

## RNA 干扰靶向沉默诱骗受体 3 基因增加人胰腺癌细胞的放射敏感性

肖华平<sup>1,2</sup>, 李庆<sup>1</sup>, 谢辉<sup>1</sup>, 罗春阳<sup>1</sup>, 方玉江<sup>2</sup> (1. 湘南学院附属医院 肿瘤中心, 中国 湖南 郴州 423000; 2. 密苏里大学 医学院 Ellis Fischel 肿瘤中心, 美国 密苏里州 哥伦比亚市 65212)

**[摘要]** **目的:** 探讨 RNA 干扰沉默诱骗受体 3(decoy receptor 3, *DcR3*) 基因对胰腺癌细胞放射敏感性的影响及其相关机制。**方法:** 构建带有 *DcR3* siRNA 序列的稳定表达质粒, 通过脂质体转染至胰腺癌 AsPC-1 细胞株, 设对照组、siRNA(-) 阴性对照组和 *DcR3* siRNA 组, 应用 Western blotting 检测 AsPC-1 细胞中 *DcR3* 表达的变化, 平板克隆形成实验检测转染 *DcR3* siRNA 后 AsPC-1 细胞放射敏感性的变化, 流式细胞术检测细胞凋亡, RT-PCR 和 Western blotting 检测 Caspase-8、Caspase-3 和 PARP-1 表达的变化。**结果:** *DcR3* siRNA 组细胞中 *DcR3* 蛋白表达水平较对照或 siRNA(-) 组明显降低(均  $P < 0.01$ ); *DcR3* siRNA 组的克隆形成率明显低于对照或 siRNA(-) 组, 其存活分数(survival fraction, SF) 降低、 $\alpha/\beta$  比值升高(均  $P < 0.01$ ); 放射后 *DcR3* siRNA 组肿瘤细胞凋亡率明显高于对照或 siRNA(-) 组(均  $P < 0.01$ ); 转染 *DcR3* siRNA 后可以明显上调 Caspase-8、Caspase-3 的表达和下调 PARP-1 的表达。**结论:** RNA 干扰沉默 *DcR3* 基因通过激活凋亡因子 Caspase-8 和 Caspase-3 促进细胞凋亡, 从而增加胰腺癌细胞对放射的敏感性。

**[关键词]** 胰腺癌; AsPC-1 细胞; 诱骗受体 3 基因; RNA 干扰; 放射敏感性

**[中图分类号]** R735.9; R730.59; R730.55 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)08-0833-05

## siRNA targeting decoy receptor 3 gene increases the radiosensitivity of human pancreatic cancer cells

XIAO Huaping<sup>1,2</sup>, LI Qing<sup>1</sup>, Xie Hui<sup>1</sup>, LUO Chunyang<sup>1</sup>, FANG Yujiang<sup>2</sup> (1. Cancer Center, The Affiliated Hospital of Xiangnan University, Chenzhou 423000, Hunan, China; 2. Ellis Fischel Cancer Center, School of Medicine, University of Missouri, Columbia 65212, Missouri, USA)

**[Abstract] Objective:** To investigate the effect of siRNA targeting decoy receptor 3 gene on the radiosensitivity of pancreatic cancer cells and its related mechanism. **Methods:** Plasmid stably expressing *DcR3* siRNA sequence was constructed and transfected into pancreatic cancer AsPC-1 cell line by liposome; control group, siRNA(-) negative control group and *DcR3* siRNA group were set up. Then *DcR3* expression in AsPC-1 cells was detected by Western blotting. Effect of *DcR3* siRNA transfection on radiation sensitivity of AsPC-1 cells was detected by plate clone formation assay. Cell apoptosis was analyzed by Flow cytometry; the expressions of Caspase-8, Caspase-3 and PARP-1 were detected by Western blotting and RT-PCR after transfecting with *DcR3* siRNA. **Results:** The expression of *DcR3* protein in *DcR3* siRNA group was significantly lower than that in control or siRNA(-) group ( $P < 0.01$ ). The colony formation rate of *DcR3* siRNA group was significantly lower than that in control group and siRNA(-) group ( $P < 0.01$ ), and the survival fraction(SF) value of *DcR3* siRNA group was decreased and the ratio of  $\alpha/\beta$  was increased ( $P < 0.01$ ). The cell apoptosis rate of *DcR3* siRNA group was significantly higher than that of control group or siRNA(-) group ( $P < 0.01$ ). *DcR3* siRNA could significantly up-regulate the expression of Caspase-8 and Caspase-3 and down-regulate the expression of PARP-1. **Conclusion:** siRNA silencing *DcR3* gene can increase the radiosensitivity of pancreatic cancer cells by activating the apoptosis factors Caspase-8 and Caspase-3, promoting cell apoptosis.

