·药理与临床·

南蛇藤提取物对人胃癌SGC-7901裸鼠移植瘤生长及凋亡相关蛋白表达的影响

朱耀东，刘延庆*，钱亚云，王海波，史有阳
扬州大学医药研究所，江苏 扬州 225000

摘 要：目的 探讨南蛇藤苯醋酸乙酯提取物（COE）对人胃癌细胞 SGC-7901 裸鼠移植瘤生长及凋亡相关蛋白表达的影响。**方法** 建立人胃癌裸鼠移植瘤模型，随机分为模型组，COE 低、中、高剂量（10、20、40 mg/kg）组和希罗达（267 mg/kg）组，每组 7 只，各组 ig 给药，给药 3 周后检测裸鼠体质量、肿瘤体积、瘤质量等，绘制肿瘤生长曲线，并计算抑瘤率。应用 TUNEL 法检测 COE 处理后各组移植瘤组织中的细胞凋亡情况；免疫组织化学法和 Western blotting 技术分别检测各组移植瘤组织和 SGC-7901 肿瘤细胞中 p53、Bcl-2、Bax 蛋白的表达。**结果** COE 能够较好地抑制胃癌裸鼠移植瘤的生长，能明显缩小肿瘤体积，且呈剂量依赖性。COE 低、中、高剂量组的抑瘤率分别为 33.3%、46.8%、57.7%。TUNEL 法显示 COE 处理后肿瘤细胞凋亡较模型组明显增多。免疫组化结果显示 COE 处理后移植瘤组织中 p53 和 Bax 蛋白表达有升高的趋势，而 Bcl-2 蛋白表达有降低的趋势。其中与模型组相比，COE 高剂量组中 p53 和 Bax 蛋白表达显著升高（$P<0.001$），而 Bcl-2 蛋白表达显著降低（$P<0.001$）。Western blotting 结果显示与免疫组化有大致相同的变化趋势。**结论** COE 对人胃癌细胞 SGC-7901 裸鼠移植瘤具有明显的抑制作用，其机制可能与上调 p53 和 Bax 的表达，下调 Bcl-2 的表达，诱导胃癌细胞凋亡有关。

关键词：南蛇藤提取物；胃癌；凋亡；移植瘤；SGC-7901 细胞；裸鼠
中图分类号：R285.5 **文献标志码：**A **文章编号：**0253 - 2670(2015)05 - 0697 - 06
DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.05.014

Effect of *Celastrus orbiculatus* extract on growth and apoptosis-related protein expressions of human gastric adenocarcinoma SGC-7901 cell xenografts in nude mice

ZHU Yao-dong, LIU Yan-qing, QIAN Ya-yun, WANG Hai-bo, SHI You-yang
Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Yangzhou University, Yangzhou 225000, China

Abstract: Objective To explore the effects of *Celastrus orbiculatus* extract (COE) on the expressions of apoptosis-related proteins and growth of human gastric adenocarcinoma SGC-7901 cell xenografts in nude mice. **Methods** Thirty-five mice with subcutaneous xenografts of a gastric cancer cell line (SGC-7901) were randomly divided into five groups: a negative control group, a positive control group (xeloda), and low-dose, medium-dose, and high-dose COE groups (10, 20, and 40 mg/kg, respectively). There were seven mice in each group. Tumor volume, tumor weight, and body weight were measured to draw up tumor growth curves and the tumor weight inhibition rates were calculated. The apoptosis rates were measured by TUNEL staining method and the expressions of p53, Bcl-2, and Bax proteins were detected by immunohistochemical staining and Western blotting assay. **Results** The COE could inhibit the growth of SGC-7901 xenografts in a dose-dependent manner. The tumor inhibitory rates were 33.3%, 46.8%, and 57.7% when treated with 10, 20, and 40 mg/kg COE, respectively. TUNEL assay showed that COE presented with apparently more apoptosis than the negative control group. The results of immunohistochemical staining showed the expressions of p53 and Bax proteins had a trend of up-regulation, while the expression of Bcl-2 protein had a trend of down-regulation in nude mice after treatment with COE. Compared with the negative control group, the expressions of p53 and Bax were significantly up-regulated, while the expression of Bcl-2 was down-regulated in the high-dose COE group. Western blotting analysis showed the similar results to immunohistochemical

