

· 药理 ·

南蛇藤提取物对高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞凋亡的影响

曹玲, 钱亚云*, 刘延庆, 朱耀东, 杨林, 陈珏, 顾昊, 白云飞, 金凤
(扬州大学医学院, 江苏扬州 225009)

[摘要] 目的:利用高表达抑癌基因 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞探讨南蛇藤提取物对其凋亡的影响。方法:以人胃癌 MGC-803 细胞为研究对象,不同质量浓度 20,40,80,160,320 mg·L⁻¹南蛇藤提取物作用于 MGC-803 细胞 24,48 h 后,MTT 法检测南蛇藤提取物对高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞增殖的影响;以不同质量浓度 COE 组(0,20,40,80 mg·L⁻¹)及 32 mg·L⁻¹的 5-FU 阳性对照处理 24 h 后,TUNEL 法检测南蛇藤提取物对细胞凋亡的影响,Western blot 检测对 maspin,Bcl-2,Bcl-2L12 及 Bax 蛋白表达的影响。结果:南蛇藤提取物(20,40,80,160,320 mg·L⁻¹)能明显抑制高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞的增殖,呈现时间及浓度依赖性;与空白组比较,不同质量浓度的南蛇藤提取物(20,40,80 mg·L⁻¹)作用 24 h 后,镜下显示,随着药物浓度升高,细胞数目减少,形态变圆,胞浆浓缩,出现凋亡小体,TUNEL 结果表明南蛇藤提取物(20,40,80 mg·L⁻¹)能促进细胞凋亡,Western blot 结果显示南蛇藤提取物(20,40,80,160 mg·L⁻¹)可呈浓度依赖性地增加抑癌基因 maspin 蛋白的表达,降低 Bcl-2,Bcl-2L12 的表达,均具有明显的统计学差异($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:南蛇藤提取物能够抑制高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞的增殖,促进其凋亡,其机制可能与南蛇藤提取物促进抑癌基因 maspin 的表达以及抑制 Bcl-2,Bcl-2L12 的表达有关。

[关键词] 南蛇藤; 胃癌; maspin 基因; 凋亡

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)14-0097-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015140097

Effects of *Celastrus orbiculatus* Extract on Apoptosis in Maspin-overexpressed Human Gastric Carcinoma MGC-803 Cells CAO Lin, QIAN Ya-yun*, LIU Yan-qing, ZHU Yao-dong, YANG Lin, CHEN Jue, GU Hao, BAI Yun-fei, JIN Feng (Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of *Celastrus orbiculatus* extract (COE) on apoptosis in human gastric carcinoma MGC-803 cells in which the tumor suppressor gene, maspin, is overexpressed. **Method:** The growth rates of maspin-overexpressed human gastric carcinoma MGC-803 cells treated with different concentrations of COE (20, 40, 80, 160, 320 mg·L⁻¹) for 24 and 48 h were measured by MTT assay. The apoptosis of MGC-803 cells treated with different concentrations of COE (0, 20, 40, 80 mg·L⁻¹) and 5-FU (32 mg·L⁻¹) for 24 h was examined according to the Tunel Apoptosis Assay Kit. The protein expressions of maspin, Bcl-2, Bcl-2L12 and Bax were detected by using Western blot. **Result:** COE (20, 40, 80, 160, 320 mg·L⁻¹) suppressed the proliferation of maspin-overexpressed human gastric cancer MGC-803 cells in a concentration- and time-dependent manner. After being treated with COE (20, 40, 80 mg·L⁻¹) for 24 h, reduction of cell number, morphology being round, cytoplasmic concentration and apoptotic bodies were observed gradually with the growing of the concentration. Tunel assay showed that COE (20, 40, 80 mg·L⁻¹) could promote apoptosis of cells. Western blot showed that COE (20, 40, 80, 160 mg·L⁻¹) increased the expression of maspin and decreased expressions of Bcl-2 and Bcl-2L12 in a concentration-dependent manner. **Conclusion:** COE could induce the apoptosis of human gastric cancer MGC-803 cells in which maspin gene is overexpressed, the mechanisms may be

