

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.04.002

PARG 基因沉默对肿瘤局部 B220⁺ DEC205⁺ DC 的影响

王洁琼, 王娅兰, 杨 怡, 盛永涛

(重庆医科大学基础医学院病理学教研室、分子医学与肿瘤研究中心, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨聚(腺苷二磷酸核糖)水解酶 [Poly (ADP-ribose) glycohydrolase, PARG] 基因沉默对肿瘤局部 B220⁺ DEC205⁺ DC 增殖分化的影响及其在大肠癌转移中的作用。**方法:**以 PARG-shRNA 慢病毒载体转染 CT26 细胞为实验组,未转染 CT26 细胞和空载体 CT26 细胞为对照组,分别在小鼠脾包膜下接种形成肝转移模型;Western blot 法检测脾脏移植瘤中 PARG、PARP、NF-κB 蛋白的表达;免疫荧光双标法检测脾脏中 B220⁺ DEC205⁺ DC 的表达;ELISA 法检测各组小鼠血清中 IL-10、TGF-β 的表达。**结果:**PARG 基因沉默后,脾脏移植瘤体积缩小,肝脏转移癌结节数目减少,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) ;脾脏移植瘤中 PARG、PARP、NF-κB 蛋白的表达量明显较对照组降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) ;脾脏组织中的 B220⁺ DEC205⁺ DC 较对照组明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) ;血清中 IL-10、TGF-β 的表达较对照组显著降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$) 。**结论:**PARG 基因沉默可抑制小鼠结肠癌 CT26 细胞肝转移,可能与 PARG 沉默后下调 PARP,并下调 NF-κB 的活性,从而影响 NF-κB 依赖性因子 IL-10、TGF-β 的表达,进而影响 B220⁺ DEC205⁺ DC 的增殖分化有关。

【关键词】聚(腺苷二磷酸核糖)水解酶; B220⁺ DEC205⁺ DC; 大肠癌; 免疫机能

【中国图书分类法分类号】R735.3⁴

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-09-26

Effect of silencing PARG on proliferation and differentiation of local B220⁺ DEC205⁺ DC

WANG Jieqiong, WANG Yalan, YANG Yi, SHENG Yongtao

(Department of Pathology, College of Basic Medicine, Molecular Medicine and Cancer Research Center, Chongqing Medical University)

【Abstract】**Objective:** To investigate the effect of silencing PARG on the proliferation and differentiation of tumor local B220⁺ DEC205⁺ DC and its role in colon carcinoma metastasis. **Methods:** Experiment group was established by transfecting lentivirus Poly (ADP-ribose) glycohydrolase-short hairpin RNA (PARG-shRNA) into mouse colon carcinoma CT26 cells and control group by enrolling CT26 cells without any treatment and CT26 cells with empty vector. Liver metastasis model of colon carcinoma was established by splenic subcapsular inoculation. The expressions of PARG, PARP and NF-κB proteins in splenic carcinoma were detected by Western blot and those of B220⁺ DEC205⁺ DC in the spleen by immunofluorescence double labeling assay. The levels of IL-10 and TGF-β in the serum were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** The size of splenic carcinoma and the number of metastatic liver nodules in experiment group were smaller and

作者介绍:王洁琼(1980-),女,硕士,

研究方向:大肠癌浸润转移机制。

通信作者:王娅兰,女,教授,Email:wangyanlan074@126.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:30870946)。

survival of neural progenitor cells by HDAC inhibitors in the hippocampus [J]. Mol Cells, 2011, 31(2):159-164.

[15] Chun H, Hao W, Honghai Z, et al. CCL3L1 prevents gp120-induced neuron death via the CREB cell signaling pathway [J]. Brain Res, 2009, 1257:75-88.

[16] Li N, Liu G T. The novel squamosamide derivative FLZ enhances BDNF/TrkB/CREB signaling and inhibits neuronal apoptosis in APP/PS1 mice [J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31(3):265-272.

