

# BAK基因过表达对胃癌细胞的诱导凋亡作用及其分子机制

郑丽端, 童强松, 刘俊, 汪良, 钱伟

郑丽端, 华中科技大学同济医学院附属协和医院病理科  
湖北省武汉市 430022  
童强松, 汪良, 华中科技大学同济医学院附属协和医院外科  
湖北省武汉市 430022  
刘俊, 钱伟, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科  
湖北省武汉市 430022

郑丽端, 女, 1973-10-11 生, 福建省南安市人, 汉族. 1997 年同济医科大学  
本科毕业, 2001 级华中科技大学同济医学院在读硕士研究生, 主治医师. 主  
要从事消化系统疾病的分子病理研究.

项目负责人: 童强松, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附  
属协和医院外科. qs\_tong@hotmail.com

电话: 027-85726129

收稿日期: 2003-11-22 接受日期: 2003-12-22

## Effects of BAK gene over-expression on apoptosis in gastric cancer cells and its molecular mechanisms

Li-Duan Zheng, Qiang-Song Tong, Jun Liu, Liang Wang,  
Wei Qian

Li-Duan Zheng, Department of Pathology, Union Hospital of Tongji  
Medical College, Huazhong University of Science and Technology,  
Wuhan 430022, Hubei Province, China

Qiang-Song Tong, Liang Wang, Department of Surgery, Union Hospital  
of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and  
Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Jun Liu, Wei Qian, Department of Gastroenterology, Union Hospital of  
Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology,  
Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Dr. Qiang-Song Tong, Department of Surgery,  
Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of  
Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China.  
qs\_tong@hotmail.com

Received: 2003-11-22 Accepted: 2003-12-22

## Abstract

**AIM:** To explore the apoptosis-inducing effects of extrinsic BAK gene transfer and its over-expression on gastric cancer cells and its molecular mechanisms.

**METHODS:** The eukaryotic expression for BAK gene was constructed and transferred into gastric cancer MKN-45 cell line. After being transferred for 1 to 5 days, cellular BAK gene expression was detected by RT-PCR and Western blotting methods. The growth activities of cancer cells were detected by cell count and MTT colorimetry. Cell cycle changes were assayed by flow cytometry. Cellular apoptosis was assayed by electronic microscopy and in situ terminally labeled transferase technique (TUNEL). Cellular caspase-3 activities were observed by colorimetric method.

**RESULTS:** After being transferred for 1 to 5 days, cellular BAK mRNA and protein expression levels were significantly increased ( $P < 0.01$ ). In vitro growth of gastric cancer cells was inhibited by 11.6-35.3% ( $P < 0.01$ ). The cellular proliferation activities were decreased by 10.2-32.4% ( $P < 0.01$ ), with cell cycle being blocked at G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase. Partial cancer

cells presented the characteristic morphological changes of apoptosis, with the apoptotic rates being 21.4% ( $P < 0.01$ ). The cellular caspase-3 activities were enhanced by 4.45 times ( $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Transfection of extrinsic BAK gene, resulting in its over-expression, can significantly induce apoptosis of gastric cancer MKN-45 cells through activating caspase-3, which is a potential strategy for gene therapy of gastric cancer.

Zheng LD, Tong QS, Liu J, Wang L, Qian W. Effects of BAK gene over-expression on apoptosis in gastric cancer cells and its molecular mechanisms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(5):1025-1029

## 摘要

**目的:** 探讨转染外源性BAK基因及其过表达对胃癌细胞的诱导凋亡作用和分子机制.

**方法:** 构建携带有 BAK 基因的真核表达载体并转染胃癌 MKN-45 细胞 1-5 d 后, RT-PCR 和 Western Blotting 法检测 BAK 基因表达; 细胞计数、MTT 比色法检测癌细胞生长活性, 流式细胞仪分析细胞周期时相改变, 透射电镜、末端 TdT 酶标记技术检测癌细胞凋亡; 比色法检测癌细胞内 Caspase-3 活性改变.

**结果:** 转染 1-5 d 后, 癌细胞 BAK mRNA 和蛋白表达水平显著增强( $P < 0.01$ ), 癌细胞体外生长抑制 11.6-35.3% ( $P < 0.01$ ), 增生活性抑制 10.2-32.4% ( $P < 0.01$ ), 细胞周期出现 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞, 部分癌细胞出现胞体缩小、核固缩等凋亡形态学改变, 凋亡率为 21.4% ( $P < 0.01$ ); 癌细胞 Caspase-3 活性增强 4.45 倍( $P < 0.01$ ).

