

重楼皂苷 I 对结肠癌 HCT116 细胞凋亡及 Bax, Bcl-2, Caspase-3 蛋白表达的影响

罗吉¹, 罗燕¹, 李勇敏¹, 谭小宁¹, 吕元¹, 马荣丽², 蒋益兰^{1*}

(1. 湖南省中医药研究院附属医院, 长沙 410006; 2. 湖南中医药大学研究生院, 长沙 410208)

[摘要] 目的:观察重楼皂苷 I (polyphyllin I, PP I) 对结肠癌 HCT116 细胞凋亡及凋亡相关因子 Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax), B 细胞淋巴瘤-2 (B cell lymphoma-2, Bcl-2), 半胱天冬酶-3 (Caspase-3) 蛋白表达的影响, 探讨重楼皂苷 I 抑制结直肠癌转移的可能作用机制。方法:Cell counting kit-8 (CCK-8) 法检测 12, 24, 48 h 的细胞生长抑制作用, 流式细胞术检测不同浓度的重楼皂苷 I 对 HCT116 细胞凋亡的影响, 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测凋亡相关因子 Bax, Bcl-2, Caspase-3 蛋白的表达。结果:重楼皂苷 I 可抑制对 HCT116 细胞生长, 呈一定的浓度、时间依赖性; 可促进 HCT116 细胞凋亡, 呈一定的浓度依赖性。与空白组、重楼皂苷 I 低浓度组比较, 重楼皂苷 I 高浓度组 Bax, 剪切的半胱天冬酶-3 蛋白 (cleaved Caspase-3) 蛋白表达升高, Bcl-2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 未剪切的半胱天冬酶-3 (pro-Caspase-3) 蛋白表达无明显变化。结论:重楼皂苷 I 可抑制 HCT116 细胞生长, 诱导 HCT116 细胞凋亡, 且其诱导 HCT116 细胞凋亡的机制可能与其降低线粒体途径相关的细胞凋亡因子 Bcl-2 表达, 升高 Bax 表达, 并上调线粒体通路下游的 Caspase-3 蛋白相关。

[关键词] 重楼皂苷 I; 结肠癌; HCT116 细胞; 细胞凋亡

[中图分类号] R285.5; R22; R241.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)06-0172-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20180687

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171213.0924.026.html>

[网络出版时间] 2017-12-13 14:06

Effect of Polyphyllin I on Apoptosis and Protein Expressions of Bax, Bcl-2 and Caspase-3 in Colorectal Cancer Cell HCT116

LUO Ji¹, LUO Yan¹, LI Yong-min¹, TAN Xiao-ning¹, LYU Yuan¹, MA Rong-li², JIANG Yi-lan^{1*}

(1. Hunan Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Changsha 410006, China;
2. Graduate School, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of polyphyllin I on the protein expression of Caspase-3 in the apoptosis of colon cancer HCT116 cells and apoptosis-related protein Bcl-2 associated X protein (Bax) and B cell lymphoma-2 (Bcl-2), in order to investigate the inhibitory effect of polyphyllin I on the metastasis of colorectal cancer. **Method:** Cell counting kit-8 (CCK-8) experiment was performed for the detection of the cell growth inhibition effect; flow cytometry was used to detect the apoptosis rate of HCT116 cells after the treatment with polyphyllin I; and Western blot was used to detect the expression of apoptosis-related proteins (Bax, Bcl-2 and Caspase-3). **Result:** Polyphyllin I can inhibit the growth of HCT116 cells in a concentration and time-dependent manner, and promote the apoptosis of HCT116 cells in a concentration-dependent manner. Compared with control group and the low-concentration polyphyllin I group, the expressions of Bax and cleaved Caspase-3

[收稿日期] 20170830(005)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81373602);湖南省自然科学基金青年基金项目(2017JJ186);湖南省中医药研究院重点项目(201604,201504)

[第一作者] 罗吉,博士,助理研究员,从事中西医结合防治肿瘤疾病研究,Tel:0731-85920129,E-mail:luojij927@163.com

[通信作者] *蒋益兰,主任医师,博士生导师,从事中西医结合防治肿瘤疾病研究,Tel:0731-85920129,E-mail:tianshangren624@163.com

were increased in the high-concentration polyphyllin I group, and the protein expression of Bcl-2 was decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Polyphyllin I can inhibit the growth of HCT116 cells and promote the apoptosis of HCT116 cells. Its mechanism in promoting HCT116 cell apoptosis may be related to the decrease of the expression of the mitochondrial pathway-associated apoptosis factor Bcl-2, increase of the protein expressions of Bax and mitochondrial pathway downstream Caspase-3.

