DOI:10.16016/j.2097-0927.202201161

左旋棉酚通过下调 X 连锁凋亡抑制蛋白增强表柔比星抑制肝细胞癌的体外作用

蒋文斌[1],孙梁博[2],杜烨湘[1],肖云华[3],黎伯胜[1],闫小晶[1],吴亚冉[2],连继勤[2],何凤田[1] 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学):基础医学院生物化学与分子生物学教研室[1],药学与检验医学系临床生物化学教研室[2],第一附属医院核医学科[3]

[摘要] **目的** 探讨左旋棉酚增强表柔比星杀伤肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)细胞的作用及可能机制。**方法** 将 HCC 细胞(Hep3B 及 HuH7)分为溶剂对照组、左旋棉酚处理组、表柔比星处理组、联合用药组、对照 siRNA+表柔比星组、沉默 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)+表柔比星处理组、对照质粒+联合用药组、过表达 XIAP+联合用药组,采用 CCK-8 方法检测各组细胞存活情况;流式细胞术检测各组细胞凋亡情况;Western blot 检测剪切型聚(腺苷二磷酸-核糖)聚合酶[cleaved poly (ADP-ribose) polymerase, Cle-PARP]水平、XIAP 水平及真核起始因子 4E(eukaryotic initiation factor 4E, eIF4E)磷酸化水平。**结果** 与溶剂对照相比,低浓度的左旋棉酚(5 μmol/L)单独处理对 HCC 细胞存活无明显抑制作用($P>0.05$),而将左旋棉酚与表柔比星联合使用后可显著增强表柔比星对 HCC 细胞的杀伤($P<0.05$)、促进 HCC 细胞的凋亡及对剪切型 PARP 的诱导,同时还能抑制表柔比星诱导的 XIAP 上调及 eIF4E 磷酸化。此外,表柔比星抑制 HCC 细胞存活及升高剪切型 PARP 的能力能被沉默 XIAP 所增强,而被过表达 XIAP 所抑制。**结论** 左旋棉酚可增强表柔比星抑制 HCC 细胞存活促进细胞凋亡的能力,其机制可能与抑制 XIAP 上调和 eIF4E 磷酸化有关,提示左旋棉酚可作为表柔比星治疗 HCC 的潜在增敏剂。

[关键词] 表柔比星; 左旋棉酚; 肝细胞癌; X 连锁凋亡抑制蛋白; 真核起始因子 4E
[中图法分类号] R735.7; R966; R979.1 [文献标志码] A

(-)-Gossypol enhances epirubicin's anti-tumor effects on hepatocellular carcinoma *in vitro via* down-regulating X-linked inhibitor of apoptosis protein

JIANG Wenbin[1], SUN Liangbo[2], DU Yexiang[1], XIAO Yunhua[3], LI Bosheng[1], YAN Xiaojing[1], WU Yaran[2], LIAN Jiqin[2], HE Fengtian[1] [1]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences; [2]Department of Clinical Biochemisty, Faculty of Pharmacy and Laboratory Medicine; [3]Department of Nuclear Medicine, First Affiliated Hospital; Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038, China

[**Abstract**] **Objective** To investigate mechanism and effect on (-)-gossypol enhancing epirubicin killing hepatocellular carcinoma (HCC) cells. **Methods** HCC cells (Hep 3B and HuH7) were divided into 8 groups: control, (-)-gossypol, epirubicin, combination, si-control + epirubicin, si-X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP) + epirubicin, empty vector + combination and pEBB-XIAP + combination groups. Cell viability of each group was detected by CCK-8 assay; Cell apoptosis of each group was detected by flow cytometry and the level of cleavaged PARP, XIAP and eIF4E phosphorylation was detected by Western blot assay. **Results** Compared with the control group, no major effect was observed on cell viability exposed to

[基金项目] 重庆市博士后自然科学基金项目(cstc2021jcyj-bshX0200);重庆市博士后特别资助项目(2021XM2050);国家自然科学基金面上项目(81872024)

[通信作者] 何凤田,E-mail: hefengtian66@aliyun.com

2097-0927/Copyright © 2022, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

(-)-gossypol in 5 μmol/L ($P>0.05$). Combination of (-)-gossypol and epirubicin significantly enhanced the anti-survival effect on HCC cells ($P<0.05$), promoted cells apoptosis, increased the induction of cleavaged PARP, and inhibited XIAP up-regulation and eIF4E phosphorylation induced by epirubicin in HCC cells. Silencing XIAP promoted epirubicin to kill HCC cells and induced PARP cleavaged; Furthermore, XIAP over-expression attenuated epirubicin-induced anti-survival and pro-apoptosis of HCC cells enhanced by (-)-gossypol. **Conclusion** The combination of (-)-gossypol and epirubicin significantly inhibits HCC cells' survival and promotes cell apoptosis *via* suppressing epirubicin-induced phosphorylation of eIF4E and up-regulation of XIAP, suggesting that (-)-gossypol holds promise as a sensitizer for epirubicin-based HCC therapy.

