

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.04.008

新疆家蚕抗菌肽与化疗药物联用对食管癌 Eca109 细胞增殖和凋亡的影响

夏丽洁, 张富春(新疆大学 生命科学与技术学院 新疆生物资源基因工程重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830046)

[摘要] **目的:** 研究新疆家蚕抗菌肽(cecropin-XJ, CE-XJ)与4种化疗药物联用对人食管癌 Eca109 细胞增殖及凋亡的影响。**方法:** MTT 法检测 CE-XJ 联合不同浓度的多柔比星(doxorubicin, ADM)、卡铂(carboplatin, CBP)、顺铂(cisplatin, DDP)和环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)对人食管癌 Eca109 细胞增殖的影响, 流式细胞术分析 CE-XJ 与 ADM、CBP、DDP、CTX 联用对 Eca109 细胞凋亡、活性氧及线粒体膜电位的影响。**结果:** 单独使用 CE-XJ(1~50 $\mu\text{mol/L}$)可依剂量依赖方式显著抑制 Eca109 细胞的增殖($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。CE-XJ 分别与 ADM、DDP、CTX 联合用药, 与单独用药相比, Eca109 细胞的增殖抑制明显加强、细胞凋亡率显著增加(均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 细胞内活性氧水平显著增加($P < 0.05$), 而线粒体膜电位显著降低(均 $P < 0.05$)。但 CE-XJ 与 CBP 联用时出现拮抗现象, 与单独用药相比, 细胞增殖抑制变化不大, 细胞凋亡率反而降低。**结论:** CE-XJ 与化疗药物 ADM、DDP 和 CTX 联用对人食管癌 Eca109 细胞的增殖抑制和凋亡诱导有明显促进作用, 其机制可能与细胞内活性氧和线粒体膜电位变化有关。但 CE-XJ 与 CBP 联用则起拮抗作用, 其机制有待进一步探讨。

[关键词] 新疆家蚕抗菌肽; 食管癌; Eca109 细胞; 多柔比星; 卡铂; 顺铂; 环磷酰胺; 增殖; 凋亡

[中图分类号] R735.1; R730.59

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)04-0402-06

Effect of Cecropin-XJ and it's combination with chemotherapeutic agents on the proliferation and apoptosis of human esophageal cancer Eca109 cells

Xia Lijie, Zhang Fuchun(Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering of Xinjiang, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, Xinjiang, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the effect of cecropin-XJ in itself or in combination with one of the commonly used chemotherapeutic agents on the proliferation and apoptosis of human esophageal carcinoma Eca109 cells in vitro. **Methods:** Eca109 cells were treated with cecropin-XJ, either in itself or in combination with adriamycin (ADM), cis-diamminedichloride platinum II (DDP) or cyclophosphamide (CTX). Twenty-four hours after treatment, cell viability was assessed by MTT assays, and apoptosis, reactive oxygen species (ROS) levels and mitochondrial membrane potential were assessed by flow cytometry. **Results:** Cecropin-XJ alone significantly inhibited Eca109 cell proliferation at the doses used (range from 1 to 50 $\mu\text{mol/L}$) ($P < 0.05$). Compared with the cecropin-XJ mono-treatment, the combined treatment of cecropin-XJ with ADM, DDP or CTX were significantly more effective to induce Eca109 cell proliferation inhibition, apoptosis and reactive oxygen species production, and to decrease Eca109 cell mitochondrial membrane potential ($P < 0.05$). In contrast, the combination of cecropin-XJ with CBP showed an antagonistic effect. **Conclusion:** Cecropin-XJ combined with ADM, DDP, and CTX respectively may inhibit proliferation and induce apoptosis of human esophageal carcinoma cells more effectively than cecropin-XJ in itself. The synergistic effect may be associated with changes in the intracellular ROS production and mitochondrial membrane potential.

