

## · 基础论著 ·

## Evn-50 增强人卵巢癌顺铂耐药株 COC1/DDP 对顺铂敏感性的研究

蒋静 谢宛玉 曹建国 白军 刘登辉

**【摘要】 目的** 观察黄荆子乙酸乙酯提取物(Evn-50)和顺铂(DDP)在体外对人卵巢癌耐顺铂细胞株 COC1/DDP 凋亡的影响,探讨 Evn-50 提高人卵巢癌耐顺铂细胞株 COC1/DDP 对 DDP 敏感性的机制。**方法** 运用 MTT、FCM、Hoechst33258 染色法、Western blot 等方法,观察 Evn-50 增强 DDP 抑制 COC1/DDP 细胞增殖作用和此过程中 COC1/DDP 细胞凋亡,caspase-3 蛋白、增殖细胞核抗原(PCNA)及其泛素化修饰蛋白(Ubi-PCNA)表达的改变。**结果** Evn-50 不仅增强 DDP 对 COC1/DDP 细胞的抑制增殖作用,也增强 DDP 对 COC1/DDP 细胞的凋亡作用,同时 caspase-3 蛋白表达增加( $P < 0.05$ );而 Evn-50(20  $\mu\text{g/ml}$ )组与空白对照组相比 PCNA 蛋白表达下调( $P < 0.05$ ),Evn-50 与 DDP 合用组与 DDP 单药组均出现了 Ubi-PCNA 蛋白表达,Evn-50 与 DDP 合用组与 DDP 组比较,Ubi-PCNA 蛋白表达下调( $P < 0.05$ )。**结论** Evn-50 可能通过减少 PCNA 表达,使 DDP 诱导的 PCNA 泛素化水平下降,从而逆转 DDP 耐药,最终通过激活 caspase-3 蛋白高表达,启动 caspase 级联反应,增强 DDP 对人卵巢癌 DDP 耐药细胞株 COC1/DDP 的凋亡作用。

**【关键词】** 卵巢肿瘤; 顺铂; 细胞凋亡; Evn-50; 逆转耐药

**Evn-50 increase the sensitivity of human ovarian cancer cell line COC1/DDP to cisplatin in vitro** JIANG Jing, XIE Wan-yu, CAO Jian-guo, BAI Jun, LIU Deng-hui. Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of The University of South China, Hengyang 421001, China  
Corresponding author: XIE Wang-yu, Email: xie-wy@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of the acetoacetate extract of Vitex negundo seed (Evn-50) and cisplatin (DDP) on the inducing apoptosis of ovarian carcinoma cell line COC 1/DDP *in vitro* and the potential mechanism of increased response rate of DDP induced by Evn-50. **Methods** To evaluate Evn-50 increased the inhibitory effect of DDP on the proliferation of COC1/DDP by the MTT assay and the apoptotic effect by Hoechst33258 staining and flow cytometric analysis. The expressions of caspase-3, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Ubi-PCNA were analyzed by Western blot. **Results** Evn-50 increase the inhibitory effect of DDP on the proliferation of COC1/DDP and the effect of DDP on inducing apoptosis and the expression of caspase-3 protein ( $P < 0.05$ ). Yet, the expression of PCNA protein decreased with Evn-50 used only and increased obviously with control ( $P < 0.05$ ). Ubi-PCNA expressed when DDP used only and Evn-50 and DDP, the expression of Ubi-PCNA protein decreased with Evn-50 and DDP and increased obviously with DDP used only ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Evn-50 reduce Ubi-PCNA expression guided by DDP through downregulation of PCNA, thus reverse resistance of DDP. Finally, the same of apoptosis of COC1/DDP is induced by low concentration DDP and high concentration DDP, through active caspase cascade.

