

注射用益气复脉(冻干)联合顺铂对肺癌细胞 A549 增殖的协同作用研究

李 智^{1,2}, 宋美珍^{1,2}, 万梅绪^{1,2}, 侯 健³, 李德坤^{1,2}, 鞠爱春^{1,2*}, 华文浩^{4*}

1. 天士力之骄药业有限公司, 天津 300410

2. 天津市中药注射剂安全评价企业重点实验室, 天津 300410

3. 天士力控股集团有限公司, 天津 300410

4. 北京大学人民医院, 北京 100044

摘要:目的 观察注射用益气复脉(冻干)(YQFM)与顺铂(Cisplatin, DDP)联合对肺癌细胞株 A549 增殖抑制的协同效应及作用机制。方法 采用 CCK-8 法检测 YQFM、DDP 以及两药联用对肺癌细胞株 A549 的增殖影响, 并应用两药相互作用指数评价药物的联合效应; 采用荧光探针 JC-1 来检测线粒体膜电位的变化, Western Blotting 检测凋亡相关蛋白 Bax、Cleaved-Caspase 3 表达。结果 药物作用时间 48 h, 与 DDP 等剂量组比较, 联合用药(YQFM 16.25 mg/mL+DDP 1.25 μ g/mL、YQFM 16.25 mg/mL+DDP 2.5 μ g/mL、YQFM 16.25 mg/mL+DDP 5.00 μ g/mL)组细胞增殖抑制率显著增加($P<0.05$)。与对照组比较, 各给药组凋亡率均显著升高($P<0.05$); 与 DDP 组比较, 联合用药组凋亡率显著升高($P<0.05$)。与对照组比较, DDP 5.0、10.0 μ g/mL 组和各联合用药组促凋亡蛋白 Bax 表达显著增加($P<0.05$); DDP 质量浓度为 5.0、10.0 μ g/mL 时, 联合用药组与 DDP 单独给药组比较, Bax 蛋白表达量显著升高($P<0.05$)。与对照组比较, 各给药组凋亡蛋白 Cleaved-caspase 3 表达量显著升高($P<0.05$); DDP 质量浓度为 5.0、10.0 μ g/mL 时, 联合用药组与 DDP 单独给药组比较, Cleaved-caspase 3 蛋白表达量显著升高($P<0.05$)。结论 YQFM 联合 DDP 对 A549 细胞增殖存在协同抑制作用, 机制可能与诱导线粒体凋亡相关。

关键词: 注射用益气复脉(冻干); 顺铂; 肺癌细胞; 增殖; 协同作用; 凋亡

中图分类号: R965, R979.1

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2019)07-1286-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.07.005

Synergistic inhibition effect of YiqiFumai Lyophilized Injection combined with cisplatin on lung cancer cell A549 proliferation

LI Zhi^{1,2}, SONG Meizhen^{1,2}, WAN Meixu^{1,2}, HOU Jian³, LI Dekun^{1,2}, JU Aichun^{1,2}, HUA Wenhao^{1,2}

1. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co., Ltd., Tianjin 300410, China

2. Tianjin Key Laboratory of Safety Evaluation Enterprise of Traditional Chinese Medicine Injections, Tianjin 300410, China

3. Tianjin Tasly Group Co., Ltd., Tianjin 300410, China

4. People's Hospital, Peking University, Beijing 100044, China

Abstract: objective To observe the synergistic effect and mechanism of combined injection of Yiqi Fumai Lyophilized Injection (YQFM) and Cisplatin (DDP) on the proliferation inhibition of A549 lung cancer cell line. **Methods** The CCK-8 method was used to detect the effect of single DDP and YQFM, and combination of two drugs on the proliferation of lung cancer cell line A549. The changes of mitochondrial membrane potential were detected by fluorescent probe JC-1, which labeled the mitochondrial membrane potential. Western Blot was used to detect the expression of apoptosis-related proteins Bax and Caspase3. **Results** Compared with DDP equal dose group, the inhibition rate of cell proliferation was significantly increased in YQFM 16.25 mg/mL + DDP 1.25 μ g/mL, YQFM 16.25 mg/mL + DDP 2.5 μ g/mL, YQFM 16.25 mg/mL + DDP 5.00 μ g/mL groups ($P < 0.05$). Compared with the control group, the apoptotic rate of each drug group was significantly higher ($P < 0.05$), and the apoptotic rate of the combined drug group was significantly higher ($P < 0.05$) than that of the DDP group. Compared with control group, the expression of apoptotic

