

芦荟多糖增强顺铂对肺腺癌裸鼠移植瘤生长的抑制作用

刘雪花¹, 董琳², 侯小燕¹, 庄英帜^{1*}(1.南华大学附属第一医院肿瘤内科, 湖南 衡阳 421001; 2.南华大学肿瘤研究所, 湖南 衡阳 421001)

摘要: 目的 观察芦荟多糖(Aloe polysaccharide, AP)和顺铂(DDP)合用对人肺腺癌 A549 细胞裸小鼠移植瘤生长的抑制作用, 并初步探讨其作用机制。方法 采用 A549 细胞株建立人肺腺癌裸鼠模型, 将 35 只, ♀, 成瘤裸小鼠随机分为 7 组: 对照组(生理盐水 0.2 mL); DDP 低剂量组(1.0 mg·kg⁻¹); DDP 高剂量组(5 mg·kg⁻¹); AP 低剂量组(10 mg·kg⁻¹); AP 高剂量组(30 mg·kg⁻¹); DDP 低剂量组+AP 低剂量组; DDP 低剂量组+AP 高剂量组, 隔天腹腔注射给药, 共 8 次。于最后 1 次

基金项目: 衡阳市科技局项目(2009Ks39)

作者简介: 刘雪花, 女, 副教授 Tel: (0734)82821510 E-mail: liuxh2007@126.com *通信作者: 庄英帜, 女, 硕士, 教授, 硕导 Tel: (0734)8282761 E-mail: zhuangyz2010@163.com

· 1080 ·

Chin JMAP, 2011 December, Vol.28 No.12

中国现代应用药学 2011 年 12 月第 28 卷第 12 期

给药后 48 h 处死各组小鼠, 收集瘤标本行光镜观察, 免疫组化检测 p53 和 bcl-2 蛋白表达情况。结果 各实验组肿瘤的生长明显受到抑制, 瘤质量明显低于对照组($P<0.01$)。低、高剂量 AP 联合用药组较低剂量 DDP 组抑瘤作用明显增强($P<0.05$), 其瘤重抑制率分别为 49.34%和 82.61%。高剂量 AP 组与对照组比较, p53 和 bcl-2 的表达均下调, 差异具有统计学意义($P<0.05$), 联合用药组该调节作用进一步增强。高剂量 DDP 组出现不良反应, 其余各组无明显不良反应。结论 AP 能够增强 DDP 对人肺腺癌 A549 细胞裸鼠移植瘤生长的抑制作用, 其作用机制可能与 AP 抑制 p53 和 bcl-2 的表达有关。

关键词: 肺肿瘤; 芦荟多糖; 顺铂; 裸鼠移植瘤

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)12-1080-05

Enhancement of Aloe Polysaccharide on Inhibitory Effects of Cisplatin on Growth of Lung Adenocarcinoma in Nude Mice

LIU Xuehua¹, DONG Lin², HOU Xiaoyan¹, ZHUANG Yingzhi^{1*} (1.Department of Oncology, the First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang 421001, China; 2.Institute of Oncology, University of South China, Hengyang 421001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effects of Aloe polysaccharide (AP) combined with cisplatin(DDP) on the growth of transplanted lung adenocarcinoma in mice and the corresponding mechanism. **METHODS** The human lung adenocarcinoma mode was established with A549 cell in nude mice. Thirty five female Balb/c-nu mice with lung adenocarcinoma were randomly divided into seven groups: control group; low-dose DDP group ($1.0 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); high-dose DDP group ($4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); low-dose AP group ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); high-dose AP group($30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$); low-dose DDP plus low-dose AP group; low-dose DDP plus high-dose AP group. All the mice were sacrificed at 48 h after the last injection. Subcutaneous tumor was subjected to histological examination. Expressions of p53 and bcl-2 in tumor tissues were detected by immunohistochemistry. **RESULTS** In every treatment group, tumor growth was suppressed significantly. Compared with control group, intraperitoneal injection of other groups resulted in a significant inhibition of the growth of A549 cells *in vivo* ($P<0.01$). The anti-tumor effect of DDP plus AP was significantly enhanced compared with low-dose DDP group($P<0.05$), the inhibitory rate was 49.34% and 82.61%, respectively. Compared with control group, expression of both p53 and bcl-2 significantly increased in high-dose AP group ($P<0.05$), and in DDP plus AP groups it was much more enhanced. High dose DDP group showed some adverse reaction, while other groups did not. **CONCLUSION** DDP combines with AP can significantly inhibit the growth of transplanted lung adenocarcinoma in mice *in vivo*, the mechanism is associated with the down-regulation of p53 and bcl-2.

