

Genistein与5-FU通过p42/44 MAPK通路调控Bax诱导肝癌细胞凋亡

赵忠新, 迟大鹏, 王钰粟, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 王秀华, 刘丹

赵忠新, 齐齐哈尔市建华医院普外科 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

迟大鹏, 上海中医药大学附属岳阳医院神经外科 上海市 200437

王钰粟, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 王秀华, 刘丹, 齐齐哈尔医学院基础医学院 黑龙江省齐齐哈尔市 161006

赵忠新, 主治医师, 主要从事普外科疾病的诊疗、教学及科研。

黑龙江省教育厅科学技术研究基金资助项目, No. 12531792

作者贡献分布: 此课题由刘丹、岳丽玲及于海涛设计; 研究过程由刘丹、赵忠新、迟大鹏、王钰粟及王秀华操作; 研究方法由王玉指导; 数据分析由梅庆步完成; 本论文写作由赵忠新、刘丹及王钰粟完成。

通讯作者: 刘丹, 讲师, 161006, 黑龙江省齐齐哈尔市建华区卜奎北大街333号, 齐齐哈尔医学院生物遗传教研室。

7896078_cn@sina.com

电话: 0452-2663174

收稿日期: 2014-03-16 修回日期: 2014-04-02

接受日期: 2014-04-09 在线出版日期: 2014-05-18

Genistein and 5-FU inhibit apoptosis of human hepatocellular cancer cells by regulating Bax via p42/44 MAPK pathway

Zhong-Xin Zhao, Da-Peng Chi, Yu-Su Wang, Qing-Bu Mei, Hai-Tao Yu, Li-Ling Yue, Yu Wang, Xiu-Hua Wang, Dan Liu

Zhong-Xin Zhao, Department of General Surgery, Qiqihar Jianhua Hospital, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Da-Peng Chi, Department of Neurosurgery, Yueyang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China

Yu-Su Wang, Qing-Bu Mei, Hai-Tao Yu, Li-Ling Yue, Wang Yu, Xiu-Hua Wang, Dan Liu, Basic Medical Science College, Qiqihar Medical University, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Science and Technology Research Project of Heilongjiang Provincial Department of Education, No. 12531792

Correspondence to: Dan Liu, Lecturer, Qiqihar Medical University, 333 Bukui North Road, Jianhua District, Qiqihar 161006, Heilongjiang Province, China. 7896078_cn@sina.com

Received: 2014-03-16 Revised: 2014-04-02

Accepted: 2014-04-09 Published online: 2014-05-18

Abstract

AIM: To explore whether genistein and 5-FU induce apoptosis of human hepatic cancer MHCC97-L cells

by regulating Bax via the p42/44 MAPK pathway.

METHODS: MHCC97-L cells were treated with genistein, 5-FU, PD98059, genistein + 5-FU, PD98059 + genistein, PD98059 + 5-FU, or PD98059 + genistein + 5-FU, respectively. The density and morphology of MHCC97-L cells were observed under an inverted microscope. Apoptosis and cell death were detected after annexin V-FITC/PI staining under a fluorescence microscope. The expression of Bax protein was detected by Western blot.

RESULTS: All drug groups showed decreased cell density, cell death and debris, cell shrinkage or deformation, reduced cytoplasmic transparency, and vacuoles structure within the cells, with PD98059 + genistein + 5-FU group having the most obvious changes. Apoptotic cells and dead cells were detected in all drug groups. The relative expression of Bax protein was the highest in the genistein + 5-FU group, followed by the genistein, 5-FU, PD98059 + genistein + 5-FU, PD98059 + 5-FU, PD98059 + genistein, PD98059 and control groups. The expression of Bax protein in the PD98059 + genistein group was very close to that in the PD98059 group, but was significantly lower than that in the genistein group.

