

PDTC 对胃癌细胞 MKN-45 p53 异构体表达的影响及其生物学意义

王燕泽¹, 崔璨¹, 张红梅², 李蕾², 张丽², 王春芽², 焦建新², 高志星², 季万胜²
(1. 潍坊医学院, 山东 潍坊 261053; 2. 潍坊医学院附属医院, 山东 潍坊 261031)

摘要: [目的] 探讨核因子- κ B(NF- κ B) 抑制剂吡咯烷二硫代氨基甲酸(PDTC)对胃癌细胞 MKN-45 p53 异构体表达的影响及其生物学意义。 [方法] 不同浓度的 PDTC (25、50、75 μ mol/L) 单独及联合顺铂(4 μ g/ml) 作用于胃癌细胞 MKN-45, 采用细胞增殖/毒性检测试剂盒(CCK-8 试剂盒)检测细胞增殖抑制率; 实时荧光定量多聚酶链反应(RT-PCR)检测 p53 β 、 Δ 133p53 及 NF- κ B p65 在 mRNA 水平的表达情况。 [结果] CCK-8 结果显示, PDTC(25、50、75 μ mol/L) 单独作用时能抑制 MKN-45 细胞生长, 抑制率分别为 4.95%、12.20%、21.28%, 差异有统计学意义 ($P < 0.0001$); 当与顺铂(4 μ g/ml) 联合时, MKN-45 细胞增殖抑制率随 PDTC 浓度的增加而增加, 且高于单独顺铂组, 差异有统计学意义 ($P < 0.001$)。 RT-PCR 结果显示, 当用不同浓度 PDTC (25、50、75 μ mol/L) 预处理 2h 后再加入顺铂 (4 μ g/ml), MKN-45 细胞中 p53 β mRNA 的表达差异无统计学意义 ($P = 0.04$), 而 Δ 133p53 和 p65 mRNA 的表达随 PDTC 浓度的增加而降低, 且低于顺铂单独组, 差异有统计学意义 ($P < 0.0001$)。 Pearson 相关性分析显示, p65 与 p53 β mRNA 表达无相关性 ($r = 0.072, P = 0.798$), p65 与 Δ 133p53 mRNA 表达呈正相关 ($r = 0.814, P < 0.0001$)。 [结论] NF- κ B 抑制剂 PDTC 可以抑制 MKN-45 细胞的生长, 也可以增强顺铂对该细胞的生长抑制效应, Δ 133p53 异构体可能是 NF- κ B-p53 对话的关键分子。

关键词: p53 β ; Δ 133p53; NF- κ B p65; 胃癌; 吡咯烷二硫代氨基甲酸; 顺铂

中图分类号: R735.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2017)02-0156-05

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2017.02.A016

Effect of PDTC on Expression of p53 Isoforms in Gastric Cancer Cell Line MKN-45 and Its Biological Significance

WANG Yan-ze¹, CUI Can¹, ZHANG Hong-mei², et al.

(1. Weifang Medical College, Weifang 261053, China; 2. Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang 261031, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effect of the nuclear factor- κ B(NF- κ B) inhibitor pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on the expression of p53 isoforms in gastric cancer MKN-45 cells and its biological significance. [Methods] Different concentrations of PDTC (25, 50, 75 μ mol/L) alone or in combination with cisplatin (4 μ g/ml) were used to treat gastric cancer MKN-45 cells. The inhibition rate of MKN-45 cells was determined by cell proliferation/toxicity testing kits (CCK-8 assay). The mRNA expressions of p53 β , Δ 133p53 and NF- κ B p65 were determined by real-time polymerase chain reaction(RT-PCR). [Results] CCK-8 assay showed that PDTC(25, 50, 75 μ mol/L) inhibited the growth of gastric cancer MKN-45 cells with an inhibition rate of 4.95%, 12.20% and 21.28% respectively ($P < 0.0001$). When combined with cisplatin, the inhibition rate of PDTC was higher than PDTC alone ($P < 0.001$). RT-PCR showed that, when cisplatin (4 μ g/ml) was added in PDTC-pre-treated MKN-45 cells, the expressions of Δ 133p53 and p65 mRNA were reduced and lower than that in cells treated by cisplatin alone ($P < 0.0001$); however, there were no significant changes of p53 β mRNA expression ($P = 0.04$). Pearson correlation analysis showed that there was no correlation between mRNA expression of p65 and p53 β ($r = 0.072, P = 0.798$). The mRNA expression of p65 was positively correlated with Δ 133p53 ($r = 0.814, P < 0.0001$). [Conclusion] NF- κ B inhibitor PDTC can inhibit the growth of gastric cancer MKN-45 cells, and enhance inhibitory effect of cisplatin. The results indicate that Δ 133p53 rather than p53 β isoforms might be a key molecule of the NF- κ B-p53 interaction.

