

沉默 cIAP-1 基因对膀胱癌细胞表柔比星化疗敏感性的影响

叶大勇, 陈炜, 梁勇

四川省自贡市第四人民医院泌尿外科, 四川 自贡 643000

摘要: **目的** 探讨沉默细胞凋亡蛋白抑制剂 1 (cellular inhibitor of apoptosis protein 1, cIAP-1) 基因对膀胱癌细胞株 T24 及 EJ 细胞化疗敏感性的影响。**方法** 体外培养 T24 及 EJ 细胞, 分别接受 4.6、9.2、18.4、36.8、73.6 $\mu\text{mol/L}$ 的表柔比星处理。构建 pGCsi-H1-shRNA (沉默 cIAP-1 基因) 及 pGCsi-H1-control (对照) 两种质粒载体, 并分别对处于对数生长期的 T24 及 EJ 细胞进行转染。未转染的细胞作为阴性对照。采用荧光标记法及 CCK8 试验检测细胞凋亡情况, Western blot 及实时定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 分别检测 cIAP-1 蛋白及 mRNA 的相对表达量, 流式细胞术检测细胞周期的变化情况。**结果** 转染 pGCsi-H1-shRNA 的 T24 及 EJ 细胞较转染 pGCsi-H1-control 的细胞及未转染的细胞 cIAP-1 mRNA 和蛋白的表达水平显著降低, 差异均具有统计学意义 (P 均 < 0.05)。不同浓度表柔比星处理条件下, 与未沉默 cIAP-1 的细胞比较, 沉默 cIAP-1 的细胞生存率均明显降低, 其细胞周期明显被阻滞在 G1/G0 期, 细胞凋亡率显著增加 (P 均 < 0.05)。**结论** 沉默 cIAP-1 基因表达可提高膀胱癌细胞对表柔比星化疗敏感性。

关键词: 膀胱癌; 细胞凋亡蛋白抑制剂 1; 化疗敏感性; 表柔比星; 凋亡

中图分类号: R-33 R 737.14 **文献标识码** A **文章编号:** 1674-8182(2016)07-0904-05

Effect of cIAP-1 gene silence on sensitivity of bladder cancer cells to pharmorubicin chemotherapy in vitro

YE Da-yong, CHEN Wei, LIANG Yong

Department of Urology, Zigong Fourth People's Hospital, Zigong, Sichuan 643000, China

Abstract: **Objective** To explore the effect of silencing cellular inhibitor of apoptosis protein1 (cIAP-1) gene on the sensitivity of T24 and EJ bladder cancer cell lines to pharmorubicin chemotherapy. **Methods** T24 and EJ cells were cultured in vitro and were respectively treated with 4.6-9.2-, 18.4-, 36.8-, 73.6 $\mu\text{mol/L}$ pharmorubicin. The plasmid vectors of PGCsi-H1-shRNA (for silencing cIAP-1 gene) and pGCsi-H1-control (for control) were constructed and respectively transfected to T24 and EJ cells in the logarithmic growth phase. The non transfected cells were served as negative control. Fluorescence labeling method and cell Counting Kit-8 (CCK-8) test were used to detect cell apoptosis. Western blot method and real-time quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) were used to respectively detect relative expression quantities of cIAP-1 protein and cIAP-1 mRNA. Flow cytometry was used to detect cell cycle changes. **Results** Compared with the cells transfected by pGCsi-H1-control plasmid and non transfected cells, the expression levels of cIAP-1 mRNA and protein in the cells transfected by pGCsi-H1-shRNA plasmid significantly decreased (all $P < 0.05$). After being treated with different concentrations of pharmorubicin, the survival rates of the silencing cIAP-1 gene cells significantly decreased, and the cell cycle was significantly blocked in the G1/G0 phase, as well as the cell apoptosis rate significantly increased compared with the non silencing IAP-1 gene cells (all $P < 0.05$). **Conclusion** Silencing cIAP-1 gene expression can enhance the sensitivity of bladder cancer cells to pharmorubicin chemotherapy.

