

# 鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200诱导人肝癌细胞株凋亡的作用及机制

秦成勇, 刘 慧

秦成勇, 刘慧, 山东大学附属省立医院消化内科 山东省济南市 250021

秦成勇, 主任医师, 教授, 博士生导师, 主要从事肝癌预防及治疗的基础与临床研究.

作者贡献分布: 本述评由秦成勇与刘慧完成; 秦成勇审校.

通讯作者: 秦成勇, 主任医师, 教授, 250021, 山东省济南市经五路324号, 山东大学附属省立医院消化内科.

cy\_qin62@yahoo.com.cn

电话: 0531-86881009

收稿日期: 2009-10-16 修回日期: 2010-01-25

接受日期: 2010-02-01 在线出版日期: 2010-03-08

## Apoptosis-inducing effect of synthetic chenodeoxycholic acid derivative, HS-1200, in human hepatoma cell line BEL-7402 and the mechanisms involved

Cheng-Yong Qin, Hui Liu

Cheng-Yong Qin, Hui Liu, Department of Gastroenterology, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, Shandong Province, China

Correspondence to: Professor Cheng-Yong Qin, Department of Gastroenterology, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, 324 Jingwu Road, Jinan 250021, Shandong Province, China. cy\_qin62@yahoo.com.cn

Received: 2009-10-16 Revised: 2010-01-25

Accepted: 2010-02-01 Published online: 2010-03-08

### Abstract

Chenodeoxycholic acid (CDCA) derivative HS-1200 can inhibit the proliferation and induce the apoptosis of human hepatoma BEL7402 cells in a dose- and time-dependent manner. In contrast, HS-1200 shows no apoptosis-inducing effect in normal human hepatic cell lines. HS-1200 induces the apoptosis of BEL7402 cells perhaps by up-regulating the expression of Bax protein and down-regulating the expression of Bcl-2 protein. The increased ratio of Bax to Bcl-2 might contribute to the permeabilization of the outer mitochondrial membrane (OMM) and make it permeable to intermembrane space proteins such as cytochrome C. Once released, cytochrome C promotes the activation of caspase-9 and thereby results in the activation of caspase-3,

which functions as the downstream effector of the cell death program. Furthermore, as caspase-8-specific inhibitor z-IETDfmk shows no impact on HS-1200-mediated apoptosis of BEL7402 cells, HS-1200 induces apoptosis perhaps via the activation of mitochondrial pathway.

**Key Words:** Chenodeoxycholic acid derivative; Hepatoma cell line; Apoptosis; Mechanism

Qin CY, Liu H. Apoptosis-inducing effect of synthetic chenodeoxycholic acid derivative, HS-1200, in human hepatoma cell line BEL-7402 and the mechanisms involved. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(7): 641-645

### 摘要

鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200可有效地抑制肝肿瘤细胞株BEL7402的生长, 其作用随药物浓度提高和作用时间延长而增强, 呈一定的剂量、时间依赖性; 鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200对人肝肿瘤细胞株BEL7402有显著的生长抑制作用, 该生长抑制作用与HS-1200诱导肝肿瘤细胞凋亡有关; HS-1200对正常肝细胞株无生长抑制及诱导凋亡的作用. HS-1200诱导凋亡的机制可能是HS-1200提升Bax而降低Bcl-2的表达, 从而使线粒体膜通透性增高, 使细胞色素C由线粒体释放入胞质, 活化caspase-9, 活化的caspase-9切割pro-caspase-3生成caspase-3, 从而诱导凋亡; 但上述凋亡过程中caspase-8特异性抑制剂未改变HS-1200诱导的凋亡, 因而HS-1200诱导肝肿瘤细胞凋亡途径为内源性凋亡途径.

