

常拓,王洁,李楠,等. MNU 诱导 SD 大鼠下焦湿热证尿血(膀胱癌)模型研究[J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(12): 49-54.
Chang T, Wang J, Li N, et al. A model study of blood in urine (bladder cancer) during scorching humid fever in MNU-induced SD rats [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(12): 49-54.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.12.008

MNU 诱导 SD 大鼠下焦湿热证尿血(膀胱癌)模型研究

常拓^{1,2},王洁³,李楠⁴,王天奇^{4*}

(1.沈阳医学院中医药学院,沈阳 110034;2.辽宁中医药大学中医学院,沈阳 110847;
3.沈阳医学院基础医学院,沈阳 110034;4.国家卫生健康委科学技术研究所,北京 100081)

【摘要】目的 探讨 N-甲基-N-亚硝基脲(MNU)诱导 SD 大鼠下焦湿热证尿血——膀胱癌(BC)模型的造模过程和成模率。方法 通过膀胱灌注 MNU 的方法在造模前、造模中、造模后共计 6 个时间点进行分批样品采集,并对膀胱组织进行 HE 染色以了解膀胱原位癌的形成及发展过程。结果 实验过程顺利,在操作过程中大鼠未出现明显尿路损伤现象。通过本造模手法模型组大鼠膀胱内有明显的上皮增生、破损及大面积肿瘤形成和尿血现象。结论 MNU 可以成功诱导 SD 大鼠下焦湿热证尿血模型(膀胱癌),且成模明显,死亡率低,实验数据可为膀胱癌模型的建立、改良和应用提供一定的参考。

【关键词】 N-甲基-N-亚硝基脲;SD 大鼠;膀胱癌;尿血

【中图分类号】 R-33 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-7856 (2023) 12-0049-06

A model study of blood in urine (bladder cancer) during scorching humid fever in MNU-induced SD rats

CHANG Tuo^{1,2}, WANG Jie³, LI Nan⁴, WANG Tianqi^{4*}

(1. School of Traditional Chinese Medicine, Shenyang Medical College, Shenyang 110034, China.
2. School of Traditional Chinese Medicine, Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110847.
3. School of Basic Medicine, Shenyang Medical College, Shenyang 110034.
4. Institute of Science and Technology, National Health Commission, Beijing 100081)

【Abstract】 Objective To investigate the modeling process and model establishment rate of the N-methyl-N-nitrosourea (MNU)-induced lower jiao dampness-heat syndrome uremia bladder cancer (BC) model. Methods Batch samples were collected by bladder perfusion (MNU). HE staining and pathological observation of pathological tissues were carried out at six time points before, during, and after modeling to understand the formation and development of bladder carcinoma *in situ*. Results The experimental process was smooth, and no obvious urinary tract bleeding in rats occurred during the operation. Using this modeling technique, considerable bladder tumors were formed after week 8, and obvious epithelial hyperplasia, damage and large-scale tumor formation were observed in the bladder of rats in the model group. Conclusions MNU induces an SD rat bladder cancer model with obvious model establishment and low mortality. The experimental data provide a reference to establish, improve and apply the bladder cancer model.

【Keywords】 N-methyl-N-nitrosourea; SD rats; bladder cancer; blood in the urine

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

【基金项目】国家重点研发计划项目(2022YFF0711001);辽宁省科协科技创新智库项目(LNKX2022FH02);辽宁中医药大学博士后启动基金(21601A2090)。

【作者简介】常拓(1989—),男,博士,在站博士后,副教授,硕士生导师,研究方向:中医基础理论与中药研究。
E-mail:changtuotcm@163.com

