

[文章编号] 1000-1182(2007)05-0508-05

脱落酸对Tca8113细胞诱导分化影响的体外实验

赵洪伟^{1,2}, 李龙江², 潘 剑², 韩 波², 温玉明²

(1.口腔生物医学工程教育部重点实验室, 四川大学;

2.四川大学华西口腔医学院 口腔颌面外科学教研室, 四川 成都 610041)

[摘要] 目的 探讨植物激素中脱落酸(ABA)对人舌鳞癌Tca8113细胞的诱导分化作用。方法 采用脱落酸处理Tca8113细胞, 观察Tca8113细胞生长和形态变化, SABC免疫组化检测细胞表面分化标志物Involucrin、RAR 及原位杂交检测Caspase-3 mRNA的表达变化, 并比较细胞表面分化标志物的表达水平与Caspase-3 mRNA表达两者间相关性。结果 Tca8113细胞经ABA作用后, 细胞生长抑制明显($P<0.05$), Tca8113细胞表现出向正常细胞转化的趋势。脱落酸作用24 h时细胞Involucrin、RAR 蛋白以及Caspase-3 mRNA表达均增高, 不同浓度实验组中其表达存在显著性差异($P<0.05$)。1×10⁻² mmol/L ABA作用12 h和24 h时, Involucrin、RAR 和Caspase-3 mRNA表达之间呈正相关($P<0.05$)。结论 脱落酸可通过提高Involucrin、RAR 表达水平, 激活Caspase-3 mRNA的表达, 从而促进肿瘤细胞分化及凋亡。

[关键词] 鳞状细胞癌; 脱落酸; 诱导分化

[中图分类号] R739.8 **[文献标识码]** A

Effect on induction of differentiation of Tca8113 cells affected by abscisic acid in vitro ZHAO Hong-wei^{1,2}, LI Long-jiang², PAN Jian², HAN Bo², WEN Yu-ming². (1. Key. Laboratory of Oral Biomedical Engineering of Ministry of Education, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery, West China College of Stomatology, Sichuan University, Chengdu 610041, China)

[Abstract] Objective To approach the effects on induction of differentiation of Tca8113 cells affected by abscisic acid. Methods The changes of surface differentiation markers, cell configuration, restrain of cell growth and the expression of Caspase-3 mRNA were examined by using inverted-phase contrast microscope, immunohistochemistry (IHC) and in situ hybridization in vitro. The dependability between the surface differentiation markers and Caspase-3 mRNA was analysed. Results The restraint of cell growth in ABA groups was higher than that of the control group ($P<0.05$). There was a trend that the tumor cell had transformed the normal cell. Furthermore, the time-dosage dependent relationship existed in the inhibition rate of tumor cells. The results showed that the expressions of Involucrin protein, retinoic acid receptor (RAR) and Caspase-3 mRNA in experimental group had been higher than that of control group. There was a significance between the different concentration experimental groups at 24 h ($P<0.05$). Moreover, the positive correlation existed among the Involucrin, RAR and Caspase-3 mRNA at the time of 12 hour and 24 hour ($P<0.05$). Conclusion The possible mechanism is that abscisic acid acted on the tumor cell and raised the level of RAR gene through combining the correlative receptors so that increased the expression of Involucrin protein and promoted the activity of Caspase-3 and resulted in apoptosis of tumor cell.

[Key words] squamous cell carcinoma; abscisic acid; induction of differentiation

目前舌鳞状细胞癌的治疗仍采用以手术为主辅以其他治疗方法, 但多年来的临床实践表明患者术后的生存状况并未得到明显的改善^[1]。寻找更为理想的治疗方法势在必行。本实验采用植物类生理活

性物质脱落酸(abscisic acid, ABA)对人舌鳞癌Tca8113细胞进行诱导分化研究, 旨在探索口腔鳞癌新的诱导分化治疗方法。

1 材料和方法

1.1 细胞株及主要实验试剂

人舌鳞癌Tca8113细胞(四川大学生命科学院提

[收稿日期] 2007-01-11; [修回日期] 2007-05-11

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30471903)

