doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.20.007

# 补骨脂酚通过激活 ROS 强化 TRAIL 的抗肝细胞癌 HepG2 细胞作用的机制研究 *

肖 嘎[1] 杨 锐[2] 吴 涛[3] 党 玲[3] 宋 涛[1] 董昌利[1Δ]

（1 西安医学院第二附属医院普外科 陕西 西安 710038；
2 故城县医院内五科 河北 衡水 253800；3 第四军医大学附属唐都医院普外科 陕西 西安 710038）

**摘要 目的：**探究补骨脂酚（Bakuchiol，Bak）对肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体（Tumor necrosis factor- related apoptosis-inducing ligand，TRAIL）抗 HepG2 细胞作用的影响及内在机制。**方法：**常规培养 HepG2 细胞，给予梯度浓度的 Bak 处理，检测细胞活力。联合应用 Bak 与 TRAIL 处理，检测细胞活力。Western blot 检测 Bak 处理后氧化应激水平、死亡受体 4（Death Receptor 4，DR4）、DR5 的表达变化。联合应用 Bak 与 TRAIL 检测凋亡情况。进而引入 ROS 清除剂 NAC，联合 NAC 处理后，检测 ROS、DR4、DR5 以及凋亡情况。**结果：** Bak 剂量依赖地抑制了 HepG2 细胞的活力，联合应用 Bak+TRAIL 对细胞活力的抑制作用优于单独用药。Bak 处理后氧化应激水平升高，体现在 ROS 增加，GSH 水平下降；Western blot 检测发现 Bak 处理后 DR4、DR5 表达增加。联合应用 Bak+TRAIL 显著增加了细胞凋亡蛋白 Bax 的表达，抑制了抗凋亡蛋白 Bcl2 的表达。引入 ROS 阻断剂 NAC 处理后，与 Bak+TRAIL 组相比，ROS 水平下降，DR4、DR5 表达减少。凋亡检测发现 NAC 处理降低了 Bak+TRAIL 引起的细胞凋亡。**结论：** Bak 可以显著增强 TRAIL 引起的 HepG2 细胞凋亡，该作用可能与 Bak 激活氧化应激进而上调 DR4、DR5 表达有关。

**关键词：**肝细胞肝癌；补骨脂酚；肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体；氧化应激；死亡受体
**中图分类号：**R-33; R735.7 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2018)20-3835-05

# Bakuchiol Enhanced TRAIL Induced HepG2 Cell Apoptosis through Activating Oxidative Stress*

*XIAO Ga[1], YANG Rui[2], WU Tao[3], DANG Ling[3], SONG Tao[1], DONG Chang-li[1Δ]*

*(1 Department of General Surgery, Second Affiliated Hospital of Xi'an Medical College, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;
2 Internal Medicine Department, Gucheng People's Hospital, Hengshui, Hebei, 253800, China;
3 Department of General Surgery, Tangdu Hospital, Fourth military medical university, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)*

**ABSTRACT Objective:** To investigate the roles of Bakuchiol (Bak) on HepG2 cell and the effects of co-treatment of Bak and Tumor necrosis factor- related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) on HepG2 cells, as well as the inner mechanisms. **Methods:** Cells were treated with different concentrations of Bak or Bak+TRAILand cell vitality was detected 24 h later. After Bak treatment, cell oxidative stress levels were examined through DCF-DA staining and ROS, GSH detection. Western blot analysis was conducted to detected the expressions of Death receptor 4 (DR4) and DR5. After Bak+TRAIL treatment, cell apoptosis status was detected. Furthermore, ROS scavenger NAC was used to inhibit oxidative stress and DR4, DR5, Bax expressions were detected. **Results:** Both Bak and TRAIL can reduce HepG2 cell vitality. Co-treatment of Bak and TRAIL further reduced the cell vitality. Bak treatment increased ROS production, DR expressions and reduced cellular GSH level. Co-treatment of Bak and TRAIL induced higher level of apoptosis compared with single-drug treatment. Compared with the Bak + TRAIL group, NAC treatment reduced ROS level and reduced DR expression, as well as the Bak+TRAIL induced apoptosis levels. **Conclusion:** Bak enhances TRIAL induced HepG2 cell apoptosis and tumor growth via activating cellular oxidative stress and up regulating DR4 and DR5 expressions.

