

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2020.01.04

❖ 论著 ❖

# 干扰 NOS1 表达对增强宫颈癌干细胞化疗敏感性的研究

师萍萍<sup>1</sup>, 曹馨<sup>2</sup>, 李丽丽<sup>1</sup>

(1. 渭南市中心医院妇科, 陕西 渭南 714000; 2. 西电集团医院妇产科, 陕西 西安 710077)

**【摘要】目的:** 探讨干扰 NOS1 表达对宫颈癌干细胞顺铂治疗敏感性的影响。**方法:** 收集 CASKI 肿瘤干细胞与非干细胞, 分为干细胞组 (R 组) 与非干细胞组 (S 组), 检测 NOS1 在两组干细胞之间的表达差异; 收集干扰 NOS1 表达的 CASKI 干细胞 (si-NOS1 组) 及转染 siRNA 对照序列的 CASKI 干细胞 (si-NC 组), 使用 MTT 法检测两组干细胞对顺铂的敏感性差异; 收集对数生长期的 CASKI 干细胞, 使用顺铂、NOS 特异性抑制剂以及 NO 供体分别进行处理, 分为对照组、顺铂组、NOS1 抑制剂组、NO 供体组, 使用流式细胞仪检测各组干细胞凋亡率以及细胞死亡率。**结果:** NOS1 在宫颈癌 CASKI 干细胞中的表达水平高于非干细胞组 ( $t = 1.172, P = 0.024$ ); 顺铂作用 48 h 后, si-NC 组干细胞的半数抑制率 ( $17.109 \pm 1.127$ ) 与 si-NOS1 组干细胞 ( $14.420 \pm 0.255$ ) 比较, 差异有统计学意义 ( $t = 4.03, P < 0.05$ ); 对照组、顺铂组、NOS1 抑制剂组、NO 供体组之间的细胞凋亡率比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 20.054, P < 0.01$ ), 且两两比较显示, DDP + NOS1 抑制剂组 > 顺铂组 > NO 供体组 + DDP > 对照组; 对照组、顺铂组、NOS1 抑制剂组、NO 供体组之间的细胞非凋亡性死亡率比较, 差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 17.657, P < 0.01$ ), 且两两比较显示, DDP + NOS1 抑制剂组 > 顺铂组 > NO 供体组 + DDP > 对照组。**结论:** 干扰 NOS1 的表达可增加宫颈癌干细胞对顺铂的敏感性。

**【关键词】** 一氧化氮合成酶 1; 宫颈癌干细胞; 化疗敏感性

**【中图分类号】** R737.3 **【文献标志码】** A

## Study on enhancing the sensitivity of cervical cancer stem cells to chemotherapy by interfering NOS1 expression

SHI Ping-ping<sup>1</sup>, CAO Xin<sup>2</sup>, LI Li-li<sup>1</sup>

(1. Department of Gynecology, Weinan Central Hospital, Weinan 714000; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, XI'AN XD Group Hospital, Xi'an 710077, Shaanxi, China)

**【Abstract】Objective:** To investigate the sensitivity of interfering NOS1 expression to cisplatin treatment of cervical cancer stem cells. **Methods:** CASKI cancer stem cells and CASKI cancer non-stem cells were collected, divided into stem cell group (R group) and non-stem cell group (S group) and detected the expression of NOS1 in the two groups by western blot method. CASKI stem cells interfered with NOS1 expression (si-NOS1 group) and CASKI stem cells transfected with siRNA control sequence (si-NC group) were collected, and the sensitivity to cisplatin of the two groups were detected by MTT method. CASKI stem cells at logarithmic growth stage were collected and interfered with cisplatin, nos-specific inhibitor and NO donor respectively and divided into the control group, the cisplatin group, the NOS1 inhibitor group and the NO donor group. The apoptosis rate and cell death rate of stem cells in each group were detected by flow cytometry. **Results:** The expression level of NOS1 in CASKI stem cells of cervical cancer was higher than that of non-stem cells ( $t = 1.172, P = 0.024$ ). After 48 hours of cisplatin interfering, the inhibition rate ( $17.109 \pm 1.127$ ) of the si-NC group was higher than that in the si-NOS1 group ( $14.420 \pm 0.255$ ), the difference was statistically significant ( $t = 4.03, P < 0.05$ ). Significant difference was found in apoptosis rate among the control group, the cisplatin group, the NOS1 inhibitor group, and the NO donor group ( $\chi^2 = 20.054, P < 0.01$ ), and the pairwise comparison showed that the apoptosis rate of the DDP + NOS1 inhibitor group was the highest, followed by the cisplatin group, then the NO donor + DDP group, and the control group. Significant difference was found in the non-apoptotic mortality of the control group, cisplatin group, NOS1 inhibitor group and NO donor group ( $\chi^2 = 17.657, P < 0.01$ ), and the pairwise comparison showed that the non-apoptotic mortality of the DDP + NOS1 inhibitor group was the highest, followed by the cisplatin group, then the NO donor + DDP group, and the control group. **Conclusion:** Interfering with the expression of NOS1 can increase the sensitivity of cervical cancer stem cells to cisplatin.

