

干扰 ANXA3 基因表达对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响

韩雪, 方红, 聂琛

(大连大学附属中山医院, 辽宁 大连 116001)

摘要: [目的] 探究干扰膜联蛋白 A3 (ANXA3) 基因表达对乳腺癌细胞增殖、凋亡的影响以及可能作用机制。[方法] 以乳腺癌 MCF-7 细胞为研究对象, RNA 干扰技术沉默 ANXA3 基因表达, 荧光定量 RT-PCR 和 Western Blot 检测转染后细胞中 ANXA3 mRNA 及蛋白表达; 四甲基偶氮唑 (MTT) 法检测细胞的增殖能力变化, 膜联蛋白 V-FITC (Annexin V-FITC)/碘化丙啶 (PI) 双染法检测细胞的凋亡率, 蛋白质印迹法 (Western Blot) 检测细胞中 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、活化的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3 (Cleaved Caspase-3) 蛋白的水平。[结果] 空白对照组、阴性对照组和 ANXA3 干扰组细胞中 ANXA3 mRNA 的表达量分别为 0.078 ± 0.006 、 0.072 ± 0.007 和 0.008 ± 0.001 ; ANXA3 蛋白表达量分别为 0.792 ± 0.085 、 0.764 ± 0.078 和 0.353 ± 0.039 ; 细胞的凋亡率分别为 $(3.425 \pm 0.643)\%$ 、 $(3.537 \pm 0.740)\%$ 、 $(23.455 \pm 3.686)\%$; Bcl-2 蛋白水平分别为 1.256 ± 0.247 、 1.239 ± 0.265 、 0.624 ± 0.065 ; Bax 蛋白水平分别为 0.856 ± 0.086 、 0.842 ± 0.079 、 1.526 ± 0.344 ; Cleaved Caspase-3 蛋白水平分别为 0.522 ± 0.057 、 0.535 ± 0.062 、 1.230 ± 0.367 。与空白对照组相比, ANXA3 干扰组细胞中 ANXA3 mRNA 和蛋白水平显著性降低 ($P < 0.05$), 细胞的增殖能力显著性降低 ($P < 0.05$), 其凋亡率显著性增加 ($P < 0.05$); 细胞中 Bcl-2 蛋白水平显著性下调 ($P < 0.05$), Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达量显著性上调 ($P < 0.05$)。[结论] 干扰 ANXA3 表达抑制乳腺癌细胞增殖, 诱导其凋亡, 其作用与 Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白水平变化引起的细胞凋亡通路的变化有关。

关键词: 乳腺癌; 增殖; 凋亡; ANXA3

中图分类号: R737.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2019)07-0622-05

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.07.B007

Effect of Interfering ANXA3 Gene Expression on Proliferation and Apoptosis of Breast Cancer Cells

HAN Xue, FANG Hong, NIE Chen

(Affiliated Zhongshan Hospital Dalian University, Dalian 116001, China)

Abstract: [Objective] To investigate the effect of interfering Annexin A3 (ANXA3) gene expression on proliferation and apoptosis of breast cancer cells and its mechanism. [Methods] The ANXA3 gene expression in breast cancer MCF-7 cells was silenced by RNA interference technique. The expressions of ANXA3 mRNA and protein were detected by RT-PCR and Western Blot, respectively. Tetramethylzole (MTT) method was used to examine the cell proliferation and the apoptotic rate was determined by Annexin V-FITC/PI staining method. The expression of B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), Bcl-2-related protein X (Bax), cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase 3 (cleaved Caspase-3) in MCF-7 cells were detected by Western blot. [Results] The expression levels of ANXA3 mRNA were 0.078 ± 0.006 , 0.072 ± 0.007 , 0.008 ± 0.001 in blank control group, negative control group and ANXA3 interference group, respectively; and the protein expression levels were 0.792 ± 0.085 , 0.764 ± 0.078 and 0.353 ± 0.039 . The apoptosis rates were $(3.425 \pm 0.643)\%$, $(3.537 \pm 0.740)\%$, $(23.455 \pm 3.686)\%$, respectively, the protein expression levels of Bcl-2 were 1.256 ± 0.247 , 1.239 ± 0.265 , 0.624 ± 0.065 , respectively; those of Bax were 0.856 ± 0.086 , 0.842 ± 0.079 , 1.526 ± 0.344 , respectively; and those of cleaved Caspase-3 were 0.522 ± 0.057 , 0.535 ± 0.062 , 1.230 ± 0.367 in three groups, respectively. Compared with the blank control group, the expression levels of ANXA3 mRNA and protein were significantly decreased ($P < 0.05$), cell proliferation was significantly decreased ($P < 0.05$), and the apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.05$). The protein expression levels of Bcl-2 were significantly down-regulated ($P < 0.05$), and the protein expression levels of Bax and cleaved Caspase-3 were significantly up-regulated ($P < 0.05$). [Conclusion] Interference of ANXA3 expression inhibits the proliferation and induces apoptosis of breast cancer MCF-7 cells, which is related to the change in the expression levels of Bcl-2, Bax and cleaved Caspase-3.

