

注,这就对低剂量图像的质量有了更高的要求。本组研究结果显示低剂量迭代算法重建的 iDose4 图像噪声、信噪比及 iDose4 ~ 6 图像质量主观评分与常规剂量比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );低剂量迭代算法重建的 iDose5 ~ 6 中较常规剂量图像噪声降低,信噪比增加。但有文献报道,运用 iDose 迭代重建的运算量能达到 FBP 的 100 倍以上,而且等级越高运算量越大,工作站的运算负荷不断加大,在日常工作中如果每个受检查扫描后均采用 iDose5 ~ 6 迭代重建,将导致工作站的运算速度大大下降,降低工作效率<sup>[10]</sup>。另外李萍等<sup>[3]</sup>对于迭代算法诊断肺结节的研究结果显示,随着 iDose 等级的升高,病灶边缘与正常肺组织间有被密度均匀化的趋势,小结构可见性受到影响。本研究未出现这种情况,可能是由于结石与周围组织的高对比。

总之,CT 低剂量扫描联合迭代算法诊断泌尿系结石是可行的,可在不影响图像质量的前提下明显降低了辐射剂量。迭代算法重建中 iDose4 在泌尿系结石的低剂量 CT 诊断中为最优临界水平。

参考文献

1 郎志国,陈健,隋长平,等.输尿管结石应用 CT 与 B 超诊断的价值对比[J].中国医药指南,2014,12(34):182-183  
 2 徐姝,侯阳,郭启勇.应用迭代重建技术的低剂量增强 CT 评估肝

脏肿瘤的可性[J].中国医学影像技术,2011,27(8):1633-1636  
 3 李萍,于春瑶,刘斌,等.256 排螺旋 CT 迭代算法诊断肺结节的最优水平[J].中华实用诊断与治疗杂志,2015,29(1):87-89  
 4 王秋霞,万常华,陈亮,等.64 层螺旋 CT 检测泌尿系结石低 kV 扫描的优化选择及临床应用[J].放射学实践,2010,25(10):1157-1159  
 5 Brenner DJ, Hall EJ. Computed tomography: an increasing source of radiation exposure[J]. N Engl J Med, 2007, 357:2277-2284  
 6 金学康,伏云,黄丽静,等.低剂量 MSCT 扫描在泌尿系结石诊断中的应用[J].现代医用影像学,2013,22(1):34-36  
 7 Kwon JK, Chang IH, Moon YT. Usefulness of low-dose nonenhanced computed tomography with iterative reconstruction for evaluation of urolithiasis: diagnostic performance and agreement between the urologist and radiologist[J]. Urology, 2015, 85(3):531-538  
 8 Srcott Kriegshause J, Naidu SG, Paden RG. Feasibility of ultra-low radiation dose reduction for renal stone CT using model-based iterative reconstruction: prospective pilot study radiologist [J]. Clin Imaging, 2015, 39(1):99-103  
 9 田庆龙,吕佳南,许传斌,等. iDose4 迭代重建技术在胸部 CT 扫描中最佳方案的探讨[J].山东医药,2015,55(9):39-41  
 10 Joemai RM, Geleijns J, Veldkamp WJ. Development and validation of a low dose simulator for computed tomography[J]. Eur Radiol, 2010, 20: 958-966 (收稿日期:2015-11-16) (修回日期:2015-11-30)

# 小檗碱通过 Notch 途径抑制人 T 淋巴细胞性白血病 Molt-4 细胞增殖及凋亡的影响

王冠玲 胡斌飞

**摘要** 目的 探讨小檗碱对人 T 淋巴细胞白血病细胞株 Molt-4 细胞体外增殖抑制、凋亡诱导及相关机制。方法 CCK-8 法检测不同浓度的小檗碱对 Molt-4 细胞的增殖抑制作用;流式细胞术检测细胞凋亡率;RT-PCR 检测 Molt-4 细胞 Notch1、Bcl-x1、Deltex1 基因表达情况。**结果** 小檗碱诱导 Molt-4 细胞毒性及凋亡作用,呈剂量依赖性 ( $P < 0.05$ );RT-PCR 显示 Molt-4 细胞株有 Notch1 mRNA 的表达,且随着小檗碱剂量的增加,Notch1、Bcl-x1、Deltex1 mRNA 的表达逐渐下降。**结论** 小檗碱可能通过 Notch 信号途径抑制 Molt-4 细胞增殖并诱导凋亡。

