

# The Effect of Arsenic Trioxide on the Expression of Telomerase Reverse Transcriptase mRNA in ACC-2 Cells of Adenoid Cystic Carcinoma

Tao Jiang<sup>1\*</sup>, Jing Jiang<sup>2</sup>, Yang Zhou<sup>1</sup>, Renping Wang<sup>3</sup>, Yi Wang<sup>4</sup>, Lihua Xiao<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

<sup>2</sup>The Infectious Diseases Department, Eastern Branch of the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

<sup>3</sup>Health Examination Center, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong

<sup>4</sup>Institute of Orbital Disease, General Hospital of Armed Police Forces, Beijing

Email: [lanlandetian20000@163.com](mailto:lanlandetian20000@163.com)

Received: Nov. 1<sup>st</sup>, 2016; accepted: Dec. 6<sup>th</sup>, 2016; published: Dec. 9<sup>th</sup>, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> on the expression of telomerase reverse transcriptase mRNA in ACC-2 cells. **METHODS:** ACC-2 cells were cultured. The different drug concentration gradient (0, 1.0, 2.0, 4.0, 8.0 μmol/L) of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> were applied to ACC-2 cells for 24 h and 48 h respectively. The hTERT mRNA expression of ACC-2 cells before and after As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>'s induction was detected by RT-PCR. **RESULTS:** RT-PCR results showed that hTERT mRNA expression was significantly higher in the control group, while after As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> action to ACC-2 cell for 24 h and 48 h, with the increase of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> concentration (1.0 μmol/L, 2.0 μmol/L, 4.0 μmol/L, 8.0 μmol/L), hTERT mRNA expression decreased gradually (P < 0.01). **CONCLUSION:** As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> can induce apoptosis of ACC-2 cells by downregulating hTERT mRNA transcript expression.

## Keywords

Arsenic Trioxide, Adenoid Cystic Carcinoma ACC-2 Cells, Apoptosis, hTERT mRNA

\*通讯作者。

# 三氧化二砷对腺样囊性癌ACC-2细胞的端粒酶逆转录酶mRNA表达的影响

姜涛<sup>1\*</sup>, 姜靖<sup>2</sup>, 周杨<sup>1</sup>, 王仁萍<sup>3</sup>, 王毅<sup>4</sup>, 肖利华<sup>4</sup>

<sup>1</sup>眼科, 青岛大学附属医院, 山东 青岛

<sup>2</sup>东区感染科, 青岛大学附属医院, 山东 青岛

<sup>3</sup>健康查体中心, 青岛大学附属医院, 山东 青岛

<sup>4</sup>北京武警总医院眼眶病研究所, 北京

Email: lanlandetian20000@163.com

收稿日期: 2016年11月1日; 录用日期: 2016年12月6日; 发布日期: 2016年12月9日

## 摘要

目的: 探讨As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对ACC-2细胞端粒酶hTERT mRNA表达的影响。方法: 进行ACC-2细胞培养, 将As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>建立不同药物浓度梯度(0、1.0、2.0、4.0、8.0 μmol/L)分别作用于ACC-2细胞24 h, 48 h, 应用RT-PCR方法, 检测As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用前后, ACC-2细胞的hTERT mRNA表达水平。结果: RT-PCR结果显示, 在未经药物作用、作为对照组的正常培养的ACC-2细胞中, hTERT mRNA呈现明显高表达; 在As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用于ACC-2细胞后24 h与48 h时, 随As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>药物浓度的增高(1.0 μmol/L、2.0 μmol/L、4.0 μmol/L、8.0 μmol/L), hTERT mRNA表达逐渐降低(P < 0.01)。结论: As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可下调ACC-2细胞的hTERT mRNA转录表达, 来诱导ACC-2细胞凋亡。

## 关键词

三氧化二砷(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), 腺样囊性癌ACC-2细胞, 凋亡, 端粒酶hTERT mRNA

## 1. 引言

腺样囊性癌(adenoid cystic carcinoma, ACC)为恶性肿瘤, 其特征为缓慢地局部浸润性生长, 且很容易局部复发与远处转移[1]。ACC恶性程度比较高, 属上皮性肿瘤, 可发生于全身各处, 于眼眶部好发于泪腺[2] [3]。泪腺ACC的平均发病年龄为40岁左右, 女性稍多见, 是一种浸润性极强预后很差的肿瘤, 很难根治, 多数会局部复发, 死亡率较高, 其15年存活率不到20% [4]。ACC的临床治疗一直以来就是一个难点, 化疗的反应率不高, 有针对性的靶向治疗可能是一种选择[5], 寻找有效的化疗药物成为临床基础研究的当务之急。

三氧化二砷(arsenic trioxide, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)是最古老的毒物之一, 无臭无味, 外观为白色霜状粉末, 故称砒霜。作为抗肿瘤药物, 在治疗急性早幼粒细胞白血病方面已较为成熟, 尤其对于复发病例[6] [7] [8]。另外, 还可用于肝癌[9]、肺癌[10]等的治疗。对于ACC的治疗目前仅限于实验室的研究中[11]。

