

二氧化硒调控凋亡相关蛋白诱导宫颈癌细胞凋亡的影响*

刘丝荪¹,熊洁琦²,闵庆华¹,郭玲³,修敏²,何凤²,娄远蕾⁴,郭菲^{5△}

(1. 南昌大学第一附属医院妇产科, 江西南昌 330006; 2. 南昌大学研究生院医学部, 江西南昌 330006; 3. 江西省妇幼保健院产科, 江西南昌 330006; 4. 南昌大学第一附属医院泌尿外科研究所, 江西南昌 330006; 5. 南昌大学第一附属医院烧伤研究所江西南昌 330006)

摘要:目的 探讨二氧化硒(SeO_2)对宫颈癌细胞株 HeLa 凋亡的诱导作用及其对凋亡相关蛋白半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (caspase-3)、P53 表达的影响。方法 用光学显微镜观察 HeLa 细胞经过 SeO_2 处理 24 h 后的形态学变化;用四甲基偶氮唑蓝 (MTT) 比色法检测 SeO_2 对 HeLa 细胞增殖及活力的影响;利用流式细胞术 (FCM) 检测 HeLa 细胞凋亡率;用 Western blot 检测 HeLa 细胞内 caspase-3、P53 蛋白表达的变化。结果 光学显微镜下 SeO_2 可对 HeLa 细胞生长形态产生明显影响,大量细胞变圆皱缩,失去正常形态,贴壁细胞减少,增殖减慢;MTT 结果显示 SeO_2 对 HeLa 细胞的抑制作用呈量效依赖关系,其中 7.500、15.000、30.000 $\mu\text{mol/L}$ 组与对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);0.1.875、3.750、7.500、15.000、30.000 $\mu\text{mol/L}$ SeO_2 诱导 HeLa 细胞凋亡率分别为 3.12%、30.56%、33.42%、37.50%、45.43%、69.38%,呈明显上升趋势。Western blot 分析显示 SeO_2 可上调 caspase-3 与 P53 蛋白水平,并于 7.500 $\mu\text{mol/L}$ 处达到峰值。结论 SeO_2 可能通过上调 caspase-3、P53 的表达诱导宫颈癌细胞凋亡。

关键词: 二氧化硒;细胞凋亡;半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3;基因,p53

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.10.023

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)10-1218-03

Selenium dioxide inducing apoptosis of cervical cancer cells by regulating apoptosis-related proteins*

Liu Sisun¹, Xiong Jieqi², Min Qinghua¹, Guo Ling³, Xiu Min², He Feng², Lou Yuanlei⁴, Guo Fei^{5△}

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China; 2. Department of Medicine, Postgraduate School of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China; 3. Department of Obstetrics, Jiangxi Provincial Maternal and Child Health Care Hospital, Nanchang, Jiangxi 330006, China; 4. Research Institute of Urological Surgery, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China; 5. Burns Institute, First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330006, China)

Abstract: Objective To investigate the inducing effects of selenium dioxide (SeO_2) on the apoptosis in human cervical carcinoma cell line HeLa and its influence on the expression of apoptosis-related proteins caspase-3 and P53. **Methods** HeLa cells were treated with different concentrations of SeO_2 for 24 h in vitro; the morphological changes of HeLa cells were observed by the optical microscope; the influence of SeO_2 on the cell proliferation and vitality was examined by the MTT assay; the flow cytometry was employed to detect the cell apoptosis rate; the expressions of caspase-3 and P53 proteins in HeLa cells were determined by the Western blot analysis. **Results** Under the optical microscopy, SeO_2 generated the obvious influence on the cell growth morphology, a large number of cells became rounded and shrunken, and lost the normal form, while the adherence cell number was evidently decreased and the proliferation was slowed down; the MTT results showed that SeO_2 markedly inhibited the cell proliferation and viability in a dose-dependent manner, in which, the cell apoptosis rates induced by the 0.1.875, 3.750, 7.500, 15.000 and 30.000 $\mu\text{mol/L}$ concentrations of SeO_2 were 3.12%, 30.56%, 33.42%, 37.50%, 45.43% and 69.38% respectively, which revealing the obviously increasing trend; the Western blot assay revealed that SeO_2 could up-regulate the caspase-3 and P53 levels, and reached the peak value at the concentration of 7.500 $\mu\text{mol/L}$. **Conclusion** SeO_2 could induce the cervical cancer cell apoptosis possibly by up-regulating the expressions of caspase-3 and p53 in HeLa cells.