**【Key words】** Ovarian neoplasms; Cisplatin; Apoptosis; Evn-50; Reverse resistance

卵巢癌目前的治疗主要是手术为主,辅以放化疗,而今化疗在卵巢癌的治疗中的作用越来越重要。其中以铂类抗肿瘤药物为基础的化疗成为临床卵巢癌治疗的重要方法之一,但与此同时,卵巢癌耐药株不断产

生,严重影响其化疗疗效,所以寻求逆转铂类耐药性的治疗方法成为卵巢癌研究中亟待解决的热点课题。黄荆子(vitex negundo seed)为黄荆的果实,黄荆子乙酸乙酯提取物(the acetoacetate extract of vitex negundo seed, Evn-50)富含芳基二氢萘类木脂素化合物,从 Evn-50 中已分离得到 5 个木脂素化合物。VBE-1 和 VBE-2 是从 Evn-50 中分离得到的芳基二氢萘类木脂素的代表化合物,二者在 Evn-50 中的含量约为 29.5% 和 17.7%,是 Evn-50 的代表成分。多项实验研究表明 Evn-50 对乳

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2013.02.045

作者单位:421001 湖南衡阳,南华大学第一附属医院妇产科(蒋静、谢宛玉),肿瘤外科(刘登辉);湖南师范大学药物工程实验室(曹建国);杭州市红十字会医院妇产科(白军)

通讯作者:谢宛玉,Email:xie-wy@163.com

腺癌、胃癌和卵巢癌等多种肿瘤细胞或动物移植瘤模型有抑制增殖及诱导凋亡作用<sup>[1-2]</sup>。近年其对化疗药物的增敏作用及机制正逐渐被人们认识,有研究表明, Evn-50可增加乳腺癌耐三苯氧胺(MCF-7/TAM-R)细胞株对三苯氧胺的敏感性,那么它是否也能增加卵巢癌耐顺铂细胞株(COC1/DDP)对DDP的敏感性呢,我们设计了如下实验对其增加COC1/DDP细胞株对DDP敏感性及其机制进行探讨。

## 材料与方法

### 一、实验材料

卵巢腺癌 DDP 耐药株 COC1/DDP 购自武汉大学典型培养物保藏中心。Evn-50 由湖南师范大学药物工程实验室惠赠;注射用 DDP 冻干粉剂由齐鲁制药有限公司生产。RPMI-1640 (Gibco);新生胎牛血清(杭州四季青);DMSO, MTT (Amresco);Hoechst33258 染色试剂盒(beyotime);鼠抗 caspase-3 单克隆抗体、鼠抗  $\beta$ -actin 单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠 IgG (H + L) (beyotime), 鼠抗人 PCNA 单克隆抗体 (Santa Cruz)。

### 二、实验方法

1. 细胞培养:用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度下培养,另 COC1/DDP 细胞还需加入 0.5  $\mu$ g/ml 的 DDP 维持其耐药性。培养基中细胞悬浮生长,取对数生长期细胞用于实验。

2. MTT 比色测定:卵巢癌 DDP 耐药株 COC1/DDP 以每孔 180  $\mu$ l (含  $1 \times 10^4$  细胞)接种于 96 孔培养板。再加入 20  $\mu$ l 不同处理因素,使 Evn-50 终浓度为 20、40、60、80、100  $\mu$ g/ml, DDP 终浓度为 1、10、30、60、100  $\mu$ g/ml,溶媒对照组二甲基亚砜(DMSO)终浓度 0.2%,空白对照组不含处理因素。每组设 6 个复孔,培养 24、48、72 h 后,每孔加入 MTT(5  $\mu$ g/ml)20  $\mu$ l 继续培养 4 h,离心弃去培养基,加入 100  $\mu$ l DMSO,振荡 10 min 使紫蓝色沉淀充分溶解,用酶标仪(EX-800)检测 570 nm 波长的吸光度(A)值,计算相对增殖抑制率(IR), $IR = (1 - \text{实验组 A 均值} / \text{空白对照组 A 均值}) \times 100\%$ 。实验重复 3 次。用 SPSS 13.0 软件求出 IC<sub>50</sub> 值。将 COC1/DDP 以每孔 180  $\mu$ l (含  $1 \times 10^4$  细胞)接种于 96 孔培养板,每组加入 Evn-50 20  $\mu$ g/ml,同时加入 DDP 1、10、30、60、100  $\mu$ g/ml,培养 48 h,其他步骤同上。实验重复 3 次,计算 IC<sub>50</sub> 值,并计算耐药逆转倍数(fold-reversal of MDR)。耐药逆转倍数由单独使用 DDP 作用于 COC1/DDP 细胞时 DDP 的 IC<sub>50</sub> 值除以 Evn-50 于 DDP 合用时 DDP 的 IC<sub>50</sub> 值:耐药逆转倍数 =  $IC_{50}^{DDP} / IC_{50}^{(Evn-50 + DDP)}$ 。

