

· 论 著 ·

姜黄素联合多烯紫杉醇诱导 PC-3 细胞凋亡的实验研究*

马 强, 王德林[△], 赵修民, 杨 军

(重庆医科大学附属第一医院泌尿外科 400016)

摘要:目的 探讨姜黄素联合多烯紫杉醇对人前列腺癌 PC-3 细胞凋亡的影响及其作用机制。方法 将体外培养的 PC-3 细胞分为对照组(仅加培养基)、姜黄素组(5.0 μmol/L 姜黄素处理)、多烯紫杉醇组(2.5 nmol/L 多烯紫杉醇处理)及联合组(5.0 μmol/L 姜黄素与 2.5 nmol/L 多烯紫杉醇联合处理),作用 24 h。用流式细胞仪分析 PC-3 细胞凋亡率,逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和 Western blot 法分别检测 Bcl-2 及 Bax mRNA 和蛋白的表达情况。结果 姜黄素和多烯紫杉醇均可诱导 PC-3 细胞凋亡,二者联合用药组的细胞凋亡率明显高于单药组($P < 0.05$);RT-PCR 及 Western blot 显示姜黄素和多烯紫杉醇都可明显下调 Bcl-2 mRNA 和蛋白的表达率,而上调 Bax mRNA 和蛋白表达率,且联合组细胞 Bax 与 Bcl-2 表达的改变更明显。结论 姜黄素和多烯紫杉醇可能通过下调 Bcl-2,上调 Bax 的表达协同诱导 PC-3 细胞的凋亡。

关键词:细胞凋亡;姜黄素;多烯紫杉醇;bcl-2;bax

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.07.004

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)07-0637-03

Experimental study on induction of apoptosis in PC-3 cells by curcumin combined with docetaxel*

Ma Qiang, Wang Delin[△], Zhao Xiumin, Yang Jun

(Department of Urology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of curcumin combined with docetaxel on apoptosis of human prostate cancer PC-3 cells and its mechanism. **Methods** Cultured PC-3 cells were divided into control group (only medium added), curcumin group (treatment with 5.0 μmol/L curcumin), docetaxel group (treatment with 2.5 nmol/L docetaxel) and combination group (combination treatment of 5.0 μmol/L curcumin and 2.5 nmol/L docetaxel), and were treated for 24 hours. Flow cytometry was employed to analyze the apoptotic rate of PC-3 cells, reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression of Bcl-2 and Bax, respectively. **Results** Both curcumin and docetaxel could induce apoptosis in PC-3 cells, the apoptotic rate of cells in combination group was higher than that in monotreatment groups ($P < 0.05$). RT-PCR and Western blot demonstrated that both curcumin and docetaxel down-regulated mRNA and protein expression of Bcl-2 and up-regulated mRNA and protein expression of Bax, and changes of Bax and Bcl-2 expression in combination group were more significant. **Conclusion** Curcumin and docetaxel can synergistically induce apoptosis in PC-3 cells via down-regulating Bcl-2 and up-regulating Bax.

Key words: apoptosis; curcumin; docetaxel; bcl-2; bax

姜黄素(curcumin)是中药姜黄的主要活性成分,是一种脂溶性酚类色素,具有抗突变、抗炎和抗肿瘤等多种作用^[1-3]。多烯紫杉醇是一种半合成紫杉醇衍生物,具有抗肿瘤血管形成和诱导凋亡作用,是迄今疗效最强的抗癌药物之一,与紫杉醇相比具有更强的微管蛋白亲和力和更长的细胞内停留时间(是紫杉醇的 2 倍),因此,它对肿瘤细胞的破坏力更强^[4]。目前,姜黄素与多烯紫杉醇联用对人前列腺癌 PC-3 细胞增殖和凋亡影响的研究报道较少,本研究拟在观察姜黄素与多烯紫杉醇联合对 PC-3 细胞体外生长的抑制作用和凋亡的诱导能力,初步探讨其作用机制,旨在为临床化疗联合用药方案提供实验依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料 姜黄素、多烯紫杉醇、二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)均购自美国 Sigma 公司,胎牛血清、Dulbecco's 改良 Eagle 培养基(Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)-F12 均购自 Hyclone 公司,总 RNA 提取试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司,RT-PCR 试剂盒购自宝生物

工程(大连)有限公司,PCR 引物由上海生工生物工程技术服务有限公司合成,Annexin V/碘化丙啶(propidium iodide, PI)凋亡试剂盒购自 BD Biosciences 公司,二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,鼠抗人 Bcl-2、Bax 单克隆抗体均购自 Santa Cruz 公司,β-actin 购自北京四正柏生物技术有限公司。

