

- 3 中华医学会眼科学分会角膜病学组. 干眼临床诊疗专家共识(2013年)[J]. 中华眼科杂志, 2013, 49(1): 73-75
- 4 姚涛, 崔琦, 何伟. 干眼患者泪液结晶图和脂质层异常的关系研究[J]. 国际眼科杂志, 2020, 20(7): 1279-1282
- 5 Both T, Dalm VA, van Hagen PM, *et al.* Reviewing primary Sjögren's syndrome: beyond the dryness - From pathophysiology to diagnosis and treatment[J]. Int J Med Sci, 2017, 14(3): 191-200
- 6 亚洲干眼协会中国分会, 海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会眼表与泪液病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼表与干眼学组. 中国干眼专家共识: 检查和诊断(2020年)[J]. 中华眼科杂志, 2020, 56(10): 741-747
- 7 杨怡然, 胡皎月, 刘祖国. 环孢素 A 在干眼治疗中的价值及应用前景[J]. 中华眼科杂志, 2020, 56(10): 787-795
- 8 黄丽, 项敏泓, 张兴儒. 基质金属蛋白酶及其抑制剂在眼表疾病发病机制研究中的进展[J]. 国际眼科纵览, 2017, 41(1): 32-37
- 9 Solomon A, Dursun D, Liu Z, *et al.* Pro- and anti-inflammatory forms of interleukin-1 in the tear fluid and conjunctiva of patients with dry-eye disease[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42(10): 2283-2292
- 10 亚洲干眼协会中国分会, 海峡两岸医药卫生交流协会眼科学专业委员会眼表与泪液病学组, 中国医师协会眼科医师分会眼表与干眼学组. 中国干眼专家共识: 定义和分类(2020年)[J]. 中华眼科杂志, 2020, 56(6): 418-422
- 11 Jie Y, Xu L, Wu YY, *et al.* Prevalence of dry eye among adult Chinese in the Beijing Eye Study[J]. Eye: Lond, 2009, 23(6): 88-93
- 12 张亦文, 田周俊逸, 金月波, 等. 眼表综合分析仪在评价干燥综合征干眼中的临床意义[J]. 眼科新进展, 2016, 36(7): 630-633
- 13 Bron AJ, de Paiva CS, Chauhan SK, *et al.* TFOS DEWS II pathophysiology report[R]. Ocul Surf, 2017, 15(3): 438-510
- 14 李景兰, 高艺, 颜鑫霖, 等. 原发性干燥综合征相关性干眼在眼科诊疗中的现状及研究进展[J]. 眼科学报, 2019, 34(3): 163-169
- 15 Luo L, Li DQ, Doshi A, *et al.* Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004, 45(12): 293-301
- 16 Siemasko KF, Gao J, Calder VL, *et al.* In vitro expanded CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells maintain a normal phenotype and suppress immune-mediated ocular surface inflammation[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008, 49(12): 34-40
- 17 Chauhan SK, El Annan J, Ecoiffier T, *et al.* Autoimmunity in dry eye is due to resistance of Th17 to Treg suppression[J]. J Immunol, 2009, 182(3): 47-52

(收稿日期: 2021-03-19)

(修回日期: 2021-03-22)

告达庭抑制卵巢癌生长及其机制的研究

龚建明 林 琪

摘 要 **目的** 研究告达庭(caudatin)对卵巢癌生长的抑制作用及其机制。**方法** 细胞实验分为两组,即对照组和告达庭组(30 μ mol/L告达庭作用卵巢癌细胞 SKOV3 24h)。CCK-8 法检测细胞增殖;ELISA 法检测细胞凋亡;Western blot 法检测 SKOV3 细胞中 DNMT1、Axin、Bcl-2、cyclinD1 蛋白的表达。观察告达庭对卵巢癌细胞内凋亡相关蛋白的表达作用。建立起裸鼠卵巢癌皮下移植瘤模型,观察移植瘤的生长,实时荧光定量 PCR 检测凋亡相关基因的表达。**结果** 与对照组比较,告达庭可抑制卵巢癌细胞 SKOV3 增殖,并促进癌细胞凋亡,呈浓度依赖性;告达庭干预后, DNMT1、Bcl-2 及 cyclinD1 表达均下降, Axin 表达上调。在体外移植瘤实验中,告达庭可抑制移植瘤的生长,并抑制卵巢癌组织内 DNMT1、Bcl-2 及 cyclinD1 基因表达,上调 Axin 基因表达。**结论**告达庭可抑制卵巢癌生长,其机制可能与调控 DNMT1/ β -catenin 信号通路有关。