**Key words:** Hepatocellular carcinoma; Bakuchiol; Tumor necrosis factor- related apoptosis-inducing ligand; Oxidative stress; Death receptors

**Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.7 Document code:A**

**Article ID:1673-6273(2018)20-3835-05**

## 前言

肝细胞癌（Hepatocellular Carcinoma，HCC）是世界范围内引起肿瘤相关死亡的第三大恶性肿瘤[1,2]。目前，原发性肝癌的治疗是以手术为主的综合治疗，然而部分患者因为种种原因需要手术外的其他治疗手段，包括放化疗、生物治疗等，然而

* 基金项目：陕西省科学技术研究发展计划项目（2013K12-03-06）
作者简介：肖嘎（1980-），本科，主治医师，研究方向：肝癌的基础和临床，电话：15319794030，E-mail: xiaogays@126.com
Δ 通讯作者：董昌利（1984-），本科，主治医师，研究方向：肝癌的基础和临床，电话：18092153070，E-mail: dongchangliys@126.com
（收稿日期：2018-02-28 接受日期：2018-03-28）

治疗往往不尽人意。因此新药研发及联合用药成为目前的研究热点[3,4]。

肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体（Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand，TRAIL）是肿瘤坏死因子家族成员，具有诱导多种肿瘤细胞凋亡的作用，且对正常细胞毒性很小，是新近肿瘤治疗药物研发的一大突破[5,6]。国内外已有研究证实 TRAIL 对 HCC 具有明确的抑制作用 [7,8]。死亡受体 4（Death Receptor 4，DR4）、DR5 是 TRAIL 发挥促凋亡作用的受体[9]。值得注意的是，外源干预上调 DR4、DR5 的表达能显著增强 TRAIL 的抗肿瘤作用[10-12]。那么肝细胞癌中，能否通过调控 DR4、DR5 来强化 TRAIL 的促凋亡作用呢？

补骨脂酚（Bakuchiol，Bak）是中药补骨脂的活性成分，是一种异戊二烯基酚萜类化合物[13]。既往研究证实 Bak 具有抗多种肿瘤的作用，氧化应激激活是介导 Bak 抗肿瘤作用机制之一[14-16]。值得注意的是在其他肿瘤中 Bak 可以通过 ROS 强化 TRAIL 的抗肿瘤作用，但肝癌中作用及机制不清。本研究旨在探究补骨脂酚能否强化 TRAIL 的抗肝细胞肝癌的作用及具体机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

人肝细胞癌细胞系 HepG2 购自中科院上海细胞库。Bak、TRAIL、DCF-DA、NAC 购自 Sigma-Aldrich 公司（美国）。抗 DR4、DR5、Bcl2、Bax、β-actin 抗体购自 Cell Signaling Technology（美国）。CCK8 细胞活力检测试剂盒购自七海生物科技有限公司（中国上海）。活性氧（reactive oxygen species，ROS）、谷胱甘肽 GSH 检测试剂盒购自南京建成生物科技研究所（中国南京）。蛋白定量试剂盒购自 ThermoFisher 公司（美国）。Western blot 试剂购自索莱宝公司（中国北京）。细胞培养耗材购自 Corning 公司（美国）；胎牛血清、RPMI-1640 培养基购自 Hyclone 公司（美国）。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** HepG2 细胞在完全培养基中常规培养。培养条件为 37℃、5% $CO_2$。细胞密度达到 80%左右时进行相应处理。药物处理期间使用无血清培养基。

**1.2.2 细胞活力检测** 将对数期细胞接种到 96 孔板，每孔 10000 个细胞。该部分实验分两部分。① 细胞贴壁后分为 4 组，分别是 Control 组、10 μM Bak 组、20 μM Bak 组、40 μM Bak 组，给予相应处理 24 h。② 细胞贴壁后分为 4 组分别是 Control 组、20 μM Bak 组、TRAIL 组、20 μM Bak +TRAIL 组，分别给予相应处理 24 h。24 h 后吸出培养基，加入 CCK8 试剂与 RPMI-1640 培养基的工作液，37℃、5% $CO_2$ 条件下继续培养 2 h，于 450 nm 波长下检测吸光度，即为其活力值。

**1.2.3 DCF-DA 法检测细胞 ROS 水平** 将细胞接种至 96 孔板，细胞贴壁后给予相应处理，24 h 后弃去培养基，PBS 洗涤 3 次，加入 10 μL MDCFH-DA 溶液，37℃、5% $CO_2$ 条件下继续培养 30 min，PBS 洗涤 3 次，于 488 nm 激发波长和 605 nm 观测波长进行观察并采集照片。用 image pro plus 检测荧光强度。

**1.2.4 ROS、GSH 检测** 提取细胞培养上清或细胞，严格参照生产商提供的说明书进行操作。

**1.2.5 Western blot 检测** 细胞处理完毕后，收集细胞并提取总蛋白。进行蛋白定量后取 30 μg 总蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳。然后将蛋白转移至 PVDF 膜上并用脱脂牛奶封闭。用相应抗体孵育（DR4、DR5、Bcl2、Bax 按照 1:1000 稀释；β-actin 按照 1:2000 稀释）于 4℃过夜。TBST 洗涤后用相应二抗孵育，最后用 Bio-Rad 照相系统采集照片并分析。

### 1.3 统计学分析

所涉及实验均重复 6 次。所有计量资料数据均采用平均值± 标准误（Mean± SEM）表示。用 SPSS18.0 统计软件性统计学分析，计量资料组间比较采用单因素方差分析，$p<0.05$ 为有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 Bak 及 TRAIL 对 HepG2 细胞活力的影响