**关键词** 小檗碱 Molt-4 细胞 Notch1 信号途径 凋亡

**中图分类号** R73 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.06.043

**Effects of Berberine on the Proliferation and Apoptosis in Molt-4 cell through Notch Signaling Pathway.** Wang Guanling, Hu Binfei. Ningbo Women&Children's Hospital, Zhejiang 315012, China

**Abstract Objective** To investigate the effects of berberine on the proliferation, apoptosis and explore its mechanism in human T

lymphoblastic leukemia cell line (Molt-4). **Methods** Molt-4 cells were treated with different concentrations of berberine in vitro respectively. Antiproliferative effect was detected by CCK-8 assay. Apoptosis rate was observed by flow cytometry (FCM). The expression of Notch1, Bcl-x1 and Deltex1 mRNA was examined by Semi-quantitative reverse transcription PCR (RT-PCR). **Results** Berberine induced cytotoxicity and apoptosis in Molt-4 cells in a dose-dependent manner ( $P < 0.05$ ). RT-PCR results showed that the expression of Notch1, Bcl-x1 and Deltex1 genes decreased with the increase of berberine concentration ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Berberine could inhibit the proliferation of Molt-4 cells and promote the apoptosis through down-regulation expression of apoptotic protein mediated by Notch signaling pathway.

**Key words** Berberine; Molt-4 cells; Notch1 cell signaling pathway; Cell apoptosis

小檗碱(berberine)即黄连素,属于异喹啉衍生物类生物碱,是一种季胺化合物。研究发现小檗碱具有明显的抗肿瘤作用,对甲状腺癌、前列腺癌、肺癌、结肠癌、乳腺癌、神经母细胞瘤、黑色素瘤、白血病等许多肿瘤细胞的生长及增殖都有抑制作用<sup>[1-8]</sup>。Notch信号通路作为一种进化保守的细胞间相互作用机制,不仅对正常组织细胞的分化、发育起重要作用,而且和一些肿瘤的发生和发展关系密切,在人类许多实体瘤和血液系统肿瘤中都发现有 Notch1 的异常表达,其在肿瘤细胞增殖及凋亡中的作用也受到了人们越来越多的关注<sup>[9-12]</sup>。本研究通过测定人 T 淋巴细胞性白血病细胞(Molt-4)中 Notch1 的表达,观察与凋亡相关基因 Bcl-x1 的关系,探讨小檗碱抗肿瘤作用的分子生物学机制,为临床白血病的化疗提供新思路。

### 材料与方 法

1. 材料:人 T 淋巴细胞性白血病细胞株 Molt-4 (华中科技大学附属同济医院分子生物学实验中心提供),RPMI 1640 培养液、新生牛血清购自 Hyclone 公司。小檗碱、RNA 酶、碘化丙啶购自 Sigma Aldrich 公司。CCK-8 试剂购自碧云天公司。Trizol 试剂购自 Introvigen 公司,氯仿、异戊醇、乙醇为国产分析纯。反转录酶 MMLV、Oligo(dT)<sub>15</sub>、RNase 抑制剂、dNTP、Taq 聚合酶为 Promega 产品。引物由上海生工公司合成。小檗碱用无水乙醇配制为储存液,-20℃保存,临用前用 RPMI1640 培养液稀释到工作浓度。

2. 方法:(1)细胞培养:人 T 淋巴细胞性白血病细胞株 Molt-4 细胞在含有 10% 新生牛血清、青霉素 100U/L 及链霉素 100mg/L 的 RPMI1640 培养液中,37℃、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度条件下培养,每 2~3 天传代 1 次。实验前 24h 无血清培养液换液使之同步,用台盼蓝拒染法鉴定细胞活性在 98% 以上。(2)CCK-8 法检测小檗碱细胞抑制增殖:取对数生长期 Molt-4 细胞用 RPMI1640 洗涤并调整细胞密度至  $5 \times 10^5$ /ml,以每孔 100 $\mu$ l 细胞悬液接种于 96 孔板,实验孔加入

