

李华驰,熊治国,谢敏,等. 结肠癌肝转移裸鼠模型的建立 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(5): 63–68.

Li HC, Xiong ZG, Xie M, et al. Establishment of a nude mouse model of colon cancer liver metastasis [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(5): 63–68.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.05.010

结肠癌肝转移裸鼠模型的建立

李华驰¹,熊治国¹,谢 敏¹,谈 凯¹,殷 涛¹,冯茂辉^{2*}

(1. 湖北省肿瘤医院胃肠外科,武汉 430079;2. 武汉大学中南医院胃肠外科,武汉 430000)

【摘要】 目的 构建一种转移率高、操作简便、结果可靠的结肠癌肝转移模型,用于结肠癌转移防治的实验研究。方法 15只 Balb/c 裸鼠平均分为3组(A组、B组、C组),5只 Balb/c 小鼠单独为D组,以细胞浓度 $2.5 \times 10^7/\text{mL}$ 的 HCT116、CT26 细胞悬液 0.2 mL 分别行脾种植保脾法及切脾法构建结肠癌肝转移模型,对比四组动物模型造模成功率及肝转移灶大小、数目及腹腔内转移情况。结果 A组裸鼠造模成功率 100%(5/5),肝及脾均成瘤,肝转移瘤数目较少,较分散,多分布于肝右叶,生存时间平均为 (26.6 ± 3.4) d;B组裸鼠造模成功率 40%(2/5),转移瘤分散于肝表面,体积较A组大,生存时间平均为 (36.8 ± 4.2) d;C组裸鼠造模成功率 100%(5/5),肝及脾均成瘤,肝转移瘤数目较多,多个转移瘤融合成团,占据整个肝右叶,生存时间平均为 (20.2 ± 2.6) d;D组肝未发现转移灶。三组裸鼠部分出现腹腔转移(A组2只,C组3只),均未出现心、肺、脑、肾转移灶。3组裸鼠肝转移瘤组织细胞学形态符合腺癌的特征。结论 保脾法能获得较高的造模成功率,能有效模拟人类结肠癌细胞经血行转移至肝的途径和过程。

【关键词】 结肠癌;肝转移;裸鼠

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856(2019) 05-0063-06

Establishment of a nude mouse model of colon cancer liver metastasis

LI Huachi¹, XIONG Zhiguo¹, XIE Min¹, TAN Kai¹, YIN Tao¹, FENG Maohui^{2*}

(1. Department of Gastrointestinal Surgery, Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430079, China.

2. Department of Gastrointestinal Surgery, Central South Hospital, Wuhan University, Wuhan 430000)

【Abstract】 **Objective** To establish a mouse model of colon cancer liver metastasis with high metastasis rate, simple operation and reliable outcome, and to serve the studies on prevention and treatment of colon cancer metastasis. **Methods** Fifteen BALB/c nude mice were divided into 3 groups of 5 mice each (A, B, and C), and group D consisting of 5 wild type BALB/c mice. We established four colon cancer metastasis models: spleen planted, spleen preserving, and splenectomy method using 0.2 mL of HCT116 or CT26 cell suspension with a cell concentration of $2.5 \times 10^7/\text{mL}$, respectively. We compared the success rates of modeling in the four groups as well as intra-abdominal metastasis, and liver metastasis size and number. **Results** The success rate of the group A was 100% (5/5). The number of liver metastases in the group A was low, dispersed, and located in the right lobe of the liver. The mean survival time was $(26.6 + 3.4)$ days. The success rate of Group B was 40% (2/5). Metastatic tumors in the group B were scattered on the surface of the liver, and the volume was larger than the group A. The mean survival time was (36.8 ± 4.2) days. The success rate of the group C was 100% (5/5). The number of liver metastases in the group C was higher than in the other groups, and multiple

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(81770283);湖北省自然科学基金计划项目(2016CFB358)。

[作者简介] 李华驰(1990—),男,硕士,住院医师,主要研究方向:胃肠道肿瘤的综合治疗。E-mail: lihuachi187hua@qq.com

[通信作者] 冯茂辉(1966—),男,汉,博士,副教授,硕士生导师,研究方向:结直肠癌肝转移的综合治疗。E-mail: fengmh5690@163.com

metastatic tumors fused into a mass occupying the right lobe of the liver. The mean survival time was (20.2 ± 2.6) days. No metastasis was found in the group D. Peritoneal metastasis occurred in the three groups of nude mice ($n=2$ in Group A, $n=3$ in Group C) without heart, lung, brain, or kidney metastasis. The histopathological examination of liver metastases conformed to the characteristics of adenocarcinoma. **Conclusions** The spleen preserving method shows the highest rate of model establishment, and effectively simulates the route and process of human colon cancer cells travelling to the liver by the blood circulation.