1.2 细胞培养及药物处理 人前列腺癌 PC-3 细胞(购自中科院上海细胞库)在含 10% 胎牛血清的 DMEM-F12 中,37 °C、5% CO₂ 及饱和湿度条件下培养。多烯紫杉醇配成浓度为 1 × 10⁻⁷ nmol/L 的原液,姜黄素配成浓度为 10.0 mmol/L 的原液,-20 °C 保存,实验时分别用工作液稀释成不同浓度作用于细胞。

1.3 流式细胞仪分析 取对数生长期的 PC-3 细胞经 0.25% 胰酶消化后,将细胞密度为 5 × 10⁵ 个/mL 的细胞接种于培养瓶,待细胞贴壁后,将其分为对照组(仅加培养基),姜黄素组(5.0 μmol/L 姜黄素处理)、多烯紫杉醇组(2.5 nmol/L 多烯紫杉醇处理)及联合组(5.0 μmol/L 姜黄素与 2.5 nmol/L 多烯

紫杉醇联合处理),分别作用 24 h。消化细胞成单细胞悬液,调整待测细胞密度为 2×10^5 个/mL。磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)洗 2 次后加入结合缓冲液 500 μ L,混匀后分别加入 Annexin V 和 PI,室温避光孵育 15 min,流式细胞仪检测细胞凋亡率。实验重复 3 次取平均值。

1.4 逆转录聚合酶链反应(reverse transcriptase-polymerase chain reaction, RT-PCR)分析 取对数生长期 PC-3 细胞,细胞分组同流式细胞检测部分,分别作用 24 h。提取总 RNA,测 RNA 浓度,取 1 μ g RNA 逆转录为 cDNA;进行 PCR 反应:PCR 扩增体系为 25 μ L,内含:(1)模板 cDNA 1 μ L;(2)上游引物 0.5 μ L;(3)下游引物 0.5 μ L;(4)三磷酸脱氧核糖核苷(deoxy-ribonucleoside triphosphate, dNTP)混合物 12.5 μ L;(5)ddH₂O 10.5 μ L。扩增条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min,再经 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,退火温度,即溶解温度见表 1,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,30 个循环后 72 $^{\circ}$ C 终末延伸 5 min。PCR 产物于 2% 琼脂糖凝胶电泳, Bio-Rad 凝胶成像仪下用 Quantity one 软件观察结果并照相,以目的片段与内参 β -actin 片段的条带吸光度(absorbance, A)值的比值进行半定量分析。引物及反应条件见表 1。

表 1 *Bcl-2*、*Bax* 引物序列及反应条件

基因	引物	产物 (bp)	熔解温度 ($^{\circ}$ C)
β -actin	上游 5'-ACT GTG CCC ATC TAC GAG G-3'	678	62
	下游 5'-GAA AGG GTG TAA CGC AAC TA-3'		
<i>Bcl-2</i>	上游 5'-TGG GAG AAC AGG GTA CGA TAA C-3'	448	60
	下游 5'-GAA CTC AAA GAA GGC CAC AAT C-3'		
<i>Bax</i>	上游 5'-GTT GTC GCC CTT TTC TAC TTT G-3'	362	60
	下游 5'-GAG GTC AGC AGG GTA GAT GAA T-3'		

1.5 Western blot 检测 Bax 及 Bcl-2 的表达 取对数生长期 PC-3 细胞,分组同前,作用 24 h。取总蛋白 60 μ g 进行定量分析,行 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE),电转至硝酸纤维素膜,5% 脱脂奶粉 37 $^{\circ}$ C 摇摆封闭 2 h,加 Bcl-2、Bax 抗体及内参 β -actin 抗体溶液,4 $^{\circ}$ C 过夜,复温 30 min,将其用含吐温-20 的 Tris 缓冲液(Tris-buffered saline with Tween-20, TBST)于室温摇床上洗 3 次,每次 10 min,再加入相应的第二抗体溶液,37 $^{\circ}$ C 温育 2 h, TBST 室温摇床上洗 3 次,每次 10 min,凝胶成像系统显色。用 Quantity One 图像分析软件分析结果。

