

胃癌 SGC7901 表柔比星耐药细胞亚系的建立与耐药机制研究*

蔡习强¹ 张 翠² 尹 芳¹ 陈蕊蕊¹ 聂勇战^{1△}

(1 第四军医大学西京消化病医院 陕西 西安 710032 2 延安大学附属医院消化内科 陕西 延安 716000)

摘要 目的:建立人胃癌 SGC7901 表柔比星耐药细胞系,探讨其对表柔比星的耐药机制。方法:采用逐步增加表柔比星浓度,间歇作用体外诱导法,建立人胃癌 SGC7901 表柔比星耐药细胞亚系 SGC7901/EPI。用 MTT 法测定药物敏感性,流式细胞仪检测其药物排除能力和凋亡抵抗能力等生物学指标的改变,western blot 检测相关蛋白的表达。结果:经过 12 个月建成人胃癌 SGC7901 表柔比星耐药细胞系 SGC7901/EPI,其对表柔比星明显耐药,且对其他多种抗癌药具有不同程度的交叉耐药性,阿霉素蓄积滞留实验显示 SGC7901/EPI 的阿霉素含量明显低于亲本细胞,Western blot 显示 MRP1 的表达上调;SGC7901/EPI 凋亡抵抗能力明显上升,Bcl-2 表达比亲本细胞增高,而 Bax 的表达下调。结论:SGC7901/EPI 细胞具有多药耐药表型,其可能通过 MRP1 的上调增加药物排出和上调 Bcl-2/Bax 的比值促进凋亡抵抗等机制产生耐药。该胃癌多药耐药细胞亚系为进一步研究胃癌耐药机制及逆转方法奠定基础。

关键词:胃癌;多药耐药;表柔比星

中图分类号 R735.2 文献标识码 A 文章编号:1673-6273(2012)14-2658-05

The Mechanisms of Drug Resistance in Newly Established Epirubicin-Resistant Gastric Cancer Cell Line*

CAI Xi-qiang¹, ZHANG Cui², YIN Fang¹, CHEN Rui-rui¹, NIE Yong-zhan^{1△}

(1 Xijing Hospital of Digestive Diseases, Fourth Military Medical University, Xi'an, 710032, China;

2 Digestive department, Medical College of Yan'an University, Yan'an, 716000, China)

ABSTRACT Objective: To establish the drug resistant cell model of gastric cancer and investigate the potential mechanisms of epirubicin drug resistance. **Methods:** Epirubicin-resistant cell line (SGC7901/EPI) was established by increasing dose of epirubicin. Drug sensitivity of the cell line was measured by in vitro MTT assay. Cell based assays for drug transportation and apoptosis were carried out. The expression levels of MRP1, Bcl-2, Bax were detected using western blot. **Results:** Significant difference was found in drug resistance between parent gastric cancer cell line SGC7901 and drug resistant subline 7901/EPI. Compared with SGC7901 cells, 7901/EPI showed not only increased drug resistance, but also decreased drug sensitivity to other drugs. Increased drug transport was confirmed by the elevated expressions of MRP in 7901/EPI. Apoptosis rate of the SGC7901/EPI cell line was remarkably reduced due to increased expression of Bcl-2 and decreased Bax. **Conclusion:** Epirubicin resistant gastric cancer cell subline SGC7901/EPI was successfully established. The mechanisms of epirubicin may include elevated expression of MRP1 and increased Bcl-2/Bax ratio.