**[Key words]** pancreatic cancer; AsPC-1 cell; decoy receptor 3 gene (*DcR3*); RNA small interference; radiosensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(8): 833-837. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.08.003]

**[基金项目]** 湖南省自然科学基金资助项目 (No. 14JJ3136); 郴州市科技局科研基金资助项目 (No. CZ2013096)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hunan Province (No. 14JJ3136), and the Research Fundation of Chenzhou Science and Technology Bureau (No. CZ2013096)

**[作者简介]** 肖华平(1979-), 男, 博士, 副主任医师 / 副教授, 主要从事肿瘤放疗和肿瘤生物治疗方面的研究, Email: xiaohuaping1@163.com

**[通信作者]** 肖华平(XIAO Huaping, corresponding author), 博士, 副主任医师 / 副教授, 主要从事肿瘤放疗和肿瘤生物治疗方面的研究, Email: xiaohuaping1@163.com

**[优先发表]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170731.1054.016.html>

胰腺癌是一种恶性程度极高的消化系统肿瘤,近年来其发病率和病死率逐渐上升,是预后最差的恶性肿瘤之一<sup>[1]</sup>。由于胰腺癌早期症状隐匿,明确诊断时往往已是晚期,手术切除率低,且术后存活率极低,放疗是其可以考虑的重要治疗方法。然而,单纯的放疗并没有给患者带来明显的生存获益,究其原因,是胰腺癌细胞对放疗不敏感。因此,探索如何增加胰腺癌细胞的放射敏感性具有重要的临床意义。

诱骗受体3(decoy receptor 3, DcR3)是一种表面受体,也是一种特殊的细胞凋亡抑制剂,能和肿瘤坏死因子超家族成员Fas配体、LIGHT以及TL1A相结合,对其介导的细胞凋亡起负调控作用<sup>[2-5]</sup>。大量研究<sup>[6-9]</sup>发现,DcR3在胰腺癌中呈高表达,与肿瘤细胞凋亡密切相关。细胞凋亡的失活状态在肿瘤发展中起着关键的作用,并且细胞凋亡与肿瘤细胞的放射敏感性有关,诱导肿瘤细胞凋亡是放疗和化学治疗的主要目的之一,凋亡指数(AI)低的细胞对放射拮抗性大,放射效果差。因此诱导肿瘤凋亡是提高恶性肿瘤放射敏感性的重要方式。

本研究用RNA小干扰技术沉默DcR3,旨在观察DcR3 siRNA对人胰腺癌AsPC-1细胞凋亡和放射敏感性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要实验材料

HiPerFect transfection reagent试剂盒购自美国QIAGEN公司, $\beta$ -action、Caspase-8、Caspase-3抗体购自美国Cell Signaling Technology公司,PARP-1抗体购自Santa Cruz Biotechnology公司,Alkaline phosphatase-Conjugated anti-rabbit/mouse IgG二抗购自Sigma公司,TRIzol购自Gibco公司,RT-PCR试剂盒为美国Thermo Fisher scientific公司产品,Annexin-V/PI凋亡检测试剂盒和流式细胞仪购自美国BD公司。

