

pH 值, 然后在高压(103 425 kPa)下均化 2 次, 温度控制在 20 °C 左右, 即得成品乳。③对灭菌方法及工艺进行考察, 确定热压灭菌条件为: 121 °C, 15 min。

以上是通过 3 批小批量试验所获得的 TC-1 静脉脂肪乳制备的关键工艺及参数, 对工业化生产是否完全适合, 须通过中试放大予以验证^[12]。

REFERENCES

- [1] HUSSAR D A. New drugs: Clevidipine butyrate, difluprednate, and tetrabenazine [J]. *J Am Pharm Assoc*, 2008, 48(6): 815-821.
- [2] LESLIE J, BRISTER N, LEVY J H, et al. Treatment of postoperative hypertension after coronary artery bypass surgery. Double-blind comparison of intravenous isradipine and sodium nitroprusside [J]. *Circulation*, 1994, 90(5): 256-261.
- [3] BERGESE S D, PUENTE E G. Clevidipine butyrate: a promising new drug for the management of acute hypertension [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2010, 11(2): 281-295.
- [4] ARONSON S. Clevidipine in the treatment of perioperative hypertension: assessing safety events in the ECLIPSE trials [J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2009, 7(5): 465-472.

- [5] MIRTALLO J M, DASTA J F, KLEINSCHMIDT K C, et al. State of the art review: Intravenous fat emulsions: Current applications, safety profile, and clinical implications [J]. *Ann Pharmacother*, 2010, 44(4): 688-700.
- [6] ZHENG J M. Handbook of Pharmaceutical Excipients(药用辅料手册) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2005: 1263.
- [7] DAVIS S S, HANSRANI P K. The influence of emulsifying agents on the phagocytosis of lipid emulsions by macrophages [J]. *Int J Pharm*, 1985, 23(1): 69-77.
- [8] GYLLENHAAL O, KARLSSON A, VESSMAN J. Packed-column supercritical fluid chromatography for the purity analysis of clevidipine, a new dihydropyridine drug [J]. *J Chromatogr A*, 1999, 862(1): 95-104.
- [9] SCHULZ L T, ELDER E J J R, JONES K J, et al. Stability of sodium nitroprusside and sodium thiosulfate 1:10 intravenous admixture [J]. *Hosp Pharm*, 2010, 45(10): 779-784.
- [10] Ch.P(2010)Vol II (中国药典 2010 年版. 二部) [S]. 2010: Appendix 65-66.
- [11] LEVEEN H H, GIORDANO P, SPLETZER J. The mechanism of removal of i.v.injected fat [J]. *Arch Surgery*, 1961, 83: 169-179.
- [12] LAMMERHOFER M, GYLLENHAAL O, LINDNER W. HPLC enantiomer separation of a chiral 1,4-dihydropyridine monocarboxylic acid [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2004, 35(2): 259-266.

收稿日期: 2013-08-28

shRNA 沉默 STAT3 基因对结肠癌细胞增殖及顺铂敏感性的影响

王朝阳¹, 王莹², 丁丽宏¹, 周静^{3*} (1.内蒙古医科大学附属医院, 呼和浩特 010050; 2.内蒙古第一机械集团有限公司医院, 内蒙古包头 014030; 3.内蒙古医科大学, 呼和浩特 010010)

摘要:目的 构建携带信号转导与转录激活子 3(STAT3)基因的短发夹 RNA(shRNA)真核表达载体, 观察 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 重组质粒对 HCT116 细胞顺铂化疗敏感性的影响。方法 设计并构建稳定转录 shRNA STAT3 的质粒, 采用脂质体法转染结肠癌 HCT116 细胞, Western blot 法检测转染后 STAT3 蛋白表达变化, MTT 法检测细胞增殖变化。重组质粒联合顺铂作用于 HCT116 细胞后, MTT 法检测细胞存活率。结果 成功构建了 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 重组质粒, 测序证实重组质粒构建正确。重组质粒转染 HCT116 细胞后, 细胞增殖明显受抑制, STAT3 蛋白表达降低。重组质粒联合顺铂治疗后, 细胞增殖活性显著降低。结论 shRNA STAT3 重组质粒能明显降低 HCT116 细胞中 STAT3 蛋白的表达, 抑制细胞增殖, 提高结肠癌细胞对顺铂的敏感性。

