

铜绿假单胞菌注射液对 NCI-N87 胃癌细胞株增殖能力的影响及其机制研究

洪义东^{1,2}, 胡楠², 卞宝祥², 宋子琰², 吴风雷^{1,2*} (1.江苏大学医学院, 江苏 镇江 212013; 2.连云港市第一人民医院, 江苏 连云港 221000)

摘要: 目的 探讨铜绿假单胞菌注射液(*Pseudomonas aeruginosa* mannose-sensitive hemagglutinin, PA-MSHA)对 NCI-N87 胃癌细胞增殖能力的影响及其分子作用机制。方法 MTT 法检测 PA-MSHA 对 NCI-N87 胃癌细胞增殖的影响, 流式细胞术检测细胞凋亡率, 划痕实验和侵袭实验检测细胞迁移和侵袭能力的变化, Western Blot 检测 PTEN 蛋白和 p-AKT 蛋白的表达变化, 转染 PTEN siRNA 敲低 PTEN 表达后, 再次行 MTT 法检测 PA-MSHA 对细胞增殖的影响。结果 PA-MSHA 抑制 NCI-N87 胃癌细胞的增殖具有剂量和时间依赖性。与对照组比较, NCI-N87 细胞经 PA-MSHA 处理后, 凋亡率显著增加($P<0.05$), 迁移和侵袭能力显著下降($P<0.05$)。与对照组比较, PA-MSHA 显著提高 PTEN 蛋白表达, 降低 p-AKT 蛋白表达($P<0.05$)。通过 siRNA 转染敲低 PTEN 表达后, PA-MSHA 抑制 NCI-N87 细胞增殖的能力较对照组显著下降($P<0.05$)。结论 PA-MSHA 对 NCI-N87 胃癌细胞具有抑制增殖、促进凋亡、抑制侵袭转移的作用, 其机制与 PTEN/AKT 信号通路有关。

关键词: 铜绿假单胞菌注射液; 胃癌; 增殖; 凋亡; 信号通路

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2019)22-2753-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.22.001

引用本文: 洪义东, 胡楠, 卞宝祥, 等. 铜绿假单胞菌注射液对 NCI-N87 胃癌细胞株增殖能力的影响及其机制研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(22): 2753-2758.

Effect of *Pseudomonas Aeruginosa* Mannose-sensitive Hemagglutinin on Proliferation of Gastric Cancer NCI-N87 Cells and Its Mechanism

HONG Yidong^{1,2}, HU Nan², BIAN Baoxiang², SONG Ziyang², WU Fenglei^{1,2*} (1.School of Medicine, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China; 2.First People's Hospital of Lianyungang, Lianyungang 221000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of *Pseudomonas aeruginosa* mannose-sensitive hemagglutinin (PA-MSHA) on the proliferation of gastric cancer NCI-N87 cells and its mechanism. **METHODS** MTT assay was used to detect the effect of PA-MSHA on the proliferation of gastric cancer cells NCI-N87. The apoptosis rate was tested by flow cytometry. The ability of cell migration and invasion was detected by wound healing assay and invasion assay. Western Blot was carried out to examine the protein expression of PTEN and p-AKT. MTT assay was used to further examine the effect of PA-MSHA on cell proliferation after PTEN siRNA transfection. **RESULTS** PA-MSHA inhibited the proliferation of gastric cancer cells NCI-N87 in a dose- and time-dependent manner. Compared with control group, after treatment with PA-MSHA, the apoptosis rate of NCI-N87 cells was significantly increased($P<0.05$), and the migration and invasion ability of NCI-N87 cells was significantly decreased($P<0.05$). Compared with control group, PA-MSHA significantly increased the expression of PTEN protein and decreased the level of p-AKT protein($P<0.05$). Knock down of PTEN by siRNA transfection weakened the ability of PA-MSHA on inhibiting the proliferation of NCI-N87 cells compared with control group($P<0.05$). **CONCLUSION** PA-MSHA can inhibit proliferation, promote apoptosis and inhibit invasion and metastasis of gastric cancer cell line NCI-N87, and its mechanism may be related to PTEN/AKT signaling pathway.