**关键词:** 鹅脱氧胆酸衍生物; 肝癌细胞株; 凋亡; 机制

秦成勇, 刘慧. 鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200诱导人肝癌细胞株凋亡的作用及机制. *世界华人消化杂志* 2010; 18(7): 641-645

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/641.asp>

### 0 引言

原发性肝癌是世界上最常见的恶性肿瘤之一,

### 背景资料

目前肝癌的治疗仍以手术切除为首选的治疗方法, 但手术切除的突出问题是在术后复发率高、手术切除率低, 加上绝大多数患者在确诊时已属临床中晚期, 失去了手术治疗的机会. 因此, 人们不断研究出一些新的疗法, 或者采取多种疗法的综合治疗以提高肝癌的总体疗效. 在各种治疗方法中, 肝癌的化疗在肝癌的治疗中占有重要的地位. 但由于肝癌对化疗不敏感或由于连续化疗产生耐药性, 在多数肝癌患者中化疗有效率往往低于25%. 因而, 迫切需要创造出有效的治疗肝癌的化疗药物. 最近许多研究表明, 鹅脱氧胆酸衍生物能诱导多种癌细胞凋亡并能抑制其增殖, 如乳腺癌细胞、人前列腺癌细胞、人子宫癌细胞、及人骨肉瘤细胞等.

### 同行评议者

姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化科

**相关报道**  
有报道疏水性胆汁酸如鹅脱氧胆酸在体内及体外实验中可诱导肝细胞凋亡。

占原发性肝肿瘤的80%-90%<sup>[1]</sup>。在我国,自20世纪90年代以来肝癌的年病死率已上升为城市和农村恶性肿瘤病死率的第2位和第1位。目前肝癌的治疗仍以手术切除为首选的治疗方法,但手术切除的突出问题是术后复发率高、手术切除率低,加上绝大多数患者在确诊时已属临床中晚期,失去了手术治疗的机会。因此,人们不断研究出一些新的疗法,或者采取多种疗法的综合治疗以提高肝癌的总体疗效。在各种治疗方法中,肝癌的化疗在肝癌的治疗中占有重要的地位。但由于肝癌对化疗不敏感或由于连续化疗产生耐药性,在多数肝癌患者中化疗有效率往往低于25%<sup>[2,3]</sup>。因而,迫切需要创造出有效的治疗肝癌的化疗药物。

胆汁酸是胆固醇的主要极性衍生物,他有助于饮食中脂质的吸收,并且能调整控制胆固醇体内平衡的基因表达。根据其化学结构的不同,不同胆汁酸表现出不同的生物效应<sup>[4]</sup>。鹅脱氧胆酸可使胆固醇结石溶解,而胆酸及脱氧胆酸则无此作用。临床常用鹅脱氧胆酸及熊去氧胆酸治疗胆固醇结石。最近许多研究表明,鹅脱氧胆酸衍生物*N*-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-3,7-二羟基-24-氧代胆甾烷-24-基] $\beta$ -丙氨酸苄酯(HS-1200)和*N*-[(3 $\alpha$ ,5 $\beta$ ,7 $\alpha$ )-3,7-二羟基-24-氧代胆甾烷-24-基]*L*-苯丙氨酸苄酯(HS-1199)能诱导多种癌细胞凋亡并能抑制其增殖,如乳腺癌细胞、人前列腺癌细胞、人子宫颈癌细胞、及人骨肉瘤细胞<sup>[5-8]</sup>等;两种胆汁酸衍生物的效果,以HS-1200作用更强<sup>[9]</sup>。另有报道疏水性胆汁酸如鹅脱氧胆酸在体内及体外实验中可诱导肝细胞凋亡<sup>[10-14]</sup>。上述研究证明鹅脱氧胆酸衍生物具有诱导多种肿瘤细胞凋亡的作用,并且鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200对人肝肿瘤细胞株BEL7402有显著的生长抑制作用,该生长抑制作用与HS-1200诱导肝肿瘤细胞凋亡有关;HS-1200对正常肝细胞株无生长抑制及诱导凋亡的作用<sup>[15]</sup>。

## 1 鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200对肝肿瘤细胞凋亡信号通路的作用及证据

我们应用人工合成的鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200作用于肝肿瘤细胞株BEL7402和正常肝细胞株L-02,发现他对肝肿瘤细胞株有明显的生长抑制作用,其抑制率具有明显的药物浓度依赖性和时间依赖性,而对正常肝细胞株则无生长抑制作用。这说明HS-1200可以有效地杀伤肝肿瘤细胞,对正常肝细胞则无杀伤作用,这为HS-1200

