

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.19.013

实验研究

后膈方对人食管癌细胞 Eca109、TE13 及 Cx26 表达的影响

史会娟¹, 石冬璇², 李丽³, 常青鲜⁴, 李晶^{1*}

(1. 河北医科大学第四医院, 河北省石家庄市健康路 12 号, 050011; 2. 河北医科大学; 3. 河北省人民医院; 4. 石家庄以岭药业股份有限公司)

摘要 目的 探讨后膈方治疗食管癌的可能作用机制。方法 采用人食管癌细胞 Eca109 及 TE13, 将各细胞分为对照组及后膈方高剂量组、后膈方低剂量组。采用 MTT 法观察后膈方对食管癌细胞增殖的影响, 应用 Transwell 小室法检测后膈方对食管癌细胞迁移的影响, 应用激光共聚焦显微镜及流式细胞术观察后膈方对食管癌细胞间隙连接蛋白 26 (Cx26) 表达的影响, 采用 RT-qPCR 法观察后膈方对食管癌细胞中 Cx26 水平的影响。结果 后膈方正常剂量在体外环境不能抑制 Eca109 及 TE13 细胞增殖。后膈方高剂量组 Eca109 迁移细胞数明显少于对照组和后膈方低剂量组 ($P < 0.01$), 后膈方高、低剂量组 TE13 迁移细胞数明显少于对照组, 且后膈方高剂量组明显少于后膈方低剂量组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。经后膈方作用后的食管癌细胞 Eca109 和 TE13 中 Cx26 蛋白及 mRNA 水平表达明显增高 ($P < 0.05$)。结论 后膈方可抑制人食管癌细胞 Eca109、TE13 的增殖与迁移, 并能够增强 Cx26 在蛋白水平及转录水平的表达, 使食管癌细胞间隙连接增强, 从而抑制细胞的迁移。这可能是其治疗食管癌的部分作用机制。

关键词 食管癌; 后膈方; 细胞间隙连接蛋白; 细胞迁移

我国是世界上食管癌发病率和死亡率最高的国家^[1], 河北省磁县、涉县是我国食管癌集中高发区^[2]。食管癌的根本病机是“血耗胃槁”, 瘀血、痰阻、气逆是其不同阶段表现, 而非噎膈之本质^[3]。临床应用以甘润濡养立法的后膈方治疗食管癌患者, 可改善其消化功能, 增加食欲, 明显减轻下咽不畅等症状, 防止术后复发转移, 明显延长患者无病生存时间^[4-5]。本课题组前期研究发现, 后膈散提取物能够增强食管癌细胞间的同质黏附, 并且同质黏附的增强可能与间隙连接蛋白的表达增高有关^[6]。间隙连接蛋白 26 (Cx26) 作为间隙连接蛋白家族中唯一不发生磷酸化的连接蛋白, 对完成细胞间的连接, 实现细胞间的物质和信号的传导发挥重要的作用^[7]。本研究观察后膈方对 Cx26 蛋白及 mRNA 水平的影响, 进一步探讨后膈方抑制食管癌转移的机制。

基金项目: 国家自然科学基金 (81403310); 河北省科技计划项目 (13277718D)

* 通讯作者: lijing741115@sohu.com, (0311) 86095722

1 材料与方法

1.1 细胞

人食管癌细胞 Eca109 及 TE13 由河北省肿瘤医院研究所提供。

1.2 药物

后膈方组成: 郁金 75 g, 北沙参 75 g, 丹参 50 g, 浮小麦 15 g, 浙贝母 30 g, 茯苓 30 g, 砂仁 30 g, 荷叶 15 g, 天冬 75 g, 山药 75 g。加 1000 ml 蒸馏水煮沸后浸泡药物 30 min, 加热, 待沸腾后, 转小火煮 1 h, 趁热过滤, 药渣再加 1000 ml 沸腾蒸馏水, 煮沸后转小火煮 1 h, 趁热过滤, 合并 2 次煎出液, 离心, 取上清。45℃ 旋蒸, 至药物浓稠, -80℃ 冰箱冻 24 h, 冻干机冻干, 取冻干粉, 分装并储存于 -80℃ 冰箱。应用时用完全培养基溶解药物冻干粉, 配置成 1 mg/ml 储存液, 并用滤器过滤, 保存于无菌离心管中, 封口膜封口, 储存于 4℃ 冰箱。