**结论:** 转染外源性 BAK 基因使其过表达能激活 Caspase-3, 显著诱导胃癌 MKN-45 细胞凋亡, 有望成为胃癌治疗的新途径.

郑丽端, 童强松, 刘俊, 汪良, 钱伟. BAK 基因过表达对胃癌细胞的诱导凋亡作用及其分子机制. *世界华人消化杂志* 2004;12(5):1025-1029

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/1025.asp>

## 0 引言

胃癌是我国常见的恶性肿瘤, 在不同地区约居癌症发病数的第 1-3 位, 且近年来发病率有上升趋势, 但其晚期治疗效果仍不理想<sup>[1-7]</sup>. 利用基因转导技术促进肿瘤细胞凋亡, 成为目前胃癌治疗研究的热点之一<sup>[8-14]</sup>. BAK (Bcl-2 homologous antagonist/killer) 基因是近年来发现的一种促凋亡基因, 应用基因转导的手段将其导入

肿瘤细胞已成功抑制了肺癌、乳腺癌等多种肿瘤的生长<sup>[15]</sup>。我们通过构建携带 BAK cDNA 的真核表达载体,观察了 BAK 基因过表达对胃癌细胞的诱导凋亡作用及其分子机制,旨在寻求胃癌治疗的新途径。

## 1 材料和方法

1.1 材料 质粒 pET-BAK 由美国冷泉港分子生物学实验室 Patty Wendel 博士惠赠,在其限制性酶切位点 Xho I 和 Hind III 间含有 BAK 基因 cDNA (633 bp)。真核表达载体 pcDNA<sub>3</sub> 由本校生化教研室屈伸教授惠赠。限制性内切酶和 DNA 快速回收纯化试剂盒购自 Promega 公司, T<sub>4</sub> DNA 连接酶购自 Takara 公司。碘化丙锭购自 Sigma 公司。原位末端转移酶标记 (TUNEL) 试剂盒购自武汉博士德公司, Caspase-3 活性检测试剂盒购自 Clontech 公司。BAK 基因真核表达载体的构建参见 (Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press 1998; 254-325)。限制性内切酶 Xho I、Hind III 双切质粒 pET-BAK 和 pcDNA<sub>3</sub>, 分别回收 0.63 kb 的基因片段和 5.4 kb 的线性化载体片段, T<sub>4</sub> DNA 酶进行连接反应, 将重组体命名为 pcDNA-BAK, 酶切鉴定。

1.2 方法 人胃癌细胞株 MKN-45 由本院中心实验室董继华教授惠赠。用含 100 mL/L 胎牛血清、100 kU/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素的 RPMI1640 培养基 (Gibco), 在 37 °C, 50 mL/L CO<sub>2</sub> 条件下培养。设置未转染对照组、pcDNA<sub>3</sub> 转染组、pcDNA-BAK 转染组, 基因转染参照脂质体 lipofectamine 2000 (Gibco) 说明书进行。BAK mRNA 表达水平检测采用 RT-PCR 法。细胞总 RNA 的提取参照 Trizol 试剂盒 (Life Technologies 公司) 说明书进行。逆转录反应后, 加入下列引物进行 PCR 扩增: BAK (502 bp) 上游 5' -CTGCCCTCTGCTTCTGA-3', 下游 5' -CGTTCAGGATGGGACCA-3'; 同时以  $\alpha$ -tubulin (295 bp) 上游 5' -CCCGTCTTCAGGGTCTCTTG-3', 下游 5' -TTAAGGTAAGTGTAGTTGGG-3' 作为反应内参照。扩增产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳分离, 紫外灯下观察并拍照。凝胶图像分析仪 (Gel Doc 1000 型, Bio-Rad 公司) 检测 BAK 与  $\alpha$ -tubulin 扩增片段灰度的比值。BAK 蛋白表达水平检测采用 Western Blotting 法, 参照 (Sambrook J, Russell DW. Molecular Cloning: A Laboratory Manual. 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press 1998; 254-325) 进行蛋白质提取、定量和分离。转膜后先后与 10 g/L 脱脂奶粉、鼠抗人 BAK mAb (武汉博士德公司)、过氧化物酶偶联的山羊抗鼠 IgG 孵育, 运用 ECL Western blotting kit 显色。图像分析系统测定 BAK 蛋白条带密度。

1.2.1 细胞生长特征 接种  $2 \times 10^5$  /L MKN-45 细胞 0.5 mL 入 24 孔培养板, 每组 5 个复孔, 转染后用 RPMI 1640 完全培养基在 37 °C, 50 mL/L CO<sub>2</sub> 条件下培养, 每 24 h 用 1.25 g/L 胰酶 + 0.1 g/L EDTA 消化细胞, 台盼兰染色,