Key words: Gastric cancer; Multidrug resistance; Epirubicin

Chinese Library Classification(CLC): R735.2 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2012)14-2658-05

前言

胃癌是我国的主要恶性肿瘤之一,其在我国肿瘤相关死亡人数占 18%,是各类癌症死亡率的第三位^[1]。胃癌的治疗以手术为主,化疗为辅^[2]。化疗在胃癌治疗中有着重要作用,是中晚期胃癌、术后复发及转移的主要治疗方法之一。其中,胃癌多药耐药(multidrug resistance, MDR)现象是胃癌患者化疗失败的主要原因^[3,4]。因此,解决胃癌多药耐药问题是胃癌治疗的重点和难点。目前肿瘤耐药机制研究仍以细胞模型为主,建立一套

好的耐药细胞模型是研究多药耐药机制的基础。表柔比星是胃癌标准治疗 ECF 方案和新辅助化疗方案的主要药物之一^[5,6]。而目前尚未见文献报道胃癌耐表柔比星细胞亚系。我们通过长期药物诱导,构建了胃癌表柔比星耐药细胞亚系,并进行了相关的耐药生物学特性研究。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

RPML-1640 培养基由 Hyclone 公司,血清 Gibco 公司提

* 基金项目:国家自然科学基金项目 "MAD2 及其选择性剪切体 MAD2 β 在人胃癌干细胞中的表达及其对

胃癌干细胞耐药调控机制的研究(30973422)

作者简介:蔡习强(1983-),男,医学硕士,主要研究方向:胃癌多药耐药

Tel:13468720545, E-mail:caixiqiang@gmail.com

△通讯作者:聂勇战, E-mail: yongznjie@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2012-02-26 接受日期:2012-03-21)

供。胰蛋白酶由 Sigma 公司提供。表柔比星(批号 090803)、阿霉素(批号 110502)为浙江海正药业股份有限公司产品,顺铂(批号 102004CE)为齐鲁制药有限公司产品,5-氟尿嘧啶(5-FU)(批号 110907)为上海旭东海普药业有限公司产品,MTT(上海华舜生物工程有限公司);RIPA 裂解液(碧云天公司)。抗体:鼠抗人 β -actin 单克隆抗体购于 Sigma 公司,兔抗人 MRP 多克隆抗体购于 Santa Cruz 公司;Bcl-2、Bax 兔抗人多克隆抗体购于博尔森公司,HRP 标记的羊抗鼠 IgG、羊抗兔 IgG 购于中杉公司。Annexin V/PI 试剂盒购于 Merck 公司。

1.2 实验方法和步骤

1.2.1 细胞培养 人胃腺癌细胞系 SGC7901 引自军事医学科学院,由本实验室细胞库冻存。复苏人胃癌 SGC7901 细胞,细胞培养在含 10% Gibco 血清的 RPMI-1640 培养液中。用 0.25% 的胰蛋白酶消化细胞传代,每周传代 2-3 次,收集生长旺盛的细胞用于实验。

1.2.2 耐药细胞系的建立 选取生长旺盛的细胞 SGC7901 细胞培养在培养液中,从表柔比星在入血液中峰浓度的 1/10,即 4 ng/ml 作用浓度开始,逐步增加表柔比星浓度。2 天后弃去培养液,加入新鲜的培养液,继续培养 SGC7901 细胞。SGC7901 细胞恢复正常生长,再消化传代 SGC7901 细胞后,继续用 4

ng/ml 的药物浓度处理 SGC7901 细胞 2 天,继续反复换液处理、传代逐步提高表柔比星浓度诱导 SGC7901 细胞。最后获得一株能耐受 500 ng/ml 的 SGC7901 细胞亚系,命名为 7901/EPI。并且将 SGC7901/EPI 在含有 100 ng/ml 表柔比星的培养液中进行培养,维持其耐药特性。

1.2.3 MTT 法测定细胞的生长曲线和药物的 IC50 选取对数生长期的 SGC7901 和 7901/EPI 细胞,计数,稀释后取 1000 个细胞接种于 96 孔板中,每孔 200 μ l,每种细胞设 5 个复孔。每天取一块培养板,弃培养液,加入无血清培养液 180 μ l,每孔加入 MTT(5 g/L) 20 μ l,继续培养 4 h,弃培养液,加入 DMSO 液体 150 μ l,振荡 10 分钟,酶标仪测定 490 nm 光吸收值,以空白对照孔调零,以时间为横坐标,细胞抑制率为纵坐标,分别测定不同浓度的表柔比星对 SGC7901 细胞分别在不同时间的生长抑制率,绘制细胞生长抑制曲线。

