质的合成, 就可以抑制肿瘤的发展, 这为肿瘤的治疗提供了新的有效方法。

肿瘤干细胞: 从本质上讲, 肿瘤干细胞通过自我更新和无限增殖维持着肿瘤细胞群的生命力, 肿瘤干细胞的运动和迁徙能力又使肿瘤细胞的转移成为可能; 肿瘤干细胞可以长时间处于休眠状态并具有多种耐药分子而对杀伤肿瘤细胞的外界理化因素不敏感, 因此常规肿瘤治疗方法消灭大部分普通肿瘤细胞后一段时间复发。

摘要

背景: 对肿瘤干细胞相关基因 ABCE1 的深入研究有可能会发现它在参与恶性肿瘤的发生及进展等方面的重要作用。

目的: 观察沉默 ABCE1 基因电转染卵巢癌肿瘤干细胞的增殖特性及对 β -榄香烯乳的敏感性。

方法: 设计合成 ABCE1 的 siRNA 序列, 通过电转染入卵巢癌肿瘤干细胞。RT-PCR 和 Western blot 检测 ABCE1 基因沉默后卵巢癌肿瘤干细胞 ABCE1 mRNA 及蛋白的表达, 流式细胞仪检测细胞周期变化, MTT 法和细胞克隆形成实验分析 ABCE1 基因沉默后卵巢癌肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性。

结果与结论: ①ABCE1 基因沉默后卵巢癌肿瘤干细胞的 ABCE1 基因和蛋白表达明显降低; ②ABCE1 基因沉默后细胞周期被阻滞在 G₀/G₁ 期, S 期细胞数减少; ③ABCE1 基因沉默后 β -榄香烯乳对卵巢癌肿瘤干细胞的增殖抑制率和克隆形成抑制率显著增加; ④结果表明, 沉默 ABCE1 基因能显著抑制卵巢癌肿瘤干细胞的增殖能力, 并能增强肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性。

关键词:

干细胞; 肿瘤干细胞; 卵巢癌; ABCE1; 细胞增殖; β -榄香烯乳

主题词:

卵巢肿瘤; 肿瘤干细胞; 基因沉默; 组织工程

ABCE1 silencing enhances sensitivity to beta-elemene of electrotransferred ovarian cancer stem cells

Wang Jun, Wang Jian-zhong (Department of Oncology, the Second Workers' Hospital of Wuhan Iron and Steel (Group) Company, Wuhan 430085, Hubei Province, China)

Wang Jun, Attending physician, Department of Oncology, the Second Workers' Hospital of Wuhan Iron and Steel (Group) Company, Wuhan 430085, Hubei Province, China

Abstract

BACKGROUND: It is likely to find that ABCE1 plays an important part in the occurrence and progression of cancers through in-depth study.

OBJECTIVE: To investigate the effects of ABCE1 silencing on the proliferation and sensitivity to β -eimenene of ovarian cancer stem cells via electrotransfection.

METHODS: siRNA sequence of ABCE1 was designed and synthesized, and then was electrotransfection into ovarian cancer stem cells. Subsequently, expressions of ABCE1 mRNA and protein in ovarian cancer stem cells after ABCE1 silencing were detected by RT-PCR and western blot assay; the cell cycle was detected using flow cytometry; the sensitivity of ovarian cancer stem cells to β -eimenene after ABCE1 silencing was analyzed by MTT assay and colony-formation assay.

RESULTS AND CONCLUSION: After ABCE1 silencing, expressions of ABCE1 mRNA and protein in ovarian cancer stem cells were significantly reduced. And the cell cycle was arrested in G_0/G_1 phase, and the number of cells in S phase significantly decreased. Furthermore, the sensitivity of ovarian cancer stem cells to β -eimenene after ABCE1 silencing was significantly enhanced. In conclusion, ABCE1 silencing cannot only significantly inhibit the proliferation of ovarian cancer stem cells, but also enhance the sensitivity of cancer stem cells to β -eimenene.

Subject headings: Ovarian Neoplasms; Neoplastic Stem Cells; Gene Silencing; Tissue Engineering

Cite this article: Wang J, Wang JZ. ABCE1 silencing enhances sensitivity to beta-eimenene of electrotransferred ovarian cancer stem cells. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu*. 2016;20(28):4149-4154.