[Key words] cecropin-XJ; esophageal cancer; Eca109 cell; doxorubicin; carboplatin; cisplatin; cyclophosphamide; proliferation; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(4): 402-407]

[基金项目] 新疆维吾尔自治区高技术研究发展计划项目(No. 201110101)。Project supported by the High-Technology Research and Development Program of Xinjiang(No. 201110101)

[作者简介] 夏丽洁(1985 -), 女, 湖北孝感市人, 博士生, 主要从事分子免疫学研究, E-mail: xialijie1219@163.com

[通信作者] 张富春(Zhang Fuchun, corresponding author), E-mail: zfcxju@xju.edu.cn

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.3872/j.issn.1007-385X.2014.04.008.html>

食管癌为常见的消化道恶性肿瘤,近年来发病率呈上升趋势。目前治疗食管癌多采用手术、放疗、化疗或以上措施联合治疗的方法,但由于化疗药物的毒性反应强烈,在一定程度上影响了药物的疗效^[1]。因此临床上迫切需要选择更多更有效的辅助药物,通过联合用药以降低化疗药物的用量和毒性反应,以增强抗肿瘤的治疗效果^[2]。

新疆家蚕抗菌肽(cecropin-XJ, CE-XJ)是本实验室从阿克苏地区蚕种场培育的新蚕3号幼虫体内分离获得的一种抗菌肽^[3],属于天蚕素-B家族,具有两 α -螺旋区域,有很强的热稳定性,且抗菌谱广^[4],能够杀灭氨苄青霉素抗性菌,并对酸碱盐、有一定的耐受性^[5]。同时cecropin家族的抗菌肽可以选择性杀伤肿瘤细胞,而对正常细胞损害较小^[6-7]。

多柔比星(doxorubicin, ADM)、顺铂(cisplatin, DDP)、环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)、卡铂(carboplatin, CBP)是目前临床使用最广泛的化疗药物^[8-10]。本研究主要探讨CE-XJ分别与ADM、DDP、CTX、CBP联合应用对食管癌Eca109细胞增殖及凋亡的影响,并探讨其作用存在的相关机制,为CE-XJ的临床应用提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂

人食管癌Eca109细胞株购自上海细胞研究所。MTT、DMSO、2',7'-二氯荧光黄双乙酸盐[2',7'-dichloro-fluorescein diacetate (DCFH-DA)],3,3'-二己基含氧碳菁碘代物[3,3'-dihexyloxycarbocyanine iodide (DiOC₆(3))]购自Sigma公司,DMEM细胞培养基、胎牛血清、0.25%胰酶为Gibco公司产品。ADM购自Actavis Italy S. p. A公司,CBP购自齐鲁制药有限公司,DDP购自通化茂祥制药有限公司,CTX为上海医药有限公司华联制药厂生产。凋亡检测试剂盒购自上海贝博生物。

1.2 细胞培养

人食管癌Eca109细胞常规培养于含10%胎牛血清的DMEM培养液中,置于37℃、5%CO₂饱和湿度条件下培养,每2~3d传代1次,实验时取对数生长期细胞,细胞存活率均大于98%。

1.3 MTT法检测Eca109细胞的增殖

采用Mossmann建立的MTT法^[11]。取对数生长期细胞,以 5×10^4 个/ml的细胞悬液接种96孔培养板,每孔100 μ l。实验设空白组(培养基)、对照组(未处理Eca109细胞)、实验组(抗菌肽单药组、化疗药单药组及联合用药组)。抗菌肽单药组按终浓

