

# 黄芩甙对肝癌细胞BEL-7402线粒体膜电位、细胞内Ca<sup>2+</sup>和Cyt C的影响

郭霞, 郭昱

## ■背景资料

近年来发现黄芩甙诱导肿瘤细胞凋亡,但既往对凋亡的形态观察重点在细胞核的变化上,线粒体作为能量器官其形态又会有什么变化研究甚少。本研究拟观察黄芩甙作用后线粒体超微结构以及细胞内Ca<sup>2+</sup>的含量、线粒体膜电位和细胞色素C的变化,探讨线粒体损伤在黄芩甙诱导肝癌细胞凋亡中的机制。

郭霞, 河北医科大学第四医院 河北省石家庄市 050011

郭昱, 河北医科大学第二医院 河北省石家庄市 050000

郭霞, 副主任医师, 主要从事肝癌的中医药研究。

**作者贡献分布:** 郭霞与郭昱此文所作贡献均等; 此课题由郭霞和郭昱设计; 研究过程由郭霞、郭昱共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由郭昱提供; 数据分析由郭昱完成; 本论文写作由郭霞、郭昱完成。

**通讯作者:** 郭昱, 050000, 河北省石家庄市, 河北医科大学第二医院. guoyu123123@sina.com

电话: 0311-66002951

收稿日期: 2007-10-09 修回日期: 2008-01-23

## Effect of baicalin on mitochondrial membrane potential, Ca<sup>2+</sup> and cytochrome C in HCC cell line BEL-7402

Xia Guo, Yu Guo

Xia Guo, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China

Yu Guo, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu Guo, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. guoyu123123@sina.com

Received: 2007-10-09 Revised: 2008-01-23

## Abstract

**AIM:** To study the effect of mitochondria membrane injury on baicalin-induced liver cancer cell apoptosis and its possible mechanism.

**METHODS:** Hepatocellular carcinoma (HCC) BEL-7402 cells were cultured. Changes in mitochondria ultra-structure were observed under transmission electron microscope. Changes in mitochondria membrane potential, intracellular Ca<sup>2+</sup> and apoptosis rate were detected by flow cytometry. Cytochrome C level was detected using fluorescence method. Expression of protein bcl-2 and activity of capases-3 were assessed by flow cytometry.

**RESULTS:** Baicalin induced BEL-7402 cell apoptosis in a dose-dependent manner and significantly changed the ultra-structure of mitochondria. The level of mitochondria membrane

potential was significantly decreased (85.49 ± 2.17, 82.59 ± 2.18, 28.45 ± 2.39, respectively, at 6, 24 and 48 h). The release of intracellular Ca<sup>2+</sup> and cytochrome C was increased, while the expression of Bcl-2 was decreased and the activity of caspase-3 was increased. The values for mitochondria membrane potential, intracellular Ca<sup>2+</sup> and cytochrome C were 19.56 ± 2.09, 14.76 ± 1.03 and 88.79 ± 4.32 at 6 h; 82.59 ± 2.1, 14.76 ± 1.03 and 44.57 ± 5.56 at 24 h; 28.45 ± 2.39, 88.79 ± 4.32 and 78.63 ± 7.65 at 48 h.

**CONCLUSION:** Baicalin induces apoptosis of HCC BEL-7402 cells in a dose-dependent manner and mitochondria play an important role in apoptosis by inhibiting Bcl-2 protein expression in liver cancer cells, increasing the activity of caspase-3 and the level of intracellular Ca<sup>2+</sup>, promoting mitochondrial membrane permeability and cytochrome C release, decreasing mitochondrial transmembrane potential.

