

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.13.005

灌胃不同剂量钙对大肠肿瘤模型大鼠肿瘤及血氨基酸的影响的实验研究

徐建文^{1,2} 郝岩² 李莹² 曹璨² 刘影^{2△}

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院 黑龙江 哈尔滨 150001;

2 哈尔滨医科大学公共卫生学院 营养与食品卫生教研室 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:研究不同口服剂量钙对大肠肿瘤和血清中氨基酸代谢的影响。**方法:**50 只雄性 Wistar 大鼠适应性喂养一周后随机分为 5 组每组 10 只,碳酸钙灌胃 6 个月。对照组(钙摄入量 0.5 g/kg/d)、模型对照组(钙摄入量 0.5 g/kg/d)、低剂量钙组(钙摄入量 1.0 g/kg/d)、中剂量钙组(钙摄入量 1.5 g/kg/d)和高剂量钙组(钙摄入量 2.0 g/kg/d)。模型对照组及低中高钙剂量组在实验的第 2 周开始,颈部皮下连续注射二甲苯 20 周进行大肠肿瘤造模。大鼠解剖后观察肿瘤数量和直径,亚甲蓝染色观察大肠内异常隐窝(ACF)数量,HE 染色观察腺癌发生情况。液相色谱-质谱联用检测大鼠血液中相关氨基酸含量。**结果:**从第 20 周开始,与模型组相比,中剂量钙组的体重增加,有显著性差异($P<0.05$)。在肿瘤数、肿瘤发生率、肿瘤平均直径和肠重这些指标中,中剂量钙组和高剂量钙组均显著低于模型对照组(均 $P<0.05$)。病理组织学结果显示,正常对照组未见任何组织增生,模型对照组以腺瘤为主,出现小部分腺癌。而其余各组均以腺瘤为主,未出现腺癌。与模型对照组相比,中剂量钙组的谷氨酸、谷氨酰胺、鸟氨酸均显著升高。**结论:**钙灌胃对大鼠大肠肿瘤发生具有抑制作用,血清中谷氨酸、谷氨酰胺和鸟氨酸的代谢发生变化。

关键词:补钙;大肠肿瘤;氨基酸;液相色谱质谱

中图分类号:R-33;R151;R735.34 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)13-2425-05

Effect of Intragastric Administration of Different Doses of Calcium on Tumors and Blood Amino Acids in Rats with Colorectal Tumor Model

XU Jian-wen^{1,2}, HAO Yan², LI Ying², CAO Can², LIU Ying^{2△}

(1 The Fourth Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China;

2 Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To study the effect of different oral doses of calcium on tumorigenesis and amino acid metabolism in serum of colorectal tumor rats. **Methods:** Fifty male Wistar rats were randomly divided into 5 groups of 10 rats after one week of adaptive feeding, and calcium carbonate was intragastrically administered for 6 months. Control group (calcium intake 0.5 g/kg/d), model control group (Calcium intake 0.5 g/kg/d), low-dose calcium group (calcium intake 1.0 g/kg/d), medium-dose calcium group (calcium intake 1.5 g/kg/d), and high-dose calcium group (Calcium intake 2.0 g/kg/d). Model control group and low-medium-high-calcium-dose group started at the second week of the experiment. The neck was injected subcutaneously with dimethyl hydrazine for 20 weeks to perform colorectal tumor modeling. The number and diameter of tumors were observed, malignant blue staining was used to observe the number of abnormal crypts in the large intestine (ACF), and HE staining was used to observe the occurrence of adenocarcinoma. Liquid chromatography-mass spectrometry was used to detect the content of related amino acids in the blood of rats. **Results:** From the 20th week, compared with the model group, the weight gain of the medium-dose calcium group was significantly different ($P<0.05$). Among the indexes of tumor number, tumor incidence, tumor average diameter, and intestinal weight, the medium-dose calcium group and high-dose calcium group were significantly lower than the model control group (all $P<0.05$). Histopathological results showed that there was no tissue proliferation in the normal control group, and the model control group was mainly adenoma with a small proportion Adenocarcinoma. While the other groups were mainly adenomas, no adenocarcinoma appeared. Compared with the model control group, the glutamic acid, glutamine, and ornithine in the medium-dose calcium group were significantly increased. **Conclusions:** Calcium can inhibited the development of colorectal cancer and change the serum glutamine and ornithine in colorectal tumor rats.