度1、5、10、50 μ mol/L给药,单独化疗药组按终浓度0.05、0.1、0.2、0.5 μ mol/L给药,联合用药组按抗菌肽1、5、10、50 μ mol/L和化疗药物的终浓度为0.05、0.1、0.2、0.5 μ mol/L联合给药。培养24h后,每孔加20 μ l MTT溶液(0.5mg/ml),继续孵育4h,每孔加入100 μ l二甲基亚砷,低速振荡10min使结晶物充分溶解。在570nm波长下测定各孔光密度(D)值,并计算细胞存活率。每浓度设5个平行孔。细胞存活率(%)=(药物处理组D值-空白对照组D值)/(阴性对照组D值-空白对照组D值) $\times 100\%$ 。使用两药相互作用系数(coefficient of drug interaction, CDI)评价两药相互作用性质,CDI按下式计算:CDI=AB/(A \times B),AB是两药联合组与对照组D值的比值,A或B是各单药组与对照组D值的比值。如CDI<1,则两药作用性质为协同;如CDI=1,则两药作用性质为相加;如CDI>1则两药作用性质为拮抗。

1.4 Annexin V-FITC/PI双染色流式细胞术检测Eca109细胞凋亡

同1.3中分组和给药,给药处理24h后收获细胞,按照Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒说明书操作,用400 μ l Annexin V-FITC结合缓冲液悬浮细胞,调节细胞密度为 1×10^6 个/ml;在细胞悬浮液中加入5 μ l Annexin V-FITC和1 μ l 50 μ g/ml PI染色液,2~8℃避光孵育15min后,立即用流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

1.5 DCFH-DA染色流式细胞术检测Eca109细胞内活性氧(ROS)的水平

同1.3中分组和给药,作用24h后,消化收集细胞,PBS洗2次后,用40 μ mol/L DCFH-DA荧光染料37℃避光孵育30min,PBS洗2次,加入0.5ml PBS重悬细胞后用流式细胞仪检测(激发波长480nm,发射波长530nm)。各组细胞内的平均荧光强度反映细胞内ROS水平,不经荧光染料孵育的细胞设为阴性对照。

1.6 DiOC₆(3)染色流式细胞术检测Eca109细胞线粒体膜电位

同1.3中分组和给药,作用24h后的各实验组细胞和对照组细胞PBS洗2次,用40nmol/L DiOC₆(3)荧光染料37℃避光孵育15min,PBS洗2次,加入0.5ml PBS重悬细胞,用流式细胞仪检测(激发波长484nm,发射波长501nm)。

以上采用流式细胞术检测Eca109细胞凋亡、活性氧及线粒体膜电位变化实验均重复3次,每个样品检测 1×10^4 个活细胞。所得数据取其均数并以

CellQuest Pro 软件分析。

1.7 统计学处理

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 13.0 统计软件分析。两组间均数比较用 *t* 检验, 多组均数的比较采用单因素方差分析, 采用 Log-Rank 法进行相关显著性检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CE-XJ 与化疗药物联用对 Eca109 细胞增殖的影响

MTT 检测结果显示, 单独使用 CE-XJ, 在其 1、5、

10、50 $\mu\text{mol/L}$ 剂量作用下 Eca109 细胞的增殖活性分别为 $(79.25 \pm 2.58)\%$ 、 $(58.54 \pm 2.71)\%$ 、 $(43.21 \pm 2.42)\%$ 和 $(29.28 \pm 2.53)\%$, 说明 CE-XJ 以剂量依赖方式抑制 Eca109 细胞的增值。当以不同浓度的 CE-XJ 联合 ADM、DDP 和 CTX 作用时, 对 Eca109 细胞增殖的抑制率均显著高于单独使用 CE-XJ 组和化疗药物组(均 $P < 0.05$, 表 1)。计算不同浓度 CE-XJ 与化疗药物联合作用指数(CDI)值显示, CE-XJ 与 ADM、DDP 和 CTX 联用的 CDI 分别为 0.87 ± 0.02 、 0.93 ± 0.04 和 0.81 ± 0.03 , 说明 CE-XJ 与该三个药物联用均产生协同作用。而 CE-XJ 与 CBP 联合作用则产生拮抗作用(CDI 为 1.08 ± 0.03)。

表 1 CE-XJ 与化疗药物联用促进对 Eca109 细胞增殖的抑制(%)

