

• 实验研究 •

紫杉醇联合肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体诱导 MCF-7 乳腺癌细胞系凋亡机制的研究

张传涛 史业辉 佟仲生

【摘要】 目的 探讨紫杉醇对肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)诱导 MCF-7 乳腺癌细胞系凋亡的影响及其作用机制。**方法** MTT 法检测不同浓度的单药紫杉醇组、单药 TRAIL 组和联合给药组 1(同时给予紫杉醇和 TRAIL)、联合给药组 2(先给予 TRAIL 再给予紫杉醇)、联合给药组 3(先给予紫杉醇再给予 TRAIL)对 MCF-7 细胞的抑制作用;流式细胞术 Annexin V-FITC/PI 染色法检测不同给药方案对细胞凋亡的影响;RT-PCR 法检测紫杉醇对 MCF-7 细胞 TRAIL 受体——死亡受体(death receptor, DR)4 与 5 表达水平的影响。**结果** 紫杉醇对 MCF-7 细胞的抑制作用随药物浓度提高而增强,呈剂量依赖性;MCF-7 细胞对 TRAIL 呈一定程度的耐药;联合给药组 1(同时给予紫杉醇和 TRAIL)与紫杉醇单药组 1、TRAIL 单药组 1 比较无协同作用($CDI = 1.00, >0.85$);联合给药组 2(先给予 TRAIL 再给予紫杉醇)与紫杉醇单药组 1、TRAIL 单药组 2 比较亦无协同作用($CDI = 0.87, >0.85$);联合给药组 3(先给予紫杉醇再给予 TRAIL)与紫杉醇单药组 2、TRAIL 单药组 1 比较可见协同作用($CDI = 0.46, <0.75$)。先给予紫杉醇再给予 TRAIL 联合给药组(联合给药组 3)较单药组凋亡细胞数目多。紫杉醇可诱导 MCF-7 细胞 DR5 表达上调,而对 DR4 表达水平无影响。**结论** 紫杉醇与 TRAIL 联合可协同抑制 MCF-7 细胞生长,机制可能与紫杉醇诱导的死亡受体 5 mRNA 表达上调有关。

【关键词】 乳腺肿瘤; 紫杉醇; 肿瘤坏死因子; 化学治疗

【中图分类号】 R737.9

【文献标识码】 A

Mechanism of apoptosis induced by Paclitaxel combined with TRAIL in the MCF-7 breast cancer cell line ZHANG Chuan-tao, SHI Ye-hui, TONG Zhong-sheng. Emergency Department of Qingdao Municipal Hospital of Qingdao University, Qingdao 266070, China

【Abstract】 Objective To determine the interaction between Paclitaxel and TRAIL(tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand) in MCF-7 breast cancer cell line and investigate the possible mechanism. **Methods** The inhibitory rates of different concentrations of Paclitaxel, TRAIL alone or different combinations of Paclitaxel and TRAIL on MCF-7 cells were examined by MTT assay. MCF-7 cells of the control group, the TRAIL group, the Paclitaxel group and the combination group were stained by Annexin V-FITC/PI; and the apoptosis rates were detected by flow cytometry. At mRNA levels, DR4 and DR5 of MCF-7 cells treated by Paclitaxel were semi-qualified by RT-PCR. **Results** MTT assay

作者单位:266070 山东 青岛,青岛大学附属青岛市立医院急诊科(张传涛);300060 天津,天津医科大学附属肿瘤医院乳腺肿瘤内科 天津市重点实验室天津市肿瘤研究所 教育部乳腺癌防治重点实验室(史业辉、佟仲生)

