

Gefitinib 对人结肠癌 Caco-2 细胞增殖与凋亡的影响

孙锦辉¹, 李春潮¹, 范旋燕¹, 黄 聪², 全娟花^{1*} (1. 广东医科大学附属第一医院消化内科, 广东湛江 524001; 2. 北京大学深圳医院皮肤性病科/皮肤病研究所, 广东深圳 518036)

摘要: 目的 探讨 Gefitinib 对人结肠癌 Caco-2 细胞增殖与凋亡的影响。方法 2.5~30 $\mu\text{mol/L}$ Gefitinib 处理 Caco-2 细胞 24~72 h, MTS、流式细胞术、免疫荧光、Western blot 检测细胞增殖、凋亡、线粒体膜电位、MAPK 及凋亡相关蛋白表达。结果 Gefitinib 呈浓度和时间依赖性抑制 Caco-2 细胞增殖($P<0.01$), 诱导细胞凋亡, 降低线粒体膜电位($P<0.05$)。Gefitinib 浓度依赖性上调 p-p38、p-JNK、Cleaved-PARP 蛋白表达, 下调 p-ERK、Caspase-3 表达($P<0.01$)。结论 Gefitinib 通过调节 Caco-2 细胞中 MAPK 磷酸化蛋白和 Caspase-3 蛋白表达, 从而诱导线粒体膜电位降低, 促进细胞凋亡。

关键词: Caco-2 细胞; Gefitinib; 凋亡; MAPK; Caspase-3

中图分类号: R574.6

文献标志码: A

文章编号: 2096-3610(2021)02-0123-06

Effect of gefitinib on proliferation and apoptosis of human colon carcinoma Caco-2 cells

SUN Jin-hui¹, LI Chun-chao¹, FAN Xuan-yan¹, HUANG Cong², QUAN Juan-hua^{1*} (1. Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524001, China; 2. Department & Institute of Dermatology, Peking University Shenzhen Hospital, Shenzhen 518036, China)

Abstract: Objective To study the effect of gefitinib on proliferation and apoptosis of human colon carcinoma Caco-2 cells. Methods Caco-2 cells were treated with 2.5–30 $\mu\text{mol/L}$ gefitinib for 24–72 h. Cell proliferation, apoptosis, mitochondrial membrane potential, and expression of mitogen activated protein kinase (MAPK) and apoptosis related proteins were evaluated by MTS, flow cytometry, immunofluorescence and Western blot, respectively. Results Gefitinib inhibited proliferation ($P<0.01$), induced apoptosis, and decreased mitochondrial membrane potential ($P<0.05$) of Caco-2 cells in a concentration and time-dependent manner. Gefitinib up-regulated expression of p-p38, p-JNK and cleaved PARP and down-regulated expression of p-ERK and caspase-3 in a dose-dependent manner ($P<0.01$). Conclusion Gefitinib could promote apoptosis of Caco-2 cells via regulation of MAPK phosphorylation and caspase-3 expression and reduction of mitochondrial membrane potential.

Key words: Caco-2 cells; gefitinib; apoptosis; MAPK; caspase-3

结肠癌由遗传和环境因素相互作用引起^[1], 目前早期癌可予内镜黏膜下剥离术治疗, 中晚期癌首选根治性手术并辅以化疗, 但肿瘤的复发转移以及耐药等问题使近 30 年结肠癌的 5 年生存率维持在 50%~60%。近年来, 肿瘤的靶向治疗可特异性作用于特定的分子, 且对正常组织损伤较小, 这为结肠癌的治疗提供了新的方向^[2]。Gefitinib 是一种酪氨酸激酶受体抑制剂, 有研究报道 Gefitinib 对多种肿瘤有明显的抑制作用, 而正常组织表现出良好的耐受性^[3-4]。本研究

