

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.29.005

Notch 信号通路在胰岛素调节子宫内膜癌细胞生长及凋亡中的作用

杨琳,邵茵[△],王莉菲

(广东省深圳市人民医院妇科 518000)

[摘要] **目的** 探讨抑制 Notch 信号传导对胰岛素诱导子宫内膜癌细胞增殖及相关凋亡蛋白表达水平的影响。**方法** 将子宫内膜癌 Ishikawa 3-H-12 细胞行体外原代及传代培养,将培养好的细胞分为:对照组(加入磷酸盐缓冲液 3 mL)、胰岛素组(加入 1×10^6 mol/L 胰岛素单独刺激)及 MW167 组(应用不同剂量 γ 分泌酶抑制剂 MW167 预处理后再用胰岛素刺激),培养 48 h 后应用噻唑蓝(MTT)比色法测定各组子宫内膜癌细胞生长抑制情况,应用蛋白质印迹法(Western blot)测定半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-3、Caspase-8 及 Notch1 蛋白表达情况。**结果** 胰岛素可促进子宫内膜癌细胞中 Notch1 蛋白表达,刺激 48 h 后 Notch1 蛋白表达水平明显高于对照组($P < 0.05$),MW167 可抑制胰岛素诱导 Notch1 蛋白表达,且抑制作用具有浓度依赖性。不同组别子宫内膜癌细胞在培养 24、48、72 h 后 570 nm 处吸光度(A_{570})值存在明显差异($P < 0.05$),其中胰岛素组各时间点 A_{570} 值均高于对照组($P < 0.05$),胰岛素促子宫内膜癌细胞增殖在 48 h 时达到最高水平。MW167 以浓度及时间依赖的方式抑制胰岛素促子宫内膜癌细胞增殖,在 48 h 时 $20 \mu\text{mol/L}$ MW167 可持久抑制胰岛素促子宫内膜癌细胞的增殖。胰岛素组各时间点 Caspase-3、Caspase-8 蛋白表达水平低于对照组($P < 0.05$),MW167 以浓度及时间依赖的方式促进细胞 Caspase-3、Caspase-8 蛋白表达。**结论** MW167 可通过抑制 Notch 信号通路传导而抑制胰岛素促子宫内膜癌细胞增殖及促进相关凋亡蛋白表达,诱导子宫内膜癌细胞凋亡。

[关键词] 子宫内膜肿瘤;胰岛素; γ 分泌酶抑制剂 MW167;Notch 信号;细胞增殖

[中图分类号] R737.33

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)29-4047-04

The role of Notch signaling pathway in insulin regulation of endometrial cancer cell growth and apoptosis

Yang Lin, Shao Yin[△], Wang Lifei

(Department of Gynaecology, the People's Hospital of Shenzhen City, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of Notch signaling pathway on proliferation of insulin-induced endometrial carcinoma cells and apoptosis related protein expression levels. **Methods** The endometrial carcinoma Ishikawa 3-H-12 cell line was primarily cultured and subcultured in vitro. Then, the cultured cells were divided into five groups: the control group (3 mL PBS was added into the group), the insulin group (cells were stimulated by 1×10^6 mol/L insulin) and MW167 groups (different doses of γ -secretase inhibitor MW167 pretreated with insulin stimulation). After 48 h culturation, inhibition of endometrial carcinoma cell growth of each group was measured by MTT-colorimetric method, the apoptosis-related proteins (Caspase-3, Caspase-8) and Notch1 protein expression levels of each group were determined by Western blot. **Results** Insulin can promote Notch1 protein expression in endometrial carcinoma cells, after 48 h insulin stimulation, the Notch1 protein expression level was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). MW167 can inhibit insulin-induced Notch1 protein expression in a concentration-dependent inhibition manner. The absorbance at 570 nm (A_{570}) of endometrial carcinoma cells cultured for 24, 48 and 72 h in different groups were significantly different ($P < 0.05$). The A_{570} values in the insulin group at each time point were higher than those in the control group ($P < 0.05$), and the insulin-induced endometrial carcinoma cell proliferation reached its highest level at 48 h. MW167 inhibited insulin-induced endometrial carcinoma cells proliferation in a concentration- and time-dependent manner, and $20 \mu\text{mol/L}$ MW167 persistently inhibited insulin-induced proliferation of endometrial carcinoma cells at 48 h. Western blot analysis showed that expression levels of Caspase-3 and Caspase-8 protein in the insulin group at each time point were lower than those in the control group ($P < 0.05$), and MW167 promoted the expressions of Caspase-3 and Caspase-8 in a concentration- and time-dependent manner. **Conclusion** MW167 can suppress the insulin-induced endometrial carcinoma cells proliferation and promote the expression of related apoptotic proteins by inhibiting Notch signaling pathway, and induce apoptosis of endometrial carcinoma cells.