[**Key words**] epirubicin; (-)-gossypol; hepatocellular carcinoma; XIAP; eIF4E

Supported by the Post-doctor Program of Natural Science Foundation of Chongqing (cstc2021jcyj-bshX0200), the Special Fund for Postdoctoral Science Research of Chongqing (2021XM2050), and the General Program of National Natural Science Foundation of China (81872024). Corresponding author: HE Fengtian, E-mail: hefengtian66@aliyun.com

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上常见的人类恶性肿瘤之一,也是全世界癌症死亡的主要原因之一。临床上除手术、放疗、全身化疗等治疗手段外,经动脉插管栓塞化疗(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)也是中晚期肝癌治疗的首选方法[2]。作为一种常规的抗肿瘤药,表柔比星(epirubicin, EPI)常被用于肝癌 TACE 化疗的一线治疗方案[3]。然而,在长期的表柔比星单药治疗过程中,HCC 细胞会对表柔比星耐药,从而导致 HCC 的复发和预后不良[4]。因此,寻找增强表柔比星杀伤 HCC 效果的策略对于改善 HCC 基于表柔比星的化疗具有重要的临床意义。

左旋棉酚[(-)-gossypol, (-)-G]是棉籽提取物中的一种有效成分,由于能够抑制精子发生和精子活动,曾在临床上被用作男性避孕药[5]。而近年来,左旋棉酚被证明对肝癌细胞在内的多种癌细胞系具有抗癌作用[6-8]。除单独使用发挥一定抗癌作用外,左旋棉酚还可增敏多种化疗药物的抗癌效应[9-11],而左旋棉酚是否能够增敏表柔比星尚不清楚。因此,本研究将探讨左旋棉酚能否增强表柔比星杀伤 HCC 细胞的能力及其可能的机制,以期为临床上提升表柔比星对 HCC 的疗效提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

商品化的人来源 HCC 细胞系 Hep3B、HuH7 购于中国科学院细胞库,由陆军军医大学基础医学院生物化学与分子生物学教研室保存。0.25%胰酶、DMEM 高糖培养基、MEM 培养基购于美国 HyClone 公司;胎牛血清购于江苏依科赛公司;表柔比星购于美国 Selleck 公司;左旋棉酚购于美国 Sigma 公司;CCK-8 试剂购于美国 MedChem Express 公司;凋亡检测试剂盒、RIPA 裂解液(强)、PMSF 购于江苏碧云天公司;PARP、XIAP 抗体购于美国 Cell Signaling Technology 公司;Tubulin 抗体购于德国 Novus 公司;lipofectamine 3000 脂质体、山羊抗兔二抗购于美国 Thermo 公司;PVDF 膜购于美国 Millipore 公司;ECL 发光液购于重庆葆光生物公司。

1.2 细胞培养与药物处理

Hep3B 细胞用含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基培养,HuH7 细胞用含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基培养,2 种细胞均置于 5% CO_2、37 ℃的条件下静置培养。每 2~3 天更换 1 次培养液或进行传代。当重新铺板后的细胞进入到对数生长期时,进行相应的药物处理。药物作用 24 h 或 48 h 后,收集细胞进行下一步实验。

1.3 细胞转染

在 2 个 EP 管中加入适量等体积无血清培养基,然后向其中一管加入 1 份体积的质粒/siRNA,向另一管加入 2 份体积的 lipofectamine 3000,各自混匀后静置 5 min。混合上述 2 管液体并在室温下静置 20 min,随后将混合液加入待转染细胞中。待细胞培养 12 h 后,移除含转染试剂的培养基并进行后续处理。pEBB-XIAP 及对照空载质粒购于美国 Addgene 公司;XIAP 及对照的 siRNA 由北京擎科生物公司合成。si-XIAP 序列为:正义链 5′-AAGUGGUAGUCCUGUUU-CAGCUU-3′;反义链 5′-AAGCUGAAACAGGACUAC-CACUU-3′。

1.4 CCK-8 检测细胞存活

将 3 000 个/孔细胞接种在 96 孔板中培养 24 h,随后对细胞进行药物处理。药物处理 48 h 后,弃去培养基,向每孔加入 100 μL 含 10% CCK-8 的相应培养

基,然后置于培养箱中4 h。最后测定各孔的光密度值[D(450)],并计算各组细胞的存活率。

1.5　流式细胞术检测细胞凋亡

HCC细胞铺于6孔板中,药物处理24 h,收集细胞并漂洗,用含Annexin V和PI的缓冲液重悬细胞并避光15 min后,采用流式细胞仪进行检测。Annexin V单阳为早期凋亡细胞,Annexin V和PI双阳为晚期凋亡细胞。以各组的早期凋亡细胞和晚期凋亡细胞的总和作为总的细胞凋亡率。

1.6　Western blot检测蛋白表达

用含有PMSF的细胞裂解液提取经药物处理24 h后的各组细胞中的总蛋白,调整蛋白质浓度后变性,经10%丙烯酰胺凝胶进行电泳分离。蛋白在浓缩胶中以80 V的电压进行电泳,当蛋白进入分离胶后以120 V的条件电泳1 h。随后用半干转印仪以恒流1.5 A的条件转膜30 min,将蛋白转印到PVDF膜上,并用5%蛋白封闭液常温封闭1 h。TBST洗膜后,用1∶1 000的相应抗体工作液4 ℃下孵育过夜。第2天用TBST洗膜3次后,用1∶10 000稀释的山羊抗兔二抗工作液在室温条件下孵育1 h。孵育结束后,再用TBST洗膜3次,最后用ECL发光显影液在化学发光仪中对膜进行曝光显影。