关键词 告达庭 β -catenin DNMT1 Axin Bcl-2 cyclinD1

中图分类号 R71

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.10.020

Inhibitory Effect of Caudatin on Growth of Ovarian Cancer and Its Mechanism. Gong Jianming, Lin Qi. The First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To study the inhibitory effect of Caudatin on growth of ovarian cancer and its mechanism. **Methods** The cell experiment was divided into two groups. Caudatin group was treated with 30 μ mol/L Caudatin for 24 h, while control group normal sa-

基金项目:浙江省温州市公益性科技计划项目(Y20190007)

作者单位:325000 温州医科大学附属第一医院

通讯作者:龚建明,电子邮箱:jamydoctor@126.com

line. Cell viability was detected by the CCK-8 assay and apoptosis was measured by ELISA. DNMT1, Axin, Bcl-2 and cyclinD1 proteins expression in SKOV3 cells were detected by Western blot. SKOV3 cells were injected into nude mice to establish engrafted ovarian tumor model. The growth of transplanted tumor was measured, and the expression of apoptosis related genes was detected by real-time PCR. **Results** Compared with control group, Caudatin could suppress the proliferation of SKOV3 cells and increase the apoptosis in a concentration-dependent way. Caudatin could also reduce the protein expression of DNMT1, Bcl-2 and cyclinD1, but increase Axin. The experiment on tumor growth in the in vivo mice model revealed that Caudatin inhibited the growth of transplanted tumor and the mRNA expression of DNMT1, Bcl-2 and cyclinD1, while increased the Axin mRNA expression level. **Conclusion** Caudatin can restrain the proliferation and induce apoptosis of ovarian cancer. Its mechanism may be related to regulate DNMT1/ β -catenin signaling pathway.

Key words Caudatin; β -catenin; DNMT1; Axin; Bcl-2; cyclinD1

卵巢癌是女性生殖器官常见的恶性肿瘤之一,病死率占各类妇科肿瘤的首位,由于缺乏有效的早期诊断方法,卵巢癌患者确诊时约 2/3 已为晚期。现临床上出现耐药的患者日益增多,且化疗药不良反应较多,对于晚期卵巢癌患者难以取得满意的疗效。

告达庭是一类传统中药具有悠久历史,现已被证明具有较强的抗肿瘤活性,其对宫颈癌、肺癌、肝癌等多种恶性肿瘤均有较明显的抑制作用,其可通过诱导肿瘤细胞凋亡,抑制血管内皮生长因子的表达抑制肿瘤的生长与扩散^[1,2]。但其具体作用机制尚不明确。本实验探讨告达庭对卵巢癌增殖凋亡的影响及其作用机制,为告达庭应用于临床治疗卵巢癌提供实验基础。

材料与方法

1. 材料:人卵巢癌细胞株 SKOV3 购自中科院上海细胞库。告达庭标准品(纯度大于 98%)购自深圳美荷生物科技有限公司;CCK-8 试剂盒、检测凋亡 ELISA 试剂盒购自美国 Sigma 公司;胎牛血清、RPMI1640、核蛋白提取试剂盒购自上海索莱宝生物科技有限公司;DNMT1、Axin、Bcl-2、cyclinD1 抗体购自美国 Sigma 公司;反转录试剂盒、定量 PCR 试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

2. 细胞培养及分组:用含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基,置 37℃、5% 的 CO₂、相对饱和湿度下培养。细胞实验分为两组,即对照组(未予药物干预)和告达庭组(30 μmol/L 告达庭作用 SKOV3 细胞 24h)。

3. CCK-8 法检测细胞增殖:收集处于对数生长期的 SKOV3 细胞,制成单细胞悬液,接种到 96 孔板,各孔细胞均匀,每孔细胞数约 5×10^3 ,过夜贴壁后,分别加入不同浓度告达庭(7.5、15、30、60 μmol/L),每组 3 孔,置 37℃ 培养箱作用 24h,同时设置空白调零组(不加细胞加入等量的培养液),以及对照组(加等量的 0.9% 氯化钠溶液),药物作用结束前 1h,各孔