【通信作者】王天奇(1968—),男,博士,副研究员,研究方向:实验动物。E-mail:2003wangtianqi@163.com

膀胱癌(bladder cancer, BC)是全球十大最常见的癌症之一^[1],是目前人类泌尿系统的高发性肿瘤疾病^[2]。在我国,膀胱癌的患病率在男性中是女性的 3.8 倍,并且男性的死亡率是女性的 4 倍,已成为威胁我国人民健康的重大恶性肿瘤之一^[1]。目前治疗膀胱癌以手术为主,术前、术后常辅助以化疗^[3]。但手术和化疗有严重的不良反应,术后复发率高,严重影响患者的生活质量^[4]。动物试验是探讨疾病治疗手段的主要手段,建立可靠、稳定、可重复性好的动物模型是保证试验成功的关键。因此,动物模型为研究人类疾病发病机制、筛选、评价药物等提供了有力的体内研究工具^[5]。其中原位模型优于其他类型的模型,主要是因为其提供了正常的微环境^[6]。Hicks 首次通过膀胱灌注 N-甲基-N-亚硝基脲(N-methyl-N-nitrosourea, MNU)诱导膀胱肿瘤,目前已是一种很成熟的造模技术^[7]。MNU 诱导 BC 方法简单,具有毒性反应小、潜伏期短、致癌率高等特点,且接近于人膀胱癌的病理学特征^[8-11]。本研究为更加准确地了解 MNU 诱导大鼠成瘤的过程,观察不同时间阶段的大鼠肿瘤的病理学特征和差异以及分析其死亡率和成瘤率,从而明确 MNU 诱导大鼠 BC 发生发展的进展情况。以此为后续在临床上探寻治疗膀胱癌的新药物的开发奠定准确、可信的动物模型基础。

1 材料和方法

1.1 实验动物

33 只 SD 大鼠,雌性,SPF 级,年龄 6~8 周龄,体重 140~160 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2021-0006],饲养于清洁环境,相对湿度为 40%~70%,室温保持在 23~26℃,自由饮水和进食。实验动物饲养及观察于北京伽拓医药研究有限公司[SYXK(京)2023-0022],本实验由北京 JAT 生物有限公司实验动物管理和使用委员会(Institutional Animal Care and Use Committee, IACUC, AP-18-0001)批准。本研究的目的及方式,应遵循人类之伦理及国际通行之规范,并依实验动物之 3R 原则,于动物之培育与试验中,予以人道关怀。

1.2 主要试剂与仪器

试剂材料如无水乙醇、二甲苯、盐酸等(国药集团化学试剂有限公司);苏木素染液(谷歌生物);MNU(MACKLIN, 上海);DMSO(美国 Sigma 公司);

DAB 显色套装(北京中杉金桥生物公司);0.9%生理盐水(石家庄四药有限公司);戊巴比妥钠(北京伽拓医药公司赠予);新洁尔灭(山东利尔康医疗公司);石蜡油(山东利尔康医疗公司)。

软夹(亿佳居日用品公司);一次性无菌的 RD(柔性型)直径 1.0 mm 的硬膜外导管(江苏宏达医疗器械集团有限公司);5 mL 注射器(江苏宏达医疗器械集团有限公司);载玻片及盖玻片(江苏世泰实验器材有限公司,型号:10212432C);电光子分析天平(瑞士 METTLER 型号:AG285);超纯水仪(北京市六一仪器厂,型号:Ultraclearplus);漩涡混匀器(姜堰市健康医疗器具有限公司,型号:XH-B 型);倒置荧光显微镜(日本尼康,型号:Nikon Eclipse Ti-SR);高速冷冻离心机(德国 SIGMA 公司,型号:3K30);冻台(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-L5);恒温磁力搅拌器(杭州仪表电机厂,型号:78HW-1);电热恒温水浴锅(长安医疗器械厂,型号:HHS21-4);组织摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司,型号:KD-P);数码照相系统(日本 Olympus 公司,型号:C-5050);超声波清洗器(江苏省昆山超声仪器有限公司,型号:KQ-500DE);干燥箱(上海市跃进医疗器械厂,型号:101-1A 型);超低温冰箱(日本 SANYO 公司,型号:MDF-4086S);普通冰箱(青岛海尔电冰箱厂,型号:BCD-199);成像系统(日本尼康,型号:Nikon DS-U3);病理切片机(上海徕卡仪器有限公司,型号:RM2016);包埋机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);脱水机(武汉俊杰电子有限公司,型号:JJ-12J);烤箱(上海福玛实验仪器有限公司,型号:DGX-9003B)。

1.3 实验方法

1.3.1 MNU 溶液的配制及用法

称取适量 MNU,溶解于适量 0.9%生理盐水中,配制成 10 mg/mL 的 MNU 溶液,60 min 内用完,每只 2 mg,1 次/2 周,共 5 次,总计每只 10 mg,从第 0 周开始灌注,至第 9 周。

1.3.2 分组

自由适应期为 5 d,第 6 天开始进行 MNU 造模。实验 1(造模探索实验):选取 13 只雌性 SD 大鼠,随机分成两组,造模组 10 只,空白对照组 3 只。实验 2(肿瘤进展实验):造模组选取 20 只雌性 SD 大鼠,无空白对照组。