Key words: Calcium supplementation; Colorectal tumor; Amino acid; LC-MS

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R151; R735.34 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)13-2425-05

前言

大肠肿瘤的发生在很大程度上取决于饮食和生活方式因素^[1,2]。钙是细胞增殖和癌变过程中重要的营养物质。钙的摄入

作者简介:徐建文,男,硕士研究生,主要研究方向:营养与食品卫生学,E-mail: 691540154@qq.com

△ 通讯作者:刘影,女,硕士生导师,教授,主要研究方向:营养与代谢性疾病之间的关系,E-mail: liuying0223@sohu.com,电话:15304811775

(收稿日期:2019-12-28 接受日期:2020-01-23)

量与癌症的发生率呈现负相关关系,其中与大肠肿瘤的关系尤为密切,遗传学、体内外实验和流行病学均已研究证实^[3-5]。

膳食钙可通过沉淀细胞毒性表面活性剂来降低大肠肿瘤的风险。钙在肠道中与次生胆汁酸和游离脂肪酸结合,形成不溶性沉淀物,减少结肠上皮细胞的损伤作用,直接影响结肠上皮细胞的增殖和分化^[6]。钙直接与胆汁酸结合,使胆汁酸失去活性,高剂量钙摄入可降低大肠内的氧化应激和氧化性 DNA 损伤,从而降低大肠肿瘤的风险^[7]。

但是与大肠肿瘤中氨基酸代谢之间的关系还不是很明确。近年来,由于肿瘤重编程学说的提出,有关氨基酸代谢的靶向代谢组学研究已成为肿瘤领域研究的热点,可用于阐明发现肿瘤标志物和治疗新靶点^[8,9]。因此,本实验将大鼠为研究对象,以靶向代谢组学为基础,研究不同剂量钙摄入对大肠肿瘤血清中氨基酸代谢的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 50 只雄性 Wistar 大鼠,4-5 周龄,体重 80-100 g,SPF 级,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。动物生产许可证编号为:SCXK(京)2016-0011。

1.1.2 主要仪器与试剂 Agilent 1260 快速高分辨液相色谱仪、Agilent 6470 三重四极杆液质联用仪、Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z 色谱柱;全自动生化分析仪(日本 HITACHI 公司)。DMH、色谱纯甲酸铵、色谱纯甲酸、谷氨酸标准品、谷氨酰胺标准品、鸟氨酸标准品、色氨酸标准品购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 50 只雄性 Wistar 大鼠适应性喂养一周后,完全随机分为 5 组:对照组、模型对照组、低剂量钙组、中剂量钙组和高剂量钙组(钙摄入量分别为 0.5 g/kg/d、0.5 g/kg/d、1.0 g/kg/d、1.5 g/kg/d、2.0 g/kg/d),每组各 10 只。模型对照组和各剂量钙组从实验第 2 周开始通过颈部皮下注射二甲基胍(DMH)造大肠肿瘤模型,每周 1 次,每次注射剂量 20 mg/kg,连续注射 20 周。对照组同部位注射等量生理盐水。保证每日同一时间段进行灌胃,灌胃周期为 6 个月。每日以低钙饲料(钙含量为 150 mg/100 g)喂养大鼠,低钙饲料由北京科奥协力饲料有限公司提供(许可证号:SCXK(京)2014-0010)。每周称重一次,调整 DMH 注射剂量和灌胃剂量,灌胃使用的各个剂量的碳酸钙溶液现配现用。每日观察大鼠健康状况和饮食情况。

