

槲皮素对 BGC-823 胃癌细胞 caspase-3、Bcl-2 表达影响与抑癌作用研究

张珂¹, 王萍¹, 张庆², 于东红¹, 陈昌杰³, 承泽农¹, 李柏青⁴

[摘要] 目的: 研究槲皮素(querctin, QUE) 抑制人胃癌 BGC-823 细胞增殖和诱导凋亡的作用。方法: 采用四甲基噻唑氮蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 比色法检测不同浓度的 QUE 对 BGC-823 细胞增殖的影响及其细胞毒活性, 流式细胞术(FCM) 对不同浓度的 QUE 作用 24 h 的 BGC-823 细胞进行凋亡检测及其周期分析, 用免疫组化法测定 Bcl-2、caspase-3 的表达率。结果: QUE 对体外培养的 BGC-823 细胞具有明显的增殖抑制作用, 在 30 ~ 120 $\mu\text{mol/L}$ 范围内可显著抑制 BGC-823 细胞增殖, 且呈剂量-时间依赖性。FCM 检测后, BGC-823 细胞周期阻滞于 S 期, 药物浓度呈正相关。经 QUE 处理后 BGC-823 细胞株 caspase-3 蛋白表达明显增加, Bcl-2 蛋白表达降低。免疫组化检测表明, 用药组 Bcl-2 蛋白的表达下降, caspase-3 蛋白的表达率增强, 与对照组相比差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论: QUE 诱导 BGC-823 细胞发生凋亡, 使细胞周期阻滞于 S 期, 抑制增生与诱导凋亡的机制可能与下调 Bcl-2、上调 caspase-3 蛋白的表达有关。

[关键词] 槲皮素; BGC-823 细胞; 抑制; 凋亡; 蛋白的表达

[中国图书资料分类法分类号] R 979.1; R 735.2 **[文献标识码]** A

Influence of quercetin on proliferation of gastric cancer line BGC 823 and the expression of caspase-3, Bcl-2

ZHANG Ke¹, WANG Ping¹, ZHANG Qing², YU Dong-hong¹, CHEN Chang-jie³, CHENG Ze-nong¹, LI Bai-qing⁴

(1. Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Department of Pathology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030; 2. Central Laboratory, Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui, 233004; 3. Department of Biochemistry and Molecular Biology; Bengbu Medical College, Bengbu Anhui, 4. Anhui Key Laboratory of Infection and Immunology, Benbu Anhui 233030, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of quercetin(QUE) on the growth and apoptosis of human gastric carcinoma cell line BGC-823. **Methods:** Methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay was used to determine the influence of different concentrations of QUE on the cell proliferation of BGC-823; the change of cell cycle and apoptosis was observed by flow cytometry (FCM) after the cells were treated with different concentrations of QUE for 24 h; the positive expression rate of Bcl-2 and caspase-3 were detected by immunocytochemical staining. **Results:** QUE at concentrations ranging from 30 $\mu\text{mol/L}$ to 120 $\mu\text{mol/L}$ significantly inhibited the proliferation of BGC-823 cells in a dose-and-time-dependent manner ($P < 0.01$). FCM analyses showed that QUE arrested BGC-823 cells at the S phase. Expression of Bcl-2 protein decreased following QUE induction in a dose-dependent manner, whereas caspase-3 expression increased significantly compared with that of the control group ($P < 0.01$). **Conclusions:** QUE can inhibit the growth and induce apoptosis of BGC-823 cells, keeping the cell cycle at S phase. Its mechanisms may be relevant to the down-regulation of Bcl-2 protein expression as well as the up-regulation of caspase-3 expression.

[Key words] quercetin; BGC-823 cell; inhibitory effect; apoptosis; protein expression

槲皮素(querctin, QUE)广泛分布于多种植物中的黄酮类物质, 研究证明 QUE 具有抑菌、抗炎、抗氧化、抗辐射、抗肿瘤、扩张血管和降血糖等多种药理活性^[1], 受到了国内外医学界广泛的重视, 尤其是在抗肿瘤作用方面作了大量的研究, 研究发现

QUE 的抗肿瘤机制可能与干扰细胞信号转导、抑制肿瘤细胞增殖有关, 除此之外, QUE 还具有抗肿瘤血管生成和转移的潜在功能。本实验旨在研究 QUE 抑制人胃癌 BGC-823 细胞增殖和诱导其凋亡的作用, 并探讨其可能的作用机制。

