

槐耳清膏联合顺铂对人肺癌 A549 细胞和 A549/DDP 细胞 Bax、Bcl-2 及 Survivin 基因表达的影响

沈云飞¹ 詹建伟²

摘要 目的 研究槐耳清膏与顺铂联合使用对人肺癌细胞 A549 和 A549/DDP Bax、Bcl-2 以及 Survivin 基因表达的影响。方法 以体外培养的 A549 和 A549/DDP 细胞株为模型,将槐耳清膏进行梯度(将 10g 槐耳清膏溶解于 100mL 无血清 PRMI-1640 培养液中,分别制成 0、1.0、3.0、5.0、7.0 和 9.0mg/mL 的槐耳清膏溶液)稀释后与 12 μ g/mL 顺铂联合使用作用于 A549 细胞和 A549/DDP 细胞,并以无药物刺激作为空白对照组,分别采用逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)和酶联免疫吸附法(ELISA)检测 Bax、Bcl-2 以及 Survivin 基因在 A549 细胞和 A549/DDP 细胞表达情况。结果 槐耳清膏与顺铂联合使用下,随着槐耳清膏浓度的升高,A549 细胞和 A549/DDP 细胞 Bax 基因 mRNA 表达逐渐升高,Bcl-2、Survivin 基因 mRNA 表达逐渐降低,差异均有统计学意义($F=10.21$ 、 4.54 、 7.12 $P<0.01$ $P=0.01$ $P<0.01$; $F=12.43$ 、 9.17 、 7.63 P 均 <0.01)。槐耳清膏与顺铂联合使用的情况下,随着槐耳清膏浓度的升高,A549 细胞和 A549/DDP 细胞 Bax 蛋白表达量逐渐升高,Bcl-2、Survivin 蛋白表达量逐渐降低,差异均有统计学意义($F=8.54$ 、 9.38 、 10.55 P 均 <0.01 ; $F=15.71$ 、 17.98 、 14.68 P 均 <0.01)。结论 槐耳清膏与顺铂联合使用能够显著提高人肺癌细胞 A549 和 A549/DDP Bax 基因表达,降低 Bcl-2、Survivin 基因表达。

关键词 人肺癌细胞 A549 ;人肺癌细胞 A549/DDP ;癌基因 ;槐耳清膏 ;顺铂

Extract of fungi of Huaier combined with cisplatin effects on the expression of Bax, Bcl-2 and Survivin in human lung cancer cells A549 and A549/DDP SHEN Yunfei¹, ZHAN Jianwei². 1 Department of Pharmacy, Hangzhou Tumor Hospital, Hangzhou, Zhejiang province, 310002, China; 2 Department of Emergency, Hangzhou First People's Hospital and Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang province, 310006, China

ABSTRACT Objective To demonstrate the effect of fungi of Huaier combined with cisplatin effects on the expression of Bax, Bcl-2 and Survivin in human lung cancer cells A549 and A549/DDP. **Methods** The A549 and A549/DDP cell lines were cultured in vitro. Dissolved 10g of Huaier in 100mL serum-free PRMI-1640 medium and prepared as 0, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0 and 9.0mg/mL solution. The gradient dilution Huaier combined with 12 μ g/mL of cisplatin were added into A549 and A549/DDP cells. The cells without untreated drugs were as the blank control. The expression of Bax, Bcl-2 and Survivin genes in A549 and A549/DDP cells were detected by RT-PCR and ELISA. **Results** The mRNA expression of Bax in A549 and A549/DDP cells increased gradually with the higher concentration of Huaier ($F=10.21$, 4.54 and 7.12 ; $P<0.01$, $P=0.01$ and $P<0.01$, respectively), but Bcl-2 and Survivin expression decreased significantly ($F=12.43$, 9.17 and 7.63 ; $P<0.01$, $P<0.01$ and $P<0.01$, respectively). At the protein level, the expression of Bax also increased gradually ($F=8.54$, 9.38 and 10.55 ; $P<0.01$, $P<0.01$ and $P<0.01$, respectively), and the expression of Bcl-2 and Survivin decreased significantly($F=15.71$, 17.98 and 14.68 ; $P<0.01$, $P<0.01$ and $P<0.01$, respectively). **Conclusion** The combination of Huaier and cisplatin could increase the expression of Bax, and decrease the expression of Bcl-2 and Survivin significantly.