通讯作者:佟仲生, E-mail: tonghang@medmail.com.cn

showed that MCF-7 cells were sensitive to Paclitaxel in a dose-dependent manner and less sensitive to TRAIL. MTT assay also showed different combination schemes had different inhibitory effects. There were not synergistic effects in Scheme 1 (MCF-7 cells were treated by Paclitaxel and TRAIL simultaneously, $CDI = 1.00, > 0.85$) and Scheme 2 (MCF-7 cells were treated with TRAIL firstly and successively treated with Paclitaxel, $CDI = 0.87, > 0.85$), but synergistic effects could be seen in Scheme 3 (MCF-7 cells treated with Paclitaxel firstly and successively treated with TRAIL, $CDI = 0.46, < 0.75$). The synergism of Scheme 3 was verified by Annexin V-FITC/PI assay. DR4 and DR5 were detected by RT-PCR at mRNA levels, DR5 was up-regulated by Paclitaxel, but DR4 was not changed significantly.

Conclusions A synergism could be seen when MCF-7 cells were treated with Paclitaxel followed by TRAIL, the mechanism of which may be related to the up-regulation of DR5 induced by Paclitaxel at the mRNA level.

【Key words】 Breast neoplasms; Paclitaxel; Tumor necrosis factor; Chemotherapy

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand, TRAIL)由 Willey 等^[1]于 1995 年发现,它可以选择性杀伤肿瘤细胞但对正常组织无明显的杀伤作用。但研究发现包括乳腺癌在内的许多细胞对 TRAIL 存在不同程度的耐药^[2]。国内外许多学者试图采用将化疗药与之联合的方式逆转肿瘤耐药,但研究发现只有在 DNA 损伤性药物(如顺铂、阿霉素)与 TRAIL 联合应用时才可见到协同作用。紫杉醇与之联合有无协同作用尚存在争议^[2-4]。本研究旨在探讨紫杉醇对 TRAIL 诱导 MCF-7 乳腺癌细胞系凋亡的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

人乳腺癌 MCF-7 细胞株由天津肿瘤研究所免疫实验室提供;紫杉醇购于百时美-施贵宝公司;重组人可溶性 TRAIL 蛋白购于 Prepro Tech 公司;MTT 试剂购于 Sigma 公司;Annexin V/PI、PI 试剂均购于 Band 公司;M-MLV 逆转录酶及 Taq DNA 聚合酶购于 Promega 公司,Alphaimager 2200 凝胶电泳扫描仪为美国 Alpha Innotech 公司产品;Multiskan Ascent 自动酶标仪为芬兰 Labsystems 公司产品,流式细胞仪为 BD FACSAria 产品,Eppendorf 5331 梯度 PCR 仪为德国 Eppendorf 公司产品。

1.2 细胞培养

取人乳腺癌 MCF-7 细胞株于 37℃ 5% CO₂ 恒温孵箱中培养。培养基为含 10% 小牛血清、100 U/mL 庆大霉素、250 mg/L 的 RPMI1640 培养液,0.25% 胰蛋白酶消化,3~5 d 传代 1 次,实验取对数生长期细胞。

1.3 MTT 法检测细胞毒性

1.3.1 确定合适的联合给药浓度:检测单药紫杉醇、单药 TRAIL 对细胞的抑制作用,摸索适宜的联合给药浓度。紫杉醇浓度为:0、0.02、0.10、0.50、2.50 和 12.50 $\mu\text{mol/L}$;TRAIL 浓度为 0、0.02、0.10、0.50、2.50 和 12.50 $\mu\text{mol/L}$ 。

1.3.2 检测两药联合有无协同抑制作用:将细胞分为 2 个不同作用时间的紫杉醇单药组、2 个不同作用时间的 TRAIL 单药组、3 个紫杉醇与 TRAIL 联合给药组及 1 个空白组、1 个对照组。具体分组见表 1。