[Key words] Polyphyllin I; colorectal cancer; HCT116 cancer cell; apoptosis

结直肠癌为临床常见消化道肿瘤,据国家癌症中心《2013 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析》报道,结直肠癌为我国常见的 5 大恶性肿瘤之一,每年新增病例为 34.8 万例,占恶性肿瘤发病率的 25.57%;死亡病例为 16.5 万例,占恶性肿瘤死亡率的 12.11%。且由于不健康饮食、长期久坐、腰围增粗,结直肠癌在女性中增长趋势日益明显^[1-3]。目前关于结肠癌的发病机制还不甚清楚,有待进一步科学研究。现有文献报道表明结肠癌的发生和转移是由一系列有序的,相互联系的多个步骤^[4-6]。手术是目前治疗结肠癌的首选方案,但术后局部复发和转移率较高(39% ~ 75%),是导致结肠癌患者死亡的主要原因^[7]。中医药治疗肿瘤以“整体观念”和“辨证论治”为基本原则,是我国治疗结直肠癌的一大特色,其可通过多靶点、多层次、多环节的综合调控作用抑制肿瘤的发生、发展,是结直肠癌综合治疗中不可缺少的治疗手段之一^[8]。重楼是临床上肿瘤治疗最为常用的化痰解毒中药之一,最早收载于《神农本草经》,具有清热解毒、消肿止痛、息风定惊的功效,兼具软坚散结和祛除邪毒的功效,是目前研究的具有抗肿瘤的中草药之一^[9]。现代中药药理研究表明重楼提取物,特别是其中的皂苷类物质,具有较强的抗肿瘤活性,其对恶性淋巴瘤、皮肤癌、肺癌、鼻咽癌、脑肿瘤及消化系统肿瘤等有较好的治疗作用^[10-13]。重楼皂苷 I 作为较早分离和鉴定的甾体皂苷之一,文献报道表明其对乳腺癌、膀胱癌、肝癌以及卵巢癌等细胞有明显的抑制生长和诱导凋亡作用^[10-13],但其对结直肠癌细胞的诱导凋亡作用机制尚未见报道,本实验拟观察其对结肠癌 HCT116 细胞凋亡的影响及其作用机制。

1 材料

1.1 细胞株 人结肠癌细胞株 HCT116 细胞购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库,编号 TCHu99。

1.2 药物 重楼皂苷 I 购自四川维克奇生物科技公司,批号 wkq16051102。

1.3 试剂 Dumbecco's modified eagle media

(DMEM)培养基,胎牛血清,胰蛋白酶(美国 Life Technology 公司,批号分别为 05197, 1640958, 25200-056);碘化丙啶(PI)细胞周期检测试剂盒(美国 BD 公司,批号 550825);cell counting kit-8 (CCK-8)检测试剂盒(美国 MCE 公司,批号 02060117);Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax),B 细胞淋巴瘤-2(Bcl-2),未剪切的半胱天冬酶-3 蛋白(pro-Caspase-3),剪切的 Caspase-3 单克隆抗体(美国 Abcam 公司,批号分别为 ab32503, ab32124, ab32351, ab32042); β -肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体(美国 Sigma 公司,批号 A5316);二抗抗体(北京中杉金桥公司,批号 T14987)。

1.4 仪器 HERAcell2401 型二氧化碳细胞培养箱(美国 Thermo 公司);EIX808U 型全自动酶标仪(美国 BioTek 公司);SE300 型蛋白质电泳仪,TE22 型蛋白质转膜仪(美国 Hoefer 公司);G:BOX 型凝胶成像系统(美国 Syngene 公司);FACSCalibur 型流式细胞分析仪(美国 BD 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 HCT116 细胞培养于含 10% 胎牛血清,100 U·mL⁻¹青霉素和链霉素的 DMEM(高糖)培养液中,置于 37 °C 5% CO₂ 饱和湿度的细胞培养箱内进行培养,细胞汇合率达 80% 左右时,胰酶消化细胞成单个细胞悬液,进行传代培养。

