

doi:10.3971/j.issn.1000-8578.2012.10.012

# 左旋棉酚对小鼠宫颈癌移植瘤细胞凋亡的影响及其机制

巩平<sup>1</sup>, 刘文<sup>2</sup>, 王于理<sup>1</sup>, 宿星<sup>2</sup>, 杨鑫磊<sup>2</sup>, 唐辉<sup>3</sup>

## Research on Apoptosis of (-)-gossypol to Murine Cervical Cancer Xenograft and Its Mechanisms

Gong Ping<sup>1</sup>, Liu Wen<sup>2</sup>, Wang Yuli<sup>1</sup>, Su xing<sup>2</sup>, Yang Xinlei<sup>2</sup>, Tang Hui<sup>3</sup>

1. Department of Oncology, The First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi 832002, China;

2. Shihezi University of Medicine; 3. Pharmacy College of Shihezi University

**Abstract: Objective** To investigate the role of (-)-gossypol on apoptosis of murine cervical cancer xenograft induced by Cisplatin and its possible mechanisms. **Method** To establish sixty models of subcutaneous xenograft of cervical cancer U14 cells on Kunming mice, then divide them into 4 groups randomly, which were LGP group, LGP + DDP group, DDP group and model control group, respectively. The groups were under continuous medication intervention for 8 days, then the mice were euthanased after medication intervention (2 day), the xenograft was exfoliated, the tumors' weight was weighed and the inhibition rate of tumor was calculated; the apoptosis of tumor cells was detected by TUNEL and the apoptosis index (AI) of each group was calculated; the apoptosis-related protein expression level (Bcl-2, Bax) and resistance-associated protein expression level (P-gp) of tumor tissue in each group were detected by immunohistochemistry. **Results** The weight of tumor in model group were higher than that in other three groups, the weight of tumor in LGP + DDP group was the lowest ( $P < 0.01$ ), and the lighter group was DDP group. The AI in experimental group was higher than that in model group, and the AI in LGP + DDP group was the highest ( $P < 0.01$ ); the expression of P-gp and Bcl-2 protein in LGP and LGP + DDP group was decreased ( $P < 0.05$ ), the expression of Bax protein and the rate of Bax/Bcl-2 were increased ( $P < 0.05$ ); there was positive correlation between the expression of P-gp and Bcl-2, as well as, negative correlation between the expression of P-gp and Bax ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** LGP could inhibit the growth of the transplanting tumor of murine cervical carcinoma U14, and modality therapy was more efficiency when combined with DDP; LGP can induce apoptosis by decreasing the expression of Bcl-2 protein and increasing the expression of Bax protein, and enhance the chemotherapy sensitivity by decreasing the expression of P-gp protein.

**Key words:** (-)-gossypol; Cervical Cancer; Apoptosis; P-gp

**摘要: 目的** 探讨左旋棉酚[(-)-gossypol, LGP]对顺铂诱导小鼠宫颈癌移植瘤凋亡的影响及可能的作用机制。**方法** 建立小鼠宫颈癌 U14 细胞皮下移植瘤模型, 将 60 只小鼠按随机原则分为左旋棉酚组、顺铂(Cisplatin, DDP)组、左旋棉酚 + 顺铂(LGP + DDP)组及模型对照(Model Control)组 4 组, 用药干预 8 天后采用电子天平称量瘤重并计算抑瘤率; 采用 TUNEL 法检测各组瘤组织的凋亡情况; 采用免疫组织化学法检测各组肿瘤组织中 Bcl-2、Bax 和 P-gp 蛋白的表达水平。**结果** 各干预组小鼠移植瘤瘤重均低于 Model 组, 其中 LGP + DDP 组瘤重最低, 其次为 DDP 组 ( $P < 0.01$ ); 各组移植瘤组织内 AI 均高于 Model 组 ( $P < 0.05$ ), 且 LGP + DDP 组最高 ( $P < 0.01$ ); 含 LGP 组移植瘤组织内 P-gp、Bcl-2 蛋白的表达降低 ( $P < 0.05$ ), Bax 蛋白的表达升高 ( $P < 0.05$ ), Bax/Bcl-2 比值升高, LGP + DDP 组的上述作用明显优于单药组 ( $P < 0.01$ ); 相关性分析表明 P-gp 蛋白的表达量与 Bcl-2 的表达量呈正相关, 与 Bax 的表达量呈负相关 ( $P < 0.01$ )。 **结论** LGP 能抑制小鼠宫颈癌移植瘤的生长, 且与 DDP 联合后抑制作用更显著; 其可能的机制: LGP 可能是通过下调 Bcl-2、上调 Bax 蛋白诱导小鼠宫颈癌细胞凋亡, 降低 P-gp 蛋白的表达, 增加肿瘤组织对 DDP 的化疗敏感度。