Tab.1 CE-XJ and it's combination with chemotherapeutic agents promoted the inhibition on the proliferation of Eca109 cells

ADM		CE-XJ + ADM		DDP		CE-XJ + DDP	
Dose ($c_B/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cell viability	Dose ($c_B/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cell viability	Dose ($c_B/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cell viability	Dose ($c_B/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cell viability
0.05	78.29 ± 2.44	1 + 0.05	53.08 ± 2.11*	0.05	81.24 ± 1.26	1 + 0.05	61.21 ± 2.35*
0.1	54.15 ± 1.86	5 + 0.1	36.13 ± 1.43*	0.1	60.28 ± 3.49	5 + 0.1	38.45 ± 1.61*
0.2	38.66 ± 2.01	10 + 0.2	20.74 ± 2.07*	0.2	47.23 ± 3.04	10 + 0.2	21.89 ± 0.84*
0.5	21.23 ± 1.27	50 + 0.5	8.01 ± 0.68*	0.5	26.61 ± 2.77	50 + 0.5	11.20 ± 0.72*

CTX		CE-XJ + CTX		CBP		CE-XJ + CBP	
Dose ($c_B/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cell viability	Dose ($c_B/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cell viability	Dose ($c_B/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cell viability	Dose ($c_B/\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cell viability
0.05	79.13 ± 2.14	1 + 0.05	51.08 ± 2.09*	0.05	88.24 ± 1.84	1 + 0.05	89.21 ± 2.51
0.1	53.49 ± 2.01	5 + 0.1	34.17 ± 1.83*	0.1	73.37 ± 2.51	5 + 0.1	84.58 ± 1.97
0.2	41.81 ± 1.45	10 + 0.2	19.24 ± 1.01*	0.2	62.47 ± 2.11	10 + 0.2	78.37 ± 2.55
0.5	23.14 ± 1.67	50 + 0.5	10.21 ± 0.53*	0.5	41.69 ± 2.72	50 + 0.5	60.43 ± 2.04*

* $P < 0.05$ vs chemotherapeutic agents alone

2.2 CE-XJ 与化疗药物联用对 Eca109 细胞凋亡的影响

流式细胞术检测结果(图 1, 表 2)表明, 与正常未处理 Eca109 细胞组相比, CE-XJ、单独化疗药物与联合用药组的细胞凋亡率(早期凋亡和晚期凋亡)均有显著增加(均 $P < 0.01$)。同时, 与单独化疗药物组相比, CE-XJ 分别与化疗药物 ADM、DDP 和 CTX 联用后 Eca109 细胞凋亡率(早期凋亡和晚期凋亡)也均有显著增加(均 $P < 0.05$); 但 CE-XJ 与 CBP 联用对 Eca109 细胞凋亡不仅没有增加, 反而下降。

2.3 CE-XJ 与化疗药物联用对 Eca109 细胞内活性氧水平的影响

荧光染料 DCFH-DA 是一种细胞通透性染料, 进入细胞的 DCFH-DA 可被细胞内的 H_2O_2 氧化产生绿色荧光, 因此可以通过流式细胞仪检测细胞内 DCFH-DA 的荧光含量, 从而间接测定细胞内 H_2O_2 的含量。与正常未处理 Eca109 细胞组相比, CE-XJ 与化疗药物单独用药均可显著增加 Eca109 细胞中 H_2O_2 的含量(均 $P < 0.01$)。同时, 与化疗药物单独用药组相比, CE-XJ 与化疗药物联合作用后细胞中 H_2O_2 的含量也显著增加(均 $P < 0.05$)。说明 CE-XJ 与化疗药物联合作用诱导 Eca109 细胞的凋亡有

