

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.02.010

· 基础研究 ·

槲皮素对人小细胞肺癌 H446 细胞增殖和凋亡的影响

刘涛,张雅雅,许英艺,包传恩(解放军第174医院,厦门大学附属成功医院肿瘤科,福建厦门361001)

[摘要] **目的:**观察槲皮素(Quercetin)对人小细胞肺癌 H446 细胞凋亡的影响,并初步探讨其可能的作用机制。**方法:**MTT 法检测 20、40、80、160、200 $\mu\text{mol/L}$ 槲皮素对 H446 细胞增殖的抑制作用,共聚焦显微镜观察 100、200 $\mu\text{mol/L}$ 槲皮素处理 48 h 对 H446 细胞增殖的影响,流式细胞术检测槲皮素对 H446 细胞凋亡和细胞周期的影响,Western blotting 检测槲皮素对 H446 细胞内 P53、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响。**结果:**槲皮素对 H446 细胞的增殖抑制具有显著的剂量和时间依赖性 ($P < 0.05$),在 12、24、48 及 72 h 四个时间点,槲皮素作用于 H446 细胞的 IC_{50} 值分别为(172.2 \pm 2.6)、(102.4 \pm 5.3)、(68.6 \pm 2.7)及(48.8 \pm 1.9) $\mu\text{mol/L}$ 。槲皮素处理后,随着 H446 细胞密度的降低,细胞核部分皱缩并裂解为凋亡小体,其对 H446 细胞的促凋亡作用呈现出显著的剂量依赖性,40 $\mu\text{mol/L}$ 组 H446 细胞的凋亡率即显著高于对照组[(8.3 \pm 0.4)% vs (4.0 \pm 0.5)%; $P < 0.01$],当药物浓度达到 200 $\mu\text{mol/L}$ 时凋亡率达到最高。槲皮素能将 H446 细胞周期特异性地阻滞于 G_2/M 期。与对照组相比,200 $\mu\text{mol/L}$ 槲皮素处理组 P53[(4.98 \pm 0.91) vs (0.68 \pm 0.26)], $P < 0.01$ 和 Bax 蛋白[(4.26 \pm 0.23) vs (0.89 \pm 0.29)], $P < 0.01$ 表达显著升高,Bcl-2 蛋白表达[(0.36 \pm 0.06) vs (8.23 \pm 1.65)], $P < 0.01$ 显著下降。**结论:**槲皮素能够抑制 H446 细胞的增殖并促进其凋亡,其机制可能与调控 Bax、p53 和 Bcl-2 等细胞凋亡相关蛋白有关。

[关键词] 小细胞肺癌;H446 细胞;槲皮素;凋亡;增殖;Bax;P53;Bcl-2

[中图分类号] R734.2; R730.59

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)02-0169-06

Effects of Quercetin on the proliferation and apoptosis of human small cell lung cancer H446 cells

Liu Tao, Zhang Yaya, Xu Yingyi, Bao Chuanen (Department of Oncology, The Chenggong Hospital Affiliated to Xiamen University, the No. 174 Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Xiamen 361003, Fujian, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Quercetin on the apoptosis of small cell lung cancer cell lines H446, and investigate the potential mechanism. **Methods:** After the treatment of 100 $\mu\text{mol/L}$ and 200 $\mu\text{mol/L}$ quercetin 48 h, confocal microscope was introduced to observe the effect of quercetin on proliferation of H446 cell. MTT assay was used to detect the anti-proliferative effect of quercetin on H446 cells. Flow cytometry was used to detect the influence of quercetin on the cell cycle of H446 cells. The expressions of apoptosis-related proteins P53, Bcl-2 and Bax in H446 cells were determined by Western blotting. **Results:** After treated with quercetin, nuclear became shrinkage and was divided into a serial of apoptotic bodies as the density of H446 cell decreased. Quercetin inhibited proliferation of H446 cells in a significant dose-dependent ($P < 0.05$) and time-dependent ($P < 0.05$) manner. After treated with quercetin for 12, 24, 48 and 72 h, its IC_{50} value to H446 cells were (172.2 \pm 2.6), (102.4 \pm 5.3), (68.6 \pm 2.7) and (48.8 \pm 1.9) $\mu\text{mol/L}$ respectively. Quercetin promoted the apoptosis of H446 cells in a significant dose-dependent manner. The apoptosis rate of H446 cell in 40 $\mu\text{mol/L}$ quercetin group was higher than that of the control group [(8.3 \pm 0.4)% vs (4.0 \pm 0.5)%, $P < 0.01$]. When the concentration was arrived at 200 $\mu\text{mol/L}$, the apoptosis rate achieved the highest. Quercetin caused cell cycle arrest of H446 at the G_2/M phase. Compared with the control group, the expressions of P53 [(4.98 \pm 0.91) vs (0.68 \pm 0.26)], $P < 0.01$ and Bax [(4.26 \pm 0.23) vs (0.89 \pm 0.29)], $P < 0.01$ were significantly higher in 200 $\mu\text{mol/L}$ quercetin group, meanwhile, the Bcl-2 expression decreased significantly [(0.36 \pm 0.06) vs (8.23 \pm 1.65)],