本研究旨在探询端粒酶hTERT-mRNA表达对As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>诱导人腺样囊性癌ACC-2细胞凋亡的影响, 为临床应用提供可靠的理论依据。端粒(telomere)是真核细胞染色体末端的特殊结构, 可稳定染色体的功能, 防止染色体DNA降解、末端融合, 保护染色体结构基因DNA, 调节正常细胞生长。人端粒是由6个碱

基重复序列(TTAGGG)和结合蛋白组成。正常细胞由于线性 DNA 复制 5'末端消失,随着体细胞不断增殖,端粒逐渐缩短,当细胞端粒缩至一定程度,细胞停止分裂,处于静止状态。Counter CM 称端粒为正常细胞的“有丝分裂钟”(mitotic clock) [12],端粒长短和稳定性决定了细胞寿命,并与细胞衰老和癌变密切相关。端粒酶(telomerase)是使端粒延伸的反转录 DNA 合成酶,是由 RNA 和蛋白质组成的核糖核酸-蛋白复合物,其中 RNA 为模板,蛋白具有催化活性,以端粒 3'末端为引物,合成端粒重复序列。主要特征是用自身携带的 RNA 作模板,以 dNTP 为原料,通过逆转录催化合成模板链 5'端 DNA 片段或外加重复单位。端粒酶的活性在真核细胞中可检测到,其功能是合成染色体末端的端粒,使因每次细胞分裂而逐渐缩短的端粒长度得以补偿,进而稳定端粒长度。值得注意的是,恶性肿瘤细胞具有高活性的端粒酶,能维持癌细胞端粒的长度,使其无限制扩增。而正常体细胞的增殖能力则非常有限,其端粒越来越短,端粒酶的活性不高。在端粒结合蛋白质方面,人端粒酶蛋白质部分的催化亚基编码基因也已经被克隆鉴定,命名为人端粒酶逆转录酶(human Telomerase Reverse Transcriptase, hTERT)基因。该基因含有一个端粒酶特异基序(telomerase-specific motif),翻译 48 个氨基酸的蛋白质序列。hTERT 基因仅在肿瘤细胞——永生化的(immortal)细胞中表达,因此, hTERT 基因更显示出肿瘤特异性诊断和治疗的潜在应用价值[13] [14]。

我们前面的研究已经表明,  $As_2O_3$  作用于 ACC-2 细胞,可通过降低线粒体膜电位而引起细胞凋亡 [15]。本部分实验我们针对端粒酶 hTERT mRNA 表达对  $As_2O_3$  诱导人腺样囊性癌 ACC-2 细胞凋亡的影响进行研究,用 RT-PCR 检测端粒酶 hTERT 亚基的表达,从端粒酶角度对  $As_2O_3$  诱导腺样囊性癌 ACC-2 细胞凋亡可能的分子机制进行研究。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验标本、主要试剂、实验仪器

#### 2.1.1. 实验标本

腺样囊性癌 ACC-2 细胞株由青岛大学附属医院中心实验室提供,经细胞复苏, RPMI-1640 + 10% 胎牛血清培养液常规细胞培养, 2~3 天换液或传代一次,取指数生长期细胞用于实验。

#### 2.1.2. 主要试剂

注射用三氧化二砷(Arsenic Trioxide for Injection): 北京双鹭药业股份有限公司。

PrimeScript RT-PCR 试剂盒: 日本 Takara 公司。

引物合成: 由上海生物工程公司合成。

#### 2.1.3. 主要实验仪器

PCR 仪 GeneAMP PCR System 9600: 美国 PE 公司。

Vilber Lourmat 凝胶成像系统: 法国 VILBER LOURMAT 公司。

## 2.2. 实验分组

用 50 ml (25 cm<sup>2</sup>)培养瓶培养 ACC-2 细胞,分为对照组(0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  处理组)、1.0  $\mu\text{mol/L}$ 、2.0  $\mu\text{mol/L}$ 、4.0  $\mu\text{mol/L}$  和 8.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  处理组,分别培养 24 h、48 h。

### 2.3. RT-PCR 检测端粒酶 hTERT mRNA 表达的实验步骤

#### 2.3.1. 总 RNA 抽提

用不含小牛血清的 RPMI 1640 培养液洗涤收集的 ACC-2 细胞 2 次,计数  $5 \times 10^6$  细胞,加入 Eppendorf 管,离心沉淀后加 Trizol 试剂 1 ml,抽提总 RNA。

### 2.3.2. cDNA 链合成

按逆转录试剂盒说明操作。终体积 20  $\mu\text{l}$ ，其中总 RNA 4  $\mu\text{l}$ ，随机引物 1  $\mu\text{l}$ ，5  $\times$  buffer 4  $\mu\text{l}$ ，核糖核酸酶抑制剂(RNasin) 1  $\mu\text{l}$ ，10 mmol/L dNTP 2  $\mu\text{l}$ ，鼠白血病病毒反转录酶(M-MuLVRT) 1  $\mu\text{l}$ ，ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu\text{l}$ 。PCR 扩增仪上运行：25 $^{\circ}\text{C}$  10 分钟，42 $^{\circ}\text{C}$  60 分钟，70 $^{\circ}\text{C}$  10 分钟；4 $^{\circ}\text{C}$  保存。