0 引言 Introduction

卵巢癌的发病率现今已位居于妇科恶性肿瘤的第3位,其复发率高,晚期生存率低^[1-3],目前临床上采取的手术及化疗虽取得一定疗效,但均难以明显提高患者的生存期^[4-6]。近些年来,随着基因技术的发展使其成为卵巢癌研究领域中的热点问题^[7]。三磷酸腺苷结合盒转运子E1(ATP-binding cassetteE1, ABCE1)参与多种肿瘤细胞的增殖、迁移,通过抑制细胞内核糖核酸酶L(RNase L)的活性来抑制细胞凋亡,是ATP结合盒转运子基因亚家族之一^[8-9]。迄今关于ABCE1基因沉默对卵巢癌的作用报道较少^[10]。 β -榄香烯乳是由中药温莪术挥发油中提取的油状物单体,是一种新型的抗癌药物,其抗癌作用机制可能与诱导细胞凋亡有关^[11]。实验旨在探讨ABCE1基因电转染卵巢癌肿瘤干细胞特性及对 β -榄香烯乳敏感性的影响。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 随机对照动物实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年1月至2015年6月在武汉大学动物实验中心完成。

1.3 材料 人卵巢癌肿瘤干细胞(中国科学院上海细胞研究所); DMEM培养液、胎牛血清(美国Gibco公司); 胰蛋白酶(美国Hyclone公司); RNA提取试剂Trizol、质粒提取试剂盒(厦门百维信生物科技有限公司); DNA凝胶纯化回收试剂盒(美国Hyclone公司); AMV反转录试剂盒(大连宝生物工程有限公司); RT-PCR两步法试剂盒

(美国Klontech公司); RNA干扰序列(北京赛百盛基因技术有限公司); cDNA合成试剂盒(大连宝生物公司合成); siRNA基因片段(上海闪晶生物公司设计并合成); 兔抗人ABCE1多克隆抗体(美国SABC公司); HRP标记的羊抗鼠IgG抗体(美国Thermo公司); β -榄香烯乳(大连华立金港药业有限公司); 流式细胞仪(美国Biorad公司); 生物倒置显微镜(日本TOYOBO公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 ABCE1的siRNA序列设计合成及转染 ABCE1 siRNA序列根据参考文献[12]设计,由上海闪晶生物公司设计合成,其正义链为: 5'-ATC CGC TAC AGC GAG TAC GTT TAC CTG TGA AGC CAC AGA TGG GGT AAA CGT ACT CGC TTA GCT TTT TTG-3'; 反义链为: 5'-AAT FCA AAA AAG CTA CAG CGA GTA CGT TTA CCC CAT CTG TGG CTT CAC AGG TAA ACG TAC TCG CTG TAG CG-3'。阴性对照siRNA正义链为: 5'-GAT CCG CGA GAC CTC AGT ATG TTA CCT GTG AAG CCA CAG ATG GGG TAA CAT ACT GAG GTC TCG CTT TTT TG-3'; 反义链为: 5'-AAT TCA AAA AAG CGA GAC CTC AGT ATG TTA CCC ATC TGT GGC TTC ACA GGT AAC ATA CTG AGG TCT CGC G-3'。

卵巢癌肿瘤干细胞接种于含体积分数为10%小牛血清的DMEM培养基,放置于37℃,体积分数为5%CO₂的饱和湿度培育箱中进行培养,每隔2 d传代1次,选取对数生长期的细胞制成单细胞悬液,胰酶消化, PBS清洗,离心,收集肿瘤干细胞,用电穿孔缓冲液重悬,离心

(800×g), 静置5 min, 清洗细胞3次, 重悬于电转液中, 离心, 转移至电击杯, 加入20 μ g的质粒DNA混匀, 置于冰上30 min, 以电容25 μ F, 电压350 V/cm, 时间常数T为0.9 ms的电转化参数, 进行电穿孔。转染ABCE1的肿瘤干细胞在室温中放置30 min, 接种于含1%双抗、体积分数为10%小牛血清的DMEM培养基的培养皿中, 放置于37 $^{\circ}$ C, 体积分数为5%CO₂的饱和湿度培育箱中进行培养。

细胞分为3组: 未转染的卵巢癌肿瘤干细胞为空白组, 转染NC siRNA载体的卵巢癌肿瘤干细胞为对照组, 电转染ABCE1-siRNA载体的卵巢癌肿瘤干细胞为实验组。