Key words: Bladder cancer; Cellular inhibitor of apoptosis protein 1; Chemosensitivity; Pharmorubicin; Apoptosis

膀胱癌是泌尿系最常见的恶性肿瘤, 该病的发病率在泌尿系肿瘤中所占的比例最高。膀胱癌存在高

复发率的特点, 临床医生往往在膀胱癌术后需对患者进行长时间膀胱灌注化疗, 但在治疗过程中一部分患者对其化疗逐渐失去敏感性, 究其原因可能与一些细胞因子的表达有关^[1]。肿瘤细胞凋亡抑制蛋白 (inhibitor of apoptosis protein, IAP) 参与细胞凋亡、细胞

内信号传导、细胞周期多种细胞功能^[2-4]。近年来的研究发现,细胞凋亡蛋白抑制剂 1 (cellular inhibitor apoptosis protein 1, cIAP-1) 在调控肿瘤细胞增殖和凋亡中有着不可替代的作用,是调控多种肿瘤细胞化疗敏感性的关键分子之一。然而 cIAP-1 在膀胱癌的化疗中相关作用未见报道,本文对 cIAP-1 在膀胱癌化疗中的作用机制进行研究,以为临床研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 逆转录试剂盒 (Reverse transcription system) 购买于 Promega 公司; SYBR[®] Premix Ex Taq[™] II 购买于 TaKaRa 公司; 细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒 (Cell Cycle and Apoptosis Analysis Kit) 购买于碧云天生物科技公司; cIAP-1 抗体 (Cell Signaling Technology) 和 β -actin 抗体 (Cell Signaling Technology) 购买于上海优宁维生物科技公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞系及处理 人膀胱癌 T24 及 EJ 细胞株所用培养液为含 10% 胎牛血清 (FBS) 的 RPMI1640 培养基, 细胞保持在 37 °C 含有 5% O₂ 的潮湿环境中。将细胞分为 5 组, 分别接受 4.6、9.2、18.4、36.8、73.6 μ mol/L 的表柔比星处理, 各组分别培养 24 h, 实验重复 3 次。

1.2.2 干扰载体的构建及转染 本实验沉默 cIAP-1 基因的短发夹 RNA (shRNA) 寡核苷酸由上海生工生物有限公司, 构建得到 pGCsi-H1-shRNA 和 pGCsi-H1-control (对照) 两种质粒。细胞转染实验首先将对数生长期的 T24 及 EJ 细胞按 1×10^5 /孔接种于 6 孔板, 再进行转染^[5], 验证转染效率。并设未转染两种质粒细胞为阴性对照。

1.2.3 qRT-PCR 法检测 cIAP-1 mRNA 表达水平 采用 Trizol 法提取各组细胞的总 RNA, 反转录得到 cDNA, 进行 qRT-PCR 检测。引物序列如下, cIAP-1 mRNA 的上游引物 5'-GGCATTTCCTCCAACTGTCCA-3', 下游引物 5'-CATCATCATTTGCGACCCACA-3'; β -actin mRNA 的上游引物 5'-AGCGCAAGTACTCCGTGTG-3', 下游引物 5'-AAGCAATGCTATCACCTCCC-3'。引物根据 GenBank 序列, 用软件 Primer Premier 5.0 和 Oligo 6.22 设计, 由华大基因生物科技公司合成。PCR 反应条件为 95 °C 5 min, 随后为 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 30 s 重复 40 个循环。

1.2.4 Western blot 检测 cIAP-1 蛋白表达水平 用 RIPA (强) 裂解液冰上裂解细胞 30 min, 20 W 超声震荡 2 min, 在 4 °C 条件下, 12 000 g 离心 10 min, 收集上清, 测浓度。50 μ g 待测蛋白在 10% 的聚丙烯酰胺

SDS-PAGE 进行电泳分离, 电泳条件为积层胶 80 V 40 min、分离胶 120 V 1.5 h, 然后在 100 V 的条件下湿转膜 1.5 h, 室温封闭 1 h, 一抗 4 °C 孵育过夜 (cIAP-1 一抗的稀释比例 1:400, β -actin 一抗的稀释比例 1:500), 洗膜, 二抗 37 °C 孵育 1 h, 洗膜。用 ECL Plus 试剂盒在暗室内用 X 光片压片法进行化学发光检测。

1.2.5 CCK8 实验检测细胞凋亡情况 各组细胞设置 5 个复孔, 进行相应的处理后, 各板加入 10 μ l/孔的 CCK8 反应液, 在 37 °C 孵育长达 2 h, 并使用 SpectroMAX 190 酶标仪在 450 nm 处的吸光度进行分析。