2.2 CCK-8 检测重楼皂苷 I 对 HCT116 细胞生长的抑制作用 将培养好的 HCT116 细胞配成 1×10^5 个/mL 的细胞悬液,接种到无菌 96 孔板上,每孔接种 100 μ L,然后置于 37 °C 5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 后,细胞已贴壁生成于 96 孔板上,吸去 DMEM 培养基,加入不同浓度 PPI 溶液(0, 1.56, 3.13, 6.25, 12.5, 25, 50 μ mol·L⁻¹)至铺好细胞的 96 孔板上,每孔 100 μ L,设置 6 个平行孔。药物处理时间为 12, 24, 48 h,药物处理完毕后,每孔加入 CCK-8 溶液 20 μ L,混匀,设置空白孔(空白孔为加入相应量细胞培养液、药物和 CCK-8 溶液,没有细胞的孔),在 37 °C 5% CO₂ 饱和湿度的细胞培养箱内继续孵育 1 h,酶标仪 450 nm 下测定吸光度 A,计算各组细胞活力,各组

细胞活力 = A 药物组 / A 溶剂组 × 100%。

2.3 流式细胞术检测细胞凋亡率 取处于对数生长期的人结肠癌细胞 HCT116 接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后, 吸去 DMEM 培养基, 分别加入重楼皂苷 I (6.25, 3.13 μmol · L⁻¹) 于 6 孔板上, 每孔 2 mL, 每组 3 个平行孔, 同时设置空白组(空白组为加入相应量不含药物的细胞培养液), 药物处理时间为 24 h。药物处理完毕后吸去培养液, 用 0.25% 的胰蛋白酶消化收集后, 于室温下 1 000 r · min⁻¹ 离心 6 min, 弃上清, 预冷磷酸盐缓冲液 (PBS) 液洗 2 次, 1 000 r · min⁻¹ 离心 6 min, 75% 乙醇固定 24 h, 1 000 r · min⁻¹ 离心 6 min, 弃上清, PBS 液洗 1 次, 分别加入 PI 染色液 0.5 mL, 缓慢并充分重悬细胞沉淀, 37 °C 避光温浴 30 min, 随后以 4 °C 避光存放。染色完成后 24 h 内用流式细胞仪在激发波长 488 nm 波长处检测荧光强度及散射情况。

2.4 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 Bax, Bcl-2, Caspase-3 蛋白表达 取处于对数生长期的人结肠癌细胞 HCT116, 接种于 100 mm 培养皿中, 培养 24 h 后, 细胞已贴壁生成于培养皿上, 吸去 DMEM 培养基, 依次加入重楼皂苷 I (6.25, 3.13 μmol · L⁻¹) 于培养皿上, 每皿 8 mL, 每组设 3 个重复, 同时设置空白组(加入相应量不含药物的细胞培养液), 药物处理 24 h 后, 使用蛋白裂解液(强) 提总蛋白, 二喹啉甲酸 (BCA) 法测定所提取的蛋白质浓度。按 40 μg / 孔蛋白进行 10% SDS-PAGE 分离, 湿转法将蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜 (PVDF)

上, 5% BSA 室温封闭 2 h, 分别加入适量稀释后抗体 Bax, Bcl-2, pro-Caspase-3, cleaved Caspase-3 (1:5 000), β-actin (1:10 000), 在摇床上 4 °C 孵育过夜; 聚山梨酯与三乙醇胺缓冲盐水溶液 (TBST) 洗涤 (每次洗涤 15 min, 共 3 次), 分别加入相应二抗, 山羊抗兔 (1:5 000, 应用于 Bax, Bcl-2, pro-Caspase-3, cleaved Caspase-3), 山羊抗小鼠 (1:5 000, 应用于 β-actin), 室温摇床合适转速孵育 1 h, TBST 洗涤 (每次洗涤 15 min, 共 2 次), TBS 洗涤 1 次 15 min, 加入适量增强化学发光法 (plus-ECL) 发光试剂, 暗室内曝显影, 图像分析。检测目的蛋白及内参灰度值。