### 2.3.3. PCR

1) 引物：hTERT 和作为内参照的 hGAPDH PCR 反应寡核苷酸引物由上海 Sangon 合成。

PCR 引物序列		
Primer	primer sequences	product size(bp)
hTERT	5'-ATTGGAATCAGACAGCACTTGAA-3'	165
	5'-TCCCACGACGTAGTCCATGTT-3'	
hGAPDH	5'-TCATGGGTGTGAACCATGAGAA-3'	146
	5'-GGCATGGACTGTGGTCATGAG-3'	

2) PCR 反应体系为 50  $\mu\text{l}$ ，在 200  $\mu\text{l}$  反应管中加入以下试剂

成分	体积
10 $\times$ PCR buffer	5.0 $\mu\text{l}$
10 mM MgCl <sub>2</sub>	5.0 $\mu\text{l}$
10 mM dNTPs	2.0 $\mu\text{l}$
20 mM primer1	2.0 $\mu\text{l}$
20 mM primer2	2.0 $\mu\text{l}$
5U Taq DNA polymerase	1.0 $\mu\text{l}$
cDNA	8.0 $\mu\text{l}$
ddH <sub>2</sub> O	25.0 $\mu\text{l}$

3) PCR 仪 GeneAMP PCR System 9600: 美国 PE 公司。

4) PCR 反应程序如下

Prog1	94 $^{\circ}\text{C}$	5 min	1 cycle
Prog2	95 $^{\circ}\text{C}$	30 s	30 cycles
	58 $^{\circ}\text{C}$	30 s	
	72 $^{\circ}\text{C}$	20 s	
Prog3	72 $^{\circ}\text{C}$	10 min	1 cycle

5) Agarose 电泳及结果分析

取 PCR 扩增产物 5  $\mu\text{l}$  在 1.5% 琼脂凝胶(含 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  溴化乙锭), 90 V 电压下电泳 20~30 min, 用 Vilber Lourmat 凝胶成像系统进行目的基因表达水平分析。

将电泳后的琼脂糖凝胶置于琼脂糖凝胶自动图像分析仪下进行扫描, 然后用 Quantity one 图像分析软件对电泳图进行定量分析, 将所得出的各电泳条带光密度值与同一样品所测出的内参电泳条带的光密度值 OD 进行比较。

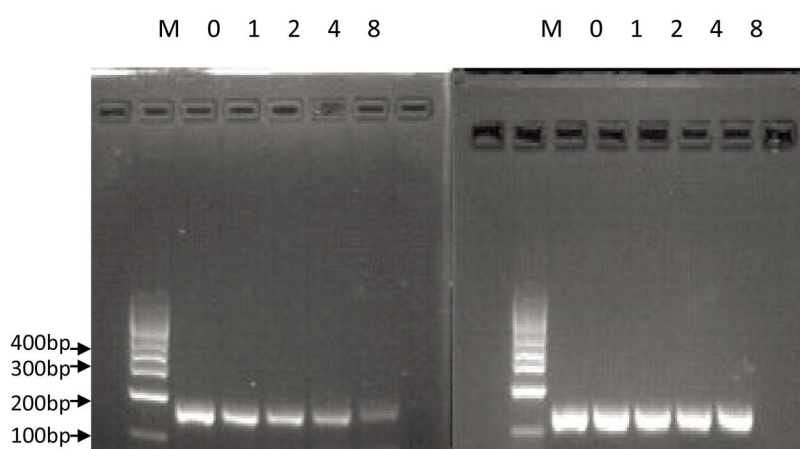
## 2.4. 统计学处理

采用 SPSS19.0 统计学软件处理数据。数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 显著性检验水准  $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$  有统计学意义, 组间比较用方差分析。

## 3. 结果

RT-PCR 结果显示, 在未经药物作用、作为对照组的正常培养的 ACC-2 细胞中, 端粒酶 hTERT 亚基的 mRNA 呈现明显高表达; 在  $As_2O_3$  作用于 ACC-2 细胞后 24 h 与 48 h 时, 随  $As_2O_3$  药物浓度的增高(1.0  $\mu\text{mol/L}$ 、2.0  $\mu\text{mol/L}$ 、4.0  $\mu\text{mol/L}$ 、8.0  $\mu\text{mol/L}$ ), 端粒酶 hTERT 亚基的 mRNA 表达逐渐降低(图 1, 图 2)。