KEY WORDS: lung neoplasm; Aloe polysaccharide; cisplatin; xenograft

芦荟多糖(Aloe polysaccharide, AP)是芦荟凝胶中除去水分以外的主要成分。现代药理学研究发现, AP 具有抗肿瘤、抗衰老、抗溃疡, 抗内毒素以及抗艾滋病毒等作用。近年来, AP 的抗肿瘤作用逐渐受到众多学者的关注。研究显示, 芦荟具有抑制心肌细胞凋亡, 促进伤口愈合的作用^[1-2], 芦荟提取物对 Heps、EAC、S180 及黑色素瘤等移植性肿瘤均有效^[3-5], 而 AP 对肺腺癌的作用尚无报道。王宗伟等^[6]研究发现 AP 能够下调细胞 p53 的表达, 而抑制 p53 的表达有可能提高癌细胞对化疗药的敏感性^[7]。因此, 本研究采用 Balb/c-nu 裸小鼠移植瘤模型, 观察 AP 在体内联合顺铂(DDP)对肺腺癌移植瘤生长的影响并探讨其可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料及试剂

Balb/c-nu 裸小鼠 35 只, ♀, 6 周龄, 体重 16~18

g, 购于中科院上海实验动物中心, 试验动物合格证号: SCXK(湘)2009-0004, 由南华大学肿瘤研究所提供 SPF 级饲养环境。人肺腺癌 A549 细胞株由本所保存提供。AP 是按照文献[8]从中华芦荟(*Aloe vera var.chinensis*)中提取, 并用紫外分光光度法鉴定纯度为 99.8%。DDP(山东齐鲁制药厂); 兔抗人 p53、bcl-2 多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司); SP 试剂盒、DAB 显色剂均购于北京中杉金桥生物技术有限公司。RPMI-1640 培养基(广州英韦创津公司)。

1.2 动物模型的建立

将已培养好基本长满瓶壁的 A549 肺腺癌细胞瓶内培养基吸弃, 用 PBS 液洗涤细胞 2 次, 加入浓度为 0.25% 的胰蛋白酶滴消化, 将消化好的细胞吸入离心管内, $900 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 的离心机离心 5 min, 弃上清, 加入不含小牛血清的 RPMI-1640 培养

基 3 mL, 吸管吹打混匀(取适量计数细胞), 再离心, 弃上清, 按每只裸小鼠皮下接种细胞数 2.5×10^7 个, 再加入无血清 RPMI-1640 培养基, 供裸小鼠皮下接种用。准备好的 A549 细胞悬液经台盼蓝染色活细胞数占 95% 以上, 按每只 0.2 mL A549 细胞悬液注射于消毒后的裸小鼠皮下, 观察肿瘤移植成功率。

1.3 实验分组

35 只小鼠皮下移植处均成瘤, 接种 7 d 后随机分成 7 组, 每组 5 只: 对照组(生理盐水 0.2 mL)、DDP 低剂量组 ($1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、DDP 高剂量组 ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、AP 低剂量组 ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、AP 高剂量组 ($30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、DDP 低剂量组 + AP 低剂量组和 DDP 低剂量组 + AP 高剂量组。各组均采用隔天腹腔注射给药, 共 8 次。末次给药后 48 h 后脱颈白处死裸小鼠, 切除移植瘤。所有动物实验均遵循中华人民共和国动物实验管理规定操作。

1.4 观察指标及方法

用游标卡尺测量皮下移植瘤长径(L)和短径(W), 按通用公式 [$V(\text{mm}^3) = L \times W^2 \times 0.52$] 计算肿瘤体积 V 。计算瘤重抑瘤率, 瘤重抑制率 $E(\%) = [1 - (\text{实验组平均瘤重} / \text{对照组平均瘤重})] \times 100\%$ 。合并用药效果根据文献提供的金氏公式求出 Q 值进行判断: $Q = E_{a+b} / [E_a + (1 - E_a) \times E_b]$, E_{a+b} 为二药合用的抑制率, E_a 和 E_b 为各药单用的抑制率, 若 $Q < 0.85$ 说明二药合用有拮抗作用, 若 $0.85 < Q < 1.15$ 说明二药合用有相加作用, 若 $Q > 1.15$ 说明二药合用有协同作用。