1 材料与与方法

1.1 材料 人低分化胃腺癌细胞 BGC-823, 购自中国科学院上海细胞库。胎牛血清为杭州四季青生物工程有限公司产品。RPMI 1640 培养基为 GIBCO 公司产品。二甲基亚砜(DMSO) 及 QUE 均为 Sigma 公司产品, 用终浓度 $< 1 \text{ g/L}$ 的 DMSO 溶

[收稿日期] 2008-09-09

[作者单位] 1. 蚌埠医学院第一附属医院 病理科, 蚌埠医学院 病理学教研室, 安徽 蚌埠 233030; 2. 蚌埠医学院第一附属医院 中心实验室, 安徽 蚌埠 233004; 3. 蚌埠医学院 生物化学与分子生物学教研室, 安徽 蚌埠 233030; 4. 安徽省感染与免疫重点实验室, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 张珂(1976-), 女, 博士研究生, 主治医师。

[通讯作者] 王萍, 研究生导师, 教授。

解,置于-20℃保存。四甲基嘧啶氮蓝(MTT)为Fluka公司产品,Trizol为Invitrogen公司鼠抗人bcl-2、caspase-3单克隆抗体及SP试剂盒,均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 MTT比色法检测QUE对胃癌细胞增殖的影响

BGC-823细胞常规培养于含100 ml/L胎牛血清及青霉素和链霉素各110 u/L及0.3 g/L L-谷氨酰胺的RPMI 1640培养液中,置37℃、50 ml/L CO₂的饱和湿度空气中培养。取对数生长期的BGC-823细胞,加2.5 g/L胰蛋白酶消化并制成单个细胞悬液,调整细胞的密度为每升 1.5×10^4 个,按每孔200 μl接于96孔培养板中24 h,待细胞贴壁后,各孔加入终浓度分别为15、30、60、90、120 μmol/L的QUE,同时设细胞对照孔,只加入BGC-823细胞及空白对照孔,不加细胞只加培养液,每个浓度均设4个复孔,同时点4块板,每隔24 h取1块板。分别培养20、44、68 h后,每孔加入MTT 20 μl,置37℃培养箱中继续培养4 h;吸弃孔内的培养上清液,每孔加入DMSO 150 μl充分振荡,使蓝紫色沉淀充分溶解,在30 min内用酶联免疫检测仪测定波长490 nm处的光吸收A490值,整个实验重复4次,计算不同时间点不同浓度QUE对胃癌细胞的增殖抑制率=(对照组A490-用药组A490)/对照组A490×100%。

1.2.2 FCM测定细胞周期分布及细胞凋亡

收集细胞,以 1.0×10^5 /ml的细胞浓度接种于24孔板,每孔2 ml,细胞贴壁后加入不同剂量的QUE,使其终浓度为15、30、60、90、120 μmol/L,每孔容量均为2 ml,每个浓度设2个复孔,设不加药为对照组。培养24 h收获细胞,10 ml PBS洗涤,1 000 r/min,持续5 min,洗3次,弃上清液,加入100 μl PI染液(50 μg/ml),置入温箱内避光40 min,放入4℃冰箱过夜,上流式细胞仪检测周期分布及细胞凋亡,Cell Quest软件记录、分析实验结果。

1.2.3 SP法检测胃癌细胞内caspase-3、Bcl-2表达

收集细胞,调整浓度为 3×10^5 /ml,接种于已置盖玻片的6孔板内,每孔3 ml,细胞贴壁后,吸弃原培养液,实验组分别加入终浓度为30、60、90 μmol/L的QUE培养液2 ml。对照组加入无QUE的培养液3 ml。每组每个浓度设4个复孔,继续培养24 h。取出有贴壁细胞的盖玻片(细胞爬片),PBS冲洗晾干,95%乙醇固定20 min。细胞爬片进行SP法染色。显微镜下(×200)每组每张玻片随机计数1 000个细胞,则每组4张共计数4 000个细胞,同时计数其中的阳性细胞数,按下列公式计算阳性率:

