

斑蝥酸钠维生素 B6 诱导人肝癌 HepG2 细胞凋亡及周期阻滞

张萌, 李胜超, 乔治斌, 何宏涛, 彭利*

(河北医科大学第四医院, 石家庄 050011)

[摘要] 目的: 研究斑蝥酸钠维生素 B6(艾易舒)注射液对人肝癌 HepG2 细胞增殖、细胞周期与凋亡的影响, 探讨其分子机制。方法: 将不同浓度的斑蝥酸钠维生素 B6 注射液(0, 1, 5, 10 mg·L⁻¹)作用于人肝癌 HepG2 细胞 12, 24, 48 h, MTT 法检测细胞增殖抑制率, 流式细胞学技术检测细胞凋亡率及细胞周期的变化, Western blot 检测蛋白激酶 B(Akt), 磷酸化蛋白激酶 B(pAkt), B 细胞淋巴瘤-2 基因相关 X 蛋白(Bax), B 细胞淋巴瘤-2 基因(Bcl-2)及细胞周期依赖性激酶抑制因子 p21 蛋白表达变化, RT-PCR 检测 Bax, Bcl-2 及 p21 mRNA 表达变化。结果: 斑蝥酸钠维生素 B6 可显著抑制 HepG2 细胞的增殖, 诱导细胞凋亡, 具有显著的时间和浓度效应($P < 0.05$); 同时 G₀/G₁ 期细胞比例显著升高, S 期细胞比例显著降低($P < 0.05$)。Western blot 结果显示斑蝥酸钠维生素 B6 可下调 HepG2 细胞中 pAkt 和 Bcl-2 蛋白的表达, 上调 Bax 和 p21 蛋白的表达($P < 0.05$)。RT-PCR 结果显示 Bax, p21 mRNA 的表达水平明显升高, 而 Bcl-2 mRNA 的表达水平下降($P < 0.05$)。结论: 斑蝥酸钠维生素 B6 可抑制人肝癌 HepG2 细胞的增殖, 诱导其凋亡并引发 G₀/G₁ 期阻滞, 其机制可能与斑蝥酸钠维生素 B6 参与调控磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B(PI3K/Akt)通路有关。

[关键词] 斑蝥酸钠维生素 B6; 磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B 信号通路; 肝细胞癌; 凋亡; B 细胞淋巴瘤-2 基因; B 细胞淋巴瘤-2 基因相关 X 蛋白; 细胞周期依赖性激酶抑制因子 p21

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0216-05

[doi] 10.11653/syfj2013230216

Sodium Cantharidinate and Vitamin B6 Injection Promotes Apoptosis of Hepatocellular Carcinoma Cell Line HepG2 through Regulating PI3K/Akt Signaling Pathway

ZHANG Meng, LI Sheng-chao, QIAO Zhi-bin, HE Hong-tao, PENG Li*

(Fourth Hospital, Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Sodium Cantharidinate and Vitamin B6 injection (SCV) on proliferation and apoptosis of human hepatocellular carcinoma cell line HepG2, and to explore its underlying mechanism. **Method:** After treatment with different concentrations of SCV (0, 1, 5, 10 mg·L⁻¹) for different periods (12, 24, 48 h), the proliferation of HepG2 cells was analyzed by MTT. The cell cycle and apoptosis rate were detected by flow cytometry (FCM). The protein levels of protein kinase B (Akt), phosphate Akt (pAkt), Bcl-2 associated x protein (Bax), B cell lymphoma/leuremia-2 (Bcl-2) and p21 were detected by Western blot. The mRNA levels of Bax, Bcl-2 and p21 were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Result:** SCV significantly inhibited cell proliferation and induced apoptosis of HepG2 cells. Those effects were in a time and dose-dependent manners. SCV induced an increase in the percentage of G₀/G₁ phase cells and a decrease in the percentage of S phase cells accompanied by the change in DNA ploidy ($P < 0.05$). The levels of Bax and p21 mRNA expression in HepG2 cells was significantly up-regulated after treatment with SCV ($P < 0.05$), while the expression level of Bcl-2 mRNA was down-regulated. The expression levels of