如图所示，梯度浓度的 Bak（10 μM、20 μM、40 μM）处理 24h 后 HepG2 细胞活力呈剂量依赖性下降，分别下降到对照组的（96.3± 5.4）%、（72.8± 4.8）%、（44.6± 4.1）%（$P<0.05$）。联合应用 Bak 与 TRAIL 对 HepG2 细胞的抑制作用更强，细胞活力分别下降到对照组的（71.6± 4.3）%、（67.4± 4.9）%、（36.8± 3.9）%（$P<0.05$），提示 Bak 处理强化了 TRAIL 的杀伤作用（如图 1）。

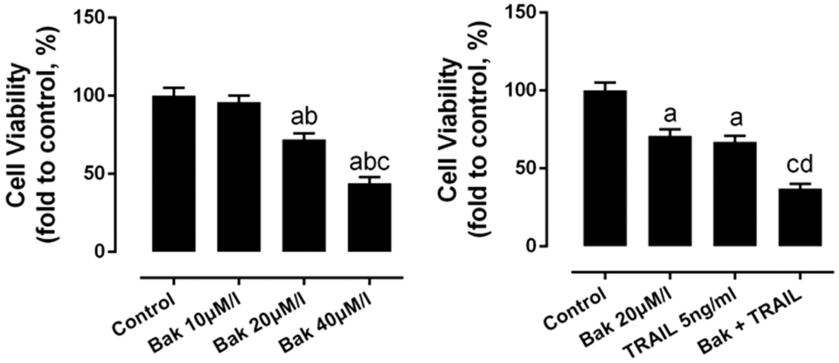


**图 1 Bak 及 TRAIL 对 HepG2 细胞活力的影响**

Fig. 1 Effects of Bak treatment and TRAIL on HepG2 cell vitality

Note: Data are expressed as $\bar{x}$± SEM, n=6. [a]$P< 0.05$, compared with group Control; [b]$P< 0.05$, compared with 10 μM Bak group; [c]$P< 0.05$, compared with 20 μM Bak group; [d]$P< 0.05$, compared with TRAIL group. Bak: Bakuchiol

### 2.2 Bak 处理对 ROS 水平的影响

为进一步明确 Bak 强化 TRAIL 杀伤效果的具体机制，我们检测了细胞 ROS 水平。DCF-DA 荧光染色发现，20 μM、40 μM Bak 处理显著增强了其 ROS 水平，ROS 荧光强度分别升高到 5245± 254 和 6774± 336 荧光单位（*P<0.05*）。ROS 检测试剂盒检测 ROS 结果与荧光染色一致，20 μM、40μM Bak 处理后 ROS 水平升高到对照组的（187.2± 11.4）%和（254.3± 16.2）%（*P<0.05*）。此外，我们检测了细胞还原型 GSH 水平，发现 20 μM、40 μM Bak 处理后还原型 GSH 水平下降到对照组的（75.6± 4.9）%和（48.7± 4.1）%（*P<0.05*），提示氧化应激激活（图 2）。

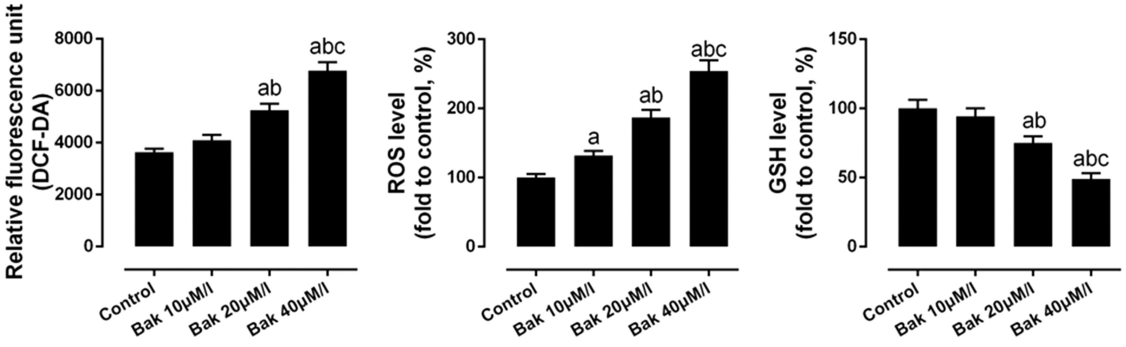


**图 2Bak 处理对 ROS 水平的影响**

Fig. 2 Effects of Bak treatment on cell ROS level

Note: Data are expressed as $\bar{x}$± SEM, n=6. [a]*P< 0.05*, compared with group Control; [b]*P< 0.05*, compared with 10 μM Bak group; [c]*P< 0.05*, compared with 20 μM Bak group. Bak: Bakuchiol

### 2.3 Bak 处理对 TRAIL 受体 DR4、DR5 表达的影响

既往研究证实，Bak 可通过激活氧化应激诱导 DR4 与 DR5 的表达。本实验中通过 Western blot 法检测了 Bak 处理后的 HepG2 细胞，发现 DR4 与 DR5 的表达均有一定程度的上调（*P<0.05*）（图 3）。