1.2.2 样品收集和准备 实验末,称各组大鼠体重后,计算出每只大鼠所需要的麻醉剂量,使用 3%水合氯醛(每 100 g 大鼠注射 1 mL)腹腔注射深度麻醉大鼠后,沿腹中线剪开大鼠腹部皮肤,使大鼠腹腔完全暴露,经腹主动脉取血后,将大鼠血室温静置 30 min 以上,用离心机以转速 3000 r/min 离心 20 min,用移液枪尽可能抽取上清血清,并分装于 1 mL 规格 EP 管中存放。

1.2.3 肠癌情况及组织病理学检测 取整段大肠,观察肿瘤发生情况并记录肿瘤发生的个数,并量取和记录肿瘤直径。完成后,将大鼠大肠固定于 10%中性缓冲福尔马林溶液并过夜。24 h 后,取肿瘤标本进行苏木精-伊红(HE)染色,进行组织病理学观察。取大肠标本(约 7 cm)浸于 0.2%亚甲蓝溶液中进行染色,

染色进行 10~20 分钟。用倒置显微镜在×40 倍镜下观察计数异常隐窝灶(ACF)数目。

1.2.4 氨基酸标准品溶液配制和血清样品溶液配制 用万分之一天平分别精密称取谷氨酸、谷氨酰胺、鸟氨酸、色氨酸标准品各 1.98、1.44、1.91、1.74 mg,用蒸馏水完全溶解并定容,各自配成浓度为 1 mg/mL 标准溶液,即作为标准储备液备用。分别依次使用移液管将适量的各氨基酸标准储备液移入 5 mL 容量瓶中,用蒸馏水稀释并最终定容到 5 mL 刻度线,配置成浓度分别为 0.5、1、2、5、10、20、50 μg/mL 的系列标准溶液,备用。将血清样品从 -80 ℃冰箱取出,置于 4 ℃冰箱中溶解。配置样品处置液,为含量分别为 74.9%甲醇、24.9%乙腈和 0.2%甲酸的混合溶液,用来去除血清中所含蛋白含量。取大鼠血清 300 μL,加入混合试剂 900 μL,混合摇匀 30s 后,冰上放置 10 min。使用离心机以 15000 r/min 转速低温离心 15 min,取上清液置于样品瓶中备用。

1.2.5 色谱和质谱条件 色谱条件:色谱柱为 Agilent InfinityLab Poroshell 120 HILIC-Z, 2.1×100 mm, 2.7 μm。流动相 A 相为 0.2%甲酸,5%乙腈,5 mmol/L 甲酸铵,B 相为 0.2%甲酸,5% H_2O ,5 mmol/L 甲酸铵。流速 0.3 mL/min,柱温 25 ℃,进样量 2 μL,检测时间为 12 min。

质谱条件:电离模式:ESI 正离子模式;扫描方式:多反应监测(MRM);雾化气:氮气,流速:13.0 L/min;干燥气温度:350 ℃;雾化气压力:30 psi;鞘气温度:390 ℃;鞘气流速:12.0 L/min;毛细管电压:3500V。

1.3 统计学分析

用 SPSS statistics17.0 统计软件统计实验数据,实验结果用均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示,组间差异用单因素 ANOVA 方差分析方法和 t 检验, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体重变化情况

实验初,各组大鼠体重均无显著性差异($P > 0.05$)。从第 20 周开始,与模型组相比,中剂量钙组的体重增加,有显著性差异($P < 0.05$)。各组大鼠的具体体重情况见图 1。

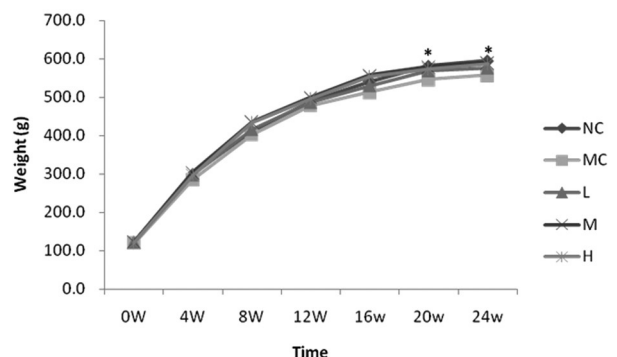


图 1 各组大鼠体重变化

图注:NC:正常对照组;MC:模型对照组;L:低剂量钙组;M:中剂量钙组;H:高剂量钙组。*:与模型对照组比较, $P < 0.05$ 。

Fig.1 Weight changes of rats in each group

Note: NC: normal control group; MC: model control group; L: low-dose calcium group; M: medium-dose calcium group; H: high-dose calcium group. *: compared with the model control group, $P < 0.05$.