关键词: 信号转导与转录激活子 3; RNA 干扰; 结肠癌; 顺铂

中图分类号: R963

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)12-1276-05

Effects of STAT3 Gene Silencing by ShRNA on Colon Carcinoma Cells and Chemotherapy Sensitivity to Cisplatin

WANG Zhaoyang¹, WANG Ying², DING Lihong¹, ZHOU Jing^{3*} (1.Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010050, China; 2.The Hospital of the First Machinery Group, Inner Mongolia Autonomous Region, Baotou 014030, China; 3.Inner Mongolia Medical College, Hohhot 010010, China)

基金项目: 内蒙古医学院青年创新基金(NY2010QN008, NY2011QN026)

作者简介: 王朝阳, 男, 博士, 副主任医师 Tel: 13947104160 E-mail: wzydoc@163.com *通信作者: 周静, 女, 博士, 副教授 Tel: (0471)6557564 E-mail: nmzhoujing2004@sina.com

ABSTRACT: OBJECTIVE To construct eukaryotic expression vectors of short hairpin RNA(shRNA) of STAT3 gene and investigate the effect of shRNA STAT3 on chemotherapy sensitivity of HCT116 cells to cisplatin. **METHODS** Plasmids carrying shRNA targeting STAT3 were designed constructed and transfected into HCT116 cells by liposome transfection methods. The expressing levels of STAT3 protein were detected by Western blot. Cell survival rate was observed with MTT. The role of plasmids in combination with cisplatin on the HCT116 cells was observe. The cell growth was assessed by MTT assay. **RESULTS** DNA sequence analysis demonstrated that the eukaryotic expression vector of pGPU6/GFP/Neo-STAT3 were constructed successfully. The recombinant plasmid was transfected into HCT116 cells, cell proliferation was obviously inhibited, reducing the expression of STAT3 protein. After plasmid and cisplatin combination treatment, cell survival rate was obviously decreased. **CONCLUSION** STAT3 shRNA plasmid could significantly down-regulate the expression of STAT3 protein in HCT116 cells, inhibit cell proliferation and improve the sensitivity to cisplatin. **KEY WORDS:** STAT3; RNA interference; colon carcinoma; cisplatin

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤，多数患者术后需要接受化疗药物治疗，而结肠癌对化疗药物属中、低度敏感，对其耐药机制的研究一直是治疗的热点和难点。肿瘤的基因治疗为解决肿瘤耐药问题和提高治疗效果带来了曙光，而寻找理想的靶基因是治疗的关键。信号转导与转录激活子 3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)是近年来研究异常活跃的转录因子，STAT3 激活是多种原癌基因诱导细胞癌变所必需的，通过持续性活化及过度表达来对抗细胞的正常凋亡机制，并对肿瘤的分化和进展起明显促进作用^[1]。结肠癌中存在 STAT3 基因的高表达，有学者研究发现肿瘤组织中 STAT3 高表达与顺铂耐药相关^[2]。本研究采取基因沉默策略，构建短发夹 RNA(shRNA) STAT3 的重组质粒，观察 shRNA STAT3 对结肠癌顺铂化疗后细胞增殖的抑制作用，探讨 shRNA STAT3 对结肠癌化疗敏感性的影响。

1 材料与方 法

1.1 材料

人结肠癌细胞株 HCT116 细胞(中山肿瘤细胞库); 质粒 pGPU6/GFP/Neo、大肠杆菌 DH5 α 均购自上海吉玛公司; Lipofectimane 2000 脂质体转染试剂盒(Invitrogen 公司, 批号: 1140464); 质粒小量抽提试剂盒(Qiagen 公司, 批号: 125019192); STAT3 单克隆抗体(Abcam 公司); 各种工具酶购自 Fermentas 公司; H-DMEM 和胎牛血清(Gibco 公司)。

