

# 重楼皂苷VI预防结肠炎癌变的作用及机制

李志泉, 陈晓艳, 岳正刚, 周慧萍, 陈永春, 熊春四, 郑洪南, 李宇华

李志泉, 陈晓艳, 周慧萍, 陈永春, 熊春四, 郑洪南, 李宇华, 中国人民解放军第422医院药剂科 广东省湛江市 524005  
岳正刚, 中国人民解放军第四军医大学药理学系药理教研室 陕西省西安市 710032

李志泉, 主要从事中药药理的研究。

作者贡献分布: 本研究由李志泉、陈晓艳、岳正刚、周慧萍及郑洪南完成; 陈永春与熊春四负责试剂的提供与数据分析; 李宇华负责课题的设计与论文写作。

通讯作者: 李宇华, 主管药师, 524005, 广东湛江市海滨三路40号, 中国人民解放军第422医院药剂科. 1547223183@qq.com  
电话: 0759-3565463

收稿日期: 2014-07-20 修回日期: 2014-08-22

接受日期: 2014-09-03 在线出版日期: 2014-10-18

## Polyphyllin VI inhibits colitis associated colorectal carcinogenesis in mice: Possible mechanisms

Zhi-Quan Li, Xiao-Yan Chen, Zheng-Gang Yue, Hui-Ping Zhou, Yong-Chun Chen, Chun-Si Xiong, Hong-Nan Zheng, Yu-Hua Li

Zhi-Quan Li, Xiao-Yan Chen, Hui-Ping Zhou, Yong-Chun Chen, Chun-Si Xiong, Hong-Nan Zheng, Yu-Hua Li, Department of Pharmacy, the 422<sup>nd</sup> Hospital of PLA, Zhanjiang 524005, Guangdong Province, China  
Zheng-Gang Yue, Department of Pharmacology, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China

Correspondence to: Yu-Hua Li, Chief Pharmacist, Department of Pharmacy, the 422<sup>nd</sup> Hospital of PLA, 40 Haibin 3<sup>rd</sup> Road, Zhanjiang 524005, Guangdong Province, China. 1547223183@qq.com

Received: 2014-07-20 Revised: 2014-08-22

Accepted: 2014-09-03 Published online: 2014-10-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of polyphyllin VI (PPLVI) on colitis associated colorectal carcinogenesis in mice and the underlying mechanisms.

**METHODS:** Fifty male Institute of Cancer Research (ICR) mice were randomly divided into five groups: a model group, three PPLVI-treated groups and a control group. The mice in the model group and three PPLVI-treated groups were given a single intraperitoneal injection of 1,2-dimethylhydrazine (DMH) at a dose of 15 mg/kg body weight. One week later, the mice were treated with 2% (w/v) dextran sodium sulfate (DSS) in their

drinking water for 1 wk. This was followed by no further treatment for 1 wk. After another 1 wk of 2% DSS treatment, normal water was given for an additional 15 weeks. At week 9, the mice in PPLVI-treated groups were intraperitoneally injected with PPLVI (2.5, 5.0 and 10.0 mg/kg, respectively) every 3 d, for 12 wk. All mice were sacrificed at week 20 by ether overdose and colon samples were collected for histopathological examinations and Western blot analysis.

**RESULTS:** HE staining showed that the incidence of tumor formation was 90% in the mice treated with DMH/DSS; it decreased to 40% (4/10), 20% (2/10), and 10% (1/10) in mice treated with DMH/DSS plus 2.5, 5.0 and 10.0 mg/kg of PPLVI, respectively. PPLVI treatment increased the expression of cleaved Caspase3, Caspase9 and Bax and decreased the expression of Bcl-2 in colonic epithelial cells.