表 1 MTT 检测两药联合有无协同抑制作用

分组	实验分组方法 ($\mu\text{mol/L}$)			
	第 1 天(24 h)		第 2 天(24 h)	
	紫杉醇	TRAIL	紫杉醇	TRAIL
紫杉醇单药组 1	0.00	0.00	0.50	0.00
紫杉醇单药组 2	0.50	0.00	0.50	0.00
TRAIL 单药组 1	0.00	0.00	0.00	0.50
TRAIL 单药组 2	0.00	0.50	0.00	0.50
联合给药组 1	0.00	0.00	0.50	0.50
联合给药组 2	0.00	0.50	0.50	0.50
联合给药组 3	0.50	0.00	0.50	0.50
空白对照组 ^a	0.00	0.00	0.00	0.00
本底组 ^b	0.00	0.00	0.00	0.00

a: 空白组含细胞,加普通培养液;b:本底组不含细胞,只加普通培养液;TRAIL:肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体

1.3.3 实验步骤:取对数生长期细胞加入 96 孔板中,每孔加 100 μl [含 $(2 \sim 5) \times 10^4$ 个细胞],培养 24 h 后,按分组方案加入含不同浓度药物的培养基,每孔 100 μl ,每一浓度设 4 个副孔,继续培养 24 h 后每孔加 10 μl MTT 工作液 (5 mg/mL),37 $^{\circ}\text{C}$,继续孵育 4 h,终止培养。弃上清液,每孔加入 100 μl 二甲基亚砷(DMSO),静置 15 min,选择 570 nm 波长,在自动酶联检测仪上测定各孔吸光度(A)值。细胞抑制率(%) = $(1 - \text{实验组 A 值} / \text{对照组 A 值}) \times 100\%$ 。实验重复 3 次,取平均值。

MTT 法实验结果采用相互作用指数 (coefficient of drug interaction, CDI)^[5]判断两药联合有无协同作用。计算方法为: $\text{CDI} = \text{AB} / (\text{A} \times \text{B})$ 。AB 为两药联合作用组与对照组的吸光度比值;A、B 是药物单独作用组与对照组的吸光度比值。当 $\text{CDI} \leq 0.85$ 时存在协同作用, $\text{CDI} \leq 0.75$ 时认为协同作用非常显著。

1.4 镜下观察处理后细胞形态变化并行流式细胞术 Annexin V-FITC/PI 法检测细胞凋亡

实验分空白组、紫杉醇组、TRAIL 组、联合给药组(先给紫杉醇,24 h 后加

TRAIL 继续作用 24 h, 两药终浓度均为 $0.5 \mu\text{mol/L}$ 共 4 组。取对数生长期 MCF-7 乳腺癌细胞, 用 0.25% 的胰蛋白酶消化, 制成悬液, 取细胞 (1×10^6 个) 于直径 60 mm 培养皿中培养, 24 h 后按分组处理细胞, 继续培养 24 h 后镜下观察细胞形态, 并于 10×10 倒置显微镜下拍摄照片; 取细胞用 0.25% 胰蛋白酶消化, 1000 r/min 离心 5 min, PBS 洗 2 遍, 收集 $(1 \sim 5) \times 10^6$ 个细胞; 加入 $200 \mu\text{l}$ 结合缓冲液, 悬浮细胞, 将其平均分入两个流式管内, 一组为对照组, 一组为实验组, 实验组中加入 Annexin V-FITC、PI 各 $5 \mu\text{l}$, 混匀, 室温避光孵育 5 ~ 15 min, 加入 $400 \mu\text{l}$ 的结合缓冲液悬浮细胞, 1 h 内上流式细胞仪检测。以上实验重复 3 遍, 取平均值。

1.5 RT-PCR 法检测死亡受体 (death receptor, DR) 4、5 表达水平变化

采用异硫氰酸胍法提取总 RNA, 逆转录合成 cDNA, 取 $5 \mu\text{l}$ cDNA 进行 PCR 反应。各引物序列见表 2。PCR 反应条件为: 94°C 预变性 5 min, 94°C 变性 30 s, 56°C (DR4) 或 61°C (DR5) 退火 45 s, 72°C 延伸 45 s, 循环 30 次, 末次 72°C 延伸 7 min。取 RT-PCR 产物 $10 \mu\text{l}$, 加入 1.5% 琼脂糖凝胶中, 75 V 电泳 40 min; 电泳结果用凝胶成像分析系统照像并测出 TRAIL 受体与 β -actin 吸光度值, 表示 TRAIL 受体的相对表达强度。

