

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.13.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220328.1321.014.html\(2022-03-29\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220328.1321.014.html(2022-03-29))组蛋白去甲基化酶 NO66 在常见肿瘤中的表达及临床意义^{*}公利鑫¹,程双华¹,段文芳¹,李静怡^{1,2},唐茂森^{2△}

(1. 成都医学院第二附属医院/核工业四一六医院,四川 610051;2. 成都医学院,四川 610500)

[摘要] **目的** 探讨组蛋白去甲基化酶 NO66 在结肠癌、前列腺癌、肝癌、肺癌、胶质瘤等 5 种常见肿瘤中的表达、患者预后及临床意义,讨论其是否可作为药物的潜在靶点。**方法** 收集结肠癌组织样本 18 例,前列腺癌组织样本 13 例,肺癌组织样本 20 例,肝癌组织样本 18 例,胶质瘤组织样本 5 例。利用苏木精-伊红(HE)染色确定 5 种肿瘤组织的基本形态结构,利用免疫组织化学法处理 5 种肿瘤组织样本,确定 NO66 在 5 种肿瘤组织中的分布情况。检测结肠癌 HCT116、前列腺癌 PC-3、肝癌 HepG-2、肺癌 A549、胶质瘤 LN229 细胞中 NO66 蛋白表达水平。通过 TCGA 数据库分析 NO66 表达高低与肿瘤患者生存率、肿瘤分级分期和免疫细胞浸润的关系。**结果** 结肠癌组织 NO66 表达最高,前列腺癌组织中等表达,肺癌、肝癌、胶质瘤组织低表达。NO66 与胶质瘤患者不良预后相关,且与免疫细胞浸润呈明显正相关。**结论** NO66 可作为胶质瘤患者不良预后的标志物,其机制可能是通过参与免疫细胞浸润过程发挥作用。

[关键词] NO66;胶质瘤;组蛋白去甲基化酶;免疫细胞浸润**[中图分类号]** R730.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)13-2177-07

Expression and clinical significance of histone demethylase NO66 in common tumors^{*}

GONG Lixin¹,CHENG Shuanghua¹,DUAN Wenfang¹,LI Jingyi^{1,2},TANG Maosen^{2△}(1. Second Affiliated Hospital of Chengdu Medical College/Nuclear Industry 416 Hospital,
Chengdu,Sichuan 610051,China;2. Chengdu Medical College,
Chengdu,Sichuan 610500,China)

[Abstract] **Objective** To explore the expression level of histone demethylase (NO66) in colon cancer, prostate cancer,liver cancer,lung cancer and glioma,patient prognosis and clinical significance,and to discuss whether it can be used as a potential drug target. **Methods** Eighteen samples of colon cancer tissue,13 samples of prostate cancer tissue,20 samples of lung cancer tissue,18 samples of liver cancer tissue and 5 samples of glioma tissue were collected. The HE staining method was used to determine the basic morphological structure of the five kinds of tumor tissues,and the immunohistochemical method was used to process the samples of 5 kinds of tumor to determine the distribution of NO66 in these five kinds of tumor tissues. The protein expression level of NO66 in HCT116 (colon cancer),PC-3 (prostate cancer),HepG-2 (liver cancer),A549 (lung cancer) and LN229 (glioma) cells were detected. The TCGA database was used to analyze the relationship between the expression of NO66 in tumor patients and the survival rate,tumor grade and stage,and immune cell infiltration. **Results** The NO66 expression was the highest in colon cancer tissue,moderately expressed in prostate cancer tissue,and lowly expressed in lung cancer,liver cancer,and glioma tissues. NO66 was correlated to the poor prognosis of the patients with glioma,moreover had significantly positive correlation with the immune cell infiltration. **Conclusion** NO66 could serve as a marker of poor prognosis in the patients with glioma,and its mechanism plays the role possibly through participating in the process of immune cell infiltration.

[Key words] NO66;glioma;histone demethylase;immune cell infiltration

^{*} 基金项目:国家自然科学基金项目(81772692);成都医学院科研基金项目(CYZYB20-16)。 作者简介:公利鑫(1994—),研究实习生,硕士,主要从事放射医学和肿瘤学研究。 [△] 通信作者,E-mail:1499870929@qq.com。

癌症是世界公众健康主要问题之一,自 2010 年以来癌症已成为我国人民最主要的死亡原因。目前,癌症的治疗主要以手术为主,放化疗为辅,疗效与癌症的种类及癌症进展快慢密切相关。