KEYWORDS: *Pseudomonas aeruginosa* mannose-sensitive hemagglutinin(PA-MSHA); gastric cancer; proliferation; apoptosis; signaling pathway

胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 在我国恶性肿瘤中发病率排行第二, 死亡率位居第三^[1]。由于

早期胃癌多无症状或仅有轻微症状, 且缺乏早期诊断的生物标志物, 因此, 胃癌患者确诊时多已

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(81802347); 江苏省社会发展面上项目(BE2019693)

作者简介: 洪义东, 男, 硕士生 Tel: 13675202939 E-mail: hongyidong@163.com *通信作者: 吴风雷, 男, 博士, 副主任医师 Tel: 18961328007 E-mail: wufenglei1981@163.com

处于晚期,错过最佳治疗时机。对于晚期胃癌,目前传统治疗手段以放化疗为主,但总体疗效不佳,5年生存率<20%。虽然2011年TOGA实验后,赫赛汀被批准用于晚期HER2阳性的胃癌人群,但总生存时间仅提高2.7个月^[2]。此外,大部分晚期肿瘤患者免疫功能低下,难以耐受多次放化疗。近几年研究发现,铜绿假单胞菌注射液(*Pseudomonas aeruginosa* mannose-sensitive hemagglutinin, PA-MSHA)具备抑制肿瘤细胞增殖、诱导凋亡及免疫调节等作用^[3-4],在临床应用于乳腺癌、肺癌等治疗中均取得良好效果,并且不良反应轻微,大部分晚期肿瘤患者能耐受^[5-6]。其抗肿瘤细胞增殖的机制可能与PTEN/AKT信号通路有关^[7]。有文献报道,PA-MSHA对胃癌细胞也有抑制作用,但其具体机制尚未阐明^[8]。本实验探讨PA-MSHA对胃癌细胞生长的抑制作用及其机制,以寻找胃癌治疗的新手段,为今后进一步的深入研究提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

NCI-N87细胞(南京贝瑞吉生物科技有限公司);铜绿假单胞菌注射液(商品名万特普安,北京万特生物制药有限公司,批号:20160805;规格:每支1.0 mL,含菌量 $1.8 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$)。RPMI 1640培养基、SDS-PAGE试剂盒(批号:20170926)、Bradford蛋白浓度测定试剂盒(批号:20180307)、MTT试剂盒(批号:20170327)、细胞凋亡测定试剂盒(批号:20181026)均购自南京凯基生物公司。胎牛血清(Clark公司);侵袭小室(Corning公司)。PTEN、AKT、p-AKT单克隆抗体购自CST公司(批号分别是6,27,23)。GAPDH多克隆抗体(Proteintech公司,批号:00047696)。PTEN siRNA由苏州吉码公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 胃癌NCI-N87细胞株培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中,置于37℃、5%CO₂的培养箱中传代培养,每1~2d换液。用0.25%胰蛋白酶消化后按1:3传代。取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 MTT法检测细胞增殖率 取对数生长期细胞用胰酶消化制成单细胞悬液,以 $1 \times 10^5 \cdot \text{mL}^{-1}$ 接种于96孔板中,每孔100 μL,过夜培养。次日细胞贴壁后吸弃上清,分别加入含1%FBS的RPMI

1640培养液和PA-MSHA混合液100 μL。设对照组和不同剂量的实验组,各设6个平行孔。对照组不加药。实验组PA-MSHA浓度分别为 0.25×10^9 , 0.5×10^9 , 1×10^9 , 2×10^9 , 4×10^9 , $8 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。置于培养箱中分别培养24,48,72 h,培养后每孔加入MTT 50 μL,4 h后弃上清。每孔加入150 μL二甲亚砜(DMSO),10 min后于酶标仪上测定560 nm处吸光度(OD)值。增殖率=(实验组平均OD值/对照组平均OD值)×100%。

1.2.3 流式细胞术检测细胞凋亡 NCI-N87细胞在37℃、5%CO₂培养箱培养,观察至胃癌细胞贴壁生长。取对数生长期细胞接种于6孔板。实验组加PA-MSHA浓度分别为 0.25×10^9 , 0.5×10^9 , $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。对照组加RPMI1640培养液,37℃、5%CO₂培养箱培养24 h。消化后离心收集 1×10^5 个细胞,用PBS缓冲液洗涤2次,加入binding buffer重悬细胞后,加入Annexin V-FITC和PI各5 μL,摇匀后避光25℃15 min后进行流式细胞仪检测。