收稿日期: 2018-10-19

基金项目: 天津市中药注射剂关键技术校企协同创新实验室建设项目(17PTSJYC00090)

第一作者: 李 智(1984—),女,工程师,研究方向为药理与安全性评价。Tel: 13332058960 E-mail: li_zhi_04@163.com

*通信作者: 鞠爱春(1973—),男,高级工程师,研究方向为中药注射剂工艺及质量控制。Tel: (022)86342096 E-mail: juach@tasly.com

华文浩,女,主任医师,研究方向为实验室诊断。Tel: 13651050331 E-mail: jyk-huawenhao@pkuph.edu

protein Bax in DDP 5.0, 10.0 $\mu\text{g/mL}$ and combination groups was significantly higher ($P < 0.05$); when DDP concentration was 5.0 and 10.0 $\mu\text{g/mL}$, the expression of Bax protein in combination group was significantly higher than that in DDP alone group ($P < 0.05$). Compared with the control group, the expression of apoptotic protein Cleaved-caspase 3 was significantly increased in each group ($P < 0.05$). When the concentration of DDP was 5.0 and 10.0 $\mu\text{g/mL}$, the expression of Cleaved-caspase 3 in the combined group was significantly higher than that in the DDP alone group ($P < 0.05$). **Conclusion** YQFM combined with DDP could inhibit the proliferation of A549 cells synergistically, and the mechanism might be related to the induction of mitochondrial apoptosis.

Key words: YiqiFumai Lyophilized Injection; cisplatin; lung cancer cells; proliferation; synergy; apoptosis

据 WHO 统计,全世界每年新增恶性肿瘤患者约 900 万例,其中肺癌患者约 104 万例^[1],严重威胁着人类的健康。临床上药物治疗一直是恶性肿瘤治疗的重要手段,但是,常规的化疗药物对正常组织都有一定的损害。随着中药在抗肿瘤领域的运用,作为传统治疗的重要补充,为广大的癌症患者带来了希望。注射用益气复脉(冻干)(YQFM)来源于古方“生脉散”,临床中被广泛用于冠心病劳累型心绞痛属气阴两虚证^[2-3],主要由红参、麦冬、五味子 3 味药组成,其药理作用主要有:保护心肌细胞、增强心脏收缩功能、抗炎症、改善能量代谢、改善微循环障碍以及提高免疫力等^[4-8],而肿瘤对机体的损耗巨大,早期免疫力降低,往往会出现疲乏、汗多、气短等症状,中医一般称之为“阴虚”。临床观察发现,YQFM 的作用多拓展应用肿瘤治疗领域等。

本研究旨在探讨 YQFM 与临床常用药物顺铂(Cisplatin,DDP)联合对肺癌细胞株 A549 增殖的影响,为传统中药在抗肿瘤领域的临床应用提供一些依据。

1 材料

1.1 细胞株

人类腺癌肺泡基底上皮细胞 A549,购自 ATCC。

1.2 药物及主要试剂

YQFM,0.65 g/瓶,天津天士力之骄药业有限公司,批号 20160909;DDP(山东齐鲁制药,批号 740134B02);RPMI-1640 培养基(美国 Gibco 公司,批号 1929918);胎牛血清(美国 Hyclone 公司,批号 DB10194785);胰酶(美国 Gibco 公司,批号 1742078);青-链双抗(碧云天,批号 C0222);Cell Counting Kit-8(日本同仁公司,批号 LF678); β -actin 抗体(CST,批号 4967S)Cleaved-caspase-3 抗体(CST,批号 9661S);Bax 抗体(CST,批号 5023);HRP 标记抗体(CST,批号 7074S);JC-1 检测试剂盒(碧云天,批号 C2006);PVDF(Millipore,批号 ISEQ00010);ECL 曝光试剂盒(CWBIO,批号 CW0048)。

