

四君子汤对胃癌细胞株 SGC-7901 侧群细胞增殖的影响

李 靖¹ 钱 军¹ 贾建光¹ 金 鑫¹ 喻大军¹ 谢 波¹ 钱立宇¹ 张立功¹ 郭晨旭²

摘要 **目的** 对胃癌细胞株 SGC-7901 侧群(side population, SP)细胞、非侧群(non-side population, NSP)细胞及未分选(Total)细胞进行四君子汤药物血清干预,观察药物血清干预后胃癌细胞株 SGC-7901 的 SP、NSP 及 Total 细胞增殖能力的变化。**方法** 16 只纯种新西兰家兔按随机数字表法分为对照组及四君子汤低[7 mL/(kg·d)]、中[14 mL/(kg·d)]、高[28 mL/(kg·d)]剂量组,每组 4 只,每组动物给予对应等体积灌胃,每天 2 次,持续 2 周。提取兔血清,应用高效液相色谱法对药物血清进行鉴定;应用流式细胞仪对人胃癌细胞株 SGC-7901 的 SP 细胞进行检测并分选出 SP 及 NSP 细胞;应用 CCK-8 法检测 SP、NSP 及 Total 细胞的增殖曲线及药物血清干预后的 SP、NSP 及 Total 细胞增殖能力变化。**结果** 在制备的药物血清中检测到四君子汤的有效成分人参皂苷 Rg1;胃癌细胞株 SGC-7901 SP 细胞的增殖能力明显高于 NSP 及 Total 细胞($P < 0.05$),药物血清对胃癌细胞株 SGC-7901 SP、NSP 及 Total 细胞的增殖具有抑制作用,但对 SP 细胞的增殖抑制作用明显低于 NSP 及 Total 细胞($P < 0.05$)。**结论** 四君子汤可以明显抑制胃癌细胞株 SGC-7901 的 SP、NSP 及 Total 细胞增殖,但对 3 组细胞抑制程度存在明显差异。

关键词 四君子汤;胃癌;侧群细胞;细胞增殖

Effect of Sijunzi Decoction on the Proliferation of Side Population Cells of Human Gastric Cancer Cell Line SGC-7901 LI Jing¹, QIAN Jun¹, JIA Jian-guang¹, JIN Xin¹, YU Da-jun¹, XIE Bo¹, QIAN Li-yu¹, ZHANG Li-gong¹, and GUO Chen-xu² 1 Third Department of Tumor Surgery, First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Anhui (233000), China; 2 Department of Postgraduate, Bengbu Medical College, Anhui (233000), China

ABSTRACT **Objective** To observe the proliferation changes of the side population of gastric cancer cell line SGC-7901 cells (SP), the non-side population (NSP) cells, and unsorted cells (Total) after intervened by Sijunzi Decoction (SD) containing serum. **Methods** Sixteen pure bred New Zealand rabbits were equally divided into the normal control group, the low dose SD group (at the daily dose of 7 mL/kg), the middle dose SD group (at the daily dose of 14 mL/kg), and the high dose SD group (at the daily dose of 28 mL/kg) according to the random digit table. Rabbits' serum was extracted after equal volume of corresponding medication was given by gastrogavage twice daily for 2 consecutive weeks. The drug serum was identified using high performance liquid chromatography. SP cells of SGC-7901 were detected using flow cytometry, SP and NSP cells were screened. The proliferation curve of SP, NSP, and Total cells were detected with CCK-8 assay. Changes of their proliferation were also observed. **Results** Ginsenoside Rg1, an effective ingredient in SD was detected in prepared drug serum. The proliferation of SGC-7901 SP cells was significantly higher than that of NSP cells and Total cells ($P < 0.05$). Drug serum on gastric cancer cell line SGC-7901 SP, NSP, and Total cells could inhibit their proliferation, but its inhibition on SP cells' proliferation was significantly lower than on NSP and Total cells ($P < 0.05$). **Conclusions** SD could significantly inhibit the proliferation of gastric cancer cell line SGC-7901 SP, NSP, and

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 8117386)

作者单位: 1. 安徽省蚌埠医学院第一附属医院肿瘤外三科(蚌埠 233000); 2. 安徽省蚌埠医学院研究生部(蚌埠 233000)

通信作者: 钱 军, Tel: 0552-3016189, E-mail: qianjun215036@sina.com

DOI: 10.7661/CJIM.2014.06.0704

Total cells. But there exist obvious difference in the inhibition among the three groups.