10 $\mu$ l 不同浓度的小檗碱,对照孔加入等体积的溶质。分别以每个不同的时间点和每个不同的药物剂量作为一组,每组均设 4 个复孔及 1 个对照孔。在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中药物作用 24h 后,每孔加入 10 $\mu$ l CCK-8 继续孵育。24h 后在 450nm 波长处上酶联免疫检测仪测定各孔的吸光度 A 值,并计算抑制率。细胞增殖抑制率(%)=(对照组吸光度 A 均值-实验组吸光度 A 均值)/对照组吸光度 A 均值 $\times$ 100%,重复实验 3 次。(3)流式细胞术检测细胞凋亡率:取对数生长期细胞,不同浓度的小檗碱作用 24h 后,采集不少于  $1 \times 10^6$ /ml 的细胞,1500r/min 离心 10min 弃上清,用 80% 乙醇 1ml 固定,-20℃过夜;将固定的细胞 1500r/min 离心 10min 弃上清;PBS 洗后 1500r/min 离心 10min 弃上清;将细胞重悬于 100 $\mu$ l PC 缓冲液,室温放置 15~30min,并不时摇动,后离心弃上清;PBS 再洗 1 次,将细胞重悬于 500 $\mu$ l PBS 液中,加入 10 $\mu$ l 10 $\times$  PI 染液和 5 $\mu$ l 核糖核酸酶 RnaseA (1g/L),室温避光 30min,上机检测,同时用 Cellquest 软件进行分析。(4)RT-PCR 检测 Molt-4 细胞 Notch1、Bcl-x1、Deltex mRNA 的表达:收获各组人 T 淋巴细胞性白血病 Molt-4 细胞,按 Trizol 试剂盒说明书提取总 RNA。将所获得的 RNA 取 2 $\mu$ l 稀释成 100 倍后测吸光值,以 A260/A280 确定其浓度和纯度,计算 RNA 含量。按试剂盒说明操作反转录合成 cDNA 第 1 链。反转录反应体系为:RNA 1 $\mu$ l, oligo(dT) 15 1 $\mu$ l, ddH<sub>2</sub>O 8.5 $\mu$ l, 70℃ 10min; 5 $\times$  Buffer 4 $\mu$ l, 10mmol/L dNTPs 2 $\mu$ l, RNase inhibitor 0.5 $\mu$ l, MMLV 1 $\mu$ l, 0.1mol/L DTT 2 $\mu$ l 与上体系混匀,42℃ 60min, 95℃ 5min,所得产物-20℃保存。以 cDNA 为模板,进行 PCR 反应。Notch1 引物序列为上游引物:5'-GCCGCC TTTGTGCTTCTGTTC-3', 下游引物:5'-CCGGTGGTCTGTCTGCTCGTC-3'。PCR 循环条件为变性 95℃ 40s,退火 61℃ 40s,延伸 72℃ 45s,30 个循环,最后 72℃ 延伸 10min,扩增产物为 300bp。Human  $\beta$ -actin 引物序列为上游引物:5'-AGCGAGCATC-

CCCCAAAGTT - 3', 下游引物: 5' - GGGCACGAAG-GCTCATCATT - 3'; Bcl - xl 引物序列为上游引物: 5' - AAGCGTAGACAAGGAGATGC - 3', 下游引物: 5' - GGAGGGTAGAGTGGATGGT - 3'; Deltex1 引物序列为上游引物: 5' - AAGAAGTTCACCGCAAGAGGATT - 3', 下游引物: 5' - CTAGGTAGCTAGCGTCCGGGTAG - 3'。β - actin、Bcl - xl、Deltex1 目的基因片段长度分别为 285、254、209bp。PCR 循环条件为变性 95℃ 40s, 退火 56℃ 40s, 延伸 72℃ 50s, 最后 72℃ 延伸 10min, 35 个循环。取 PCR 产物于 2% 琼脂糖凝胶电泳, 紫外线显影、照相。每个样本重复 3 次, 采用 Gel-Pro3 软件进行灰度分析。

