

# 猪软骨多糖对滚瓶培养 MCF-7 细胞的诱导凋亡作用及其差异表达蛋白的初步研究

魏欣, 王鹏飞, 刘安军

(食品营养与安全教育部重点实验室, 天津科技大学食品工程与生物技术学院, 天津 300457)

**摘要:** 本文研究了人乳腺癌细胞 MCF-7 在滚瓶培养形成大量细胞聚集体时, 猪软骨多糖对 MCF-7 的诱导凋亡作用, 并初步研究了其凋亡前后的差异表达蛋白。采用 Hoechst 33342/PI 染色于共聚焦显微镜下观察细胞的凋亡特征; Annexin V-FITC/PI 检测细胞凋亡; 流式细胞仪检测细胞周期的变化; 并提取 MCF-7 细胞的全蛋白, 利用二维凝胶电泳 (2-DE) 结合 MALDI-TOF 质谱技术检测差异表达蛋白。结果表明: MCF-7 细胞在猪软骨多糖作用后出现典型的凋亡现象, 通过流式细胞仪检测发现在猪软骨多糖作用 12 h, 24 h 的 MCF-7 凋亡率分别为 20.23% 和 44.7%; 同时发现 MCF-7 细胞在猪软骨多糖作用后, 细胞周期被阻滞在了 S 期; 初步鉴定出 2 个差异表达蛋白, 其中一个为肌动蛋白 actin, 另一个为抗氧化类蛋白 PRDX6。

**关键词:** 软骨多糖; MCF-7 细胞; 细胞凋亡; 蛋白质组学

文章编号: 1673-9078(2015)11-1-6

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.11.001

## Apoptosis-inducing Effect of Porcine Cartilage Polysaccharide on MCF-7 Cells and Their Differentially Expressed Proteins

WEI Xin, WANG Peng-fei, LIU An-jun

(Key Laboratory of Food Nutrition and Safety, Ministry of Education, College of Food Engineering and Biotechnology, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China)

**Abstract:** MCF-7 (human breast adenocarcinoma cell line) cells were cultured in roller bottles to investigate the apoptosis-inducing effects of porcine cartilage polysaccharide in terms of formation of large cell aggregates. Protein expression before and after apoptosis were explored. The cell apoptotic characteristics were observed by laser scanning confocal microscopy (LSCM) after Hoechst 33342/propidium iodide (PI) staining; apoptosis was detected by Annexin V-fluorescein isothiocyanate (FITC)/PI; and changes in cell cycle were analyzed by flow cytometry (FCM). Total proteins of MCF-7 were extracted and differentially expressed proteins were analyzed by two-dimensional electrophoresis (2-DE) and matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight (MALDI-TOF). The results showed that the typical apoptotic characteristics of MCF-7 cells were observed after exposure to porcine cartilage polysaccharide, and FCM results showed apoptotic rates of 20.23% and 44.7% after 24- and 48-h exposure, respectively. Additionally, it was found that the cell cycle of MCF-7 cells was arrested in S phase. Moreover, two differentially expressed proteins were identified: actin and an antioxidant protein, PRDX6.

**Key words:** cartilage polysaccharide; MCF-7 cells; apoptosis; proteomics

乳腺癌是女性最常见的恶性疾病, 2000 年起全球范围内新增病例超过 100 万例, 有 37 万左右的患者死亡<sup>[1]</sup>。乳腺癌的发生和发展是多种原癌基因激活和抑癌基因失活共同作用的结果, 其发展是一个多因素、

收稿日期: 2014-12-19

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31271975); 天津市科技支撑重点项目 (14ZCZDNC00015)

作者简介: 魏欣 (1988-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事食品功能因子调控与机体免疫研究

通讯作者: 刘安军 (1963-), 男, 博士, 教授, 主要从事食品功能因子调控与机体免疫研究

多阶段的过程。细胞凋亡是由基因控制的细胞自主、有序的死亡过程, 由一系列内源性和外源性因素诱导产生。多数抗癌药物通过作用于肿瘤细胞, 诱导其凋亡从而起到治疗肿瘤的目的。因此对具有诱导细胞凋亡作用的抗癌因子的开发和作用机制研究, 对于肿瘤治疗以及抗肿瘤药物研发都具有重要意义。多糖的抗肿瘤活性显著且对机体的毒副作用小, 对多糖的抗肿瘤活性研究已成为多糖研究领域的热点。具有抗肿瘤作用的多糖活性研究主要以食用真菌多糖、海洋生物类多糖及药用植物多糖为主, 此外一些动物来源的酸性多糖和软骨类多糖也具有抗肿瘤作用。多项研究表