主要通过体外实验探讨 Gefitinib 对 Caco-2 细胞增殖凋亡的影响及其潜在机制, 为其应用于结肠癌的治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂与仪器 Gefitinib(美国 Sigma 公司), 人结肠癌细胞株 Caco-2 购于中科院上海细胞库, 胎牛血清 FBS(乌拉圭 Lonsera 公司), RPMI1640 培养基(美国 HyClone 公司), 100 $\times$ 青霉素/链霉素双抗(美国 Gibco 公司), 胰蛋白酶含 0.25% EDTA(美国 Sigma 公司), 10 $\times$ PBS 缓冲液(美国 Solarbio 公司), Cell Banker2 冻存液(日本 ZENOAQ 公司), MTS(美国 Promega 公司), AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(No.81971389)

收稿日期: 2020-09-01; 修订日期: 2020-11-25

作者简介: 孙锦辉(1994-), 男, 在读硕士研究生

通信作者: 全娟花, 女, 博士, 副研究员, E-mail: quanjuanhua@gd-mu.edu.cn

(日本 Dojindo 公司), Texas RedTM-X Phalloidin 试剂(美国 Life Technologies 公司), DAPI (美国 Vector Laboratories 公司), JC-1 线粒体膜电位试剂盒、免疫染色固定液、免疫染色洗涤液、SDS-PAGE 凝胶配制试剂盒(中国碧云天公司), CETi Lysis Buffer(韩国 Trans Lab 公司), BCA 试剂盒(中国 Genstar 公司), 0.2 μm PVDF 转印膜(美国 Millipore 公司), 20 $\times$ TBS(美国 Solarbio 公司), 发光液(美国 MILLIPORE 公司), α -Tubulin(美国 SANTA CRUZ 公司), 兔抗 IgG-HRP、鼠抗 IgG-HRP(美国 Cell Signaling 公司), p-p38、p38、p-ERK、ERK、p-JNK、JNK、Caspase-3、PARP(美国 Cell Signaling 公司), 超声细胞破碎仪(中国宁波新芝生物公司), 酶标仪(美国 Thermo 公司) Azure c500(美国 Azure Biosystems 公司), 荧光显微镜(德国 Leica 公司), 流式细胞仪(美国 BD 公司)

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将 Caco-2 细胞培养于含 10% 胎牛血清、1% 抗菌-抗真菌剂(青霉素、链霉素、两性霉素 B)的 RPMI1640 培养基中, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 环境下培养, 每 3 d 更换培养基, 待细胞融合度达到 80%~90%, 用含 0.25% -EDTA 胰蛋白酶消化、传代备用。

1.2.2 MTS 检测 Gefitinib 对 Caco-2 细胞增殖的影响

取对数生长期的细胞, 经胰酶消化后, 用含 10% 胎牛血清的培养基配成活细胞密度为 5×10^3 个/mL 的细胞悬液, 按每孔 100 μL 接种于 96 孔培养板中, 培养 24 h 后, 更换含浓度为 0、2.5、7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$ Gefitinib 的完全培养基, 每个浓度设 4 个复孔。处理 24、48、72 h 后参照 MTS 试剂盒说明书操作, 用酶标仪在 492 nm 波长处测定各孔吸光值并计算细胞增殖抑制率, 抑制率(IR)=(对照组吸光值-实验组吸光值)/对照组吸光值, 统计并分析。

1.2.3 流式细胞术检测 Gefitinib 对 Caco-2 细胞凋亡的作用 取对数生长期的细胞, 经胰酶消化后, 用含 10% 胎牛血清的培养基配成活细胞密度为 3×10^5 个/mL 的细胞悬液, 接种于 6 孔板中, 培养 24 h 后, 更换含浓度为 0、2.5、7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$ Gefitinib 的完全培养基, 每个浓度设 3 个复孔。处理 48 h 后胰酶消化, 收集细胞, 用预冷 PBS 漂洗 1 次。Binding Solution 重悬细胞, 调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL, 取 100 μL 细胞悬液转移至流式管中, 各加入 FITC-Annexin V 和 PI 溶液 5 μL , 室温避光孵育 30 min 后加 Binding Solution 400 μL , 流式细胞仪检测。