**关键词:** 左旋棉酚; 宫颈癌; 凋亡; P-gp

**中图分类号:** R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-8578(2012)10-1211-05

## 0 引言

左旋棉酚[(-)-gossypol, LGP]是从棉籽中提取的天然 BH3 结构相似物, 近年来因其潜在的抗肿瘤活性而备受关注。已有研究发现左旋棉酚对前列腺癌、黑色素瘤、胶质瘤等恶性肿瘤表现出明显的诱导

收稿日期: 2012-01-21; 修回日期: 2012-03-09

作者单位: 1. 832002 新疆石河子, 石河子大学第一附属医院肿瘤内科; 2. 石河子大学医学院; 3. 石河子大学药学院

作者简介: 巩平(1964-), 女, 博士, 主任医师, 主要从事肿瘤化疗与生物免疫治疗研究

凋亡能力<sup>[1-3]</sup>,本实验采用左旋棉酚、顺铂及两者联合对小鼠宫颈癌移植瘤进行干预,观察移植瘤的生长、凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 及耐药蛋白 P-gp 表达的情况,探讨左旋棉酚对宫颈癌移植瘤细胞凋亡的诱导作用及可能的作用机制。

### 1 材料与方 法

#### 1.1 材 料

实验动物采用健康 6~8 周龄昆明小鼠 60 只,体质量(26±2)g,雌性,购自新疆石河子大学实验动物中心;U14 细胞系(子宫颈癌第 14 号)购于北京金紫晶生物医药技术有限公司;左旋棉酚由石河子大学药学院唐辉教授提供;顺铂由齐鲁制药有限公司生产;锥虫蓝购自美国 Sigma 公司;胎牛血清(fetal bovine serum,FBS)与 DMEM 培养液购自美国 Hyclone 公司;兔抗小鼠 Bcl-2 单抗、兔抗小鼠 MDR-1 单抗购自武汉博士得生物工程有限公司;兔抗小鼠 Bax 单抗购自于北京博奥森生物技术有限公司;TUNEL 购于美国 Roche 公司。

#### 1.2 方 法

1.2.1 小鼠宫颈癌 U14 皮下移植瘤动物模型的建立 U14 细胞在含 5%CO<sub>2</sub>、37℃ 的培养箱中培养,待至对数生长期后离心并用 0.9%氯化钠溶液重悬,锥虫蓝染色法观察活细胞>95%,调整细胞浓度至 1×10<sup>6</sup>/ml 后小鼠腹腔注射,3~7 天后小鼠腹腔穿刺可吸出乳糜样腹水,再用 0.9%氯化钠溶液(1:3 的比例)稀释、重悬后小鼠右后肢大腿皮下注射 0.2 ml。第 3 天瘤块长径已达 0.5 cm 左右,成瘤率达 100%,瘤块大小均匀,采用病理学检查确定宫颈癌模型建立成功,肿瘤体积约 1 000 mm<sup>3</sup>时开始治疗。

1.2.2 治疗方案 皮下接种 U14 的第 3 天,将 60 只小鼠按随机原则分为 Model 组、LGP 组、DDP 组、LGP+DDP 组 4 组,给药干预 8 天。Model 组给予含一定浓度 DMSO 的 0.9%氯化钠溶液腹腔注射,每日 1 次;LGP 组 5 mg/kg 每天灌胃 1 次;DDP 组给予 3 mg/kg 腹腔注射,隔日 1 次;LGP+DDP 组给予 LGP 5 mg/kg 每天灌胃 1 次+DDP 3 mg/kg 腹腔注射,隔日 1 次。