于倒置显微镜下计数活细胞, 每次计数重复 3 次, 连续测定 5 d, 绘制细胞生长曲线。细胞增生活性检测采用 MTT 比色法。转染 1、3、5 d 后, 加入 5 g/L MTT (Clontech 公司) 20  $\mu$ L/孔, 继续培养 4 h, 弃去上清, 加 DMSO 100  $\mu$ L/孔, 振荡至结晶溶解, 酶标仪 570 nm 波长处测定吸光度  $A_{570nm}$  值。细胞增生抑制率 (%) =  $(1 - \text{实验组平均吸光度 } A_{570nm} \text{ 值} / \text{对照组平均吸光度 } A_{570nm} \text{ 值}) \times 100\%$ 。细胞周期时相检测采用流式细胞仪法。上述三组癌细胞培养至 3 d, 分别收集  $2 \times 10^6$  细胞, PBS 洗涤 2 次, 700 mL/L 乙醇固定过夜, 4 °C 保存, 检测前用 PBS 洗涤, 加入 RNase (1 g/L) 200  $\mu$ L, 37 °C 水浴 30 min, 用碘化丙锭 (500 mg/L) 800  $\mu$ L 进行染色, 室温避光 30 min, 流式细胞仪 (Becton Dickson 公司) 进行 DNA 含量分析, 所用软件为 CellQuest。

1.2.2 细胞形态学检测 收集上述三组癌细胞, PBS 洗涤 1 次, 25 mL/L 戊二醛固定 30 min, PBS 洗涤并悬浮细胞, 常规包埋、切片, 透射电镜观察并摄影。采用末端 TdT 酶标记技术 (TUNEL) 检测转染 3 d 后各处理组的细胞凋亡。3 mL/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 封闭 30 min, 20 mg/L 蛋白酶 K 消化液作用 20 min, TUNEL 反应液 37 °C 孵育 60 min, 滴加过氧化物酶连接的抗体, 37 °C 孵育 30 min, DAB 显色, 苏木素复染。以 PBS 替代 TUNEL 反应液作阴性对照。在光学显微镜下, 凋亡细胞体积缩小, 核固缩, 染色质呈特异的棕黄色。细胞凋亡率 (%) =  $(500 \text{ 个细胞中凋亡细胞数} / 500) \times 100\%$ 。

1.2.3 Caspase-3 活性测定 分别收集  $2 \times 10^5$  各处理组细胞, 加入细胞裂解缓冲液 50  $\mu$ L, 冰上孵育 10 min; 12 000 r/min, 4 °C 离心细胞裂解液 3 min, 回收上清, 每管依次 50  $\mu$ L 的  $2 \times$  反应缓冲液, 1 mmol/L Caspase-3 底物 DEVD-pNA 5  $\mu$ L, 37 °C 孵育 1 h, 转移至 96 孔板中, 用酶标仪测定波长 405 nm 的吸光度值 ( $A_{405nm}$ ), 表示 Caspase-3 的相对活性。

统计学处理 采用 SPSS 统计学软件进行数据分析。

## 2 结果

将 BAK 基因片段正向插入到载体 pcDNA<sub>3</sub> 中, 得到携带 BAK 基因的真核表达载体 pcDNA-BAK (6.0 kb)。根据基因和载体的物理图谱, 选取 Xho I、Hind III 单酶切和 Xho I 和 Hind III 双酶切该重组体, 酶切产物经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 证实 BAK cDNA 已插入重组体 pcDNA-BAK 中 (图 1)。RT-PCR 产物电泳后, 未转染对照组和空载体 pcDNA<sub>3</sub> 转染组均可见 BAK (502 bp) 和  $\alpha$ -tubulin (295 bp) 条带, 二者 BAK/ $\alpha$ -tubulin 灰度比值分别为 0.81, 0.83, 统计学分析差异无显著性意义 ( $P > 0.05$ )。外源性 BAK 基因转染 3 d 后, BAK/ $\alpha$ -tubulin 灰度比值为 2.98, 即 BAK mRNA 表达较未转染对照组增强 3.67 倍 ( $P < 0.01$ , 图 2)。未转染对照组、pcDNA<sub>3</sub> 转染组、pcDNA-BAK 转染组细胞经 Western Blotting 检测均可见  $M_r$  28 000 的蛋白条带。经图像分析系统证实,

pcDNA-BAK 转染组的 BAK 蛋白条带灰度值为对照组、pcDNA<sub>3</sub> 转染组的 3.1 倍( $P < 0.01$ )和 3.2 倍( $P < 0.01$ ); 未转染对照组、pcDNA<sub>3</sub> 转染组细胞 BAK 蛋白条带灰度值之间无显著性差异( $P > 0.05$ , 图 3).