1.2 方法

1.2.1 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 重组质粒的构建和鉴定 根据 GenBank 提供的人类 STAT3 mRNA 序列(Gene ID: 6774)和 shRNA 的设计原则, 设计合成含 STAT3 的 2 条反向重复多核苷酸序列及 1 条与现有基因文库中所有人源基因均无同源性的非特异性序列为阴性对照序列。shRNA 模版的正义、

反义序列分别为 5'-CACCGCAGCAGCTGAACAA CATGTTCAAGAGACATGTTGTTTCAGCTGCTGC TTTTTTG-3'和 5'-GATCCAAAAAAGCAGCAGCT GAACAACATGTCTCTTGAACATGTTGTTTCAGC TGCTGC-3'; loop 结构选用 TTCAAGA GA, shRNA 的转录终止序列采用 T6 结构, 列两端插入 *Bbs* I 和 *Bam*H I 酶切位点。将合成好的互补 DNA 单链退火形成双链, 与经 *Bbs* I 和 *Bam*H I 酶切的 pGPU6/GFP/Neo 载体连接后转化感受态大肠杆菌 DH5 α , 挑选氨苄青霉素阳性克隆, 应用载体上通用的引物进行 PCR 扩增插入片断, 鉴定阳性克隆, 重组质粒 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 的酶切鉴定送上海英俊生物有限公司测序。

1.2.2 细胞的培养、转染 HCT116 细胞在 10%胎牛血清的 DMEM 培养液中, 37 °C、5% CO₂ 条件下培养。实验分为 3 组: 空白对照组、阴性对照质粒组、shRNA STAT3 重组质粒组。取对数生长期的 HCT116 细胞以 4 \times 10⁵ 个每孔接种于 96 孔板, 待细胞融合到 80%时, 用 Lipofectimane 2000 试剂 10 μ L 转染重组质粒 4 μ g, 转染 6 h 后更换无双抗的 10%胎牛血清的 DMEM 培养液继续培养 48 h。在激发波长为 488 nm、发射波长为 507 nm 的荧光显微镜下观察转染后 HCT116 细胞的荧光表达情况。

1.2.3 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 重组质粒对 HCT116 细胞增殖的影响 通过以上步骤, 筛选出最佳 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 重组质粒。取对数生长期 HCT116 细胞, 调整细胞浓度以 8 \times 10³ 个每孔接种于 96 孔板中, 分为 3 组, 分别为空白对照组、阴性对照质粒组、shRNA STAT3 重组质粒组。分别于 12, 24, 36, 48, 72 h 加入浓度为 5 g \cdot L⁻¹ 的 MTT 20 μ L, 4 h 后加入 DMSO 100 μ L, 振荡 10 min 后用酶标仪测定各孔吸光度(A₅₇₀), 计算细胞的生长抑制率。

1.2.4 Western blot 法检测 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 对 HCT116 细胞 STAT3 表达的影响 细胞转染 72 h 后, 收集细胞提取蛋白, 使用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。以 0.1% DMSO 处理的样品为溶剂对照组, 以 β -actin 蛋白为内参照, 样品经 SDS-PAGE 电泳分离转移至硝酸纤维素膜, 室温下封闭 2 h, 加入 STAT3 和 β -actin 抗体(1:1 000), 4 °C 过夜, 洗膜后加入二抗(1:5 000)40 min, 化学荧光法 (ECL) 显色, 放入 KODAK Image Station 2000MM Digital Imaging System, 曝光获取图像, Banksan 软件分析灰度值, 比较各组蛋白表达量。