### 1.2 DcR3 siRNA的构建

应用筛选siRNA的软件,选取DcR3靶序列是5-CGCUGCAGCCUCUUGAUGGAGAUGUCC-3,由上海生工合成DcR3特异性siRNA序列:sense sequence:5'-ACACCCACCUACCCUGGCdTdT-3';antisense sequence:5'-GCCAGGGUAGGUGGGUGUdTdT-3'。同时将上述寡核苷酸序列打乱重新组合,设计5'-GACACACCACCUCCUGCdTdT-3'和5'-GGCGACGGGUGUGAGGUGUdTdT-3'作为对照(非特异性DcR3 siRNA)。

### 1.3 细胞培养

人胰腺癌细胞株AsPC-1由美国密苏里大学Ellis Fischel Cancer Center提供,培养条件为:含10%小

牛血清PRMI 1640培养基(内含青、链霉素双抗),恒温37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

### 1.4 基因转染

根据HiPerFect transfection reagent转染试剂说明书实验步骤进行。用胰酶消化细胞后,接种于6孔板内,转染时细胞汇合达到30%~50%,用Opti-MEM无血清培养基将已经构建的DcR3 siRNA稀释至100 nmol/L,混匀后加入HiPerFect混合均匀后加入培养孔中。置37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱继续培养48 h后可进行表达检测。同时设空白对照(Control)组、siRNA(-)阴性对照组。

### 1.5 Western blotting检测转染DcR3 siRNA后AsPC-1细胞中DcR3蛋白表达的变化

收集转染后48 h的细胞,加入细胞裂解液(裂解缓冲液和蛋白酶抑制剂等体积混合,再加入DTT溶液,浓度为1 mmol/L)裂解细胞,提取总蛋白。用Bradford法测定蛋白浓度后各组取200  $\mu$ g蛋白样本行SDS-PAGE,通过电转法将蛋白转移至PVDF膜,5%脱脂奶室温封闭2 h,加入一抗(DcR3:1:1 000; $\beta$ -action:1:2 000),于4℃孵育过夜,TBST洗膜后加入辣根过氧化物酶连接的二抗(1:2 000)室温振荡孵育1 h,最后NBT/BCIP显影,拍照。

### 1.6 平板克隆形成实验检测AsPC-1细胞克隆形成能力

取AsPC-1细胞用胰酶消化并吹打成单个细胞,把细胞悬浮在1含0%胎牛血清的RPMI 1640培养液中备用,每组设3个平行组。将细胞悬液作梯度倍数稀释,以适当的细胞密度接种于培养皿中,分每皿50、100、200、400、1 000个细胞的梯度分别接种含10 ml 37℃预温培养液的皿中,给予6 MeV电子线照射(西门子加速器Primus),照射剂量分别对应为0、2、4、6、8 Gy。培养2周肉眼可见克隆形成时,终止培养,10%甲醇固定10 min,Giemsa染色30 min,计数所形成的克隆数,以0 Gy组克隆率作为对照。克隆率(%)=克隆数/接种细胞数 $\times$ 100%,存活分数(survival fraction, SF)=受照射细胞克隆率/对照组克隆率,采用线性二次模型<sup>[10]</sup> $S=\exp[-n(\alpha D+\beta D^2)]$ 计数放射生物学参数并拟合剂量存活曲线,分别求出放射生物学参数 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\alpha/\beta$ 和SF2值。

### 1.7 流式细胞术检测细胞凋亡情况

取0和6 Gy照射后的对照组以及DcR3 siRNA组细胞,用胰酶消化成细胞悬液,收集细胞( $5\times 10^5$ ),PBS清洗2次,结合缓冲液再洗1次,按照Annexin-V/PI凋亡检测试剂盒进行实验操作,即每份细胞加入100  $\mu$ l的结合缓冲液,以及3  $\mu$ l Annexin-V和3  $\mu$ l PI,混匀,室温避光反应15 min,1 h内上流式细胞仪