1.2.6 流式细胞检测细胞周期变化 收集细胞并用 70% 的冷乙醇固定, 4 °C 过夜。用碘化丙啶 (PI) (0.05 mg/ml) 和 RNA 酶 (2mg/ml) 常温下进行染色 30 min, 用流式细胞仪分析细胞周期, 细胞处于 G0/G1, S 和 G2/M 期在细胞周期的百分比的评估使用 Cell Lab Quanta SC 软件。

1.2.7 荧光标记检测细胞凋亡 收集处理后的细胞, 按照说明书的步骤, 加入 195 μ l 膜联蛋白 V-FITC 溶液和 5 μ l Annexin V 溶液, 室温孵育 10 min, 加入 10 μ l PI 染色液, 即完成膜联蛋白 V-FITC/PI 双染。最后流式细胞仪对各组细胞的凋亡进行定量检测分析, 其中 Annexin V-FITC 染色液标记绿色荧光, PI 染色液标记红色荧光。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 20.0 软件包进行统计分析。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间计量资料比较用单因素方差分析, 两组间计量资料比较采用两独立样本的 *t* 检验进行分析。以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

2.1 ShRNA 沉默 cIAP-1 基因的验证 qRT-PCR 及 Western blot 结果表明, 转染 pGCsi-H1-shRNA 及 pGCsi-H1-control 两种质粒及无转染组 T24 及 EJ 细胞的 cIAP-1 mRNA 及蛋白的相对表达量 3 组间有明显差异 (P 均 < 0.05)。qRT-PCR 结果表明, 转染 pGCsi-H1-shRNA 的 T24 及 EJ 细胞的 cIAP-1 mRNA 表达水平明显低于转染 pGCsi-H1-control 细胞, 差异具有统计学意义 (P 均 < 0.05)。见表 1、图 1。Western blot 结果显示转染 pGCsi-H1-shRNA 的 T24 及 EJ 细胞的 cIAP-1 蛋白表达水平明显低于转染 pGCsi-H1-control 细胞。见图 2。

2.2 沉默 cIAP-1 基因对表柔比星处理的膀胱癌细胞生存率的影响 未沉默 cIAP-1 基因时, 经各浓度表柔比星 (4.6、9.2、18.4、36.8、73.6 μ mol/L) 处理膀胱癌 T24 及 EJ 细胞 24h 后发现, 细胞生存率随着药

物浓度的增加而减低,且呈浓度依赖关系(表 2、图 3);在沉默 cIAP-1 基因且经各浓度表柔比星(4.6、9.2、18.4、36.8、73.6 $\mu\text{mol/L}$)处理后,沉默 cIAP-1 基因细胞组(转染 pGCsi-H1-shRNA)相较于转染 pGCsi-H1-control 细胞组在 9.2 $\mu\text{mol/L}$ 浓度以上条件下细胞生存率均明显降低,并且存在浓度依赖性($P < 0.05$),且两组均低于无转染组(P 均 < 0.05)。见表 3、图 4。

2.3 沉默 cIAP-1 基因联合表柔比星处理对膀胱癌细胞的细胞周期影响 表柔比星处理的 T24 及 EJ 细胞组相比于没有表柔比星处理组细胞周期明显阻滞在 G1/G0 期($P < 0.05$),同时处于 S 期的细胞比例也明显减少($P < 0.05$);沉默 cIAP-1 基因细胞组与对照组相比细胞周期明显阻滞在 G1/G0 期($P < 0.05$),而转染质粒 pGCsi-H1-control 的膀胱癌 T24 及 EJ 细胞组较无转染组处理前后细胞周期无明显变化。见表 4、图 5。

表 1 各组 T24 及 EJ 细胞 cIAP-1 mRNA 相对表达量 ($\bar{x} \pm s$)

组别	T24	EJ
无转染组	1.01 \pm 0.03	1.00 \pm 0.02
pGCsi-H1-control 组	0.84 \pm 0.02	0.81 \pm 0.01
pGCsi-H1-shRNA 组	0.49 \pm 0.02*	0.47 \pm 0.02*
F 值	7.16	8.05
P 值	<0.05	<0.05

注:与 pGCsi-H1-control 组比较,* $P < 0.05$ 。

表 2 未沉默 cIAP-1 基因时不同浓度表柔比星对 T24 及 EJ 细胞生存率的影响(% , $\bar{x} \pm s$)