[收稿日期] 20130715(020)

[基金项目] 河北省高校强势特色学科项目(2005-52)

[第一作者] 张萌, 博士, 副主任医师, 从事肝胆肿瘤的基础与临床研究, Tel:0311-86095340, E-mail:mengac@sina.com

[通讯作者] * 彭利, 博士, 教授, 从事肝胆肿瘤的基础与临床研究, Tel:0311-86095340, E-mail:pengli72@sina.com

pAkt and Bcl-2 proteins were down-regulated, while that of Bax and p21 protein was up-regulated ($P < 0.05$).

Conclusion: SCV could inhibit cell proliferation and induce apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line HepG2. PI3K/Akt signaling pathway and the related downstream targets are involved in those processes.

[Key words] Sodium Cantharidinate and Vitamin B₆; PI3K/Akt signaling pathway; hepatocellular carcinoma; apoptosis; Bcl-2; Bax; p21

原发性肝癌为我国常见恶性肿瘤之一,每年新发病例数占全球总数的 55%,该病起病隐匿、进展迅速,预后极差,为我国第二位恶性肿瘤致死病因^[1]。目前认为原发性肝癌的治疗是以手术为主的综合治疗,中医中药在其中发挥着越来越重要的作用,尤其是对于失去手术机会的中、晚期肝癌患者^[2]。斑蝥属祖国传统中药,《本草纲目》中即有其治疗肿瘤的记载。斑蝥抗癌的主要有效成分为斑蝥素,斑蝥酸钠维生素 B6 注射液是斑蝥素的半合成衍生物斑蝥酸钠与维生素 B6 组成的抗肿瘤注射液,对于晚期肝癌及肺癌等多种恶性肿瘤均有较好的治疗效果。磷脂酰肌醇-3-激酶/蛋白激酶 B (phosphatidylinositol-3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 通路是重要的凋亡抑制通路,在调控恶性肿瘤细胞的增殖、分化、存活和迁移等方面起着重要作用,以此通路为靶点的肿瘤治疗策略是目前研究的热点^[3-4]。笔者前期研究发现,在肝细胞癌组织中存在 PI3K/Akt 通路的异常激活,且与肝癌的恶性生物学行为及患者的生存期有密切关系^[5]。斑蝥酸钠维生素 B6 是否可通过调控 PI3K/Akt 通路发挥抗肝细胞癌的作用,目前尚无报道。本实验通过观察斑蝥酸钠维生素 B6 对体外培养的人肝癌 HepG2 细胞增殖、细胞周期与凋亡的影响,检测 PI3K/Akt 信号通路相关蛋白的表达变化,探讨其作用机制。

1 材料

1.1 细胞 人肝癌细胞系 HepG2 由河北医科大学第四医院科研中心提供。用含有 10% 胎牛血清、100 U·mL⁻¹ 青霉素、100 mg·L⁻¹ 链霉素的 RPMI-1640 培养基在 5% CO₂ 37 °C 恒温培养箱中培养。2~3 d 传代 1 次,取对数生长期细胞进行实验。

1.2 试剂 斑蝥酸钠维生素 B6 注射液[SCV, 贵州柏强制药有限公司(艾易舒),批号 2012120302]。RT-PCR 试剂盒(北京华美公司),GAPDH, B 细胞淋巴瘤-2 基因相关 X 蛋白(Bax), B 细胞淋巴瘤-2 基因(Bcl-2)及 p21 基因引物由上海生工生物工程公司合成。鼠抗人 β-actin 和 p21 单克隆抗体、兔抗人 Bcl-2 和 Bax 单克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),兔抗人磷酸化蛋白激酶 B (pAkt) 单克隆抗体(美国

Epitomics 公司),兔抗人蛋白激酶 B (Akt) 多克隆抗体(美国 Cell Signaling 公司),八甲基偶氮唑蓝(MTT)及碘化丙啶(PI)染液(美国 Sigma 公司),细胞蛋白提取试剂盒、Bradford 法蛋白定量试剂盒(北京索莱宝有限公司),DAB 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司),RPMI 1640 培养基和 Trizol 总 RNA 提取试剂(美国 Gibco 公司)。

