

• 论 著 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.07.003

他莫昔芬对人胃癌细胞增殖和丝氨酸蛋白酶抑制剂 9 表达的影响^{*}

陈海霞¹, 周业江², 王璐璐¹, 李 华¹, 熊玉霞^{1△}

(1. 泸州医学院药学院药理教研室, 四川泸州 646000; 2. 泸州医学院附属医院普外科, 四川泸州 646000)

[摘要] 目的 研究他莫昔芬(TAM)对胃癌细胞雌激素受体 α 、 β (ER α 和 ER β)的表达情况及对胃癌细胞增殖和丝氨酸蛋白酶抑制剂 9(PI9)表达的影响。方法 对前期筛选出的 ER α 表达阳性胃癌细胞株 MNK45、SGC7901(PI9 表达阳性)和 ER β 表达阳性胃癌细胞株 BGC823(PI9 表达阴性),采用免疫荧光化学法检测 TAM 对 ER α 和 ER β 表达的影响,CCK8 法检测 TAM 干预后胃癌细胞株的增殖情况,逆转录 PCR 观察 TAM 干预后 PI9 表达的变化。结果 ER α 表达于 MNK45 和 SGC7901 细胞核上,ER β 表达于 BGC823 细胞核上,经 TAM 干预后 ER α 和 ER β 表达均无明显改变;TAM 在 0.1~100.0 μ mol/L 时可明显抑制 SGC7901、MNK45 的细胞增殖,与阴性对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),对 BGC823 和 MNK28 的细胞增殖无明显剂量依赖关系;TAM 干预后 SGC7901 的 PI9 mRNA 的相对灰度值为(0.402 $\pm$ 0.020),MNK45 的 PI9 mRNA 的相对灰度值为(0.359 $\pm$ 0.048),较阴性对照组灰度值均明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 TAM 对 ER α 和 PI9 阳性表达细胞的增殖抑制作用强于 PI9 阴性表达细胞,并呈较好的剂量依赖性;TAM 对胃癌的生长抑制作用可能与改善 PI9 介导的免疫耐受有关。

[关键词] 胃肿瘤;受体,雌激素;他莫昔芬;丝氨酸蛋白酶抑制剂 9

[中图分类号] R735.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2016)07-0873-03

Effects of Tamoxifen on proliferation and expression of serine proteinase inhibitor 9 in human gastric cancer cells^{*}

Chen Haixia¹, Zhou Yejiang², Wang Lulu¹, Li Hua¹, Xiong Yuxia^{1△}

(1. Department of Pharmacology, College of Pharmacy, Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China;

2. Department of General Surgery, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To observe the expression of estrogen receptors (ER α and ER β) on gastric cancer cells and evaluate the effect of Tamoxifen(TAM) on the cell proliferation and expression of serine proteinase inhibitor 9(PI9) of gastric cancer cells. **Methods** PI9 positive expression(MNK45,SGC7901)and negative expression (BGC823)of gastric cancer cell lines were from preliminary screened,the expression of ER α and ER β detected by immunofluorescence chemical method,the cell proliferation and expression of PI9 were tested by CCK8 assay and reverse transcription-PCR after intervention of TAM. **Results** ER α protein expression was noted in MNK45 and SGC7901,ER β was noted in BGC823,but the expression of ER α and ER β were not appear to be obvious after the intervention of TAM. Tamoxifen could obviously inhibited cell proliferation of MNK45 and SGC7901 at concentration of 0.1—100.0 μ mol/L,the differences were statistically significant compared with negative control group ($P<0.05$),but showed no dose-dependent to the proliferation of BGC823 and MNK28. After treating with TAM,the expression of PI9 mRNA of SGC7901 (0.402 $\pm$ 0.020) and MNK45 (0.359 $\pm$ 0.048) were obviously lower than that in the negatwe control group ($P<0.05$). **Conclusion** Tamoxifen could significantly inhibit the proliferation of PI9 positive expression than PI9 negative expression of gastric cancer cell lines,and showed obviously dose-dependent,its role in inhibiting proliferation might closely related to immune tolerance improved by PI9.