[收稿日期] 20140929(018)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81274141,81403232);江苏省自然科学基金项目(BK2012686)

[第一作者] 曹玲,在读硕士,从事中西医结合临床肿瘤学研究,Tel:15371343726,E-mail:wajoyce@163.com

[通讯作者] *钱亚云,博士,讲师,硕士生导师,从事中西医结合临床肿瘤学研究,Tel:15861333316,E-mail:yyqian@yzu.edu.cn

related to regulating the expressions of Bcl-2, Bcl-2L12 and maspin.

[Key words] *Celastrus orbiculatus*; gastric cancer; maspin gene; apoptosis

胃癌是常见的消化系统肿瘤,其发病率位于世界恶性肿瘤发病率第4位,死亡率位于第2位^[1],目前胃癌的治疗效果不尽如人意,医学界亟待寻求新的诊断治疗方法。胃癌的发生发展过程包括癌基因的激活和抑癌基因的失活,maspin(mammary serpin)基因是Ⅱ级肿瘤抑制基因,属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族,有报道 maspin 基因具有促进胃癌细胞凋亡,增强胃癌化疗敏感性的作用^[2-3],其可能成为肿瘤治疗的潜在靶点。

南蛇藤以倍半萜及倍半萜衍生物成分最多,药性辛温、有小毒,具有祛风、活血、解毒、消肿等功能,现代药理研究证实,南蛇藤具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、抗菌、抗氧化等活性作用,本课题组研究发现,南蛇藤茎乙酸乙酯提取物(*Celastrus orbiculatus* ethyl acetate extract, COE)具有较强的体内外抗肿瘤活性,并明确南蛇藤总萜是其乙酸乙酯提取物抗癌作用的主要物质基础^[4-5]。COE对maspin基因的影响尚未有报道,本研究探讨COE对高表达maspin的人胃癌MGC-803细胞增殖及凋亡的影响,可能为临床肿瘤治疗带来新的希望。

1 材料

1.1 细胞 野生型人胃癌细胞株 MGC-803 由中国科学院上海细胞库提供。高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞由本实验室构建。

1.2 药物及试剂 南蛇藤(广州致信药业有限公司,批号070510),经中国药科大学中药资源研究室秦民坚教授鉴定为卫矛科南蛇藤属南蛇藤(*Celastrus orbiculatus*)的藤茎,南蛇藤总萜类化合物的提取和鉴定由课题合作方中国药科大学王强教授课题组完成^[6]。实验用药物的提取如前所述^[7],按以下流程进行:切断南蛇藤藤茎并粉碎成粉,烘干(15 kg),95%乙醇提取3次各3 h,乙醇用旋转蒸发仪回收,从而得到浸膏(900 g),加水分散,再石油醚萃取3次,乙酸乙酯萃取3次,最后收集乙酸乙酯层,用水洗涤3次,减压浓缩并真空冻干,得到南蛇藤茎乙酸乙酯提取物250 g,贮存于4℃,每1 g提取物相当于60 g生药。药物用二甲基亚砜(DMSO)助溶,使用前以无血清培养基配成实验所需要浓度工作液,常压过滤除菌。5-氟尿嘧啶注射液(5-Fu,天津金耀氨基酸有限公司,批号1302201)。TUNEL凋亡检测试剂盒(凯基生物公司,批号20140327),

MTT 粉剂(美国 Sigma 公司,批号 08797HJ),BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(碧云天公司,批号 P0010),Bax,maspin 抗体(美国 Santa Cruz 公司,批号 J3113, B1910),Bcl-2, Bcl-2L12 抗体(美国 Epitomics 公司,批号分别为 39869, YH12306), β -actin抗体(美国 Cell Signaling 公司,批号 4970S),HRP 标记的羊抗兔 IgG(杭州华安生物技术有限公司,批号 G130321),化学发光底物(美国 Thermo 公司,批号 OB182954)。

