

小豆蔻明诱导 K562 细胞凋亡及其 相关凋亡蛋白的表达

翟 幹¹, 沈一平², 沈嫣婧³, 楼正青³, 丁志山⁴

(1. 浙江省立同德医院, 浙江 杭州 310012; 2. 浙江省中医院, 浙江 杭州 310006;
3. 杭州市中医院, 浙江 杭州 310007; 4. 浙江中医药大学, 浙江 杭州 310053)

【摘要】 目的 探讨小豆蔻明诱导 K562 细胞凋亡与 PTEN、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 等抑凋亡蛋白及促凋亡蛋白表达量的关系。**方法** ①普通光镜观察小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h 后的细胞形态学变化。②采用 MTT 法检测小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h 后的凋亡情况, 计算 IC₅₀。③应用流式细胞仪检测小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h 后的细胞凋亡率。④采用 RT-PCR 技术检测小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h 后 Bcl-2、Bax 的 mRNA 表达量。⑤采用 Western blot 技术检测小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h 后 PTEN、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 的蛋白表达量。**结果** 小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h 后, 形态学出现明显凋亡现象。MTT 提示 K562 细胞增殖抑制明显且呈量效和时效关系。早期凋亡率与空白组比有显著增加 ($P < 0.05$), 呈剂量依赖关系。Bcl-2 mRNA 的表达较空白组明显下降 ($P < 0.05$), Bax mRNA 的表达较空白组明显升高 ($P < 0.05$), 呈现浓度依赖性。PTEN 蛋白表达量随小豆蔻明的浓度增加明显增加, 而 p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白表达量则减少。**结论** 小豆蔻明通过增加 PTEN 蛋白的表达量, 同时下调 p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白的表达量促进 K562 细胞的凋亡, 且呈剂量依赖性。

【关键词】 小豆蔻明、K562 细胞、凋亡、PTEN、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 10-0007-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.010.002

Cardamonin induces apoptosis and expression of apoptosis-related proteins in K562 cells

ZHAI Wo¹, SHEN Yi-ping², SHEN Yan-jing³, LOU Zheng-qing³, DING Zhi-shan⁴

(1. TongDe Hospital of Zhejiang Province, Hangzhou 310012, China;

2. Zhejiang Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310006;

3. Hangzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310007;

4. Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310053)

【Abstract】 Objective To observe the apoptotic effect of cardamonin on K562 cells and its relationship with the expressions of PTEN, p-Akt, NF- κ B and Bcl-2. **Methods** K562 cells were treated with cardamonin for 48 h, and the following tests were performed: (1) The cell morphology was observed by light microscopy. (2) IC₅₀ of the K562 cells was determined by MTT test. (3) The apoptosis rate was detected by flow cytometry. (4) The expressions of Bcl-2 and Bax

[基金项目] 浙江省医药卫生一般研究计划(2012KYB136); 浙江省大学生科技创新活动计划资助项目(2012 R410057)。

[作者简介] 翟幹(1986-), 男, 浙江省立同德医院血液科, 研究方向: 血液病研究, 657572008@qq.com。

[通讯作者] 丁志山(1967-), 男, 浙江中医药大学, 研究方向: 肿瘤耐药机制研究, 邮箱 zjtcmdzs@163.com。

mRNA were detected a by RT-PCR. (5) The expressions of PTEN, p-Akt, NF- κ B and Bcl-2 proteins were detected by Western blot. **Results** Obvious apoptosis was observed in the K562 cells after treated with cardamonin for 48 h. MTT assay indicated that the proliferation of K562 cells was obviously inhibited in a dose- and time-dependent manner. Comparing with the blank group, the early apoptosis rate and expression of Bax mRNA were significantly increased. At the same time, the expression of Bcl-2 mRNA was significantly decreased. All of them presented a dose-dependent manner. The expression of PTEN obviously increased with the increasing dose of cardamonin and the expressions of p-Akt, NF- κ B and Bcl-2 were decreased. **Conclusions** Cardamonin promotes the apoptosis in K562 cells in a dose-dependent manner by increasing the expression of PTEN and decreasing the expressions of p-Akt, NF- κ B, and Bcl-2.