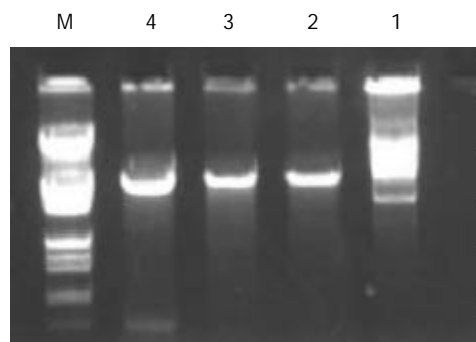


图 1 真核表达载体 pcDNA-BAK 的酶切鉴定分析. 1: pcDNA-BAK; 2: pcDNA-BAK / Xho I; 3: pcDNA-BAK / Hind III; 4: pcDNA-BAK / Xho I+Hind III; M:  $\lambda$  DNA / Hind III + EcoR I.

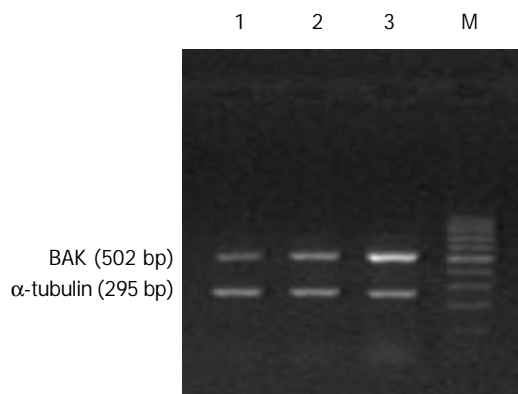


图 2 RT-PCR 检测各组癌细胞 BAK mRNA 表达水平. 1: 未转染对照组; 2: 空载体转染组; 3: BAK 转染组 M: PCR marker (100 bp, 200 bp, 300 bp, 400 bp, 500 bp, 600 bp, 700 bp, 800 bp, 900 bp, 1 000 bp).

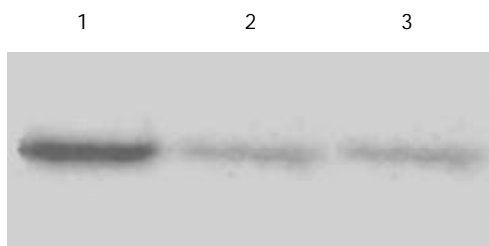


图 3 Western Blotting 检测各组癌细胞 BAK 蛋白表达水平. 1: BAK 转染组; 2: 空载体转染组; 3: 未转染对照组.

**2.1 细胞生长特征** 未转染对照组 MKN-45 细胞体外生长活跃, 经 pcDNA-BAK 转染 1-5 d 后, 癌细胞体外生长减慢, 抑制率为 11.6-35.3%( $P < 0.01$ ); 空载体 pcDNA<sub>3</sub> 转染组癌细胞体外生长活性与未转染对照组比较差异无显著性意义( $P > 0.05$ , 图 4). 细胞增殖活性检测未转染对照组  $A_{570nm}$  值随时间推移而递增, 反映癌细胞体外增生活跃. pcDNA-BAK 转染 1-5 d 后, MKN-45 细胞增殖活性均不同程度地减弱, 抑制率为 10.2-32.4% ( $P < 0.01$ ). pcDNA<sub>3</sub> 转染组与未转染对照组  $A_{570nm}$  值之间的

差异无显著性意义( $P > 0.05$ , 图 5). 在 DNA 直方图上, pcDNA-BAK 转染组癌细胞 S 期比例(36.6%)显著低于非转染对照组(55.1%), 细胞生长受阻于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期 (比率分别为 32.2%、12.5%). pcDNA<sub>3</sub> 转染组与未转染对照组比较细胞周期时相分布无显著差异( $P > 0.05$ , 图 6).

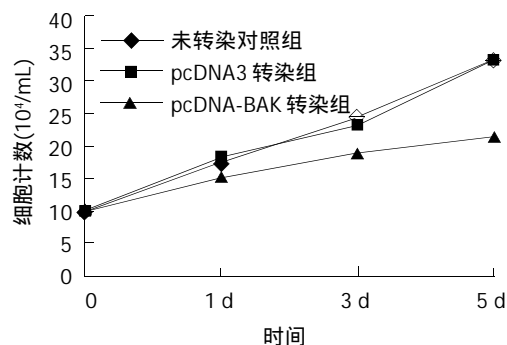


图 4 BAK 基因过表达对胃癌 MKN-45 细胞体外生长活性的影响.

