DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.20.023
第26卷第20期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 20
2004年10月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Oct. 2004

文章编号:1000-5404(2004)20-1853-04

论著

胆固醇合成抑制剂洛伐他汀对 HL-60 细胞 caspase-3 基因表达的影响

张雪玲[1],糜漫天[1],李等松[2],张乾勇[1],韦 娜[1],杨志祥[1],郎海滨[1] ([1]第三军医大学预防医学院营养卫生学教研室,重庆 400038; [2]兰州军区军事医学研究所,兰州 730020)

提 要:目的 观察胆固醇合成抑制剂洛伐他汀(lovastatin, LOV)对HL-60细胞caspase-3基因表达的影响,进一步探讨其抑制细胞增殖、诱导细胞凋亡的分子机制。方法 4、8、16 μmol/L LOV处理HL-60细胞1~4 d后,MTT比色法及生长曲线测定检测细胞增殖效应,流式细胞仪测定细胞周期相的分布及凋亡率,DNA梯形带检测观察细胞的凋亡效应,RT-PCR及Western blot方法分别分析LOV对HL-60细胞caspase-3 mRNA、caspase-3蛋白表达的影响。结果 LOV能显著抑制HL-60细胞增殖,使细胞周期阻滞于G_0/G_1期,细胞凋亡率增加,有凋亡特征性的DNA梯形带出现;LOV能上调HL-60细胞caspase-3蛋白表达,但对caspase-3 mRNA表达无明显影响,该作用呈剂量-效应和时间依赖关系。结论 LOV对HL-60细胞有增殖抑制和诱导凋亡作用,LOV能上调HL-60细胞caspase-3蛋白表达,推测这可能是LOV抑制HL-60细胞增殖并诱导其凋亡的重要分子机制。

关键词:洛伐他汀;HL-60细胞;细胞增殖;细胞凋亡;caspase-3
中图法分类号:R972.6;R394.3;R730.2 文献标识码:A

Effects of cholesterol inhibitor lovastatin on the expression of caspase-3 in HL-60 cells

ZHANG Xue-ling[2], MI Man-tian[1], LI Deng-song[2], ZHANG Qian-yong[1], WEI Na[1], YANG Zhi-xiang[1], LANG Hai-bin[1] ([1]Department of Nutrition and Food Hygiene, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038; [2]Institute of Military Medicine, Lanzhou Military Area Command, Lanzhou 730020, China)

Abstract: **Objective** To study the effects of lovastatin (LOV) on the expression of caspase-3 in HL-60 cells and the possible molecular mechanisms of proliferation and apoptosis in HL-60 cells. **Methods** After treatment with LOV at the dosages of 4, 8, 16 μmol/L for 1—4 d, the cellular proliferation capacity was observed by MTT and growth curve assay. The cell cycle distribution and the apoptotic rate were measured by flow cytometry (FCM). The cell apoptosis was measured by DNA ladder assay. The expression of caspase-3 mRNA was analyzed by RT-PCR. The protein expression of caspase-3 was analyzed by Western blotting. **Results** Lovastatin could inhibit the proliferation of HL-60 cells and arrest HL-60 cells in the G_0/G_1 phase of cell cycle, resulting in increased apoptotic rate and appearance of the DNA ladders in LOV-treated cells. The protein expression of caspase-3 was up-regulated in HL-60 cells treated with LOV, but no obvious change of the expression of caspase-3 mRNA was found. The effects of LOV were in dose- and time-dependent manners. **Conclusion** Lovastatin could inhibit cell growth, induce apoptosis, and up-regulate the protein expression of caspase-3, which may play an important role in cell apoptosis induced by LOV.

Key words: lovastatin; HL-60 cells; cell proliferation; cell apoptosis; caspase-3

洛伐他汀(lovastatin, LOV)是胆固醇合成限速酶—羟甲基戊二酸单酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶的抑制剂,能抑制细胞胆固醇的合成,抑制HMG-CoA还原生成甲羟戊酸(mevalonicacid, MVA)。MVA是胆固醇、长醇、泛醌、异戊烯腺嘌呤、法呢化蛋白质等多种重要产物的前体,这些产物参与细胞膜构成、糖蛋白合成、电子传递、细胞内信号传导、细胞周期进程调控等重要的生物学功能[1]。近年来的研究表明,LOV能抑制多种恶性肿瘤细胞增殖,并诱导某些肿瘤细胞凋亡,其中尤以对髓样白血病细胞、恶性胶质瘤细胞敏感[2]。但迄今为止,其作用的确切分子机制尚不完全清楚,有报