1.3 主要仪器

细胞培养箱,美国 Thermo 公司;多功能酶标仪,瑞 TECAN 公司;倒置显微镜,德国 Leica 公司;细胞计数仪,美国 Millipore 公司;高速离心机,美国 Thermo 公司;电子分析天平,瑞士 Mettler 公司。电泳仪、转膜仪及凝胶成像系统,伯乐 BIO-RAD;

2 方法

2.1 细胞培养

A549 细胞,用含 10% 的胎牛血清、 1×10^5 U/L 青-链双抗的 RPMI-1640 培养液,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO_2 、饱和湿度的培养箱中传代培养,待细胞长满培养瓶底时(2~3 d),使用含 0.02%EDTA 的 0.25% 胰蛋白酶消化传代,取对数生长期合适细胞数目进行实验。

2.2 CCK-8 法检测 YQFM 与 DDP 的联用效应

将细胞以 $10^4/\text{mL}$ 接种于 96 孔板中,待细胞贴壁生长后将 96 孔板取出,分为 4 组:对照组、YQFM 组、DDP 组、联合用药(YQFM 16.25 mg/mL +DDP 浓度梯度)组,弃去原培养基,加入含不同浓度 YQFM、DDP 的 RPMI-1640 不含血清培养基,YQFM 质量浓度梯度为 4.062 5、8.125 0、16.250 0、32.500 0 mg/mL ,DDP 为 0、2.5、5.0、10.0、20.0 $\mu\text{g/mL}$,每孔总体积 200 μL ,各组再按药物干预时间分为 24、48 h 2 个亚组。每一浓度设 3 个复孔,对照组培养基内加细胞不加药物。

细胞培养结束后,加入 CCK-8 溶液,继续培养 0.5 h,用酶标仪于 450 nm 处检测各孔的吸光度(A)值,并以未接种细胞只加培养基孔的 A 值为空白对照调零。实验重复 3 次,取 3 次实验结果的平均值作为最终实验结果。按下列公式计算肿瘤细胞增殖抑制率:

肿瘤细胞增殖抑制率 = $1 - (\text{药物组 } A \text{ 值} - \text{空白对照 } A \text{ 值}) / (\text{对照组 } A \text{ 值} - \text{空白对照 } A \text{ 值})$

计算两药相互作用指数(coefficient of drug interaction,CDI),公式为^[9]:

$$\text{CDI} = \text{AB} / (\text{A} \times \text{B})$$

AB = 两药联合组 A 值 / 对照组 A 值;A(或 B) = 两药单独

使用组 A 值/对照组 A 值。CDI < 1 时两药有协同作用, CDI < 0.7 时协同作用非常显著。

2.3 线粒体膜电位的检测

将细胞以 1×10^4 /mL 接种于 96 孔板中, 待细胞贴壁生长后将 96 孔板取出, 分为 4 组: 对照组、YQFM (16.25 mg/mL) 组、DDP (2.5 μ g/mL) 组、联合用药 (YQFM 16.25 mg/mL + DDP 2.5 μ g/mL) 组, 弃去原培养基, 加入含不同浓度 YQFM、DDP 的 RPMI-1640 不含血清培养基, 每孔总体积 200 μ L, 设 6 个复孔, 对照组培养基内加细胞不加药物。48 h 后弃去培养基, PBS 洗 1 遍, 离心, 弃去上清, 加入 1 mL 培养液, 再加入 1 mL JC-1 工作液。37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min。孵育结束后, 吸除上清, 用 JC-1 染色缓冲液 (1 $\times$) 洗涤 2 次; 加入细胞培养液, 荧光显微镜或激光共聚焦显微镜下观察。