【Key words】 Cardamonin; K562 cells; Apoptosis, PTEN, p-Akt, NF- κ B, Bcl-2

小豆蔻明(cardamonin),分子式: $C_{16}H_{14}O_4$,分子量:270.28,化学结构为2',4'-二羟基-6'-甲氧基查尔酮,姜科植物草豆蔻中含量较多。最近有文献报道小豆蔻明具有调节糖代谢^[1]、舒张血管^[2]、抗炎^[3]、抗肿瘤^[4-6]等作用。本文将从 PTEN/PI3K/Akt 通路阐述小豆蔻明诱导 K562 细胞凋亡机制,继续从人慢性粒细胞白血病(CML)发病的分子水平寻找新的治疗手段。

1 材料和方法

1.1 实验细胞及实验材料

人慢性粒细胞白血病细胞株 K562,由浙江省中医院血液科实验室提供,实验采用对数生长期 K562 细胞。小豆蔻明(纯度>98%)批号:110763 北京世纪奥科生物技术有限公司。胎牛血清购自杭州四季青生物工程材料公司,RPMI1640 培养液;Trizol RNA 提取试剂盒、逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)试剂盒、DEPC、dNTP、Random primers 均为 TaKaRa 生物公司产品。PCR 引物(由上海生工生物技术服务公司合成): β -actin:上游 5'-CAGTCCACCATCC AATGCAC-3',下游 5'-CCATCCACCT GCCTGTTGTA-3',大小 598bp。Bcl-2:上游 5'-CTTCGCCGAG ATGTCCAG-3',下游 5'-GGCTCAGATAGGCA CCCA-3',大小 369 bp。Bax:上游 5'-CCTTTTG CTTCAGG GTTT-3',下游 5'-TCTTCCAGATGCTGAGTGAG-3',大小 321 bp。羊抗兔二抗批号:G130321 Epitomics,PTEN 一抗批号:YH092107 Epitomics,p-Akt 一抗批号:B8501ImmunoWay Biotechnology,NF- κ B 一抗批号:130809W 博奥森生物公司,Bcl-2 一抗批号:R080429 华安生物公司, β -actin 引物购买于华美生物工程公司。

1.2 方法

(1)细胞培养、配药、加药。将 K562 细胞接种于含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 U/mL

链霉素的 RPMI1640 培养液中,37℃、5% CO_2 、饱和湿度的培养箱中常规培养。取小豆蔻明 5 mg 溶于 1 mL 的二甲基亚砜(DMSO)震荡、配置成 5 mg/mL 母液。取 4 μ L 的母液+36 μ L 的 DMSO 配置成 0.5 mg/mL 的工作液 40 μ L,96 孔板中每 200 μ L 的细胞液加入 2 μ L 工作液,终浓度为 5 μ g/mL;类似方法配置药物、加药,加药后各孔混匀。各组的梯度终浓度为 0 μ g/mL、5 μ g/mL、10 μ g/mL、20 μ g/mL。(2)普通光镜观察细胞形态学。加药后 24 h,普通光镜下观察细胞生长状况。(3)MTT 测定生长抑制率。各组加药后 24 h、48 h、72 h,每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 溶液 20 μ L,混匀 37℃继续孵育 2 h 后,离心后加入 DMSO 150 μ L,混匀 10 min 后于 490 nm 波长处用酶标仪测定各吸光度值(A),按公式(生长抑制率(%))=1-实验组 A 值/对照组 A 值 $\times$ 100%)计算抑制率。(4)细胞凋亡率检测。收集小豆蔻明(0 μ g/mL、5 μ g/mL、10 μ g/mL、20 μ g/mL)作用 24 h 后的细胞,PBS 漂洗两次细胞,取 3×10^5 个的细胞,按照流式试剂盒说明书加入 AV、PI;15 min 后于流式细胞仪检测。(5)RT-PCR 检测相关基因的表达。收集小豆蔻明(0 μ g/mL、5 μ g/mL、10 μ g/mL、20 μ g/mL)作用 24 h 后的细胞 5×10^5 个,提取细胞总 RNA。cDNA 的合成。PCR 反应步骤:95℃ 3 min 预变性,95℃ 5 s,60℃ 45 s,循环 40 次。溶解曲线分析要求 95℃ 15 s,60℃ 15 s,缓慢上升至 95℃ 15 s。(6)Western blot 检测相关蛋白表达。收集小豆蔻明(0 μ g/mL、5 μ g/mL、10 μ g/mL、20 μ g/mL)作用 24 h 后的细胞 3×10^5 个,提取蛋白、配胶、电泳、转膜、封闭、一抗、二抗杂交、显影。