3. 统计学方法: 采用 SPSS14.0 统计软件包进行数据处理。实验数据均以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 *t* 检验及方差分析比较组间差异, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同剂量的小檗碱对 Molt - 4 细胞增殖的影响: CCK - 8 结果显示: 对照组 Molt - 4 细胞体外生长活跃。12.5、25、50、100μmol/L 浓度的小檗碱作用于 Molt - 4 细胞 24h 后, 细胞均呈不同程度的抑制, 呈剂量依赖性(表 1)。25 ~ 100μmol/L 小檗碱组, 细胞存

活率明显下降( $P < 0.01$ )。

2. 流式细胞术检测细胞凋亡: 12.5、25、50、100μmol/L 浓度的小檗碱作用于 Molt - 4 细胞 24h 后, 细胞凋亡率分别见表 2 及图 1, 且随小檗碱浓度增加, G<sub>2</sub>/M 期增加、S 期减少。

表 1 小檗碱作用 Molt - 4 细胞对其增殖的影响

组别	药物浓度 (μmol/L)	吸光度 A 值 ( $\bar{x} \pm s$ )	抑制率 (%)
对照组		0.205 ± 0.004	
小檗碱组	12.5	0.176 ± 0.009	14.1%
	25	0.150 ± 0.009*	26.8%
	50	0.142 ± 0.008*	30.7%
	100	0.102 ± 0.009*	50.2%

与对照组相比, \*  $P < 0.05$

表 2 不同浓度小檗碱处理 Molt - 4 细胞 24h 后 FCM 检测凋亡率

组别	药物浓度 (μmol/L)	凋亡率 (%) ( $\bar{x} \pm s$ )
对照组		2.3 ± 0.8
小檗碱组	12.5	9.6 ± 1.1*
	25	19.1 ± 1.9**
	50	27.5 ± 2.7**
	100	39.6 ± 2.8**