**CONCLUSION:** PPLVI can inhibit DMH/DSS-induced colon tumor formation in ICR mice partly through inducing apoptosis of abnormal colonic epithelial cells *via* the intrinsic pathway of apoptosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Polyphyllin VI; Colorectal cancer; Apoptosis

Li ZQ, Chen XY, Yue ZG, Zhou HP, Chen YC, Xiong CS, Zheng HN, Li YH. Polyphyllin VI inhibits colitis associated colorectal carcinogenesis in mice: Possible mechanisms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(29): 4393-4398 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4393.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i29.4393>

## 摘要

**目的:** 讨论从延龄草总皂苷中分离获得的重楼皂苷VI(polyphyllin VI, PPLVI)对结肠炎相关的结肠癌发生的影响及其机制。

**方法:** 将♂5周龄ICR小鼠50只, 随机分为5

**背景资料**  
结/直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一。近年来, 由于国人饮食结构的日渐西化, 结/直肠癌的发病率也呈逐年升高趋势: 已经成为我国发病率第4位, 死亡率第5位的恶性肿瘤, 其年增长率远超国际水平。寻找高效低毒的结肠癌预防、治疗药物具有重要意义。

**同行评议者**  
刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

**研发前沿**  
从天然产物中寻找抗肿瘤药物是药物研发的热点。延龄草是传统的名贵中药, 主要含甾体皂苷, 有降压、镇痛、溶血作用, 对镇静安神、祛风活血有良效。

组: 模型组、3个给药组和对照组。模型组与给药组小鼠腹腔注射15 mg/kg的1,2-二甲肼(1,2-dimethylhydrazine, DMH)。1 wk后, 饮用2%右旋葡聚糖苷钠(dextran sodium sulfate, DSS)蒸馏水溶液1 wk, 间隔1 wk后, 再次饮用2%DSS蒸馏水溶液1 wk。第9周时, 给药组小鼠通过腹腔注射给予PPL VI(2.5、5.0、10.0 mg/kg), 1次/3 d。20 wk乙醚麻醉, 处死所有小鼠, 收集小鼠肠道样本, 用于病理学检测及Western blot实验。

结果: HE染色显示: 模型组中, 90%的小鼠肠道发生结肠腺癌和/或结肠腺瘤。PPL VI治疗各组, 小鼠结/直肠肿瘤发生率依次下降为: 40%、20%与10%。PPL VI可促进小鼠肠道黏膜活化型Caspase3, 9及Bax的表达, 降低Bcl-2的表达, 且均呈剂量依赖性。

结论: PPL VI能有效地预防小鼠结肠炎癌变。其可能机制是PPL VI通过线粒体途径诱导小鼠肠道细胞凋亡。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 重楼皂苷VI; 结肠癌; 凋亡

**核心提示:** 从延龄草总皂苷中分离获得重楼皂苷VI(polyphyllin VI, PPL VI), 观察到PPL VI能有效预防1,2-二甲肼/右旋葡聚糖苷钠(1,2-dimethylhydrazine/dextran sodium sulfate, DMH/DSS)诱导的结肠炎相关的结肠癌发生; 可能机制与其诱导DMH/DSS处理后的异常肠道黏膜细胞发生线粒体途径的凋亡有关。

李志泉, 陈晓艳, 岳正刚, 周慧萍, 陈永春, 熊春四, 郑洪南, 李宇华。重楼皂苷VI预防结肠炎癌变的作用及机制。世界华人消化杂志 2014; 22(29): 4393-4398 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4393.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i29.4393>

## 0 引言

结/直肠癌是最为常见的恶性肿瘤之一。2013年, 在美国, 其发病率及死亡率均位居肿瘤发病率和死亡率的第3位<sup>[1]</sup>。近年来, 由于国人饮食结构的日渐西化, 结/直肠癌的发病率也呈逐年升高趋势: 已经成为我国发病率第4位, 死亡率第5位的恶性肿瘤, 其年增长率远超国际水平<sup>[2]</sup>。我国南方一些发达城市, 例如上海, 其死亡率已跃居恶性肿瘤死亡率的第2位。结/直肠癌的发生、发展与结肠炎症的反复发作密切相关<sup>[3-6]</sup>。因此, 寻找高效低毒的结肠癌预防、治疗药物具有重要意义。