测定 IC50 时,在 96 孔板内加入每孔 200 μ l 培养液,内含 5000 个 SGC7901 或 7901/EPI 细胞,过夜后更换为含倍比稀释成表 1 中的各种浓度的各种抗癌药物,设立空白对照组,对照组加入等体积的生理盐水,放置于孵箱中培养 72 h 后每孔加入 MTT(5g/L) 20 μ l,而后步骤同上。计算细胞生长抑制率和耐药指数。

表 1 用于计算 IC50 值的药物浓度设置(μ g/ml)

Table 1 Concentrations of different drugs used for calculating IC50 (μ g/ml)

Drugs	0.01 $\times$	0.1 $\times$	1 $\times$	10 $\times$	100 $\times$
EPI	0.001	0.01	0.1	1	10
5-FU	0.1	1	10	100	1000
CDDP	0.01	0.1	1	10	100

注: EPI 表柔比星, 5-FU 5-氟尿嘧啶, CDDP 顺铂

Note: EPI: epirubicin, 5-FU: 5-Fluoracil, CDDP: cisplatin

1.2.4 阿霉素蓄积与潴留 将每孔 10^5 个细胞接种入 6 孔板中;培养过夜后,每孔加入 ADR 至终浓度为 5 μ g/ml,继续培养 1h,收获细胞用于 ADR 蓄积的检测,或换无药培养液继续培养 1h 后再收获细胞用于 ADR 潴留的检测;以冷 PBS 洗涤细胞后,以未经阿霉素处理的细胞为阴性对照,用流式细胞仪检测细胞内的 ADR 平均荧光强度。根据如下公式,计算药物的泵出率:细胞药物泵出率=(阿霉素的蓄积量-阿霉素的潴留量)/阿霉素的蓄积量。

1.2.5 平板克隆、凋亡实验 Annexin V/PI 染色法检测化疗药物对耐药细胞及其亲本细胞凋亡的影响。收获对数生长期的 SGC7901 和 7901/EPI 细胞,接种于 6 孔板中,细胞贴壁后加入 EPI,剂量为 500 ng/ml,37 $^{\circ}$ C 培养 48 h,消化,计数,取 5×10^5 个细胞细胞/0.5 ml 加入 10 μ l 培养基结合试剂。加入 1.25 μ l 的 Annexin V-FITC 的细胞培养液中,室温避光反应 15 分钟,室温 1000 $\times$ g 离心 5 分钟,去除培养基。将细胞用 0.5 ml 1 $\times$ 结合缓冲液轻轻重悬。加入 10 μ l PI 染液,立即用流式细胞仪分析。按下列公式计算细胞的凋亡指数。细胞凋亡指数=(早期凋亡细胞数+晚期凋亡细胞数)/总细胞数 $\times$ 100%。平板克隆实验,计数 1000 个细胞接种与 10 cm 平皿中,加入或不加 20 ng/ml 14

天后弃去上清液, PBS 洗 2 次,加 4% 多聚甲醛固定 15 分钟。去固定液后加适量 GIMSA 应用染色液染 20 分钟,流水缓慢洗去染色液,干燥。

1.2.6 Western blotting 法检测耐药和凋亡相关蛋白表达 取对数生长期的 SGC7901 与 SGC7901/EPI 细胞,加入 RIPA 裂解液裂解细胞制备总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,取 30 μ g 总蛋白上样,行 SDS-PAGE 电泳,半干电转至 NC 膜,5% 脱脂奶粉室温封闭 1h 后,分别与 MRP1 抗体 (1:200)、Bcl-2 抗体(1:200)、Bax (1:200)4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,以 β -actin (1:2000) 为内参。TBST 漂洗 4 次,每次 5 min 后,再加辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h, TBST 漂洗 4 次,每次 5 min 后,化学发光法显影。