Subject words: breast cancer; proliferation; apoptosis; ANXA3

通信作者: 韩雪, 主治医师, 硕士; 大连大学附属中山医院乳腺四科, 辽宁省大连市中山区

解放街 6 号 (116001); E-mail: snowy.fairy1985@163.com

收稿日期: 2018-01-02; **修回日期:** 2018-05-18

膜联蛋白 A3(annexin A3, ANXA3)是膜联蛋白家族(annexin, ANX)的成员之一,是钙离子调节的磷脂与膜结合蛋白,参与细胞中膜转运活动和细胞膜表面一系列钙调节蛋白的反应,并在炎症反应、细胞生长分化、细胞骨架蛋白反应中发挥重要作用^[1-2]。ANXA3 表达异常与疾病具有相关性,在肿瘤的发生、发展中可介导细胞增殖、凋亡、运动以及信号传导有重要作用^[3]。本文通过 RNA 干扰技术沉默 ANXA3 在乳腺癌细胞中的表达量,研究其表达量对乳腺癌细胞增殖、细胞凋亡的影响以及其作用机制,为乳腺癌的基因靶向治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验主要试剂

人乳腺癌细胞系 MCF-7 由本实验室冻存,最初购买于中科院上海细胞库;DMEM 培养基购自美国 Hyclone 公司,胰酶(含 EDTA)、胎牛血清购自美国 Gibco 公司,DNA 转染试剂、质粒提取试剂盒、逆转录试剂盒、荧光定量试剂、鼠抗人 β 肌动蛋白(β -actin)单克隆抗体购自北京康为试剂生物科技有限公司,Trizol 购自美国 Invitrogen 公司,RIPA 细胞裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒、细胞凋亡检测试剂盒购自上海碧云天生物技术公司,十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate, SDS)购自德国 Serva 公司,四甲基偶氮唑(MTT)/二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide, DMSO)购自美国 Sigma 公司,活化的含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 3 (cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase 3, Cleaved Caspase-3)单克隆抗体、B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)单克隆抗体、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bcl-2 associated X protein, Bax)单克隆抗体购自美国 Cellular Signaling Technology 公司。

1.1.2 实验主要器材

5%CO₂ 细胞培养箱购自美国 Thermo 公司,显微镜购自日本 Olympus 公司,荧光定量 PCR 仪购自美国 ABI 公司,低速离心机购自丹麦 Labogene 公司,流式细胞仪购自美国 BD 公司,酶联免疫检测仪、电泳仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

从液氮中取出人乳腺癌 MCF-7 细胞冻存管,快

速置于 37℃ 水浴锅中,使其迅速解冻。加入 5~6ml DMEM 培养基(含 10%胎牛血清),1000rpm/min 离心 5min,弃上清,加入含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基,将细胞接种于 25cm² 细胞培养瓶中,放入 37℃、5%CO₂ 培养箱中,显微镜下观察细胞的生长情况,1~2d 换液 1 次,待细胞铺满瓶底约 90%,弃去培养液,PBS 液清洗 1 次,加入 1ml 0.25%胰酶(含 EDTA)消化,显微镜中观察到细胞逐渐变为圆形,细胞间隙增大,加入含 10%胎牛血清的培养基终止反应,1200rpm 离心 5min,加入 1~2ml 含 10%胎牛血清 DMEM 培养基,以 1:4 比例加入培养瓶中。