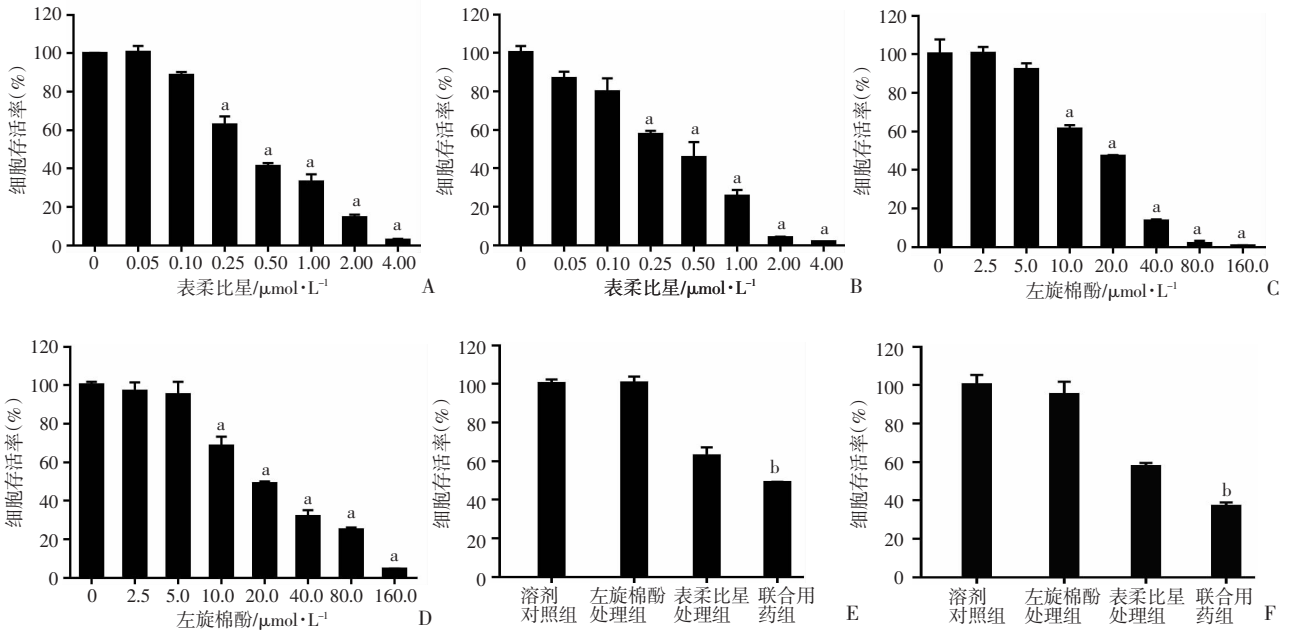
1.7　统计学分析

采用GraphPad Prism 7软件进行分析,结果用$\bar{x}\pm s$表示。两组间比较采用独立样本t检验;采用dunnett对检验多样本间的两两比较进行多重比较。以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结果