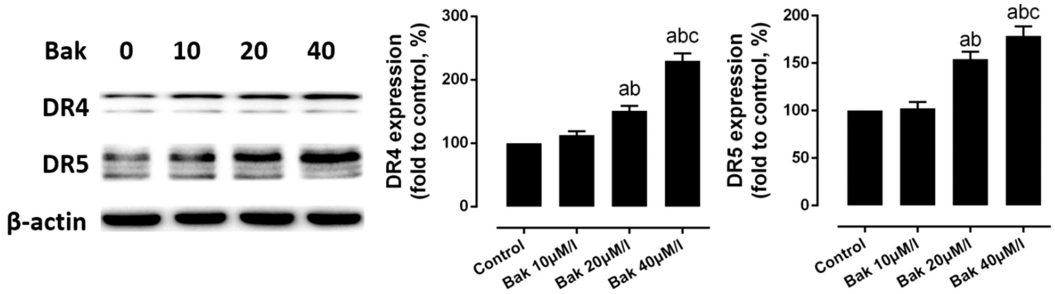


**图 3 Bak 处理对 TRAIL 受体 DR4、DR5 表达的影响**

Fig. 3 Effects of Bak treatment on DR4 and DR5 expression

Note: Data are expressed as $\bar{x}$± SEM, n=6. [a]*P< 0.05*, compared with group Control; [b]*P< 0.05*, compared with 10 μM Bak group; [c]*P< 0.05*, compared with 20 μM Bak group. Bak: Bakuchiol

### 2.4 联合应用 Bak 与 TRAIL 对细胞凋亡的影响

将细胞分为 4 组，分别为 Control 组、Bak 组、TRAIL 组和 Bak+TRAIL 组。给予相应处理后检测凋亡抑制蛋白 Bcl2 以及促凋亡蛋白 Bax 的水平，发现 Bak 与 TRAIL 单独与联合用药都下调了 Bcl2 表达，上调了 Bax 表达（与对照组相比，*P< 0.05*），提示凋亡水平上升，而联合用药凋亡更为显著（分别与 Bak 和 TRAIL 组相比，*P<0.05*）（图 4）。

### 2.5 阻断 ROS 对 Bak+TRAIL 联合用药的影响

为进一步明确 ROS 是否介导了 Bak 强化 TRAIL 效能这一作用，我们给予 ROS 清除剂 NAC 共处理。细胞分为 Control 组，Bak+TRAIL 组和 NAC+Bak+TRAIL 组。与 Bak+TRAIL 组相比，NAC+Bak+TRAIL 组细胞活力升高，DR4、DR5 表达下调，凋亡相关蛋白 Bax 表达下调（*P<0.05*），提示 NAC 处理弱化了 Bak+TRAIL 的作用，可能是通过抑制 DR4、DR5 表达来实现的（图 5）。

## 3 讨论

近年来，中药活性成分的抗肿瘤作用研究是肿瘤治疗领域的研究热点。Bak 是中药补骨脂的活性成分，已有多项研究证实其对多种肿瘤有明确的抑制作用。Kim 等发现，Bak 可以直接调控造血细胞激酶（Hck）、B 淋巴细胞激酶（Blk）、和 p38 丝裂原激活蛋白激酶（p38MAPK）抑制皮肤癌的增殖[14]。Park 等人发现，在 TRAIL 耐受的结肠癌细胞系中，Bak 可以通过上调死亡受体的表达来增强细胞对 TRAIL 的敏感性[17]。值得注意的是，该过程可能是通过激活细胞 c-Jun 氨基末端激酶（JNK）通路和氧化应激来实现的[17]。Li 等在乳腺癌中的研究发现，Bak 可能通过诱发乳腺癌细胞 S 期停滞，促进细胞凋亡来抑制其增殖[15]。另一项乳腺癌研究发现，Bak 可以抑制乳腺癌肿瘤干细胞