【Keywords】 colon cancer; liver metastasis; nude mice

结肠癌血行转移最常见的靶器官是肝,约 50% 以上的患者最终会出现肝转移^[1]。目前根治性手术切除是唯一能根治结肠癌的方法,但手术切除后仍有 20%~50% 患者出现肝转移,5 年生生存率低于 10%^[2]。因此结肠癌肝转移是影响患者预后的最主要因素。研究和建立结肠癌肝转移的动物模型,对于结肠癌肝转移的防治具有重要意义。目前裸鼠造模方法主要有脾注射法、门静脉注射法、盲肠原位种植、肝注射等^[3]。他们的优缺点及适用范围仍有争论。本实验采用脾注射法模拟结肠癌细胞经血行转移至肝的途径和过程,采用保脾法及切脾法两种方式构建裸鼠肝转移模型,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞

鼠结肠癌细胞 CT26 购自武汉大学中国典型培养物保藏中心,人结肠癌细胞 HCT116 由肿瘤生物学行为湖北省重点实验室提供。

1.1.2 实验动物

SPF 级雄性 Balb/c 裸鼠 15 只,体重 20~24 g, 6~8 周龄,SPF 级雄性 Balb/c 小鼠 5 只,体重 20~24 g, 6~8 周龄,均购自武汉大学动物实验中心 [SCXK(鄂)2016-0016],均放置于武汉大学 A3 实验室饲养并于武汉大学动物试验中心进行实验 [SYXK(鄂)2018-0004]。根据生物安全及生物伦理指导原则,实验动物饲养和实验过程中均按实验动物 3R 原则给予人道的关怀。本研究实验动物福利伦理委员会的批准号:201801006。

1.2 主要试剂与仪器

1640 培养基 (Hyclone 公司)、MEM 培养基 (Hyclone 公司)、胎牛血清 (Hyclone 公司)、青-链霉素双抗 (Beyotime 公司)、PBS 缓冲液 (Gibco 公司)。YN-02R1 型全自动染色机 (深圳市永年科技有限公司)、YN-02B1 型组织包埋机 (深圳市永年科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

HCT116、CT26 细胞使用含 10% FBS 的 1640 培养基于 37℃、5% CO₂ 细胞培养箱中进行培养传代,取对数生长期的癌细胞制成单细胞悬液,台盼蓝染色测定细胞活力 > 95%,调整细胞浓度为 $2.5 \times 10^7/\text{mL}$ 。

1.3.2 实验分组

分为 4 组:将 15 只 Balb/c 裸鼠分为 3 组,每组 5 只,另外 5 只 Balb/c 小鼠单独成组。A 组:将 HCT116 细胞注射入 Balb/c 裸鼠脾并保留脾建模;B 组:将 HCT116 细胞注射入 Balb/c 裸鼠脾并切除脾建模;C 组:将 CT26 细胞注射入 Balb/c 裸鼠脾并保留脾建模;D 组:将 HCT116 细胞注射入 Balb/c 小鼠脾并保留脾建模。

1.3.3 裸鼠肝转移建模方法

(1)保脾法:小鼠称重后麻醉,麻醉成功后,用胶带固定小鼠四肢于手术台上,使用碘酒皮肤消毒,铺无菌孔巾,于左侧腋后线肋缘下行纵行切口,长约 0.5~1 cm,剪开腹膜,进腹后于左腹腔外侧找到脾,牵出腹腔外,用 1 mL 注射器从脾下极贴近脾包膜向上进针,将测定细胞浓度为 $2.5 \times 10^7/\text{mL}$ 的 HCT116、CT26 细胞悬液 0.2 mL 缓慢注射于脾内,约 3~5 min,见注射部位变红、肿胀后拔针,立即用酒精棉球按压针眼直至无活动性出血,依次间断缝合腹膜、皮肤,关腹。

