

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.05.015

桔皮素对卵巢癌 SKOV3 细胞的体外作用及作用机制*

刘莹莹¹, 阳刘康², 卢伟¹, 张远洋¹, 刘伟^{1△}

(1. 湖北省十堰市太和医院·湖北医药学院附属医院, 湖北 十堰 442000; 2. 湖北医药学院基础医学院, 湖北 十堰 442000)

摘要:目的 探讨桔皮素对卵巢癌 SKOV3 细胞的体外作用, 以及对 Ras / 丝裂原活化的细胞外信号调节激酶(MEK) / 细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路的影响。方法 将卵巢癌 SKOV3 细胞分为空白对照组(A 组, 0 $\mu\text{mol/L}$), 阳性对照组(B 组, 75 nmol/L 阿霉素), 桔皮素低、中、高剂量组(分别为 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组, 桔皮素 2, 5, 10 $\mu\text{mol/L}$)。取对数生长期的 SKOV3 细胞, 采用 CCK-8 法检测细胞存活率, 采用改良 Matrigel Boyden 室测定法测定细胞的侵袭性, 采用 BD FACSCanto II 型流式细胞仪检测细胞凋亡率, 采用蛋白免疫印迹法检测细胞 Ras, MEK, ERK 的蛋白表达水平。结果 与 A 组比较, B 组、C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组卵巢癌 SKOV3 细胞存活率及 Ras, MEK, ERK 蛋白表达水平均显著降低, 细胞凋亡率均显著升高, 侵袭细胞数均显著减少, 且 C₁ 组、C₂ 组、C₃ 组效应均呈剂量依赖性($P < 0.05$); 但 C₃ 组和 B 组卵巢癌 SKOV3 细胞上述指标均无显著差异($P > 0.05$)。结论 桔皮素可有效抑制卵巢癌 SKOV3 细胞的增殖与侵袭, 并促进其凋亡, 作用机制可能与抑制 Ras / MEK / ERK 信号通路的蛋白表达有关。

关键词: 桔皮素; 卵巢癌; 体外作用; Ras / 丝裂原活化的细胞外信号调节激酶 / 细胞外信号调节激酶信号通路

中图分类号: R932; R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1006-4931(2022)05-0067-05

Effect of Tangeretin on Ovarian Cancer SKOV3 Cells *in Vitro* and Its Mechanism

LIU Yingying¹, YANG Liukang², LU Wei¹, ZHANG Yuanyang¹, LIU Wei¹

(1. Shiyan City Taihe Hospital · Affiliated Hospital of Hubei Medical College, Shiyan, Hubei, China 442000; 2. Basic Medical College of Hubei Medical College, Shiyan, Hubei, China 442000)

Abstract: Objective To investigate the effect of tangeretin on ovarian cancer SKOV3 cells *in vitro* and the Ras / mitogen-activated protein kinase kinase (MEK) / extracellular-signal regulated kinase (ERK) pathway. **Methods** Ovarian cancer SKOV3