1.2.5 MTT 法观察 HCT116 细胞对顺铂敏感性的变化 取对数生长期 HCT116 细胞, 调整细胞浓度以 8×10^3 个每孔接种于 96 孔板中, 分组同“1.2.3”项下方法, 均加入顺铂。顺铂的试验浓度参考其血浆峰浓度为 $3.0 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。分别于 12,

24, 36, 48, 72 h 加入浓度为 $5 \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 MTT $20 \mu\text{L}$, 4 h 后加入 DMSO $100 \mu\text{L}$, 振荡 10 min 后用酶标仪测定各孔吸光度(A_{570}), 计算细胞的生长抑制率。

1.2.6 统计学处理 应用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析, 计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 重组质粒的鉴定

挑选单克隆菌株, 接种到含 $50 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 氨苄青霉素的 LB 培养液中, 振荡过夜, 使用碱裂解法抽提质粒, 所得质粒用 *Bam*H I、*Pst* I 分别酶切鉴定。阳性重组载体可以被 *Bam*H I 切开, 而不能被 *Pst* I 切开。重组质粒 shRNA 编码序列与设计的靶向 STAT3 序列的核苷酸序列完全一致, 表明成功构建了重组载体 pGPU6/GFP/Neo-STAT3, 结果见图 1。

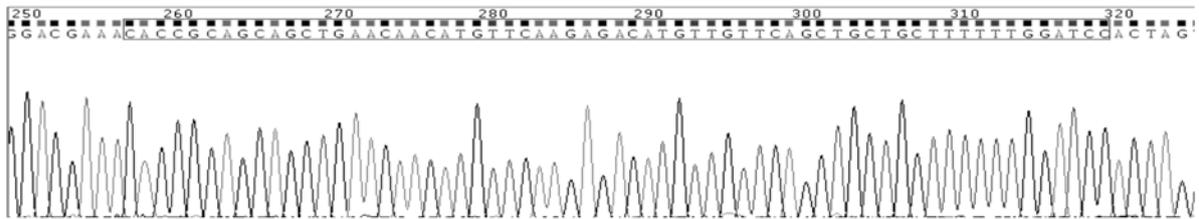


图 1 重组 STAT3-ShRNA 质粒测序图

Fig 1 Gene sequence map of STATE3-shRNA recombinant plasmid

2.2 各组细胞 pGPU6/GFP/Neo 的表达

在同等细胞密度下, 阴性对照质粒组和 shRNA STAT3 重组质粒组均有较多细胞表达绿色荧光, 转染率达 90% 以上, 空白对照组无荧光表达, 结果见图 2。

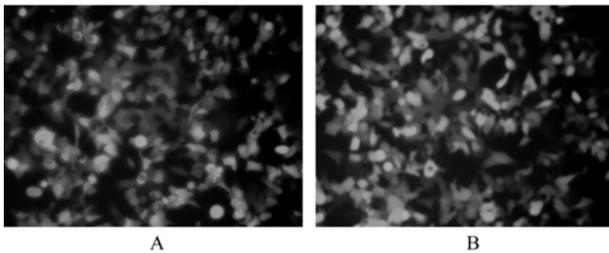


图 2 质粒转染 HCT116 细胞荧光图(100×)

A-阴性对照质粒组; B-shRNA STAT3 重组质粒组

Fig 2 GFP expression in HCT116 cells after transfection with shRNA STAT3 recombinant plasmid(100×)

A-negative plasmid group; B-shRNA STAT3 recombinant plasmid group

2.3 shRNA STAT3 重组质粒对 HCT116 细胞增殖的影响

MTT 结果显示, shRNA STAT3 重组质粒作用

于 HCT116 细胞, 随时间延长, 细胞的增殖活性逐渐下降, 72 h 下降最明显, 细胞生长抑制率达 38.51%, 与空白对照组和阴性对照质粒组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。空白对照组和阴性对照质粒组差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果见图 3。