KEYWORDS Sijunzi Decoction; gastric cancer; side population cells; cell proliferation

四君子汤是人参、白术、茯苓、甘草 4 味中草药为主的古方剂,主治脾胃气虚证。该方为治疗脾胃气虚证的基础方,众多补脾益气方剂多从此方衍化而来。临床研究表明,采用以健脾为主的中药复方治疗无手术或化疗指征的中晚期胃癌以及术后或化疗后残存的微小肿瘤和微转移灶有一定疗效^[1,2],不仅可以控制肿瘤的进展,延长患者生命,提高生活质量而且对术后患者具有防止复发和转移的作用^[3]。其作用机理一般与健脾扶正类中药具有增强机体免疫功能及化疗增敏功效等有关;但近年来亦有不少报道认为此类中药具有直接抑瘤、诱导肿瘤细胞凋亡的作用^[4]。而肿瘤干细胞学说认为:肿瘤的发生发展与肿瘤干细胞密切相关,且肿瘤干细胞对化疗药有较强的耐药性^[5]。目前一些学者认为,如何遏制肿瘤干细胞的生长成为治疗肿瘤的关键,侧群(side population, SP)细胞是在通过荧光激活细胞分选(fluorescence activated cell sorter, FACS)研究造血干/祖细胞表型标记和功能特性时发现的一种特殊细胞^[6]。SP 细胞的分化与肿瘤的发生有一定联系^[7],可能在肿瘤的生长和转移中起关键作用,是潜在的干细胞^[8]。笔者对人胃癌细胞株 SGC-7901 进行 SP 细胞分选,比较 SP 及非侧群(non-side population, NSP)细胞增殖能力的差异,并用含四君子汤的药物血清对其进行干预,比较四君子汤药物血清对抑制 SP、NSP 及未分选(Total)细胞增殖能力的差异。

材料与方法

1 细胞株 人胃癌细胞株 SGC-7901(合格证号为 201200276H)购自中国科学院上海细胞库。

2 动物分组 纯种雌性新西兰家兔 16 只,体重约 2.0 kg,购自蚌埠医学院动物实验室(生产许可证号为 SCXK2007-0008),动物购置后先适应性饲养 2 周,动物按随机数字表法分为对照组及四君子汤低、中、高剂量组,每组 4 只。

3 药物及主要试剂、仪器 四君子汤药材(每剂药含人参 10 g 白术 9 g 茯苓 9 g 甘草 6 g)由蚌埠医学院第一附属医院中药房提供;细胞培养基 RPMI1640(批号为 SH30809.01B)、0.25% 胰酶-EDTA(批号为 SH30042.01)、双抗(批号为 SV30010)购自美国 Hyclone 公司;胎牛血清(FBS,批号为 LC002)购自四季青公司;维拉帕米(批号为

V4629)购自美国 Sigma 公司;Hocechst 33342(批号为 B2261)购自美国 Sigma 公司;人参皂苷 Rg1 纯品(批号为 22427-39-01)购自上海纯优生物公司;CCK-8(批号为 C0038)试剂购自上海碧云天生物技术有限公司。