1.4.2 RT-PCR检测ABCE1 mRNA的表达 收集各组生长状态良好的卵巢癌肿瘤干细胞, 在4 $^{\circ}$ C下离心, 弃去上清液, PBS冲洗3遍, 运用TRizol法提取总RNA, 按cDNA合成试剂盒反转录合成cDNA。ABCE1基因序列设计特异性引物, ABCE1引物序列: 上游5'-TTG GTT GTG GGA AGT CGT-3', 下游5'-GCT TAT GTA GTT AAT GGG AGG T-3', 扩增产物为415 bp; GAPDH引物序列: 上游5'-GAG TCA ACG GAT TGG TCG T-3', 下游5'-GAC AAG CTT CCC GTT CTC AG-3', 扩增产物为185 bp。PCR反应条件为94 $^{\circ}$ C变性35 s, 93 $^{\circ}$ C变性5 min, 77 $^{\circ}$ C延伸26 s, 53 $^{\circ}$ C退火32 s, 33个循环周期后, 71 $^{\circ}$ C延伸6 min, 5 $^{\circ}$ C下保存产物。取5 mL PCR产物经2%琼脂糖凝胶进行电泳(152 V, 90 min), 电泳后放置于GDSS000凝胶自动成像仪上拍照并保存图片, 用ABCE1/GAPDH比值表示ABCE1 mRNA的相对表达量。

1.4.3 Western blot检测ABCE1蛋白的表达 收集每组生长状态良好的卵巢癌肿瘤干细胞 1×10^6 个, 弃培养液, PBS冲洗3次, 加入含有PMSF的裂解液充分裂解细胞, 4 $^{\circ}$ C下离心, 提取总蛋白, 使用BCA法测定蛋白质浓度, 吸取50 μ g总蛋白进行10%SDS-PAGE电泳, 电转移到PVDF膜上, 封闭于5%脱脂奶粉FIBS液中, 37 $^{\circ}$ C孵育2 h, 加入1:1 000稀释的ABCE1多克隆一抗, 4 $^{\circ}$ C下孵育过夜, TBST洗膜5次, 每次5 min, 加入1:5 000 HRP标记的二抗孵育, PBS洗涤, ECL显色, 于暗室内曝光X射线片, 运用GDSS000凝胶自动成像系统摄像, 漂洗干燥后避光保存。运用Image-Pro Plus 8.0软件对条带灰度值进行分析, 以ABCE1/GAPDH比值表示ABCE1蛋白的相对表达量。

1.4.4 流式细胞仪检测卵巢癌肿瘤干细胞周期变化

收集每组生长状态良好的卵巢癌肿瘤干细胞, 体积分数为70%乙醇固定后重悬, 调整细胞浓度为 1×10^6 L⁻¹, PBS冲洗2遍, 与含50 mg/L RNA酶的Tris-HCl缓冲液(pH 7.4)共同孵育30 min, 采用碘化丙啶染色, 置于暗室中1 h, 流式细胞仪检测细胞周期分布。

1.4.5 MTT实验检测干扰ABCE1基因后卵巢癌肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性 卵巢癌肿瘤干细胞转染干扰质粒48 h后, 收集未转染与转染的肿瘤干细胞, 将其接种于96孔板, 每个样本设3个复孔, 当细胞贴壁后加入不同浓度的 β -榄香烯乳(2.5, 5, 10, 20 μ mol/L)培养48 h, 每孔加5 g/L的MTT 20 μ L, 孵箱4 h后, 加入200 μ L二甲基亚砷振荡15 min, 使用全自动酶标仪检测490 nm处的吸光度值。抑制率(%)=(A_{对照组}-A_{实验组})/(A_{对照组}-A_{空白组}) $\times 100\%$ 。

1.4.6 平板克隆实验检测干扰ABCE1基因后卵巢癌肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性 卵巢癌肿瘤干细胞转染干扰质粒48 h后, 收集未转染和转染的肿瘤干细胞, 接种于6孔板, 每个样本设3个复孔, 细胞贴壁后加入不同浓度的 β -榄香烯乳(2.5, 5, 10, 20 μ mol/L)培养7 d, 去掉培养液, PBS洗2遍, 体积分数为95%乙醇固定10 min, 吉姆萨染液染色10 min, 自来水冲洗并晾干, 使用Quantity One软件计算克隆数。克隆形成抑制率(%)=1-(实验组克隆数/对照组克隆数) $\times 100\%$ 。