最近有研究表明,组蛋白修饰在肿瘤的发生和发展中具有重要作用^[1-2]。组蛋白修饰因子的改变导致转录程序终止,从而导致细胞表型发生剧烈变化。已有文献报道,组蛋白甲基化状态与癌症进展和转移密切相关^[3]。组蛋白甲基化可由其甲基化位点不同影响染色质结构而不改变 DNA 序列,进一步影响转录因子对基因启动子区域的访问,影响转录功能,最终影响基因表达。染色质组蛋白修饰被认为是调控基因表达的第二遗传密码,甲基化修饰通常发生在组蛋白 N 端,将被一系列特定蛋白所识别,从而实现对特定基因表达的调节^[4]。截止目前,已发现的组蛋白去甲基化酶(Jumonji domain-containing histone demethylase, JMJD)主要有两类,一类是含 A-mino oxidase 结构域的赖氨酸特异性去甲基化酶家族^[5];另一类是含 Jumonji C 特征结构域的 JMJD 家族^[6]。JMJD 家族是一类重要的去甲基化酶,可催化组蛋白 H3 多个位点赖氨酸的去甲基修饰,从而调节特定基因表达^[7]。Jumonji C 结构域含氧蛋白属于一个具有不同底物特异性的加氧酶家族,参与调控不同的生物过程,如基因转录、RNA 加工和翻译^[8]。

NO66 是 JMJD 家族成员之一,以四聚体形式组装,在细胞核和核仁中均有发现^[9]。识别赖氨酸 4、36 作为底物,并抑制靶基因的转录基因^[10],且已有文献报道,NO66 与致癌转录因子——MYC 原癌基因(MYC Proto-Oncogene, c-MYC)相互作用,促进以 c-MYC 为中心的致癌转录程序^[11]。c-MYC 在大多数人类恶性肿瘤中均高表达,而且其表达还与肿瘤的侵袭性密切相关^[12]。此外,NO66 还催化 60S 核糖体蛋白 L8(ribosomal protein L8, RPL8)等蛋白质的组氨酸羟甲基化^[13],从而调节蛋白质合成。另有研究表明,NO66 与 zeste 同源物 2 增强子相互作用, zeste 同源物 2 是致癌多梳抑制复合物 2 的重要组成部分,并协调调控胚胎干细胞中的靶基因单元格^[14]。基于这些发现,可以设想 NO66 在人类恶性肿瘤中作为一种肿瘤特异性组蛋白修饰物发挥作用。

目前,已有诸多研究表明,NO66 在结直肠癌、前列腺癌、胶质瘤中发挥着重要作用。在结肠癌细胞中敲除 NO66 基因后发现,癌细胞增殖能力及迁移能力显著降低。数据库分析结果显示,NO66 与肿瘤的转移、淋巴结转移密切相关,但其机制并不清楚^[15]。在胶质瘤细胞中表皮生长因子受体(Epidermal growth factor receptor, EGFR)是胶质母细胞瘤的关键致瘤因子。敲低 NO66 基因后降低了胶质母细胞瘤细胞

中 EGFR 的表达和细胞增殖能力。NO66 是 EGFR 表达和胶质母细胞瘤细胞增殖所必需的,高水平 NO66 表达也可预测患者预后不良。NO66 与肿瘤的发生和发展已有相关报道,但其研究较少见,因此,NO66 具有重要的研究意义。

1 材料与方法

1.1 材料

人前列腺癌细胞 PC-3、人非小细胞肺癌细胞 A549、人肝癌细胞 HepG2、人胶质瘤细胞 LN229、人结肠癌细胞 HCT116 均为本课题保种。收集结肠癌组织样本 20 例,前列腺癌组织样本 14 例,肝癌组织样本 18 例,肺癌组织样本 20 例,胶质瘤样本 5 例。鼠抗人 NO66 单克隆抗体、山羊抗鼠甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)单克隆抗体均购自美国 Santa Cruz 公司,蛋白定量试剂盒购自美国 Thermo 公司,杜氏改良 Eagle 培养基(Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM)、RPMI-1640 培养基、胎牛血清均购自以色列 BI 公司,化学发光试剂(enhanced chemiluminescence, ECL)购自美国 Millipore 公司,苏木素、伊红均购自武汉塞维尔公司,二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)免疫组织化学(免疫组化)试剂盒购自南京建成公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

将细胞置于 DMEM、RPMI-1640 培养基(含 10% 胎牛血清)培养,生长至 90% 左右融合度时传代培养,取对数生长期、生长状态良好的细胞用于后续实验。

1.2.2 Western blot 检测细胞 NO66 蛋白水平

取收集的细胞加入细胞裂解液裂解细胞,12 000 r/min 离心 10 min,取上清液,BCA 法测定蛋白水平,取 20 μ g 蛋白煮沸变性 10 min,十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺电泳,转入聚偏氟乙烯膜,加入脱脂奶粉封闭 2 h,加入一抗(1:200)孵育过夜,加入二抗(1:10 000)孵育 2 h,以 GAPDH 为内参,ECL 法发光显色,凝胶成像系统采集图像。