2.2 各组大鼠大肠肿瘤发生情况

2.2.1 对大鼠大肠肿瘤形成平均肿瘤数量和直径的影响 实验末,处死大鼠后,解剖发现,除了正常对照组,每组均至少含有1个肿瘤的形成。与模型对照组相比,低剂量钙组肿瘤数减少($P<0.05$);中剂量钙组与高剂量钙组显著降低(均 $P<0.01$),结果见图2(A)。

对于肿瘤发生率和肿瘤平均直径,各剂量组的肿瘤发生率和肿瘤平均直径均低于模型对照组,其中,中剂量钙组和高剂量钙组的肿瘤发生率与模型对照组有显著性差异(均 $P<0.01$),结果见图2(B)和图2(C)。

2.2.2 对大鼠大肠肿瘤的肠重影响 肠重结果表明,与模型对照组相比,正常对照组肠重显著减小($P<0.01$);各剂量组肠重显著降低(均 $P<0.05$);但是中剂量钙组和高剂量钙组的肠重

无显著差异($P>0.05$),结果见图2(D)。

2.2.3 对大鼠大肠肿瘤异常隐窝灶(ACF)计数结果的影响 异常隐窝灶(ACF)计数结果显示,正常对照组即正常大鼠大肠中未观察到ACF,模型对照组和其余剂量组均发现大量ACF,表明大肠肿瘤造模成功。与模型对照组相比,中剂量钙组与高剂量钙组ACF数均降低(均 $P<0.01$),说明一定剂量的钙摄入能抑制大肠肿瘤中ACF的生成,见图2(E)。

2.2.4 对大鼠大肠肿瘤组织病理学的影响 病理结果显示,正常对照组的大肠壁光滑,褶皱清晰,肉眼可见无任何组织增生。模型对照组以腺瘤为主,出现小部分腺癌。细胞表现为大小不等,呈不规则的排列,细胞核大小不一,多呈核分裂,而其他组则以腺瘤为主,未出现腺癌,见图3。