2.5 统计学分析 采用 Graphpad Prism 6 软件进行统计分析, 计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 数据进行正态分布检验及组间方差齐性检验, 符合正态分布及方差齐性, 采用单因素方差分析; 不符合正态分布、方差分析, 采用 Kruska-Wallis H 进行统计处理; 组间两两比较采用 LSD 法。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 重楼皂苷 I 对 HCT116 细胞生长抑制的影响 与空白组相比, 随着重楼皂苷 I 浓度的增加以及给药时间的延长, 各重楼皂苷 I 给药组的 HCT116 细胞的存活率不断下降 ($P < 0.05, P < 0.01$), 由此表明重楼皂苷 I 对结肠癌细胞 HCT116 的增殖有明显的抑制作用, 并呈一定的剂量和时间依赖性。重楼皂苷 I 处理 12, 24, 48 h 后的 IC₅₀ 分别为 1.85, 2.59, 5.18 μmol · L⁻¹。见表 1。

表 1 重楼皂苷 I 对结肠癌细胞 HCT116 存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	浓度 / μmol · L ⁻¹	12 h	24 h	48 h	%
空白	-	100.00 ± 0.12	100.00 ± 0.15	100.00 ± 0.13	
重楼皂苷 I	1.56	97.00 ± 1.56	70.05 ± 1.23	55.26 ± 1.71 ²⁾	
	3.13	65.30 ± 1.80 ¹⁾	35.01 ± 1.62 ²⁾	24.72 ± 2.01 ²⁾	
	6.25	40.03 ± 1.42 ²⁾	20.02 ± 1.25 ²⁾	12.70 ± 1.36 ²⁾	
	12.50	23.02 ± 0.90 ²⁾	10.30 ± 0.70 ²⁾	11.00 ± 0.60 ²⁾	
	25.00	11.30 ± 0.56 ²⁾	10.35 ± 0.28 ²⁾	8.70 ± 0.35 ²⁾	
	50.00	10.07 ± 0.32 ²⁾	10.02 ± 0.25 ²⁾	8.32 ± 0.22 ²⁾	

注: 与空白组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2, 3 同)。

3.2 重楼皂苷 I 对 HCT116 细胞凋亡的影响 重楼皂苷 I 作用于 HCT116 细胞 24 h 后, 与空白组相比, 重楼皂苷 I 高、低浓度组细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$); 与重楼皂苷 I 低浓度组相比, 重楼皂苷

I 高浓度组细胞的凋亡明显升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 重楼皂苷 I 对凋亡相关因子 Bax, Bcl-2, Caspase-3 蛋白表达的影响 与空白组比较, 重楼

表 2 重楼皂苷 I 对结肠癌细胞 HCT116 凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 2 Effect of Polyphyllin I on apoptosis of HCT116 cells

($\bar{x} \pm s, n = 3$)

组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	总凋亡率/%
空白	-	2.23 ± 0.59
重楼皂苷 I	3.13	13.62 ± 1.94 ²⁾
	6.25	39.58 ± 2.83 ^{2,3)}

注:与重楼皂苷 I 低浓度组比较³⁾ $P < 0.05$ (表 3 同)。

皂苷 I 低浓度组 Bax, pro-Caspase-3 蛋白表达升高, Bcl-2, Caspase-3 蛋白表达降低, 差异无统计学意义; 重楼皂苷 I 高浓度组 Bax, cleaved Caspase-3 蛋白表达升高, Bcl-2 蛋白表达降低 ($P < 0.05, P < 0.01$); 与重楼皂苷 I 低浓度组比较, 重楼皂苷 I 高浓度组

表 3 重楼皂苷 I 对结肠癌细胞 HCT116 凋亡相关蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of polyphyllin I on apoptosis-related protein expressions in HCT116 cells ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