[作者简介] 赵洪伟(1973-), 男, 四川人, 讲师, 博士

[通讯作者] 李龙江, Tel: 028-85501440

供), 脱落酸(Aldrich公司, 美国), 包壳蛋白(Involucrin)和维甲酸受体 (retinoic acid receptor, RAR)(NeoMarker公司, 美国), 四甲基偶氮唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)(Sigma公司, 美国), 免疫组织化学试剂盒和Caspase-3 ISH Detection Kit(武汉博士德生物公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 Tca8113细胞形态学观察和MTT检测 分别用PBS(对照液)和含体积分数为10%小牛血清的RMPI 1640细胞培养液将脱落酸稀释成所需浓度(1×10^{-1} 、 1×10^{-2} 、 1×10^{-4} mmol/L)后, 加入已培养24 h的Tca8113细胞培养瓶中, 于12、24、48、72 h在倒置相差显微镜下观察实验组和对照组肿瘤细胞的形态变化, 并摄片记录。

调整细胞浓度为 5×10^7 个/L, 分为实验组、细胞对照组和空白对照组。每组样本3个复孔, 分别用脱落酸作用不同时间, 终止培养4 h后加入MTT (5 mg/mL), 每孔20 μ L, 37 $^{\circ}$ C置酶联免疫检测仪下测A值, 检测波长为570 nm, 测定各孔光吸收值, 记录结果并计算抑制率。抑制率(%)=(1-实验组A/对照组A) \times 100%。

1.2.2 Tca8113细胞表面分化标志物Involucrin和RAR的SABC免疫组化检测 将对照组和实验组的细胞爬片用体积分数为10%中性甲醛固定30 min, PBS洗片, 使用SABC免疫组化检测Tca8113细胞Involucrin和RAR的表达, 按使用说明书进行操作。以实验过程中未滴加一抗作阴性对照, 用已知阳性组织切片作阳性对照。实验结果判断标准为: Involucrin蛋白以细胞胞浆或胞膜上出现棕黄色为阳性, 而RAR蛋白产物以细胞核出现棕黄色颗粒为阳性。

1.2.3 Tca8113细胞Caspase-3 mRNA的原位杂交检测 细胞在多聚赖氨酸处理的玻片上进行培养, 条件为37 $^{\circ}$ C和体积分数为5%的CO₂, 所用培养基为Dulbecco基础培养基。细胞长好后0.1 mol/L PBS (pH=7.4)洗2 min, 3次。培养细胞用下述方法固定: 固定液为体积分数为4%多聚甲醛和浓度为0.1 mol/L PBS (pH 为7.2~7.6), 室温固定20~30 min。

原位杂交采用胃蛋白酶暴露mRNA核酸片段, 严格参照试剂说明书操作步骤对Caspase-3 mRNA进行检测, 以细胞胞浆内出现棕黄色颗粒为阳性杂交信号, 无阳性信号为阴性。分别用不加探针和阴性标本作对照。

每张切片选取5个阳性染色最明显的高倍视野, 计数500个肿瘤细胞中阳性细胞所占的百分比, 用细胞出现的阳性率表示。

1.2.4 统计学方法 应用SPSS 11.0统计软件, 用t检验和Pearson多元相关分析对实验数据进行统计学处理, P<0.05表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 脱落酸对Tca8113细胞形态学和增殖的影响

在倒置相差显微镜下, 对照组Tca8113细胞贴壁生长良好, 细胞排列紧密, 为上皮样形态。实验组见部分细胞脱落, 贴壁细胞胞浆内颗粒多, 细胞界限不清; 培养液中细胞排列疏松, 有较多的悬浮死亡细胞, 贴壁细胞较对照组细胞圆(图1、2)。

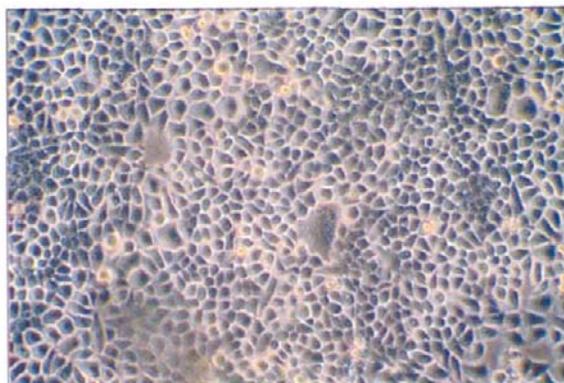


图1 24 h时对照组Tca8113细胞可见双核、核浆比例倒置 倒置相差显微镜 \times 100

Fig 1 Two nuclei and the inverse proportion of nucleus and cytoplasm existed in control group of Tca8113 cell at 24 h inverted-phase contrast microscope \times 100