CONCLUSION: Genistein and 5-FU can induce the apoptosis of MHCC97-L cells and increase Bax expression possibly by regulating Bax mainly through the p42/44 MAPK pathway.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Mitogen-activated protein kinase; Genistein; 5-fluorouracil; Apoptosis; Bax; Hepatocellular cancer

Zhao ZX, Chi DP, Wang YS, Mei QB, Yu HT, Yue LL, Wang Y, Wang XH, Liu D. Genistein and 5-FU inhibit apoptosis of human hepatocellular cancer cells by regulating Bax via p42/44 MAPK pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(14): 2003-2007 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2003.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i14.2003>

■背景资料

p42/44丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)是调节细胞增殖、分化及发育的信号网络核心, Bax为Bcl-2家族中促凋亡蛋白。在药物诱导肿瘤细胞凋亡的研究中, 明确p42/44 MAPK通路及Bax的关系有利于发现药物的作用机制及指导临床应用。

■同行评议者

唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

■研究前沿

木黄酮(genistein, Gen)增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,降低肿瘤细胞耐药性的产生,减轻患者对化疗药物的不良反应,已成为国内外学者研究的热点之一。联合用药的协同疗效与p42/44 MAPK通路相关性的可能成为评价药物联用的可行性和有效性的指标。

摘要

目的: 探讨在染料木黄酮(genistein, Gen)与氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)诱导肝癌MHCC97-L细胞凋亡作用中p42/44丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)对Bax的调控。

方法: 倒置显微镜观察细胞密度和细胞形态; 荧光显微镜(Annexin V-FITC/PI)检测细胞凋亡及细胞死亡; Western blot检测Bax蛋白表达。

结果: 倒置显微镜下, 所有药物组细胞密度均下降, 死亡细胞及碎片散落在培养液中, 贴壁细胞皱缩或变形, 胞浆透明度下降, 可见空泡结构, 其中以PD98059+Gen+5-FU组变化最明显; 荧光显微镜下, 所有药物组均可检测到凋亡和死亡细胞; Western blot检测各组Bax蛋白的相对表达量由高到低依次为Gen+5-FU、Gen、5-FU、PD98059+Gen+5-FU、PD98059+5-FU、PD98059+Gen、PD98059、对照组, PD98059+Gen组的Bax蛋白表达与PD98059组十分接近, 且明显低于Gen组; PD98059+5-FU组和PD98059+Gen+5-FU组的Bax蛋白表达介于单用抑制剂组与未用抑制剂预处理的对应药物组之间。

结论: Gen、5-FU和Gen+5-FU均能诱导MHCC97-L细胞凋亡, 并与上调Bax有关; Gen对Bax的调控与p42/44 MAPK通路关系密切; 5-FU和联用组调控Bax需要有p42/44 MAPK通路参与。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 丝裂原活化蛋白激酶; 染料木黄酮; 氟尿嘧啶; 细胞凋亡; Bax; 肝癌

核心提示: 降低p42/44丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases)的活性能拮抗木黄酮(genistein)和氟尿嘧啶(5-fluorouracil)单用及联用对MHCC97-L细胞上调Bax的作用, 但所有经PD98059预处理的药物组抗肝癌细胞增殖的效果并没有减弱, 反而增强, 提示存在其他机制与之相互作用。

赵忠新, 迟大鹏, 王钰粟, 梅庆步, 于海涛, 岳丽玲, 王玉, 王秀华, 刘丹. Genistein与5-FU通过p42/44 MAPK通路调控Bax诱导肝癌细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2014; 22(14): 2003-2007
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/2003.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i14.2003>

0 引言

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein

kinases, MAPKs)信号通路是将细胞外刺激信号从细胞表面转导至细胞核内的重要传递者^[1]. 细胞外信号调节激酶(p42/44 MAPK, 又称ERK)是MAPK家族的重要成员, 是一个三级酶促级联反应链, 即Ras-Raf-MEK-p42/44 MAPK, 是调节细胞增殖、分化及发育的信号网络核心. 染料木黄酮(genistein, Gen)是天然异黄酮物质, 具有抗肿瘤功效, 氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)是消化系统肿瘤常用的化疗药物, 二者联合有可能增强肿瘤细胞对化疗药物的敏感性, 降低肿瘤细胞耐药性的产生. 本研究延续前期实验^[2], 进一步探讨在Gen与5-FU诱导肝癌MHCC97-L细胞凋亡作用中p42/44 MAPK对Bax的调控机制。