赖于 Eca109 细胞中 ROS 的升高(图 2,表 2)。

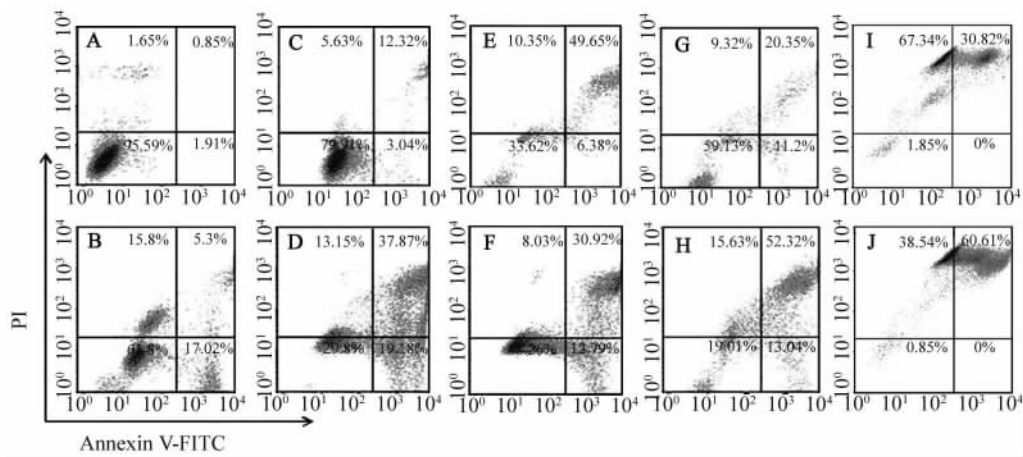


图 1 流式细胞术检测 Eca109 细胞凋亡

Fig. 1 Inducing apoptosis effects on Eca109 cells detected by flow cytometry

A: Untreated Eca109 cells; B: 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; C: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ DDP; D: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ DDP and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; E: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CBP; F: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CBP and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; G: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CTX; H: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CTX and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; I: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ ADM; J: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ ADM and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ

2.4 CE-XJ 与化疗药物联用对 Eca109 细胞内线粒体膜电位的影响

线粒体膜电位 $\Delta\Psi_m$ 下降是线粒体凋亡途径发生的一个重要因素。荧光染料 DiOC₆(3) 可结合到线粒体基质上,其荧光增强或减弱能够反映线粒体内膜电荷性的增高或降低。为了探讨 CE-XJ 与化

疗药物联用能否诱导 Eca109 细胞 $\Delta\Psi_m$ 下降,采用 DiOC₆(3) 对 $\Delta\Psi_m$ 进行检测。实验结果(图 3,表 2)表明,CE-XJ 与化疗药物联合作用细胞 24 h 后,与化疗药物单独用药组相比,CE-XJ 与化疗药物联合作用组细胞内线粒体膜电位均有显著下降(均 $P < 0.01$)。

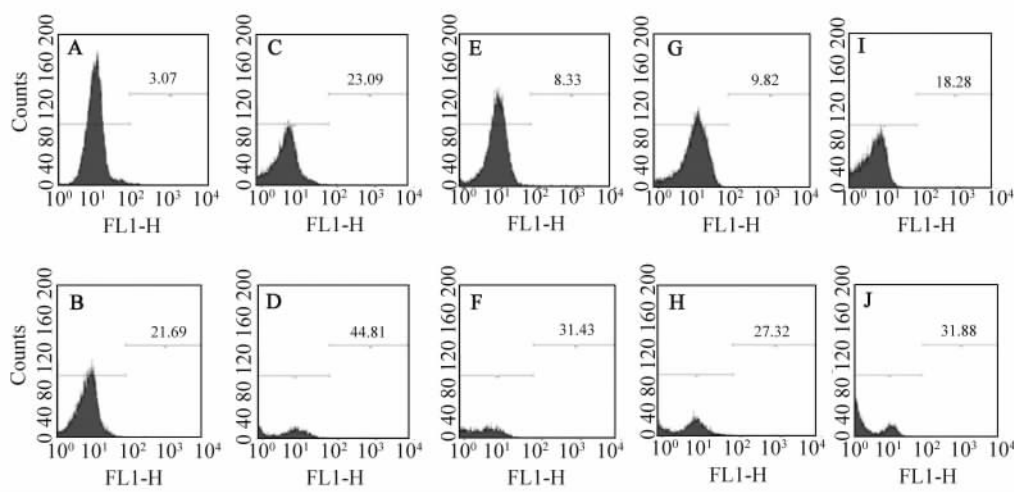


图 2 流式细胞术检测 Eca109 细胞内活性氧含量

Fig. 2 Measurement of the reactive oxygen species (ROS) generation of Eca109 cells by flow cytometry