3. 碘化丙啶染色 FCM 分析:取对数生长期的 COC1/DDP 细胞分成四组,空白对照组只加入 10% 胎牛血清培养基培养,低浓度 Evn-50(20  $\mu$ g/ml)组、稍低于 IC<sub>50</sub> 值 DDP(30  $\mu$ g/ml)组、Evn-50(20  $\mu$ g/ml) + DDP(30  $\mu$ g/ml)组加同体积 10% 胎牛血清培养基培养,并分别加入 Evn-50 20  $\mu$ g/ml、DDP 30  $\mu$ g/ml、Evn-50 20  $\mu$ g/ml + DDP 30  $\mu$ g/ml。培养 48 h,收集细胞,弃去培养基,用冰 PBS 洗 2 遍,用 4 °C 的 70% 乙醇固定 24 h 后,碘化丙啶 4 °C 避光染色,流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

4. Hoechst 33258 染色:细胞培养分组同上,培养完毕后,收集细胞,弃去培养基,取 50  $\mu$ l 细胞悬液滴于干净载玻片上,使细胞尽量分布均匀,待干燥后按 Hoechst33258 染色试剂盒的步骤进行染色,以紫外光 340 nm 波长激发,荧光显微镜下观察、拍照。

5. Western blot 蛋白印迹检测:细胞培养分组同上,培养完毕后,收集细胞,弃去培养基,用冰 PBS 洗 3 次,加入细胞裂解液冰面裂解提取蛋白,用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度,取 30  $\mu$ g 样品用 SDS-PAGE 电泳分离,然后将蛋白转移至 PVDF 膜上,再用 5% 脱脂牛奶-TBST 室温摇床封闭 1.5 h, caspase-3 抗体、增殖细胞核抗原(PCNA)抗体于 37 °C 孵育 1 h 再 4 °C 过夜,二抗于 37 °C 孵育 1 h, ECL 发光剂激发荧光,压片显影定影,再用 Western 一抗二抗去除液 Stripping buffer (弱碱性)清除膜上抗体,用  $\beta$ -actin 抗体孵育,余步骤同前。结果用 Alpha Imager 2200 分析软件处理分析。

### 三、统计学处理

实验数据用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,用 SPSS 13.0 软件统计分析,使用单因素方差分析不同处理组之间的差异,组间多重比较用 LSD 法,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. MTT 比色法检测 Evn-50 对人卵巢癌细胞 COC1/DDP 的增殖活性的抑制作用:结果显示,不同浓度 Evn-50(20, 40, 60, 80, 100  $\mu$ g/ml)对 COC1/DDP 细胞的抑制率不同,同一浓度在不同的时间段(24 h、48 h、72 h)对 COC1/DDP 细胞的抑制率也不同,显示了时间-剂量依赖性,各处理组与空白组比较,均有统计学差异( $P < 0.05$ ) (图 1)。计算 Evn-50 作用于 COC1/DDP 细胞 48 h IC<sub>50</sub> 值为 56.34  $\mu$ g/ml。

2. MTT 比色法检测 Evn-50 联合 DDP 对 COC1/DDP 细胞增殖活性的抑制作用:低浓度 Evn-50(20  $\mu$ g/ml)与 DDP(1, 10, 30, 60, 100  $\mu$ g/ml)联合(B组)作用于 COC1/DDP 细胞,与 DDP(1, 10, 30, 60, 100  $\mu$ g/ml)

单药组(A组)相比,使DDP的IC<sub>50</sub>值由39.04 μg/ml降至26.39 μg/ml,耐药逆转倍数为1.5倍,见表1。

表1 MMT法检测Evn-50联合DDP对COC1/DDP细胞增殖活性的抑制作用

组别	浓度(μg/ml)	IC <sub>50</sub> 值(μg/ml)	耐药逆转倍数
A组	0	39.04	1.0
B组	20	26.39	1.5

3. 碘化丙啶染色FCM分析结果:各组处理COC1/DDP细胞48h后,Evn-50(20 μg/ml)与DDP(30 μg/ml)联合组与DDP(30 μg/ml)组、Evn-50(20 μg/ml)组及空白组相比Sub-G1凋亡峰(各图中左边第一个峰)明显增高(图2)。各处理组之间有统计学差异( $P < 0.05$ ),见图3。