1.5 主要观察指标 ①RT-PCR检测ABCE1 mRNA的表达; ②Western blot检测ABCE1蛋白的表达; ③流式细胞仪检测卵巢癌肿瘤干细胞周期变化; ④MTT实验检测干扰ABCE1基因后卵巢癌肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性; ⑤平板克隆实验检测干扰ABCE1基因后卵巢癌肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性。

1.6 统计学分析 使用SPSS 15.0软件包处理。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 两组间的连续变量进行 t 检验, 多组间变量进行单因素方差分析、 q 检验, $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 RT-PCR检测ABCE1 mRNA的表达 RT-PCR检测ABCE1-siRNA组(实验组)ABCE1 mRNA表达显著低于空白组和与对照组($P<0.05$), 见图1, 表1。

2.2 Western blot检测ABCE1蛋白的表达 Western blot检测ABCE1-siRNA组(实验组)ABCE1蛋白表达显著低于空白组和与对照组($P<0.05$), 见图2和表1。

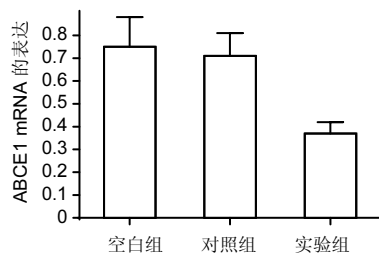
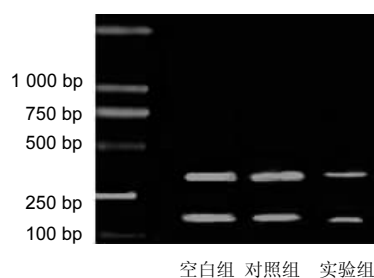


图 1 RT-PCR 检测肿瘤干细胞中 ABCE1 mRNA 的表达

Figure 1 Expression of ABCE1 mRNA in ovarian cancer stem cells by RT-PCR

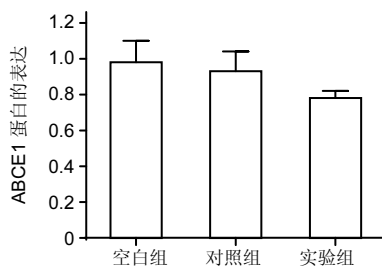
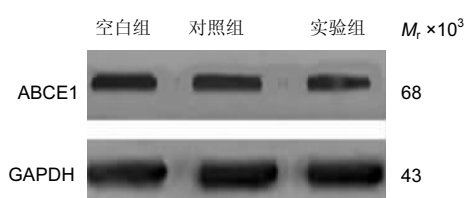


图 2 Western blot 检测肿瘤干细胞中 ABCE1 蛋白的表达

Figure 2 Expression of ABCE1 protein in ovarian cancer stem cells by western blot assay

表 1 各组卵巢癌肿瘤干细胞 ABCE1 mRNA 及蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Expressions of ABCE1 mRNA and protein in ovarian cancer stem cells

组别	ABCE1 mRNA (ABCE1/GAPDH)	ABCE1蛋白 (ABCE1/GAPDH)
空白组	0.75 $\pm$ 0.13	0.98 $\pm$ 0.12
对照组	0.71 $\pm$ 0.10	0.93 $\pm$ 0.11
实验组	0.37 $\pm$ 0.05 ^a	0.78 $\pm$ 0.04 ^a

表注: 与空白组和对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

表 3 细胞转染后 β -榄香烯乳对卵巢癌肿瘤干细胞增殖的抑制率 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$, %)

Table 3 Inhibition effect of beta-eiemene on the proliferation of ovarian cancer stem cells after ABCE1

β -榄香烯乳浓度	空白组	对照组	实验组
0 μ mol/L	14.57 $\pm$ 0.56	14.82 $\pm$ 0.74	25.46 $\pm$ 0.53 ^a
2.5 μ mol/L	21.41 $\pm$ 0.38	22.35 $\pm$ 0.41	36.53 $\pm$ 0.74 ^a
5 μ mol/L	30.75 $\pm$ 0.43	30.26 $\pm$ 0.85	50.27 $\pm$ 0.21 ^a
10 μ mol/L	40.46 $\pm$ 2.51	40.57 $\pm$ 1.47	77.57 $\pm$ 1.47 ^a
20 μ mol/L	50.52 $\pm$ 2.12	50.62 $\pm$ 2.16	90.25 $\pm$ 3.24 ^a

表注: 与空白组和对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

表 2 siRNA 抑制 ABCE1 表达对卵巢癌肿瘤干细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$, %)

