

· 基础研究 ·

萝卜硫素通过调节 Bax 表达降低结肠癌细胞株对 5-氟尿嘧啶的耐药性

顾文燕, 李丽, 吴敏*

恩施土家族苗族自治州中心医院, 湖北 恩施 445000

[摘要] 目的: 研究 Bax 在萝卜硫素(SFN)逆转结肠癌细胞 5-氟尿嘧啶(5-FU)化疗耐药中的作用及其机制。方法: 体外培养结肠癌 SW-480 细胞, CCK8 法分析了 SFN 对 5-FU 抑制 SW-480 细胞增殖的影响; 流式细胞仪 Annexin V-FITC/PI 法分析了 SFN 对 5-FU 作用下的 SW-480 细胞凋亡水平的影响; 实时荧光定量 PCR(RT-PCR)技术检测了 SW-480 细胞中凋亡相关基因 Bax、Survivin、Bcl-2、p53 及 caspase-3 表达量; Western Blot 分析 SW-480 细胞中 Bax 蛋白表达, 采用 pcDFNA-WEE1 质粒沉默技术对 SW-480 细胞中 Bax 蛋白进行低表达。结果: SFN 能明显增强 5-FU 对结肠癌 SW-480 细胞增殖的抑制效应; 凋亡实验结果提示, 在 SW-480 细胞中, 单药 5-FU 组中的细胞凋亡率为 $(36.76 \pm 4.29)\%$ 、SFN + 5-FU 联合组为 $(51.10 \pm 6.34)\%$, 两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); RT-PCR 实验提示, Bax 可能介导 SFN 促使 SW-480 细胞凋亡; Western Blot 结果显示, SFN + 5-FU 联合组 Bax 的表达量显著高于单药 5-FU 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); pcDFNA-Bax 质粒转染能明显下调 SW-480 细胞中 Bax 蛋白表达, 并且显著降低了 SFN 联合 5-FU 对结肠癌 SW-480 细胞增殖的抑制效应。结论: SFN 通过上调 Bax 表达增强 5-FU 对结肠癌细胞化疗耐受的能力, 并促使结肠癌细胞凋亡。

[关键词] 萝卜硫素; 结肠癌细胞; 5-氟尿嘧啶; 耐药性; Bax

[中图分类号] R284; R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-4890(2019)04-0458-06

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20180824005

Effect of Sulforaphane on Decrease of Drug Resistance of Colon Cancer Cells to 5-FU via Regulating Bax Expression

GU Wen-yan, LI Li, WU Min*

Operating room, Central Hospital of En-shi Autonomous Prefecture, Enshi, Hubei 445000, China

[Abstract] **Objective:** To study the chemotherapy resistance reversal in colon cancer cells with 5-FU, screen the target gene Bax associated with the above reversal process and study its mechanism. **Methods:** SW-480 cells were cultured *in vitro*, the cell viability was determined by CCK8 assay. The impact of SFN on the apoptosis of 5-FU-based colon cancer cells was measured by Annexin V-FITC/PI method. The expression levels of Bax, Survivin, Bcl-2, p53 and caspase-3 genes in SW-480 cells were determined by using RT-PCR. The expression level of Bax protein was analyzed by Western Blot method. The down-expression of Bax in SW-480 cells was performed by the transfection of pcDFNA-Bax plasmid. **Results:** SFN could significantly induce the inhibitory effects of 5-FU on the proliferation of SW-480 cells. The apoptosis experiment displayed that the apoptotic rates of SW-480 cells in 5-FU group and SFN + 5-FU group were $(36.76 \pm 4.29)\%$ and $(51.10 \pm 6.34)\%$, and there was a significant difference among them($P < 0.05$). A RT-PCR experiment results displayed that Bax might mediate SFN in promoting the apoptosis of colon cancer cells. Western Blot results showed that the Bax expression in SW-480 cells treated with the combination of SFN and 5-FU was greatly increased compared with 5-FU alone($P < 0.05$). The transfection of pcDFNA-Bax plasmid could greatly down-regulate the Bax expression in SW-480 cells, and significantly increase the inhibitory effects of the combination of SFN and 5-FU on the proliferation of SW-480 cells. **Conclusion:** SFN by down-regulated the Bax gene expression enhanced ability of the resistance of 5-FU to colon cancer cells to chemotherapy, and promote the colon cancer cells apoptosis.

