

甲状腺功能亢进对大鼠肝脾铁含量及血红素加氧酶 1 表达的影响*

彭丁晋,李艳伟,黄作良,黄泽智,马新华,赵晋英[△]

(邵阳市分子生物学诊断重点实验室/邵阳医学高等专科学校检验系,湖南邵阳 422000)

[摘要] **目的** 通过检测甲状腺功能亢进(简称甲亢)时大鼠肝、脾组织铁含量和血红素加氧酶 1(HO-1)的表达,探讨甲亢对大鼠机体铁代谢的影响。**方法** 将 18 只雌性 SD 大鼠分为甲亢 4 周组、甲亢 8 周组和对照组,每组 6 只。甲亢组灌胃给药优甲乐,对照组灌胃生理盐水。造模结束分别取各组大鼠肝、脾脏,用二氨基联苯胺增强的 Perl's 铁染色法检测肝、脾组织铁含量,用逆转录 PCR 技术检测大鼠肝、脾组织 HO-1 mRNA 的表达;利用 Western blot 和免疫组织化学染色法对大鼠肝、脾脏 HO-1 表达进行分析。**结果** 甲亢模型 4 周、8 周组大鼠的肝、脾组织铁染色均明显强于对照组,且甲亢 8 周组强于甲亢 4 周组($P<0.01$);甲亢 4 周、8 周组大鼠的肝、脾脏的 HO-1 mRNA、蛋白表达均高于对照组,且甲亢 8 周组明显高于 4 周组,差异具有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 甲亢可引起肝、脾组织铁含量增加,HO-1 表达增强。

[关键词] 甲状腺素;血红素加氧酶-1;肝;甲状腺功能亢进;脾脏;铁含量

[中图分类号] R581.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)23-3196-05

The effects of hyperthyroidism on Iron content and heme oxygenase 1 expression of liver and spleen of rats*

Peng Dingjin, Li Yanwei, Huang Zuoliang, Huang Zezhi, Ma Xinhua, Zhao Jinying[△]

(Shaoyang Key Laboratory of Molecular Biology Diagnosis/the Department of Clinical Laboratory Medicine, Shaoyang Medical College, Shaoyang, Hunan 422000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of hyperthyroidism on Iron content and heme oxygenase 1(HO-1) expression of liver and spleen of rats. **Methods** A total of 18 female SD rats were divided into hyperthyroidism for 4 weeks group($n=6$), hyperthyroidism for 8 weeks group($n=6$) and control group($n=6$). Hyperthyroidism rats were induced by intragastric administration of Euthyrox (Levothyroxine). And the control rats were given normal saline. The liver and spleen of rats were obtained after administration, respectively. Iron of liver and spleen were stained by DAB enhanced Perls' method, and the expression of HO-1 mRNA was measured by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). HO-1 protein was measured by Western blot and immunohistochemistry. **Results** Iron staining of liver and spleen of hyperthyroidism for 4 weeks group and 8 weeks group was significantly stronger than those of control group, respectively. And Iron staining of liver and spleen of hyperthyroidism for 8 weeks group was stronger than those of hyperthyroidism for 4 weeks group. The increase of HO-1 mRNA and protein expression was shown in liver and spleen of hyperthyroidism for 4 weeks group and 8 weeks group ($P<0.01$). Moreover, the expression of HO-1 mRNA and protein of liver and spleen of hyperthyroidism rats for 8 weeks group were higher than those of hyperthyroidism for 4 weeks group ($P<0.01$). **Conclusion** The hyperthyroidism induced increase of Iron content, HO-1 mRNA and protein expression of liver and spleen of rats.

[Key words] thyroxine; heme oxygenase-1; liver; hyperthyroidism; spleen; Iron content

甲状腺功能亢进(后简称甲亢)是甲状腺激素分泌增多导致的一种常见内分泌疾病。临床上,甲亢患者易发生贫血^[1-2]。研究资料显示缺铁、铁利用障碍与甲亢性贫血的发生有关^[3]。肝、脾脏是机体最主要的储铁器官,而且是衰老红细胞内铁再循环利用的主要场所,而血红素加氧酶 1(heme oxygenase 1, HO-1)作为血红素铁再利用的限速酶,在肝脾铁稳态调节中发挥着非常重要的作用^[4-5]。然而,目前甲亢对肝脾铁代谢及 HO-1 影响相关的研究鲜见报道。因此,本实验通过检测甲亢模型大鼠肝脾铁含量及 HO-1 的表达,进一步探讨甲亢对肝脾铁代谢的影响,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验药物 优甲乐片即左旋甲状腺素钠购自德国默克公司(批号:169818)。