4 给药及药物血清制备 按照成人每剂服用量进行熬制,四君子汤熬制后,生药浓度为 0.23 g/mL;根据“人和动物体表面积折算的等效剂量比率表^[9]”用药剂量按如下公式计算:家兔用药量[g/(kg·d)] = 人日用剂量 × 0.007/1.5 [g/(kg·d)] 即为中剂量组 14 mL/(kg·d),高剂量组 28 mL/(kg·d),低剂量组 7 mL/(kg·d);对照组灌入生理盐水 14 mL/(kg·d),每组动物按等体积灌胃,每次灌胃前禁食不禁水 12 h,每天 2 次,连续灌胃 2 周。末次灌胃后 1 h,1% 水合氯醛催眠,固定动物后无菌心脏采血,分离血清,在同等条件下将同组兔血清混匀,针头滤器过滤除菌,1.5 mL EP 管分装 -20 ℃ 保存备用。

5 细胞培养 人胃癌细胞株 SGC-7901 细胞贴壁生长于含 10% 胎牛血清、1% 双抗的 RPMI 1640 培养液中,培养于含 5% CO₂、37 ℃ 恒温培养箱,每天换液 1 次,每 3~4 天传代 1 次,传至第 3 代后,取状态良好的细胞进行实验。

6 四君子汤含药血清药效成分的测定 利用高效液相色谱法(high pressure liquid chromatography, HPLC)^[10]对四君子汤有效成分进行检测。(1)色谱条件:Spursil C18 色谱柱(200 mm × 4.6 mm, 5 μm);流动相:乙腈-水;线性梯度洗脱:0 min (21:79)~15 min (40:60)~18 min (45:55)~20 min (21:79);流速 1.0 mL/min;检测波长 203 nm;柱温 35 ℃;进样量 20 μL。此色谱条件下人参皂苷保留时间为 11.0 min,理论塔板数 > 3 000。(2)血清样品预处理:取空白对照组及低、中、高剂量组血清各 3 mL 放置于 4 个 15 mL 离心管中,按 1:4(V/V)加入 12 mL 无水甲醇沉淀蛋白,混匀后,3 000 r/min 离心 10 min,将各组上清液分别转移至 4 个平底蒸发皿中,残渣用 4 mL 无水甲醇洗涤 2 次,一并转入蒸发皿中,于 40 ℃ 水浴挥发至干,定量加入甲醇 0.2 mL 溶解残渣,滤器过滤后,滤液收集于 1.5 mL EP 管中,作好标记作为样品液。(3)标准品溶液的配制与进样检测:精密称取人参皂苷 Rg1 粉末适量,用甲醇溶解成 0.2 mg/mL 的溶液,摇匀即得。

自动进样,测标准品人参皂苷 Rg1 的高效液相色谱图,观察峰的变化。然后依次推进 4 种待测供试品溶液,每次进不同的样品前充分冲洗色谱柱。观察各种样品的高效液相色谱图,并与标准品图作一对照,确认是否出现 Rg1 峰。

7 流式细胞仪检测及分选人胃癌细胞株 SGC-7901 SP 及 NSP 细胞 方法参考文献[11]。自培养基中以 0.25% 胰酶-EDTA 消化、收集细胞,4 ℃、1 000 r/min 离心 5 min,用含 2% FBS 的 PBS 重悬至 1×10^6 /mL。为验证 SGC-7901 中 SP 细胞的存在(SP 细胞具有外排 Hoechst 33342 染料特性,维拉帕米可以抑制 SP 细胞外排 Hoechst 33342 染料^[12]),将收集到的细胞分为 2 组,一组为实验组,向实验组加入 Hoechst 33342 染色 5 μ L/mL,一组为阴性对照组,向阴性对照组中加入 Hoechst 33342 染色 5 μ L/mL,并加入质量浓度为 100 mg/L 的维拉帕米。37 ℃、5% CO₂、95% 湿度孵箱中孵育 120 min,每 15 min 震荡 1 次。4 ℃、1 000 r/min 离心 5 min,以 4 ℃ 预冷的含 2% FBS 的 PBS 重悬至 1×10^6 /mL。然后入流式细胞仪检测分选, Hoechst 33342 在 350 nm 条件被激发,获得荧光呈双重波长:蓝光 402 ~ 446 nm;红光 650 ~ 670 nm,流式细胞仪分别收集 SP 及 NSP 细胞。