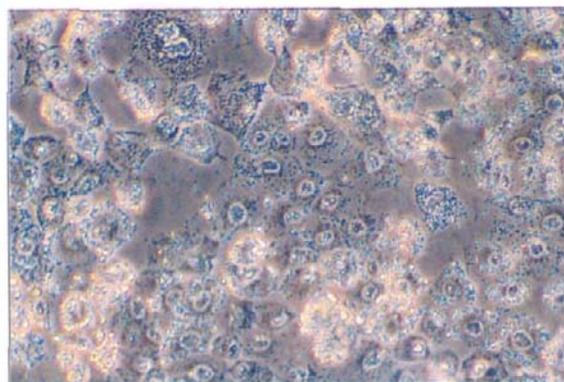


图2 1×10^{-2} mmol/L ABA作用Tca8113 24 h后, 可见细胞洋葱样改变 倒置相差显微镜 \times 100

Fig 2 The onion-like change existed in Tca8113 cell affected by 1×10^{-2} mmol/L ABA at 24 h inverted-phase contrast microscope \times 100

Tca8113细胞经ABA作用后生长速度明显减慢, 其中浓度为 1×10^{-1} mmol/L ABA处理后, 大部分细胞从培养板壁上脱落, 处理24 h后, 细胞几乎全部脱落。ABA对Tca8113细胞抑制作用的A值及抑制率见表1, 由表1可见, 实验组与对照组两者的细胞生长抑制程度有显著差异(P<0.05), 在12、24 h两个时间点, 随浓度增加细胞生长抑制差异较为明显。

表 1 ABA对Tca8113细胞抑制作用的A值及抑制率
Tab 1 The inhibition rate and A value of Tca8113 cell caused by ABA

| 组别 | 12 h | | 24 h | | 48 h | | 72 h | |
|-----------------------------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|
| | A | 抑制率(%) | A | 抑制率(%) | A | 抑制率(%) | A | 抑制率(%) |
| 对照组 | 0.71 ±0.01 | - | 0.75 ±0.03 | - | 0.80 ±0.03 | - | 0.93 ±0.03 | - |
| 1 ×10 ⁻⁴ mmol/L组 | 0.52 ±0.03 | 67.6 | 0.70 ±0.02 | 41.7 | 0.78 ±0.02 | 27.5 | 0.98 ±0.04 | 2.1 |
| 1 ×10 ⁻² mmol/L组 | 0.48 ±0.01 | 73.2 | 0.66 ±0.03 | 48.0 | 0.78 ±0.01 | 27.5 | 0.95 ±0.02 | 5.4 |
| 1 ×10 ⁻¹ mmol/L组 | 0.42 ±0.03 | 81.7 | 0.62 ±0.02 | 50.7 | 0.76 ±0.02 | 42.5 | 0.92 ±0.04 | 8.6 |

注：“-”示无

2.2 Tca8113细胞表面分化标志物的检测

2.2.1 Involucrin蛋白表达

ABA作用Tca8113细胞后Involucrin和RAR 蛋白表达的阳性表达见表2和图3。由表2可见, Involucrin蛋白在24 h表达较高。同一时间点, 不同浓度的脱落酸实验组Involucrin蛋白表达

有显著性差异(P<0.01)。除在1 ×10⁻¹ mmol/L时, 12 h和48 h之间Involucrin蛋白表达差异无统计学意义外, 其余同一浓度不同时间之间Involucrin蛋白表达差异均有统计学意义(P<0.05)。

表 2 ABA作用Tca8113细胞后Involucrin和RAR 蛋白表达的阳性率比较 (%)