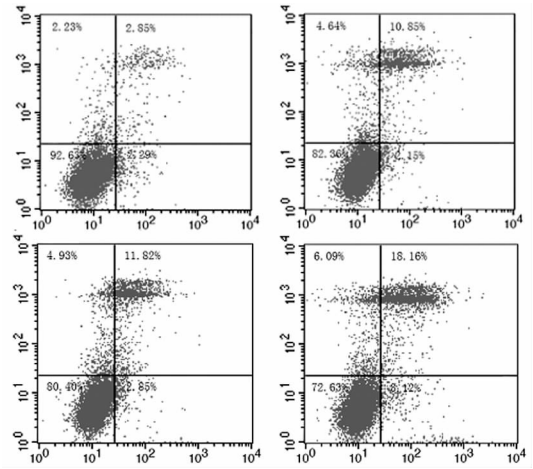
1.6 统计学处理 应用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间均数比较采用 *t* 检验,多组均数比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流式细胞仪测细胞凋亡率 对照组、姜黄素组、多烯紫杉醇组及联合组的 PC-3 细胞分别作用 24 h 后,细胞凋亡率分别为 $(3.03 \pm 0.40)\%$ 、 $(12.51 \pm 0.77)\%$ 、 $(10.05 \pm 1.33)\%$ 及 $(19.38 \pm 1.12)\%$ 。姜黄素组和多烯紫杉醇组的细胞凋亡率与对照组比较,明显升高($P < 0.05$),联合组细胞凋亡率明显高于姜黄素组和多烯紫杉醇组($P < 0.05$),见图 1。

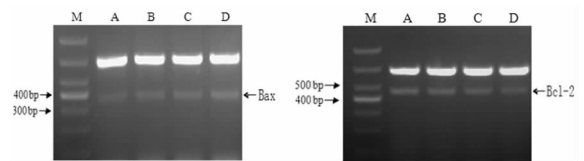
2.2 RT-PCR 检测 *Bcl-2* 及 *Bax* mRNA 表达水平的变化 RT-PCR 结果显示对照组、姜黄素组、多烯紫杉醇组及联合组的 PC-3 细胞均有 *Bcl-2* 及 *Bax* 表达,见图 2、表 2;单药组及联

合组细胞 *Bcl-2* 的表达均较对照组细胞的表达减弱,且联合组表达弱于单药组,差异有统计学意义($P < 0.05$);单药组及联合组细胞 *Bax* 均较对照组细胞表达增强,且联合组表达强于单药组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2。



左上:对照组;右上:姜黄素组;左下:多烯紫杉醇组;右下:联合组。

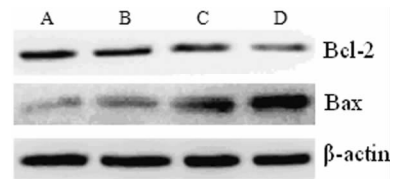
图 1 Annexin V/PI 流式细胞仪检测各组 PC-3 细胞的凋亡情况



M: DNA Maker; A: 对照组; B: 姜黄素组; C: 多烯紫杉醇组; D: 联合组。

图 2 RT-PCR 检测各组 PC-3 细胞 *Bcl-2* 及 *Bax* mRNA 的表达

2.3 Western blot 检测 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达水平的变化 对照组、姜黄素组、多烯紫杉醇组及联合组的 PC-3 细胞均有 Bcl-2 及 Bax 蛋白表达,见图 3、表 2。与对照组相比,各用药组 Bcl-2 蛋白表达水平下降,且联合组比单药组下降更明显($P < 0.05$)。用药组 Bax 蛋白表达上升,且联合组比单药组上升更明显($P < 0.05$)。



A: 对照组; B: 姜黄素组; C: 多烯紫杉醇组; D: 联合组。

图 3 Western blot 检测各组 PC-3 细胞 *Bcl-2* 及 *Bax* 蛋白的表达

表 2 各组 PC-3 细胞 *Bcl-2* 及 *Bax* 的 mRNA 及蛋白表达

组别	<i>Bcl-2</i>		<i>Bax</i>	
	mRNA	蛋白	mRNA	蛋白
对照组	0.30 \pm 0.03	0.43 \pm 0.01	0.05 \pm 0.03	0.09 \pm 0.04
多烯紫杉醇组	0.21 \pm 0.02	0.28 \pm 0.01	0.07 \pm 0.03	0.15 \pm 0.03
姜黄素组	0.16 \pm 0.02	0.21 \pm 0.04	0.10 \pm 0.02	0.19 \pm 0.05
联合组	0.11 \pm 0.01	0.13 \pm 0.02	0.13 \pm 0.04	0.31 \pm 0.03