*基金项目: 湖北省十堰市太和医院院级课题[2019JJXM105]。

第一作者: 刘莹莹, 女, 硕士, 主治医师, 研究方向为中医妇科学, (电子信箱)1004569807@qq.com。

△通信作者: 刘伟, 男, 硕士, 主治医师, 研究方向为中医妇科学与内科学, (电子信箱)38702578@qq.com。

参考文献

- [1] 黄秋玲, 戴成家, 叶晓虹. 血管紧张素 II 受体阻断药的降压作用研究进展[J]. 中国药业, 2012, 21(23): 111-112.
- [2] 康聚坡, 王东凯. 替米沙坦钠盐制备工艺的优化[J]. 医学研究与教育, 2020, 37(1): 7-13.
- [3] 陈浩. 替米沙坦/氢氯噻嗪片处方及制备工艺研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2016.
- [4] 蔡国强, 谢春苗, 吴岗, 等. 替米沙坦片的制剂工艺研究[J]. 中国医药指南, 2013, 11(25): 73-74.
- [5] 孙歆慧, 王征, 刘欢, 等. 粉体学性质对替米沙坦氨氯地平双层片制备的影响[J]. 现代药物与临床, 2016, 31(3): 290-293.
- [6] 徐晨, 谢俊, 黄春玉, 等. 粉末包衣技术在药物制剂领域的应用研究进展[J]. 药学进展, 2013, 37(12): 635-641.
- [7] 赵炎信, 王东凯. 替米沙坦顶喷流化床制粒工艺的风险管理策略——采用响应面法实验设计形成的控制策略[J]. 中国药理学杂志(网络版), 2019, 17(6): 235-242.
- [8] 施祥杰, 刘洁凝, 刘晓鸣, 等. 氨氯地平混悬液包衣替米沙坦片芯的制备[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(8): 1146-1149.
- [9] 陈浩, 施祥杰, 胡李斌, 等. 流化床颗粒包衣法制备替米沙坦氨氯噻嗪片[J]. 中国现代应用药学, 2015, 32(5): 556-560.
- [10] 付莉娜. 难溶性药物体外溶出评价及溶出度方法的建立[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2014.
- [11] 苏江涛, 胡常杰, 张汉桥, 等. 用紫外导数分光光度法测定复方替米沙坦氨氯地平片的含量[J]. 药学实践杂志, 2017, 35(2): 150-153.
- [12] 王远革, 余楚钦, 杨怡, 等. 蒿甲虚热清颗粒的制备及其含量测定方法研究[J]. 中国药业, 2017, 26(3): 8-11.
- [13] 任丽莉, 裴希希, 陈国广. 盐酸特比萘芬固体分散体微丸的制备及质量评价[J]. 南京工业大学学报(自然科学版), 2018, 40(6): 32-39.
- [14] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(四部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2015: 118, 121-124.
- [15] 王淑梅, 李敏, 李斌. 国产替米沙坦片与进口对照片溶出曲线对比[J]. 齐鲁药事, 2008, 27(4): 220-221.
- [16] 贾孟良, 谢守霞, 杨红英, 等. 国内不同厂家替米沙坦片与原研制剂的溶出曲线对比分析[J]. 中国药业, 2013, 22(15): 13-15.
- [17] 杨绪狄, 徐丽洁, 赵晓红. 不同厂家替米沙坦片在 3 种溶出介质中的溶出曲线比较研究[J]. 中国医药科学, 2012, 2(13): 101-102.
- [18] 陈承贵, 李美芳, 庞发根, 等. 国产地氯雷他定片的溶出曲线考察[J]. 中国药业, 2019, 28(1): 24-27.
- [19] 牛剑钊, 林兰, 张启明. 美国和日本溶出曲线相似性判定方法介绍[J]. 中国药物评价, 2013, 30(2): 67-69.

(收稿日期: 2021-05-27; 修回日期: 2021-09-16)

cells were divided into the blank control group (group A, 0 $\mu\text{mol/L}$), positive control group (group B, 75 nmol/L of doxorubicin), hesperidin low-, medium- and high-dose groups (groups C₁, C₂ and C₃, 2, 5 and 10 $\mu\text{mol/L}$ of tangeretin). CCK-8 assay was used to detect cell survival rate, Matrigel Boyden chamber assay was used to detect cell invasion, and BD FACSanto II flow cytometry was used to detect cell apoptosis rate, and Western blot was used to detect the expression levels of Ras, MEK and ERK protein. **Results** Compared with those in group A, the survival rate of ovarian cancer SKOV3 cells and the expression levels of Ras, MEK and ERK protein of ovarian cancer SKOV3 cells decreased significantly, the apoptosis rate of ovarian cancer SKOV3 cells increased significantly, while the number of invasion cells decreased significantly in groups B, C₁, C₂ and C₃, and the effects in groups C₁, C₂ and C₃ were dose-dependent ($P < 0.05$). However, there was no significant difference in the above indexes of ovarian cancer SKOV3 cells between group C₃ and group B ($P > 0.05$). **Conclusion** Tangeretin can effectively inhibit the proliferation and invasion of ovarian cancer SKOV3 cells and promote cell apoptosis. The mechanism may be related to the inhibition of Ras/MEK/ERK signal pathway-related protein expression by tangeretin.