加入 CCK-8 溶液 10 μl,继续培养 1h,酶标仪测 A450 值,细胞活力 = (实验组 A450 值 - 空白调零组 A450 值) / (对照组 A450 值 - 空白调零组 A450 值) × 100%。

4. ELISA 法检测细胞凋亡:各组细胞离心后,用 200 μl 溶细胞缓冲液重新悬浮,作用 30min。取上述样品,1200r/min 离心 10min 后,吸取 20 μl 上清液,加入培养板孔中。另加入 80 μl 免疫反应试剂,置摇床上孵育 2h。取上清,加入 100 μl 底物缓冲液,室温下孵育使颜色变化至适合。尽快做比色分析,用底物缓冲液作空白对照,以检测波长 405nm,参考波长 492nm 进行检测。

5. Western blot 法检测卵巢癌 SKOV3 细胞内蛋白的表达:收集各组细胞,加入含有 PMSF 的细胞裂解液,提取上清液为细胞总蛋白。按试剂盒说明书提取细胞质蛋白、细胞核蛋白。测定蛋白浓度后取等量蛋白质样品上样,于 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 2h,转膜,用 10% 脱脂奶粉封闭后加入一抗,4℃ 过夜,再度洗膜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 2h,ECL 显色,X 线胶片曝光,用软件 Quantity One 分析条带灰度值。

6. 实时荧光定量 PCR:引物由 TaKaRa 公司设计合成。取移植瘤标本组织,按试剂盒说明书提取组织总 RNA,用反转录试剂盒反转录成 cDNA。反应条件:预变性 93℃ 20s,变性 92℃ 18s,退火 58℃ 26s,延伸 70℃ 15s,共 43 个循环。实时 PCR 结果以达到阈值的最低循环数 Ct 值表示。目的基因的相对表达量 $\text{fold} = 2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 。 $\Delta\Delta\text{Ct}$ 表示告达庭组和对对照组间的 ΔCt 值差异。引物序列详见表 1。

7. 裸鼠卵巢癌皮下移植瘤的建立:选择 8~10 周龄雌性 BALB/c 裸鼠,体质量 18~20g,将 3×10^6 个 SKOV3 细胞悬浮于 0.2ml 培养基中,注射到裸鼠腋下皮肤内建立裸鼠卵巢癌皮下移植瘤模型,接种 2 周后,待移植瘤直径长至约 10mm。再将这些裸鼠随机分为

表 1 引物序列和扩增片段长度

基因名称	引物序列 (5'→3')	扩增片段长度 (bp)
Axin	上游引物: CCACTGATGACTGATCAGACGC	246
	下游引物: GATGTGCGCTGATACTCTGATCG	
DNMT1	上游引物: CGATCAGTGACTTACGTCTAGC	269
	下游引物: CATGTGGATTACTGTCTGACTCG	
Bcl-2	上游引物: CGGTAGTGACAGATCTGAGGC	239
	下游引物: CTGCAGTCTACTGACGTCGACG	
cyclinD1	上游引物: GCAGATCTGTGAGCACTGTGC	261
	下游引物: CAGCATGAGTGCCTCCACTCG	

对照组、告达庭小、中、大剂量组,每组 8 只。对照组:灌胃予 0.9% 氯化钠溶液 1 毫升/只;小剂量组:灌胃予告达庭 10mg/kg;中剂量组:灌胃予告达庭 20mg/kg;大剂量组:灌胃予告达庭 40mg/kg。隔日给药 1 次,共 2 周。第 8 周处死裸鼠留取皮下移植瘤组织。

8. 统计学方法:采用 SPSS 18.0 统计学软件对数据进行统计分析,数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间比较采用独立 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 告达庭对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖的影响:卵巢癌 SKOV3 细胞经不同浓度告达庭 (7.5、15、30、60μmol/L) 作用 24h 后,细胞存活率分别为 91.73% ± 4.67%、83.12% ± 7.56%、59.48% ± 5.37%、41.63% ± 3.48%。与对照组 100.00% ± 0 比较,均明显下调 (*P* 均 < 0.01)。告达庭可抑制卵巢癌 SKOV3 细胞增殖,呈浓度依赖性,IC50 为 38μmol/L,故选 30μmol/L 作为本实验的基本药物浓度,选 15、60μmol/L 为小剂量、大剂量药物浓度。