细胞株	4.6 $\mu\text{mol/L}$	9.2 $\mu\text{mol/L}$	18.4 $\mu\text{mol/L}$	36.8 $\mu\text{mol/L}$	73.6 $\mu\text{mol/L}$	F 值	P 值
T24	98.41 \pm 0.02	95.16 \pm 0.03	93.08 \pm 0.06	88.97 \pm 0.01	80.70 \pm 0.02	11.09	<0.01
EJ	98.78 \pm 0.02	96.51 \pm 0.04	93.49 \pm 0.02	88.75 \pm 0.03	81.02 \pm 0.04	10.78	<0.01

表 3 沉默 cIAP-1 基因对膀胱癌 T24 及 EJ 细胞生存率的影响 (% , $\bar{x} \pm s$)

细胞株 组别	4.6 $\mu\text{mol/L}$	9.2 $\mu\text{mol/L}$	18.4 $\mu\text{mol/L}$	36.8 $\mu\text{mol/L}$	73.6 $\mu\text{mol/L}$
T24 无转染组	99.20 \pm 2.31	99.41 \pm 2.03	99.24 \pm 2.15	99.62 \pm 3.01	99.52 \pm 2.18
T24 pGCsi-H1-control 组	99.22 \pm 2.07	98.61 \pm 2.14	99.45 \pm 2.61	99.21 \pm 2.71	99.52 \pm 2.08
T24 pGCsi-H1-shRNA 组	96.32 \pm 2.01	90.17 \pm 2.48* $\&$	86.15 \pm 2.52* $\&$	79.62 \pm 2.82* $\&$	78.64 \pm 2.63* $\&$
EJ 无转染组	99.23 \pm 3.02	99.41 \pm 2.35	99.24 \pm 2.19	99.60 \pm 2.09	99.52 \pm 2.47
EJ pGCsi-H1-control 组	99.27 \pm 2.31	98.62 \pm 2.51	99.44 \pm 2.57	99.29 \pm 2.08	99.50 \pm 2.64
EJ pGCsi-H1-shRNA 组	96.33 \pm 2.61	88.20 \pm 3.07* $\&$	84.27 \pm 3.16*	76.22 \pm 2.91*	68.64 \pm 2.78* $\&$

注:与无转染组比较,* $P < 0.05$;与 pGCsi-H1-control 比较, $\&P < 0.05$ 。

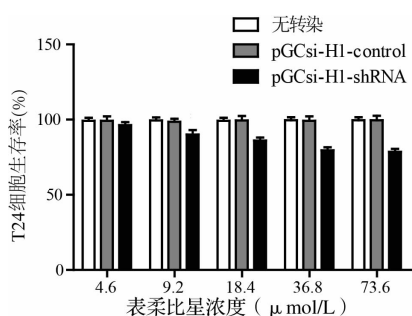


图 4 沉默 cIAP-1 基因对膀胱癌 T24 及 EJ 细胞生存率的影响

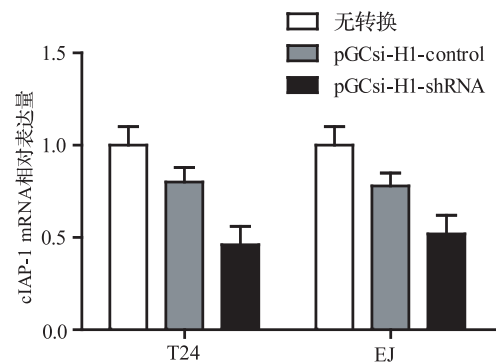
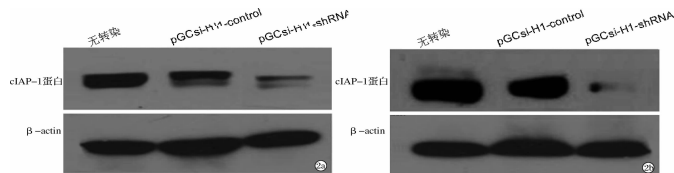