从天然产物中寻找抗肿瘤药物是药物研发的热点。延龄草(*Trillium tschonoskii Maxim.*)是传统的名贵中药。主要含甾体皂苷, 有降压、镇痛、溶血作用, 对镇静安神、祛风活血有良效<sup>[7-10]</sup>。我们已经发现: 延龄草总皂苷可有效抑制结肠癌细胞的增殖<sup>[11]</sup>。为进一步阐明延龄草总皂苷抗肿瘤的机制, 我们对延龄草总皂苷进行了分离提取、纯化、鉴定和筛选, 得到了单体皂苷: 重楼皂苷VI(polyphyllin VI, PPL VI), 采用结肠炎相关的结肠癌模型对观察其结肠癌的预防作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 50只5周龄♂ICR小鼠, 购于上海斯莱克实验动物中心。小鼠购回后, 5只一组, 饲养于中国人民解放军第四军医大学实验动物中心, 给予自由饮水、饲以普通的颗粒饲料。饲养环境: 湿度50%±10%, 光照12 h照明, 12 h黑暗交替, 温度23℃±2℃。适应饲养7 d后, 按照体质量被随机分为4个实验组和1个对照组。1,2-二甲肼(1,2-dimethylhydrazine, DMH)购于Sigma公司; 右旋葡聚糖苷钠(dextran sodium sulfate, DSS), 相对分子质量为36000-50000, 购于美国MP公司。Caspase3, 9抗体(CST公司), Bcl-2、Bax、β-actin抗体(Santa Cruz公司)。Caspase3活性检测试剂盒(碧云天生物有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 PPL VI的提取:** 提取步骤参见本实验室文献<sup>[12]</sup>, 简述如下: 延龄草干燥根及根茎20 kg, 经体积分数为700 mL/L的乙醇水溶液加热回流提取3次, 每次2 h, 减压回收溶剂得醇提浸膏; 将醇提浸膏加适量水分散, 经D101大孔吸附树脂柱, 依次用体积分数为0、200、600、950 mL/L的乙醇水溶液洗脱, 减压浓缩得各部位浸膏, 其60%部位浸膏经硅胶柱色谱凝胶Sephadex LH-20柱色谱ODS柱色谱中低压液相色谱及高效液相色谱, 分离得到化合物PPL VI(图1)。

**1.2.2 小鼠结肠癌模型复制:** 造模方法参照文献<sup>[13-16]</sup>, 简述如下: 用生理盐水配置终浓度为1.5 g/L、pH 6.5的DMH溶液。实验组小鼠单次腹腔注射15 mg/kg的DMH。1 wk后令实验组小鼠连续饮用2%DSS纯水溶液1 wk, 间隔1 wk(饮用正常普通饮水)。上述2 wk为一个DSS处理循环, 一共重复2次。正常对照组用生理盐水代替DMH溶液腹腔注射1次, 饮用水为不含DSS的纯水。第9

**相关报道**  
研究者们观察到: 延龄草皂苷可以有效抑制肺癌、乳腺癌等肿瘤细胞的增殖。我们前期的研究发现: 延龄草总皂苷可有效抑制结肠癌细胞的增殖, 对正常肠道上皮细胞无明显毒性。

表 1 DMH/DSS造模过程中小鼠便血、脱肛及肿瘤发生率 [ $n = 10$ , mean  $\pm$  SD, %( $n$ / $n$ )]

分组	便血		脱肛		肿瘤
	3 wk	6 wk	9 wk	15 wk	20 wk
正常组	0(0/10)	0(0/10)	0(0/10)	0(0/10)	0(0/10)
DMH/DSS	60(24/40)	50(20/40)	60(6/10)	80(8/10)	90(9/10)
DMH/DSS+2.5 mg/kg PPL VI	-	-	50(5/10)	40(4/10)	40(4/10) <sup>a</sup>
DMH/DSS+5 mg/kg PPL VI	-	-	40(4/10)	30(3/10) <sup>a</sup>	20(2/10) <sup>a</sup>
DMH/DSS+10 mg/kg PPL VI	-	-	40(4/10) <sup>a</sup>	10(1/10) <sup>a</sup>	10(1/10) <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs DMH/DSS组. DMH: 1,2-二甲肼; DSS: 右旋葡聚糖苷钠.

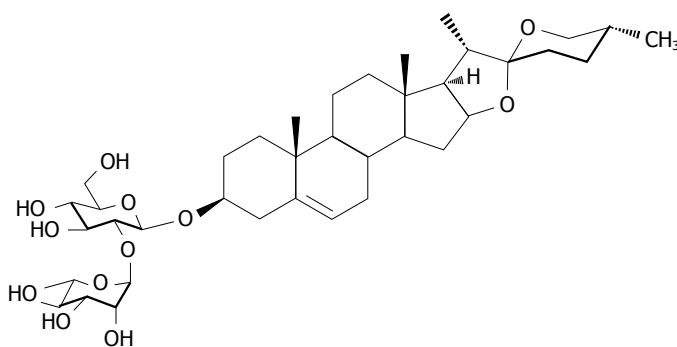


图 1 PPL VI结构式.