2. 告达庭对卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡的影响:不同浓度告达庭 (15、30、60μmol/L) 作用 SKOV3 细胞 24h 后,分别诱导 9.35% ± 0.71%、14.37% ± 0.96% 和 18.54% ± 1.02% 的 SKOV3 细胞凋亡,与对照组 5.51% ± 0.38% 比较,差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)。

3. 告达庭对卵巢癌 SKOV3 细胞内 Bcl-2、CyclinD1 蛋白表达的影响:与对照组比较,告达庭组 Bcl-2、CyclinD1 蛋白的表达均下调,差异有统计学意义 (*P* < 0.05),表明告达庭可抑制 SKOV3 细胞内 Bcl-2、CyclinD1 蛋白的表达 (图 1)。

4. 告达庭对卵巢癌 SKOV3 细胞内 DNMT1、Axin、Nuclear β-catenin 蛋白表达的影响:与对照组比较,告达庭组 DNMT1、Nuclear β-catenin 蛋白的表达

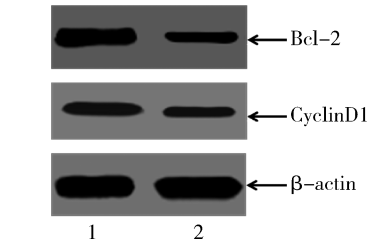


图 1 告达庭对卵巢癌 SKOV3 细胞内 Bcl-2、CyclinD1 蛋白表达的影响
1. 对照组;2. 告达庭组

均下降,Axin 蛋白表达上调,差异均有统计学意义 (*P* < 0.05,图 2)。

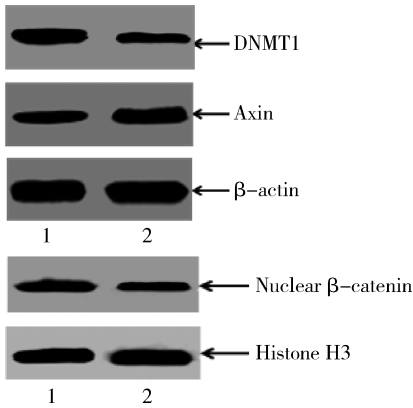


图 2 告达庭对卵巢癌 SKOV3 细胞内 DNMT1、Axin、Nuclear β-catenin 蛋白表达的影响
1. 对照组;2. 告达庭组

5. 告达庭对裸鼠卵巢癌皮下移植瘤生长的抑制作用:与对照组比较,告达庭组小剂量组、中剂量组、大剂量组瘤重均减轻,差异均有统计学意义 (*P* < 0.05)。告达庭大剂量组与中剂量组、小剂量组比较差异有统计学意义 (*P* < 0.05),中剂量组与小剂量组比较差异亦有统计学意义 (*P* < 0.05,表 2)。

表 2 告达庭对裸鼠卵巢癌皮下移植瘤生长的抑制作用 (*n* = 8, $\bar{x} \pm s$)

组别	瘤重 (g)	抑瘤率 (%)
对照组	1.39 ± 0.11	-
小剂量组	0.97 ± 0.08 ***	30.2
中剂量组	0.81 ± 0.06 ***	41.7
大剂量组	0.61 ± 0.04 **	56.1

与对照组比较,* *P* < 0.05,** *P* < 0.01;与大剂量组比较,# *P* < 0.05,** *P* < 0.01

6. 告达庭对裸鼠肿瘤组织中 DNMT1、Axin、Bcl-2 和 cyclinD1 mRNA 表达的影响:与对照组比较,告

达庭组裸鼠肿瘤组织内 DNMT1、Bcl - 2 和 cyclinD1 mRNA 表达均下降,Axin mRNA 表达升高(表 3)。

表 3 告达庭对裸鼠肿瘤组织中 DNMT1、Axin、Bcl - 2 和 cyclinD1 mRNA 表达的影响($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	DNMT1	Axin	Bcl - 2	cyclinD1
对照组	0.99 ± 0.07	1.03 ± 0.08	1.06 ± 0.06	0.96 ± 0.07
小剂量组	0.84 ± 0.04 *	1.21 ± 0.09 *	0.78 ± 0.04 **	0.73 ± 0.03 **
中剂量组	0.73 ± 0.05 **	1.53 ± 0.12 **	0.56 ± 0.03 **	0.47 ± 0.06 **
大剂量组	0.56 ± 0.03 **	1.65 ± 0.11 **	0.43 ± 0.04 **	0.32 ± 0.03 **