[Keywords] sulforaphane; colon cancer cells; 5-FU; resistance; Bax

* [通信作者] 吴敏, 主治医师, 研究方向: 消化道肿瘤防治, E-mail: 21802516@qq.com

结肠癌(colon cancer)属于消化道最常见的恶性肿瘤之一,其死亡率位于所有恶性肿瘤的第3位^[1]。结肠癌的治疗主要依靠手术,然而化疗整个过程易产生药物的耐药性,成为结肠癌患者复发或死亡的主要原因^[2]。于是,解决结肠癌多药耐药问题已成为当前研究的热点。研究已证实,中药在辅助治疗肿瘤中有着较好的效果,并且其引发的不良反应较少,患者可耐受药物应用^[3]。萝卜硫素(sulforaphane, SFN)又称1-异硫氰酸-4-甲磺酰基丁烷,分子式为:C₆H₁₁S₂NO,其结构式见图1,是一种来源于十字花科植物的异硫氰酸酯类化合物,已发现SFN在抗乳腺癌、前列腺癌及克隆癌等多种肿瘤细胞方面均表现出较强的生物活性^[4,6]。还发现SFN在一定剂量下对白血病细胞增殖具有抑制作用,还能增强化疗药物的敏感性^[7]。然而SFN是否影响5-氟尿嘧啶(5-FU)对结肠癌细胞的敏感性还有待研究。5-FU为临床上广泛使用的基础药物,然而95%的结直肠癌患者出现了5-FU的抗性,极大降低了患者的治愈率。肿瘤细胞获得耐药性的机制是很复杂的,如药物靶点发生变化、药物失活、细胞内药物的流入与流出,药物引起的损伤及逃避凋亡等^[8]。Bax信号通路对结肠癌在内的多种肿瘤发生发展均表现出调控作用^[9]。早期研究发现,人结肠癌细胞SW-480对5-FU能够产生耐药性^[10],穿心莲内酯能够通过上调Bax表达逆转人结直肠癌对5-FU的耐药性^[11]。因此,本文研究了SFN能否增强5-FU对结肠癌细胞化疗耐受的能力,及其对结肠癌SW-480细胞凋亡的影响。

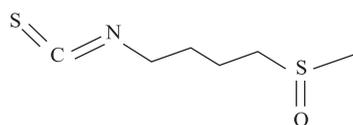


图1 萝卜硫素结构式

1 材料

1.1 仪器

BBS-DDC超净工作台(山东博科科学仪器有限公司);LRH-150 BOD CO₂细胞培养箱(美国Thermo公司);Victor3 1420 Multilable Counter酶标仪(DX540,美国);DYCZ-24DN凝胶电泳仪(北京六一仪器厂);成像系统(BIO-RAD,美国);CytoFLEX LX流式细胞仪、Bio-Rad iQ5实时荧光定

量PCR仪(贝克曼,中国)。

1.2 试剂

结肠癌SW-480细胞株由武汉巴菲尔公司提供(来自美国ATCC细胞库);萝卜硫素(杭州林格贝科技有限公司,含量≥99%);DMEM高糖培养基、胎牛血清(美国Gibco公司);胰蛋白酶(Thermo Scientific公司);5-氟尿嘧啶(上海吉至公司,CAS66-22-8,0.25 g·(10 mL)⁻¹);CCK8试剂盒(日本同仁公司,批号:WST-78);RIPA裂解液(上海吉诺公司);BCA试剂盒(北京百奥公司);RNA提取试剂盒及superRreal PreMix Plus(SYBR Green)(TIANGEN公司);Annexin V-FITC/PI试剂盒(碧云天公司);β-actin、Bax抗体(英国Abcam公司);HRP标记羊抗兔IgG(上海谷歌公司);Lipo2000转染试剂盒(上海博耀生物科技有限公司,批号:11668-027)。