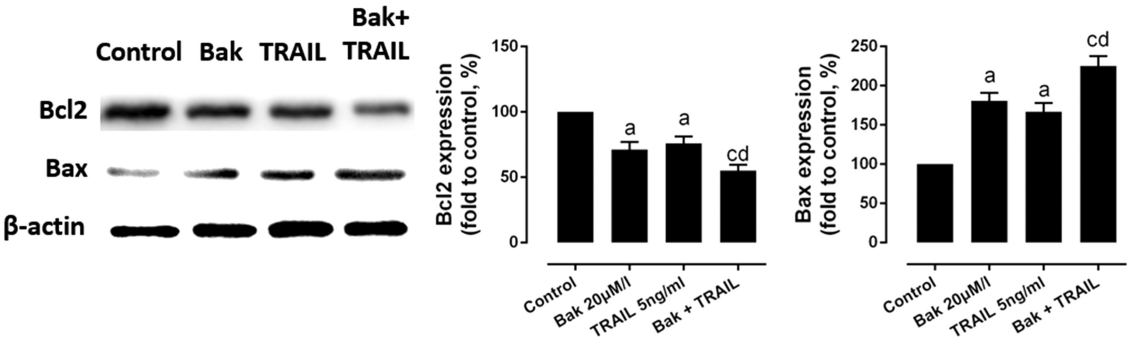


图 4 联合应用 Bak 与 TRAIL 对细胞凋亡的影响

Fig. 4 Effects of Bak and TRAIL on cell Bcl2 and Bax expression

Note: Data are expressed as $\bar{x}\pm$ SEM, n=6. [a]*P< 0.05*, compared with group Control; [b]*P< 0.05*, compared with 20 μM Bak group; [c]*P< 0.05*, compared with TRAIL 5 ng/ml group. Bak: Bakuchiol

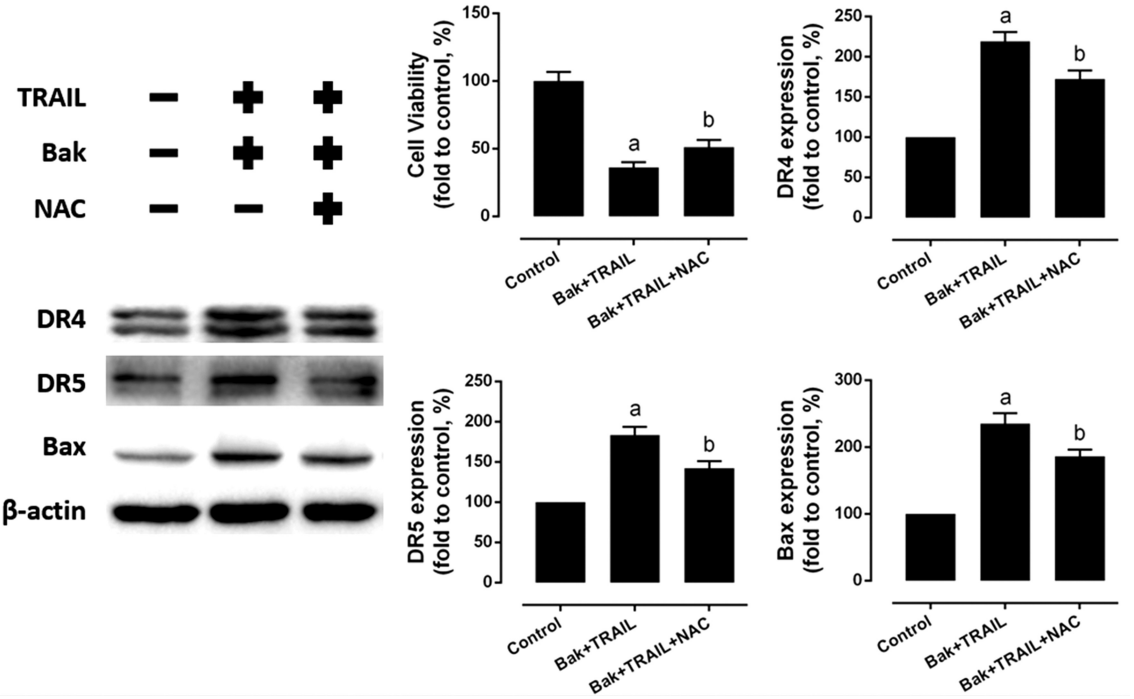


图 5 阻断 ROS 逆转了 Bak+TRAIL 上调 DR 受体增强细胞凋亡的效应

Fig. 5 ROS inhibition attenuated Bak+TRAIL induced DRs increase cell apoptosis

Note: Data are expressed as $\bar{x}\pm$ SEM, n=6. [a]*P< 0.05*, compared with group Control; [b]*P< 0.05*, compared with Bak + TRAIL group. Bak: Bakuchiol

增殖、转移，该过程可能与 Bak 上调 CK18 表达，下调 Notch3、FASN、TGFBR1 以及 ACVR1B 有关[18]。此外，Lin 等发现，Bak 可以将胃癌细胞系 SGC-7901 抑制在 Sub-G1 期，同时诱发细胞凋亡[16]。然而肝癌中 Bak 的作用特别是作用机制尚无明确研究。我们首先确认了 Bak 对肝细胞癌的直接作用。Bak 处理显著抑制了 HepG2 细胞的增殖。

TRAIL 是新型抗肿瘤药物，其作用机制为与肿瘤细胞表面的死亡受体结合，诱导肿瘤细胞发生凋亡[19]。目前联合应用其他药物强化 TRAIL 的肿瘤杀伤作用逐渐引起人们的关注[20,21]。有文献证实，可以通过药物联用的方式，强化 TRAIL 的杀伤作用，该作用主要是通过上调 TRAIL 受体 DR4、DR5 等的表达来实现的[17]。Lim 等研究发现，MDL-12330A 可以通过 CHOP 依赖的方式上调 DR5 的表达，进而增强 TRAIL 的杀伤作用。Chen 等也证实，芹黄素可以通过 p53 依赖的方式上调 DR5 的表达，进而增强 TRAIL 对非小细胞肺癌的杀伤作用。然而肝细胞癌中 TRAIL 与 Bak 联合应用作用如何，以及内在调控机制尚不明确。因此本研究在探究了 Bak 对肝细胞癌直接作用的基础上，探究与 TRAIL 联用的效果。