1.3 仪器 IX71 型倒置荧光显微镜(日本 Olympus 公司),酶标仪、蛋白电泳槽、电转移装置以及成像系统均为美国 Bio-Rad 公司产品。

2 方法

2.1 细胞培养 人胃癌 MGC-803 细胞,加入含 10% 胎牛血清,1% 的青霉素混合液的 RPMI-1640 完全培养基,于 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养,以 0.25% 胰酶消化传代。

2.2 高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞的验证 取对数生长期的表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞,以 5 × 10⁴/孔种于 6 孔板内,待细胞贴壁后于倒置荧光显微镜下观察荧光表达,并分别提取总蛋白,Western blot 检测 maspin 蛋白表达,以野生型人胃癌 MGC-803 细胞为对照,每组 3 个复孔。

2.3 MTT 法检测 COE 对细胞增殖能力的影响 取对数生长期高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞消化后,制成单细胞悬液(5 × 10⁴ 个/mL),接种于 96 孔培养板中,每孔 100 μ L。24 h 后,每孔加入 100 μ L 含 COE 培养液(20, 40, 80, 160, 320 mg · L⁻¹)或 RPMI-1640 培养液(空白组),并设野生型细胞对照组,下同。继续孵育培养 24, 48 h 后,加入 MTT 反应 4 h,弃上清,加二甲基亚砜 150 μ L/孔,震荡 10 min 使其充分溶解,酶标仪检测波长 490 nm 的吸光度 A,按下式计算:

$$\text{抑制率} = (1 - A_{\text{药物组}} / A_{\text{对照组}}) \times 100\%$$

2.4 倒置显微镜观察不同质量浓度药物作用后细胞形态变化 取对数生长期的表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞 1 × 10⁵/孔种于 6 孔板内,待细胞贴壁后以不同质量浓度 COE 组(0, 20, 40, 80 mg · L⁻¹)及 32 mg · L⁻¹ 的 5-FU 阳性药处理,培养箱内 24 h 观察细胞形态变化。

2.5 TUNEL 法检测 COE 作用后细胞凋亡情

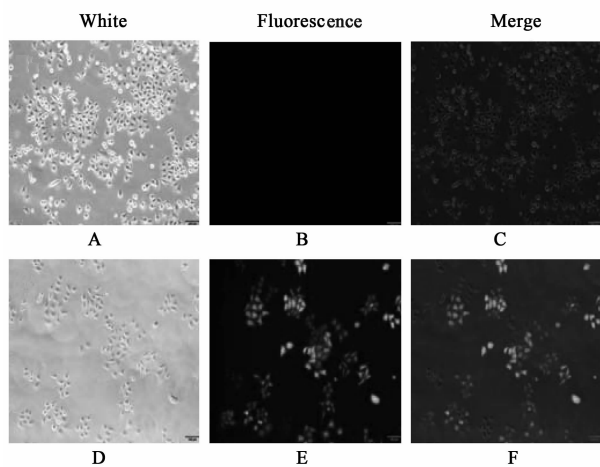
况 取对数生长期高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞, 5×10^3 个/mL 接种于含适当大小灭菌盖玻片的 6 孔板内, 制成细胞爬片, 细胞贴壁后, 以无血清培养基培养 12 h, 以不同质量浓度 COE 组 (20, 40, 80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 及空白组和阳性药组处理细胞 24 h。严格按照 TUNEL 试剂盒说明书操作, 倒置显微镜随机选取 3 个视野观察细胞凋亡情况。