1.3.3 造模

雌性 SD 大鼠腹部朝上,用 5 mL 注射器,以

0.6%戊巴比妥钠(30 mg/kg)注入腹腔,注射后大约 10 min 药物起效。用五根稍长结实棉线固定于解剖板上,由于过于紧绷会导致内部尿道不容易拉直,因此可以在术者外侧的棉线稍微松绑或者不绑,固定好后,用新洁尔灭及碘伏对大鼠外阴部及导尿管进行消毒,将无菌的 RD(柔性型)1.0 mm 直径的硬膜外导管蘸取适量无菌石蜡油,轻轻插入尿道口,插入 1 cm 左右会有阻力感,变换角度,左手用一把头部带有软胶头的镊子将大鼠外部尿道连同周围皮肤水平夹起,以保持体内尿道部分充分拉直,右手持导尿管延膀胱靠近阴道一侧垂直向下试探性变换角度插入,此时大鼠会偶尔出现躁动,此时可以缓缓调节角度插入,插入之前可能会出现顿挫感,此种感觉就像有东西突然弹跳一样,之后徐徐插入,此时顿挫感消失,会有落空感,此时导尿管会顺利进入膀胱,当总长度进入 3~5 cm 时,会出现明显阻力,继续插入会出现回弹,此时导尿管已进入膀胱。插管过程切忌用蛮力及暴力插管,容易导致尿道破裂及尿道出血。

将 MNU 液按照每只 0.2 mL 注入大鼠膀胱内,因导管中可能存在残留药液,在注射完药剂后,在相同注射器中加入适量生理盐水予以灌注。空白对照组以生理盐水每只注入 0.2 mL 代替。另外所制导管不宜过长,6 cm 左右为宜。选用一次性无菌的 RD(柔性型)直径为 1.0 mm 的硬膜外导管,此种导管头部光滑圆钝,硬度适宜。药物注入后,用头部带有橡胶的软夹夹闭 60 min,取下后放回笼中。

1.3.4 取材及处理

利用颈椎脱臼使大鼠死亡,然后对其膀胱进行完整解剖。在膀胱颈部切断尿道,同时紧贴膀胱壁切断双侧输尿管,完整取出膀胱。移除外部脂肪,并用冰生理盐水冲洗,用滤纸擦净膀胱表面液体。对膀胱进行总重量称量,然后在膀胱前壁剪开观察膀胱内部情况,并记录。记录膀胱内是否发生肿瘤以及是否有特殊情况发生。实验过程中,所有大鼠从实验开始(第 0 周)到实验结束(第 16 周)都被饲养。实验结束后,剩余的两只大鼠被安乐死处理。然后将新鲜组织用 4% 甲醛固定,制备石蜡切片,用 HE 染色,通过显微镜观察形态并拍照。

1.4 统计学方法

死亡率:统计实验前及实验后大鼠数量,计算死亡率。

成瘤率:光镜下观察发现,未成瘤的大鼠膀胱

壁上有 2~3 个迁移上皮细胞。细胞呈现扁平状,形态一致,结构规整,核为圆球形;核浆比在 1:4~1:6 之间,膀胱组织由内向外依次为黏膜层、固有层、肌肉层和浆膜肌肉层。成瘤大鼠膀胱黏膜上皮组织的细胞具有大小不一的形态差异,移行上皮细胞层数显著增加,排列无序,细胞极性现象消失,细胞核大,大小形状不规则,核染色呈现颗粒状,分布不规则,核膜明显增厚,核仁肥大,细胞质比例增加,核分裂现象明显。对各组大鼠膀胱组织肿瘤形成状况进行相关统计,确定肿瘤发生率,并对各组进行相互比较。

2 结果

2.1 大鼠状态

实验过程顺利,在操作过程中未出现因插管导致的状态不佳引起的大批量死亡现象。实验 1:模型组大鼠死亡 3 只(1 只死于实验后第 2 天,疑似麻醉过量;1 只在实验后第 10 天死亡,大鼠腹部肿胀,尸检显示腹腔肠道严重粘连,肠道部分梗阻。1 只在实验后第 23 天死亡,解剖结果显示腹腔肠道严重粘连),大鼠出现尿血、躁动现象;对照组未出现大鼠死亡及尿血、躁动现象。实验 2:未出现大鼠死亡现象,同样出现尿血、躁动现象。