1.2.3 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色

将临床组织石蜡包埋样本切片后通过烤片、二甲苯脱蜡、梯度乙醇复水(无水乙醇-70%乙醇)、苏木素染色 3 min 和伊红染色 1 min,中性树脂封片。

1.2.4 免疫组化染色

将临床组织石蜡包埋样本切片后烤片、二甲苯脱蜡、梯度乙醇复水(无水乙醇-70%乙醇)、过氧化氢(3%)封闭内源性过氧化物酶 30 min、抗原修复、胎牛血清封闭 1 h、孵育一抗过夜、二抗 1 h、DAB 显色、苏木精染色、中性树脂封片。病理评分由核工业四一六医院病理科完成。

1.3 预后及临床意义分析

通过肿瘤和癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库分析 NO66 表达高低与结肠癌、前列腺癌、肝癌、肺癌、胶质瘤患者生存率、肿瘤分级分期和免疫细胞浸润的关系。

1.4 统计学处理

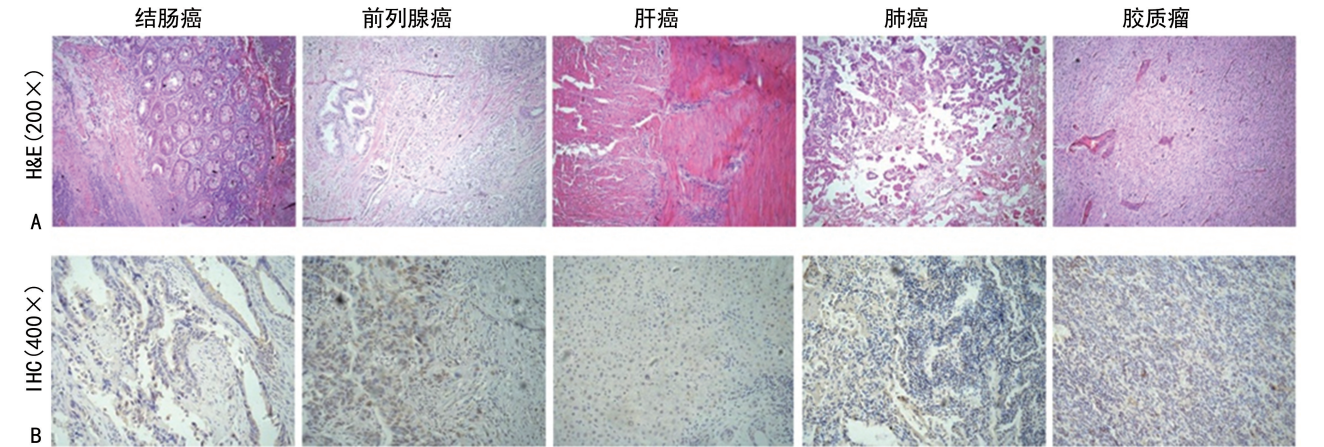
采用 TCGA 数据库与 R 包 limma、survival 与 GRPIA、TIMER 数据库进行数据分析。满足正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不满足正态分布计量资料

以中位数 (四分位间距) [$M(P_{25}, P_{75})$] 表示, 比较采用 t 检验; 计数资料以例数或率表示, 采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 5 种常见肿瘤组织 NO66 蛋白表达

结肠癌组织 NO66 表达最高, 前列腺癌组织 NO66 中度表达, 肺癌、肝癌组织 NO66 不表达。见图 1、表 1~4。由于胶质瘤组织样本较少, 参考意义不大, 但已有研究表明, NO66 在胶质瘤中具有重要作用。



A: HE 染色 (200×); B: 免疫组化 (400×)。

图 1 5 种常见肿瘤组织 NO66 HE 染色、免疫组化结果

表 1 结肠癌组织 NO66 蛋白表达及与病理特征的关系 (n)

病理特征	n	强度			
		—	+	++	+++
结肠癌旁组织	20	18	2	0	0
结肠癌组织	18	6	3	6	3
分化程度					
低分化	1	1	0	0	0
中分化	14	2	3	6	3
高分化	3	3	0	0	0
组织学类型					
溃疡性腺癌	13	3	2	5	3
隆起性腺癌	1	1	0	0	0
浸润性腺癌	4	2	1	1	0

表 2 前列腺癌组织 NO66 蛋白表达及与病理特征的关系 (n)

病理特征	n	强度			
		—	+	++	+++
前列腺癌旁组织	14	13	1	0	0
前列腺癌组织	13	7	3	2	1
组织学类型					
前列腺腺癌	14	8	2	3	1

表 3 肝癌组织 NO66 蛋白表达及与病理特征的关系 (n)

病理特征	n	强度			
		—	+	++	+++
肝癌旁组织	20	20	0	0	0
肝癌组织	18	16	1	1	0
分化程度					
低分化	2	2	0	0	0
中分化	13	11	1	1	0
高分化	5	5	0	0	0
组织学类型					
原发性肝癌	19	17	1	1	0
继发性肝癌	1	1	0	0	0

表 4 肺癌组织 NO66 蛋白表达及与病理特征的关系 (n)