1.2.4 细胞划痕试验 将对数生长期的NCI-N87细胞消化并接种于24孔板,每孔 1×10^5 个,每孔500 μL,均设复孔,继续培养待细胞融合度达70%~80%,PBS洗涤1次,用10 μL移液器吸头垂直于孔底划一条直线,PBS洗去漂浮的细胞,更换培养基,调整PA-MSHA浓度为 0.25×10^9 , 0.5×10^9 , $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。0,48 h在10×倒置显微镜下观察并拍照。利用测量软件分别以各组细胞划痕的初始宽度为计为1,计算各时间点划痕的相对宽度值,并统计分析结果。试验共重复3次,取其平均值。

1.2.5 细胞侵袭试验 细胞用无血清培养基培养24 h后,消化并收集细胞,1%BSA重悬,接种于Transwell小室,每孔 1×10^5 个,每孔150 μL。500 μL RPMI 1640完全培养基加入下层小室,上层PA-MSHA浓度为 0.25×10^9 , 0.5×10^9 , $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。24 h后用棉签轻轻擦去上层小室内的非侵袭性细胞,小室的底侧以结晶紫染色15 min,风干,拍照。每个小室随机拍3张照片。

1.2.6 Western blotting 试验 人胃癌细胞NCI-N87消化计数后在6孔板中每孔接种 5×10^5 个细胞,贴壁培养24 h。分别加入含 0.25×10^9 , 0.5×10^9 , $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ PA-MSHA的RPMI 1640完全培养基培养48 h后,蛋白提取试剂盒提取细胞

蛋白,用BCA法测定每组蛋白质浓度,每孔总蛋白上样量为50 μg,上样后进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),其中浓缩胶浓度为5%,分离胶浓度为10%。电泳后转膜(300 mA,60 min),5% BSA封闭2 h。分别用如下单抗PTEN(1:1 000)、AKT(1:1 000)、p-AKT(1:2 000)4℃过夜,TBST洗膜10 min×3次。用稀释比例为1:5 000的对应二抗室温孵育1 h,TBST洗膜10 min×3次。用电化学发光(ECL)试剂盒进行显色后曝光。

1.2.7 siRNA 转染 取对数生长期的细胞消化接种于24孔板,每孔 1×10^5 个细胞,过夜培养。待细胞融合度为30%~50%时进行转染。转染前细胞用无血清培养基培养2 h。设置PTEN siRNA组(细胞转染靶向PTEN的siRNA)、对照组(细胞转染阴性对照siRNA),以未经处理的细胞作为空白对照组。PTEN siRNA正义链5'-GUAUGACAACAGCCUCAAGTT-3',反义链5'-CUUGAGGCUGUUGUCAUACTT-3';PTEN阴性对照siRNA正义链5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3',反义链5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3'。在50 μL Opti-MEM无血清培养基中加入20 pmol siRNA柔和混匀。用50 μL Opti-MEM无血清培养基稀释1 μL Lipofectamine 2000试剂,轻轻混匀,室温放置5 min。将稀释好的siRNA和Lipofectamine 2000轻柔混匀,室温放置20 min,以便形成siRNA/Lipofectamine复合物。将100 μL siRNA/Lipofectamine复合物加到含有细胞和培养基的培养板中,来回轻柔摇晃细胞培养板。6 h后更换培养基。继续培养48 h后进行MTT试验和Western blotting试验。

1.3 统计学处理

本研究使用SPSS 19.0统计软件处理实验数据,实验组与对照组之间用*t*检验,以*P*<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PA-MSHA对细胞增殖的影响

不同浓度的PA-MSHA(0.25×10^9 , 0.5×10^9 , 1×10^9 , 2×10^9 , 4×10^9 , $8 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$)作用于NCI-N87细胞相同时间时,NCI-N87细胞增殖率明显降低,呈明显的浓度依赖性,PA-MSHA浓度越高,细胞增殖率越低(*P*<0.05);在给予相同浓度PA-MSHA作用不同时间时,随着作用时间的延长,细胞增

殖率逐渐降低,呈时间依赖性(*P*<0.05)。说明PA-MSHA对NCI-N87细胞的抑制作用呈时间-剂量依赖关系,结果见表1。PA-MSHA作用24,48,72 h的 IC_{50} 分别为 1.024×10^9 , 0.684×10^9 和 $0.429 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

表1 经不同浓度PA-MSHA作用不同时间后NCI-N87细胞的增殖率($\bar{x} \pm s$, *n*=4)