**Key Words:** Baicalin; Hepatocellular carcinoma; Apoptosis; Mitochondria membrane potential; Cytochrome C; Ca<sup>2+</sup>

Guo X, Guo Y. Effect of baicalin on mitochondrial membrane potential, Ca<sup>2+</sup> and cytochrome C in HCC cell line BEL-7402. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(5): 468-472

## 摘要

**目的:** 探讨线粒体损伤在黄芩甙诱导肝癌细胞凋亡中的作用及可能的机制。

**方法:** 应用细胞培养技术培养肝癌细胞BEL-7402, 透射电镜观察线粒体的变化; 应用流式细胞仪检测细胞凋亡百分率及线粒体膜电位、细胞内Ca<sup>2+</sup>的改变, 荧光发光法检测细胞色素(cytochrome C, Cyt C)含量, Bcl-2蛋白表达和流式细胞仪测定caspase-3活性。

**结果:** 黄芩甙诱导肝癌细胞BEL-7402凋亡呈剂量依赖关系, 线粒体结构出现明显改变; 肝癌细胞线粒体膜电位降低, 6 h、24 h、48 h分

## ■同行评议者

党双锁, 副教授, 西安交通大学第二医院感染科

别为85.49±2.17、82.59±2.18、28.45±2.39; 细胞内Ca<sup>2+</sup>和Cyt C的释放增加, Bcl-2蛋白表达下降和caspase-3活性增加. 在6 h、24 h、48 h时细胞线粒体膜电位, 细胞内Ca<sup>2+</sup>和Cyt C的释放分别为(6 h: 85.49±2.17、19.56±2.09、35.36±3.21; 24 h: 82.59±2.18、14.76±1.03、44.57±5.56; 48 h: 28.45±2.39、88.79±4.32、78.63±7.65).

**结论:** 线粒体损伤在黄芩甙诱导肝癌细胞凋亡中起重要作用, 其机制可能为抑制肝癌细胞Bcl-2蛋白表达, 促进caspase-3活性增加, 使细胞内Ca<sup>2+</sup>增加, 激发线粒体膜通透性转运孔开放, 降低线粒体跨膜电位, 促进Cyt C的释放.

**关键词:** 黄芩甙; 肝癌细胞; 凋亡; 线粒体膜电位; 细胞色素C; Ca<sup>2+</sup>

郭霞, 郭昱. 黄芩甙对肝癌细胞BEL-7402线粒体膜电位、细胞内Ca<sup>2+</sup>和Cyt C的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16(5): 468-472  
http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/468.asp

## 0 引言

黄芩甙是从唇形科植物黄芩中提取、分离出来的一种黄酮类化合物, 是黄芩的主要有效成分之一, 除传统意义上的解热、利胆、保肝、抗菌等药理作用外, 近年来发现黄芩甙具有抗肿瘤作用<sup>[1-2]</sup>. 诱导肿瘤细胞凋亡是重要的抗肿瘤策略之一. 既往对凋亡的形态观察重点在细胞核的变化上, 线粒体作为能量器官其形态又会有什么变化? 因此, 本研究拟观察黄芩甙作用后线粒体超微结构以及细胞内Ca<sup>2+</sup>的含量、线粒体膜电位和细胞色素C(Cytochrome C, Cyt C)的变化, 探讨线粒体损伤在黄芩甙诱导肝癌细胞凋亡中的机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人肝癌细胞株BEL-7402由本室冻存; 黄芩甙由四川汉坤植化有限公司提供(纯度≥95% 分子质量446.35 kDa); RPMI-1640培养液, Bcl-2、Cyt C mAb为北京中山试剂公司产品; JEM2000EX透射电镜, 流式细胞仪Epics XL II型为美国Beckman Coulter公司产品.

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 人肝癌细胞株BEL-7402培养于RPMI-1640培养液, 内含100 g/L小牛血清、100 000 U/L青霉素、100 mg/L链霉素, 置37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>, 恒温密闭式孵箱内培养传代.

**1.2.2 黄芩甙对肝癌细胞凋亡的影响:** 空白对照组、1.25 mg/L、2.5 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、40 mg/L黄芩甙处理组分别作用48 h后, 制备各细胞悬液, PI染色流式细胞计数测定凋亡率.