1.3 统计学方法

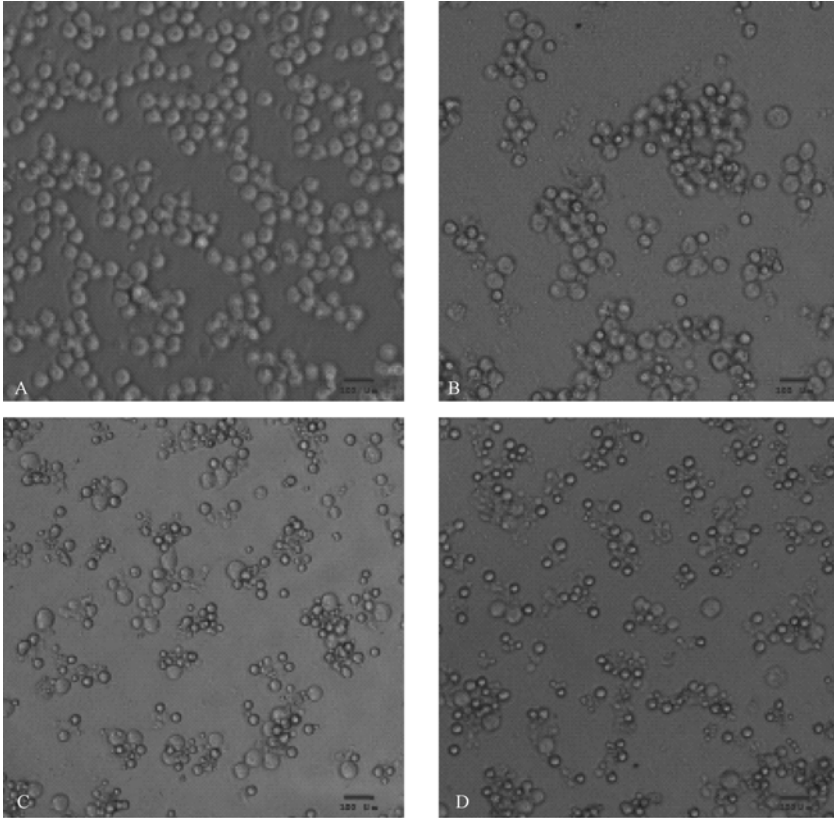
结果以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行处理分析,各组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计意义。

2 结果

2.1 普通光镜观察

小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h 后,细胞数量明

显减少,形态由圆形变为不规则,出现凋亡小体,细胞体积缩小,胞膜皱缩,不均匀,碎片逐步增多。说明 K562 细胞出现了凋亡现象,随着小豆蔻明浓度的增加,这种凋亡现象更加明显。(图 1)



A 空白组图;B 小豆蔻明 5μg/mL;C 小豆蔻明 10μg/mL;D 小豆蔻明 20μg/mL

图 1 不同浓度的小豆蔻明作用于 K562 细胞 48h 后形态变化(标尺 = 100μm)