2 方法

2.1 SW-480细胞培养

结肠癌SW-480细胞采用DMEM完全培养基培养,包含10%胎牛血清、1%双抗(100 U·mL⁻¹青霉素+100 U·mL⁻¹链霉素),培养箱条件设置:温度37℃、5%CO₂浓度、恒湿。细胞生长融合至80%~90%,采用0.25%胰酶-0.125%EDTA溶液消化,显微镜下观察细胞变圆后立即加入培养基终止消化,并以1:3比例传代培养。

2.2 CCK8法检测SW-480细胞活力

将对数生长期细胞接种于96孔板进行实验,培养过夜后,加入不同浓度(0、10、20、40 μmol·L⁻¹)的SFN,联合不同剂量的5-FU(0、5、10、20、50、100 μmol·L⁻¹)对SW-480细胞进行干预24 h后,吸干旧培养液,每孔加入10 μLCCK8试剂,将96孔板继续放入培养箱中培养2 h后,用酶标仪测定450 nm处的吸光度值,计算细胞活力。

$$\text{细胞活力}(\%) = A_{\text{药物组}} / A_{\text{对照组}} \times 100 \quad (1)$$

2.3 流式细胞仪检测细胞凋亡

将对数生长期细胞接种于6孔板进行实验,分为对照组(Control)、萝卜硫素组(SFN组,20 μmol·L⁻¹)、5-氟尿嘧啶组(5-FU组,5 μmol·L⁻¹)、SFN+5-FU联合组,待药物干预24 h后,将收集的细胞重悬于Binding Buffer中,依次加入Annexin V-FITC 5 μL和PI 5 μL,室温避光孵育,流式细胞仪检测细胞凋亡

率;图3中右下限代表早期凋亡细胞数、右上限代表中晚期凋亡细胞数。

2.4 RT-PCR 分析 Bax、Survivin、Bcl-2、p53 及 caspase-3 mRNA 表达

将对数生长期细胞接种于6孔板进行实验,药物干预方法及实验分组按照2.3项进行。待药物干预细胞结束后,收集细胞加入 TRIzol 提取细胞总 RNA,并对核酸进行浓度及纯度法测定。吸去 1 μg 总 RNA 逆转录 cDNA,程序设定为 30 $^{\circ}\text{C}$ (10 min) \rightarrow 42 $^{\circ}\text{C}$ (50 min) \rightarrow 85 $^{\circ}\text{C}$ (10 min) \rightarrow 4 $^{\circ}\text{C}$ (5 min)。根据试剂说明书,RT-PCR 体系为 20 μL , cDNA 2 μL , 引物 4 μL , 2 \times FastFire qPCR PreMix 10 μL , dd H₂O 4 μL 。扩增条件设置为:94 $^{\circ}\text{C}$ (10 min); 94 $^{\circ}\text{C}$ (15 s); 60 $^{\circ}\text{C}$ (1 min); 循环 40 次。以 β -actin 作为内参,基因引物序列见表 1。mRNA 表达水平以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 计算相对表达量,以 β -actin 作为内参。

表 1 引物序列

基因	引物序列(5'→3')
Bax	正向引物 5'-ACGGCCTCCTCTCTACTTT-3'
	反向引物 5'-CAGCCCATCTTCTCCAGAT-3'
Survivin	正向引物 5'-TGTCTTCACAGATGGCCAAG-3'
	反向引物 5'-ACCATGGGTCATCATCTGGT-3'
Bcl-2	正向引物 5'-GAGGATTGTGGCCTTCTTTG-3'
	反向引物 5'-GCCGGTTCAGTACTCAGTC-3'
p53	正向引物 5'-GAAATTTGTGATACCCCTCG-3'
	反向引物 5'-GATCGGAATAAGGGCTTGG-3'
caspase-3	正向引物 5'-GCGGATTAATTTGCATCTGA-3'
	反向引物 5'-GGTGCCTCTTGGCATAACAC-3'
β -actin	正向引物 5'-TGACTTCAACAGCGACACCC-3'
	反向引物 5'-CACCTGTTGCTGTAGCCAA-3'

