

抗癌抗生素力达霉素诱导人肝癌 BEL-7402 细胞死亡的特征

何琪杨¹, 梁云燕², 王代树², 李电东^{1*}

(1. 中国医学科学院, 中国协和医科大学医药生物技术研究, 北京 100050;

2. 北京大学临床肿瘤学院北京肿瘤研究所, 北京 100034)

摘要: 目的 研究抗癌抗生素力达霉素(LDM)诱导人肝癌 BEL-7402 细胞死亡的特征。方法 用荧光染料 Hoechst 33342 和 PI 联染;琼脂糖凝胶电泳检测;流式细胞术检测等。结果 LDM $1 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理该细胞后 6 h, 可观察到一种有别于典型凋亡的染色质凝集方式:核膜一直保持完整,细胞仍贴壁,无凋亡小体形成;琼脂糖凝胶电泳检测到 DNA 梯带。流式细胞术检测到的 G₁ 亚峰,仅在 LDM 处理 BEL-7402 细胞后 24 h 出现。LDM 处理 BEL-7402 细胞后 6 h, caspase-3, 6 的活性分别增高 5, 4 倍。染色质开始凝集的时间比 caspase-6 活性达到高峰的时间早。结论 力达霉素诱导人肝癌 BEL-7402 细胞死亡的特征有别于典型的凋亡,此结果可能有助于解释其极高活性地杀死肿瘤细胞的分子机制。

关键词: 抗癌抗生素; 力达霉素; 人肝癌细胞; 细胞死亡

中图分类号: R979.14; R73-36

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870(2001)03-0174-05

烯二炔类抗生素力达霉素(lidamycin, LDM; 原名 CI027)是我所从链霉菌 *Streptomyces globisporus* C-1027 中分离到的高效抗肿瘤药物,其活性比临床上常用的抗肿瘤药物阿霉素高 1 万倍以上^[1,2]。LDM 能序列特异地直接断裂 DNA 序列^[3,4],诱导人白血病 HL-60 细胞凋亡^[5],并阻断人肝癌 BEL-7402 细胞于 G₂/M 期^[6],LDM 与 BEL-7402 细胞的细胞核温育后,可诱导出现 DNA 梯带^[7]。但在完整的活细胞水平上,LDM 强烈杀死肿瘤细胞的分子机制仍有待阐明;LDM 直接断裂 DNA 后的细胞形态变化,可能与典型的凋亡有所不同。本文以人肝癌 BEL-7402 细胞为模型,初步阐明 LDM 诱导的细胞死亡与典型凋亡的差异,本结果有助于解释其高活性的分子机制。

材 料 和 方 法

药物 力达霉素(LDM)由本所金莲舫研究员提供。丝裂霉素 C(mitomycin C, MMC)购自 Serva。

Hoechst 33342 和碘化丙锭(propidium iodide, PI)购自 Sigma。

细胞培养 人肝癌 BEL-7402 细胞来自中国医学科学院上海细胞生物研究所,用 RPMI1640 培养液(GIBCO),添加 10%胎牛血清(中国医学科学院血液研究所生产), $10 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ HEPES(Promega)以及 $300 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 谷氨酰胺(GIBCO),在 37°C , 5% CO₂ 的培养箱中培养。

染色质凝集的观察 用特异结合 DNA 的荧光染料 Hoechst 33342 和 PI 联染进行。将对数生长期的细胞传于 12 孔板中(1×10^5 个/孔),24 h 后加药,加药后 6, 12, 18, 24 h,用 0.25%胰酶 + 0.02% EDTA(1:1)分离贴壁细胞,同时收集悬浮和贴壁的细胞,用无血清培养液洗 1 次,加 Hoechst 33342 $5 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 及 PI $40 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, 37°C 染色 10 min 后,紫外光激发,荧光显微镜下统计 PI 阳性无染色质凝集的细胞(坏死细胞, PIN)、PI 阳性但染色质凝集的细胞(PIC)、PI 阴性染色质发生典型凋亡凝集的细胞(APO)、PI 阴性染色质发生异型凝集的细胞(C)和 PI 阴性染色质未发生凝集的细胞(活细胞, H)的数量,每个样品统计 110 - 150 个细胞,同时拍摄药物处理后的细胞图象。实验至少重复 2 次,结果以各种类型的细胞数占总细胞数的百分比表示。