KEY WORDS A549 cell; A549/DDP cell; Oncogene; Extract of fungi of Huaier; Cisplatin

作者单位 :1 杭州市肿瘤医院药剂科(杭州 310002) 2 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院急诊科(杭州 310006)
通信作者 :詹建伟 ,Tel :0571-56007928 ;E-mail :zhanjianwei007@163.com

肺癌是一种发病率和死亡率排在首位的恶性肿瘤,已经连续多年成为人体健康的头号杀手^[1]。目前临床上针对肺癌患者的治疗方法主要是以化疗为主的综合治疗手段^[2-3],但是其临床疗效因肿瘤细胞的药物耐受性受到限制,特别是肺癌 A549/DDP 细胞多耐药性的产生已经成为肺癌药物治疗的主要障碍^[4-5]。近年研究显示,多种中药提取物能够有效抑制人肺癌细胞 A549 细胞的增殖^[6-7]。临床研究显示,槐耳清膏可能是通过活化 MAPK (mitogen-activated protein kinase,丝裂原活化蛋白激酶)信号通路影响 A549 细胞凋亡^[8]。本研究探索槐耳清膏与顺铂联合刺激对于人肺癌细胞 A549 细胞以及耐药株 A549/DDP 细胞 Bcl-2 关联 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax)、B 细胞淋巴瘤 2 (B-cell lymphoma 2, Bcl-2) 以及细胞凋亡重复杆状病毒抑制剂 5 (Survivin) 基因表达的影响,报道如下。

1 材料与方法

1.1 试剂 顺铂(规格:50mL:50mg,批号 2015040108,齐鲁制药有限公司);槐耳清膏(规格:20g×6 袋,批号 J201605314,江苏启东盖天力药业有限公司);完全培养基(规格:500mL/KIT,批号 2015032142,Zrbiorise);Epigentek 全蛋白抽提试剂盒(批号 2016012403,武汉艾美捷科技有限公司);Bax 检测试剂盒(批号 2015032451,武汉默沙克生物科技有限公司);Bcl-2 检测试剂盒(批号 2015085312,R&D systems);Survivin 检测试剂盒(批号 2015012413,R&D systems);A549/DDP (DDP cis-dichlorodiamineplatinum,顺铂)细胞株(规格:1×10⁶cells/T25 培养瓶,批号 2015010304,武汉普诺赛生命科技有限公司);A549 细胞株(规格:1×10⁶cells/T25 培养瓶,批号 20150500213,中国科学院上海细胞学研究所);Rneasy Mini Kit(50)(批号 2016032412,Qiagen)。

1.2 细胞培养 将冷冻保存的细胞株复苏后在 5% CO₂ 浓度饱和湿度和 37℃ 条件下采用完全培养基(10%胎牛血清、1%的链霉素和青霉素双抗的高糖 DMEM 培养基)进行培养和传代,其中 A549/DDP 细胞株培养基除上述成分外另加入 6μmol/L 的 DDP,于实验前两天更换不含有 DDP 的培养基继续培养,A549/DDP 细胞处于对数生长期。

1.3 药物制备 将 10g 槐耳清膏溶解于 100mL 无血清 PRMI-1640 培养液中,分别制成 0、1.0、3.0、5.0、7.0 和 9.0mg/mL 的槐耳清膏溶液,同时以未加槐耳清膏的无血清 PRMI-1640 培养液作为空白对照。

1.4 Real-time PCR 检测 引物设计 Bax 上游引物 5'-CAAGAAGCTGAGCGAGTGTC-3',Bax 下游引物 5'-ACTCGGAAAAAGACCTCTCGG-3'。Bcl-2 上游引物 5'-ATCCAGGATAACGGAGGCTG-3';Bax 下游引物 5'-AGAAATCAAACAGAGGCCGCA-3'。Survivin 上游引物 5'-CCACCAGCCTTCCTATGGC-3',Bax 下游引物 5'-AAGACAAAACAGGAGCACAGTTG-3'。以 GAPDH 基因作为内参,GAPDH 基因的上游引物为 5'-AGGTCGGTGTGAACGGATTTG-3',GAPDH 基因下游引物为 5'-TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA-3'。总 RNA 抽提及逆转录 将第 13 复孔中每种药物浓度刺激后的细胞抽提总 RNA。将抽提的总 RNA 采用 MMLV 逆转录酶逆转录成 cDNA,反应体系为:10μL 2×逆转录酶缓冲液,20μL DEPC 水,1.2μL 引物(50mM),2μL 总 RNA,0.2μL 逆转录酶。反应程序为 42℃,30min,85℃,10min。Real-time PCR 反应体系:10μL 1×定量 PCR Master Mix,上、下游引物各 0.08μL,2μL cDNA,0.4μL Taq DNA 聚合酶,8μL ddH₂O。反应程序 95℃,3min;95℃,30s,55℃,20s,40cycles。