Key words: p53 β ; Δ 133p53; NF- κ B p65; gastric cancer; pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC); cisplatin

收稿日期: 2016-05-15; 修回日期: 2016-09-05

基金项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(BS2010SW034)

通讯作者: 季万胜, E-mail: jiwsh@wfmc.edu.cn

我国胃癌的发病率和死亡率是世界平均水平的2~3倍^[1],然而胃癌的化疗效果并不理想,肿瘤细胞的耐药性可能是制约治疗效果的主要原因。顺铂是临床上常见的化疗药物,相关研究显示^[2],顺铂在抗肿瘤的同时,可以激活NF-κB(nuclear factor,核因子-κB),导致肿瘤细胞产生抗药性,造成化疗失败。

NF-κB是一种细胞核内信号转导的重要因子,吡咯烷二硫代氨基甲酸(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)是NF-κB的常见抑制剂,p53β和Δ133p53是p53选择性表达的两种常见异构体,两者在肿瘤的发生发展中起非常重要的作用^[3]。目前有关p53异构体与NF-κB在胃癌中相互作用的报道很少,本研究通过观察在PDTC联合顺铂诱导胃癌细胞MKN-45发生凋亡的过程中,NF-κB与p53β、Δ133p53表达水平之间的关系,探讨PDTC在联合化疗治疗胃癌中的机制及应用前景。

1 材料与方法

1.1 主要材料及试剂

人胃癌细胞MKN-45由第四军医大学馈赠,RPMI-1640培养基(Hyclone公司),FBS胎牛血清(GIBCO公司);顺铂购自江苏豪森药业有限公司(批号150103),PDTC购自sigma公司(批号P8765)。CCK-8购自日本同仁研究所(货号CK04),TRIZOL(南京百斯凯科技有限公司,全式金cat:ET111-01),Real-time PCR试剂盒(南京百斯凯科技有限公司,全式金cat:AQ131-01),PCR引物合成(上海生工)。

1.2 细胞培养

人胃癌细胞培养于RPMI-1640完全培养基(含10%的胎牛血清,100U/ml青链霉素)中,置于5%CO₂、37℃的饱和湿度培养箱中,用0.25%胰蛋白酶消化传代培养,每2~3d传代1次,取处于对数生长期的细胞用于实验。

1.3 CCK-8法测定细胞增殖抑制率

以2×10⁴~3×10⁴/ml的密度接种于96孔板中,每孔100μl。培养箱中培养24h后加药,设置空白组、对照组和实验组,每组设3个复孔。实验组为:①顺铂4μg/ml;②PDTC25μmol/L;③PDTC50μmol/L;④PDTC75μmol/L;⑤顺铂4μg/ml+PDTC25μmol/L;

⑥顺铂4μg/ml+PDTC50μmol/L;⑦顺铂4μg/ml+PDTC75μmol/L。对照组:不含药物的培养基;空白组:不含细胞和药物的培养基。加药培养24h后弃去培养基,加入CCK-8试剂和培养基混合液(1:10比例),培养箱继续孵育2h后,用酶标仪(波长450nm)测各孔吸光度值,计算抑制率(IC)=[1-(实验组-空白组)/(对照组-空白组)]×100%。