[17] 何志慧,蒋莉,陈恒胜,等.离体培养大鼠海马脑片的形态学与细胞反应性研究[J].重庆医科大学学报,2008,33(5):513-516.

He Z H, Jiang L, Chen H S, et al. A study for morphology and the reactivity of rats hippocampal slice in vitro culture [J]. Journal of Chongqing Medical University, 2008, 33(5):513-516.

[18] Noer H, Kristensen B W, Noraberg J, et al. 3-Nitropropionic acid neurotoxicity in hippocampal slice cultures: developmental and regional vulnerability and dependency on glucose [J]. Exp Neurol, 2002, 176(1):237-246.

[19] Bonde C, Noraberg J, Noer H, et al. Ionotropic glutamate receptors and glutamate transporters are involved in necrotic neuronal cell death induced by oxygen-glucose deprivation of hippocampal slice cultures [J]. Neuroscience, 2005, 136(3):779-794.

[20] 杨锡强,易著文.儿科学[M].第6版.北京:人民卫生出版社,2004:446.

Yang X Q, Yi Z W. Paediatrics [M]. 6th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004:446.

(责任编辑:关蕴良)

lower than those in control group ($P < 0.05$). The expressions of PARG, PARP and NF- κ B in splenic carcinoma were reduced obviously in experiment group compared with those in control group ($P < 0.05$). The number of B220 $^{+}$ DEC205 $^{+}$ DC in the spleen was significantly fewer in experiment group than those in control group ($P < 0.05$) and the levels of IL-10 and TGF- β in the serum were significantly decreased in experiment group than those in control group ($P < 0.05$). Conclusion: These studies demonstrate that silencing PARG could suppress the metastasis of CT26 cells to the liver, which is possibly related with the processes of down-regulating of both PARP and NF- κ B as well as decreasing IL-10 and TGF- β and finally affecting the proliferation and differentiation of local B220 $^{+}$ DEC205 $^{+}$ DC.

【Key words】poly(ADP-ribose) glycohydrolase; B220 $^{+}$ DEC205 $^{+}$ DC; colon carcinoma; immune function

树突状细胞(Dendritic cell, DC)作为体内最重要的抗原呈递细胞,在机体的免疫机能方面发挥重要作用,主要包括髓样 DC 和浆样 DC, 髓样 DC 中的 CD11c $^{+}$ DC 主要促进 Th1 分化, 刺激 T 细胞免疫反应; 而浆样 DC 中的 CD123 $^{+}$ DC(在小鼠中为 B220 $^{+}$ DC)主要促进 Th2 或 T-reg 分化, 刺激免疫耐受^[1]。有文献报道^[2], 在大肠癌患者外周血中, DC 数量减少, 而有远处转移的病例, CD11c $^{+}$ DC 显著减少较 CD123 $^{+}$ DC 的减少更加明显。提示大肠癌肿瘤微环境中的 DC 与肿瘤免疫耐受可能有关。本文前期研究表明^[3], 小鼠肝脏内诱导出的 B220 $^{+}$ /DEC205 $^{+}$ DC 对结肠癌肝转移有促进作用。

聚(腺苷二磷酸核糖)水解酶 [Poly(ADP-ribose) glycohydrolase, PARG]、聚(腺苷酸二磷酸核糖)聚合酶 [Poly(ADP-ribose) polymerase, PARP] 与炎症、缺血再灌注损伤、肿瘤等多种疾病的发生发展都有着密切的关系。有文献报道, PARG 基因沉默可降低细胞增殖和增强细胞对毒性的敏感性, 从而抑制胚胎的发育^[4]。在小鼠肠炎模型中敲除 PARG 基因, 肠组织炎症过程受到明显的抑制^[5]。本文前期研究也发现, 在小鼠大肠癌模型中沉默 PARG 基因, 可降低大肠癌 Lovo 细胞的基质粘附、运动和侵袭能力^[6], 抑制 Lovo 细胞的生长^[7], 进而抑制肿瘤的侵袭转移能力。然而, PARG 能否通过对机体免疫机能的影响从而进一步影响肿瘤的侵袭转移能力, 目前尚未见报道。