Table 2 siRNA effect on the cell cycle of ovarian cancer stem cells by inhibiting ABCE1 expression

组别	G ₀ /G ₁ 期	S期	G ₂ /M期
空白组	51.4 $\pm$ 1.5	33.1 $\pm$ 1.6	8.7 $\pm$ 0.1
对照组	51.6 $\pm$ 1.8	33.4 $\pm$ 1.2	9.0 $\pm$ 0.3
实验组	62.5 $\pm$ 1.6 ^a	24.3 $\pm$ 1.8 ^a	8.1 $\pm$ 0.3

表注: 与空白组和对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

表 4 细胞转染后 β -榄香烯乳对卵巢癌肿瘤干细胞克隆形成抑制率 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$, %)

Table 4 Inhibition effect of beta-eiemene on the colony-formation of ovarian cancer stem cells after ABCE1 silencing

β -榄香烯乳浓度	空白组	对照组	实验组
0 μ mol/L	25.24 $\pm$ 0.43	25.3176.87	33.76 $\pm$ 0.64 ^a
2.5 μ mol/L	35.67 $\pm$ 0.68	35.81 $\pm$ 0.83	45.30 $\pm$ 0.72 ^a
5 μ mol/L	45.15 $\pm$ 1.23	45.67 $\pm$ 1.01	56.43 $\pm$ 1.03 ^a
10 μ mol/L	55.46 $\pm$ 1.14	55.34 $\pm$ 1.14	66.56 $\pm$ 1.10 ^a
20 μ mol/L	66.84 $\pm$ 1.56	67.43 $\pm$ 1.76	78.27 $\pm$ 1.37 ^a

表注: 与空白组和对照组比较, ^a $P < 0.05$ 。

2.3 流式细胞仪检测细胞周期 ABCE1-siRNA组(实验组)与空白组和对照组比较, 其G₀/G₁期细胞比例略有增加, S期细胞略有减少, M期细胞变化不明显, 见表2。

2.4 沉默ABCE1后卵巢癌肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性 MTT法检测结果显示, 电转染siRNA-ABCE1后, 卵巢癌肿瘤干细胞对不同浓度的 β -榄香烯乳敏感性均提高。随着药物浓度增加, β -榄香烯乳对细胞的抑制

率也增加, 呈现出剂量依赖性, 实验组细胞对不同浓度 β -榄香烯乳的敏感性显著高于空白组和对照组细胞($P < 0.05$), 见表3。

2.5 沉默ABCE1后 β -榄香烯乳对卵巢癌肿瘤干细胞克隆形成抑制率的影响 转染siRNA-ABCE1后, 卵巢癌肿瘤干细胞对不同浓度 β -榄香烯乳敏感性均提高, 细胞克隆形成数明显减少, 克隆形成抑制率显著增加($P <$

0.05)。随着 β -榄香烯乳药物浓度加大,对细胞的克隆形成抑制率也明显增加,呈现剂量依赖性,实验组细胞对不同浓度 β -榄香烯乳克隆形成抑制率显著高于空白组和对照组($P < 0.05$),见表4。

3 讨论 Discussion

基因治疗肿瘤是实验研究中的一个热点问题,目前卵巢癌的临床治疗效果欠佳,因此选择高效率的治疗方法对防治卵巢癌的发展尤为重要。从中国传统中药中寻求抗肿瘤新药物,以降低药物的毒副作用、提高患者的疗效,是重要策略之一。ABCE1 属于 ATP 结合盒转运子基因亚家族的成员,与细胞生长、发育和增殖、分化有密切关联,其在人体各组织器官中均持续表达^[13-15]。相关研究表明,在肿瘤细胞系中抑制 ABCE1 的表达能够显著抑制癌细胞的生长^[16]。理论上理想的治疗基因应有效地抑制肿瘤细胞生长,因此如能阻断肿瘤细胞中 ABCE1 的表达,通过抑制细胞内核糖核酸酶 L 的活性来抑制细胞凋亡,参与肿瘤细胞的增殖分化、侵袭、迁移及蛋白质的合成,就可以抑制肿瘤的发展,这为肿瘤的治疗提供了新的有效方法^[17]。