1.4 RT-PCR检测p53β、Δ133p53及p65 mRNA的表达

取对数生长期的细胞以2×10⁴~3×10⁴/ml的密度接种于6孔板中,每孔2ml。设置空白组、对照组和实验组,每组设3个复孔。实验组为:①顺铂4μg/ml;②顺铂4μg/ml+PDTC25μmol/L;③顺铂4μg/ml+PDTC50μmol/L;④顺铂4μg/ml+PDTC75μmol/L。对照组:不含药物的培养基;空白组:不含细胞和药物的培养基。培养24h后按TRIZOL试剂盒说明提取总RNA,用逆转录试剂盒合成cDNA,以β-actin作为内参,反应体系为20μl(Table 1),反应条件为:95℃预变性5min,95℃变性20s,55℃退火20s;72℃延伸20s,共40个循环。用实时荧光定量PCR仪(Bio-Rad公司)对PCR产物进行实时定量分析,检测Ct值,根据ΔCt=目的Ct-内参Ct,ΔΔCt=实验组ΔCt-对照组ΔCt,计算基因相对表达量2^{-ΔΔCt}。

1.5 统计学处理

采用SPSS17.0软件进行统计分析,各组实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间差异采用单因素方差分析,两两比较采用LSD-*t*检验,两变量间相关性采用Pearson直线相关分析,*P*<0.01为差异有统计学意义。

Table 1 Primer sequence

Primers	Primer sequences
<i>p53β</i>	
First	Forward 5'-GTCACCTGCCATGGAGGAGCCGCA-3' Reverse 5'-GACGCACACCTATTGCAAGCAAGGCTTC-3'
Second	Forward 5'-ATGGAGGAGCCCGCAGTCAGAT-3' Reverse 5'-TTGAAAGCTGGTCTGGCTCTGA-3'
Δ133p53	
First	Forward 5'-CTGAGGTGTAGACGCCAACTCTCTCTAG-3' Reverse 5'-TGTCAGTCTGAGTCAGGCCCTTCTGTG-3'
Second	Forward 5'-GCTAGTGGGTTGCAGGAGGTGCTTACGC-3' Reverse 5'-CTCACGCCCACGGATCTGA-3'
<i>p65</i>	
	Forward 5'-TATGACCACACATGACAG-3' Reverse 5'-CTGGATCTGTGAAACTTTGA-3'
<i>β-actin</i>	
	Forward 5'-GATGAGATTGGCATGGCTTT-3' Reverse 5'-GTCACCTTCACCGTTCCAGT-3'

2 结果

2.1 PDTC 联合顺铂对 MKN-45 细胞增殖的影响

CCK-8 结果显示,不同浓度的 PDTC (25、50、75 μ mol/L)作用于 MKN-45 细胞,其细胞抑制率分别为 4.95%、12.20%和 21.28%,差异有统计学意义($F=167.10, P<0.0001$)。当用不同浓度 PDTC (25、50、75 μ mol/L) 预处理 2h 后再加入顺铂(4 μ g/ml),其细胞抑制率分别为 41.28%、49.57%、59.69%,明显高于单独顺铂组 (31.89%),且随 PDTC 浓度的增加而增加,差异有统计学意义($F=437.84, P=0.0002$)。说明 PDTC 能够抑制 MKN-45 细胞的生长,同时能增加传统化疗药物顺铂对 MKN-45 细胞的敏感性,发挥协同抗肿瘤作用(Table 2)。

2.2 PDTC 联合顺铂对人胃癌细胞中 $p53\beta$ 、 $\Delta 133p53$ 及 $p65$ mRNA 表达的影响

RT-PCR 结果显示,在 MKN-45 细胞中顺铂(4 μ g/ml)能增加 $p53\beta$ 、降低 $\Delta 133p53$ mRNA 的表达(本课题组前期工作也已证实);当用不同浓度 PDTC (25、50、75 μ mol/L) 预处理 2h 后再加入顺铂 (4 μ g/ml), $p53\beta$ mRNA 的表达无明显变化,而 $\Delta 133p53$ mRNA 的表达随 PDTC 浓度的增加而降低,差异有统计学意义($P<0.0001$)。本实验证实,顺铂(4 μ g/ml)可增加 MKN-45 细胞中 $p65$ mRNA 的表达,当用 25、50、75 μ mol/L PDTC 预处理 2h 后再加入顺铂 (4 μ g/ml), $p65$