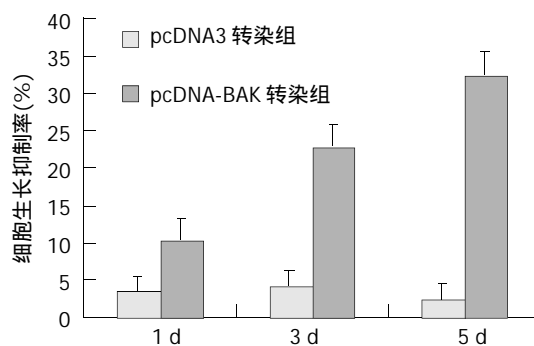


图 5 BAK 基因过表达对胃癌 MKN-45 细胞增殖活性的抑制作用.

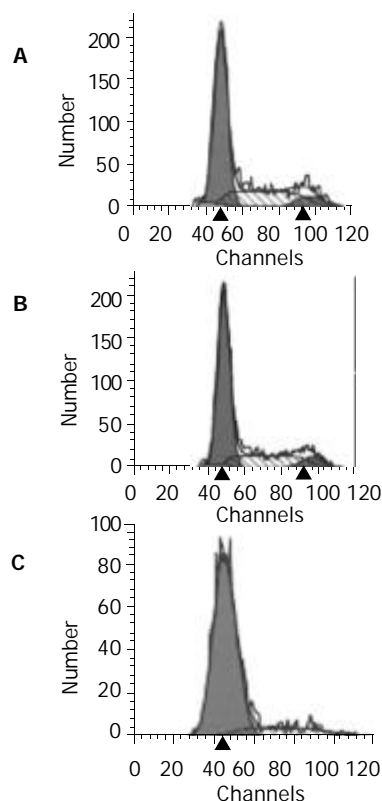


图 6 BAK 基因过表达诱导 MKN-45 细胞周期 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞. A: 未转染对照组; B: pcDNA<sub>3</sub> 转染组; C: pcDNA-BAK 转染组.

**2.2 细胞形态学** 未转染对照组细胞生长旺盛, 形态规则, 以多边形居多. pcDNA-BAK 转染后部分细胞体积缩小, 形态不规则, 圆形细胞比例增多. 透射电镜观察见部分癌细胞呈现核固缩、染色质核膜下聚集、胞体缩小、胞膜完整等凋亡特征性改变(图 7). 未转染对照组胃癌 MKN-45 细胞凋亡率为 4.7%. pcDNA-BAK 转染 3 d 后, 细胞凋亡率为 21.4%, 二者比较差异有显著性意义( $P < 0.01$ ); 空载体转染对癌细胞凋亡率无显著性影响( $P > 0.05$ , 图 8).