Tab. 1 Proliferation rate of NCI-N87 cells treated with PA-MSHA with different concentrations and time($\bar{x} \pm s$, *n*=4)

浓度/ $\times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$	细胞增殖率/%		
	24 h	48 h	72 h
0	100.00±7.87	100.00±4.03	100.00±2.57
0.25	76.56±5.70 ¹⁾	71.79±5.69 ¹⁾	61.71±6.68 ¹⁾³⁾⁴⁾
0.5	55.34±3.17 ¹⁾	51.59±2.50 ¹⁾	46.36±6.47 ¹⁾³⁾
1	44.63±2.50 ¹⁾	40.27±2.11 ¹⁾	30.00±1.51 ¹⁾³⁾⁴⁾
2	38.40±2.33 ¹⁾²⁾	31.02±2.28 ¹⁾²⁾	23.85±4.15 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
4	30.27±1.91 ¹⁾²⁾	23.87±1.93 ¹⁾²⁾	13.50±2.20 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾
8	31.00±2.82 ¹⁾²⁾	19.60±1.62 ¹⁾²⁾³⁾	5.57±0.92 ¹⁾²⁾³⁾⁴⁾

注:与PA-MSHA浓度为 $0 \cdot \text{mL}^{-1}$ 的对照组比较,¹⁾*P*<0.05;与 $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ PA-MSHA组比较,²⁾*P*<0.05;与24 h组比较,³⁾*P*<0.05;与48 h组比较,⁴⁾*P*<0.05。

Note: Compared with PA-MSHA $0 \cdot \text{mL}^{-1}$ group, ¹⁾*P*<0.05; compared with $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ PA-MSHA group, ²⁾*P*<0.05; compared with 24 h group, ³⁾*P*<0.05; compared with 48 h group, ⁴⁾*P*<0.05.

2.2 PA-MSHA对细胞凋亡的影响

对照组细胞凋亡率为(5.83±0.22)%,在以 $0.25 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ PA-MSHA作用24 h后,NCI-N87凋亡比例增高,凋亡率为(9.83±0.12)%,差异有统计学意义(*P*<0.05)。此外,凋亡率随着PA-MSHA的浓度增加而增加,结果见图1。

2.3 PA-MSHA对细胞迁移和侵袭性的影响

划痕试验结果显示,NCI-N87细胞划痕后48 h,实验组的划痕条带愈合速度明显慢于对照组,且浓度越高,划痕愈合越慢,差异有统计学意义(*P*<0.05),结果见图2。侵袭试验结果表明, 0.25×10^9 , 0.5×10^9 , $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ PA-MSHA作用24 h后,穿出小室的细胞数分别为94.33±1.20、85.00±0.58、72.67±1.45,与对照组(104.70±0.88)相比显著减少,差异有统计学意义(*P*<0.05),结果见图3。

2.4 PA-MSHA上调PTEN表达,抑制AKT的磷酸化

与对照组相比,实验组经 0.25×10^9 , 0.5×10^9 , $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ PA-MSHA作用24 h后,PTEN蛋白表达升高,总的AKT水平无明显改变,AKT的磷酸化(p-AKT)水平降低。差异有统计学意义(*P*<0.05)。结果见图4。

2.5 敲低 PTEN 后 PA-MSHA 对细胞增殖的影响

通过 siRNA 转染敲低了 PTEN 表达, 结果见图 5。经 $1 \times 10^9 \cdot \text{mL}^{-1}$ PA-MSHA 作用后, 24 h 和 48 h PTEN siRNA 组的增殖率较对照组显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 结果见图 6。

3 讨论

微生物及其产物作为抗肿瘤的一种治疗手段已有一百多年历史, 然而在临床应用过程中常常伴随着微生物相关的感染或其他不良反应^[9], 这在一定程度上限制了其临床应用。PA-MSHA 是以我国微生物学家牟希亚教授建立的铜绿假单胞菌-甘

露糖敏感血凝菌毛株为载体, 经生物工程技术制备而成^[10]。作为我国自主研发的一种生物制剂, 其安全性好, 不良反应低, 可提高肿瘤患者机体免疫力, 预防感染, 降低感染程度^[11], 已被国家药品监督管理局批准用于恶性肿瘤的辅助治疗。除了调节机体免疫功能, PA-MSHA 还可直接对肿瘤细胞产生杀伤作用。研究表明^[7], 在宫颈癌中, PA-MSHA 可通过提高 PTEN 蛋白表达水平, 抑制 AKT 信号通路的活化, 阻断其下游信号传导, 抑制 HeLa 细胞增殖, 促进凋亡。