1.5 光镜观察及免疫组化

肿瘤标本用 4% 中性甲醛溶液固定、石蜡包埋、组织切片 ($5 \mu\text{m}$), HE 染色, 光镜观察。组织切片免疫组化染色检测 p53、bcl-2 的表达。采用免疫组化 SP 法检测, 操作步骤严格按照试剂盒说明书进行(皆为 1:50 稀释工作液), 用 PBS 缓冲液代替 p53 作阴性对照。免疫组化的判定标准: p53 蛋白以癌细胞核显棕黄色颗粒, 间质清晰, 无背景着色, 同时阳性细胞要在 5% 以上, 才能定为阳性。高倍镜下计数 100 个细胞, 呈棕黄色颗粒的阳性细胞 $< 10\%$ 为阴性, $\geq 10\%$ 为阳性。bcl-2 以胞质, 部分胞核及核膜着色, 结果判断同 p53。应用 Image Pro Plus 5.0 专业图像分析软件对免疫组化结果进行定量分析, 测出阳性细胞的积分光

密度(integrated optical density, IOD), 积分光密度是阳性细胞的平均光密度和其面积的乘积, 可以反映蛋白表达量(IOD 值越高, 表明蛋白含量越高)。

1.6 Western blot 检测

取重约 100 mg 新鲜移植瘤, 尽量剪碎, 加入细胞裂解液, 置于玻璃匀浆器中匀浆, 直至组织充分裂解。用玻璃匀浆器匀浆, 直至充分裂解。将所得细胞提取液 4°C 放置 30 min, $11\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清; BCA 法测定蛋白并用裂解液调整蛋白浓度。取等量蛋白样品, 在 90~120 V 电压下进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE); 将蛋白转移至 PVDF 膜上, 用含 5% 脱脂奶粉的缓冲液封闭过夜(4°C); 加入 p53, 室温孵育 2 h, 洗膜; 加入 bcl-2, 室温孵育 1 h, 洗膜; ECL 化学发光, X 光片曝光并显影、定影、分析结果。

1.7 统计学处理

计量资料数据采用 SPSS 11.0, 单因素方差分析(One-way ANOVA)进行样本均数间多重比较。

2 结果

2.1 裸小鼠体内成瘤情况

自接种后 5 d, 可见接种部位小结节, 约 $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$ 大小, 随后结节逐渐增大, 至第 10 天, 约 $7 \text{ mm} \times 7 \text{ mm}$ 大小。35 只裸小鼠全部成瘤, 成瘤率达 100%。

2.2 移植瘤组织的病理形态学观察

实验结束后, 进行移植瘤组织病理切片, 光镜下均可见癌组织, 癌细胞圆形或椭圆形, 核大, 核仁明显, 胞质稍呈透明微嗜碱, 细胞大小不等, 癌细胞被纤维组织分隔成大小不等的癌巢, 其间可见腺管、腺腔样结构。

2.3 各组药物对裸小鼠皮下移植瘤生长的影响

实验结束后, 各用药组瘤质量及瘤体积明显低于对照组 ($P < 0.01$), DDP 低剂量 + AP 低剂量组和 DDP 低剂量组 + AP 高剂量组抑瘤作用进一步增强, 抑瘤率分别为 49.34%, 82.61%, Q 值分别为 0.861 和 1.204。结果见图 1 和表 1。

2.4 各组药物对裸小鼠化疗毒性的影响

用药期间, DDP $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组小鼠逐渐出现精神不振、活动减少、食量下降、消瘦等表现, 其余各组一般情况较好, 未见明显不良反应或死亡。