Fig. 1 The cell morphology of K562 cells after treated with different concentrations of cardamomin for 48 h (Bar = 100μm)

2.2 MTT 法检测小豆蔻明对 K562 细胞的抑制率

小豆蔻明作用 K562 细胞 24 h、48 h、72 h 后,细胞出现不同程度的抑制作用,抑制率随着小豆蔻明浓度及时间的增加而增加,呈现量效和时效关系。小豆蔻明(30 μg/mL)组增殖未见明显增加。小豆蔻明(10 μg/mL)作用 K562 细胞 48 h 抑制率梯度明显,故选用小豆蔻明(0 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL)作用 K562 细胞 48 h 为随后实验选用细胞,小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h,IC₅₀ = 13.42 μg/mL(见表 1,表 2)。

2.3 流式结果

提示小豆蔻明(空白组(0 μg/mL)、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL)处理 K562 细胞 48 h 后,K562 细胞的早期凋亡率分别为 (13.52 ± 1.38)%、(19.15 ± 2.06)%、(28.33 ± 1.61)% 左右,与空白组(凋亡率(1.4 ± 0.6)%) 均有显著增加 (P <

0.05),K562 细胞表现出明显的凋亡,凋亡率随着小豆蔻明浓度的增加而增加,而且呈现剂量依赖关系(图 2)。

表 1 小豆蔻明作用 K562 细胞 48 h 后的 MTT 结果分析
Tab. 1 MTT of K562 cells treated with cardamomin for 48 h

组别(μg/mL) Groups	吸光度(A) Absorbance	抑制率(%) Inhibition rate
空白组(0) Blank	0.92 ± 0.06	0
5	0.72 ± 0.13 *	21.73
10	0.55 ± 0.16 *	40.21
20	0.26 ± 0.08 *	71.73
30	0.24 ± 0.05 *	73.91

* 表示与空白组相比 P < 0.05
Note. * vs. the blank group.

2.4 RT-PCR 结果

RT-PCR 结果表明,梯度剂量的小豆蔻明(0 μg/mL、5 μg/mL、10 μg/mL、20 μg/mL)处理 K562

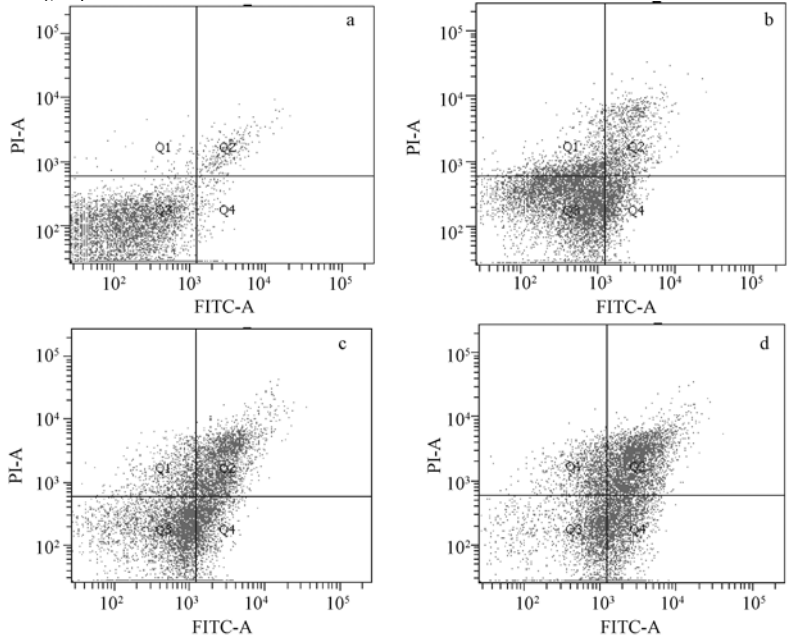
细胞 48 h 后,细胞内 Bcl-2、Bax 的 mRNA 表达变化明显,Bcl-2 mRNA 的表达较空白组明显下降($P < 0.05$),Bax mRNA 的表达较空白组明显升高($P < 0.05$),Bax、Bcl-2 的 mRNA 表达与小豆蔻明呈浓度依赖性(表 3)。