1.2.3 观察指标 (1)LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤的抑制作用。停药 2 日后颈椎脱臼法处死小鼠,完整剥离小鼠右后肢皮下移植瘤,用电子天平称量移植瘤的重量,并按公式计算移植瘤的抑瘤率。抑瘤率(%)=(模型对照组平均瘤重量-实验组平均瘤重量)/模型对照组平均瘤重量×100%。(2)LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤细胞凋亡的影响。小鼠 U14 瘤组织切片常规脱蜡,操作流程按照 TUNEL 试剂盒使用说明进行。结果判断:每张切片在显微镜下随机取 5 个视野(×400),细胞核呈蓝色的为正常细胞,细

胞核呈棕黄色或棕褐色的为凋亡细胞。计数凋亡细胞数和肿瘤细胞总数,并按公式计算凋亡指数(apoptotic index,AI)。AI=凋亡细胞数/肿瘤细胞总数×100%。(3)LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤组织内 Bcl-2、Bax 及 P-gp 蛋白表达的影响。小鼠 U14 瘤组织切片常规脱蜡、水化,Bcl-2 抗体、Bax 抗体及 P-gp 抗体工作液的浓度分别是 1:100、1:500、1:500。免疫组织化学操作流程分别依据试剂盒使用说明进行,以细胞质或包膜出现棕黄色颗粒判断为阳性(Bcl-2、Bax 均定位于细胞质,P-gp 定位于包膜)。免疫组织化学检测结果判定:每个标本切片均随机选取 5 个高倍镜视野(×400),每视野计数 200 个细胞,阳性细胞百分比(A):无阳性细胞为 0 分;阳性细胞数≤25%为 1 分;>25~50%为 2 分;>50%~75%为 3 分;阳性细胞数>75%为 4 分。着色强度评分(B):无色为 0 分;淡黄色为 1 分;棕黄色为 2 分;棕褐色 3 分。蛋白表达水平=A+B。

#### 1.3 统 计 学 方 法

采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),用 Wilcoxon 非参数检验行相关分析,检验水准  $\alpha = 0.05, P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤的抑制作用

各干预组小鼠移植瘤平均瘤重均明显低于 Model 组( $P < 0.01$ ),其中 LGP+DDP 组的平均瘤重最小。DDP 组小鼠移植瘤平均瘤重低于 LGP 组( $P < 0.05$ )。LGP 组、DDP 组及 LGP+DDP 组的抑瘤率分别为 12.25%、34.4%、55.84%,说明左旋棉酚可抑制小鼠宫颈癌移植瘤生长,但与单独使用顺铂相比,抑瘤效果较差;左旋棉酚与顺铂联合后对移植瘤的抑制作用大于其相加作用,见表 1。

表 1 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤的抑制作用( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The inhibition effect of murine cervical cancer xenograft treated with LGP combind with DDP( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	Tumor weight (g)	Inhibition rate (%)
DDP <sup>△☆</sup>	15	0.70 ± 0.48	34.40
LGP <sup>△○</sup>	15	0.93 ± 0.48	12.25
LGP+DDP <sup>△○☆</sup>	15	0.47 ± 0.39	55.84
Model	15	1.06 ± 0.74	—

Note:DDP: cisplatin; LGP; (-)-gossypol; <sup>△</sup>: compared with model group,  $P < 0.01$ ; <sup>○</sup>: compared with DDP group,  $P < 0.05$ ; <sup>☆</sup>: compared with LGP group,  $P < 0.05$ ; DDP: cisplatin; LGP; (-)-gossypol; - : no calculated