收稿日期：2014-08-06
基金项目：国家自然科学基金资助项目（81450051，81274141）；江苏省自然科学基金项目（BK20141280）；江苏省中医药科技项目（LZ11210）；江苏省研究生科技创新计划（CXLX13-927）
作者简介：朱耀东（1984—），男，博士在读，研究方向为中西医结合临床肿瘤学。Tel: 18762321144 E-mail: zhuyaodong2010@163.com
*通信作者 刘延庆，男，博士，教授，博士生导师，主要从事中西医结合临床肿瘤学研究。Tel: 13905278844 E-mail: liuyq@yzu.edu.cn

staining. **Conclusion** COE could significantly inhibit the growth of SGC-7901 cell xenografts in nude mice, which might be related with the up-regulation of the expressions of p53 and Bax and down-regulation of the expression of Bcl-2.

Key words: *Celastrus Orbiculatus* extract; gastric cancer; apoptosis; xenograft; SGC-7901cell; nude mice

胃癌是我国常见的恶性肿瘤，其肿瘤相关死亡率位居所有恶性肿瘤的第 2 位。由于症状不典型，确诊时多处于进展期，转移率高、预后差、化疗敏感性低，是制约胃癌患者提高生存率的重要因素[1]。南蛇藤 *Celastrus orbiculatus* Thunb. 藤状灌木，系卫矛科（Celastraceae）南蛇藤属 *Celastrus* L. 植物，是中国重要的药用植物，其根、茎、叶均可入药，具有祛风活血、消肿止痛和解毒等功效[2]。前期研究发现，南蛇藤茎醋酸乙酯提取物（*C. orbiculatus* ethyl acetate extract，COE）在体外可以诱导人胃癌 SGC-7901 细胞凋亡，其机制可能与上调细胞中 p53 基因的表达有关[3]，但尚未进行体内实验研究。本实验在前期研究的基础上，选用裸鼠胃癌皮下移植瘤模型，进一步探讨 COE 抑制胃癌生长的效应与机制，为开发低毒高效的抗肿瘤药物提供实验依据。

1 材料

1.1 药品与试剂

南蛇藤购自广州致信药业有限公司（批号 070510），经中国药科大学中药资源研究室秦民坚教授鉴定为卫矛科南蛇藤 *Celastrus orbiculatus* Thunb. 的藤茎。将南蛇藤藤茎切段，粉碎成粉，95% 乙醇加热回流提取 3 次，回收溶剂至干，加水分散后，用石油醚和醋酸乙酯分别萃取 3 次，回收溶剂后减压浓缩并进行真空冻干，得到 COE[4]，其中含总萜类化合物 68.3%[5]。卡培他滨片（希罗达）购于美国罗氏制药公司（批号 H20073024）。RPMI 1640 细胞培养基购自 Gibco 公司；胎牛血清购自 Hyclone 公司；胰蛋白酶购自 Sigma 公司。p53、Bax、Bcl-2、β-actin 单克隆抗体购自 Cell Signaling 公司。HRP 标记的羊抗兔二抗购自 Bioworld 公司。免疫组化 SP 试剂盒、DAB 显色剂、细胞凋亡检测试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 动物与细胞

BALB/C 无胸腺裸鼠，SPF 级，6 周龄，35 只，雄性，购于扬州大学比较医学中心，许可证号 SYXK（苏）2012-0029，在扬州大学比较医学中心屏障系统辅以洁净层流柜环境中饲养。人胃癌细胞株 SGC-7901 购于中国科学院上海细胞库。

1.3 仪器

低温高速离心机，德国 Eppendorf 公司；ECLIPSE 801 正置荧光相差显微镜，日本 Nikon 公司；小型垂直电泳槽、Molecular Imager ChemiDoc XRS＋成像系统，美国 Bio-Rad 公司。