与对照组相比, \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

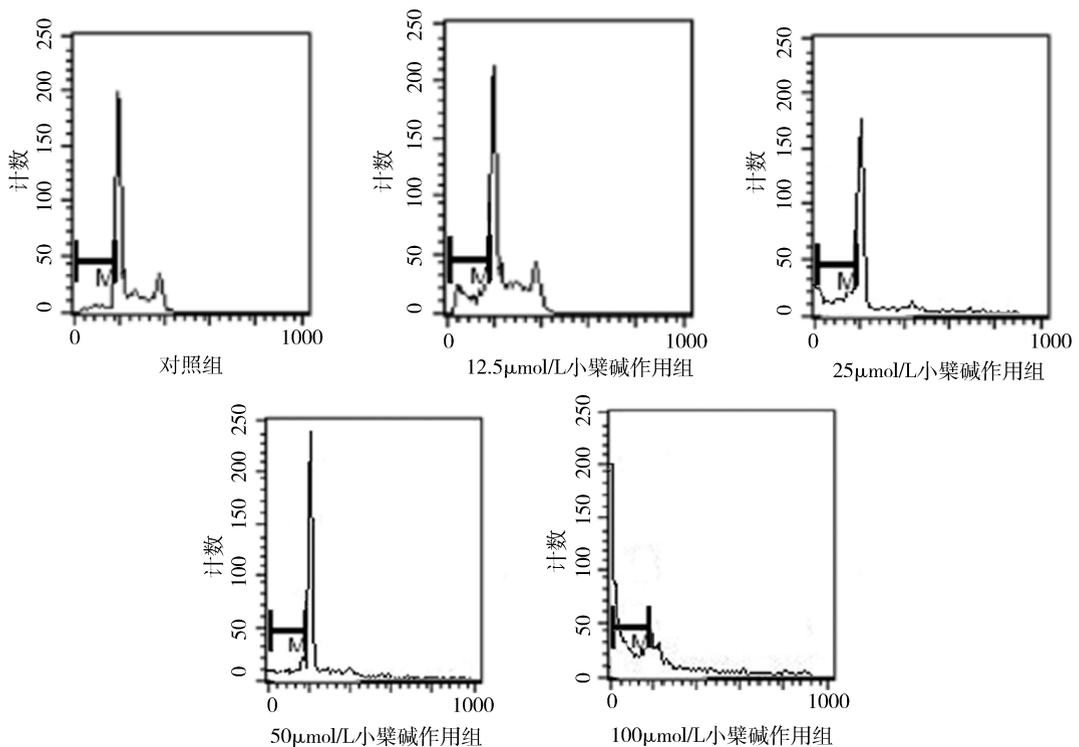


图 1 不同浓度小檗碱处理 Molt - 4 细胞 24h 后 FCM 检测结果

3. RT-PCR 半定量检测不同剂量小檗碱作用下的 Molt-4 细胞内 Notch1、 $\beta$ -actin、Bcl-x1、Deltex1 mRNA 含量。RT-PCR 法检测 Molt-4 细胞内 Notch1、 $\beta$ -actin、Bcl-x1、Deltex1 mRNA 含量。结果显示,在约 300、285、254、209bp 分别有一明亮的条带(图 2、图 3)。50~100 $\mu$ mol/L 小檗碱均可明显抑制 Molt-4 细胞内 Notch1、Bcl-x1、Deltex1 mRNA 的表达,与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

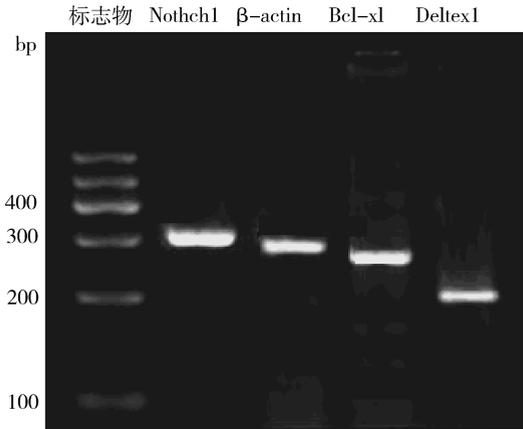


图 2 RT-PCR 产物:Notch1、 $\beta$ -actin、Bcl-x1 和 Deltex1 琼脂糖凝胶电泳分析

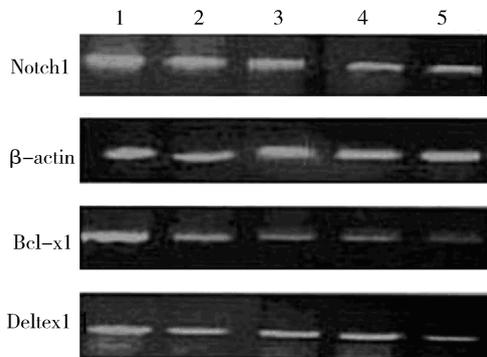


图 3 不同浓度小檗碱作用 Molt-4 细胞 24h 后 Notch1、 $\beta$ -actin、Bcl-x1 和 Deltex1 mRNA 表达差异比较

1. 对照组; 2. 12.5 $\mu$ mol/L 小檗碱作用组; 3. 25 $\mu$ mol/L 小檗碱作用组; 4. 50 $\mu$ mol/L 小檗碱作用组; 5. 100 $\mu$ mol/L 小檗碱作用组

### 讨 论

Notch 信号通路由 Notch 受体 (Notch1、Notch2、Notch3、Notch4)、Notch 配体 (DSL 蛋白) 和 CSL DNA 结合蛋白组成。Notch 信号通路与恶性肿瘤的关系最先于 1991 年在人类 T 淋巴母细胞白血病中被发现。Weng 等<sup>[13]</sup>研究发现在儿童 T 淋巴细胞性白血病病例中有超过 50% 的患儿有 Notch1 基因的突变。目前普遍认为 Notch1 对人 T 淋巴细胞性白血病具有促进

生长、抗凋亡作用<sup>[14,15]</sup>。已证实的 Notch/CSL 直接靶基因包括 HES 家族成员, Deltex1、Pre-T- $\alpha$ 、P21、NF- $\kappa$ B、cyclinD 及 c-Myc 等<sup>[12,13,15,16]</sup>。