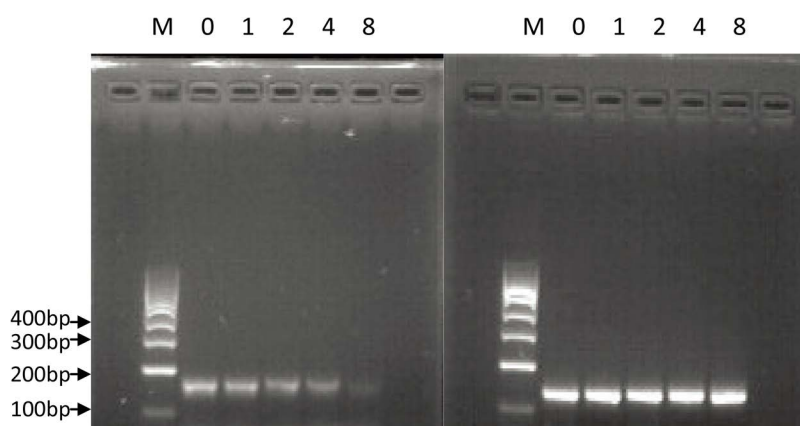
以 hTERT 基因表达的相对光密度值代表 hTERT 基因的表达强度。不同浓度、处理时间 hTERT mRNA 表达量差异有显著统计学意义(24 h,  $F = 322.38$ ,  $P < 0.01$ ; 48 h,  $F = 1730.23$ ,  $P < 0.01$ ; 表 1)。



(M: Marker 0: 对照组 1: 1.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  组, 2: 2.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  组, 4: 4.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  组, 8: 8.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  组) (左图: hTERT; 右图: GAPDH)

**Figure 1.** Expression levels of hTERT mRNA in ACC-2 cells before and after  $As_2O_3$  treatment (24 h)

**图 1.**  $As_2O_3$  作用前、后(24 h)的 ACC-2 细胞 hTERT 的 mRNA 表达水平



(M: Marker 0: 对照组 1: 1.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  组, 2: 2.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  组, 4: 4.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  组, 8: 8.0  $\mu\text{mol/L}$   $As_2O_3$  组) (左图: hTERT; 右图: GAPDH)

**Figure 2.** Expression levels of hTERT mRNA in ACC-2 cells before and after  $As_2O_3$  treatment (48 h)

**图 2.**  $As_2O_3$  作用前、后(48 h)的 ACC-2 细胞 hTERT 的 mRNA 表达水平

**Table 1.** Expression of hTERT mRNA in different concentration and treatment time ( $\bar{x} \pm s$ )**表 1.** 不同浓度、处理时间 hTERT mRNA 表达量( $\bar{x} \pm s$ )

As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 浓度(μmol/L)	处理时间(h)	
	24 h <sup>*</sup>	48 h <sup>#</sup>
0	221.67 ± 5.51	141.00 ± 1.73
1	183.00 ± 8.89	115.33 ± 1.15
2	144.33 ± 7.57	91.73 ± 4.06
4	105.67 ± 5.51	73.70 ± 0.82
8	45.57 ± 4.45	24.77 ± 0.47

经方差分析,\*不同浓度 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用 24 h 的 ACC-2 细胞 hTERT mRNA 表达水平差异有显著统计学意义(F = 322.38, P < 0.01), #不同浓度 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用 48 h 的 ACC-2 细胞 hTERT mRNA 表达水平差异有显著统计学意义(F = 1730.23, P < 0.01)

#### 4. 讨论

端粒酶(Telomerase)是一种核糖核蛋白复合物,在维持端粒长度方面有重要作用。正常人大部分体细胞中检测不到端粒酶[16]。一些良性病变组织[17],体外培养的成纤维细胞中也测不到端粒酶活性。但在生殖细胞睾丸[18]、卵巢[19]、胎盘及胎儿细胞中此酶为阳性。恶性肿瘤细胞具有很高的端粒酶活性,端粒酶阳性的肿瘤有卵巢癌[20]、淋巴瘤[16]、急性白血病[21]、乳腺癌[22]、结肠癌[23]、肺癌[24]等等。端粒酶异常高表达与恶性肿瘤发生、发展及预后密切相关,端粒酶的活性被认为是肿瘤细胞增殖与肿瘤进展的关键因素,还有一些疾病如骨髓衰竭综合征、先天性角化不良、再生障碍性贫血、特发性肺纤维化、肝硬化等也与端粒酶基因突变有关[25] [26],端粒酶活性的调控可能成为这些疾病尤其是恶性肿瘤的治疗方法。人端粒酶包括三种组分:端粒酶 RNA(human telomerase RNA, hTR)、端粒酶逆转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT) [27] [28]及连结二者的端粒酶连结蛋白(telomerase associated protein 1, TP1) [29]。其中 hTERT 与端粒酶活性密切相关,被认为是大多数细胞端粒酶激活的限速酶[30]。

本研究结果发现,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 可以诱导腺样囊性癌 ACC-2 细胞的凋亡,RT-PCR 结果显示,在未经药物作用、作为对照组的正常培养的 ACC-2 细胞中,端粒酶 hTERT 亚基的 mRNA 呈现明显高表达;在 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用于 ACC-2 细胞后 24 h 与 48 h 时,随 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 药物浓度的增高(1.0 μmol/L、2.0 μmol/L、4.0 μmol/L、8.0 μmol/L),端粒酶 hTERT 亚基的 mRNA 表达逐渐降低。端粒酶 hTERT 亚基在 ACC-2 细胞的转录水平高表达,与报道的恶性肿瘤中 hTERT 的高表达相一致[20] [21] [22] [23] [24]。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作为抗肿瘤药物,在转录水平可明显抑制 ACC-2 细胞的 hTERT 表达,并随着药物浓度的增高,ACC-2 细胞的 hTERT 表达逐渐降低。推论 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 可通过抑制 ACC-2 细胞的 hTERT 表达,抑制端粒酶激活,抑制甚至缩短其端粒的长度,引起 ACC-2 细胞生长能力下降,并伴有细胞周期阻滞及细胞凋亡。