氧化应激是指体内氧化与抗氧化作用失衡，倾向于氧化。微观上看，氧化应激本质上是细胞线粒体功能受损，功能紊乱，释放出大量氧自由基，引起细胞氧化应激相关凋亡的过程[22]。氧化应激在肿瘤药物治疗的过程中发挥重要作用。研究表明，多种中药提取物杀伤肿瘤细胞是通过激活氧化应激来实现的[23,24]。席夫碱可以通过激活氧化应激，诱导化疗耐药的肿瘤细胞发生凋亡[25]。Blanquer 等研究发现，黄腐酚可以调控乳腺癌 MCF-7 细胞内氧化应激水平并影响其增殖、转移能力[26]。那么在 Bak 抗肝细胞癌作用中，氧化应激发挥何种作用呢？我们研究发现，ROS 指标提示 Bak 剂量依赖地激活了 HepG2 细胞的氧化应激。

有研究证实，氧化应激的激活可以上调死亡受体 DR4、

DR5 的表达,从而敏化 TRAIL 的抗肿瘤作用[27-30]。Ma 等研究发现，毒胡萝卜素可以通过激活内质网应激和氧化应激，上调 CHOP 和 DR5 的表达,增强 TRAIL 的杀伤作用[27]。Kim 等研究发现紫花前胡素可以通过激活氧化应激和内质网应激,增强非小细胞肺癌细胞对 TRAIL 处理的敏感性[28]。Tochigi 等研究发现,在 TRAIL 耐药的黑色素瘤细胞中,双氧水可以激活细胞氧化自由基的生成,强化 TRAIL 的杀伤作用[31]。

本研究证实 Bak 处理后 TRAIL 受体 DR4、DR5 表达上调，提示 Bak 处理可能增强 TRAIL 对 HepG2 细胞的杀伤作用。因此我们进一步检测了联合应用 TRAIL 及 Bak 的抗 Hepg2 的作用,发现联合用药效果优于单独用药。为进一步明确氧化应激在该过程的具体作用，我们在给药的同时，给予 ROS 清除剂 NAC 处理抑制细胞内氧化应激，发现 NAC 处理后逆转可 Bak+TRAIL 引起的细胞增殖抑制,western blot 结果显示,NAC 处理抑制了 DR4、DR5 表达的上调，同时也下调了凋亡指标 Bax 的表达。以上结果提示 Bak 联合 TRAIL 有更为显著的抗 HepG2 细胞的作用,该作用可能是通过激活 ROS 促进 DR4、DR5 的表达来实现的。本研究首次明确了 Bak 与 TRAIL 联合用药的抗肝细胞癌的作用及可能机制,为进一步相关研究及临床应用提供了理论参考。

## 参 考 文 献(References)


[1] Ryerson AB, Eheman CR, Altekruse S F, et al. Annual Report to the Nation on the Status of Cancer, 1975-2012, featuring the increasing incidence of liver cancer[J]. Cancer, 2016, 122(9): 1312-1337

[2] Marquardt J U, Andersen J B, Thorgeirsson SS. Functional and genetic deconstruction of the cellular origin in liver cancer [J]. Nat Rev Cancer, 2015, 15(11): 653-667

[3] Loriot Y, Fizazi K, de Bono J. S, et al. Enzalutamide in castration-resistant prostate cancer patients with visceral disease in the liver and/or lung: Outcomes from the randomized controlled phase 3 AFFIRM trial[J]. Cancer, 2017, 123(2): 253-262

[4] Hwang J. P, Suarez-Almazor M. E, Cantor S. B, et al. Impact of the timing of hepatitis B virus identification and anti-hepatitis B virus therapy initiation on the risk of adverse liver outcomes for patients receiving cancer therapy[J]. Cancer, 2017[Epub ahead of print]

[5] Roman J. On the "TRAIL" of a Killer: MMP12 in Lung Cancer[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 196(3): 262-264

[6] von Karstedt S, Montinaro A, Walczak H. Exploring the TRAILs less travelled: TRAIL in cancer biology and therapy [J]. Nat Rev Cancer, 2017, 17(6): 352-366

[7] Xu Y, Li J, Li Q J, et al. Betulinic acid promotes TRAIL function on liver cancer progression inhibition through p53/Caspase-3 signaling activation[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 88: 349-358

[8] Sun J, Luo H, Nie W, et al. Protective effect of RIP and c-FLIP in preventing liver cancer cell apoptosis induced by TRAIL[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(6): 6519-6525