[Key words] gastric neoplasms;receptor,estrogen;Tamoxifen;serine proteinase inhibitor 9

胃癌是源自胃黏膜上皮的恶性肿瘤,占我国恶性肿瘤发病率的第 2 位,死亡率的第 3 位,严重威胁人类健康^[1-2]。本课题前期研究显示雌激素(estradiol)可促进胃癌细胞的增殖,与其能内源性诱导丝氨酸蛋白酶抑制剂 9(serine proteinase inhibitor 9,PI9)mRNA 的表达密切相关,从而造成胃癌的内源性免疫逃逸。雌激素受体(ER)抑制剂他莫昔芬(tamoxifen,TAM),又名三苯氧胺其是否可以通过抑制 PI9 的表达来发挥疗效?目前还未见相关报道。本研究通过观察 TAM 干预后 4 株人胃癌细胞的增殖情况及对 PI9 mRNA 表达的影响,明确雌激素受体抑制剂能否改善 PI9 介导的免疫耐受,研究结果将为改善胃癌的免疫治疗效果提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料 TAM(Adamas Reagent 公司),DMEM high glu-

cose 培养液(HyClone 公司),免疫荧光化学试剂主要包括:ER β 兔抗人多克隆抗体、ER α 鼠抗人单克隆抗体(美国 Bio-world 公司),山羊抗兔 IgG 为罗丹明标记、山羊抗小鼠 IgG 为 FITC 标记(中杉金桥);逆转录 PCR(RT-PCR)Kit(美国 Bio-world 公司)。倒置相差显微镜(Olympus CKX31SF),生物安全柜(BSG-4 珠海 L 型),96 孔培养板(美国 Corning 公司),荧光倒置显微镜(S70-Germany),多功能 PCR 仪(TC-412,英国 TECHNE),DYY-8C 型电泳仪(北京市六一仪器厂),荧光凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人胃癌细胞 MNK45、SGC7901、MNK28 和 BGC823 购自北京北纳创联生物技术研究院,于 5%CO₂ 浓度、37℃ 条件下用含 10% 胎牛血清、1% 双抗贮存液的

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30672058);泸州医学院科研基金资助项目(2009246)。 作者简介:陈海霞(1982—),讲师,硕士,主要从事抗炎免疫和肿瘤药理学研究。 △ 通讯作者,E-mail:xyx_cell@163.com。

DMEM 培养液培养。

1.2.2 免疫荧光化学法检测 ER α 和 ER β 的表达 取对数生长长期的细胞经 0.25% 胰酶消化,调整细胞浓度为 1.0×10^5 /mL,均匀接种到内铺有盖玻片的培养皿中。待细胞贴壁生长接近单层时,用 PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,预冷的 4% 多聚甲醛固定 20 min,甲醇-20℃ 细胞通透 15 min,10% 胎牛血清封闭 30 min。加入鼠抗人 ER α (1:200 稀释浓度)和兔抗人 ER β (1:50 稀释浓度)各 50 μ L,阴性对照用 10% 胎牛血清代替一抗。4℃ 孵育过夜后,加入羊抗小鼠 IgG(FITC 标记)和羊抗兔 IgG(罗丹明标记)二抗稀释液,37℃ 避光孵育 30 min 后洗涤,晾干、封片拍照观察。以明确的荧光为阳性,仅发浅荧光且与周围背景区别不明显则判为阴性或弱阳性(FITC 标记显绿色,罗丹明标记显红色)。

1.2.3 CCK8 法检测细胞增殖抑制率 取对数生长期细胞 MNK45、SGC7901、MNK28 和 BGC823,胰酶消化后调整细胞密度为 2×10^5 /mL,接种于 96 孔板,90 μ L/孔,置培养箱中培养 24 h。根据前期实验结果,TAM 给药组加入 10.00 μ mol/L 的雌激素后,再将不同浓度的 TAM 溶液(100.00、10.00、1.00、0.10、0.01 μ mol/L)加入 96 孔板,10 μ L/孔,设阴性对照组加 DMEM 10 μ L,空白对照组加无血清 DMEM 100 μ L,溶媒对照组加 1% 甲醇 10 μ L,每组 3 复孔。37℃ 继续培养 24 h,每孔加 CCK8 溶液 10.00 μ L,4 h 后,用酶标仪测定各孔光密度(OD)值(450 nm 处)。实验重复 3 次,计算细胞增殖抑制率(%)=(OD_{对照组}-OD_{给药组})/(OD_{对照组}-OD_{空白组}) $\times$ 100%。