3 讨 论

内分泌治疗是晚期前列腺癌最常用的方法,但对于预后较差的雄激素非依赖前列腺癌(androgein-independent prostate cancer, AIPC)主要采用化学治疗(化疗)方法。临床上对于肿瘤患者的化疗主要通过有效抑制肿瘤细胞增殖和诱导肿瘤细胞凋亡,其效果受到化学药物疗效以及机体耐受力的限制,因此,如何提高化疗药物的疗效,降低其毒性反应成为研究的方向。多烯紫杉醇是一种新型广谱抗肿瘤药物,主要作用于微管,微管是由微管蛋白聚合而成。微管蛋白则是由 α 和 β 两个多肽亚单位所组成的相对分子质量为 1.0×10^8 的蛋白质^[5]。多烯紫杉醇能加快微管蛋白聚合成微管的速度并延缓微管的解聚作用,从而形成稳定的非功能性的微管束,使细胞被阻抑于细胞周期的 G₂ 和 M 时相,不能形成运动的纺锤体,从而抑制有丝分裂和细胞增殖,导致肿瘤细胞死亡^[6]。多烯紫杉醇作为一种疏水性的抗癌药物,对卵巢癌、肺癌及晚期乳腺癌等有较强的抗癌功效^[7]。但单纯的化疗不仅毒性大、作用有限,而且也容易发生耐药现象。因此,寻找一种更好的药物与多烯紫杉醇联合应用以提高化疗疗效有重要意义。近年来姜黄素抗肿瘤作用越来越受到人们的关注,它作为一种潜在的抗癌药物应用于临床多种肿瘤的治疗,如结肠癌^[8-9]、头颈鳞状细胞癌^[10]、胰腺癌^[11]和骨肉瘤^[12]。姜黄素的抗肿瘤作用已日益成为研究的热点,它可能通过诱导肿瘤细胞的凋亡和分化,阻抑细胞周期进程和细胞增殖,抑制肿瘤血管形成等机制来抑制肿瘤生长^[13]。本实验选取了化疗药物多烯紫杉醇联合姜黄素作用于体外培养的 PC-3 细胞,结果发现这 2 种药均可诱导肿瘤细胞凋亡,姜黄素和低剂量的多烯紫杉醇联合作用细胞时,细胞凋亡率明显高于两药单用时的凋亡率。

Bcl-2 基因家族是重要的凋亡调节基因,控制细胞凋亡的在线粒体通路^[14]。该家族包括促凋亡蛋白及抗凋亡蛋白,都含有至少一个高度保守的 *Bcl-2* 同源结构域,抗凋亡蛋白 *Bcl-2* 同源染色体(如 *Bcl-2*、*Mcl-2* 和 *Bcl-xL*),都有同源结构域 1~4^[15]。促凋亡蛋白 *Bax* 和 *Bak* 都有 BH 结构域 1~3 和上游的效应器 BH-3 蛋白(*Bid* 和 *Bad*)^[16]。*Bcl-2* 同源染色体的抗凋亡功能是依靠其表面 BH1、2 和 3 结构域形成的疏水基,吸引促凋亡蛋白 BH-3 结构域的 α 螺旋结构域而实现^[17]。*Bcl-xL* 可抑制 *Bax* 活性和(或)阻止 *Bax* 的活化,其机制在人类肿瘤的发生、发展中尤其重要,因为 *Bcl-xL* 表达水平与大多数化疗抵抗密切相关,而 *Bax* 对各种刺激的反应(包括对 BH-3 蛋白的凋亡反应)发挥非常关键的作用。*Bax* 过表达已经证明其可以促进细胞凋亡,然而抗细胞凋亡蛋白质(如 *Bcl-2*)的过表达则可以抑制 *Bax* 所致的细胞凋亡。这样,*Bcl-2* 和 *Bax* 比率就成为决定细胞是否发生凋亡的关键因素。

本实验采用 RT-PCR 及 Western blot 方法检测了体外培养 PC-3 细胞的 *Bcl-2* 及 *Bax* 的 mRNA 和蛋白表达,发现单药组和联合组与对照组相比,*Bcl-2* 表达量明显降低,*Bax* 表达量明显升高;而联合组 *Bcl-2* 表达量与单药组相比,降低更明显,联合组 *Bax* 表达量与单药组相比,升高更明显,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。由此说明多烯紫杉醇和姜黄素均可抑制 *Bcl-2* 基因表达,同时促进 *Bax* 和 *Bid* 基因表达,联合用药具有协同作用。它可能为通过抑制 *Bcl-2* mRNA 转录,促进 *Bax* mRNA 转录,进而抑制 *Bcl-2* 蛋白表达而促进 *Bax* 和 *Bid* 蛋白表达,最终抑制 PC-3 细胞增殖,诱导其凋亡。