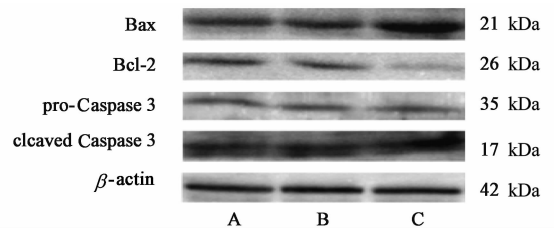
组别	浓度/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	Bax/ β -actin	Bcl-2/ β -actin	pro-Caspase-3/ β -actin	cleaved Caspase-3/ β -actin
空白	-	0.526 ± 0.022	0.524 ± 0.031	0.440 ± 0.021	0.542 ± 0.016
重楼皂苷 I	3.13	0.653 ± 0.025	0.479 ± 0.027	0.463 ± 0.220	0.557 ± 0.023
	6.25	0.757 ± 0.030 ^{2,3)}	0.245 ± 0.040 ^{2,3)}	0.488 ± 0.030	0.665 ± 0.020 ^{1,3)}

4 讨论

细胞凋亡是 I 型程序性细胞死亡, 其过程包括了细胞体积变小、细胞质浓缩、包膜皱缩、染色质塌陷和 DNA 片段化成寡核苷酸大小的片段等一系列典型的形态特征, 细胞凋亡是正常组织发育和体内平衡的主要机制, 凋亡系统的功能障碍常常导致肿瘤的发生^[14]。

细胞凋亡主要受线粒体通路和膜受体通路调节。线粒体通路, 又称为内调控通路, 该条信号通路中 Bcl-2 家族是重要的调节家族, 其可调节线粒体外膜的通透性, 使细胞膜穿孔, 释放细胞色素 C, 引起细胞凋亡^[15]。在 Bcl-2 家族中, Bcl-2 蛋白是典型的凋亡抑制蛋白, 其过表达可以抑制细胞的凋亡过程, 而 Bax 蛋白则是促细胞凋亡蛋白, 其作用机制与 Bcl-2 蛋白刚好相反, 其过表达能促进细胞发生凋亡作用。Bax 蛋白定位于细胞浆中, 当细胞启动凋亡程序时, Bax 蛋白能被募集到线粒体膜上形成蛋白孔道, 帮助线粒体内的细胞色素 C 释放出来, 激活下游 Caspase 蛋白家族, 从而促进细胞凋亡的发生; 而 Bcl-2 主要位于线粒体膜上, 通过保持线粒体膜的稳定性, 防止细胞色素 C 的释放, 从而起到抑制细胞凋亡的作用, 并能与 Bax 形成二聚体拮抗 Bax

Bax, cleaved Caspase-3 蛋白表达升高, Bcl-2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$)。见图 1, 表 3。



A. 空白组; B. 重楼皂苷 I ($3.13 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组; C. 重楼皂苷 I ($6.25 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 组

图 1 结肠癌细胞 HCT116 Bax, Bcl-2, pro-Caspase-3, cleaved Caspase-3 蛋白表达电泳

Fig. 1 Electrophoresis of protein expressions of HCT116 Bax, Bcl-2, pro-Caspase-3, cleaved Caspase-3 in HCT116 cells

蛋白的促凋亡作用^[16-19], 由此可知, 细胞凋亡的启动受到 Bcl-2 家族蛋白的调控。Caspase 是凋亡信号转导的共同通路, 诸多调控细胞凋亡的通路最终都通过 Caspase 酶的功能而发生抗凋亡或者促凋亡的作用, Caspase-3 是肿瘤细胞发生凋亡反应中的关键调节因子, 线粒体损伤后释放细胞色素 C, 激活 Caspase-3 启动细胞凋亡; 而 Bax 可通过促进细胞色素 C 的释放, 激活 Caspase-3, 从而促进细胞凋亡^[8-9]。

重楼皂苷 I 是中草药重楼的主要成分, 其可通过诱导细胞周期阻滞和线粒体途径介导的细胞凋亡、抑制肿瘤血管生成、调节免疫功能等多靶点、多途径作用于胃癌、乳腺癌、肝癌、肺癌、卵巢癌等肿瘤中, 抑制肿瘤细胞的生长、转移^[10-13]。本实验通过 CCK-8 实验发现重楼皂苷 I 可抑制 HCT116 细胞生长, 并呈现出一定的浓度、时间依赖性; 同时, 可促进 HCT116 细胞凋亡, 且呈浓度依赖性。为进一步探讨重楼皂苷 I 对 HCT116 细胞凋亡的调节机制, 本实验检测了凋亡蛋白的表达情况, 结果提示重楼皂苷 I 作用于 HCT116 细胞后, 可通过降低线粒体途径相关的细胞凋亡因子 Bcl-2 的表达, 升高 Bax 的表达, 并激活线粒体通路