1.3 统计学分析

均数的比较采用 t 检验,率的比较采用 χ^2 检验,用 SPSS 13.0 统计软件进行数据处理并用 Graphpad Prism5 进行图片制作。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 7901/EPI 耐药细胞系的建立与耐药性鉴定

光镜下,SGC7901 呈圆形或方形,成簇贴壁生长,排列较为紧密。经过 12 个月的耐药诱导建立的 7901/EPI 细胞亚系,细胞形态发生明显改变,呈长梭形,且细胞排列较为松散,能在 100ng/ml 维持浓度的表柔比星中长期存活。与亲本细胞相比,

其生长曲线较低,提示其生长速率有所降低。在相同浓度的表柔比星作用下,其存活细胞的百分比大大高于亲本细胞,提示其对表柔比星耐药。

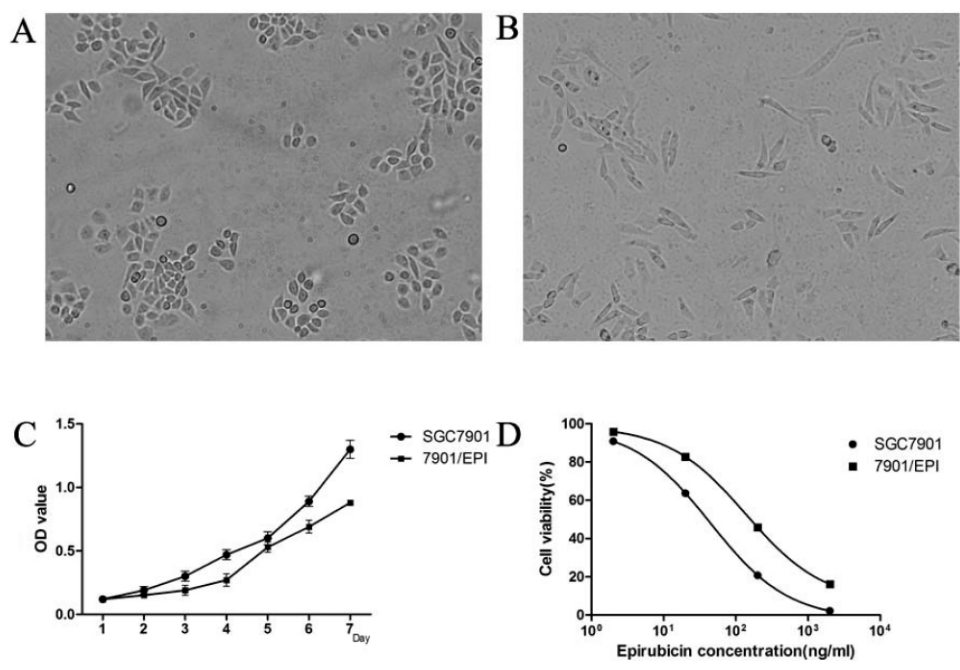


图 1 SGC7901 与 7901/EPI 的形态(200×)和生长情况

注:图中(A、B)是 SGC7901 和 7901/EPI 的形态;(C)是两者的生长曲线;(D)是两个者在不同浓度表柔比星作用下存活率

Fig.1 The morphology change (200×) and growth curve of SGC7901 and 7901/EPI

Note (A, B) morphology of SGC7901 and 7901/EPI, respectively; (C) growth curve of SGC7901 and 7901/EPI; (D) cell viability of SGC7901 and 7901/EPI exposed to different concentrations of epirubicin

我们进一步检测了 7901/EPI 对各种化疗药物的 IC₅₀ 值。表 1 中显示的是 7901/EPI 与其亲本细胞 SGC7901 的 3 次 IC₅₀ 统计情况。其中,亲本 SGC7901 细胞对表柔霉素的 IC₅₀ 为 0.05±0.015 μg/ml,而 7901/EPI 对表柔比星的 IC₅₀ 为