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81101758)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81101758)

[作者简介] 刘涛(1986-),男,福建省厦门市人,学士,主要从事肿瘤内科基础及临床研究。E-mail: xlb121021@163.com

[通信作者] 陈玉强(Chen Yuqiang, corresponding author), E-mail: chenylq707@163.com

$P < 0.01$)。 **Conclusion:** Quercetin can inhibit the proliferation of H446 cells and promote it apoptosis, and the potential mechanism is probably related with regulation of apoptosis-related proteins such as Bax, P53 and Bcl-2.

[**Key words**] small cell lung cancer; H446 cell; quercetin; apoptotic; proliferation; Bax; P53; Bcl-2

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(2): 169-174]

小细胞肺癌(small cell lung cancer, SCLC)约占所有肺癌的 15% ~ 20%, 是具有高度化疗敏感性的肿瘤, 以顺铂-依托泊苷联合用药的化疗方式仍然是最基础的治疗方案^[1-2]。但由于其较高的复发率和复发后广泛产生耐药性, 常给患者的二次治疗带来很大的困难。SCLC 化疗耐药性的机制十分复杂, 目前尚不完全清楚, 有观点认为其可能与凋亡、DNA 修复异常、细胞内药物异常积累等多种因素相关^[3-4]。

槲皮素(Quercetin)是多种中草药的有效成分, 具有非常广泛的生理和药理活性, 近年来, 槲皮素对肿瘤的预防和治疗作用正日益受到人们的关注^[5-6]。有关槲皮素对人 SCLC 细胞 H446 的研究尚未见报道。本课题研究了槲皮素对 H446 细胞增殖和凋亡的影响, 并探讨其可能的机制, 为其在抗肿瘤临床应用提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

人小细胞肺癌 H446 细胞购自北京协和细胞库。DMEM 培养基、槲皮素、DAPI 及胎牛血清购于上海生工公司, Bcl-2、Bax 及 P53 的一抗为鼠抗体, 购自 Abcam 公司; 二抗为兔抗 IgG, 购自 DAKO 公司。Western blotting 所用试剂均购自 Bio-Rad Laboratories 公司, 蛋白 Marker 购自 Fermentas 公司。Annexin V-FITC/PI 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司。

倒置荧光显微镜(ZEISS NX-10)购于德国蔡司公司, 流式细胞仪(Altra)购于美国贝克曼库尔特公司, 多功能酶标仪(MK3)购于美国赛默飞公司。

1.2 H446 细胞的培养

从液氮罐中取出冻存管, 投入 37 °C ~ 40 °C 温水中快速解冻。细胞使用 DMEM 培养基加 10% 胎牛血清在 5% CO₂、37 °C、饱和湿度下培养, 细胞长到 70% ~ 80% 时传代, 用 0.25% 的胰蛋白酶消化, 并按 1:3 的比例传代。2 ~ 3 d 传代 1 次。

1.3 MTT 法检验槲皮素对 H446 细胞增殖的影响

收集对数生长期的 H446 细胞制成单细胞悬液, 以 6×10^4 个/ml 接种于 96 孔板中, 每孔 100 μ l, 设 3 孔为无细胞空白对照。细胞于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后, 分别加入 0、20、40、80、160、