1.1.2 实验动物 SPF 级健康雌性 SD 大鼠 18 只,由南华大学实验动物中心提供,体质量(200 ± 10)g,在室温 $18\sim 25\text{ }^{\circ}\text{C}$, $50\%\sim 70\%$ 相对湿度条件饲养。

1.1.3 实验试剂及仪器 Trizol、逆转录 PCR(RT-PCR)试剂盒购自碧云天生物公司;辣根酶标记羊抗兔免疫球蛋白 G(IgG)、羊抗小鼠 IgG、兔抗大鼠 HO-1 抗体、羊抗兔链霉亲和素-生物素复合物(strept avidin-biotin complex, SABC)检测试剂盒均购自武汉博士德生物公司; β -actin 抗体购自 Abcam 公司;内参甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)和 HO-1 引物购于上海生物工程公司;PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验甲亢模型分组、造模及取材 18 只雌性 SD 大鼠分为甲亢 4 周组、甲亢 8 周组 and 对照组, 每组 6 只。参照张彬等^[6]的方法造模: 研磨优甲乐片, 用生理盐水混悬, 灌胃给药 (60 μ g/100 g, 1 次/天); 对照组灌服生理盐水。两个甲亢组大鼠分别于第 4 周和第 8 周末处死, 对照组于实验末处死。取大鼠肝脾组织, 部分石蜡包埋切片 (4 μ m 厚), 其余新鲜肝脾组织经提取总 RNA, 行 RT-PCR 实验; 经提取总蛋白, 行 Western blot 实验。

1.2.2 二氨基联苯胺 (DAB) 增强的 Perl's 铁染色 肝、脾组织切片脱蜡复水, 置于现配的 5% 氯化氢 (HCl)-5% 亚铁氰化钾 1:1 混合液中 30 min; 磷酸盐缓冲液 (PBS) 冲洗后, 3% H_2O_2 去除内源性过氧化物酶; DAB 显色, 苏木素复染细胞核以利于镜下观察, 封片镜检。同行做阴性对照染色, 除了不加 HCl-亚铁氰化钾混合液外, 其余步骤相同。组织铁阳性染色呈棕黄色颗粒状。

1.2.3 RT-PCR 检测 用 Trizol 提取肝、脾组织总 RNA。以 GAPDH 为内参, 采用 RT-PCR 两步法检测大鼠 HO-1 mRNA 的表达, 大鼠 HO-1 上游引物序列为 5'-CAG AAC CCA GTC TAT GCC-3', 下游序列为 5'-GCT CGG GAA GGT GAA AA-3', 扩增长度 306 bp; 大鼠 GAPDH 上游序列为 5'-TCC CTC AAG ATT GTC AGC AA-3', 下游序列为 5'-AGA TCC ACA ACG GAT ACA TT-3', 扩增长度 308 bp。PCR 反应条件: 第 1 步 95 $^{\circ}$ C 4 min, 1 个循环; 第 2 步 94 $^{\circ}$ C 30 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s (50 $^{\circ}$ C for GAPDH), 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共 30 个循环; 第 3 步 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min。扩增产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳约 1 h (电压 150 V), 经 Photoshop 软件测定条带亮度值, 将扩增目标产物与内参相比进行相对定量。