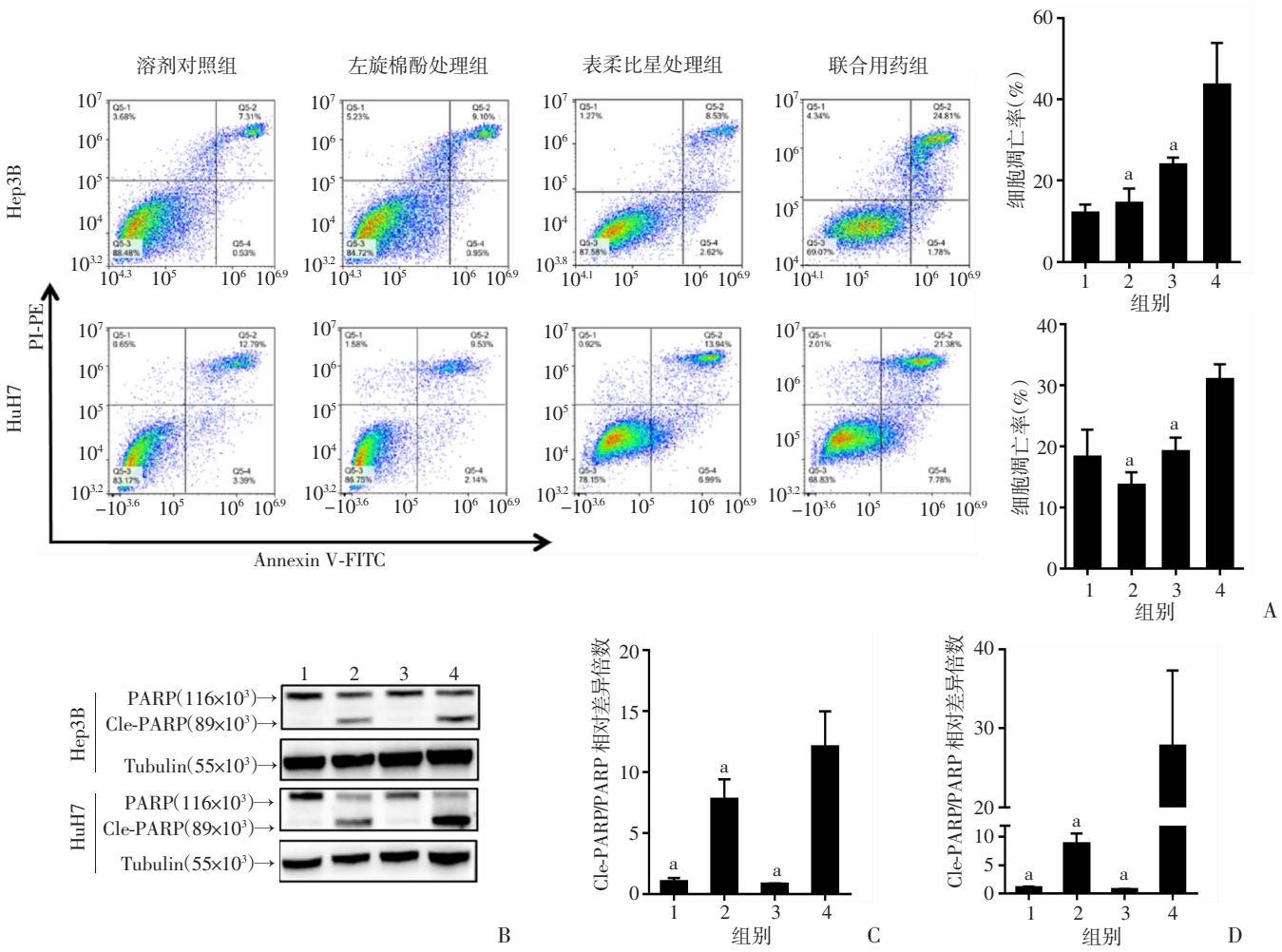
2.1　左旋棉酚联合表柔比星能显著抑制HCC细胞的存活

如图1所示,表柔比星以0.25 μmol/L浓度单独处理Hep3B细胞(图1A)、HuH7细胞(图1B)48 h,细胞生长受到明显抑制。左旋棉酚单独处理Hep3B细胞(图1C)、HuH7细胞(图1D)48 h,在10 μmol/L浓度时,细胞生长明显受到抑制;而在5 μmol/L浓度时,细胞生长虽然受到抑制,但与溶剂对照组相比,该差异无统计学意义。因此,后续实验选择5 μmol/L浓度探讨左旋棉酚对表柔比星抗HCC的增强作用。左旋棉酚(5 μmol/L)和表柔比星(0.25 μmol/L)联合处理HCC细胞48 h会更加显著抑制细胞的存活(图1E、F),与表柔比星组相比,该差异具有统计学意义($P<0.05$)。以上结果提示,左旋棉酚可增强表柔比星杀伤HCC细胞的能力。



A:表柔比星单药处理Hep3B细胞系48 h后存活情况;B:表柔比星单药处理HuH7细胞系48 h后存活情况;C:左旋棉酚单药处理Hep3B细胞系48 h后存活情况;D:左旋棉酚单药处理HuH7细胞系48 h后存活情况;E:联合用药处理Hep3B细胞系48 h后存活情况;F:联合用药处理HuH7细胞系48 h后存活情况　a:$P<0.05$,与溶剂对照组(0 μmol/L)比较;b:$P<0.05$,与表柔比星处理组比较

图1　CCK-8检测各处理对HCC细胞存活的影响



1:溶剂对照组;2:左旋棉酚处理组;3:表柔比星处理组;4:联合用药组 a:$P<0.05$,与联合用药组比较

A:流式细胞术检测各组细胞凋亡情况;B:Western blot 检测 PARP 蛋白剪切情况 Cle-PARP:剪切型 PARP;Tubulin:微管蛋白(内参);C:Hep3B 细胞系中剪切型 PARP 半定量分析;D:HuH7 细胞系中剪切型 PARP 半定量分析

图 2 不同处理方式对 HCC 细胞凋亡的影响

2.2 左旋棉酚联合表柔比星能显著诱导 HCC 细胞的凋亡

流式细胞仪分析结果显示(图 2A):HCC 细胞经药物处理 24 h 后,与溶剂对照组和单独用药组相比,联合处理组的细胞凋亡率明显升高($P<0.05$)。而经 Western blot 验证发现,左旋棉酚联合表柔比星处理 HCC 细胞 24 h,能显著诱导凋亡相关分子聚(腺苷二磷酸-核糖)聚合酶[poly (ADP-ribose) polymerase, PARP]的剪切(图 2B~D),表明该两药联合可显著促进 HCC 细胞的凋亡。

2.3 左旋棉酚可抑制表柔比星诱导的 X 连锁凋亡抑制蛋白

进一步探究左旋棉酚增强表柔比星诱导 HCC 细胞凋亡及抑制细胞生长的可能机制,分析各组药物对 HCC 细胞内抗凋亡蛋白的影响。结果发现:表柔比星会诱导 HCC 细胞内抗凋亡蛋白 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)的表达上调;而联合使用左旋棉酚后,表柔比星对 XIAP 的诱导则会受到抑制(图 3)。