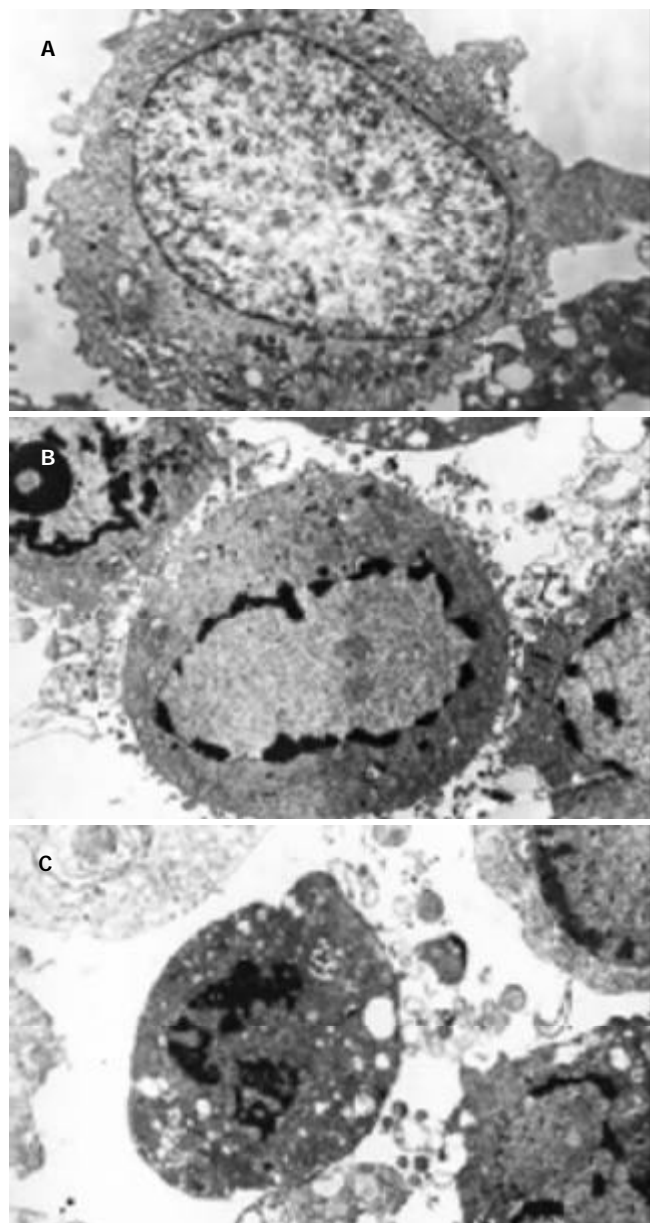


图 7 透射电镜观测 BAK 基因过表达后胃癌细胞形态学改变. A: 未转染对照组; B: pcDNA-BAK 转染组细胞染色质边集; C: pcDNA-BAK 转染组细胞核固缩.

**2.3 Caspase-3 活性** 未转染对照组 MKN-45 细胞  $A_{405\text{ nm}}$  值为  $0.055 \pm 0.008$ . 经 pcDNA-BAK 转染 3 d 后, 癌细胞  $A_{405\text{ nm}}$  值为  $0.245 \pm 0.012$  ( $P < 0.01$ ), 较对照组增强 4.45 倍. pcDNA<sub>3</sub> 转染组与未转染对照组比较  $A_{405\text{ nm}}$  值差异无显著性意义( $P > 0.05$ , 图 9).

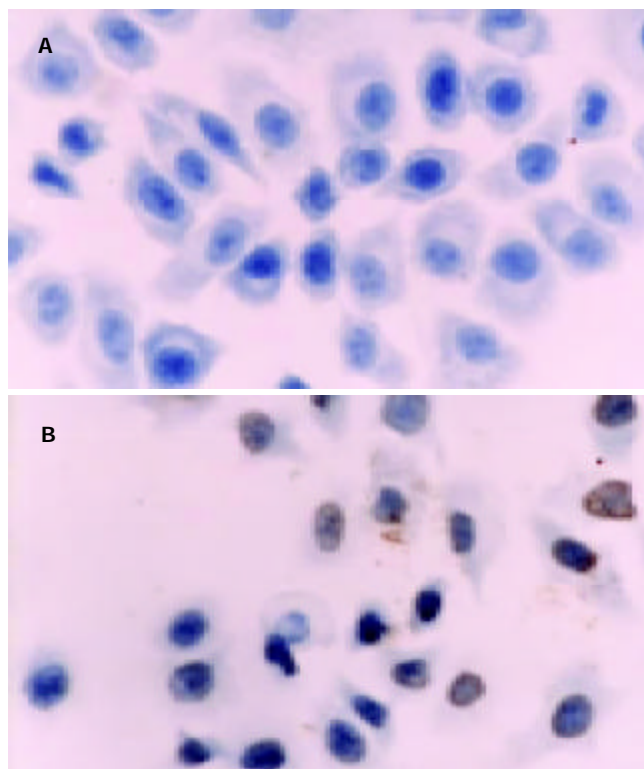


图 8 TUNEL 技术检测 BAK 基因过表达后癌细胞凋亡 ( $\times 200$ ). A: 未转染对照组未见明显的细胞凋亡; B: pcDNA-BAK 转染组癌细胞胞体缩小、核黄染.

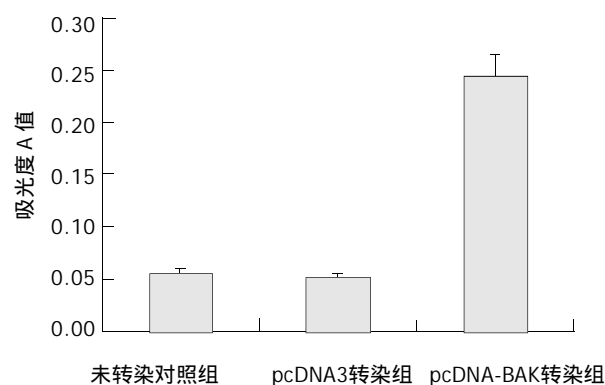


图 9 BAK 基因过表达后癌细胞 Caspase-3 活性检测.