明软骨多糖具有抗肿瘤功效, 鲳鱼软骨多糖对小鼠黑色素瘤原发瘤的生长有明显的抑制作用<sup>[2]</sup>。Feyzi 等人<sup>[3]</sup>通过对鲨鱼软骨多糖的抗癌活性和机制的研究发现, 鲨鱼软骨多糖可通过抑制内皮细胞的生长以及新生血管生成来实现抗肿瘤作用。但是对软骨类多糖的诱导凋亡效应的报道并不多见。

细胞凋亡分析可以在基因水平上分析凋亡前后转录组的变化, 从而研究基因表达的变化, 许多凋亡相关的基因可通过这一途径被发现<sup>[4]</sup>。由于在转录阶段和转录后水平上都会有基因表达的调控, 并且蛋白质翻译后水平上会发生修饰作用。因此研究基因组的改变并不能完全反映出细胞内蛋白质的变化, 而通过蛋白质组学相关技术可以尝试找到凋亡过程中发生变化的差异蛋白, 更容易找到参与凋亡的分子以及相关机制。

猪软骨多糖的抗肿瘤活性已被本课题组证实<sup>[5]</sup>, 但肿瘤细胞经过本实验滚瓶放大培养后, 细胞数量与传统的小瓶培养相比增长了 50 倍, 细胞在滚瓶中形成肉眼可见的聚集体, 其生长状态更加接近体内环境, 此时软骨多糖是否具有在小瓶培养时显著诱导肿瘤细胞凋亡的活性值得研究。本研究旨在通过对滚瓶培养的人乳腺癌细胞 MCF-7 受猪软骨多糖作用后的凋亡作用及其在凋亡前后差异表达蛋白的初步研究, 探究软骨多糖对 MCF-7 细胞的凋亡作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 药品及主要试剂

MCF-7 人乳腺癌细胞细胞株 (天津医科大学提供); 猪软骨多糖由本实验室前期自制 (猪软骨切片, 于水、三氯甲烷、甲醇混合液中浸泡, 再经 1%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 调 pH 至 10 浸提处理后, 70 °C 加热 30 min, 木瓜蛋白酶水解, 即得软骨多糖粗提物, DEAE-Sephadex 离子交换树脂吸附, NaCl 洗脱, 得到均一大分子多糖, 经 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  降解, 得到小分子量水溶性多糖, 用乙醇沉淀, 干燥, 即得 30 kD 左右的软骨多糖纯品。); RPMI 1640 培养基, 美国 GIBCO 公司; 胎牛血清, 浙江天杭生物科技有限公司; Hoechst 33342 染料, 北京索莱宝生物科技有限公司; 碘化丙啶 (PI), 北京索莱宝生物科技有限公司; Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒, 南京凯基; IPG 干胶条 (17 cm, pH 3~10, pH 4~7), 美国 Bio-Rad 公司。

#### 1.1.2 主要仪器

CGIII-30-F 细胞转瓶培养器, 美国精骐;

PYC-30CO<sub>2</sub> 恒温培养箱, 美国精骐; 激光共聚焦显微镜, 日本 Nikon; BD FACSCaliber 流式细胞仪, 美国 BD; PROTEAN IEF 等电聚焦系统, 美国 Bio-Rad; PROTEAN II xi 大型垂直电泳槽, 美国 Bio-Rad; MALDI-TOF/TOF, Bruker 公司。

### 1.2 Hoechst 33342/PI 染色检测 MCF-7 细胞凋亡

MCF-7 细胞采用滚瓶培养, 初期转速 15 r/h, 贴壁后转速 40 r/h, 培养温度 37 °C, CO<sub>2</sub> 浓度 5%。滚瓶培养细胞至对数期, 加入猪软骨多糖溶液, 使其终浓度为 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ <sup>[5]</sup>, 继续培养至 12 h、24 h, 收集细胞。同时设置未加软骨多糖培养的 MCF-7 为 0 h 对照。培养结束后使用 Hoechst 33342/PI 进行常规染色, 激光共聚焦显微镜下观察。