端粒酶的活化是一个多步骤、多因素参与的复杂的过程,其活性调控不仅与生长因素有关,而且与一系列癌基因、抑癌基因、蛋白酶类等有关[31]。Bashash D 等[32]的研究证实,抗肿瘤药物、端粒酶抑制剂 BIBR 1532 对急性早幼粒细胞白血病(APL)NB4 细胞的直接短期细胞毒性,就是通过 p21 的诱导、bax/bcl-2 平衡比率失衡以及下调 c-myc 和 hTERT 的转录来实现的。Huang ST 等[33]的研究发现,黄芩中的活性化合物-汉黄芩素可诱导人粒细胞性白血病细胞(HL-60 细胞)凋亡,他们认为,这种抑制 HL-60 细胞生长的作用就是部分通过 bax/bcl-2 细胞凋亡诱导途径,以及通过抑制 hTERT 启动子介导的 c-myc 基因来抑制端粒酶活性而实现的。Park SE 等[34]的研究发现,蛹虫草水提取物可诱导人肺癌 A549 细胞凋亡,通过下调人端粒酶逆转录酶(hTERT),c-myc 和 Sp1 表达,产生剂量依赖性端粒酶活性抑制。他们认为,蛹虫草水提取物通过外在的信号级联的死亡受体介导途径和内在的线粒体介导的 caspase 途径诱导

A549 细胞凋亡。也可得出蛹虫草水提取物所致的凋亡是通过抑制 hTERT 的转录活性, 从而降低端粒酶活性所致的结论。Yang SM 等[35]的研究则从另一个角度提出了治疗恶性肿瘤的思路, 他们在体外, 用反义 hTERT 基因(ahTERT)真核表达载体, 通过基因重组技术转染人胃癌 SGC-7901 细胞株, 结果表明, ahTERT 转染后, SGC-7901 细胞的增殖显著受到抑制。进一步研究表明, 在 ahTERT 转染的 SGC-7901 细胞中, 其端粒酶活性, 端粒长度, hTERT 基因、bcl-2 基因和 c-myc 基因的 mRNA 和蛋白表达下降。但是, 人类端粒酶 RNA(HTR)和端粒酶相关蛋白 1 (TP1)的转录在转染细胞和未转染细胞中无明显影响。流式细胞仪分析显示, 在 ahTERT 转染的细胞, 其 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期积聚, 增殖指数(PI)下降。此外, 在裸鼠皮下注射 ahTERT 转染的细胞后发现无致瘤性, 而在注射对照未转染的细胞的小鼠中, 可观察到可触及的肿瘤。研究表明, 外源性 ahTERT 可以抑制增殖, 通过抑制端粒酶活性、端粒酶逆转录酶、c-myc 和 bcl-2 表达, 而部分逆转 SGC-7901 细胞的恶性表型。针对 hTERT 的反义技术, 可能是一个潜在的胃癌治疗方法。我们的研究也证实, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 可通过下调 ACC-2 细胞的 hTERT mRNA 转录表达, 来诱导 ACC-2 细胞凋亡。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 可能通过癌基因、抑癌基因、蛋白酶类的多步骤、多因素参与的复杂过程, 来调控腺样囊性癌 ACC-2 细胞端粒酶活性, 从而诱导 ACC-2 细胞凋亡, 发挥其抗癌作用。

hTERT 的调控因子很多, 包括正相调节因子和负相调节因子, 且这些调节因子间可能存在协同或拮抗作用。从上面的讨论中可以看出, bcl-2、c-myc 可能是 hTERT 的正相调节因子, 对 hTERT 起协同作用。

综上所述, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 可通过下调 ACC-2 细胞 hTERT mRNA 转录表达, 来诱导 ACC-2 细胞凋亡。