流式细胞术 细胞经药物处理后,仍贴壁的细胞用 0.25%胰酶 + 0.02% EDTA 消化,合并收集悬浮和消化脱落的细胞,用冷磷酸盐缓冲液洗 2 次,

收稿日期: 2000-07-17

基金项目: 国家自然科学基金(30070878); 国家重点基础研究发展规划基金(G2000057010)

作者简介: 何琪杨,男,博士研究生。

李电东,男,研究员,博士生导师。

* 通讯作者 Tel: (010) 63165289, Fax: (010) 63017302,

E-mail: ddi@public3.bta.net.cn

70%乙醇固定细胞 24 h 以上。上机测定前,离心去乙醇,用磷酸盐缓冲液洗 3 次,加 $100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ RNA 酶 37 °C 消化 30 min, PI $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 4 °C 染色 30 min 以上,经尼龙网过滤后,用流式细胞仪 FACS420 测定,结果经计算机软件处理,计算出各周期时相的细胞百分比及凋亡细胞的比例。

细胞 DNA 提取和琼脂糖凝胶电泳 细胞 DNA 提取按文献^[6]进行,略作修改。 2×10^6 个细胞经药物作用后,离心收集,用磷酸盐缓冲液洗 1 次,细胞沉淀加 100 μL 含 RNA 酶($100 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$)的裂解缓冲液(EDTA $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, Tris $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 8.0, 0.5% 十二烷基肌氨酸钠), 37 °C 温育 1 h, 再加含 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 蛋白酶 K 的裂解缓冲液 100 μL , 50 °C 温育 3 h, 用苯酚-氯仿-异戊醇(24:24:1)抽提 3 次,无水乙醇沉淀,用 TE 20 μL 溶解 DNA 沉淀。

取 DNA 样品 10 μL 上样到 1.5% 琼脂糖凝胶上,用 TAE 缓冲液,30 V 电泳 2.5 h, UVP 凝胶成像系统(Upland, 美国)观察并记录结果。

Caspase 3 活性测定 2×10^6 个细胞经药物处理 6 h 后,用细胞刮刀直接刮下细胞,冷磷酸盐缓冲液洗 1 次,用 caspase-3 试剂盒(Clontech),比色法测定 caspase-3 活性。按说明操作。结果以诱导组的吸光度与对照组的吸光度的比值 $\times 100\%$ 表示。

染色质凝集与 caspase 6 活性变化的关系确定 2×10^6 个细胞经药物处理 6 h 后,用细胞刮刀直接刮下细胞,冷磷酸盐缓冲液洗 1 次,取约 1×10^5 个细胞用 70%乙醇固定,4 °C 保存;其余细胞用于比色法测定 caspase-6 的活性。caspase-6 试剂盒购自 Bio Vision 公司(美国)。按说明操作。结果以诱导组的吸光度与对照组的吸光度的比值 $\times 100\%$ 表示。

统计染色质凝集细胞的方法是将固定的细胞离心去乙醇,用 Hoechst 33342 $5 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 室温染色 5 min,紫外光激发,荧光显微镜下统计细胞总数,规

定至少有 2 个以上染色质凝集点的细胞为染色质凝集细胞,每个样品统计 200 - 250 个细胞,结果以染色质凝集细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 表示。

结 果

1 出现与典型凋亡细胞不同的染色质凝集方式

用 MMC $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理 BEL-7402 细胞,在 12 h 时出现 51.5% 染色质凝集的细胞,细胞的形态变化符合典型的贴壁细胞凋亡的特征,即细胞收缩变圆,脱离瓶壁漂浮到培液中,染色质高度凝集;到 18 h 时,几乎难以观察到贴壁细胞,染色质凝集细胞的比例高达 87.8% (表 1)。当用低浓度的 LDM $0.01 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理 BEL-7402 细胞 18 h 时,46.3% 的细胞为典型的凋亡式染色质凝集,而 19.2% 的细胞为一种异型的染色质凝集,这种异型的凝集方式在较高浓度的 LDM $0.1, 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理细胞时更为明显,处理 6 h 后分别有 74.8%, 84.8% 的细胞出现异型的染色质凝集(图 1)。该染色质凝集的特征为:核膜一直保持完整,染色质既沿核膜边缘凝集,又在细胞核中间凝集;细胞仍贴壁,不漂浮到培液中;死亡后期不形成凋亡小体,发生膜通透(从表 1 可以看出, LDM 处理 24 h 后,可观察到 PI 阳性、染色质凝集的细胞明显增加),最后细胞崩解;染色质凝集出现的时间较短,不象细胞凋亡那样需一个较长的时间。