基金项目: 陕西省科技攻关资助项目 (2015SF058)

作者简介: 师萍萍 (1976 -), 女, 副主任医师。E-mail: shipp\_1976@163.com

通讯作者: 曹馨。E-mail: gu\_zhi@163.com

【Key words】 NOS1; Cervical cancer stem cells; Chemosensitivity

肿瘤干细胞是一类具有自我更新能力并能产生异质性肿瘤细胞的细胞,许多研究发现,宫颈癌干细胞具有很强的自我更新、增殖与体内成瘤能力<sup>[1]</sup>, CD133<sup>+</sup>是目前常用的宫颈癌干细胞流式分选的分子标记物,与宫颈癌的发生发展有密切关系<sup>[2]</sup>。顺铂(DDP)是目前广泛应用于癌症治疗的化疗药物。有研究<sup>[3]</sup>指出,宫颈癌干细胞对化疗药物具有原发耐药性,其作用机制可能与一氧化氮合成酶(NOS)表达异常有关。人体内有3种NOS,NOS1在受到外部刺激后,分泌较低浓度的NO,促进肿瘤细胞的生长与增殖,保护肿瘤细胞,导致肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性<sup>[4]</sup>。有研究<sup>[5]</sup>显示,在宫颈癌患者体内,NOS1表达异常,产生NO以提高超氧化物歧化酶(SOD)的活性,增强宫颈癌干细胞对化学治疗后局部组织缺氧的耐受力,抑制肿瘤干细胞凋亡,导致耐药性的发生。干扰NOS1的表达可以有效抑制宫颈癌细胞的增殖、转移,促进宫颈癌细胞的凋亡<sup>[6]</sup>。本研究通过探讨干扰NOS1的表达对宫颈癌干细胞化疗敏感性的影响,以期对宫颈癌的转移、复发以及化疗药物耐药提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

人宫颈癌细胞CASKI细胞购自中国科学院上海生命科学院生化细胞所;人工合成siRNA片段购自上海吉凯基因化学技术有限公司;稀释剂opti-MEM及转染试剂Lipofectamine 2000购自美国Thermo;NOS1特异性抑制剂N-PLA购自美国Abcam公司;GAPDH一抗、CD133<sup>+</sup>-FITC荧光抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司;BSA、PVDF膜、ECL化学发光试剂盒购自美国Millipore公司;蛋白浓度测定试剂盒、总蛋白质提取试剂盒、细胞凋亡检测试剂盒、SDS、APS、TEMED等其他试剂均购自国内。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 CASKI肿瘤细胞的培养及干细胞的分选

将CASKI细胞接种于RPMI-1640培养基,并置于37℃、饱和湿度、5%CO<sub>2</sub>的孵育箱(购自美国Thermo)内进行孵育,细胞贴壁后,加入CD133<sup>+</sup>抗体,在暗处孵育20min,用FACSAria流式细胞仪(购自美国BD公司)分选干细胞。CD133<sup>+</sup>表达呈阳性者为CASKI肿瘤干细胞,CD133<sup>+</sup>表达呈阴性者为CASKI非干细胞,细胞分选后使用流式细胞术进行鉴定。