200 μ mol/L 的槲皮素, 继续培养 72 h, 期间连续收取 12、24、48 及 72 h 四个时间点的细胞进行 MTT 检测。酶标仪测定波长为 595 nm 处的光密度(D)值, 实验设 5 个复孔, 取平均值计算肿瘤细胞生长的抑制率。抑制率(%) = (阴性对照组 D 值 - 实验组 D 值) / (阴性对照组 D 值 - 空白组 D 值) \times 100%。

1.4 激光共聚焦显微镜观察槲皮素作用后 H446 细胞形态的改变

细胞形态观察实验于共聚焦显微镜上完成。将对数生长期的 H446 细胞接种于置有一张盖玻片的培养皿中, 于不同培养皿里分别加入 100、200 μ mol/L 的槲皮素, 并于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h, 以加等量 DMSO 的细胞为对照组。取盖玻片加少量 100 μ g/ml 的 DAPI 染液浸泡 5 min, 用 PBS 洗涤 3 遍, 用封片剂将盖玻片固定于载玻片上进行观察。

1.5 流式细胞术检测槲皮素对 H446 细胞凋亡和细胞周期的影响

细胞凋亡和周期培养条件与 MTT 检测相同, 槲皮素设置 6 个浓度梯度, 分别为 20、40、80、160、200 μ mol/L, 以等量的 DMSO 为对照组。周期分析方法: 收集经槲皮素作用 48 h 后的细胞和相应溶剂 PBS 处理 48 h 后的细胞, PBS 清洗细胞 3 遍, 用 4 °C 预冷的 70% 乙醇固定细胞过夜。取固定处理后的细胞离心, 于 100 μ g/ml 的 PI 染液中染色 5 min, 离心收集细胞, 用 PBS 反复洗涤 3 遍后进行周期检测。凋亡分析方法: 按照 Annexin V-FITC/PI 试剂盒说明书对细胞进行染色, 进行凋亡检测。

1.6 Western blotting 检测槲皮素对 H446 细胞 P53、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

分别用 20、40、80、160、200 μ mol/L 的槲皮素处理 H446 细胞 24 h, 等量 PBS 作为阴性对照。细胞于 4 °C 裂解液中裂解 5 ~ 10 min 后收集于 1.5 ml 离心管中, 冰浴超声裂解细胞 10 次, 每次 1 s, 得到的细胞裂解液于 4 °C、1 1000 \times g 离心 15 min, 取上清测定蛋白质浓度, 调整各组蛋白浓度一致后进行 SDS-PAGE。电泳后, 经过 100 V 电转 1 h 至硝酸纤维素(PVDF)膜, 将膜以 5% BSA 室温封闭 1 h, 一抗(体积比 1:1 000 稀释)室温孵育 2 h, TBST 洗涤 3 次, 每次 10 min; 二抗(体积比 1:5 000 稀释)室温

孵育 1 h, 用 TBST 洗涤。最后, PVDF 膜用增强型化学发光剂(ECL)溶液浸润, 显影观察。

1.7 统计学处理

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 8.0 统计软件, 多组间均数比较采用 F 检验, 组间两两比较用单因素方差分析(One-way ANOVA)。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对 H446 细胞增殖的抑制作用

MTT 法检测结果(图 1)显示, 槲皮素对 H446 细胞的增殖抑制率具有显著的剂量和时间依赖性。剂量依赖性: 以 72 h 组为例, 在 20 ~ 200 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度范围内, 随槲皮素浓度的增加, 槲皮素对 H446 细胞增殖抑制作用不断增加, 20、40、80、160 及 200 $\mu\text{mol/L}$ 时抑制率分别为(23.8 \pm 2.6)%、(28.8 \pm 3.2)%、(59.3 \pm 3.2)%、(83.2 \pm 5.3)% 及(98.5 \pm 3.7)%, ($F = 4.006$, $P < 0.05$)。时间依赖性: 以 200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度为例, 随着药物作用时间的增加, 槲皮素对 H446 细胞增殖抑制作用不断增加, 当细胞处理 72 h 后抑制率达到(98.5 \pm 3.7)%。12、24、48 及 72 h 四个时间点上, 槲皮素作用于 H446 细胞的 IC_{50} 值分别为(172.2 \pm 2.6)、(102.4 \pm 5.3)、(68.6 \pm 2.7) 及(48.8 \pm 1.9) $\mu\text{mol/L}$ ($F = 3.6168$, $P < 0.05$)。