## 2.2 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤细胞凋亡的影响

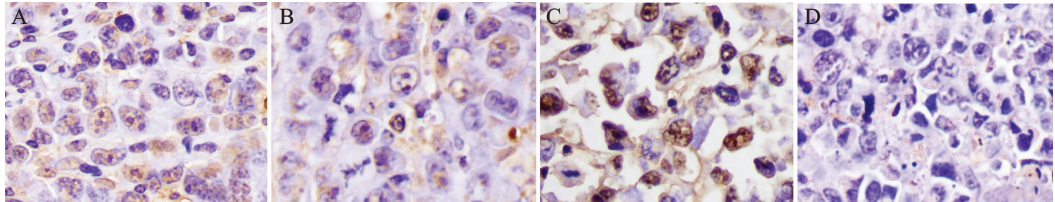
光学显微镜下见凋亡细胞明显固缩,核致密,深染为棕黄色、多叶状或新月状颗粒,常集聚在核周边;非凋亡细胞的核呈蓝色。对照组有少许细胞核被深染为棕黄色的凋亡细胞,在 LGP 组、DDP 组及 LGP + DDP 组中凋亡细胞明显多于 Model 组。各实验组瘤组织细胞 AI 均高于 Model 组 ( $F = 13.485, P < 0.01$ ), DDP 组瘤组织细胞 AI 均高于 LGP 组, LGP + DDP 组的 AI 最高 ( $P < 0.01$ ), 见图 1、表 2。

表 2 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤细胞凋亡指数的影响

Table 2 The effect of AI in murine cervical cancer xenograft treated with LGP combind with DDP ( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	AI(%)
DDP $\Delta^{\star}$	15	6.41 $\pm$ 3.55
LGP $\Delta^{\circ}$	15	3.55 $\pm$ 1.09
LGP + DDP $\Delta^{\circ\star}$	15	10.79 $\pm$ 4.17
Model	15	2.71 $\pm$ 3.75

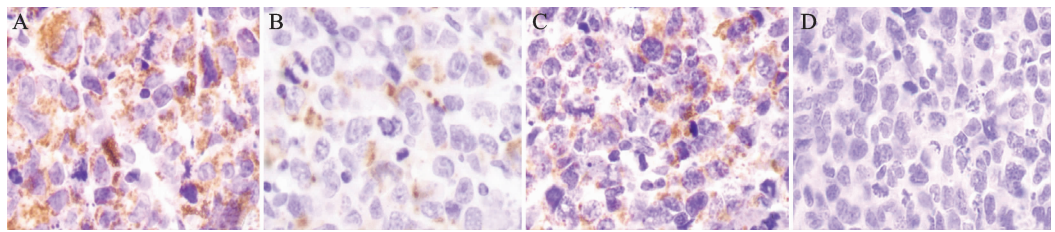
Note:  $\Delta$ : compared with model group,  $P < 0.01$ ;  $\circ$ : compared with DDP group,  $P < 0.05$ ;  $\star$ : compared with LGP group,  $P < 0.05$



A: DDP group; B: LGP group; C: LGP + DDP group; D: Model control group

图 1 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤细胞凋亡的影响 (TUNEL  $\times$  400)

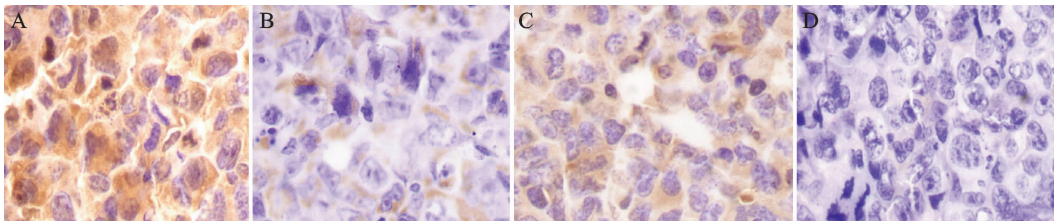
Figure 1 The effect of apoptosis in murine cervical cancer xenograft treated with LGP combind with DDP (TUNEL  $\times$  400)



A: DDP group; B: LGP group; C: LGP + DDP group; D: Model control group

图 2 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤组织内 P-gp 蛋白表达的影响 (SP  $\times$  400)

