

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.28.006

去氢木香内酯对人肝星状细胞增殖及凋亡的影响研究

程 剑, 林 彬[△], 沈晓洁, 刘 燕

(无锡卫生高等职业技术学校, 江苏无锡 214028)

[摘要] **目的** 探讨去氢木香内酯(Dehy)对人肝星状 LX-2 细胞增殖及凋亡的影响, 分析其可能的作用机制。**方法** 人肝星状 LX-2 细胞经不同浓度 Dehy 处理后, 采用四甲基偶氮唑盐(MTT)法、流式细胞术检测 LX-2 细胞增殖和周期分布, Hoechst 33342 染色法及 AV-PI 双染法检测 LX-2 细胞凋亡情况, 蛋白质印迹法(Western blot)检测凋亡相关蛋白的表达。**结果** 给予不同浓度的 Dehy 作用 48 h 后, 能够明显抑制 LX-2 细胞的增殖, 阻滞细胞周期于 S、G₂/M 期, 同时诱导 LX-2 细胞的凋亡, 呈浓度依赖性; Western blot 结果显示, Dehy 可促进 P27、Bax 的表达上调, Bcl-2 的表达下调。**结论** Dehy 通过调节 Bax、Bcl-2 和 P27 的表达诱导人肝星状 LX-2 细胞的凋亡和周期的阻滞。

[关键词] 去氢木香内酯; 肝星状细胞 LX-2; 细胞周期; 细胞凋亡

[中图分类号] R364.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)28-3906-03

Effect of dehydrocostuslactone on proliferation and apoptosis in hepatic stellate cells

Cheng Jian, Lin Bin[△], Shen Xiaojie, Liu Yan

(Wuxi Senior Health Vocational Technology School, Wuxi, Jiangsu 214028, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of dehydrocostuslactone(Dehy) on human hepatic stellate LX-2 cells proliferation, apoptosis and the possible related mechanisms. **Methods** After treating the LX-2 cells by different concentrations of Dehy, the MTT assay and flow cytometry were used to assess the influence of Dehy on cell proliferation and cycle distribution of LX-2 cells. The Hoechst 33342 staining and AV-PI dual staining were used to detect the effect of Dehy on cell apoptosis in LX-2 cells. The apoptosis related proteins expression was detected by Western blot. **Results** After different concentrations of Dehy acting for 48 h could significantly inhibit the proliferation of LX-2 cells, blocked the cellular cycle at stage S and G₂/M, meanwhile induced LX-2 cells apoptosis in the concentration dependent manner; Western blot results showed that Dehy could promote the up-regulation of P27 and bax expression and down-regulation of Bcl-2. **Conclusion** Dehy induces human liver LX-2 cells apoptosis and cell cycle arrest by adjusting the expression of Bax, Bcl-2 and P27.

[Key words] dehydrocostuslactone; hepatic stellate cells; cell cycle; apoptosis

肝纤维化是一个世界范围内的卫生难题^[1], 它是由各种致病因子所致慢性肝损伤后, 肝内实质细胞、间质细胞异常增生导致细胞外基质(ECM)过度沉积的病理过程, 随着病情的发展, 将导致肝小叶及纤维结节的形成, 最终发展成肝硬化^[2-3]。所以, 及时对肝纤维化进行有效地治疗显得尤为重要。目前对肝纤维化的治疗主要通过抗炎、抗病毒、减少 ECM 沉积等方式^[4], 然而这些治疗效果并不理想, 寻找有效的抗纤维化的药物及治疗方法仍然是首要任务。