1.2.2 NOS1在宫颈癌CASKI干细胞以及非干细胞中表达的检测 收集CASKI肿瘤干细胞与非干细胞,分为干细胞组(R组)与非干细胞组(S组),

使用siRNA技术瞬时转染细胞,提取细胞总蛋白,制备10%分离胶与5%浓缩胶,使用loading buffer使蛋白样品变形,上样,进行蛋白电泳;按照ECL说明书进行蛋白质显影(注意不要干膜),使用BioRad软件检测蛋白条带的灰度值,检测NOS1在宫颈癌CASKI干细胞以及非干细胞的表达差异。

#### 1.2.3 干扰NOS1表达的宫颈癌CASKI干细胞对顺铂的敏感性检测

(1)将宫颈癌CASKI干细胞接种到细胞培养板中,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>孵育箱内培养12h后,采用siRNA技术构建干扰NOS1表达水平的宫颈癌干细胞模型。将CASKI干细胞以50%~60%密度接种到细胞培养板中,细胞贴壁生长后进行siRNA转染,将人工合成siRNA片段用无血清的opti-MEM稀释,转染试剂为Lipofectamine 2000,将siRNA稀释剂与Lipofectamine 2000稀释剂混合,将混合物加入到培养的CASKI干细胞,于37℃、饱和湿度、5%CO<sub>2</sub>的孵育箱内培养4~6h,定期更换细胞培养基。转染后48h,弃去培养基,使用PBS漂洗,提取细胞总蛋白,使用BCA蛋白质浓度测定试剂盒测定细胞总蛋白浓度,应按照BCA法说明书进行相关操作。按照SDS-PAGE操作方法进行蛋白质电泳,比较目的蛋白的表达强弱。(2)收集干扰NOS1表达的CASKI干细胞(si-NOS1组)以及转染siRNA对照序列的CASKI干细胞(si-NC组),用DMEM培养基重悬细胞成 $5 \times 10^4$ /mL,放置在37℃、5%CO<sub>2</sub>孵育箱内培养,并定期更换培养液。培养12h后,细胞贴壁,并向培养基中加入顺铂(终浓度为:1μM、2μM、4μM、8μM、16μM、32μM),顺铂储备液使用DMEM培养基进行倍比稀释,每个浓度梯度设置3个复孔,每个复孔中加入液体量为100μL,对照组加入等体积不含顺铂的细胞培养基。放置在37℃、5%CO<sub>2</sub>孵育箱内培养48h,之后每个复孔中加入20μL的MTT检测液,继续培养4h后,每个复孔中再加入150μLDMSO,低速振荡10min。使用酶标仪,检测490nm波长下各个复孔的吸光度(OD值)值,计算两组细胞的半数抑制率(IC50)。

#### 1.2.4 NOS1促进顺铂诱导的宫颈癌干细胞的细胞凋亡以及细胞死亡检测

收集对数生长期的CASKI干细胞,用DMEM培养基培养,放置在37℃、5%CO<sub>2</sub>孵育箱内培养,并定期更换培养液,在倒置显微镜下观察,细胞贴壁后,更换培养液,并向培养基中加入顺铂(终浓度为2μM),继续培养48h,消化、收集细胞,使用灭菌PBS溶液重悬细胞,分为顺铂组。同时对CASKI干细胞再按照上述方

法培养,在加入顺铂预处理 24 h 后,分别在培养基中分别加入 NOS1 特异性抑制剂 N-PLA(最终浓度为 100  $\mu\text{M}$ )及 NO 供体 DETANONOate(最终浓度为 20  $\mu\text{M}$ ),继续培养 24 h 后,消化、收集细胞,使用灭菌 PBS 溶液重悬细胞,分为 NOS1 抑制剂组、NO 供体组。使用预先冷却的 PBS 洗涤细胞,用 Binding Buffer 重悬细胞,去细胞悬液,在灭菌 EP 管中进行荧光染色操作,在细胞悬液中加入 FITC Annexin V 和 PI,轻柔混匀,室温下避光孵育 15 min,再加入 Binding Buffer,1 h 内在流式细胞仪上进行检测。应按照流式细胞仪说明书进行操作,重复测量 3 次,取平均值。凋亡细胞对 PI 有拒染性,坏死细胞对 PI 没有拒染性,细胞凋亡早期不被 PI 染色,且没有红色荧光信号。在流式细胞仪的散点图上,活细胞 PI 染色结果在左下象限显示,为 (FITC-/PI-);坏死细胞 PI 染色结果在右上象限显示,为 (FITC+/PI+);凋亡细胞 PI 染色结果在右下象限显示,为 (FITC+/PI-)。