1 材料和方法

1.1 材料 肝癌MHCC97-L细胞购自复旦大学肝癌研究所. Gen(Sigma), 5-FU(天津金耀氨基酸有限公司), PD98059(Promega), 优级胎牛血清(Hyclone), 胰蛋白酶、DMSO(Amresco), DMEM高糖培养基(Gibco), Annexin V-FITC/PI试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司), Bax polyclonal antibody(Santa Cruz), β -actin(武汉博士德生物工程有限公司), 蛋白Marker(MBI), 哺乳动物蛋白抽提试剂盒、BCA蛋白定量试剂盒、一步法快速WB(HRP)试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司), ECL超敏发光液(北京普利莱基因技术有限公司), NC膜(Pall), 胶片(富士), 余为进口分装或国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养: MHCC97-L细胞生长于DMEM高糖培养液中, 内含10% FBS及100 U/mL青霉素和100 μ g/mL链霉素, 置于37 $^{\circ}$ C、5.0%CO₂的培养箱中培养, 实验所用细胞均取对数生长期。

1.2.2 实验分组: 实验分为对照组、Gen组(80 μ mol/L)、5-FU组(40 μ mol/L)、PD98059组(50 μ mol/L)(p42/44 MAPK抑制剂)、Gen(80 μ mol/L)+5-FU(40 μ mol/L)组、PD98059(50 μ mol/L)+Gen(80 μ mol/L)组、PD98059(50 μ mol/L)+5-FU(40 μ mol/L)组、PD98059(50 μ mol/L)+Gen(80 μ mol/L)+5-FU(40 μ mol/L)组, 后3组为抑制p42/44 MAPK的药物组(PD98059预处理1 h后, 再加入联用药物)。

1.2.3 倒置显微镜: 细胞以 3×10^5 个/孔接种于6孔板, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设3个复孔, 培养24 h后, 加入不同药物处理的培养液, 处理48 h后, 倒置显微镜下观察细胞密度及形态学变化。