1.2.4 细胞免疫荧光染色

1.2.4.1 细胞免疫荧光染色检测 Gefitinib 对 Caco-2 细胞形态的影响 取对数生长期的细胞均匀接种于置有灭菌盖玻片的 12 孔板(2×10^4 个/孔)培养。用 Gefitinib 处理后, 取出细胞爬片, 免疫染色固定液室温固定 30 min。0.1% Triton X-100 透化 10 min。滴加 Texas Red[®]-X 鬼笔环肽(1:100 稀释)暗盒室温放置 30 min, 染色细胞骨架。用 DAPI 抗荧光淬灭封片剂封片, 倒置荧光显微镜下观察细胞并采集图像。

1.2.4.2 细胞免疫荧光染色检测 Gefitinib 对 Caco-2 细胞线粒体膜电位的影响 取对数生长期的细胞均匀接种于置有灭菌盖玻片的 12 孔板(2×10^4 个/孔)培养。用 Gefitinib 处理后, 每孔加入 1 mL 配置好的 JC-1 染色工作液后于细胞培养箱中 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min, 用预冷的 JC-1 染色缓冲液洗涤 3 次。取出细胞爬片, 用甘油抗荧光淬灭封片剂封片, 倒置荧光显微镜下观察细胞并采集图像。

1.2.5 Western-blot 检测细胞 MAPK 通路及凋亡相关蛋白表达 取对数生长期的 Caco-2 细胞接种于培养皿中, 细胞贴壁后, 用不同浓度的 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞 48 h 后, 收集上清液和贴壁细胞, 用 CETi Lysis Buffer 蛋白裂解液和超声细胞破碎仪裂解提取细胞蛋白并制备蛋白样品, 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳, 将蛋白电转至 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉封闭液孵育 1 h, 一抗孵育过夜, 二抗室温孵育 1 h。用 Azure Biosystems C500 近红外成像系统图像采集并利用 Image J 软件分析蛋白条带灰度值, 进行统计分析。

1.3 统计学处理

采用 Graphpad Prism 8.0 软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 组间差异采用单因素方差分析(One-way ANOVA)及 LSD-*t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Gefitinib 对 Caco-2 细胞增殖的影响

不同浓度(0、2.5、7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$)的 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞 24、48、72 h 后, MTS 法检测细胞增殖。结果显示, 在同一时间点, Caco-2 细胞的生长抑制率随着 Gefitinib 浓度的增加而升高, 而且在药物浓度相同的情况下, Caco-2 细胞的生长抑制率随着处理时间的延长而升高, 提示 Gefitinib 对 Caco-2 细胞增殖的抑制呈浓度-时间依赖性, Caco-2 细胞的生长抑制率升高, 与对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1、图 1。

表1 不同浓度 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞的细胞生长抑制率
($\bar{x} \pm s, n=3, \%$)

组别	24 h	48 h	72 h
0 mol/L 组	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
2.5 mol/L 组	9.80±2.78 ^a	21.55±1.83 ^a	21.82±3.18 ^a
7.5 mol/L 组	14.63±3.00 ^{ab}	25.79±2.02 ^{ab}	28.86±1.15 ^{ab}
15 mol/L 组	17.52±1.23 ^{ab}	30.43±1.12 ^{abc}	46.96±1.52 ^{abc}
30 mol/L 组	30.85±2.35 ^{abcd}	46.75±1.76 ^{abcd}	60.08±1.86 ^{abcd}

同一时间点,与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较:^a $P<0.01$;与 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 组比较:^b $P<0.01$;与 7.5 $\mu\text{mol/L}$ 组比较:^c $P<0.01$;与 15 $\mu\text{mol/L}$ 组比较:^d $P<0.01$

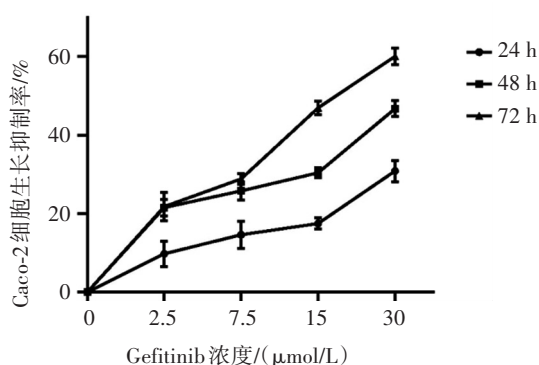


图1 各组 Caco-2 细胞生长抑制率的变化趋势

2.2 Gefitinib 对 Caco-2 细胞凋亡的作用

以不同浓度(0、2.5、7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$)的 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞 48 h 后,流式细胞术检测结果显示随着 Gefitinib 浓度的递增,Caco-2 细胞的晚期凋亡率