### 1.3 统计学分析

采用 SPSS 18.0 统计学软件对数据进行处理。计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,采用析因设计方差分析与两独立样本  $t$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 NOS1 在宫颈癌 CASKI 干细胞以及非干细胞的表达差异

统计学分析结果显示,NOS1 在宫颈癌 CASKI 干细胞 (R 组) 中的表达水平高于非干细胞组 (S 组) ( $t = 1.172, P = 0.024$ )。见图 1。

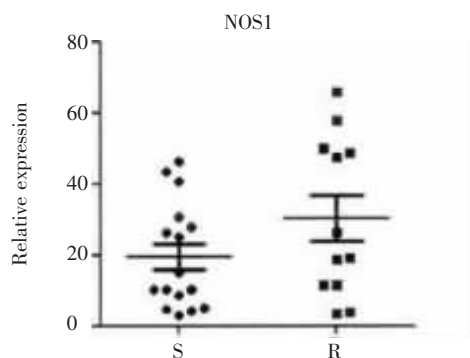


图 1 NOS1 在宫颈癌 CASKI 干细胞以及非干细胞的表达差异

### 2.2 干扰 NOS1 表达影响宫颈癌干细胞 CASKI 对顺铂的敏感性

Western Blot 检测两组细胞中 NOS1 的表达结果显示,与 si-NC 组相比,si-NOS1 组干细胞中 NOS1 蛋白表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。顺铂作用 48 h

后,si-NC 组干细胞的 IC50 ( $17.109 \pm 1.127$ ) 与 si-NOS1 组干细胞 ( $14.420 \pm 0.255$ ) 比较,差异有统计学意义 ( $t = 4.03, P < 0.05$ ),表明在宫颈癌干细胞 CASKI 中干扰 NOS1 表达后,其对顺铂的敏感性增加。见图 2、表 1。

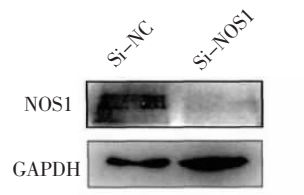


图 2 干扰 NOS1 表达的宫颈癌干细胞及其对照细胞中 NOS1 的蛋白表达情况

表 1 干扰 NOS1 的宫颈癌干细胞以及对照干细胞对顺铂的化疗敏感性 ( $\bar{x} \pm s$ )

顺铂 ( $\mu\text{L}$ )	OD 值		$t$ 值	$P$ 值
	si-NC 组	si-NOS1 组		
1	$0.941 \pm 0.051$	$1.012 \pm 0.023$	-2.198	0.079
2	$0.932 \pm 0.027$	$0.952 \pm 0.034$	-0.798	0.461
4	$0.827 \pm 0.015$	$0.942 \pm 0.048$	-3.961	0.011
8	$0.648 \pm 0.013$	$0.516 \pm 0.034$	6.281	0.002
16	$0.519 \pm 0.021$	$0.433 \pm 0.021$	5.061	0.044
32	$0.348 \pm 0.030$	$0.264 \pm 0.037$	3.054	0.028
IC50	$17.109 \pm 1.127$	$14.420 \pm 0.255$	4.031	0.010

### 2.3 NOS1 促进顺铂诱导的宫颈癌干细胞的细胞凋亡

对照组、顺铂组、NOS1 抑制剂组、NO 供体组的宫颈癌干细胞 CASKI 之间的细胞凋亡率不同,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 20.054, P < 0.01$ )。表明 NOS1 抑制剂、NO 供体联用顺铂可影响宫颈癌干细胞的凋亡率,根据平均秩次结果,DDP + NOS1 抑制剂组 > 顺铂组 > NO 供体组 + DDP > 对照组。见表 2。