1.3 主要试剂与仪器

RPMI 1640 培养基 (货号: C11875500BT),

美国 Gibco 公司; 新生牛血清(货号: 04-402-4B), 美国 Biological 公司; 四甲基偶氮唑蓝 (MTT, 货号: D0801), 日本 TCI 公司; 二甲基亚砷 (DMSO, 货号: V900090-500ML), 英国 Veteran 公司; Cx26 蛋白一抗 (货号: bs3443), 美国 Bioworld 公司; Triton X-400 (货号: V900502), 美国 Sigma 公司; 4% 多聚甲醛(货号: P1110-400), 北京索莱宝科技有限公司; 牛血清白蛋白 (BSA, 货号: A8020), 北京索莱宝科技有限公司; 反转录试剂盒 (货号: C28025032)、扩增试剂盒 (货号: C11733038)、ALEXA FLUOR 488 (货号: A21206-400ul) 均购于美国 Invitrogen 公司。Transwell 小室 (货号: 3422), 美国 Corning 公司; TS100 型倒置显微镜 (日本 Nikon 公司); 2010 型酶标仪 (奥地利 Anthos 公司); Epics-XL II 型流式细胞仪 (美国 Beckman Coulter 公司); FV1000 型激光共聚焦显微镜 (日本 Olympus 公司); ABI5700 型 PCR 仪 (美国 ABI 公司)。

1.4 细胞培养

人食管癌细胞 Eca109 及 TE13 用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液, 在 37℃、CO₂ 体积分数为 5% 的饱和湿度条件下培养。倒置显微镜下观察待细胞贴壁生长至融合度达 90% 时, 用 0.25% 胰蛋白酶消化并传代。培养细胞, 待细胞贴壁生长至融合度达 60% 时用于实验。

1.5 后膈方对食管癌细胞增殖的影响

采用 MTT 法, 将食管癌细胞 Eca109 和 TE13 按 1×10^4 个/孔接种于 96 孔板, 培养 24 h, 用完全培养基稀释后膈方冻干粉, 制成不同浓度 (5、10、50、100、200 μg/ml) 的含药培养基, 每孔加入 100 μl 含药培养基, 每个浓度均设培养 24、48、72 h 组, 并设不加药对照组, 每组 3 个复孔。将 10 μl (10 mg/ml) MTT 添加到每个孔, 在 37℃ 孵育 3 h。去除上清液, 加入 150 μl DMSO 15 min。用酶标仪在 492 nm 波长记录吸光度。抑制率 = (对照组吸光度 OD 值 - 后膈方组吸光度 OD 值) / 对照组吸光度 OD 值 × 100%。实验重复 3 次。

1.6 后膈方对食管癌细胞迁移的影响

采用 Transwell 小室法, 将 Eca109、TE13 细胞分为后膈方高剂量组、后膈方低剂量组和对照组, 以 5×10^6 个/孔的密度分别接种在 6 孔板中。前期试验证实, 在后膈散浓度为 100 μg/ml 时能够明显增强食管癌细胞间的同质黏附^[8], 所以本研究用

完全培养基稀释后膈方冻干粉, 以 100 μg/ml 浓度为后膈方高剂量组、50 μg/ml 浓度为后膈方低剂量组, 并设不加药组为对照组, 以完全培养基培养。待细胞达到 80 % 融合时, 后膈方高、低剂量组分别加入 50、100 μg/ml 的含药培养基 2 ml 培养 24 h。细胞经胰酶消化后计数, 用含牛血清培养基配制细胞悬液。每个 Transwell 的上层小室中加入 100 ml 细胞悬液, 其中含细胞总数为 1×10^5 个, 将下室放入 600 μl 培养基中, 37℃ 孵育 6 h。固定, 蓝化, 用棉棒去除上层小室侧的未迁移细胞, 显微镜下观察每孔 5 个视野下已迁移至下室的细胞数目, 并进行拍摄, 实验重复 3 次。

1.7 后膈方对食管癌细胞 Cx26 蛋白表达的影响

1.7.1 采用流式细胞术检测 将 Eca109、TE13 细胞以 5×10^6 个/孔的密度分别接种在 6 孔板中。设后膈方组及对照组。后膈方组加入 100 μg/ml 含药培养基, 加药 24 h 后, 细胞吸去培养液, PBS 将细胞轻轻洗涤两次, 0.5% 的胰蛋白酶消化后离心, PBS 清洗细胞 2 次, 1500 r/min 离心 3 min, 弃上清液。加入用 PBS 稀释的荧光素标记的抗体 200 μl。用微量移液器轻轻吹打混匀, 37℃ 孵育 1 h。加入 FITC 10 μl, 避光孵育 1 h。流式细胞仪检测细胞的 Cx26 表达, 以荧光指数 (FI) 表示蛋白的相对含量, FI > 1.0 为阳性表达, FI ≤ 1.0 为阴性表达。实验重复 3 次。