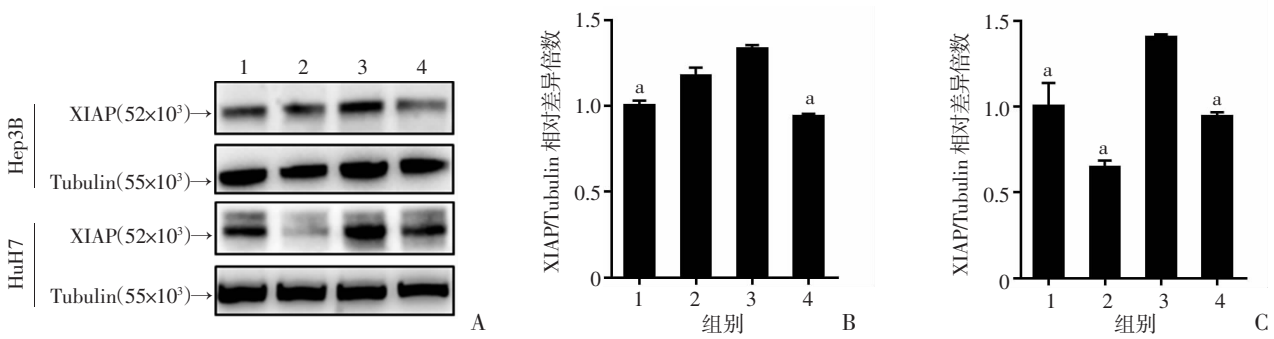
2.4 沉默 X 连锁凋亡抑制蛋白可促进表柔比星诱导 HCC 细胞凋亡及抑制细胞增殖

为了探究 XIAP 对表柔比星抗 HCC 的影响,利用 siRNA 干扰技术沉默 XIAP 后发现:沉默 XIAP 可显著增强表柔比星对 HCC 细胞的杀伤作用(图 4A、B),同时能显著促进 HCC 细胞中 PARP 的剪切(图 4C~E)。

2.5 过表达 X 连锁凋亡抑制蛋白削弱左旋棉酚对表柔比星杀伤 HCC 细胞能力的增强作用

分别在 HCC 细胞中转染 XIAP 质粒或对照质粒,然后经左旋棉酚和表柔比星联合处理细胞,过表达

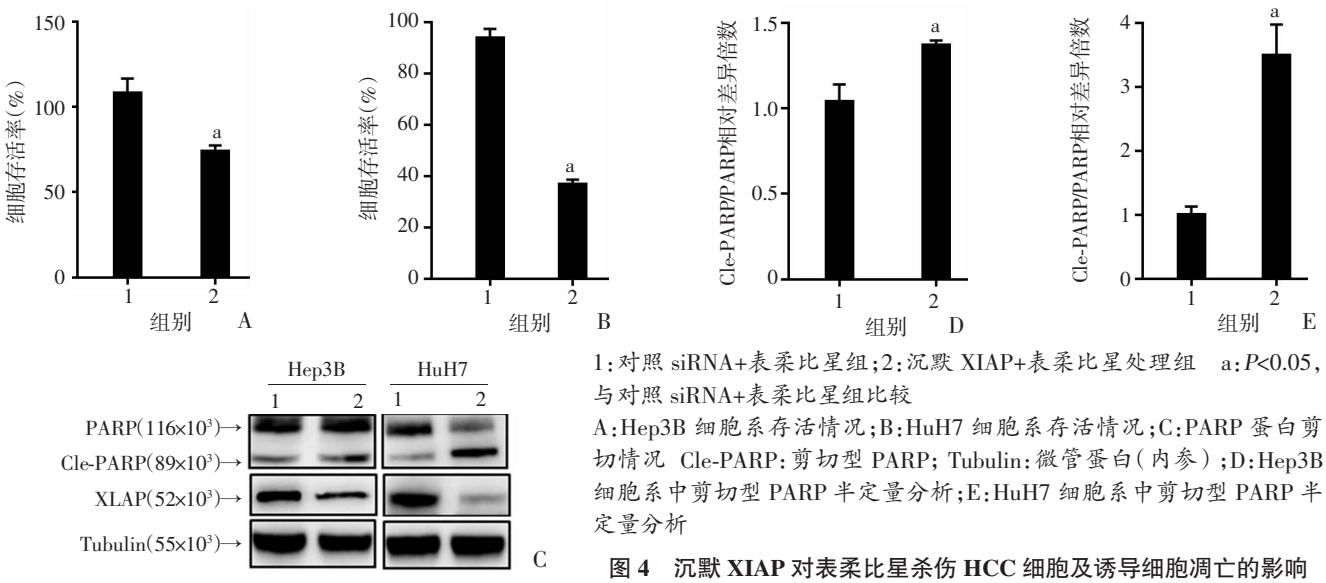
XIAP 显著削弱了左旋棉酚增强表柔比星对 HCC 细胞杀伤的作用(图 5A、B),同时 HCC 细胞中 PARP 的剪切也受到了抑制(图 5C、E)。以上结果提示,XIAP 是左旋棉酚增强表柔比星抗 HCC 的关键分子。