周时, 将4个实验组随机分为: 1个模型组和3个治疗组. PPL VI腹腔注射给药, 每隔3 d给药1次, 给药剂量分别为: 2.5、5.0和10.0 mg/kg. 在整个造模和给药过程中密切观察并记录小鼠的便血、脱肛数.

**1.2.3 采集标本:** 在第20周时采用乙醚麻醉法处死所有小鼠, 打开腹腔, 截取其从肛门到回盲部的所有大肠. 纵向剖开整个肠道, 用PBS溶液冲洗干净. 从肛门上方3 cm处截取4 cm长度的结肠标本, 置于40 g/L多聚甲醛溶液中固定. 将固定好的样本石蜡包埋后切片, 用于组织学检测. 将剩余结肠组织的黏膜用玻片小心刮下后迅速置于液氮中速冻, 保存于-80 °C低温冰箱中, 以备Western blot检测以及Caspase3活性测定.

**1.2.4 蛋白提取及检测:** 将小鼠肠道黏膜加入RIPA(含PMSF蛋白酶抑制剂)细胞裂解液后匀浆提取总蛋白, 用Bio-Rad酶标仪进行蛋白定量. 蛋白变性后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜. NC膜用5%脱脂牛奶室温封闭3 h, 加一抗Caspase3(1:500)、Caspase9(1:500)、Bcl-2(1:500)、Bax(1:500)、 $\beta$ -actin(1:1000)室温孵育30 min, 后4 °C过夜, TBST洗膜后加1:5000稀释的相应HRP标记二抗室温孵育1 h, TBST及TBS洗膜后,

进行化学发光.

**1.2.5 Caspase3活性检测:** 按照说明书步骤操作: 每3-10 mg组织加入100  $\mu$ L裂解液的比例加入裂解液, 在冰浴上用玻璃匀浆器匀浆. 然后把匀浆液转移到1.5 mL离心管中, 冰浴再裂解5 min. 4 °C 16000-20000 g, 离心10-15 min. 把上清转移到冰浴预冷的离心管中. 立即测定Caspase3的酶活性.

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件中的单因素方差分析(ANOVA)以及 $\chi^2$ 检验进行数据统计,  $P < 0.05$ 示差异具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 小鼠整体观察及肠道组织病理表现** 所有DMH/DSS处理的ICR小鼠在造模过程中均出现稀便体征. 如表1所示: 第3周和第6周时, DMH/DSS处理后小鼠的血便率分别为60%(24/40)和50%(20/40); 在第9周和第15周时, DMH/DSS模型组小鼠的脱肛率分别为60%(6/10)和80%(8/10). 给予小鼠PPL VI腹腔注射治疗后, 第15周时小鼠的脱肛率显著降低, 分别为40%、30%和10%. 在第20周处死小鼠, 解剖后肉眼观察可见: DMH/DSS模型组小鼠结肠中末端出现了息肉状新生物. 而PPL VI治疗组小鼠结肠虽然

### 创新盘点

我们观察到从延龄草总皂苷中分离的重楼皂苷VI (polyphyllin VI, PPL VI)能有效预防1,2-二甲肼/右旋葡聚糖苷钠(1,2-dimethylhydrazine/dextran sodium sulfate, DMH/DSS)诱导的结肠炎相关的结肠癌发生. 可能机制与其诱导DMH/DSS处理后的异常肠道黏膜细胞发生线粒体途径的凋亡有关.