[Key words] endometrial neoplasms; insulin; γ -secretase inhibitor MW167; Notch signaling; cell proliferation

子宫内膜癌是女性常见的恶性肿瘤之一,占女性恶性肿瘤的 25%~30%,近年来其发病率呈逐渐上升且具有年轻化趋势^[1]。胰岛素作为细胞生长因子可参与细胞生长、增殖及分化过程^[2]。越来越多的证据表明,胰岛素抵抗及高胰岛素血症在子宫内膜癌的发病及病情进展中起重要作用^[3-4],但其内在机制尚不明确。近年来研究显示,相关细胞内信号通路激活可促进子宫内膜癌的发生及发展^[5]。Notch 信号通路是细胞间相互接触的信号通路之一,可调控多种细胞分化、增殖及凋亡,且

与多种恶性肿瘤的发生、发展有密切关系,并可促进子宫内膜癌细胞的生长与增殖。因此,本研究从细胞与细胞间联系的信号传导通路及调节机制方面,探讨 γ 分泌酶抑制剂 MW167 抑制 Notch 信号传导后对胰岛素诱导子宫内膜癌细胞增殖及相关凋亡蛋白的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验细胞 子宫内膜癌 Ishikawa 3-H-12 细胞(上海一

表 1 MW167 抑制剂拮抗胰岛素促子宫内腺癌细胞中 Notch1 蛋白表达($\bar{x}\pm s$)

组别	培养 24 h	培养 48 h	培养 72 h
对照组	0.085±0.011	0.102±0.021	0.108±0.022
胰岛素组	0.412±0.081*	0.543±0.122*	0.589±0.122*
MW167 组(5 $\mu\text{mol/L}$)	0.398±0.070*#	0.352±0.045*#	0.339±0.052*#
MW167 组(10 $\mu\text{mol/L}$)	0.356±0.05*# Δ	0.312±0.030*# Δ	0.298±0.022*# Δ
MW167 组(20 $\mu\text{mol/L}$)	0.298±0.04*# Δ ∇	0.275±0.012*# Δ ∇	0.235±0.014*# Δ ∇
F	125.96	117.45	139.22
P	<0.01	<0.01	<0.01

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与胰岛素组比较; Δ : $P < 0.05$, 与 MW167 组(5 $\mu\text{mol/L}$)比较; ∇ : $P < 0.05$, 与 MW167 组(10 $\mu\text{mol/L}$)比较

研生物科技有限公司)。

1.1.2 实验试剂 γ 分泌酶抑制剂 MW167(美国 MCE 公司); Notch 蛋白试剂盒(上海沪震实业有限公司); 磷酸盐缓冲液(上海依赫生物科技有限公司); 细胞凋亡试剂盒(上海拓然生物科技有限公司); 噻唑蓝(MTT, 上海远慕生物科技有限公司); 新生牛血清(南京森贝伽生物科技有限公司); 二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司); 兔抗人半胱氨酰天冬氨酸蛋白酶(Caspase)-3 克隆抗体、兔抗人 Caspase-8 克隆抗体(北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司)。