8 CCK-8 检测药物血清干预后的细胞增殖曲线

8.1 标准曲线的制备 取标准组的 SP、NSP 及 Total 细胞,分 6 组(每组 3 个孔)加入 96 孔板内,各组分别加入 0(空白对照组)、20、40、60、80、100 μ L 的细胞悬液,再在每孔中加入含 10% 空白对照组药物血清的 RPMI-1640 细胞培养液至总体积为 100 μ L/孔。将 96 孔板置于 37 ℃、5% CO₂、95% 湿度下培养 3 h 贴壁后,每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂,相同条件下培养 3 h 后,测定 490 nm 处吸光度(OD₄₉₀)。分析所得数据,以 JOD₄₉₀ 表示, $JOD_{490} = \text{样本 } OD_{490} - \text{空白组 } OD_{490}$ 均值(下同),应用统计软件 SPSS 18.0,绘制标准曲线,计算直线拟合度及直线方程。

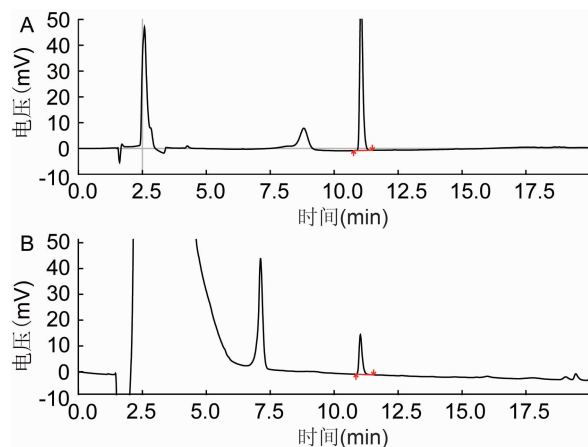
8.2 药物血清干预后检测细胞增殖曲线 将分选获得的 SP 和 NSP 细胞及 Total 细胞低速离心,各组分别加入含 10% 低剂量药物血清的 RPMI-1640 细胞培养液、含 10% 中剂量药物血清的 RPMI-1640 细胞培养液、含 10% 高剂量药物血清的 RPMI-1640 细胞培养液、含 10% 空白对照组药物血清的 RPMI-1640 细胞培养液重悬至 1×10^4 /mL,取已重悬的各组细胞(SP、NSP、Total 和对照组)接种于 96 孔培养皿,每组 24 个孔,每孔 1×10^3 个细胞,于 37 ℃、5% CO₂、95% 湿度下培养,第 2 天及第 5 天常规换细胞培

养液。每组分别于第 6、24、48、72、96、120、144、168 h 各取 3 个孔,加入 10 μ L CCK-8 试剂,继续培养 3 h,读取 490 nm 处吸光度值(JOD₄₉₀),带入直线方程,换算成细胞数,计算平均值和标准误,连续测定 7 天,绘制生长曲线图。

9 统计学方法 运用 SPSS 18.0 统计软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各样本之间采用 Wilcoxon 秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 四君子汤含药血清药效成分的测定(图 1) 在样品测定条件下,阴性对照无干扰。低、中、高剂量组药物血清的图谱中出现与对照品同样的 Rg1 峰,且低、中、高剂量组药物血清的峰值依次增加,血清药物浓度与灌药剂量成正比(文中省略阴性对照组及低、中剂量组药物血清图)。