应用于临床治疗肝癌提供了实验依据。细胞凋亡是由于启动了细胞内的自杀程序,导致细胞核染色质浓缩,并聚集于细胞核周边,在被激活的内源性核酸内切酶作用下,染色质DNA规律性断裂为大量200 bp大小及其倍体的核苷酸片段,形成核碎片,同时细胞内发生一系列生化改变。最后,细胞膜包裹细胞质和核碎片,形成大小不一的凋亡小体(apoptosis bodies)。DNA断裂是凋亡细胞的特征之一,我们应用DNA琼脂糖凝胶电泳检测发现,经HS-1200处理的肝肿瘤细胞出现典型的DNA梯形带,说明细胞发生了凋亡。同时荧光显微镜下可观察到典型的细胞凋亡的形态特征,说明HS-1200抑制人肝肿瘤细胞的生长主要是通过诱导细胞凋亡实现的。了解细胞凋亡信号通路可有助于探讨癌症的发生机制进而发现更有效的治疗方法,因而我们进一步探讨HS-1200诱导肝肿瘤细胞凋亡的机制。目前认为细胞凋亡信号通路包括两条<sup>[16]</sup>:(1)来自于细胞膜外的死亡受体(death receptors)信号通路:一些凋亡刺激因素激活细胞膜外死亡受体,死亡受体进一步活化膜上Fas相关的死亡结构域(fas associated death domain, FADD),结合并活化半胱氨酸天冬氨酸特异蛋白酶8(cysteine aspartate specific proteinase cysteine aspartases 8, caspase-8),活化的caspase-8进一步切割pro-caspase-3生成caspase-3,从而诱导凋亡;(2)线粒体信号通路:许多凋亡信号通过进入线粒体,诱导线粒体内的细胞色素C(cytochrome C, Cyto-C)等小分子释放到胞质,活化caspase-9,活化的caspase-9切割pro-caspase-3生成caspase-3,从而诱导凋亡。这一过程中, Bcl-2, Bcl-xL等抑制这一过程,而Bax, BNIP3等促进这一过程。

**1.1 Bcl-2家族与细胞凋亡** 线虫是良好的研究细胞凋亡的模型,最早在凋亡中发现ced-9基因具有抗凋亡作用,在哺乳动物中与之同源的是Bcl-2家族。而Bcl-2基因首先在人体内的B淋巴细胞中发现<sup>[17]</sup>。Bcl-2家族是凋亡信号通路中最重要的蛋白家族之一,在哺乳动物中,迄今发现28个成员,按功能可以分为三类:(1)Bcl-2亚家族(抗凋亡亚家族),这类亚家族成员包括Bcl-2, Bcl-xL<sup>[18]</sup>, Bcl-W<sup>[19]</sup>等;(2)Bax亚家族(促凋亡亚家族),主要包括Bax<sup>[20]</sup>, Bcl-Xs等;(3)BH<sub>3</sub> only亚家族,这类亚家族成员也是促凋亡性的,由于其功能结构域中仅仅包含BH<sub>3</sub>结构域,故命名为BH<sub>3</sub> only亚家族,目前发现该家族成员包括Bid<sup>[21,22]</sup>, Bad, Blk, P193, NOXA等。按结构上