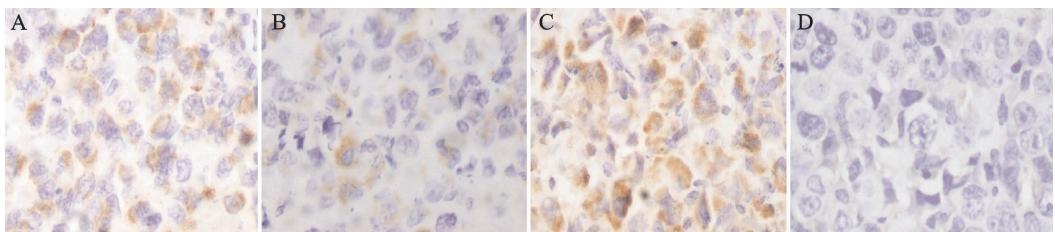
Figure 2 The expression of P-gp protein in murine cervical cancer xenograft (SP  $\times$  400)



A: DDP group; B: LGP group; C: LGP + DDP group; D: Model control group

图 3 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤组织内 Bcl-2 蛋白表达的影响 (SP  $\times$  400)

Figure 3 The expression of Bcl-2 protein in murine cervical cancer xenograft (SP  $\times$  400)



A: DDP group; B: LGP group; C: LGP + DDP group; D: Model control group

图 4 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤组织内 Bax 蛋白表达的影响 (SP  $\times$  400)

Figure 4 The expression of Bax protein in murine cervical cancer xenograft treated with LGP combind with DDP (SP  $\times$  400)



### 2.3 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤组织内 Bcl-2、Bax 及 P-gp 蛋白表达的影响

LGP 组移植瘤组织内 Bcl-2、P-gp 蛋白的表达低于 Model 组 ( $P < 0.05$ ), DDP 组移植瘤组织内 Bcl-2、P-gp 蛋白的表达均高于 Model 组 ( $P < 0.05$ ), LGP + DDP 组小鼠移植瘤组织内 Bcl-2、P-gp 蛋白的表达均低于 DDP 组、高于 Model 组 ( $P < 0.05$ ); 各干预组小鼠移植瘤组织内 Bax 蛋白的表达均高于 Model 组 ( $P < 0.01$ ), 其中 LGP + DDP 组小鼠移植瘤组织内 Bax 蛋白的表达最高, DDP 组小鼠移植瘤组织内 Bax 蛋白的表达高于 LGP 组 ( $P < 0.01$ )。Bax 与 Bcl-2 比值由大到小依次为: LGP + DDP 组 > DDP 组 > LGP 组 > Model 组, 见图 2 ~ 4, 表 3。

表 3 LGP 及其联合 DDP 对小鼠宫颈癌移植瘤组织内 Bcl-2、Bax 及 P-gp 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 The expression of Bcl-2, Bax and P-gp protein in murine cervical cancer xenograft treated with LGP combinind with DDP ( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	N	P-gp	Bcl-2	Bax	Bax/Bcl-2
DDP <sup>△</sup>	15	5.3 ± 0.9	5.9 ± 0.2	3.7 ± 2.3	0.72
LGP <sup>△○</sup>	15	3.7 ± 0.6	4.7 ± 1.7	3.2 ± 2.7	0.68
LGP + DDP <sup>△○*</sup>	15	4.1 ± 1.2	5.5 ± 0.6	6.7 ± 0.6	1.22
Model	15	3.9 ± 0.9	5.8 ± 0.3	1.2 ± 1.8	0.21

Note: compared with model group, <sup>△</sup>:  $P < 0.01$ ; compared with DDP group, <sup>○</sup>:  $P < 0.05$ ; compared with LGP group, <sup>\*</sup>:  $P < 0.05$