2.6 Western blot 检测 COE 对 maspin 蛋白及细胞凋亡相关蛋白表达的影响 对数期的高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞等数目接种于细胞培养板中, 待其贴壁后, 加入含 COE (质量浓度分别为 20, 40, 80, 160 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的培养液, 并设空白组和 5-FU 阳性药组 (32 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。24 h 后提取细胞总蛋白, 采用 BCA 法蛋白定量, 经 SDS-PAGE 凝胶分离后, 将蛋白质转移至 PVDF 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭液室温封闭 2 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min, 加入一抗于 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗膜后加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG (二抗) 孵育 2 h, TBST 洗膜后采用凝胶成像分析系统检测相应蛋白条带。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 16.0 统计软件进行分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, One-way ANOVA Dunnett 检验用于组间比较, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞的验证 高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞贴壁后于倒置荧光显微镜下观察显示细胞荧光表达较强, 见图 1。提取总蛋白后 Western blot 检测 maspin 蛋白的表达情况, 结果显示高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞 maspin 蛋白显著高表达, 见图 2。



A ~ C. 野生型人胃癌 MGC-803 细胞; D ~ F. 高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞

图 1 慢病毒感染后的细胞荧光表达 ($\times 100$)

Fig. 1 Fluorescence intensity after virus infection ($\times 1000$)

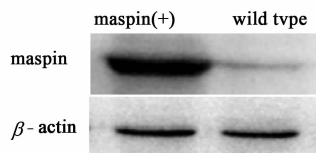


图 2 maspin 蛋白的表达

Fig. 2 Expression of maspin protein

3.2 对高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞毒性的影响 结果显示, 野生型组 MGC-803 细胞及高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞对照组体外生长活跃, 经 20, 40, 80, 160, 320 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 梯度的 COE 处理 24, 48 h 后, 细胞生长呈现不同程度的抑制, 并且呈一定的浓度及时间依赖性, 与空白组相比, 具有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表 1。不同浓度的 COE 作用细胞 48 h 呈现的细胞毒性大, 计算 24 h COE 的半数抑制浓度接近 148 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 为减小药物细胞毒性的影响, 细胞形态观察及 TUNEL 凋亡检测实验药物质量浓度设置为 20, 40, 80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 1 COE 对高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞毒性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

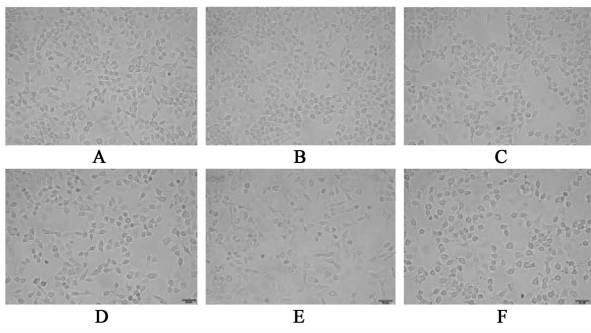
Table 1 Effects of COE on cytotoxicity of MGC-803 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	A	
		24 h	48 h
野生型	-	0.67 ± 0.008	$0.67 \pm 0.004^{2)}$
空白	-	0.64 ± 0.022	0.53 ± 0.027
COE	20	0.59 ± 0.024	$0.45 \pm 0.079^{1)}$
	40	$0.53 \pm 0.040^{2)}$	$0.43 \pm 0.002^{1)}$
	80	$0.41 \pm 0.008^{2)}$	$0.34 \pm 0.031^{2)}$
	160	$0.32 \pm 0.003^{2)}$	$0.20 \pm 0.029^{2)}$
	320	$0.31 \pm 0.020^{2)}$	$0.17 \pm 0.013^{2)}$

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (图 5 同)。

3.3 对人胃癌 MGC-803 细胞凋亡形态的影响 倒置显微镜下观察不同处理组的细胞, 野生型细胞贴壁生长, 细胞的轮廓清晰, 结构呈梭形, 细胞壁光滑无突起, 且折光性良好, 细胞核质均匀; 高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞无药物作用组的细胞形态与野生型细胞形态大部分无显著差异, 但有部分细胞变圆; 药物处理组随着 COE 浓度的提高, 细胞数减少, 细胞形态变圆, 高浓度时细胞胞浆浓缩, 胞膜起泡, 产生凋亡小体, 有些细胞坏死, 胞膜破裂, 内容物释放。见图 3。