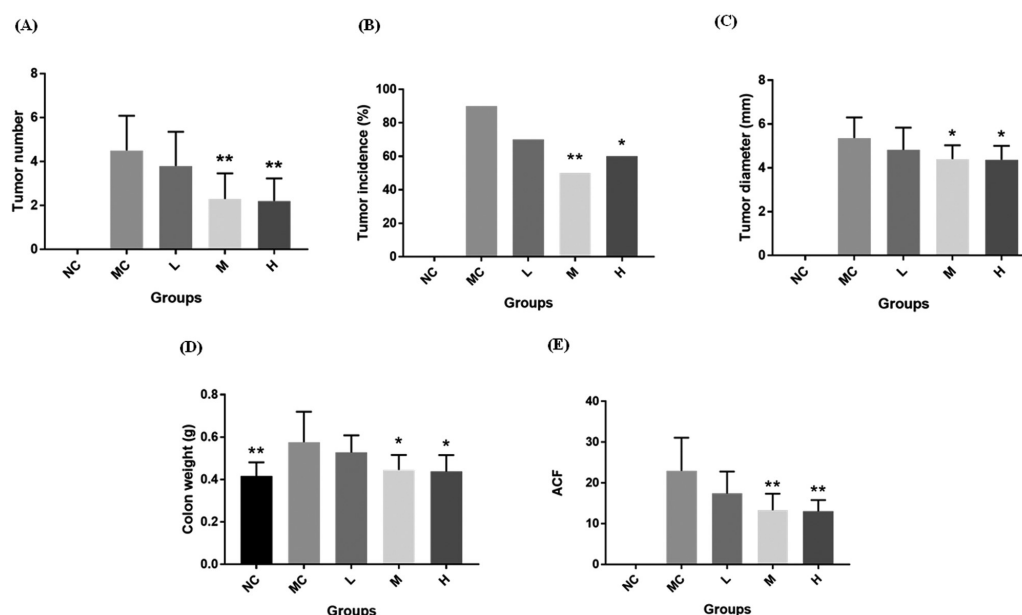


图2 各组大鼠大肠肿瘤发生情况

图注:(A) 各组大鼠肿瘤数;(B) 各组大鼠肿瘤发生率;(C) 各组大鼠肿瘤平均直径;(D) 各组大鼠肠重;(E) 各组大鼠 ACF 计数结果。NC:正常对照组;MC:模型对照组;L:低剂量钙组;M:中剂量钙组;H:高剂量钙组。*:与模型对照组比较, $P<0.05$ 。*:与模型对照组比较, $P<0.01$ 。

Fig.2 Incidence of colorectal cancer of rats in each group

Note: (A) tumor number of rats in each group; (B) tumor incidence in each group; (C) average tumor diameter of rats in each group; (D) colon weight of rats in each group; (E) ACF count results of rats in each group. NC: normal control group; MC: model control group; L: low-dose calcium group; M: medium-dose calcium group; H: high-dose calcium group. *: compared with model control group, $P<0.05$. **: compared with model control group, $P<0.01$.

2.4 方法学验证结果

2.4.5 大鼠血清4种氨基酸含量 根据标准曲线计算各组4种氨基酸含量。与阳性对照组相比,高剂量钙组谷氨酸、谷氨酰胺、鸟氨酸含量均显著上升,且差异有统计学意义($P<0.05$)。阴性对照组氨基酸含量高于阳性对照组($P<0.05$)。而色氨酸的含量差异无统计学意义($P>0.05$)。各组大鼠血清4种氨基酸含量的数值见图5。

3 讨论

本研究采用了注射二甲基胍(DMH)的方法进行造模,结果显示,正常对照组未有任何肿瘤的生成,而其他造模组至少有一个肿瘤的生成,在肿瘤数、肿瘤发生率、肿瘤直径和肠重等一系列指标中,模型对照组与各剂量组均有显著性差异,说明造模成功。异常隐窝病灶(ACF)作为一种重要的大肠肿瘤生物

标志物,被广泛应用于肿瘤抑制和启动子物质的检测。Bird^[10]根据ACF的细胞、分子和形态学特征,认为ACF是大肠肿瘤的癌前病变。本实验中,正常对照组即正常大鼠大肠中未观察到ACF,造模对照组和其余剂量组均发现大量ACF,表明大肠肿瘤造模成功。与阳性对照组相比,中剂量钙组与高剂量钙组ACF数均降低(均 $P<0.01$),说明一定剂量的钙摄入能抑制大肠肿瘤中ACF的生成。病理结果显示,正常对照组的大肠壁光滑,褶皱清晰,肉眼可见无任何组织增生。模型对照组以腺瘤为主,出现小部分腺癌。细胞表现为大小不等,呈不规则的排列,细胞核大小不一,多呈核分裂,而其他组则以腺瘤为主,未出现腺癌,说明各剂量组与造模对照组之间肿瘤的发生程度存在差异,其原因可能是与钙的摄入量有关,而肿瘤数、肿瘤发生率、肿瘤平均直径和肠重这些指标的结果也与病理的结果相符。