1.2.4 Western blot 检测 用 Western blot 检测大鼠肝、脾脏 HO-1 的表达情况。大鼠新鲜肝、脾组织经匀浆裂解后, 4 $^{\circ}$ C

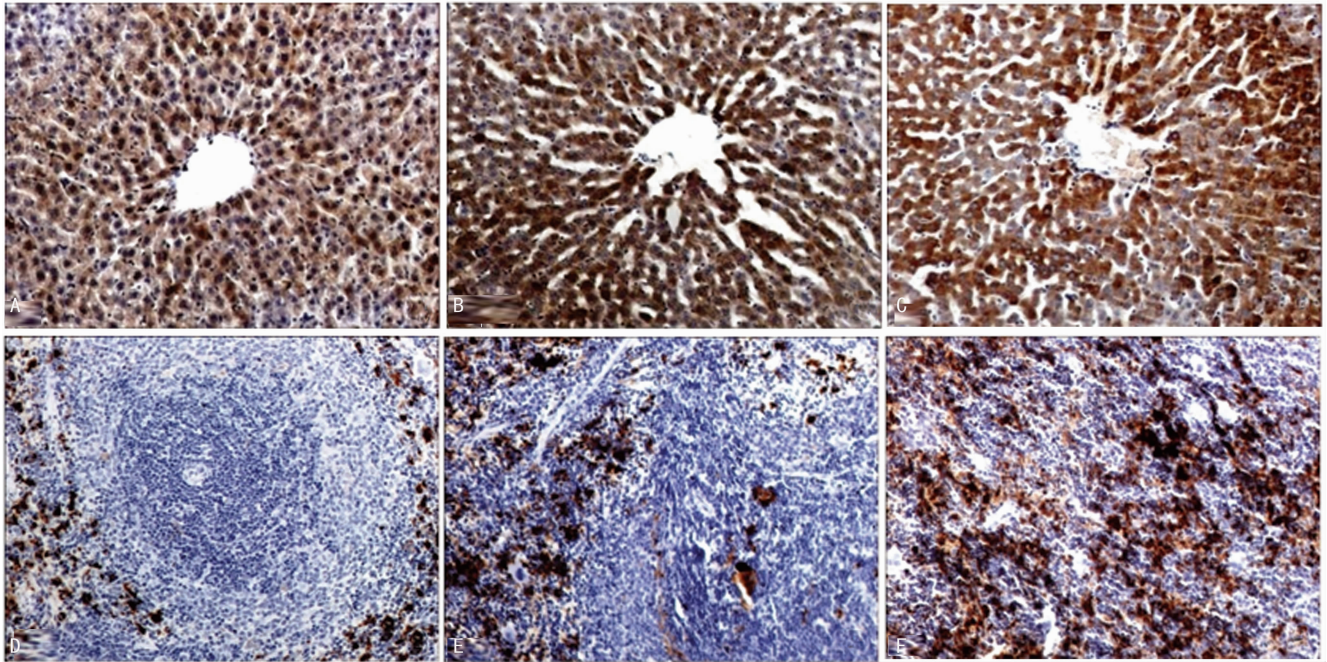
12 000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 采用蛋白质定量试剂盒 (BCA) 测定实验样品蛋白浓度。取含有 30 μ g 蛋白量的上样体积进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE) 电泳分离, 将胶上蛋白转移至聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜。5% 牛血清蛋白 (BSA) 封闭 2 h, 加入兔抗大鼠 HO-1 抗体 (1:100), 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育后, 辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG (1:1 000) 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h, 最后滴加超敏电化学发光 (ECL) 发光液孵育, X 胶片曝光, 每步反应期间用磷酸盐缓冲液 (PBST) 充分洗涤 3 次, 每次 5 min。以 β -actin 为内参, 一抗为小鼠抗大鼠 β -actin 抗体 (1:1 000), 二抗为辣根酶标记的羊抗小鼠 IgG (1:1 000)。曝光胶片分别分析条带灰度值, 以 HO-1 及 β -actin 灰度值之比进行相对定量。

1.2.5 免疫组织化学染色 采用免疫组织化学 SABC 法对肝、脾 HO-1 进行定位。一抗为兔抗大鼠 HO-1 抗体 (1:100), 操作严格按照 SABC 检测试剂盒说明书进行, 阴性对照用 PBS 代替一抗。结果判断: HO-1 定位于细胞质内, 染色呈棕黄色部位。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件包进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用 ANOVA 方差分析较, 检验水准 $\alpha=0.05$, 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