Tab 2 The expression of Involucrin and RAR protein in Tca8113 cell affected by ABA (%)

| 组别 | 12 h | | 24 h | | 48 h | |
|-----------------------------|------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|
| | Involucrin | RAR | Involucrin | RAR | Involucrin | RAR |
| 对照组 | 8.1 ±0.3 | 14.7 ±1.2 | 8.2 ±0.2 | 14.6 ±1.2 | 8.4 ±0.2 | 14.0 ±1.2 |
| 1 ×10 ⁻¹ mmol/L组 | 55.5 ±1.9 | 38.8 ±3.1 | 58.7 ±1.4 | 47.0 ±2.0 | 56.3 ±3.6 | 42.7 ±1.3 |
| 1 ×10 ⁻² mmol/L组 | 47.0 ±2.8 | 32.4 ±1.2 | 53.8 ±1.1 | 36.8 ±0.9 | 52.1 ±1.1 | 33.0 ±1.4 |
| 1 ×10 ⁻⁴ mmol/L组 | 26.0 ±1.5 | 24.1 ±1.8 | 32.8 ±1.4 | 28.5 ±2.1 | 30.8 ±0.5 | 25.1 ±1.5 |

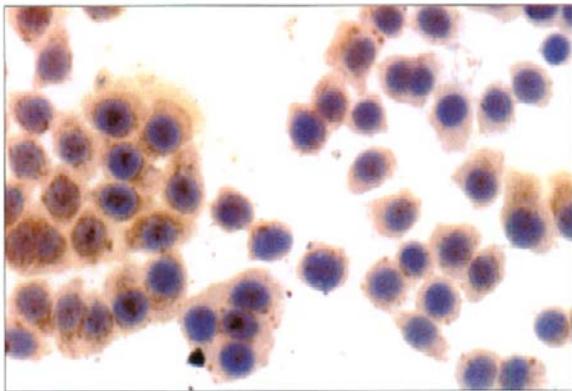


图 3 1 ×10⁻¹ mmol/L ABA作用Tca8113细胞24 h后, 细胞Involucrin 蛋白阳性表达 SABC ×200

Fig 3 The expression of Involucrin protein existed in Tca8113 cells affected by 1 ×10⁻¹ mmol/L ABA at 24 h SABC ×200

2.2.2 RAR 蛋白表达

ABA作用Tca8113细胞后RAR 蛋白表达呈增高趋势, 其中在24 h表达较高。同一时间点, 不同浓度的脱落酸实验RAR 蛋白表达存在显著性差异(P<0.001)。除在1 ×10⁻² mmol/L和1 ×10⁻⁴ mmol/L时, 12 h和48 h相比RAR 蛋白表达无统计学意义外, 其余同一浓度不同时间之间RAR 蛋白表达差异均有统计学意义(P<0.05), 见表2。

2.3 Tca8113细胞Caspase-3 mRNA的表达

ABA作用Tca8113细胞后, Caspase-3在胞浆呈

棕黄色, 部分细胞核也呈棕黄色(图4)。凋亡细胞呈典型的形态特征。而对对照组的Tca8113细胞胞浆不着色。

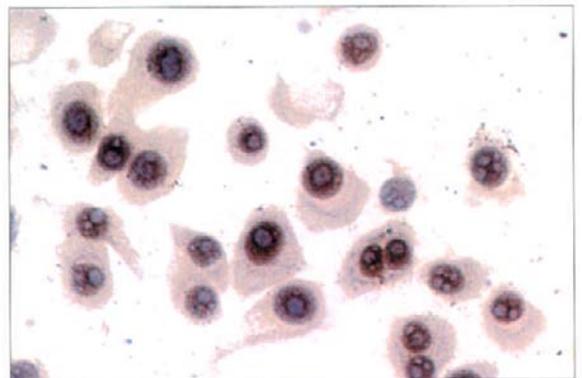


图 4 1 ×10⁻¹ mmol/L ABA作用Tca8113细胞12 h后, 细胞胞浆中 Caspase-3 mRNA阳性表达 原位杂交 ×200

Fig 4 The positive expression of Caspase-3 mRNA existed in the plasm of Tca8113 cell affected by 1 ×10⁻¹ mmol/L ABA at 12 h in situ hybridization ×200