本研究拟将慢病毒 PARG-shRNA 转染后筛选出的稳定的 PARG 基因沉默大肠癌 CT26 细胞株在小鼠体内成瘤, 观察移植瘤及远处转移瘤的生长情况, 研究 PARG 基因沉默对肿瘤局部 DC 增殖分化的影响和可能的机制, 初步探讨 PARG 在肿瘤侵袭转移过程中对机体免疫机能的影响, 为临床寻找抗大肠癌侵袭转移治疗新靶点提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物与主要试剂

18 只 SPF 级 BALB/C 小鼠, 雌性, 6~8 周龄, 体重 18~20 g, 由重庆医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号 SCXK(渝)20020001。小鼠结肠癌 CT26 细胞系由四川大学华西医院魏于全教授惠赠。EBM-2 培养基(lonza 公司)。抗 PARG 抗体和抗 DEC205 抗体(Abcam 公司)。抗 PARP 抗体和抗 NF- κ B 抗体(Santa Cruz 公司)。抗 B220 抗体, 荧光二抗 Streptavidin PE conjugated 和 IgG(H + L) FITC conjugated(Bioss 公司)。IL-10 及 TGF- β ELISA 试剂盒(R&D 公司)。细胞核及胞质蛋白裂解液(Beyotime 公司)。

1.2 常规培养各组细胞

由本室吴伟强等^[8]按照慢病毒转染试剂说明书(Sigma 公司)进行 PARG-shRNA 慢病毒载体转染结肠癌 CT26 细胞, 并筛选获得稳定的 PARG 基因沉默和空载体 CT26 细胞株。实验分 3 组: 未转染组、空载体组为对照组, PARG-shRNA 慢病毒转染组为实验组。各组 CT26 细胞常规培养备用。

1.3 小鼠结肠癌 CT26 细胞肝转移动物模型的建立

参照 Liu 等^[9]的方法, 将 18 只 BALB/C 小鼠随机分为 3 个组(未转染 CT26 细胞对照组, 空载体 CT26 细胞对照组和 PARG 基因沉默 CT26 细胞实验组), 分别在各组小鼠脾包膜下接种相应的 CT26 细胞(1×10^7 个/ml)的单细胞悬液 0.05 ml。14 d 后处死各组小鼠, 观察其脾脏肿瘤体积大小、数目和肝脏肿瘤转移结节数目、大小、有无融合等。取脾脏及肝脏组织, 液氮保存备用。取各组小鼠眼眶血, 低温离心后取上清, -80 °C 保存备用。按下列公式计算脾脏移植瘤的体积^[10](V): $V = 0.5 \times a \times b^2$, 其中 a 为肿瘤长径, b 为肿瘤短径, 若有多个肿瘤则计算体积的总和; 将肝脏表面转移瘤结节数量分为 4 个等级^[9], 0 级: 肝脏无癌转移结节; I 级: 1~5 个癌转移结节; II 级: 6~10 个癌转移结节; III 级: >10 个癌转移结节。

1.4 Western blot 检测 PARG、PARP 和 NF- κ B 蛋白表达

将保存于液氮中各组小鼠的脾脏肿瘤组织裂解、匀浆。按蛋白提取试剂盒说明提取总蛋白和核蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。聚丙烯酰胺凝胶(8%)垂直电泳, 将总蛋白(检测 PARG、PARP)和核蛋白(检测 NF- κ B)转移至聚偏氟

乙烯(Polyvinylidene fluoride, PVDF)膜上,用含 5% 脱脂牛奶的 TBST 溶液常温封闭,分别加入抗 PARG、PARP 和 NF- κ B 抗体一抗,4℃过夜,相应的辣根过氧化物酶标记的 IgG 二抗室温孵育 1 h,ECL 试剂盒化学发光显影。采用 Bio-Rad 凝胶成像仪拍摄凝胶图像,并用 Quantity One 软件进行相对定量分析。