划分, Bcl-2蛋白家族成员都有4个关键性结构域(BH<sub>1</sub>-BH<sub>4</sub>), 他们在Bcl-2家族中高度保守. 而且Bcl-2家族蛋白都拥有一个C末端跨膜结构域(TM), 他是促进蛋白质与线粒体结合的关键性部位. 他存在于BH<sub>1</sub>和BH<sub>4</sub>之间. 按功能上可以分为两大类, 促凋亡和抗凋亡. 尤其是BH<sub>4</sub>结构域仅存在于Bcl-2家族中抗凋亡成员中, 如Bcl-2, Bcl-xL, 而在促凋亡成员中都不存在BH<sub>4</sub>结构域, 表明BH<sub>4</sub>结构域对于Bcl-2家族抗细胞凋亡起到关键性作用. 相反, BH<sub>1</sub>和BH<sub>2</sub>主要是蛋白质间相互作用的区域, 尤其是Bcl-2家族蛋白中, 抗凋亡和促凋亡成员之间的相互作用所需要的结构域. 另外, 在促凋亡成员中也有许多成员, 仅仅包含BH<sub>3</sub>结构域, 称为BH<sub>3</sub>亚家族. 因此, 通常认为BH<sub>3</sub>是Bcl-2家族中促凋亡的关键结构域. 而Bax亚家族成员都包含有BH<sub>1</sub>, BH<sub>2</sub>和BH<sub>3</sub>三个结构域. 已经证明Bcl-2家族成员与线粒体膜通透性相关并调结膜的完整性<sup>[23]</sup>. Bcl-2家族中促凋亡成员如Bax, 一般认为通过破坏线粒体功能, 导致线粒体通透性转换孔(permeability transition pore, PTP)的开放<sup>[24]</sup>, 使线粒体内的一些小分子物质, 如Cyto-C, smac渗漏到胞质, 从而诱导细胞凋亡<sup>[25-27]</sup>. 当给一定的凋亡刺激时, 这些蛋白转位之线粒体膜上, 诱导PTP开放. 已经发现Bax与PTP孔的形成单位VDAC或ANT存在直接相互作用的关系<sup>[28]</sup>; 相反, Bcl-2可以阻断PTP开放从而抑制细胞凋亡<sup>[25-27]</sup>. 其机制是Bcl-2直接或间接抑制VDAC或通过破坏Bax与VDAC或ANT的相互作用. 在凋亡过程中, Bax表达水平升高能通过抑制Bcl-2的活性而诱导凋亡<sup>[29]</sup>; 在药物诱导的凋亡过程中, Bcl-2与Bax的比率的提高较单纯Bcl-2的表达升高, 使细胞存活方面发挥更为重要的作用<sup>[30]</sup>. 我们研究表明经HS-1200处理的肝肿瘤细胞, 其Bax的表达水平增高而Bcl-2的表达降低, 使得Bax与Bcl-2的比率明显升高, Bax不仅发挥其诱导凋亡作用, 而且抑制Bcl-2抗凋亡作用, 因而肝肿瘤细胞的线粒体膜电位降低, 线粒体膜电位的降低提示肝肿瘤细胞经HS-1200处理后细胞线粒体外膜通透性发生了变化; 上述表明Bax与Bcl-2比率的提高与线粒体外膜通透性增高有关.

**1.2 线粒体与细胞凋亡** 线粒体是细胞的一个独特而重要的细胞器, 是细胞的“动力工厂”. 新近研究表明, 线粒体功能改变与细胞凋亡密切相关, 包括促凋亡因子、活性氧(ROS)过度生成、能量生成障碍、胞质内钙失衡等. 在线

粒体的细胞凋亡通路中, 线粒体扮演着重要角色, (1)释放caspases激活因子如Cyto-C; (2)丧失电子传递链功能, ATP生成减少, 细胞能量不平衡; (3)线粒体膜电位消失, 诱导细胞凋亡的产生; (4)承载着Bcl-2家族蛋白调节细胞凋亡的功能. 同时, 在多种诱导凋亡的因素, 物理化学、生化等外界因素、细胞内的氧化应激凋亡的反应等, 都与线粒体直接相关. 上述表明, 线粒体在细胞凋亡中处于中心位置. 线粒体释放Cyto-C, 是caspase自身正反馈激活链中关键步骤, 受Bcl-2蛋白家族调控<sup>[25,26]</sup>. 线粒体在细胞凋亡过程中最重要的一点在于他可释放能够激活Caspase的蛋白<sup>[31]</sup>. 在无细胞的体系中, 自发的、可以由Bcl-2抑制的染色质聚集和DNA片段化依赖于线粒体的存在, 进而发现实际上是依赖于Cyto-C从线粒体中的释放. 从线粒体释放的Cyto-C与Apaf-1、Procaspase-9结合在一起形成“凋亡体”(Apoptosome), 其结果是caspase-9的激活<sup>[32]</sup>. 除Cyto-C之外, 线粒体还可释放其他介导细胞凋亡的分子: Procaspase-3和AIF(Apoptosis-inducing factor). AIF在体外可作用于Procaspase 3, 并且其本身可能就是一个caspase. 线粒体发生上述改变的机制在于线粒体膜上一种叫PT通道(permeability transition pore)的形成. 促凋亡信号会使caspases激活(某些Caspase的底物就是位于线粒体膜上的蛋白)、胞质Ca<sup>2+</sup>水平升高、产生Ceramide, 诸如此类的改变会直接或间接地引发PT通道. PT通道是由线粒体一些内膜外膜蛋白组成的, 定位于内外膜接触点, 并可以无选择性地允许≤1.5 kDa分子通过<sup>[33]</sup>. 这个通道的开放会由于线粒体基质内的高渗透压, 使线粒体内外H<sup>+</sup>梯度消失, 呼吸链脱偶联, 能量产生中断; 还会由于水和溶质的进入使基质肿胀并导致外膜破裂, 释放出包括Cyto-C在内的各种活性蛋白<sup>[34,35]</sup>. 线粒体在细胞凋亡中的重要性还在于他与Bcl-2基因家族之间的关系. 实际上, 很多Bcl-2家族的蛋白如Bcl-2、Bax、BCL-xL等都定位于线粒体膜上. 而且实验证实, Bcl-2家族蛋白可以影响PT通道开放及其Cyto-C、AIF的释放, 还可以改变线粒体外膜的通透性<sup>[36,37]</sup>. 如Bax一方面可以直接促使线粒体膜内的大小约为12 kDa的Cyto-C在外膜未被破坏的情况下通过某种通道释放至胞质; 另一方面, 又可以激发PT通道的开放. 而Bcl-2蛋白则起抑制作用.