A: Untreated Eca109 cells; B: 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; C: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ DDP; D: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ DDP and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; E: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CBP; F: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CBP and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; G: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CTX; H: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CTX and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; I: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ ADM; J: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ ADM and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ

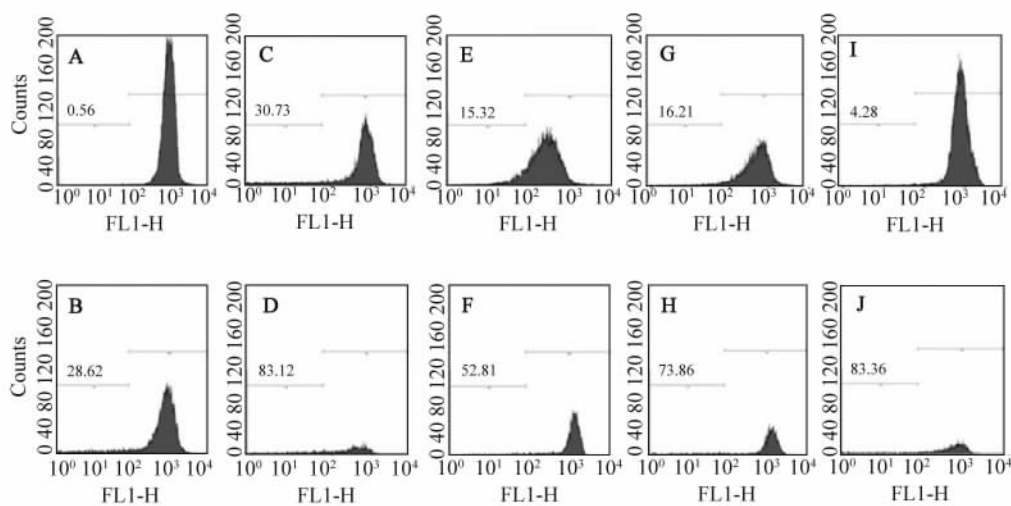


图 3 流式细胞术检测 Eca109 细胞线粒体膜电位

Fig. 3 Detection of the mitochondrial membrane potential ($\Delta\Psi_m$) of Eca109 cells by flow cytometry

A: Untreated Eca109 cells; B: 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; C: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ DDP; D: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ DDP and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; E: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CBP; F: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CBP and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; G: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CTX; H: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ CTX and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ; I: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ ADM; J: 0.1 $\mu\text{mol/L}$ ADM and 5 $\mu\text{mol/L}$ CE-XJ

表 2 CE-XJ 与化疗药联用对 Eca109 细胞凋亡、细胞活性氧和线粒体膜电位的影响(%)

Tab. 2 Effects of CE-XJ and chemotherapeutic agents alone or in combination on apoptosis, the level of reactive oxygen species and mitochondrial membrane potential in Eca109 cells(%)