与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

讨 论

白首乌是具有强筋骨、黑发、补肝肾及延年益寿等功效的传统补益中药,现代研究发现白首乌具有抗肿瘤、抗衰老、增强免疫等药理活性。告达庭是从白首乌中提取纯化的一种 C - 21 甾体苷元,体外研究表明告达庭对人胃癌、结肠癌、肝癌、肺癌等多种肿瘤均有明显抑制作用。

本实验证明,与对照组比较,告达庭组卵巢癌 SKOV3 细胞增殖率均明显下调,而凋亡率升高,且呈剂量依赖性;在裸鼠移植瘤实验中,亦观察到告达庭抑制卵巢癌移植瘤的生长。细胞及动物实验均表明告达庭能抑制卵巢癌生长。已有相关的研究报道,告达庭的抗肿瘤机制可能与 Wnt/ β - catenin 信号通路有关。本实验进一步研究显示告达庭抗卵巢癌机制可能与此通路相关。

Wnt/ β - catenin 信号通路可调控细胞分化、增殖和凋亡等生理过程,与多种肿瘤的发生、发展密切相关^[3]。细胞质中 β - catenin 转录到核内与 TCF/LEF 结合而激活下游靶基因(CyclinD1、Bcl - 2、MMP - 7、c - myc 等癌基因)的转录,促进细胞增殖,癌变^[4]。近年来发现许多抗癌研究以 β - catenin 为靶点^[5,6]。本实验证明告达庭可抑制 Nuclear β - catenin 表达。本实验接下来阐述告达庭对 β - catenin 下游靶基因的影响,及下调 β - catenin 表达可能机制。

CyclinD1 蛋白为原癌基因是细胞周期蛋白家族中的重要成员。CyclinD1 通过与细胞周期依赖激酶形成复合物,在细胞周期的 G₁ 早期起重要调控作用。CyclinD1 在丝裂原刺激下持续表达,促进细胞增生,与细胞癌变及转移密切相关。有研究显示,与正常及良性肿瘤组织比较,卵巢癌组织中 CyclinD1 阳性表达率高,并随卵巢癌恶性程度升高而表达增加^[7]。

Bcl - 2 基因是从 B 细胞滤泡性淋巴瘤染色体断

裂点发现的凋亡抑制基因,可抑制多种组织细胞的凋亡。Bcl - 2 在宫颈、乳腺、卵巢等肿瘤组织中均有不同程度的表达,且与肿瘤的发生、发展及预后有关。有研究表明,在良性卵巢肿物中 Bcl - 2 的表达低于交界性、恶性肿瘤,且 Bcl - 2 过表达与肿瘤转移、进展密切相关^[8]。

本实验证明,在细胞实验中与对照组比较,告达庭组 CyclinD1、Bcl - 2 蛋白表达均下降;在体外移植瘤实验也发现告达庭组 CyclinD1、Bcl - 2 mRNA 表达亦下调,且 CyclinD1、Bcl - 2 与卵巢癌的发生、发展密切相关。表明告达庭可通过抑制 CyclinD1、Bcl - 2 在卵巢癌细胞及组织中表达,促进卵巢癌细胞凋亡,发挥抗癌作用。

DNMT1 是 DNA 甲基转移酶家族重要成员。DNMT1 是可调节 DNA 甲基化,与肿瘤的发生、发展也有密切关系。抑癌基因的甲基化会引起抑癌基因失活,使其对肿瘤的抑制丧失,促进癌细胞增殖。原癌基因的低甲基化会使癌细胞不断增殖形成肿瘤^[9,10]。相关的研究显示,与正常卵巢组织比较,DNMT1 在卵巢癌组织中的阳性率明显升高,且分期越晚、病理分级越高,DNMT1 阳性率越高^[11]。