Key words: selenium dioxide; apoptosis; caspase-3; gene, p53

宫颈癌严重威胁妇女的生命健康。近年来对宫颈癌的早期发现及治疗使得其死亡率明显下降^[1],化疗在对病情的缓解中发挥了重要作用,化疗药物的开发也逐渐由人工合成的化学药物拓展为天然存在的物质。硒元素是人体必需的微量元素之一,自发现并命名以来曾一直被认为是一种有毒、致癌物质,直至 20 世纪中期对人体不可或缺的生理学作用才逐步被发现^[2]。硒化合物包括无机硒和有机硒,不同形式的硒生理功能、毒性各有不同,二氧化硒(SeO_2)溶于水后形成的亚硒酸是无机硒主要的存在形式。有研究表明, SeO_2 对多种肿瘤细胞

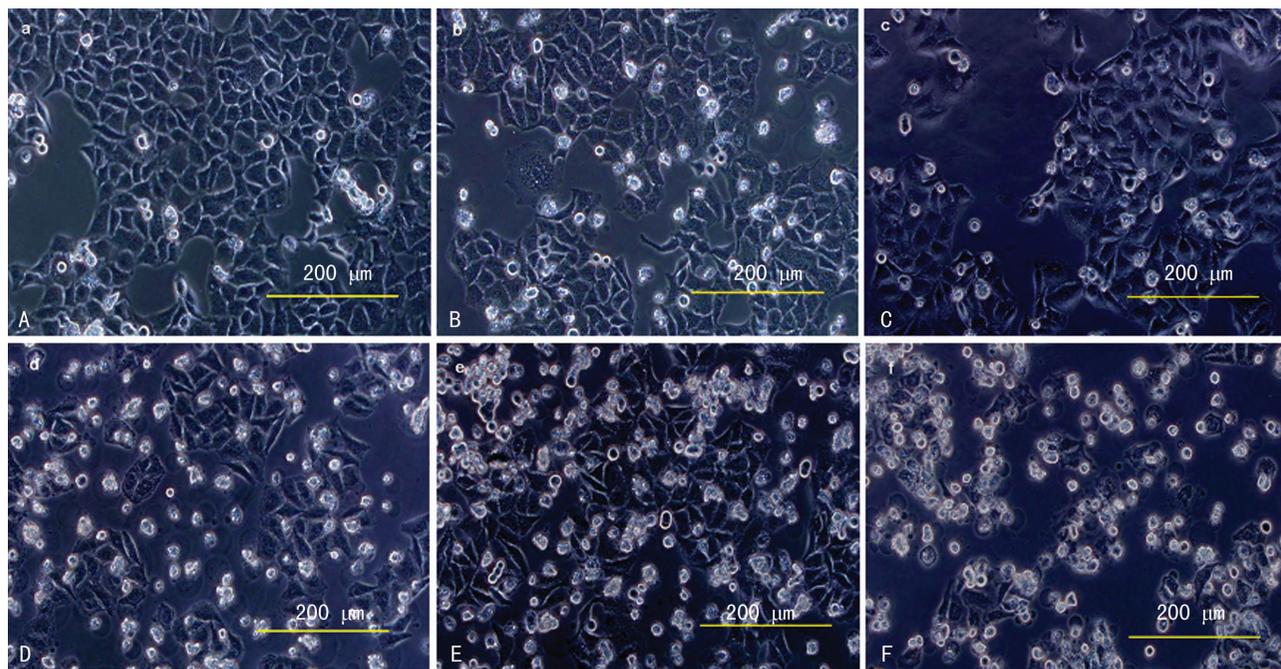
株有抑制作用,然而其对宫颈癌细胞株的效用和机制鲜见报道。抑癌基因的调控与肿瘤的发生、发展密切相关,本文将从诱导细胞凋亡、调控抑癌基因表达等方面就 SeO_2 对宫颈癌的作用及其机制进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与仪器 SeO_2 购自上海金山兴塔化学试剂厂(分析纯);RPMI 1640 培养基购自 HyClone 公司;胎牛血清购自四季青公司;0.25% trypsin-EDTA 购自 GIBCO 公司;倒置显