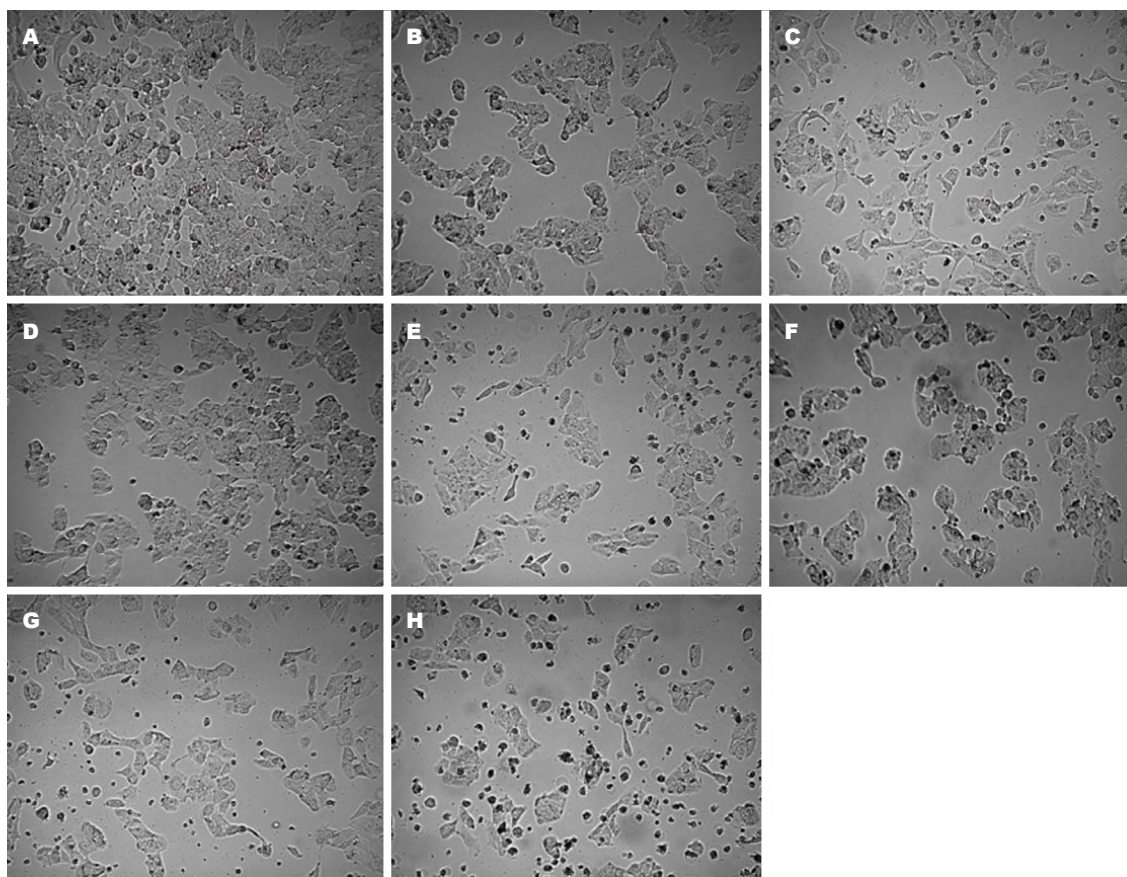


图1 倒置显微镜下各组细胞密度及形态学变化($\times 100$). A: 对照组; B: Gen组; C: 5-FU组; D: PD98059组; E: Gen+5-FU组; F: PD98059+Gen组; G: PD98059+5-FU组; H: PD98059+Gen+5-FU组. 5-FU: 氟尿嘧啶; Gen: 木黄酮.

■ 相关报道

Gen诱导肝癌细胞凋亡作用与上调Bax、下调Bcl-2及激活Caspase9和Caspase3有关. 5-FU可激活Caspase8和Caspase3的活性, 诱导肝癌细胞凋亡. p42/44 MAPK与Bcl-2家族蛋白关系密切, p42/44 MAPK的激活可上调Bcl-2等抗凋亡蛋白的表达而抑制细胞凋亡, 也可下调Bcl-2和Bcl-xL, 增强Caspases3、6、8、9的活性而促进细胞凋亡.

1.2.4 荧光显微镜: 细胞以 5×10^4 个/孔接种于24孔板, 每孔0.5 mL细胞悬液, 每组设2个复孔, 培养24 h后, 加入不同药物处理的培养液, 处理48 h后, PBS洗涤细胞2次, 加入提前混匀的500 μ L Binding Buffer、5 μ L Annexin V-FITC和5 μ L PI的混合液, 室温避光反应5 min, 于荧光显微镜下, 用双色滤光片观察, Annexin V-FITC呈现绿色信号, PI呈现红色信号.

1.2.5 细胞蛋白的抽提: 细胞以 3×10^5 个/孔接种于6孔板中, 每孔2 mL细胞悬液, 每组设2个复孔, 培养24 h后, 加入不同药物处理的培养液, 培养48 h后, PBS(预冷)洗涤细胞2次, 冰上加入400 μ L的蛋白抽提试剂(裂解液与蛋白酶抑制剂的混合物), 冰上用枪头小心吹打贴壁细胞, 将裂解液转移至EP管中, 冰上孵育30 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 14000 g离心10 min, 小心转移上清液至新EP管中, 并记录各组转移体积.

1.2.6 BCA蛋白定量: 将稀释好的A-G组BSA标准品和待测蛋白样品(稀释10倍)各25 μ L分别加入96孔板, 每组设3个复孔, 加入200 μ L BCA工作液, 混匀后, 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min, 冷却至室温, 于

自动酶标仪检测570 nm的吸光度值, 绘制标准曲线, 计算待测样品的蛋白浓度, 用5 \times 上样缓冲液和细胞裂解液稀释, 调整待测样品蛋白浓度为2 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, 100 $^{\circ}\text{C}$ 加热5 min, 冷却后混匀, -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存.

1.2.7 Western blot: 取各组样品15 μL (30 μg)上样, 经SDS-PAGE电泳分离蛋白样品后, 转移至NC膜上, 封闭液封闭10 min, 再用抗体反应液处理后的一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 经洗涤3次(每次5 min)后, 进行ECL发光, 显影, 定影, 用Photoshop13.0软件分析胶片泳带, 靶蛋白表达量用相对比率来表示.

统计学处理 数据用mean \pm SD表示, 采用SPSS16.0软件进行统计学分析, 两组间均数比较采用 t 检验. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 倒置显微镜观察细胞密度及细胞形态学变化 所有药物组细胞密度均下降, 死亡细胞及碎片散落在培养液中, 贴壁细胞皱缩或变形, 胞浆透明度下降, 可见空泡结构, 其中以

■ 创新盘点

本实验结果显示, 加入p42/44 MAPK 抑制剂后 Gen 上调 Bax 的作用与单用抑制剂的相仿, 又明显不及单用 Gen, 提示 Gen 可能主要通过 p42/44 MAPK 通路上调 Bax; 而 5-FU 和联用组上调 Bax 只有部分需要由 p42/44 MAPK 通路介导。