去氢木香内酯(dehydrocostuslactone, Dehy)是一种倍半萜内酯类化合物, 主要从木香、木兰、月桂树等植物中提取出来的。我国传统中医药常使用含有木香的复方治疗肿瘤, 而其中抗癌的主要活性成分就是 Dehy^[5-6]。国内外的众多文献报道了 Dehy 的抗癌作用^[7-8], 研究还发现 Dehy 具有抗炎、抗病毒、抗菌、抗氧化等多方面的药理活性^[9-12]。Chen 等^[10]研究发现, Dehy 在低剂量条件下对肝癌细胞 Hep-3B、HepA2 的乙型肝炎表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)的基因表达均具有明显的抑制作用, 主要表现在 mRNA 表达量的降低, 这说明 Dehy 具有很好的抗乙型肝炎病毒活性。而肝纤维化的一个主要的病因就是乙型肝炎病毒的感染, 所以 Dehy 具备很好的抗肝纤维化的应用前景。目前, Dehy 对肝纤维化的影响还未见报道, 本文通过研究体外条件下 Dehy 对肝星状 LX-2 细胞的增殖、凋亡及相关蛋白表达的影响, 进而探究 Dehy 在肝纤维化发展过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人肝星状 LX-2 细胞由上海生命科学院细胞库提供。LX-2 细胞于 37 °C 水浴锅中快速复苏, 接种于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基(含 100 U/mL 青霉素和链霉素)中, 置于 37 °C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养。待细胞长满至 80% 左右即可用 0.25% 胰酶消化, 根据需要的密度进行接种。

1.1.2 药物 Dehy 购于上海源叶生物科技有限公司, 实验前配制 10 mg/mL 的 Dehy 备用原液, 用二甲基亚砜(DMSO)溶解, 置于 4 °C 冰箱内储存, 使用时再用 DMEM 培养基稀释成需要的浓度。

1.1.3 主要试剂 DMEM 干粉和胎牛血清购自美国 Gibco 公司, DMSO 和胰蛋白酶购自上海博光生物技术有限公司, 四甲基偶氮唑盐(MTT)粉购自美国 Sigma 公司, 细胞周期检测试剂盒购自美国 BD 公司, Hoechst 33342 染色剂和细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司和上海翊圣生物技术有限公司, P27、Bax、Bcl-2 抗体购自美国 CST 公司, 抗 GAPDH、兔二抗购自康成生物公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞增殖实验 待 LX-2 细胞生长到 80% 融合度左右, 用 0.25% 胰酶消化, 800 r/min 离心 3 min, 用 10% 胎牛血清重悬, 于计数板上计数, 根据细胞的密度用 10% 胎牛血清稀释至 5 000 个/100 μL, 将细胞混悬液加入 96 孔板中, 每孔 100

μL ,置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ 恒温培养箱过夜培养。细胞贴壁后,每孔给予 $0.2, 4, 8, 12, 16, 20\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Dehy,每个浓度设置 5 个复孔。处理 24 h 或 48 h 后,加入 $20\ \mu\text{L}$ 的 $0.5\ \text{mg}/\text{mL}$ MTT,避光条件孵育 4 h,吸弃培养基,再加入 $150\ \mu\text{L}$ DMSO 溶解结晶,于摇床上摇 15 min 左右,在酶联免疫检测仪上检测光密度值(OD 值),检测波长为 $490\ \text{nm}$ 。根据公式计算 Dehy 对 LX-2 细胞的增殖抑制能力,细胞抑制率 = $(1 - \text{空白对照组 OD 值} / \text{实验对照组 OD 值}) \times 100\%$ 。

1.2.2 细胞周期实验 实验分为空白对照组,Dehy 低、中、高 3 个浓度实验组;将处于对数生长期的 LX-2 细胞消化,离心,用 10% 胎牛血清重悬,以 $45\ \text{万}/\text{皿}$ 的密度接种细胞于 $6\ \text{cm}$ 培养皿中,细胞贴壁后,各组按照 Dehy $0, 2.5, 5.0, 10.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 处理;48 h 后,收集细胞,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次,再用 75% 的冰乙醇($-20\text{ }^\circ\text{C}$ 预冷)固定,置于 $4\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中过夜;用预冷 PBS 洗 3 次,离心,去除乙醇,加入 $200\ \mu\text{L}$ 的 PI 染液重悬细胞,避光条件下反应 30 min,混匀,上机检测。

1.2.3 Hoechst 33342 染色法观察细胞核的形态变化 分组同 1.2.2;先在 6 孔板底部固定盖玻片,再将处于对数生长期的 LX-2 细胞消化,离心,用 10% 胎牛血清重悬,以 $15\ \text{万}/\text{孔}$ 的密度接种细胞,置于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ 恒温培养箱过夜培养,细胞贴壁后给予 Dehy $0, 2.5, 5.0, 10.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 处理;48 h 后,加入 4% 甲醛固定 15 min, PBS 洗净,再加入 Hoechst 33342 染料($1:1000$)避光染色 20 min, PBS 洗净,于荧光显微镜下观察细胞核变化,并拍照。