**应用要点**  
为延龄草总皂苷的结肠癌细胞增殖抑制作用提供了物质基础, 同时提示: PPLVI具有预防结肠炎癌变的作用. 为延龄草在结肠癌预防中的使用提供依据.

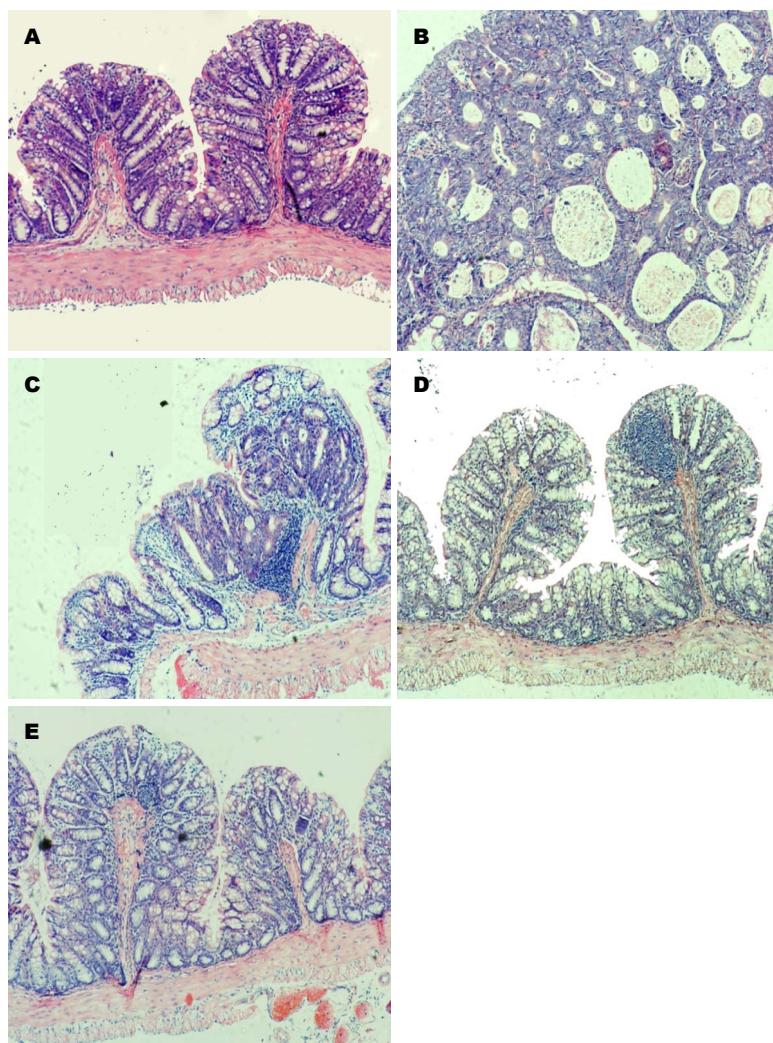


图2 小鼠肠道HE染色(×400). A: 正常对照组; B: DMH/DSS模型组; C: DMH/DSS+2.5 mg/kg PPLVI组; D: DMH/DSS+5 mg/kg PPLVI组; E: DMH/DSS+10 mg/kg PPLVI组. DMH: 1,2-二甲胂; DSS: 右旋葡聚糖苷钠; PPLVI: 重楼皂苷VI.

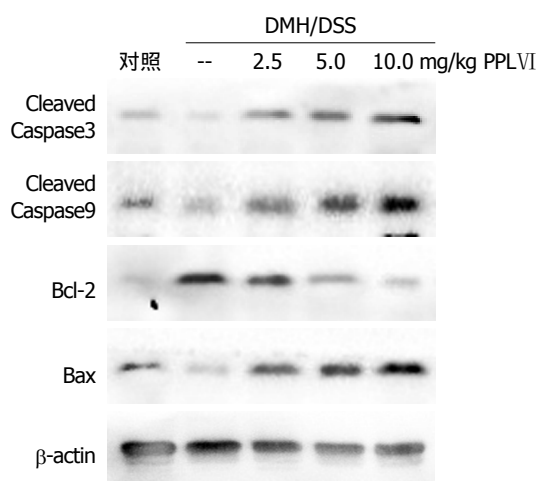


图3 PPLVI对小鼠肠道黏膜细胞中活化型Caspase3、9、Bcl-2、Bax表达的影响. DMH: 1,2-二甲胂; DSS: 右旋葡聚糖苷钠; PPLVI: 重楼皂苷VI.

可见不同程度的黏膜红肿, 但仅有部分小鼠肠道发生息肉状增生.