Table 2 The inhibition rate of PDTC combined with cisplatin on gastric cancer cell MKN-45 for 24h ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Groups	Inhibition rate (%)
Cisplatin(4 μ g/ml)	31.89 $\pm$ 0.01
PDTC(25 μ mol/L)	4.95 $\pm$ 0.01
PDTC(50 μ mol/L)	12.20 $\pm$ 0.01
PDTC(75 μ mol/L)	21.28 $\pm$ 0.01
Cisplatin(4 μ g/ml)+PDTC(25 μ mol/L)	41.28 $\pm$ 0.01 $^{\Delta*}$
Cisplatin(4 μ g/ml)+PDTC(50 μ mol/L)	49.57 $\pm$ 0.01 $^{\nabla*}$
Cisplatin(4 μ g/ml)+PDTC(75 μ mol/L)	59.69 $\pm$ 0.03 **

Note: $^{\Delta}P=0.0006$, $^{\nabla}P<0.0001$, $^{*}P=0.0006$; compared with cisplatin group. $^{**}P<0.0001$; compared with PDTC group.

mRNA 的表达量随 PDTC 浓度的增加而降低,且低于顺铂组(Table 3, Figure 1)。

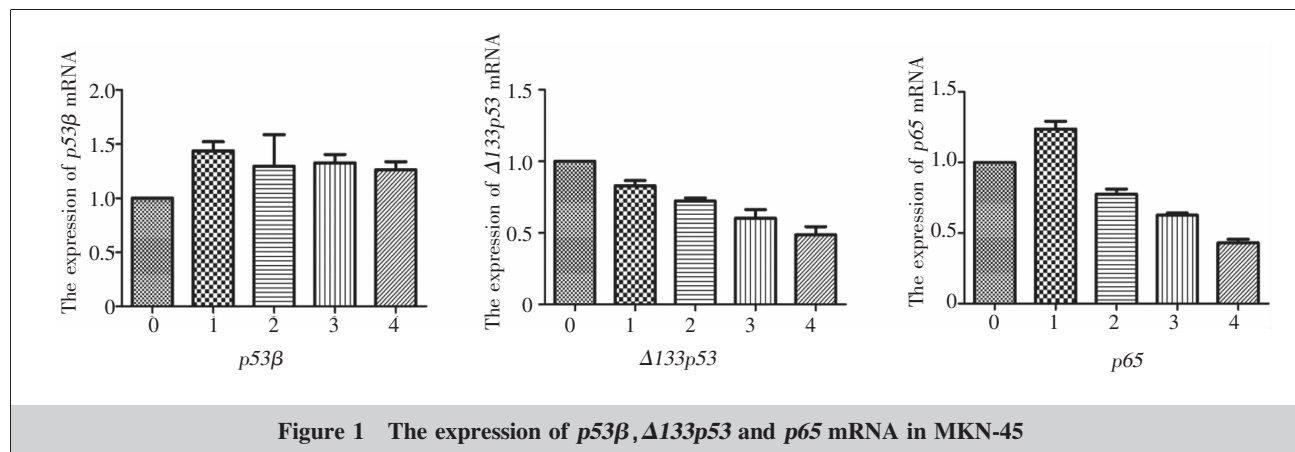
2.3 MKN-45 细胞中 $p53\beta$ 、 $\Delta 133p53$ 与 $p65$ mRNA 表达相关性

Pearson 直线相关分析结果显示, MKN-45 细胞中 $p53\beta$ 与 $p65$ mRNA 的表达无明显相关性 ($r=0.072, P=0.798$), $\Delta 133p53$ 与 $p65$ mRNA 的表达呈正相关($r=0.814, P<0.0001$)(Figure 2)。

Table 3 The expression of $p53\beta$, $\Delta 133p53$ and $p65$ mRNA in gastric cancer cell MKN-45

Groups	$p53\beta$	$\Delta 133p53$	$p65$
Control group	1.00	1.00	1.00
Cisplatin(4 μ g/ml)	1.44 $\pm$ 0.07 $^{\Delta}$	0.83 $\pm$ 0.03 $^{\nabla}$	1.31 $\pm$ 0.06 $^{\circ}$
Cisplatin(4 μ g/ml)+ PDTC(25 μ mol/L)	1.30 $\pm$ 0.24 *1	0.72 $\pm$ 0.02 *1	0.78 $\pm$ 0.03 $^{\square 1}$
Cisplatin(4 μ g/ml)+ PDTC(50 μ mol/L)	1.32 $\pm$ 0.06 *2	0.61 $\pm$ 0.05 *2	0.63 $\pm$ 0.01 $^{\square 2}$
Cisplatin(4 μ g/ml)+ PDTC(75 μ mol/L)	1.26 $\pm$ 0.06 *3	0.49 $\pm$ 0.05 *3	0.43 $\pm$ 0.02 $^{\square 3}$
F	3.78	68.98	286.40
P	0.04	<0.0001	<0.0001