病理特征	n	强度			
		—	+	++	+++
肺癌旁组织	14	14	0	0	0
肺癌组织	20	15	3	2	0
分化程度					
低分化	5	5	0	0	0
中分化	10	6	2	2	0
高分化	5	4	1	0	0

续表 4 肺癌组织 NO66 蛋白表达及与病理特征的关系(*n*)

病理特征	<i>n</i>	强度			
		—	+	++	+++
组织学类型					
浸润性腺癌	11	7	2	2	0
原位性腺癌	6	5	1	0	0
微浸润性腺癌	3	3	0	0	0

2.2 5 种常见肿瘤细胞 NO66 蛋白表达

结肠癌 HCT116 细胞 NO66 高表达,前列腺癌 PC-3 细胞 NO66 表达次之,肺癌 A549 细胞、肝癌 HepG2 细胞 NO66 不表达。见图 2。

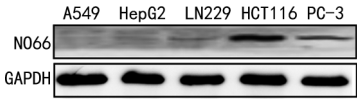


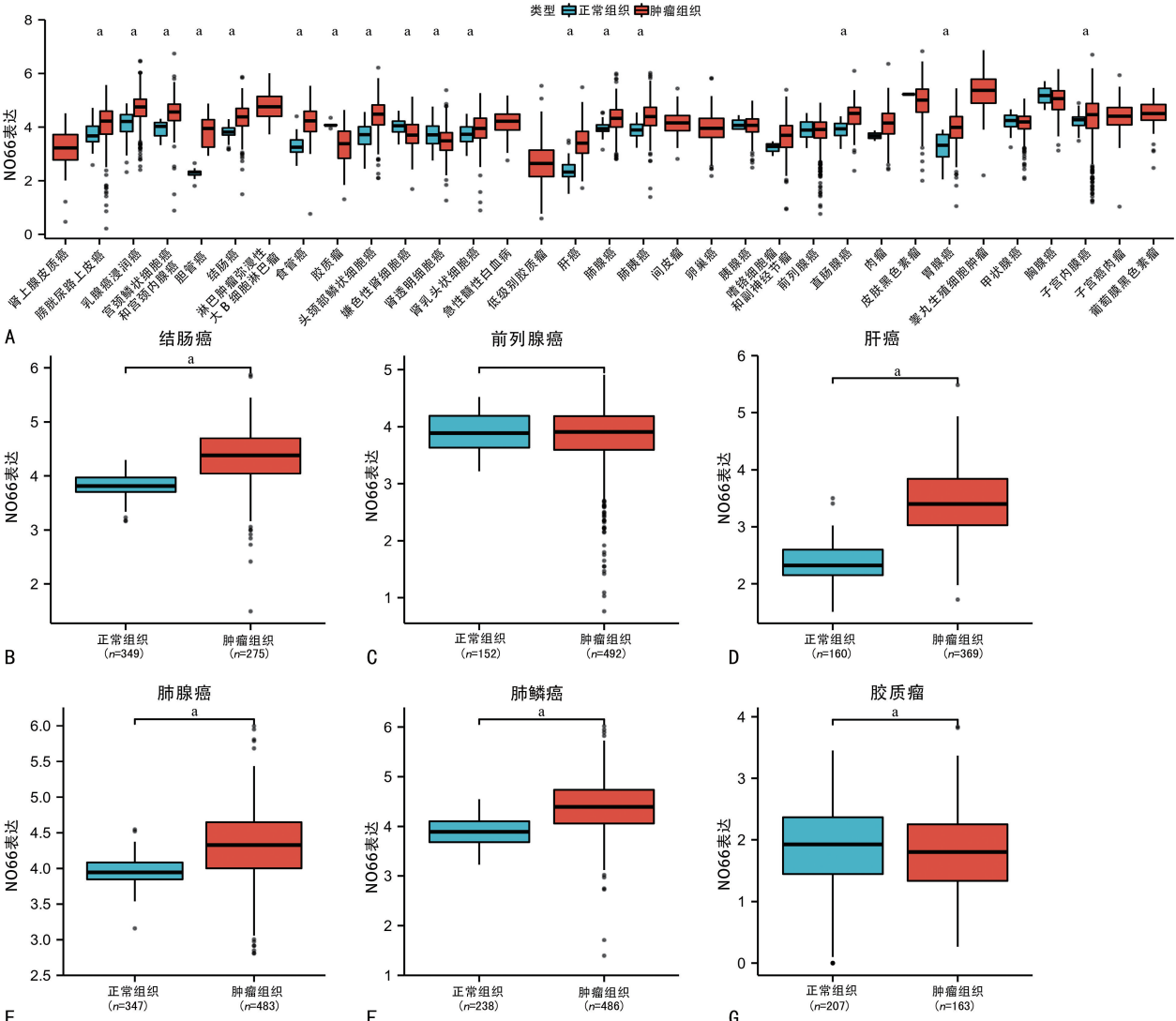
图 2 5 种常见肿瘤细胞 NO66 蛋白表达

2.3 33 种肿瘤 NO66 表达分析

为探索 NO66 在肿瘤发生过程中的作用,通过泛癌分析方法分析了 NO66 在 33 种肿瘤中的表达,见图 3A。与正常数据比较,14 种肿瘤 NO66 表达明显上调,包括结肠癌(COAD)、肝癌(LIHC)、肺鳞癌(LUSC)、肺腺癌(LUAD)和胶质瘤(GBM),3 种肿瘤 NO66 表达明显下调。除前列腺癌 NO66 表达无差异外,其余 5 种肿瘤 NO66 表达均明显上调,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见图 3B~G。