### 1.3 Annexin V-FITC/PI 检测 MCF-7 细胞凋亡

分别收集培养 12 h 时、24 h 时的 MCF-7 细胞, 并以未加软骨多糖培养的 MCF-7 细胞为 0 h 对照。按照凋亡检测试剂盒的说明书进行染色操作, 使用流式细胞仪进行检测 (计数 20000 个细胞)。

### 1.4 流式细胞术分析软骨多糖对 MCF-7 细胞周期的影响

消化收集滚瓶中与软骨多糖 (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 共培养 12 h 小时的 MCF-7 细胞, 同时收集正常培养的 MCF-7 细胞为空白对照, 用 PBS 洗两次, 75% 乙醇溶液固定细胞, 4 °C 过夜。PBS 洗涤后重悬, 加入 RNase A (100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 37 °C 水浴孵育 20 min 后, 进行 PI 染色, 室温下避光孵育 10 min, 上机检测分析。

### 1.5 双向电泳结合质谱分析 MCF-7 凋亡前后差异蛋白

#### 1.5.1 制备 MCF-7 细胞全蛋白样品

滚瓶培养 MCF-7 细胞, 多糖组细胞在对数期加入软骨多糖, 终浓度 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 继续培养 24 h 后, 收集多糖组与空白组细胞。每  $2 \times 10^7$  个细胞加入预冷的细胞裂解液 (7 mol/L 尿素, 2 mol/L 硫脲, 4% CHAPS, 现加 10 mg/mL DTT 和 0.5% (m/v) Bio-Lyte pH 3~10) 1 mL, 吹打 3 次, 于 4 °C 放置 20 min, 再于液氮中反复冻融 3 次, 离心 15 min (4 °C, 15000 r/min), 取上清, 用 Bradford 法测定蛋白含量, 100  $\mu\text{L}$  每管分

装, 于-80 °C保存。

### 1.5.2 双向凝胶电泳

取上述蛋白样品, 调整上样量为 1 mg, 使用水化上样缓冲液补充总上样体积至 500  $\mu$ L, 加入聚焦盘中, 覆盖 IPG 干胶条于样品上进行第一向等电聚焦 (IEF)。聚焦程序见表 1。

表 1 等电聚焦程序设定

Table 1 Program settings of isoelectric focusing (IEF)

升压步骤	目的	电压/V	时间/h	升压过程
S0	主动水化	50	12	
S1	除盐	250	0.5	线性
S2	除盐	1000	2	快速
S3	升压	10000	5	线性
S4	聚焦	10000	8	快速
S5	保持	500	0.5	快速

第一向等电聚焦结束后, 将胶条平衡后进行第二向 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 设置起始电流为 15 mA/gel, 待溴酚蓝完全进入凝胶后, 将电流调整为 25 mA/gel。电泳结束后进行固定, 染色, 脱色。

### 1.5.3 MALDI-TOF 质谱鉴定

使用 PDQuest 2D 分析软件对得到的凝胶进行分析, 找出具有表达差异的蛋白点。切取凝胶上的差异蛋白点, 进行胶内酶解, 点靶, 测定。将得到的一级图谱与 MS/MS 二级谱用 FlexAnalysis 软件进行标峰, 调入到 BioTools 软件中, 将一级图谱与二级图谱进行合并, 使用 Mascot 检索相关蛋白数据库。

### 1.6 数据处理方法

将实验数据应用 Excel 软件进行统计分析, 所得数据均以平均值 $\pm$ 标准差 ( $m\pm s$ ) 表示。组间数据差异采用 F 检验,  $p < 0.05$  认为处理间差异显著, 具有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 Hoechst 33342/PI 染色检测 MCF-7 细胞

软骨多糖对滚瓶中 MCF-7 分别作用 0 h、12 h、24 h, 激光共聚焦显微镜下检测染色结果, 分别见图 1a、b、c。可以看出, 未加入软骨多糖的正常细胞, 呈现微弱的淡蓝色。当软骨多糖作用 12 h 后, 部分细胞呈现亮蓝色, 少数细胞呈现紫色, 此时可以判断多数细胞处于凋亡早期。在软骨多糖作用 24 h 后, 可以发现多数细胞已被染成亮蓝色, 部分细胞呈现出