(2)切脾法:麻醉、消毒及入腹步骤同保脾法,进腹后于左腹腔外侧找到脾,牵出腹腔外,用 1 mL 注射器从脾下极贴近脾包膜向上进针,将测定细胞浓度为 $2.5 \times 10^7/\text{mL}$ 的 HCT116 细胞悬液 0.2 mL 缓慢注射于脾内,约 3~5 min,见注射部位变红、肿胀后拔针,轻揉脾,挤压癌细胞经脾静脉进入肝,5~10 min 后结扎脾血管并切除脾,依次间断缝合腹膜、皮肤,关腹。

1.3.4 观察指标

术后将四组小鼠置入温箱中保暖,腹腔注射

0.1 mL 浓度为 1% 的哌拉西林,苏醒后给予葡萄糖盐水饲养,继续在 SPF3 级实验室 IVC 内独立饲养。待小鼠自然死亡后观察肝表面转移癌结节数目、大小、位置,双肺、腹腔受累情况,有无腹腔淋巴结转移及腹水。切除整个肝,称重后切除转移灶组织,用 10% 福尔马林固定后石蜡包埋,连续组织切片,行 HE 染色,常规病理学检查,以明确肝转移情况。

1.4 统计学方法

使用 SPSS 19.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) 进行数据统计和处理,计量资料以平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两组间比较采用 *t* 检验;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验。*P* < 0.05 表示差异有显著性。

2 结果

2.1 一般情况对比

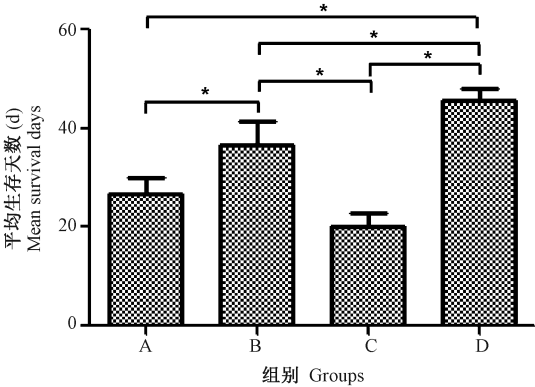
手术后各组动物一般情况对比见表 1。

2.2 生存时间

对各组的平均生存时间进行方差分析,统计数据进行方差分析,*F* = 26.36。A 组生存时间平均为 (26.6±3.4) d;B 组 (*P* < 0.05) 生存时间显著高于 A 组平均为 (36.8±4.2) d;C 组 (*P* < 0.05) 显著低于 B 组,与 A 组无显著性差异 (*P* > 0.05) 生存时间平均为 (20.2±2.6) d;D 组显著高于其他三组 (*P* < 0.05),平均生存时间为 (45.6±2.8) d。见图 1。

2.3 肝转移率及肝转移灶情况

统计数据进行方差分析,*F* = 15.39。A 组:肝转移率为 100%;结节数目为 (4.6±0.4) 个/每只,尺寸为 (0.12±0.08) cm³;B 组:肝转移率为 40%,显著低



注: * *P* < 0.05。
图 1 各组鼠的平均生存时间
Note. * *P* < 0.05.

Figure 1 Mean survival time of the mice in each group

于 A 组 (*P* < 0.05),结节数目为 (8.3±0.6) 个/每只,显著高于 A 组 (*P* < 0.05),尺寸 (0.08±0.05) cm³ 无显著差异;C 组:肝转移率为 100% 显著高于 B 组 (*P* < 0.05),尺寸为 (2.25±0.4) cm³,显著高于 A 组和 B 组 (*P* < 0.05),结节数目为 (12.6±2.3) 个/每只,显著高于 A 组和 B 组 (*P* < 0.05);D 组未见肝癌转移。见图 2。

2.4 脾原位肿瘤及其他部位转移情况

统计数据进行方差分析,*F* = 12.36。A 组脾注射部位均成瘤,大小约 (1.11±0.3) cm³;C 组脾注射部位均成瘤,大小约 (1.4±0.3) cm³ 显著高于 A 组 (*P* < 0.05)。D 组小鼠脾无瘤体形成。A 组腹腔转移率 100%;B 组腹腔转移率 40%;C 组腹腔转移率 100%,A 组和 C 组均显著高于 B 组 (*P* < 0.05)。心、肺、脑、肾均未见转移灶。见图 3。