1.7.2 采用激光共聚焦显微镜观察 将食管癌细胞 Eca109 及 TE13 (1×10^6) 接种于激光共聚焦培养皿, 待细胞贴壁后用后膈方 (100 μg/ml) 作用细胞 24 h, 并设对照组。将细胞用 PBS 洗 3 次, 每次 5 min。1 ml 4% 多聚甲醛室温固定 20 min, 1 ml 0.3% Triton X-400, 室温透膜 10 min, PBS 洗 3 次, 每次 5 min。1 ml 10% BSA 封闭 30 min, 室温, 加入用 2% BSA 1 : 100 稀释的 Cx26 一抗, 4℃ 过夜。用含 0.1% Tween20 的 PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min。PBS 洗涤 1 次, 5 min, 甘油封片, 应用激光共聚焦显微镜观察结果, 采集图像。实验重复 3 次。

1.8 后膈方对食管癌细胞 Cx26 mRNA 表达的影响

采用 RT-qPCR 方法, 将细胞分为后膈方高剂量组、后膈方低剂量组, 并设不加药组为对照组, 以完全培养基培养。后膈方高、低剂量组分别加入 100、50 μg/ml 的含药培养基培养细胞, 待细胞贴壁生长至融合度达 60% 时, 采用不同浓度后膈方分别作用 Eca109 及 TE13 细胞 24 h; 并设未加药组

为对照组,继续培养 24h 后,提取细胞总 RNA。经逆转录试剂盒合成 cDNA 后进行聚合酶链反应,配制 qPCR 反应管中反应液,PCR 反应体系 20 μ l,用 PCR 仪进行扩增反应,扩增条件为 95 $^{\circ}$ C 预变性 45 s,1 个循环;95 $^{\circ}$ C 变性 15 s,55 $^{\circ}$ C 退火/延伸 30 s,60 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行结果分析, ΔCt = 目的基因 Ct 值 - 内参基因 Ct 值,内参为 GAPDH, $\Delta\Delta Ct$ = 实验组 ΔCt - 空白组 ΔCt , $RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$,其中空白组的数值均为 1。引物由 invitrogen 公司合成,引物序列如下:上游: AGTGTAACGCCTGGC-CTTGT',下游: CTCCCTCATCTTTGCTTAACAGC; GAPDH: 上游: GGCTGTGGGCAAGGTCAT,下游: GCCTGCTTACACACCTTCTTG。实验重复 3 次。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行数据分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK- q 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组人食管癌细胞 Eca109、TE13 增殖情况

表 1、表 2 示,食管癌细胞 Eca109,在启膈方组浓度为 200 μ g/ml,培养细胞 72 h 时才出现抑制,抑制率为 5.8%;食管癌细胞 TE13,在启膈方组浓度为 200 μ g/ml,培养细胞 48 h 及 72 h 时才出现抑制,抑制率分别为 2.0% 和 7.7%。考虑该抑制率与药物浓度过高有关,提示启膈方在体外环境中不能直接杀伤食管细胞。

表 1 各组人食管癌细胞 Eca109 不同时间吸光度值比较 (OD 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	浓度	样本数	24 h	48 h	72 h
对照组		6	0.231 $\pm$ 0.020	0.239 $\pm$ 0.014	0.243 $\pm$ 0.017
启膈方组	5 μ g/ml	6	0.233 $\pm$ 0.016	0.242 $\pm$ 0.029	0.247 $\pm$ 0.018
	10 μ g/ml	6	0.261 $\pm$ 0.021	0.254 $\pm$ 0.019	0.249 $\pm$ 0.016
	50 μ g/ml	6	0.265 $\pm$ 0.019	0.257 $\pm$ 0.016	0.253 $\pm$ 0.025
	100 μ g/ml	6	0.258 $\pm$ 0.017	0.249 $\pm$ 0.028	0.247 $\pm$ 0.021
	200 μ g/ml	6	0.246 $\pm$ 0.014	0.240 $\pm$ 0.030	0.229 $\pm$ 0.013