3.4 对高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞凋亡的影响 TUNEL 法检测 20, 40, 80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ COE 作用 24 h 后对高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞凋亡的影响, 结果显示野生型细胞和高表达 maspin



A. 野生型细胞组; B. 空白组; C. COE 20 mg·L⁻¹组; D. COE 40 mg·L⁻¹组; E. COE 80 mg·L⁻¹组; F. 5-FU 32 mg·L⁻¹组(图 4 同)

图 3 COE 对人胃癌 MGC-803 细胞凋亡形态的影响(×200)

Fig. 3 Effects of COE on cellular morphology of maspin-over expressed MGC-803 cells (×200)

的人胃癌 MGC-803 细胞药物未作用组几乎无染色细胞,而随着 COE 浓度的提高,染色细胞增多,细胞凋亡明显,呈现一定的浓度依赖性。见图 4。

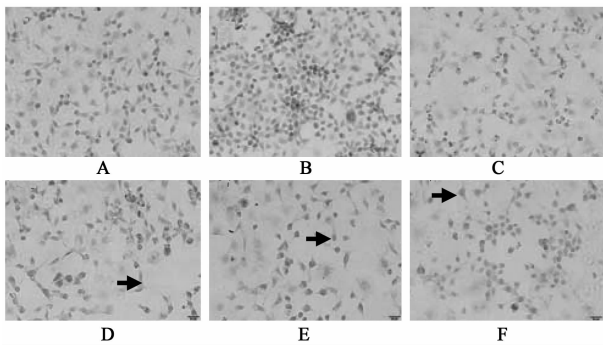


图 4 COE 对人胃癌 MGC-803 细胞凋亡的影响(苏木素,×400)

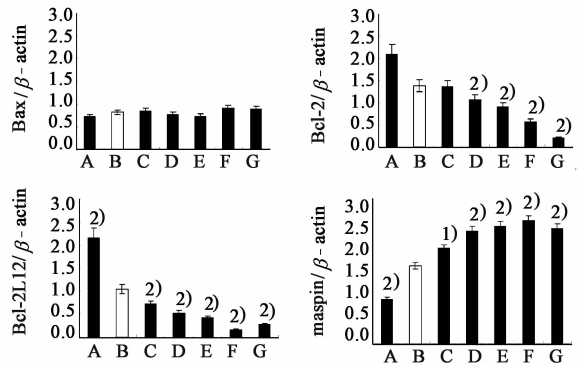
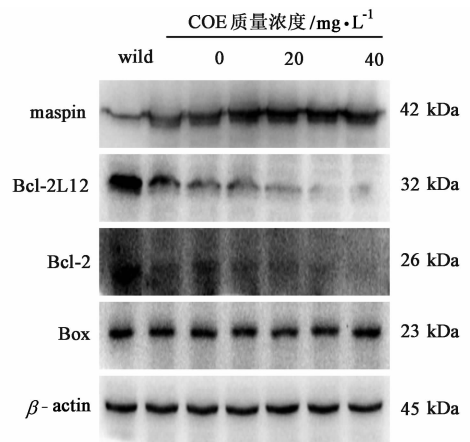
Fig. 4 Effects of COE on cell apoptosis of MGC-803 cells (Hematoxylin, ×400)

3.5 对 maspin, Bcl-2, Bcl-2L12 及 Bax 蛋白表达的影响 COE 作用于高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞 24 h 后,随着药物浓度的增加,Bcl-2 和 Bcl-2L12 蛋白表达水平显著下降,Bax 总蛋白表达无明显变化,maspin 蛋白表达水平升高,均具有明显统计学差异($P < 0.01$)。见图 5。

4 讨论

maspin 基因是 1994 年 Zon 等发现的肿瘤抑制基因,具有抑制肿瘤细胞的增殖,促进肿瘤细胞凋亡的作用^[8]。有研究报道,maspin 基因可以增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,促进肿瘤细胞凋亡,Ben 等^[9]发现在骨肉瘤细胞中,maspin 通过调节转录因子 E2F1 的表达从而促进化疗药物诱导的肿瘤细胞的凋亡。