Note: $^{\Delta}P=0.004$, $^{\nabla}P=0.004$, $^{\circ}P<0.0001$; compared with control group. $^{*1}P=0.04692$, $^{*2}P=0.1734$, $^{*3}P=0.0559$; $^{*1}P=0.0014$, $^{*2}P=0.005$, $^{*3}P=0.0009$; $^{\square 1}P=0.0003$, $^{\square 2}P<0.0001$, $^{\square 3}P<0.0001$; compared with cisplatin group.



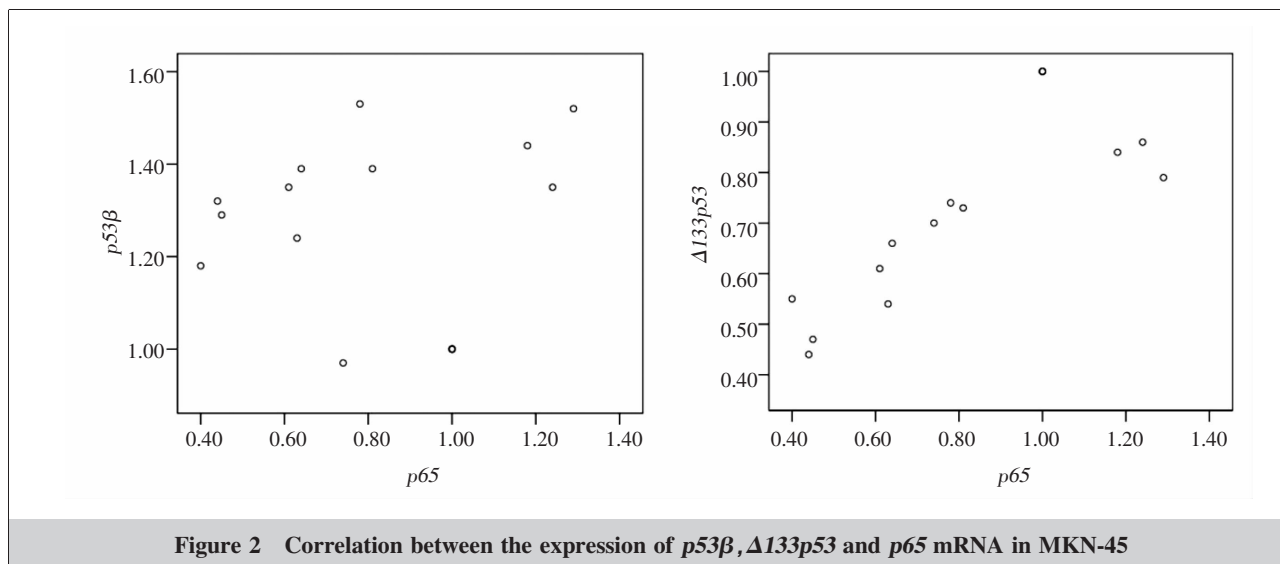


Figure 2 Correlation between the expression of *p53β*, *Δ133p53* and *p65* mRNA in MKN-45

3 讨论

p53 基因是抑癌基因家族中的重要成员, 它的突变与 50% 以上肿瘤发生密切相关^[4]。*p53* 剪接异构体的发现为肿瘤的研究提供了新的方向, 近年来, 已经证实, *p53* 可以选择性表达 12 种异构体: *p53*、*p53β*、*p53γ*、*Δ133p53*、*Δ133p53β*、*Δ133p53γ*、*Δ40p53*、*Δ40p53β*、*Δ40p53γ*、*Δ160p53*、*Δ160p53β* 和 *Δ160p53γ*^[5]。因此认为, 调控 *p53* 异构体的表达是 *p53* 基因发挥生物学功能的关键。