表 2 DR4、DR5 及 β -actin 引物序列

引物	上游引物	下游引物	扩增产物
β -actin	5'-CGCGGCTACAGCTTCACCACG-3'	5'-GCGTACAGGTCTTTGCGGATG-3'	200 bp
DR4	5'-CT TCAAGTTTGTCTCGTCG-3'	5'-GAGCCGATGCAACAACAGAC-3'	490 bp
DR5	5'-GCGGTCTGCTGTGCTCTC-3'	5'-GCTTCTGTCCACACGCTCAG-3'	420 bp

1.6 统计学处理

数据用均数 \pm 标准差表示, 根据数据特征采用 SPSS13.0 统计软件分析行 t 检验和 ONE-WAY ANOVA 统计分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药物对 MCF-7 乳腺癌细胞系的抑制作用

2.1.1 单用紫杉醇对 MCF-7 乳腺癌细胞的抑制作用: 紫杉醇浓度 $< 0.5 \mu\text{mol/L}$ 时, 加药组与空白组吸光度值间比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05); 浓度 $\geq 0.5 \mu\text{mol/L}$, 紫杉醇对 MCF-7 加药组与空白组吸光度值间比较差异有统计学意义 (P 均 < 0.05), 各加药组组间比较差异有统计学意义 (P 均 < 0.05)。半数药物抑制浓度 (IC_{50}) 为 $4.85 \mu\text{mol/L}$ 。本实验取紫杉醇 $0.5 \mu\text{mol/L}$ 为联合给药浓度 (表 3)。

表 3 不同浓度紫杉醇对 MCF-7 乳腺癌细胞系的抑制作用

紫杉醇浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	吸光度值	抑制率/%
0.00	1.62 ± 0.13	
0.02	1.46 ± 0.13	9.44 ± 3.25
0.10	1.43 ± 0.14	11.75 ± 4.53
0.50	1.31 ± 0.11	18.64 ± 5.42
2.50	0.95 ± 0.10	40.74 ± 10.78
12.50	0.52 ± 0.09	67.60 ± 6.80

2.1.2 单用 TRAIL 对 MCF-7 乳腺癌细胞的抑制作用:TRAIL 浓度 $<0.50 \mu\text{mol/L}$, 加药组与空白组吸光度值间比较差异无统计学意义($P > 0.05$); 浓度 $\geq 0.5 \mu\text{mol/L}$ 时, 加药组与空白组吸光度值间比较差异存在统计学意义(P 均 < 0.05), 加药组间比较差异无统计学意义(P 均 > 0.05)。本实验选 TRAIL $0.5 \mu\text{mol/L}$ 为联合给药浓度(表 4)。

表 4 不同浓度 TRAIL 对 MCF-7 乳腺癌细胞系的抑制作用

TRAIL 浓度/($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	吸光度值	抑制率/%
0	1.67 ± 0.14	
0.02	1.57 ± 0.12	5.98 ± 2.48
0.10	1.52 ± 0.16	8.27 ± 1.19
0.50	1.38 ± 0.14	17.69 ± 6.04
2.50	1.32 ± 0.12	21.06 ± 6.34
12.50	1.28 ± 0.16	22.93 ± 7.50