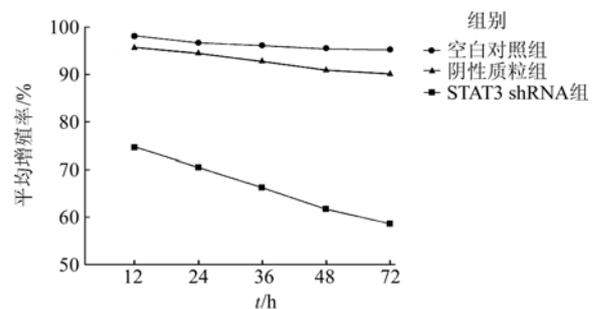


图 3 shRNA STAT3 对细胞增殖活性的影响

Fig 3 The effect of shRNA STAT3 on cell proliferation

2.4 各组细胞 STAT3 表达

STAT3 蛋白表达情况见图 4。结果显示, 重组质粒转染组 STAT3 蛋白表达明显减弱(0.257 ± 0.024), 与空白对照组(0.698 ± 0.023)和阴性质粒转

染组 (0.681 ± 0.022) 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

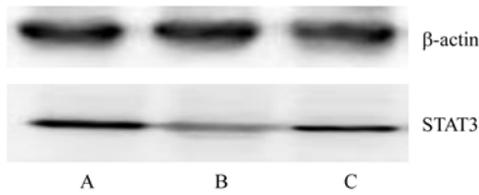


图4 STAT3 蛋白表达

A-空白对照组; B-shRNA STAT3 重组质粒组; C-阴性对照质粒组

Fig 4 Protein expression of STAT3

A-control group; B-negative plasmid group; C-shRNA STAT3 recombinant plasmid group

2.5 转染后细胞对顺铂敏感性的变化

MTT 结果显示, 顺铂作用于 HCT116 细胞, 随时间延长, 空白对照组和阴性对照质粒组细胞存活率逐渐下降, 尤其顺铂和重组质粒转染联合治疗组下降最明显, 与前 2 组比较差异均具有统计学意义 ($P < 0.01$)。结果见图 5。

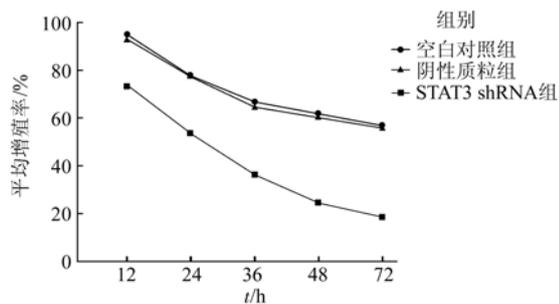


图5 shRNA STAT3 联合顺铂对细胞增殖活性的影响

Fig 5 The effect of shRNA STAT3 and cisplatin on cell proliferation

3 讨论

STAT3 属于信号转导与转录激活子家族, 是一种已知的有致癌潜能的转录因子。最近研究证实, 活化的 STAT3 可作为治疗恶性肿瘤的新型分子靶点^[3]。当细胞接受细胞外信号如白介素-6 (IL-6)、表皮生长因子(EGF)、干扰素(IFN)等细胞因子和生长因子刺激后, STAT3 的酪氨酸磷酸化激活形成二聚体, 二聚体进入细胞核内上调靶基因的转录和表达, 包括增殖相关基因 cyclin D1、Survivin、C-Myc、C-fos 等的表达, 凋亡调控基因 Bcl-x1、Bcl-2 的表达, 及血管生长基因(VEGF)的表达, 导致细胞异常增殖和恶性转化、凋亡抑制、促进肿瘤血管生成。STAT3 激活是多种原癌基因诱导细胞癌变所必需的, 目前将其定义为癌基因^[4-5]。尽管 STAT3 在正常细胞的发育过程起重要作用,