$$\text{阳性率} = \frac{\text{阳性细胞数}}{\text{计数细胞总数}} \times 100\%$$

1.3 统计学方法

采用方差分析和q检验。

2 结果

2.1 对人胃癌BGC-823细胞增殖的影响

不同浓度处理组分别培养24、48、72 h,用MTT法测定细胞生长抑制率,QUE对胃癌BGC-823细胞有明显的生长抑制作用,随着作用时间的延长和剂量的增大,抑制作用越明显,呈时间-剂量依赖性,24 h时,各浓度组与对照组差异均有统计学意义($P < 0.01$);48、72 h时与对照组比较用药组各时间点抑制率差异有统计学意义($P < 0.01$);作用48 h时,30 μmol/L组与24 h比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$);作用72 h时,30、60、和120 μmol/L用药组与24 h相比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)(见表1),并呈现出以下特点:(1)从24 h开始,不同浓度的QUE对BGC-823细胞的增殖表现出不同程度的抑制作用,到72 h最大抑制率达95.82%。(2)QUE对BGC-823细胞的抑制作用呈浓度依赖关系。当QUE浓度分别为30、60、90、120 μmol/L时,抑制率分别为15.8%~50.46%、40.05%~71.95%、67.55%~80.79%、86.35%~95.82%。(3)采用SPSS统计分析软件,应用直线回归法计算其IC₅₀值为26.345 34~59.076 72。

表1 不同浓度QUE对人胃癌BGC-823细胞的增殖抑制作用比较($n_1=4; \bar{x} \pm s$)

QUE (μmol/L)	24 h		48 h		72 h		F	P	MS _{组内}
	吸光度	抑制率(%)	吸光度	抑制率(%)	吸光度	抑制率(%)			
对照组	0.625 ± 0.01	0.0	0.679 ± 0.02	0.0	0.838 ± 0.01	0.0	245.22	<0.01	0.000 2
15	0.552 ± 0.02 **	9.6	0.546 ± 0.02 **	19.53	0.536 ± 0.06 **	35.98	0.18	>0.05	0.001 5
30	0.528 ± 0.01 **	15.8	0.479 ± 0.03 ΔΔ	29.47	0.415 ± 0.01 ΔΔ##	50.46	35.03	<0.01	0.000 4
60	0.376 ± 0.05 **	40.05	0.352 ± 0.04 **	48.5	0.235 ± 0.03 ΔΔ##	71.96	13.66	<0.01	0.001 7
90	0.204 ± 0.02 **	67.55	0.203 ± 0.02 **	70.2	0.235 ± 0.02 **	80.79	3.31	>0.05	0.000 4
120	0.090 ± 0.02 **	86.35	0.066 ± 0.01 **	90.28	0.235 ± 0.04 ΔΔ##	95.82	47.77	<0.01	0.000 7
F	277.05		324.80		208.31		—	—	—
P	<0.01		<0.01		<0.01		—	—	—
MS _{组内}	0.01		0.001		0.001		—	—	—

q 检验:与对照组比较 ** $P < 0.01$ 与24 h比较 ΔΔ $P < 0.01$; 与48 h比较## $P < 0.01$

2.2 流式细胞仪分析细胞周期的分布和凋亡情况

QUE 可影响 BGC-823 细胞的细胞周期分布,使 G₀/G₁ 期比例降低,S 期比例增高,各浓度组间差异有统计学意义(P < 0.01)(见表 2)。

表 2 不同浓度 QUE 对人胃癌 BGC-823 细胞周期的影响 (%) (n_i = 4; $\bar{x} \pm s$)

QUE ($\mu\text{mol/L}$)	作用 24 h		
	G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M
对照组	63.43 ± 1.70	10.04 ± 0.93	36.85 ± 1.13
15	58.80 ± 1.08 **	10.75 ± 0.40	30.36 ± 1.78 **
30	51.80 ± 0.65 $\Delta\Delta$	12.25 ± 0.57 $\Delta\Delta$	20.25 ± 0.80 $\Delta\Delta$
60	44.60 ± 0.62 $\Delta\Delta$ ##	13.80 ± 0.52 $\Delta\Delta$ ##	17.82 ± 0.83 $\Delta\Delta$ ##
90	41.10 ± 0.99 $\Delta\Delta$ ##	23.50 ± 0.37 $\Delta\Delta$ ##	16.11 ± 0.97 $\Delta\Delta$ ##
120	31.20 ± 1.28 $\Delta\Delta$ ## $\Delta\Delta$	25.50 ± 0.49 $\Delta\Delta$ ## $\Delta\Delta$	12.29 ± 0.63 $\Delta\Delta$ ## $\Delta\Delta$
F	454.86	549.13	295.59
P	<0.01	<0.01	<0.01
MS _{组内}	1.247	0.333	1.185

q 检验:与对照组比较 **P < 0.01;与 15 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\Delta\Delta$ P < 0.01;与 30 $\mu\text{mol/L}$ 比较 ##P < 0.01;与 60 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\Delta\Delta$ ##P < 0.05,##P < 0.01;与 90 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\Delta\Delta$ ## $\Delta\Delta$ P < 0.01