2.5 AP、DDP 对肿瘤细胞 p53、bcl-2 表达的影响

2.5.1 免疫组织化学检测 AP 组与对照组比较, p53 和 bcl-2 表达均减小, 与阴性对照组比较差异

显著($P<0.05$), 联合用药组进一步增强($P<0.01$), 结果见图 2和表 2。

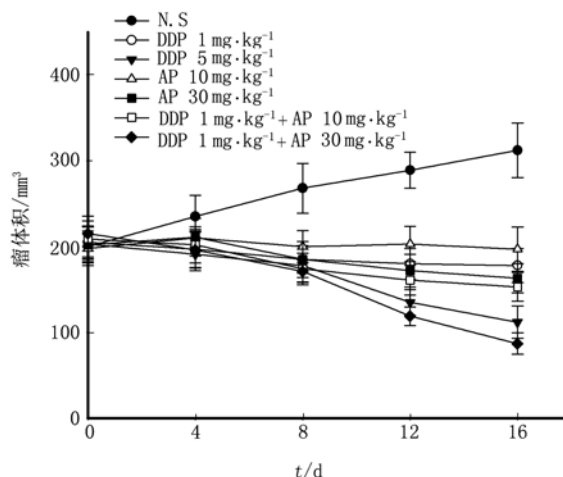


图 1 裸鼠移植瘤体积生长曲线

Fig 1 The transplant tumor growth curve in each group

表 1 不同药物对裸鼠移植瘤重量的影响

Tab 1 The effect of different drugs on the transplantation tumor weight

分组	瘤质量/mg	抑制率/%	Q
对照组	312.30±35.37		
DDP 1 mg·kg ⁻¹ 组	211.20±34.6	32.37	
DDP 5 mg·kg ⁻¹ 组	116.14±32.3 ¹⁾	62.81	
AP 10 mg·kg ⁻¹ 组	197.25±12.8 ²⁾	36.84	
AP 30 mg·kg ⁻¹ 组	170.35±23.1 ²⁾	45.45	
DDP 1 mg·kg ⁻¹ +AP 10 mg·kg ⁻¹ 组	158.22±30.1 ¹⁾²⁾	49.34	0.861
DDP 1 mg·kg ⁻¹ +AP 30 mg·kg ⁻¹ 组	54.32±7.42 ¹⁾²⁾	82.61	1.204

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.01$; 与DDP 1 mg·kg⁻¹组相比, ²⁾ $P<0.05$
 Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with DDP 1 mg·kg⁻¹group, ²⁾ $P<0.05$

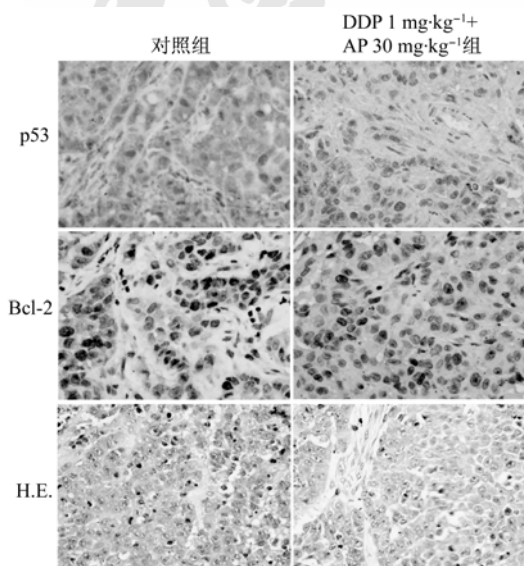


图 2 免疫组织化学法检测p53和bcl-2的表达

Fig 2 Immunohistochemical result of p53 and bcl-2 expressions in different groups

表 2 各组裸鼠移植瘤内p53和bcl-2的表达量($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Expressions of p53 and bcl-2 by immunohistochemical in the transplant tumors in each group($\bar{x} \pm s$)

分组	IOD	
	p53	bcl-2
对照组	55 578.64±9 742.39	38 520.42±4 017.13
AP 10 mg·kg ⁻¹ 组	49 836.25±9 412.13	31 469.29±4 623.04
AP 30 mg·kg ⁻¹ 组	43 125.22±4 916.96 ¹⁾	29 518.33±3 682.61 ¹⁾
DDP 1 mg·kg ⁻¹ +AP 10 mg·kg ⁻¹ 组	22 947.03±1 212.46 ²⁾	11 571.78±1 832.13 ²⁾
DDP 1 mg·kg ⁻¹ +AP 30 mg·kg ⁻¹ 组	20 275.16±1 187.58 ²⁾	7 243.65±1 136.22 ²⁾

注: 与对照组相比, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$
 Note: Compared with control group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$

2.5.2 Western blot 检测 未经处理的 A549 细胞 p53 和 bcl-2 蛋白表达水平较高, AP 单用及联合 DDP 应用后, p53 和 bcl-2 蛋白表达均减弱, 灰度值扫描显示差异显著($P<0.01$), 见图 3。