表 1 模型小鼠一般情况对比
Table 1 Comparison of general conditions of the model mice

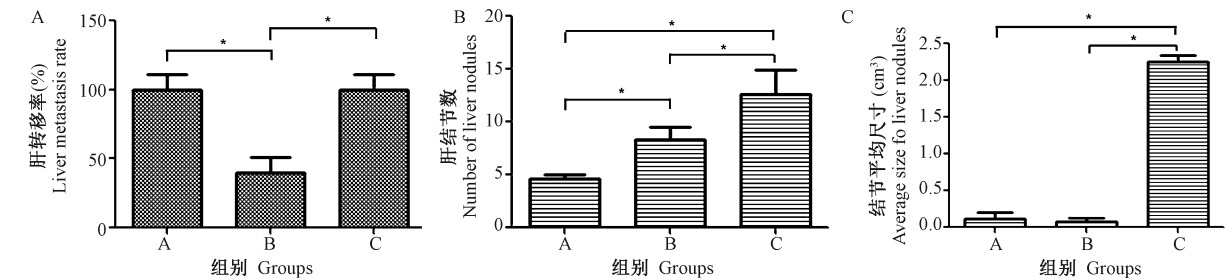
组别 Groups	手术后各组实验动物一般情况对比 Comparison of the general conditions of the animals in each group after surgery
A 组 Group A	术前后 2 周活动如常,饮食正常,体形无变化,第 3 周开始裸鼠进食减少,出现消瘦,活动变迟缓,精神较差 In the first 2 weeks after the operation, their activity and dietary intake were normal, and the body shape was not changed. At the third week, the food consumption was decreased, weight loss occurred, and their activity became slow, with a poor mental status
B 组 Group B	术前后 2 周活动如常,饮食正常,体形无变化,第 3 周开始裸鼠进食减少,出现消瘦,活动变迟缓,精神较差 In the first 2 weeks after operation, their activity and dietary intake were normal, with a normal body shape. At the third week, food consumption was decreased, weight loss occurred, and their activity became slow, with a poor mental status
C 组 Group C	术前后 1 周,裸鼠活动、饮食正常,体形并无变化,第 2 周开始裸鼠出现右上腹肝区膨隆,进食减少,精神状态较差 In the first week after surgery, the activity and diet were normal, with a normal body shape. In the second week, the right upper abdomen liver area was bulged, food consumption was reduced, and their mental state was poor
D 组 Group D	术后精神、活动、进食均未发现明显变化,术后第 50 天均处死 No significant changes were found for postoperative mental status, activity, and eating. The mice were sacrificed on day 50 after surgery

2.5 病理学检查

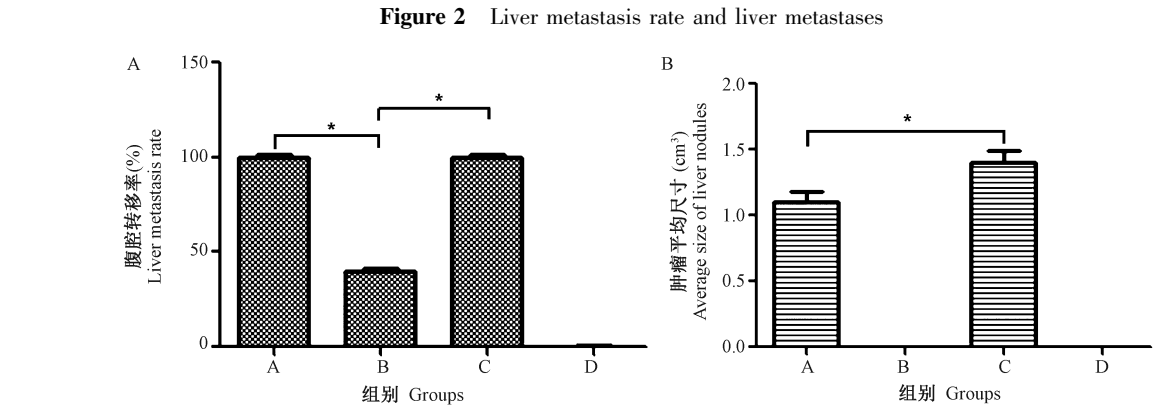
A 组高倍镜下可见大量成片癌细胞聚集成团,成巢状,细胞核体积大,深染,核分裂相多见,胞浆少。B 组高倍镜下癌细胞聚集成团,并形成癌结节,细胞异型性明显,细胞核深染,可见核分裂像。C 组在高倍镜下可见成片肿瘤细胞聚集,伴明显坏死,癌细胞核深染,分化差,有明显的异形性,部分可见核分裂象。D 组无肉眼可见转移及种植,组织病理学检查也未发现转移灶。见图 4。