检测。

### 1.8 Western blotting 检测照射后各组细胞 Caspase-8、Caspase-3 和 PARP-1 的蛋白表达水平

收集 6 Gy 照射后细胞,加入细胞裂解液(裂解缓冲液和蛋白酶抑制剂等体积混合,再加入 DTT 溶液,浓度为 1 mmol/L)裂解细胞,提取总蛋白。其他步骤同实验方法 2.3。

### 1.9 RT-PCR 检测照射后各组细胞 Caspase-8、Caspase-3 和 PARP-1 基因的表达水平

以 Primer Express 5.0 设计扩增引物,由上海生物工程技术有限公司合成。*Caspase-8*: 上游 5'- TACTACCGAACTTGGACC- 3', 下游 5'- GTGAAAGTAGGTTGTGGC-3'(产物长度 515 bp); *Caspase-3*: 上游 5'- ATGGAGAACAATAAAACCT-3', 下游 5'- CTAGTGATAAAAGTAGAGTTC- 3' (834 bp); *PARP-1*: 上游 5'- ACGCACAATGCCTATGAC-3', 下游 5'- CACATCTCCAAGGCGACC- 3' (441bp); *GAPDH*: 上游 5'- TGACTTCAACAGCGACACCCAC- 3', 下游 5'- AACTGTGAGGAGGGGAGATTC-3' (277 bp)。收集 6 Gy 照射后细胞,采用 TRIzol 提取细胞总 RNA,严格按 RT-PCR 试剂盒完成 PCR 反应,分别检测各组细胞中的 *Caspase-8*、*Caspase-3*、*PARP-1* 和用于内部标定的 *GAPDH* 的 mRNA 表达水平。PCR 反应条件为: 94 °C 预热 3 min, 94 °C 变性 50 s; 50.6 °C (*Caspase-8*)、50 °C (*Caspase-3*)、58 °C (*PARP-1*) 复性 30 s, 72 °C 延伸 1 min, 30 个循环; 72 °C 延伸 10 min。

### 1.10 统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计学软件,细胞存活率、存活分数、凋亡率用  $\bar{x} \pm s$  差表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验,以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  有统计学意义。

## 2 结果

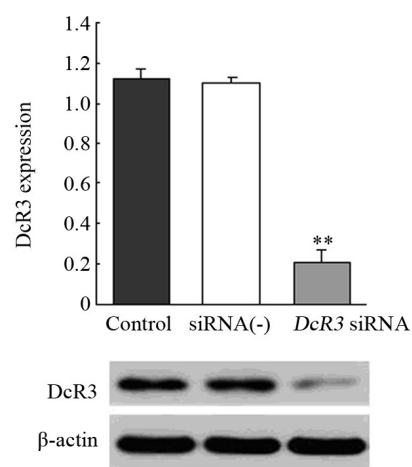
### 2.1 转染 DcR3 siRNA 后 AsPC-1 细胞中 DcR3 蛋白水平明显降低

Western blotting 结果(图 1)表明,在 AsPC-1 细胞中转染 *DcR3* siRNA 后, *DcR3* siRNA 组中 DcR3 蛋白的表达水平明显低于对照组或 siRNA(-) 阴性对照组 ( $P < 0.05$ )。说明 RNA 干扰成功地沉默了 DcR3 蛋白的高表达。

### 2.2 沉默 DcR3 可加强 AsPC-1 细胞的放射敏感性

AsPC-1 细胞平板克隆形成实验可见: 三组细胞接受不同照射剂量后均可见数量不等的克隆形成,其中 *DcR3* siRNA 组克隆形成率明显低于对照或 siRNA(-) 组(图 2A); 对照组、siRNA(-) 组、*DcR3* siRNA 组的 SF2 值分别为 0.924、0.915、0.513;  $\alpha/\beta$  比值分别