1:溶剂对照组;2:左旋棉酚处理组;3:表柔比星处理组; 4:联合用药组　a:$P<0.05$,与表柔比星处理组比较

A:XIAP 蛋白水平检测;B:Hep3B 细胞系 XIAP 半定量分析;C:HuH7 细胞系 XIAP 半定量分析

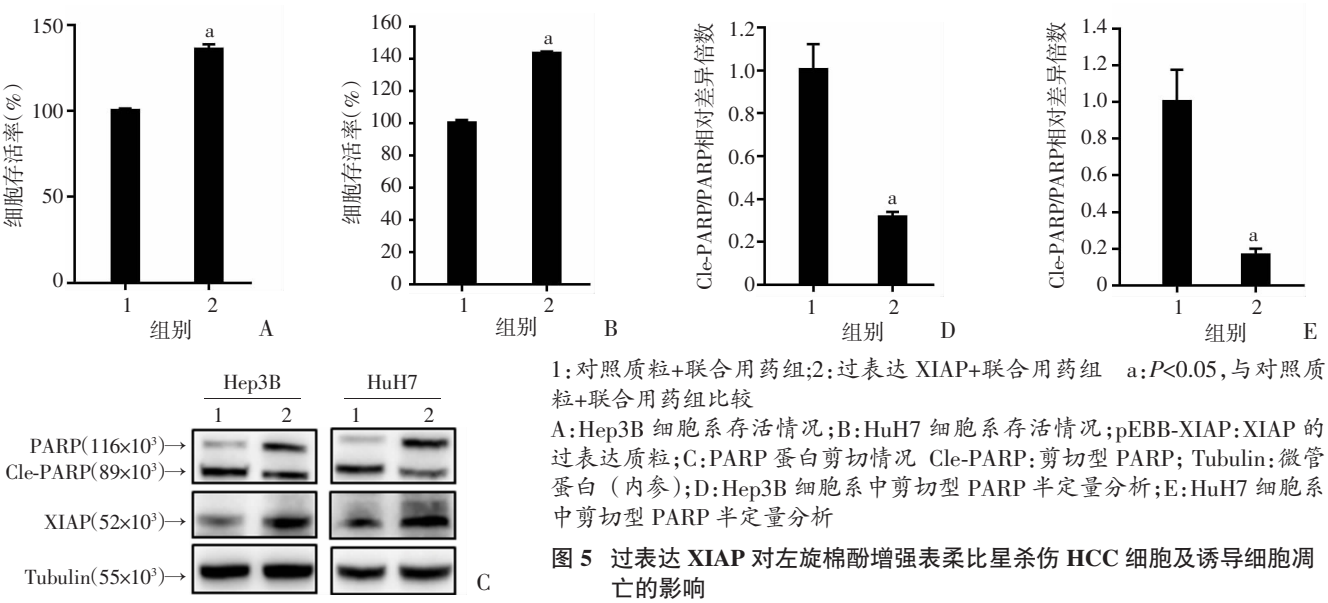
图 3　Western blot 检测各组别 HCC 细胞中 XIAP 蛋白水平的影响



1:对照 siRNA+表柔比星组;2:沉默 XIAP+表柔比星处理组　a:$P<0.05$,与对照 siRNA+表柔比星组比较

A:Hep3B 细胞系存活情况;B:HuH7 细胞系存活情况;C:PARP 蛋白剪切情况 Cle-PARP:剪切型 PARP; Tubulin:微管蛋白(内参);D:Hep3B 细胞系中剪切型 PARP 半定量分析;E:HuH7 细胞系中剪切型 PARP 半定量分析

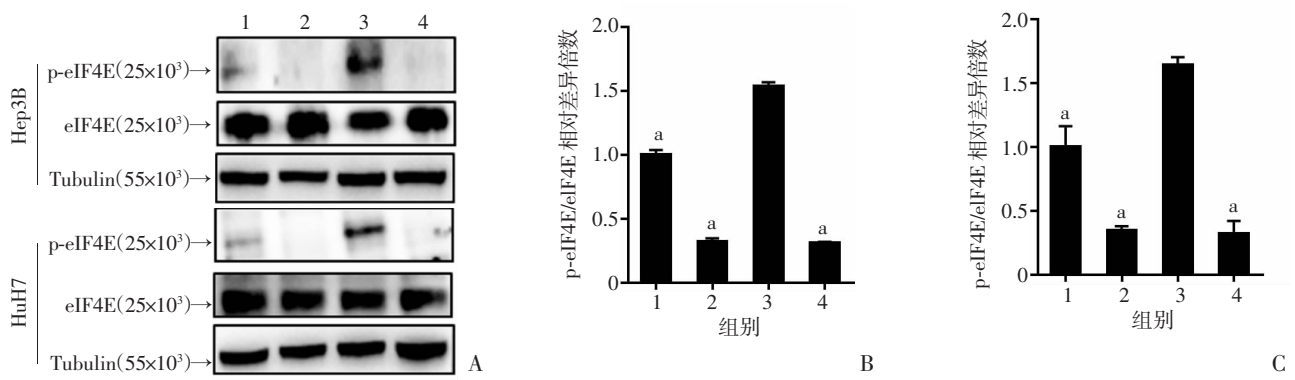
图 4　沉默 XIAP 对表柔比星杀伤 HCC 细胞及诱导细胞凋亡的影响



1:对照质粒+联合用药组;2:过表达 XIAP+联合用药组　a:$P<0.05$,与对照质粒+联合用药组比较

A:Hep3B 细胞系存活情况;B:HuH7 细胞系存活情况;pEBB-XIAP:XIAP 的过表达质粒;C:PARP 蛋白剪切情况 Cle-PARP:剪切型 PARP; Tubulin:微管蛋白 (内参);D:Hep3B 细胞系中剪切型 PARP 半定量分析;E:HuH7 细胞系中剪切型 PARP 半定量分析