综上所述,姜黄素和多烯紫杉醇都能诱导 PC-3 细胞凋亡,两药联用具有协同作用。其机制可能是抑制 *Bcl-2* 基因表达,同时上调 *Bax* 基因表达来促进凋亡的发生。本研究显示多烯紫杉醇和姜黄素联合用药具有合理性,为进一步完善前列腺癌的联合用药方案提供实验依据。

参考文献:

- [1] Gota VS, Maru GB, Soni TG, et al. Safety and pharmacokinetics of a solid lipid curcumin particle formulation in osteosarcoma patients and healthy volunteers[J]. J Agric Food Chem, 2010, 58(4):2095-2099.
- [2] Walters DK, Muff R, Langsam B, et al. Cytotoxic effects of curcumin on osteosarcoma cell lines[J]. Invest New Drugs, 2008, 26(4):289-297.
- [3] Epstein J, Sanderson IR, Macdonald TT. Curcumin as a therapeutic agent: the evidence from in vitro, animal and human studies[J]. Br J Nutr, 2010, 103(11):1545-1557.
- [4] Gligorov J, Lotz JP. Preclinical pharmacology of the taxanes: implications of the differences[J]. Oncologist, 2004, 9 Suppl 2:S3-8.
- [5] Bhalla KN. Microtubule-targeted anticancer agents and apoptosis[J]. Oncogene, 2003, 22(56):9075-9086.
- [6] Bear HD, Anderson S, Smith RE, et al. Sequential preoperative or postoperative docetaxel added to preoperative doxorubicin plus cyclophosphamide for operable breast cancer: National Surgical Adjuvant Breast and Bowel Project Protocol B-27[J]. J Clin Oncol, 2006, 24(13):2019-2027.
- [7] Lee E, Kim H, Lee IH, et al. In vivo antitumor effects of chitosan-conjugated docetaxel after oral administration[J]. J Control Release, 2009, 140(2):79-85.
- [8] Patel BB, Majumdar AP. Synergistic role of curcumin with current therapeutics in colorectal Cancer: minireview[J]. Nutr Cancer, 2009, 61(6):842-846.
- [9] Villegas I, Sánchez-Fidalgo S, Alarcón de la Lastra C. New mechanisms and therapeutic potential of curcumin for colorectal Cancer[J]. Mol Nutr Food Res, 2008, 52(9):1040-1061.
- [10] Chakravarti N, Kadara H, Yoon DJ, et al. Differential inhibition of protein translation machinery by curcumin in normal, immortalized, and malignant oral epithelial cells[J]. Cancer Prev Res (Phila), 2010, 3(3):331-338.
- [11] Glienke W, Maute L, Wicht J, et al. Curcumin inhibits constitutive STAT3 phosphorylation in human pancreatic Cancer cell lines and downregulation of survivin/BIRC5 gene expression[J]. Cancer Invest, 2010, 28(2):166-171.
- [12] Leow PC, Tian Q, Ong ZY, et al. Antitumor activity of natural compounds, curcumin and PKF118-310, as Wnt/ β -catenin antagonists against human osteosarcoma cells[J]. Invest New Drugs, 2010, 28(6):766-782.
- [13] Dorai T, Cao YC, Dorai B, et al. Therapeutic potential of curcumin in human prostate cancer. III. Curcumin(下转第 642 页)

的表达水平随着缺氧信号的加强而呈现出一致的增高趋势,且二者表达呈正相关。有关研究显示,HIF-1 α 可调控 40 余种基因的表达,诸如 MDR1 便是其调控的靶基因之一^[15],而 MDR1 基因编码产物 P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-GP)与 ABCG2 同属 ABC 转运体家族,这就提示 ABCG2 是 HIF-1 α 的下游目的基因,HIF-1 α 可上调 ABCG2 的表达。为了证明这一假设,本研究采用 HIF-1 α 抑制剂 YC-1 干预 HIF-1 α 的表达,发现随着 YC-1 浓度的增加,HIF-1 α 的表达水平逐渐下降,更重要的是,ABCG2 的表达亦逐渐降低,这表明 ABCG2 是 HIF-1 α 的相关调控蛋白,缺氧对 ABCG2 的调控是通过 HIF-1 α 的机制而实现的。