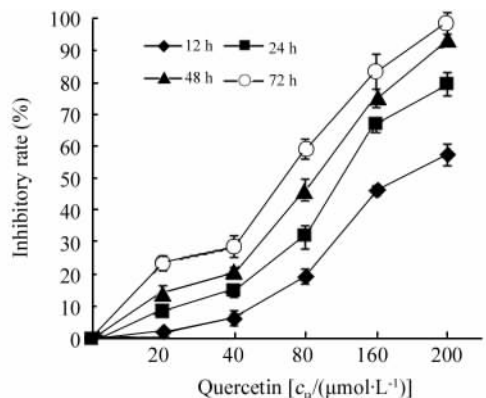


图 1 槲皮素抑制 H446 细胞的增殖

Fig. 1 Quercetin inhibited growth of H446 cells

** $P < 0.01$ vs the 12 h group

2.2 槲皮素对 H446 细胞核形态的影响

对照组细胞(图 2A)的细胞核界限清晰, 圆形或椭圆形, 呈均匀蓝色荧光, 染色质分布均匀。不同浓度(100、200 $\mu\text{mol/L}$)槲皮素处理 48 h 后的 H446 细胞(图 2B、C), 在共聚焦显微镜明场视野下首先表现为细胞密度变低。在蓝色荧光视野下细胞核内染色质分布不均匀, 部分细胞细胞核缩小, 染色质凝集, 呈颗粒团状分布, 有的核浓缩碎裂形成多个球形凋亡小体。

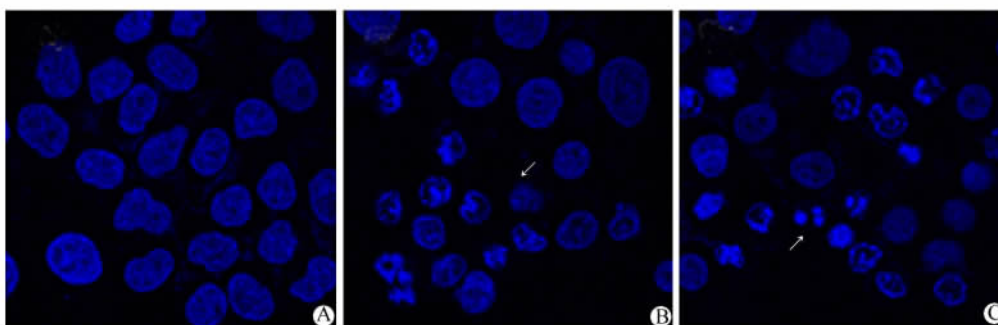


图 2 不同浓度槲皮素处理后 H446 细胞核形态变化($\times 400$)

Fig. 2 Change of karyomorphism of H446 cells treated with different concentration quercetin ($\times 400$)

A: Control; B: Treated with 100 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin; C: Treated with 200 $\mu\text{mol/L}$ Quercetin. (Arrow points to apoptotic cells)

2.3 槲皮素促进 H446 细胞的凋亡

经 PI 和 AnnexinV 荧光补偿校正后的细胞双染流式细胞术检测结果如图 3 所示, 从图中可以看出, 作用 48 h 后, 20 $\mu\text{mol/L}$ 槲皮素组 H446 细胞凋亡率与对照组相比无显著变化; 40 $\mu\text{mol/L}$ 时, 细胞凋亡率较对照组显著升高 [(8.3 \pm 0.4)% vs (4.0 \pm 0.5)% ; $F = 135.2926$, $P < 0.01$]; 当药物浓度逐渐加大时, 细胞凋亡率随之升高, 呈现出显著的剂量依

赖性。

2.4 槲皮素阻滞 H446 细胞周期于 G_2/M 期

细胞在不同浓度(0、40、80 $\mu\text{mol/L}$)槲皮素作用 48 h 后(图 4), 随着槲皮素浓度增加, 处于 G_1/G_0 期的细胞数有所减少, 而相应的 S 期和 G_2/M 期的细胞总数增多, 呈现一定的浓度依赖性(图 4、表 1)。结果表明, 槲皮素主要作用于 G_2/M 节点, 能将细胞特异性地阻滞于 G_2/M 期。