Caspase-3 mRNA在ABA作用24 h时表达较高, 1 ×10⁻¹、1 ×10⁻²、1 ×10⁻⁴ mmol/L分别为0.35 ±0.03、0.25 ±0.02、0.21 ±0.02。同一时间点, 不同浓度的脱落酸实验组Caspase-3 mRNA的表达存在着显著性差异(P<0.05)。除在1 ×10⁻² mmol/L(12 h和48 h)和1 ×10⁻⁴ mmol/L时, Caspase-3 mRNA的表达差异无统

计学意义外,其余同一浓度不同时间之间Caspase-3 mRNA的表达差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表3。

表3 ABA作用Tca8113细胞后Caspase-3 mRNA的阳性表达率(%)

Tab 3 The positive expression of Caspase-3 mRNA in Tca8113 cell affected by ABA (%)

| 组别 | Caspase-3 mRNA的阳性表达率 | | |
|------------------------------|----------------------|-------------|-------------|
| | 12 h | 24 h | 48 h |
| 对照组 | 0.16 ± 0.02 | 0.18 ± 0.02 | 0.17 ± 0.02 |
| 1 × 10 ⁻¹ mmol/L组 | 0.29 ± 0.03 | 0.35 ± 0.03 | 0.32 ± 0.03 |
| 1 × 10 ⁻² mmol/L组 | 0.22 ± 0.03 | 0.25 ± 0.02 | 0.22 ± 0.02 |
| 1 × 10 ⁻⁴ mmol/L组 | 0.19 ± 0.02 | 0.21 ± 0.02 | 0.19 ± 0.01 |

2.4 Caspase-3 mRNA与细胞表面分化标志物表达的关系

统计分析表明在1 × 10⁻¹ mmol/L ABA 12 h和24 h时,Invluclin与RAR 之间的表达有相关性($P = 0.018$ 和0.040, Pearson $s r = 0.724$ 和-6.550),且Invluclin与Caspase-3 mRNA的表达亦有相关性($P = 0.047$ 和0.047, Pearson $s r = -0.638$ 和-6.390),而RAR 与Caspase-3 mRNA的表达无相关性($P = 0.214$ 和0.650, Pearson $s r = -4.300$ 和0.604); 1 × 10⁻² mmol/L ABA 12 h和24 h时,Invluclin、RAR 和Caspase-3 mRNA表达之间呈正相关($P = 0.027$ 和0.006, Pearson $s r = 0.690$ 和0.791; $P = 0.041$ 和0.004, Pearson $s r = 6.520$ 和0.818; $P = 0.015$ 和0.045, Pearson $s r = 7.380$ 和0.642); 1 × 10⁻⁴ mmol/L ABA 12 h和24 h时,Invluclin、RAR 与Caspase-3 mRNA表达之间无相关性($P > 0.05$)。不同浓度的ABA作用时间为48 h时,Invluclin、RAR 与Caspase-3 mRNA表达之间无相关性($P > 0.05$)。

3 讨论

肿瘤的诱导分化疗法不同于传统的化疗与放疗。其区别在于不杀伤肿瘤细胞,而是在分化诱导剂的作用下,诱导肿瘤细胞转变为成熟的或接近成熟的正常细胞,恢复细胞的正常或接近正常的表型与功能,从而达到降低肿瘤的恶性程度和治疗目的。尽管相关研究报道很多,但临床上取得成功的诱导分化治疗模式仍仅局限于急性早幼粒细胞性白血病等非实体性肿瘤,如何有效诱导恶性实体肿瘤细胞分化,一直是困扰医学界的一个难题。Davies等^[2]和Cheson等^[3]两位学者认为,细胞成瘤性的改变、细胞在体内增殖活性的下降及形态学上的分化成熟是肿瘤细胞分化的生物学指标。