表 2 小豆蔻明(10 $\mu\text{g/mL}$)作用 K562 细胞不同时间的 MTT 结果分析

Tab.2 MTT assay of the K562 cells treated with cardamonin (10 $\mu\text{g/mL}$) for different times

作用时间 Time(h)	吸光度(A) Absorbance		抑制率(%) Inhibition rate
	对照组 Control	实验组 Experimental	
24	0.75 $\pm$ 0.09	0.61 $\pm$ 0.15 *	18.66
48	0.88 $\pm$ 0.15	0.53 $\pm$ 0.26 *	39.77
72	0.91 $\pm$ 0.26	0.51 $\pm$ 0.33 *	43.95

* 表示与空白组相比 $P < 0.05$
Note. * $P < 0.05$, vs. the blank group.



a 空白组图;b 小豆蔻明 5 $\mu\text{g/mL}$;c 小豆蔻明 10 $\mu\text{g/mL}$;d 小豆蔻明 20 $\mu\text{g/mL}$

图 2 不同浓度的小豆蔻明作用于 K562 细胞 48 h 后凋亡率检测结果

Fig.2 The apoptosis rate of K562 cells treated with different concentrations of cardamonin for 48 h

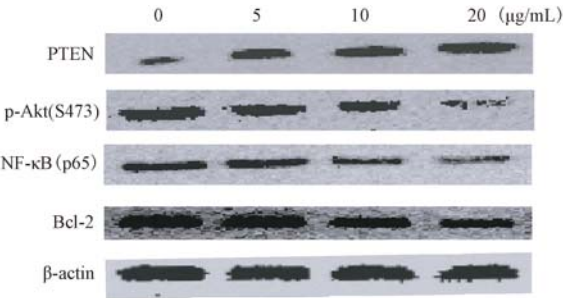


图 3 K562 细胞中 PTEN、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白表达量的变化
Fig.3 Expression of PTEN, p-Akt, NF- κ B and Bcl-2 proteins of the K562 cells

表 3 小豆蔻明作用 K562 细胞 48h 后细胞内 Bcl-2、Bax 的 mRNA 表达量变化

Tab.3 The mRNA expressions of Bcl-2 and Bax in the K562 cells treated with cardamonin for 48 h

项目 Items	空白组 Blank	低浓度组 Low dose	中浓度组 Moderate dose	高浓度组 High dose
Bcl-2	1.23 $\pm$ 0.15	0.99 $\pm$ 0.30 *	0.69 $\pm$ 0.20 *	0.25 $\pm$ 0.29 *
Bax	0.99 $\pm$ 0.45	1.22 $\pm$ 0.30 *	1.98 $\pm$ 0.26 *	2.50 $\pm$ 0.42 *

* 表示与空白组相比 $P < 0.05$
Note. * $P < 0.05$, vs. the blank group.

2.5 不同浓度的小豆蔻明(0 $\mu\text{g/mL}$ 、5 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、20 $\mu\text{g/mL}$) 处理 K562 细胞 48 h 后检测 PTEN、p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白

结果提示,PTEN 蛋白表达量随小豆蔻明的浓度增加明显增加,p-Akt、NF- κ B、Bcl-2 蛋白表达量随小豆蔻明的浓度增加明显减少(图 3)。

3 讨论

1977 年 Li 等首先报道 PTEN,定位于 10q23.3 的一种抑癌基因。在生理情况下,PTEN 可以抑制 Akt 通路的过度活化。通过使磷脂酰肌醇 D3 环去磷酸化,抑制 PI3K 活化,负性调节 PI3K/Akt/PKB 通路。抑制细胞增殖,促进细胞凋亡^[7]。而在病理情况下,PTEN 表达减弱或缺失,失去对 PI3K/Akt 通路的抑制作用,肿瘤发生。目前报道在大多实体瘤及骨髓瘤中 PTEN 基因存在不同程度的突变或缺