1.1.3 实验仪器 光学显微镜(型号: DMLP-MP30, 日本 Ricoh 公司); 20、200、1 000 μL 微量移液器(芬兰 DragonMed 公司); 台式微量离心机(型号: H1650-W, 美国 Sigma 公司); 高速冷冻离心机(型号: A1330103, 美国 Beckman 公司); 台式低温高速离心机(型号: TD-35M/TD35; 德国 Hettich 公司); CO_2 培养箱(型号: MCO-20AIC, 德国 Heraeus 公司); 电子天平(BP211D 型, 德国 Sartorius 公司); 酶联免疫检测仪(型号: DG-3022 型, 国营华东电子管厂); 流式细胞仪(型号: 1401-X-20R, 美国 Beckman-Coulter 公司)。

1.2 方法

1.2.1 子宫内腺癌 Ishikawa 3-H-12 细胞的培养 在无菌操作条件下取子宫内腺癌 Ishikawa 3-H-12 细胞, 置于含 10% 胎牛血清(100 $\mu\text{g/mL}$ 链霉素+100 U/mL 青霉素)RPMI-1640 培养基中, 在 CO_2 培养箱中 37 $^\circ\text{C}$ 恒温培养, 传代时依次加入 0.01% II 型胶原酶、0.08% 胰蛋白酶消化 10 min, 收集悬浮液离心过滤后留取沉淀物, 继续于 37 $^\circ\text{C}$ CO_2 培养箱中传代培养, 2~4 d 传代 1 次, 收集对数生长期细胞, 每种实验重复 3 次。

1.2.2 MTT 比色法测定子宫内腺癌 Ishikawa 3-H-12 细胞 取对数期子宫内腺癌 Ishikawa 3-H-12 细胞, 以 1×10^4 个/孔的密度接种在 96 孔板中, 每孔加入 100 μL 新生胎牛血清, 将培养好的细胞分为: 对照组(加入磷酸缓冲液 3 mL)、胰岛素组(加入 1×10^6 mol/L 胰岛素单独刺激)及 MW167 组(分别应用 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ γ 分泌酶抑制剂 MW167 预处理后再用胰岛素刺激), 每组设 3 个复孔, 各组在 37 $^\circ\text{C}$ CO_2 培养箱中继续恒温培养 24、48、72 h 后加入 5 g/L MTT 溶液 20 μL , 继续恒温孵育 4 h, 将培养液去掉, 依次加入经生物素标记山羊抗小鼠免疫球蛋白及辣根过氧化物酶标记链酶卵白素工作液于室温孵育。应用酶标仪测量样品在 570 nm 处的吸光度(A_{570})值, 并计算生长抑制率。

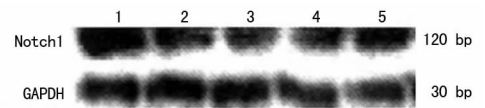
1.2.3 蛋白质印迹法(Western blot)测定子宫内腺癌相关凋亡蛋白及 Notch1 蛋白 取对数生长期子宫内腺癌 Ishikawa 3-