紫色, 说明这些细胞同时被 PI 与 Hoechst 染色, 红色与蓝色荧光叠加显现出紫色, 可以推断出已有部分细胞处于凋亡晚期。通过 Hoechst33342/PI 染色能够证明猪软骨多糖对滚瓶培养的 MCF-7 细胞具有典型的凋亡作用。

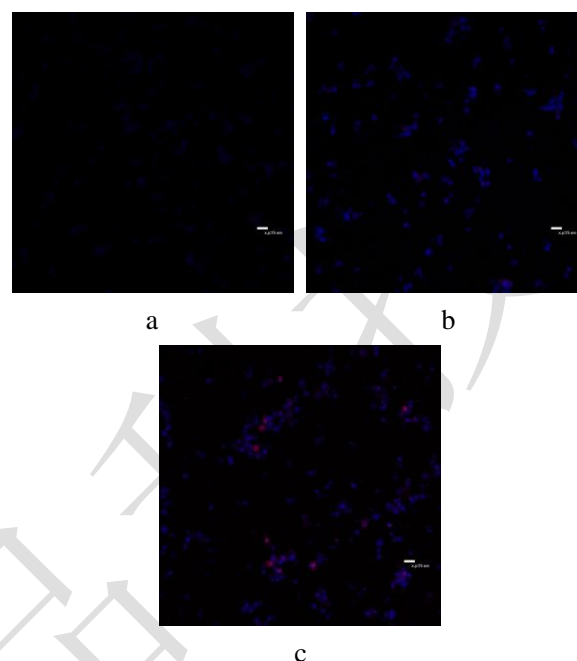


图 1 MCF-7 的 Hoechst/PI 染色检测结果

Fig.1 Hoechst/PI staining of MCF-7 cells

注: a: 0 h, b: 12 h, c: 24 h。

### 2.2 Annexin V-FITC/PI 检测 MCF-7 细胞凋亡

软骨多糖对 MCF-7 作用 12 h, 24 h, 同时设置 0 h 为对照, 收集并处理细胞, 用流式细胞仪检测 MCF-7 的凋亡情况, 检测结果见图 2。

其中凋亡早期细胞分布在右下象限, 凋亡晚期细胞分布在右上象限, 从图中可以直观的看出, 经软骨多糖作用后, 细胞出现了大量凋亡, 并且随着时间的增长而增加。经统计处理得出具体的凋亡比例见表 2。该实验进一步证明了软骨多糖对滚瓶培养的 MCF-7 细胞的凋亡作用, 并定量的检测出凋亡率。受多糖作用的 MCF-7 细胞 12 h 的早期凋亡率和晚期凋亡率分别为 9.32%、10.91%, 24 h 的则分别为 9.44%、35.26%, 可以看出随时间的增加, MCF-7 凋亡细胞的量极显著增加, 进一步证明了软骨多糖对滚瓶培养的 MCF-7 细胞诱导凋亡作用。一般具有抗肿瘤活性的多糖能够直接作用于肿瘤细胞, 抑制肿瘤细胞生长或诱导肿瘤细胞凋亡而发挥作用。结合 Hoechst33342/PI 染色结果可知猪软骨多糖的抗肿瘤作用可通过对肿瘤细胞的诱导凋亡作用实现。