2.4 NO66 评估肿瘤患者预后的价值

NO66 对结肠癌、前列腺癌、肝癌、肺鳞癌、肺腺癌、胶质瘤等 6 种肿瘤患者总生存期(overall survival, OS)和无复发生存期(recurrence-free survival, RFS)的影响见图 4、5。6 种肿瘤患者中只有胶质瘤患者 NO66 表达增加,提示 OS、RFS 预后不良,见图 4F、5F。



A:NO66 基于 TCGA 肿瘤与正常数据的表达分析;B~G:NO66 基于 TCGA 与 GTEx 数据的表达分析;^a: $P<0.05$,与正常数据比较。

图 3 33 种肿瘤 NO66 表达分析

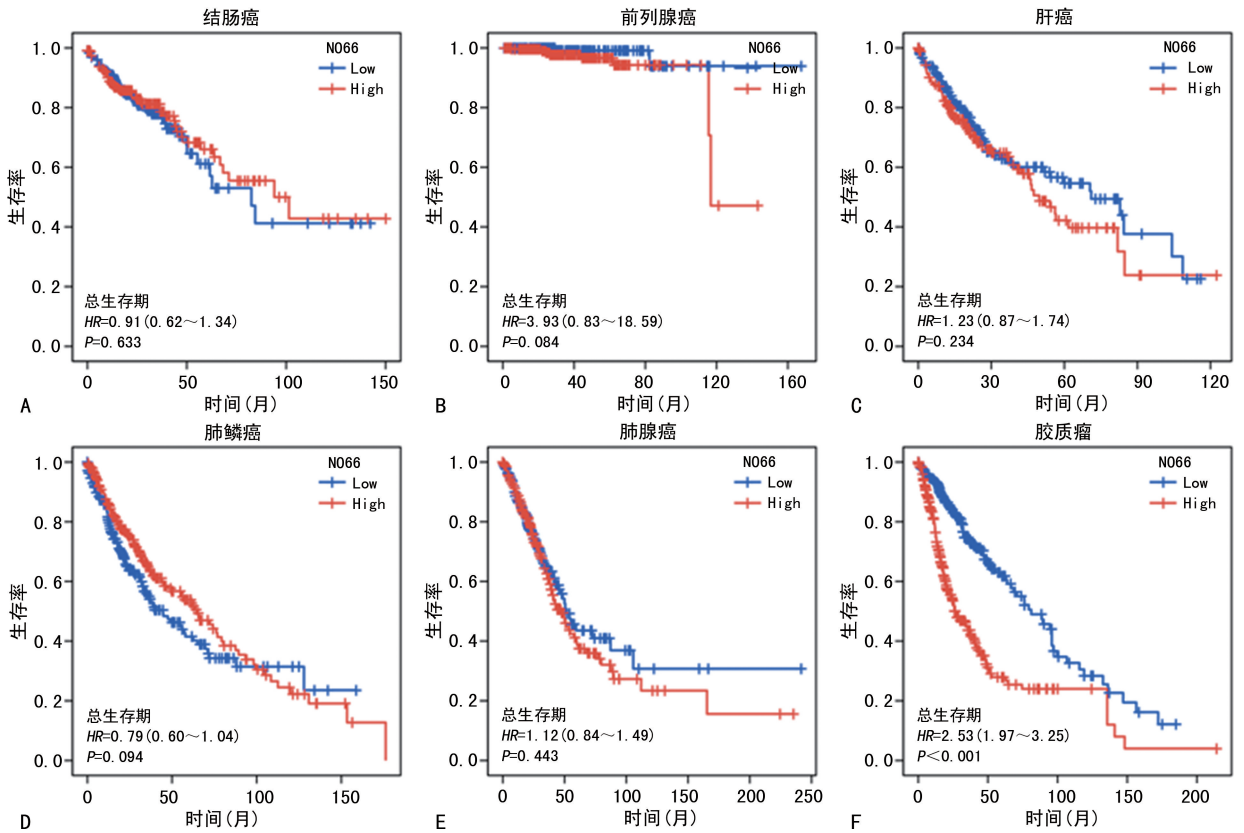


图 4 NO66 对 6 种肿瘤患者 OS 的影响