1.2.4 Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒检测细胞凋亡 分组同 1.2.2;将处于对数生长期的 LX-2 细胞用不含 EDTA 的胰酶消化,离心,用 10% 胎牛血清重悬,以 $45\ \text{万}/\text{皿}$ 的密度接种细胞于 $6\ \text{cm}$ 培养皿中,培养过夜后,给予 Dehy $0, 2.5, 5.0, 10.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$ 处理;48 h 后,收集上清液,用不含 EDTA 的胰酶消化细胞, $1500\ \text{r}/\text{min}$ 离心 3 min,用预冷的 PBS 洗 3 次,加入 $100\ \mu\text{L}$ 的 Buffer 重悬细胞,于避光条件下再分别加入 $5\ \mu\text{L}$ Annexin V-FITC 和 $5\ \mu\text{L}$ PI Staining Solution,混匀, $4\text{ }^\circ\text{C}$ 条件下反应 10 min;染色结束后在 1 h 内完成上机检测。

1.2.5 Western blot 检测凋亡相关蛋白的表达 实验分组及药物处理同上,处理 48 h 后,用 PBS 洗 3 次,吸净剩余的 PBS,根据细胞的密度加入一定量预先配好的蛋白裂解液(蛋白酶抑制剂混合物:磷酸酶抑制剂:PMSF:RIPA 为 $1:1:1:100$)于冰上裂解 30 min(每隔 5 分钟摇晃 1 次,使得细胞充分裂解),离心收集上清液,加入 $1/4$ 体积的上样缓冲液,置于沸水中 10 min,使其变性,最后放置于 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存备用。根据所测蛋白的分子量配制 SDS-PAGE 分离胶($8\%、10\%$),浓缩胶均为 5% ,每组上样总蛋白均为 $30\ \mu\text{g}$, $60\ \text{V}$ 电泳约 30 min 后,换成 $120\ \text{V}$ 电泳 90 min;根据蛋白 Mark,裁剪所需的胶带,将蛋白按 $0.25\ \text{A}$ 、 $120\ \text{min}$ 条件转至 PVDF 膜上,再用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h,一抗孵育 P27($1:800$)、Bax($1:1000$)、Bel-2($1:1000$)、GAPDH($1:5000$)过夜, TBST 洗涤 3 次,孵育兔二抗(GAPDH 除外), TBST 洗 3 次后用 ECL 发光试剂盒发光;以 GAPDH 作为内参,通过灰度分析软件进行分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Dehy 对 LX-2 细胞增殖的抑制作用 MTT 结果显示,细胞的活性受到明显的抑制,且随着浓度的增加,抑制作用逐渐