1.5 免疫荧光双标法检测 B220⁺ DEC205⁺ DC

将保存于液氮中各组小鼠的脾脏组织分别进行连续冷冻切片,丙酮固定,参照路菊等^[11]方法,BSA 于 37℃孵育 30 min,抗小鼠 DEC205 生物素标记单克隆抗体(1:50,PBS 稀释)和抗小鼠 B220 多克隆抗体(1:100,PBS 稀释)作为第一抗体,4℃孵育过夜,相应的 PE 标记的抗生素 Streptavidin(1:50,PBS 稀释)和 FITC 标记的羊抗兔 IgG(1:100,PBS 稀释)作为第二抗体,37℃避光孵育 1 h,以 PBS 代替一抗作为阴性对照组,常规封片后激光共聚焦显微镜观察并照相。

1.6 ELISA 法检测各组小鼠血清中 IL-10、TGF- β 的表达

将保存于 -80℃ 各组小鼠的血清,按照 ELISA 法试剂盒说明书中的操作步骤,分别进行检测,测量 OD(450 nm)值(15 min 内),绘制标准曲线,计算直线回归方程式,根据样品的 OD 值计算出相应的样品的实际浓度(pg/ml,ng/ml)。

1.7 统计学分析

所有试验均重复 3 次,数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。用 Kruskal-Wallis 法和 Nemenyi 法结合分析肝脏转移瘤结节分级;LSD 法分析脾脏移植瘤体积及肝脏转移瘤结节数量以及 Western blot 相关数据;Dunnett's T3 法分析免疫荧光及 ELISA 结果,采用 SPSS19.0 统计分析软件,多组数据之间采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结 果

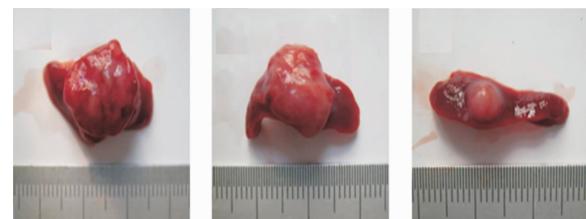
2.1 脾脏移植瘤结节体积及肝脏表面转移瘤结节数量及分级的差异

各组小鼠于第 14 天全部处死后,打开腹腔,取出肝脏和脾脏进行形态学观察。可见各组小鼠脾脏的接种部位均有癌结节形成,多为单个结节。未转染组和空载体组小鼠肝脏表面均可见散在分布的大量灰白色孤立癌结节,部分可见融合结节,PARG 基因沉默组肝脏表面偶见转移瘤结节,大部分肝脏无转移;其他脏器未见转移病灶;部分小鼠腹腔内有血性腹水,量多少不等。与对照组相比,PARG 基因沉默组小鼠脾脏移植瘤体积减小($P = 0$),肝脏表面转移瘤结节数量($P = 0.01$)及分级($P = 0$)均较未转染组及空载体组明显降低,差异具有统计学意义,而未转染组和空载体组间差异无统计学意义(图 1、2,表 1)。

2.2 PARG-shRNA 慢病毒载体转染 CT26 细胞接种小鼠后脾脏移植瘤 PARG、PARP、NF- κ B 的变化

PARG-shRNA 慢病毒载体转染 CT26 细胞接种的小鼠脾脏移植瘤中 PARG、PARP、NF- κ B 蛋白的表达明显较未转染组和空载体组中 PARG 蛋白的表达降低,差异有统计学意义(P

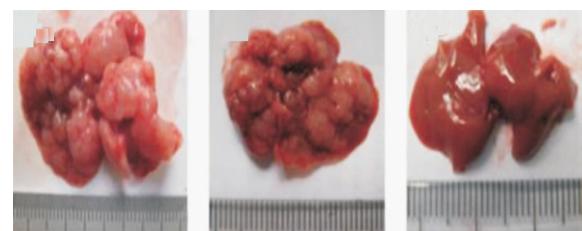
值分别为 0、0.02、0.03),未转染组和空载体组间差异无统计学意义(图 3,表 2)。