**1.2.3 透射电镜:** 取对数生长期细胞接种于培养瓶内, 分别加入10 mg/L黄芩甙及等量培养液作用48 h, 收集细胞, 常规透射电镜样品制备, 透射电镜下观察亚细胞结构.

**1.2.4 流式细胞仪检测线粒体膜电位、细胞内Ca<sup>2+</sup>:** 空白对照组、10 mg/L黄芩甙处理组分别作用6 h、24 h、48 h后制备各细胞悬液, PBS洗涤、弃上清, 分别加入下列染液: 1 mmol/L rhodamine 123, 1 mmol/L Fluo-3, 37℃孵育20 min, 37℃孵育20 min, PBS洗涤、重悬、流式检测.

**1.2.5 免疫荧光检测Cyt C:** 40 g/L多聚甲醛固定细胞20 min, PBS洗涤后用山羊血清封闭30 min, 加入抗大鼠Cyt C单克隆抗体, 4℃过夜, PBS洗涤后加入FITC荧光标记二抗, 37℃孵育40 min, 90%碱性甘油封固, 用Novo start全自动荧光发光检测仪对荧光强度进行定量分析.

**1.2.6 Bcl-2蛋白表达检测:** 作用48 h后, 消化细胞10<sup>5</sup>左右, PBS洗涤2次后, 20 g/L中性甲醛固定30 min, 0.3%皂素渗透5 min, 弃上清, 加1:50稀释的鼠抗人Bcl-2蛋白单克隆抗体, 冰上孵育45 min, PBS洗涤后, 流式细胞检测Bcl-2表达.

**1.2.7 caspase-3活性检测:** 作用48 h后, 按300 μL细胞悬液加1 μL FITC-DEVD-FMK, 37℃ 50 mL/L CO<sub>2</sub>孵育30 min, 用Wash buffer重悬细胞2次后加300 μL Wash buffer混匀, 置于冰上, 流式细胞检测.

**统计学处理** 计量资料数据以mean±SD表示, 用SPSS10.0软件进行统计分析. 多组间的均数差异性比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)及LSD检验. *P*<0.05为有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 黄芩甙对肝癌细胞凋亡的影响** 1.25 mg/L、2.5 mg/L、5 mg/L、10 mg/L、20 mg/L、40 mg/L黄芩甙分别作用肝癌细胞48 h后, 凋亡百分率分别为2.32%±0.72%、2.42%±0.68%、9.86%±1.98%、17.59%±3.26%、22.27%±3.89%、24.34%±3.79%, 与对照组(2.18%±0.66%)比较, 后两者有统计学意义(*P*<0.01), 呈量效关系.

## ■ 研究前沿

目前诱导肿瘤细胞凋亡, 已成为抗肿瘤的重要策略之一, 许多学者已逐渐认识到线粒体是细胞凋亡的“中心执行者”, 线粒体膜通透性转运改变是线粒体调节凋亡的重要机制.

### ■创新盘点

本研究深入探讨了线粒体损伤在黄芩甙诱导肝癌细胞凋亡中的机制。

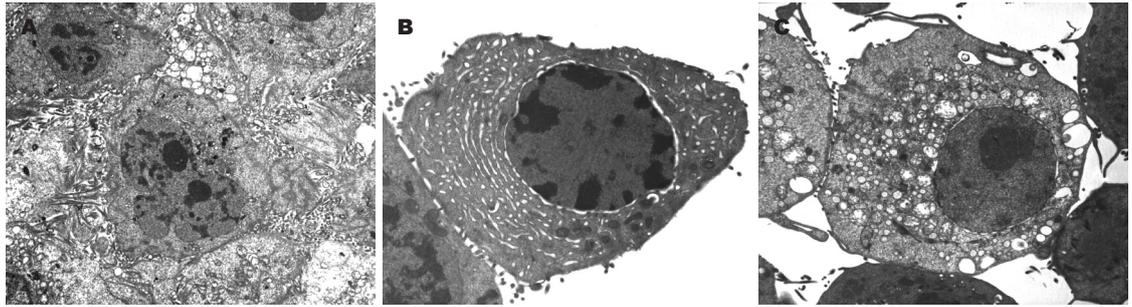


图1 透射电镜观察. A: 对照组( $\times 13\ 500$ ); B-C: 黄芩甙处理组( $\times 15\ 000$ ).