表 2 NOS1 抑制剂及 NO 供体联合顺铂处理 CASKI 干细胞后细胞凋亡率 ( $\bar{x} \pm s$ )

分组	细胞凋亡率 (%)	平均秩次	$\chi^2$ 值	$P$ 值
对照组 ( $n = 5$ )	$2.17 \pm 0.21$	5		
DDP 组 (顺铂组) ( $n = 5$ )	$3.42 \pm 0.49$	21.5		
NOS1 抑制剂组 + DDP ( $n = 5$ )	$4.97 \pm 1.04$	25.9		
NO 供体组 + DDP ( $n = 5$ )	$3.14 \pm 0.54$	17.4	20.054	0.001

### 2.4 NOS1 促进顺铂诱导的宫颈癌干细胞的非凋亡性死亡

对照组、顺铂组、NOS1 抑制剂组、NO 供体组的宫颈癌干细胞 CASKI 之间的细胞非凋亡性死亡率不同,差异有统计学意义 ( $\chi^2 = 20.054, P < 0.01$ ),

表明 NOS1 抑制剂、NO 供体联用顺铂影响宫颈癌干细胞的非凋亡性死亡,根据平均秩次结果,DDP + NOS1 抑制剂组 > 顺铂组 > NO 供体组 + DDP > 对照组。见表 3。

表 3 NOS1 抑制剂及 NO 供体联合顺铂处理 CASKI 干细胞后细胞死亡率( $\bar{x} \pm s$ )

分组	非凋亡细胞死亡率(%)	平均秩次	$\chi^2$ 值	P 值
对照组(n=5)	1.79 ± 0.34	8.7		
DDP 组(顺铂组)(n=5)	2.58 ± 0.72	19.7		
NOS1 抑制剂组 + DDP(n=5)	3.98 ± 0.95	26.4		
NO 供体组 + DDP(n=5)	2.04 ± 0.31	11.8	17.054	0.001

### 3 讨论

目前,宫颈癌是最常见的女性生殖系统的恶性肿瘤,严重威胁女性的生命安全。传统的放化疗治疗可以提高宫颈癌患者的生存率,改善患者的预后,但是宫颈癌的复发、转移以及治疗耐药性仍然无法控制<sup>[7]</sup>。DDP 具有广谱抗癌作用,作用机制为抑制癌症细胞的 DNA 复制,破坏肿瘤细胞膜的结构,可广泛用于宫颈癌的治疗<sup>[8]</sup>。但是在化疗后期,宫颈癌干细胞对顺铂产生的耐药性限制了该药的临床应用<sup>[9]</sup>。宫颈癌干细胞具有广泛的增殖能力,影响着宫颈癌的发生、发展、增殖与侵袭<sup>[10]</sup>。CD133<sup>+</sup> 是宫颈癌干细胞表面的特异性分子标记物<sup>[11]</sup>,本研究采用 CD133<sup>+</sup> 流式分选技术分选 CD133<sup>+</sup> 表达呈阳性的细胞为宫颈癌干细胞。

有研究<sup>[12]</sup>指出,NOS 参与了肿瘤细胞的发生与发展,在多种肿瘤细胞中表达上调,且高于正常组织。人体内 NOS 具有 NOS1、NOS2、NOS3 三种亚型,在正常组织内,NOS 不表达,但是在子宫颈癌、卵巢癌等肿瘤组织中,受到肿瘤坏死因子- $\beta$  等因子的刺激,NOS 的表达异常,NOS 的表达水平以及 NO 的浓度高低影响肿瘤疾病的化疗耐药<sup>[13]</sup>。有研究<sup>[14]</sup>表明,NOS1 可能参与了宫颈癌细胞的发生发展过程。在正常生理条件下,NOS1 不表达,但机体细胞受到肿瘤坏死因子- $\beta$  等因子的刺激,催化机体产生低浓度 NO,NO 是一种活泼自由基,可以提高抗氧化作用相关的转录因子的活性,增强抗氧化物质 SOD 等的活性,增强宫颈癌干细胞对化学治疗后局部组织缺氧的耐受力,促进肿瘤干细胞的生成,抑制肿瘤干细胞凋亡,导致耐药性的发生<sup>[15]</sup>。有研究<sup>[16]</sup>显示,对顺铂产生耐药性的肿瘤干细胞中表现出高表达水平的 NOS1,由此可以得出,NOS1 可以促进宫颈癌的顺铂耐药。本次研究结果也显示,NOS1 在宫颈癌干细胞的表达高于非干细胞,与既