2.5 Western Blot 实验

将细胞分为 4 组:对照组、SFN 组、5-FU 组及 SFN + 5-FU 联合组,带药物处理 24 h 后,收集药物处理完的细胞,裂解细胞离心制备成匀浆后,采用 BCA 法测定总蛋白浓度,每孔上样 50 μg 蛋白进行凝胶电泳,待蛋白分离完成后进行转膜实验。之后采用 5% 脱脂牛奶对条带进行封闭 1 h,然后加入 β -actin、Bax 抗体(稀释比 1:1000)4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,洗膜后 HRP 标记羊抗兔 IgG,室温孵育 1 h 后,洗膜

3 次后, ECL 显色曝光,采用 Image J 软件分析蛋白含量。

2.6 Bax 低表达转染实验

低表达质粒 pcDNA-Bax siRNA 由武汉巴菲尔生物有限公司合成,引物序列为: F 5'-ATGTTGGG-GATCCATGAGCTTCCTGAGCCGA-3'; R 5'-GGTTG-GCTCGAGTCAGTATATAGTAAGGCT-3'。具体步骤如下:单链目的片段 Bax-siRNA 与线性质粒载体连接;取 5 μL 过夜连接产物转化感受态细胞,涂布与含 Kana^r 抗性的 LB 平板上选择培养;用试剂盒小量提取质粒,用 EcoRI 做酶切鉴定,挑选酶切鉴定正确的质粒转化菌液 Bax-siRNA 测序。NC 序列为 GCCTG-CATCATCAAATCCA, Bax-siRNA 序列为 CAGTCT-GAAGCACTTATAA。采用 Lipo 2000 转染试剂盒进行转染,操作按照说明书进行。将细胞接种于 6 孔板,待细胞融合至 80% 左右开始转染;将 4 μg 质粒 DNA 加入到 250 μL DMEM 培养液中混匀,取 10 μL Lipo 2000 加入到另外 250 μL DMEM 培养液中混匀,室温下静置 5 min;然后将上述两种 DMEM 培养液混合,总体积 500 μL ,轻轻混匀后室温下静置 20 min,最后将混匀溶液轻轻加入到 6 孔板中,转染 4 ~ 6 h 后更换为新鲜培养液,转染 24 h 后检测 Bax 蛋白表达。

2.7 统计分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 SFN 增强 5-FU 对 SW-480 细胞株增殖能力的抑制效应

为了探讨 SFN 是否增强 5-FU 对结肠癌 SW-480 细胞增殖能力的抑制效应,采用不同浓度的 SFN 联合不同剂量的 5-FU 对 SW-480 细胞进行干预。见图 2。在相同剂量 SFN 处理前提下,联合 5-FU 处理,随着 5-FU 剂量的升高,SW-480 细胞增殖能力明显减弱;在相同剂量 5-FU 干预基础之上,较高 SFN 的干预浓度可使 SW-480 细胞增殖活性降低。提示 5-FU 可抑制 SW-480 细胞的增殖能力,并表现出剂量依赖性;SFN 还可增强 5-FU 对 SW-480 细胞增殖的抑制效应。

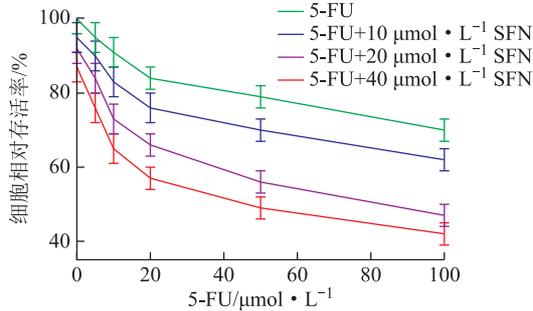


图2 SFN 增强 5-FU 对 SW-480 细胞增殖的抑制效应 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.2 SFN 增强 5-FU 对 SW-480 细胞凋亡的诱导效应