Bcl-2蛋白家族成员, 在线粒体膜上形成同源或异源二聚体, 直接决定细胞的命运. 如促

**应用要点**  
本文提示: 鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200有望成为治疗肝癌的药物.

**同行评价**  
本文系统综述了鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200的生物学意义及对肝癌细胞株的作用及机制,对国内同行具有一定的参考和指导意义。

凋亡蛋白Bax转位至线粒体膜上,自身形成同源二聚体,打开PTP孔,诱导Cyto-C,凋亡诱导因子(apoptosis inducing factor, AIF)等从线粒体释放至胞质<sup>[38,39]</sup>。在胞质中Cyto-C与Apaf-1,以及pro-caspase-9共同结合在一起形成“凋亡体(apoptosome)”,激活caspase-9,进一步活化caspase-3,执行细胞凋亡。然而,如果抗凋亡蛋白Bcl-2在线粒体外膜上高表达,一方面与Bax结合,抑制Cyto-C释放的正反馈机制;另一方面,他有“质子泵”的功能,使线粒体内呼吸产生的H<sup>+</sup>外泵至胞质,维持跨膜电位 $\Delta\psi_m$ ,减少ROS生成,抑制细胞凋亡。许多证据认为线粒体内Cyto-C的释放是细胞凋亡发生的重要一步;Cyto-C从线粒体内膜空间的正常位置释放后,使得线粒体外膜通透性、膜电位以及超微结构都发生了改变。线粒体基本功能的改变以及线粒体膜通透性的变化,在细胞凋亡的调节中起了重要作用。

## 2 结论

肝肿瘤细胞经HS-1200处理后发生了细胞程序性死亡,其机制如下:HS-1200处理后肝肿瘤细胞中促凋亡蛋白Bax明显升高,而抗凋亡蛋白Bcl-2的表达明显降低,因而Bax与Bcl-2的比率大大提高,Bax的促凋亡作用不仅增强,而且限制Bcl-2的抗凋亡作用;Bcl-2家族蛋白表达情况的变化引发线粒体PT通道的开放,这个通道的开放会由于线粒体基质内的高渗透压,使线粒体内外H<sup>+</sup>梯度消失,呼吸链脱偶联,能量产生中断;还会由于水和溶质的进入使基质肿胀并导致外膜破裂,释放出包括Cyto-C在内的各种活性蛋白。我们研究发现HS-1200处理后肝肿瘤细胞的线粒体膜电位丧失并有Cyto-C由线粒体释放入胞质,验证了Bcl-2家族蛋白表达情况的变化引发的线粒体结构和功能的改变。线粒体基本功能的改变以及线粒体膜通透性的变化,在细胞凋亡的调节中发挥重要作用。Western blot结果表明Apaf-1、cleaved-caspase-9和cleaved-caspase-3的蛋白表达水平明显升高,而pro-caspase-8的表达无变化;并且,流式细胞学检测发现鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200诱导肝肿瘤细胞BEL7402凋亡可被caspase-9抑制剂抑制,而不被caspase-8抑制剂抑制。上述结果证明,Cyto-C进入胞质中,则以dATP/ATP依赖的方式与Apaf-1结合,形成低聚体并激活caspase-9前体;结果激活caspase-9并进一步导致