有研究报道表明小檗碱在体内、外均具有抑制肿瘤细胞生长的作用,其机制包括通过抑制肿瘤细胞增殖从而诱导细胞凋亡<sup>[1,2]</sup>;抑制肿瘤细胞发展和侵袭<sup>[3-5]</sup>;增加肿瘤细胞对放、化疗敏感度。小檗碱参与调节的细胞信号分子主要包括 cyclin D1、COX-2、integrin  $\beta$ 1 信号通路、TRAIL、DAXX 等<sup>[1-3,7-9]</sup>。此外诸多的癌基因和抑癌基因也参与了小檗碱抗肿瘤作用,如 P53 信号,但有研究显示小檗碱不依赖 P53 的细胞凋亡<sup>[3,8]</sup>。Bcl-x1 是重要的抗凋亡基因,其表达与凋亡呈负相关,Bcl-x1 可抑制多种因素诱导的细胞凋亡的共同通路,在白血病中 Bcl-x1 的高表达与多药耐药密切相关<sup>[17]</sup>。

本研究通过 CCK-8 法检测不同浓度小檗碱对 Molt-4 细胞的增殖抑制作用,表明 25~100 $\mu$ mol/L 小檗碱对其抑制作用显著( $P < 0.01$ ),呈剂量依赖性效应。RT-PCR 结果显示,50、100 $\mu$ mol/L 药物浓度的小檗碱均可明显抑制 Notch1、Bcl-x1、Deltex1 mRNA 的表达。本研究表明小檗碱可抑制 Molt-4 细胞增殖并诱导细胞凋亡,同时观察到随着药物剂量的增加,Molt-4 细胞中 Notch1、Bcl-x1、Deltex1 mRNA 明显下降。笔者推测表明小檗碱可能通过调控 Notch1 基因转录水平,下调靶基因 Deltex1 的表达,改变细胞凋亡蛋白 Bcl-x1 的表达,最终导致细胞生长抑制并诱导细胞凋亡。

目前化疗是急性白血病治疗的主要方法,提高肿瘤细胞对化疗药物敏感度并减轻药物不良反应是白血病治疗的目的。本研究探讨小檗碱的体外抗 T 淋巴细胞白血病细胞生长增殖及其可能的分子机制为其单独或联合其他抗肿瘤药物在临床白血病化疗方案中的应用提供可能性及理论依据<sup>[18]</sup>。

### 参 考 文 献

- 1 Park KS, Kim JB, Bae J, et al. Berberine inhibited the growth of thyroid cancer cell lines 8505C and TPC1 [J]. Yonsei Med J, 2012, 53 (2): 346-351
- 2 Wang Y, Liu Q, Liu Z, et al. Berberine, a genotoxic alkaloid, induces ATM-Chk1 mediated G<sub>2</sub> arrest in prostate cancer cells [J]. Mutat Res fund Mol M, 2012, 734(1): 20-29
- 3 Katiyar SK, Meeran SM, Katiyar N, et al. P53 cooperates berberine-induced growth inhibition and apoptosis of non-small cell human lung cancer cells in vitro and tumor xenograft growth in vivo [J]. Mol Carcinog, 2009, 48(1): 24-37