流式细胞仪分析了 SFN + 5-FU 联合对 SW-480 细胞凋亡的影响, 结果见图 3~4。表明 SFN + 5-FU 联合组细胞凋亡率 (51.10 ± 6.34)% 显著高于 5-FU 组细胞凋亡率 (36.76 ± 4.29)%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。还发现 5-FU 组、SFN + 5-FU 联合组细胞凋亡率均显著高于对照组 (9.21 ± 3.26)%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

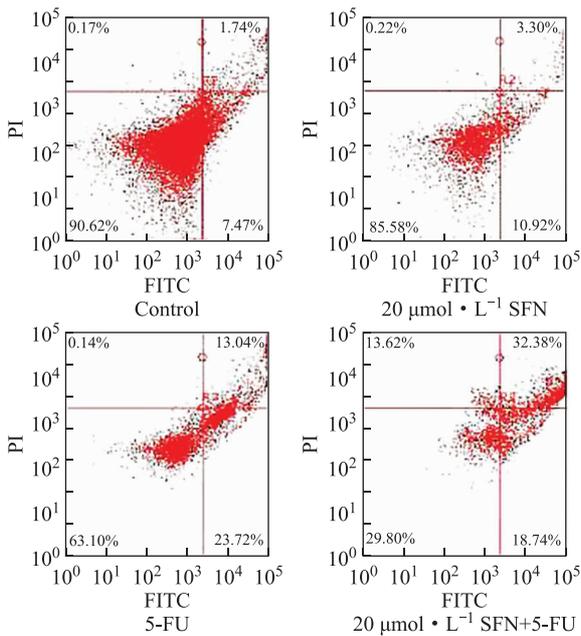
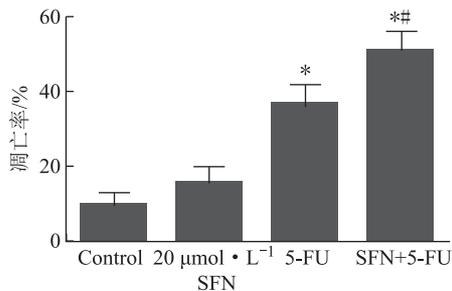


图3 SFN 对 5-FU 诱导 SW-480 细胞凋亡的影响

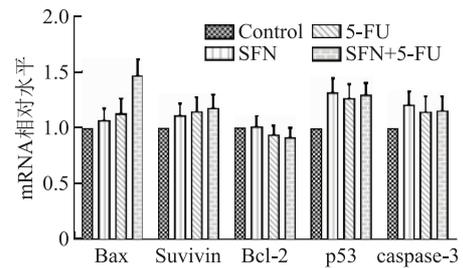


注: 与 Control 组比较, * $P < 0.05$; 与 5-FU 组比较, # $P < 0.05$ 。

图4 SW-480 细胞凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.3 SFN 对凋亡基因 mRNA 表达的影响

SFN、5-FU 及其联合干预 SW-480 细胞后, 细胞中凋亡相关的 Bax、Survivin、Bcl-2、p53 及 caspase-3 基因表达结果见图 5。提示 SFN + 5-FU 联合组 Bax 基因表达量显著高于 5-FU 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明 SFN 能增强 5-FU 对 SW-480 细胞中促凋亡基因 Bax 表达的诱导作用; 然而 SFN + 5-FU 联合组与 5-FU 组中 Survivin、Bcl-2、p53 及 caspase-3 基因表达水平比较差异没有统计学意义 ($P > 0.05$)。