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271128)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30271128)
作者简介:张雪玲(1965—),女,河南省洛阳市人,硕士,助理研究员,主要从事营养与肿瘤方面的研究。现在兰州军区军事医学研究所,兰州730020。电话:(0931)8971454, E-mail:WZ656692@r5you.com
通信作者:糜漫天,电话:(023)68752292
收稿日期:2003-10-13;修回日期:2004-08-02

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

道认为,LOV 抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,可能与 caspase 家族中的一些凋亡相关基因有关[3]。本实验以人粒系白血病细胞株 HL-60 为研究对象,以 4、8、16 μmol/L 3 种不同剂量的 LOV 处理细胞,观察 LOV 对 HL-60 细胞增殖抑制和诱导凋亡作用,以及对 caspase-3 基因表达的影响,目的在于深入探讨 LOV 抗肿瘤作用的分子机制。

1 材料与方法

1.1 主要仪器

INCO2 108 型 CO_2 培养箱(德国),Olympus 倒置显微镜,FACS-440 型流式细胞仪(美国),PTC-100TM 型 PCR 扩增仪(美国),TFP-M 型紫外透照仪(法国)。

1.2 主要试剂

Lovastatin(LOV,Fluka 产品),溶于二甲基亚砜(DMSO)中,储存浓度为 3.2×10^4 μmol/L,-20 ℃保存。LOV 处理细胞终浓度分别为 4、8、16 μmol/L。

1.3 细胞培养与处理

HL-60 细胞购自中科院上海细胞所。用含 10% 小牛血清的 RPMI1640 培养液培养细胞,37 ℃、5% 的 CO_2 及饱和湿度下,常规培养传代。LOV 处理细胞的终浓度分别为 0、4、8、16 μmol/L,各组培养液中 DMSO 的终浓度≤0.05% 。

1.4 细胞增殖效应

HL-60 细胞以 1×10^5 个/ml 密度接种于 24 孔培养板中,每孔 1 ml,加处理因素,每组设 3 个平行孔,常规培养 1~4 d,并分别于第 0、1、2、3、4 d 收集细胞,台盼蓝染色计数活细胞数,绘制生长曲线,并按公式计算细胞生长抑制率(GI)。

$$GI=\frac{Nc-Nt}{Nc}\times 100\%$$

Nc 和 Nt 分别为某时相点对照组和处理组细胞数。

细胞以 1×10^5 个/ml 细胞密度接种于 96 孔培养板中,每孔 200 μl,加处理因素,培养 3 d,收获细胞前 4 h,每孔加入 20 μl MTT(5 mg/ml),37 ℃、5% CO_2 及饱和湿度条件下培养 4 h,去掉培养液,加入 150 μl DMSO 充分溶解结晶物,用酶联免疫检测仪在 492 nm 处测 A 值。

1.5 流式细胞仪检测细胞周期相分布及细胞凋亡率

对数生长期细胞以 1×10^5 个/ml 密度接种于 24 孔培养板,常规培养 2~3 d 后收获细胞,离心去培养基,以 0.1 mol/L 的 PBS 洗涤细胞 3 次,用 0.5 ml PBS 重悬细胞,再将悬液缓慢加入 5 ml 75% 的酒精中固定,4 ℃贮存。RNase 消化,碘化丙啶(PI)染色后,采用流式细胞仪检测细胞周期相分布及细胞凋亡率。

1.6 DNA 梯形带检测

参照文献[4]方法。经 LOV 处理 2 d 后,收获细胞(约10^6 个细胞),0.1 mol/L 的 PBS 洗涤细胞 2 次,加 150 μl NP-40 细胞溶破液(1% NP-40,20 mmol/L EDTA,50 mmol/L Tris·HCl pH 7.5)溶破细胞 5 h,离心收集上清,用 150 μl NP-40 细胞溶破液重复抽提沉淀 1 次,上清置于等体积 1% SDS 溶液中,混匀,加 RNase A 至终浓度为 2 μg/ml,56 ℃孵育 2 h,加蛋白酶 K 至终浓度为 2 μg/ml,37 ℃水浴 2 h,再加 1/2 体积的 10 mol/L 醋酸铵和 2 倍体积的冰冷无水乙醇,-20 ℃过夜,离心,75% 冰冷乙醇漂洗沉淀,20 μl TE 缓冲液溶解,2.0% 琼脂糖凝胶电泳。