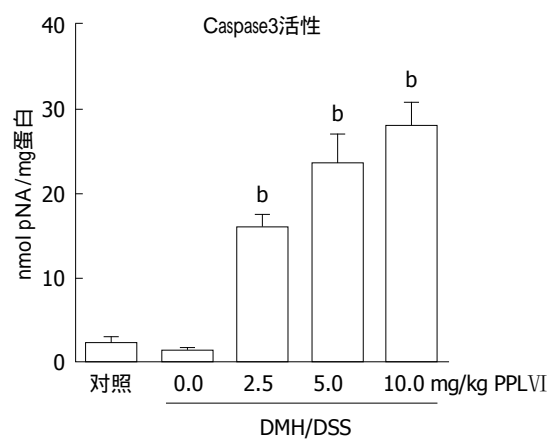


图4 PPLVI对小鼠肠道黏膜细胞中Caspase3活性的影响. <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs DMH/DSS组. DMH: 1,2-二甲胂; DSS: 右旋葡聚糖苷钠; PPLVI: 重楼皂苷VI.

肠道组织病理切片染色后镜下观察可见: DMH/DSS模型组肠道黏膜细胞核分裂象明显, 腺体排列紊乱, 增生明显(图2). 而PPLVI治疗各

组, 肿瘤发生率分别降至40%(4/10)、20%(2/10)与10%(1/10)。病理切片显示: 黏膜层有程度不等的淋巴细胞浸润, 黏膜下层发生程度不等的增生, PPLVI能将小鼠肠道有效控制在炎症状态(图2)。

**2.2 PPLVI可通过内在途径诱导肠道黏膜细胞凋亡** 如图3所示, 与正常对照组相比, DMH/DSS模型组小鼠肠道黏膜中活化Caspase3, 9及Bax明显降低, Bcl-2明显升高。而PPLVI治疗后, 活化的Caspase3, 9及Bax的表达增加, 活化的Caspase8无显著变化(未展示), 而Bcl-2的表达减弱。

Caspase3活性检测结果(图4)与Western blot结果相符。提示: PPLVI可诱导Caspase3依赖的线粒体途径(内部途径)凋亡。

### 3 讨论

本实验中, 我们发现PPLVI能有效抑制DMH/DSS引起的结肠炎癌变, 模型组中, 90%的小鼠肠道发生结肠腺癌和/或结肠腺瘤。腹腔注射给予2.5、5.0及10.0 mg/kg的PPLVI, 小鼠结/直肠肿瘤发生率依次下降为: 40%、20%与10%。且多数肠道病理表现为淋巴细胞浸润, 黏膜层、黏膜下层增生等急性、慢性炎症特征性改变。

细胞凋亡对于维持机体的正常生理功能具有重要意义, 体内衰老或是分裂异常的细胞可以通过凋亡机制被清除, 反之, 当凋亡调控机制失调时, 体内异常细胞不能被及时清除并逐渐积累, 就可能诱发恶性肿瘤。研究表明, 细胞凋亡调控紊乱是结肠癌发生发展的重要原因<sup>[17,18]</sup>。因此, 我们刮取小鼠肠道黏膜, 采用Caspase3活性检测试剂盒以及Western blot方法, 观察PPLVI是否通过诱导凋亡发挥结肠炎癌变的预防作用。结果显示PPLVI可剂量依赖性地增加DMH/DSS处理小鼠肠道黏膜细胞中Caspase3的活性。引起细胞凋亡的途径主要有三条: 线粒体途径、内质网信号途径和细胞表面死亡受体途径<sup>[19]</sup>。细胞凋亡途径之间相互联系、相互作用, 共同参与了细胞的凋亡过程。在所有细胞凋亡途径中, 线粒体是凋亡启动的“主开关”<sup>[20]</sup>。

Caspases, 是细胞凋亡重要的调节因子。Caspase9主要参与线粒体途径, 而Caspase8则主要参与死亡受体途径的调节, 两者在激活后均能引起下游通路的Caspase3活化, 进而降解细

胞骨架蛋白和核蛋白<sup>[21,22]</sup>, Caspase9在线粒体程序化死亡信号的作用下切割激活后, 可对执行酶Caspase3进行切割并激活。PPLVI可剂量依赖性地增加DMH/DSS处理小鼠肠道黏膜细胞中cleaved-Caspase3和cleaved-Caspase9蛋白表达量(cleaved-Caspase8未发生明显变化, 数据未提供)。表明PPLVI可能通过依赖于Caspases的程序化死亡途径诱导肿瘤细胞凋亡。