2.4 Western blotting 检测 Cleaved-caspase 3、Bax 蛋白表达量

将细胞接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁生长后分为 4 组: 对照组、YQFM 组、DDP 组、联合用药 (YQFM 16.25 mg/mL + DDP 浓度梯度) 组, 弃去原培养基, 加入含不同浓度 YQFM、DDP 的 RPMI-1640 不含血清培养基, YQFM 质量浓度梯度为 16.250 0 mg/mL, DDP 为 2.5、5.0、10.0 μ g/mL, 每孔总体积 200 μ L, 设 3 个复孔, 对照组培养基内加细胞不加药物。48 h 后弃去培养基, PBS 洗 2 遍, 每孔加入 NP-40 裂解液置于冰上, 用枪吹打数下, 充分裂解

30 min 后, $12\ 000 \times g$ 、4 $^{\circ}$ C 离心 5 min, 取上清液, 用 BCA 法测定蛋白浓度并定量处理。12% 的 SDS-PAGE 电泳后转膜至 0.45 μ m 的 PVDF 膜上。封闭液封闭 2 h, 4 $^{\circ}$ C 一抗孵育过夜, 一抗浓度分别为 Cleaved-caspase 3 (1:500)、Bax (1:500)、 β -actin (1:1 000)。用 TBST 洗膜 3 遍, 室温下与二抗 (1:1 000) 37 $^{\circ}$ C 孵育 2 h, TBST 洗膜 5 次, 加 ECL 发光液, 放入凝胶成像仪进行检测分析。

2.5 统计学分析

结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS 17.0 软件进行数据分析, 两组均数比较采用 t 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 YQFM 与 DDP 的联用效应

随 YQFM 与 DDP 浓度的升高, A549 细胞增殖抑制率逐渐增大; 药物作用 24 h, 与 DDP 等剂量组比较, 联合用药 (YQFM 16.25 mg/mL + DDP 5.00 μ g/mL、YQFM 16.25 mg/mL + DDP 10.00 μ g/mL) 组细胞增殖抑制率显著增加 ($P < 0.05$); 药物作用时间 48 h, 与 DDP 等剂量组比较, 联合用药 (YQFM 16.25 mg/mL + DDP 1.25 μ g/mL、YQFM 16.25 mg/mL + DDP 2.5 μ g/mL、YQFM 16.25 mg/mL + DDP 5.00 μ g/mL) 组细胞增殖抑制率显著增加 ($P < 0.05$)。结果提示, 两药存在协同作用, 且 YQFM 16.25 mg/mL 与质量浓度为 1.25、2.50 μ g/mL 的 DDP 联合作用 48 h 时, CDI < 0.7, 协同效应非常显著。结果见表 1。

表 1 YQFM 和 DDP 联用对 A549 细胞增殖协同抑制作用 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 1 Synergistic inhibition on proliferation of A549 cells by injection of YQFM and DDP ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	浓度	细胞增殖抑制率/%		CDI (48 h)
		24 h	48 h	
对照	—	0	0	
YQFM	4.062 5 mg·mL ⁻¹	3.28 $\pm$ 0.86	3.89 $\pm$ 0.24	
	8.125 0 mg·mL ⁻¹	5.65 $\pm$ 0.62	9.26 $\pm$ 0.36	
	16.250 0 mg·mL ⁻¹	11.18 $\pm$ 0.42	21.35 $\pm$ 0.59	
	32.500 0 mg·mL ⁻¹	49.14 $\pm$ 0.64	34.96 $\pm$ 0.67	
DDP	1.25 μ g·mL ⁻¹	9.28 $\pm$ 0.50	28.06 $\pm$ 0.50	
	2.50 μ g·mL ⁻¹	12.01 $\pm$ 0.42	33.34 $\pm$ 0.63	
	5.00 μ g·mL ⁻¹	13.3 $\pm$ 0.61	41.6 $\pm$ 0.74	
	10.00 μ g·mL ⁻¹	15.67 $\pm$ 0.49	62.89 $\pm$ 0.86	
DDP+YQFM	16.25 mg·mL ⁻¹ +1.25 μ g·mL ⁻¹	16.1 $\pm$ 0.53	32.94 $\pm$ 0.75 [#]	0.602 7
	16.25 mg·mL ⁻¹ +2.50 μ g·mL ⁻¹	18.23 $\pm$ 0.56	42.13 $\pm$ 0.68 [#]	0.618 8
	16.25 mg·mL ⁻¹ +5.00 μ g·mL ⁻¹	35.51 $\pm$ 0.63 [#]	49.59 $\pm$ 0.71 [#]	0.701 7
	16.25 mg·mL ⁻¹ +10.00 μ g·mL ⁻¹	55.23 $\pm$ 0.71 [#]	61.37 $\pm$ 0.69	1.10