(Q2)和早期凋亡率(Q3)呈递增趋势;各实验组与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组相比,晚期凋亡率(Q2)、早期凋亡率(Q3)和总凋亡率(Q2+Q3)差异有统计学意义($P<0.05$),且呈浓度依赖性。结果提示 Gefitinib 能促进 Caco-2 细胞凋亡并呈浓度依赖性。见表 2、图 2。

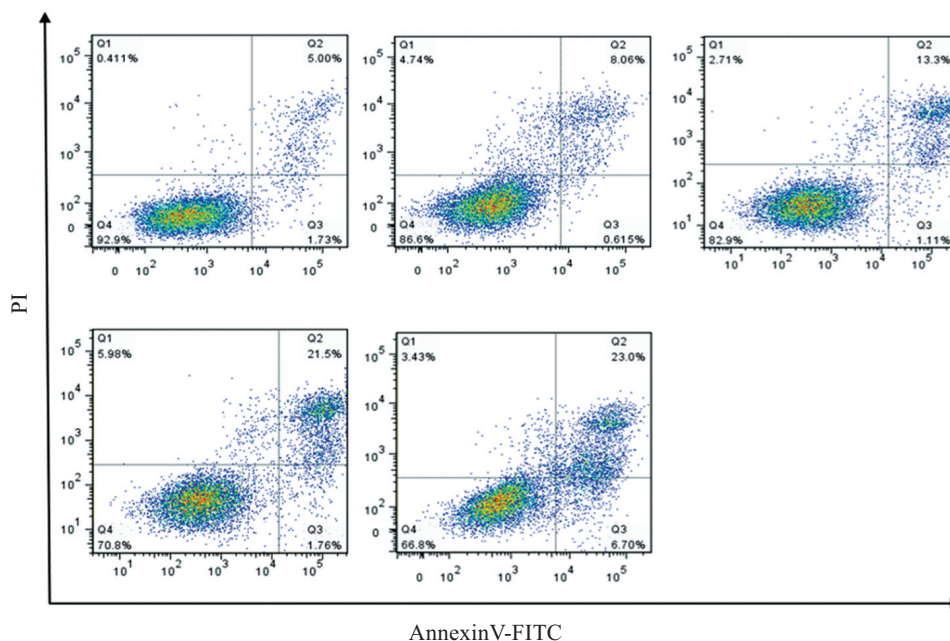
2.3 免疫荧光染色观察 Gefitinib 对 Caco-2 细胞凋亡的作用

以不同浓度(0、2.5、7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$)Gefitinib 处理 Caco-2 细胞 48 h 后,利用鬼笔环肽对细胞染色。图 3 结果显示,0 $\mu\text{mol/L}$ 组的细胞微丝结构分布相对均匀,相互连成网状,周围边界清晰,有少量微丝触角,细胞核椭圆形,边界清晰,染色均匀。实验组的细胞随着 Gefitinib 浓度的递增,细胞骨架微丝

表2 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞 48 h 后的 Q2、Q3、Q2+Q3 凋亡率
($\bar{x} \pm s, n=3, \%$)

组别	Q2 期	Q3 期	Q2+Q3 期
0 mol/L 组	6.17±1.10	1.64±0.81	7.81±0.77
2.5 mol/L 组	9.12±0.87	2.05±1.62	11.17±2.46
7.5 mol/L 组	13.17±0.19 ^a	2.43±1.87	15.60±1.68 ^{ab}
15 mol/L 组	20.83±0.94 ^{abc}	4.84±4.36	25.67±3.41 ^{abc}
30 mol/L 组	27.4±3.63 ^{abcd}	4.72±2.31	32.19±1.76 ^{abcd}