Key words: tangeretin; ovarian cancer; *in vitro* effect; Ras/MEK/ERK signaling pathway

卵巢癌疾病早期缺乏有效的生物诊断标志,导致超过70%的患者确诊时已为晚期,5年生存率低于30%^[1-2]。桔皮素是一种提取于川橘果皮和柑橘茎叶等的黄酮类化合物,具有抗菌、抑制恶性肿瘤细胞和嗜碱性细胞组胺释放等作用^[3],可有效抑制结肠癌和乳腺癌细胞体外的增殖^[4]。Ras/丝裂原活化的细胞外信号调节激酶(MEK)/细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路在癌症中常被解除调控,对于癌症的发生起关键作用^[5]。约15%的癌症中存在突变的Ras致癌形式,约30%的癌症中ERK过度激活对于Ras/MEK/ERK信号通路的解除起调节作用^[6]。此外,在黑色素瘤、甲状腺癌、结直肠癌中均发现Ras/MEK/ERK信号通路的异常表达^[7]。尽管MEK本身的激活突变在人类癌症中尚未被发现,其在ERK通路中的中心作用被认为是治疗人类癌症的重要靶点^[8]。本研究中探讨了桔皮素对卵巢癌细胞的体外作用及其对Ras/MEK/ERK信号通路的影响。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与细胞

仪器: BSC-1100 II B2-X型生物安全柜、BKQ-B75型高压蒸汽灭菌锅、BJPX-300L CO₂细胞培养箱(中国博科公司); 5320R型离心机(德国徕卡公司); 伯乐Mini-PRO TEAN型电泳仪(美国伯乐公司); EVOS M7000型倒置显微镜(意大利赛默飞公司); LAS 4000型成像系统、Bio-Rad型微孔板阅读器(美国GE Healthcare公司); BD FACSCanto II型流式细胞仪(美国赛默飞世尔科技有限公司); VCX 500型超声细胞破碎仪(中国苑胜公司)。

试剂: 桔皮素(中国食品药品检定研究院,批号为849542); 阿霉素(南京建成生物有限公司,批号为621548); RPMI 1640培养基(批号为2154849), 胎牛血清(批号为5549154), 胰蛋白酶(批号为8444124), 均购自美国Gibco公司; 细胞计数试剂盒8(CCK-8, 上海优

宁维生物有限公司,批号为2011252); V-荧光素异硫氰酸酯(FITC)凋亡试剂盒(美国Sun-Shine公司,批号为2011594); Ras蛋白抗体(批号为20205949), MEK蛋白抗体(批号为20206423), ERK蛋白抗体(批号为20205571), β -actin蛋白抗体(批号为20178849), 均购自美国Abcam公司; 山羊抗兔二抗(武汉三鹰生物有限公司,批号为59487145)。

细胞: 卵巢癌SKOV3细胞株(武汉普诺赛生命科技有限公司)。

1.2 方法

细胞培养: 从液氮罐中取卵巢癌SKOV3细胞株冻存管1支进行细胞复苏, 将复苏后的细胞置RPMI 1640培养基中, 采用细胞培养皿进行分装, 并放置在37℃、5%CO₂培养箱中培养, 24 h后更换培养基, 当细胞覆盖率达到70%时, 在培养皿中加入胰蛋白酶进行细胞传代。在指定时间内, 用不同质量浓度(2, 5, 10 $\mu\text{mol/L}$)的桔皮素和75 nmol/L阿霉素处理细胞^[9]。

细胞分组: 将细胞分为空白对照组(A组, 0 $\mu\text{mol/L}$), 阳性对照组(B组, 阿霉素75 nmol/L), 桔皮素低、中、高剂量组(分别为C₁组、C₂组、C₃组, 桔皮素2, 5, 10 $\mu\text{mol/L}$)。