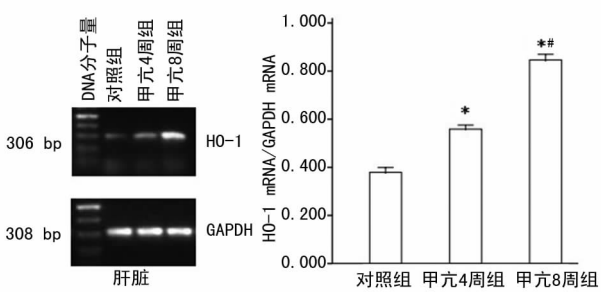
2.1 甲亢对大鼠肝、脾铁含量的影响 经 DAB 增强的 Perl's 染色法, 组织铁镜下呈棕黄色染色, 分布于细胞质和 (或) 细胞间质。对照组大鼠肝细胞和肝巨噬细胞铁染色明显, 在中央静脉周围染色更甚 (图 1A), 而门管区染色较浅。对照组脾组织铁染色颗粒主要位于红髓, 白髓无明显铁染色颗粒 (图 1D)。而甲亢 4 周组和 8 周组大鼠肝、脾组织铁染色均明显强于对照组, 且甲亢 8 周组肝、脾组织铁染色强于甲亢 4 周组, 见图 1B、C、E、F。



A: 对照组肝脏; B: 甲亢 4 周组肝脏; C: 甲亢 8 周组肝脏; D: 对照组脾脏; E: 甲亢 4 周组脾脏; F: 甲亢 8 周组脾脏。棕黄色染色为铁染色颗粒。

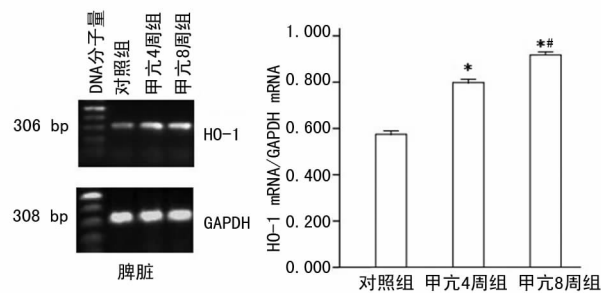
图 1 大鼠肝脏和脾脏 DAB 增强的 Perl's 铁染色 ($\times 100$)

2.2 甲亢对肝、脾 HO-1 mRNA 表达的影响 RT-PCR 显示,大鼠肝、脾组织均表达 HO-1 mRNA。甲亢 4 周组和 8 周组肝、脾组织的 HO-1 mRNA 表达均高于对照组,且甲亢 8 周组肝、脾组织的 HO-1 mRNA 表达又明显高于甲亢 4 周组,差异具有统计学意义($P<0.01$),见图 2~3。



*: $P<0.01$, 与对照组比较; #: $P<0.01$, 与甲亢 4 周组比较。

图 2 RT-PCR 检测肝脏 HO-1 mRNA 的表达

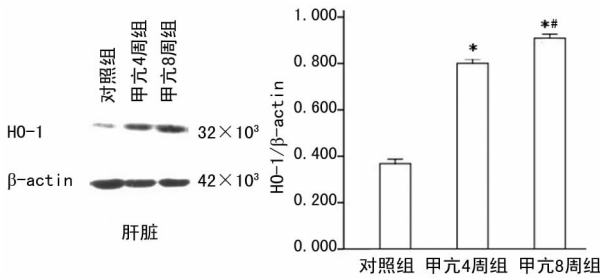


*: $P<0.01$, 与对照组比较; #: $P<0.01$, 与甲亢 4 周组比较。

图 3 RT-PCR 检测脾脏 HO-1 mRNA 的表达

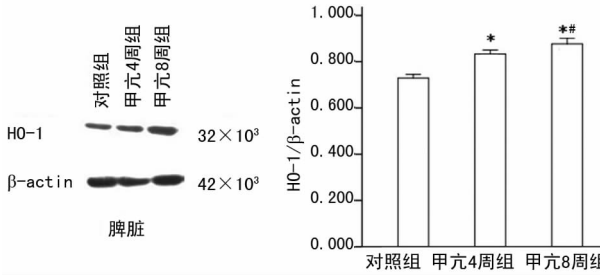
2.3 甲亢对肝、脾 HO-1 蛋白表达的影响 经 Western blot 结果显示,大鼠肝、脾组织均表达 HO-1 蛋白。甲亢 4 周组和 8

周组肝、脾组织 HO-1 蛋白表达均高于对照组,且甲亢 8 周组明显高于甲亢 4 周组,差异具有统计学意义($P<0.01$),见图 4~5。免疫组织化学染色结果显示,对照组大鼠肝组织 HO-1 蛋白主要定位于肝巨噬细胞,肝细胞无明显染色,脾组织 HO-1 蛋白主要定位红髓,白髓无明显染色。甲亢 4 周组和 8 周组肝、脾组织 HO-1 染色均强于对照组,且甲亢 8 周组明显强于甲亢 4 周组,见图 6。