0.58±0.14,其耐药指数为 11.6。与亲本细胞相比,7901/EPI 细胞对表柔比星的敏感性降低,IC₅₀ 增大,且作用显著(P<0.01)。7901/EPI 对顺铂的耐药性增加 3.5 倍。而对 5-氟尿嘧啶的耐药性增加不明显。

表 2 SGC7901 与 7901/EPI 对常用化疗药物表柔比星、5-氟尿嘧啶、顺铂的 IC₅₀ 值(n=3)

Table 2 IC₅₀ of SGC7901 and 7901/EPI treated with different drugs(n=3)

Drugs	IC ₅₀ (μg/ml)		RI
	SGC7901	7901/EPI	
EPI	0.05±0.01	0.58±0.14	11.6
5FU	3.1±0.53	4.1±0.46	1.32
CDDP	0.90±0.32	3.15±0.51	3.50

注:EPI 表柔比星,5-FU 5-氟尿嘧啶,CDDP 顺铂;

Note:EPI epirubicin,5-FU 5-Fluoracil,CDDP cisplatin.

2.2 药物排出功能与相关蛋白检测结果

药物排出功能增强是肿瘤细胞耐药的重要机制之一,因此,我们用阿霉素蓄积和滞留实验检测 7901/EPI 与亲本细胞的药物排除功能差异。流式细胞仪检测阿霉素平均荧光强度,7901 的蓄积荧光强度为 3243±1290,滞留为 2511±

1001,7901/EPI 蓄积为 1643±737,滞留为 1398±637。由于荧光强度受细胞状态的影响较大。为了展示更简洁明了,我们将检测蓄积和滞留平均荧光强度以 7901 蓄积量的荧光强度为对照,设为 1,计算相对平均荧光强度。三次实验的结果如图 2 A 所示,7901 的滞留量(SGC-7901-R)较蓄积量(SGC-7901-A)改

变不大 ;7901/EPI 的蓄积量(7901/EPI -A)较蓄积量(7901/EPI -A)改变较大。而且 ,7901/EPI 的蓄积量和滞留量均比亲本细胞明显减少 ,SGC7901 的耐药指数 (Resistance Index ,RI)为 0.231 ± 0.017 ;7901/EPI 的 RI 为 0.376 ± 0.017 。两者具有统计

学差异($P < 0.05$)

多药耐药蛋白 1 (multidrug resistance associated protein 1 ,MRP1)是药物排除功能的主要相关蛋白之一 ,western-blot 显示 MRP 在 7901/EPI 细胞中明显上调。