目前,肿瘤诱导分化剂按其来源大致可分为内源性和外源性两大类,前者是指肿瘤或宿主细胞所产生具有分化诱导作用的化学物质,如集落刺激因子、前列腺素等;后者是指外界供给的分化诱导剂,如维甲酸、一些植物激素等。本研究选用的天然脱落酸是植物激素之一,它的主要功能是诱导植物产生对不良生长环境的抗性,如诱导植物产生抗旱性、抗病性等,是植物的“抗逆诱导因子”,主要影响葡聚糖的合成^[4]。ABA在动物胚胎的发育中影响核苷的合成。研究^[5]表明,一些植物激素对肿瘤细胞的生长有抑制和诱导凋亡的作用,且对正常细胞的损伤甚微。

作为表皮细胞终末分化的标记蛋白——Invluclin,是上皮角朊细胞从基底层向表层上方迁移分化的过程中合成的一种具有分化特异性的蛋白质,是角化被膜的主要蛋白质前体,也是角朊细胞终末分化的特征之一^[6]。研究^[7]表明,角质细胞不但能在这种细胞外基质中继续培养增殖,而且能保持良好的分化能力,可以移行至创面表层形成复层高度角化上皮。因此,Invluclin的出现说明该细胞已达到终末分化,并且该细胞具备成熟角质形成细胞应具备的功能蛋白。RAR 是另一个与上皮分化有关的受体,参与肿瘤的分化及恶性转化,是一种潜在的肿瘤抑制基因。成年组织中RAR 表达明显高于胚胎组织,提示RAR 参与细胞的分化及成熟。有研究者采用原位杂交技术检测结果显示:随大鼠口腔癌变的进展,RAR mRNA阳性率不断下降。用1 μmol/L全反式维甲酸作用Tca8113细胞后,表达量极低的RAR mRNA出现上升,说明癌细胞RAR 基因结构没有破坏,而是转录发生了抑制,是可逆的,进一步支持了癌变是细胞分化异常的理论,采用诱导分化治疗肿瘤和逆转癌前病变是可行的。

本研究结果提示,经过ABA作用后的Tca8113细胞,与恶性表型有关的成分均有不同程度减少,并出现一些正常细胞的表现。Tca8113细胞实验组生长受到抑制并有部分细胞脱落,贴壁细胞胞浆内颗粒多,细胞界限不清。培养液中细胞排列疏松,有较多的悬浮死亡细胞,贴壁细胞较对照组细胞变圆。MTT检测证实上述效应存在浓度和时间依赖性。实验组免疫组化结果提示Invluclin蛋白表达于癌细胞的胞浆或膜上,而RAR 蛋白表达则位于癌细胞的胞核。笔者认为RAR 在口腔癌发生中的规律性变化足以说明它是一个有潜在价值的分子标志,其检测对癌前病变的诊断、恶变预测和防治效果评价提供了较特异和较高价值的预警标志;对其表达进行有效调控为口腔癌的诱导分化治疗提供了有价值的

理论和实验依据。由此推断ABA可能是通过上调RAR 表达而实现其对口腔鳞癌细胞诱导分化作用, 导致Involucrin蛋白表达增强, 使肿瘤细胞向正常细胞转化, 从而降低肿瘤细胞的恶性程度^[8]。

经ABA诱导作用后的人Tca8113细胞是否具有正常或接近正常细胞的表型和功能, 本研究又对在凋亡执行阶段起中心作用的Caspase-3 mRNA进行了检测。Caspase-3 mRNA阳性表达于胞浆, 少数在胞核。统计数据表明, Caspase-3 mRNA在24 h时表达较高; 同一时间点, 不同浓度的ABA实验组Caspase-3 mRNA表达存在显著性差异($P < 0.05$)。这与国内外研究报道Caspase-3在口腔正常黏膜、癌前病变及鳞状细胞癌表达基本相符^[9-12]。这说明经ABA作用后Tca8113细胞可以向正常细胞转化, 并且转化后的鳞癌细胞具有正常细胞的表型和功能, 其中Caspase-3 mRNA表达增高, 从而启动细胞凋亡。同时, 本研究还发现, 经 1×10^{-2} mmol/L ABA作用12 h或24 h后的鳞癌细胞中Involucrin、RAR 的表达与Caspase-3 mRNA的表达呈正相关, 这证实了脱落酸可通过提高Involucrin、RAR 的表达水平, 从而激活Caspase-3 mRNA的表达, 启动并促进细胞凋亡。