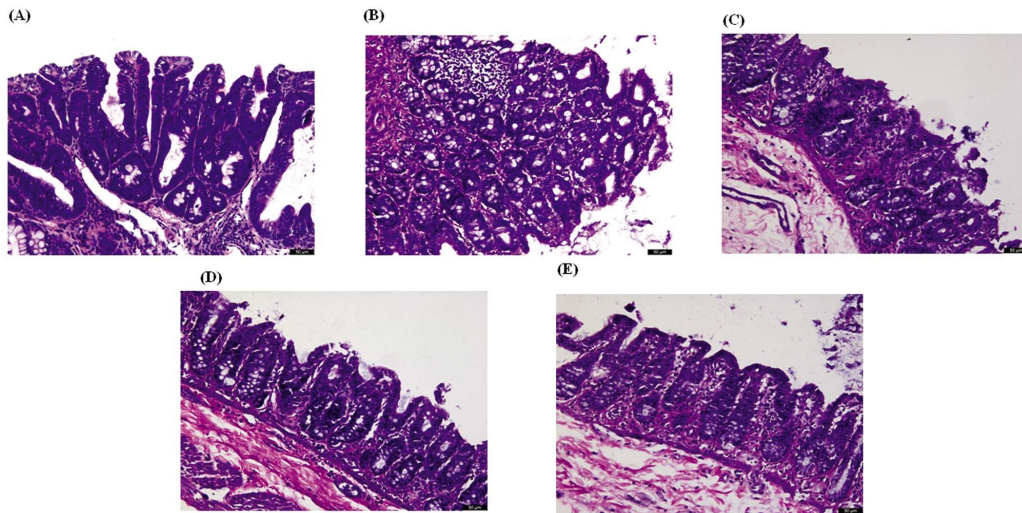


图3 各组大鼠大肠组织病理切片 HE 染色 × 200

图注:(A) 正常对照组;(B) 模型对照组;(C) 低剂量钙组;(D) 中剂量钙组;(E) 高剂量钙组。

Fig.3 The pathological section of colon tissues of rats in each group. HE staining × 200

Note: (A) normal control group; (B) model control group; (C) low-dose calcium group; (D) medium-dose calcium group; (E) high-dose calcium group.

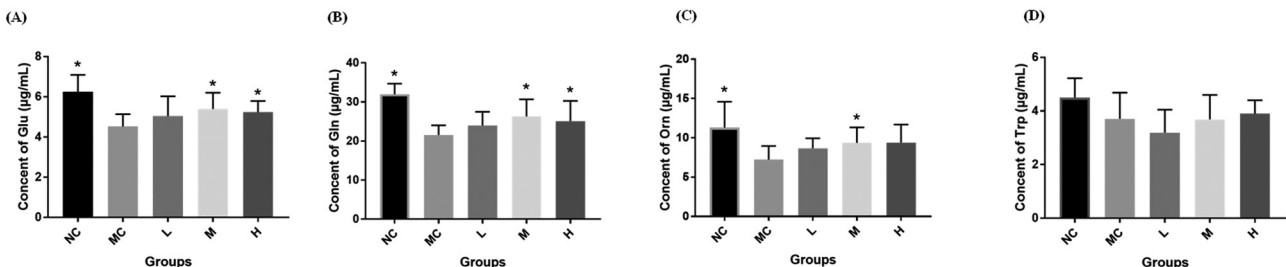


图4 大鼠血清4种氨基酸含量

图注:(A) 谷氨酸;(B) 谷氨酰胺;(C) 鸟氨酸;(D) 色氨酸。*: 与阳性对照组比较, $P < 0.05$ 。

Fig.4 Contents of 4 amino acids in rat serum

Note: (A) Glu; (B) Gln; (C) Orn; (D) Trp. *: compared with the positive control group, $P < 0.05$.

氨基酸是细胞生存所必需的一类重要营养物质,有些氨基酸具有特定的生物学功能。在肿瘤的发生发展过程中,肿瘤细胞为了异常快速的增殖起氨基酸的需求明显增加,因此核苷酸生物合成是肿瘤细胞增殖的关键过程。最近的研究表明,肿瘤细胞已经改变了包括谷氨酰胺、丝氨酸、苏氨酸和脯氨酸在内的代谢途径^[11,12]。尤其是谷氨酰胺在肿瘤选择性代谢途径中的突出作用,从癌症生物学词汇中广泛使用的"谷氨酰胺成瘾"和"谷氨酰胺分解"等术语可以明显看出,谷氨酰胺依赖受到了相当大的关注。钙不同剂量与造模对照组相比,随着高剂量钙的摄入大鼠血清中的谷氨酸、谷氨酰胺和鸟氨酸的含量均上升,提示高剂量钙摄入可能影响谷氨酸、谷氨酰胺和鸟氨酸的分解。