下游的 Caspase-3 蛋白,说明重楼皂苷 I 可能通过调节线粒体通路的相关因子,达到抑制细胞凋亡的目的。

[参考文献]

[1] 陈万青,郑荣寿,张思维,等. 2013年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤,2017,26(1):1-7.

[2] CHEN W, ZHENG R, Baade P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA: Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.

[3] Miller K D, Siegel R L, Lin C C, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016 [J]. CA: Cancer J Clin, 2016, 66(4): 271-289.

[4] Nieto M A, HUANG R Y, Jackson R A, et al. EMT; 2016 [J]. Cell, 2016, 166(1): 21-45.

[5] Baratti D, Kusamura S, Pietrantonio F, et al. Progress in treatments for colorectal cancer peritoneal metastases during the years 2010-2015. A systematic review [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2016, doi: 10.1016/j.critrevonc.2016.01.017.

[6] Van Cutsem E, Cervantes A, Nordlinger B, et al. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up [J]. Ann Oncol, 2014, doi:10.1093/annonc/mdl260.

[7] Kuipers E J, Grady W M, Lieberman D, et al. Colorectal cancer [J]. Nat Rev Dis Primers, 2015, doi:10.1038/nrdp.2015.65.

[8] 唐蔚,宋程. 蒋益兰治疗大肠癌经验 [J]. 湖南中医杂志, 2014, 30(12): 25-26.

[9] 武珊珊,高文远,段宏泉,等. 重楼化学成分和药理作用研究进展 [J]. 中草药, 2004, 35(3): 344-347.

[10] LI G B, FU R Q, SHEN H M, et al. Polyphyllin I induces mitophagic and apoptotic cell death in human breast cancer cells by increasing mitochondrial PINK1 levels [J]. Oncotarget, 2017, 8(6): 10359-10374.

[11] 王跃虎,牛红梅,张兆云,等. 重楼属植物的药用价值及其化学物质基础 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(5): 833-839.

[12] GU L H, FENG J G, ZHENG Z G, et al. Polyphyllin I inhibits the growth of ovarian cancer cells in nude mice [J]. Oncol Lett, 2016, 12(6): 4969-4974.

[13] HAN W H, HOU G X, LIU L. Polyphyllin I (PPI) increased the sensitivity of hepatocellular carcinoma HepG2 cells to chemotherapy [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(11): 20664-20669.

[14] LIU P F, HU Y C, KANG B H, et al. Expression levels of cleaved Caspase-3 and Caspase-3 in tumorigenesis and prognosis of oral tongue squamous cell carcinoma [J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0180620.

[15] Bleicken S, Hantusch A, Das K K, et al. Quantitative interactome of a membrane Bcl-2 network identifies a hierarchy of complexes for apoptosis regulation [J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 73.

[16] 黄宝媛,曾常青,曾宇,等. 钩藤总生物碱对 HepG2 细胞增殖和凋亡的影响及机制研究 [J]. 中药材, 2017, 40(3): 707-710.

[17] Gahl R F, Dwivedi P, Tjandra N. Bcl-2 proteins bid and bax form a network to permeabilize the mitochondria at the onset of apoptosis [J]. Cell Death Dis, 2016, 7(10): e2424.

[18] PU X, Storr S J, ZHANG Y, et al. Caspase-3 and Caspase-8 expression in breast cancer: Caspase-3 is associated with survival [J]. Apoptosis, 2017, 22(3): 357-368.

[19] LIU Q, SI T L, XU X Y, et al. Electromagnetic radiation at 900 MHz induces sperm apoptosis through Bcl-2, Bax and Caspase-3 signaling pathways in rats [J]. Reprod Health, 2015, doi:10.1186/s12978-015-0062-3.

[责任编辑 张丰丰]