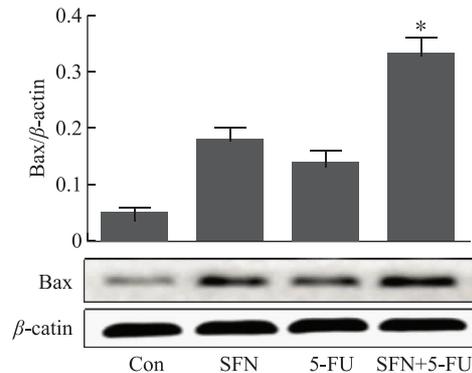


注: 与 5-FU 组比较, * $P < 0.05$ 。

图5 SFN 对 SW-480 细胞凋亡基因表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.4 SFN 对 Bax 蛋白表达的影响

SFN、5-FU 及其联合干预 SW-480 细胞后, Bax 表达水平见图 6, 提示 SFN + 5-FU 联合组 Bax 表达量显著高于 5-FU 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。说明 SFN 能增强 5-FU 对 SW-480 细胞中促凋亡蛋白 Bax 表达的诱导作用。

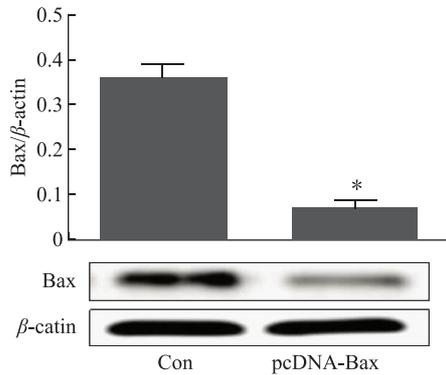


注: 与 5-FU 组比较, * $P < 0.05$ 。

图6 SFN 对 SW-480 细胞 Bax 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

3.5 低表达质粒下调 SW-480 细胞表达 Bax

采用 Bax 低表达质粒转染结肠癌 SW-480 细胞, 应用 Western Blot 分析 Bax 蛋白表达量, 结果见图 7, 提示筛选的 pcDNA-Bax 质粒可显著降低细胞中 Bax 蛋白表达。

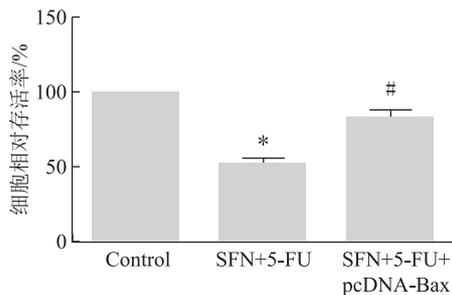


注：与 Control 组比较，* $P < 0.05$ 。

图7 pcDNA-Bax 质粒下调 SW-480 细胞中 Bax 的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

3.6 Bax 低表达减弱 SFN 对 5-FU 的敏感性

为了探讨低表达 Bax 是否影响 SFN 对 5-FU 的敏感性，采用 pcDNA-Bax 质粒转染 SW-480 细胞，同时应用 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 5-FU 及 $20 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ SFN 对细胞进行孵育 24 h 后，检测细胞活力，见图 8。提示与对照组比较，SFN + 5-FU 组细胞活力显著降低 ($P < 0.05$)，而 Bax 低表达能明显减弱 SFN 和 5-FU 联合对 SW-480 细胞的抑制作用 ($P < 0.05$)。



注：与 Control 组比较，* $P < 0.05$ ；与 SFN + 5-FU 组比较，# $P < 0.05$ 。

图8 低表达 Bax 减弱 SFN 协同 5-FU 的肿瘤抑制效应 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

4 讨论

系统性化疗已是结肠癌规范化治疗必不可少的环节，术前、术后均可采用药物进行辅助化疗，提高晚期肿瘤患者获得手术治疗的机会。正是由于采用各种化疗药物对结肠癌患者进行干预，才能够促使晚期结肠癌患者的总生存率得以提升。然而，恶性肿瘤细胞对化疗药物的多药耐药是治疗失败的关键因素，不仅降低了患者的生存质量，还导致大量医疗资源的浪费。肿瘤细胞产生的多药耐药机制非

常复杂，研究已证实，P-gp 糖蛋白跨膜转运能力的变化、细胞解毒活力的提升、DNA 损伤修复系统紊乱及凋亡通路的异常等方面均与多药耐药现象有关^[12]。然而无论体外研究还是临床治疗应用中，对上述耐药因素进行干预进行耐药逆转，仍然存在较多问题。