1.3 仪器 TC2323 型 CO₂ 培养箱(美国 Shellab 公司),Epics-XL II 型流式细胞仪(美国 Beckman-Coulter 公司),PCR 自动扩增仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 细胞增殖检测 将对数生长期的 HepG2 细胞按 1×10^5 个/孔接种于 96 孔培养板,孵育 24 h 待细胞贴壁后加入斑蝥酸钠维生素 B6 注射液(SCV 终质量浓度分别为 0, 1, 5, 10 mg·L⁻¹),每组设 6 个复孔,设阴性对照组及空白组。分别培养 12, 24, 48 h 后,每孔加入 MTT 20 μL (5 g·L⁻¹),继续孵育 4 h,弃上清液,每孔加入 100 μL DMSO,振荡 10 min 待结晶充分溶解后在酶标仪 490 nm 波长处测定每孔吸光度(A)。计算细胞增殖抑制率,实验重复 3 次。

$$\text{抑制率} = (\text{对照组 } A - \text{试验组 } A) / (\text{对照组 } A - \text{空白组 } A) \times 100\%$$

2.2 检测细胞凋亡及细胞周期的变化 取对数生长期的 HepG2 细胞 (5×10^5 个/培养瓶),经斑蝥酸钠维生素 B6 注射液(终质量浓度分别为 0, 1, 5, 10 mg·L⁻¹)作用 48 h 后收获细胞。用预冷 70% 乙醇固定 12 h。离心弃固定液,PBS 重悬 5 min 后 300 目筛网过滤,加入 PI 染液,4 °C 避光染色 30 min,流式细胞仪分析细胞周期和细胞凋亡的变化。实验重复 3 次。

2.3 检测蛋白表达变化 按照方法 2.2 进行细胞培养和分组,收集细胞,按照细胞蛋白质提取试剂盒的步骤提取细胞总蛋白。Bradford 比色法检测蛋白浓度。取 50 μg 样品进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,将凝胶中分离的蛋白转印 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶封闭 2 h 后,分别加入 1:200 稀释的鼠抗人 β-actin 单克隆抗体、兔抗人 Akt 多克隆抗体、鼠抗人 p21 单克

隆抗体及 1:150 稀释的兔抗人 Bcl-2 和 Bax 单克隆抗体、兔抗人 pAkt 单克隆抗体,4 ℃ 孵育过夜,加入辣根过氧化物酶标记的相应二抗溶液,37 ℃ 孵育 2 h,洗膜后 DAB 显色, β -actin 为内参照。条带进行吸光度值分析,将目标条带与 β -actin 条带的灰度值之比作为其蛋白表达水平的参数。实验重复 3 次。

2.4 检测 mRNA 表达变化 按照方法 2.2 进行细胞培养和分组,收集细胞,提取各组细胞的总 RNA,进行 RNA 完整性及纯度的鉴定。使用一步法反转录试剂盒,合成 cDNA。以 GAPDH 为内参照,GAPDH 上游引物序列:5'-GGA AGG TGA AGG TCG GAG T-3',下游引物序列:5'-CCT GGA AGA TGG TGA TGG G-3',扩增产物大小为 250 bp。Bcl-2 上游引物序列:5'-CGA CTT CGC CGA GAT GTC CAG CCA G-3',下游引物序列:5'-ACT TGT GGC CCA GAT AGG CAC CCA G-3',扩增产物大小为 388 bp。Bax 上游引物序列:5'-GGC CCA CCA GCT CTG AGC AGA-3',下游引物序列:5'-GCC ACG TGG GCG TCC CAA AGT-3',扩增产物大小为 417 bp。p21 上游引物序列:5'-TTA GGG CTT CCT CTT GGA GAA GAT-3',下游引物序列:5'-ATG TCA GAA CCG GCT GGG GTA GTC-3',扩增产物大小为 496 bp。扩增条件:95 ℃ 预变性 5 min,94 ℃ 变性 1 min,相应退火温度(52 ~ 65 ℃)30 s,72 ℃ 延伸 30 s,28 个循环;72 ℃ 延伸 7 min。产物在 1.5% 琼脂糖凝胶中电泳,紫外凝胶成像仪拍照。条带进行 A 分析,将目标条带与 GAPDH 条带的 A 之比作为其 mRNA 表达水平的参数。实验重复 3 次。