## 基金项目

山东省自然科学基金资助项目(No. ZR2012HM062)。

## 参考文献 (References)

- [1] Jaso, J. and Malhotra, R. (2011) Adenoid Cystic Carcinoma. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*, **135**, 511-515.
- [2] Boukheris, H., Curtis, R.E., Land, C.E. and Dores, G.M. (2009) Incidence of Carcinoma of the Major Salivary Glands according to the WHO Classification, 1992 to 2006: A Population-Based Study in the United States. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, **18**, 2899-2906. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-09-0638>
- [3] Saito, M., Nishiyama, H., Maruyama, S., Oda, Y., Saku, T. and Hayashi, T. (2008) Adenoid Cystic Carcinoma of Sublingual Gland Involving the Submandibular Duct. *Dentomaxillofacial Radiology*, **37**, 421-424. <https://doi.org/10.1259/dmfr/31299961>
- [4] Al-Khateeb, T.H. and Ababneh, K.T. (2007) Salivary Tumors in North Jordanians: A Descriptive Study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, **103**, e53-59. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2006.11.017>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Salivary+tumors+in+north+Jordanians%3A+a+descriptive+study>
- [5] de Oliveira, F.A., Duarte, E.C., Taveira, C.T., Máximo, A.A., de Aquino, E.C., Alencar Rde, C. and Vencio, E.F. (2009) Salivary Gland Tumor: A Review of 599 Cases in a Brazilian Population. *Head and Neck Pathology*, **3**, 271-275. <https://doi.org/10.1007/s12105-009-0139-9>
- [6] Fujii, Y., Masuda, M., Hirokawa, M., Matsushita, K. and Hasegawa, H. (1991) Bilateral Renal Metastases of Lung Adenoid Cystic carcinoma. *Hinyokika Kyo*, **37**, 1307-1311. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1661561>
- [7] Campistron, M., Rouquette, I., Courbon, F., Chabbert, V., Rochaix, P., Prévot, G., Laroumagne, S., Têtu, L., Didier, A. and Mazières, J. (2008) Adenoid Cystic Carcinoma of the Lung: Interest of 18FDG PET/CT in the Management of an Atypical Presentation. *Lung Cancer*, **59**, 133-136. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.06.002>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Adenoid+cystic+carcinoma+of+the+lung%3A+interest+of+18FDG+PET%2FCT+in+the+management+of+an+atypical+presentation>
- [8] Yurut-Caloglu, V., Caloglu, M., Ozyilmaz, F., Saynak, M., Cosar-Alas, R., Karagol, H., Bayir-Angin, G. and Uzal, C. (2007) Lung, Bone, Skeletal Muscles and Cutaneous Metastases from Adenoid Cystic Carcinoma of the Parotid Gland: A Case Report and Review of the Literature. *Medical Oncology*, **24**, 458-462.

- <https://doi.org/10.1007/s12032-007-0016-x>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Lung%2C+bone%2C+skeletal+muscles+and+cutaneous+metastases+from+adenoid+cystic+carcinoma+of+the+parotid+gland%3A+a+case+report+and+review+of+the+literature>
- [9] Yokouchi, H., Otsuka, Y., Otoguro, Y., Takemoto, N., Ito, K., Uchida, Y., Okamoto, K., Nishimura, M., Kimura, K. and Kaji, H. (2007) Primary Peripheral Adenoid Cystic Carcinoma of the Lung and Literature Comparison of Features. *Internal Medicine*, **46**, 1799-1803.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Primary+peripheral+adenoid+cystic+carcinoma+of+the+lung+and+literature+comparison+of+features>
- [10] Aubry, M.C., Heinrich, M.C., Molina, J., Lewis, J.E., Yang, P., Cassivi, S.D. and Corless, C.L. (2007) Primary Adenoid Cystic Carcinoma of the Lung: Absence of KIT Mutations. *Cancer*, **110**, 2507-2510.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Primary+adenoid+cystic+carcinoma+of+the+lung%3A+absence+of+KIT+mutations>  
<https://doi.org/10.1002/cncr.23075>
- [11] Haresh, K.P., Prabhakar, R., Rath, G.K., Sharma, D.N., Julka, P.K. and Subramani, V. (2008) Adenoid Cystic Carcinoma of the Trachea Treated with PET-CT Based Intensity Modulated Radiotherapy. *Journal of Thoracic Oncology*, **3**, 793-795. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e31817c9245>