2 琼脂糖凝胶电泳检测到 DNA 梯带

LDM $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理 BEL-7402 细胞 6 h 后,就可检测到 DNA 梯带(结果未显示)。图 2 显示 LDM $0.04, 0.1, 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理 12 h 后,均能使 BEL-7402 细胞出现 DNA 梯带。由于 LDM 直接能在核小体连接处切割 DNA,而核酸内切酶活化也能出现 DNA 梯带,仅从该指标难以区分 DNA 梯带产生的原因。

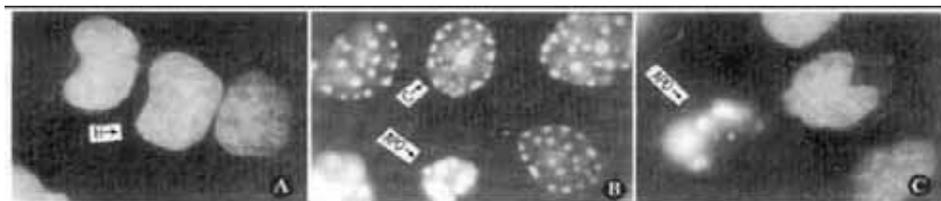


Fig 1 Patterns of chromatin condensation of human hepatoma BEL-7402 cells indicated by co-staining of fluorescent dyes Hoechst 33342 and propidium iodide

A. Control cells; B. Cells treated with lidamycin $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for 6 h; C. Cells treated with mitomycin C $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for 12 h. The magnification was $1000 \times$. In the figure, H represented as living cells, APO as typical apoptotic cells and C as cells with abnormal chromatin condensation

Tab 1 The percentages of different types of the BEL-7402 cells induced by lidamycin and mitomycin C. The cells were co stained with fluorescent dyes Hoechst 33342 and propidium iodide (PI) $n = 6, \bar{x} \pm s$

Drug	No drug	Mitomycin C	Lidamycin / $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$			
		$30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	1	0.1	0.04	0.01
6 h						
PIC	0	0	3.0 ± 1.8	1.5 ± 0.5	0.8 ± 0.7	0.2 ± 0.4
PIN	5.1 ± 1.8	7.5 ± 1.4	3.4 ± 2.5	3.3 ± 2.2	4.9 ± 1.8	3.7 ± 1.4
APO	0.2 ± 0.4	3.3 ± 0.9	5 ± 4	6.7 ± 2.1	13.8 ± 1.6	15 ± 4
C	0	0	84.8 ± 1.9	74.8 ± 0.9	60 ± 3	2.1 ± 1.2
H	94.7 ± 1.8	89.2 ± 1.0	3.4 ± 2.0	13.9 ± 2.3	20 ± 4	79 ± 4
12 h						
PIC	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.6	13 ± 3	8 ± 3	3.9 ± 2.0	5.2 ± 2.3
PIN	7.0 ± 1.6	4.4 ± 1.6	3.3 ± 2.3	4.9 ± 2.9	4.9 ± 1.9	4.8 ± 2.0
APO	0.8 ± 0.7	51.5 ± 2.8	9 ± 4	6.9 ± 2.3	21.0 ± 2.5	29 ± 3
C	0	0	72 ± 3	76 ± 8	66 ± 3	46.3 ± 2.1
H	92.0 ± 2.3	44 ± 4	2.0 ± 1.8	4.6 ± 2.6	4.7 ± 0.7	4.6 ± 2.6
18 h						
PIC	0.5 ± 0.7	6.0 ± 2.8	29.0 ± 2.6	29.9 ± 2.7	18.7 ± 2.9	13 ± 3
PIN	4.7 ± 1.9	4.6 ± 1.5	0.8 ± 0.7	3.8 ± 1.8	3.2 ± 2.1	2.8 ± 1.4
APO	0.2 ± 0.4	87.8 ± 2.5	31 ± 5	12.9 ± 1.7	20 ± 4	46 ± 4
C	0	0	39 ± 6	52.1 ± 2.7	58 ± 4	19 ± 4
H	94.6 ± 1.9	1.6 ± 0.9	0.5 ± 0.8	1.3 ± 1.3	0.8 ± 0.7	18 ± 6
24 h						
PIC	0.2 ± 0.3	35 ± 4	62.2 ± 1.7	45 ± 4	39.4 ± 2.8	17.4 ± 2.2
PIN	5.0 ± 1.8	1.4 ± 1.5	1.5 ± 1.4	1.8 ± 1.0	2.5 ± 1.0	2.6 ± 1.0
APO	0.2 ± 0.4	62 ± 5	5.7 ± 1.4	22.4 ± 2.6	22.8 ± 2.3	41 ± 5
C	0	2.0 ± 1.1	29.9 ± 2.8	30 ± 4	35.1 ± 2.2	9.6 ± 2.3
H	94.6 ± 1.8	0	0.3 ± 0.4	0.6 ± 0.7	0.3 ± 0.7	29.4 ± 2.8