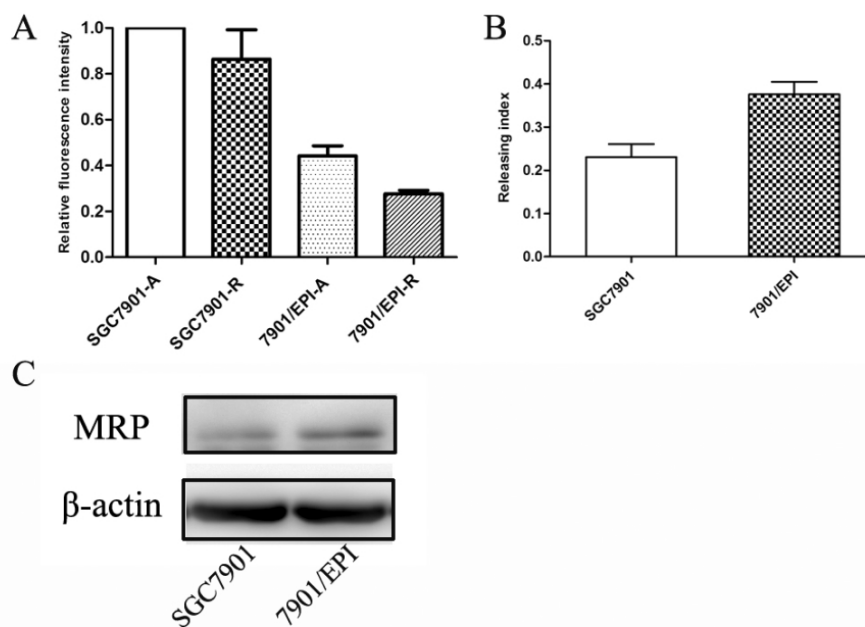


图2 SGC7901 与 7901/EPI 对 ADR 的蓄积和滞留及 MRP 表达情况

注 (A)中 SGC7901-A、SGC7901-R 分别为 SGC7901 的阿霉素蓄积量和滞留量; 7901/EPI-A、7901/EPI-R 分别为 7901/EPI 的阿霉素蓄积量和滞留量 (B)为 SGC7901 和 7901/EPI 的药物排出指数 (C)为 MRP1 的表达情况

Fig.2 ADR efflux function of SGC7901 and 7901/EPI is related with expression of MRP

Note (A) SGC7901-A, SGC7901-R is the accumulation and retention of doxorubicin in SGC7901, respectively; 7901/EPI-A, 7901/EPI-R is the accumulation and retention of doxorubicin in SGC7901, respectively (B) releasing index of 7901/EPI is much higher than parent SGC7901; (C) elevation of MRP1 in 7901/EPI

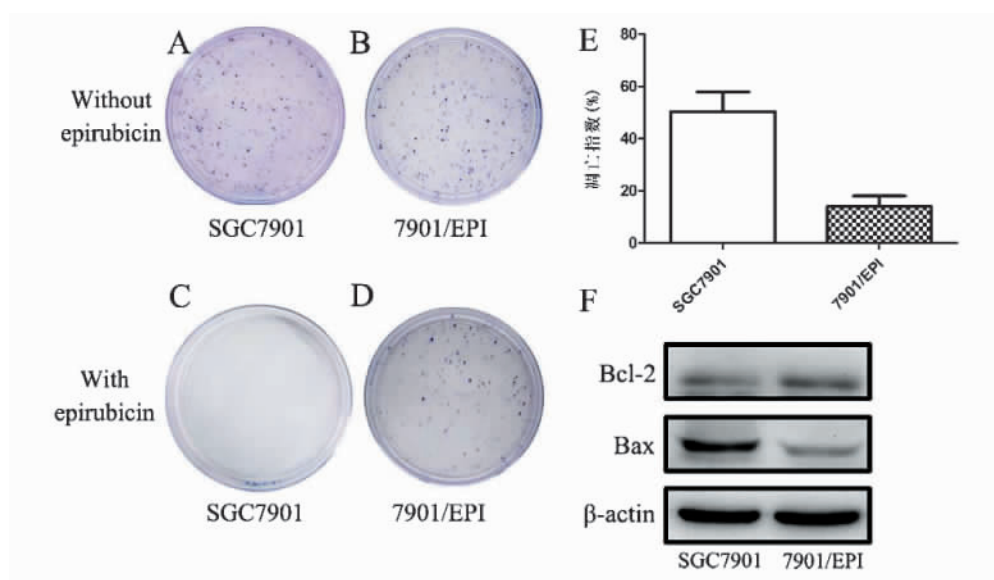


图3 SGC7901 与 7901/EPI 的凋亡相关检测

注 :SGC7901 和 7901/EPI 为不加表柔比星(A, B)或加入 20 ng/ml 表柔比星(C, D)培养 14 天后的克隆形成情况 (E)SGC7901 和 7901/EPI 的凋亡指数。(F)Bcl-2 在 7901/EPI 增高 ,而 Bax 表达下调

Fig.3 Apoptosis rate of SGC7901 and 7901/EPI correlated with upregulated Bcl-2 and decreased Bax

Note :Colony formation of SGC7901 and 7901/EPI without (A, B)or with (C, D)epirubicin; (E) Apoptosis index of 7901/EPI, $P < 0.05$ compared with the control group; (F) elevated Bcl-2 and decreased Bax expression in 7901/EPI