SFN 是一种药理活性较强的天然活性物质，在抗肿瘤方面也具有较好的作用效果，并且还提出其具有增强白血病细胞对化疗药物的敏感性^[7]。SFN 通过对细胞癌变起始期的调控，诱导肿瘤细胞走向凋亡，还能够阻滞肿瘤血管形成及降低肿瘤细胞侵袭转移^[13]。研究还发现，SFN 可通过诱导促凋亡蛋白 Bax 表达抑制肝癌细胞增殖、诱导其凋亡及降低其侵袭转移能力^[14]。本研究发现，SFN 能够增强 5-FU 对结肠癌 SW-480 细胞增殖的抑制效应，说明 SFN 可诱导 SW-480 细胞对 5-FU 的敏感性；并且研究还发现，SFN + 5-FU 联合处理组中 SW-480 细胞凋亡率比单独 5-FU 组的凋亡率明显升高，提示 SFN 能增强 5-FU 诱导的 SW-480 细胞凋亡。

通过流式细胞仪发现，SFN 能增强 5-FU 诱导的 SW-480 细胞凋亡，于是笔者从细胞凋亡角度考察介导 SFN 逆转化疗耐药可能的分子机制，对可能的凋亡相关基因 (Bax、Survivin、Bcl-2、p53 及 caspase-3) 进行了检测分析。结果证实，SFN + 5-FU 联合组中 Bax mRNA 表达显著高于其他 3 组。于是设想 Bax 可能介导了 SFN 逆转结肠癌细胞耐药的过程，但具体机制尚不清楚。Bax 基因家族是目前研究较多的与凋亡相关的基因，也是最受关注的促凋亡发生的基因家族^[15]。研究已发现，Bax 的表达在结肠癌的发生发展中发挥重要的作用，Bax 蛋白家族与其他家族成员构成复杂的相互作用网络，共同调控细胞凋亡^[16]。除此之外，研究已证实，Bax 与肿瘤细胞的耐药发生机制密切相关^[17-18]。本文实验结果进一步证实，SFN + 5-FU 联合处理组 SW-480 细胞中 Bax 蛋白表达水平明显高于 5-FU 单独处理组。为了进一步验证 SFN 通过调节 Bax 表达逆转结肠癌细胞对 5-FU 化疗的耐药作用，采用 pcDNA-Bax 低表达质粒抑制结肠癌细胞中 Bax 表达，发现 Bax 低表达降低了 SFN + 5-FU 联合作用对 SW-480 细胞活力的抑制作用。总之，SFN 可增强 5-FU 对结肠癌细胞增殖活力的抑制效应，并且还对 Bax 表达具有较强的诱导作用，提示 SFN 可通过增加 Bax 表达诱导结肠癌细胞对 5-FU 的敏感性。