- [12] Counter, C.M. (1996) The Roles of Telomeres and Telomerase in Cell Life Span. *Mutation Research*, **366**, 45-63.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8921986>  
[https://doi.org/10.1016/S0165-1110\(96\)90006-8](https://doi.org/10.1016/S0165-1110(96)90006-8)
- [13] Kirkpatrick, K.L. and Mokbel, K. (2001) The Significance of Human Telomerase Reverse Transcriptase (hTERT) in Cancer. *European Journal of Surgical Oncology*, **27**, 754-760. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11735173>  
<https://doi.org/10.1053/ejso.2001.1151>
- [14] Ducrest, A.L., Szutorisz, H., Lingner, J. and Nabholz, M. (2002) Regulation of the Human Telomerase Reverse Transcriptase Gene. *Oncogene*, **21**, 541-552. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1205081>  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Ducrest+AL%2C+Szutorisz+H%2C+Lingner+J%2C+Nabholz+M>
- [15] 欧阳艳艳, 姜涛, 高萌, 肖利华, 周杨, 顿月丽, 赵桂秋, 刘世海, 梁晔. Δψm 和 Caspase 3 在 As2O3 诱导腺样囊性癌 ACC-2 细胞凋亡过程中的作用[J]. 国际眼科杂志, 2014, 14(2): 232-235.
- [16] Bougel, S., Renaud, S., Braunschweig, R., Loukinov, D., Morse, H.C., Bosman, F.T., Lobanekov, V. and Benhattar, J. (2010) PAX5 Activates the Transcription of the Human Telomerase Reverse Transcriptase Gene in B Cells. *Journal of Pathology*, **220**, 87-96. <https://doi.org/10.1002/path.2620>
- [17] Dowdy, S.C., O'Kane, D.J., Keeney, G.L., Boyd, J. and Podratz, K.C. (2001) Telomerase Activity in Sex Cord-Stromal Tumors of the Ovary. *Gynecologic Oncology*, **82**, 257-260.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Telomerase+activity+in+sex+cord-stromal+tumors+of+the+ovary>  
<https://doi.org/10.1006/gyno.2001.6293>
- [18] Riou, L., Bastos, H., Lassalle, B., Coureuil, M., Testart, J., Boussin, F.D., Allemand, I. and Fouchet, P. (2005) The Telomerase Activity of Adult Mouse Testis Resides in the Spermatogonial Alpha6-Integrin-Positive Side Population Enriched in Germinal Stem Cells. *Endocrinology*, **146**, 3926-3932.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=The+telomerase+activity+of+adult+mouse+testis+resides+in+the+spermatogonial+alpha6-integrin-positive+side+population+enriched+in+germinal+stem+cells>  
<https://doi.org/10.1210/en.2005-0502>
- [19] Misiti, S., Nanni, S., Fontemaggi, G., Cong, Y.S., Wen, J., Hirte, H.W., Piaggio, G., Sacchi, A., Pontecorvi, A., Bacchetti, S. and Farsetti, A. (2000) Induction of hTERT Expression and Telomerase Activity by Estrogens in Human Ovary Epithelium Cells. *Molecular and Cellular Biology*, **20**, 3764-3771.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Induction+of+hTERT+expression+and+telomerase+activity+by+estrogen+in+human+ovary+epithelium+cells>  
<https://doi.org/10.1128/MCB.20.11.3764-3771.2000>
- [20] Gan, Y., Mo, Y., Johnston, J., Lu, J., Wientjes, M.G. and Au, J.L. (2002) Telomere Maintenance in Telomerase-Positive Human Ovarian SKOV-3 Cells Cannot Be Retarded by Complete Inhibition of Telomerase. *FEBS Letters*, **527**, 10-14.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Telomere+maintenance+in+telomerase-positive+human+ovarian+SKOV-3+cells+cannot+be+retarded+by+complete+inhibition+of+telomerase>  
[https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(02\)03141-1](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(02)03141-1)
- [21] Nakajima, A., Tauchi, T., Sashida, G., Sumi, M., Abe, K., Yamamoto, K., Ohyashiki, J.H. and Ohyashiki, K. (2003) Telomerase Inhibition Enhances Apoptosis in Human Acute Leukemia Cells: Possibility of Antitelomerase Therapy. *Leukemia*, **17**, 560-567.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Telomerase+inhibition+enhances+apoptosis+in+human+acute+leukemia>