PIC: Cells with PI-positive and chromatin condensation; PIN: Cells with PI-positive and non-chromatin condensation; APO: Typical apoptotic cells; C: Cells with abnormal chromatin condensation; H: Living cells

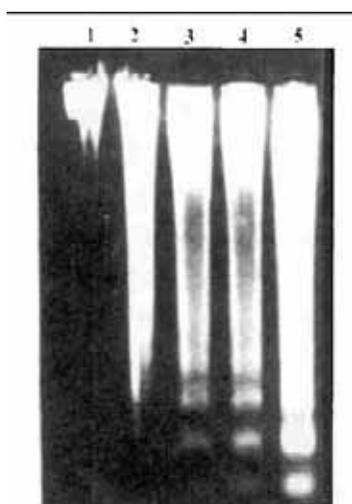


Fig 2 The DNA ladder patterns of human hepatoma BEL-7402 cells treated with lidamycin 0.01 (2), 0.04(3), 0.1(4), 1(5) $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for 12 h. Lane 1: Control cells. The DNA samples were run on agarose gel electrophoresis and detected by staining with ethidium bromide

3 流式细胞术检测死亡细胞

如果是典型的凋亡细胞,经固定和磷酸盐缓冲

液温育后,部分凝集的染色质逸出到细胞外,因而流式细胞术可检测到低于 G1 期的“G1 亚峰”,即凋亡峰。LDM $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理细胞 12 h 后,引起染色质完全凝集,但检测不到“G1 亚峰”,只有在 24 h 后,细胞膜可以通透时,才可检测到“G1 亚峰”(图 3),此时 LDM $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组由于出现较多的细胞碎片,“G1 亚峰”不明显,本结果也提示,当细胞核的核膜未经凋亡式的变化时,凝集的染色质就难以逸出到细胞外。此外,较低浓度的 LDM $0.004 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 可阻断细胞于 G2/M 期。

4 诱导 caspase 3 活性升高

在细胞凋亡前期,凋亡信号从线粒体释放细胞色素 C 启动,依次激活蛋白酶 caspases,而 caspase-3 的活化是染色质凝集、DNA 片断化及细胞出泡等凋亡形态所必须的^[8]。用 MMC $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$, LDM $0.01, 1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 分别处理 BEL-7402 细胞后 6 h, caspase-3 活性分别增加 505%, 191% 和 516% (假定对照组为 100%), 说明 LDM 处理 BEL-7402 细胞后可激活细胞凋亡通路。