2.5 统计学处理 实验数据采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用方差分析,其中两两比较用 S-N-K 检验。两组均数比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 HepG2 细胞增殖的影响 斑蝥酸钠维生素 B6 注射液能够抑制 HepG2 细胞的增殖,且具有一定的时间及浓度依赖性($P < 0.05$) (图 1)。

3.2 斑蝥酸钠维生素 B6 注射液对 HepG2 细胞周期及凋亡的影响 斑蝥酸钠维生素 B6 注射液可促进 HepG2 细胞凋亡($P < 0.05$) (图 2),导致 G_0/G_1 期细胞比例升高,S 期细胞比例降低,且具有一定的浓度依赖性($P < 0.05$) (图 3)。

3.3 对 HepG2 细胞 Akt, pAkt, Bax, Bcl-2 及 p21 蛋白表达的影响 随着药物浓度的增加,pAkt 和 Bcl-

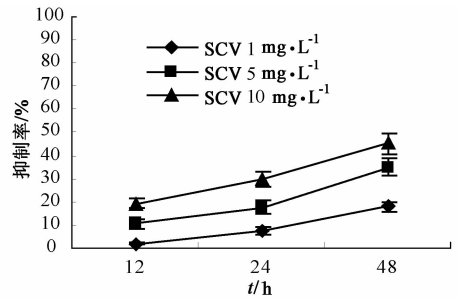
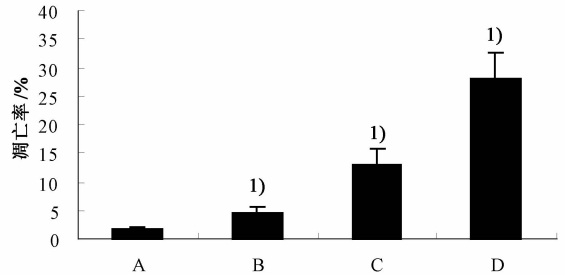


图 1 斑蝥酸钠维生素 B6 对 HepG2 细胞的增殖抑制作用($\bar{x} \pm s, n = 18$)



A. 0; B. SCV 1 mg·L⁻¹; C. SCV 5 mg·L⁻¹; D. SCV 10 mg·L⁻¹; 与 A 组比较¹⁾ $P < 0.05$ (图 3 同)

图 2 斑蝥酸钠维生素 B6 对 HepG2 细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

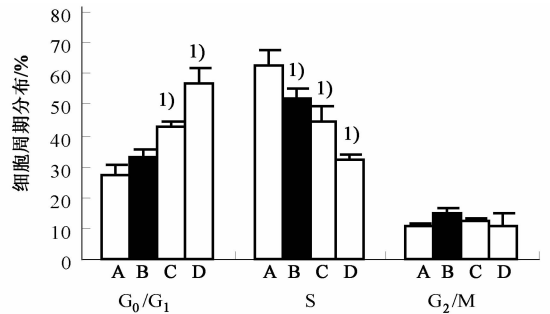


图 3 斑蝥酸钠维生素 B6 对 HepG2 细胞周期分布的影响

2 蛋白的表达水平下调,而 Bax 和 p21 蛋白的表达水平上调($P < 0.05$),Akt 蛋白的表达水平无明显变化(图 4)。

3.4 对 HepG2 细胞 Bax, Bcl-2 及 p21 mRNA 表达的影响 随着药物浓度的增加,HepG2 细胞 Bax 和 p21 mRNA 的表达水平上调,Bcl-2 mRNA 表达水平下调($P < 0.05$), (图 5)。