表1 黄芩甙对肝癌细胞线粒体膜电位的影响(mean  $\pm$  SD)

分组	6 h	24 h	48 h
对照组	88.76 $\pm$ 2.54	98.56 $\pm$ 3.79	86.38 $\pm$ 2.63
处理组	85.49 $\pm$ 2.17	82.59 $\pm$ 2.18	28.45 $\pm$ 2.39 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 处理组.

表2 黄芩甙对肝癌细胞细胞内Ca<sup>2+</sup>的影响 (mean  $\pm$  SD)

分组	6 h	24 h	48 h
对照组	16.27 $\pm$ 2.15	15.18 $\pm$ 2.19	14.58 $\pm$ 2.89
处理组	19.56 $\pm$ 2.09	14.76 $\pm$ 1.03	88.79 $\pm$ 4.32 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 处理组.

表3 黄芩甙对肝癌细胞Cyt C的影响(mean  $\pm$  SD)

分组	6 h	24 h	48 h
对照组	30.29 $\pm$ 3.36	28.91 $\pm$ 2.87	29.43 $\pm$ 2.47
处理组	35.36 $\pm$ 3.21	44.57 $\pm$ 5.56 <sup>b</sup>	78.63 $\pm$ 7.65 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 处理组.

表4 Bcl-2蛋白表达和caspase-3活性(mean  $\pm$  SD)

分组	Bcl-2	caspase-3
对照组	78.55 $\pm$ 7.28	19.72 $\pm$ 2.11
处理组	35.96 $\pm$ 4.26 <sup>b</sup>	74.76 $\pm$ 8.23 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 处理组.

2.2 透射电镜下观察 发现对照组肝癌细胞具有肿瘤细胞典型特点: 核大而圆, 染色质疏松, 核仁明显, 有多个大核仁, 形态不规则, 常见核仁边集现象, 细胞质较少, 细胞器都比较简单, 细胞表面微绒毛细长且密集. 黄芩甙处理组, 细胞核变小, 皱缩, 异染色质增多, 核仁减少、浓缩甚至消失, 核质比减少. 部分细胞呈现典型的凋亡改变: 染色质凝集、固缩, 聚集于核膜下呈境界分明的团块状、花瓣状或新月体形. 线粒体数量增多, 有的为基质密度增高, 内外膜间隙增宽, 内嵴发育较好, 但体积变化不明显; 有的线粒体体积增大, 肿胀呈空泡状(图1).

2.3 黄芩甙对肝癌细胞线粒体膜电位的影响 对照组在不同时间的线粒体膜电位较稳定, 保持在较高水平, 6 h、24 h处理组与对照组比差别不大, 48 h处理组显著降低, 两组差异显著( $P < 0.01$ , 表1).

2.4 黄芩甙对肝癌细胞内Ca<sup>2+</sup>和Cyt C的影响 细胞内Ca<sup>2+</sup>和Cyt C在对照组的不同时间较稳定, 6 h、24 h处理组与对照组比差别不大, 48 h处理组升高显著, 两组差别显著(均 $P < 0.01$ , 表2, 表3).

2.5 Bcl-2蛋白表达和caspase-3活性测定 处理组

Bcl-2蛋白表达显著下降, caspase-3活性显著升高( $P < 0.01$ , 表4).