细胞处理: 取对数生长期的卵巢癌SKOV3细胞, 在培养皿中加入1 mL胰蛋白酶, 轻微吹打2 min, 使细胞完全悬浮。将悬浮的细胞转移至1.5 mL离心管中, 离心(转速为2 000 r/min)10 min, 弃去上清液; 加入1 mL RPMI 1640培养基, 并轻微吹打细胞, 使细胞充分悬浮, 将细胞悬液转移至96孔板中, 每孔100 μL , 在培养箱中培养24 h, 弃去96孔板中的培养基; 每孔中依次加入新的RPMI 1640培养基。按细胞分组项下方法加入药物, 每组6个复孔, 培养24 h, 弃去培养液。

CCK-8法检测细胞存活率: 取细胞处理项下的各组细胞, 每孔加入100 μL 培养液和10 μL CCK-8溶液, 持续培养3 h, 使用Bio-Rad型微孔板阅读器读取450 nm波长处的吸光度, 重复3次, 并计算细胞存活率。

改良 Matrigel Boyden 室测定法测定细胞侵袭性:取细胞处理项下的各组细胞,将细胞接种至有基质胶的滤膜上,滤膜下室仓中放入 10% 胎牛血清,作为趋化剂,放入培养箱中培养 24 h,取出滤膜,染色,使用 EVOS M7000 型倒置显微镜对滤膜上的细胞进行计数。每个滤膜随机选择 5 个视野,重复 3 次,取平均值。

流式细胞仪检测细胞凋亡率:取细胞处理项下的各组细胞,使用 FITC 凋亡试剂盒,用磷酸盐缓冲液洗涤细胞 2 次,用 1X 结合缓冲液在 1×10^6 个细胞 / mL 浓度下悬浮于 400 μ L V - FITC 溶液中,黑暗中室温孵育 15 min,加入 PI 10 μ L,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 5 min,立即用 BD FACS-Canto II 型流式细胞仪分析细胞,重复 3 次。

蛋白免疫印迹法检测细胞 Ras, MEK, ERK 蛋白表达水平:取细胞处理项下的各组细胞,取出培养皿,放入无菌操作台,弃去培养皿中的培养液,并加入 1 mL 磷酸盐缓冲液和 100 μ L 蛋白酶 K 溶液,使细胞悬浮,采用 VCX 500 型超声细胞破碎仪作用 2 min 破碎细胞,采用 5320R 型离心机离心(转速为 3 000 r / min),4 $^{\circ}$ C 下处理 20 min,取上清液,置 1 支新的 1.5 mL EP 管中。经十二烷基硫酸钠 - 聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS - PAGE)电泳分离、转膜、封闭,用特异性抗体 Ras, MEK, ERK, β - actin 于 4 $^{\circ}$ C 下孵育 12 h,用 1% 吐温清洗孵育后的条带 3 次,二抗孵育 2 h,经 LAS 4000 型成像系统成像,并观察结果。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,行单因素方差分析,并采用 LSD - t 检验行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞存活率、侵袭细胞数和凋亡率

与 A 组比较,B 组、C₁组、C₂组、C₃组卵巢癌 SKOV3 的细胞存活率均显著降低,细胞凋亡率均显著升高,侵袭细胞数均显著减少,且 C₁组、C₂组、C₃组效应呈剂量依赖性($P < 0.05$);但 C₃组和 B 组上述指标比较均无显著差异($P > 0.05$)。详见表 1、图 1 和图 2。

表 1 桔皮素对卵巢癌 SKOV3 细胞存活率、凋亡率、侵袭细胞数的影响($\bar{X} \pm s, n = 3$)

Tab. 1 Effect of tangeretin on survival rate, apoptosis rate and invasion number of ovarian cancer SKOV3 cells ($\bar{X} \pm s, n = 3$)				
组别	药物浓度	细胞存活率(%)	细胞凋亡率(%)	侵袭细胞数(个)
A 组	0	98.11 $\pm$ 8.55	14.83 $\pm$ 4.37	169.57 $\pm$ 13.55
B 组	75 nmol / L	31.17 $\pm$ 6.29 ^{abc}	61.84 $\pm$ 5.89 ^{abc}	71.53 $\pm$ 11.53 ^{abc}
C ₁ 组	2 μ mol / L	78.22 $\pm$ 8.62 ^{ad}	24.59 $\pm$ 4.28 ^{ad}	131.55 $\pm$ 12.78 ^{ad}
C ₂ 组	5 μ mol / L	55.35 $\pm$ 8.53 ^{abd}	41.28 $\pm$ 4.77 ^{abd}	102.87 $\pm$ 12.89 ^{abd}
C ₃ 组	10 μ mol / L	31.26 $\pm$ 6.74 ^{abc}	61.71 $\pm$ 5.36 ^{abc}	72.45 $\pm$ 11.77 ^{abc}