4 讨论

斑蝥酸钠为人工合成的斑蝥素衍生物,药效强且毒副作用明显减小,对其体内外抑瘤作用也有较多的研究^[6]。斑蝥酸钠维生素 B6 注射液是以斑蝥酸钠为主要有效成分的复合制剂,研究显示,其单剂或联合放、化疗对多种恶性肿瘤有较好的治疗作用,并能够改善患者放、化疗的不良反应,减轻骨髓抑

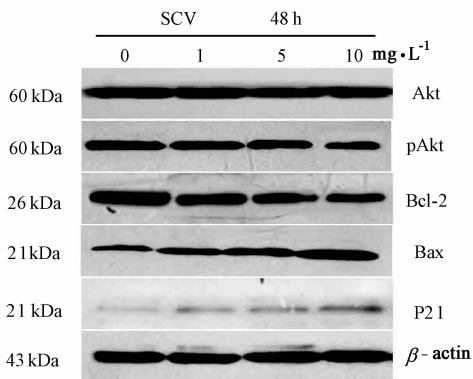


图4 斑蝥酸钠维生素 B6 对 HepG2 细胞 Akt, pAkt, Bcl-2, Bax, p21 蛋白表达的影响

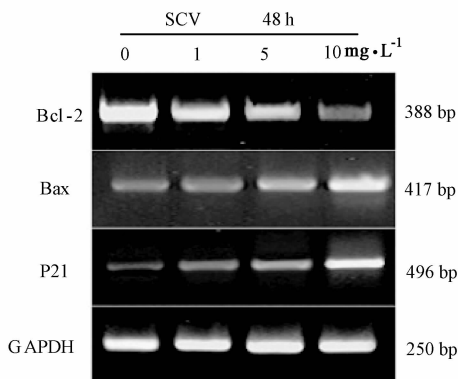


图5 斑蝥酸钠维生素 B6 对 HepG2 细胞 Bcl-2, Bax, p21 mRNA 表达的影响

制^[7],但具体机制尚不明确。作者的实验证实,斑蝥酸钠维生素 B6 可明显抑制 HepG2 细胞的增殖并诱导其凋亡。

PI3K/Akt 信号通路是重要的“凋亡抑制”通路,PI3K 可对 Akt 在 Ser473 和 Thr308 位点进行磷酸化激活,pAkt 处于细胞内多种信号通路的交汇点,通过激活或抑制下游 30 余种靶蛋白,与促进细胞增殖、抑制细胞凋亡、调控细胞周期等有密切关系,因此 pAkt 被认为是 PI3K/Akt 信号通路的效应核心^[8]。抑制 Akt 的磷酸化是阻断 PI3K/Akt 通路的主要策略,也是目前研究的焦点^[9]。本实验发现,经斑蝥酸钠维生素 B6 处理后,pAkt 蛋白表达水平明显下调,说明斑蝥酸钠维生素 B6 的抑癌作用与抑制 Akt 蛋白的磷酸化、阻断 PI3K/Akt 信号通路有关。Kim 等^[10]研究发现,斑蝥酸钠可抑制人肺癌 A549 细胞的侵袭及转移,并认为这与斑蝥酸钠抑制 PI3K/Akt 信号通路的活化,降解基质金属蛋白酶-2 有关。

抗凋亡的 Bcl-2 和促凋亡的 Bax 是 Bcl-2 蛋白家族的重要成员,Bax/Bcl-2 与肿瘤细胞的凋亡有密切关系,在凋亡进程中主要表现为 Bcl-2 表达减少,Bax 表达增多^[11]。作者的实验发现,斑蝥酸钠维生