实验通过 RT-PCR 及 Western blot 检测 RNA 干扰卵巢癌肿瘤干细胞 ABCE1 的 mRNA 及蛋白的表达,研究结果显示,siRNA-ABCE1 干扰卵巢癌肿瘤干细胞后,下调了 ABCE1 mRNA 及蛋白的表达,提示了 siRNA 干扰可以抑制 ABCE1 mRNA 及蛋白的表达。通过流式细胞仪检测其细胞周期,研究结果表明实验组的细胞增殖明显受到抑制,说明 siRNA 干扰 ABCE1 基因作用具有高效性;空白组、对照组的细胞增殖差异无显著性意义,表明转染空载质粒及未转染的肿瘤干细胞毒性作用较轻微。通过 MTT 法和细胞克隆形成实验法分析结果得知,ABCE1 基因沉默后实验组的肿瘤干细胞对 β -榄香烯乳的敏感性显著性增强。

在卵巢癌治疗过程中,多数患者随着疗程的增加,会对化疗药物产生耐药反应,有的患者甚至出现多药耐药,进而导致肿瘤复发。对卵巢癌较为敏感的紫杉醇是临床应用的主要化疗药物,但其所产生的耐药反应亦成为卵巢癌治疗的难点之一^[18-20]。 β -榄香烯乳是从姜科植物莪术中提取的有效抗癌成分,是中国自行研制出的一种新型抗癌中药药物^[21-24]。大量实验研究证明, β -榄香烯乳具有疗效稳定、毒副作用少、抗癌谱广等优点,其临床应用较为广泛^[25-27]。 β -榄香烯乳治疗卵巢癌的可能作用机制是诱发肿瘤细胞凋亡,使肿瘤细胞的生长受到

阻滞^[28-30]。

综上所述,沉默 ABCE1 基因电转染入卵巢癌肿瘤干细胞,可为卵巢癌的治疗提供新的策略。此外提高 β -榄香烯乳的化疗敏感性能有效提高患者的生存率,也为临床中药化疗增敏剂的应用提供理论依据。

致谢: 感谢武汉钢铁(集团)公司第二职工医院肿瘤科王建中老师的帮助。

作者贡献: 实验设计为王俊,实验实施为王俊、王建中,实验评估为王俊,资料收集为王俊、王建中。

利益冲突: 所有作者共同认可文章内容不涉及相关利益冲突。

伦理问题: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

文章查重: 文章出版前已经过 CNKI 反剽窃文献检测系统进行 3 次查重。

文章外审: 文章经国内小同行外审专家双盲外审,符合本刊发稿宗旨。

作者声明: 第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁,可接受核查。

文章版权: 文章出版前杂志已与全体作者授权人签署了版权相关协议。

4 参考文献 References

- [1] 毛滢,沈铿,魏薇,等.光动力学疗法诱导卵巢癌细胞系 Skov3 和宫颈癌细胞系 Hela 凋亡的体外研究[J].中华老年医学杂志,2011,30(9):779-783.
- [2] 汤伟伟,万贵平,万一聪,等. miR-135a 对卵巢上皮性癌细胞中 HOXA10 基因表达及细胞增殖和凋亡的影响[J].中华妇产科杂志,2013,48(5):364-369.
- [3] 王前,李新国,张怡,等.卵巢癌组织中 EVEC 的表达及其生物学意义[J].中华肿瘤杂志,2010,32(9):676-680.
- [4] 汤秀红,秦叔逵,谢恬.榄香烯注射液抗肿瘤作用基础研究的现状和进展[J].临床肿瘤学杂志,2010,15(3):266-272.
- [5] 卢仁泉,孙敏,高翔,等.S 型人肌原纤维生成调节因子 1 在卵巢癌细胞和组织中的表达及意义[J].中华肿瘤杂志,2012,34(3):176-181.
- [6] 李冬,王旋,戴燕,等.抗菌肽 LL-37 在巨噬细胞促卵巢癌细胞增殖中的作用[J].中华肿瘤杂志,2013,35(9):660-665.
- [7] 赵艾君,郑毛根,王国臣,等. RNA 干扰 ABCE1 基因后可增加肺癌 95-D/NCI-H446 细胞的 E-钙黏附蛋白表达并减低细胞侵袭力[J].生物化学与生物物理进展,2010,37(8):891-896.
- [8] 周红丽,靳蕊霞,韩亚荣,等.BCE1 基因在人肾小球系膜细胞中的表达[J].基础医学与临床,2010,30(4):424-425.