与 DDP 等剂量组比较: [#] $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs DDP isodose group

3.2 药物联用的协同效应影响线粒体膜电位

药物作用 48 h 线粒体膜电位荧光检测,活细胞的线粒体膜被染成红色,而发生凋亡及凋亡初期的细胞线粒体被染成绿色。分别计算各

组细胞的凋亡率,与对照组比较,各给药组凋亡率均显著升高($P < 0.05$);与 DDP 组比较,联合用药组凋亡率显著升高($P < 0.05$)。结果见图 1 和表 2。

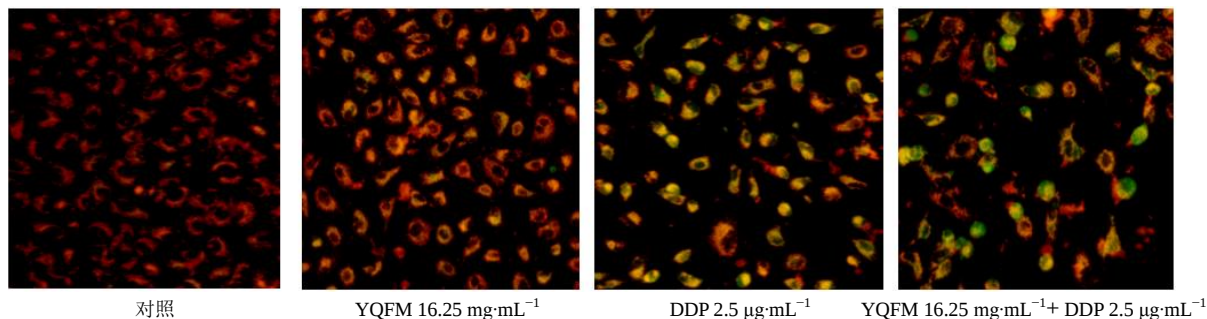


图 1 JC-1 染色法检测各组细胞线粒体膜电位变化

Fig. 1 Changes of mitochondrial membrane potential detected by JC-1 staining

表 2 JC-1 染色检测各组细胞凋亡的结果 ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

Table 2 Results of apoptosis in each group determined by JC-1 staining ($\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

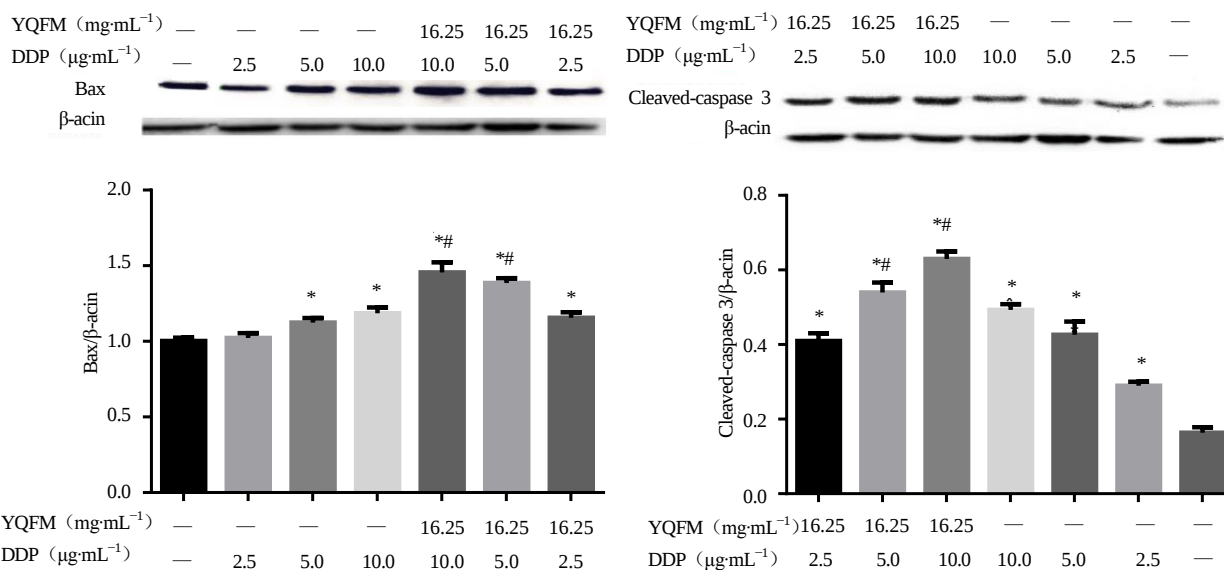
组别	浓度	凋亡率%
对照	—	4.26±1.32
YQFM	16.25 mg·mL ⁻¹	17.26±2.14*
DDP	2.50 μg·mL ⁻¹	25.83±3.25*
YQFM+DDP	16.25 mg·mL ⁻¹ +2.50 μg·mL ⁻¹	38.94±1.95**