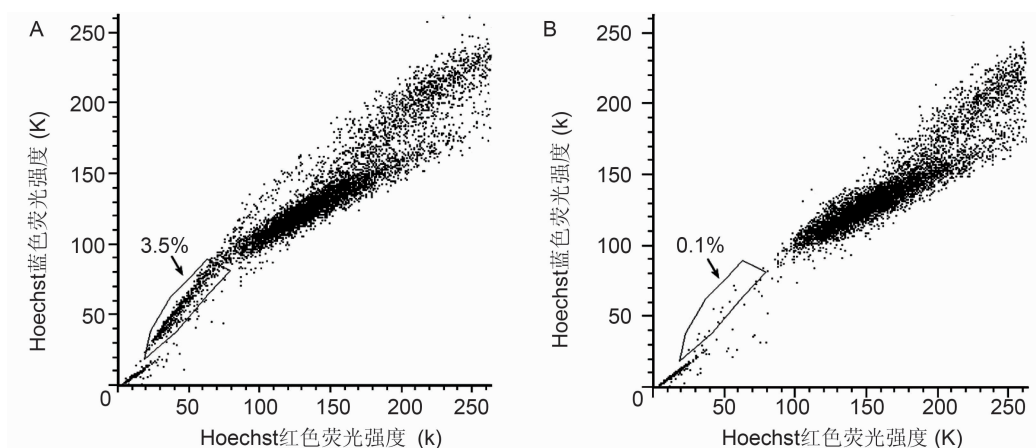


注:A 为人参皂苷 Rg1 标准品对照组; B 为四君子汤高剂量组(红色标记处为 Rg1 峰)

图 1 人参皂苷对照组和四君子汤高剂量组含药血清药效成分图

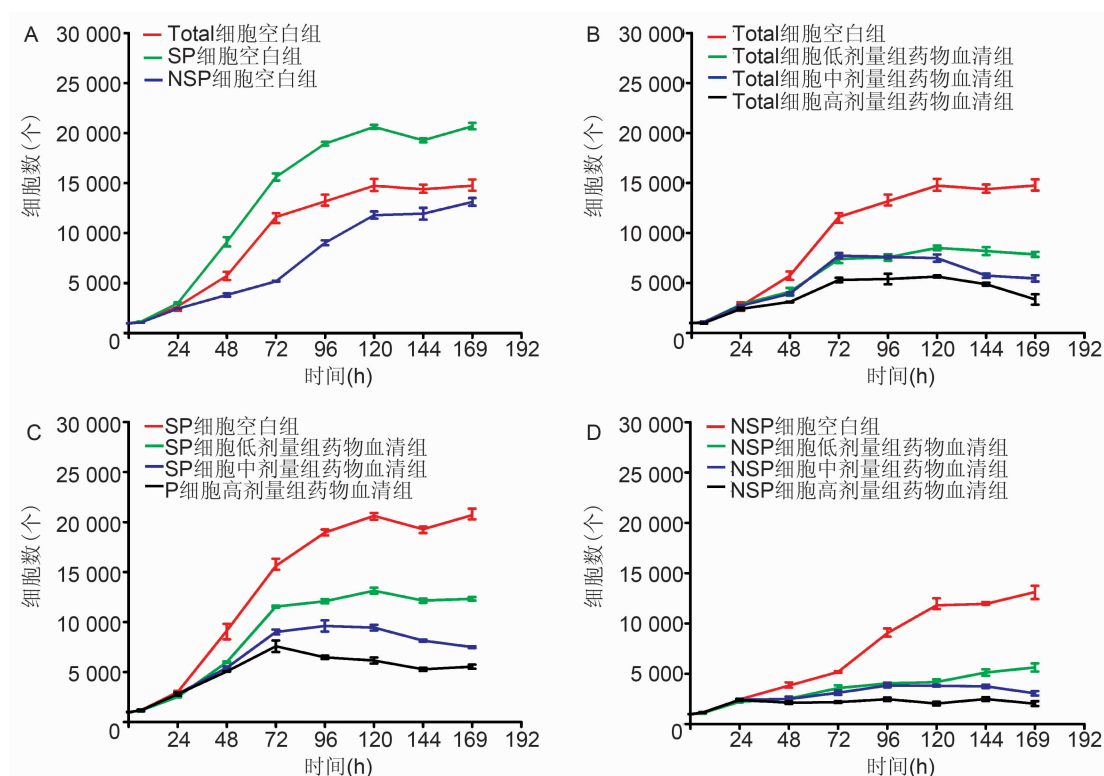
2 人胃癌细胞株 SGC-7901 SP 细胞的检测(图 2) 流式细胞仪检测到胃癌细胞株 SGC-7901 实验组中 SP 比例为 3.5%,在加入维拉帕米拮抗后的阴性对照组中检测到 SP 细胞比例降为 0.1%。