TRAIL: 肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体

2.1.3 紫杉醇与 TRAIL 联合给药对 MCF-7 乳腺癌细胞系的抑制作用:联合给药组 1(同时给予紫杉醇和 TRAIL)与紫杉醇单药组 1、TRAIL 单药组 1 比较无协同作用($\text{CDI} = 1.00, > 0.85$); 联合给药组 2(先给予 TRAIL 再给予紫杉醇)与紫杉醇单药组 1、TRAIL 单药组 2 比较亦无协同作用($\text{CDI} = 0.87, > 0.85$); 联合给药组 3(先给予紫杉醇再给予 TRAIL)与紫杉醇单药组 2、TRAIL 单药组 1 比较可见协同作用($\text{CDI} = 0.46, < 0.75$)。先给药紫杉醇作用 24 h 后加入 TRAIL 继续作用 24 h 的给药方式对细胞抑制作用最强, 选联合给药组 3 的给药方式进行后续实验(表 5, 图 1)。

2.2 镜下观察紫杉醇与 TRAIL 联合应用对 MCF-7 乳腺癌的抑制作用

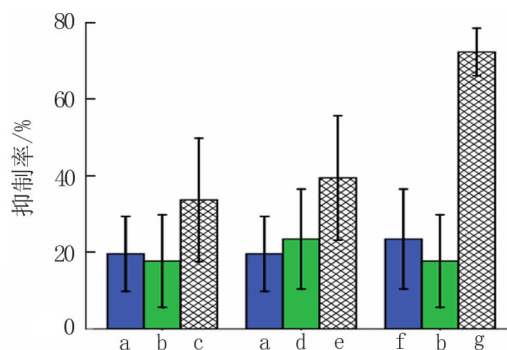
空白对照组: 可见细胞正常贴壁生长, 形态正常, 仅见少量细胞变圆, 飘浮。紫杉醇单药组: 贴壁细胞数量明显减少, 大量细胞变圆, 飘浮。TRAIL 单药组: 细胞生长尚可, 贴壁良好, 细胞形态正常, 但可见飘浮细胞数量较空白对

照组增多。联合给药组 3:细胞失去正常形态,贴壁细胞罕见,大量细胞飘浮(图 2)。

表 5 不同处理组对 MCF-7 乳腺癌细胞系的抑制作用

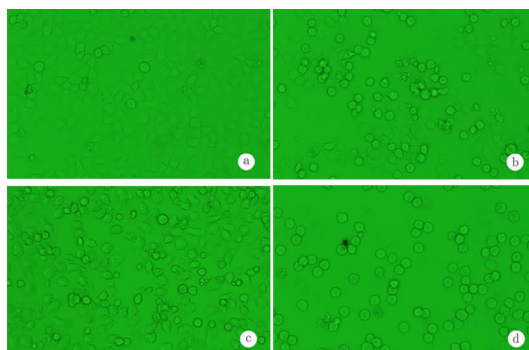
分组	吸光度值 ^a	生存率/%	抑制率/%	两药相互作用指数(CDI)
空白对照组	1.62 ± 1.16			
紫杉醇单药组 1	1.29 ± 0.10	80.25 ± 9.11	19.75 ± 9.11	1.00
TRAIL 单药组 1	1.34 ± 0.13	82.79 ± 6.05	17.21 ± 6.05	
联合给药组 1	1.07 ± 0.11	66.55 ± 10.36	33.45 ± 10.36	
紫杉醇单药组 2	1.13 ± 0.08	80.25 ± 9.11	19.75 ± 9.11	0.87
TRAIL 单药组 2	1.23 ± 0.08	76.72 ± 8.07	23.28 ± 8.07	
联合用药组 2	0.98 ± 0.13	60.74 ± 8.94	39.26 ± 8.94	
紫杉醇单药组 2	1.14 ± 0.08	70.66 ± 9.30	29.34 ± 9.30	0.48 ^b
TRAIL 单药组 1	1.34 ± 0.13	82.79 ± 6.05	17.21 ± 6.05	
联合给药组 3 ^c	0.45 ± 0.07	28.01 ± 4.62	71.99 ± 4.62	

a: 所有数值均已去除本底的吸光度值;b: CDI=0.48, ≤0.75 可见显著协同作用; c: 在联合给药组 3(先给予紫杉醇再给予 TRAIL 组)中两药有协同作用。



a: 紫杉醇 24 h d2; b: TRAIL 24 h d2; c: 联合给药组 1; d: TRAIL 48 h d1-2; e: 联合给药组 2; f: 紫杉醇 48 h d1-2; g: 联合给药组 3