p53β 和 *Δ133p53* 是 *p53* 选择性表达的两种常见异构体, Avery-Kiejda 等^[5]发现在乳腺癌中 *p53β* 的表达与肿瘤大小呈负相关, 与患者无病生存率呈正相关, 并且在有 *p53* 基因突变的患者中, *p53β* 可以起到保护作用。Wei 等^[6]发现 *Δ133p53* 参与幽门螺杆菌感染相关胃炎到胃癌的进展, 起抗凋亡作用。本课题组 Ji 等^[7]发现在浅表性胃炎→萎缩性胃炎→胃癌发生过程中, *Δ133p53* mRNA 的表达量逐步增加, *p53β* mRNA 的表达量则逐步降低, 具有显著性差异, 因此猜测 *p53β* 和 *Δ133p53* 可作为胃癌诊断和治疗的标志物。Ji 等^[8]发现, 在顺铂-MKN-45 模型中, 随顺铂浓度的增加, *p53β* 和 *p53*、*Bax* 的表达量逐步增加, 且 *p53β* 的表达量与 *p53* 和 *Bax* 的表达呈正相关。由于 *p53* 基因复杂的调节功能, *p53* 异构体的确切机制还存在争议。因此有必要研究 *p53* 异构体与其他通路(如 NF-κB 通路)之间的相互作用。

核因子-κB(NF-κB)是一种重要的核转录因子,

它是参与调控炎症反应、免疫应答和肿瘤发展的重要信号传导途径^[9]。NF-κB 蛋白家族包括 5 个亚单位: Rel(c-Rel)、p65(RelA)、RelB、p50(NF-κB1)和 p52(NF-κB2), 其中以 p50/p65 组成的二聚体最常见。随着深入研究发现, NF-κB 参与多种肿瘤细胞如淋巴瘤、宫颈癌、卵巢癌以及胃肠道肿瘤等的增殖和凋亡^[10]。因此, 鉴于 NF-κB 在肿瘤中的重要作用, 对 NF-κB 的靶向研究将十分有意义。

Mohammad 等^[2]发现, 顺铂作为临床常用化疗药物可以激活 NF-κB, 导致肿瘤细胞产生抗药性, 造成化疗失败。本实验 RT-PCR 结果也证明, 与对照组比较, 顺铂(4μg/ml)能明显增加人胃癌 MKN-45 细胞中 NF-κB *p65* 基因的表达。吡咯烷二硫代氨基甲酸(PDTC)属二硫代氨基甲酸盐类化合物, 是 NF-κB 活化的细胞膜通透性抑制剂, 参与抑制多种细胞的 NF-κB 传导途径, 具有抗氧化特性及金属螯合双重作用^[11]。抑制 NF-κB 的活化被认为是增加化疗药物对组织敏感性的有效方案^[12], 焦建新等^[13]发现 PDTC 能通过抑制 NF-κB 的激活, 抑制肝癌细胞增殖, 促进肝癌细胞凋亡, 增强阿霉素的化疗作用。也有研究证实, PDTC 具有阻断顺铂激活 NF-κB 的作用, 增加宫颈癌对顺铂的敏感性, 促进细胞凋亡^[14]。

上述研究说明, *p53* 和 NF-κB 在肿瘤的发生、发展过程中起着重要调节作用。有研究发现, *p53* 和 NF-κB 两种蛋白在胃癌组织中的表达明显升高, 并在胃癌的发生、发展中存在正相关性^[15]。为研究 *p53* 异构体 (*p53β* 和 *Δ133p53*) 与 NF-κB 途径在

PDTC 联合顺铂抗肿瘤中的相互作用, 本实验采用 p53 β 、 Δ 133p53 表达阳性的胃癌细胞 MKN-45 为研究对象。通过 CCK-8 结果发现, PDTC 能单独抑制 MKN-45 细胞增殖, 同时, PDTC 能协同顺铂抑制 MKN-45 细胞的增殖, 细胞增殖抑制率明显高于单独药物组 (本课题组下一步将深入研究 PDTC 作用于胃癌细胞后细胞凋亡率的变化)。进一步通过 RT-PCR 分析发现, 在 MKN-45 细胞中, 顺铂与 PDTC 联合使用时, 随 PDTC 浓度的增加, Δ 133p53 和 p65 mRNA 的相对表达量逐渐降低, 且 Pearson 直线相关分析显示, Δ 133p53 和 p65 mRNA 的表达趋势呈正相关; 而 p53 β mRNA 的相对表达量随 PDTC 浓度的增加无明显改变。因此, 本研究认为在 PDTC 联合顺铂干预胃癌细胞 MKN-45 增殖的过程中, p53 异构体中的 Δ 133p53 作为抗凋亡基因, 可协同降低 NF- κ B p65 的表达, 发挥抗肿瘤作用。因此认为, Δ 133p53 而非 p53 β 异构体是 NF- κ B-p53 对话的关键分子。