3 讨论

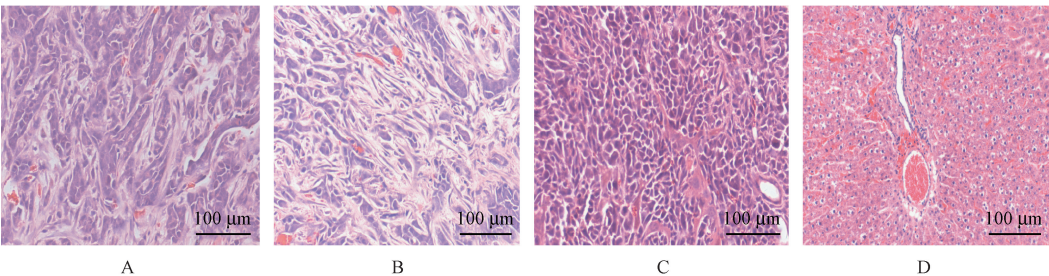
肿瘤的侵袭转移是非随机性的,具有明显器官特异性,如乳腺癌远处转移靶器官多为肺、骨、肝,前列腺癌的骨转移,结肠癌最常见的侵袭转移靶器官为肝、肺^[4]。侵袭转移是肿瘤患者最主要的死亡原因。因此建立一种操作简便、稳定性高、模拟性好的结肠癌肝转移模型,对研究结肠癌肝转移的发生机制具有十分重要的意义。



注:a:肝转移率;b:肝结节数;c:结节平均尺寸。* $P<0.05$ 。
图 2 肝转移率及肝转移灶情况
Note. a, Liver metastasis rate. b, Number of liver cancer nodules. c, Mean size of liver cancer nodules. * $P<0.05$.



注:a:腹腔转移率;b:肿瘤平均尺寸。* $P<0.05$ 。
图 3 脾原位肿瘤及其他部位转移情况
Note. a, Peritoneal metastasis rate. b, Mean tumor size. * $P<0.05$.
Figure 3 The splenic orthotopic tumors and other metastatic sites



注:A~D:分别为 A、B、C、D 组病理切片。
图 4 裸鼠肝病理组织切片(HE 染色,× 10)
Note. A-D, Pathological sections from Groups A, B, C and D, respectively.
Figure 4 Histopathological changes in the mouse liver tissues. HE staining

目前裸鼠造模方法主要有脾注射法、门静脉注射法、盲肠原位种植、肝注射等,各有优缺点。门静脉注射法肝转移率高达 80%~100%,但其操作困难,且易发生门静脉癌栓,导致癌栓外溢造成腹腔内播散性转移,死亡率高。肝注射法操作简单,肝成瘤率高,但周围极少发现转移的瘤体结节,不能模拟结肠癌肝转移的生物学特性^[5]。盲肠原位种植被认为最能模拟结肠癌侵袭转移的造模方法,但肝转移成瘤率低,在发生肝转移前因原位种植部位瘤体生长过快,瘤体过大造成肠梗阻而导致小鼠过早死亡^[6]。1984 年 Kozlowski 提出癌细胞脾注射法是研究结肠癌肝转移的最佳模式^[7]。脾注射癌细胞建模模拟了结肠癌术后肝血行转移肝的过程,造模成功率较高。原因是将足够数量的结肠癌细胞注射到脾内,利用脾血流丰富的特点,通过门静脉进入肝后即可形成转移灶。Kozlowski 利用放射性核素标记肿瘤细胞并追踪癌细胞的分布,结果显示注射后 30 min 内有 77% 的癌细胞寄居于肝,且注射后 24 h 仍有 27% 的癌细胞保留在肝,说明通过脾注射能使大部分癌细胞进入肝,从而保证肝成瘤率。