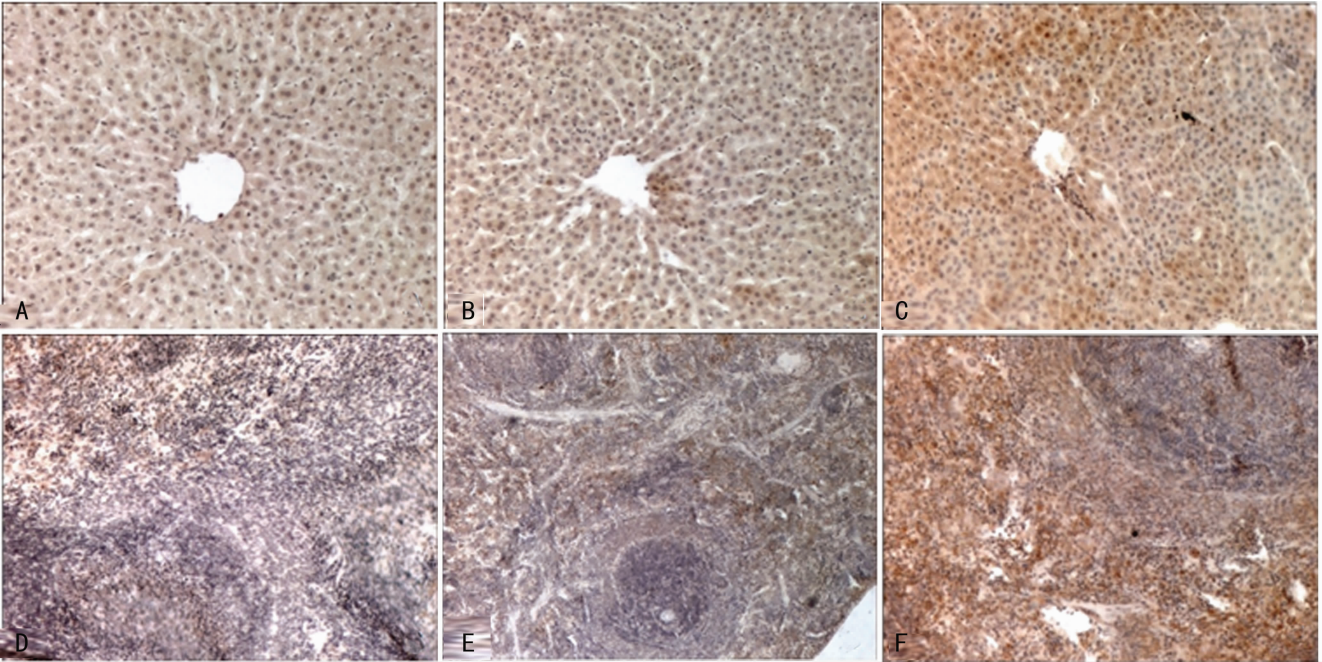
*: $P<0.01$, 与对照组比较; #: $P<0.01$, 与甲亢 4 周组比较。

图 4 Western Blot 检测肝脏 HO-1 蛋白的表达



*: $P<0.01$, 与对照组比较; #: $P<0.01$, 与甲亢 4 周组比较。

图 5 Western Blot 检测脾脏 HO-1 蛋白的表达



A: 对照组肝脏; B: 甲亢 4 周组肝脏; C: 甲亢 8 周组肝脏; D: 对照组脾脏; E: 甲亢 4 周组脾脏; F: 甲亢 8 周组脾脏。棕黄色染色为 HO-1 阳性染色颗粒。

图 6 大鼠肝脏和脾脏 HO-1 免疫组织化学染色 ($\times 100$)