增强。Dehy 作用 48 h 的抑制率明显高于 24 h,所以后期实验均采用 48 h 检测时间。见图 1。

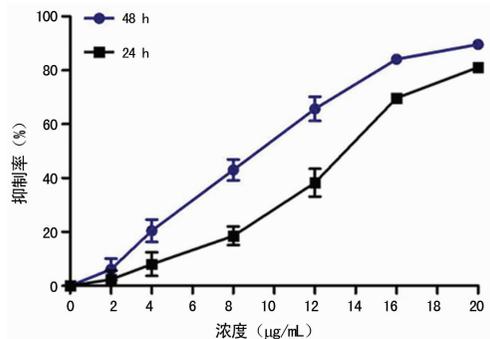


图 1 Dehy 对 LX-2 细胞增殖的抑制作用

2.2 Dehy 对 LX-2 细胞周期分布的影响 经过 Dehy 处理后, LX-2 细胞周期分布发生明显的改变,随着 Dehy 浓度的升高, S 和 G_2/M 期细胞增加, G_0/G_1 期减少。见表 1、图 2。

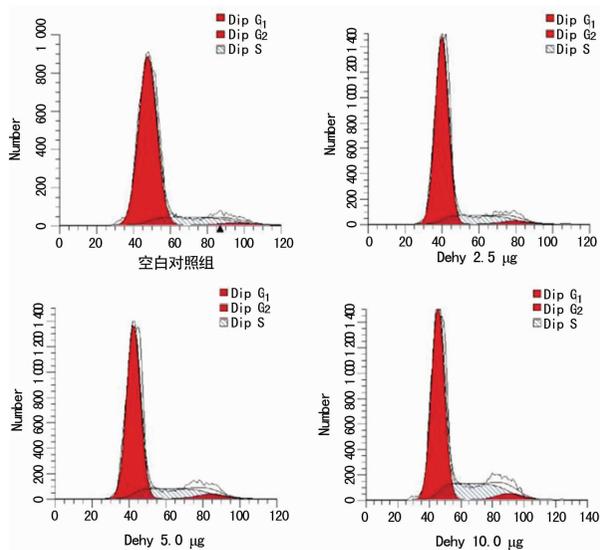
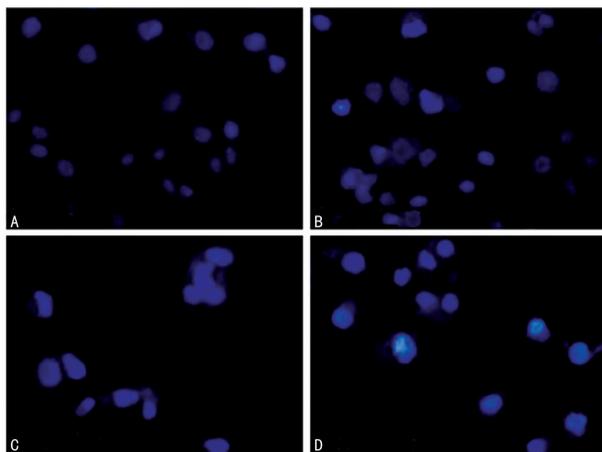


图 2 Dehy 对 LX-2 细胞周期分布的影响



A: 空白对照组; B: Dehy $2.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$; C: Dehy $5.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$; D: Dehy $10.0\ \mu\text{g}/\text{mL}$

图 3 LX-2 细胞的 Hoechst 33342 染色

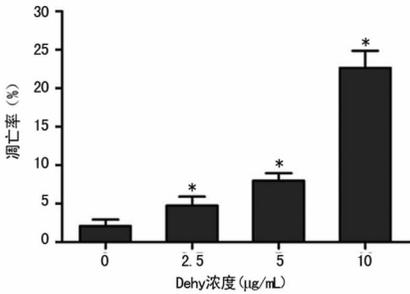
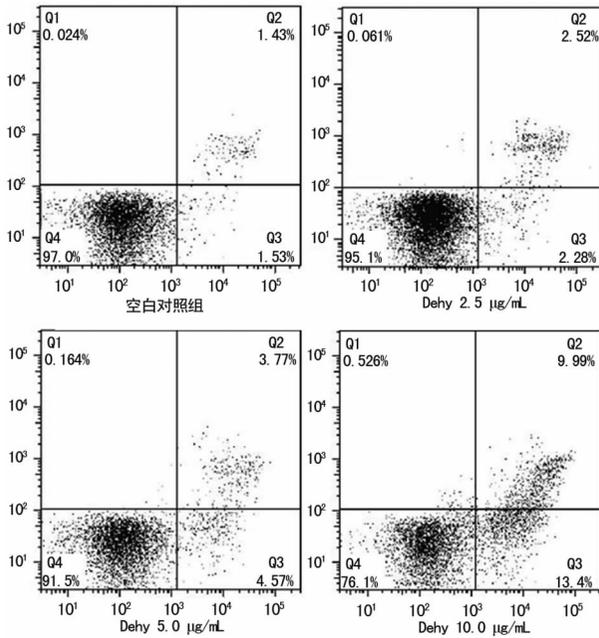
2.3 Dehy 对 LX-2 细胞凋亡的影响 给予不同剂量的 Dehy 处理 LX-2 细胞 48 h 后,通过 Hoechst 33342 染色发现,空白对照组细胞核染色均匀,荧光较弱且呈现弥散状态,没有表现出明显的凋亡现象;实验组中,随着给药剂量的增加,荧光强度越