4. Hoechst33258染色结果:空白对照组细胞核大小较均一,呈圆形或椭圆形,染色质分布均匀,在紫外线下呈均一的蓝色荧光。各处理组均出现典型的凋亡形态学改变,胞体缩小,核染色质浓缩,部分核染色体碎裂,两药联合组的凋亡细胞数明显多于两单药组,见图4。

5. Western blot蛋白印迹法检测结果:经Evn-50(20 μg/ml),DDP(30 μg/ml),Evn-50(20 μg/ml)+DDP(30 μg/ml)处理COC1/DDP细胞48h后,caspase-3蛋白表达上调,各处理组之间有统计学差异( $P < 0.05$ ),见图5。PCNA蛋白在DDP组(30 μg/ml),Evn-50(20 μg/ml)+DDP(30 μg/ml)组出现了36 kD、44 kD两条条带,即未修饰的PCNA和单泛素化修饰的PCNA(Ubi-PCNA),在空白对照组及Evn-50(20 μg/ml)组仅出现了36 kD条带,即PCNA。Evn-50(20 μg/ml)组PCNA蛋白表达与空白对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),Evn-50(20 μg/ml)+DDP(30 μg/ml)组与DDP(30 μg/ml)组比较Ubi-PCNA表达下调,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图6。

## 讨 论

DDP是中心以二价铂同两个氯原子和两个氨分子结合的重金属络合物,类似于双功能烷化剂,具有细胞毒性,DDP进入肿瘤细胞后主要作用于DNA及RNA链上嘌呤和嘧啶,它与嘌呤和嘧啶的碱基结合后,使DNA及RNA分子结构发生变化,进而抑制DNA的复制,并使RNA功能降低或丧失,从而抑制蛋白质合成,进而抑制肿瘤生长<sup>[3]</sup>。它抗癌谱广、作用强、与多种抗肿瘤药有协同作用。目前DDP及其衍生物为联合化疗中最常用的药物之一,尤其在卵巢癌治疗方面,效果显著<sup>[4]</sup>。但是它的毒副作用如骨髓抑制、肾脏毒性、神经

毒性、过敏反应及耐药性等严重地限制了它的临床应用。最新研究表明,DDP如紫外线一样,可以诱导宫颈癌HeLa细胞PCNA泛素化修饰,从而导致HeLa细胞对DDP的敏感性下降,这成为DDP耐药的另一机制。针对这一耐药机制,我们希望找到能抑制PCNA泛素化修饰或降低PCNA的表达,进而减少PCNA泛素化修饰的方法来逆转DDP耐药。

黄荆子为黄荆的果实,Evn-50为黄荆子乙酸乙酯提取物,近年其抗肿瘤机制正在逐步被人们认识;其主要成分VBE-1是第一个来源于天然产物木脂素类的PI3K/Akt/mTOR细胞通路抑制剂,对通路中Akt和mTOR蛋白的磷酸化起双重抑制作用,并呈现剂量依赖性。当这两种蛋白被抑制后,导致整个细胞通路被阻断,最终抑制肿瘤细胞的增殖和分化。也有一些研究表明其抗肿瘤作用可能与抑制酪氨酸激酶、雌激素受体活性等有关<sup>[5-6]</sup>。还有研究表明其还可抑制宫颈癌组织中PCNA表达,从而抑制肿瘤生长<sup>[7]</sup>,那么它是否能通过减少PCNA表达从而减少PCNA泛素化修饰,逆转DDP的耐药性呢?为此,本实验选取人卵巢癌DDP耐药株COC1/DDP细胞为研究对象,首先检测Evn-50、DDP及两者合用对COC1/DDP细胞的增殖抑制作用及诱导凋亡作用,并进一步检测其分子生物学机制。