3 讨 论

临床研究显示甲亢患者发生贫血的发病率国外约为 8%~57%,国内 10~44%,甲亢性贫血与机体铁代谢异常有关^[3]。人体所需铁除了部分来源于食物,大部分则来源于衰老红细胞中血红素铁的再循环。肝、脾不仅是机体最主要的储铁器官,而且是衰老红细胞内铁再循环利用的主要场所,因此肝、脾在机体铁稳态调节中处于重要的地位。本研究采用 DAB 增强的 Perl's 铁染色检测了甲亢时肝、脾铁染色变化^[7]。实验发现大鼠肝组织铁主要位于肝细胞和肝巨噬细胞,在近中央静脉处染色明显,而门管区染色较弱。脾组织铁染色颗粒主要位于红髓。而甲亢模型大鼠的肝、脾组织铁染色均明显强于对照组,且随时间延长逐渐增强,提示机体在甲亢时肝、脾组织铁储量明显高于正常状态。

铁在机体发挥重要的作用,但过多的铁可诱导自由基的生成,通过氧化应激反应损害组织器官^[8]。临床报道甲亢伴有肝损害的并不少见^[9],本实验发现的甲亢大鼠肝组织铁含量升高可能参与了甲亢性肝损害。当胞内铁含量过多时,细胞一般通过增加铁储存蛋白,即铁蛋白(Feritin,Fn)的表达来结合过多的铁。有临床资料显示甲亢患者血清中 Fn 水平升高,动物实验也证实甲亢可引起肝组织 Fn 表达升高^[10]。可以这样认为,甲亢引起了肝脾的铁含量升高,同时诱导肝脾 Fn 表达结合过多的铁,Fn 的升高对器官起保护作用,而过多的 Fn 从细胞溢出血液引起了血液中 Fn 水平的升高。

甲亢大鼠肝、脾组织铁含量升高,提示甲亢时单核巨噬细胞对衰老红细胞的破坏有可能高于正常生理状态,使得血红素铁的再循环增加。脾脏巨噬细胞吞噬衰老的红细胞分解血红蛋白释放出血红素,HO 可催化血红素降解产生胆绿素、CO 和 Fe^{2+} 。另外,10%~20%的衰老红细胞也会在血管内发生破裂,释放出的血红蛋白与结合珠蛋白结合,然后被运输到肝脏,在肝细胞形成内吞小体,分解出血红素,血红素再经 HO 作用释放出 Fe^{2+} ^[11]。HO 是血红素分解代谢的限速酶,血红素铁的再循环与肝脾 HO 的表达量有关。

哺乳动物体内存在 3 种形式的 HO:HO-1、HO-2 和 HO-3。在非应激状态,肝细胞主要表达 HO-2,HO-1 只在 Kupffer 细胞中分布;在应激性伤害时,肝组织 HO 活性的主要成分是 HO-1,不仅分布于 Kupffer 细胞,也可表达在肝实质细胞和间质细胞中^[12]。在脾中 HO-1 的表达量是 HO-2 的 5 倍^[13]。HO-1 是诱导型 HO,诸如重金属、血红素、缺氧、化学物质、细胞因子等均可诱导 HO-1 的表达增加^[14]。而目前认为只有糖皮质激素能调节 HO-2 的表达,HO-3 的表达量极少,其分解血红素的活性亦最低。因此,本实验仅检测了甲亢模型大鼠肝、脾组织 HO-1 的表达。

RT-PCR 和 Western Blot 结果显示,大鼠肝、脾组织均表达 HO-1 mRNA 及蛋白。甲亢组 HO-1 mRNA 及蛋白各时间点表达均高于对照组,且随时间延长逐渐升高。免疫组织化学染色结果显示,对照组大鼠肝脏 HO-1 蛋白主要定位在肝巨噬细胞,肝细胞无明显染色。而脾脏 HO-1 蛋白主要定位红髓,白髓无明显染色。脾组织红髓含有大量的巨噬细胞,这也提示脾脏中主要是巨噬细胞表达 HO-1。本研究中甲亢模型鼠肝、脾 HO-1 表达增强的结果提示肝脾对血红素的分解代谢活动

增强,使得衰老红细胞血红素铁再循环增强,这可能是甲亢肝、脾铁储量增加的原因。

另外,资料显示 HO-1 也是机体内最易被诱导产生的抗氧化酶类,缺血再灌注等多种损害因素均可诱导肝组织 HO-1 活性增加^[15],而 HO-1 对由氧化应激损害引起的细胞损伤也具有保护作用^[16]。由于甲亢促进了机体新陈代谢,产热增加,耗氧量增加,这可能引起器官氧自由基增加,氧化应激反应增强。甲亢时肝、脾组织 HO-1 表达增加也可能是机体应对高氧化应激反应的一种细胞保护反应。细胞中游离血红素是一种促氧化剂,当血红素与分子氧反应时,可催化产生活性氧簇(ROS),而 HO-1 可催化血红素降解产生胆绿素、CO 和 Fe^{2+} ,避免对细胞的损伤;铁离子亦能诱导 Fn 的表达,结合催化氧自由基形成所需要的游离铁,从而减轻氧自由基对组织细胞的损伤;胆绿素和胆红素不仅具有抗氧化特性,二者还能通过其他途径发挥细胞保护作用^[17-18]。