H-12 细胞, 以 2×10^5 个/孔接种于 6 孔板, 待细胞贴壁生长后, 将细胞分为对照组(加入磷酸缓冲液 3 mL)、胰岛素组(加入 1×10^6 mol/L 胰岛素单独刺激)及 MW167 组(分别应用 5、10、20 $\mu\text{mol/L}$ γ 分泌酶抑制剂 MW167 预处理后再用胰岛素刺激), 每组培养 48 h 后收集贴壁生长细胞, 提取细胞蛋白, 将蛋白凝胶电泳后转移至硝酸纤维素膜上, 于室温下采用含 5% 脱脂奶粉 Tris 盐酸缓冲液(TBST)封闭 1 h, 并加入鼠抗人 Caspase-3 及鼠抗人 Caspase-8, 于 4 $^\circ\text{C}$ 下孵育过夜, TBST 洗涤样品, 加入经辣根过氧化物酶标记的二抗, 在常温下孵育 1 h 后采用 TBST 洗涤 3 次, 采用化学发光法测定硝酸纤维素膜上 Caspase-3、Caspase-8 及 Notch1 蛋白水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行统计分析, 先对数据行正态分布检验, 对于符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组内比较应用配对 t 检验, 组间比较应用独立样本 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MW167 抑制剂拮抗胰岛素促 Ishikawa 3-H-12 细胞中 Notch1 蛋白表达 胰岛素可促进 Ishikawa 3-H-12 细胞中 Notch1 蛋白表达, 刺激 48 h 后 Notch1 蛋白表达水平明显高于对照组($P < 0.05$), MW167 可抑制胰岛素诱导 Notch1 蛋白表达, 且抑制作用具有时间及浓度依赖性, 见表 1、图 1。



1: 对照组; 2: 胰岛素组; 3: MW167 组(5 $\mu\text{mol/L}$); 4: MW167 组(10 $\mu\text{mol/L}$); 5: MW167 组(20 $\mu\text{mol/L}$)

图 1 MW167 抑制剂拮抗胰岛素对 Ishikawa 3-H-12 细胞中 Notch1 蛋白表达

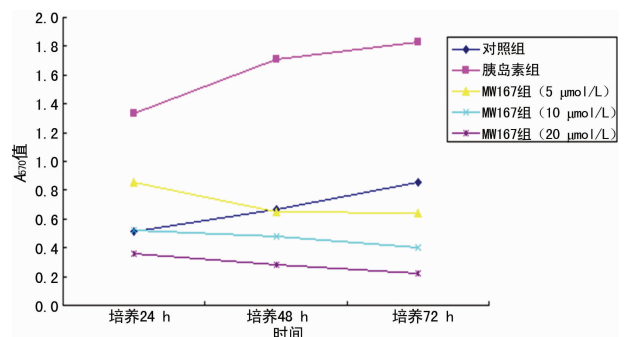


图 2 MW167 抑制剂拮抗胰岛素调节 Ishikawa 3-H-12 细胞增殖作用

表 2 MW167 抑制剂拮抗胰岛素调节子宫内膜癌细胞增殖作用($\bar{x} \pm s$)

组别	培养 24 h	培养 48 h	培养 72 h
对照组	0.512±0.015	0.663±0.011	0.854±0.018
胰岛素组	1.335±0.032*	1.712±0.014*	1.825±0.014*
MW167 组(5 μmol/L)	0.856±0.024*#	0.652±0.017*#	0.644±0.013*#
MW167 组(10 μmol/L)	0.525±0.030*#△	0.478±0.014*#△	0.402±0.016*#△
MW167 组(20 μmol/L)	0.359±0.012*#△▽	0.285±0.016*#△▽	0.219±0.010*#△▽
F	85.263	78.985	81.022
P	<0.01	<0.01	<0.01

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与胰岛素组比较; △: $P < 0.05$, 与 MW167 组(5 μmol/L)比较; ▽: $P < 0.05$, 与 MW167 组(10 μmol/L)比较