1.5 ELISA 法检测 各组细胞株 Bax、Bcl-2 以及 Survivin 蛋白表达情况 将处于对数生长期的 A549 细胞和 A549/DDP 细胞以细胞浓度为 2×10⁶/瓶分别接种于 25cm² 的细胞培养瓶,显微镜下观察细胞贴壁后分别加入含槐耳清膏浓度为 0、1.0、3.0、5.0、7.0 和 9.0mg/mL 细胞培养基中,每个浓度 3 复孔,然后分别加入 12μg/mL 浓度的顺铂,继续培养 48h 后停止培养,使用 Epigentek 全蛋白抽提试剂盒抽提总蛋白,抽提完成后 4℃,10 000r/min 离心 10min,取上清,采用 ELISA 检测试剂盒检测 Bax、Bcl-2 以及 Survivin 浓度。

1.6 统计学方法 应用 SPSS20.0 软件进行,计量资料以均数±标准差($\bar{x}±s$),组间数据比较分析采用单因素方差分析, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同药物作用浓度组合刺激 A549 细胞 Bax、Bcl-2、Survivin mRNA 表达的影响 槐耳清膏与顺铂联合使用的情况下,随着槐耳清膏浓度的升高,A549 细胞 Bax 基因 mRNA 表达逐渐升高,Bcl-2、Survivin 基因 mRNA 表达逐渐降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。见表 1。

2.2 不同药物作用浓度组合刺激 A549/DDP 细胞 Bax、Bcl-2、Survivin 基因 mRNA 表达 槐耳清膏与

表 1 不同药物组 A549 细胞 Bax、Bcl-2、Survivin mRNA 表达情况(RQ 值 $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Bax	Bcl-2	Survivin
空白对照组	3	1.00±0.03	1.00±0.02	1.00±0.04
12μg/mL DDP 刺激组	3	1.05±0.03	1.01±0.02	1.02±0.05
1.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	1.24±0.04	1.02±0.02	1.00±0.03
3.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	2.43±0.16	0.53±0.03	0.87±0.02
5.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	4.25±0.27	0.37±0.02	0.54±0.03
7.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	8.21±0.58	0.24±0.04	0.23±0.04
9.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	19.79±0.52	0.13±0.02	0.08±0.01
F 值		10.21	4.54	7.12
P 值		<0.01	0.01	<0.01

注 RQ relative quantity 相对表达量 空白对照组 未加药物刺激 Bax Bcl-2 关联 X 蛋白 Bcl-2 B 细胞淋巴瘤 2 Survivin 凋亡抑制

表 2 不同药物组 A549/DDP 细胞 Bax、Bcl-2、Survivin mRNA 表达(RQ 值 $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Bax	Bcl-2	Survivin
空白对照组	3	1.00±0.02	8.01±0.53	1.00±0.02
12μg/mL DDP 刺激组	3	1.02±0.02	5.03±0.02	1.03±0.06
1.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	1.31±0.05	4.89±0.03	0.92±0.02
3.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	2.47±0.13	3.57±0.02	0.65±0.02
5.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	4.36±0.25	1.32±0.04	0.44±0.02
7.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	7.85±0.73	0.51±0.02	0.19±0.02
9.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	20.21±0.43	0.21±0.03	0.06±0.01
F 值		12.43	9.17	7.63
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注 RQ relative quantity 相对表达量 空白对照组 未加药物刺激 Bax Bcl-2 关联 X 蛋白 Bcl-2 B 细胞淋巴瘤 2 Survivin 凋亡抑制