1.2.4 RT-PCR 检测 PI9 基因表达水平 TAM 给药组先在各细胞中加入雌激素 10.00 μ mol/L,再加入 TAM 10.00 μ mol/L 作用 24 h 后,按照 RNAsimple Total RNA Kit 说明提取细胞总 RNA,紫外分光光度仪测定核酸纯度 OD_{260/280} 在 1.0~2.0。严格根据 GenBank 数据库人 PI9 基因序列设计 PCR 引物(表 1),参照 RT-PCR Kit 说明逆转录合成 cDNA,以 PI9 的引物进行 PCR 扩增。PCR 反应条件为 94℃ 预变性 5 min,94℃ 30 s,57℃ 30 s,72℃ 1 min,总循环 35 个,72℃ 延伸 5 min。PCR 产物取 5 μ L 于 2% 琼脂糖凝胶电泳,最后用 Bio-Rad 凝胶成像采集系统照相并进行分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析,计量资料数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间数据比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

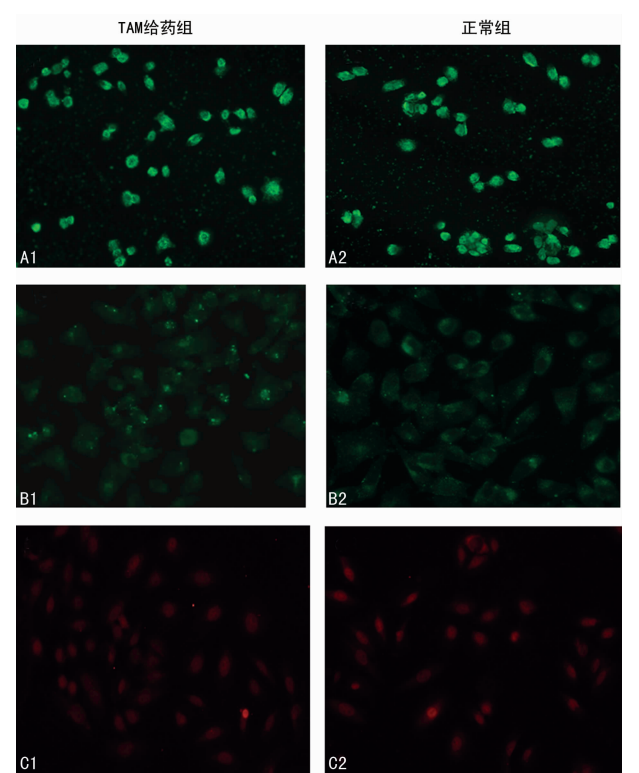
2 结 果

2.1 胃癌细胞 ER α 和 ER β 的表达 MNK45 的 ER α 位于细

胞核呈清晰的绿色颗粒,为强阳性表达;SGC7901 的 ER α 为弱阳性表达;而 ER β 仅在 BGC823 细胞核上显淡红色颗粒,为弱阳性表达。经 10.00 μ mol/L 浓度的 TAM 作用后 ER α 和 ER β 表达未见明显改变,结果表明 TAM 对雌激素受体的表达无影响,见图 1。

表 1 GAPDH 和 PI9 引物序列

基因	引物序列	产物大小(bp)
GAPDH	上游:5'-ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC-3'	450
	下游:5'-TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA-3'	
PI9	上游:5'-TTC ATC GGG CTT TCC AGT-3'	217
	下游:5'-TTT GAG ACC CAG GTG TTG-3'	



A1: MNK45 ER α ; B1: SGC7901 ER α ; C1: BGC823 ER β . A2: MNK45 ER α ; B2: SGC7901 ER α ; C2: BGC823 ER β .