总之,本实验发现甲亢可引起肝、脾组织铁含量增加,HO-1 表达增强。增加的铁含量有可能是由于衰老红细胞血红素铁再循环增加所致,而 HO-1 表达增强促进了血红素铁的释放,增高的 HO-1 对肝、脾等重要脏器也可能具有保护作用。

虽然本实验未探讨甲亢时是否红细胞破坏增加,但有资料显示甲亢时心肌收缩力增强,心率加快,血液循环加快。高速血流可引起血管内红细胞破坏增加,加快红细胞衰老速度。另外,甲亢时骨髓红细胞异常生成,幼红细胞数量偏高,但由于存在某种铁利用障碍,而形成一定程度的无效红细胞生成。另外,亦有观点认为血红蛋白具有甲状腺激素的结合位点,结合甲状腺激素的多少可以反映血红蛋白的寿命,甲亢患者高含量的甲状腺激素也必然导致红细胞的寿命缩短。同时动物实验也发现甲亢大鼠红细胞的渗透脆性明显下降^[19]。总之,这些因素均有可能增加了肝脾内巨噬细胞对红细胞的过滤,加快血红素铁在肝脾的再循环,促进肝脾铁储量的增加。因此,本研究结果提示临床上治疗甲亢性贫血时,须慎用补铁疗法,以免加重机体铁超载负担,增加肝脏等重要器官的氧化应激损伤。然而,由于动物实验采用的甲亢造模方法与临床上甲亢患病的机制有一定区别,本研究结果仍需在临床上进一步研究证实。

参考文献

- [1] Omar S, Hadj Taeib S, Kanoun F, et al. Erythrocyte abnormalities in thyroid dysfunction[J]. Tunis Med, 2010, 88(11):783-788.
- [2] 赵笑燕,王淑芳,于正翠.以贫血为主要表现的甲亢 1 例[J].实用医学杂志,2010,26(3):376.
- [3] 赵晋英,王培培,黄作良,等.甲状腺功能亢进性贫血与机体铁代谢关系的研究进展[J].广东医学,2014,35(4):611-613.
- [4] Meynard D, Babitt JL, Lin HY. The liver: conductor of systemic Iron balance[J]. Blood, 2014, 123(2):168-176.
- [5] Kong WN, Lei YH, Chang YZ. The regulation of Iron metabolism in the mononuclear phagocyte system[J]. Expert Rev Hematol, 2013, 6(4):411-418.
- [6] 张彬,毕建玲,李金源,等.即刻负载微种植体在甲亢大鼠