往研究结论相符。

N-PLA 是 NOS1 的特异性抑制剂<sup>[17]</sup>,本次研究结果显示,顺铂作用 48 h 后,对照组干细胞的 IC50 (17.109 ± 1.127) 与加入 N-PLA 干扰 NOS1 表达干细胞(14.420 ± 0.255) 比较,差异有统计学意义( $t = 4.03, P < 0.05$ ),表明在宫颈癌细胞 CASKI 中干扰 NOS1 表达后,其对顺铂的敏感性增加。NO 是生物体内具有多种生理功能的信息分子,会参与抑制神经信号传导、血小板黏附聚集,调节血管扩张的过程,同时也参与肿瘤在内的病理过程,对肿瘤的发生、发展起到重要调节作用<sup>[18]</sup>。NOS1 促进顺铂诱导的宫颈癌细胞的细胞凋亡率检测结果显示,对照组、顺铂组、NOS1 抑制剂组、NO 供体组的宫颈癌干细胞 CASKI 之间的细胞凋亡率不同,表明 NOS1 抑制剂、NO 供体联用顺铂影响宫颈癌干细胞的凋亡率,根据平均秩次结果,DDP + NOS1 抑制剂组 > 顺铂组 > NO 供体组 + DDP > 对照组,表明 NOS1 抑制剂、NO 供体联用顺铂影响宫颈癌细胞的凋亡率。NOS1 促进顺铂诱导的宫颈癌细胞的非凋亡性死亡率检测结果显示,对照组、顺铂组、NOS1 抑制剂组、NO 供体组的宫颈癌干细胞 CASKI 之间的细胞非凋亡性死亡率不同,表明 NOS1 抑制剂、NO 供体联用顺铂影响宫颈癌细胞的非凋亡性死亡,根据平均秩次结果,DDP + NOS1 抑制剂组 > 顺铂组 > NO 供体组 + DDP > 对照组,表明 NOS1 抑制剂、NO 供体联用顺铂影响宫颈癌细胞的非凋亡性死亡。以上结果表明,NOS1 抑制剂联用顺铂增加了宫颈癌细胞的细胞凋亡率与非凋亡性死亡比例,NOS1 抑制剂促进了顺铂对宫颈癌细胞的杀伤作用,抑制 NOS1 功能增加了宫颈癌的顺铂敏感性,主要是由于 N-PLA 会抑制 NOS1 的表达,降低了 NOS1 水平,从而增加了宫颈癌干细胞 CASKI 对顺铂的敏感性;而 NO 供体降低顺铂对宫颈癌干细胞 CASKI 的敏感性可能是由于内源性的 NO 是由 NOS 以 L-精氨酸为底物生成的,而适量的 NO 会促进肿瘤血管生成,改善肿瘤组织血流,从而促进肿瘤的生长,从而在加入 NO 供体时,会降低顺铂对宫颈癌干细胞 CASKI 的敏感性。也有研究显示<sup>[19-20]</sup>,NO 高浓度表达时对肿瘤细胞有一定的凋亡诱导作用,与本文结果不一,因此 NO 对肿瘤作用的两面性有待进一步深入研究分析。同时,NOS1 对凋亡和死亡的影响作用机制是否一致,本研究未得到详细阐明,亟需进一步研究证实。