线粒体介导的细胞凋亡过程中, Bcl-2蛋白家族具有重要的调控作用。研究发现Bcl-2蛋白家族表达量异常可能是影响癌症包括结肠癌发生发展的重要因素之一<sup>[23-30]</sup>。在肿瘤细胞中, 抗凋亡蛋白Bcl-2的表达量升高而促凋亡蛋白Bax表达量下降, 导致肿瘤细胞对促凋亡刺激因素的反应性下降。在给予PPLVI处理后, 肠道黏膜细胞中抗凋亡蛋白Bcl-2的表达量下降而促凋亡蛋白Bax的表达量上升, 且呈剂量依赖性, 说明PPLVI诱导肿瘤细胞凋亡的作用与其影响Bcl-2蛋白家族抗凋亡和促凋亡蛋白的比例有关。

据此我们推测PPLVI预防DMH/DSS诱导的结肠炎相关的结肠癌发生的原因之一与其诱导DMH/DSS处理后的异常肠道黏膜细胞发生线粒体途径的凋亡有关。PPLVI具体的作用及相关机制尚需进一步研究, 不过, 上述数据部分解释了延龄草总皂苷具有抑制结肠癌细胞增殖的作用, 同时提示: PPLVI具有预防结肠炎癌变的作用。

### 4 参考文献

- 1 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64: 9-29 [PMID: 24399786 DOI: 10.3322/caac.21208]
- 2 Sung JJ, Lau JY, Goh KL, Leung WK. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening. *Lancet Oncol* 2005; 6: 871-876 [PMID: 16257795 DOI: 10.1016/S1470-2045(05)70422-8]
- 3 段琼红, 吕美霞, 卢袒洵, 聂绍发. 大肠癌中IGF-2蛋白的表达及相关性研究. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 83-86
- 4 黄漾, 张国锋. 结直肠癌淋巴管生成与淋巴转移相关检测的临床研究进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 207-211
- 5 陈静, 赵嫂, 谢强, 孙玉华, 梁健. 直肠癌手术后患者48例生存质量评定. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 819-822
- 6 刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正. 中西医结合治疗溃疡性结肠炎. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2806-2808
- 7 喻玲玲, 邹坤. 延龄草属植物的化学成分及药理活性研究进展. *中成药* 2008; 30: 1350-1354
- 8 肖本见, 陈国栋, 谭志鑫. 头顶一棵珠抗炎和免疫作用的实验研究. *安徽医药* 2005; 9: 246-247
- 9 黄丽亚, 张晓红. 延龄草注射液上调抗氧化酶表达作用的实验研究. *湖北中医杂志* 2006; 28: 7-8