图 1 不同处理组对 MCF-7 乳腺癌细胞系的抑制作用

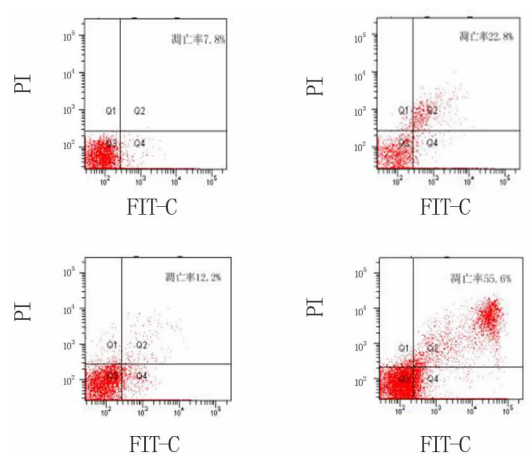


a: 空白对照组; b: 紫杉醇组; c: TRAIL 组; d: 联合给药组 3

图 2 倒置显微镜下观察紫杉醇与 TRAIL 单药及联合给药对细胞形态的影响(×100)

2.3 Annexin V-FITC/PI 染色法流式细胞仪检测凋亡率

MCF-7 乳腺癌细胞分组同 2.1。空白对照组、紫杉醇组、TRAIL 组、联合给药组 3 的凋亡率分别为 $(7.56 \pm 2.23)\%$, $(22.6 \pm 2.44)\%$, $(12.36 \pm 0.47)\%$, $(61.56 \pm 5.52)\%$ 。联合给药组凋亡细胞数目明显较其余 3 组多(图 3)。

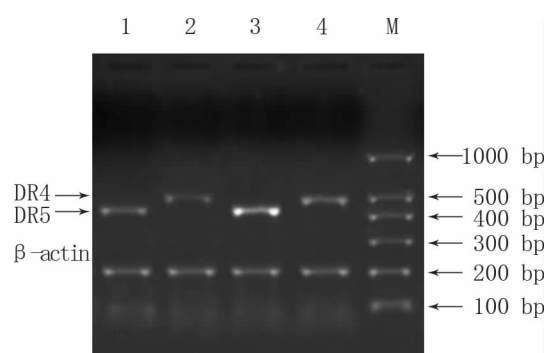


a:空白对照组;b:紫杉醇组;c:TRAIL 组;d:联合给药组 3

图 3 各组 MCF-7 乳腺癌细胞的流式细胞仪检测结果

2.4 RT-PCR 检测 DR4、DR5 mRNA 表达水平的变化

对照组及紫杉醇组均有 DR4、DR5 表达,半定量分析表明紫杉醇作用 24h 后 DR5 的表达水平明显增强,而 DR4 未见明显变化(图 4)。



1,2:空白对照组;3,4:紫杉醇单药组;M: Marker

图 4 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 紫杉醇作用 24 h 后各组细胞 DR4、DR5 的表达水平

3 讨论

紫杉醇是从紫杉(红豆杉)树皮中提取的一种抗癌药,对转移性乳腺癌和晚期卵巢癌有突出疗效。许多研究证实紫杉醇诱导胃癌、前列腺癌等细胞凋亡呈浓度依赖性。本研究发现紫杉醇浓度 $<0.50 \mu\text{mol/L}$ 时,加药组与空白组无明