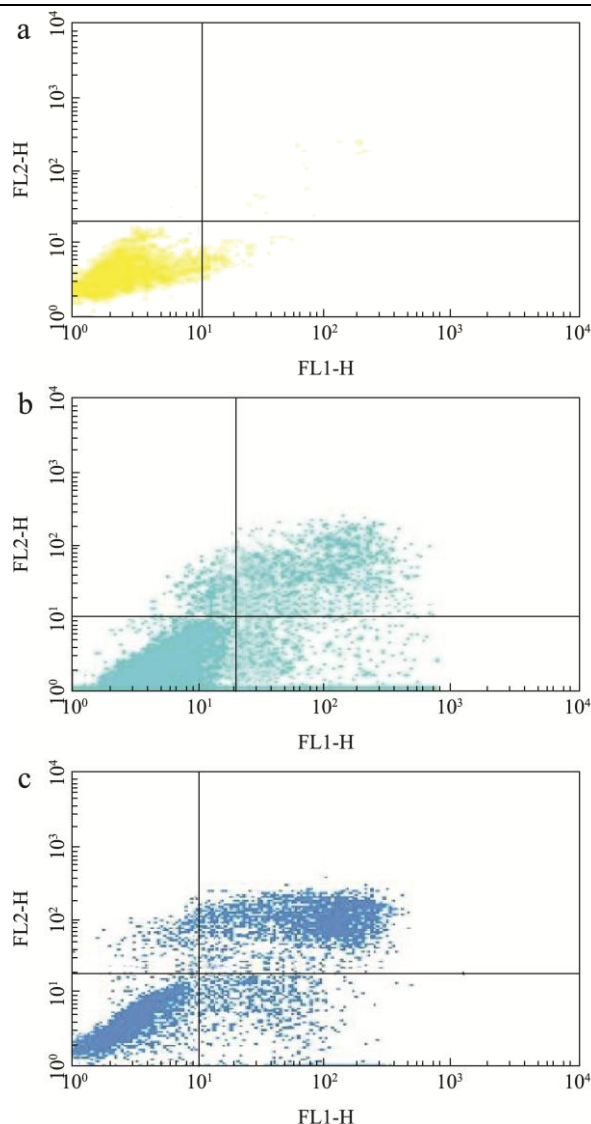


图2 MCF-7的 Annexin V FITC/PI 染色检测结果

Fig.2 Annexin V-FITC/PI staining of MCF-7 cells

注: a: 0 h, b: 12 h, c: 24 h.

表2 MCF-7的 Annexin V FITC/PI 染色统计结果

Table 2 Statistical results of the Annexin V-FITC/PI staining of MCF-7 cells

软骨多糖作用时间/h	凋亡早期 细胞量/%	凋亡晚期 细胞量/%
0	1.66±0.12	0.42±0.06
12	9.32±0.52**	10.91±1.13**
24	9.44±0.91**	35.26±1.75**

注: 与0h组相比, \*\*: P<0.01.

### 2.3 流式细胞术分析软骨多糖对 MCF-7 细胞周期的影响

利用流式细胞仪对滚瓶培养的 MCF-7 细胞周期的检测如图 3 所示。通过图 3(b)可以看出加入软骨多

糖的实验组细胞在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 封前出现了明显的凋亡峰 (sub-G<sub>1</sub> 峰)。通过计算峰面积得出的细胞周期数据见表 3。与空白对照组相比, 加入软骨多糖的实验组细胞的 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例下降, 而处于 S 期的细胞比例显著升高, 而 G<sub>2</sub>/M 期的细胞数目并未增多, 这表明软骨多糖对 MCF-7 细胞作用后, 将肿瘤细胞的分裂周期阻滞在了 S 期。细胞增殖是通过细胞周期实现的, 其过程受到严密的基因调控机制的监控, 而肿瘤细胞因其失去细胞周期的正常调控作用而恶性增殖。因此对肿瘤细胞周期的阻遏作用, 能够抑制肿瘤的生长, 也能提高肿瘤细胞对化疗药物的敏感性。Shen<sup>[6]</sup>等人的研究结果表明, 枸杞多糖同样能够将 MCF-7 细胞周期阻滞于 S 期, 从而发挥抗肿瘤作用。