**同行评价**  
课题选题合理, 结合临床实际, 设计科学合理, 研究手段先进, 数据分析可靠, 结论可信, 是一篇较好的研究课题。

- 10 喻玲玲, 邹坤, 汪玺植, 方荣, 高明星. 延龄草总皂苷体内抗肿瘤作用研究. *中草药* 2008; 31: 733-736
- 11 周慧萍, 岳正刚, 李志泉, 梅其炳, 陈晓艳, 陈永春, 孙阳, 李宇华. 延龄草总皂苷抑制结肠癌细胞增殖作用及机制研究. *华南国防医学杂志* 2013; 5: 310-312
- 12 李慧敏, 潘宪伟, 梅其炳, 宋小妹, 裴月湖, 岳正刚. 延龄草化学成分的分离与鉴定. *沈阳药科大学学报* 2013; 30: 509-516
- 13 Tanaka T, Kohno H, Suzuki R, Yamada Y, Sugie S, Mori H. A novel inflammation-related mouse colon carcinogenesis model induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate. *Cancer Sci* 2003; 94: 965-973 [PMID: 14611673 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2003.tb01386.x]
- 14 Kim JH, Hue JJ, Kang BS, Park H, Nam SY, Yun YW, Kim JS, Lee BJ. Effects of selenium on colon carcinogenesis induced by azoxymethane and dextran sodium sulfate in mouse model with high-iron diet. *Lab Anim Res* 2011; 27: 9-18 [PMID: 21826154 DOI: 10.5625/lar.2011.27.1.9]
- 15 Kohno H, Suzuki R, Sugie S, Tanaka T. Beta-Catenin mutations in a mouse model of inflammation-related colon carcinogenesis induced by 1,2-dimethylhydrazine and dextran sodium sulfate. *Cancer Sci* 2005; 96: 69-76 [PMID: 15723650 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2005.00020.x]
- 16 李宇华, 刘莉, 冯娟, 王庆伟, 孙阳, 曹蔚, 王志鹏, 张蓉, 刘振国, 梅其炳. 一种结肠炎相关的结肠癌模型的复制. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 234-239
- 17 Zeestraten EC, Benard A, Reimers MS, Schouten PC, Liefers GJ, van de Velde CJ, Kuppen PJ. The prognostic value of the apoptosis pathway in colorectal cancer: a review of the literature on biomarkers identified by immunohistochemistry. *Biomark Cancer* 2013; 5: 13-29 [PMID: 24179395 DOI: 10.4137/BIC.S11475]
- 18 Wu WK, Wang XJ, Cheng AS, Luo MX, Ng SS, To KF, Chan FK, Cho CH, Sung JJ, Yu J. Dysregulation and crosstalk of cellular signaling pathways in colon carcinogenesis. *Crit Rev Oncol Hematol* 2013; 86: 251-277 [PMID: 23287077 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2012.11.009]
- 19 Debatin KM. Apoptosis pathways in cancer and cancer therapy. *Cancer Immunol Immunother* 2004; 53: 153-159 [PMID: 14749900 DOI: 10.1007/s00262-003-0474-8]
- 20 林其谁. 线粒体与细胞凋亡. *生物化学与生物物理学报* 1999; 31: 8-10
- 21 Khan N, Afaq F, Mukhtar H. Apoptosis by dietary factors: the suicide solution for delaying cancer growth. *Carcinogenesis* 2007; 28: 233-239 [PMID: 17151090 DOI: 10.1093/carcin/bgl243]
- 22 Green DR, Kroemer G. The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 2004; 305: 626-629 [PMID: 15286356 DOI: 10.1126/science.1099320]
- 23 Koehler BC, Scherr AL, Lorenz S, Urbanik T, Kautz N, Elssner C, Welte S, Bermejo JL, Jäger D, Schulze-Bergkamen H. Beyond cell death - antiapoptotic Bcl-2 proteins regulate migration and invasion of colorectal cancer cells in vitro. *PLoS One* 2013; 8: e76446 [PMID: 24098503 DOI: 10.1371/journal.pone.0076446]
- 24 Hector S, Prehn JH. Apoptosis signaling proteins as prognostic biomarkers in colorectal cancer: a review. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1795: 117-129 [PMID: 19167459]
- 25 Krajewska M, Krajewski S, Epstein JI, Shabaik A, Sauvageot J, Song K, Kitada S, Reed JC. Immunohistochemical analysis of bcl-2, bax, bcl-X, and mcl-1 expression in prostate cancers. *Am J Pathol* 1996; 148: 1567-1576 [PMID: 8623925]
- 26 Krajewska M, Moss SF, Krajewski S, Song K, Holt PR, Reed JC. Elevated expression of Bcl-X and reduced Bak in primary colorectal adenocarcinomas. *Cancer Res* 1996; 56: 2422-2427 [PMID: 8625322]
- 27 Krajewski S, Blomqvist C, Franssila K, Krajewska M, Wasenius VM, Niskanen E, Nordling S, Reed JC. Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma. *Cancer Res* 1995; 55: 4471-4478 [PMID: 7671262]
- 28 Krajewski S, Chatten J, Hanada M, Reed JC. Immunohistochemical analysis of the Bcl-2 oncoprotein in human neuroblastomas. Comparisons with tumor cell differentiation and N-Myc protein. *Lab Invest* 1995; 72: 42-54 [PMID: 7837790]
- 29 Kroemer G, Galluzzi L, Brenner C. Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. *Physiol Rev* 2007; 87: 99-163 [PMID: 17237344 DOI: 10.1152/physrev.00013.2006]
- 30 Kuo TH, Kim HR, Zhu L, Yu Y, Lin HM, Tsang W. Modulation of endoplasmic reticulum calcium pump by Bcl-2. *Oncogene* 1998; 17: 1903-1910 [PMID: 9788433 DOI: 10.1038/sj.onc.1202110]

编辑 郭鹏 电编 都珍珍