1.7 RT-PCR 分析 HL-60 细胞 caspase-3 mRNA 的表达

RNA 提取用 Tripure 试剂(Roche 集团)按说明书进行,取 4 μg RNA,用 M-MuLV 逆转录酶制备 cDNA,取 3 μl cDNA 进行 PCR,caspase-3 引物:参照文献[5]方法,RT-PCR 产物长度为 272 bp。caspase-3 FP1:5′-CAAACTTTTTCAGAGGGATCG-3′,caspase-3 RP2:5′-GCATACTGTTTCAGCATGGCAC-3′,内参照 β_2-microglubulin(β_2-MG)引物:参照 Genbank DNA 序列,β_2-MG FP1:5′-ACCCCCACTGAAAAAGATGA-3′,β_2-MG RP2:5′-ATCTTCAAACCTCCATGATG-3′,RT-PCR 产物长度为 120 bp。反应体系为:总体积 50 μl、0.2 mmol/L dNTP、0.1 U/μl *Taq* DNA 聚合酶、1 mmol/L $MgCl_2$ 缓冲液、10× PCR 缓冲液、上下游引物各 0.3 μmol/L、cDNA 模板 3 μl。扩增条件为:95 ℃,5 min→94 ℃,1 min;61 ℃,1 min;72 ℃,2 min;32 个循环→72 ℃,10 min。取 5 μl 扩增产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下观察并照相。

1.8 细胞浆内总蛋白质的提取

细胞经 LOV 处理 2~3 d 后收获细胞,1×10^7 个细胞中加入 100 μl 预冷至 0 ℃的 1% NP-40 裂解液(含 50 mmol/L Tris·HCl pH 8.0,150 mmol/L NaCl,2 mmol/L EDTA,1% NP-40,1 mmol/L PMSF,10 μg/ml Aprotinin,10 μg/ml Leupeptin,0.1% SDS)裂解,冰上放置 30 min,离心收集上清液,用 Lowry 法测定蛋白质含量。

1.9 Western blotting 分析 HL-60 细胞 caspase-3 蛋白表达

取 20 μg 蛋白质,用总蛋白提取缓冲液稀释至 20 μl,加 20 μl 2× SDS 加样缓冲液,煮沸 5 min,10% SDS-PAGE,电转移转膜,1% BSA 室温封闭 2 h,加鼠抗 CPP-32 单克隆抗体(Santa cruz 公司产品,1∶1 000 稀释),37 ℃孵育 1 h,再与通用型 S-P 试剂盒(生物素标记二抗和 HRP 标记的链酶卵白素,北京中山生物试剂有限公司产品)37 ℃孵育 1 h,用含 0.05% DAB、0.03% H_2O_2 的 0.01 mol/L Tris·HCl(pH 7.6)室温避光显色。

1.10 统计学方法

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用单因素方差分析。

2 结果

2.1 LOV 对 HL-60 细胞增殖功能的影响

不同剂量 LOV 处理 HL-60 细胞 1~4 d 后,在每个处理时相点都可显著抑制 HL-60 细胞的增殖($P<0.01$ 或 $P<0.001$)。根据细胞生长抑制率公式计算可知,4、8、16 μmol/L 3 个剂量 LOV 处理 HL-60 细胞 1 d,抑制率分别为 13.16%、23.68%、28.51%;处理 2 d,抑制率分别为 15.09%、31.47%、61.21%;处理 3 d,抑制率分别为 39.76%、68.24%、82.94%;处理 4 d,高、中剂量组大量细胞死亡,以高剂量组最为明显。可见,随着 LOV 剂量的增大、作用时间的延长,其对 HL-60 细胞的增殖抑制作用逐渐增大。表明 LOV 对 HL-60 细胞的增殖抑制作用有明显的剂量-效应和时间依赖关系(表 1)。