2.2 造模效果

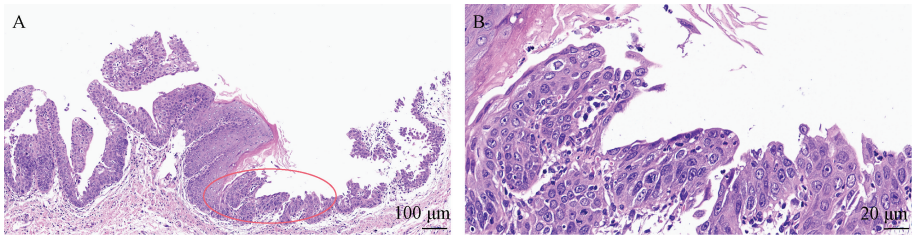
MNU 膀胱灌注建模 SD 大鼠 BC 模型,通过此建模技术第 9 周后的膀胱肿瘤清楚可见,模型组大鼠膀胱内存在明显的上皮组织增生、破裂及大面积肿瘤形成现象,膀胱黏膜上皮细胞形态各异,上皮细胞的移行层数量明显增加,排列不规则,极像消失。细胞核增生变大,形状不规则,核质肥大,核质大小比增大,核染色质大小呈颗粒状,无序分布,核膜显著增厚,核分裂明显,见图 1。

2.3 计算死亡率和成瘤率

在实验结束后分别统计模型组和对照组的成瘤率和死亡率。实验 1 组中的对照组的成瘤率和死亡率均为 0,模型组的成瘤率为 100%,死亡率则为 30%;实验 2 组的成瘤率为 100%,而死亡率为 0%。

2.4 尿血及膀胱情况

在 MNU 膀胱灌注第 4 周时,膀胱内开始有形成肿瘤的趋势;在第 8 周时肿瘤已经基本形成。并且在第 8 周时部分大鼠出现类似于 BC 患者显著的尿血病理现象,见图 2。在实验过程中,MNU 诱导 SD 大鼠膀胱癌在各阶段的成瘤情况,见图 3。

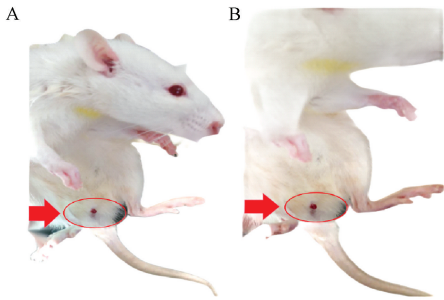


注:A:10 倍显微镜下观察大鼠膀胱内情况;B:40 倍显微镜下观察大鼠膀胱内情况。

图 1 第 9 周时模型组大鼠膀胱内情况

Note. A, Observation of the bladder of rats under a 10x microscope. B, Observation of the bladder of rats under a 40x microscope.