同时,利用流式细胞仪亦可检测其凋亡率。每个样品计数 1×10^5 个细胞,FCM 检测在 G₀/G₁ 期前出现一亚二倍体峰,经 MODFIT 软件去除细胞碎屑后分析,确认为凋亡峰,该峰面积与 QUE 呈剂量-时间依赖性。同时 FCM 检测显示随着 QUE 作用浓度的增大和作用时间的延长,细胞凋亡率逐渐增加,

各组之间差异均有统计学意义(P < 0.01)(见表 3)。

表 3 流式细胞仪测定 QUE 诱导 BGC-823 细胞的凋亡率比较 (n_i = 4; $\bar{x} \pm s$)

QUE 浓度 ($\mu\text{mol/L}$)	24 h 凋亡率 (%)	F	P	MS _{组内}
0	1.350 ± 0.179			
15	2.455 ± 0.317			
30	5.885 ± 0.354 $\Delta\Delta$ *	332.55	<0.01	0.834
60	11.650 ± 0.911 $\Delta\Delta$ ##			
90	16.230 ± 0.366 $\Delta\Delta$ ##			
120	22.500 ± 1.944 $\Delta\Delta$ ## $\Delta\Delta$			

q 检验:与对照组比较 **P < 0.01;与 15 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\Delta\Delta$ P < 0.01;与 30 $\mu\text{mol/L}$ 比较 ##P < 0.01;与 60 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\Delta\Delta$ ##P < 0.01;与 90 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\Delta\Delta$ ## $\Delta\Delta$ P < 0.01

2.3 免疫细胞化学检测结果

2.3.1 QUE 抑制 BGC-823 细胞 Bcl-2 的表达

BGC-823 细胞爬片与 30、60、90、120 $\mu\text{mol/L}$ QUE 共培养 24 h,取出爬片做免疫组化染色,细胞质内出现棕黄色细颗粒为 Bcl-2 表达阳性(见图 1A)。对照组 Bcl-2 呈强阳性表达,随着 QUE 作用浓度的增大,Bcl-2 阳性表达越来越弱(见图 1B~E)。与对照组比较,差异均有统计学意义(P < 0.01),30、60、90 和 120 $\mu\text{mol/L}$ 组与各浓度组相比较,差异亦均有统计学意义(P < 0.05)(见表 4)。