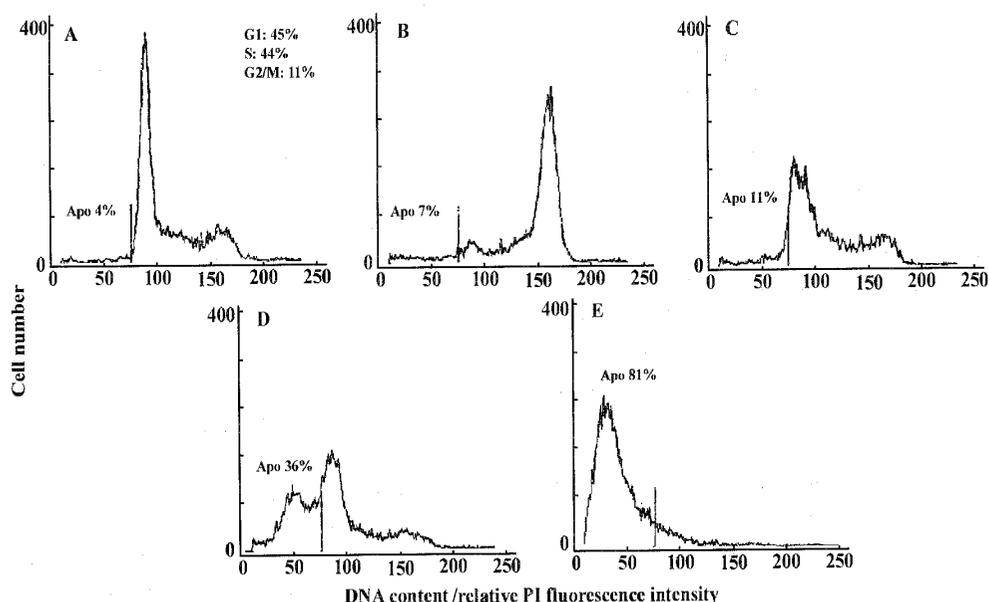


Fig 3 The flow cytometric histograms of human hepatoma BEL-7402 cells treated with lidamycin 0.004 (B), 0.01 (C), 0.1 (D), 1 (E) $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ for 24 h, A. Control cells

5 染色质凝集出现的时间与 caspase-6 的活性变化的关系

细胞凋亡时, caspase-6 被 caspase-3 激活后, 降解核纤层蛋白(lamin)而允许出现凋亡后期的染色质凝集, 核出泡以及形成凋亡小体等形态事件^[9]。LDM $1\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理 BEL-7402 细胞后 2, 3, 4, 5 和 6 h, 染色质凝集细胞的百分数分别为 83.2%, 92%, 95.8%, 95.6% 和 97.8%, 而检测到的 caspase-6 活性分别为 149%, 239%, 282%, 297% 和 394% (假定对照组为 100%)。在 2-6 h 内, 染色质凝集更为完全, 而 caspase-6 的活性仍持续升高, 到 6 h 时, 约增加 4 倍。本结果说明染色质凝集发生的时间早于 caspase-6 达到高峰的时间, 而少量的 caspase-6 的活化不足以解释大量的细胞发生染色质凝集的现象。

讨 论

本文的研究初步表明: 烯二炔类抗生素 LDM 诱导肿瘤细胞死亡的特征有别于典型的细胞凋亡; 并且本研究首次得到烯二炔类抗生素在活细胞内直接切割 DNA 后所出现的染色质凝集的形象; 其他烯二炔类抗生素诱导细胞凋亡的研究^[10-12], 均未见报道本现象。本文所观察到的结果, 在抗肿瘤药物博来霉素作用机理研究也曾报道。用电渗透法将博来霉素 $10\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 导入到中国仓鼠肺 DC-3F 成

纤维细胞后 6 h, 也观察到与凋亡相似的 DNA 梯带和染色质沿核膜周围凝集的结果^[13]。而本文用完整的活细胞观察染色质凝集, 与前述的报道通过电镜观察固定细胞的方法不同; 另外, 本文还比较了与典型凋亡的差异。因此, 本研究无论对 LDM 的药理研究, 或对引起 DNA 断裂的其他抗肿瘤药物的机理研究均有一定的意义。

LDM 比其他抗肿瘤药物有更强的杀死肿瘤细胞的活性。在完整的细胞水平上, 可能存在 3 种机制: 一是与大多数抗肿瘤药物的作用机理一致^[14], 断裂 DNA 后启动凋亡通路而引起细胞死亡; 二是直接断裂 DNA, 不影响凋亡通路的上游组分而引起细胞死亡; 三是直接断裂 DNA 和启动凋亡通路的相互作用而引起细胞死亡。本文通过测定 caspase-3, 6 的活性及与染色质凝集的关系, 初步表明第三种机制更适合于解释 LDM 引起细胞死亡的特征有别于典型凋亡的现象, 可能正是这种相互作用使 LDM 的抑瘤活性明显地高于仅启动凋亡通路的其他抗肿瘤药物。

REFERENCES:

- [1] Hu J, Xue YC, Xie MY, *et al.* A new macromolecular antitumor antibiotic, Cl 027 I. Discovery, taxonomy of producing organism, fermentation and biological activity [J]. *J Antibiot*, 1988, 41(11): 1575-1579.
- [2] Zhen YS, Ming XY, Yu B. A new macromolecular antitumor antibiotic, G-1027 III. Antitumor activity