图 5　过表达 XIAP 对左旋棉酚增强表柔比星杀伤 HCC 细胞及诱导细胞凋亡的影响



1:溶剂对照组;2:左旋棉酚处理组;3:表柔比星处理组;4:联合用药组 a:$P<0.05$,与表柔比星处理组比较
A:p-eIF4E 水平检测 p-eIF4E:磷酸化的真核起始因子 4E;Tubulin:微管蛋白(内参);B:Hep3B 细胞系 p-eIF4E 半定量分析
C:HuH7 细胞系 p-eIF4E 半定量分析

图 6 Western blot 检测各处理对 HCC 细胞系中 eIF4E 磷酸化水平的影响

2.6 左旋棉酚可抑制表柔比星诱导的真核起始因子 4E 的磷酸化

表柔比星处理 HCC 细胞可促进 eIF4E 的磷酸化,而左旋棉酚可显著减弱表柔比星诱导的 eIF4E 的磷酸化(图 6A~C)。提示左旋棉酚抑制表柔比星诱导的 XIAP 上调表达是通过抑制其 IRES 依赖的翻译起始而实现的。

3 讨论

在全球范围内,肝细胞癌导致了大量的癌症相关死亡,尽管早期的 HCC 可以进行手术切除,但 80%的 HCC 患者术后仍会出现肝内复发[12]。此外,大多数 HCC 患者诊断时已是晚期,失去了手术切除的机会。近年来研究表明,表柔比星联合 TACE 化疗是一种有效且安全的治疗手段,尤其对不能切除 HCC 的患者来说,可以提高生存率[13]。然而,在长期的表柔比星单药治疗过程中,肿瘤细胞对表柔比星会产生耐药性,从而影响治疗的成功率和临床结局[4]。有研究表明,在杀伤多种肿瘤时,表柔比星会诱导肿瘤细胞显著上调抗凋亡蛋白 survivin 的水平,从而导致肿瘤细胞对表柔比星的敏感性降低[14]。而本研究证实,表柔比星还可诱导 HCC 细胞中抗凋亡分子 XIAP 的上调表达,从而引起 HCC 细胞对表柔比星杀伤作用的抵抗;而沉默 XIAP 的表达可促进表柔比星对 HCC 细胞的杀伤作用。这说明 XIAP 可能在 HCC 细胞抵抗表柔比星杀伤的过程中起重要作用。

左旋棉酚是一种从棉籽中提取的黄色多酚羟基双萘醛类化合物,虽然最初被用作男性避孕药及治疗女性子宫功能性出血、子宫内膜异位症的药物。但近年研究表明,左旋棉酚对 HCC 在内的多种癌症细胞系具有抗癌作用,是一种有效的天然抗癌剂,现在正处于 2 期/3 期临床试验阶段。普遍认为,左旋棉酚可作为 BH3 的类似物,抑制 BH3 肽与 Bcl-2 和 Bcl-XL 蛋白的结合,影响 Bcl 蛋白的抗凋亡作用,从而诱导凋亡和细胞的生长抑制[8]。然而,除单独使用能发挥一定抗癌作用外,左旋棉酚还可增敏多种化疗药物的抗癌效应。例如,在胶质瘤中,左旋棉酚可抑制 hedgehog/Notch 通路而增敏三氧化二砷[9];在晚期非小细胞肺癌中,左旋棉酚可抑制脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶 1(APE1),从而增敏紫杉醇和顺铂的抗肿瘤作用[10];在非小细胞肺癌中,左旋棉酚可抑制 YES 相关蛋白/含 PDZ 结合基序的转录共激活因子(YAP/TAZ),从而增敏表皮生长因子受体酪氨酸激酶抑制剂(EGFR-TKIs)[11]。更重要的是,左旋棉酚可以在结肠癌细胞中抑制包括 XIAP 在内的多种抗凋亡蛋白的表达[15],这暗示其可能具有增敏表柔比星杀伤 HCC 细胞的能力。本研究证实,左旋棉酚在低浓度情况下(5 μmol/L)能够抑制表柔比星诱导的 XIAP 上调表达,增强表柔比星抗 HCC 细胞的能力。通过过表达 XIAP 进一步证实,XIAP 可阻碍左旋棉酚对表柔比星杀伤 HCC 细胞的增强作用,这充分说明 XIAP 表达水平的下调正是左旋棉酚增强表柔比星联合杀伤 HCC 细胞的关键。那么表柔比星是通过何种方式诱导 XIAP 的上调表达呢?

有研究证实,XIAP mRNA 具有独特的 5'-UTR 和二级结构,能够以 IRES 依赖的方式进行蛋白质翻译[16]。而这种 IRES 依赖的翻译机制又与 eIF4E 的磷酸化密不可分[17]。本研究发现,左旋棉酚可显著抑制表柔比星诱导的 eIF4E 磷酸化,这对 XIAP 的 IRES 依赖的翻译至关重要,因此推测左旋棉酚是通过抑制表柔比星诱导的 p-eIF4E,阻碍了 XIAP 以 IRES 依赖的

方式进行翻译,从而抑制 XIAP 的表达上调。

综上所述,左旋棉酚联合表柔比星可以显著促进 HCC 细胞 Hep3B 和 HuH7 的凋亡并抑制细胞的存活,而该途径主要是通过抑制 eIF4E 的磷酸化和 XIAP 的上调表达而实现。在表柔比星处理过程中,HCC 细胞的 eIF4E 被磷酸化,随后促进 XIAP 以 IRES 依赖的方式持续翻译。而加入左旋棉酚后,eIF4E 的磷酸化受到抑制,阻碍了 XIAP 的持续翻译,从而影响到 XIAP 抗凋亡作用的发挥,最终促进表柔比星诱导细胞凋亡。本研究为左旋棉酚与表柔比星联用抗 HCC 以及表柔比星更好地应用于 HCC 治疗等临床问题提供了理论基础与实验依据。

参考文献:

[1] JEMAL A, WARD E M, JOHNSON C J, *et al*. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2014, featuring survival[J]. J Natl Cancer Inst, 2017, 109(9): djx030. DOI: 10.1093/jnci/djx030.