图 1 MNK45、SGC7901 及 BGC823 细胞中 ER α 、ER β 表达的检测(IF $\times$ 400)

表 2 TAM 对胃癌细胞增殖活性的影响($\bar{x}\pm s,n=9$)

组别	MNK45	SGC7901	BGC823	MNK28
阴性对照组	0.656 $\pm$ 0.023	0.633 $\pm$ 0.024	0.510 $\pm$ 0.034	0.614 $\pm$ 0.022
TAM 给药组(μ mol/L)				
100.00	0.098 $\pm$ 0.036 ^a	0.210 $\pm$ 0.017 ^a	0.367 $\pm$ 0.025 ^a	0.430 $\pm$ 0.020 ^a
10.00	0.221 $\pm$ 0.025 ^a	0.319 $\pm$ 0.019 ^a	0.470 $\pm$ 0.019 ^a	0.519 $\pm$ 0.020 ^a
1.00	0.404 $\pm$ 0.021 ^a	0.426 $\pm$ 0.022 ^a	0.484 $\pm$ 0.017 ^a	0.586 $\pm$ 0.014
0.10	0.534 $\pm$ 0.023 ^a	0.558 $\pm$ 0.030 ^a	0.492 $\pm$ 0.013	0.596 $\pm$ 0.013
0.01	0.632 $\pm$ 0.018	0.614 $\pm$ 0.015	0.502 $\pm$ 0.018	0.603 $\pm$ 0.015

^a: $P<0.05$,与阴性对照组比较。

2.2 TAM 对胃癌细胞增殖活性的影响 检测结果显示, MNK45 和 SGC7901 在 0.10~100.00 μ mol/L,随药物浓度增

高 OD 值逐渐降低,与阴性对照组比较差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。TAM 作用 MNK45、SGC7901 胃癌细胞

24 h后,表现出不同程度的细胞增殖抑制作用,且抑制作用随药物浓度的增加而增强,呈剂量依赖性,在浓度达到100.00 $\mu\text{mol/L}$ 时存活率明显下降,抑制率分别达 $(93.92 \pm 3.77)\%$ 、 $(82.17 \pm 0.79)\%$;不同浓度的 TAM 对 BGC823 和 MNK28 细胞生长抑制无明显剂量依赖关系,在 100.00 $\mu\text{mol/L}$ 时对 MNK28 产生最大抑制效应,达 $(31.78 \pm 7.38)\%$,见图 2。

2.3 TAM 对胃癌细胞 PI9 mRNA 表达的影响 经 TAM 药物处理 24 h 后,MNK45 和 SGC7901 细胞 PI9 mRNA 的相对灰度值分别为 (0.359 ± 0.048) 、 (0.402 ± 0.020) ,较对照组 PI9 mRNA 的相对灰度值分别为 (0.540 ± 0.065) 、 (0.545 ± 0.038) 明显降低,差异有统计学意义($P < 0.001$);MNK45、SGC7901 细胞的 GAPDH 及 PI9 电泳结果与预计扩增产物的