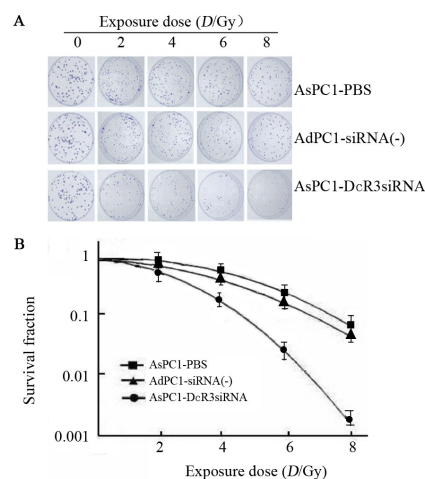
为 4.232、4.551、26.542,与对照或 siRNA(-) 组相比, *DcR3* siRNA 组 SF2 值减低、 $\alpha/\beta$  比值升高(均  $P < 0.05$ ),并以线性二次模型拟合各组细胞剂量存活曲线(图 2B)。



The protein expression of DcR3 was analyzed by using Western blotting and normalized against  $\beta$ -action. The quantification of the band intensities in three independent experiments was shown as error bars on the top

\*\* $P < 0.01$  vs Control group or siRNA(-) group

图 1 转染 *DcR3* siRNA 后各组细胞中 DcR3 蛋白的表达  
Fig. 1 The expression of DcR3 protein in Aspc1 cells transfected by *DcR3* siRNA



A: The colony formation rate of the cells transfected with *DcR3* siRNA was significantly less than that of Control or siRNA(-) group, there was no significant difference in the clonogenic rate between Control group and siRNA(-) group; B: The dose-survival curves were observed in Control, siRNA(-) and *DcR3* siRNA group. The survival fraction of *DcR3* siRNA group was significantly lower than that of Control or siRNA(-) group at each dose point

图 2 照射后各组细胞克隆形成及剂量存活曲线  
Fig. 2 Colony formation and dose survival curve of each group after radiation

### 2.3 沉默 *DcR3* 显著提高照射条件下 AsPC-1 细胞的凋亡率

对照组、siRNA(-)组、*DcR3* siRNA 组接受 0 和 6 Gy 照射后,应用流式细胞术检测各组细胞凋亡情况。结果(图 3)显示:0 Gy 时,未转染的对照组、阴性对照的 siRNA(-)组以及 *DcR3* siRNA 组的细胞凋亡率分别为 (5.8%±1.41)%、(6.5%±1.36)% 和 (10.7%±0.62)%,各组比较无明显差异( $P>0.05$ );6 Gy 照射后对照组、siRNA(-)组、*DcR3* siRNA 组细胞凋亡率分别为 (21.6%±2.25)%、(20.8%±2.06)%、(59.4%±3.75)%,可见 *DcR3* siRNA 组凋亡率明显高于对照组或 siRNA(-)组( $P<0.05$ )。以上结果提示,放射时沉默 *DcR3* 表达可以促进 AsPC-1 细胞凋亡。

### 2.4 沉默 *DcR3* 对 AsPC-1 细胞中 Caspase-8、Caspase-3 和 PARP-1 表达的影响

对照组、siRNA(-)组、*DcR3* siRNA 组细胞接受 6 Gy 放射后,采用 Western blotting 检测各组相关蛋白的表达,结果显示:与对照组或 siRNA(-)组相比,*DcR3* siRNA 组的 Caspase-8、Caspase-3 表达明显上调

( $P<0.05$ ),而 PARP-1 表达则明显下降( $P<0.05$ ) (图 4A)。应用 RT-PCR 检测进一步证实在 AsPC-1 细胞中沉默 *DcR3* 表达后可以激活 Caspase-8/Caspase-3 的凋亡通路(图 4B、C、D)。