A. 未转染组;B. 空载体组;C. PARG 基因沉默组

图 1 各组小鼠脾脏移植肿瘤

Fig. 1 Spleen transplant tumor in mouse in different groups



A. 未转染组;B. 空载体组;C. PARG 基因沉默组

图 2 各组小鼠肝脏转移瘤结节

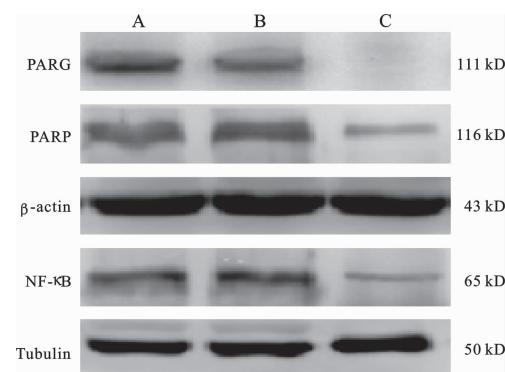
Fig. 2 Liver metastatic carcinoma nodules in mouse in different groups

表 1 各组小鼠脾脏移植肿瘤体积大小,肝脏表面转移瘤结节数量及等级比较($n = 6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Size of spleen transplant tumor, numbers and grading of liver metastatic carcinoma nodules in different groups ($n = 6, \bar{x} \pm s$)

组别	脾脏移植瘤体积 (cm^3)	肝脏转移瘤结节数量 (个)	肝脏转移瘤结节等级			
			0	I	II	III
未转染组	1.34 ± 0.36	32.50 ± 13.69	0	0	0	6
空载体组	1.38 ± 0.40	31.17 ± 16.98	0	0	0	6
PARG 基因沉默组	$0.36 \pm 0.11^*$	$1.83 \pm 1.72^*$	4	1	1	0 [*]

* : 与未转染组和空载体组比较, $P < 0.05$



A. 未转染组;B. 空载体组;C. PARG 基因沉默组

图 3 各组小鼠脾脏移植瘤 PARG、PARP、NF- κ B 蛋白表达

Fig. 3 Expression of PARG, PARP and NF- κ B proteins in spleen transplant tumor of different groups

表 2 各组小鼠脾脏移植瘤 PARG、PARP、NF- κ B 蛋白表达 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Expressions of PARG, PARP and NF- κ B protein in spleen transplant tumor in different groups ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	PARG	PARP	NF- κ B
未转染组	0.017 ± 0.008	0.071 ± 0.010	0.039 ± 0.002
空载体组	0.016 ± 0.005	0.066 ± 0.012	0.037 ± 0.003
PARG 基因沉默组	0.003 ± 0.002 *	0.009 ± 0.001 *	0.006 ± 0.001 *