1.2.2 细胞转染

将携带有干扰质粒和空白对照质粒的大肠杆菌接种于 LB 固体培养基上,37℃ 培养过夜,提取质粒。将人乳腺癌 MCF-7 细胞分为 3 组,空白对照组、阴性对照组和 ANXA3 干扰组。空白对照组为常规培养的细胞,阴性对照组细胞转染空白对照质粒,ANXA3 干扰组细胞转染 ANXA3 靶向 shRNA 干扰质粒。将 20pmol 质粒溶于 50 μ l siRNA 转染缓冲液中,混合均匀;加入 siRNA 转染缓冲液将转染试剂稀释至 50 μ l,振荡混匀,将质粒稀释液与转染试剂稀释液混合,涡旋 3s,室温下孵育 15min,形成转染复合物;将该复合物加入 900 μ l 不含胎牛血清的新鲜培养基中,吹打混合均匀,加入细胞培养板中,37℃、5%CO₂ 培养箱培养 6h,更换为完全培养基继续培养。

1.2.3 荧光定量 RT-PCR 检测转染后细胞中 ANXA3 mRNA 的表达量

将转染后 24h 细胞培养液吸弃去,置于冰上,加入 1ml Trizol 充分裂解细胞,将裂解液转移至无菌离心管中,冰浴中提取细胞中总 RNA,20 μ l DEPC 水溶解 RNA。吸取 8 μ l 总 RNA 加入 10 μ m Oligo 溶液,65℃ 孵育 5min 后立即置于冰上反应 3min,根据反转录试剂盒指示进行操作,42℃ 孵育 10min,70℃ 孵育 5min。吸取 2 μ l 为荧光定量模板,ANXA3 引物由上海生工生物科技公司合成,上游序列为 5'-TC-CGAAACATCTGGT-3',下游序列为 5'-TCAAGTT-CTTCGTAATACCGAT-3'; β -actin 上游序列为 5'-GGACCTGACTGACTACCTC-3',下游序列为 5'-TAC-TCCTGCTTGCTGAT-3'。反应条件为 95℃ 15s,60℃ 1min,40 cycles。实验重复 3 次,采用 2^{- $\Delta\Delta$} 法计算目的基因的相对表达量。

1.2.4 Western Blot 检测转染后细胞中 ANXA3 蛋白表达量

采用蛋白质印迹法 (Western Blot) 检测转染后细胞中 ANXA3 蛋白表达量。PBS 液清洗转染后 24h 的乳腺癌细胞, 每孔加入 1ml RIPA 裂解液 (含有 10 μ M PMSF), 置于冰上, 反复吹打, 振荡器上每隔 10min 混匀 1 次, 提取细胞中总蛋白。在提取的蛋白样品中加入 4 倍体积的 5 $\times$ SDS-PAGE 缓冲液, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 5min 完全变性蛋白质。将变性的蛋白质样品冷却至室温, 吸取 10 μ l 蛋白样品加入 SDS-PAGE 凝胶样孔中, 浓缩胶电压为 80V 电泳 30min, 分离胶电压为 120V 电泳 60min, 条带迁移至底部上方 1cm。提前剪裁与凝胶大小的滤纸和 PVDF 膜, 浸泡于转膜缓冲液中 3min, 右下至上依次放入阳极板、滤纸、PVDF 膜、凝胶、滤纸、阴极板, 恒定电流 150mA 转膜 3h。TBST 液洗涤 3min, 加入 5% 封闭液, 摇床上封闭 1h, TBST 液洗涤 3 次, 每次 5min, 加入一抗, 4 $^{\circ}$ C 孵育 1h, TBST 液洗涤 3 次, 每次 10min, 加入二抗, 室温孵育 1h, TBST 液洗涤 3 次, 每次 10min, E-CL 显色, 置于暗室中 30min, 显影 2min, 常温下晾干, 灰度分析软件分析蛋白质相对表达量。

1.2.5 MTT 法检测细胞增殖能力

人乳腺癌 MCF-7 细胞转染 6h 后更换为完全培养基时, 加入胰酶消化, 将细胞密度调整为 5 $\times$ 10⁴/ml, 接种于 96 孔培养板上, 每孔加入 150 μ l 细胞悬浮液, 培养箱继续培养 48h, 每孔细胞中加入 30 μ l MTT (5mg/ml) 溶液, 常规孵育 4h, 弃去上清, 每孔细胞中加入 150 μ l DMSO, 低速混匀 10min, 酶联免疫检测仪测定 490nm 波长各孔细胞的吸光值 (OD 值), 每组 6 个复孔, 实验重复 3 次, 取其平均值。