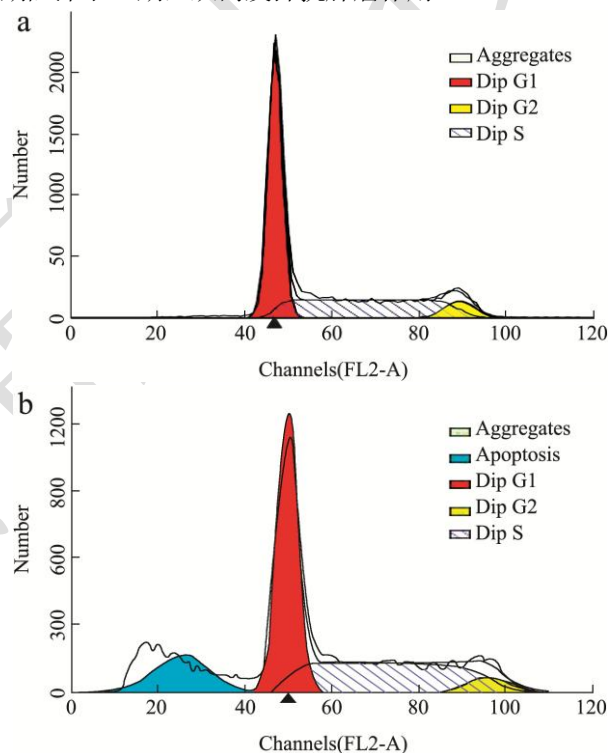


图3 MCF-7 细胞周期图

Fig.3 Cell cycle plots

注: a: 对照组, b: 多糖组。

表3 MCF-7 的细胞周期统计结果

	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub> /%	S/%	G <sub>2</sub> /M/%
对照组	56.48±0.76	36.46±1.19	7.06±0.35
多糖组	51.37±1.53*	42.96±1.24*	5.67±1.13

注: 与对照组相比, \*: P<0.05.

### 2.4 双向电泳结合质谱分析 MCF-7 凋亡前后差异蛋白

MCF-7 细胞的全蛋白二维电泳图谱见图 4 (pH

3~10)。由于胶条宽泛的 pH 范围，图 4 中可以看出蛋白点在中性区域发生簇集，加大了分辨的难度，而且可以看出 MCF-7 的蛋白也主要集中在中性区域，为了提高对蛋白点的分辨率，因此继续采用 17 cm, pH 4~7 范围的胶条进行二维电泳，这样可以提高分辨率，消除蛋白点融合造成的影响。结果见图 5。

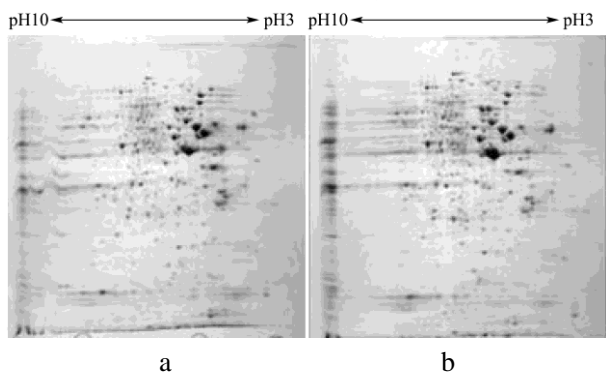


图 4 MCF-7 细胞蛋白的 2-DE (pH3-10) 图谱

Fig.4 2-DE (pH 3-10) images of MCF-7

注: a: 对照组, b: 多糖组。

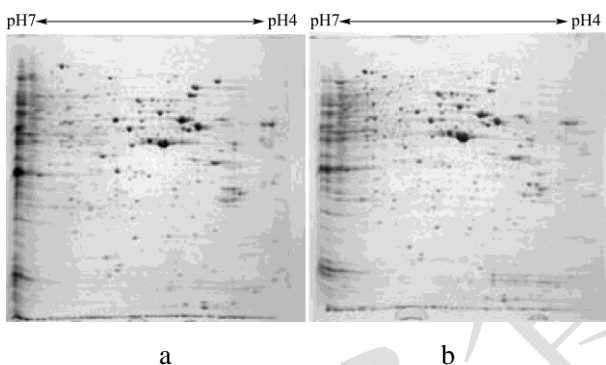


图 5 MCF-7 细胞蛋白的 2-DE (pH4-7) 图谱

Fig.5 2-DE (pH 4-7) images of MCF-7

注: a: 对照组, b: 多糖组。

使用 PDQuest 软件对得到的凝胶图谱进行图像分析与匹配,共找到在凋亡过程中 10 个蛋白点表达差异在 1.5 倍以上,其中表达量下调的有 7 个蛋白点,表达量上调的有 3 个蛋白点。从中选取差异表达的在 2 倍以上的 3 个蛋白点进行质谱鉴定,其局部放大图见图 6,图中的柱形图的高度与蛋白点的强度值正相关,可以看出表达量的差异。成功鉴定出 2 个差异蛋白点,结果见表 4。结果表明 1 号蛋白点具有与肌动蛋白 (actin) 高度同源的序列,推测为 actin 家族的某种蛋白。2 号蛋白点与抗氧化蛋白酶家族蛋白 peroxiredoxin-6 (PRDX6) 高度同源,可能为抗氧化蛋白 PRDX6。