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 DDP 组比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs DDP group

3.3 联合用药影响凋亡相关蛋白的表达

药物作用 48 h, 与对照组比较, DDP 5.0、10.0 μg/mL 组和各联合用药组均能够显著促进 Bcl-2 家族的促凋亡蛋白 Bax 表达($P < 0.05$); DDP 质量浓度为 5.0、10.0 μg/mL 时, 联合用药组与 DDP 单独给药组比较, 促凋亡蛋白 Bax 表达量显著升高($P < 0.05$)。与对照组比较, 各给药组凋亡蛋白 Cleaved-caspase 3 表达量显著升高($P < 0.05$); DDP 质量浓度为 5.0、10.0 μg/mL 时, 联合用药组与 DDP 单独给药组比较, Cleaved-caspase 3 蛋白表达量显著升高($P < 0.05$)。结果见图 2。



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 DDP 等剂量组比较: # $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs DDP isodose group

图 2 Western Botting 法检测 Bcl-2、Cleaved-caspase 3 蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Fig. 2 Effects of YQFM on apoptosis-related proteins expression of Bax and Cleaved-caspase 3 in A549 cell by Western blotting ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

联合用药组的线粒体膜电位显著变化以及凋亡相关蛋白Bax、Cleaved-caspase 3的检测分析结果发现,YQFM联合DDP对A549细胞增殖的协同抑制作用可能与诱导线粒体调控凋亡相关。

4 讨论

研究发现,YQFM中含有的人参皂苷Rb₁能逆转肿瘤细胞的多药耐药性而下调P-糖蛋白(P-gp)的表达^[10-11],但是机制还需要进一步研究。红参中的人参皂苷具有抗肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的功能,对癌症患者具有保护作用^[12],同方制剂与化疗药物奥沙利铂联合使用明显提高结肠癌的化疗效果^[13]。

而YQFM联合DDP对肺癌治疗的协同作用还没有相关报道,因此本研究通过CCK-8法检测临床使用浓度(16.25 mg/mL)的YQFM联合DDP对A549细胞增殖影响发现,48 h后,高于16.25 mg/mL浓度的YQFM对细胞增殖有一定的抑制作用,低浓度YQFM对肺癌细胞的抑制作用不显著。本研究结果也显示,YQFM与DDP联用相对单独药组能够显著地提高肿瘤细胞的增殖抑制率。Bcl-2家族是研究最早的与凋亡相关的原癌基因,是线粒体凋亡路径的关键调节因子,参与线粒体调节的多方面,Bax是定位于线粒体的促凋亡蛋白^[14-15],通过对肺癌细胞线粒体膜电位和凋亡相关蛋白Bax、Cleaved-caspase 3的检测分析发现,YQFM联合DDP能够引起线粒体膜电位的改变及相关凋亡蛋白Bax、caspase 3的活化而进一步促进A549细胞的凋亡。