图 1 qRT-PCR 检测各组细胞 cIAP-1 mRNA 相对表达量



注:2a:T24 细胞;2b:EJ 细胞。

图 2 Western blot 检测各组细胞 cIAP-1 蛋白相对表达量

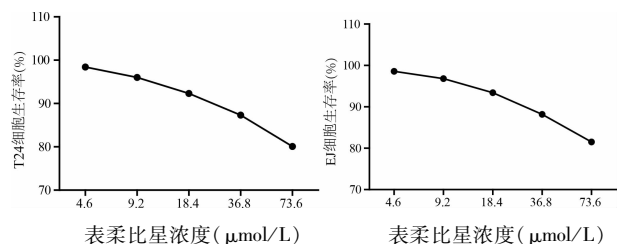


图 3 未沉默 cIAP-1 基因时不同浓度表柔比星对膀胱癌 T24 及 EJ 细胞株细胞生存率的影响

表 4 沉默 cIAP-1 基因联合表柔比星处理对膀胱癌 T24 及 EJ 细胞的细胞周期影响 (% , $\bar{x} \pm s$)

细胞株	组别	G1/G0	S	M
T24	无转染组	55.60 ± 4.06	23.33 ± 3.75	21.16 ± 3.21
	pGCsi-H1-control 组	55.23 ± 3.54	23.16 ± 3.28	21.78 ± 2.38
	pGCsi-H1-shRNA 组	64.27 ± 3.61	22.15 ± 3.16	15.72 ± 3.48
	无转染 + 表柔比星组	51.01 ± 3.21	24.55 ± 3.78	24.52 ± 4.97
	pGCsi-H1-control + 表柔比星组	50.22 ± 4.05	24.35 ± 4.06	25.51 ± 3.41
EJ	无转染组	56.21 ± 4.06	21.35 ± 4.12	21.52 ± 3.08
	pGCsi-H1-control 组	55.23 ± 3.64	23.19 ± 3.48	21.72 ± 4.14
	pGCsi-H1-shRNA 组	64.26 ± 3.49	22.16 ± 4.15	15.72 ± 3.97
	无转染 + 表柔比星组	50.87 ± 4.62	23.16 ± 3.58	16.17 ± 3.04
	pGCsi-H1-control + 表柔比星组	51.52 ± 3.34	22.54 ± 3.42	24.03 ± 2.99
	pGCsi-H1-shRNA + 表柔比星组	73.18 ± 2.94* [△]	15.27 ± 3.83* [△]	11.74 ± 4.01* [△]

注:与 pGCsi-H1-shRNA 组比较, * $P < 0.05$; 与 pGCsi-H1-control + 表柔比星组比较, [△] $P < 0.05$ 。

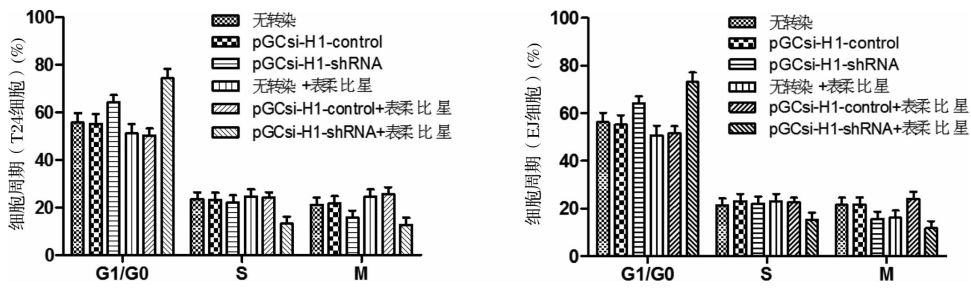


图 5 沉默 cIAP-1 基因联合表柔比星处理对膀胱癌 T24 及 EJ 细胞的细胞周期影响

表 5 沉默 cIAP-1 基因联合表柔比星处理对膀胱癌 T24 及 EJ 细胞凋亡率的影响 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	T24	EJ
无转染组	2.12 ± 0.71	2.32 ± 0.45
pGCsi-H1-control 组	2.62 ± 0.53	2.53 ± 0.48
pGCsi-H1-shRNA 组	13.51 ± 0.57*	12.92 ± 0.65*
无转染 + 表柔比星组	11.21 ± 0.68	11.62 ± 0.71
pGCsi-H1-control + 表柔比星组	12.61 ± 0.49	12.33 ± 0.81
pGCsi-H1-shRNA + 表柔比星组	21.08 ± 0.44 [#]	20.53 ± 0.62 [#]

注:与 pGCsi-H1-control 组比较, * $P < 0.05$; 与 pGCsi-H1-control + 表柔比星组比较, [#] $P < 0.01$ 。