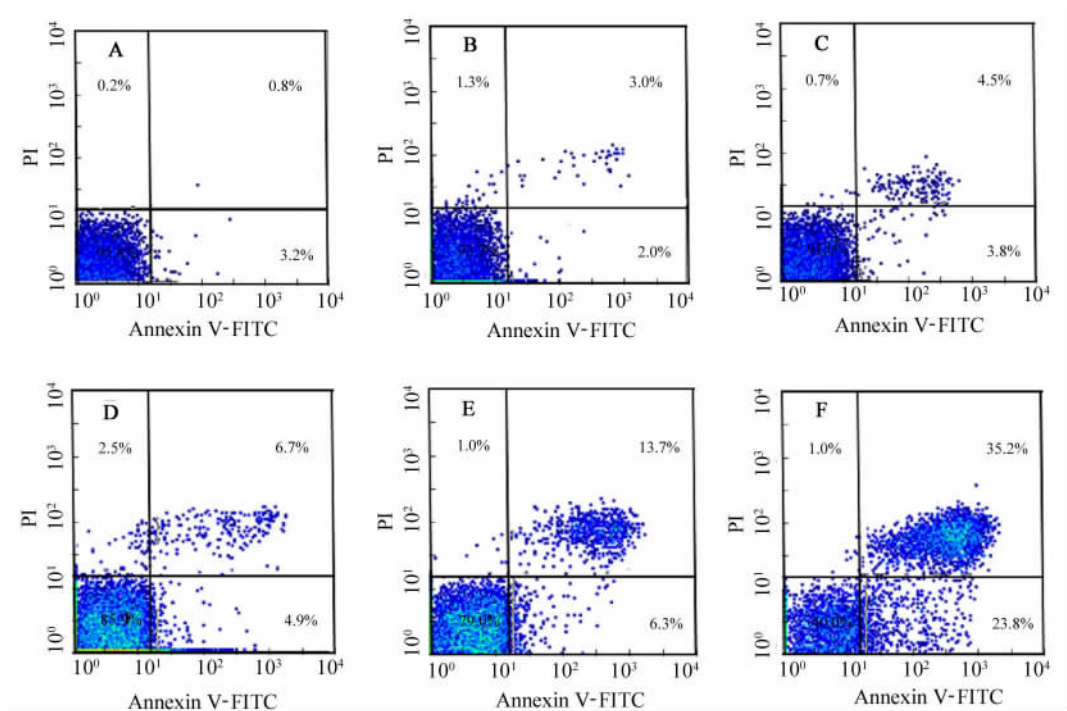


图3 槲皮素促进 H446 细胞的凋亡

Fig. 3 Quercetin promoted the apoptosis of H446 cells

A: Control; B: Treated by 20 μmol/L Quercetin; C: Treated by 40 μmol/L Quercetin;
D: Treated by 80 μmol/L Quercetin; E: Treated by 160 μmol/L Quercetin; F: Treated by 200 μmol/L Quercetin

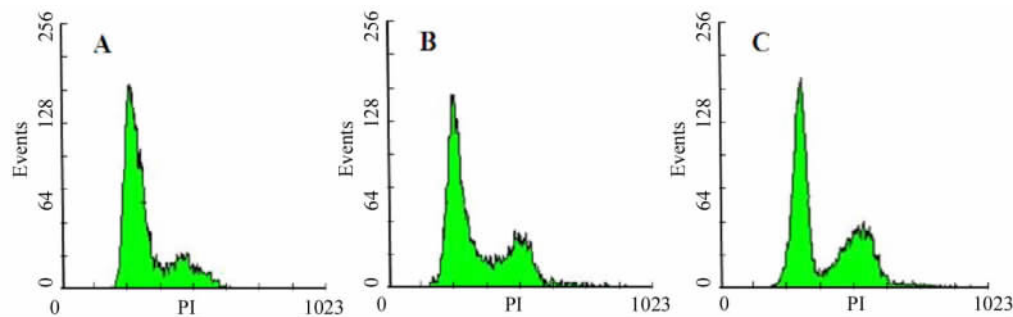


图4 槲皮素阻滞 H446 细胞周期于 G₂/M 期

Fig. 4 Quercetin blocked the cell cycle of H446 cell at G₂/M phase

A: Control; B: Treated by 40 μmol/L Quercetin; C: Treated by 80 μmol/L Quercetin

表 1 不同浓度槲皮素处理 48 h 后 H446 细胞周期的分布 (n=3, $\bar{x} \pm s, \%$)