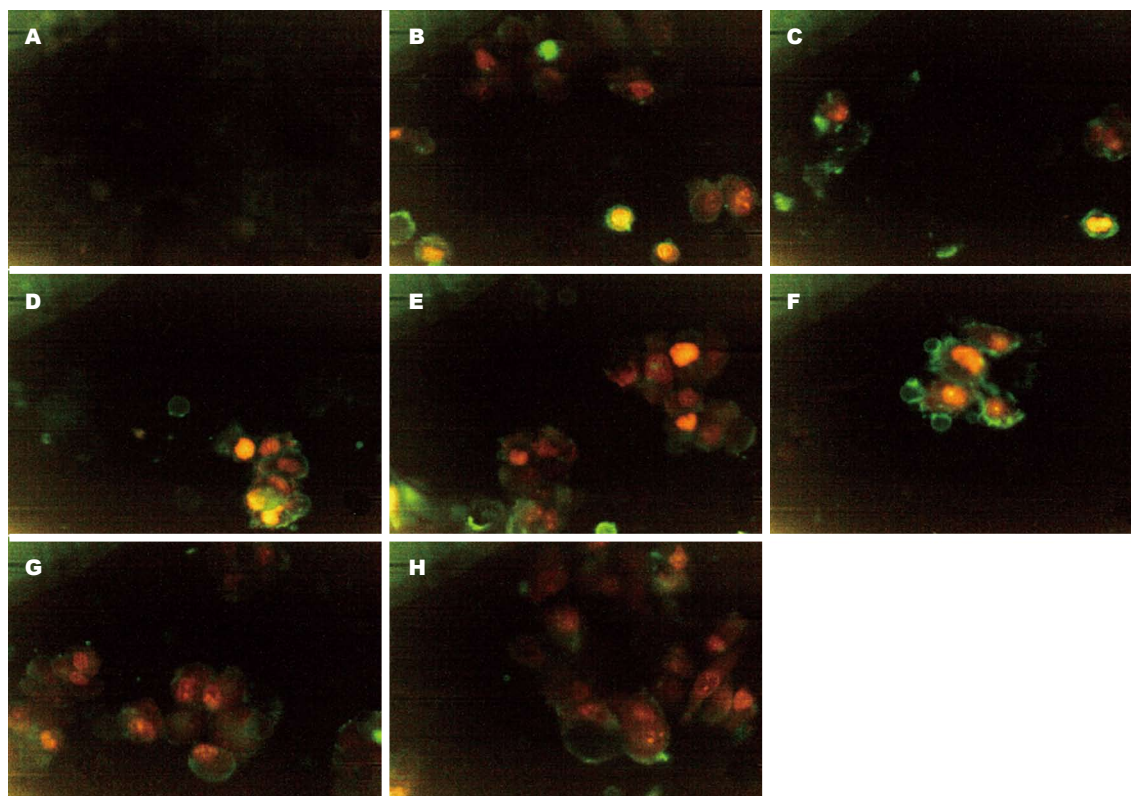


图 2 荧光显微镜显示各组细胞凋亡及死亡情况($\times 400$)。A: 对照组; B: Gen 组; C: 5-FU 组; D: PD98059 组; E: Gen+5-FU 组; F: PD98059+Gen 组; G: PD98059+5-FU 组; H: PD98059+Gen+5-FU 组。5-FU: 氟尿嘧啶; Gen: 木黄酮。

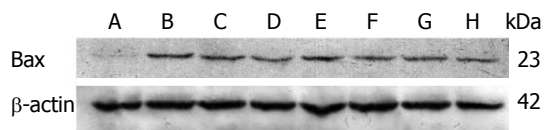


图 3 Western blot 检测各组细胞 Bax 蛋白表达情况。A: 对照组; B: Gen 组; C: 5-FU 组; D: PD98059 组; E: Gen+5-FU 组; F: PD98059+Gen 组; G: PD98059+5-FU 组; H: PD98059+Gen+5-FU 组。5-FU: 氟尿嘧啶; Gen: 木黄酮。

PD98059+Gen+5-FU 组变化最明显, 而对照组胞浆内偶见空泡, 其余未见异常(图1)。

2.2 荧光显微镜(Annexin V-FITC/PI)观察细胞凋亡与细胞死亡 药物组荧光信号显示, 绿色为早期凋亡的细胞, 细胞内红色而细胞膜周围绿色的为晚期凋亡的细胞, 红色的为死亡的细胞, 所有药物组均可检测到凋亡和死亡细胞, 对照组未见明显的绿色和红色信号(图2)。