actin 不仅做为细胞中微丝的结构蛋白,近年的研究发现在细胞凋亡过程中 actin 也会发生变化。在线粒体活性氧 (ROS) 的释放过程中,细胞骨架肌动蛋

白 (actin cytoskeleton) 的改变起着重要作用,并随后伴随着细胞的凋亡<sup>[7]</sup>。Takano<sup>[8]</sup>等人阐明了在十八烷基脂质体 (SA-liposomes) 在诱导巨噬细胞凋亡的过程中,需要 actin 的参与。当加入细胞松弛素 D (F-actin 抑制剂) 抑制 actin 的作用后,细胞的凋亡现象磷脂酰丝氨酸 (PS) 外翻即被抑制,同时与凋亡相关的蛋白激酶 Cδ 与 ROS 活性都会被抑制,表明细胞的抗凋亡能力提高。通过共定位发现 SA-liposomes 与 actin 结合。此外,在细胞的凋亡过程中,actin 还能被 Caspase 酶家族水解<sup>[9]</sup>。因此 1 号蛋白的表达下调可能是在凋亡过程中被水解,也可能是软骨多糖可以结合刺激肌动蛋白,肌动蛋白的动力学变化进而刺激线粒体释放 ROS 由此引起细胞凋亡,作用的结果是其自身被分解。

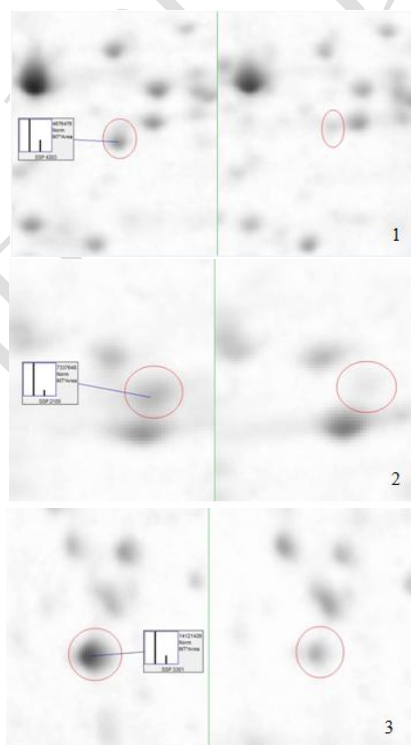


图 6 1-3 号差异蛋白局部放大图

Fig.6 Partial enlarged images of the specific proteins 1-3

PRDX6 属于抗氧化酶,参与细胞的氧化还原调控,能够提高细胞抵御氧化损伤的能力<sup>[10]</sup>。ROS-线粒体氧化途径是诱导细胞凋亡的一种方式,薯蓣皂苷对人食道癌细胞 Kyse510 的凋亡作用就是通过迅速生成 ROS 与激活线粒体凋亡途径实现的,在被薯蓣皂苷诱导凋亡的 Kyse510 中,可以检测到 PRDX6 表达的显著下调,同时伴随着 ROS 的激活和细胞的迅速凋亡<sup>[11]</sup>。在软骨多糖诱导凋亡的 MCF-7 中同样检测到可能是 PRDX6 表达的下调,表明受软骨多糖作用的 MCF-7 抗凋亡能力下降,可以推测软骨多糖在诱导 MCF-7 的凋亡过程中,活性氧起到了关键的介导或调

节作用。

表 4 差异蛋白 MADI-TOF-MS/MS 质谱分析结果

Table 4 Identification of differential expression of proteins by MADI-TOF-MS/MS

编号	数据库	NCBI 登陆号	蛋白质名称	分子量/Da	等电点/pI	得分
1	NCBI	gi 4501885	actin, cytoplasmic 1	42052	5.50	287
2	NCBI	gi 4758638	peroxiredoxin-6	25133	6.00	81