Group	Apoptosis rate	Reactive oxygen species	$\Delta\Psi_m$
Untreated Eca109 cells	2.27 ± 0.36	3.81 ± 0.74	0.68 ± 0.12
CE-XJ	20.54 ± 1.78**	19.55 ± 2.14**	67.67 ± 3.71**
ADM	27.79 ± 3.03**	16.52 ± 1.76**	94.03 ± 1.69**
CE-XJ + ADM	56.24 ± 4.37** Δ	28.11 ± 3.77** Δ	14.21 ± 2.43** $\Delta\Delta$
DDP	14.53 ± 0.83**	19.97 ± 3.12**	65.01 ± 4.26**
CE-XJ + DDP	51.31 ± 5.74** Δ	39.62 ± 5.19** Δ	14.76 ± 2.12** $\Delta\Delta$
CTX	28.06 ± 2.95**	8.70 ± 1.12*	80.47 ± 3.32**
CE-XJ + CTX	56.25 ± 9.11** Δ	24.47 ± 2.85** Δ	23.97 ± 2.17** $\Delta\Delta$
CBP	52.27 ± 3.76**	7.42 ± 0.91*	81.40 ± 3.28**
CE-XJ + CBP	39.59 ± 4.12**	27.22 ± 4.21** Δ	44.64 ± 2.55** $\Delta\Delta$

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs untreated Eca109 cells;

$\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs chemotherapeutic agents alone or CE-XJ

3 讨论

长期以来,食管癌在我国的发病和病死率始终保持在较高水平^[12]。食管癌细胞对传统的细胞毒性化疗药物敏感度相对较差,单独应用各种化疗药物治疗肿瘤,成功率低且存在耐药性、易复发等风

险,临床效果并不理想^[13]。因此,积极寻求新的辅助治疗药物,使其能够增强化疗药物对食管癌细胞杀伤作用,是更好地防治肿瘤的以及提高患者生存质量的当务之急。

抗菌肽广泛存在于生物体内,是一类具有抵御外界微生物侵害和清除体内突变细胞能力的小分子

多肽^[14]。抗菌肽对肿瘤细胞的选择性基于恶性肿瘤细胞膜带净负电荷,这些负电荷由磷脂酰丝氨酸、O-糖基化的黏蛋白、唾液酸和肝素等赋予,而正常的哺乳动物的细胞膜是典型的两性离子^[15-17]。此外, Jaynes^[18]提出的细胞骨架损伤学说认为,抗菌肽对肿瘤细胞、微生物和正常哺乳动物细胞都有损伤作用,但由于后者的细胞骨架完整,修复快,故不造成最终损伤作用;而肿瘤细胞的骨架不完整,在受到抗菌肽的作用后,得不到及时、有效的修复而导致最终损伤。同时,抗菌肽也可通过损伤肿瘤细胞线粒体、细胞核染色体、核膜等方面来达到抑杀肿瘤细胞的效果^[19]。因此,抗菌肽与细胞毒性的化疗药物相比具有独特的优越性。

诱导凋亡是筛选抗肿瘤药物的重要研究方法,也是评价药物疗效的可靠指标。目前,常规治疗肿瘤所使用的各类化疗药物治疗的最终作用机制主要是通过诱导肿瘤细胞坏死和凋亡,以达到抗肿瘤的目的^[20]。本研究采用 CE-XJ 与化疗药物 ADM、CBP、DDP、CTX 联合作用于食管癌 Eca109 细胞,实验结果表明,联合用药组对 Eca109 细胞的增殖抑制作用显著高于单独使用同等剂量的化疗药物组,且具有剂量依赖性。CE-XJ 与 ADM、DDP 和 CTX 联合作用于 Eca109 细胞具有协同作用,而与 CBP 联合作用于 Eca109 细胞则产生拮抗作用。同时发现 CE-XJ 与化疗药物联用对 Eca109 细胞具有凋亡诱导作用,与对照组相比,可显著增加 Eca109 细胞中 H₂O₂ 的含量,同时降低细胞内线粒体膜电位。这些结果为 CE-XJ 与化疗药物联合应用于临床肿瘤治疗提供了实验依据。

[参 考 文 献]