1.2.6 细胞凋亡率的检测

收集对数期乳腺癌细胞, 将细胞密度调整为 1 $\times$ 10⁵ 个/孔接种于 6 孔培养板上, 置于 37 $^{\circ}$ C 细胞培养箱中培养, 待细胞融合度达到 60% 左右, 根据 1.2.2 所示进行转染, 继续培养于细胞培养箱中 48h, PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次, 胰蛋白酶消化、收集细胞至 500 μ l, 加入 Binding Buffer, 5 μ l 膜联蛋白 V-FITC (Annexin V-FITC) 混合均匀, 再加入 5 μ l 碘化丙啶 (Propidium Iodide, PI) 混合均匀, 37 $^{\circ}$ C 避光反应 10min, 流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.7 检测 Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达

根据 1.2.4 所示方法, 经 Western Blot 检测转染

后细胞中 Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件分析实验数据, 以平均数 $\pm$ 标准差表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间差异使用 LSD-t 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RNA 干扰后细胞中 ANXA3 表达的改变

与空白对照组相比, 阴性对照组细胞中 ANXA3 mRNA 及蛋白表达水平差异无统计学意义; ANXA3 干扰组细胞中 ANXA3 mRNA 及蛋白表达水平显著性降低 (P<0.05) (Table 1, Figure 1)。

2.2 RNA 干扰后细胞的增殖能力变化

与空白对照组相比, 阴性对照组细胞增殖能力无显著性变化; ANXA3 干扰组细胞增殖能力较空白对照组显著性降低 (P<0.05) (Table 2)。

2.3 RNA 干扰后细胞的凋亡率变化

与空白对照组相比, 阴性对照组细胞凋亡率无

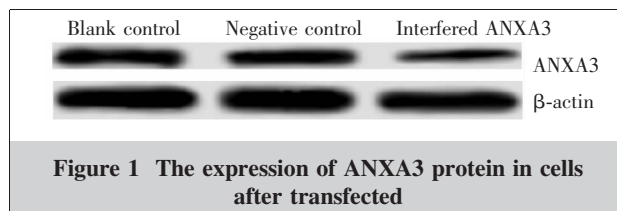


Table 1 The expression of ANXA3 mRNA and protein in cells after transfected ($\bar{x}\pm s$, n=3)

Groups	ANXA3 mRNA expression	ANXA3 protein expression
Blank control group	0.078 $\pm$ 0.006	0.792 $\pm$ 0.085
Negative control group	0.072 $\pm$ 0.007	0.764 $\pm$ 0.078
Interfered ANXA3 group	0.008 $\pm$ 0.001 [#]	0.353 $\pm$ 0.039 [#]
F	157.535	36.658
P	0.000	0.000

[#]: Compared with the blank control group, P<0.05

Table 2 Changes in proliferation ability of breast cancer cells after transfection ($\bar{x}\pm s$, n=3)

Groups	OD ₄₉₀ value
Blank control group	0.698 $\pm$ 0.076
Negative control group	0.675 $\pm$ 0.069
Interfered ANXA3 group	0.356 $\pm$ 0.041 [#]
F	26.918
P	0.001

[#]: Compared with the blank control group, P<0.05

显著性变化;ANXA3 干扰组细胞凋亡率较空白对照组显著性增加($P<0.05$)(Figure 2, Table 3)。

2.4 RNA 干扰后细胞中 Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达量的变化

与空白对照组相比, 阴性对照组细胞中 Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达量无显著性变化; ANXA3 干扰组细胞中 Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白表达量较空白对照组显著性增加 ($P<0.05$), 但 Bcl-2 蛋白表达量显著性降低($P<0.05$)(Table 4, Figure 3)。

3 讨论

ANX 超家族是一类依赖于钙离子的磷脂结合蛋白, 参与细胞胞吐、囊泡运输过程中的膜融合反应, 并调控细胞信号传导、钙离子通道的生成、炎症反应、细胞增殖分化等。ANXA3 是 ANX 超家族的成员, 位于人染色体 4q13~q22。ANXA3 基因的异常表达与肿瘤的形成、细胞增殖、侵袭等有重要影响。ANXA3 在多种肿瘤中均表达, 但其表达模式不同。ANXA3 在结直肠癌组织以及患者血液中的表达量显著性增加, 提示 ANXA3 可作为结直肠癌早期诊断、靶向治疗以及评估预后的生物学指标^[4]。在胰腺癌组织中, ANXA3 的表达量较正常健康组织上调^[5]。但在前列腺癌组织中, ANXA3 的表达量显著性低于健康前列腺组织, 其表达量降低与前列腺癌的形成过程相关^[6], 提示 ANXA3 在不同肿瘤中的作用可能不同。