失。PTEN 在造血系统疾病中的研究也逐渐增多^[8]。试验中小豆蔻明处理 K562 细胞 48 h 后检测到 PTEN 蛋白表达量明显增加,小豆蔻明具有促进抑癌蛋白量表达的作用,PTEN 表达量增加进而抑制了 PI3K 的活化,抑制 PI3K/Akt 通路的活化,促进肿瘤细胞凋亡,调节细胞增殖周期。

PTEN + PI3K/Akt 是人体细胞内重要的信号转导通路之一,广泛参与到细胞的各项生理病理功能活动中。激活的 PI3K 可激活 Akt,其从胞膜转移到胞核:终止 Bad 对抑凋亡蛋白 Bcl-2 和 Bcl-XL 的拮抗作用;解离 I κ B、NF- κ B 二聚体,促进下游基因的表达;通过作用于 P21、P27、cyclinD1 调节细胞周期和增殖;作用于 mTOR 和 P70S6K 激酶通路调节细胞生长,等等。

PI3K/Akt 通路的活化在肿瘤发生中表现为抑制细胞凋亡。酪氨酸激酶、mTORC2、表皮生长因子(EGF)、血小板衍生因子(PDGF)、胰岛素样生长因子(IGF-1)、白介素-6(IL-6)等均可活化 PI3K/Akt 通路。活化的 Akt 可进一步活化下游 I κ Bs,导致 I κ B 从三聚体(p50、p65、I κ B)中解离出来,NF- κ B 暴露出核内结合位点受体 p50、p65,与核内的 Rel 类蛋白质二聚体转录因子结合,导致下游的基因转录(如 IL-1、IL-2、IL-3、IL-6、IL-8、MIP-1A、ICAM-1、VCAM-1、Bcl-xl、cyclin D1 等)。同时 NF- κ B 与 Bcl-2 家族基因(bcl-2、bcl-xl)上游启动子区域(κ B)位结合,抑凋亡蛋白的表达增加。

He 等^[9]运用小豆蔻明及类似物抑制肺腺癌细胞的 NF- κ B 通路而促进癌细胞凋亡。秦铀等^[10]报道;小豆蔻明通过抑制骨髓瘤细胞 NF- κ B 通路上游蛋白活性抑制 NF- κ B 解离,抑制 STAT3 通路下游的基因产物,诱导骨髓瘤细胞凋亡。本实验中小豆蔻明处理 K562 细胞后,抑制了 Akt 的活化,p-Akt 蛋白量减少,减少了 I κ B 的活化,抑制 NF- κ B 从三聚体(p50、p65、I κ B)中解离,减少了下游抑凋亡蛋白的表达,及一些具有导致细胞分裂周期失衡,增殖过度活跃作用的细胞因子的表达释放。促进肿瘤细胞的凋亡。

活化的 Akt 可以进一步活化胞浆中促凋亡蛋白(Bax、Bad 等),释放抗凋亡蛋白,增加胞浆中游离的抗凋亡蛋白(Bcl-2、Bcl-XL 等)的量。Bad 广泛存在于线粒体外膜上。静息状态 Bad、Bax 可与 Bcl-2 形成复合体,具有促进凋亡作用^[11]。活化的 Akt 可以磷酸化 Bad,活化的 Bad 就脱离了其与 Bcl-2 形成