### 3 讨论

肿瘤的发生不但与细胞增生和分化异常有关, 而且与细胞凋亡异常关系密切. Bcl-2 家族包括凋亡抑制基因 Bcl-2, Bcl-xl, ced-9 和促凋亡基因 Bax, Bad, Bcl-xs 等<sup>[16-18]</sup>. BAK 基因促进细胞凋亡的机制: BAK 通过其 BH<sub>3</sub> 结构域与 Bcl-2 和 Bcl-xl 相互作用形成异源二聚体, 从而抑制 Bcl-2 和 Bcl-xl 的抑凋亡活性, 具有加速细胞凋亡作用<sup>[19]</sup>; BAK 直接激活凋亡途径或作为细胞死亡过程中的组成部分被活化而促进细胞凋亡. 有研究表明, BAK 可通过与 CD95 和 TNF 死亡受体相似的途径活化而促进细胞凋亡<sup>[20]</sup>. BAK 基因表达的异常与肿瘤的发生、发展紧密相关. 在胃癌的研究中, Kondo et al<sup>[21]</sup>发现 BAK 基因表达的阳性率与胃癌病理分级、临床分期负相关. 许多肿瘤治疗药物(紫苏子醇、 $\gamma$ -干扰素)作用机制均

与上调 BAK 基因表达有关<sup>[22-24]</sup>。最近, Pataer et al<sup>[15, 25]</sup>应用腺病毒作为载体, 将 BAK 基因导入肺癌及乳腺癌细胞, 获得了显著的抑瘤效应, 为肿瘤基因治疗提供了新的思路。

我们通过分子克隆技术成功构建 BAK 基因的真核表达载体, 观测了转导外源性 BAK 基因对胃癌 MKN-45 细胞体外生长的影响, 结果表明: 未转染对照组胃癌 MKN-45 细胞中存在 BAK 基因弱阳性表达, 当脂质体介导 BAK 真核表达载体转染 3 d 后, 癌细胞 BAK mRNA 和蛋白水平均显著增强, 说明转染外源性 BAK 基因能使其在 MKN-45 细胞中过表达; BAK 过表达后癌细胞体外生长及增生活性显著减慢, 细胞周期阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期; 通过不同方法均观察到癌细胞凋亡现象: 透射电镜观察到癌细胞凋亡特征性形态学改变, TUNEL 进一步证实过表达 BAK 基因对胃癌细胞凋亡的促进作用, 凋亡率为 21.4%。

近年来认为细胞凋亡的发生最终可能涉及到一种依赖天门冬氨酸的半胱氨酸酶, 称之为 Caspase。至今为止, 已有编码 14 种 Caspase 的 cDNA 被克隆, 所有的 Caspase 都以非活性形式合成, 然后以亚单位形式激活后释放。其中, Caspase-3 是 Caspase 酶联反应的终末因子之一。Bcl-2 蛋白作为细胞凋亡的主要拮抗成分, 能抑制线粒体膜的通透性和阻止细胞色素 C 的释放。在凋亡信号传导的过程中, Bcl-2 作用在 Caspase-3 的上游, 可通过阻断 Caspase-3 激活而发挥抑制细胞凋亡作用。本研究表明: 过表达 BAK 基因能促使癌细胞 Caspase-3 活性增强, 这可能与 BAK 基因可以拮抗 Bcl-2 生物学功能, 减轻对 Caspases 级联效应的负性调控有关。随着研究的深入, 我们相信: 作为一种新的诱导凋亡基因, BAK 在胃癌治疗方面必将展现广泛的研究及应用前景。