显抑制作用,而浓度 $\geq 0.50 \mu\text{mol/L}$ 时,可见肿瘤抑制作用显著增强。紫杉醇对 MCF-7 细胞的抑制作用呈剂量依赖性,随浓度的增高细胞毒性增强,与文献^[6-7]报道一致。

TRAIL 是肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)家族成员之一,为 II 型跨膜糖蛋白,属于 TNF 超家族成员。TRAIL 最主要的生物学特点为选择性细胞毒作用^[8-9],即可诱导肿瘤细胞、转化细胞或病毒感染细胞凋亡,而不能诱导正常细胞凋亡。TRAIL 与死亡受体(death receptor, DR)4、5 结合后,通过激活非线粒体依赖型途径和线粒体依赖型途径诱导细胞。TRAIL 与 DR4、DR5 的结合是激活这两条途径的初始步骤。本研究证实,TRAIL 在浓度 $< 0.50 \mu\text{mol/L}$ 时,对癌细胞无明显的抑制作用,当药物 $\geq 0.50 \mu\text{mol/L}$ 时,可见到显著的抑制作用,但随浓度提高,抑制作用未见相应增加,呈现一定的耐药^[2]。可能与 TRAIL 达一定浓度后,受体已完全饱和,不能诱导更多的肿瘤细胞凋亡有关。

许多学者将化疗药与 TRAIL 联合逆转肿瘤细胞对 TRAIL 的耐药。Lin 等^[10]证实 TRAIL 基因治疗与多种化疗药物可显著抑制敏感及耐药乳腺癌细胞株的生长和转移。Keane 等^[2]也证实, GST-TRAIL 联合 5-FU 或阿霉素(ADM)可见明显协同作用,在 MDA-MB-453 细胞系与紫杉醇、美尔法兰、甲氨蝶呤联合未见协同作用。但 Frese 等^[3-4]证实 TRAIL 与紫杉醇联合在非小细胞肺癌、前列腺癌、卵巢癌均可见协同作用。本研究用 MTT 法证实两药联合有协同作用,Annexin V-FITC/PI 法亦证实联合给药明显较单药组凋亡细胞数目多。同时本研究发现紫杉醇与 TRAIL 以不同顺序联合后对 MCF-7 细胞的抑制率各不相同,只有先给予紫杉醇再给予 TRAIL 可以见到协同作用。Nimmanapalli 等^[11]在前列腺癌也证实先给予紫杉醇后给药 TRAIL 可诱导更多的细胞凋亡。

有文献报道 DR4、DR5 表达上调可增加肿瘤细胞对 TRAIL 的反应率^[12]。本研究证实紫杉醇作用 24 h 后 DR5 mRNA 表达水平上调,DR5 的表达水平的变化可能与协同机制有关。国内外学者对 DR4、DR5 在化疗药与 TRAIL 联合协同诱导凋亡中的作用有不同的认识。Nagane 等^[13]认为化疗药可诱导神经胶质瘤 DR5 的表达水平上调。而 Nimmanapalli 等^[11]发现,化疗药可诱导前列腺癌 DR4、DR5 的上调。Nagane^[13]和 Griffith 等^[14]在肾癌、神经胶质瘤方面的研究亦有类似结论。但 Li 等^[15]认为只有 DR4 在协同作用中有重要意义,而 Odoux 等^[16]在非小细胞肺癌未见 DR4、DR5 表达水平变化。DR4、DR5 在协同诱导作用中的地位有待进一步研究。在下一步的研究中,笔者将在蛋白水平采用 Western blotting 检测 DR4、DR5 表达变化,并使用 siRNA 沉默 DR4、DR5 表达,从正反两方面明确 DR4、DR5 在协同作用中的意义。