- 模型中支抗稳定性的研究[J]. 口腔医学研究, 2011, 27(3):183-186.
- [7] Meguro R, Asano Y, Odagiri S, et al. Nonheme-iron histochemistry for light and electron microscopy: a historical, theoretical and technical review[J]. Arch Histol Cytol, 2007, 70(1):1-19.
- [8] Waldvogel-Abramowski S, Waeber G, Gassner C, et al. Physiology of Iron metabolism[J]. Transfus Med Hemoth, 2014, 41(3):213-221.
- [9] De Campos Mazo DF, De Vasconcelos GB, Pereira MA, et al. Clinical spectrum and therapeutic approach to hepatocellular injury in patients with hyperthyroidism[J]. Clin Exp Gastroenterol, 2013(6):9-17.
- [10] Liew CF, Cheah JS. Thyrotoxicosis-induced hyperferritinaemia[J]. Hosp Med, 2003, 64(2):114.
- [11] 孔卫娜, 段相林, 常彦忠. 单核巨噬细胞系统铁代谢调控机制[J]. 自然科学进展, 2008, 18(6):615-621.
- [12] Immenschuh S, Baumgart-Vogt E, Tan M, et al. Differential cellular and subcellular localization of heme-binding protein 23/peroxiredoxin I and heme oxygenase-1 in rat liver[J]. J Histochem Cytochem, 2003, 51(12):1621-1631.
- [13] Knutson M, Wessling-Resnick M. Iron metabolism in the reticuloendothelial system[J]. Crit Rev Biochem Mol Biol, 2003, 38(1):61-88.
- [14] Wegiel B, Nemeth Z, Correa-Costa M, et al. Heme oxygenase-1: a metabolic nuke[J]. Antioxid Redox Signal, 2014, 20(11):1709-1722.
- [15] Sass G, Barikbin R, Tiegs G. The multiple functions of heme oxygenase-1 in the liver[J]. Z Gastroenterol, 2012, 50(1):34-40.
- [16] Farombi EO, Surh YJ. Heme oxygenase-1 as a potential therapeutic target for hepatoprotection[J]. J Biochem Mol Biol, 2006, 39(5):479-491.
- [17] 杨明, 陈晓春. 血红素氧合酶与肝脏氧化应激[J]. 福建医科大学学报, 2008, 42(4):380-383.
- [18] Origassa CS, Câmara NO. Cytoprotective role of heme oxygenase-1 and heme degradation derived end products in liver injury[J]. World J Hepatol, 2013, 5(10):541-549.
- [19] Yücel R, Ozdemir S, Dar'yerli N, et al. Erythrocyte osmotic fragility and lipid peroxidation in experimental hyperthyroidism[J]. Endocrine, 2009, 36(3):498-502.
- (收稿日期:2016-04-24 修回日期:2016-06-23)
- (上接第 3195 页)
- and STAT3 in human prostate cancer LNCaP-FGC cells[J]. Biomol Ther (Seoul), 2014, 22(5):426-430.
- [8] Burra P, Zanetto A, Rodriguez-Castro KI. HCC criteria for liver transplantation: controversies[J]. Liver Transpl, 2015, 21S(1):S27-31.
- [9] He F, Li J, Mu Y, et al. Downregulation of endothelin-1 by farnesoid X receptor in vascular endothelial cells[J]. Circ Res, 2006, 98(2):192-199.
- [10] Lee KW, Seo YD, Oh SC, et al. What is the best immunosuppressant combination in terms of anti-tumor effect in HCC[J]. Hepatol Res, 2016, 46(6):593-600.
- [11] Su ZZ, Lee SG, Emdad L, et al. Cloning and characterization of SARI (suppressor of AP-1, regulated by IFN)[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(52):20906-20911.
- [12] Schraml BU, Hildner K, Ise W, et al. The AP-1 transcription factor Batf controls T(H)17 differentiation[J]. Nature, 2009, 460(7253):405-409.
- [13] Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF-kappaB puzzle[J]. Cell, 2002, 109 Suppl:S81-96.
- [14] Ma H, Liang X, Chen Y, et al. Decreased expression of BATF2 is associated with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2011, 128(4):771-777.
- [15] Grant CM, Kyprianou N. Epithelial mesenchymal transition (EMT) in prostate growth and tumor progression[J]. Transl Androl Urol, 2013, 2(3):202-211.
- [16] Harikumar KB, Kunnumakkara AB, Sethi G, et al. Resveratrol, a multitargeted agent, can enhance antitumor activity of gemcitabine in vitro and in orthotopic mouse model of human pancreatic cancer[J]. Int J Cancer, 2010, 127(2):257-268.
- [17] Aggarwal BB, Bhardwaj A, Aggarwal RS, et al. Role of resveratrol in prevention and therapy of cancer: preclinical and clinical studies[J]. Anticancer Res, 2004, 24(5A):2783-2840.
- [18] Kuo PL, Chiang LC, Lin CC. Resveratrol-induced apoptosis is mediated by p53-dependent pathway in Hep G2 cells[J]. Life Sci, 2002, 72(1):23-34.
- (收稿日期:2016-04-18 修回日期:2016-06-27)

《重庆医学》对临床研究论文医学伦理学要求

凡投本刊的临床研究论文(主体是以人为研究对象),作者应说明其遵循的程序是否符合负责人体试验的委员会(单位性的、地区性的或国家性的)所制订的伦理学标准,并提供(上传)该委员会的批准文件复印件及受试对象或其亲属的知情同意书复印件。

《重庆医学》编辑部