#### 4 参考文献

- Gulmann C, Hegarty H, Grace A, Leader M, Patchett S, Kay E. Differences in proximal (cardia) versus distal (antral) gastric carcinogenesis via the retinoblastoma pathway. *World J Gastroenterol* 2004;10:17-21
- Ding YB, Chen GY, Xia JG, Zang XW, Yang HY, Yang L, Liu YX. Correlation of tumor-positive ratio and number of perigastric lymph nodes with prognosis of patients with surgically-removed gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004;10:182-185
- Yu Y, Zhang YC, Zhang WZ, Shen LS, Hertzog P, Wilson TJ, Xu DK. Ets1 as a marker of malignant potential in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:2154-2159
- Zhang J, Su XQ, Wu XJ, Liu YH, Wang H, Zong XN, Wang Y, Ji JF. Effect of body mass index on adenocarcinoma of gastric cardia. *World J Gastroenterol* 2003;9:2658-2661
- Guo HQ, Guan P, Shi HL, Zhang X, Zhou BS, Yuan Y. Prospective cohort study of comprehensive prevention to gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2003;9:432-436
- Shi XY, Zhao FZ, Dai X, Ma LS, Dong XY, Fang J. Effect of jianpiyiwei capsule on gastric precancerous lesions in rats. *World J Gastroenterol* 2002;8:608-612
- Wu GH, Zhang YW, Wu ZH. Modulation of postoperative immune and inflammatory response by immune-enhancing enteral diet in gastrointestinal cancer patients. *World J Gastroenterol* 2001;7:357-362
- Yang LQ, Fang DC, Wang RQ, Yang SM. Effect of NF-kappaB, survivin, Bcl-2 and Caspase3 on apoptosis of gastric cancer cells induced by tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand. *World J Gastroenterol* 2004;10:22-25
- Liu YB, Wei ZX, Li L, Li HS, Chen H, Li XW. Construction and analysis of SSH cDNA library of human vascular endothelial cells related to gastroduodenal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2003;9:2419-2423
- Zhang JH, Wan MX, Yuan JY, Pan BR. Construction and identification of recombinant vectors carrying herpes simplex virus thymidine kinase and cytokine genes expressed in gastric carcinoma cell line SGC7901. *World J Gastroenterol* 2004;10:26-30
- Fu YG, Qu YJ, Wu KC, Zhai HH, Liu ZG, Fan DM. Apoptosis-inducing effect of recombinant Caspase-3 expressed by constructed eukaryotic vector on gastric cancer cell line SGC7901. *World J Gastroenterol* 2003;9:1935-1939
- Zhu XD, Lin GJ, Qian LP, Chen ZQ. Expression of survivin in human gastric carcinoma and gastric carcinoma model of rats. *World J Gastroenterol* 2003;9:1435-1438
- Li HL, Chen DD, Li XH, Zhang HW, Lu JH, Ren XD, Wang CC. JTE-522-induced apoptosis in human gastric adenocarcinoma cell line AGS cells by caspase activation accompanying cytochrome C release, membrane translocation of Bax and loss of mitochondrial membrane potential. *World J Gastroenterol* 2002;8:217-223
- Han ZY, Wu KC, He FT, Han QL, Nie YZ, Han Y, Liu XN, Zheng JY, Xu MH, Lin T, Fan DM. Screening and identification of mimotope of gastric cancer associated antigen MGB1-Ag. *World J Gastroenterol* 2003;9:1920-1924
- Pataer A, Fang B, Yu R, Kagawa S, Hunt KK, McDonnell TJ, Roth JA, Swisher SG. Adenoviral Bak overexpression mediates caspase-dependent tumor killing. *Cancer Res* 2000;60:788-792
- Burlacu A. Regulation of apoptosis by Bcl-2 family proteins. *J Cell Mol Med* 2003;7:249-257
- Sakudo A, Lee DC, Saeki K, Matsumoto Y, Itoharu S, Onodera T. Tumor necrosis factor attenuates prion protein-deficient neuronal cell death by increases in anti-apoptotic Bcl-2 family proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;310:725-729
- Kochendoerfer SK, Krishnan N, Buckley DJ, Buckley AR. Pro-lactin regulation of Bcl-2 family members: increased expression of bcl-xL but not mcl-1 or bad in Nb2-T cells. *J Endocrinol* 2003;178:265-273
- Ruffolo SC, Shore GC. Bcl-2 selectively interacts with the BID-induced open conformer of BAK, inhibiting BAK auto-oligomerization. *J Biol Chem* 2003;278:25039-25045
- Werner AB, de Vries E, Tait SW, Bontjer I, Borst J. Bcl-2 family member Bfl-1/A1 sequesters truncated bid to inhibit its collaboration with pro-apoptotic Bak or Bax. *J Biol Chem* 2002;277:22781-22788
- Kondo S, Shinomura Y, Miyazaki Y, Kiyohara T, Tsutsui S, Kitamura S, Nagasawa Y, Nakahara M, Kanayama S, Matsuzawa Y. Mutations of the bak gene in human gastric and colorectal cancers. *Cancer Res* 2000;60:4328-4330
- Shyu RY, Su HL, Yu JC, Jiang SY. Direct growth suppressive activity of interferon-alpha and gamma on human gastric cancer cells. *J Surg Oncol* 2000;75:122-130
- Ray S, Almasan A. Apoptosis induction in prostate cancer cells and xenografts by combined treatment with Apo2 ligand/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and CPT-11. *Cancer Res* 2003;63:4713-4723
- Zhou XM, Wong BC, Fan XM, Zhang HB, Lin MC, Kung HF, Fan DM, Lam SK. Non-steroidal anti-inflammatory drugs induce apoptosis in gastric cancer cells through up-regulation of bax and bak. *Carcinogenesis* 2001;22:1393-1397
- Pearson AS, Spitz FR, Swisher SG, Kataoka M, Sarkiss MG, Meyn RE, McDonnell TJ, Cristiano RJ, Roth JA. Up-regulation of the proapoptotic mediators Bax and Bak after adenovirus-mediated p53 gene transfer in lung cancer cells. *Clin Cancer Res* 2000;6:887-890