下游的效应caspase-3激活,最终导致细胞凋亡。鹅脱氧胆酸衍生物HS-1200有望成为治疗肝癌的药物。

## 3 参考文献

- 1 Bosch FX, Ribes J, Díaz M, Cléries R. Primary liver cancer: worldwide incidence and trends. *Gastroenterology* 2004; 127: S5-S16
- 2 Simonetti RG, Liberati A, Angiolini C, Pagliaro L. Treatment of hepatocellular carcinoma: a systematic review of randomized controlled trials. *Ann Oncol* 1997; 8: 117-136
- 3 Weimann A, Oldhafer KJ, Pichlmayr R. Primary liver cancers. *Curr Opin Oncol* 1995; 7: 387-396
- 4 Hofmann AF. Chemistry and enterohepatic circulation of bile acids. *Hepatology* 1984; 4: 4S-14S
- 5 Im EO, Choi YH, Paik KJ, Suh H, Jin Y, Kim KW, Yoo YH, Kim ND. Novel bile acid derivatives induce apoptosis via a p53-independent pathway in human breast carcinoma cells. *Cancer Lett* 2001; 163: 83-93
- 6 Choi YH, Im EO, Suh H, Jin Y, Yoo YH, Kim ND. Apoptosis and modulation of cell cycle control by synthetic derivatives of ursodeoxycholic acid and chenodeoxycholic acid in human prostate cancer cells. *Cancer Lett* 2003; 199: 157-167
- 7 Kim GC, Her YS, Park JH, Mon YS, Yoo YH, Shin SH, Park BS. Synthetic bile acid derivative HS-1200-induced apoptosis of human osteosarcoma cells. *Korean J Anat* 2004; 37: 449-457
- 8 Im E, Choi SH, Suh H, Choi YH, Yoo YH, Kim ND. Synthetic bile acid derivatives induce apoptosis through a c-Jun N-terminal kinase and NF-kappaB-dependent process in human cervical carcinoma cells. *Cancer Lett* 2005; 229: 49-57
- 9 Yee SB, Yeo WJ, Park BS, Kim JY, Baek SJ, Kim YC, Seo SY, Lee SH, Kim JH, Suh H, Kim ND, Lim YJ, Yoo YH. Synthetic chenodeoxycholic acid derivatives inhibit glioblastoma multiform tumor growth in vitro and in vivo. *Int J Oncol* 2005; 27: 653-659
- 10 Faubion WA, Guicciardi ME, Miyoshi H, Bronk SF, Roberts PJ, Svingen PA, Kaufmann SH, Gores GJ. Toxic bile salts induce rodent hepatocyte apoptosis via direct activation of Fas. *J Clin Invest* 1999; 103: 137-145
- 11 Becker S, Reinehr R, Graf D, vom Dahl S, Häussinger D. Hydrophobic bile salts induce hepatocyte shrinkage via NADPH oxidase activation. *Cell Physiol Biochem* 2007; 19: 89-98
- 12 Miyoshi H, Rust C, Roberts PJ, Burgart LJ, Gores GJ. Hepatocyte apoptosis after bile duct ligation in the mouse involves Fas. *Gastroenterology* 1999; 117: 669-677
- 13 Yerushalmi B, Dahl R, Devereaux MW, Gumprich E, Sokol RJ. Bile acid-induced rat hepatocyte apoptosis is inhibited by antioxidants and blockers of the mitochondrial permeability transition. *Hepatology* 2001; 33: 616-626
- 14 Chieco P, Romagnoli E, Aicardi G, Suozzi A, Forti GC, Roda A. Apoptosis induced in rat hepatocytes by in vivo exposure to taurochenodeoxycholate. *Histochem J* 1997; 29: 875-883
- 15 Liu H, Qin CK, Han GQ, Xu HW, Ren WH, Qin CY. Synthetic chenodeoxycholic acid derivative, HS-1200, induces apoptosis of human hepatoma