表 2 各组人食管癌细胞 TE13 不同时间吸光度值比较 (OD 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	浓度	样本数	24 h	48 h	72 h
对照组		6	0.177 $\pm$ 0.008	0.198 $\pm$ 0.025	0.183 $\pm$ 0.013
启膈方组	5 μ g/ml	6	0.182 $\pm$ 0.017	0.201 $\pm$ 0.014	0.187 $\pm$ 0.019
	10 μ g/ml	6	0.208 $\pm$ 0.012	0.206 $\pm$ 0.027	0.193 $\pm$ 0.009
	50 μ g/ml	6	0.222 $\pm$ 0.020	0.208 $\pm$ 0.021	0.203 $\pm$ 0.018
	100 μ g/ml	6	0.219 $\pm$ 0.024	0.203 $\pm$ 0.013	0.185 $\pm$ 0.016
	200 μ g/ml	6	0.210 $\pm$ 0.015	0.194 $\pm$ 0.017	0.169 $\pm$ 0.011

2.2 各组人食管癌细胞 Eca109、TE13 迁移细胞数比较

表 3 示,后膈方高剂量组 Eca109 迁移细胞数明显少于对照组和后膈方低剂量组 ($P < 0.01$),后膈方高、低剂量组 TE13 迁移细胞数明显少于对照组,且后膈方高剂量组明显少于后膈方低剂量组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

表 3 各组人食管癌细胞 Eca109、TE13 迁移细胞数比较 (个, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	Eca109	TE13
对照组	3	84.67 $\pm$ 18.55	110.33 $\pm$ 17.50
后膈方低剂量组	3	56.33 $\pm$ 13.50	75.00 $\pm$ 13.11*
后膈方高剂量组	3	27.00 $\pm$ 9.00** $\Delta\Delta$	34.33 $\pm$ 10.50** Δ

注:与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与后膈方低剂量组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2.3 各组人食管癌细胞 Eca109、TE13 中 Cx26 蛋白表达比较

表 4 示,流式细胞术检测结果显示,与对照组比较,后膈方组 Eca109 细胞和 TE13 细胞 Cx26 蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$)。激光共聚焦显微镜观察结果显示,在食管癌细胞 TE13 和 Eca109

表 4 各组人食管癌细胞 Eca109、TE13 中 Cx26 蛋白表达比较 (荧光指数, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	Eca109	TE13
后膈方组	3	1.43 $\pm$ 0.22	1.60 $\pm$ 0.34
对照组	3	1	1
F 值		11.95	9.66
P 值		0.026	0.036

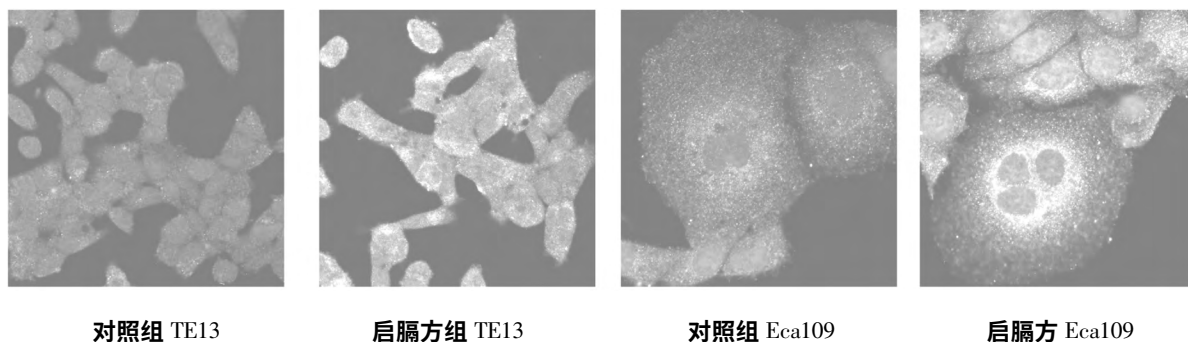


图1 各组人食管癌细胞中间连接蛋白 26 蛋白表达 (×600)

中,对照组细胞中 Cx26 蛋白表达很低,经后膈方作用的细胞中 Cx26 蛋白表达增多,且 Cx26 表现出了向细胞膜聚集的趋势,提示后膈方能够增强间隙连接蛋白 Cx26 蛋白的表达及功能,具体见图 1。