* 基金项目:江西省自然科学基金资助项目(2010GZY0348)。 作者简介:刘丝荪(1959—),教授,主任医师,硕士研究生,主要从事妇科肿瘤研究。 △ 通讯作者, Tel:13803516574; E-mail:guofei2005@126.com。



A: 对照组; B: 1.875 $\mu\text{mol/L}$ 组; C: 3.750 $\mu\text{mol/L}$ 组; D: 7.500 $\mu\text{mol/L}$ 组; E: 15.000 $\mu\text{mol/L}$ 组; F: 30.000 $\mu\text{mol/L}$ 组。

图 1 不同浓度 SeO_2 刺激 HeLa 细胞 24 h 后形态变化 ($\times 200$)

显微镜购自 OLYMPUS JAPAN 公司; 四甲基噻唑蓝 (MTT)、二甲亚砜 (DMSO) 购自 Solarbio 公司; 兔抗人 cleaved 半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (caspase-3) 多克隆抗体、兔抗人 p53 多克隆抗体、鼠抗人 β -actin 单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗鼠 IgG 抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 抗体均购于北京中杉金桥生物技术有限公司; 凋亡试剂盒为凯基 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒 (Cat: KGA107), 流式细胞仪为 Guava easyCyte HT, Millipore 产品。

1.1.2 细胞株 人宫颈癌 HeLa 细胞株购自中科院上海生命科学院细胞库。使用 RPMI 1640 培养基 (含 10% 胎牛血清, 100 IU/mL 青霉素, 100 IU/mL 链霉素), 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 培养箱中培养至对数期后使用, 实验组加入 SeO_2 使其终浓度分别为 1.875、3.750、7.500、15.000、30.000、60.000、90.000 $\mu\text{mol/L}$, 对照组为不含 SeO_2 的无血清培养基, 根据检测指标需要取样待测。

1.2 方法

1.2.1 细胞形态学观察 将实验组及对照组细胞置于倒置显微镜下观察并对比细胞形态变化。

1.2.2 MTT 法检测细胞活力 将生长活力良好的细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化后以 1×10^5 个/L 密度接种于 96 孔板内, 待细胞贴壁后给予 SeO_2 刺激, 每个浓度设 3 个复孔, 同时设对照孔 (仅加培养基) 及调零孔。24 h 后弃培养基, 各孔加入 MTT 20 μL (5 g/L), 继续培养 4 h 后小心弃去 MTT, 每孔加入 DMSO 200 μL , 摇床震荡 10 min 后在酶标仪 490 nm 处测各孔吸光值 (OD), 细胞抑制率 = (对照组 OD 值 - 实验组 OD 值) / 对照组 OD 值。

1.2.3 流式细胞术 (FCM) 检测细胞凋亡 细胞传代生长约 70% 使用, 对照组与实验组 HeLa 细胞按试剂盒步骤用 0.25% 胰蛋白酶消化收集细胞, 磷酸缓冲液 (PBS) 洗涤 2 次, 收集细胞, 用 binding buffer 重悬细胞后分别加入两种染料孵育 5~15 min, 使用流式细胞仪进行检测, guavaSoft software, version 2.2 分析软件进行数据处理, 通过曲线拟合求得半抑制浓