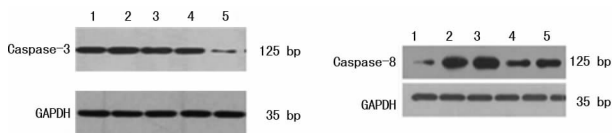
表 3 抑制 Notch 信号传导对胰岛素诱导子宫内膜癌细胞凋亡蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	Caspase-3			Caspase-8		
	培养 24 h	培养 48 h	培养 72 h	培养 24 h	培养 48 h	培养 72 h
对照组	0.789±0.014	0.825±0.028	0.832±0.039	0.825±0.027	0.886±0.026	0.894±0.022
胰岛素组	0.102±0.04*	0.098±0.02*	0.085±0.03*	0.114±0.05*	0.089±0.04*	0.074±0.06*
MW167 组(5 μmol/L)	0.625±0.012*#	0.592±0.016*#	0.589±0.018*#	0.702±0.122*#	0.618±0.115*#	0.604±0.085*#
MW167 组(10 μmol/L)	0.602±0.026*#△	0.541±0.025*#△	0.502±0.022*#△	0.623±0.063*#△	0.563±0.048*#△	0.520±0.036*#△
MW167 组(20 μmol/L)	0.542±0.023*#△▽	0.502±0.024*#△▽	0.456±0.028*#△▽	0.512±0.052*#△▽	0.478±0.045*#△▽	0.462±0.029*#△▽
F	58.963	62.778	82.456	78.992	86.252	92.363
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

*: $P < 0.05$, 与对照组比较; #: $P < 0.05$, 与胰岛素组比较; △: $P < 0.05$, 与 MW167 组(5 μmol/L)比较; ▽: $P < 0.05$, 与 MW167 组(10 μmol/L)比较

2.2 MW167 抑制剂拮抗胰岛素调节 Ishikawa 3-H-12 细胞增殖作用 MTT 比色法测定结果显示,不同组别 Ishikawa 3-H-12 细胞在培养 24、48、72 h 后 A_{570} 值存在明显差异($P < 0.05$),其中胰岛素组各时间点 A_{570} 值均高于对照组同一时间点($P < 0.05$),胰岛素促子宫内膜癌细胞增殖在 48 h 时达到最高水平。MW167 以浓度及时间依赖的方式抑制胰岛素促子宫内膜癌细胞增殖,在 48 h 时以 20 μmol/L MW167 可持久抑制胰岛素促子宫内膜癌细胞的增殖,见表 2、图 2。

2.3 抑制 Notch 信号传导对胰岛素诱导 Ishikawa 3-H-12 细胞凋亡蛋白表达的影响 Western blot 检测结果显示,胰岛素组各时间点 Caspase-3、Caspase-8 蛋白表达水平低于对照组同一时间点($P < 0.05$),其中以 48 h 刺激作用最为明显,在培养 48 h 后胰岛素组 Caspase-3、Caspase-8 蛋白表达水平降至最低,直至培养 72 h 后仍维持较低的表达水平, MW167 以浓度及时间依赖的方式促进 Ishikawa 3-H-12 细胞 Caspase-3、Caspase-8 蛋白表达,见表 3、图 3。



1: 对照组; 2: 胰岛素组; 3: MW167 组(5 μmol/L); 4: MW167 组(10 μmol/L); 5: MW167 组(20 μmol/L)

图 3 抑制 Notch 信号传导对胰岛素诱导 Ishikawa 3-H-12 细胞凋亡蛋白表达的影响

3 讨 论

胰岛素不仅可调节糖脂代谢,还可作为细胞生长因子调控细胞增殖及抑制细胞凋亡。胰岛素可与胰岛素受体(INSR)结

合并活化其生物学效应,从而刺激细胞增殖、生长及抑制凋亡,诱发多种肿瘤发生^[6]。动物实验发现,对结肠癌小鼠注射胰岛素后肿瘤生长速度明显加快^[7]。孙恒子等^[8]研究发现,血清胰岛素水平与乳腺癌的发生、侵袭及转移呈正相关,高胰岛素血症是乳腺癌预后的独立危险因素,通过降低血清胰岛素水平可有效延长乳腺癌患者的生存时间,降低乳腺癌复发率。另有研究发现,在子宫内膜癌细胞中大量存在 INSR,且 INSR 水平与子宫内膜癌的复发、远期转移及生存率有密切的关系^[9]。