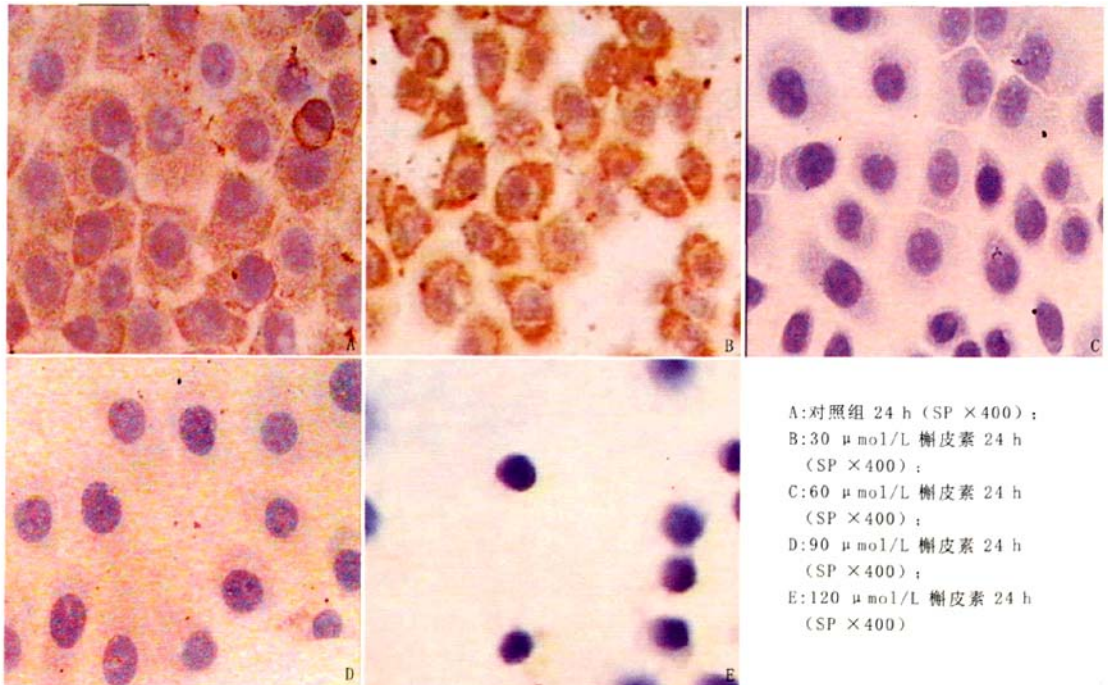


图 1 槲皮素对 BGC-823 细胞 bcl-2 表达的影响

表4 BGC-823 细胞 Bcl-2 表达的阳性率比较 ($n_i = 4; \bar{x} \pm s$)

QUE ($\mu\text{mol/L}$)	Bcl-2	F	P	MS _{组内}
0	0.611 \pm 0.028			
30	0.496 \pm 0.033 **			
60	0.395 \pm 0.028 $\Delta\Delta$	161.88	<0.01	0.001
90	0.264 \pm 0.0304 $\Delta\Delta\#\#$			
120	0.167 \pm 0.018 $\Delta\Delta\#\#\#$			

q 检验:与对照组比较 ** $P < 0.01$; 与 30 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 60 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\#\#\# P < 0.01$; 与 90 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\#\#\# P < 0.01$

2.3.2 QUE 对 BGC-823 细胞 caspase-3 表达 胃癌 BGC-823 细胞爬片与 30、60、90、120 $\mu\text{mol/L}$ 的 QUE 作用 24 h 做免疫组化染色,光学显微镜观察,细胞质内出现棕黄色细颗粒为阳性细胞(见图 2A)。按前述方法计数 caspase-3 阳性细胞数。结果显示随着 QUE 浓度的增大,BGC-823 细胞的 caspase-3 阳性率逐渐增多(见图 2B ~ E),实验各组与对照组比较差异均有统计学意义 ($P < 0.01$),各浓度组比较差异亦有统计学意义 ($P < 0.01$)(见表 5)。

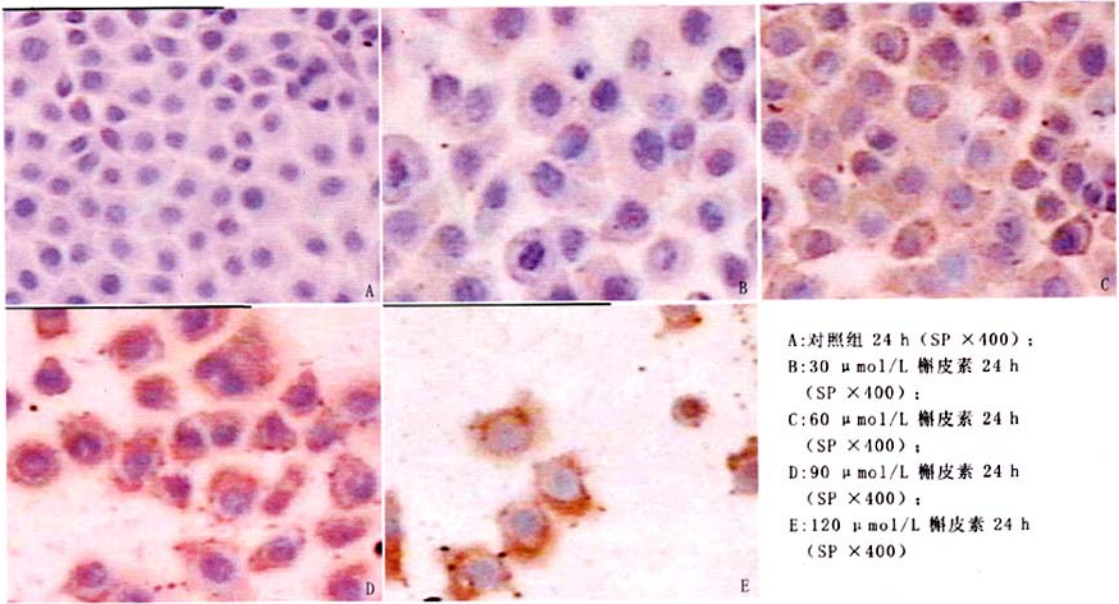


图 2 槲皮素对 BGC-823 细胞 caspase-3 表达的影响

表5 BGC-823 细胞 caspase-3 表达的阳性率比较 ($n_i = 4; \bar{x} \pm s$)