[9] Mert U, Sanlioglu A. D. Intracellular localization of DR5 and related regulatory pathways as a mechanism of resistance to TRAIL in cancer [J]. Cell Mol Life Sci, 2017, 74(2): 245-255

[10] Lee W S, Jung J H, Panchanathan R, et al. Ursodeoxycholic Acid Induces Death Receptor-mediated Apoptosis in Prostate Cancer Cells [J]. J Cancer Prev, 2017, 22(1): 16-21

[11] Chen L, Wolff D. W, Xie Y, et al. Cyproterone acetate enhances TRAIL-induced androgen-independent prostate cancer cell apoptosis via up-regulation of death receptor 5 [J]. BMC Cancer, 2017, 17(1): 179

[12] Devetzi M, Kosmidou V, Vlassi M, et al. Death receptor 5 (DR5) and a 5-gene apoptotic biomarker panel with significant differential diagnostic potential in colorectal cancer[J]. Sci Rep, 2016, 6: 36532

[13] Chen Z, Jin K, Gao L, et al. Anti-tumor effects of bakuchiol, an analogue of resveratrol, on human lung adenocarcinoma A549 cell line[J]. Eur J Pharmacol, 2010, 643(2-3): 170-179

[14] Kim J. E, Kim J. H, Lee Y, et al. Bakuchiol suppresses proliferation of skin cancer cells by directly targeting Hck, Blk, and p38 MAP kinase[J]. Oncotarget, 2016, 7(12): 14616-14627

[15] Li L, Chen X, Liu C. C, et al. Phytoestrogen Bakuchiol Exhibits In Vitro and In Vivo Anti-breast Cancer Effects by Inducing S Phase Arrest and Apoptosis[J]. Front Pharmacol, 2016, 7: 128

[16] Lin J, Yao H. J, Li R. Y. Bakuchiol inhibits cell proliferation and induces apoptosis and cell cycle arrest in SGC-7901 human gastric cancer cells[J]. J BUON, 2016, 21(4): 889-894

[17] Park M H, Kim J H, Chung Y H, et al. Bakuchiol sensitizes cancer cells to TRAIL through ROS- and JNK-mediated upregulation of death receptors and downregulation of survival proteins [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 473(2): 586-592

[18] Li L, Liu C. C, Chen X, et al. Mechanistic Study of Bakuchiol-Induced Anti-breast Cancer Stem Cell and in Vivo Anti-metastasis Effects[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 746

[19] Spencer S L, Gaudet S, Albeck J G, et al. Non-genetic origins of cell-to-cell variability in TRAIL-induced apoptosis [J]. Nature, 2009, 459(7245): 428-432

[20] Singh A K, Chauhan S S, Singh S K, et al. Dual targeting of MDM2 with a novel small-molecule inhibitor overcomes TRAIL resistance in cancer[J]. Carcinogenesis, 2016, 37(11): 1027-1040

[21] Chen L, Meng Y, Guo X, et al. Gefitinib enhances human colon cancer cells to TRAIL-induced apoptosis of via autophagy- and JNK-mediated death receptors upregulation [J]. Apoptosis, 2016, 21 (11): 1291-1301

[22] Pose-Utrilla J, Garcia-Guerra L, Del Puerto A, et al. Excitotoxic inactivation of constitutive oxidative stress detoxification pathway in neurons can be rescued by PKD1[J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 2275

[23] Tsai C. H, Shen Y. C, Chen H. W, et al. Docosahexaenoic acid increases the expression of oxidative stress-induced growth inhibitor 1 through the PI3K/Akt/Nrf2 signaling pathway in breast cancer cells [J]. Food Chem Toxicol, 2017, 108(Pt A): 276-288

[24] Chang Y. T, Huang C. Y, Li K T, et al. Sinuleptolide inhibits proliferation of oral cancer Ca9-22 cells involving apoptosis, oxidative stress, and DNA damage[J]. Arch Oral Biol, 2016, 66: 147-154

[25] Banerjee K, Basu S, Das S, et al. Induction of intrinsic and extrinsic apoptosis through oxidative stress in drug-resistant cancer by a newly synthesized Schiff base copper chelate [J]. Free Radic Res, 2016, 50 (4): 426-446

[26] Blanquer-Rossello M M, Oliver J, Valle A, et al. Effect of xanthohumol and 8-prenylnaringenin on MCF-7 breast cancer cells oxidative stress and mitochondrial complexes expression [J]. J Cell Biochem, 2013, 114(12): 2785-2794


（下转第 3853 页）

与 IL-6 的表达与意义 [J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(30): 5897-5900
Zou Hai, Peng Dao-rong, Wu Yong-chang, et al. Expressions and Significances of IL-6 and Immunoglobulin in the Cerebrospinal Fluid of Patients with Central Nervous System Diseases [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2015, 15(30): 5897-5900

[17] Lyons TW, Cruz AT, Freedman SB, et al. Interpretation of Cerebrospinal Fluid White Blood Cell Counts in Young Infants With a Traumatic Lumbar Puncture [J]. Ann Emerg Med, 2017, 69(5): 622-631