2.3 Western blot 检测 Bax 蛋白表达 各组 Bax 蛋白的相对表达量由高到低依次为 Gen+5-FU、Gen、5-FU、PD98059+Gen+5-FU、PD98059+5-FU、PD98059+Gen、PD98059、对照组; PD98059+Gen 组的 Bax 蛋白表达与 PD98059 组十分接近, 但明显低于 Gen 组, 抑制 p42/44 MAPK 磷酸化未增加 Gen 上调 Bax 的作

用; PD98059+5-FU 组和 PD98059+Gen+5-FU 组的 Bax 蛋白表达介于单用抑制剂组与未用抑制剂预处理的对应药物组之间(图3)。结果提示, Gen、5-FU 和 Gen+5-FU 诱导 MHCC97-L 细胞凋亡与上调 Bax 有关, Gen 对 Bax 的调控与 p42/44 MAPK 通路关系密切, 5-FU 和联用组调控 Bax 需要 p42/44 MAPK 通路参与。

3 讨论

国内外众多学者通过实验证明, Gen 具有明显诱导肝癌细胞凋亡作用与上调 Bax^[3-5]、下调 Bcl-2^[4-6] 及激活 Caspase9^[5] 和 Caspase3^[5,7,8] 有关。5-FU 是历史悠久的基础化疗药物, 一般认为他是抗代谢药, 但最新研究表明他还可通过诱导细胞凋亡发挥抗肿瘤作用^[9]。5-FU 导致 Fas 受体增加, 激活 Fas 信号途径, 引起 Caspase8 和 Caspase3 的活化, 诱导肝癌细胞凋亡^[10,11]。有研究表明, 过表达的 Bax 基因能进一步抑制 Bcl-2 的功能, 促进肝癌细胞凋亡^[12]。本实验结果显示, Gen、5-FU 和 Gen+5-FU 组均能诱导肝癌 MHCC97-L 细胞凋亡, 并与上调促凋亡蛋白 Bax 有关。

Bcl-2 家族蛋白包括两大类, 一类是抗凋亡

蛋白, 如Bcl-2和Bcl-xL等; 另一类是促凋亡蛋白, 如Bax、Bak、Bid和Bad等^[13]。p42/44 MAPK是此信号转导通路的最下游, 当他活化后可使其底物磷酸化, Bax是其底物之一。一般认为, p42/44 MAPK激活能促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡, 这主要是因为p42/44 MAPK与Bcl-2家族蛋白有着密切的关系^[14]。p42/44 MAPK的激活不仅可以上调Bcl-2等抗凋亡蛋白的表达, 而且还可以诱导其磷酸化^[15-18]。另外, 也有实验发现, p42/44 MAPK信号途径也可促进细胞凋亡, 在人B细胞的研究中, p42/44 MAPK参与诱导细胞凋亡^[14]。Boucher等^[19]以胰腺癌细胞为模型, 分析p42/44 MAPK在细胞生存中的调节作用以及相关机制时, 发现p42/44 MAPK抑制剂可以诱导细胞G₀/G₁期的阻滞及下调抗凋亡蛋白Bcl-2和Bcl-xL的表达, 增强Caspase3、Caspase6、Caspase8、Caspase9的活性, 但不影响促凋亡蛋白Bax和Bak的表达。本实验结果显示, 加入p42/44 MAPK抑制剂后Gen上调Bax的作用与单用抑制剂的相仿, 又明显不及单用Gen, 提示Gen可能主要通过p42/44 MAPK通路上调Bax的蛋白表达; 而5-FU和联用组上调Bax只有部分需要由p42/44 MAPK通路介导。

总之, 降低p42/44 MAPK的活化能拮抗Gen、5-FU和联用组对MHCC97-L细胞上调Bax的作用, 但所有经PD98059预处理的药物组抗肝癌细胞增殖的效果并没有减弱, 反而增强, 说明仍存在其他机制与之相互作用, 尚待进一步研究。