QUE ($\mu\text{mol/L}$)	caspase-3	F	P	MS _{组内}
0	0.058 \pm 0.004			
30	0.168 \pm 0.015 **			
60	0.285 \pm 0.023 $\Delta\Delta$	356.04	<0.01	0.001
90	0.456 \pm 0.028 $\Delta\Delta\#\#$			
120	0.557 \pm 0.028 $\Delta\Delta\#\#\#$			

q 检验:与对照组比较 ** $P < 0.01$; 与 30 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\Delta\Delta P < 0.01$; 与 60 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\#\#\# P < 0.01$; 与 90 $\mu\text{mol/L}$ 比较 $\#\#\# P < 0.01$

3 讨论

胃癌是发病率和死亡率较高的常见恶性肿瘤,严重威胁着人们的健康。因此,寻找有效且毒副作用小的抗胃癌药物尤其是抗癌中药尤为重要。QUE 因其在植物界分布广泛且毒性小,受到人们的普遍关注。近年来,有关其作用研究日益增多,并发现其有多种药理活性,不仅可降血压降血脂,扩张冠状动

脉,抗血小板聚集,抗炎,抗氧自由基,抑制有关酶的活性,而且可以诱导肿瘤细胞凋亡,对多种恶性肿瘤细胞生长有抑制作用。已有学者^[2]研究证明,QUE 在体外对乳腺癌、肺癌、结肠癌等肿瘤细胞均有增殖抑制及诱导凋亡作用。本文即采用 MTT 比色法对该作用进行了初步研究。MTT 法检测结果显示,QUE 在体外能抑制胃癌 BGC-823 细胞的增殖。由于 caspase-3、Bcl-2 与肿瘤增殖及凋亡密切相关,通过本次实验,我们发现 QUE 具有下调癌细胞 Bcl-2 表达,上调 caspase-3 表达,诱导胃癌细胞凋亡的作用,且细胞凋亡与 QUE 呈一定的剂量-效应关系,caspase-3 在细胞凋亡的信号传导中处于核心位置,许多凋亡的信号最终会汇集到此蛋白^[3-5]。caspase-3 在多种组织细胞中有表达,QUE 可能使其无活性的 32 kDa pro-caspase-3 经自裂解或其它蛋白酶的切割,在 N 端去掉 3 kDa 的前肽,然后裂解成有活性的 caspase-3,它是由 17 kDa 和 11 kDa 两个亚单位组成,激活的 caspase-3 通过切断细胞与周围

的联系、拆散细胞骨架、阻断细胞 DNA 的复制与修复、干扰 mRNA 的剪接、损伤 DNA 与核结构等方式诱导细胞凋亡。Bcl-2 是在 t(14,18) 染色体易位断点处发现的一种癌基因,大量研究^[6,7]表明,Bcl-2 是一个重要的凋亡抑制基因,它本身无促进增殖作用,也无促进细胞恶性转化作用,但它可以在无生长因子或神经营养因子存在的条件下抑制细胞凋亡,延长细胞寿命^[8],从而增加细胞染色体畸变和病毒感染机会,导致细胞恶变和促进肿瘤的发生发展。Bcl-2 蛋白表达被证实可以抑制程序性细胞死亡的过程,它能阻断多种细胞凋亡途径的共同通道。其具体机制可能为 Bcl-2 通过抑制线粒体细胞色素 C (cytochrome c, Cyt c) 和 Smac/DIABLO (second mitochondrial derived activator of caspase/direct IAP binding protein with low PI) 同为线粒体蛋白,称为第二个线粒体来源的胱氨酸酶激活剂或低等电点 IAP 直接结合蛋白) 的释放,从而抑制 CD95 (FaS) 介导的细胞凋亡。Cyt c 的释放是线粒体凋亡路径的主要步骤,在 ATP/dATP 存在的情况下,Cyt c 与凋亡蛋白酶活化因子 (apoptotic protease activating factor, APaf-1) 形成多聚复合体,通过 APaf-1 氨基端的 caspase 募集结构域募集胞质中的 caspase-9 前体,从而使其自我剪切而活化并启动 caspase 级联反应,激活下游的 caspase-3 和 caspase-7,完成对其相应底物的切割,引起细胞凋亡。本实验对照组 Bcl-2 呈强阳性表达,随着 QUE 作用浓度的增大,Bcl-2 阳性表达越来越弱,Bcl-2 阳性表达的细胞也越来越少,各组间差异均有统计学意义 ($P < 0.01$)。提示 QUE 诱导 BGC-823 细胞凋亡,可能与抑制凋亡抑制蛋白 Bcl-2 的表达有关。除此之外,本实验亦揭示了 QUE 可改变胃癌细胞的周期分布,使 G_0/G_1 期细胞所占比例减少,S 期急剧增加,阻断了 S 期细胞向 G_2/M 期移行过渡,出现 S 期细胞堆积增多的现象,从而抑制胃癌细胞的生长,导致细胞凋亡。