PCNA是一种高度保守的生长调控蛋白,其表达水平随细胞周期波动。在酵母系统中,现已证实当细胞受到一定剂量的紫外线照射后,胞核内的PCNA其赖氨酸164(K164)位点可被一些泛素蛋白识别并对其进行单泛素化(ubiquitylation)修饰,这种修饰可调控与PCNA结合的DNA聚合酶polδ移位,暴露IDCL结构域,募集多种损伤修复酶,如Y家族的跨损伤修复酶polη向损伤部位聚集,参与DNA修复,从而提高细胞对损伤的耐受能力<sup>[8-9]</sup>。本实验研究结果表明,Evn-50单独使用对COC1/DDP细胞有增殖抑制作用,低浓度Evn-50与DDP合用组与DDP单用组相比,DDP的IC<sub>50</sub>值由39.04 μg/ml降至26.39 μg/ml,耐药逆转倍数为1.5倍,说明Evn-50对DDP耐药有一定的逆转作用。PCNA蛋白分子量为36 kD,泛素(Ub)是一个由76个氨基酸组成的多肽,分子量为8.45 kD,一个泛素化分子与PCNA分子共价结合即为PCNA的单泛素化修饰,Ubi-PCNA蛋白分子量为44 kD。本实验通过Western blot证实DDP作用于卵巢癌耐DDP细胞株COC1/DDP细胞48h后出现了36 kD、44 kD两条条带,分别为PCNA与Ubi-PCNA,提示DDP作用于COC1/DDP细胞48h后PCNA出现了泛素化修饰,这与位全芳等<sup>[10]</sup>研究结果相似;同时,本实验进一步证实Evn-50作用于COC1/DDP细胞48h后相对空白对照