度 (IC_{50})。

1.2.4 Western blot 检测蛋白 caspase-3、P53 表达 对照组与实验组细胞分别用细胞裂解液于冰上裂解 10 min 后收集, 超声匀浆 10 s $\times 3$ 次, 间隔期置于冰上冷却降温。等量样品以 12% 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 分离蛋白质。以 β -actin 为内参, 电泳后将蛋白转印至硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂奶粉封闭后一抗过夜, 再以辣根过氧化物酶标记的二抗封闭液孵育 1 h, 以 ECL 化学发光试剂 (增强化学发光) 显色检测。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。满足方差齐性条件时, 多组比较采用 ANOVA 法分析, 多重两两比较采用 LSD 法分析; 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞形态学变化 倒置显微镜下观察见对照组细胞贴壁状态良好, 轮廓清晰, 折光性好, 融合成片, 细胞生长旺盛。 SeO_2 作用后, 大量细胞变圆皱缩, 折光性与贴壁能力减弱, 细胞间距疏松, 增殖明显减慢, 高倍镜下可见细胞内颗粒增多。随 SeO_2 浓度的增高可见明显漂浮泡沫状细胞, 见图 1。

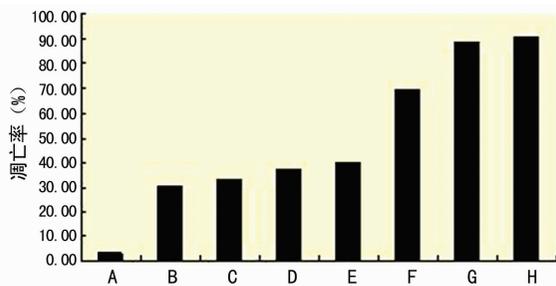
2.2 SeO_2 对 HeLa 细胞的生长抑制作用 低浓度组 SeO_2 (1.875、3.750 $\mu\text{mol/L}$) 刺激 HeLa 细胞 24 h 后细胞活力稍有降低, 抑制率尚无明显变化。随着 SeO_2 浓度的升高细胞生长受到显著抑制, 至 30.000 $\mu\text{mol/L}$ 处抑制作用最强, 其中 7.500、15.000、30.000 $\mu\text{mol/L}$ 组 SeO_2 刺激 HeLa 细胞 24 h 与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 随着 SeO_2 浓度的增加对 HeLa 细胞的抑制作用呈现出浓度依赖关系, 见表 1。

2.3 FCM 测定细胞凋亡 利用流式细胞仪测定不同浓度 SeO_2 刺激 HeLa 细胞 24 h 后的凋亡率, 与对照孔凋亡率 (3.12%) 相比较, 实验组低浓度即可明显提高细胞凋亡率, 且随着 SeO_2 浓度升高凋亡率逐渐上升, 在 60.000 $\mu\text{mol/L}$ 左右抑制作用达到平台期 (图 2)。软件计算求得 IC_{50} 值为 24.000 $\mu\text{mol/L}$ 。

表 1 不同浓度 SeO_2 对 HeLa 细胞的生长抑制率比较

组别	OD 值($\bar{x} \pm s, n=3$)	抑制率(%)
对照组	0.448 \pm 0.020	0
1.875 $\mu\text{mol/L}$ 组	0.443 \pm 0.026	1.22
3.750 $\mu\text{mol/L}$ 组	0.358 \pm 0.034	20.25
7.500 $\mu\text{mol/L}$ 组	0.251 \pm 0.011 ^a	35.03
15.000 $\mu\text{mol/L}$ 组	0.253 \pm 0.005 ^a	43.56
30.000 $\mu\text{mol/L}$ 组	0.176 \pm 0.020 ^a	60.74

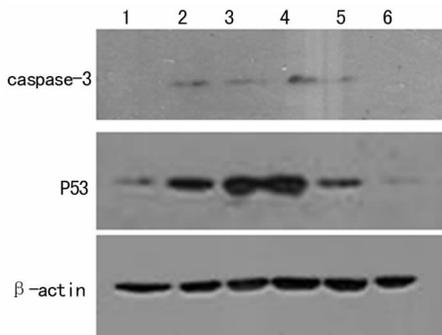
^a: $P < 0.05$, 与对照组比较。



A: 0 $\mu\text{mol/L}$ 组; B: 1.375 $\mu\text{mol/L}$ 组; C: 3.750 $\mu\text{mol/L}$ 组; D: 7.500 $\mu\text{mol/L}$ 组; E: 15.000 $\mu\text{mol/L}$ 组; F: 30.000 $\mu\text{mol/L}$ 组; G: 60.000 $\mu\text{mol/L}$ 组; H: 90.000 $\mu\text{mol/L}$ 组。