综上所述, NF- κ B 抑制剂 PDTC 联合顺铂抗肿瘤的机制可能是通过抑制 NF- κ B 基因下调 Δ 133p53 异构体的表达来实现, Δ 133p53-NF- κ B 模型的研究将为胃癌的诊断、治疗以及预后提供新的依据。

参考文献:

- [1] Deng J, Liang H, Dong Q, et al. The survival decrease in gastric cancer is associated with the methylation of B-cell CLL/lymphoma 6 member B promoter[J]. Open Biol, 2014, 4(7):1-8.
- [2] Mohammad RM, Banerjee S, Li Y, et al. Cisplatin-induced antitumor activity is potentiated by the soy isoflavone genistein in BxPC-3 pancreatic tumor xenografts [J]. Cancer, 2006, 106(6):1260-1268.
- [3] Bourdon JC, Fernandes K, Murray-Zmijewski F, et al. p53 isoforms can regulate p53 transcriptional activity[J]. Genes Dev, 2005, 19(18):2122-2137.
- [4] Li KL, Kang J, Zhang P, et al. Efficacy of recombinant adenoviral human p53 gene in the treatment of lung cancer-mediated pleural effusion [J]. Oncol Lett, 2015, 9(5): 2193-2198.
- [5] Avery-Kiejda KA, Morten B, Wong-Brown MW, et al. The relative mRNA expression of p53 isoforms in breast cancer is associated with clinical features and outcome [J]. Carcinogenesis, 2014, 35(3):586-596.
- [6] Wei J, Noto J, Zaika E, et al. Pathogenic bacterium Helicobacter pylori alters the expression profile of p53 protein isoforms and p53 response to cellular stresses[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012, 109(38):E2543-E2550.
- [7] Ji WS, Zhang N, Zhang HM, et al. Expression of p53 β and Δ 133p53 isoforms in different gastric tissues [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(9):10468-10474.
- [8] Ji W, Ma J, Zhang H, et al. Role of p53 β in the inhibition of proliferation of gastric cancer cells expressing wild-type or mutated p53 [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1):691-695.
- [9] Hu Z, Liu X, Tang Z, et al. Possible regulatory role of Snail in NF- κ B-mediated changes in E-cadherin in gastric cancer [J]. Oncol Rep, 2013, 29(3):993-1000.
- [10] Wu D, Wu P, Zhao L, et al. NF- κ B expression and outcomes in solid tumors: a systematic review and meta-analysis [J]. Medicine(Baltimore), 2015, 94(40):1-12.
- [11] Gao P, Gao YJ, Liang HL. Effect of NF- κ B inhibitor PDTC on VEGF and endostatin expression of mice with Lewis lung cancer [J]. Asian Pac J Trop Med, 2015, 8(3):220-224.
- [12] Sebens S, Arlt A, Schafer H. NF-kappa B as a molecular target in the therapy of pancreatic carcinoma[J]. Recent Results Cancer Res, 2008, 177:151-164.
- [13] Jiao JX, Ji WS, Gao ZX, et al. Effects of antioxidant PDTC on the proliferation of hepatocellular carcinoma a Hep3B cells line and its mechanism[J]. Shandong Medical Journal, 2010, 50(7):9-11.[焦建新, 季万胜, 高志星, 等. 抗氧化剂 PDTC 对肝癌细胞株 Hep3B 增殖的影响及机制[J]. 山东医药, 2010, 50(7):9-11.]
- [14] Zheng X, Lv J, Shen Q, et al. Synergistic effect of pyrrolidine dithiocarbamate and cisplatin in human cervical carcinoma [J]. Reprod Sci, 2014, 21(10):1319-1325.
- [15] Guan X. Expressions of P53 and NF- κ B in gastric adenocarcinoma and their clinical meaning[D]. Tai'an: Taishan Medical University, 2014.1-53. [关鑫. P53、NF- κ B 在胃癌中的表达及临床意义[D]. 泰安: 泰山医学院, 2014.1-53.]