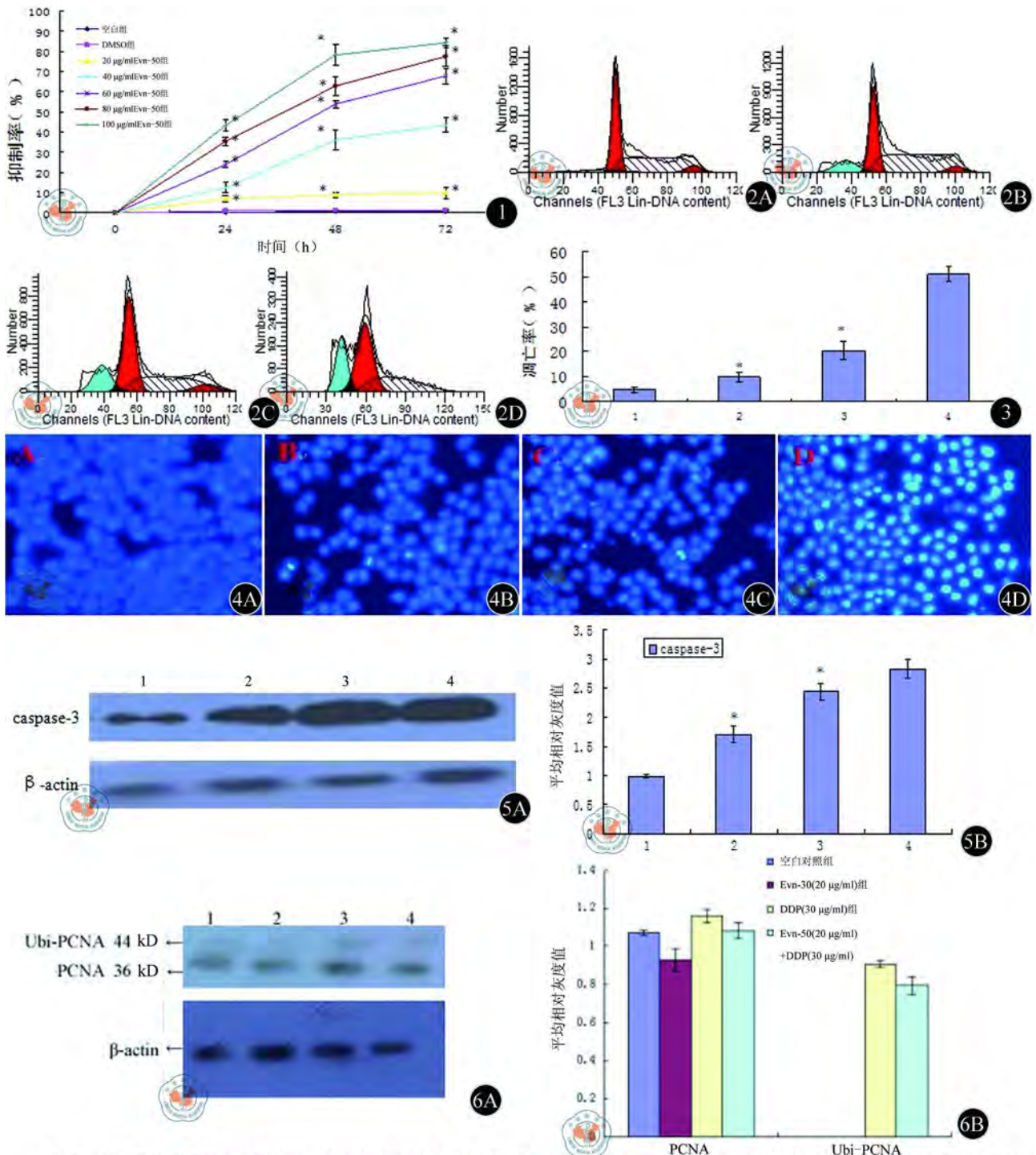


图1 MMT法检测Evn-50对COC1/DDP细胞增殖抑制率( $\bar{x} \pm s, n=3$ ),与空白对照组比较, \* $P<0.05$  图2 FCM检测各处理组作用于COC1/DDP细胞48 h后Sub-G1凋亡峰。2A: 空白对照组; 2B: Evin-50 (20 µg/ml)组; 2C: DDP (30 µg/ml)组; 2D: Evin-50 (20 µg/ml)+DDP (30 µg/ml)组 图3 FCM检测各处理组作用于COC1/DDP细胞48 h后凋亡率( $\bar{x} \pm s, n=3$ )。1: 空白对照组; 2: Evin-50 (20 µg/ml)组; 3: DDP (30 µg/ml)组; 4: Evin-50 (20 µg/ml)+DDP (30 µg/ml)组,与Evin-50 (20 µg/ml)+DDP (30 µg/ml)组比较, \* $P<0.05$  图4 Hoechst33258染色法检测各处理组作用COC1/DDP细胞48 h凋亡形态学变化( $\times 400$ )。4A: 空白对照组; 4B: Evin-50 (20 µg/ml)组; 4C: DDP (30 µg/ml)组; 4D: Evin-50 (20 µg/ml)+DDP (30 µg/ml)组 图5 各处理组作用于COC1/DDP细胞48 h后caspase-3表达变化( $\bar{x} \pm s, n=3$ )。1: 空白对照组; 2: Evin-50 (20 µg/ml)组; 3: DDP (30 µg/ml)组; 4: Evin-50 (20 µg/ml)+DDP (30 µg/ml)组,与Evin-50 (20 µg/ml)+DDP (30 µg/ml)组比较, \* $P<0.05$  图6 各处理组作用于COC1/DDP细胞48 h后PCNA、Ubi-PCNA表达变化( $\bar{x} \pm s, n=3$ ),空白对照组 vs. Evin-50 (20 µg/ml)组,  $P<0.05$ ; DDP (30 µg/ml)组 vs. Evin-50 (20 µg/ml)+DDP (30 µg/ml)组,  $P<0.05$

组 PCNA 减少, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 提示 Evn-50 可能抑制 PCNA 的表达。PCNA 在 Evn-50 + DDP 组与 DDP 单药组均出现了 36 kD、44 kD 两条条带, 分别为 PCNA 与 Ubi-PCNA, 且 Evn-50 + DDP 组相对于 DDP 单药组 Ubi-PCNA 减少, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 这也与位全芳等<sup>[10]</sup> 研究结果相似。综上所述, 本实验提示 Evn-50 可能通过减少 COC1/DDP 细胞中 PCNA, 即减少 PCNA 发生泛素化的底物, 从而一定程度上逆转 COC1/DDP 细胞对 DDP 的敏感性。