Axin 又称轴蛋白,其基因定位于第 16 条染色体的长臂上。Axin 作为一种抑癌基因,影响着肿瘤的发生和发展。卵巢癌组织中 Axin 阳性表达率明显低于卵巢良性肿瘤,且与卵巢癌组织的转移和浸润有一定的相关性^[12,13]。

Axin 是 Wnt/ β - catenin 信号通路的重要组成部分,作为 Wnt 信号通路的抑制因子而被广泛研究。在 Wnt/ β - catenin 信号途径中,胞质中的 β - catenin 与 APC、Axin 等降解复合物结合,进一步被泛素化降解。当 Axin 蛋白表达异常, β - catenin 降解被阻断,导致其在胞质蓄积进入核内,促进下游癌基因 CyclinD1、Bcl - 2 表达^[14]。另有文献报道 DNMT1 可通过甲基化 Axin 基因,使 Axin 蛋白失活,减少 β - catenin 降解,促进 β - catenin 核转入,促进癌细胞生长^[15]。

本实验结果表明,与对照组比较,告达庭组 DNMT1、Nuclear β - catenin 蛋白表达均下降,Axin 蛋白表达上升。表明告达庭可抑制 DNMT1、Nuclear β - catenin 蛋白表达,而上调 Axin 蛋白。其机制可能是告达庭抑制 DNMT1 表达后,Axin 蛋白甲基化减少,Axin 蛋白表达增加,促进 β - catenin 降解,减少 β - catenin 核转入,进而降低下游癌基因 CyclinD1、Bcl -

2 表达。

综上所述, 告达庭可能通过抑制 DNMT1, 减少 DNA 甲基化, 上调 Axin 蛋白, 进而减少 β -catenin 核转入, 抑制下游癌基因表达, 促进卵巢癌细胞凋亡。本研究为告达庭应用于临床治疗提供实验基础, 但告达庭具体的作用机制还需开展深入研究。

参考文献

- 1 Fei HR, Cui LY, Zhang ZR, *et al.* Caudatin inhibits carcinomic human alveolar basal epithelial cell growth and angiogenesis through modulating GSK3 β / β -catenin pathway[J]. J Cell Biochem, 2012, 113(11): 3403–3410
- 2 Fei HR, Chen HL, Xiao T, *et al.* Caudatin induces cell cycle arrest and caspase-dependent apoptosis in HepG2 cell[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(1): 131–138
- 3 Waisberg J, Saba GT. Wnt-/- β -catenin pathway signaling in human hepatocellular carcinoma[J]. World J Hepatol, 2015, 7(26): 2631–2635
- 4 苏尚, 吴畏. Wnt/ β -catenin 信号通路对靶基因转录的调控[J]. 中国科学, 2014, 44(10): 1029–1042
- 5 李圣杰, 杨之斌. Wnt/ β -catenin 信号通路相关分子在肝癌靶向治疗中的研究进展[J]. 山东医药, 2016, 56(10): 99–101
- 6 周晓雷, 朱重悦, 张世光, 等. NDRG2 通过抑制 β -catenin 表达和入核调控乳腺癌细胞增殖[J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(12): 981–988
- 7 薛晖, 赵东明, 郑乐, 等. BORIS、CyclinD1 蛋白在上皮性卵巢