表 3 不同药物组 A549 细胞 Bax、Bcl-2、Survivin 蛋白表达情况(ng/L $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	Bax	Bcl-2	Survivin
空白对照组	3	1.40±0.20	5.40±2.30	11.20±2.30
12μg/mL DDP 刺激组	3	1.80±0.30	4.30±2.00	8.60±2.10
1.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	2.30±0.90	2.80±1.00	7.80±3.10
3.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	3.20±1.10	2.40±1.50	6.40±2.10
5.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	3.50±1.30	1.50±0.90	5.10±1.10
7.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	4.90±1.20	1.40±0.80	3.50±1.20
9.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	5.80±1.90	0.90±0.40	1.20±0.90
F 值		8.54	9.38	10.55
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注 RQ relative quantity 相对表达量 空白对照组 未加药物刺激 Bax Bcl-2 关联 X 蛋白 Bcl-2 B 细胞淋巴瘤 2 Survivin 凋亡抑制

顺铂联合使用的情况下,随着槐耳清膏浓度的升高,A549/DDP 细胞 Bax 基因 mRNA 表达逐渐升高,Bcl-2、Survivin 基因 mRNA 表达逐渐降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。见表 2。

2.3 不同药物作用浓度组合对 A549 细胞 Bax、Bcl-2、Survivin 蛋白表达的影响 槐耳清膏与顺铂联合使用的情况下,随着槐耳清膏浓度的升高,A549 细胞 Bax 蛋白表达量逐渐升高,Bcl-2、Survivin 蛋白表达量逐渐降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。见表 3。

2.4 不同药物作用浓度组合对 A549/DDP 细胞 Bax、Bcl-2、Survivin 蛋白表达的影响 槐耳清膏与顺铂联合使用的情况下,随着槐耳清膏浓度的升高,A549/DDP 细胞 Bax 蛋白的表达量逐渐升高,Bcl-2、Survivin 蛋白量表达逐渐降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。见表 4。

3 讨论

研究显示,肺癌的发生可能与细胞凋亡和细胞增殖的平衡被打破有关^[9],细胞凋亡是一种机体细胞主动死亡过程,包含一系列基因激活、表达以及调控

表 4 不同药物组 A549/DDP 细胞 Bax、Bcl-2、Survivin 蛋白表达的情况(ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Bax	Bcl-2	Survivin
空白对照组	3	1.70±0.50	24.30±7.50	14.80±5.60
12μg/mL DDP 刺激组	3	2.30±0.80	19.80±5.50	11.60±5.20
1.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	3.40±1.30	15.40±4.90	9.50±2.90
3.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	6.50±2.40	12.60±5.10	8.10±3.50
5.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	9.60±3.10	8.50±2.50	7.70±3.10
7.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	11.20±4.60	5.40±2.10	4.20±2.10
9.0 mg/mL+12μg/mL DDP 刺激组	3	20.21±9.80	1.60±0.70	1.50±0.80
F 值		15.71	17.98	14.68
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注: RQ: relative quantity 相对表达量; 空白对照组: 未加药物刺激; Bax: Bcl-2 关联 X 蛋白; Bcl-2: B 细胞淋巴瘤 2; Survivin: 凋亡抑制

过程^[10]。肺癌细胞的凋亡过程受到多种基因的表达调控,在其凋亡的信号传导过程中主要包含三个途径,分别是内质网途径、死亡受体途径和线粒体途径^[11]。其中在线粒体途径中最重要的调控基因是 Bcl-2 基因家族,本研究中的 Bcl-2 基因和 Bax 基因均来自于该基因家族,而这两个基因的作用刚好相反,其中 Bcl-2 基因主要是在抑制细胞凋亡过程中发挥调控作用,Bax 基因主要发挥的是促凋亡作用^[11]。另外本研究中另一种 Survivin 基因是 IAP 家族的一员,是一种很强的细胞凋亡抑制因子,有研究显示其主要的功能是抑制细胞凋亡,促进细胞进行有丝分裂和血管生成,另外在肿瘤细胞的耐药性中也发挥着非常重要的作用^[12]。