- [1] Huang B, Gong X, Zhou H, et al. Depleting ABCE1 expression induces apoptosis and inhibits the ability of proliferation and migration of human esophageal carcinoma cells [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(2): 584-592.
- [2] Hu WM, Li L, Jing BQ, et al. Effect of SIP5 on proliferation and migration of human esophageal cancer cells [J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(15): 1859-1866.
- [3] 李金耀,张富春,马正海. 家蚕天蚕素 cDNA 原核表达及抗菌活性检测 [J]. *昆虫学报*, 2004, 47(3): 407-411.
- [4] Xia L, Liu Z, Ma J, et al. Expression, purification and characterization of cecropin antibacterial peptide from *Bombyxmori* in *Saccharomyces Cerevisiae* [J]. *Protein Expr Purif*, 2013, 90(1): 47-54.
- [5] 刘忠渊,张富春,蔡伦,等. 酵母菌中表达的新疆家蚕抗菌肽 (Cecropin-XJ) 的特性研究 [J]. *微生物学报*, 2003, 43(5): 635-641.
- [6] Harris F, Dennison SR, Singh J, et al. On the selectivity and efficacy of defense peptides with respect to cancer cells [J]. *Med Res Rev*, 2011, 33(1): 190-234.
- [7] Xia L, Zhang F, Liu Z, et al. Expression and characterization of cecropinXJ, a bioactive antimicrobial peptide from *Bombyxmori* (*Bombycidae*, *Lepidoptera*) in *Escherichia coli* [J]. *Exp Ther Med*, 2013, 5(6): 1745-1751.
- [8] Damodar G, Smitha T, Gopinath S, et al. An evaluation of hepatotoxicity in breast cancer patients receiving injection Doxorubicin [J]. *Ann Med Health Sci Res*, 2014, 4(1): 74-79.
- [9] Ishida K, Hirose T, Yokouchi J, et al. Phase II study of concurrent chemoradiotherapy with carboplatin and vinorelbine for locally advanced non-small-cell lung cancer [J]. *Mol Clin Oncol*, 2014, 2(3): 405-410.
- [10] Dong H, Liu G, Jiang B, et al. The effects of aspirin plus cisplatin on SGC7901/CDDP cells in vitro [J]. *Biomed Rep*. 2014, 2(3): 344-348.
- [11] Mossman T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays [J]. *J Immunol Methods*, 1983, 65(1): 55-63.
- [12] Chang F, Syrjänen S, Shen Q, et al. Evaluation of HPV, CMV, HSV and EBV in esophageal squamous cell carcinomas from a high-incidence area of China [J]. *Anticancer Res*, 2000, 20(5C): 3935-3940.
- [13] Krasna MJ, Mao YS, Sonett JR, et al. P53 gene protein overexpression predicts results of trimodality therapy in esophageal cancer patients [J]. *Ann Thorac Surg*, 1999, 68(3): 2021-2024.
- [14] Rahnamaeian M. Antimicrobial peptides Modes of mechanism, modulation of defense responses [J]. *Plant Signal Behav*, 2011, 6(9): 1325-1332.
- [15] Schweizer F. Cationic amphiphilic peptides with cancer-selective toxicity [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 625(1/3): 190-194.
- [16] Alvarez-Calderon F, Gregory MA, Degregori J. Using functional genomics to overcome therapeutic resistance in hematological malignancies [J]. *Immunol Res*, 2013, 55(1/3): 100-115.
- [17] Lemesko VV. Electrical potentiation of the membrane permeabilization by new peptides with anticancer properties [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1828(3): 1047-1056.
- [18] Jaynes J. Lytic peptides: A magic bullet [J]. *Biotechnol N*, 1990, 10(1): 8-10.
- [19] Ourth DD. Antitumor cell activity in vitro by myristoylated-peptide [J]. *Biomed Pharmacother*, 2011, 65(4): 271-274.
- [20] Indran IR, Tufo G, Pervaiz S, et al. Recent advances in apoptosis, mitochondria and drug resistance in cancer cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1807(6): 735-745.

[收稿日期] 2014 - 03 - 20

[修回日期] 2014 - 06 - 10

[本文编辑] 阮芳铭