脾注射肝转移模型分为保脾法和切脾法。不同点在于切脾法避免脾种植部位成瘤,能较好的模拟结肠癌肿瘤转移的生物学行为,成瘤率高,避免了对实验结果和小鼠生存期的影响^[8]。保脾法建模保留了脾,保存了小鼠固有的抗肿瘤免疫功能。血液中的癌细胞必须逃逸机体免疫细胞及活化的细胞因子的杀伤后才能存活下来,故能转移至肝的癌细胞是经过机体筛选的具有高转移倾向的恶性肿瘤细胞,所以保脾法更能反映瘤细胞的恶性程度,更符合临床转移癌的特性^[9]。国内有学者比较了保脾法和切脾法两种方法造模,实验结果表明切脾法比保脾法成瘤率更高^[10-11]。值得注意的是,近期 Wang 等人^[12]采用保脾法应用 SW620-luc 细胞系成功建立了结肠癌肝转移,并指出银杏叶提取物可进一步促进成瘤率。然而, Wang 等人实验并未进行切脾法与保脾法的比较。在本实验中,切脾组(B 组)造模成功率仅为 40%,A 组、C 组采用保脾法造模,成功率均为 100%,肝表面及切面肉眼均可见瘤结节。本实验结果与宋大迁等实验结果想反,分析其原因可能是实际操作时脾注射完成后通常需要按压止血 3~5 min,但按压脾很容易造成脾注射点再次出血,癌细胞易随着血液从注射点流出,导致

进入血液中的癌细胞数量减少,使造模成功率降低。本实验中,对比生存期及成瘤情况,A 组肝转移瘤右叶多于左叶,平均 (4.6 ± 0.4) 个/只,生存时间平均为 (26.6 ± 3.4) d; B 组肝转移瘤较分散,平均 (8.3 ± 0.6) /只,显著高于 A 组 $(P < 0.05)$;生存时间平均为 (36.8 ± 4.2) d,显著高于 A 组 $(P < 0.05)$ 。这与宋大迁等实验结果一致,切脾组肿瘤分布更分散,带瘤生存期更长。保脾法生存期较切脾组短,原因在于小鼠常较早地死于脾内肿瘤。但是模型的成功率显著低于保脾法 $(P < 0.05)$ 。

另外在建立结肠癌肝转移动物模型的过程中,选择高转移潜能的癌细胞株也是关键,最常使用的结肠癌细胞包括 CT26、HCT116、LOVO、HT29 等。Goodwin 等人^[13]也已报道通过盲肠壁接种 CT26 细胞系最终成功建立结肠癌肝转移。本实验选用人结肠癌 HCT116 细胞及鼠 CT26 结肠癌细胞造模^[14-16]。对比 A 组、C 组,两组裸鼠均可以快速成瘤,造模成功率高达 100%。C 组裸鼠肝转移数目明显多于 A 组裸鼠 $(P < 0.05)$,转移瘤体积更大 $(P < 0.05)$,肝右叶被巨大转移灶占据;A 组裸鼠肝肿瘤较为分散,体积较小。分析其原因,可能因为 CT26 结肠癌细胞由于其种属特异性,在小鼠体内更容易逃逸免疫细胞的攻击而存活下来,造模成功率较高^[17-23]。

在实验过程中,如果操作不当容易造成癌细胞液外溢从而形成腹腔内广泛转移。结合 B 组成瘤率低,因此,我们总结经验如下:①手术切口取左侧腋后线肋缘下纵行切口,创伤小,易显露,不易损伤脾;②注射时禁穿破脾,应从脾下级沿脾长轴水平进针,深度保持在 0.5 cm 左右为宜;③保证注射的细胞数量足够,达到 $2.5 \times 10^7/\text{mL}$,因为进入血液中的癌细胞必须逃逸机体免疫细胞及活化的细胞因子的杀伤后才能存活下来,从而在肝形成转移灶。④注射时间应在 3~5 min,不易过快,避免脾被膜张力过大而破裂;⑤注射完毕后续待脾颜色转红后再拔针,并迅速按压针眼,避免因脾压力过大造成瘤细胞外溢。

综上所述,本实验通过比较不同种属的结肠癌细胞造模和不同种类小鼠造模的成功率及优缺点,以及比较脾注射保脾法和切脾法成功率及优缺点,发现使用裸鼠、采用保脾法能获得较高的造模成功率,能有效模拟人类结肠癌细胞经血行转移至肝的途径和过程。

参考文献:

[1] 张海燕, 孙勇, 夏惠, 等. 脱氧紫色杆菌素抑制结肠癌 TH29 细胞增殖及诱导凋亡作用与机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(5): 89-93.

[2] 张琪, 杨光华, 葛志鹏, 等. 罗格列酮对 HT29、HCT116 结肠癌细胞凋亡影响及机制探究 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(12): 56-60.

[3] 黄昊. 裸鼠移植瘤造模的注意事项 [J]. 中国比较医学杂志, 2017, 27(3): 92.