槐耳清膏与顺铂联合刺激作为一种中西医结合治疗方法能够显著抑制人肺癌细胞 A549 以及耐药性细胞 A549/DDP 的增殖,诱导细胞凋亡,逆转 A549/DDP 细胞的耐药性已经得到研究证实,但是其作用机制并不十分清楚^[13]。本研究以 Bax、Bcl-2 以及 Survivin 基因作为研究对象,在仅使用顺铂刺激时 A549 细胞内 Bcl-2 基因的表达明显低于 A549/DDP 细胞,这点也正是 A549/DDP 细胞的耐药性产生的分子机制,即在 A549/DDP 细胞内抗凋亡基因高表达,与此同时凋亡基因低表达,其作用导致 A549/DDP 细胞能够进行不断增殖而变成癌细胞。有研究显示,A549/DDP 细胞之所以能够具有耐药性是因为细胞内 Bcl-2 过表达而导致半胱氨酸蛋白酶-8(caspase-8)和细胞色素 C 的蛋白的表达下调,这也与本研究结果相符^[14]。本研究结果显示,经过 RT-PCR 检测和 ELISA 检测,槐耳清膏与顺铂联合作用后,A549 细胞和 A549/DDP 细胞中 Bax 基因的表达逐渐升高,Bcl-2、Survivin 基因的表达逐渐降低,说明槐耳清膏与顺铂联合作用是通过上调凋亡相关基因的

表达且下调抗凋亡相关基因的表达来诱导 A549 细胞和 A549/DDP 细胞的凋亡,另外也说明槐耳清膏能够逆转 A549/DDP 细胞的耐药性作用。然而本研究还处于体外试验阶段,笔者接下来计划通过蛋白抑制剂与槐耳清膏共同刺激 A549 细胞检测 Bax、Bcl-2 以及 Survivin 蛋白的表达情况,并通过细胞凋亡模型研究槐耳清膏的作用机制,并通过动物模型体内进一步进行体内验证。

综上所述,槐耳清膏与顺铂联合使用能够显著提高人肺癌细胞 A549 和 A549/DDP 的凋亡相关基因的表达,降低抗凋亡相关基因的表达。

参 考 文 献

- [1] 姚晓军,刘伦旭.肺癌的流行病学及治疗现状[J].现代肿瘤医学,2014,22(8):1982-1986.
- [2] 胡毅,陶海涛.晚期非小细胞肺癌的药物治疗进展[J].中国药物应用与监测,2014,11(6):329-333.
- [3] 郝利国,申宝忠,李任飞,等.中晚期非小细胞肺癌联合治疗进展[J].中国全科医学,2012,15(33):3812-3815.
- [4] 武毅,郭丽丽,刘京豪,等.MiR-503 逆转肺癌耐药细胞株 A549/DDP 的耐药性及其机制研究[J].中国肺癌杂志,2014,17(1):1-7.
- [5] 齐春胜,高森,李会强,等.异长春花碱逆转肺癌顺铂耐药 A549/DDP 细胞耐药性的作用和机制[J].中国肺癌杂志,2014,17(2):148-154.
- [6] 金柱,高宝安.雷帕霉素对顺铂作用下人肺腺癌 A549 及耐药 A549/DDP 细胞增殖、侵袭、黏附及自噬凋亡的影响[J].中国病理生理杂志,2014,30(12):2120-2127.
- [7] 刘亚莉,王莹,易佳丽,等.补中益气汤含药血清对人肺腺癌 A549/DDP 细胞耐药作用的影响[J].中国病理生理杂志,2014,30(2):233-238.
- [8] 包海东.p38MAPK 在槐耳诱导肝癌细胞凋亡及自噬中的作用[D].大连医科大学,2015.
- [9] Wu GD, Li HF, Ji ZY, et al. Inhibition (下转第 105 页)