### 2.4 P-gp 与 Bcl-2、Bax 的相关性分析

P-gp、Bcl-2 呈正相关, P-gp、Bax 呈负相关 ( $P < 0.01$ )。

## 3 讨论

宫颈癌已成为全球女性死亡率居第二位的恶性肿瘤, 其危害不容忽视, 化疗是其主要治疗手段之一<sup>[4]</sup>。近年来, 尽管出现了更有效的化疗药物, 制订了更完备的联合化疗方案, 使中晚期宫颈癌患者的化疗疗效得到一定程度的提高, 但在治疗过程中耐药现象也给临床化疗带来了诸多困难, 甚至导致失败, 严重影响患者的治疗效果, 故寻求一种具有疗效好、不良反应小、能增加肿瘤细胞对化疗药物敏感度等特点的抗癌药物是目前宫颈癌治疗中亟待解决的问题<sup>[5]</sup>。

左旋棉酚是锦葵科植物草棉、树棉或陆地棉的成熟种子或根皮中提取的天然 BH3 结构相似物—Bcl-2 的小分子抑制剂, 逐渐引起医学界的广泛重视<sup>[6-7]</sup>。目前大量体内、外实验均证实左旋棉酚具有抑制肿瘤生长的作用<sup>[8-9]</sup>, 可以有效诱导高表达 Bcl-2 的多种癌细胞发生凋亡<sup>[2]</sup>。本实验观察发现, 单独应用 LGP 治疗小鼠宫颈癌移植瘤, 移植瘤的生长

受到一定程度的抑制, 且抑制作用随时间的延长而增强, 但与单独使用 DDP 干预相比, 抑瘤效果较低; 而 LGP 与 DDP 联合使用后对移植瘤的抑制作用大于两者的相加作用, 提示左旋棉酚可明显增加移植瘤组织对顺铂的敏感度。因此我们推测: LGP 不仅可以提高肿瘤细胞对 DDP 的化疗敏感度, 且可以达到降低 DDP 临床用量减轻其不良反应的目的。除此之外, 本实验是基于小鼠移植瘤一直存在的基础上进行的, 故推测, 若对小鼠进行减瘤术后再行 LGP 联合 DDP 方案治疗, 疗效可能会进一步提高。

P-gp 蛋白是由多药耐药基因 (MDR-1) 编码的一种定位在细胞膜上的膜蛋白, 选择性的表达于药物分布、吸收、代谢、消除的关键部位, 与肿瘤细胞的耐药性密切相关, 是目前认为导致肿瘤耐药的最重要机制<sup>[10]</sup>, 且有研究提示 P-gp 可通过抑制 Bax 及凋亡关键酶, 直接抑制细胞凋亡导致肿瘤耐药<sup>[11]</sup>。有研究表明, 宫颈癌组织中 P-gp 的表达水平与宫颈癌患者的化疗效果密切相关, P-gp 表达水平越高化疗效果越差, 证实 P-gp 蛋白的高表达可能是导致宫颈癌患者化疗失败的原因之一<sup>[12-14]</sup>。

Bcl-2 和 Bax 分别是 Bcl-2 家族中最有代表性凋亡蛋白, 亦是新型的耐药相关蛋白<sup>[15]</sup>, 其可以通过调控肿瘤细胞的凋亡参与肿瘤耐药。其中 Bcl-2 为重要的凋亡抑制蛋白, 可通过多种途径抑制凋亡而导致肿瘤耐药; Bax 作为促凋亡蛋白, 主要通过促进细胞色素 C 的释放促进细胞凋亡。当 Bcl-2 形成同源或异源二聚体时抑制细胞凋亡, 而 Bax 自身形成的同源二聚体 Bax/Bax 促进细胞凋亡, Bcl-2 与 Bax 形成的异源二聚体使彼此的抗凋亡和促凋亡活性相互抵消, 故两者之间的相对比例决定了细胞凋亡的发生与否<sup>[16]</sup>。Paoluzzi 等<sup>[17]</sup>通过体内、外实验研究发现, 左旋棉酚可增加过表达 Bcl-2 的 B 细胞淋巴瘤对化疗药物足叶乙甙与阿霉素的疗效。