Tab. 1 Cycle distribution of H446 cells under different concentration of Quercetin for 48 h (n=3, $\bar{x} \pm s, \%$)

Quercetin [c _B /μmol · L ⁻¹]	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
0	70.6 ± 3.7	19.6 ± 2.5	9.8 ± 1.2
40	65.2 ± 5.2	23.6 ± 6.3	11.2 ± 2.5*
80	53.7 ± 2.4	14.6 ± 0.6	31.7 ± 3.5**

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs 0 μmol/L

2.5 槲皮素影响 P53、Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达

Western blotting 结果(图 5)显示, H446 细胞经槲皮素作用 48 h 后, 与对照组相比, 当槲皮素浓度达到 200 μmol/L 时, P53 [(4.98 ± 0.91) vs (0.68 ± 0.26); t = 61.9292, P < 0.01], Bax [(4.26 ± 0.23) vs (0.89 ± 0.29); t = 197.2443, P < 0.01] 的相对表达显著升高; Bcl-2 相对表达量显著下降 [(0.36 ± 0.06) vs (8.23 ± 1.65); t = 67.6043, P < 0.01]。

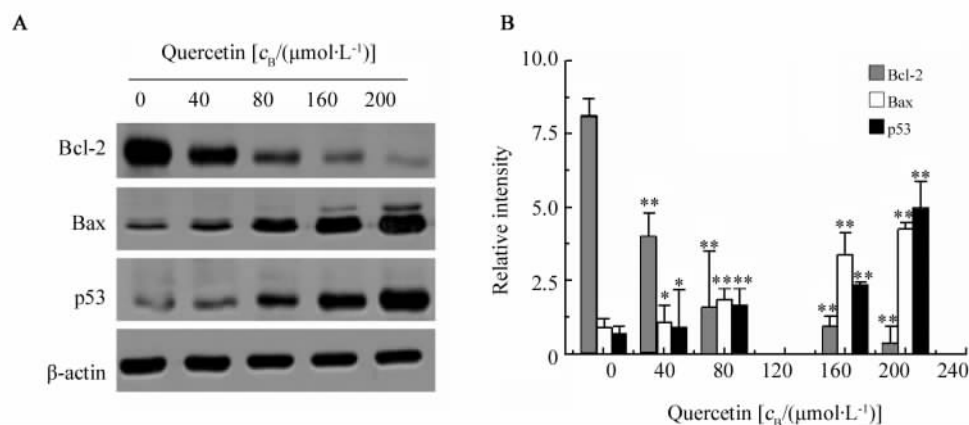


图5 槲皮素影响 H446 细胞 P53、Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达

Fig. 5 Quercetin influenced the expression of P53, Bcl-2 and Bax in H446 cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs 0 $\mu\text{mol/L}$ group

3 讨论

SCLC 是肺癌中的一种特殊类型,肿瘤分化程度很低,较早发生血行转移,恶性程度较高,手术治疗效果差。虽然化疗初期药物敏感性高,但很快会产生耐药现象,治疗后复发转移是导致临床治疗失败的重要原因。因此,寻求新的有效防治方法已成为肿瘤工作者面临的迫切任务之一。槲皮素是植物界分布最广的黄酮类化合物。自 1971 年首次发现槲皮素对 P388 白血病细胞有抑制作用后,多项研究发现其能够抑制多种肿瘤细胞的增殖^[7]。

本研究证实了槲皮素能抑制人 SCLC H446 细胞的增殖、促使其凋亡,并呈现出剂量依赖性。细胞凋亡是一个基因调节的主动过程,是调节体内细胞数量的生理机制,肿瘤的发生发展与细胞凋亡有着重要的联系^[8]。随着对 H446 细胞凋亡基因调控的研究,已经证明多种化疗药物是通过诱导其凋亡而发挥作用的^[9-10],据此推断,槲皮素的抗肿瘤作用机制可能是通过诱导肿瘤细胞凋亡来完成的,本研究通过 Western blotting 实验验证了该推断。