- 4 Park JJ, Seo SM, Kim EJ, *et al.* Berberine inhibits human colon cancer cell migration via AMP-activated protein kinase-mediated down-regulation of integrin  $\beta 1$  signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 426(4):461-467
- 5 Refaat A, Abdelhamed S, Yagita H, *et al.* Berberine enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(3):840-844
- 6 Li J, Gu L, Zhang H, *et al.* Berberine represses DAXX gene transcription and induces cancer cell apoptosis [J]. *Lab Invest*, 2013, 93(3):354-364
- 7 Kim HS, Kim MJ, Kim EJ, *et al.* Berberine-induced AMPK activation inhibits the metastatic potential of melanoma cells via reduction of ERK activity and COX-2 protein expression [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 83(3):385-394
- 8 Liu J, Zhang X, Liu A, *et al.* Berberine induces apoptosis in p53-null leukemia cells by down-regulating XIAP at the post-transcriptional level [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2013, 32(5):1213-1224
- 9 Ntziachristos P, Lim JS, Sage J, *et al.* From fly wings to targeted cancer therapies: a centennial for notch signaling [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(3):318-334
- 10 Lobry C, Oh P, Mansour MR, *et al.* Notch signaling: switching an oncogene to a tumor suppressor [J]. *Blood*, 2014, 123(16):2451-2459
- 11 South AP, Cho RJ, Aster JC. The double-edged sword of Notch signaling in cancer [C]. *Semin Cell Dev Biol*, 2012, 23(4):458-464
- 12 Lobry C, Ntziachristos P, Ndiaye-Lobry D, *et al.* Notch pathway activation targets AML-initiating cell homeostasis and differentiation [J]. *J Exp Med*, 2013, 210(2):301-319
- 13 Weng AP, Ferrando AA, Lee W, *et al.* Activating mutations of Notch1 in human T cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Science*, 2004, 306(5694):269-271
- 14 Ma W, Gutierrez A, Goff DJ, *et al.* NOTCH1 signaling promotes human T-cell acute lymphoblastic leukemia initiating cell regeneration in supportive niches [J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e39725
- 15 Aster JC, Blacklow SC, Pear WS. Notch signaling in T-cell lymphoblastic leukemia/lymphoma and other hematological malignancies [J]. *AMJ Pathol*, 2011, 223(2):263-274
- 16 Paganin M, Ferrando A. Molecular pathogenesis and targeted therapies for NOTCH1-induced T-cell acute lymphoblastic leukemia [J]. *Blood Rev*, 2011, 25(2):83-90
- 17 Feng H, Stachura DL, White RM, *et al.* T-lymphoblastic lymphoma cells express high levels of BCL2, SIP1, and ICAM1, leading to a blockade of tumor cell intravasation [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18(4):353-366
- 18 Koch U, Radtke F. Notch in T-ALL: new players in a complex disease [J]. *Trends Immunol*, 2011, 32(9):434-442

(收稿日期:2015-11-03)

(修回日期:2015-12-01)

## I型胶原蛋白和 TGF- $\beta 1$ 在食管鳞癌中的表达及临床意义

程国平 吴梅娟 范柳倩

**摘要** **目的** 研究 I 型胶原蛋白和 TGF- $\beta 1$  在食管鳞癌中的表达及意义。**方法** 选取 2013 年 1 月~2014 年 12 月在笔者医院接受治疗的食管鳞癌患者 82 例作为研究对象,将其切除的食管鳞癌组织制成标本作为观察组进行研究,另随机选取 20 例患者取其癌组织旁正常的食管黏膜组织作为对照组,检测两组中 I 型胶原蛋白和 TGF- $\beta 1$  的表达情况。并采用单因素分析这两种指标表达的相关性。**结果** 在癌组织中, I 型胶原蛋白、TGF- $\beta 1$  均存在异常高表达,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );实施单因素分析,发现 I 型胶原蛋白、TGF- $\beta 1$  的高表达与是否存在淋巴结的转移以及 pTNM 分期有明显的关系,且发现二者的表达存在明显的正相关性( $r = 0.744, P = 0.000$ )。**结论** 在食管鳞癌患者癌组织中, I 型胶原蛋白以及 TGF- $\beta 1$  存在明显的高表达,且这两种指标的表达与肿瘤的浸润深度、pTNM 分期以及淋巴结是否转移存在明显的相关性,可见其在食管鳞癌的发生以及发展过程中起到较为重要的作用。

**关键词** 食管鳞癌 I 型胶原蛋白 TGF- $\beta 1$  相关性

**中图分类号** R735 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.06.044

**Expression and Significance of Type I Collagen and TGF- $\beta 1$  in Esophageal Squamous Cell Carcinoma.** Cheng Guoping, Wu Meijuan, Fan Liuqian. Department of Pathology of Tumor Hospital of Zhejiang Province, Zhejiang 310022, China

作者单位:310022 杭州,浙江省肿瘤医院病理科  
通讯作者:吴梅娟,电子邮箱:chengguopingzl@sina.com