钙与氨基酸(如谷氨酸、谷氨酰胺、鸟氨酸)在大肠肿瘤中的代谢循环均与 Wnt/ β -catenin 信号通路有关^[20-22],因此,我们假设钙可能通过 Wnt/ β -catenin 信号通路来影响大肠肿瘤中氨基酸代谢。Wnt/ β -catenin 信号通路控制肠道稳态,该通路中各组分的突变在人类大肠肿瘤中普遍存在。c-MYC 是一种基本的螺旋-环-螺旋拉链(bHLHZ)转录因子,是早期胚胎癌、大肠肿瘤中 Wnt 信号通路的下游靶点^[23]。Gao 等^[24]发现 MYC 过表达细胞中 GLS 蛋白水平显著上调,而 GLS 的 mRNA 表达水平与蛋白水平升高无关可假设 MYC 通过转录后机制调节

GLS,进行实验后发现了 micro RNA 中 miR-23a/b 通过结合其 3' 非翻译区(UTR)来抑制 GLS 翻译,使 GLS 的靶蛋白表达增高,这导致谷氨酰胺分解代谢的上调。

综上所述,本研究结果提示不同剂量的钙摄入对大肠肿瘤大鼠有一定影响作用,其中中剂量钙组与高剂量钙组对大肠肿瘤影响的指标并未有显著性差异,说明钙对大肠肿瘤的作用存在的一定的剂量反应关系。本研究表明大鼠钙摄入量大于 1.5 mg/kg/d,对大肠肿瘤的影响并没有更显著的效果。钙摄入可能引起大肠肿瘤大鼠中氨基酸代谢变化,如谷氨酸、谷氨酰胺和鸟氨酸。具体的相关机制还需要后续实验进一步进行验证。

参考文献(References)

- [1] Kushi L H, Doyle C, McCullough M, et al. American Cancer Society Guidelines on nutrition and physical activity for cancer prevention: reducing the risk of cancer with healthy food choices and physical activity[J]. CA Cancer J Clin, 2012, 62(1): 30-67
- [2] Mehta M, Shike M. Diet and physical activity in the prevention of colorectal cancer[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2014, 12(12): 1721-1726
- [3] Yoon Y S, Jung S, Zhang X, et al. Vitamin B2 intake and colorectal cancer risk; results from the Nurses' Health Study and the Health Professionals Follow-Up Study cohort [J]. Int J Cancer, 2016, 139(5): 996-1008
- [4] Galas A, Augustyniak M, Sochacka-Tatara E. Does dietary calcium in-