本课题组前期体外研究发现, 棉酚可通过降低人宫颈癌 HeLa 细胞内抗凋亡蛋白 Bcl-2、Bcl-x<sub>L</sub> 的表达水平, 诱导 HeLa 细胞凋亡, 与单独使用棉酚或顺铂相比, 两者联合诱导细胞凋亡的作用明显增强<sup>[18-19]</sup>, 但左旋棉酚是否也通过此机制抑制小鼠宫颈癌移植瘤生长尚未见相关文献报道。本实验通过 TUNEL 法检测各组移植瘤细胞的凋亡率, 结果显示: 单独使用 LGP 可诱导肿瘤细胞凋亡, 联合 DDP 使用后促凋亡作用显著提高; 通过免疫组织化学法检测各组移植瘤组织 P-gp、Bcl-2 及 Bax 蛋白的表达结果显示, 单独使用 LGP 或联合 DDP 使用后 P-gp、Bcl-2 蛋白阳性表达率减少, Bax 蛋白表达率上调, Bax/Bcl-2 比值升高, 且联合用药作用效果明显强于单独用药; 相关性分析显示 P-gp 蛋白的表达量与 Bcl-2 呈正相关, 与 Bax 呈负相关。由此我们推

测左旋棉酚诱导宫颈癌凋亡的机制可能是:第一,LGP能与细胞内Bcl-2蛋白的BH3位点特异性结合,取代与之结合的促凋亡蛋白如Bax,进而上调Bax/Bcl-2比值,间接发挥抑制Bcl-2活性的作用,诱导肿瘤细胞凋亡;第二,LGP能直接与促凋亡蛋白Bax的BH3位点结合,促进肿瘤细胞凋亡;第三,LGP通过降低P-gp蛋白的表达,进而上调Bax/Bcl-2比值,增加肿瘤细胞对化疗药物的敏感度,促进肿瘤细胞凋亡。

综上所述,LGP能通过诱导宫颈癌细胞凋亡的方式抑制移植瘤的生长,且与化疗药物DDP联合后促凋亡作用明显增强。左旋棉酚不仅能通过上调肿瘤组织内Bax蛋白、下调Bcl-2蛋白的表达诱导肿瘤细胞发生凋亡,而且能够减少肿瘤细胞内P-gp蛋白的表达量,增加耐药细胞对化疗药物的敏感度,具有很好的开发前景。