图 2 不同浓度 SeO_2 作用 24 h 后对 HeLa 细胞诱导凋亡率比较

2.4 Western blot 检测蛋白表达量变化 在 26×10^3 和 53×10^3 处可见相应相对分子质量大小的 caspase-3 和 P53 蛋白条带,二者在对照组表达量低,其中 caspase-3 未检测到明显条带;实验组随着 SeO_2 浓度的升高,二者的表达趋势大致相同,均由低浓度开始逐渐增强,即产生的 P53 和 cleaved caspase-3 逐步增多,至 7.500 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处表达量达高峰,而后随着浓度继续升高,二者的表达量有所降低,见图 3。



1: 对照组; 2: 1.875 $\mu\text{mol/L}$ 组; 3: 3.750 $\mu\text{mol/L}$ 组; 4: 7.500 $\mu\text{mol/L}$ 组; 5: 15.000 $\mu\text{mol/L}$ 组; 6: 30.000 $\mu\text{mol/L}$ 组。

图 3 不同浓度 SeO_2 刺激 HeLa 细胞 24 h caspase-3、P53 蛋白表达比较

3 讨论

宫颈癌是女性第 2 常见的恶性肿瘤,且近年来呈现出明显的发病年轻化趋势,尽管防癌筛查的广泛普及使得不少患者得到早期诊断,但由于缺乏有效的治疗手段,其治疗效果仍然不容乐观。硒元素因可通过谷胱甘肽过氧化物酶(GSHPx)防止氢过氧化物在细胞中堆积和保护细胞膜发挥保健作用^[3],而使得富硒食品^[4]的开发成为一大热点。同时,又有许多研究发现,硒元素可诱导包括肺癌^[5]、白血病^[6]等多种不同肿瘤细胞

系发生凋亡,为硒作为抗癌药物的研究提供了广阔前景。本课题组就 SeO_2 对宫颈癌细胞株的效用进行观察,同时进一步探索了产生这一效用相关基因的调节机制。

caspase 家族在介导细胞凋亡的过程中起着非常重要的作用,其中 caspase-3 为关键的执行分子,它通过自身裂解在凋亡信号转导的许多途径中发挥功能,活化的 caspase-3 催化裂解相应的细胞质细胞核底物,最终导致细胞凋亡。在实验组 caspase-3 的表达量增高,在 7.500 $\mu\text{mol/L}$ 时达到峰值,提示 caspase-3 参与了 SeO_2 对 HeLa 细胞凋亡的调节作用。而凋亡这一复杂的生物学程序是通过一系列的信号转导通路来实现的,P53 作为管理细胞周期和诱导凋亡的重要基因,在 DNA 损伤、癌变、缺氧、细胞成分丢失等应激情况下对保持基因组的完整性发挥了关键的调控作用^[7]。一方面它通过调节下游效应基因 CIP/WIF1、GADD45 和 MDM2 的转录从而实现细胞周期阻滞的功能,同时可以通过内源性和外源性通路活化诱导细胞凋亡。本研究发现,在给予 HeLa 细胞不同浓度 SeO_2 刺激 24 h 后,伴随细胞活力显著性降低、凋亡率呈现浓度依赖性增加的同时,P53 与 caspase-3 表达量明显增高,二者之间存在正相关性,诱导表达趋势相同,提示 SeO_2 对 HeLa 细胞诱导凋亡的作用可能是通过上调抑癌基因 P53 的表达,进而活化裂解 caspase-3 而协同发挥凋亡诱导作用。Luo 等^[8] 研究发现硒可使宫颈癌 HeLa 细胞周期阻滞于 S 期,从而使细胞有丝分裂和扩增停滞,这可能也与 p53 基因上调而发挥的细胞周期阻滞功能有关。而在宫颈癌 HeLa 细胞中外源性导入野生型 p53 基因则可显著降低细胞的恶性生长^[9]。同时还有研究报道,野生型 p53 基因的导入可提高宫颈癌肿瘤抗原的免疫原性^[10],因此,P53 蛋白可以作为肿瘤抗原成为肿瘤免疫治疗的靶标,明确 P53 蛋白在宫颈癌治疗中的调节机制也为进一步探讨宫颈癌的疫苗研发提供了实验基础和理论依据。