但其信号通路激活快, 持续时间短, 对于成熟的细胞功能来说, 其作用不是必需的。在许多恶性肿瘤组织中如结肠癌、乳癌、肝癌、前列腺癌、头颈部鳞状细胞癌等 STAT3 呈现持续激活和高表达, 而且与肿瘤的恶性程度和预后密切相关^[6-7]。研究发现 STAT3 诱导细胞周期及凋亡相关基因的表达与肿瘤耐药有关, STAT3 活化后促进 c-myc 基因的转录, c-myc 激活 Cyclin A、Cyclin D、Cyclin E、CDK4、E2F 等细胞周期调节因子, 促进细胞由静止期进入细胞周期^[8]; STAT3 与 FAS-L (死亡受体)结合, 降低肿瘤细胞对 FAS-L 介导凋亡的敏感性, 协助肿瘤细胞逃避化疗药的作用^[2]。STAT3 密切参与肿瘤的形成及肿瘤耐药性的产生, 使其可能成为诱导肿瘤细胞死亡和提高化疗药敏感性的新靶点, 但目前尚缺乏 STAT3 特异性的抑制剂。

RNA 干扰技术(RNA interference, RNAi)为肿瘤的基因治疗提供了一种特异性的新策略, 将序列特异性的双链 RNA 寡核苷酸导入细胞内沉默同源 mRNA 的表达, 而其他 mRNA 表达不受影响。RNAi 可以特异性剔除或关闭特定基因的表达, 已被广泛用于恶性肿瘤的基因治疗领域^[3]。shRNA 是 RNAi 的一种, 具有转染效率高、特异性强, 能维持较长时间的基因沉默的特点, 已成为 RNAi 的主要手段^[9]。本实验构建 shRNA 模型真核表达载体干扰 STAT3 基因的表达, 观察其对入结肠癌细胞的生长抑制作用及顺铂敏感性的影响。

实验成功构建了 shRNA STAT3 的重组质粒, 转染人结肠癌 HCT116 细胞后, STAT3 蛋白表达明显受抑制, 并随培养时间的延长, 细胞的生长抑制率逐渐升高, 转染 72 h 后抑制率达 38.51%, 证实 pGPU6/GFP/Neo-STAT3 质粒能够成功沉默结肠癌 STAT3 基因, STAT3 信号通路对人结肠癌细胞的生长有重要的作用, 阻断 STAT3 通路可以抑制人结肠癌细胞的生长。顺铂通过破坏肿瘤细胞 DNA 的结构和功能促进细胞凋亡产生抗肿瘤效应, 而顺铂的耐药性可能与凋亡机制紊乱有关。本实验将 shRNA STAT3 重组质粒转染 HCT116 细胞后与顺铂联合作用, 结果发现, 对 HCT116 细胞的生长和增殖的抑制作用明显强于重组质粒转染组和顺铂单独治疗组。证明沉默 STAT3 能提高结肠癌细胞对顺铂的敏感性, 抑制细胞增殖, 产生协同作用。本实验利用 shRNA 技术沉默 STAT3

基因联合顺铂治疗为探索提高结肠癌细胞对化疗药的敏感性提供了实验依据。尽管以 STAT3 为靶点的基因治疗在肿瘤研究中有其优越性,但目前的研究仍停留在细胞学水平,而如何拓展到动物学水平,提高转染效率,优化特异性,探索高效导入肿瘤细胞同时不影响正常细胞的方法,还有待进一步的动物研究。

REFERENCES

- [1] GIRAUD A S, MENHENIOTT T R, JUDD L M. Targeting STAT3 in gastric cancer [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2012, 16(9): 889-901.
- [2] KUNIGAL S, LAKKA S S, SODADASU P K, et al. STAT3-siRNA induces Fas-mediated apoptosis *in vitro* and *in vivo* in breast cancer [J]. *Int J Oncol*, 2003, 4(5): 1209-1220.
- [3] RAMACHANDRAN P V, IGNACIMUTHU S. RNA interference as a plausible anticancer therapeutic tool [J]. *Asian Pac J*