素 B6 下调 pAkt 蛋白表达的同时,在 mRNA 及蛋白水平均伴有 Bcl-2 的下调和 Bax 的上调。因此,笔者推测斑蝥酸钠维生素 B6 可能通过抑制 PI3K/Akt 通路,使 Bcl-2 家族抗/促凋亡信号发生变化,激活 HepG2 细胞的凋亡进程。研究已经证实 Bcl-2 家族为 PI3K/Akt 通路的下游靶蛋白^[12],pAkt 可直接磷酸化 Bax 的 Ser184 位点,缩短 Bax 的半衰期,限制其由胞浆向线粒体内的集聚^[13];也可以间接通过 NF- κ B 途径在转录及翻译水平上调 Bcl-2 的表达^[14]。此外,Bcl-2 的表达水平被认为与肿瘤的耐药性呈正相关^[15],提示斑蝥酸钠维生素 B6 有可能减轻肝癌对化疗药物的耐药性。

为了进一步研究斑蝥酸钠维生素 B6 引发 HepG2 细胞 G₀/G₁ 期阻滞的分子机制,笔者检测了细胞周期依赖性激酶抑制因子 p21 的表达变化。结果显示,HepG2 细胞中 p21 mRNA 及蛋白的表达水平均明显升高,说明斑蝥酸钠维生素 B6 引发的 HepG2 细胞周期阻滞与上调 p21 的表达水平有关。在此过程中,伴有 pAkt 蛋白水平的反向变化,提示我们 PI3K/Akt 通路可能参与了对 p21 的调控。p21 是具有最广泛激酶抑制活性的细胞周期负性调节因子,可通过抑制 CDK2 和 CDK4 的活性,使细胞停滞于 G₀/G₁ 期,抑制细胞的过度增殖,防止癌变的发生,通常 p21 在肿瘤细胞中是低表达或表达缺失的^[16]。有研究显示,Akt 可通过磷酸化 p21 蛋白的不同位点调节其降解和亚细胞分布,但具体机制尚未明确^[17]。

综上所述,斑蝥酸钠维生素 B6 注射液可抑制人肝癌 HepG2 细胞的增殖,并诱导细胞发生凋亡及 G₀/G₁ 期阻滞,其机制可能与经 PI3K/Akt 信号通路参与 Bcl-2、Bax 及 p21 的表达调控有关。

[参考文献]

- [1] 龚新雷,秦叔逵. 原发性肝癌的分子靶向治疗研究新进展 [J]. 临床肿瘤学杂志,2008,13(1):1.
- [2] 周滢,周萍. 邓中甲教授治疗肝癌经验分析 [J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(2):260.
- [3] Franke T F. PI3K/Akt: getting it right matters [J]. Oncogene,2008,27(50):6473.
- [4] 孙佳,赵冬耕,王明艳,等. 槲皮素对 SMMC-7721 肝癌细胞 PI3K/AKT 信号通路影响的探讨 [J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(18):223.
- [5] 张萌,彭利,乔治斌,等. PTEN、Akt 和 pAkt 蛋白在肝细胞癌组织中的表达及其与预后的关系 [J]. 世界华人消化杂志,2011,19(18):1904.
- [6] Liu B,Gao H C,Xu J W,et al. Apoptosis of colorectal cancer UTC116 cells induced by Cantharidin [J]. Asian Pac J Cancer Prev,2012,13(8):3705.

颈复康颗粒中挥发油成分对血栓形成、 血液黏度及脑血流量的影响

杨宇杰^{1*}, 于海龙¹, 吕英超¹, 郭金甲², 杨冬丽², 郑艳春², 王春民²

[1. 承德医学院中药研究所(河北省中药研究与开发重点实验室), 河北承德 067000;

2. 承德颈复康药业集团有限公司(河北省中药新辅料工程技术研究中心), 河北承德 067000]