注:与 A 组比较,^a $P < 0.05$;与 C₁组比较,^b $P < 0.05$;与 C₂组比较,^c $P < 0.05$;与 B 组比较,^d $P < 0.05$ 。表 2 同。

Note: Compared with those in group A, ^a $P < 0.05$ (for Tab. 1 - 2); Compared with those in group C₁, ^b $P < 0.05$ (for Tab. 1 - 2); Compared with those in group C₂ (for Tab. 1 - 2), ^c $P < 0.05$; Compared with those in group B, ^d $P < 0.05$ (for Tab. 1 - 2).

2.2 Ras, MEK, ERK 蛋白表达水平

与 A 组比较,B 组、C₁组、C₂组、C₃组卵巢癌 SKOV3 细胞 Ras, MEK, ERK 蛋白表达水平均显著降低,且 C₁组、C₂组、C₃组效应呈剂量依赖性($P < 0.05$);C₃组和 B 组上述指标比较均无显著差异($P > 0.05$)。详见表 2 和图 3。

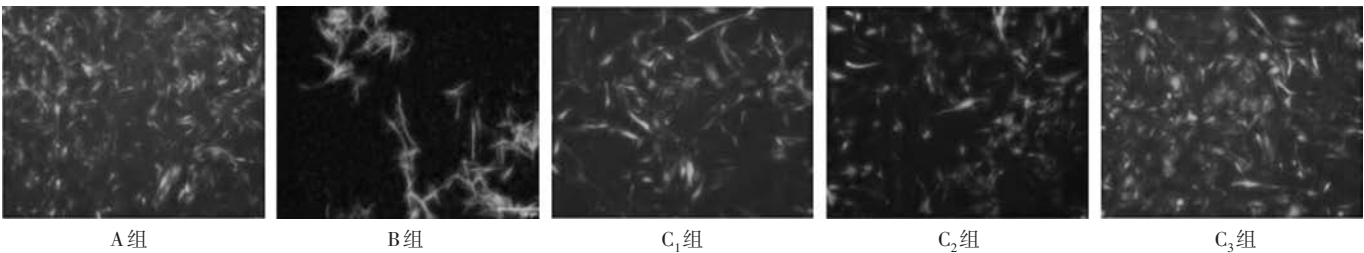


图 1 桔皮素对卵巢癌 SKOV3 细胞存活率的影响($\times 100$)

Fig. 1 Effect of tangeretin on the survival rate of ovarian cancer SKOV3 cells($\times 100$)