Bcl-2、Bax 和 p53 是目前公认的参与细胞凋亡调控作用的重要基因^[11]。Bcl-2 家族及其相关蛋白 Bcl-2 是目前最受重视的调控细胞凋亡的基因家族,它们主要定位在核膜的胞质面、内质网及线粒体外膜上^[12],可稳定细胞内质膜系统、抑制线粒体内离子及细胞色素 C 的释放从而抑制凋亡的发生,细胞发生凋亡时 Bcl-2 的表达量会随之减少^[13-14]。本研究亦验证了这一结论,当槲皮素浓度加至 200 $\mu\text{mol/L}$ 时,细胞出现大量凋亡的同时 Bcl-2 的

表达量出现明显下调。Bax 基因定位于染色体 19q13.3-19q13.4,含有 6 个外显子 5 个内含子^[15-16]。Bax 具有对抗 Bcl-2 抑制细胞凋亡的作用,可促进线粒体内细胞色素 C 的释放,促进细胞凋亡产生。有研究^[17]表明,Bax 调节细胞凋亡主要是通过通过与 Bcl-2 形成同源或异源二聚体来完成的。当 Bax 形成同源二聚体时会诱导细胞凋亡;Bax 与 Bcl-2 形成异源二聚体则发挥 Bcl-2 抑制细胞凋亡的功能^[18-19]。本实验发现,Bax 在 H446 细胞中的含量随着槲皮素浓度的增加而增加,但 Bcl-2 含量下降,这有利于 Bax 自身形成同源二聚体,最终诱导细胞走向凋亡。

本研究还检测了槲皮素对 p53 基因表达的影响。p53 为抑癌基因,在细胞生长过程中作为一种分子感受器,在正常情况下对细胞分裂起着减慢或监视的作用^[20]。p53 会判断 DNA 变异的程度,如果变异较小则促使细胞自我修复,若变异较大则诱导细胞凋亡^[21-22]。p53 表达量的持续增高,是细胞凋亡的显著特征。本研究发现,槲皮素影响了 H446 细胞的生长周期、促进其发生凋亡,在此过程中 P53 大量表达,促使细胞自我修复。但由于药物作用导致细胞产生不可逆的损伤,因此细胞在 P53 的引导下发生程序性的死亡。

综上所述,本研究从细胞和蛋白水平上证明了槲皮素对 SCLC 细胞 H446 的增殖具有抑制作用,并促进该细胞的凋亡,槲皮素可能是 SCLC 潜在的治疗药物,但其详细的抗 SCLC 作用机制还有待进一步的研究。

[参 考 文 献]

[1] Pectasides D, Samantas E, Fountzilias G, et al. Combination chemotherapy with cisplatin, etoposide and irinotecan in patients with extensive small-cell lung cancer: A phase II study of the Hellenic co-operative oncology group [J]. Lung Cancer, 2007, 58(3): 355-361.

[2] Dimitroulis J, Rapti A, Stathopoulos GP, et al. Comparison of cisplatin-paclitaxel combination versus cisplatin-etoposide in patients with small-cell lung cancer: A Phase III study [J]. Oncol Rep, 2008, 20(4): 879-884.

[3] Stewart, DJ, Chiritescu G, Dahrouge S, et al. Chemotherapy dose--response relationships in non-small cell lung cancer and implied resistance mechanisms [J]. Cancer Treat Rev, 2007, 33(2): 101-137.

[4] Ushijima R, Takayama K, Izumi M, et al. Immunohistochemical expression of MRP2 and clinical resistance to platinum-based chemotherapy in small cell lung cancer [J]. Anticancer Res, 2007, 27(6C): 4351-4358.

[5] Lin C, Yu Y, Zhao HG, et al. Combination of quercetin with radiotherapy enhances tumor radiosensitivity in vitro and in vivo [J]. Radiother Oncol, 2011, 104(3): 395-400.

[6] Pratheeshkumar P, Budhraj A, Son YO, et al. Quercetin inhibits angiogenesis mediated human prostate tumor growth by targeting VEGFR-2 regulated AKT/mTOR/P70S6K signaling pathways [J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47516.