- mesenchymal stem cells and their secreted molecules in mice with acute hepatic failure[J].Gut 2012 ,61(6) :894-906.
- [4] Jung J ,Choi JH ,Lee Y ,et al.Human placenta-derived mesenchymal stem cells promote hepatic regeneration in CCl4-injured rat liver model via increased autophagic mechanism[J].Stem Cells 2013 ,31(8) :1584-1596.
- [5] Zhang Z ,Lin H ,Shi M ,et al.Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve liver function and ascites in decompensated liver cirrhosis patients [J].J Gastroenterol Hepatol 2012 ,2() :112-120.
- [6] Wang Y ,Wang F ,Zhao H ,et al.Human adipose-derived mesenchymal stem cells are resistant to HBV infection during differentiation into hepatocytes in vitro[J].Int J Mol Sci 2014 ,15(4) :6096-6110.
- [7] Mohsin S ,Shams S ,Ali Nasir G ,et al.Enhanced hepatic differentiation of mesenchymal stem cells after pretreatment with injured liver tissue[J].Differentiation 2011 , 81(1) : 42-48.
- [8] Yang Y ,Qu B ,Huo JH ,et al.Serum from radiofrequency-injured livers induces differentiation of bone marrow stem cells into hepatocyte-like cells[J].J. Surg. Res 2009 ,155(1) :18-24.
- [9] Moon GJ ,Cho YH ,Kim DH ,et al.Serum-mediated activation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in ischemic stroke patients a novel preconditioning method [J].Cell Transplant 2018 ,27(3) :485-500.
- [10] Shi D ,Zhang J ,Zhou Q ,et al.Quantitative evaluation of human bone mesenchymal stem cells rescuing fulminant hepatic failure in pigs[J].Gut 2017 ,66(5) :955-964.
- [11] Zhang S ,Zhu Z ,Wang Y ,et al.Therapeutic potential of Bama miniature pig adipose stem cells induced hepatocytes in a mouse model with acute liver failure[J].Cytotechnology 2018 ,70(4) :1131-1141.
- [12] Lee CW ,Chen YF ,Wu HH ,et al.Historical perspectives and advances in mesenchymal stem cell research for the treatment of liver diseases[J].Gastroenterology 2018 ,154(1) :46-56.
- [13] Tsekouras A ,Mantas D ,Tsilimigras DI ,et al.Comparison of the viability and yield of adipose-derived stem cells (ASCs) from different donor areas[J].In Vivo 2017 ,31(6) :1229-1234.
- [14] Teshima T ,Matsumoto H ,Michishita M ,et al.Allogenic adipose tissue-derived mesenchymal stem cells ameliorate acute hepatic injury in dogs[J].Stem Cells Int 2017 , 2017 :3892514.
- [15] Saidi R ,Rajeshkumar R ,Shariftabrizi A ,et al.Human adipose-derived mesenchymal stem cells promote liver regeneration[J].J Invest Surg 2015 ,28(6) :303-308.
- [16] Zhang J ,Zhou S ,Zhou Y ,et al.Hepatocyte growth factor gene-modified adipose-derived mesenchymal stem cells ameliorate radiation induced liver damage in a rat model [J].PLoS One 2014 ,9(12) :e114670.

(收稿 2018-08-16 修回 2018-10-25)

- (上接第 99 页) of autophagy by autophagic inhibitors enhances apoptosis induced by bortezomib in non-small cell lung cancer cells [J].Biotechnology Letters 2014 ,36(6) : 1171-1178.
- [10] Aili Wei ,Xiaojing Xin ,Yunshan Wang ,et al.Signal regulation involved in sulfur dioxide-induced guard cell apoptosis in *Hemerocallis fulva*[J].Ecotoxicology and Environmental Safety 2013 ,98(Dec.1) :41-45.
- [11] Lastauskiene E ,Zinkeviciene A ,Citavicius D.Ras/PKA signal transduction pathway participates in the regulation of *Saccharomyces cerevisiae* cell apoptosis in an acidic environment[J].Biotechnology and Applied Biochemistry 2014 ,

61(1) 3-10.

- [12] Zhang Y ,Wang Q ,Niu S ,et al.Pien Tze Huang induces apoptosis in multidrugresistant U2OS/ADM cells via down-regulation of Bcl2, survivin and P-gp and upregulation of Bax[J].Oncology reports 2014 ,31(2) :763-70.
- [13] 鲁明琴 ,卢宏达 ,卢忠心 ,等.槐耳清膏对人肺腺癌 A549/DDP 细胞增殖的影响及顺铂耐药逆转作用[J].中华中医药学刊 2016 ,34(9) :2185-2187.
- [14] 郭锦锦 ,王少慧 ,孙万邦 ,等.GeXP 检测 rhIL-24 联合 DDP 对人肺腺癌 A549/DDP 细胞凋亡相关基因的实验研究 [J].中国免疫学杂志 2017 ,33(2) :186-189.

(收稿 2018-09-13 修回 2018-10-18)