- [J]. *J Antibiot*, 1989, **42**(8): 1294 - 1298.
- [3] Xu YJ, Zhen YS, Goldberg IH. Cl027 chromophore, a potent new enediyne antitumor antibiotic, induces sequence-specific double-strand DNA cleavage [J]. *Biochemistry*, 1994, **33**(19): 5947 - 5954.
- [4] Xu YJ, Xi Z, Zhen YS, *et al.* Mechanism of formation of novel covalent drug. DNA interstrand cross-links and monoadducts by enediyne antitumor antibiotics [J]. *Biochemistry*, 1997, **36**(48): 14975 - 14984.
- [5] Jiang B, Li DD, Zhen YS. Induction of apoptosis by enediyne antitumor antibiotic Cl027 in HL-60 human promyelocytic leukemia cells [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, **208**(1): 238 - 244.
- [6] Xu YJ, Li DD, Zhen YS. Mode of action of C-1027, a new macromolecular antitumor antibiotic with highly potent cytotoxicity, on human hepatoma BEL-7402 cells [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 1990, **27**(1): 41 - 46.
- [7] Xu YJ, Li DD, Zhen YS. The molecular mechanism of new antitumor antibiotic Cl027 having potent cytotoxicity toward tumor cells [J]. *Sci Sin (B)*, 1992, **22**(8): 814 - 819.
- [8] Bratton SB, MacFarlane M, Cain K, *et al.* Protein complexes activate distinct caspase cascades in death receptor and stress-induced apoptosis [J]. *Exp Cell Res*, 2000, **256**(1): 27 - 33.
- [9] Rao L, Perez D, White E. Lamin proteolysis facilitates nuclear events during apoptosis [J]. *J Cell Biol*, 1996, **135**(6): 1441 - 1455.
- [10] Hartsell TL, Yalowich JC, Ritke MK, *et al.* Induction of apoptosis in murine and human neuroblastoma cell lines by the enediyne natural product neocarzinostatin [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 1995, **275**(1): 479 - 485.
- [11] Nicolaou KC, Stabila P, Esmaili Azad B, *et al.* Cell-specific regulation of apoptosis by designed enediynes [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, **90**(8): 3142 - 3146.
- [12] Cortazzo M, Schor NF. Potentiation of enediyne-induced apoptosis and differentiation by Bcl-2 [J]. *Cancer Res*, 1996, **56**(6): 1199 - 1203.
- [13] Tounekti O, Pron G, Belehradek J, *et al.* Bleomycin, an apoptosis-mimetic drug that induces two types of cell death depending on the number of molecules internalized [J]. *Cancer Res*, 1993, **53**(21): 5462 - 5469.
- [14] Kaufmann SH, Earnshaw WC. Induction of apoptosis by cancer chemotherapy [J]. *Exp Cell Res*, 2000, **256**(1): 42 - 49.

CHARACTERIZATION OF CELL DEATH INDUCED BY ANTICANCER ANTIBIOTIC LIDAMYCIN IN HUMAN HEPATOMA BEL-7402 CELLS

HE Qi-yang¹, LIANG Yun-yan², WANG Da-shu², LI Dian-dong¹

(1. Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China; 2. Beijing Institute for Cancer Research, School of Oncology, Peking University, Beijing 100034, China)

ABSTRACT: **AIM** To study the features of cell death induced by the anticancer antibiotic lidamycin (LDM) in human hepatoma BEL-7402 cells. **METHODS** Chromatin condensation was observed by co-staining with fluorescent dyes, hoechst 33342 and propidium iodide. "G1 sub-peak" was detected by flow cytometry and DNA ladder was observed using agarose gel electrophoresis. The caspase-3, 6 activities were measured with kits specific for them. **RESULTS** Typical apoptotic chromatin condensations appeared when the BEL-7402 cells were treated with the conventional antitumor agent mitomycin C $30 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for 12 h. However, an abnormal type of chromatin condensation occurred when the cells were treated with LDM $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for 6 h, which was characterized with keeping the completeness of nuclear membrane and not forming apoptotic bodies. The DNA ladder patterns were observed using agarose gel electrophoresis. The "G1 sub-peak" occurred only in the cells treated with LDM for 24 h, though chromatin condensation was earlier detected in treatment with LDM for 6 h. The caspase-3, 6 activities were increased about 5 and 4 folds, after the cells were treated with LDM $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ for 6 h, as did mitomycin C. The time of initiating chromatin condensation was earlier than that of the high peak activities of caspase-6. **CONCLUSION** The characterization of cell death induced by lidamycin in the human hepatoma BEL-7402 cells differs from typical apoptosis. The results make it helpful to explain the molecular mechanism of the highly potent cytotoxicities of lidamycin toward tumor cells.

KEY WORDS: anticancer antibiotic; lidamycin; human hepatoma BEL-7402 cells; cell death