同一时间点,与 0 $\mu\text{mol/L}$ 组比较:^a $P<0.01$;与 2.5 $\mu\text{mol/L}$ 组比较:^b $P<0.01$;与 7.5 $\mu\text{mol/L}$ 组比较:^c $P<0.01$;与 15 $\mu\text{mol/L}$ 组比较:^d $P<0.01$



A、B、C、D、E 分别表示 Gefitinib 的浓度为 0、2.5、7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$

图2 AnnexinV-FITC/PI 双染法检测 Gefitinib 对 Caco-2 细胞凋亡的影响

结构分布不均匀,边缘模糊,局部可见溶解或断裂现象,细胞体积逐渐缩小,细胞浆浓缩,细胞核固缩呈均一的团块状致密物,进而断裂为大小不一的片段。以上提示 Gefitinib 可诱导 Caco-2 细胞核碎裂和改变骨架微丝结构及分布。

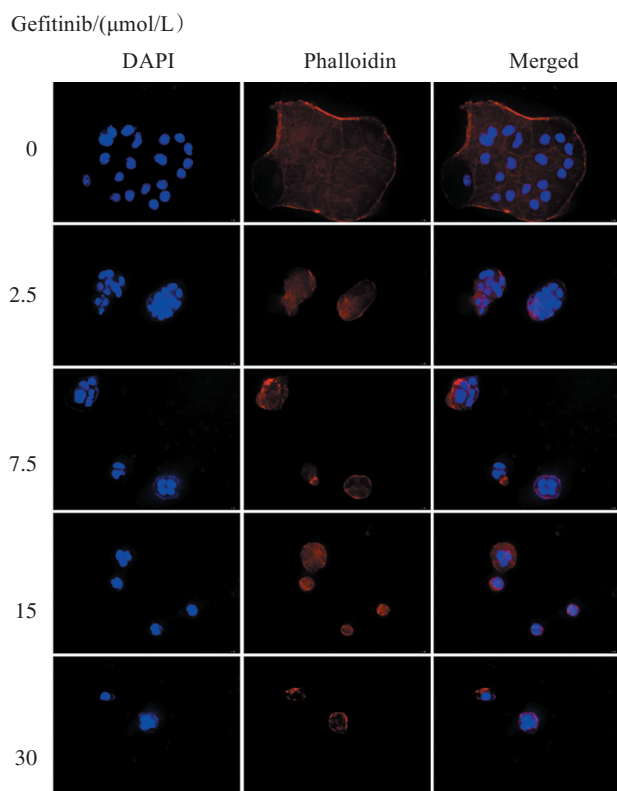


图3 免疫荧光染色观察 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞核与细胞骨架微丝结构变化($\times 400$)

2.4 免疫荧光染色观察 Gefitinib 对 Caco-2 细胞线粒体膜电位的影响

细胞线粒体膜电位的下降是细胞凋亡早期的标志性事件。在线粒体膜电位较高时,JC-1 聚集在线粒体的基质中,形成聚合物 (aggregate),可产生红色荧光;在线粒体膜电位较低时,JC-1 不能聚集在线粒体的基质中,此时 JC-1 为单体(monomer),可产生绿色荧光。以不同浓度(0、2.5、7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$)Gefitinib 处理 Caco-2 细胞 48 h 后,JC-1 染色荧光显微镜下观察线粒体膜电位。图 4 结果显示,实验组的细胞随着 Gefitinib 浓度的递增,红色荧光逐渐减弱,绿色逐渐增强,提示 Gefitinib 可通过降低 Caco-2 细胞线粒体膜电位从而诱导凋亡。

2.5 Western-blot 检测细胞 MAPK 通路相关蛋白表达

以不同浓度(0、2.5、7.5、15、30 $\mu\text{mol/L}$)的 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞 48 h 后,Western-blot 检测 MAPK 信号通路及凋亡相关蛋白表达。结果显示,Gefitinib 浓