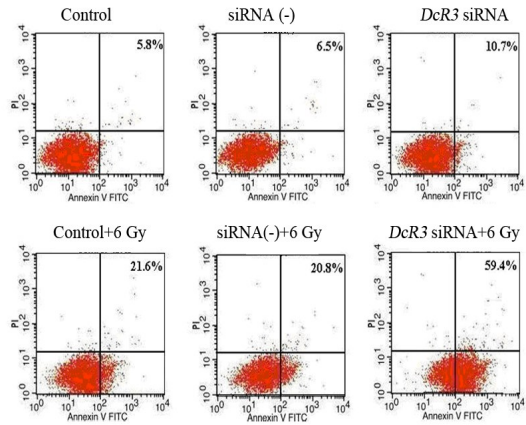
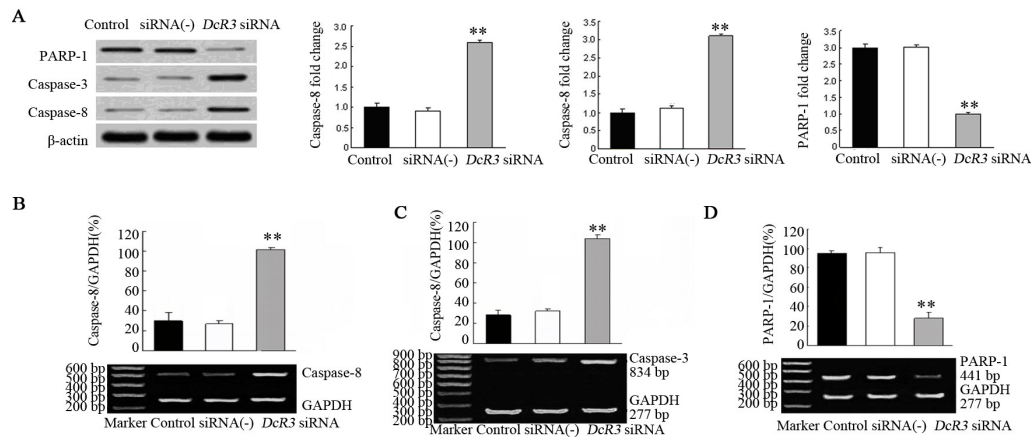


图 3 放射前后各实验组 AsPC1 细胞的凋亡率  
Fig. 3 The apoptotic rate of AsPC1 cells of each group after radiation



A: The cells were radiated and transfected with *DcR3* siRNA or negative control siRNA, and the expression of Caspase-8, Caspase-3 and PARP-1 were detected by using Western blotting; B, C, D: The Cells were radiated and transfected with *DcR3* siRNA or negative control siRNA, and the expression of Caspase-8, Caspase-3 and PARP-1 were detected by using RT-PCR

\*\* $P<0.01$  vs Control group or siRNA(-) group

图 4 胰腺癌 AsPC-1 细胞转染 *DcR3* siRNA 后可激活 Caspase-8 和 Caspase-3 的表达  
Fig. 4 The expression of Caspase-8 and Caspase-3 can be activated after transfection of *DcR3* siRNA in pancreatic cancer AsPC-1 cells

## 3 讨论

*DcR3* 作为一种新发现的具有免疫抑制作用的分子,具有强大的抗凋亡效应,能竞争性的结合 FasL,抑制 Fas 分子与其配体 FasL 的结合,从而阻断配体诱导产生的细胞凋亡 [11-13]。因此,敲除 *DcR3* 基因促进细胞的凋亡成为增加肿瘤放化疗敏感性新的研究热点。Sung 等 [14] 对肺癌细胞研究发现,*DcR3* 的高表达,

增强了肿瘤细胞对放射的抵抗,当敲除 *DcR3* 后,可以明显增加肿瘤细胞凋亡,从而增加肺癌细胞的放射敏感性。Liang 等 [15] 发现,沉默肝细胞癌中 *DcR3* 高表达,可以增加 TRAIL 诱导的肝癌细胞凋亡。