- [9] 任翼,刘永煜,刘德贵,等.RNA干扰介导ABCE1基因沉默对人肺腺癌A549细胞增殖的影响[J].辽宁医学杂志,2010,24(1):22-25.
- [10] 吴宁,朱博慧,薛英姿,等.干细胞生长因子反义寡核苷酸对肝癌细胞中原癌基因蛋白质 c- kit及ABCE1基因表达的影响[J].中华临床医师杂志:电子版,2011,5(12):3449-3454.
- [11] 汤秀红,秦叔逵,谢恬.榄香烯乳注射液抗肿瘤作用基础研究的现状和进展[J].临床肿瘤学杂志,2010,15(3):266-272.
- [12] 郑毛根,田大力,黄波.ABCE1 基因siRNA表达质粒的构建及鉴定[J].中国医科大学学报,2007,36(6):697- 699.
- [13] Preis A, Heuer A, Barrio-Garcia C, et al. Cryoelectron microscopic structures of eukaryotic translation termination complexes containing eRF1-eRF3 or eRF1-ABCE1. Cell Rep. 2014;8(1):59-65.
- [14] Terova G, Rimoldi S, Bernardini G, et al. Inhibition of myostatin gene expression in skeletal muscle of fish by in vivo electrically mediated dsRNA and shRNAi delivery. Mol Biotechnol. 2013;54(2):673-684.
- [15] Tian Y, Han X, Tian DL. The biological regulation of ABCE1. IUBMB Life. 2012;64(10):795-800.
- [16] Pisareva VP, Skabkin MA, Hellen CU, et al. Dissociation by Pelota, Hbs1 and ABCE1 of mammalian vacant 80S ribosomes and stalled elongation complexes. EMBO J. 2011;30(9):1804-1817.
- [17] Ren Y, Li Y, Tian D. Role of the ABCE1 gene in human lung adenocarcinoma. Oncol Rep. 2012;27(4):965-970.
- [18] 邱建,傅云峰,程琪,等.姜黄素逆转人卵巢癌耐紫杉醇细胞SKOV3-TR30的作用机制[J].中华医学杂志,2012,92(27):1926-1928.
- [19] 龚敏,崔晓楠,梁鑫淼.榄香烯对人肝癌HepG-2细胞增殖及拓扑异构酶的影响[J].中国癌症杂志,2011,21(5):321-325.
- [20] 王宏虹,刘华钢,刘丽敏. β -榄香烯抗肿瘤作用机制研究概况[J].药物评价研究,2009,32(2):140-143.
- [21] 花文峰,蔡绍晖. β -榄香烯抗肿瘤作用的基础与临床研究[J].中药材,2006,29(1) :93-97.
- [22] 郭建忠,沈建康,周洪语.榄香烯抗肿瘤作用基础研究进展[J].中国肿瘤临床,2003,30(10):752-754.
- [23] 陆新升,陈仙,杨罗艳. β -榄香烯抗肿瘤机制研究进展[J].社区医学杂志,2010,8(7):40-43.
- [24] 蒋小芒,赵娜,龙敏,等.卵巢癌细胞中CD90+肿瘤干细胞的生物学特性[J].中国组织工程研究,2015,19(32):5193-5198.
- [25] 蒋天敏,魏芳.卵巢癌肿瘤干细胞耐药性及其治疗的研究进展[J].现代肿瘤医学,2015,23(16):2392-2395.
- [26] 杨丽萍,侯俊德,段爱红,等.肿瘤干细胞标志物CD133和Nestin在卵巢癌中的表达及意义[J].临床和实验医学杂志,2015,14(4):301-304.
- [27] Lam SS, Mak AS, Yam JW, et al. Targeting estrogen-related receptor alpha inhibits epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell properties of ovarian cancer cells. Mol Ther. 2014;22(4):743-751.
- [28] 张亚,何雅静,赵婷婷,等.肿瘤干细胞相关基因ABCB1、ABCG2在卵巢癌中的表达及其临床意义[J].中国妇幼保健,2014,29(10):1599-1602.
- [29] Liao J, Qian F, Tchabo N, et al. Ovarian cancer spheroid cells with stem cell-like properties contribute to tumor generation, metastasis and chemotherapy resistance through hypoxia-resistant metabolism. PLoS One. 2014;9(1):e84941.
- [30] Babahosseini H, Ketene AN, Schmelz EM, et al. Biomechanical profile of cancer stem-like/tumor-initiating cells derived from a progressive ovarian cancer model. Nanomedicine. 2014;10(5):1013-1019.