Figure 1 In the bladder of the model group at week 9

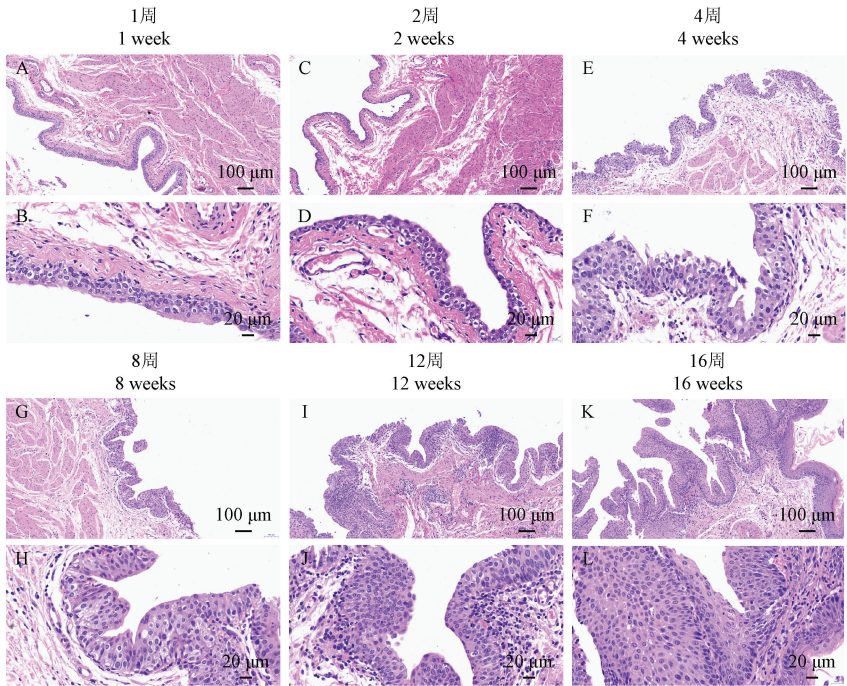


注:A:大鼠出现肉眼血尿现象(全景);B:大鼠出现肉眼血尿现象(近景)。

图 2 第 8 周时大鼠的尿血情况

Note. A, Rats showing carnal hematuria (panoramic view). B, Rats showing carnal hematuria (close-up view).

Figure 2 Blood in the urine of rats at the 8th week



注:A、B:膀胱未出现病变;C、D:膀胱内皮出现轻微毛糙状;E、F:膀胱细胞层增多,出现局部增生隆起;G、H:膀胱内出现大面积肿瘤;I、J:膀胱壁增生严重,出现较大肿瘤;K、L:膀胱内出现巨大肿瘤。

图 3 MNU 诱导 SD 大鼠膀胱原位癌各阶段成瘤情况展示图

Note. A/B, No lesions in the bladder. C/D, Slightly hairy appearance of the bladder endothelium. E/F, Increased bladder cell layer with localized hyperplastic bulges. G/H, Large tumor in the bladder. I/J, Severe hyperplasia of the bladder wall with the appearance of larger tumors. K/L, Giant tumor in the bladder.

Figure 3 MNU-induced bladder carcinoma *in situ* tumor formation in SD rats

3 讨论

中医没有“癌症”“膀胱癌”等病名,按照病理现象及实际症状可将膀胱癌归纳到中医血证中“血淋”“尿血”的范畴,临床上以无痛性尿血为早期表现^[12]。在中医理论中,尿中带血是主要原因,其发病有多种原因。如六邪、风、热等外邪,从表面进入,侵入血供,造成灼烧经脉,逼血妄为;火热之邪,使太阳患病,经入内,热积于膀胱,损血管,引起外渗^[13]。内伤脏腑,阴阳失衡,过度疲劳,情绪失衡,耗悲阴,心火过旺,热传小肠,迫血乱动所致^[14];温病后,阴液消耗损伤,或心房、心室连接不畅,引起相火动过盛,肾阴虚,内生虚火,可损肾经络,使血随尿而出^[15];忧劳,损脾土,中气无力,无力控制,血不经经络,多有血尿^[16];肺结核和肾损害可导致气阴虚,肾阴虚,因阴虚而火过旺,逼血往下流,造成血尿^[17];肝郁气滞,落落外伤,气滞,血瘀凝,左于下交,经络受阻,膀胱因经络破裂而漏血,而出现血尿^[18]。下焦湿热证主要表现为尿黄灼热,尿血鲜红,心烦不安等症状,其证机概要为热伤阴络,血渗膀胱,治疗当以清热利湿、凉血止血为主^[19]。本实验中,SD 大鼠在 MNU 诱导造模过程中出现尿血鲜红,躁动不安等类似于下焦湿热证表现,因此初步认为符合下焦湿热证中所述的尿血现象,并将此模型归结为下焦湿热证尿血模型。化学致癌物、物理因素和生物因素均可诱发各种动物形成肿瘤,其中化学致癌物最常诱发肿瘤,DNA 烷基化剂 N-甲基-N-亚硝基酰胺(MNU)是一种多器官致癌物质。为了满足不同专业人员的研究需要,它已被用于建立不同类型、不同生物特征以及不同部位的动物肿瘤模型^[20]。MNU 是一种直接致癌物,是一种强大的致畸剂、诱变剂和致癌物,已被广泛应用于经膀胱灌注诱导膀胱肿瘤的动物模型中,其致病机制与胞内特定的烃化结构有关,该结构可使生物大分子(特别是核酸)发生甲基化^[21]。自 Hicks 首次通过膀胱灌注 MNU 快速诱导膀胱肿瘤以来,使用化学制剂诱导 BC 在科研实验上已得到广泛推广和应用^[7]。MNU 可通过膀胱灌注的方式,对部分上皮细胞进行诱导,从而诱导细胞癌变和膀胱癌的发生,此过程中不受酶代谢和肠道菌群转化的影响。与间接致癌物诱导的实验性 BC 相比,MNU 诱导的实验性 BC 操作方法简单快捷,具备毒性弱,潜伏期短,癌变部位固定、致癌率高、致癌效果明显等优