本实验将 *DcR3* siRNA 转染至 AsPC-1 细胞后,通过放射敏感性实验发现沉默 *DcR3* 组的 AsPC-1 细胞对放射的敏感性明显要高于未沉默的细胞组。放射后 *DcR3* 低表达的细胞凋亡率明显大于 *DcR3* 高表达

的细胞凋亡率。说明沉默 *DcR3* 后可以促进放射诱导的凋亡而增加人胰腺癌 AsPC-1 细胞放射敏感性。

*DcR3* 调节细胞的凋亡是通过一系列凋亡细胞信号通路来实现的。凋亡信号转导与 Caspase 的激活密切相关,所有的 Caspase 均以无活性的酶原形式存在,一经激活将产生 Caspase 级联反应,最终导致细胞凋亡。其中 Caspase-3 被认为是细胞凋亡中的关键蛋白酶,激活的 Caspase-3 能促进细胞凋亡<sup>[16-18]</sup>。本实验发现,AsPC-1 细胞中沉默 *DcR3* 后,Caspases-8 和 Caspases-3 存在明显的上调现象。Caspases-8 是线粒体途径凋亡通路的启动基因,其下游就是 Caspases-3, Caspases-3 被认为是线粒体通路凋亡途径的最终执行者,PARP-1 是 Caspase-3 激活的标志<sup>[19-20]</sup>。本实验结果提示,*DcR3* siRNA 诱导细胞凋亡增加细胞放射敏感性可能是通过激活 Caspases 途径来实现的。

本研究表明 RNA 干扰沉默 *DcR3* 可以增加人胰腺癌细胞放射敏感性,其可能的机制为 *DcR3* siRNA 阻断 *DcR3* 竞争性地结合诱导凋亡的配体,从而激活 Caspases,促进胰腺癌细胞凋亡。提示 *DcR3*→Caspases-8→Caspases-3 通路在人胰腺癌细胞对放射的敏感性起着至关重要的作用,有望成为人胰腺癌细胞基因治疗新的靶点之一。