2 方法

2.1 模型制备、分组及给药

取对数生长期的人胃癌 SGC-7901 细胞，用生理盐水调整细胞密度至 1×10^7/mL，于每只裸鼠右侧胁部 sc 0.2 mL。接种时局部出现明显皮丘，1 周以后被接种裸鼠皮下均出现肉眼可见的结节。10 d 后皮下可触及明显肿块，隆起于皮肤表面，呈不规则状，边界清楚，直径 3～4 mm，提示裸鼠人胃癌皮下移植瘤模型建立成功。取荷瘤裸鼠 35 只，随机将裸鼠分为：模型组（含 1% DMSO 的生理盐水），COE 低、中、高剂量（10、20、40 mg/kg）组，希罗达（267 mg/kg，连用 2 周停用 1 周[6]）组，每组 7 只。模型制备成功后各组均 ig 给药，除希罗达组外其余各组连用 3 周，每次体积 0.2 mL。给药过程中每天定时观察裸鼠精神状态、活动、饮食等一般情况。

2.2 肿瘤体积及质量测定

从给药当天开始，每隔 2 天称量并记录裸鼠体质量，并用游标卡尺测量移植瘤的长径（a）及与之垂直的短径（b），计算肿瘤体积（$V=a\times b^2/2$），绘制移植瘤的生长曲线。治疗结束后次日，颈椎脱臼处死裸鼠，完整剥离肿瘤组织，称取瘤质量，并计算抑瘤率。

抑瘤率＝(模型组平均瘤质量－给药组平均瘤质量)/模型组平均瘤质量

2.3 TUNEL 法检测肿瘤组织中细胞凋亡情况

将取出的肿瘤组织进行固定、石蜡包埋，并按 4 μm 厚切片，然后按 TUNEL 检测试剂盒说明书操作，检测肿瘤组织中的细胞凋亡情况。每张切片随机选取 5 个视野（×400），计数细胞总数和凋亡细胞数，并计算细胞凋亡率。

凋亡率＝凋亡细胞数/肿瘤细胞总数

2.4 免疫组织化学法检测肿瘤组织中 p53、Bax、Bcl-2 蛋白表达

取各组肿瘤组织，10%甲醛固定、石蜡包埋后，

进行免疫组化染色。每张切片按照试剂盒说明书加入适当比例一抗，如 p53（1∶200）、Bax（1∶500）、Bcl-2（1∶500），并用 PBS 代替一抗作为阴性对照，二抗采用辣根过氧化物酶标记，然后加新鲜配制的 DAB 溶液进行显色，苏木素复染后封片。采用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析软件对结果进行判定，每张切片在 400 倍下随机选取 5 个视野，对视野内棕黄色阳性信号进行图像分析，测定平均积分吸光度值。

2.5 Western blotting 法检测 SGC-7901 细胞中 p53、Bax、Bcl-2 蛋白表达

取对数生长期的 SGC-7901 细胞 5×10^5 个/mL 接种于 6 孔板中，培养过夜待其贴壁后，加入含 COE（质量浓度分别为 0、15、30、60、120 μg/mL）的细胞培养液，24 h 后提取细胞总蛋白，BCA 法定量后，进行 SDS-PAGE 电泳，将分离后的蛋白质电转移到 PVDF 膜，封闭液室温封闭 2 h，分别加入 1∶1 000 稀释的 p53、Bax 和 Bcl-2 的抗体，4 ℃孵育过夜，洗膜后加入 1∶2 000 稀释的二抗孵育 2 h。Molecular Imager ChemiDoc XRS＋Imaging System 成像系统中采集图像。结果用 Image Lab 3.0 成像系统软件对条带进行灰度值分析，以 β-actin 为内参，分析目的条带代表的蛋白表达水平。