MTT 实验结果也显示,LOV 处理 HL-60 细胞 3 d 后,各处理组 A_{492} 值均比未经处理的细胞显著下降($P<0.01$),且随 LOV

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

剂量增大, A_{492} 值下降越明显(表 2)。

表 1　LOV 对 HL-60 细胞增殖的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab 1　Effects of LOV on the proliferation of HL-60 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Group	Cell number ($\times 10^5$)			
	1 d	2 d	3 d	4 d
Control	2.28±0.18	4.64±0.14	8.50±0.36	15.9±0.98
LOV 4 μmol/L	1.98±0.07	3.94±0.08 *	5.12±0.17 **	4.50±0.26 **
LOV 8 μmol/L	1.74±0.03 *	3.18±0.18 **	2.70±0.20 **	1.50±0.16 **
LOV 16 μmol/L	1.63±0.13 *	1.80±0.08 **	1.45±0.11 **	0.50±0.06 **

*: $P<0.01$, **: $P<0.001$, *vs* control

表 2　MTT 法检测 LOV 对 HL-60 细胞增殖功能的影响($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Tab 2　Effects of LOV on the proliferation capacity of HL-60 cells by MTT ($\bar{x}\pm s$, $n=3$)

Group	A_{492} (3 d)
Control	0.991±0.135
LOV 4 μmol/L	0.661±0.006 *
LOV 8 μmol/L	0.458±0.061 *
LOV 16 μmol/L	0.433±0.018 *

*: $P<0.01$, *vs* control

2.2　LOV 对 HL-60 细胞周期相分布的影响

细胞经 LOV 处理 2~3 d 后, 收获细胞, 流式细胞仪分析细胞周期分布和细胞凋亡百分率, 结果显示: LOV 处理后 G_0/G_1 期细胞增多、S 期和 G_2/M 期细胞减少, 细胞凋亡率增加, LOV 剂量越大、作用时间越长, 变化越明显(表 3)。

表 3　LOV 对 HL-60 细胞周期分布和细胞凋亡的影响

Tab 3　Effects of LOV on the distribution of cell cycles and apoptosis of HL-60 cells

Group	Distribution of cell cycles(%)			Apoptotic rate(%)
	G_0/G_1	S	G_2/M	
Control (2 d)	31.85	53.21	14.94	0
LOV 4 μmol/L	35.71	50.23	14.06	2.18
LOV 8 μmol/L	38.92	49.85	11.23	7.35
LOV 16 μmol/L	51.26	40.55	8.19	16.99
Control (3 d)	32.78	52.90	14.32	0
LOV 4 μmol/L	42.02	48.00	9.98	6.83
LOV 8 μmol/L	53.14	42.85	4.01	30.96
LOV 16 μmol/L	59.71	40.29	0	39.91

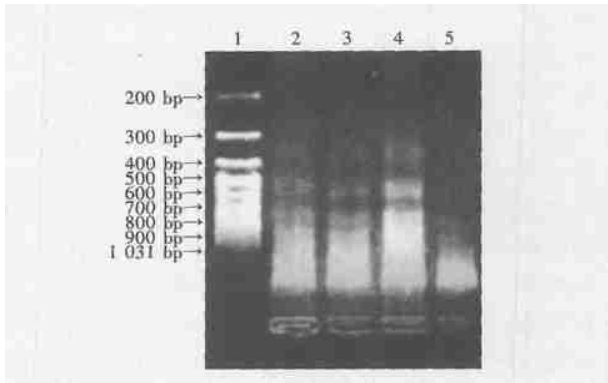
2.3　LOV 对 HL-60 细胞凋亡的影响

LOV 处理 HL-60 细胞 2~3 d 后, 细胞凋亡百分率增加(流式细胞仪检测结果), 进一步分析 LOV 处理的 HL-60 细胞 DNA 梯形带检测也发现, 经 LOV 处理 2 d 的 HL-60 细胞出现明显的 DNA 梯形带, LOV 剂量越大, DNA 梯形带越明显(图 1)。

2.4　LOV 对 HL-60 细胞 caspase-3 mRNA 及其蛋白表达的影响

逆转录 PCR 分析 HL-60 细胞中 caspase-3 mRNA 表达, 结果表明: 4、8、16 μmol/L LOV 处理 HL-60 细胞 1~3 d, caspase-3 mRNA 表达变化均不明显。