[摘要] **目的:**研究颈复康颗粒中挥发油成分对实验性体内外血栓形成、血液黏度及脑血流量的影响,为进一步开发利用颈复康颗粒中挥发油成分提供实验依据。**方法:**取 SD 大鼠 32 只,随机分成 4 组,每组 8 只。即颈复康颗粒中挥发油成分高、低剂量组(按生药量计为 70,35 g·kg⁻¹)、颈复康颗粒组(12 g·kg⁻¹)及空白对照组。各组连续 ig 给药 7 d(给药容积 20 mL·kg⁻¹,空白对照组给予等容积 1%吐温 80)。大鼠体外血栓形成:末次给药后 2 h,自腹腔静脉取血,置体外血栓形成仪上测量血栓长度、湿重、干重;大鼠体内血栓形成:末次给药后 2 h 麻醉大鼠,分离颈总动脉,观察记录体内血栓形成时间;自腹腔静脉取血测定大鼠血小板聚集率、高切、中切、低切下全血黏度及血浆黏度;取健康成年家犬 30 只,分组及给药同大鼠,观察记录用药前、后家犬脑血流量(cerebral blood flow,CBF)及脑血管阻力(cerebral vascular resistance,CVR),分析颈复康颗粒中挥发油成分对上述各项指标的影响。**结果:**颈复康颗粒中挥发油成分高、低 2 个剂量组均可延缓大鼠血栓形成时间(OT 延长率为 24.36%,12.60%),降低大鼠体外血栓长度、湿重和干重,降低血小板聚集率及全血黏度和血浆黏度(血小板 5 min 聚集阻值分别为 9.16,10.46 Ω),增加家犬脑血流量(末次给药后 30~90 min),但对脑血管阻力无明显影响。**结论:**颈复康颗粒中挥发油成分具有显著的活血化瘀作用,为颈复康颗粒中发挥药效的重要组成部分。

[关键词] 颈复康颗粒中挥发油成分; 血栓; 血小板聚集; 全血黏度; 血浆黏度; 脑血流量

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0220-04

[doi] 10.11653/syfy2013230220

[收稿日期] 20130529(002)

[通讯作者] * 杨宇杰,医学硕士,教授,从事药理学、中药新药研究与开发,Tel:13831477909,E-mail:yyj196912@sina.com

- [7] Zhan Y P, Huang X E, Cao J, et al. Clinical study on safety and efficacy of Qininq (cantharidin sodium) injection combined with chemotherapy in treating patients with gastric cancer [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2012, 13(9):4773.
- [8] Mosca E, Barcella M, Alfieri R, et al. Systems biology of the metabolic network regulated by the Akt pathway [J]. Biotechnol Adv, 2012, 30(1):131.
- [9] Almhanna K, Strosberg J, Malafa M. Targeting AKT protein kinase in gastric cancer [J]. Anticancer Res, 2011, 31(12):4387.
- [10] Kim Y M, Ku M J, Son Y J, et al. Anti-metastatic effect of cantharidin in A549 human lung cancer cells [J]. Arch Pharm Res, 2013, 36(4):479.
- [11] Croker B A, O'Donnell J A, Nowell C J, et al. Fas-mediated neutrophil apoptosis is accelerated by Bid, Bak, and Bax and inhibited by Bcl-2 and Mcl-1 [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(32):13135.
- [12] Xia Y P, Dai R L, Li Y N, et al. The protective effect of sonic hedgehog is mediated by the phosphoinositide 3-kinase/AKT/Bcl-2 pathway in cultured rat astrocytes under oxidative stress [J]. Neuroscience, 2012, 209:1.
- [13] Matheny R W Jr, Adamo M L. Current perspectives on Akt activation and Akt-ions [J]. Exp Biol Med, 2009, 234(11):1264.
- [14] 赵毅, 冯勇, 王强, 等. 胃肠道间质瘤中 PTEN、蛋白激酶 B 与转录因子家族 NF-κB、bcl-2 关系的研究 [J]. 中国医科大学学报, 2010, 39(5):366.
- [15] Krishna S, Low I C, Pervaiz S. Regulation of mitochondrial metabolism: yet another facet in the biology of the oncoprotein Bcl-2 [J]. Biochem J, 2011, 435(3):545.
- [16] Warfel N A, El-Deiry W S. p21WAF1 and tumorigenesis: 20 years after [J]. Curr Opin Oncol, 2013, 25(1):52.
- [17] Lu Z, Hunter T. Ubiquitylation and proteasomal degradation of the p21 (Cip1), p27 (Kip1) and p57 (Kip2) CDK inhibitors [J]. Cell Cycle, 2010, 9(12):2342.

[责任编辑 聂淑琴]