来越强,且可观察到细胞核呈现固缩状态,表现出明显的凋亡现象,见图 3。Annexin V-FITC 细胞凋亡检测显示,随着浓度的增加,凋亡率逐渐上升,见图 4。

表 1 Dehy 对 LX-2 细胞周期分布的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

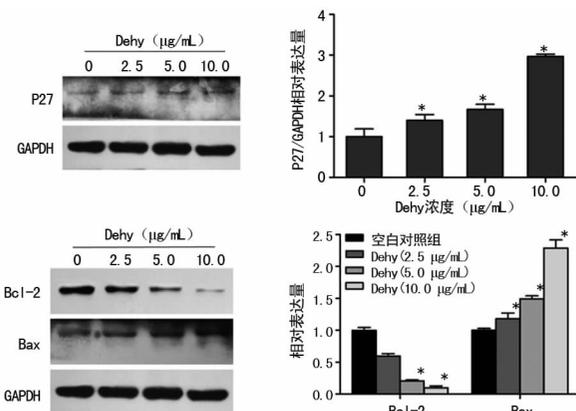
组别	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
空白对照组	82.89±2.18	14.67±1.37	2.44±0.89
Dehy(μg/mL)			
2.5	80.75±2.47	16.06±1.07	3.19±1.40
5.0	75.91±1.26*	19.69±0.80*	4.44±0.52*
10.0	70.73±1.79*	24.57±1.21*	4.71±0.71*

*: P<0.05, 与空白对照组比较



*: P<0.05, 与空白对照组比较

图 4 Dehy 对 LX-2 细胞凋亡的影响



*: P<0.05, 与空白对照组比较

图 5 Dehy 对 LX-2 细胞的 Bcl-2、P27 及 Bax 表达的影响

2.4 Western blot 检测凋亡相关蛋白的表达 Western blot 检测发现,周期相关蛋白 P27、促凋亡蛋白 Bax 的表达上调,抑凋亡蛋白 Bcl-2 表达下调。见图 5。

3 讨论

肝纤维化是酒精,非酒精性脂肪肝,乙型肝炎或丙型肝炎病毒感染等慢性肝损伤发展而来,最终导致肝硬化,影响肝脏的功能和代谢。在肝纤维化发展的过程中,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的激活被认为是肝纤维化时过量 ECM 的主要来源^[13]。所以,抑制或者逆转 HSC 的激活是肝纤维化治疗的主要靶点,而增殖是 HSC 激活的主要标志,所以可通过抑制 HSC 的增殖或诱导其凋亡,阻止 HSC 的激活,从而减缓肝纤维化的发展进程。Dehy 是菊科植物木香中分离所得的倍半萜内酯类化合物,本实验主要研究 Dehy 对人肝星状 LX-2 细胞的增殖及凋亡的作用,并探讨可能的分子机制。

笔者通过 MTT 检测发现,Dehy 对人肝星状 LX-2 细胞的增殖具有明显的抑制作用,随着浓度的增加,抑制作用越明显,且作用 48 h 的抑制率明显高于 24 h。肝纤维化的一个主要特征就是细胞异常增殖,而细胞的增殖与细胞周期调控密切相关。细胞周期是指持续分裂的细胞从一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂完成所经历的整个过程。本研究发现,随着浓度的增加,S、G₂/M 期细胞逐渐增多,G₀/G₁ 期细胞明显减少,说明 Dehy 可以阻滞细胞周期于 S、G₂/M,从而抑制了 LX-2 细胞的增殖。抑制增殖的另一个主要原因是细胞凋亡,本研究结果表明,Dehy 可以诱导 LX-2 细胞的凋亡,且呈剂量依赖性。