[4] 邓会岩, 刘月平, 王心然, 等. 467 例胃肠道神经内分泌肿瘤的临床病理特征及淋巴结转移危险因素分析 [J]. 中华消化外科杂志, 2017, 16(3): 287-292.

[5] 张修平, 李楠, 王瀚, 等. 肝细胞癌伴不同类型门静脉癌栓治疗方式选择 [J]. 中国实用外科杂志, 2017, 37(11): 1298-1301.

[6] 李凌云, 张斌豪, 张必翔. 结肠癌原位瘤模型方法探讨 [J]. 腹部外科, 2016, 29(4): 314-318.

[7] Kozlowski KA, Wezeman FH, Schultz RM. Tumor cell proteinase visualization and quantification using a fluorescent transition-state analog probe [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1984, 81(4): 1135-1139.

[8] 刘喆. 人结肠癌裸鼠移植瘤模型的制备及其生物学特性研究 [D]. 首都医科大学, 2016.

[9] 徐红超, 陶静莉, 林春南, 等. 氩氦冷冻联合 GM-CSF 治疗对荷胶质瘤小鼠脾脏 DCs 细胞因子分泌及 CTLs 杀伤活性的影响 [J]. 岭南现代临床外科, 2016, 16(3): 262-265.

[10] 张红林, 程伏林. 保脾和切脾的胰体尾良性和交界性肿瘤切除术临床疗效比较 [J]. 临床外科杂志, 2018, 26(2): 124-126.

[11] 吕国悦, 王广义, 蒋超, 等. 腹腔镜 Warshaw 法与 Kimura 法保脾胰体尾切除的临床对照研究 [J]. 中华胰腺病杂志, 2013, 13(4): 278-279.

[12] Wang H, Wu X, Lezmi S, et al. Extract of Ginkgo biloba exacerbates liver metastasis in a mouse colon cancer Xenograft model [J]. BMC Complement Altern Med, 2017, 17(1): 516.

[13] Goodwin TJ, Huang L. Investigation of phosphorylated adjuvants co-encapsulated with a model cancer peptide antigen for the treatment of colorectal cancer and liver metastasis [J]. Vaccine, 2017, 35(19): 2550-2557.

[14] 郑良朴, 曹治云, 陈旭征, 等. 片仔癀对小鼠结肠癌细胞增殖及肝转移的抑制作用 [J]. 福建中医药, 2016, 47(5): 16-17.

[15] 丁琪, 刘昀, 张力, 等. 双调蛋白过表达促进小鼠肠癌 CT26 细胞的体内生长 [J]. 肿瘤, 2017, 37(7): 690-699.

[16] 计天驹. 肿瘤干细胞 DC 疫苗与抗 PD-L1 抗体联用抗结肠癌的实验研究 [D]. 吉林大学, 2017.

[17] 孙朝文, 张广钰, 赵辰, 等. 凋亡大肠癌 CT26 细胞对小鼠血清免疫因子水平以及免疫细胞增殖、活性的影响 [J]. 广西医学, 2016, 38(10): 1337-1342.

[18] 刁文晶. 葛根素通过 TLR4/NF- κ B 诱导结肠癌 sw480 细胞死亡的作用机制 [J]. 解剖学研究, 2017, 39(4): 245-248.

[19] 程雪, 纪捷, 张静敏, 等. Lgr5 蛋白和 Her-2 蛋白在结肠癌中的表达及其临床意义 [J]. 现代医学, 2017, 45(1): 17-22.

[20] 尚瑞, 吴军, 周春芳, 等. p53 和 survivin 表达对直肠癌分级和预后的影响 [J]. 解剖学研究, 2017, 39(5): 386-389.

[21] 尚梦园, 于峰, 赵双双, 等. 不同热剂量等级的微波消融治疗对结肠癌小鼠 T 细胞的影响 [J]. 江苏大学学报(医学版), 2018, 28(2): 117-120.

[22] 杨萧天, 苏兆亮, 徐岷. 血管紧张素 II 对结肠癌 CT26 细胞株增殖及侵袭的影响 [J]. 江苏大学学报(医学版), 2018, 28(4): 277-281.

[23] 卞俊杰, 李醒亚, 郭伟华, 等. 干扰素诱导跨膜蛋白 3 在结肠癌组织中的表达及对结肠癌细胞凋亡的调控作用研究 [J]. 中国现代医学杂志, 2018, 28(1): 44-49.

[收稿日期] 2018-11-08