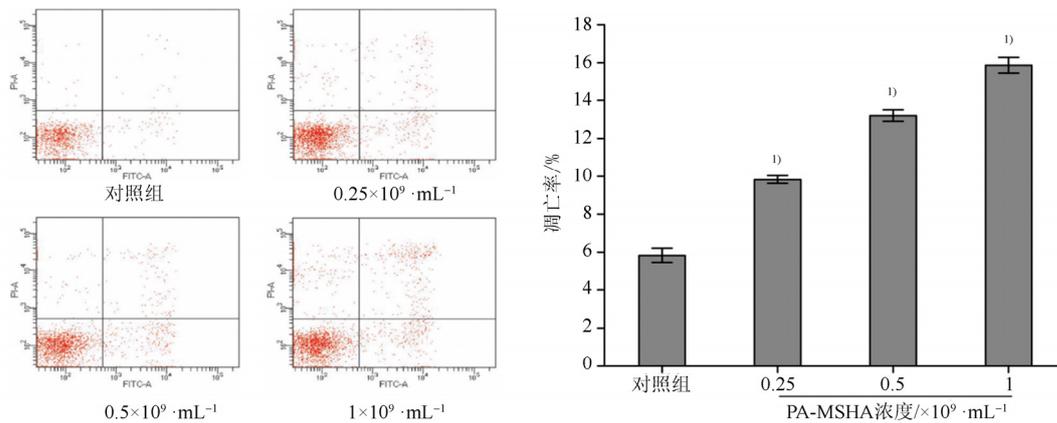


图 1 PA-MSHA 对 NCI-N87 细胞凋亡的影响 ($n=3$)
与对照组比较, $^1P < 0.05$ 。

Fig. 1 Effect of PA-MSHA on the apoptosis of NCI-N87 cells ($n=3$)
Compared with control group, $^1P < 0.05$.

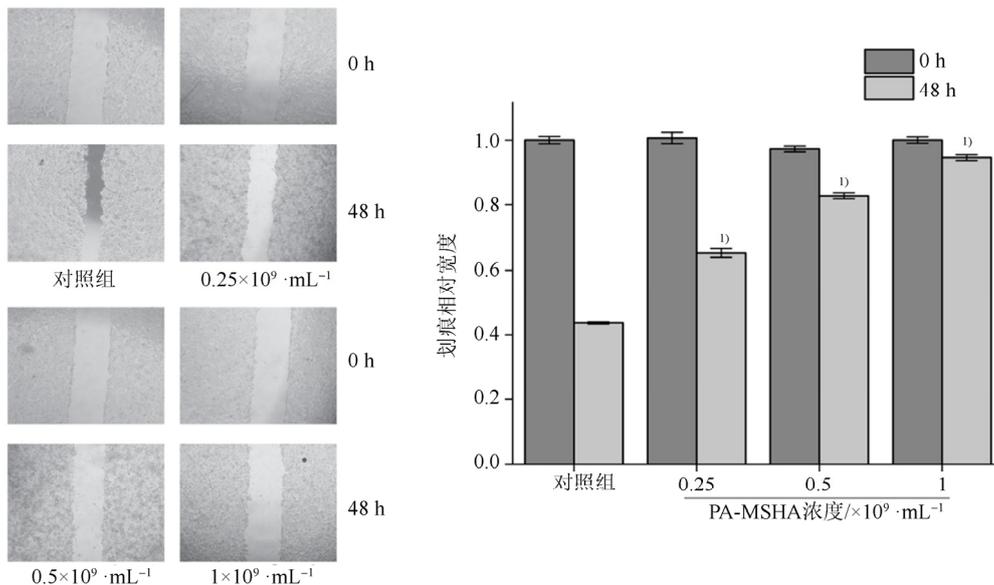


图 2 PA-MSHA 对 NCI-N87 细胞迁移能力的影响 ($n=3$)
与对照组比较, $^1P < 0.05$ 。

Fig. 2 Effect of PA-MSHA on the migration ability of NCI-N87 cells ($n=3$)
Compared with control group, $^1P < 0.05$.