#### 参考文献:

- [1] Zhang XQ, Huang XF, Mu SJ, et al. Inhibition of proliferation of prostate cancer cell line, PC-3, in vitro and in vivo using (-)-gossypol[J]. Asian Journal of Andrology, 2010, 12(3): 390-9.
- [2] Valerie V, Christian S, Verena L, et al. The Pan-Bcl-2 Inhibitor (-)-Gossypol Triggers Autophagic Cell Death in Malignant Glioma[J]. Mol Cancer Res, 2010, 8(7): 1002-16.
- [3] Yang M, Tang W, Dai Y, et al. Natural BH3 mimetic (-)-gossypol chemosensitizes human prostate cancer via Bcl-x<sub>L</sub> inhibition accompanied by increase of Puma and Noxa[J]. Mol Cancer Ther, 2008, 7(7): 2192-202.
- [4] Tian X, Gou LS, Liu L, et al. Study on effects of naproxen on the proliferation and apoptosis of human cancer HeLa cells *in vitro*[J]. Shi Yong Yi Xue Za Zhi, 2011, 27(18): 3268-70. [田霞, 缙灵山, 刘玲, 等. 萘普生对体外宫颈癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(18): 3268-70.]
- [5] Zhang K, Ma SL. Progress on anticancer molecule mechanism of naturally occurring drugs[J]. Zhong Huan Zhong Yi Yao Za Zhi, 2011, 26(10): 2344-7. [张珂, 马胜林. 天然药物抗肿瘤机制的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(10): 2344-7.]
- [6] Oliver CL, Miranda MB, Shangary S, et al. (-)-Gossypol acts directly on the mitochondria to overcome Bcl-2- and Bcl-X(L)-mediated apoptosis resistance [J]. Mol Cancer Ther, 2005, 4(1): 23-31.
- [7] Balakrishnan K, Wierda WG, Keating MJ, et al. Gossypol, a BH3 mimetic, induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells[J]. Blood, 2008, 112(5): 1971-80.
- [8] Voss V, Senft C, Lang V, et al. The pan-Bcl-2 inhibitor (-)-gossypol triggers autophagic cell death in malignant glioma[J]. Mol Cancer Res, 2010, 8(7): 1002-16.
- [9] Li H, Piao L, Xu P, et al. Liposomes containing (-)-gossypol-enriched cottonseed oil suppress Bcl-2 and Bcl-xL expression in breast cancer cells[J]. Pharm Res, 2011, 28(12): 3256-64.
- [10] Andjelkovic T, Pesic M, Bankovic J, et al. Synergistic effects of the purine analog sulfinosine and curcumin on the multidrug resistant human non-small cell lung carcinoma cell line (NCI-H460/R)[J]. Cancer Biol Ther, 2008, 7(7): 1024-32.
- [11] Chen BH, Yang JJ, Yao MY. Expressions and value of P-gp, MRP, Bcl-2 and Bax in transitional cell carcinoma of bladder [J]. Dongnan Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban), 2007, 26(4): 279-82. [陈冰海, 杨建军, 姚茂银. P-gp, MRP, Bcl-2, Bax 在膀胱癌中的表达及其意义[J]. 东南大学学报(医学版), 2007, 26(4): 279-82.]
- [12] Lv XF, Wang YH. Research progress of multidrug resistance gene coded products in cervical cancer[J]. Xian Dai Sheng Wu Yi Xue Jin Zhan, 2010, 10(9): 1794-7. [吕锡芳, 王英红. 多药耐药基因产物在宫颈癌中的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2010, 10(9): 1794-7.]
- [13] Pan GD, Yan LN. Research advancement on mechanism of tumor multidrug resistance[J]. Yi Xue Zhong Shu, 2009, 15(8): 1162-4. [潘光栋, 严律南. 肿瘤多药耐药形成机制研究进展[J]. 医学综述, 2009, 15(8): 1162-4.]
- [14] Zhang Y, Jia WL. The relationship between Bcl-2 antisense therapy and tumors[J]. Xian Dai Zhong Liu Yi Xue, 2011, 19(2): 2382-5. [张彦, 贾伟丽. Bcl-2 反义治疗与肿瘤关系进展[J]. 现代肿瘤医学, 2011, 19(2): 2382-5.]
- [15] Tabuchi Y, Matsuoka J, Gunduz M, et al. Resistance to paclitaxel therapy is related with Bcl-2 expression through an estrogen receptor mediated pathway in breast cancer[J]. Int J Oncol, 2009, 34(2): 313-9.
- [16] Lalier L, Cartron PF, Juin P, et al. Bax activation and mitochondrial insertion during apoptosis [J]. Apoptosis, 2007, 12(5): 887-96.
- [17] Paoluzzi L, Gonen M, Gardner JR, et al. Targeting Bcl-2 family members with the BH3 mimetic AT-101 markedly enhances the therapeutic effects of chemotherapeutic agents in vitro and in vivo models of B-cell lymphoma[J]. Blood, 2008, 111(11): 5350-8.
- [18] Gong P, Wang YL, Jiang L, et al. Study on the effect of gossypol combined with radiotherapy in inducing apoptosis of human cervical carcinoma HeLa cells[J]. Zhong Liu, 2009, 29(9): 838-41. [巩平, 王于理, 姜玲, 等. 棉酚联合放疗诱导宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的研究[J]. 肿瘤, 2009, 29(9): 838-41.]
- [19] Wang YL, Jiang L, Sun L, et al. Effect of gossypol on the proliferation and apoptosis of human cervical carcinoma HeLa cells [J]. Shihezi Da Xue Xue Bao (Zi Ran Ke Xue Ban), 2009, 27(5): 576-9. [王于理, 姜玲, 孙凌, 等. 棉酚对宫颈癌 HeLa 细胞增殖与凋亡的影响[J]. 石河子大学学报(自然科学版), 2009, 27(5): 576-9.]

[编辑:周永红;校对:杨卉]