* : 与未转染组和空载体组比较, $P < 0.05$

2.3 免疫荧光双标法检测脾脏中的 B220⁺DEC205⁺DC

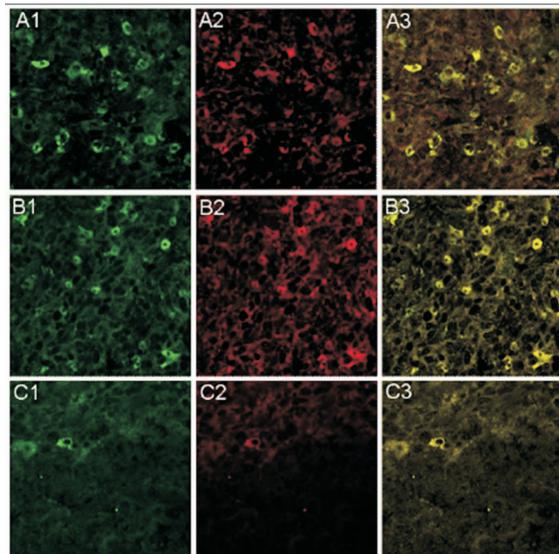
DEC205 和 B220 均在 DC 细胞膜上表达, DEC205 表达呈现红色, 而 B220 表达呈现绿色, 若两者同时在 DC 细胞膜上表达则呈现黄色。PARG 基因沉默组小鼠脾脏中 B220⁺DEC205⁺DC 的数量明显较未转染组和空载体组小鼠脾脏中 B220⁺DEC205⁺DC 的数量降低, 差异有统计学意义 ($P = 0.002$) (图 4, 表 3)。

表 3 各组小鼠脾脏中 B220⁺DEC205⁺DC 的表达 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Expression of B220⁺DEC205⁺DC in the spleen of different groups ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	DEC205 ⁺ B220 ⁺ DC(个)
未转染组	22.00 ± 4.36
空载体组	22.33 ± 4.51
PARG 基因沉默组	2.33 ± 1.53 *

* : 与未转染组和空载体组比较, $P < 0.05$



A1, A2, A3. 未转染组; B1, B2, B3. 空载体组; C1, C2, C3. PARG 基因沉默组

A1, B1, C1. B220⁺DC (FITC); A2, B2, C2. DEC205⁺DC (PE); A3, B3, C3. B220⁺DEC205⁺DC (PE, FITC)

图 4 各组小鼠脾脏中 B220⁺DEC205⁺DC 的表达 (40 \times)

Fig. 4 Expression of B220⁺DEC205⁺DC in the spleen of different groups (40 \times)

2.4 PARG 基因沉默对小鼠血清中 IL-10、TGF- β 表达的影响

ELISA 法检测各组小鼠血清中 IL-10、TGF- β 的表达量。

结果显示:与对照组相比, PARG 基因沉默组血清中 IL-10 蛋白表达量显著降低, 差异具有统计学意义 ($P=0$); 而 PARG 基因沉默组血清中 TGF- β 蛋白量也明显较对照组降低, 差异有统计学意义 ($P=0.01$) (表 4)。

表 4 各组小鼠血清中 IL-10、TGF- β 的表达 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Expression of IL-10 and TGF- β in the serum of different groups ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-10 (pg/ml)	TGF- β (ng/ml)
未转染组	343.02 ± 2.73	149.20 ± 12.98
空载体组	341.29 ± 0.46	134.57 ± 10.13
PARG 基因沉默组	90.92 ± 0.95 *	56.88 ± 4.06 *

* : 与未转染组和空载体组比较, $P < 0.05$

3 讨 论

PARG 是主要的多聚(腺苷二磷酸核糖)[Poly (ADP-ribose), PAR]水解酶, 对 PARP 的活性起着重要的调节作用, PARG 可以清除 PAR 线状和分枝的核糖与核糖基, 将 PAR 迅速降解成 AMP 和 ADP 核糖单体, 使因 PAR 化而失去活性的 PARP 脱掉 PAR, 恢复活性, 重新进入 PAR 化的循环当中。Frizzell 等人^[12]的研究表明: PARG 在对 PARP 的调节中起主要作用, 并且能与 PARP 协同调节下游基因的表达, 提示抑制 PARG 可以作为抑制 PARP 的一种有效的方法。而 PARP 经研究证实能够调节核因子 NF- κ B 活性^[13]。核转录因子 NF- κ B 参与多种生理和病理过程, 在肿瘤的侵袭转移过程中, 调节着很多肿瘤侵袭相关基因的转录与表达。TGF- β 和 IL-10 是免疫抑制性细胞因子, 都能够独立的调节免疫和非免疫细胞的分化、增殖、激活^[14,15]。肿瘤局部不同 DC 数量的变化, 与肿瘤细胞产生的 TGF- β 、IL-10 影响 DC 分化有关^[16], 而这些因子均系 NF- κ B 的下游因子^[17]。本文前期研究中也表明^[6,7], 在大肠癌细胞中沉默 PARG 基因, 可降低 PARP 的表达, 下调 NF- κ B 的转录活性, 从而影响其下游因子, 进一步影响肿瘤的浸润转移。