- Cancer Prev*, 2012, 13(6): 2445-2452.
- [4] SANSONE P, BROMBERG J. Targeting the interleukin-6/Jak/stat pathway in human malignancies [J]. *Clin Oncol*, 2012, 30(9): 1005-1014.
- [5] HAFTCHENARY S, AVADISIAN M, GUNNING P T. Inhibiting aberrant STAT3 function with molecular therapeutics: a progress report [J]. *Anticancer Drugs*, 2011, 22(2): 115-127.
- [6] PAGE B D, BALL D P, GUNNING P T. Signal transducer and activator of transcription 3 inhibitors: a patent review [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2011, 21(1): 65-83.
- [7] JOHNSTON P A, GRANDIS J R. STAT3 signaling: anticancer strategies and challenges [J]. *Mol Interv*, 2011, 11(1): 18-26.
- [8] MA X T. STAT3 signal transduction pathway and tumor resistance research [J]. *Cancer Res Prev Treat(肿瘤防治研究)*, 2011, 38(4): 474-476.
- [9] HUANG C, YANG G, JIANG T, et al. Down-regulation of STAT3 expression by vector-based small interfering RNA inhibits pancreatic cancer growth [J]. *World J Gastroenterol*, 2011, 17(25): 2992-3001.

收稿日期: 2013-03-14

辐射增敏剂 Wortmannin 促进组蛋白去乙酰化酶抑制剂诱导的 MOLT-4 细胞凋亡

楼炜¹, 刘斌², 宋宜^{2*} (1.浙江中医药大学附属第三医院, 杭州 310005; 2.军事医学科学院放射与辐射医学研究所, 北京 100850)

摘要:目的 探讨选择性磷脂酰肌醇激酶相关蛋白激酶家族(PIKKs)的小分子抑制剂 Wortmannin 对组蛋白去乙酰化酶抑制剂(HDIs)诱导的细胞凋亡的影响,并探讨 DNA 损伤功能信号级联在 HDIs 类药物抗肿瘤效应中的功能机制。方法 流式细胞术分析加药后不同时间点的细胞周期分布和细胞凋亡情况;荧光显微镜下观察用药后的细胞核形态;免疫印迹法检测加药前后 Caspase-2, Caspase-3, Caspase-7 和 Survivin 蛋白表达情况。结果 低剂量 Wortmannin 单独作用对肿瘤细胞生存率未见显著影响,但能够激活 G₁/S 细胞周期阻滞、抑制 TSA 引发的 G₂/M 阻滞、并显著促进肿瘤细胞凋亡。在此过程中, Wortmannin 促进凋亡效应分子 Caspase-2, Caspase-3 和 Caspase-7 的激活并抑制 Survivin 的表达。结论 PIKKs 家族的小分子抑制剂 Wortmannin 通过下调 Survivin 并促进 Caspase 信号级联而促进 TSA 诱导的肿瘤细胞凋亡。

关键词: Wortmannin; 组蛋白去乙酰化酶抑制剂; 曲古抑菌素 A; 肿瘤; 凋亡

中图分类号: R963 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2013)12-1280-06

Wortmannin Enhances Trichostatin A-Induced Tumor Cells Apoptosis Through Downregulation of Survivin and Acceleration of Caspase-cascades

LOU Wei¹, LIU Bin², SONG Yi^{2*} (1.The Third Affiliated Hospital of the Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310005, China; 2.Beijing Institute of Radiation Medicine, Beijing 100850, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the interaction between Wortmannin, a selective inhibitor of PIKKs, and TSA, to explore the role of DNA damage signals in HDIs induced tumor cell death. **METHODS** The cell cycle distribution and cell apoptosis were detected by flow cytometry. The expression level of Caspase-2, 3, 7 and Survivin were determined by Western

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30572145, 30970683); 医院科研基金资助项目(ZS11ZA04)

作者简介: 楼炜,男,副主任药师 Tel: (0571)88393509 E-mail: louyfl12@163.com *通信作者: 宋宜,女,博士,副研究员 Tel: (010)66931218 E-mail: songyibj@sina.com