综上所述,干扰 NOS1 的表达增加了宫颈癌干细胞对顺铂的敏感性,NOS1 可以作为肿瘤治疗的一个有效靶点,进而更加有效地改善宫颈癌患者的

不良预后。抑制 NOS1 的功能凋亡和死亡的影响作用机制是否一致,亟需进一步研究证实。

#### 参考文献

- [1] 罗美. 宫颈癌治疗研究进展[D]. 南昌:南昌大学,2017.
- [2] 秦梦遥. 中晚期宫颈癌顺铂同步放化疗与单纯放疗治疗疗效比较[J]. 航空航天医学杂志,2018,29(9):66-67.
- [3] 刘红. 宫颈癌干细胞的分选及放疗抵抗机制的研究[D]. 石家庄:河北医科大学,2016.
- [4] 陈晓菲,戴妹艳. 宫颈癌血清 NO、Gal-9 的表达及其与细胞凋亡的相关性[J]. 现代肿瘤医学,2018,26(3):430-436.
- [5] 靳荣,李红芳. 泛素水解酶 22siRNA 对宫颈癌 CD133<sup>+</sup> 宫颈癌干细胞增殖和侵袭的影响[J]. 中山大学学报(医学科学版),2016,37(1):48-53.
- [6] Watanabe H, Okada M, Kaji Y, *et al.* New response evaluation criteria in solid tumours; Revised RECIST guideline (version 1.1) [J]. *Gan To Kaquku Ryoho*,2009,36(13):2495-2501.
- [7] 董晶. RNA 干扰技术沉默 iNOS 基因对宫颈癌细胞株增殖活性及 VEGF 表达的影响[D]. 上海:复旦大学,2012.
- [8] 凌芳,沈慧玲. miR-23b 转染宫颈癌干细胞顺铂化疗敏感性变化及其机制[J]. 山东医药,2018,58(47):6-10.
- [9] 孔祥玲,吴维光,余野,等. RNA 干扰 HDAC1 提高人宫颈癌 HeLa 细胞化疗敏感性研究[J]. 临床误诊误治,2015,28(1):108-112.
- [10] 林海珊,欧敏. 诱导型一氧化氮合成酶及其相关分子的研究进展[J]. 现代医学,2015,43(5):644-647.
- [11] 钟灼. 一氧化氮合酶(NOS)在结肠癌中表达研究及相关功能分析[D]. 广州:南方医科大学,2015.
- [12] 王莉,李雅丽,吴静. 诱导型一氧化氮合酶在宫颈癌组织表达及意义[J]. 医药论坛杂志,2011,32(21):61-63.
- [13] 叶君,成雁,陈亚萍. iNOS 抑制剂 1400W 通过 p53 途径增强顺铂对宫颈癌 SiHa 细胞的化疗效果[J]. 中国细胞生物学学报,2015,37(4):522-528.
- [14] 贺龙凤. 高危型 HPV 感染的宫颈病变组织中 HIF-1 $\alpha$ 、iNOS 的表达和相关性研究[D]. 天津:天津医科大学,2012.
- [15] 成雁. iNOS 抑制剂诱导宫颈癌和卵巢癌细胞凋亡及调节 p53 通路的相关研究[D]. 上海:复旦大学,2013.
- [16] 房姝妍,张青,张瑞萍,等. 内源性 NO 在人宫颈癌 HeLa 细胞株合成对顺铂敏感性的影响[J]. 中外医疗,2012,4(27):20-22+24.
- [17] 魏雪敏,汪清,高蜀君,等. 一氧化氮与 HPV 感染的关系及其对子宫颈癌细胞增殖与凋亡的影响[J]. 中华妇产科杂志,2011,46(4):260-265.
- [18] 李园园,徐文清. 诱导型一氧化氮合酶抑制剂的研究进展[J]. 中国药物化学杂志,2017,22(6):477-489.
- [19] Jadeski LC, Hum KO, Chakraborty C, *et al.* Nitric oxide promotes murine mammary tumour growth and metastasis by stimulating tumour cell migration, invasiveness and angiogenesis [J]. *Int J Cancer*,2000,86(1):30-39.
- [20] 宾雨飞,廖端芳. 一氧化氮供体型药物抗肿瘤作用的研究进展[J]. 湖南中医药大学学报,2019,39(5):663-669.

(收稿日期:2019-08-23)

学术编辑:谯伦华)