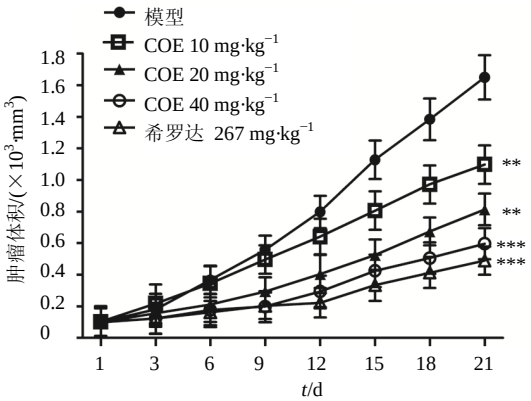
2.6 统计学方法

所有实验均重复 3 次以上，数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示。采用 SPSS 19.0 统计软件分析，单因素两均数的比较采用 t 检验，多均数的比较采用方差分析（ANOVA）。

3 结果

3.1 对移植瘤生长的影响

移植瘤模型建立初期，裸鼠饮食、行为和精神状态均表现正常。在给予 COE 及希罗达治疗后，裸鼠的饮食、行为和精神状态并无明显异常，且治疗过程中各给药组裸鼠体质量与模型组相比也无显著性差异。实验期间，各组裸鼠移植瘤体积均在不同程度的增长，其中模型组移植瘤生长迅速，COE 各组及希罗达组移植瘤生长相对缓慢。各给药组在给药后第 3 周与模型组比较，肿瘤体积具有显著差异（$P<0.01$、0.001），见图 1。实验结束后处死各组裸鼠，称取瘤质量并计算抑瘤率。结果见表 1。COE 各组和希罗达组的肿瘤质量较模型组明显减轻（$P<0.01$、0.001）。COE 低、中、高剂量组的抑瘤率分别为 33.3%、46.8%、57.7%。以上结果说明 COE 在体内能够抑制胃癌裸鼠移植瘤的生长，并且呈现剂量依赖性。



与模型组比较：$^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$，下同

$^{**}P<0.01$ $^{***}P<0.001$ *vs* model group, same as below

图 1 COE 对 SGC-7901 荷瘤裸鼠肿瘤体积的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

Fig. 1 Effect of COE on tumor volume of SGC-7901 xenograft in nude mice ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

表 1 COE 对 SGC-7901 荷瘤裸鼠肿瘤质量的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=7$）

Table 1 Effect of COE on tumor weight of SGC-7901 xenograft in nude mice ($\bar{x}\pm s$, $n=7$)

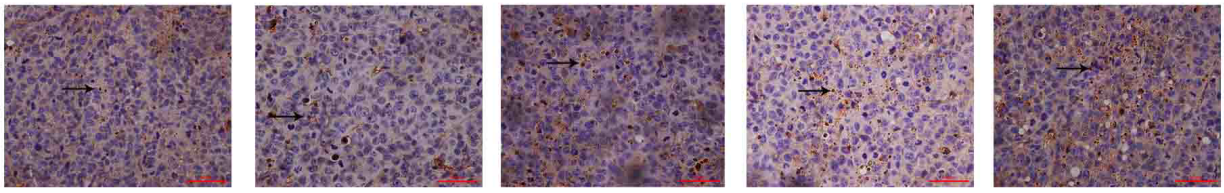
组别	剂量/(mg·kg⁻¹)	瘤质量/g	抑瘤率/%
模型	—	1.11±0.18	—
COE	10	0.74±0.10**	33.3
	20	0.59±0.06***	46.8
	40	0.47±0.05***	57.7
希罗达	267	0.45±0.05***	59.5

3.2 对移植瘤组织中细胞凋亡的影响

光学显微镜下观察各组移植瘤组织中的细胞凋亡情况，结果见图 2。TUNEL 染色法阳性的凋亡细胞其细胞核呈棕黄色，且细胞核突出在细胞边缘；非凋亡细胞的细胞核呈蓝色。计算各组移植瘤组织中的细胞凋亡率，模型组为（3.66±0.96）%，COE 低、中、高剂量组依次为（7.17±1.05）%、（20.33±1.26）%、（23.17±1.53）%，希罗达组为（26.33±1.29）%。COE 各给药组与模型组比较，差异均具有统计学意义（$P<0.05$）。