2.4 各组人食管癌细胞中 Cx26 mRNA 表达比较

表 5 示,与对照组比较,后膈方低剂量组与高剂量组食管癌细胞 Eca109 及 TE13 中 Cx26 mRNA 表达均明显增加,且后膈方高剂量组均高于后膈方低剂量组 ($P < 0.01$)。

表 5 各组人食管癌细胞 Eca109 及 TE13 中 Cx26 mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	Eca109	TE13
对照组	3	1	1
后膈方低剂量组	3	$4.29 \pm 0.72^*$	$4.21 \pm 1.29^*$
后膈方高剂量组	3	$18.59 \pm 3.40^{*\Delta}$	$21.91 \pm 2.00^{*\Delta}$

注:与对照组比较, $* P < 0.01$; 与后膈方低剂量组比较, $\Delta P < 0.01$

3 讨论

食管癌就其临床表现而言归属于中医学“噎膈”范畴。后膈方来源于清代程国彭《医学心悟》的后膈散,后膈散中重用茯苓、薏苡仁等甘淡之品,稍佐砂仁等芳化之药,做到“养阴不滋腻,清利不燥湿”,后膈方在后膈散的基础上加入天冬、山药以增强养阴之力。细胞间隙连接是细胞间直接进行信息交换的重要通道,该通道由间隙连接蛋白组配而成^[8]。间隙连接蛋白的表达及功能直接决定了间隙连接通讯的通畅与否,与肿瘤的发生、转移、耐药等密切相关^[9]。间隙连接蛋白基因被认为是一类肿瘤抑制基因^[10],研究证实,食管癌细胞转移常伴有间隙连接蛋白的异常定位和表达^[11]。

本研究用 MTT 方法检测后膈方对食管癌细胞增殖的影响,结果显示,只有在后膈方浓度达到 $200 \mu\text{g/ml}$ 时才能出现对细胞增殖的抑制,提示在

正常浓度下,在体外环境中后膈方并不能直接杀灭肿瘤细胞。用 Transwell 小室法检测后膈方对食管癌细胞迁移能力的影响,结果显示,经后膈方干预的食管癌细胞迁移能力明显低于对照组,提示后膈方能够降低食管癌细胞的迁移能力,从而抑制食管癌细胞的转移。有研究发现,多种肿瘤细胞的黏附、迁移与 Cx26 的异常表达密切相关,其表达异常可能作为食管鳞状细胞癌浸润、转移的标志之一^[12]。本研究用流式细胞术检测人食管癌细胞 Eca109、TE13 中 Cx26 蛋白的表达,结果显示,后膈方 ($100 \mu\text{g/ml}$) 能够明显增强 Cx26 蛋白在食管癌细胞胞膜的表达 ($P < 0.05$),提示后膈方能够增强食管癌细胞中 Cx26 的功能。用激光共聚焦显微镜进一步观察 Cx26 的表达情况,结果显示,相较于对照组,经后膈方作用的食管癌细胞中 Cx26 蛋白表达的荧光明显增强,且 Cx26 表现出了向细胞膜聚集的趋势,提示后膈方能够增强 Cx26 的表达及功能。应用 q-PCR 检测食管癌细胞中 Cx26 mRNA 的表达情况,结果显示,经后膈方作用的食管癌细胞 Eca109 及 TE13 中 Cx26 mRNA 的表达相比对照组明显增高 ($P < 0.05$),且高剂量组 ($100 \mu\text{g/ml}$) 的表达优于低剂量组 ($50 \mu\text{g/ml}$)。

综上所述,后膈方能够增强食管癌细胞中 Cx26 蛋白及 mRNA 水平的表达,降低食管癌细胞的迁移能力。

参考文献

- [1] 郭丽丽,郭胜利,郭炜,等. 食管鳞状细胞癌中 ADAMTS1 mRNA 及其蛋白表达 [J]. 中国肿瘤, 2015, 24 (7): 598-602.
- [2] LIU P, GAO Y, HUAN J, et al. Upregulation of PAX2 promotes the metastasis of esophageal cancer through interleukin-5 [J]. Cell Physiol Biochem, 2015, 35 (2): 740-754.
- [3] 李晶,史会娟. 以甘润濡养立法的后膈方治疗食管癌概况 [J]. 中国全科医学, 2015, 18 (18): 2198-2200.