势^[7-9]。MNU 对所有啮齿动物都有致癌作用,但致癌程度不同,其中大鼠的致癌作用最强,不同种类大鼠的易感性也不相同,其中 SD 大鼠对其最敏感。大量研究结果表明,MNU 诱发的膀胱肿瘤为移行性上皮癌,其形态及病理特点与人膀胱癌有明显的相似性^[9-11]。此外,相对于胃肠道给药,膀胱灌注具有更高的剂量控制精度,且能减少对其他脏器的损害。为此,本课题拟采用 MNU 诱导的方法,建立大鼠膀胱癌原位模型。虽然膀胱灌注 MNU 诱导大鼠膀胱肿瘤模型已经是一种很成熟的方法,相关文献报道也很多,且发生何种病理学改变都已经相当清楚,但为更加准确地了解及分析其成瘤过程为后续蛋白组学检测奠定瘤模基础,本实验再次分不同阶段观察及确认 BC 的病理学特征及改变和差异。按照 6 个不同时间点取材并分析,我们得到了以上不同时间大鼠膀胱肿瘤的病理结果。经过对肿瘤形成过程的探索实验研究,我们再次明确了 BC 的发生及发展情况,肿瘤可在第 4 周产生,在第 8~9 周后形成明显肿瘤,且肿瘤产生情况可观、可靠,这为我们后续进行蛋白组学检测及分析奠定良好的基础及提供了可靠依据。

血尿是膀胱癌重要且主要的临床症状之一,MNU 膀胱原位癌造模过程漫长且容易失败,主要原因是在造模过程中由于外部刺激及药物干预过程中的各种因素导致大鼠死亡率颇高,往往出现模型还未成功,实验大鼠已经所剩无几,因此本实验在经过多次尝试及文献查阅的基础上对造模方式进行了总结并加以改良,形成了一套相对完整且便捷、死亡率低的造模手术手法。通过本实验研究及技术改进,我们找到了一种更适合的插管给药造模手法,这种手法可以降低因经尿道插管不当导致的大鼠不适及其引起的提前死亡现象,这为后续膀胱灌注给药干预实验提供了先期的技术保障,也为膀胱癌治疗相关基础研究方面提供可靠依据。

参考文献:

- [1] 孟庭瑞,杨明莹,刘玉芹,等. 国外膀胱癌患者报告结局的研究进展[J]. 护士进修杂志, 2022, 37(12): 1094-1099.
- [2] 吴金生,王清明,郑传秋,等. 姜黄素对 N-甲基亚硝基脲诱发膀胱癌大鼠化学干预作用及机制分析[J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(5): 567-571.
- [3] Cheung G, Sahai A, Billia M, et al. Recent advances in the diagnosis and treatment of bladder cancer [J]. BMC Med, 2013, 11: 13.
- [4] 胡锦丹,王宇. 中医药治疗膀胱癌临床研究进展及机制概述

[J]. 中医药学报, 2022, 50(1): 91-95.

[5] 吴玥, 王珏, 冯婷婷, 等. 基于动物模型的药物筛选数据库的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(6): 778-786.

[6] Bitaraf M, Muhammadnejad S, Azimzadeh A, et al. Evaluation of direct intramural injection to the bladder wall as a method for developing orthotopic tumor models [J]. *Animal Model Exp Med*, 2022, 5(6): 575-581.

[7] Hicks RM. Carcinogenesis in the urinary bladder in schistosomiasis[J]. *Emirates Med J*, 1980,1:267-271.

[8] 唐茂盛. MNU 灌肠诱导大鼠结肠癌模型的构建及 RNAi 干扰 CD133 基因对结肠癌的影响研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2010.

[9] 唐小莹, 潘春武, 孙俊, 等. 大鼠原位膀胱癌模型的建立与 CT 诊断价值 [J]. 中国实验动物学报, 2010, 18(1): 6-8, 彩 2.

[10] 吴志平, 石家齐, 由慧娟, 等. N-甲基亚硝基脲诱导大鼠膀胱肿瘤动物模型的实验研究 [J]. 贵州医药, 2012, 36(3): 205-208.