为了进一步研究 Dehy 诱导 LX-2 细胞凋亡及周期阻滞的分子机制,笔者检测了相关蛋白的表达。P27 是细胞周期素依赖性激酶抑制因子家族中的一员,该蛋白能够结合并阻止细胞周期素 E-CDK2 或细胞周期素 D-CDK4 复合物的激活,因此能够抑制细胞周期进程,影响细胞生长,对细胞周期行使负调控作用,是一种抑癌基因^[14]。结果显示,Dehy 作用于 LX-2 细胞后 P27 蛋白的表达上调,并且呈剂量依赖性,说明 P27 参与了细胞周期阻滞作用,从而抑制了 LX-2 细胞的增殖。Bax 和 Bcl-2 属于 Bcl-2 家族蛋白,是线粒体凋亡途径中最主要的调控因子,主要表现对线粒体膜通透性和膜电位的影响^[15]。Western blot 结果显示,经过 Dehy 处理后的细胞,其 Bcl-2 的表达明显减少,Bax 的表达呈剂量依赖性增加,因此,推测 Dehy 可能是通过调节 Bcl-2 和 Bax 的表达影响细胞的凋亡。

本研究表明,Dehy 可以通过调节 P27、Bcl-2 和 Bax 的表达,影响人肝星状 LX-2 细胞的周期阻滞和凋亡,从而抑制其增殖的作用,而其具体的分子调控机制还有待进一步的研究。

参考文献

- [1] Tsochatzis EA, Bosch J, Burroughs AK. Liver cirrhosis [J]. Lancet, 2014, 383(9930):1749-1761.
- [2] Kotaro S, Satoshi E, Seo L, et al. Neovessel formation promotes liver fibrosis via providing latent transforming growth factor-β [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 443(3):950-956.
- [3] 张怡,平洁,汪晖. 肝星状细胞凋亡信号途径及其药物治疗的研究进展[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(1):16-18.
- [4] Jonathan F, Peter H. Pathogenesis and treatment of hepatic fibrosis: is cirrhosis reversible? [J]. Clin Med, 2011, 11(2): 179-183.
- [5] Mohan P, Subha R, Kumar R. Saussurea costus; botanical, chemical and pharmacological review (下转第 3911 页)

患者咳嗽晕厥时心输出量和总外周阻力变化,得出 CS 是由压力感受器介导的总外周阻力下降而诱发的结论。笔者发现,倾斜位剧烈咳嗽导致所有患者收缩压及舒张压迅速增高,随后出现不同程度的急速下降,血压下降幅度与诱发症状相关,观察组晕厥者血压大幅下降,晕厥先兆者血压降幅次之,无症状者和对照组降幅较小,而心率表现为近似程度的增加,结果与文献一致,进一步表明咳嗽引起胸腔内压力剧烈变化及神经反射性血管舒张导致的血压急剧下降是 CS 产生的原因。

本研究观察组患者 HUT 阳性率仅 48.83% 与 Benditt 的相似,71.43% 为血管抑制型,加之咳嗽时无一例心动过缓发生,说明血管抑制为 CS 主要发病机制;混合型 5 例(23.81%),心脏抑制型仅 1 例(4.76%),与偶见咳嗽致晕厥发作时心脏停搏及心动过缓伴血压下降的个案报道一致^[10-11]。观察组 HUT 敏感性显著低于对照组,可能是 CS 患者神经反射的触发点及触发机制与 VVS 不同,其触发点不全是颈动脉窦及主动脉弓的压力感受器,而是弥漫的血管压力感受器被激活的结果^[7-8]。

本研究发现,HUT 中剧烈咳嗽可引起 CS 患者血压下降,诱发晕厥或晕厥先兆,使 HUT 对 CS 患者诊断的敏感性由 48.83% 提高到 63.83%,对怀疑诊断为 CS 的患者、尤其是病史不清的 CS 患者的诊断是十分有益的。

参考文献

- [1] Ray MD, Kusumoto F, MD, et al. Syncope[J]. J Intensive Care Med, 2016, 31(2): 79-93.
- [2] 杨新春, 胡大一. 晕厥诊断与治疗中国专家共识(2014 年更新版)[J]. 中华实用内科杂志, 2014, 53(11): 916-925.
- [3] 中华心血管病杂志编委会倾斜试验对策专题组. 倾斜试验用于诊断血管迷走性晕厥的建议[J]. 中华心血管病杂

志, 1998, 26(5): 325-327.