3 药物血清干预前后的细胞增殖情况比较(图 3) 即药物干预前空白对照组中 SP 细胞增殖能力明显高于 NSP、Total 细胞($P < 0.05$);药物干预后,干预组 Total 细胞、SP 细胞、NSP 细胞的各浓度药物血清分别与之对应的空白对照组比较,各浓度药物血清增殖能力明显降低($P < 0.05$),并且干预组的 Total 细胞、SP 细胞、NSP 细胞的增殖能力随药物浓度增高而降低($P < 0.05$);各浓度的药物血清对 SP 细胞增殖



注:A 为实验组 SP 细胞的检测图;B 为空白对照组 SP 细胞的检测图

图2 人胃癌细胞株 SGC-7901 SP 细胞的检测



注:A 为胃癌细胞株 SGC-7901Total、SP、NSP 细胞空白对照组 168 h 增殖曲线;B 为胃癌细胞株 SGC-7901Total 细胞在高、中、低剂量药物血清连续干预 168 h 的细胞增殖曲线;C 为胃癌细胞株 SGC-7901SP 细胞在高、中、低剂量药物血清连续干预 168 h 的细胞增殖曲线;D 为胃癌细胞株 SGC-7901NSP 细胞在高、中、低剂量药物血清连续干预 168 h 的细胞增殖曲线

图3 药物血清干预后的胃癌细胞株 SGC-7901Total、SP、NSP 细胞增殖曲线

的抑制程度低于同种药物血清干预的 NSP 细胞及 Total 细胞($P < 0.05$)。

讨论

近年来的研究发现党参、炒白术、四君子汤等某些健脾扶正类单味中药和复方制剂对体外培养的胃

癌细胞有一定的抑制作用,能使肿瘤细胞数目减少,并出现肿瘤细胞核固缩等现象^[13]。而目前的肿瘤干细胞学说认为,肿瘤的发生发展与肿瘤干细胞息息相关^[14,15]。SP 细胞是在通过 FACS 研究造血干细胞表型标记和功能特性时发现的一种特殊的细胞。除骨髓以外,肌肉、乳腺上皮、胚胎干细胞等组织中

都发现了 SP 细胞。近年来研究发现,在多种肿瘤组织中也有 SP 细胞分布,SP 细胞的分化与肿瘤的发生有一定联系,可能在肿瘤的生长和转移中起关键作用,是潜在的干细胞^[14,16-18]。本实验对胃癌细胞株 SGC-7901 进行 SP 细胞分析,得到 SP 细胞、NSP 细胞及 Total 细胞,对上述 3 组细胞的增殖能力进行比较,发现 SP 细胞的增殖能力高于 NSP 细胞及 Total 细胞,3 种细胞在 24 h 内增殖曲线基本一致,而在 24 h 时,SP 细胞的增殖速度明显提升,不仅明显快于 NSP 细胞,而且与 Total 细胞比较,差异显著。对在相同的实验条件下的实验数据进行分析得出:SP 细胞的增殖能力明显高于 NSP 细胞及 Total 细胞,说明 SP 细胞从增殖角度来看确实具备干细胞高增殖的特性,但不排除核酸燃料 Hoechst 33342 对 NSP 细胞作用,从而影响 NSP 细胞增殖。目前的文献报道 SP 细胞高表达三磷酸腺苷结合转运蛋白超家族成员 G2 (ATP-binding cassette sub-family G member2, ABCG2) 可以将 Hoechst 33342 染料转运出 SP 细胞,从而使 SP 细胞不被 Hoechst 33342 标记,进而被分选出来^[19]。Hoechst 33342 具有一定的细胞毒性,对低表达 ABCG2 蛋白的 NSP 细胞的细胞状态会有影响,所以对最初 NSP 细胞增殖能力低下有着不可忽视的影响。因此,本实验添加 Total 细胞实验组,保证最大限度的与 SP 细胞保持相同的细胞状态,从实验结果中可以看出,SP 细胞的增殖能力也明显高于 Total 细胞,说明 SP 细胞的增殖能力较强,可在一定程度上证明 SP 细胞确实具有一定的干细胞特性。