caspase 家族属于天冬氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶, 与细胞凋亡密切相关, caspase-3 是其家族的重要成员之一, 是 caspase 级联反应的主要效应因子, 正常情况下 caspases-3 以无活性的酶原形式存在, 当细胞受到损伤时, 通过蛋白水解去除氨基端的一段序列而被激活, 并直接激活 DNA 断裂因子及核酸内切酶等, 降解细胞骨架蛋白和核蛋白, 促使细胞发生凋亡<sup>[11-12]</sup>。本实验通过碘化丙啶染色 FCM 法证明了 Evn-50 + DDP 组细胞凋亡率高于 Evn-50 及 DDP 单药组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。Hoechst33258 染色法从形态学上也证明了这一点。表明 Evn-50 增强了 DDP 诱导 COC1/DDP 凋亡的作用。同时 caspase-3 蛋白表达增加, 且在空白对照组、Evn-50 (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 组、DDP (30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 组、Evn-50 (20  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) + DDP (30  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 组中表达逐渐上调。提示 Evn-50 可能通过激活 caspase-3 蛋白高表达, 启动 caspase 级联反应, 增强 DDP 诱导 COC1/DDP 凋亡的作用。

综上所述, Evn-50 可能通过减少 PCNA 表达, 从而减少 PCNA 泛素化修饰, 使 DDP 诱导的 PCNA 泛素化水平下降, 进而逆转 COC1/DDP 对 DDP 的耐药性, 最终通过诱导 caspase-3 蛋白高表达, 启动 caspase 级联反

应, 增强 DDP 对 COC1/DDP 耐药细胞的致凋亡作用。提示 Evn-50 可能是一种有效的 DDP 耐药逆转剂。

#### 参 考 文 献

- [1] Diaz F, Chavez D, Lee D, et al. Cytotoxic Flavone analogues of vitexicarpin, a constituent of the leaves of vitex negundo. J N Prod, 2003, 66:865-867.
- [2] Kobayakawa J, Sato-Nishimori F, Moriyasu M, et al. G2-M arrest and antimetabolic activity mediated by casticin, a flavonoid isolated from Vitex Fructus (Vitex rotundifolia Linne fil.). Cancer Lett, 2004, 208:59-64.
- [3] 蔡艳林, 白军. 顺铂联合紫花牡荆素抑制人卵巢癌细胞增殖. 现代妇产科进展, 2012, 21:98-104.
- [4] Su W, Huang L, Ao Q, et al. Noscipine sensitizes chemoresistant ovarian cancer cells to cisplatin through inhibition of HIF-1 $\alpha$ . Cancer Lett, 2011, 305:94-99.
- [5] Azhar-UI-Haq, Malik A, Khan MT, et al. Tyrosinase inhibitory lignans from the methanol extract of the roots of Vitex negundo Linn. and their structure activity relationship. Phytomedicine, 2006, 13:255-260.
- [6] Hu Y, Zhang QY, Hou TT, et al. Estrogen-like activities in Vitex species from China determined by a cell based proliferation assay. Pharmazi, 2007, 62:872-875.
- [7] 董巍楠, 周应军, 曹建国, 等. 黄荆子乙酰乙酯提取物对人宫颈癌细胞的抑制作用. 南华大学学报:医学版, 2008, 36:42-45.
- [8] Watanabe K, Tateishi S, Kawasuji M, et al. Rad18 guides poleta to replication stalling sites through physical interaction and PCNA monoubiquitination. EMBO J, 2004, 23:3886-3896.
- [9] Hoegge C, Pfander B, Moldovan GL, et al. RAD6-dependent DNA repair is linked to modification of PCNA by ubiquitin and SUMO. Nature, 2002, 419:135-141.
- [10] 位全芳, 曾益军, 杨劲, 等. 增殖细胞核抗原突变体的稳定高表达对 HeLa 细胞顺铂敏感性的影响. 医学分子生物学杂志, 2008, 5:498-502.
- [11] Akao Y, Yamada H, Nakagawa Y. Arsenic-induced apoptosis in malignant cells in vitro. Leuk Lymphoma, 2000, 37:53-63.
- [12] Anuradha CD, Kanno S, Hirano S. Oxidative damage of mitochondria is a preliminary step to Caspase-3 activation in fluoride-induced apoptosis in HL-60 cells. Free Radic Biol Med, 2001, 31:367-373.

(收稿日期:2012-09-20)

(本文编辑: 戚红丹)