本实验以乳腺癌 MCF-7 细胞为研究对象, 采用 RNA 干扰技术沉默 ANXA3 的表达量, 荧光定量 RT-PCR 和 Western Blot 检测干扰后细胞中 ANXA3 水平, 结果显示其表达水平较空白对照组显著性降低, 表明乳腺癌细胞转染成功。MTT 以及细胞双染法检测乳腺癌细胞的增殖能力以及凋亡率, 发现 ANXA3 表达量降低, MCF-7 细胞的增殖能力显著性下降, 而细胞凋亡率显著性增加, 表明 ANXA3 在乳腺癌细胞增殖、凋亡过程中起重要作用, 沉默 ANXA3 表达可抑制乳腺癌细

Table 3 Changes in the apoptosis rate of breast cancer cells after transfected ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Groups	Apoptosis rate (%)
Blank control group	3.425±0.643
Negative control group	3.537±0.740
Interfered ANXA3 group	23.455±3.686 [#]
<i>F</i>	82.275
<i>P</i>	0.000

[#]: Compared with the blank control group, $P<0.05$

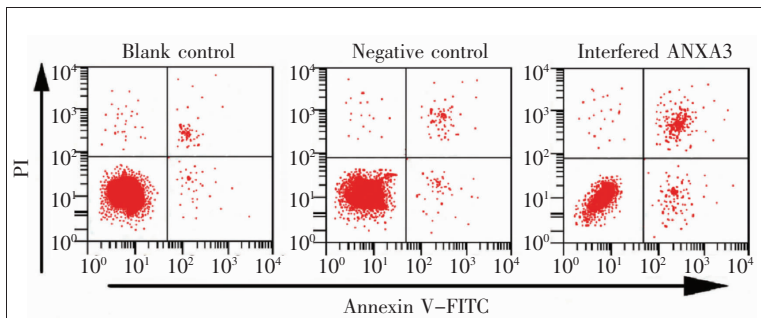


Figure 2 Changes in apoptosis rate of breast cancer cells after transfected

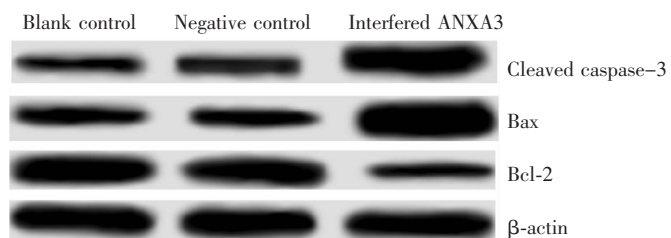


Figure 3 Changes in the expression of Bcl-2, Bax and cleaved Caspase-3 protein in breast cancer cells after transfection

Table 4 Changes in the expression of Bcl-2, Bax and cleaved Caspase-3 protein in breast cancer cells after transfection ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Groups	Bcl-2	Bax	Cleaved Caspase-3
Blank control group	1.256±0.247	0.856±0.086	0.522±0.057
Negative control group	1.239±0.265	0.842±0.079	0.535±0.062
Interfered ANXA3 group	0.624±0.065 [#]	1.526±0.344 [#]	1.230±0.367 [#]
<i>F</i>	8.615	10.422	10.145
<i>P</i>	0.017	0.011	0.011

[#]: Compared with the blank control group, $P<0.05$.

胞的增殖, 诱导其凋亡。研究表明, 上调 ANXA3 在胃癌细胞中的表达量, 促进胃癌细胞的增殖、克隆能力, 降低细胞的凋亡率^[7]。这两个实验从正反两方面研究 ANXA3 在肿瘤细胞增殖、细胞凋亡中的作用, 提示 ANXA3 可作为乳腺癌诊断、治疗、预后的潜在标志物。