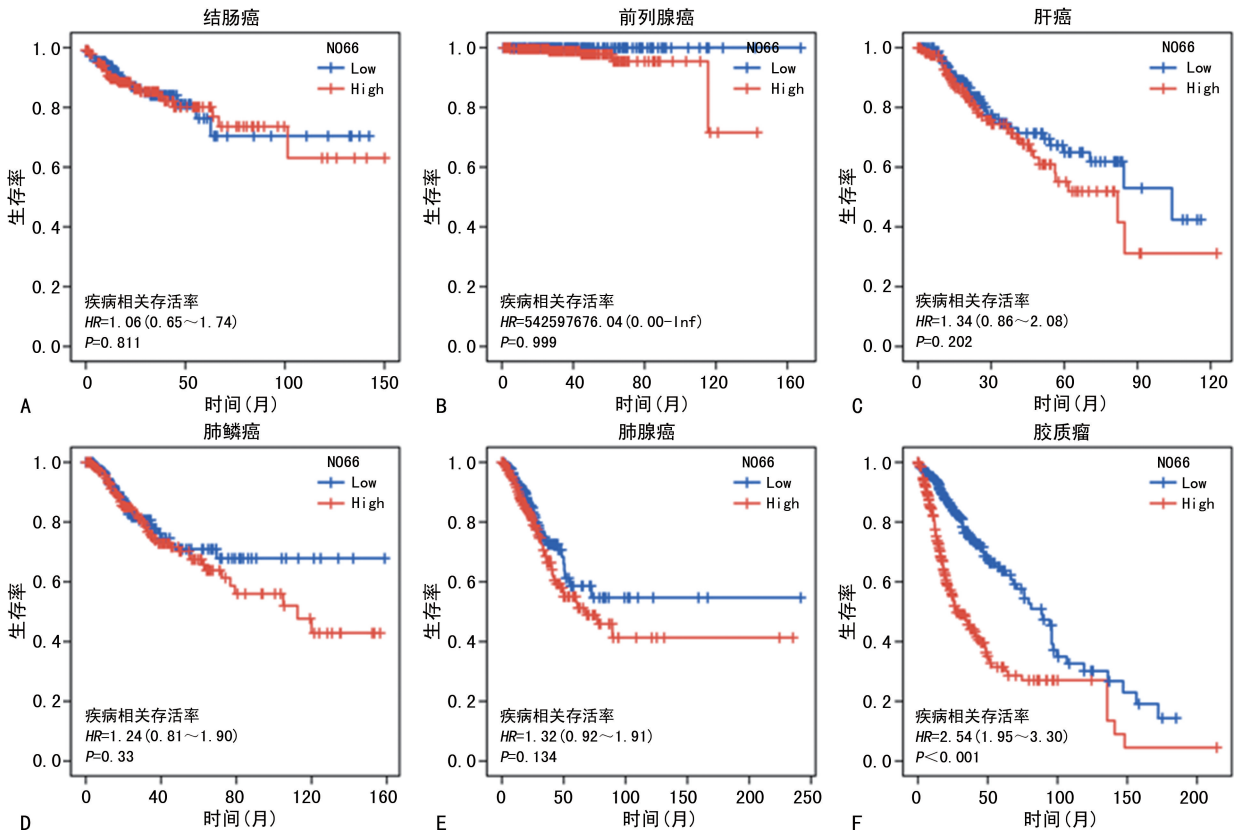


图 5 NO66 对 6 种肿瘤患者 RFS 的影响

2.5 NO66 在胶质瘤中的临床价值

NO66 高表达肿瘤恶性程度高、预后差。见表 5。

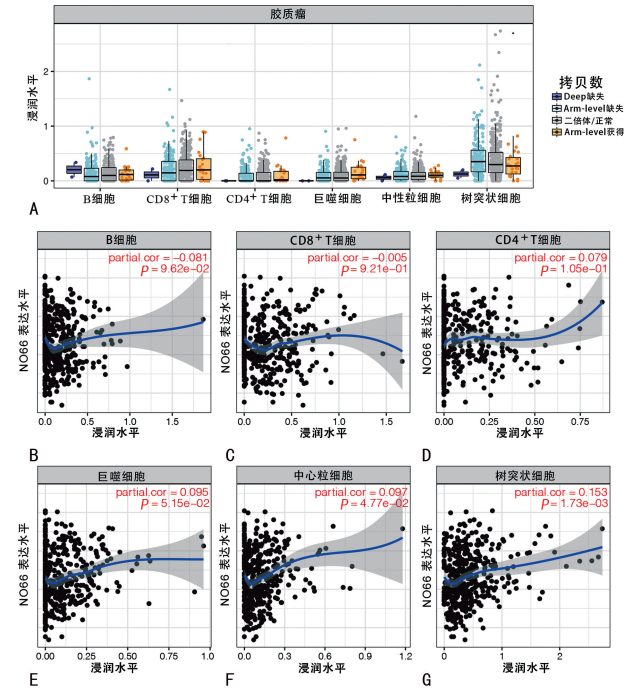
2.6 NO66 与胶质瘤中免疫细胞浸润的关系

不同拷贝数 NO66 在胶质瘤 (GBM) 中的浸润程

度见图 6A。不同拷贝数 NO66 在胶质瘤的免疫细胞——T 淋巴细胞与巨噬细胞浸润水平有明显变化。NO66 表达水平与巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞浸润均呈明显正相关。见图 6B~G。