二聚体复合物,仅仅 Bad 是不能促进细胞凋亡的,此时胞浆中存在大量游离的抗凋亡因子 Bcl-2,进而起到抑制细胞凋亡的作用,小豆蔻明处理 K562 细胞后,抑制 Akt 的活化,导致 Bad 与 Bcl-2 形成复合体,减少胞浆中游离抑凋亡蛋白 Bcl-2 表达量,RT-PCR 提示同时 Bcl-2 基因的表达量减少与 NF- κ B 抑制 Bcl-2 家族基因(Bcl-2、Bcl-XL)的表达有关。即减少胞浆中游离的 Bcl-2 蛋白,又减少了 Bcl-2 基因的翻译。从而使小豆蔻明达到促进 K562 细胞凋亡的作用。

舒向荣等^[12]报道;在分子水平证实小豆蔻明通过 caspase 和 PARP 活化途径诱导骨髓微环境中 MM 细胞的凋亡机制。也有文献^[13-15]报道小豆蔻明通过抑制 mTOR 及其下游蛋白而抑制细胞的增殖及新生血管的生成。小豆蔻明抗肿瘤是多重效应的,还要继续从分子层面深入研究小豆蔻明抗肿瘤机制。深入研究慢性粒细胞性白血病的发病机制。为小豆蔻明的动物及临床试验做铺垫。

参考文献:

- [1] Yamamoto N, Kawabata K, Sawada K, et al. Cardamonin stimulates glucose uptake through translocation of glucose transporter-4 in L6 myotubes [J]. *Pyhtother Res*, 2011, 25 (8): 1218 - 1224.
- [2] Fusi F, Cavalli M, Mulholland D, et al. Cardamonin is a bifunctional vasodilator that inhibits Ca (v) 1.2 current and stimulates K (Ca) 1.1 current in rat tail artery myocytes [J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2010, 332(2): 531 - 540.
- [3] Hatzieremia S, Gray AI, Ferro VA, et al. The effects of cardamonin on lipopolysaccharide-induced inflammatory protein production and MAP kinase and Nf κ B signalling pathways in monocytes/macrophages [J]. *Br J Pharmacol*, 2006, 149(2): 188 - 198.
- [4] Park MK, Seung HJ, Lee HJ, et al. Novel suppressive effects of cardamonin on the activity and expression of transglutaminase-2 lead to blocking the migration and invasion of cancer cells [J]. *Life Sci*, 2013, 92(2): 154 - 160.
- [5] Hyeonseok K, Young-J K, Evangeline CA, et al. Induction of autophagy by dimethyl cardamonin is associated with proliferative arrest in human colorectal carcinoma HCT116 and LOVO cells [J]. *J Cellular Biochem*, 2011, 112(9): 2471 - 2479.
- [6] Yadav VR, Prasad S, Aggarwal BB, et al. Cardamonin sensitizes tumour cells to TRAIL through ROS- and CHOP-mediated up-regulation of death receptors and down-regulation of survival proteins [J]. *Br J Pharmacol*, 2012, 165(3): 741 - 753.
- [7] Montiel-DC, Cordeu L, Agirre X, et al. Resistance to imatinib mesylate-induced apoptosis in acute lymphoblastic leukemia is

(下转第 17 页)

- [5] 廖德祥. 过氧乙酸接触性皮炎 1 例 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 1994, 8(2):131-132.
- [6] 王群, 王爽. 急性过氧乙酸中毒致急性肺水肿 1 例 [J]. 中国工业医学杂志, 1997, 10(2):75-126.
- [7] 王俊萍, 申鲁生, 王俊霞. 过氧乙酸中毒 1 例 [J]. 小儿急救医学, 2003, 10(6):394.
- [8] 马红蕾, 孔祥瑞, 马景学. 过氧乙酸引起眼部损伤 1 例报告 [J]. 眼外伤职业眼病杂志, 2003, 25(6):376.
- [9] 张敏, 王京燕, 纪晓光, 等. 过氧乙酸消毒剂的毒性研究 [J]. 中国消毒学杂志, 2004, 21(3):222-224.
- [10] 燕丽, 白志鹏, 高翔, 等. 过氧乙酸消毒剂对人体健康影响的调查 [J]. 职业与健康, 2005, 21(1):14-15.