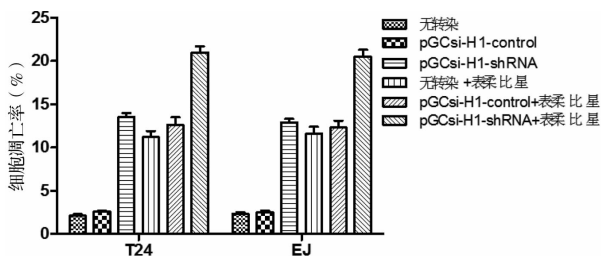


图 6 沉默 cIAP-1 基因联合表柔比星处理对膀胱癌 T24 及 EJ 细胞凋亡率的影响

2.4 沉默 cIAP-1 基因联合表柔比星处理对膀胱癌细胞的凋亡率影响 结果显示,在没有表柔比星处理条件下,沉默 cIAP-1 基因组(转染质粒 pGCsi-H1-shRNA)较对照组(转染质粒 pGCsi-H1-control)细胞凋亡率明显增加($P < 0.05$),而在表柔比星处理条件下,沉默 cIAP-1 基因组较对照组细胞凋亡率的增加更为明显($P < 0.01$)。见表 5、图 6。

3 讨论

膀胱癌在临床上的复发率较高,据统计低中级别尿路上皮膀胱癌患者术后 1 年的复发率可高达 20% ~ 40%,高级别尿路上皮癌患者术后 1 ~ 2 年复发率可高达 90%^[6-7],癌细胞的转移和侵袭是肿瘤复发的主要因素,同时也加速了患者的死亡。尽管包括手术治疗、放疗和化疗在内的诊断和治疗策略有所进展,但是截至目前,膀胱癌的临床中仍存在较多的复发及对化疗药物不敏感的情况,这很大程度上与肿瘤的抗化疗敏感性有关^[8]。目前普遍认为膀胱癌化疗失败的主要原因是 IAPs 基因被激活,使其在肿瘤细胞中高表达,从而抑制肿瘤细胞的凋亡,与此同时增强肿瘤细胞的增殖能力,使得肿瘤细胞能够快速增殖等。

在膀胱癌的发生和病程进展中,肿瘤细胞的凋亡常常出现抑制^[9-10]。IAPs 蛋白家族常常参与细胞凋亡、细胞内信号传导、细胞周期等多种细胞功能。目前研究者已经发现的人类 IAPs 基因家族成员共有 8 个^[11],它们分别定位于人类 2 号、5 号、11 号、11 号、17 号、19 号、20 号与 X 染色体上,并且编码的 IAPs 蛋白大小也不同,IAPs 家族蛋白主要定位于细胞浆。cIAP-1 是其中的重要成员之一,它包含有两个同源二聚体,并且构成同源二聚体的两个单体的 N 端都带有一个相同的 BIR 结构域,与细胞的有丝分裂密

切相关,其主要功能是介导肿瘤坏死因子受体家族以发挥凋亡抑制作用以及通过直接结合于 caspas-3 和 caspase-7,降解其凋亡作用的内源性细胞凋亡作用。近年来的研究发现,cIAP-1 与多种肿瘤的发生与发展有着密切的关系,可能参与调控多种肿瘤的细胞增殖与凋亡,有可能发展为逆转肿瘤细胞耐药、提高疗效的新靶点^[4]。Tanimoto 等^[12]分析 57 例头颈部鳞状细胞癌患者样本,发现 cIAP-1 与 caspase-3 呈负相关关系,并且与淋巴结转移及预后呈正相关关系。Qi 等^[13]在对 75 例舌鳞状细胞癌患者进行分析也发现 cIAP-1 在细胞核与质表达均与淋巴结转移以及浸润程度呈正相关关系。Psyrrri 等^[14]通过对 150 例晚期卵巢癌患者进行组织芯片以及随访资料的综合分析,发现 cIAP 低表达组与无病生存期无显著差别,而 cIAP 高表达组的患者总生存期 < 3 年。Gill 等^[15]在前腺癌细胞耐药形成机制中的探究中证实 cIAP 家族成员与前腺癌细胞耐药形成密切相关,在化疗耐药细胞株中 cIAP-1、cIAP-2、XIAP 的表达水平显著高于化疗敏感细胞株。Montagut 等^[16]也发现当前列腺癌细胞耐药株的 cIAP-1、cIAP-2、XIAP 等基因被联合敲除后,可逆转细胞对化疗药物的耐受性。本研究发现,表柔比星处理能抑制膀胱癌 T24 及 EJ 细胞的增殖,且随表柔比星浓度的增高抑制效果逐渐增强,经 shRNA 技术沉默 cIAP-1 基因后,表柔比星对细胞增殖的抑制作用更明显,通过细胞周期检测发现沉默 cIAP-1 基因后,其细胞周期明显被阻滞在 G0/G1 期,同时,凋亡百分比也显著增加。