[2] BAI Z B, QIN Y L, ZHU G Y, *et al*. Efficacy and safety of epirubicin applied in transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: a meta-analysis[J]. J Cancer Res Ther, 2018, 14(1): 133-138. DOI: 10.4103/jcrt.JCRT_1261_16.

[3] FORNER A, GILABERT M, BRUIX J, *et al*. Treatment of intermediate-stage hepatocellular carcinoma[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2014, 11(9): 525-535. DOI: 10.1038/nrclinonc.2014.122.

[4] HAN K H, PARK J Y. Chemotherapy for advanced hepatocellular carcinoma[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2008, 23(5): 682-684. DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05444.x.

[5] LU Y Z, LI J, DONG C E, *et al*. Recent advances in gossypol derivatives and analogs: a chemistry and biology view[J]. Future Med Chem, 2017, 9(11): 1243-1275. DOI: 10.4155/fmc-2017-0046.

[6] WANG B, CHEN L F, NI Z H, *et al*. Hsp90 inhibitor 17-AAG sensitizes Bcl-2 inhibitor (-)-gossypol by suppressing ERK-mediated protective autophagy and Mcl-1 accumulation in hepatocellular carcinoma cells[J]. Exp Cell Res, 2014, 328(2): 379-387. DOI: 10.1016/j.yexcr.2014.08.039.

[7] WU Y, WEI Y N, YUE W Y, *et al*. Influence of gossypol acetic acid on the growth of human adenoid cystic carcinoma ACC-M cells and the expression of DNA methyltransferase 1[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4): 13456-13466. DOI: 10.4238/2015.October.28.6.

[8] ZHAO G X, XU L H, PAN H, *et al*. The BH_3-mimetic gossypol and noncytotoxic doses of valproic acid induce apoptosis by suppressing cyclin-A2/Akt/FOXO3a signaling[J]. Oncotarget, 2015, 6(36): 38952-38966. DOI: 10.18632/oncotarget.5731.

[9] LINDER B, WEHLE A, HEHLGANS S, *et al*. Arsenic trioxide and (-)-gossypol synergistically target glioma stem-like cells via inhibition of hedgehog and Notch signaling[J]. Cancers, 2019, 11(3): 350. DOI: 10.3390/cancers11030350.

[10] WANG Y X, LI X M, ZHANG L, *et al*. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of B-cell lymphoma 2 homology 3 mimetic gossypol combined with docetaxel and cisplatin for advanced non-small cell lung cancer with high expression of apurinic/apyrimidinic endonuclease 1[J]. Invest New Drugs, 2020, 38(6): 1862-1871. DOI: 10.1007/s10637-020-00927-0.

[11] XU J, ZHU G Y, CAO D, *et al*. Gossypol overcomes EGFR-TKIs resistance in non-small cell lung cancer cells by targeting YAP/TAZ and EGFR L858R/T790M[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 115: 108860. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.108860.

[12] BRUIX J, GORES G J, MAZZAFERRO V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives[J]. Gut, 2014, 63(5): 844-855. DOI: 10.1136/gutjnl-2013-306627.

[13] LIU Z H, SUN J X, FENG J K, *et al*. Prognostic comparison between liver resection and transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma patients with bile duct tumor thrombus: a propensity-score matching analysis[J]. Front Oncol, 2022, 12: 835559. DOI: 10.3389/fonc.2022.835559.

[14] HAMY A S, BIECHE I, LEHMANN-CHE J, *et al*. BIRC5 (survivin): a pejorative prognostic marker in stage II/III breast cancer with no response to neoadjuvant chemotherapy[J]. Breast Cancer Res Treat, 2016, 159(3): 499-511. DOI: 10.1007/s10549-016-3961-2.

[15] SUNG B, RAVINDRAN J, PRASAD S, *et al*. Gossypol induces death receptor-5 through activation of ROS-ERK-CHOP pathway and sensitizes colon cancer cells to TRAIL[J]. J Biol Chem, 2016, 291(32): 16923. DOI: 10.1074/jbc.A110.172767.

[16] THAKOR N, SMITH M D, ROBERTS L, *et al*. Cellular mRNA recruits the ribosome via eIF_3-PABP bridge to initiate internal translation[J]. RNA Biol, 2017, 14(5): 553-567. DOI: 10.1080/15476286.2015.1137419.

[17] LI X Z, LI B, NI Z H, *et al*. Metformin synergizes with BCL-XL/BCL-2 inhibitor ABT-263 to induce apoptosis specifically in p53-defective cancer cells[J]. Mol Cancer Ther, 2017, 16(9): 1806-1818. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-16-0763.

(收稿:2022-01-19;修回:2022-04-06)

(编辑 张艺霖)