[18] 赵翠,程国强.新生儿脑脊液检查研究现状及结果解读[J].中国循证儿科杂志, 2016, 11(4): 303-308
Zhao Cui, Cheng Guo-qiang. Research status and results interpretation of cerebrospinal fluid examination in neonates [J]. Chinese Journal of Evidence-Based Pediatrics, 2016, 11(4): 303-308

[19] Khalid M, Saleem AF. Concordance of cerebrospinal fluid latex particle agglutination test with CSF and blood culture among children with acute bacterial meningitis [J]. J Pak Med Assoc, 2017, 67(11): 1783

[20] Noureldein M, Mardare R, Pickard J, et al. Cerebrospinal fluid protein and glucose levels in neonates with a systemic inflammatory response without meningitis[J]. Fluids Barriers CNS, 2018, 15(1): 8

[21] 范惠先,任朝杰,王润青,等.脑脊液检查在中枢神经系统感染性疾病鉴别中的应用[J].医学综述, 2015, 21(7): 1294-1295
Fan Hui-xian, Ren Chao-jie, Wang Run-qing, et al. Study on the Application of Cerebrospinal Fluid Examination in the Identification of Infectious Disea-ses of Central Nervous System [J]. Medical Recapitulate, 2015, 21(7): 1294-1295

[22] Khalili H, YadollahiKhales G, Isaee M. Diagnostic Accuracy of Peripheral White Blood Cell Count, Fever and Acute Leukocutosis for Bacterial Meningitis in Patients with Severe Traumatic Brain Injury[J]. Bull Emerg Trauma, 2015, 3(2): 53-58

[23] Martín-Ancel A, García-Alix A, Salas S, et al. Cerebrospinal fluid leucocyte counts in healthy neonates [J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2006, 91(5): F357-F358

[24] Kestenbaum LA, Ebberson J, Zorc JJ, et al. Defining cerebrospinal fluid white blood cell count reference values in neonates and young infants[J]. Pediatrics, 2010, 125(2): 257-264

[25] Garges HP, Moody MA, Cotten CM, et al. Neonatal meningitis: what is the correlation among cerebrospinal fluid cultures, blood cultures, and cerebrospinal fluid parameters? [J]. Pediatrics, 2006, 117 (4): 1094-1100

[26] Lin MC, Chi H, Chiu NC, et al. Factors for poor prognosis of neonatal bacterial meningitis in a medical center in Northern Taiwan [J]. J Microbiol Immunol Infect, 2012, 45(6): 442-447

[27] Savonius O, Helve O, Roine I, et al. Swiftly Decreasing Cerebrospinal Fluid Cathelicidin Concentration Predicts Improved Outcome in Childhood Bacterial Meningitis [J]. J Clin Microbiol, 2016, 54(6): 1648-1649

[28] Lyons TW, Cruz AT, Freedman SB, et al. Correction of Cerebrospinal Fluid Protein in Infants With Traumatic Lumbar Punctures[J]. Pediatr Infect Dis J, 2017, 36(10): 1006-1008

[29] Srinivasan L, Shah SS, Padula MA, et al. Cerebrospinal fluid reference ranges in term and preterm infants in the neonatal intensive care unit[J]. J Pediatr, 2012, 161(4): 729-734

[30] Jebamalar AA, Prabhat, Balakrishnapillai AK, et al. Cerebrospinal fluid ferritin and albumin index: potential candidates for scoring system to differentiate between bacterial and viral meningitis in children[J]. Biomarkers, 2016, 21(5): 424-428

（上接第 3839 页）

[27] Ma Z, Fan C, Yang Y, et al. Thapsigargin sensitizes human esophageal cancer to TRAIL-induced apoptosis via AMPK activation [J]. Sci Rep, 2016, 6: 35196

[28] Kim J, Yun M, Kim E. O, et al. Decursin enhances TRAIL-induced apoptosis through oxidative stress mediated- endoplasmic reticulum stress signalling in non-small cell lung cancers [J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(6): 1033-1044

[29] Peng H, Yuan X, Luo S, et al. Reactive oxygen species contribute to TRAIL receptors upregulation; the mechanism for PH II-7 augmenting TRAIL induced apoptosis in leukemia cells [J]. Eur J Pharmacol, 2015, 746: 344-352

[30] Yulyana Y, Tovmasyan A, Ho I. A, et al. Redox-Active Mn Porphyrin-based Potent SOD Mimic, MnTnBuOE-2-PyP (5+), Enhances Carbenoxolone-Mediated TRAIL-Induced Apoptosis in Glioblastoma Multiforme[J]. Stem Cell Rev, 2016, 12(1): 140-155

[31] Tochigi M, Inoue T, Suzuki-Karasaki M, et al. Hydrogen peroxide induces cell death in human TRAIL-resistant melanoma through intracellular superoxide generation[J]. Int J Oncol, 2013, 42(3): 863-872