大小一致,分别在 450、217 bp 处出现阳性条带,见图 3。

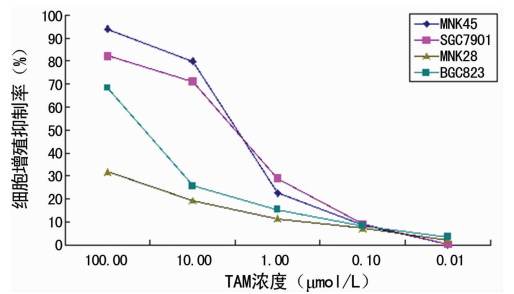


图 2 TAM 对 4 株胃癌细胞的浓度抑制率曲线

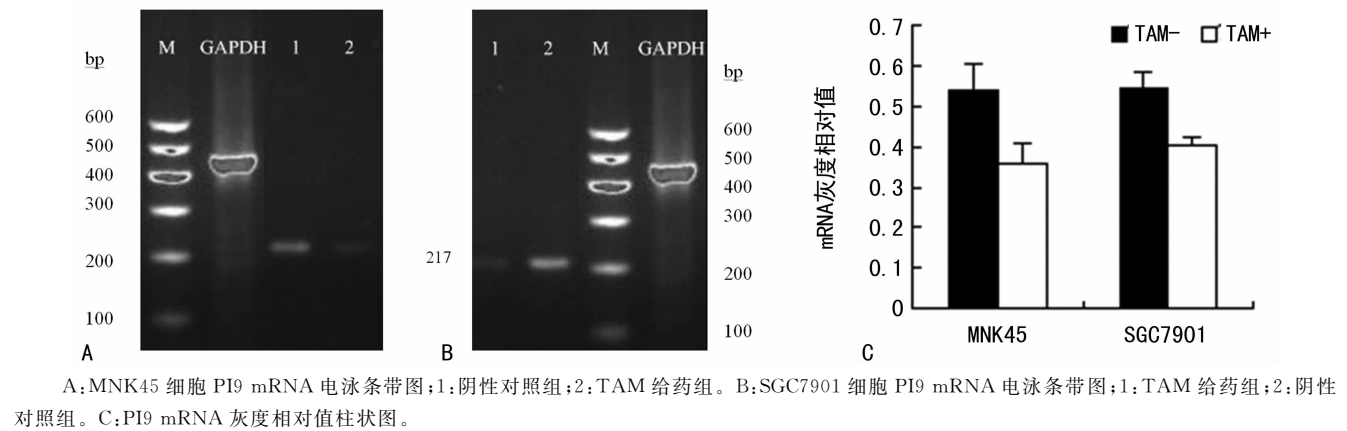


图 3 TAM 对和胃癌细胞 PI9 mRNA 表达的影响

3 讨 论

胃癌症状不明显,早期诊断困难,患者临床治疗多属晚期,预后较差,与日韩等国相比,我国胃癌还具有发病率和病死率高等特点^[2]。目前多数研究^[3-4]报道 TAM 治疗 ER 阳性消化道肿瘤的疗效佳,但对 ER 阴性肿瘤不明显,故 TAM 作为胃癌的临床辅助化学治疗存在一定争议^[5],这与胃癌组织中 ER 的表达不具普遍性有关系。Xie 等^[6]的研究中指出 TAM 可通过抑制蛋白激酶 C 信号通路,加速肿瘤相关蛋白的降解过程,促进 ER 阳性胰腺癌细胞凋亡。白文坤等^[7]研究表明,不同浓度的 TAM 可通过影响人肝癌 HepG2 细胞 ER 的表达抑制肝癌细胞增殖,并具有时间-浓度依赖。TAM 是最常用的非甾体类雌激素拮抗剂,通过竞争性抑制雌激素与 ER 结合发挥生物学效应^[8-9],有研究还表明可抑制雌激素诱导的乳腺癌细胞中 PI9 的合成^[10],是 ER 阳性原发性乳腺癌治疗的一线药物^[11]。

目前有关 PI9 在肿瘤治疗的研究已成为热点,但其表达生物学意义及在肿瘤免疫治疗方面尚不明了。本课题前期研究结果提示雌激素与胃癌细胞上 ER 结合可直接诱导 PI9 基因转录,对颗粒酶 B(granzyme B,GrB)诱导的细胞凋亡有明显的抑制作用,而介导胃癌的内源性免疫逃逸^[12-13]。GrB 是丝氨酸蛋白酶家族的重要成员,能迅速引起靶细胞 DNA 断裂,导致细胞凋亡^[14]。最近研究发现,PI9 在肿瘤细胞发生发展中占有重要作用,它对 PFP/GrB 路径和 Fas/Fas-L 路径介导的细胞凋亡均有抑制作用^[15]。Fas 是细胞膜上肿瘤坏死因子受体,和 Fas-L 结合可介导细胞凋亡,故 Fas/Fas-L 表达异常对肿瘤的生长、免疫逃逸有着很大影响^[16]。在肿瘤形成的过程中,PI9 合成增加可能导致 Fas 表达下调或缺失,肿瘤细胞从而获得抵抗 Fas 介导凋亡的免疫性逃逸机会。前期研究亦发现 PI9 在胃癌中的表达不是全阳性,在癌组织中 PI9 阳性率约为