本研究结果表明,沉默 cIAP-1 表达可增强表柔比星对膀胱癌细胞增殖的抑制效果,但由于膀胱癌的发生是一个多阶段、多步骤、多基因的复杂过程,其具体机制仍需进一步的研究。

参考文献

[1] 张惠敏,李鸣,靳风烁,等.膀胱肿瘤复发机制的研究进展[J].现代生物医学进展,2009,9(11):2197-2200.
 [2] Chen X,Wang T,Yang D,et al. Expression of the IAP protein family acts cooperatively to predict prognosis in human bladder cancer patients[J]. Oncol Lett,2013,5(4):1278-1284.
 [3] de Almagro MC,Vucic D. The inhibitor of apoptosis (IAP) proteins

are critical regulators of signaling pathways and targets for anti-cancer therapy[J]. Exp Oncol,2012,34(3):200-211.

- [4] 李晨星,刘忠宇,赵恩锋.细胞凋亡抑制蛋白 cIAP 与卵巢癌耐药性的研究进展[J].现代生物医学进展,2012,12(18):3584-3585.
 [5] Qin FX,Shao HY,Chen XC,et al. Knockdown of NPM1 by RNA interference inhibits cells proliferation and induces apoptosis in leukemic cell line[J]. Int J Med Sci,2011,8(4):287-294.
 [6] Mehta N,Rathore RS,Pillai BS,et al. Intrinsic tumour factors affecting recurrence in non muscle invasive bladder cancer: a hospital based study from India[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2015,16(7):2675-2677.
 [7] Xu T,Zhu Z,Wang X,et al. Impact of body mass on recurrence and progression in Chinese patients with Ta,T1 urothelial bladder cancer[J]. Int Urol Nephrol,2015,47(7):1135-1141.
 [8] Kerr SH,Kerr DJ. Novel treatments for hepatocellular cancer[J]. Cancer Lett,2009,286(1):114-120.
 [9] Wu CH,Ho YS,Tsai CY,et al. In vitro and in vivo study of phloretin-induced apoptosis in human liver cancer cells involving inhibition of type II glucose transporter[J]. Int J Cancer,2009,124(9):2210-2219.
 [10] Zhou YM,Wen YH,Kang XY,et al. Troglitazone, a peroxisome proliferator-activated receptor gamma ligand, induces growth inhibition and apoptosis of HepG2 human liver cancer cells[J]. World J Gastroenterol,2008,14(14):2168-2173.
 [11] Saleem M,Qadir MI,Perveen N,et al. Inhibitors of apoptotic proteins: new targets for anticancer therapy[J]. Chem Biol Drug Des,2013,82(3):243-251.
 [12] Tanimoto T,Tsuda H,Imazeki N,et al. Nuclear expression of cIAP-1, an apoptosis inhibiting protein, predicts lymph node metastasis and poor patient prognosis in head and neck squamous cell carcinomas[J]. Cancer Lett,2005,224(1):141-151.
 [13] Qi S,Mogi S,Tsuda H,et al. Expression of cIAP-1 correlates with nodal metastasis in squamous cell carcinoma of the tongue[J]. Int J Oral Maxillofac Surg,2008,37(11):1047-1053.
 [14] Psyrrri A,Yu Z,Bamias A,et al. Evaluation of the prognostic value of cellular inhibitor of apoptosis protein in epithelial ovarian cancer using automated quantitative protein analysis[J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev,2006,15(6):1179-1183.
 [15] Gill C,Dowling C,O'Neill AJ,et al. Effects of cIAP-1,cIAP-2 and XIAP triple knockdown on prostate cancer cell susceptibility to apoptosis, cell survival and proliferation[J]. Mol Cancer,2009,8:39.
 [16] Montagut C,Rovira A,Albanell J. The proteasome: a novel target for anticancer therapy[J]. Clin Transl Oncol,2006,8(5):313-317.

收稿日期:2016-03-28 修回日期:2016-04-26 编辑:周永彬