目前关于胰岛素在子宫内膜癌中的作用机制尚不明确。但是相关研究认为,胰岛素可经相关信号传导通路发挥生物学效应,其中 Notch 信号通路可调控细胞增殖及抑制细胞凋亡,该信号通路异常激活可刺激肿瘤血管形成及促进细胞恶性增殖,并与肿瘤细胞侵袭、转移及浸润有密切的关系^[10]。目前多项研究均表明,Notch 可通过调控细胞增殖及抑制细胞凋亡而促进恶性肿瘤的生成及进展^[11-12]。Mi 等^[13]研究指出,应用 γ 分泌酶抑制剂 MW167 能有效抑制 Notch 信号通路传导,进而可阻断 Notch 诱导的低氧条件下癌细胞凋亡。本研究结果显示,在子宫内膜癌 Ishikawa 3-H-12 细胞基础状态下 Notch 信号通路已被激活,表现为 Notch1 蛋白表达水平升高。在胰岛素刺激下,Notch1 蛋白表达水平进一步升高,而随着 γ 分泌酶抑制剂 MW167 作用时间及浓度增加, Ishikawa 3-H-12 细胞中 Notch1 蛋白表达水平下降。MTT 比色法测定结果显示,不同组别 Ishikawa 3-H-12 细胞在培养 24、48、72 h 后 A_{570} 值存在明显差异($P < 0.05$),其中胰岛素组各时间点 A_{570} 值均高于对照组同一时间点,胰岛素促子宫内膜癌细胞增殖在 48 h 时达到最高水平。MW167 以浓度及时间依赖的方式抑制胰岛素促子宫内膜癌细胞增殖,在 48 h 时 20 μmol/L MW167 可持久抑制胰岛素促子宫内膜癌细胞的增殖。由此可推测促子宫内

膜癌细胞的增殖及生长与胰岛素刺激下 Notch 信号通路进一步激活有关。Sparling 等^[14]研究证实,在胰岛素培养子宫内膜癌细胞株中存在 Notch 过表达的现象,Notch 过表达可诱导细胞周期阻滞并促进细胞增殖及生长,支持了本研究结果。

细胞凋亡是生物体内普遍存在的现象,具有重要的生物学意义。Caspase-3、Caspase-8 是细胞凋亡的重要执行者及主要效应因子,在凋亡执行阶段主要负责对部分或全部关键性蛋白进行酶切,使之灭活。活化的 Caspase-3、Caspase-8 可特异性切割 DNA,并参与 DNA 损伤修复及 DNA 灭活过程,从而激活核酸及促使染色体凝固,进而诱导细胞凋亡^[15]。本研究经 Western blot 检测显示,胰岛素组各时间点 Caspase-3、Caspase-8 蛋白表达水平低于对照组同一时间点,其中以 48 h 刺激作用最为显著,在培养 48 h 后胰岛素组 Caspase-3、Caspase-8 蛋白表达水平最低,直至培养 72 h 仍维持较低的表达水平,MW167 以浓度及时间依赖的方式促进 Ishikawa 3-H-12 细胞 Caspase-3、Caspase-8 蛋白表达,表明胰岛素可抑制 Ishikawa 3-H-12 细胞凋亡,其可能的作用机制为胰岛素可激活 Notch 信号通路,抑制相关凋亡蛋白表达,从而抑制细胞凋亡,而 MW167 可抑制胰岛素诱导的 Notch 信号传导,进而促进凋亡蛋白表达,诱导子宫内膜癌细胞凋亡。

参考文献

- [1] 黄佳敏,张艳,吕时铭,等.血清胰岛素和 IGFBP3 水平与子宫内膜癌相关性研究[J].浙江预防医学,2016,28(4):358-361.
- [2] 刘婷婷,张淑香,高维萍,等.血清瘦素和胰岛素生长因子 II 与子宫内膜癌的相关性研究[J/CD].中华妇幼临床医学杂志(电子版),2013,9(5):650-652.
- [3] 张丽霞,季士顺,季爱美,等.胰岛素抵抗与子宫内膜癌的相关性研究[J].中国妇幼保健,2015,30(18):3040-3042.
- [4] 张自辉,叶红.胰岛素样生长因子 1 及其受体与子宫内膜癌的关系研究进展[J].海南医学,2014,4(19):2872-2874.
- [5] 杨媛,王建六,魏丽惠,等. Notch 信号通路与子宫内膜癌关系的研究进展[J].中华妇产科杂志,2015,50(5):391-393.