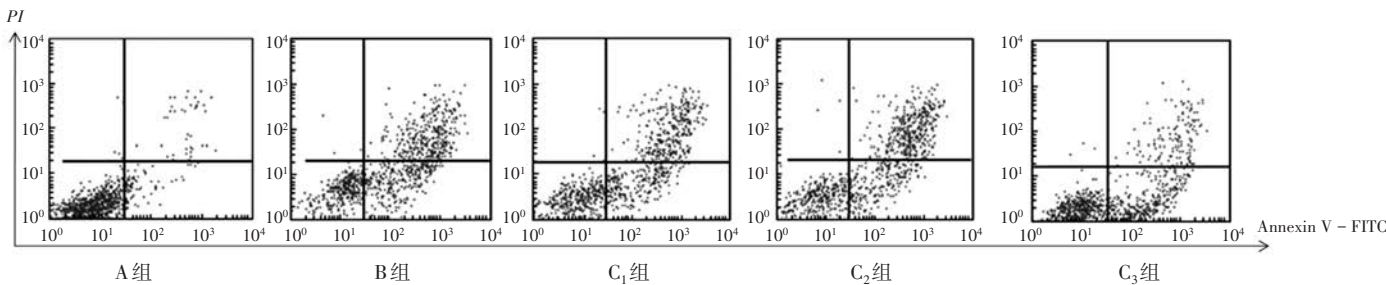


图 2 桔皮素对卵巢癌 SKOV3 细胞凋亡率的影响

Fig. 2 Effect of tangeretin on apoptosis rate of ovarian cancer SKOV3 cells

表2 桔皮素对卵巢癌SKOV3细胞Ras,MEK,ERK蛋白表达水平的影响($\bar{X} \pm s, n = 3$)

Tab.2 Effect of tangeretin on the expression levels of Ras,MEK and ERK proteins in ovarian cancer SKOV3 cells ($\bar{X} \pm s, n = 3$)

组别	药物浓度	Ras / β -actin	MEK / β -actin	ERK / β -actin
A组	0	0.92 $\pm$ 0.08	0.81 $\pm$ 0.07	0.94 $\pm$ 0.09
B组	75 nmol / L	0.17 $\pm$ 0.04 ^{abc}	0.15 $\pm$ 0.04 ^{abc}	0.27 $\pm$ 0.05 ^{abc}
C ₁ 组	2 μ mol / L	0.69 $\pm$ 0.07 ^{ad}	0.57 $\pm$ 0.06 ^{ad}	0.82 $\pm$ 0.09 ^{ad}
C ₂ 组	5 μ mol / L	0.32 $\pm$ 0.05 ^{abd}	0.35 $\pm$ 0.05 ^{abd}	0.59 $\pm$ 0.08 ^{abd}
C ₃ 组	10 μ mol / L	0.21 $\pm$ 0.05 ^{abc}	0.17 $\pm$ 0.04 ^{abc}	0.38 $\pm$ 0.05 ^{abc}

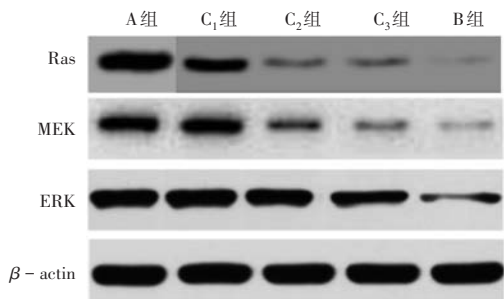


图3 桔皮素对卵巢癌SKOV3细胞Ras,MEK,ERK蛋白表达的影响

Fig.3 Effect of tangeretin on the expression of Ras,MEK and ERK protein in ovarian cancer SKOV3 cells

3 讨论

卵巢癌的发病率在女性恶性肿瘤中仅次于宫颈癌和子宫体癌,卵巢上皮癌是死亡率最高的妇科肿瘤^[10]。由于卵巢体积小且位于盆腔内,卵巢癌早期无明显临床症状,易错过最佳治疗时间,导致癌细胞扩散至盆腔内的脏器时,疾病已发展至晚期,增加了临床治疗的难度^[11]。桔皮素具有抑制癌细胞增殖、黏附、转移、凋亡等潜在的抗癌作用^[12],可通过降低过氧化应激引起的前列腺癌细胞中相关氧化应激因子的表达水平来抑制细胞的侵袭和逆转。此外,桔皮素还可减弱乳腺癌、肝癌和肺癌细胞的生存能力,并诱导其凋亡^[13]。本研究中检测了不同浓度的桔皮素对卵巢癌SKOV3细胞的影响,由表1可知,桔皮素可促进卵巢癌SKOV3细胞的凋亡,抑制其增殖,减弱其侵袭能力,且呈剂量依赖性,表明桔皮素可有效减慢卵巢癌SKOV3细胞的增殖速度,通过抑制其侵袭能力而阻止肿瘤细胞扩散,同时通过增加其细胞凋亡率而延缓疾病进程。