细胞的凋亡相关因子如 Bcl-2 家族蛋白、Cas-

pase 家族激酶、p21 等在肿瘤细胞中表达量与良好组织中有着明显区别。细胞凋亡通路主要有内源性线粒体凋亡通路、外源性死亡受体通路、内质网凋亡通路。Bcl-2 家族蛋白中促凋亡蛋白 Bax、抑凋亡蛋白 Bcl-2 与内源性线粒体凋亡通路相关^[8-9]。Bcl-2 与 Bax 作用,可引起线粒体膜通透性和膜电位改变,释放凋亡相关蛋白,激活 Caspase 家族激酶,诱导细胞凋亡^[10-11]。细胞上述三条凋亡途径最终均是激活 Caspase 家族激酶产生一系列不可逆的级联放大反应,促进细胞凋亡,表明 Caspase 家族激酶是细胞凋亡过程中的重要调节酶。Caspase-3 是 Caspase 家族激酶中最关键的蛋白酶,参与细胞凋亡过程^[12]。本实验通过 Western Blot 检测沉默 ANXA3 表达后乳腺癌细胞中 Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白水平的变化,结果显示 ANXA3 表达量下降抑制 Bcl-2 蛋白水平,增加 Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白水平,提示 ANXA3 可能通过影响 Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白水平,从而参与细胞凋亡信号通路,调节乳腺癌细胞增殖、凋亡过程。

综上所述, RNA 干扰沉默 ANXA3 表达可抑制乳腺癌 MCF-7 细胞增殖,诱导其凋亡,其作用机制可能与 Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3 蛋白水平的变化有关,可为乳腺癌的诊断、治疗、预后评价提供潜在的分子标志物。

参考文献:

- [1] Shao P, Qu WK, Wang CY, et al. MicroRNA-205-5p regulates the chemotherapeutic resistance of hepatocellular carcinoma cells by targeting PTEN/JNK/ANXA3 pathway [J]. *Am J Translational Res*, 2017, 9(9):4300-4307.
- [2] Suojalehto H, Lindström I, Wolff H, et al. Nasal protein profiles in work-related asthma caused by different exposures [J]. *Allergy*, 2018, 73(3):653-663.
- [3] Wang K, Li J. Overexpression of ANXA3 is an independent prognostic indicator in gastric cancer and its depletion suppresses cell proliferation and tumor growth [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(52):86972-86984.
- [4] Yu J, Li X, Zhong C, et al. High-throughput proteomics integrated with gene microarray for discovery of colorectal cancer potential biomarkers [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(46):75279-75292.
- [5] Mege D, Crescence L, Ouaisi M, et al. Fibrin-bearing microparticles; marker of thrombo-embolic events in pancreatic and colorectal cancers [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(57):97394-97406.
- [6] Hamelin-Peyron C, Vlaeminck-Guillem V, Haïdous H, et al. Prostate cancer biomarker annexin A3 detected in urines obtained following digital rectal examination presents antigenic variability [J]. *Clinical biochemistry*, 2014, 47(10):901-908.
- [7] Li Y, Wu ZR. The relationship between annexin A3 and the evolution of malignant tumor [J]. *Medical Review*, 2014, 20(14):2537-2539. [李亚, 吴正蓉. 膜联蛋白 A3 与恶性肿瘤演进的关系 [J]. *医学综述*, 2014, 20(14):2537-2539.]
- [8] Zhou J, Zhang Z, Song L, et al. Effects of resveratrol on the apoptosis factor Bcl-2/Bax and mitochondrial transmembrane potential after A beta 1-42 stimulation HUVECs [J]. *Basic Medicine and Clinic*, 2016, 36(8):1108-1112. [周洁, 章卓, 宋丽, 等. 白藜芦醇对 Aβ1-42 刺激 HUVECs 后凋亡因子 Bcl-2/Bax 及线粒体跨膜电位的影响 [J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(8):1108-1112.]
- [9] Gahl RF, Dwivedi P, Tjandra N. Bcl-2 proteins bid and bax form a network to permeabilize the mitochondria at the onset of apoptosis [J]. *Cell Death Dis*, 2016, 7(10):e2424.
- [10] Gao M, Li Y, Ji X, et al. Disturbance of Bcl-2, Bax, Caspase-3, Ki-67 and C-myc expression in acute and sub-chronic exposure to benzo (a) pyrene in cervix [J]. *Acta histochemica*, 2016, 118(2):63-73.
- [11] Zeng J, Chen S, Li N, et al. Sasanquasaponin from *Camellia oleifera* Abel. induces apoptosis via Bcl-2, Bax and caspase-3 activation in HepG2 cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2):1997-2002.
- [12] Liu X, He Y, Li F, et al. Caspase-3 promotes genetic instability and carcinogenesis [J]. *Mol Cell*, 2015, 58(2):284-296.