有文献报道,SP 细胞对化疗药不敏感^[20,21],化疗药不能有效抑制 SP 细胞增殖,主要原因就是 SP 细胞高表达 ABCG2 等转运蛋白,可以外排吸收的药物成分,降低药物毒性反应^[20]。在临床实践中发现中药四君子汤可以明显抑制胃癌患者术后肿瘤复发及延长对姑息治疗胃癌患者的生存时间,尤其是在配合化疗药使用的患者,而体外实验也证明四君子汤可以促进胃癌细胞的凋亡^[4],基于四君子汤的药效及 SP 细胞对化疗药物的不敏感,本实验从 SP 细胞角度入手,首先研究四君子汤对 SP 细胞的增殖影响,发现用高、中、低剂量的四君子汤药物血清干预 SP 细胞,可以明显抑制 SP 细胞的生长,且药物对 SP 细胞的增殖作用的影响根据药物剂量的增大而越发明显。从生长曲线图中可以看出,在药物血清干预 72 h 后,SP 细胞的增殖曲线发生了明显变化,其生长增殖曲线明显变缓;在 72~120 h 内,细胞的增殖曲线基本较为平缓,说明在

这个时间段内细胞增殖缓慢,或者其增殖数与凋亡数基本保持一致;在 120 h 以后,中剂量及高剂量的增殖曲线表现出下降的趋势,说明此时细胞增殖能力已被明显抑制或其凋亡率已高于增殖率,而低剂量组在 120 h 后无明显变化,说明该药对 SP 细胞的增殖影响确实与药物血清浓度有关,药物浓度越高,对 SP 细胞增殖能力的抑制表现越突出,而从生长曲线的变异较慢说明与药物有效成分浓度有关,但四君子汤中具体哪些成分是真正有效成分还有待进一步研究。与 SP 细胞比较,药物对 NSP 细胞的影响更为明显,这可能是与 NSP 细胞被 Hoechst 33342 染料染色后细胞状态差有一定关系,而 Total 细胞的增殖变化与 SP 细胞相比具有相同的趋势,但其每种剂量的增殖平台期数值都要比相同剂量的 SP 细胞低,这可能与 SP 细胞及 Total 细胞的初始增殖能力不一样有关,也可能该药对 NSP 细胞及 Total 细胞的影响作用本身就比 SP 细胞强,但这更可能是两种因素共同影响的结果。总之,四君子汤可以有效抑制 SP 细胞的增殖,介于其初始的较高的增殖能力,其增殖平台会比 NSP 细胞及 Total 细胞高,从细胞的增殖曲线可以看出,该药对 SP、NSP 及 Total 细胞的增殖作用的起效时间基本一致,说明该药对 SP 细胞而言较为有效,不会被 SP 细胞内的转运蛋白排出,但该药作用于 SP 细胞及肿瘤细胞的具体作用机制还有待进一步研究。

本实验结果表明,四君子汤含药血清可以抑制胃癌细胞株 SGC-7901 细胞增殖,且药物血清浓度越高,对其增殖的抑制作用越明显,该药同样可以抑制胃癌细胞株 SGC-7901 SP 细胞的增殖。但对 SP 细胞增殖的抑制效果较 NSP 细胞低。下一步笔者还将进一步研究四君子汤对 SP 细胞凋亡的影响,从而了解四君子汤是否可以在抑制 SP 细胞增殖的同时还可以促进 SP 细胞凋亡。