- [6] Wang C,Jeong K,Jiang H,et al. YAP/TAZ regulates the insulin signaling via IRS1/2 in endometrial cancer[J]. Am J Cancer Res,2016,6(5):996-1010.
- [7] Zhao X,Zhu D,Lu C,et al. MicroRNA-126 inhibits the migration and invasion of endometrial cancer cells by targeting insulin receptor substrate 1[J]. Oncol Lett,2016,11(2):1207-1212.
- [8] 孙恒子,姜洁.子宫内膜癌患者孕激素抵抗机制的研究[J].现代妇产科进展,2014,4(12):1010-1012.
- [9] 郭静,杨冬梓.胰岛素抵抗与子宫内膜癌关系的研究进展[J].中华妇产科杂志,2015,50(1):73-75.
- [10] Gao Y,Liu T,Huang Y,et al. MicroRNA-134 suppresses endometrial cancer stem cells by targeting POGUT1 and Notch pathway proteins[J]. FEBS Lett,2015,589(2):207-214.
- [11] Qiu M,Bao W,Wang J,et al. FOXA1 promotes tumor cell proliferation through AR involving the Notch pathway in endometrial cancer[J]. BMC Cancer,2014,11(4):85-90.
- [12] Tang Z,Wei J,Yu Y,et al. γ -Secretase inhibitor reverts the Notch signaling attenuation of osteogenic differentiation in aged bone marrow mesenchymal stem cells[J]. Cell Biol Int,2016,40(4):439-447.
- [13] Mi L,Chen Y,Zheng X,et al. MicroRNA-139-5p suppresses 3T3-L1 preadipocyte differentiation through Notch and IRS1/PI3K/Akt insulin signaling pathways[J]. J Cell Biochem,2015,116(7):1195-2204.
- [14] Sparling DP,Yu J,Kim K,et al. Adipocyte-specific blockade of gamma-secretase, but not inhibition of Notch activity, reduces adipose insulin sensitivity[J]. Mol Metab,2015,5(2):113-121.
- [15] 孙炯,杨留才,李仕红,等. Livin 与 caspase-3 在子宫内膜癌组织中的表达水平及相关性研究[J].医学综述,2014,20(9):1708-1710.

(收稿日期:2017-03-20 修回日期:2017-06-18)

(上接第 4046 页)

- [13] Chiou SH,Ku HH,Tsai TH,et al. Moclobemide (MB) up-regulated Bcl-2 expression and induced neural stem cell differentiation into serotonergic neuron via extracellular-regulated kinase pathway[J]. Br J Pharmacol,2006,148(5):587-598.
- [14] Kosten TA,Galloway MP,Duman RS,et al. Repeated unpredictable stress and antidepressants differentially regulate expression of the bcl-2 family of apoptotic genes in rat cortical,hippocampal,and limbic brain structures[J]. Neuropsychopharmacology,2008,33(7):1545-1558.

- [15] Jevtovic-Todorovic V,Hartman RE,Izumi Y,et al. Early exposure to common anesthetic agents causes widespread neurodegeneration in the developing rat brain and persistent learning deficits[J]. JNeurosci,2003,23(3):876-882.
- [16] Gentry KR,Steele LM,Sedensky MM. Early developmental exposure to volatile anesthetics causes behavioral defects in caenorhabditis elegans[J]. Anesth Analg,2013,116(1):185-189.

(收稿日期:2017-03-22 修回日期:2017-06-20)