- teract with dietary fiber against colorectal cancer? A case-control study in Central Europe[J]. *Nutr J*, 2013, 12: 134
- [5] Meng Y, Sun J, Yu J, et al. Dietary Intakes of Calcium, Iron, Magnesium, and Potassium Elements and the Risk of Colorectal Cancer: a Meta-Analysis[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2019, 189(2): 325-335
- [6] Govers M J, Termont D S, Lapre J A, et al. Calcium in milk products precipitates intestinal fatty acids and secondary bile acids and thus inhibits colonic cytotoxicity in humans [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(14): 3270-3275
- [7] Seol J E, Cho C H, Kim S H, et al. Total and Dietary Calcium Intake and Colorectal Adenoma in Korean Adults [J]. *J Cancer Prev*, 2015, 20(2): 153-158
- [8] Phang J M, Liu W, Hancock C N, et al. Proline metabolism and cancer: emerging links to glutamine and collagen[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2015, 18(1): 71-77
- [9] Locasale J W. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(8): 572-583
- [10] Bird R P. Role of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer[J]. *Cancer Lett*, 1995, 93(1): 55-71
- [11] Phang J M, Liu W, Hancock C N, et al. Proline metabolism and cancer: emerging links to glutamine and collagen[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2015, 18(1): 71-77
- [12] Locasale J W. Serine, glycine and one-carbon units: cancer metabolism in full circle[J]. *Nat Rev Cancer*, 2013, 13(8): 572-583
- [13] Rotovnik K N, Kompan L, Soeters P, et al. Oral glutamine supplementation during preoperative radiochemotherapy in patients with rectal cancer: a randomised double blinded, placebo controlled pilot study[J]. *Clin Nutr*, 2011, 30(5): 567-570
- [14] DeBerardinis R J, Cheng T. Q's next: the diverse functions of glutamine in metabolism, cell biology and cancer[J]. *Oncogene*, 2010, 29(3): 313-324
- [15] Wise D R, Thompson C B. Glutamine addiction: a new therapeutic target in cancer[J]. *Trends Biochem Sci*, 2010, 35(8): 427-433
- [16] 黄益玲, 王艳林. 多胺代谢与抗肿瘤治疗新靶点研究进展[J]. *陕西医学杂志*, 2008, (09): 1238-1240
- [17] Thomas T, Thomas T J. Polyamine metabolism and cancer [J]. *J Cell Mol Med*, 2003, 7(2): 113-126
- [18] Pegg A E. Mammalian polyamine metabolism and function[J]. *IUBMB Life*, 2009, 61(9): 880-894
- [19] Linsalata M, Russo F. Nutritional factors and polyamine metabolism in colorectal cancer[J]. *Nutrition*, 2008, 24(4): 382-389
- [20] 苏兰鸿, 孙林冲, 高平. 肿瘤的氨基酸代谢变化及其意义[J]. *中国生化药物杂志*, 2016, 36(09): 6-10
- [21] 吴新新, 郭永军. 鸟氨酸脱羧酶与结直肠癌关系的研究进展 [J]. *河南医学研究*, 2015, 24(08): 68-70
- [22] Chakrabarty S, Radjendirane V, Appelman H, et al. Extracellular calcium and calcium sensing receptor function in human colon carcinomas: promotion of E-cadherin expression and suppression of beta-catenin/TCF activation[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(1): 67-71
- [23] Rennoll S A, Eshelman M A, Raup-Konsavage W M, et al. The MYC 3' Wnt-Responsive Element Drives Oncogenic MYC Expression in Human Colorectal Cancer Cells[J]. *Cancers (Basel)*, 2016, 8(5)
- [24] Gao P, Tchernyshyov I, Chang T C, et al. c-Myc suppression of miR-23a/b enhances mitochondrial glutaminase expression and glutamine metabolism[J]. *Nature*, 2009, 458(7239): 762-765
- (上接第 2434 页)
- [26] Wan YJ, Hu L, Wang XM. Edaravone protects from retinal injury through NF- κ B in diabetic rats [J]. *European Review Med Pharmacolog Sciences*, 2019, 23(3): 17-23
- [27] Li L, Liu M, Zhang T, et al. Indomethacin down-regulating HMGB1 and TNF- α to prevent pancreatitis after endoscopic retrograde cholangiopancreatography [J]. *Scandinavian J Gastroenterol*, 2019, 54(6): 793-799
- [28] Min HJ, Kim JH, Yoo JE, et al. ROS-dependent HMGB1 secretion upregulates IL-8 in upper airway epithelial cells under hypoxic condition[J]. *MUCOSAL IMMUNOLOGY*, 2017, 10(3): 685-694
- [29] Zhang Y, You B, Liu X, et al. High-Mobility Group Box 1 (HMGB1) Induces Migration of Endothelial Progenitor Cell via Receptor for Advanced Glycation End-Products (RAGE)-Dependent PI3K/Akt/eNOS Signaling Pathway [J]. *Med Science Monitor: Internation Med J Experiment Clin Res*, 2019, 25(25): 6462-6473
- [30] Xu YF, Liu ZL, Pan C, et al. HMGB1 correlates with angiogenesis and poor prognosis of perihilar cholangiocarcinoma via elevating VEGFR2 of vessel endothelium[J]. *Oncogene*, 2019, 38(6): 868-880
- [31] Zhu H. Radiotherapy-induced cell death activates HMGB1-TLR2/4 signaling and regulates stemness of resident cancer stem cell [J]. *Cancer Science*, 2018, 109: 1226-1226