[修回日期]2014-07-24

(上接第 6 页)

- [8] Tongqing Zhou, Ling Xu, Barna Dey, et al. Structural definition of a conserved neutralization epitope on HIV-1 gp120 [J]. Nature, 2007, 445(7129):732-737.
- [9] Feizi T, Larkin M. AIDS and glycosylation [J]. Glycobiology, 1990, 1:17-23.
- [10] Sharpless NE, O'Brien WA, Verdin E, et al. Human immunodeficiency virus type 1 tropism for brain microglial cells is determined by a region of the env glycoprotein that also controls macrophage tropism [J]. Virol, 1992, 66:2588-2593.
- [11] Prosperi MC, Bracciale L, Fabbiani M, et al. Comparative determination of HIV-1 co-receptor tropism by enhanced sensitivity Trofile, gp120 V3-loop RNA and DNA genotyping [J]. Retrovirology, 2010, 7:56.
- [12] Cordonnier A, Montagnier L, Emerman M. Single amino-acid changes in HIV envelope affect viral tropism and receptor binding [J]. Nature. 1989, 340(6234):571-574.
- [13] Shioda T, Levy JA, Cheng-Mayer C. Small amino acid changes in the V3 hypervariable region of gp120 can affect the T-cell-line and macrophage tropism of human immunodeficiency virus type 1 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992, 89(20):9434-9438.
- [14] Takeuchi Y, Akutsu M, Murayama K et al. Host range mutant of human immunodeficiency virus type 1: modification of cell tropism by a single point mutation at the neutralization epitope in the env gene [J]. J Virol, 1991, 65(4):1710-1718.
- [15] Moses AV, Bloom FE, Pauza CD, et al. Human immunodeficiency virus infection of human brain capillary endothelial cells occurs via a CD4/galactosylceramide-independent mechanism [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90(22):10474-10478.
- [16] Rossi F, Querido B, Nimmagadda M, et al. The V1-V3 region of a brain-derived HIV-1 envelope glycoprotein determines macrophage tropism, low CD4 dependence, increased fusogenicity and altered sensitivity to entry inhibitors [J]. Retrovirology, 2008, 5:89.

[修回日期]2014-08-27

(上接第 11 页)

- associated with PTEN down regulation due to promoter hypermethylation [J]. Leuk Res, 2008, 32(5):709-716.
- [8] Omer HY, Valdez R, Brian KT, et al. Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells [J]. Nature, 2006, 441(7092):475-482.
- [9] He WY, Jiang Y, Zhang XB, et al. Anticancer cardamonin analogs suppress the activation of NF-kappaB pathway in lung cancer cells [J]. Mol Cell Biochem 2014, 389(1-2):25-33.
- [10] 秦铀, 胡豫. 小豆蔻明抗多发性骨髓瘤多重效应及其分子机制 [D]. 武汉, 华中科技大学, 2011:1-119.
- [11] Sawa H, Kobayashi T, Mukai K, et al. Bax overexpression enhances cytochrome c release from mitochondria and sensitizes KATOIII gastric cancer cells to chemotherapeutic agent-induced apoptosis [J]. Int J Oncol, 2000, 16(4):745-754.
- [12] 舒向荣, 胡豫. 小豆蔻明诱导骨髓微环境中多发性骨髓瘤细胞 Caspase 依赖性凋亡 [D]. 武汉, 华中科技大学, 2013:1-91.
- [13] 郑炜, 史道华. 小豆蔻明对人脐动脉平滑肌细胞增殖的影响及机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(17):2318-2323.
- [14] 汤莹. 小豆蔻明基于 mTOR 作用靶标的研究 [D]. 福建, 福建医科大学, 2010:1-61.
- [15] 薛增贵. 基于 mTOR 靶标小豆蔻明抑制肿瘤血管生成及其机制的研究 [D]. 福州, 福建医科大学, 2013:1-43.

[修回日期]2014-09-07