41.0%,在癌细胞株中为 50.0%。因此,本课题以前期研究筛选出的 ER α 表达阳性胃癌细胞株 MNK45、SGC7901(PI9 阳性)和 ER β 表达弱阳性胃癌细胞株 BGC823(PI9 阴性)作为研究对象,探讨 TAM 作用于胃癌细胞与 PI9 表达的关系。若能根据胃癌患者 PI9 表达的检测结果,制订个体化的 TAM 辅助化学治疗方案,可能会收到更好的疗效。

本研究结果显示不同浓度的 TAM 作用 MNK45、SGC7901 胃癌细胞 24 h 后,表现出明显的细胞增殖抑制作用,且呈剂量依赖性;TAM 可减弱胃癌细胞 MNK45、SGC7901 的 PI9 基因表达水平,较阴性对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),说明 TAM 具有明显的 PI9 抑制效应,在一定程度上改善了 PI9 介导的免疫耐受。这一结果提示以 PI9 为靶标的免疫治疗将成为胃癌治疗的新方向,为临床上治疗消化道肿瘤提供了一定的理论基础,为雌激素受体抑制剂的临床应用提供有力证据。

参考文献

- [1] Zhang C, Gao GR, Lv CG, et al. Protease-activated receptor-2 induces expression of vascular endothelial growth factor and cyclooxygenase-2 via the mitogen-activated protein kinase pathway in gastric cancer cells[J]. Oncol Rep, 2012, 28(5):1917-1923.
- [2] 季加孚. 我国胃癌防治研究三十年回顾[J]. 中国肿瘤临床, 2013, 40(22):1345-1351.
- [3] Kim MJ, Cho SI, Lee KO, et al. Effects of 17 β -estradiol and estrogen receptor antagonists on the proliferation of gastric cancer cell lines[J]. J Gastric Cancer, 2013, 13(3):172-178.

(下转第 879 页)

- Immunol,2012,33(3):136-143.
- [4] Majore I,Moretti P,Stahl F,et al. Growth and differentiation properties of mesenchymal stromal cell populations derived from whole human umbilical cord[J]. Stem Cell Reviews and Reports,2011,7(1):17-31.
 - [5] Schipani E,Kronenberg HM. Adult mesenchymal stem cells--Stem Book[J]. In StemBook (Cambridge),2008,5(6):2124-2128.
 - [6] 谢文友,王廷华. 骨髓间充质干细胞移植治疗脑外伤的研究进展[J]. 重庆医学,2013,42(11):1296-1299.
 - [7] 李晓玲,朱旅云,宋光耀,等. 脐带间充质干细胞移植治疗糖尿病下肢血管病变[J]. 中国组织工程研究,2014,18(23):3670-3675.
 - [8] Christodoulou I,Kolisis FN,Papaevangelou D,et al. Comparative evaluation of human mesenchymal stem cells of fetal (wharton's jelly) and adult(adipose tissue)origin during prolonged in vitro expansion:considerations for cytottherapy[J]. Stem Cells International,2013,2013:246134.
 - [9] Seshareddy K,Troyer D,Weiss ML. Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's jelly of umbilical cord[J]. Methods Cell Biol,2008,86:101-119.
 - [10] Salehinejad P,Alitheen NB,Ali AM,et al. Comparison of different methods for the isolation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord Wharton's jelly[J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim,2012,48(2):75-83.
 - [11] Han YF,Tao R,Sun TJ,et al. Optimization of human umbilical cord mesenchymal stem cell isolation and culture methods[J]. Cytotechnology,2013,65(5):819-827.
 - [12] Yoon JH,Roh EY,Shin S,et al. Comparison of explant-derived and enzymatic digestion-derived MSCs and the growth factors from wharton's jelly[J]. Biomed Res Int,2013,2013:428726.
 - [13] Iftimia-Mander A,Hourd P,Dainty R,et al. Mesenchymal stem cell isolation from human umbilical cord tissue: understanding and minimizing variability in cell yield for process optimization [J]. Biopreserv Biobank,2013,11(5):291-298.
 - [14] Dominici M,Le Blanc K,Mueller I,et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The international society for cellular therapy position statement[J]. Cytotherapy,2006,8(4):315-317.
 - [15] Venugopal P,Balasubramanian S,Sen MA,et al. Characterization, and gene expression analysis of wharton's jelly-derived mesenchymal stem cells under xeno-free culture conditions[J]. Stem Cells Cloning,2011,21(4):39-50.
 - [16] Hendijani F,Sadeghi-Aliabadi H,Javanmard SH. Comparison of human mesenchymal stem cells isolated by explant culture method from entire umbilical cord and Wharton's jelly matrix [J]. Cell Tissue Bank,2014,15(4):555-565.
 - [17] Galderisi U,Giordano A. The gap between the physiological and therapeutic roles of mesenchymal stem cells[J]. Med Res Rev,2014,34(5):1100-1126.
 - [18] Otte A,Bucan V,Reimers K,et al. Mesenchymal stem cells maintain long-term in vitro stemness during explant culture[J]. Tissue Eng Part C Methods,2013,19(12):937-948.