2.3 凋亡相关检测结果

克隆形成实验表明,在未加入表柔比星的普通培养液中,SGC7901与7901/EPI的克隆形成能力无明显差异。然而,在加入20 ng/ml表柔霉素的培养液中培养14天后,SGC7901几乎没有细胞克隆存活,而7901/EPI仍然能形成较多克隆。流式细胞仪凋亡检测结果显示,SGC7901的凋亡指数 50.33 ± 7.506 ,7901/EPI为 14 ± 4.0 ,两者的差异具有显著性($P < 0.05$)。Western-blot显示抗凋亡蛋白Bcl-2的蛋白水平在7901/EPI细胞中上调,而Bax则较亲本细胞表达下调。

3 讨论

多药耐药现象是临床上肿瘤患者化疗失败的主要原因^[4],随着蛋白质组学等高通量筛选技术的应用,肿瘤多药耐药的机制研究进入一个崭新的时代^[7]。然而,进行高通量筛选的基础是建立一个稳定可靠的模型^[9]。通过体外诱导耐药,大部分敏感细胞被化疗药物杀死,少数细胞由于细胞异质性存活下来并得以扩增,这些细胞通过长期药物诱导后的细胞在形态和生物学行为上可发生明显的改变^[8,9]。利用这种方法建立细胞模型是肿瘤耐药研究的主要方式之一。表柔比星在人体中的峰浓度约为40 ng/ml^[10]。在本研究中,7901/EPI可在大于这个峰浓度的100 ng/ml培养液中存活。与亲代细胞相比,7901/EPI细胞形态以梭形为主,耐药细胞生长速度减慢,具有多药耐药特性。有趣的是,不仅对表柔比星耐药,而且对不同作用机制的5-FU和CD-DP存在不同程度交叉耐药。这表明本研究建立了中度耐药的7901/EPI多药耐药细胞系,是研究表柔比星耐药机制及筛选逆转剂的理想模型。

MDR的发生是肿瘤细胞多种信号途径综合作用的结果,其形成机制非常复杂。其中,跨膜蛋白如MRP1等多药耐药相关蛋白,可以增加化疗药物的排出,减少化疗药物在胞内的蓄积,是肿瘤耐药产生的主要机制之一^[11]。MRP1属ABC转运蛋白超家族,可引起食管癌等多种肿瘤的多药耐药^[12]。我们实验室前期也发现MRP1上调可以促进表柔比星的耐药^[13]。本研究中,7901/EPI细胞对阿霉素的蓄积和滞留量都明显低于亲本细胞,耐药指数比亲本细胞高约2倍,提示药物转运蛋白可能参与药物的排出。我们用Western-Blot验证了MRP1在7901/EPI细胞中上调,参与了其多药耐药的形成。

其次,目前认为凋亡抵抗在多药耐药中也发挥着重要的作用^[14]。Bcl-2和Bax分别是Bcl-2家族中的抗凋亡和促凋亡蛋白。Bcl-2基因表达下调可以导致细胞凋亡,Bcl-2高表达可抑制细胞凋亡,且Bcl-2/Bax比值决定了细胞对凋亡因子的敏感性^[15]。有研究表明,Bcl-2与DNA修复的加速能够介导毛囊干细胞对DNA损伤剂诱导细胞死亡的抵抗作用^[16]。而表柔比星就是一种DNA损伤剂。Bcl-2在肿瘤耐药中也具有十分重要的作用,我们前期工作也发现,miR15b和miR16能够通过靶向Bcl-2提高胃癌细胞对化疗药物的敏感性^[17]。本研究显示7901/EPI细胞较SGC7901细胞Bcl-2表达升高,而Bax表达下降,提示抗凋亡蛋白Bcl-2及促凋亡蛋白Bax与7901/EPI细胞多药耐药性的产生有关。