诱导凋亡药物作为抗肿瘤药物已得到广泛关注,同时中医药治疗肿瘤的研究已成为肿瘤治疗的



A. 野生型细胞组; B. 空白组; C. COE 20 mg·L⁻¹; D. COE 40 mg·L⁻¹组; COE 80 mg·L⁻¹; F. COE 160 mg·L⁻¹组; G. 5-FU 32 mg·L⁻¹组

图 5 COE 对 maspin, Bcl-2, Bcl-2L12 及 Bax 总蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Fig. 5 Effects of COE on expression of maspin, Bcl-2, Bcl-2L12 and Bax ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

发展和希望。南蛇藤是卫矛科南蛇藤属植物,现代药理研究表明其具有抗炎抗风湿及抗肿瘤作用。南蛇藤的抗肿瘤作用包括抑制肿瘤细胞侵袭转移及肿瘤血管生成^[7,10-11]。而 Zhang 等^[12]将 COE 作用于人 HCCLM6 细胞的体外研究结果显示 COE 能够抑制细胞活力,诱导线粒体介导的细胞凋亡。本研究中 Western blot 结果显示构建的高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞中 maspin 蛋白表达显著增加,结合倒置荧光显微镜显微镜下观察结果表明该高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞可用于实验。该细胞的 MTT 毒性分析显示南蛇藤提取物能明显抑制细胞的增殖,呈现浓度依赖性,为减少药物的细胞毒作用,后续实验的质量浓度设为 20, 40, 80 mg·L⁻¹, 时间为 24 h。本实验还观察了 COE 对新构建的人胃癌 MGC-803 细胞的形态变化及细胞凋亡的影响,结果发现随着 COE 浓度的增加,细胞形态发生改变,细胞数减少,出现细胞凋亡,高浓度时,细胞凋亡明显增加,甚至坏死。对照于野生型细胞,高表达

maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞增殖能力减弱, 凋亡趋势增加, 说明 maspin 基因可能抑制胃癌 MGC-803 细胞的增殖, 促进其凋亡。

Bcl-2 家族是线粒体介导的细胞凋亡信号通路的重要组成成员。Bcl-2 是凋亡抑制因子, 阻止线粒体细胞色素 C 的释放, 而 Bax 是促进凋亡因子, 反过来促进其释放。Bcl-2L12 是 2001 年发现的 Bcl-2 家族新基因, 在肿瘤组织中过表达^[13], 抑制肿瘤细胞凋亡^[14-15]。上述 Bcl-2 家族成员是药物诱导细胞凋亡的关键因子^[16]。COE 抗肿瘤过程中的促凋亡作用有研究认为与 Bcl-2 蛋白的表达降低和 Bax 蛋白的表达增加有关^[17]。本实验 Western blot 观察到 COE 能够下调高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞中 Bcl-2 及 Bcl-2L12 蛋白的表达, 对 Bax 总蛋白的表达上调作用不明显, Bcl-2/Bax 减小, 提示 COE 可能是通过 Bcl-2, Bcl-2L12 及 Bax 介导的信号通路发挥促凋亡作用, 并且可能有其他的影响因子参与。本研究还发现 COE 能够上调高表达 maspin 的人胃癌 MGC-803 细胞中 maspin 蛋白的表达, 而有报道 maspin 蛋白过表达, Bcl-2 蛋白表达减少, Bax 蛋白表达增加, 可以促进肿瘤细胞凋亡^[18-19]。综上, COE 具有促进胃癌细胞 MGC-803 凋亡的作用, 这种促凋亡作用与 Bcl-2 家族密切相关, 与抑癌基因 maspin 也存在一定的联系, 但具体的分子机制还有待更深入的探索。

[参考文献]

[1] Ferlay J, Shin H R, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008; GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12):2893-2917.

[2] Lei K F, Liu B Y, Jin X L, et al. Prognostic value of nuclear maspin expression for adjuvant 5-fluorouracil-based chemotherapy in advanced gastric cancer [J]. *Exp Ther Med*, 2012, 3(6):993-998.