参考文献

- [1] DIENSTMANN R, SALAZAR R, TABERNEO J. Personalizing colon cancer adjuvant therapy: selecting optimal treatments for individual patients [J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(16):1787-96.
- [2] KOZOVSKA Z, GABRISOVA V, KUCEROVA L. Colon cancer: cancer stem cells markers, drug resistance and treatment [J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, 68(8):911-916.
- [3] LING C Q, YUE X Q, LING C. Three advantages of using traditional Chinese medicine to prevent and treat tumor [J]. *J Integr Med*, 2014, 12(4):331-335.
- [4] JOHNSTON N. Sulforaphane halts breast cancer cell growth [J]. *Drug Discov Today*, 2004, 9(20):908-913.
- [5] FRYDOONFAR H R, MCGRATH D R, SPIGELMAN A D. Sulforaphane inhibits growth of a colon cancer cell line [J]. *Colorectal Dis*, 2004, 6(21):28-31.
- [6] HERMAN A A, XIAO H, LEW K L, et al. Induction of p21 protein protects against sulforaphane-induced mitotic arrest in LNCaP human prostate cancer cell line [J]. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6(21):1673-1681.
- [7] 许晓峰, 张学进, 程汝滨, 等. 萝卜硫素增加 HL-60 和人原代白血病细胞对化疗药敏感性实验研究 [J]. *浙江中西医结合杂志*, 2013, 23(7):526-530.
- [8] ALFAROUC K O. Tumor metabolism, cancer cell transporters, and microenvironmental resistance [J]. *J Enzyme Inhib Med Chem*, 2016, 31(6):859-866.
- [9] LEE H, LEE H, CHIN H, et al. ERBB3 knockdown induces cell cycle arrest and activation of Bak and Bax-dependent apoptosis in colon cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(13):5138-5152.
- [10] 萨日娜, 欧娟娟, 耿培亮, 等. 上皮-间质转化在人结肠癌细胞系 SW480 对西妥昔单抗及氟尿嘧啶耐药中的作用 [J]. *第三军医大学学报*, 2011, 33(8):776-779.
- [11] WANG W, GUO W, LI L, et al. Andrographolide reversed 5-FU resistance in human colorectal cancer by elevating BAX expression [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 121(12):8-17.
- [12] ZHANG D, FAN D. New insights into the mechanisms of gastric cancer multidrug resistance and future perspectives [J]. *Future Oncol*, 2010, 6(4):527-537.
- [13] 李冬冬, 郭贝贝, 杨英士, 等. 萝卜硫素抗癌机理研究进展 [J]. *中药材*, 2015, 38(8):1768-1771.
- [14] 韩玉芳, 赵延兵, 李俊, 等. 萝卜硫素诱导肝癌 Huh-6 细胞增殖和凋亡 [J]. *河南科技大学学报(医学版)*, 2017, 35(4):256-259.
- [15] WANG P, WANG P, LIU B, et al. Dynamin-related protein Drp1 is required for Bax translocation to mitochondria in response to irradiation-induced apoptosis [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(26):22598-22612.
- [16] LI Z, MENG J, XU T J, et al. Sodium selenite induces apoptosis in colon cancer cells via Bax-dependent mitochondrial pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013, 17(16):2166-2171.
- [17] MANOOCHEHRI M, KARBASI A, BANDEHPUR M, et al. Down-regulation of BAX gene during carcinogenesis and acquisition of resistance to 5-FU in colorectal cancer [J]. *Pathol Oncol Res*, 2014, 20(2):301-307.
- [18] 袁红霞, 刘彩梅, 刘清君, 等. 善胃 I 号方对胃癌前病变大鼠胃黏膜 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响 [J]. *中国现代中药*, 2009, 11(9):36-38.

(收稿日期: 2018-08-24 编辑: 王笑辉)

(上接第 457 页)

参考文献

- [1] 罗霞, 魏巍, 余梦瑶, 等. 尖顶羊肚菌对急性酒精性胃黏膜损伤保护作用研究 [J]. *菌物学报*, 2011, 30(2):319-324.
- [2] 王新梅, 闫美艳. 海藻多糖生物活性研究进展 [J]. *齐鲁药事*, 2009, 28(4):228-231.
- [3] 刘翠玲. 黄芪苷类对乙醇诱导 GES-1 细胞株损伤的保护及机制研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [4] 王宝庆, 郭宇莲, 练有扬, 等. 鸡内金化学成分及药理作用研究进展 [J]. *安徽农业科学*, 2017, 45(33):137-139.
- [5] 迟玉森, 马成印, 邵允琪, 等. 鸡内金有效成分的提取及其改善肠道保健功能的研究 [J]. *食品工业科技*, 1999, 20(4):21-22.
- [6] 郑红. 海藻蛸对胃粘膜损伤保护及其凝血、止血功效研究 [D]. 福州: 福建农业大学, 2015.
- [7] 王莹, 褚扬, 李伟, 等. 三七中皂苷成分及其药理作用的研究进展 [J]. *中草药*, 2015, 46(9):1381-1392.

(收稿日期: 2018-11-04 编辑: 姚霞)