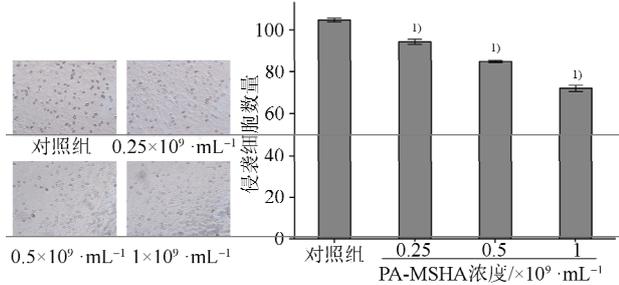


图3 PA-MSHA对NCI-N87细胞侵袭能力的影响($n=3$)
与对照组比较, $^1P<0.05$ 。

Fig. 3 Effect of PA-MSHA on the invasion ability of NCI-N87 cells ($n=3$)
Compared with control group, $^1P<0.05$.

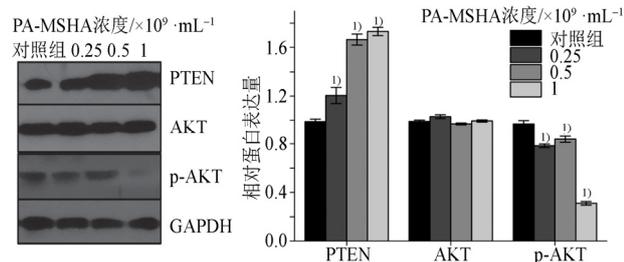


图4 PA-MSHA对相关蛋白表达水平的影响($n=3$)
与对照组比较, $^1P<0.05$ 。

Fig. 4 Effect of PA-MSHA on the expression of relative protein ($n=3$)
Compared with control group, $^1P<0.05$.

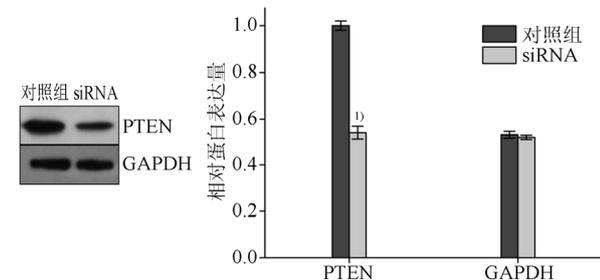


图5 Western blotting检测NCI-N87细胞转染后PTEN蛋白表达($n=3$)
与对照组比较, $^1P<0.05$ 。

Fig. 5 Expression of PTEN in NCI-N87 cells after transfection by Western blotting($n=3$)
Compared with control group, $^1P<0.05$.

本研究同样发现 PA-MSHA 对 NCI-N87 细胞有直接杀伤作用。研究结果提示, PA-MSHA 呈浓度和时间依赖的方式抑制 NCI-N87 细胞增殖, 促进凋亡。进一步机制研究发现, PA-MSHA 可上调 PTEN 蛋白表达, 降低 AKT 蛋白磷酸化水平。这一结果提示 PA-MSHA 可能通过影响 PTEN/AKT 信号通路抑制 NCI-N87 细胞生长。PTEN 作为一种重要的抑癌基因, 主要通过磷酸酶依赖的方式

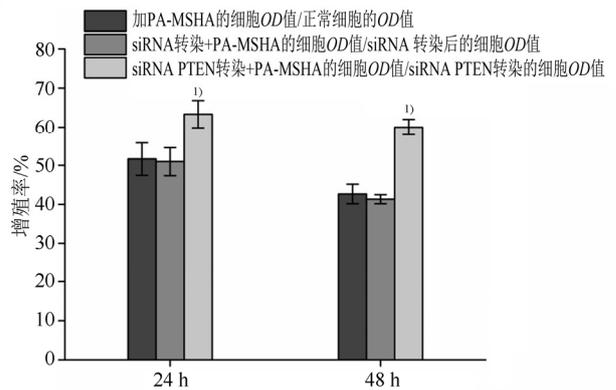


图6 敲低PTEN表达24h和48h后PA-MSHA对细胞增殖的影响($n=3$)

与加PA-MSHA细胞OD值/正常细胞的OD值比较, $^1P<0.05$ 。

Fig. 6 Effect of PA-MSHA on the proliferation of NCI-N87 cells after knocking down PTEN at 24 h and 48 h ($n=3$)
Compared with OD value of cells treated with PA-MSHA/OD value of normal cells, $^1P<0.05$.