- [4] Dicipinigitis PV, Lim L, Farmakidis C. Cough syncope[J]. Respir Med, 2014, 108(2): 244-251.
- [5] Mattle HP, Nirikko AC, Baumgartner RW, et al. Transient cerebral circulatory arrest coincides with fainting in cough syncope[J]. Neurology, 1995, 45(1): 498-501.
- [6] Asensio E, Lecuna M, Castro E, et al. Ambulatory postural blood pressure changes and history allow a better selection of patients that should undergo a head-up tilt test[J]. Cardiol J, 2015, 22(2): 165-171.
- [7] Benditt DG, Samniah N, Pham S, et al. Effect of cough on heart rate and blood pressure in patients with "cough syncope"[J]. Heart Rhythm, 2005, 2(8): 807-813.
- [8] Dickinson O, Nijjar PS, Detloff BL, et al. Vasodepressor cough syncope masked by sleep apnea-induced asystole[J]. J Cardiovasc Electrophysiol, 2012, 23(9): 1024-1027.
- [9] Krediet CT, Wieling W, Edward P. Sharpey-Schafer was right: evidence for systemic vasodilatation as a mechanism of hypotension in cough syncope[J]. Europace, 2008, 10(4): 486-488.
- [10] Aliyev F, Kilikesmez KO, Öeliker C, et al. Cough-induced sinus arrest resulting in recurrent episodes of syncope; is it really transient? [J]. J Cardiovasc Med (Hagerstown), 2012, 13(7): 468-470.
- [11] Takazawa T, Ikeda K, Kano O, et al. A case of sinus arrest and post-hiccup cough syncope in medullary infarction[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2014, 23(3): 566-571.

(收稿日期: 2017-05-15 修回日期: 2017-07-03)

(上接第 3908 页)

- of an ayurvedic medicinal plant[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 110(3): 379-390.
- [6] Ming S, Jr S, Jaw D, et al. Cytotoxic sesquiterpene lactones from the root of Saussurea lappa[J]. J Nat Prod, 2003, 66(9): 1175-1180.
- [7] Choi J, Kim Hee. Evaluation of anticancer activity of dehydrocostuslactone in vitro[J]. Mol Med Rep, 2011, 3(1): 185-188.
- [8] Ji K, Sung L, Young P, et al. Apoptosis of DU145 human prostate cancer cells induced by dehydrocostus lactone isolated from the root of Saussurea lappa[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(12): 3651-3658.
- [9] Elena B, Rosanna DP, Hisanori S, et al. Costunolide and dehydrocostuslactone, two natural sesquiterpene lactones, ameliorate the inflammatory process associated to experimental pleurisy in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 730(1): 107-115.
- [10] Chen C, Chou K, Lee D, et al. Active compounds from Saussurea lappa Clarks that suppress hepatitis B virus surface antigen gene expression in human hepatoma cells[J]. Antiviral Res, 1995, 27(1/2): 99-109.

- [11] Kyung L, Eun S, Byung L, et al. Growth inhibitory, bactericidal, and morphostructural effects of dehydrocostus lactone from Magnolia sieboldii Leaves on antibiotic-susceptible and-resistant strains of Helicobacter pylori[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e95530.
- [12] Seo Su, Choi Mi. The effects of dehydrocostus lactone on osteoblastic MC3T3-E1 cells in redox changes and PI3K/Akt/CREB[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2012, 34(5): 810-814.
- [13] Hu L, Peng Z, Tang P, et al. Synthesis of peptides of Carapax Trionycis and their inhibitory effects on TGF- β 1-induced hepatic stellate cells[J]. Drug Discov Ther, 2013, 7(6): 248-253.
- [14] Kevin S, Michael B. Strategies for the enhancement of recombinant protein production from mammalian cells by growth arrest[J]. Biotechnol Adv, 2010, 28(3): 385-394.
- [15] Bagci Z, Vodovotz Y, Billiar R, et al. Bistability in apoptosis: roles of bax, bcl-2, and mitochondrial permeability transition pores[J]. Biophys J, 2006, 90(5): 1546-1559.

(收稿日期: 2017-05-22 修回日期: 2017-07-10)