度依赖性显著上调 p-p38、p-JNK MAPK 通路相关磷酸化蛋白和 Cleaved-PARP 蛋白 (89 kDa) 表达。同时随 Gefitinib 浓度的增加,磷酸化 p-ERK 和凋亡相关蛋白 Caspase-3 (35 kDa) 表达量逐渐下调。见图 5、6。

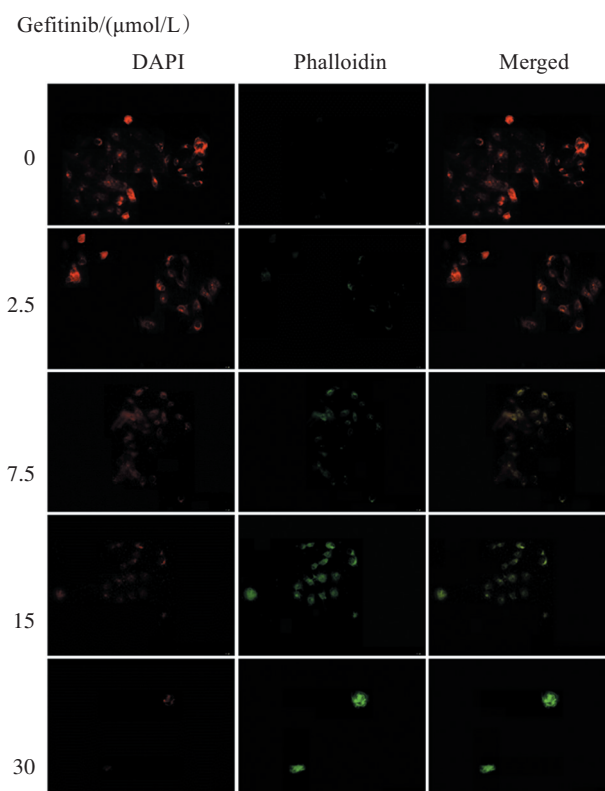


图4 免疫荧光染色观察 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞后膜电位变化($\times 200$)

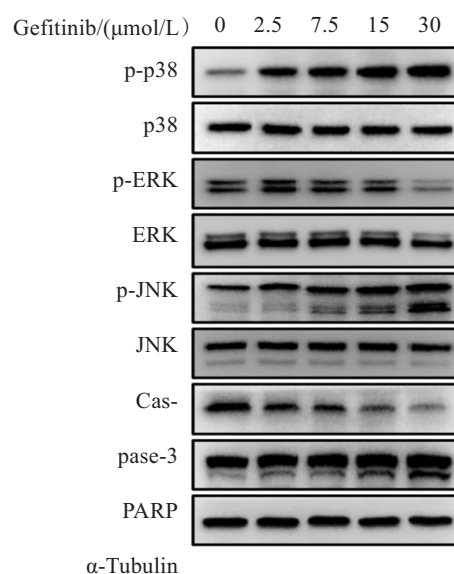
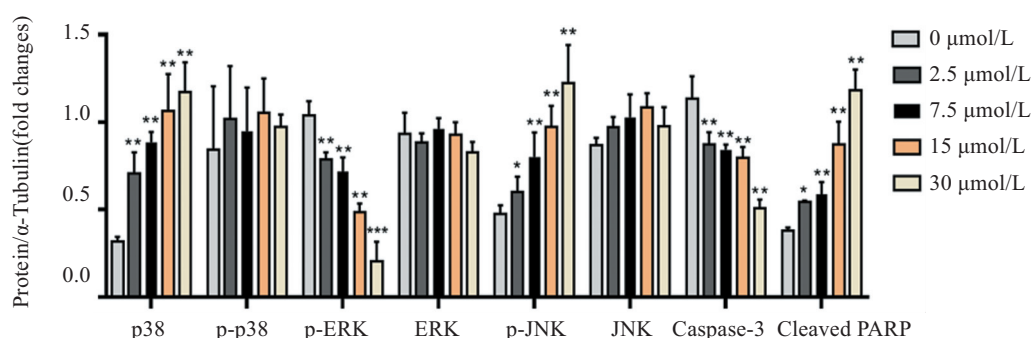