### 3 讨论

目前已逐渐认识到线粒体是细胞凋亡的“中心执行者”<sup>[3-4]</sup>, 某些与凋亡相关的基因产物(蛋白质和酶)均可定位于线粒体. 在细胞凋亡的诱导期, 线粒体的结构和功能就开始发生一些特征性的变化<sup>[5-7]</sup>. Reed *et al*<sup>[5]</sup>认为在细胞凋亡时线粒体超微结构的改变主要为: 线粒体嵴失去紧密排列和有序折叠的外表, 同时在膜间隙中充满了浓缩的基质, 而线粒体本身的大小改变不明显. 我们在观察肝癌细胞发生凋亡时, 除了见到典型的凋亡核型, 同时还发现线粒体的变化有两种表现: 一种基质密度增高, 内外膜间隙增宽, 但体积变化不明显; 一种线粒体体积增大, 肿胀呈空泡状. 前者与Reed *et al*所描述的在凋亡中线粒体的改变相似. 沈忠英 *et al*<sup>[6]</sup>在研究三氧化二砷作用于食管癌细胞系时, 认为凋亡的早期改变为线粒体增多, 中后期是线粒体肿胀. 所以, 线粒体的这种基质密度增高的改变可能是凋亡发生的早期改变.

已证实线粒体膜通透性转运改变是凋亡过程中的重要环节, 在致凋亡因子的刺激下, 线粒体膜通透性转运孔(permeability transition pore, MPTP)开放, 线粒体跨膜电位降低或丧失, 线粒体基质中释放出凋亡蛋白, 使细胞凋亡<sup>[7-8]</sup>. 近年来陆续有报道线粒体跨膜电位的耗散是细胞凋亡级联反应过程中最早发生的事件, 而一旦线粒体跨膜电位耗散, 细胞就会进入不可逆的凋亡过程<sup>[9-10]</sup>. MPTP是跨膜多蛋白孔, 定位于线粒体内外膜接触点, 可能由电压依赖的阴离子通道(VDAC)-腺苷酸移位酶-亲环蛋白D三联复合物构成, 有开放与关闭二种构象. MPTP孔道作为许多生理效应的感受器(二价阳离子、ATP、ADP、NAD、 $\Delta\Psi_m$ 、pH、巯基与多肽)整合了电生理、氧化还原与细胞代谢状态的信息. 在正常情况下, MPTP只允许相对分子质量小于1500的分子通过, 质子可自由通过线粒体膜形成稳定的线粒体膜电位, 如果MPTP开放, 导致线粒体膜电位下降或缺失, 且MPTP作用有自放大的效应. 如果能稳定线粒体膜电位就能防止细胞凋亡或可阻止凋亡的进展. 我们的研究结果发现对照组肝癌细胞在不同时间的线粒体膜电位较稳定, 保持在较高水平, 黄芩甙作用6 h、24 h时与对照组比差别不大, 48 h时显著降低肝癌细胞线粒体跨膜电位. 认为黄芩甙通过某种途径使MPTP开放, 导致线粒体膜电位下降, 而阻止凋亡的进展.

Ca<sup>2+</sup>是细胞代谢活动重要的第二信使<sup>[11]</sup>. 他可能是使MPTP开放的刺激信号. Carboni *et al*<sup>[12]</sup>提出钙依赖性的MPTP孔调节模式, 认为MPTP孔有低导性和高导性两种不同的开放方式, 前者是一种可逆的正常调节过程, 后者为不可逆的细胞死亡信号. 两种开放方式均受线粒体Ca<sup>2+</sup>浓度的升高直接或间接调控. 线粒体Ca<sup>2+</sup>超载, 启动高导性MPTP孔开放, 线粒体膜电位下降, 线粒体膨胀, 外膜破裂, 诱导细胞凋亡. 季宇彬 *et al*将羊栖菜多糖作用于人胃癌SGC-7901细胞, 观测到细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度升高, 且细胞凋亡指数增加, 提示可能是通过Ca<sup>2+</sup>启动凋亡机制. Takel *et al*研究表明, 抑制细胞Ca<sup>2+</sup>升高, 可防止凋亡的发生<sup>[13]</sup>. 我们观察到黄芩甙作用后肝癌细胞凋亡增加、细胞内Ca<sup>2+</sup>含量的增加、线粒体膜电位的下降, 三者时间上的变化趋于一致, 并伴有线粒体的肿胀. 认为线粒体途径在黄芩甙诱导细胞凋亡中起重要作用, 其机制为增加细胞内Ca<sup>2+</sup>含量, 激发MPTP开放, 降低线粒体跨膜电