本研究证实 QUE 抑制胃癌细胞 BGC-823 增殖及诱导凋亡的机制可能与干扰细胞周期、上调 caspase-3 和下调凋亡相关蛋白 Bcl-2 的表达有关,但其具体机制仍需进一步研究。作为一种分布广、造价低廉的天然药物,QUE 在胃癌防治领域有良好

的临床应用前景;现已有部分临床实验证明^[9],应用合适剂量的 QUE 具有安全性。另有实践证明,QUE 可以以食物或食物添加剂的形式被人体所吸收^[10,11],因此,在正常饮食中,食用一些富含 QUE 的食物对于预防和控制某些肿瘤是有益处的,但其具体机制仍需进一步探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Havesteen B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency [J]. *Biochem Pharmacol*, 1983, 32 (3): 1141 - 1148.
- [2] Hwang KS, Cho WK, Yoo J, et al. Adenovirus mediated interleukin-12 gene transfer combined with cytosine deaminase followed by 5-fluorocytosine treatment exerts a potent antitumor activity in rena tumor bearing mice [J]. *BMC Cancer*, 2005, 24 (5): 51.
- [3] Okabe TY, Satoh Y, Okabe HY, et al. Thyroid hormone induces the expression of 4-1BB and activation of caspases in a thyroid hormone receptor-dependent manner [J]. *Eur J Biochem*, 2003, 270 (12): 3064 - 3073.
- [4] Mahieux R, Masison CP, Gessain A, et al. Arsenic trioxide induces apoptosis in human T-cell leukemia virus type 1-and type 2-infected cells by a caspase-3-dependent mechanism involving Bcl-2 cleavage [J]. *Blood*, 2001, 98 (13): 3762 - 3769.
- [5] Miller WH Jr. Molecular targets of arsenic trioxide in malignant cells [J]. *The Oncologist*, 2002, 7 (1): 14 - 19.
- [6] Pattingre S, Levine B. Bcl-2 inhibition of autophagy: a new route to cancer [J]. *Cancer Res*, 2006, 66 (6): 2885 - 2888.
- [7] Guo B, Zhai D, Cabezas E, et al. Humanin peptide suppresses apoptosis by interfering with Bax activation [J]. *Nature*, 2003, 423 (6938): 456 - 461.
- [8] Liu S, Pereira NA, Teo JJ, et al. Mitochondrially targeted Bcl-2 and Bcl-X(L) chimeras elicit different apoptotic responses [J]. *Mol Cells*, 2007, 24 (3): 378 - 387.
- [9] Ferry DR, Smith A, Malkhandi J, et al. Phase I clinical trial of the flavonoid quercetin: pharmacokinetics and evidence for in vivo tyrosine kinase inhibition [J]. *Clin Cancer Res*, 1996, 2 (4): 659 - 668.
- [10] Walle T, Browning AM, Steed LS, et al. Flavonoid glucosides are hydrolyzed and thus activated in the oral cavity in humans [J]. *J Nutr*, 2005, 135 (1): 48 - 52.
- [11] Browning AM, Walle UK, Walle T. Flavonoid glycosides inhibit oral cancer cell proliferation-role of cellular uptake and hydrolysis to the aglycones [J]. *J Pharm Pharmacol*, 2005, 57 (8): 1037 - 1041.