虽然目前研究结果^[3,10]发现YQFM的成分对抗肿瘤治疗有潜在的作用,但研究处于初级阶段,仍存在的许多不足,主要表现为:①对YQFM协同化疗药物抑制肿瘤增殖作用的研究多集中在细胞水平,对动物模型和临床的研究较少;②对YQFM协同DDP介导的抗肿瘤细胞增殖、诱导线粒体膜电位变化,促进肺癌细胞的凋亡状态进行了初步研究,但从整体而言,DDP是常用的化疗药物,对小细胞肺癌有一定的疗效,但容易出现耐药,应从多角度、多因素和多信号通路对YQFM协同化疗药物抑制肿瘤作用机制进行深入的研究;③另外YQFM作为中药产品,具有活性成分和作用靶点多样化、毒副作用小等特点,药物进行活性成分及药动学研究也是十分重要和必要。

本研究结果表明,YQFM联合DDP对A549细胞增殖存在协同抑制作用,机制可能与诱导线粒体调控凋亡相关,希望能够为YQFM在临床小细胞肺癌治疗方面提供参考。

参考文献

- [1] 牛怀印,穆海玉,王 岩. 肺癌分子靶向治疗进展 [J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(12): 2236-2239.
- [2] 乔 曦. 注射用益气复脉在临床中的应用 [J]. 光明中医, 2014, 29(10):2205-2207.
- [3] Wang D G, Wang Z P, Tian B Q, et al. Two hour exposure to sodium butyrate sensitizes bladder cancer to anticancer drugs [J]. Int J Urol, 2008, 15(5):435-441.
- [4] 鞠爱春, 罗瑞芝, 秦袖平, 等. 注射用益气复脉(冻干)药理作用及临床研究进展 [J]. 药物评价研究, 2018, 41(3): 354-364
- [5] Lee C H, Kim J H. A review on the medicinal potentials of ginseng and ginsenosides on cardiovascular diseases [J]. J Ginseng Res, 2014, 38(3):161-166.
- [6] Lan S, Yi F, Shuang L, et al. Chemical constituents from the fibrous root of *Ophiopogon japonicas* and their effect on tube formation in human myocardial microvascular endothelial cells [J]. Fitoterapia, 2013, 85: 57-63.
- [7] Huang Y L, Kou J P, Ma L, et al. Possible mechanism of the anti-inflammatory activity of ruscogenin: Role of intercellular adhesion molecule-1 and nuclear factor-kappa B [J]. J Pharmacol Sci, 2008, 108(2):198-205.
- [8] 徐淑华, 刘生友. 生脉注射液的药理作用研究进展 [J]. 中国药事, 2010, 24(4):405-407.
- [9] Panossian A, Wikman G. Pharmacology of Schisandra chinensis Bail: An overview of Russian research and uses in medicine [J]. J Ethnopharmacol, 2008, 118(2): 183-212.
- [10] 苗 苗, 李 崧, 刘雅茹. 生脉注射液对不同化疗药物的增敏作用 [J]. 中草药, 2013, 44 (7): 875-880.
- [11] 金秀东, 徐秋玲, 郑学芝, 等. 复方五味子素B逆转多药耐药性人结肠癌细胞THC-8307 [J]. 医学综述, 2011, 17(10):1552-1554.
- [12] Dalaveris E, Kerenidi T, Katsabeki-Katsafli A, et al. VEGF, TNF- α and 8-isoprostane levels in exhaled breath condensate and serum of patients with lung cancer [J]. Lung Cancer, 2009, 64(2): 219-225.
- [13] 李小平, 郑磊贞, 顾建春, 等. 生脉注射液联合奥沙利铂抗结肠癌肝转移的作用 [J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2008, 28(5): 552-555.
- [14] Gogvadze V, Robertson J D, Enoksson M, et al. Mitochondrial cytochrome release may occur by volume dependent mechanisms not involving permeability transition [J]. Biochem J, 2004, 378 (Pt 1): 213-217.
- [15] Krauskopf A, Eriksson O, Craigen W J, et al. Properties of the permeability transition in VDACI(-/-)mitochondria [J]. Biochim Biophys Acta, 2006, 1757(5/6): 590-595.