位. 但是影响细胞外钙的内流, 还是调整细胞内钙库的释放, 尚需进一步研究. 此外, 细胞内Ca<sup>2+</sup>信号的改变与凋亡发生的阶段密切相关<sup>[14-15]</sup>, 有研究表明一旦凋亡发生, 细胞内依赖Ca<sup>2+</sup>-Mg<sup>2+</sup>核酸酶被大量激活后, 细胞内游离Ca<sup>2+</sup>可能被结合而浓度下降. 我们只观察到黄芩甙增加细胞内Ca<sup>2+</sup>含量, 这可能与细胞所处的凋亡阶段有关, 处于本阶段的细胞尚未发生不可逆的凋亡.

Cyt C作为一种信号物质, 也在细胞凋亡中发挥着重要的作用. 正常情况下, 他存在于线粒体内膜和外膜之间的腔中, 凋亡信号刺激使其从线粒体释放至细胞质. Cyt C一旦释放可引起两种后果, 一是与Apaf-1(apoptotic protease activating factor-1)结合, 在ATP/dATP的介导下, 使caspase-9前体裂解为活化的caspase-9, 活化的caspase-9再激活caspase-3, 引起细胞凋亡. 二是由于Cyt C释放入胞质, 细胞内Cyt C减少或缺失, 可直接导致呼吸链电子传递中断, 最后导致细胞坏死<sup>[16]</sup>. Cyt C的释放是线粒体外膜通透性增高的结果. Bcl-2蛋白主要聚集在线粒体外膜, 阻止Cyt C的释放, 使胞质内caspase不能激活, 细胞凋亡受阻. caspase-3是最重要的凋亡执行者之一, 在激活的caspase-3能降解Bcl-2蛋白, 阻止其抗凋亡作用. caspase-3一旦被激活, 细胞凋亡的发生将不可逆转. 我们的研究结果发现黄芩甙能抑制肝癌细胞Bcl-2蛋白表达, 增加caspase-3活性, 促进Cyt C的释放.

黄芩甙诱导肝癌细胞凋亡的可能途径为增加细胞内Ca<sup>2+</sup>含量, 降低线粒体跨膜电位, 促进Cyt C的释放. Bcl-2蛋白表达的下降和caspase-3活性增加调控上述过程. 透射电镜下线粒体的改变进一步支持线粒体损伤在黄芩甙诱导肝癌细胞凋亡中的作用.

#### 4 参考文献

- 1 Chao JI, Su WC, Liu HF. Baicalein induces cancer cell death and proliferation retardation by the inhibition of CDC2 kinase and survivin associated with opposite role of p38 mitogen-activated protein kinase and AKT. *Mol Cancer Ther* 2007; 6: 3039-3048
- 2 Lu HF, Hsueh SC, Ho YT, Kao MC, Yang JS, Chiu TH, Huang SY, Lin CC, Chung JG. ROS mediates baicalin-induced apoptosis in human promyelocytic leukemia HL-60 cells through the expression of the Gadd153 and mitochondrial-dependent pathway. *Anticancer Res* 2007; 27: 117-125
- 3 Lin HH, Hsu HL, Yeh NH. Apoptotic cleavage of NuMA at the C-terminal end is related to nuclear disruption and death amplification. *J Biomed Sci* 2007; 14: 681-694
- 4 Brenner C, Kroemer G. Apoptosis. Mitochondria-

#### ■应用要点

本研究为揭示黄芩甙抗肿瘤作用机制提供了有用的资料, 为其进一步开发应用奠定了基础.

#### ■名词解释

线粒体膜通透性转运孔: 是跨膜多蛋白孔, 定位于线粒体内外膜接触点, 可能由电压依赖的阴离子通道(VDAC)-腺苷酸移位酶-亲环蛋白D三联复合物构成, 有开放与关闭两种构象.

### ■同行评价

本文研究方法可行,目的明确,但讨论应结合自己的研究成果展开,突出主题.