- cells via a mitochondrial pathway. *Cancer Lett* 2008; 270: 242-249
- 16 Jin Z, El-Deiry WS. Overview of cell death signaling pathways. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 139-163
- 17 Tsujimoto Y, Cossman J, Jaffe E, Croce CM. Involvement of the bcl-2 gene in human follicular lymphoma. *Science* 1985; 228: 1440-1443
- 18 Boise LH, González-García M, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nuñez G, Thompson CB. bcl-x, a bcl-2-related gene that functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 1993; 74: 597-608
- 19 Gibson L, Holmgren SP, Huang DC, Bernard O, Copeland NG, Jenkins NA, Sutherland GR, Baker E, Adams JM, Cory S. bcl-w, a novel member of the bcl-2 family, promotes cell survival. *Oncogene* 1996; 13: 665-675
- 20 Chittenden T, Flemington C, Houghton AB, Ebb RG, Gallo GJ, Elangovan B, Chinnadurai G, Lutz RJ. A conserved domain in Bak, distinct from BH1 and BH2, mediates cell death and protein binding functions. *EMBO J* 1995; 14: 5589-5596
- 21 Kiefer MC, Brauer MJ, Powers VC, Wu JJ, Umansky SR, Tomei LD, Barr PJ. Modulation of apoptosis by the widely distributed Bcl-2 homologue Bak. *Nature* 1995; 374: 736-739
- 22 Wang K, Yin XM, Chao DT, Milliman CL, Korsmeyer SJ. BID: a novel BH3 domain-only death agonist. *Genes Dev* 1996; 10: 2859-2869
- 23 Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science* 1998; 281: 1322-1326
- 24 Harris MH, Thompson CB. The role of the Bcl-2 family in the regulation of outer mitochondrial membrane permeability. *Cell Death Differ* 2000; 7: 1182-1191
- 25 He J, Xiao Y, Casiano CA, Zhang L. Role of mitochondrial cytochrome c in cocaine-induced apoptosis in coronary artery endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2000; 295: 896-903
- 26 Jürgensmeier JM, Xie Z, Deveraux Q, Ellerby L, Bredesen D, Reed JC. Bax directly induces release of cytochrome c from isolated mitochondria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 4997-5002
- 27 Rossé T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C. Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. *Nature* 1998; 391: 496-499
- 28 Crompton M. The mitochondrial permeability transition pore and its role in cell death. *Biochem J* 1999; 341 (Pt 2): 233-249
- 29 Noguchi K, Kitanaka C, Yamana H, Kokubu A, Mochizuki T, Kuchino Y. Regulation of c-Myc through phosphorylation at Ser-62 and Ser-71 by c-Jun N-terminal kinase. *J Biol Chem* 1999; 274: 32580-32587
- 30 Salomons GS, Brady HJ, Verwijs-Janssen M, Van Den Berg JD, Hart AA, Van Den Berg H, Behrendt H, Hählen K, Smets LA. The Bax alpha:Bcl-2 ratio modulates the response to dexamethasone in leukaemic cells and is highly variable in childhood acute leukaemia. *Int J Cancer* 1997; 71: 959-965
- 31 Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, Wang X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1999; 15: 269-290
- 32 Rodriguez J, Lazebnik Y. Caspase-9 and APAF-1 form an active holoenzyme. *Genes Dev* 1999; 13: 3179-3184
- 33 Zoratti M, Szabò I. The mitochondrial permeability transition. *Biochim Biophys Acta* 1995; 1241: 139-176
- 34 Javadov S, Karmazyn M. Mitochondrial permeability transition pore opening as an endpoint to initiate cell death and as a putative target for cardioprotection. *Cell Physiol Biochem* 2007; 20: 1-22
- 35 Bradham CA, Qian T, Streetz K, Trautwein C, Brenner DA, Lemasters JJ. The mitochondrial permeability transition is required for tumor necrosis factor alpha-mediated apoptosis and cytochrome c release. *Mol Cell Biol* 1998; 18: 6353-6364
- 36 Zamzami N, Marchetti P, Castedo M, Hirsch T, Susin SA, Masse B, Kroemer G. Inhibitors of permeability transition interfere with the disruption of the mitochondrial transmembrane potential during apoptosis. *FEBS Lett* 1996; 384: 53-57
- 37 Xu G, Shi Y. Apoptosis signaling pathways and lymphocyte homeostasis. *Cell Res* 2007; 17: 759-771
- 38 Goping IS, Gross A, Lavoie JN, Nguyen M, Jemmerson R, Roth K, Korsmeyer SJ, Shore GC. Regulated targeting of BAX to mitochondria. *J Cell Biol* 1998; 143: 207-215
- 39 Gross A, Jockel J, Wei MC, Korsmeyer SJ. Enforced dimerization of BAX results in its translocation, mitochondrial dysfunction and apoptosis. *EMBO J* 1998; 17: 3878-3885

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