3.3 对移植瘤组织中 p53、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

免疫组化染色结果见图 3，p53、Bcl-2、Bax 蛋白的阳性反应均为棕黄色颗粒染色，其中 p53 阳性定位于细胞核，Bcl-2、Bax 阳性表达定位于细胞浆。通过比较各组肿瘤组织中蛋白表达的平均积分吸光度值（表 2），与模型组比较，COE 各给药组



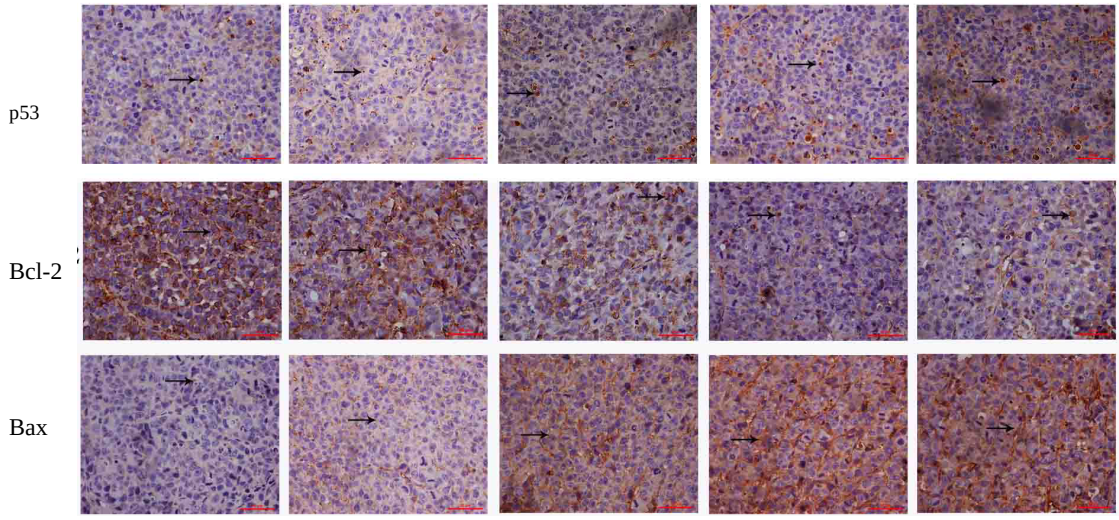
模型　COE 10 mg·kg^{-1}　COE 20 mg·kg^{-1}　COE 40 mg·kg^{-1}　希罗达 267 mg·kg^{-1}

箭头表示阳性细胞，下同

The positive cells were indicated by arrows, same as below

图 2　TUNEL 检测肿瘤组织中 SGC-7901 细胞凋亡

Fig. 2　SGC-7901 cell apoptosis in tumor tissue by TUNEL



模型　COE 10 mg·kg^{-1}　COE 20 mg·kg^{-1}　COE 40 mg·kg^{-1}　希罗达 267 mg·kg^{-1}

图 3　COE 对肿瘤组织中 p53、Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

Fig. 3　Effect of COE on expressions of p53, Bcl-2, and Bax in tumor tissues

表 2　COE 对肿瘤组织中 p53、Bcl-2、Bax 表达平均积分吸光度值的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

Table 2　Effect of COE on mean integrated absorbance value in expressions of p53, Bcl-2, and Bax in tumor tissues ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

组别	剂量/(mg·kg^{-1})	p53	Bcl-2	Bax
模型	—	0.004 2±0.000 4	0.138 2±0.005 1	0.003 7±0.000 4
COE	10	0.011 6±0.001 5**	0.106 4±0.005 4*	0.018 2±0.001 1**
	20	0.035 1±0.004 1***	0.077 9±0.004 2**	0.055 8±0.006 1***
	40	0.077 0±0.003 4***	0.057 2±0.004 4***	0.108 3±0.004 7***
希罗达	267	0.079 3±0.002 4***	0.048 1±0.004 3***	0.137 5±0.004 4***