本研究建立了胃癌耐表柔比星细胞系7901/EPI,并初步阐明了MRP1等药物排出蛋白和Bcl-2等凋亡相关蛋白的表达,可能参与其耐药机制。更重要的是,本研究的耐药细胞系为后

续研究提供了良好的耐药细胞模型,为下一步进行更为深入的耐药机制研究奠定了坚实的基础。胃癌的发生发展是一个多因素、多阶段、多步骤的过程,涉及到大量的分子参与和复杂的网络调控,如何通过高通量表达或功能筛选,找出其中的关键分子,并确定为胃癌高危预警、早期诊断和有效治疗的生物标志物,是后续实验需要解决的关键科学问题。

参考文献(References)

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90
- [2] Price TJ, Shapiro JD, Segelov E, et al. Management of advanced gastric cancer[J]. Expert Rev Gastroenterol Hepatol, 2012, 6(2): 199-209
- [3] Zhang D, Fan D. Multidrug resistance in gastric cancer: recent research advances and ongoing therapeutic challenges[J]. Expert Rev Anti-cancer Ther, 2007, 7(10): 1369-1378
- [4] Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA, et al. Targeting multidrug resistance in cancer[J]. Nat Rev Drug Discov, 2006, 5(3): 219-234
- [5] Yuan G, Regel I, Lian F, et al. WNT6 is a novel target gene of caveolin-1 promoting chemoresistance to epirubicin in human gastric cancer cells[J]. Oncogene, 2012. [Epub ahead of print]
- [6] Rivera F, Vega-Villegas ME, Lopez-Brea MF. Chemotherapy of advanced gastric cancer[J]. Cancer Treat Rev, 2007, 33(4): 315-324
- [7] Li X H, Li C, Xiao ZQ. Proteomics for identifying mechanisms and biomarkers of drug resistance in cancer[J]. J Proteomics, 2011, 74(12): 2642-2649
- [8] Chiodi I, Belgiovine C, Donà F, et al. Drug Treatment of Cancer Cell Lines: A Way to Select for Cancer Stem Cells?[J]. Cancers, 2011, 3(1): 1111-1128
- [9] Singh A, Settleman J. EMT, cancer stem cells and drug resistance: an emerging axis of evil in the war on cancer[J]. Oncogene, 2010, 29(34): 4741-4751
- [10] Plosker GL, Faulds D. Epirubicin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in cancer chemotherapy[J]. Drugs, 1993, 45(5): 788-856
- [11] Kamiyama N, Takagi S, Yamamoto C, et al. Expression of ABC transporters in human hepatocyte carcinoma cells with cross-resistance to epirubicin and mitoxantrone[J]. Anticancer Res, 2006, 26(2A): 885-888
- [12] Henderson MJ, Haber M, Porro A, et al. ABCC multidrug transporters in childhood neuroblastoma: clinical and biological effects independent of cytotoxic drug efflux [J]. J Natl Cancer Inst, 2011, 103(16): 1236-1251
- [13] Zhao L, Pan Y, Gang Y, et al. Identification of GAS1 as an epirubicin resistance-related gene in human gastric cancer cells with a partially randomized small interfering RNA library[J]. J Biol Chem, 2009, 284(39): 26273-26285
- [14] Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation [J]. Cell, 2011, 144(5): 646-674
- [15] Jendrossek V. The intrinsic apoptosis pathways as a target in anticancer therapy[J]. Curr Pharm Biotechnol, 2012. [Epub ahead of print]
- [16] Sotiropoulou PA, Candi A, Mascré G, et al. Bcl-2 and accelerated DNA repair mediates resistance of hair follicle bulge stem cells to DNA-damage-induced cell death[J]. Nat Cell Biol, 2010, 12(6): 572-582
- [17] Xia L, Zhang D, Du R, et al. miR-15b and miR-16 modulate multidrug resistance by targeting BCL2 in human gastric cancer cells[J]. Int J Cancer, 2008, 123(2): 372-379