- 癌中表达及临床意义[J]. 临床军医杂志, 2016, 44(4): 331–333
- 8 田海萍, 马莉琼, 黑静雅, 等. p16、p53、BRAF、Bcl-2 在卵巢浆液性肿瘤组织中的表达及临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2020, 16(28): 2865–2870
- 9 陈笑, 李乐赛, 陈亦乐. DNA 甲基化在肿瘤诊断和治疗中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(9): 1476–1480
- 10 Yao J, Zhou B, Zhang J, *et al.* A new tumor suppressor lncRNA ADAMTS9-AS2 is regulated by DNMT1 and inhibits migration of glioma cells[J]. Tumor Biol, 2014, 35(8): 7935–7944
- 11 Li J, Lu J, Ye Z, *et al.* 20(S)-Rg3 blocked epithelial-mesenchymal transition through DNMT3A/miR-145/FSCN1 in ovarian cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(32): 53375–53386
- 12 Song X, Wang S, Li L. New insights into the regulation of Axin function in canonical Wnt signaling pathway[J]. Protein Cell, 2014, 5(3): 186–193
- 13 陶玲, 于春霞, 李霞, 等. β -连环蛋白、轴蛋白在卵巢上皮细胞癌组织中的表达及意义[J]. 中国妇幼保健, 2015, 30(15): 2356–2358
- 14 全柳霞, 吴立然, 李晶. Axin2 基因对肝癌细胞中 Wnt/ β -catenin 信号通路相关分子表达的调控及机制[J]. 中国生物制品学杂志, 2019, 5(32): 512–516
- 15 Tsou JA, Shen LY, Siegmund KD, *et al.* Distinct DNA methylation profiles in malignant mesothelioma lung adenocarcinoma and non-tumor lung[J]. Lung Cancer, 2005, 47(2): 193–204

(收稿日期: 2021-03-31)

(修回日期: 2021-04-02)

(接第 157 页)

- 17 Emmerson S, Mukherjee S, Melendez-Munoz J, *et al.* Composite mesh design for delivery of autologous mesenchymal stem cells influences mesh integration, exposure and biocompatibility in an ovine model of pelvic organ prolapse[J]. Biomaterials, 2019, 225: 119495
- 18 Faulk DM, Londono R, Wolf MT, *et al.* ECM hydrogel coating mitigates the chronic inflammatory response to polypropylene mesh[J]. Biomaterials, 2014, 35(30): 8585–8595
- 19 Paul K, Darzi S, McPhee G, *et al.* 3D bioprinted endometrial stem cells on melt electrospun poly epsilon-caprolactone mesh for pelvic floor application promote anti-inflammatory responses in mice[J]. Acta Biomater, 2019, 97: 162–176
- 20 Qin M, Jin J, Saiding Q, *et al.* In situ inflammatory-regulated drug-loaded hydrogels for promoting pelvic floor repair[J]. J Control Release, 2020, 322: 375–389
- 21 Good MM, Montoya TI, Shi H, *et al.* Thermosensitive hydrogels deliver bioactive protein to the vaginal wall[J]. PLoS One, 2017, 12(10): e186268
- 22 Hussain SM, Bray R. Urethral bulking agents for female stress urinary incontinence[J]. Neurourol Urodyn, 2019, 38(3): 887–892
- 23 Kasi AD, Pergialiotis V, Perrea DN, *et al.* Polyacrylamide hydrogel (Bulkamid(R)) for stress urinary incontinence in women: a systematic review of the literature[J]. Int Urogynecol J, 2016, 27(3): 367–

375

- 24 Zivanovic I, Rautenberg O, Lobodasch K, *et al.* Urethral bulking for recurrent stress urinary incontinence after midurethral sling failure[J]. Neurourol Urodyn, 2017, 36(3): 722–726
- 25 Altman D, Ghilotti F, Bellocco R, *et al.* Transurethral polyacrylamide hydrogel injection therapy in women not eligible for midurethral sling surgery[J]. Female Pelvic Med Reconstr Surg, 2017, 23(5): 318–323
- 26 Oh SH, Bae JW, Kang JG, *et al.* Dual growth factor-loaded in situ gel-forming bulking agent: passive and bioactive effects for the treatment of urinary incontinence[J]. J Mater Sci Mater Med, 2015, 26(1): 5365
- 27 Saldana Ruiz N, Kaiser AM. Fecal incontinence – challenges and solutions[J]. World J Gastroenterol, 2017, 23(1): 11
- 28 Altman D, Hjern F, Zetterstrom J. Transanal submucosal polyacrylamide gel injection treatment of anal incontinence: a randomized controlled trial[J]. Acta Obstet Gynecol Scand, 2016, 95(5): 528–533
- 29 Kong W, Gao Y, Liu Q, *et al.* The effects of chemical crosslinking manners on the physical properties and biocompatibility of collagen type I/hyaluronic acid composite hydrogels[J]. Int J Biol Macromol, 2020, 160: 1201–1211

(收稿日期: 2020-11-17)

(修回日期: 2020-11-20)