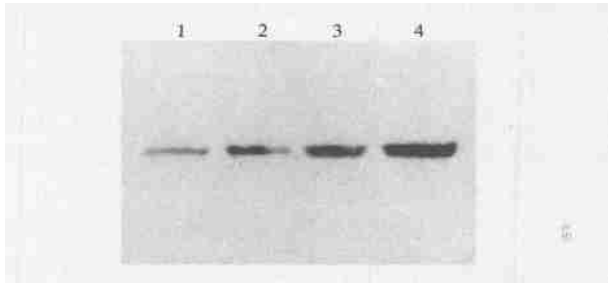
免疫印迹结果显示, 4、8、16 μmol/L LOV 处理 HL-60 细胞 2~3 d, 各处理组细胞 caspase-3 蛋白表达量均增高, 且 LOV 剂量越大, 作用时间越长, caspase-3 蛋白表达增高越明显(图 2), 说明 LOV 可上调 HL-60 细胞 caspase-3 蛋白表达, 呈剂量-效应和时间依赖关系。



1: DNA ladder marker; 2: Treatment group with 4 μmol/L LOV; 3: Treatment group with 8 μmol/L LOV; 4: Treatment group with 16 μmol/L LOV; 5: Control

图 1　LOV 处理 HL-60 细胞 2 d DNA 梯形带检测

Fig 1　DNA ladder assay in HL-60 cells after treatment with LOV for 2 d



1: Control; 2: Treatment group with 4 μmol/L LOV; 3: Treatment group with 8 μmol/L LOV; 4: Treatment group with 16 μmol/L LOV

图 2　LOV 处理 HL-60 细胞 3 d caspase-3 蛋白的表达

Fig 2　The protein expression of caspase-3 in HL-60 cells after treatment with LOV for 3 d

3　讨论

他汀类(statins)药物是 20 世纪 80 年代后期开发和研制的一种降血脂药。目前, 他汀类药物主要有 10 余种, 洛伐他汀为他汀类药物中的一种。由于这类药物是胆固醇合成限速酶——羟甲基戊二酸单酰辅酶 A (HMG-CoA)还原酶的抑制剂, 能有效抑制胆固醇的合成, 该药物目前已普遍用于临床治疗高胆固醇血症。近年来的研究表明, 他汀类药物除具有降血脂作用外, 不仅能抑制多种肿瘤细胞的增殖、诱导肿瘤细胞分化, 而且具有诱导肿瘤细胞凋亡、降低肿瘤细胞侵袭转移

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

能力的作用，而对正常细胞无明显的毒副作用，是一种很有潜力的抗肿瘤药物。

研究表明，他汀类药物能抑制多种肿瘤细胞增殖，并诱导其凋亡，其中尤以对髓样白血病细胞，恶性胶质瘤细胞为敏感。Jones 等[2] 将 LOV 作用于人恶性胶质瘤细胞系 A172 和 U87-MG，出现剂量依赖型增殖受抑，并出现凋亡的特征性 DNA 片段。Dimitroulakos 等[1] 观察了 AML 细胞系对 LOV 诱导凋亡的反应，发现 20 μmol/L LOV 作用 48 h 使大部分 AML 细胞系发生凋亡。Perez 等[6] 发现，培养的 HL-60 细胞系中加入 lovastatin 可诱导细胞凋亡，呈剂量-效应和时间依赖关系。LOV 还能诱导神经管母细胞瘤细胞、前列腺癌细胞、间皮瘤细胞等多种肿瘤细胞凋亡[7~9]。本实验以人粒系白血病细胞株 HL-60 为研究对象，以 4、8、16 μmol/L 3 种不同剂量的 LOV 处理细胞后，生长曲线、MTT、流式细胞仪分析、DNA 梯形带检测等表明，HMG-CoA 还原酶抑制剂 LOV 能显著抑制 HL-60 细胞增殖，使细胞受阻于 G_0/G_1 期，同时诱导细胞凋亡，该作用有明显剂量-效应和时间依赖关系。