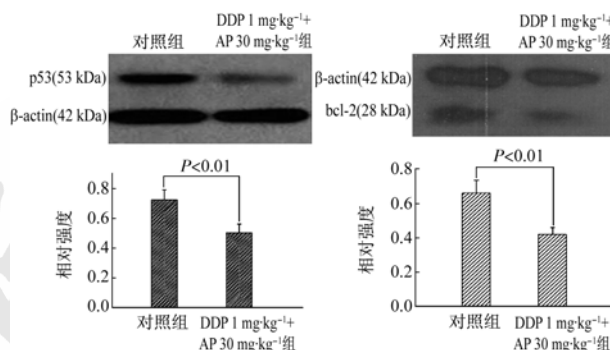


图 3 Western blot检测p53和bcl-2的表达

Fig 3 Western blot result of p53 and bcl-2 expressions

3 讨论

非小细胞肺癌是一种常见恶性肿瘤, 对化疗、放疗的敏感性差, 寻找有效的治疗方法是当前非小细胞肺癌治疗亟需解决的问题。铂类药物是肺癌联合化疗方案中最常用的药物, 其中 DDP 在联合化疗方案中占据着重要地位。然而 DDP 的毒副作用和耐药性是化疗方案发挥作用的主要障碍。近年来国内外研究发现 AP 可增强肿瘤细胞对化疗的敏感性^[2, 5, 9-10]。本实验研究结果显示: 各实验组对移植瘤肿瘤细胞的生长有一定的抑制作用, 而联合用药组抑瘤作用明显增强($P<0.01$)。DDP 低剂量组+ AP 高剂量组 Q 值大于 1.15, 说明两药物联合应用有确切增效作用, 而 DDP 低剂量组+ AP 低剂量组 Q 值等于 0.861, 说明二药合用有相加作用, 表明两者联合应用的效果跟 AP 的剂量有关, 这对指导临床用药有一定的参考价值。本实验过程中, 观察到高剂量单用 DDP 组有不良反应, 与大剂量 DDP 的不良反应相关, 这也与临

床上应用 DDP 不良反应大、病人难以耐受相吻合。而其余组裸鼠均未出现明显不良反应,表明两药物联合应用,并未增加其毒副作用。

p53 是一个抑癌基因,它在调控细胞的生长增殖、运动性和凋亡的过程中都扮演了一个相当重要的角色。野生型 p53 蛋白能抑制细胞转化,突变型 p53 蛋白则促进细胞转化和肿瘤增殖。研究发现,人肺腺癌细胞株中突变型 p53 呈强阳性表达^[11]。Duarte 等采 siRNA 技术发现缺乏 p53 的人肺腺癌 A549 细胞对 cisplatin 的作用比较敏感,其存活率相较于正常 A549 细胞明显降低,表明 DDP 对 p53 RNAi/A549 的细胞毒性比较强^[12-13]。bcl-2 基因有很强的抑制细胞凋亡作用^[14],能抑制多种细胞的凋亡,有助于肿瘤生长。bcl-2 的过度表达出现在许多实体肿瘤中,如鼻咽癌、前列腺癌、乳腺癌、非小细胞肺癌等^[15-18]。抑制 bcl-2 的表达同样能增强 A549 细胞对 DDP 的敏感性,抑制 A549 细胞的增殖并诱导其凋亡^[19-20]。同时,p53 也能够通过调节 bcl-2 的表达来影响肿瘤细胞对化疗药物的敏感性^[21]。

本实验通过免疫组化和 Western blot 技术证实 p53 在人肺腺癌裸鼠移植瘤中呈现高表达,低、高剂量 AP 组和联合用药组较对照组比较,p53 和 bcl-2 的表达均呈现下调。低、高剂量 AP 与低剂量 DDP 组合后,该调节作用较单独使用组明显增强。表明 AP 与 DDP 联合应用具有协同增效作用,其机制可能是 AP 通过多种途径下调 p53 与 bcl-2 的表达,促进肿瘤细胞发生凋亡,即增强了肿瘤细胞对 DDP 的敏感性,提示 AP 有望成为一种非小细胞肺癌治疗的化疗增敏剂,但其在肿瘤中的作用及对化疗药物的增敏机制有待于进一步探讨。