大肠癌的浸润转移一方面与大肠癌细胞本身的转移潜能有关, 另一方面与机体肿瘤免疫反应也密切相关。DC 来源于体内的多能造血干细胞, 是一组形态、结构和功能异质性的专职抗原提呈细胞, 由于其表面标志不同, 因此它能激活不同类型的 T 细胞, 启动抗原特异性的免疫应答反应, 或诱导免疫耐受^[18]。美国 Starzl 移植所 Lu 等^[19]首次在体外诱导出 DEC205⁺B220⁺CD19⁻DC, 功能上能使同种异体

移植心脏存活期明显延长,认为其与外周耐受的诱导有关。在我们之前的研究中,也成功从小鼠体内诱导出 B220⁺ DEC205⁺ DC,认为其与肝脏疾病中的免疫耐受有关^[20]。随后,在进一步研究中发现^[3],小鼠肝脏中诱导出的 B220⁺/DEC205⁺ DC 对结肠癌肝转移有促进作用。但在大肠癌中,PARP 抑制,是否也可以通过抑制 PARP,从而抑制 NF-κB,进一步下调其下游因子,影响 DC 的增殖分化,最终影响大肠癌的转移尚未见文献报道。

因此,在本研究中采用 PARG 基因沉默后的 CT26 细胞在小鼠体内成瘤,结果表明,与未转染组和空载体组相比,PARG 基因沉默组 B220⁺ DEC205⁺ DC 的数量明显降低,小鼠脾脏移植肿瘤体积明显减小且肝脏转移瘤结节明显减少,TGF-β、IL-10 在血清中的表达明显降低,同时,PARP 和 NF-κB 蛋白的表达也显著降低。提示 PARG 基因沉默可抑制小鼠结肠癌细胞肝转移,这可能与 PARG 基因沉默后下调 PARP 的表达,降低 NF-κB 的转录活性,进而下调 NF-κB 的依赖因子 TGF-β、IL-10 的表达,从而影响 DC 的分化有关。