[7] Sakao K, Fujii M, Hou DX. Acetyl derivate of quercetin increases the sensitivity of human leukemia cells toward apoptosis [J]. Biofactors, 2009, 35(4): 399-405.

[8] Pettigrew CA, Cotter TG. Deregulation of cell death (apoptosis): Implications for tumor development [J]. Discov Med, 2009, 8(41): 61-63.

[9] Yang CL, Ma YG, Xue YX, et al. Curcumin induces small cell lung cancer NCI-H446 cell apoptosis via the reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway and not the cell death receptor pathway DNA [J]. Cell Biol, 2011, 31(2): 139-150.

[10] Zeng F, Li YC, Chen G, et al. Nicotine inhibits cisplatin-induced apoptosis in NCI-H446 cells [J]. Med Oncol, 2011, 29(1): 364-373.

[11] Pinto Rodrigues JF, Fujiyama Oshima CT, Ribeiro Paiotti AP, et al. Expression of apoptosis regulatory proteins p53, bcl-2 and bax in recurrent aphthous ulceration [J]. J Eur Acad Dermatol Vene-

reol, 2011, 26(10): 1247-1251.

[12] Krajewski S, Tanaka S, Takayama S, et al. Investigation of the subcellular distribution of the bcl-2 oncoprotein: Residence in the nuclear envelope, endoplasmic reticulum, and outer mitochondrial membranes [J]. Cancer Res, 1993, 53(19): 4701-4714.

[13] Shimizu S, Narita M, Tsujimoto Y. Bcl-2 family proteins regulate the release of apoptogenic cytochrome c by the mitochondrial channel VDAC [J]. Nature, 1999, 399(6735): 483-487.

[14] Sharpe JC, Arnoult D, Youle RJ. Control of mitochondrial permeability by Bcl-2 family members [J]. Biochim Biophys Acta, 2004, 1644(2/3): 107-113.

[15] Hartmann C, Johnk L, Kitange G, et al. Transcript map of the 3.7-Mb D19S112-D19S246 candidate tumor suppressor region on the long arm of chromosome 19 [J]. Cancer Res, 2002, 62(14): 4100-4108.

[16] Saxena A, Moshynska O, Sankaran K, et al. Association of a novel single nucleotide polymorphism, G(-248)A, in the 5'-UTR of BAX gene in chronic lymphocytic leukemia with disease progression and treatment resistance [J]. Cancer Lett, 2002, 187(1/2): 199-205.

[17] Cao J, Chen J, Wang J, et al. Effects of fluoride on liver apoptosis and Bcl-2, Bax protein expression in freshwater teleost, Cyprinus carpio [J]. Chemosphere, 2013, 91(8): 1203-1212.

[18] Ayatollahi SA, Ajami M, Reyhanfard H, et al. BCL-2 and Bax expression in skin flaps treated with finasteride or azelaic acid iran [J]. J Pharm Res, 2013, 11(4): 1285-1290.

[19] Chen MH, Ren QX, Yang WF, et al. Influences of HIF-1alpha on Bax/Bcl-2 and VEGF expressions in rats with spinal cord injury [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(11): 2312-2322.

[20] Li H, Lakshmikanth T, Carbone E, et al. A novel facet of tumor suppression by p53: Induction of tumor immunogenicity [J]. Oncoimmunology, 2012, 1(4): 541-543.

[21] Morandell S, Reinhardt HC, Cannell IG, et al. A reversible gene-targeting strategy identifies synthetic lethal interactions between MK2 and p53 in the DNA damage response in vivo [J]. Cell Rep, 2013, 5(4): 868-877.

[22] Muthusami S, Prabakaran DS, An Z, et al. EGCG suppresses fused toes homolog protein through p53 in cervical cancer cells [J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(10): 5587-5596.

[收稿日期] 2013 - 10 - 26 [修回日期] 2013 - 12 - 15
 [本文编辑] 黄静怡

本期广告目次

沈阳三生制药有限责任公司 封二
 德国美天旆生物技术有限公司 封三
 碧迪医疗器械有限公司 封四
 上海细胞治疗工程技术研究中心有限公司 插页