表 5 TCGA 数据库确定的 NO66 与胶质瘤的
临床基本信息

特征	低表达 NO66 (n=348)	高表达 NO66 (n=348)	χ^2/t	P
WHO 等级[n(%)]			54.62	0.001
G2	141 (22.2)	83 (13.1)		
G3	124 (19.5)	119 (18.7)		
G4	43 (6.8)	125 (19.7)		
IDH 状态[n(%)]			155.1	0.001
WT	45 (6.6)	201 (29.3)		
Mut	300 (43.7)	140 (20.4)		
1p/19q 缺失[n(%)]			56.54	0.001
缺失	129 (18.7)	42 (6.1)		
未缺失	217 (31.5)	301 (43.7)		
年龄[M(P_{25} , P_{75}), 岁]	43 (34.54)	49 (35.61)	51.491	0.001



A:不同拷贝数 NO66 在胶质瘤 (GBM) 中的浸润程度; B~G:胶质瘤 NO66 表达水平与 B 细胞、CD8⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞浸润水平的相关性。

图 6 NO66 与胶质瘤中免疫细胞浸润的关系

3 讨 论

JMJD 蛋白家族中有 17 种酶被认为是组蛋白去甲基化酶。尽管这些家族成员中的一些如 JMJD2、JARID 被认为是有前途的候选靶点,但其在实体肿瘤中的有效性和不良反应仍存在争议。本研究重点探讨了 JMJD 家族中的一种 NO66,该酶已被证实与致癌转录因子——c-MYC 协同工作^[11],并且与 RPL8 关系密切^[16-17],提示其可能是一种关键性的肿瘤标志物。

本研究通过免疫组化方法确定 NO66 在肿瘤组织样本中的基本表达情况后,后续又通过 Western blot 试验进行了验证,得到 NO66 在结肠癌组织、前

列腺癌组织中有较高表达的结论。后续的统计分析结果没有达到预想的结果,反而在表达不高的胶质瘤中具有一定的生物标志物价值。但也不影响 NO66 作为一个重要标志物参与癌症的发生过程的结论。目前,对 NO66 的研究国内外均较少见,作为一个新的标志物,毫无疑问其前途是很宽广的,后续会继续开展相关研究,深入探讨 NO66 的作用机制。

为进一步了解 NO66 参与肿瘤发生中的过程,本研究统计了大量患者在生存率、病理分级、分期方面的数据,遗憾的是,NO66 表达高低与以上病理指标少有关系,得出的唯一结论是与胶质瘤的发生和发展有关。据文献报道,NO66 在胶质瘤中通过激活 EGFR 和 c-MYC 的表达,促进胶质瘤细胞增殖^[18]。已知 NO66 是一个多聚体,多聚体的结构是否是其发挥重要作用的必要条件,查阅文献后得知,当 NO66 以四聚体形式组装时对 RPL8 的羟基化催化效率最高。以各种方式破坏四聚体组装会导致催化活性的损失。NO66 的低聚化可能会影响催化过程中每个亚基的运动,从而控制活性。大量研究证实,肿瘤免疫细胞浸润可影响放化疗和免疫治疗的疗效和患者预后^[19-20]。本研究结果显示,免疫细胞增多与 NO66 表达水平呈正相关,包括胶质瘤中的巨噬细胞、中性粒细胞和树突状细胞。表明肿瘤免疫浸润可能部分揭示了 NO66 介导胶质瘤的发生和发展,提示 NO66 可作为胶质瘤一个关键的生物标志物。

综上所述,本研究阐述了 NO66 在多种类型肿瘤中高表达(包括胶质瘤),并且与胶质瘤患者的不良预后相关。此外,本研究还表明,NO66 可能通过增加肿瘤免疫细胞浸润发挥致癌作用,然而这些结果还需在未来得到更多的基础和临床研究验证。

参考文献

- [1] REGADAS I, DAHLBERG O, VAID R, et al. A unique histone 3 lysine 14 chromatin signature underlies tissue-specific gene regulation[J]. Mol Cell, 2021, 81(8): 1766-1780.
- [2] LI N, LI Y, LV J, et al. ZMYND8 Reads the Dual histone mark H3K4me1-H3K14ac to antagonize the expression of metastasis-linked genes[J]. Mol Cell, 2016, 63(3): 470-484.
- [3] LIU M, ZHANG Y, YANG J, et al. Zinc-Dependent regulation of ZEB1 and YAP1 coactivation promotes epithelial-Mesenchymal transition plasticity and metastasis in pancreatic cancer [J]. Gastroenterology, 2021, 160 (5): 1771-1783.
- [4] BABY S, GURUKKALA VALAPIL D, SHANKARIAH N. Unravelling KDM4 histone dem-