参 考 文 献

- [1] 王治业,李应兰,刘丕祖,等. 中西医结合治疗胃癌腹腔转移的临床观察[J]. 实用中西医结合临床, 2009, 9(2): 2-3.
- [2] 孙士玲,张红瑞,周发祥. 四君子汤加减配合替吉奥胶囊治疗晚期胃癌[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(18): 309-312.
- [3] 蔡骏,顾晔斌,吴彬,等. 四君子汤合肠内营养对胃癌术后患者免疫状况的影响[J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(4): 485-487.
- [4] 邢晓静,谷小虎,赵岩,等. 健脾益气方含药血清对人胃癌细胞株 MKN-28 凋亡的影响[J]. 山东医药, 2011,

- 51(26):32-33.
- [5] Li HZ, Yi TB, Wu ZY. Suspension culture combined with chemotherapeutic agents for sorting of breast cancer stem cells [J]. BMC Cancer, 2008, 8: 135.
- [6] Goodell MA, Brose K, Paradis G, et al. Isolation and functional properties of murine hematopoietic stem cells that are replicating *in vivo* [J]. J Exp Med, 1996, 183(4): 1797-1806.
- [7] Wan G, Zhou L, Xie M, et al. Characterization of side population cells from laryngeal cancer cell lines [J]. Head Neck, 2010, 32(10): 1302-1309.
- [8] She JJ, Zhang PG, Wang X, et al. Side population cells isolated from KATO III human gastric cancer cell line have cancer stem cell-like characteristics [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(33): 4610-4617.
- [9] 金百胜,叶希韵,范秀凤,等. 芦荟药物血清对 AGEs 损伤的 RGMC 细胞的保护作用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(10): 208-212.
- [10] 王婷,张静霞,程海祺,等. 高效液相色谱法测定利福拉齐的有关物质[J]. 中国抗生素杂志, 2012, 37(4): 284-287.
- [11] Takao T, Asanoma K, Kato K, et al. Isolation and characterization of human trophoblast side-population (SP) cells in primary villous cytotrophoblasts and HTR-8/SVneo cell line [J]. PLoS One, 2011, 6(7): e21990.
- [12] 王宁,陈凛. SP 细胞分选与肿瘤干细胞关系的研究进展 [J]. 世界华人消化杂志, 2008, 16(2): 199-202.
- [13] 赵飞,叶丽红. 单味中药抑制胃癌细胞株体外增殖作用的实验研究进展 [J]. 浙江中医药大学学报, 2012, 36(3): 348-349, 352.
- [14] Kim J, Jung J, Lee SJ, et al. Cancer stem-like cells persist in established cell lines through autocrine activation of EGFR signaling [J]. Oncol Lett, 2012, 3(3): 607-612.
- [15] Visvader JE. Cells of origin in cancer [J]. Nature, 2011, 469(7330): 314-322.
- [16] Setoguchi T, Taga T, Kondo T. Cancer stem cells persist in many cancer cell lines [J]. Cell Cycle, 2004, 3(4): 414-415.
- [17] Wang J, Guo LP, Chen LZ, et al. Identification of cancer stem cell-like side population cells in human nasopharyngeal carcinoma cell line [J]. Cancer Res, 2007, 67(8): 3716-3724.
- [18] Zhang Z, Zhu F, Xiao L, et al. Side population cells in human gallbladder cancer cell line GBC-SD regulated by TGF-beta-induced epithelial-mesenchymal transition [J]. J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci, 2011, 31(6): 749-755.
- [19] Yamamoto K, Suzu S, Yoshidomi Y, et al. Erythroblasts highly express the ABC transporter Bcrp1/ABCG2 but do not show the side population (SP) phenotype [J]. Immunol Lett, 2007, 114(1): 52-58.
- [20] 张志发,秦仁义,王敏,等. 人胆囊癌细胞系 GBC-SD 中侧群细胞的耐药性研究 [J]. 中华肝胆外科杂志, 2011, 17(7): 562-565.
- [21] Zhou J, Wang CY, Liu T, et al. Persistence of side population cells with high drug efflux capacity in pancreatic cancer [J]. World J Gastroenterol, 2008, 14(6): 925-930.

(收稿:2013-01-07 修回:2013-10-14)

欢 迎 投 稿 欢 迎 订 阅