- [+cells%3A+possibility+of+antitelomerase+therapy  
https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402825](https://doi.org/10.1038/sj.leu.2402825)
- [22] Kammori, M., Izumiyama, N., Hashimoto, M., Nakamura, K., Okano, T., Kurabayashi, R., Naoki, H., Honma, N., Ogawa, T., Kaminishi, M. and Takubo, K. (2005) Expression of Human Telomerase Reverse Transcriptase Gene and Protein, and of Estrogen and Progesterone Receptors, in Breast Tumors: Preliminary Data from Neo-Adjuvant Chemotherapy. *International Journal of Oncology*, **27**, 1257-1263. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Expression+of+human+telomerase+reverse+transcriptase+gene+and+protein%2C+and+of+estrogen+and+progesterone+receptors%2C+in+breast+tumors%3A+preliminary+data+from+neo-adjuvant+chemotherapy> <https://doi.org/10.3892/ijco.27.5.1257>
- [23] Sanz-Casla, M.T., Vidaurreta, M., Sanchez-Rueda, D., Maestro, M.L., Arroyo, M. and Cerdán, F.J. (2005) Telomerase Activity as a Prognostic Factor in Colorectal Cancer. *Onkologie*, **28**, 553-557. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16249640> <https://doi.org/10.1159/000088525>
- [24] Hsu, C.P., Ko, J.L., Shai, S.E. and Lee, L.W. (2007) Modulation of Telomere Shelterin by TRF1 [Corrected] and TRF2 Interacts with Telomerase to Maintain the Telomere Length in Non-Small Cell Lung Cancer. *Lung Cancer*, **58**, 310-316. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Modulation+of+telomere+shelterin+by+TRF1+%5Bcorrected%5D+and+TRF2+interacts+with+telomerase+to+maintain+the+telomere+length+in+non-small+cell+lung+cancer> <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.06.019>
- [25] Hartmann, D., Srivastava, U., Thaler, M., Kleinhans, K.N., N'kontchou, G., Scheffold, A., Bauer, K., Kratzer, R.F., Kloos, N., Katz, S.F., Song, Z., Begus-Nahrmann, Y., Kleger, A., von Figura, G., Strnad, P., Lechel, A., Günes, C., Potthoff, A., Deterding, K., Wedemeyer, H., Ju, Z., Song, G., Xiao, F., Gillen, S., Schrezenmeier, H., Mertens, T., Ziol, M., Friess, H., Jarek, M., Manns, M.P., Beaugrand, M. and Rudolph, K.L. (2011) Telomerase Gene Mutations Are Associated with Cirrhosis Formation. *Hepatology*, **53**, 1608-1617. <https://doi.org/10.1002/hep.24217>
- [26] Calado, R.T., Regal, J.A., Kleiner, D.E., Schrupp, D.S., Peterson, N.R., Pons, V., Chanock, S.J., Lansdorp, P.M. and Young, N.S. (2009) A Spectrum of Severe Familial Liver Disorders Associate with Telomerase Mutations. *PLoS ONE*, **4**, e7926. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0007926>
- [27] Pendino, F., Tarkanyi, I., Dudognon, C., Hillion, J., Lanotte, M., Aradi, J. and Ségal-Bendirdjian, E. (2006) Telomeres and Telomerase: Pharmacological Targets for New Anticancer Strategies? *Current Cancer Drug Targets*, **6**, 147-180. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16529544> <https://doi.org/10.2174/156800906776056482>
- [28] Swanberg, S.E., Payne, W.S., Hunt, H.D., Dodgson, J.B. and Delany, M.E. (2004) Telomerase Activity and Differential Expression of Telomerase Genes and c-Myc in Chicken Cells *in Vitro*. *Developmental Dynamics*, **231**, 14-21. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Telomerase+activity+and+differential+expression+of+telomerase+genes+and+c-myc+in+chicken+cells+in+vitro> <https://doi.org/10.1002/dvdy.20149>
- [29] Bhattacharyya, S., Keirse, J., Russell, B., Kavecansky, J., Lillard-Wetherell, K., Tahmaseb, K., Turchi, J. and Groden, J. (2009) Telomerase-Associated Protein 1, HSP90, and Topoisomerase IIAlpha Associate Directly with the BLM Helicase in Immortalized Cells Using ALT and Modulate Its Helicase Activity Using Telomeric DNA Substrates. *Journal of Biological Chemistry*, **284**, 14966-14977. <https://doi.org/10.1074/jbc.M900195200>
- [30] Kim, H.R., Christensen, R., Park, N.H., Sapp, P., Kang, M.K. and Park, N. (2001) Elevated Expression of hTERT Is Associated with Dysplastic Cell Transformation during Human Oral Carcinogenesis *in Situ*. *Clinical Cancer Research*, **7**, 3079-3086. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11595698>
- [31] Xu, D., Popov, N., Hou, M., Wang, Q., Bjrkholm, M., Gruber, A., Menkel, A. and Henriksson, M. (2001) Switch from Myc/Max to Mad1/Max Binding and Decrease in Histone Acetylation at the Telomerase Reverse Transcriptase Promoter during Differentiation of HL60 Cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **98**, 3826-3831. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Switch+from+Myc%2FMax+to+Mad1%2FMax+binding+and+decrease+in+histone+acetylation+at+the+telomerase+reverse+transcriptase+promoter+during+differentiation+of+HL60+cells> <https://doi.org/10.1073/pnas.071043198>
- [32] Bashash, D., Ghaffari, S.H., Zaker, F., Hezave, K., Kazerani, M., Ghavamzadeh, A., Alimoghaddam, K., Mosavi, S.A., Gharehbaghian, A. and Vossough, P. (2012) Direct Short-Term Cytotoxic Effects of BIBR 1532 on Acute Promyelocytic Leukemia Cells through Induction of p21 Coupled with Downregulation of c-Myc and hTERT Transcription. *Cancer Investigation*, **30**, 57-64. <https://doi.org/10.3109/07357907.2011.629378>
- [33] Huang, S.T., Wang, C.Y., Yang, R.C., Chu, C.J., Wu, H.T. and Pang, J.H. (2010) Wogonin, an Active Compound in *Scutellaria baicalensis*, Induces Apoptosis and Reduces Telomerase Activity in the HL-60 Leukemia Cells. *Phytome-*

*dicine*, **17**, 47-54. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2009.06.005>

- [34] Park, S.E., Yoo, H.S., Jin, C.Y., Hong, S.H., Lee, Y.W., Kim, B.W., Lee, S.H., Kim, W.J., Cho, C.K. and Choi, Y.H. (2009) Induction of Apoptosis and Inhibition of Telomerase Activity in Human Lung Carcinoma Cells by the Water Extract of *Cordyceps militaris*. *Food and Chemical Toxicology*, **47**, 1667-1675. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.04.014>
- [35] Yang, S.M., Fang, D.C., Yang, J.L., Chen, L., Luo, Y.H. and Liang, G.P. (2008) Antisense Human Telomerase Reverse Transcriptase Could Partially Reverse Malignant Phenotypes of Gastric Carcinoma Cell Line *in Vitro*. *European Journal of Cancer Prevention*, **17**, 209-217. <https://doi.org/10.1097/CEJ.0b013e3282b71f0d>

**期刊投稿者将享受如下服务:**

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: [hjo@hanspub.org](mailto:hjo@hanspub.org)