- ethylase inhibitors for cancer therapy[J]. *Drug Discov Today*, 2021, 26(8):1841-1856.
- [5] KIM D, KIM K I, BAEK S H. Roles of lysine-specific demethylase 1 (LSD1) in homeostasis and diseases[J]. *J Biomed Sci*, 2021, 28(1):41.
- [6] OH S, SHIN S, JANKNECHT R. The small members of the JMJD protein family: Enzymatic jewels or jinxes? [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2019, 1871(2):406-418.
- [7] SUI Y, GU R, JANKNECHT R. Crucial functions of the JMJD1/KDM3 epigenetic regulators in cancer[J]. *Mol Cancer Res*, 2021, 19(1):3-13.
- [8] WU L, CAO J, CAI W L, et al. KDM5 histone demethylases repress immune response via suppression of STING[J]. *PLoS Biol*, 2018, 16(8):e2006134.
- [9] DENG H, YU B, YU Y, et al. NO66 overexpression rescues ethanol-induced cell apoptosis in human AC16 cardiomyocytes by suppressing PTEN and activating the PI3K/Akt signaling [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2020, 52(10):1093-1101.
- [10] WANG Q, LIU P Y, LIU T, et al. The histone demethylase NO66 induces glioma cell proliferation[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(11):6007-6014.
- [11] HUA Q, JIN M, MI B, et al. LINC01123, a c-Myc-activated long non-coding RNA, promotes proliferation and aerobic glycolysis of non-small cell lung cancer through miR-199a-5p/c-Myc axis[J]. *J Hematol Oncol*, 2019, 12(1):91.
- [12] SCAFURO M, CAPASSO L, CARAFA V, et al. Gene transactivation and transrepression in MYC-Driven cancers[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(7):3458.
- [13] BRÄUER K E, BROCKERS K, MONEER J, et al. Phylogenetic and genomic analyses of the ribosomal oxygenases Riox1 (No66) and Riox2 (Mina53) provide new insights into their evolution[J]. *BMC Evol Biol*, 2018, 18(1):96.
- [14] HUANG J, ZHANG J, GUO Z, et al. Easy or Not-the advances of EZH2 in regulating T cell development, differentiation, and activation in antitumor immunity[J]. *Front Immunol*, 2021, 12:741302.
- [15] NISHIZAWA Y, NISHIDA N, KONNO M, et al. Clinical significance of histone demethylase NO66 in invasive colorectal cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2017, 24(3):841-849.
- [16] AHMADI S E, RAHIMI S, ZARANDI B, et al. MYC: a multipurpose oncogene with prognostic and therapeutic implications in blood malignancies[J]. *J Hematol Oncol*, 2021, 14(1):121.
- [17] HALL Z, WILSON C H, BURKHART D L, et al. Myc linked to dysregulation of cholesterol transport and storage in non-small cell lung cancer[J]. *J Lipid Res*, 2020, 61(11):1390-1399.
- [18] WANG Q, LIU P Y, LIU T, et al. The histone demethylase NO66 induces glioma cell proliferation[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(11):6007-6014.
- [19] LYU L, YAO J, WANG M, et al. Overexpressed pseudogene HLA-DPB2 promotes tumor immune infiltrates by regulating HLA-DPB1 and indicates a better prognosis in breast cancer[J]. *Front Oncol*, 2020, 10:1245.
- [20] TESSIER-CLOUTIER B, TWA D D, MARZBAN M, et al. The presence of tumour-infiltrating neutrophils is an independent adverse prognostic feature in clear cell renal cell carcinoma[J]. *J Pathol Clin Res*, 2021, 7(4):385-396.

(收稿日期:2021-10-18 修回日期:2022-03-08)

(上接第 2176 页)

- 呋喃香豆素类衍生物的设计合成与活性评价[J]. *西北大学学报(自然科学版)*, 2014, 44(4):573-577.
- [17] 宋鑫, 张俊, 魏立强, 等. 黄芪多糖抑制结肠癌 HT-29 细胞生长作用研究[J]. *重庆医学*, 2019, 48(17):2899-2902.
- [18] 郑乐. 细胞周期蛋白依赖性激酶抑制因子 3 在宫颈癌中表达及临床意义[J]. *临床军医杂志*, 2021, 49(3):264-266.
- [19] 曹祥燎, 张路, 钱峰. 五味子酯甲抑制头颈癌 HN4 细胞增殖和诱导凋亡的机制研究[J]. *山西医科大学学报*, 2021, 52(4):429-436.
- [20] 周晓红, 卢晓丽, 杨雪, 等. 熊果酸对喉癌 Hep-2 细胞 bcl-2、Bax 基因表达和凋亡影响[J]. *中国实验诊断学*, 2021, 25(3):434-437.

(收稿日期:2021-12-18 修回日期:2022-02-11)