综上所述,缺氧环境中,SMMC-7721 细胞 ABCG2 和 HIF-1 α 的表达上调,并随时间延长而增加,YC-1 抑制 HIF-1 α 后可有效下调 ABCG2 的表达。本实验表明缺氧时 SMMC-7721 细胞生存及耐药的机制可能是通过缺氧诱导 HIF-1 α 的表达而实现,后者上调 ABCG2 的表达,增强了肿瘤细胞对缺氧环境的适应能力及化疗抵抗能力。抑制 HIF-1 α -ABCG2 这一途径有望成为治疗肝癌以及逆转肝癌患者耐药的靶点。

参考文献:

- [1] Cascorbi I, Haenisch S. Pharmacogenetics of ATP-binding cassette transporters and clinical implications [J]. *Methods Mol Biol*, 2010, 596: 95-121.
- [2] Ding XW, Wu JH, Jiang CP. ABCG2: a potential marker of stem cells and novel target in stem cell and cancer therapy [J]. *Life Sci*, 2010, 86(17/18): 631-637.
- [3] Rankin EB, Giaccia AJ. The role of hypoxia-inducible factors in tumorigenesis[J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(4): 678-685.
- [4] Rademakers SE, Span PN, Kaanders JH, et al. Molecular aspects of tumour hypoxia[J]. *Mol Oncol*, 2008, 2(1): 41-53.
- [5] Doyle LA, Yang W, Abruzzo LV, et al. A multidrug resistance transporter from human MCF-7 breast cancer cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(26): 15665-15670.
- [6] Ni Z, Bikadi Z, Rosenberg MF, et al. Structure and function of the human breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2)

[J]. *Curr Drug Metab*, 2010, 11(7): 603-617.

- [7] Ejendal KF, Hrycyna CA. Multidrug resistance and cancer: the role of the human ABC transporter ABCG2[J]. *Curr Protein Pept Sci*, 2002, 3(5): 503-511.
- [8] Takahata T, Ookawa K, Suto K, et al. Chemosensitivity determinants of irinotecan hydrochloride in hepatocellular carcinoma cell lines [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2008, 102(4): 399-407.
- [9] Sharom FJ. ABC multidrug transporters: structure, function and role in chemoresistance[J]. *Pharmacogenomics*, 2008, 9(1): 105-127.
- [10] 赵大伟, 殷晓煜, 郑进方, 等. ABCG2 蛋白在肝癌中表达的临床意义[J]. *中华消化外科杂志*, 2010, 9(3): 213-215.
- [11] Chiba T, Kita K, Zheng YW, et al. Side population purified from hepatocellular carcinoma cells harbors cancer stem cell-like properties [J]. *Hepatology*, 2006, 44(1): 240-251.
- [12] Zhang N, Li R, Tao KS, et al. Characterization of a stem-like population in hepatocellular carcinoma MHCC97 cells [J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(3): 827-831.
- [13] Krishnamurthy P, Ross DD, Takeo N, et al. The stem cell marker Bcrp/ABCG2 enhances hypoxic cell survival through interactions with heme [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(23): 24218-24225.
- [14] Kizaka-Kondoh S, Tanaka S, Hiroshi H, et al. The HIF-1-active microenvironment: An environmental target for Cancer therapy [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2009, 61(7/8): 623-632.
- [15] Cosse JP, Michiels C. Tumour hypoxia affects the responsiveness of Cancer cells to chemotherapy and promotes Cancer progression [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2008, 8(7): 790-797.

(收稿日期: 2011-09-03 修回日期: 2011-12-04)

(上接第 639 页)

- inhibits proliferation, induces apoptosis, and inhibits angiogenesis of LNCaP prostate cancer cells in vivo [J]. *Prostate*, 2001, 47(4): 293-303.
- [14] Flanagan AM, Letai A. BH3 domains define selective inhibitory interactions with BHRF-1 and KSHV BCL-2 [J]. *Cell Death Differ*, 2008, 15(3): 580-588.
 - [15] Chipuk JE, Moldoveanu T, Llambi F, et al. The BCL-2

family reunion [J]. *Mol Cell*, 2010, 37(3): 299-310.

- [16] Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death [J]. *Science*, 2004, 305(5684): 626-629.
- [17] Willis SN, Adams JM. Life in the balance: how BH3-only proteins induce apoptosis [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2005, 17(6): 617-625.

(收稿日期: 2011-11-22 修回日期: 2012-01-04)