图5 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞中 Western-blot 检测 MAPK 通路及凋亡相关蛋白表达水平



与 0 μmol/L 组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

图6 Gefitinib 处理 Caco-2 细胞中检测 MAPK 通路及凋亡相关蛋白相对表达水平

3 讨论

直肠癌是常见的恶性肿瘤,发病率及病死率在国内外有逐年上升的趋势,目前临床治疗以根治性手术结合化疗为主,但传统的放化疗效果差,毒性不良反应明显,且细胞存在耐药性,患者5年生存率并不理想^[5]。分子靶向治疗是近年肿瘤治疗的热点领域,在对抗肿瘤方面具有较强的针对性,且对正常细胞的毒性不良反应相对较小^[6]。

有研究表明 EGFR 在结直肠癌等多种实体瘤中存在过表达或异常表达的情况,是目前最为主要的靶点之一^[7]。Gefitinib 作为 EGFR 通路抑制剂,可竞争性结合受体,抑制 MAPK 活化,从而抑制肿瘤组织血管生成,并诱导肿瘤细胞凋亡^[3,8]。

细胞凋亡是指为了维持内环境稳定,由基因控制细胞的自主有序的死亡,这是一个主动的过程,涉及细胞形态学变化及一系列基因的激活、表达、调控等作用^[9]。MTS 以及 AnnexinV-FITC/PI 双染检测细胞凋亡结果提示,在 0~30 μmol/L 的浓度范围和 24~72 h 的时间范围内, Gefitinib 对 Caco-2 细胞增殖的抑制呈浓度-时间依赖性,并且使细胞早期和晚期凋亡率逐步升高。在细胞形态学方面,本研究的荧光双标记结果提示,随着 Gefitinib 浓度的递增,细胞核固缩破裂,染色质皱缩浓集,骨架微丝溶解断裂,进一步验证 Gefitinib 能促进 Caco-2 细胞凋亡。

细胞信号通路是细胞凋亡的重要调控机制。由于细胞凋亡启动阶段的差异,可分为:(1)线粒体通路,受到内源性刺激使线粒体膜电位降低,释放凋亡酶激活因子激活 caspase 级联反应;(2)死亡受体通路,由于外界凋亡信号启动, TNFR 及其配体介导进而激活 caspase8 及随后的级联反应;(3)内质网通路,由内质网失常引起,从而破坏 Ca^{2+} 平衡和蛋白合成,引起凋亡^[10]。

有丝分裂原活化蛋白激酶(MAPK)是一种可被多种信号激活的丝/苏氨酸激酶,经磷酸化后可参与多种生物活性,如调节基因转录、细胞周期、诱导凋亡等^[11-12]。现已发现 MAPK 有 p38、ERK、ERK5、JNK4 个亚族,其中 p38、ERK、JNK3 条通路与肿瘤细胞凋亡尤为密切。有研究发现 Gefitinib 能通过 JNK 通路影响 Bax/ Bcl-2 比例从而促进线粒体释放细胞色素 c,进而诱导小细胞肺癌和前列腺癌细胞发生凋亡^[13-14]。本文结果发现,不同浓度 Gefitinib 处理细胞后, p-p38、p-JNK 和 Cleaved-PARP 蛋白发生不同程度的浓度依赖性上调,而 p-ERK 和凋亡关键蛋白 Caspase-3 表达逐渐下降。此外 JC-1 免疫荧光染色观察显示随着 Gefitinib 浓度升高,红色/绿色荧光逐渐降低。这些结果提示 Gefitinib 可能通过 MAPK 通路介导线粒体膜电位减低,从而诱导人结肠癌 Caco-2 发生凋亡。