- 张桥. 后膈散联合化疗治疗晚期食道癌的临床研究 [J]. 北京: 北京中医药大学, 2012.
- 陈高阳, 张志胜, 曹乃宪. 后膈散加减联合同步放化疗治疗中晚期食管癌 30 例临床研究 [J]. 江苏中医药, 2011, 43(10): 31-32.
- 史会娟, 高静, 石冬璇, 等. 后膈散对食管癌细胞间质黏附力的影响 [J]. 中国全科医学, 2016, 19(27): 3317-3321.
- 易华, 杜标炎, 谭宇蕙, 等. 从 Cx26 探究六味地黄丸增效肝癌自杀基因治疗的机制 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(9): 1200-1204.
- BAI D. Structural analysis of key gap junction domains—lessons from genome data and disease-linked mutants [J]. Semin Cell Dev Biol, 2015, 50: 74-82. doi: 10.1016/j.semcdb.2015.11.015.
- 郭瑞珍, 杜金峰. 皮肤基底细胞癌极少转移生物学行为相关因素分析 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2011, 27(5): 520-523.
- DELMONTE U, STATUTO M. Drop of connexins: a possible link between aging and cancer? [J]. Exp Gerontol, 2004, 39(2): 273-275.
- MAURO V, CARETTE D, PONTIER-BRES R, et al. The anti-mitotic drug griseofulvin induces apoptosis of humangerm cell tumor cells through a connexin 43-dependent molecular mechanism [J]. Apoptosis, 2013, 18(4): 480-491.
- KANCZUGA-KODA L, SULKOWSKI S, LENCZEWSKI A, et al. Increased expression of connexins 26 and 43 in lymph node metastases of breast cancer [J]. J Clin Pathol, 2006, 59(4): 429-433.

Effect of *Qige Fang* (后膈方) on Expression of Eca109, TE13 and Cx26 in Human Esophageal Carcinoma Cells

SHI Huijuan¹, SHI Dongxuan², LI Li³, CHANG Qingxian⁴, LI Jing¹

(1. Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang, 050011; 2. Hebei Medical University; 3. Hebei General Hospital; 4. Shijiazhuang Yiling Pharmaceutical Co., Ltd)

ABSTRACT Objective To explore the potential mechanism of *Qige Fang* (后膈方) in treating esophageal carcinoma. **Methods** Human esophageal cancer cells Eca109 and TE13 were used and divided into the control group, the high-dose *Qige* group and the low-dose *Qige* group. MTT method was used to observe the effect of *Qige Fang* on the proliferation of esophageal cancer cells; Transwell chamber method was used to detect the effect of *Qige Fang* on the migration of esophageal cancer cells; the effect of *Qige Fang* on the expression of connexin 26 (Cx26) in esophageal cancer cells was observed by laser confocal microscopy and flow cytometry; the effect of *Qige Fang* on the expression of Cx26 mRNA in esophageal cancer cells was observed by RT-qPCR. **Results** The normal dose of *Qige Fang* cannot inhibit the proliferation of Eca109 and TE13 cells in vitro. The number of Eca109 migrating cells in the high dose group was significantly lower than that in the control group and the low dose group ($P < 0.01$). The numbers of TE13 migrating cells in the high and low dose groups were significantly lower than that in the control group, and that in the high dose group was significantly lower than that in the low dose group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The expressions of Cx26 protein and mRNA in esophageal cancer cells Eca109 and TE13 significantly increased after the administration of *Qige Fang* ($P < 0.05$). **Conclusion** *Qige Fang* can inhibit the proliferation and migration of human esophageal cancer cells Eca109 and TE13, and can enhance the expression of Cx26 at protein level and transcription level, and increase the gap junction of esophageal cancer cells, thus inhibiting cell migration. This might be part of the mechanism of *Qige Fang* in treating esophageal carcinoma.

Keywords esophageal carcinoma; *Qige Fang* (后膈方); cell gap junction protein; cell migration

(收稿日期: 2016-12-10; 修回日期: 2017-06-19)

编辑: 王利芬

欢迎邮购《中医杂志》光盘合订本

1951—1986 年(4 张光盘) 480 元; 1987—1994 年(1 张光盘) 260 元; 1995—2004 年(1 张光盘) 280 元; 2005—2013 年(1 张光盘) 300 元。

光盘合订本为计算机用数据光盘, 收入了同期出版的全部《中医杂志》内容, 可对所有文章进行任意字检索, 方便实用。

汇款地址: 北京东直门内南小街 16 号中医杂志社北京医海林音像书店, 邮政编码: 100700

电话: (010) 64035632, 网址: <http://www.jtcm.net.cn>