[3] Zheng A H, Yi Y F, Zhou W W. Construction of a eukaryotic vector expressing MASPIN gene and its effect on cell apoptosis in gastric cancer cell line SGC7901 [J]. *Ai Zheng*, 2008, 27(11):1161-1165.

[4] 张舰, 许运明, 刘延庆. 南蛇藤提取物体外抑瘤作用研究 [J]. *中药药理与临床*, 2006, 22(34):99-101.

[5] 张舰, 许运明, 王维民, 等. 南蛇藤提取物体内抗肿瘤作用的实验研究 [J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(18):1514-1516.

[6] 管珂, 陈筱清, 王强, 等. 南蛇藤茎的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2007, 38(10):1455-1458.

[7] Qian Y Y, Zhang H, Hou Y, et al. *Celastrus orbiculatus* extract inhibits tumor angiogenesis by targeting vascular endothelial growth factor signaling pathway and shows potent antitumor activity in

hepatocarcinomas *in Vitro* and *in Vivo* [J]. *Chin J Integr Med*, 2012, 18(10):752-760.

[8] Liao X H, Li Y Q, Wang N, et al. Re-expression and epigenetic modification of maspin induced apoptosis in MCF-7 cells mediated by myocardin [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(6):1335-1346.

[9] Ben Shachar B, Feldstein O, Hacoheh D, et al. The tumor suppressor maspin mediates E2F1-Induced sensitivity of cancer cells to chemotherapy [J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(3):363-372.

[10] Li G, Liu D, Guo S, et al. Anti-invasive effects of *Celastrus Orbiculatus* extract on interleukin-1 beta and tumour necrosis factor-alpha combination-stimulated fibroblast-like synoviocytes [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2014, 14(1):62.

[11] Ma H, Qian Y Y, Zhang H, et al. *Celastrus Orbiculatus* Extract could inhibit human colorectal carcinoma HT-29 cells metastasis via suppression of the mTOR signaling pathway [J]. *Life Sci J*, 2013, 10(2):1704-1710.

[12] Zhang H, Qian Y, Liu Y, et al. *Celastrus Orbiculatus* extract induces mitochondrial-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *J Tradit Chin Med*, 2012, 32(4):621-626.

[13] Foutadakis S, Avgeris M, Tokas T, et al. Increased BCL2L12 expression predicts the short-term relapse of patients with TaT1 bladder cancer following transurethral resection of bladder tumors [J]. *Urol Oncol*, 2014, 32(1):39-42.

[14] Stegh A H, Brennan C, Mahoney J A, et al. Glioma oncoprotein Bcl2L12 inhibits the p53 tumor suppressor [J]. *Genes Dev*, 2010, 24(19):2194-2204.

[15] Taghavi M S, Akbarzadeh A, Mahdian R, et al. Cisplatin downregulates BCL2L12, a novel apoptosis-related gene, in glioblastoma cells [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2013, 49(6):465-472.

[16] Hu J, Fang Y, Cao Y, et al. miR-449a Regulates proliferation and chemosensitivity to cisplatin by targeting cyclin D1 and BCL2 in SGC7901 cells [J]. *Dig Dis Sci*, 2014, 59(2):336-345.

[17] Chen J, Chen J, Li Z, et al. The apoptotic effect of apigenin on human gastric carcinoma cells through mitochondrial signal pathway [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(8):7719-7726.

[18] Prasad C P, Rath G, Mathur S, et al. Expression analysis of maspin in invasive ductal carcinoma of breast and modulation of its expression by curcumin in breast cancer cell lines [J]. *Chem Bio Interact*, 2010, 183(3):455-461.

[19] Zheng A H, Yi Y F, Zhou W W. Construction of a eukaryotic vector expressing MASPIN gene and its effect on cell apoptosis in gastric cancer cell line SGC7901 [J]. *Ai Zheng*, 2008, 27(11):1161-1165.

[责任编辑 周冰冰]