对 PI3K/AKT 信号转导通路产生负性调控作用, 具有抑制细胞存活, 促进凋亡等作用。本实验在通过 siRNA 转染敲低 PTEN 蛋白表达后, PA-MSHA 对 NCI-N87 的抑制增殖作用降低。这些结果进一步提示 PTEN 蛋白参与了 PA-MSHA 对 NCI-N87 细胞的生长调控作用。本研究结果与 Yin 等^[7]就 PA-MSHA 抑制宫颈癌 Hela 细胞增殖的作用机制的研究结果类似。

此外, 有研究报道, PA-MSHA 可通过降低基质金属蛋白酶 MMP-2 的表达降低肠癌细胞的转移能力^[12]。本研究的划痕和侵袭试验同样证实了 PA-MSHA 可降低 NCI-N87 细胞的转移和侵袭能力。肠癌和胃癌同为消化系统肿瘤, 可能有着类似的生物学特征, 其具体机制有待进一步研究证实。

综上所述, 本研究证实了 PA-MSHA 可抑制胃癌细胞增殖, 促进其凋亡, 并可能是通过调控 PTEN/AKT 信号通路产生作用, 可能为胃癌的治疗提供了一个新的选择。但此研究尚存不足之处, 只局限于体外研究, 后续将进一步通过体内实验验证。

REFERENCES

- [1] CHEN W Q, SUN K X, ZHENG R S, et al. Cancer incidence and mortality in China, 2014 [J]. Chin J Cancer Res, 2018, 30(01): 1-12.
- [2] BANG Y J, VAN CUTSEM E, FEYEREISLOVA A, et al. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial [J]. Lancet, 2010,

- 376(9742): 687-697.
- [3] LIU Z B, HOU Y F, ZHU J, et al. Inhibition of EGFR pathway signaling and the metastatic potential of breast cancer cells by PA-MSHA mediated by type 1 fimbriae Via a mannose-dependent manner [J]. *Oncogene*, 2010, 29(20): 2996-3009.
- [4] JIA L W, WANG C, KONG H W, et al. Effect of PA-MSHA vaccine on plasma phospholipids metabolic profiling and the ratio of Th2/Th1 cells within immune organ of mouse IgA nephropathy [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2007, 43(2): 646-654.
- [5] CHEN W D, TANG Z H, XU F. Application of PA-MSHA vaccine adjuvant therapy and TAC scheme for treatment of breast carcinoma [J]. *J South Med Univ(南方医科大学学报)*, 2009, 29(6): 1204-1207, 1211.
- [6] ZHAO X M, PAN S Y, HUANG Q L, et al. PA-MSHA in combination with EGFR tyrosine kinase inhibitor: A new strategy to overcome the drug resistance of non-small cell lung cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31): 49384-49396.
- [7] YIN T Q, OUYANG X, JIAO F Y, et al. *Pseudomonas aeruginosa* mannose-sensitive hemagglutinin inhibits proliferation and invasion Via the PTEN/AKT pathway in HeLa cells [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(24): 37121-37131.
- [8] 谢玉权, 郑朝旭, 冯强, 等. 铜绿假单胞菌制剂胃癌细胞抑制作用研究[J]. *中外医疗*, 2009, 28(3): 32-33.
- [9] DANG L H, BETTEGOWDA C, HUSO D L, et al. Combination bacteriolytic therapy for the treatment of experimental tumors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(26): 15155-15160.
- [10] MU X Y. Success in establishing the MSHA-positive *Pseudomonas aeruginosa* fimbrial strain [J]. *Acta Microbiol Sin(微生物学报)*, 1986, 26(2): 176-179.
- [11] LI Z P, HAO D Z, ZHANG H et al. A clinical study on PA-MSHA vaccine used for adjuvant therapy of lymphoma and lung cancer. [J]. *J West China Univ Med Sci(华西医科大学学报)*, 2000, 31(3): 334-337.
- [12] CHEN M, LI L, WANG Y T, et al. The inhibition effect of PA-MSHA on the migration of colon tumor cell HT29 [J]. *J North China Univ Sci Technol Heal Sci Ed(华北理工大学学报: 医学版)*, 2017, 19(5): 343-346.

收稿日期: 2019-01-10

(本文责编: 曹粤锋)