总之,对 MCF-7 乳腺癌细胞联合应用紫杉醇与 TRAIL 可见协同作用,为进一步的动物体内实验提供了理论基础。

参考文献

- [1] Wiley S R, Schooley K, Smolak P J, *et al.* Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity*,1995,3:673 – 682.
- [2] Keane M M, Ettenberg S A, Nau M M, *et al.* Chemotherapy augments TRAIL-induced apoptosis in breast cell lines. *Cancer Res*,1999,59:734 – 741.
- [3] Frese S, Brunner T, Gugger M, *et al.* Enhancement of Apo2L/TRAIL (tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand)-induced apoptosis in non-small cell lung cancer cell lines by chemotherapeutic agents without correlation to the expression level of cellular protease caspase-8 inhibitory protein. *J Thorac Cardiovasc Surg*,2002,123:168 – 174.
- [4] Odoux C, Albers A, Amoscato A A, *et al.* TRAIL, FasL and a blocking anti-DR5 antibody augment paclitaxel-induced apoptosis in human non-small-cell lung cancer. *Int J Cancer*,2002,97:458 – 465.
- [5] 李忠东,李毅,甄永苏. Potention of boanmycin antitumor activity by chemotactic peptide. *中国癌症研究(英文版)*,2005,17:79 – 83.
- [6] Ganansia Leymarie V, Bischoff P, Bergerat J P, *et al.* Signal transduction pathways of taxanes-induced apoptosis. *Curr Med Chem Anticancer Agents*,2003,3:291 – 306.
- [7] Tan G, Heqing L, Jiangbo C, *et al.* Apoptosis induced by low-dose paclitaxel is associated with p53 upregulation in nasopharyngeal carcinoma cells. *Int J Cancer*,2002,97:168 – 172.
- [8] Ashkenazi S, Passwell J H, Harlev E, *et al.* Safety and immunogenicity of Shigella sonnei and Shigella flexneri 2a O-specific polysaccharide conjugates in children. *J Infect Dis*,1999,179:1565 – 1568.
- [9] Walczak H, Krammer P H. The CD95 (APO-1/Fas) and the TRAIL (APO-2L) apoptosis systems. *Exp Cell Res*,2000,256:58 – 66.
- [10] Lin T, Zhang L, Davis J, *et al.* Combination of TRAIL gene therapy and chemotherapy enhances antitumor and antimetastasis effects in chemosensitive and chemoresistant breast cancers. *Mol Ther*,2003,8:441 – 448.
- [11] Nimmanapalli R, Perkins C L, Orlando M, *et al.* Pretreatment with paclitaxel enhances apo-2 ligand/tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-induced apoptosis of prostate cancer cells by inducing death receptors 4 and 5 protein levels. *Cancer Res*,2001,61:759 – 763.
- [12] Srivastava R K. TRAIL/Apo-2L: mechanisms and clinical applications in cancer. *Neoplasia*,2001,3:535 – 546.
- [13] Nagane M, Pan G, Weddle J J, *et al.* Increased death receptor 5 expression by chemotherapeutic agents in human gliomas causes synergistic cytotoxicity with tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Res*,2000,60:847 – 853.
- [14] Griffith T S, Chin W A, Jackson G C, *et al.* Intracellular regulation of TRAIL-induced apoptosis in human melanoma cells. *J Immunol*,1998,161:2833 – 2840.
- [15] Li F, Meng L, Xing H, *et al.* Essential role of c-Jun-NH2-terminal kinase on synergy induction of apoptosis by TRAIL plus ADM in ADM resistant MCF-7/ADM cells. *Apoptosis*,2006,11:1239 – 1246.
- [16] Odoux C, Albers A, Amoscato A A, *et al.* TRAIL, FasL and a blocking anti-DR5 antibody augment paclitaxel-induced apoptosis in human non-small-cell lung cancer. *Int J Cancer*,2002,97:458 – 465.

(收稿日期:2008-09-08)

(本文编辑:陈莉)

张传涛,史业辉,佟仲生. 紫杉醇联合肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体诱导 MCF-7 乳腺癌细胞系凋亡机制的研究[J/CD]. *中华乳腺病杂志:电子版*,2008,2(6):661 – 669.