硒对宫颈癌的诱导凋亡作用除通过调节上述凋亡相关蛋白表达外,还有不少关于影响细胞内氧化还原状态的报道。Fu 等^[11] 通过蛋白组学研究发现,硒化合物对 HeLa 细胞的抑制作用机制涉及了对 ROS 介导的线粒体途径蛋白表达的调控,Kil 等^[12] 则研究发现硒可通过抑制异柠檬酸脱氢酶影响细胞内氧化还原状态诱导肿瘤 HeLa 细胞凋亡。这为硒对宫颈癌的作用机制提供了新的思路。至于本实验中 SeO_2 高浓度组(15.000、30.000 $\mu\text{mol/L}$)凋亡率明显升高,而作为凋亡执行者的 caspase-3 及促凋亡蛋白 P53 表达量较前低浓度反而有所下降,可能是细胞整体功能衰退而导致。Sanmartin 等^[13] 在综述硒化合物对肿瘤的抑制作用机制中亦提到自噬等其他细胞死亡方式,可能也与这一现象有关,还有待进一步探索。如今越来越多的动物及人体实验证明提高硒摄入量可降低肿瘤风险、增强胸腺及甲状腺功能、减轻自身免疫性疾病病情、提高繁殖能力^[14],其对部分疾病的治疗作用现已进入临床试验阶段^[15]。通过不同机制诱导宫颈癌细胞凋亡为硒作为宫颈癌治疗药物的开发提供了重要依据,也对宫颈癌的治疗提供了新思路。

综上所述,caspase-3 和 p53 均为与凋亡关系密切的基因, SeO_2 对宫颈癌 HeLa 细胞有促凋亡作用,其作用机制与凋亡相关蛋白 P53、caspase-3 上调有关,但二者引起细胞凋亡的确切关系尚待进一步研究。

参考文献:

[1] 林仲秋. 宫颈癌治疗进展[J]. 广东医学, (下转第 1223 页)

参考文献:

- [1] De Meyer S, Gong ZJ, Suwandhi W, et al. Organ and species specificity of hepatitis B virus (HBV) infection: a review of literature with a special reference to preferential attachment of HBV to human hepatocytes [J]. *J Viral Hepat*, 1997, 4(3):145-153.
- [2] Paran N, Geiger B, Shaul Y. HBV infection of cell culture: evidence for multivalent and cooperative attachment [J]. *EMBO J*, 2001, 20(16):4443-4453.
- [3] Lu X, Block T. Study of the early steps of the Hepatitis B Virus life cycle [J]. *Int J Med Sci*, 2004, 1(1):21-33.
- [4] Yokosuka Q, Arai M. Molecular biology of hepatitis B virus; effect of nucleotide substitutions on the clinical features of chronic hepatitis B [J]. *Med Mol Morphol*, 2006, 39(3):113-120.
- [5] Bruss V. Hepatitis B virus morphogenesis [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(1):65-73.
- [6] Schaefer S. Hepatitis B virus taxonomy and hepatitis B virus genotypes [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(1):14-21.
- [7] Abou-Jaoude G, Molina S, Maurel P, et al. Myristoylation signal transfer from the large to the middle or the small HBV envelope protein leads to a loss of HDV particles infectivity [J]. *Virology*, 2007, 365(1):204-209.
- [8] 杨丽, 王良宏, 潘卫, 等. 免疫磁珠法分离 preS1 结合蛋白 [J]. *贵阳医学院学报*, 2013, 38(1):24-26.
- [9] Burrell HE, Wolodarski B, Foster BJ, et al. Human keratinocytes release ATP and utilize three mechanisms for nucleotide interconversion at the cell surface [J]. *J Bio Chem*, 2005, 280(33):29667-29676.
- [10] 杜艳, 高峰. 细胞表面 ATP 合酶的研究进展 [J]. *上海交通大学学报:医学版*, 2009, 29(6):741-743.
- [11] Martin JE, Swash M, Mather K, et al. Expression of the human groEL stress-protein homologue in the brain and spinalcord [J]. *J Neurol Sci*, 1993, 118(2):202-206.
- [12] 王芳, 史丽云. 热休克蛋白 60 介导的 TLRs 信号转导模式和“危险信号”学说 [J]. *医学综述*, 2012, 18(8):1134-1137.
- [13] Jindadamrongwech S, Thepparit C, Smith DR. Identification of GRP78(Bip) as a liver cell expressed receptor element for dengue virus serotype 2 [J]. *Arch Virol*, 2004, 149(5):915-927.
- [14] 杨凤, 丁岗强, 唐霓, 等. GRP78 在 HePG2 细胞的亚细胞定位及真核表达 [J]. *解放军医学杂志*, 2009, 34(11):1328-1330.
- [15] 葛以跃, 崔仑标, 史智扬, 等. 应用蛋白组学方法筛选和鉴定乙型肝炎病毒 PreS1 结合蛋白 [J]. *中国生物化学与分子生物学学报*, 2009, 25(5):459-464.
- (收稿日期:2013-09-08 修回日期:2013-12-16)
- (上接第 1220 页)
- 2004, 25(2):113-115.
- [2] Moghadaszadeh B, Beggs AH. Selenoproteins and Their Impact on Human Health Through Diverse Physiological Pathways [J]. *Physiology(Bethesda)*, 2006(21):307-315.
- [3] Zhang W, Joseph E, Hitchcock C, et al. Selenium glycinate supplementation increases blood glutathione peroxidase activities and decreases prostate-specific antigen readings in middle-aged US men [J]. *Nutr Res*, 2011, 31(2):165-168.
- [4] 黄峰, 黄峙, 郑文杰, 等. 富硒螺旋藻对肝叶切除大鼠肝细胞再生的促进作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(5):930-933.
- [5] Chen WX, Cao XZ, Zhu RZ. Effect of selenium dioxide on proliferation, apoptosis, and telomerase activity of human lung cancer cell line in vitro [J]. *Ai Zheng*, 2003, 22(9):927.
- [6] Wang XH, Wei YM, Bai H, et al. Apoptosis and regulation of expressions of apoptosis-related gene Bcl-2 and p53 induced by selenium dioxide in three leukemia cell lines [J]. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 2004, 24(10):1160-1163.
- [7] Haupt S, Berger M, Goldberg Z, et al. Apoptosis-the p53 network [J]. *Journal of cell science*, 2003, 116(20):4077-4085.
- [8] Luo H, Wang F, Bai Y, et al. Selenium nanoparticles inhibit the growth of HeLa and MDA-MB-231 cells through induction of S phase arrest [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2012(94):304-308.
- [9] 林亚, 宋巧丽, 郑飞云. 野生型 p53 抑制宫颈癌 HeLa 细胞的研究 [J]. *现代妇产科进展*, 2008, 17(5):354-357.
- [10] 黄永红, 徐方云, 王红梅, 等. 野生型 p53 基因转染 U14 细胞增强肿瘤抗原的免疫原性 [J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 26(7):1413-1415.
- [11] Fu L, Liu Q, Shen L, et al. Proteomic study on sodium selenite-induced apoptosis of human cervical cancer HeLa cells [J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2011, 25(3):130-137.
- [12] Kil IS, Chung KH, Park JW. Silencing of mitochondrial NADP⁺-dependent isocitrate dehydrogenase gene enhances selenite-induced apoptosis [J]. *Free Radic Res*, 2010, 44(3):332-339.
- [13] Sanmartín C, Plano D, Sharma AK, et al. Selenium compounds, apoptosis and other types of cell death: an overview for cancer therapy [J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(8):9649-9672.
- [14] Weeks BS, Hanna MS, Cooperstein D. Dietary selenium and selenoprotein function [J]. *Med Sci Monit*, 2012, 18(8):RA127-132.
- [15] Algotar AM, Stratton MS, Ahmann FR, et al. Phase 3 clinical trial investigating the effect of selenium supplementation in men at high-risk for prostate cancer [J]. *The Prostate*, 2013, 73(3):328-335.
- (收稿日期:2013-09-22 修回日期:2013-11-26)