Ras / MEK / ERK 信号通路与机体氧化应激密切相关,其异常高表达在多种癌症的转移过程中起关键作用^[14]。ERK 是机体中维持细胞氧化还原平衡的关键翻译因子^[15],其表达的增加可诱导下游基因 Ras 和 MEK 的表达,使细胞内氧化应激因子羟自由基水平升高,进一步加重机体氧化应激,导致肿瘤细胞增殖和迁移的活性增加,加重病情^[16]。由表 2 可知,未对卵巢癌 SKOV3 细胞进行任何处理时,Ras,MEK,ERK 蛋白均呈

高表达;给予桔皮素干预后,Ras,MEK,ERK 的蛋白表达均下调,且具有明显的剂量依赖性。可见桔皮素可能通过调节 Ras / MEK / ERK 信号通路来降低细胞内氧化应激,下调细胞氧化应激因子的表达,从而抑制卵巢癌 SKOV3 细胞的增殖和侵袭,并促进其凋亡。

综上所述,桔皮素可有效抑制卵巢癌 SKOV3 细胞的增殖与侵袭,并促进其凋亡,效果与桔皮素的剂量密切相关,作用机制可能与抑制 Ras / MEK / ERK 信号通路的蛋白表达有关,但具体作用机制有待深入探究。

参考文献

[1] ZHENG LM, CUI CY, SHI OM, et al. Incidence and mortality of ovarian cancer at the global, regional, and national levels, 1990 – 2017[J]. Gynecol Oncol, 2020, 159(1): 239 – 247.

[2] MEDHIN LB, TEKLE LA, ACHILA OO, et al. Incidence of Cervical, Ovarian and Uterine Cancer in Eritrea: Data from the National Health Laboratory, 2011 – 2017[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 9099.

[3] 王文刚, 夏磊, 李明君. 桔皮素抑制破骨细胞分化和钛颗粒诱导的骨溶解[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(7): 1247 – 1249.

[4] RAZA W, LUQMAN S, MEENA A. Prospects of tangeretin as a modulator of cancer targets / pathways [J]. Pharmacol Res, 2020, 161: 105202.

[5] YANG SY, YUAN L, WANG YF, et al. B7 – H6 Promotes Cell Proliferation, Migration and Invasion of Non – Hodgkin Lymphoma via Ras / MEK / ERK Pathway Based on Quantitative Phosphoproteomics Data [J]. Onco Targets Ther, 2020, 13: 5795 – 5805.

[6] ZHU C, JIANG Y, ZHU JR, et al. CircRNA8220 Sponges MiR – 8516 to Regulate Cell Viability and Milk Synthesis via Ras / MEK / ERK and PI3K / AKT / mTOR Pathways in Goat Mammary Epithelial Cells[J]. Animals, 2020, 10(8): 1347 – 1365.

[7] DAS S, CHATTOPADHYAY D, CHATTERJEE SK, et al. Increase in PPAR γ inhibitory phosphorylation by Fetuin – A through the activation of Ras – MEK – ERK pathway causes insulin resistance [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2020, 1867(4): 166050.

[8] SHEN N, LI L, XU W, et al. A missense variant in PTPN12 associated with the risk of colorectal cancer by modifying Ras / MEK / ERK signaling[J]. Cancer Epidemiol, 2019, 59: 109 – 114.

[9] 施静静, 任丽娜. 桔皮素对人胶质瘤细胞 U251 生长、侵袭和迁移能力的抑制作用[J]. 医学分子生物学杂志, 2018, 15(6): 394 – 398.

[10] ASEM M, YOUNG AM, OYAMA C, et al. Host Wnt5a Potentiates Microenvironmental Regulation of Ovarian Cancer Metastasis[J]. Cancer Res, 2020, 80(5): 1156 – 1170.

[11] ZÁVESKÝ L, JANDÁKOVÁ E, WEINBERGER V, et al. Ascites – Derived Extracellular microRNAs as Potential Biomarkers for Ovarian Cancer[J]. Reprod Sci, 2019, 26(4): 510 – 522.

[12] ZHANG HJ, CUI JF, TIAN GF, et al. Efficiency of four different dietary preparation methods in extracting functional com-