4 参考文献

- 1 陈誉华. 医学细胞生物学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 290
- 2 刘丹, 赵忠新. Genistein与5-FU联合对人肝癌细胞MHCC97-L的抗增殖作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2474-2478
- 3 马兴标, 张继红, 梁力建, 黄洁夫. 金雀异黄素调节肝癌HepG2细胞bax基因表达诱导细胞凋亡的实验研究. 中国普外基础与临床杂志 2008; 15: 245-249
- 4 王宝海, 田晓丰, 曹宏. 金雀异黄素诱导人肝癌细胞SMMC-7721细胞凋亡的研究. 中国老年学杂志 2008; 28: 1888-1889
- 5 Jiang H, Ma Y, Chen X, Pan S, Sun B, Krissansen GW, Sun X. Genistein synergizes with arsenic trioxide to suppress human hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2010; 101: 975-983 [PMID: 20219070 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01464.x]
- 6 Ma Y, Wang J, Liu L, Zhu H, Chen X, Pan S, Sun X, Jiang H. Genistein potentiates the effect of arsenic trioxide against human hepatocellular carcinoma: role of Akt and nuclear factor-κB. *Cancer Lett* 2011; 301: 75-84 [PMID: 21078540 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.022]
- 7 Chodon D, Ramamurthy N, Sakthisekaran D. Preliminary studies on induction of apoptosis by genistein on HepG2 cell line. *Toxicol In Vitro* 2007; 21: 887-891 [PMID: 17391909 DOI: 10.1016/j.tiv.2007.01.023]
- 8 Chodon D, Banu SM, Padmavathi R, Sakthisekaran D. Inhibition of cell proliferation and induction of apoptosis by genistein in experimental hepatocellular carcinoma. *Mol Cell Biochem* 2007; 297: 73-80 [PMID: 17006617 DOI: 10.1007/s11010-006-9324-2]
- 9 张厚莉, 裴可灵, 崔淑香. 5-FU类药物抗癌新调控机制研究进展. 中华肿瘤防治杂志 2012; 19: 1437-1440
- 10 Chen Z, Xu K. [Effect of fluorouracil combined with FK228 on the proliferation, apoptosis and Fas mRNA level in HepG2 hepatoma cell lines]. *Zhongnan Daxue Xuebao Yixueban* 2009; 34: 124-129 [PMID: 19270351]
- 11 Okamura M, Shimada J, Sakagami H. Comparative analysis of cell death induction by cisplatin and 5-FU in human oral squamous and hepatocellular carcinoma cell lines. *Anticancer Res* 2008; 28: 253-259 [PMID: 18383853]
- 12 Wang JM, Xiao BL, Zheng JW, Chen HB, Zou SQ. Effect of targeted magnetic nanoparticles containing 5-FU on expression of bcl-2, bax and caspase 3 in nude mice with transplanted human liver cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 3171-3175 [PMID: 17589894]
- 13 刘志, 郑军. Bcl-2家族蛋白及其在细胞凋亡中的作用. 生命的化学 2007; 27: 22-25
- 14 郑铭, 韩启德. 参与细胞凋亡的丝裂原活化蛋白激酶及其作用机制. 生理科学进展 2000; 31: 157-160
- 15 Stadheim TA, Xiao H, Eastman A. Inhibition of extracellular signal-regulated kinase (ERK) mediates cell cycle phase independent apoptosis in vinblastine-treated ML-1 cells. *Cancer Res* 2001; 61: 1533-1540 [PMID: 11245462]
- 16 Romerio F, Zella D. MEK and ERK inhibitors enhance the anti-proliferative effect of interferon-alpha2b. *FASEB J* 2002; 16: 1680-1682 [PMID: 12206994]
- 17 Boucher MJ, Duchesne C, Lainé J, Morisset J, Rivard N. cAMP protection of pancreatic cancer cells against apoptosis induced by ERK inhibition. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 207-216 [PMID: 11444827 DOI: 10.1006/bbrc.2001.5147]
- 18 Gebauer G, Peter AT, Onesime D, Dhanasekaran N. Apoptosis of ovarian granulosa cells: correlation with the reduced activity of ERK-signaling module. *J Cell Biochem* 1999; 75: 547-554 [PMID: 10572238]
- 19 Boucher MJ, Morisset J, Vachon PH, Reed JC, Lainé J, Rivard N. MEK/ERK signaling pathway regulates the expression of Bcl-2, Bcl-X(L), and Mcl-1 and promotes survival of human pancreatic cancer cells. *J Cell Biochem* 2000; 79: 355-369 [PMID: 10972974]

■同行评价
本文设计合理, 具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静