[11] 张祥, 许天源, 夏磊磊, 等. 原位膀胱癌大鼠建模方法比较及超声鉴定方法 [J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2015, 7(2): 99-103.

[12] 王杰, 商建伟, 李诗梦, 等. 王沛论治膀胱癌经验 [J]. 中医杂志, 2022, 63(12): 1118-1121.

[13] 蓝芳, 刘少会, 谢永祥, 等. 尿血清 1 号对湿热型肾性血尿大鼠氧化应激的影响 [J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2020, 21(1): 17-20.

[14] 何改丽, 翟文生, 倪锦玉, 等. 血尿的三维辨治 [J]. 时珍国医国药, 2019, 30(8): 封 3-封 4.

[15] 马筱璠, 吴竞, 陈扬荣. 陈扬荣教授从热虚瘀论治肾性血尿经验 [J]. 云南中医中药杂志, 2020, 41(3): 1-3.

[16] 李红, 贺娟, 刘丽霞, 等. 高继宁教授论治健脾补肾法与慢性肾脏病 [J]. 光明中医, 2015, 30(1): 149-150.

[17] 李朝玲, 李锋. 肾性血尿的中医研究进展 [J]. 临床合理用药杂志, 2016, 9(12): 176-178.

[18] 刘奇峰. 清肾止血汤对慢性肾炎血尿(下焦湿热型)的临床研究 [D]. 长春: 长春中医药大学, 2013.

[19] 崔鑫, 吕健, 邓跃毅, 等. 三金片治疗下焦湿热证急性单纯性下尿路感染的随机对照双盲多中心临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(5): 2681-2686.

[20] 钱立新, 刘训良, 丁鸿, 等. N-甲基亚硝基脲诱导大鼠膀胱肿瘤作用的动态观察 [J]. 中华实验外科杂志, 2004, 21(5): 563-564.

[21] Hicks RM, Wakefield JS. Rapid induction of bladder cancer in rats with N-methyl-N-nitrosourea I. *Histology* [J]. *Chem Biol Interact*, 1972, 5(2): 139-152.

[收稿日期] 2023-07-22

(上接第 13 页)

[11] 王居平, 赵静, 周青宏, 等. 下调肿瘤源性免疫球蛋白 G 表达对胃癌细胞增殖的影响及其机制研究 [J]. 右江民族医学院学报, 2021, 43(1): 1-5, 16.

[12] Chu J, Li Y, Deng Z, et al. IGHG1 regulates prostate cancer growth via the MEK/ERK/c-myc pathway [J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 7201562.

[13] Qian J, Ji F, Ye X, et al. IGHG1 promotes motility likely through epithelial-mesenchymal transition in ovarian cancer [J]. *Chin J Cancer Res*, 2018, 30(2): 282-290.

[14] 彭国茹, 张云, 王宋平. 大蒜素抑制 TGF- β 1/SMAD2 通路减轻哮喘小鼠气道炎症并调节气道重塑 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2021, 37(5): 385-390.

[15] Yoshida K, Matsuzaki K, Murata M, et al. Clinico-pathological importance of TGF- β /phospho-smad signaling during human hepatic fibrocarcinogenesis [J]. *Cancers (Basel)*, 2018, 10(6): 183.

[16] Dong H, Diao H, Zhao Y, et al. Overexpression of matrix metalloproteinase-9 in breast cancer cell lines remarkably increases the cell malignancy largely via activation of transforming growth factor beta/SMAD signalling [J]. *Cell Prolif*, 2019, 52(5): e12633.

[17] Xiong R, Gao J, Yin T. G3BP1 activates the TGF- β /Smad signaling pathway to promote gastric cancer [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 7149-7156.

[18] Zhao H, Gao Y, Chen Q, et al. RAD51AP1 promotes progression of ovarian cancer via TGF- β /Smad signalling pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(4): 1927-1938.

[19] 刘波, 温陈, 李龙. TGF- β 通过激活 smad 通路促进肝细胞癌 Huh7 细胞增殖的机制研究 [J]. 现代医学, 2019, 47(11): 1403-1406.

[20] Raz S, Stark M, Assaraf YG. Binding of a Smad4/Ets-1 complex to a novel intragenic regulatory element in exon12 of FPGS underlies decreased gene expression and antifolate resistance in leukemia [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(19): 9183-9198.

[收稿日期] 2023-02-03