## [参考文献]

- [1] 项金峰,施恩,梁丁孔,等. 2015 年胰腺癌研究及诊疗前沿进展[J]. 中国癌症杂志, 2016, 26(4): 281-289. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2016.04.001.
- [2] 李文珠,庄国洪,颜江华,等. 作为免疫相关性疾病靶点的 *DcR3* 的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2006, 13(1): 67-69. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2006.1.031.
- [3] XIU Z, SHEN H, TIAN Y, et al. Serum and synovial fluid levels of tumor necrosis factor-like ligand 1A and decoy receptor 3 in rheumatoid arthritis[J]. Cytokine, 2015, 72 (2): 185-189. DOI: 10.1016/j.cyto.2014.12.026.
- [4] ZHANG H, CHEN X, LI D, et al. *DcR3* promotes hepatoma cell migration by downregulating E-cadherin expression[J]. Oncol Rep, 2017, 38(1): 377-383. DOI: 10.3892/or.2017.5685.
- [5] LIU W, ZHAN C, CHENG H, et al. Mechanistic basis for functional promiscuity in the TNF and TNF receptor superfamilies: structure of the LIGHT: *DcR3* assembly[J]. Structure, 2014, 22(9): 1252-1262. DOI: 10.1016/j.str.2014.06.013.
- [6] ZHANG Y, LI D, ZHAO X, et al. Decoy receptor 3 suppresses FasL-induced apoptosis via ERK1/2 activation in pancreatic cancer cells [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 463(9): 1144-1151. DOI: 10.2147/OTT.S108395.
- [7] ZHOU J, SONG S, LI D, et al. Decoy receptor 3 (*DcR3*) overexpression predicts the prognosis and pN2 in pancreatic head carcinoma [J/OL]. World J Surg Oncol, 2014, 12:52[2017-03-09]. https://wjso.biomedcentral.com/articles/10.1186/1477-7819-12-52. DOI: 10.1186/1477-7819-12-52.
- [8] WANG W, ZHANG M, SUN W, et al. Reduction of decoy receptor 3 enhances TRAIL-mediated apoptosis in pancreatic cancer [J/OL]. PLoS One, 2013, 8(10): e74272[2017-03-09]. http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0074272.DOI:10.1371/journal.pone.0074272.
- [9] ZHANG Y, HUANG S, LENG Y, et al. Downregulation of *DcR3* sensitizes hepatocellular carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis [J]. Oncotarget, 2017, 18(10): 417-428. DOI: 10.2147/OTT.S127202.
- [10] 杨海燕,王军良,周振山,等. 放射生物学数学模型的研究进展 [J]. 中国医学物理学杂志, 2014, 31(6): 5253-5257. DIO: 10.3969/j.issn.1005-202X.2014.06.007.
- [11] PITTI R M, MARSTERS S A, LAWRENCE D A, et al. Genomic amplification of a decoy receptor for Fas ligand in lung and colon cancer[J]. Nature, 1998, 396(6712):699-703. DOI: 10.1038/25387.
- [12] LIU Y P, ZHU H F, LIU D L, et al. *DcR3* induces epithelial-mesenchymal transition through activation of the TGF- $\beta$ /SMAD signaling pathway in CRC [J]. Oncotarget, 2016, 7(47):77306-77318. DOI: 10.18632/oncotarget.12639.
- [13] FU Z, CHEN S, LIU S, et al. *DcR3* gene polymorphisms are associated with sporadic breast infiltrating ductal carcinoma in Northeast Chinese women [J]. Oncotarget, 2016, 7(35):57970-57977. DOI: 10.18632/oncotarget.11153.
- [14] SUNG H Y, WU H G, AHN J H, et al. *Dcr3* inhibit p53-dependent apoptosis in gamma-irradiated lung cancer cells[J]. Int J Radiat Biol, 2010, 86(9):780-790. DOI: 10.3109/09553002.2010.484481.
- [15] LIANG C, XU Y, LI G, et al. Downregulation of *DcR3* sensitizes hepatocellular carcinoma cells to TRAIL-induced apoptosis[J/OL]. Onco Targets Ther, 2017, 10: 417-428[2017-03-09]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5261847/.DOI:10.2147/OTT.S127202.
- [16] YUAN J, NAJAFOV A, PY B F. Roles of caspases in necrotic cell death[J]. Cell, 2016, 167(7):1693-1704. DOI: 10.1016/j.cell.2016.11.047.
- [17] RIVERA M, RAMOS Y, RODRÍGUEZ-VALENTÍN M, et al. Targeting multiple pro-apoptotic signaling pathways with curcumin in prostate cancer cells[J/OL]. PLoS One, 2017, 12(6): e0179587 [2017-03-09]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5476315/. DOI: 10.1371/journal.pone.0179587.
- [18] NAM Y J, KIM A, LEE M S, et al. Lamotrigine attenuates proteasome inhibition-induced apoptosis by suppressing the activation of the mitochondrial pathway and the caspase-8- and Bid-dependent pathways [J]. Neurochem Res, 2016, 41(10): 2503-2516. DOI: 10.1007/s11064-016-1962-5.
- [19] CHENG C H, CHENG Y P, CHANG I L, et al. Targeting multiple pro-apoptotic signaling pathways with curcumin in prostate cancer cells[J]. Mol Med Rep, 2016, 13(2): 1495-500. DOI: 10.3892/mmr.2015.4717.
- [20] GROSSE J, WARNKE E, WEHLAND M, et al. Mechanisms of apoptosis in irradiated and sunitinib-treated follicular thyroid cancer cells [J]. Apoptosis, 2014, 19(3):480-490. DOI: 10.1007/s10495-013-0937-0.

[收稿日期] 2017-03-15

[修回日期] 2017-07-05

[本文编辑] 黄静怡