REFERENCES

- [1] LIU Y P, LUO W, XIA H, et al. Aloe gel prevents and cures doxorubicin-induced extravasation injury in rats by up-regulating expression of bFGF and down-regulating expression of ICAM-1 [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2010, 27(4): 294-299.
- [2] HUANG C F. Effects of barbaloin pretreatment on myocardial cell apoptosis, the contents of TNF- α and activity of Ca²⁺-ATPase in rats with ischemia reperfusion [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2009, 26(10): 795-797.
- [3] WEI L Y, ZHANG J, HOU H F. Experimental study of antitumor function of Aloe polysaccharid [J]. Chin Foreign Med Treat(中外医疗), 2008, 27(23): 69-69.
- [4] XING H H, ZHU K J. Study progress on chemistry and pharmacology of Aloe polysaccharide [J]. Med Recap(医学综述), 2009, 15(24): 3782-3785.
- [5] LI M M, SHENG Y H, JIN X L, et al. Antitumor effects of Aloe polysaccharide from *A. barbadensis* and *A. arborescens* *in vivo* [J]. J Qiqihar Med Coll(齐齐哈尔医学院学报), 2009, 30(21): 2617-2618.
- [6] WANG Z W, HUANG Z S, LUO X S, et al. Modulation of Aloe polysaccharides on X-ray irradiated non malignant cells in apoptosis and apoptotic regulating protein expression [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2004, 20(5): 544-549.
- [7] WANG J S, WANG S M, CHEN G R, et al. Synergistic cytotoxic effect of immunotoxin HEL-PE38KDEL and cisplatin against tumor cells [J]. Ai Zheng(癌症), 2002, 21(4): 360-363.
- [8] HUANG J, YANG A P, JIANG G S. Study on extraction of polysaccharide from Chinese Aloe [J]. Res Pract Chin Med(现代中药研究与实践), 2004, 18(2): 58-59.
- [9] MA H W, WANG Z W, WU Q G. The influence of Aloe polysaccharide on tumor cell production cycle [J]. J Med Forum(医药论坛杂志), 2006, 27(1): 37-40.
- [10] MIAO L C, WANG L Q, LI L Q, et al. Study the effect of Aloe Jelly on the immunity and antineoplasm of mice [J]. Pharm J Chin PLA(解放军药学报), 2003, 18(2): 87-89.
- [11] ZHANG H S, WU Q Y, ZHANG Y, et al. The expression and significance of p53 and MGMT gene in NNK transformed human bronchial epithelial cells [J]. Shandong Med J(山东医药), 2009, (37): 25-26.
- [12] DUARTE M L, DE MORAES E, PONTES E, et al. Role of p53 in the induction of cyclooxygenase-2 by cisplatin or paclitaxel in non-small cell lung cancer cell lines [J]. Cancer Lett, 2009, 279(1): 57-64.
- [13] LAI J C, CHENG Y W, GOAN Y G, et al. Promoter methylation of *O*(6)-methylguanine-DNA-methyltransferase in lung cancer is regulated by p53 [J]. DNA Repair(Amst), 2008, 7(8): 1352-1363.
- [14] QI J, YANG S Q, LIU S Z. Effects of tetrodotoxin cardioplegia on cardiomyocyte apoptosis and related protein expression in rat hearts [J]. Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学), 2009, 26(3): 193-197.
- [15] NIEMHOM S, KITAZAWA S, MURAO S, et al. Co-expression of p53 and bcl-2 may correlate to the presence of epstein-barr virus genome and the expression of proliferating cell nuclear antigen in nasopharyngeal carcinoma [J]. Cancer Lett, 2000, 160(2): 199-208.
- [16] DIPAOLO RS, AISNER J. Overcoming bcl-2- and p53-mediated resistance in prostate cancer [J]. Semin Oncol, 1999, 26(1 Suppl 2): 112-116.
- [17] DAIDONE M G, LUISI A, VENERONI S, et al. Clinical studies of Bcl-2 and treatment benefit in breast cancer patients [J]. Endocr Relat Cancer, 1999, 6(1): 61-68.
- [18] GROSSI F, LOPREVITE M, CHIARAMONDI M, et al. Prognostic significance of K-ras, p53, bcl-2, PCNA, CD34 in radically resected non-small cell lung cancers [J]. Eur J Cancer, 2003, 39(9): 1242-1250.
- [19] ANDRIANI F, PEREGO P, CARENINI N, et al. Increased sensitivity to cisplatin in non-small cell lung cancer cell lines after FHIT gene transfer [J]. Neoplasia, 2006, 8(1): 9-17.
- [20] MOUNGJAROEN J, NIMMANNIT U, CALLERY P S, et al. Reactive oxygen species mediate caspase activation and apoptosis induced by lipoic acid in human lung epithelial cancer cells through Bcl-2 down-regulation [J]. J Pharmacol Exp Ther, 2006, 319(3): 1062-1069.
- [21] ESPOSITO F, TORNINCASA M, CHIEFFI P, et al. High-mobility group A1 proteins regulate p53-mediated transcription of Bcl-2 gene [J]. Cancer Res, 2010, 70(13): 5379-5388.

收稿日期: 2011-03-28