综上所述,本研究在细胞层面证明了 Gefitinib 对 Caco-2 增殖有明显抑制作用,可促进细胞凋亡。其机制可能为 Gefitinib 通过调节 Caco-2 细胞中 p-p38、p-ERK、p-JNK 磷酸化蛋白的表达介导线粒体膜电位的降低,释放出凋亡酶激活因子激活 caspase 级联反应,使 Caspase-3 活化进而使 PARP 蛋白在内的多种关键细胞底物发生裂解,最终诱导细胞发生凋亡。但本实验仅限于体外实验, Gefitinib 对 Caco-2 细胞周期的影响,以及在动物体内的抗肿瘤活性尚不明确,相关机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] FENG Y, DAI X, LI X, et al. EGF signalling pathway regulates colon cancer stem cell proliferation and apoptosis[J]. Cell Prolif, 2012, 45(5): 413-419.
- [2] JONES H E, GEE J M W, BARROW D, et al. Inhibition of insulin receptor isoform-A signalling restores sensitivity to

- gefitinib in previously de novo resistant colon cancer cells[J]. Br J Cancer, 2006, 95(2): 172-180.
- [3] YUAN H H, HAN Y, BIAN W X, et al. The effect of monoclonal antibody cetuximab (C225) in combination with tyrosine kinase inhibitor gefitinib (ZD1839) on colon cancer cell lines [J]. Pathology, 2012, 44(6): 547-551.
- [4] MEYERHARDT J A, HESELTINE D, OGINO S, et al. Efficacy of cetuximab after treatment with oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer[J]. Clin Colorectal Cancer, 2006, 6(1): 59-65.
- [5] HODGKINSON N, KRUGER C A, ABRAHAMSE H. Targeted photodynamic therapy as potential treatment modality for the eradication of colon cancer and colon cancer stem cells [J]. Tumour Biol, 2017, 39(10): 1010428317734691.
- [6] MAENNLING A E, TUR M K, NIEBERT M, et al. Molecular targeting therapy against EGFR family in breast cancer: progress and future potentials[J]. Cancers (Basel), 2019, 11(12): 1826.
- [7] ZHOU Y, LI S, HU Y P, et al. Blockade of EGFR and ErbB2 by the novel dual EGFR and ErbB2 tyrosine kinase inhibitor GW572016 sensitizes human colon carcinoma GEO cells to apoptosis[J]. Cancer Res, 2006, 66(1): 404-411.
- [8] YEUNG Y T, YIN S, LU B, et al. Losmapimod overcomes gefitinib resistance in non-small cell lung cancer by preventing tetraploidization[J]. EBioMedicine, 2018, 28: 51-61.
- [9] CHEN L, MENG Y, GUO X, et al. Gefitinib enhances human colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis of via autophagy-and JNK-mediated death receptors upregulation[J]. Apoptosis, 2016, 21(11): 1291-1301.
- [10] D'ARCY M S. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy[J]. Cell Biol Int, 2019, 43(6): 582-592.
- [11] SU M Q, ZHOU Y R, RAO X, et al. Baicalein induces the apoptosis of HCT116 human colon cancer cells via the upregulation of DEPP/Gadd45a and activation of MAPKs[J]. Int J Oncol, 2018, 53(2): 750-760.
- [12] NAGAPPAN A, LEE W S, YUN J W, et al. Tetraarsenic hexoxide induces G2/M arrest, apoptosis, and autophagy via PI3K/Akt suppression and p38 MAPK activation in SW620 human colon cancer cells [J]. PLoS One, 2017, 12(3): e0174591.
- [13] WANG Y, XU C, XU B, et al. Xiaoi Jiedu recipe inhibits proliferation and metastasis of non-small cell lung cancer cells by blocking the P38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway[J]. Med Sci Monit, 2019, 25: 7538-7546.
- [14] PARK I J, KIM M J, PARK O J, et al. Cryptotanshinone sensitizes DU145 prostate cancer cells to Fas(APO1/CD95)-mediated apoptosis through Bcl-2 and MAPK regulation[J]. Cancer Lett, 2010, 298(1): 88-98.

版 权 声 明

为适应我国信息化建设,扩大本刊及作者知识信息交流渠道,本刊编辑部已将《广东医科大学学报》的文献数据在中国知网、万方数据-数字化期刊群、维普网、中教数据库等以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播,其作者文章著作权使用费与本刊稿酬一次性给付(在收取发表费时折扣),作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我编辑部上述声明。

本刊编辑部