- the death signal integrators. *Science* 2000; 289: 1150-1151
- 5 Reed JC, Green DR. Remodeling for demolition: changes in mitochondrial ultrastructure during apoptosis. *Mol Cell* 2002; 9: 1-3
- 6 沈忠英, 沈健, 陈铭华, 李乔山, 洪超群. 氧化砷诱导食管癌细胞凋亡线粒体形态改变. *中华病理学杂志* 2000; 29: 200-203
- 7 林洪生, 周彩虹, 黄启福, 娄金丽, 裴迎霞, 祁鑫. 金安粉针剂对肺癌细胞系超微结构的影响. *中国病理生理杂志* 2004; 20: 1390-1395
- 8 Danial NN. BCL-2 family proteins: critical checkpoints of apoptotic cell death. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 7254-7263
- 9 Liu J, He H, Zhang Z, Jiang S, Akahoshi T, Yang J, Li J, He T. Mitochondria play a role in the development of non-apoptotic programmed cell death of neutrophils induced by ONO-AE-248. *Cell Mol Immunol* 2007; 4: 447-453
- 10 黄伟, 张瑶珍. 线粒体膜与肿瘤进展. *国外医学·生理、病理科学与临床分册* 2002; 22: 9-11
- 11 Chang WH, Chen CH, Lu FJ. Different effects of baicalein, baicalin and wogonin on mitochondrial function, glutathione content and cell cycle progression in human hepatoma cell lines. *Planta Med* 2002; 68: 128-132
- 12 Carboni GL, Gao B, Nishizaki M, Xu K, Minna JD, Roth JA, Ji L. CACNA2D2-mediated apoptosis in NSCLC cells is associated with alterations of the intracellular calcium signaling and disruption of mitochondria membrane integrity. *Oncogene* 2003; 22: 615-626
- 13 Takei N, Endo Y. Ca<sup>2+</sup> ionophore-induced apoptosis on cultured embryonic rat cortical neurons. *Brain Res* 1994; 652: 65-70
- 14 Ichas F, Mazat JP. From calcium signaling to cell death: two conformations for the mitochondrial permeability transition pore. Switching from low- to high-conductance state. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1366: 33-50
- 15 Adams JM, Cory S. Apoptosomes: engines for caspase activation. *Curr Opin Cell Biol* 2002; 14: 715-720
- 16 Haraguchi M, Torii S, Matsuzawa S, Xie Z, Kitada S, Krajewski S, Yoshida H, Mak TW, Reed JC. Apoptotic protease activating factor 1 (Apaf-1)-independent cell death suppression by Bcl-2. *J Exp Med* 2000; 191: 1709-1720

编辑 周晓武 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

### • 消息 •

## 第二十次全国中西医结合消化学术会议征文通知

**本刊讯** 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会决定于2008-11在上海市召开第二十次全国中西医结合消化系统疾病学术会议,并同时举办全国中西医结合消化疾病(重点为肝病、内镜与胃癌)新技术新理论继续教育学习班. 学习班招收对象: 中西医结合、中医或西医的消化专业医师、科研人员、研究生等. 参加学习班者授予国家级1类继续教育学分; 大会论文报告者另授继续教育学分6分.

#### 1 征稿内容

消化内镜技术及其中西医结合临床应用; 脂肪肝、慢性肝炎与肝硬化等常见肝病的中西医结合基础与临床研究; 消化道肿瘤中西医结合诊疗; 脾胃学说及其临床应用; 其他消化系统疾病(包括食管、胃、肝、胆、胰腺等疾病)的基础研究、临床研究与实践等.

#### 2 征稿要求

请注明作者姓名、单位、详细通讯地址、邮编. 稿件请附800字论文摘要, 尽可能以电子信件的形式将稿件传送, 截稿日期: 2008-09-30.

#### 3 联系方式

刘成海, 201203, 上海市浦东新区张衡路528号上海中医药大学附属曙光医院肝病所, 传真: 021-51324445或51328500, shxhhy2008@yahoo.cn或czs.xiaohua@163.com