(收稿日期:2015-09-08 修回日期:2015-11-10)

(上接第 875 页)

- [4] Kretzer NM,Cherian MT,Mao CJ,et al. A noncompetitive small molecule inhibitor of estrogen-regulated gene expression and breast cancer cell growth that enhances proteasome-dependent degradation of estrogen receptor alpha[J]. J Biol Chem,2010,285(53):41863-41873.
- [5] Chen S,Liu H,Li J,et al. Risk of gastric and colorectal cancer after tamoxifen use for breast cancer:a systematic review and eta-analysis[J]. J Clin Gastroenterol,2014, [Epub ahead of print].
- [6] Xie X,Wu MY,Shou LM,et al. Tamoxifen enhances the anticancer effect of cantharidin and norcantharidin in pancreatic cancer cell lines through inhibition of the protein kinase C signaling pathway[J]. Oncol Lett,2015,9(2):837-844.
- [7] 白文坤,王文奇,时昌文,等. 他莫昔芬对人肝癌细胞增殖及 ER 表达影响的研究[J]. 中国现代普通外科进展,2008,11(5):386-388.
- [8] Chandanosa E,Lindblada M,Rubiob CA,et al. Tamoxifen exposure in relation to gastric adenocarcinoma development[J]. Eur J Cancer,2008,44(7):1007-1014.
- [9] Salami S,Karami-Tehrani F. Biochemical studies of apoptosis induced by tamoxifen in estrogen receptor positive and negative breast cancer cell lines[J]. Clin Biochem,2003,36(4):247-253.
- [10] Jiang X,Patterson NM,Ling Y,et al. Low concentrations of the soy phytoestrogen genistein induce proteinase inhibitor 9 and block killing of breast cancer cells by immune cells[J]. Endocrinology,2008,149(11):5366-5373.
- [11] Zembutsu H. Pharmacogenomics toward personalized tamoxifen therapy for breast cancer[J]. Pharmacogenomics,2015,16(3):287-296.
- [12] 熊玉霞,周业江. PI9 和 GrB 在胃癌细胞表达的生物学意义[C]. 中国生理学会心血管生理学术研讨会论文集,2011:106-107.
- [13] 雷晓晔,周业江. 丝氨酸蛋白酶抑制剂 PI9 的研究进展[J]. 国际外科学杂志,2010,37(6):404-407.
- [14] 李一叶,卢圣栋. 颗粒酶 B 抑制剂的研究进展[J]. 国际免疫学杂志,2008,30(3):197-200.
- [15] Cunningham TD,Jiang X,Shapiro DJ. Expression of high levels of human proteinase inhibitor 9 blocks both perforin/granzyme and Fas/Fas ligand-mediated cytotoxicity[J]. Cell Immunol,2007,245(1):32-41.
- [16] 李姝君,杨志雄,田鲜艳,等. Survivin 在肺癌中表达意义及其与 Fas/FasL 表达的关系[J]. 中国医药导报,2011,8(20):17-19.

(收稿日期:2015-09-08 修回日期:2015-11-26)