由此, 笔者推测ABA对Tca8113细胞诱导分化的可能机制是: 适当浓度的ABA作用Tca8113细胞一定时间后, 可能首先进入细胞作用细胞核并上调RAR 基因转录表达水平, 导致Involucrin表达增加, 促使癌细胞向正常细胞转化, 进而出现成熟角质形成细胞, 实现肿瘤细胞向趋于成熟或接近正常细胞转化并发挥细胞生理功能, 启动并上调Caspase-3的活性, 从而促进和导致癌细胞产生凋亡。说明植物激素中的脱落酸与其他抗癌药物一样, 对Tca8113细胞有诱导分化作用, 其主要效应机制是启动细胞凋亡, 这为进一步研究脱落酸对口腔癌治疗作用奠定了实验基础。

[参考文献]

[1] 温玉明. 口腔颌面肿瘤学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 433-436.
WEN Yu-ming. Oral and maxillofacial oncology[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2004: 433-436.
[2] Davies PJ, Basilion JP, Chiocca EA, et al. Retinoids as genera-

lized regulators of cellular growth and differentiation[J]. Am J Med Sci, 1988, 296(3):164-170.
[3] Cheson BD, Jasperse DM, Chun HG, et al. Differentiating agents in the treatment of human malignancies[J]. Cancer Treat Rev, 1986, 13(3):129-145.
[4] Olinevich OV, Khokhlova LP. Reorganization of the tubulin and actin cytoskeleton under acclimation and abscisic acid treatment of Triticum aestivum L.plants[J]. Tsitologia, 2002, 44(6):532-544.
[5] Fingrut O, Flescher E. Plant stress hormones the proliferation and induce apoptosis in human cancer cells[J]. Leukemia, 2002, 16(4):608-616.
[6] 邓辰亮, 杨光辉, 崔磊, 等. 人角质形成细胞体外扩增与生物学特征变化[J]. 上海第二医科大学学报, 2004, 24(4):299-301.
DENG Chen-liang, YANG Guang-hui, CUI Lei, et al. Proliferation and biological character changes of human keratinocytes cultured in vitro[J]. J Shanghai Second Medical University, 2004, 24(4):299-301.
[7] Trempus CS, Morris RJ, Bortner CD, et al. Enrichment for living murine keratinocytes from the hair follicle bulge with the cell surface marker CD34[J]. J Invest Dermatol, 2003, 120(4):501-511.
[8] Shalinsky DR, Bischoff ED, Gregory ML, et al. Retinoid-induced suppression of squamous cell differentiation in human oral squamous cell carcinoma xenografts(line 1483) in athymic nude mice[J]. Cancer Res, 1995, 55(14):3183-3191.
[9] Sun H, Zheng H, Yang X, et al. Expression of PTEN and Caspase-3 and their clinicopathological significance in primary gastric malignant lymphoma[J]. Chin Med Sci J, 2004, 19(1):19-24.
[10] 高文信, 刘洪静, 王颖, 等. Caspase-3在口腔粘膜癌前病变及鳞状细胞癌中的表达研究[J]. 现代口腔医学杂志, 2003, 17(2):109-111.
GAO Wen-xin, LIU Hong-jing, WANG Ying, et al. The expression of Caspase-3 in oral premalignant lesions and squamous cell carcinomas[J]. J Modern Stomatol, 2003, 17(2):109-111.
[11] 季平, 吴永忠, 张福军, 等. Bcl-2与HER-2反义寡核苷酸联合转染对人舌鳞癌Tca8113细胞的干预作用[J]. 华西口腔医学杂志, 2006, 24(2):156-159.
JI Ping, WU Yong-zhong, ZHANG Fu-jun, et al. Effect on apoptosis of Tca8113 interference of Bcl-2 and HER-2 gene antisense oligodeoxynucleotides transfection[J]. West China J Stomatol, 2006, 24(2):156-159.
[12] Takagi Y, Kikuta K, Sadamasa N, et al. Caspase-3-dependent apoptosis in middle cerebral arteries in patients with moyamoya disease[J]. Neurosurgery, 2006, 59(4):894-900.

(本文编辑 汤亚玲)