参 考 文 献

- [1] Lonial S, Torre C, David E, et al. Regulation of alloimmune responses by dendritic cell subsets [J]. *Exp Hematol*, 2008, 36(10): 1309–1317.
- [2] Della Porta M, Danova M, Rigolin G M, et al. Dendritic cells and vascular endothelial growth factor in colorectal cancer: correlations with clinicobiological findings [J]. *Oncology*, 2005, 68(2-3): 276–284.
- [3] 柯奇周,王娅兰,于 红. 小鼠肝 B220⁺/DEC205⁺ 树突状细胞对结肠癌肝转移的影响 [J]. *解剖学杂志*, 2009, 32(6): 724–727.
- [4] Ke Q Z, Wang Y L, Yu H. Effect of mouse liver-derived B220⁺/DEC205⁺ dendritic cells on hepatic metastases from colonic cancer *in vivo* [J]. *Chinese Journal of Anatomy*, 2009, 32(6): 724–727.
- [5] Min W, Cortes U, Herceg Z, et al. Deletion of the nuclear isoform of poly(ADP-ribose) glycohydrolase (PARG) reveals its function in DNA repair, genomic stability and tumorigenesis [J]. *Carcinogenesis*, 2010, 31(12): 2058–2065.
- [6] Cuzzocrea S, Mazzon E, Genovese T, et al. Role of poly(ADP-ribose) glycohydrolase in the development of inflammatory bowel disease in mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2007, 42(1): 90–105.
- [7] Li Q Z, Wang Y L, Li X. Lentivirus PARG-shRNA transfection decreases matrix adhesion, migration and invasion potencies of colon carcinoma lovo cells [J]. *Basic & Clinical Medicine*, 2010, 30(3): 237–241.
- [8] Fauzee N J, Li Q, Wang Y L, et al. Silencing poly (ADP-Ribose) glycohydrolase (PARG) expression inhibits growth of human colon cancer cells *in vitro* via PI3K/Akt/NFκ-B pathway [J]. *Pathol Oncol Res*, 2011, 30(10): 9428–9437.
- [9] 吴伟强,王娅兰,潘 娟,等. PARG 基因沉默抑制小鼠结肠癌 CT26 细胞系体外淋巴管的形成 [J]. *基础医学与临床*, 2011, 31(6): 625–629.
- [10] Wu W Q, Wang Y L, Pan J, et al. PARG silencing inhibits lymphangiogenesis in mouse colon carcinoma *in vitro* [J]. *Basic & Clinical Medicine*, 2010, 31(6): 625–629.
- [11] Liu H Y, Huang Z L, Yang G H, et al. Inhibitory effect of modified citrus pectin on liver metastases in a mouse colon cancer model [J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(48): 7383–7391.
- [12] Larisa A, Ostrovskaya M G, Voronkov, et al. Experimental study of the antitumor activity of polymetalacrylates against animal transplantable tumors [J]. *Journal of Cancer Therapy*, 2010, 16(1): 59–65.
- [13] 路 菊,孙 玮,陈德英. 免疫荧光双重染色的激光共聚焦显微镜样品制备及观察 [J]. *免疫学杂志*, 2007, 23(3): 344–350.
- [14] Lu J, Sun W, Chen D Y. Preparation of immunofluorescence double staining sample for laser confocal microscope [J]. *Immunological Journal*, 2007, 23(3): 344–350.
- [15] Frizzell K M, Gamble M J, Berrocal J G, et al. Global analysis of transcriptional regulation by Poly-(ADP-ribose) polymerase-1 and poly-(ADP-ribose) glycohydrolase in MCF-7 human breast cancer cells [J]. *Biol Chem*, 2009, 284(49): 33926–33938.
- [16] Virag L, Szabo C. The therapeutic potential of poly (ADP ribose) polymerase inhibitors [J]. *Pharmacol Rev*, 2002, 54(3): 375–429.
- [17] Mantel P Y, Schmidt-Weber C B. Transforming growth factor-β: recent advances on its role in immune tolerance [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2011, 677(2): 303–338.
- [18] Corinti S, Albanesi C, la Sala A, et al. Regulatory activity of autocrine IL-10 on dendritic cell functions [J]. *Immunol*, 2001, 166(7): 4312–4318.
- [19] Torres-Aguilar H, Sánchez-Torres C, Jara L J, et al. IL-10/TGF-β-treated dendritic cells, pulsed with insulin, specifically reduce the response to insulin of CD4⁺ effector/memory T cells from type 1 diabetic individuals [J]. *Clin Immunol*, 2010, 30(5): 659–668.
- [20] Bannwart C F, Nakairai-Takahagi E, Golum M A, et al. Downregulation of nuclear factor-kappa B (NF-κB) pathway by silibinin in human monocytes challenged with Paracoccidioides brasiliensis [J]. *Life Sci*, 2010, 86(23-24): 880–886.
- [21] Banchereau J, Briere F, Caux C, et al. Immunobiology of dendritic cells [J]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18(1): 767–811.
- [22] Lu L, Bonham C A, Liang X, et al. Liver-derived DEC205⁺ B220⁺ CD19⁻ dendritic cells regulate T cell responses [J]. *Immunol*, 2001, 166(12): 7042–7052.
- [23] Wang Y L, Zheng N, Lu Z B, et al. In vivo expansion of two distinct dendritic cells in mouse livers and its impact on liver immune regulation [J]. *Liver Transplantation*, 2006, 12(12): 1850–1861.

(责任编辑:唐秋娟)