### 3 结论

本实验首先通过 Hoechst33342/PI 染色、Annexin V-FITC/PI 检测,证明了猪软骨多糖对使用滚瓶规模放大培养的 MCF-7 细胞显著的诱导凋亡作用,并通过流式细胞仪测定了 12 h, 24 h 的凋亡率分别为 20.23% 和 44.7%。进一步对 MCF-7 细胞周期的研究表明,软骨多糖诱导 MCF-7 细胞凋亡,发挥抗肿瘤作用,可能与其阻滞了 S 期,降低了 G0/G1 期有关。为了进一步研究猪软骨多糖诱导 MCF-7 细胞的凋亡作用机制,对其凋亡前后的差异表达蛋白进行了初步的研究。通过软件比对处理,确定了在 MCF-7 细胞凋亡前后有 10 个蛋白点具有 1.5 倍差异表达,其中 7 个蛋白点的表达量下调,3 个蛋白点表达量上调。选取其中差异表达最明显的 3 个蛋白点(2 倍表达量差异),通过 MALDI-TOF-MS/MS 进行鉴定,共鉴定出 2 个差异表达蛋白点,其中一个为肌动蛋白类,推测其表达下调可能是被水解或部分发生改变诱导线粒体途径,另一个为抗氧化类蛋白 PRDX6,推测其在凋亡过程中的表达下调,导致细胞发生氧化损伤凋亡。本实验为深入研究猪软骨多糖对肿瘤细胞的诱导凋亡机制奠定了基础,同时也为将来规模化进行猪软骨多糖与肿瘤细胞共培养,开展动物免疫实验,进一步开发软骨多糖的抗癌功效提供了可能。

### 参考文献

- [1] Carsten G, Crispin F, Stefanie F, et al. Gonadotropin-releasing hormone type II antagonist induces apoptosis in MCF-7 and triple-negative MDA-MB-231 human breast cancer cells in vitro and in vivo [J]. Breast Cancer Research, 2010, 12: R49
- [2] 孙岩. 鲑鱼软骨多糖对小鼠黑色素瘤血管生成拟态的研究 [D]. 锦州: 辽宁医学院, 2012  
SUN Yan. Investigation on rcg on angiogenesis in mouse with malignant melanoma [D]. Jinzhou: Liaoning Medical University, 2012
- [3] Feyzi R, Hassan Z M, Mostafaie A. Modulation of CD4+ and

CD8+ tumoring-infiltrating lymphocytes by a fraction isolated from shark cartilage: shark cartilage modulates anti-tumor immunity [J]. International Immunopharmacology, 2003, 3(7): 921-926

- [4] 王立顺, 陈国强. 蛋白质组学在细胞凋亡研究中的应用 [J]. 中国科学: 生命科学, 2010, 9: 778-787  
WANG Li-shun, CHEN Guo-qiang. Application of proteomics in the study of apoptosis [J]. Scientia Sinica: Vitae, 2010, 9: 778-787
- [5] 张国蓉, 贾永利, 刘安军. 软骨多糖诱导 MCF-7 乳腺癌细胞凋亡的实验研究 [J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(4): 516-520  
ZHANG Guo-rong, JIA Yong-li, LIU An-jun. Study on anti-breast cancer mechanism of cartilage polysaccharide [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2007, 7(4): 516-520
- [6] Shen L, Du G. *Lycium barbarum* polysaccharide stimulates proliferation of MCF-7 cells by the ERK pathway [J]. Life Sciences, 2012, 91(9): 353-357
- [7] Gourlay C W, Ayscough K R. The actin cytoskeleton: a key regulator of apoptosis and ageing? [J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2005, 6(7): 583-589
- [8] Takano K, Sato K, Negishi Y, et al. Involvement of actin cytoskeleton in macrophage apoptosis induced by cationic liposomes [J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2012, 518(1): 89-94
- [9] Franklin-Tong V E, Gourlay C W. A role for actin in regulating apoptosis/programmed cell death evidence spanning yeast, plants and animals [J]. Biochemical Journal, 2008, 413: 389-404
- [10] Walsh B, Pearl A, Suchy S, et al. Overexpression of prdx6 and resistance to peroxide-induced death in hepa1-6 cells: Prdx suppression increases apoptosis [J]. Redox Report, 2009, 14(6): 275-284
- [11] Zhiyu W, Yue C, Neng W, et al. Dioscin induces cancer cell apoptosis through elevated oxidative stress mediated by downregulation of peroxiredoxins [J]. Cancer Biol. Ther., 2012, 13(3): 138-147