虽然近年来关于他汀类药物抑制肿瘤细胞增殖、诱导肿瘤细胞凋亡的动物实验及体外实验研究资料较多，但是迄今为止，其作用的确切分子机制尚不完全清楚，根据已有的资料，认为可能的机制主要是抑制蛋白质异戊二烯化。他汀类药物通过抑制 HMG-CoA 还原酶抑制了 MVA 途径，蛋白质异戊二烯化所需的焦磷酸法呢酯（FPP）和焦磷酸[illegible]牛儿基[illegible]牛儿酯（GGPP）合成受抑，一些重要蛋白质异戊二烯化受阻，从而引发一系列生物学效应。近年来，有研究报道，他汀类药物抑制肿瘤细胞增殖，诱导肿瘤细胞凋亡还与半胱氨酸蛋白酶（caspase）家族成员激活有关[10]。Caspase 家族成员是近年来发现的在细胞凋亡过程中起中心作用的一类蛋白水解酶，它们以酶原形式存在，一旦被凋亡信号激活，就能通过从天冬氨酸残基处特异地水解关键蛋白而协同地引起细胞凋亡[11]。目前发现 caspase 家族有超过 14 种 caspase 成员，有一系列证据表明 caspase 在细胞凋亡中具有重要作用[11,12]，其中 caspase-3 在细胞凋亡过程中不仅作为凋亡执行性 caspase 水解激活凋亡相关蛋白，还能水解激活凋亡启动性 caspase 酶原（如 caspase-8 酶原）而使凋亡信号级联放大，从而发挥重要作用[13]。而 LOV 诱导细胞凋亡是否与 caspase-3 有密切关系，还不十分清楚。本实验以体外培养的 HL-60 细胞为研究对象，不同浓度 LOV 处理细胞 1 ~ 3 d，结果表明，LOV 对 HL-60 细胞 caspase-3 mRNA 表达均无明显影响，但能上调 caspase-3 蛋白表达，且呈剂量效应关系。由此说明，LOV 在翻译水平调控 caspase-3 基因表达。Wang 等[3] 报道 LOV 通过激活 caspase-3 而诱导白血病细胞凋亡，用 caspase-3 抑制剂（AC-DE-VD-CHO 和 Z-VAD-FMK）可阻止 caspase 激活和 DNA 片段化。上述结果提示，caspase-3 在 LOV 诱导 HL-60 细胞凋亡过程中起重要作用，并推测 caspase-3 的激活可能是 LOV 诱导 HL-60 细胞凋亡的重要分子机制之一。

参考文献：

[1] Dimitroulakos J, Nohynek D, Backway K L, *et al*. Increased sensitivity of acute myeloid leukemias to lovastatin-induced apoptosis: A potential therapeutic approach[J]. Blood, 1999, 93(4): 1308—1318.

[2] Jones K D, Couldwell W T, Hinton D R, *et al*. Lovastatin induces growth inhibition and apoptosis in human malignant glioma cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1994, 205(3): 1681—1687.

[3] Wang I K, Lin-Shiau S Y, Lin J K. Induction of apoptosis by lovastatin through activation of caspase-3 and DNase II in leukaemia HL-60 cells[J]. Pharmacol Toxicol, 2000, 86(2): 83—91.

[4] 熊世勤，朱锡华，黄云辉. 一种快速分离细胞凋亡片段化 DNA 的简单方法--NP-40 法[J]. 免疫学杂志，2000, 16(3): 228—231.

[5] Donoghue S, Baden H S, Lauder I, *et al*. Immunohistochemical localization of caspase-3 correlates with clinical outcome in B-cell diffuse large-cell lymphoma[J]. Cancer Res, 1999, 59(20): 5386—5391.

[6] Perez-Sala D, Mollinedo F. Inhibition of isoprenoid biosynthesis induces apoptosis in human promyelocytic HL-60 cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1994, 199(3): 1209—1215.

[7] Macaulay R J, Wang W, Dimitroulakos J, *et al*. Lovastatin-induced apoptosis of human medulloblastoma cell lines in vitro[J]. J Neurooncol, 1999, 42(1): 1—11.

[8] Park C, Lee I, Kang W K. Lovastatin-induced E2F-1 modulation and its effect on prostate cancer cell death[J]. Carcinogenesis, 2001, 22(10): 1727—1731.

[9] Rubins J B, Greatens T, Kratzke R A, *et al*. Lovastatin induces apoptosis in malignant mesothelioma cells[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1998, 157(5 Pt 1): 1616—1622.

[10] Marcelli M, Cunningham G R, Haidacher S J, *et al*. Caspase-7 is activated during lovastatin induced apoptosis of the prostate cancer cell line LN-Cap[J]. Cancer Res, 1998, 58(1): 76—83.

[11] Wolf B B, Green D R. Suicidal tendencies: apoptotic cell death by caspase family proteinases[J]. J Biol Chem, 1999, 274(29): 20049—20052.

[12] Green D R. Apoptotic pathways: the roads to ruin[J]. Cell, 1998, 94(6): 695—698.

[13] Stennicke H R, Jurgensmeier J M, Shin H, *et al*. Pro-caspase-3 is a major physiologic target of caspase-8[J]. J Biol Chem, 1998, 273(42): 27084—27090.

（编辑 汪勤俭）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net