与模型组比较：$^{*}P$＜0.05，下同

$^{*}P$ < 0.05 *vs* model group, same as below

的 p53、Bax 表达明显增高，Bcl-2 的表达明显降低，差异具有统计学意义（P＜0.05、0.01、0.001）。

3.4　对 SGC-7901 细胞 p53、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响

Western blotting 法检测结果显示，与对照组相比，随着 COE 质量浓度的增加，SGC-7901 细胞中 p53 和 Bax 蛋白的表达水平逐渐升高，Bcl-2 蛋白表达水平逐渐降低，差异具有统计学意义（P＜0.05、0.01、0.001）。结果见图 4。

4　讨论

近年来国内外研究表明，从南蛇藤的根、茎、叶等部位提取的有效成分多为倍半萜、三萜类、黄酮类、有机酸类、甾体类、鞣质等，具有抗肿瘤、抗炎、抗病毒、抗菌、抗氧化等活性[7-8]。本课题组

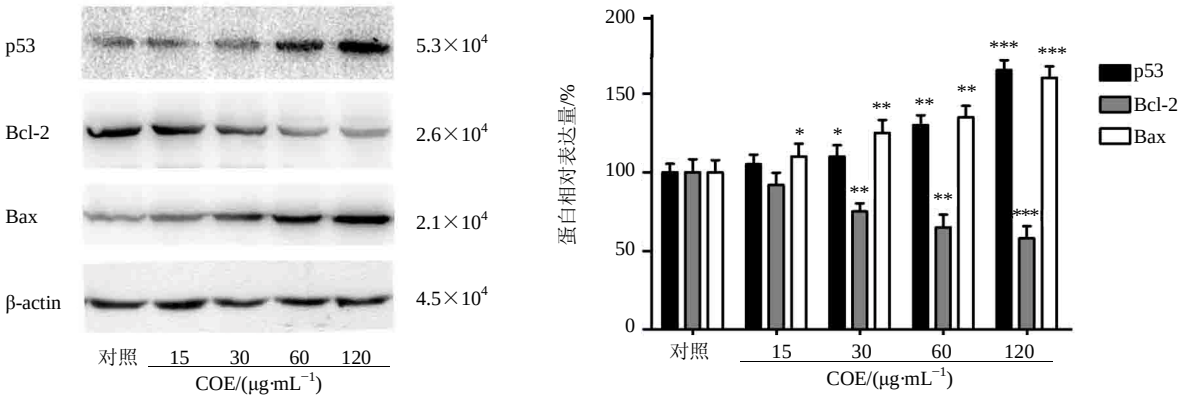


图 4 COE 对 SGC-7901 细胞 p53、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响（$\bar{x} \pm s$, $n = 7$）

Fig. 4 Effect of COE on expressions of p53, Bcl-2, and Bax in SGC-7901 cells ($\bar{x} \pm s$, $n = 7$)

前期对 COE 的化学成分进行了分析，并发现其具有显著的抗肿瘤活性，能够抑制人胃癌 SGC-7901 细胞的生长并诱导其凋亡[3]。但由于肿瘤细胞在体外的生长环境与体内完全不同，所以研究所得出的结论也有着一定的局限性。

实践证明动物体内实验可以使肿瘤的生长环境更接近于临床实际，能够从机体的整体来系统性地完善和证实体外细胞水平研究的成果，已成为肿瘤研究中必不可少的一部分[9]。裸鼠是一种免疫缺陷动物，具有无毛、无胸腺、裸体、T 淋巴细胞功能完全缺乏和免疫功能低下等特点，对异种移植不产生排斥反应，特别适用于人类肿瘤异种移植实验及相关研究[10]。本实验中采用皮下种植的方式建立胃癌裸鼠移植瘤模型，以观察 COE 在体内对胃癌的抑制作用，发现 COE 在体内能够抑制胃癌的生长，这与前期的研究结论相一致。

希罗达是新一代口服氟尿嘧啶类细胞毒药物，在胃肠道以原药的形式快速吸收，在肝脏和肿瘤组织中经过胸腺嘧啶磷酸化酶活化，被代谢为有抗肿瘤活性的 5-氟尿嘧啶，对多种实体肿瘤均具有较强的抗癌活性，现已成为进展期胃癌的一线化疗药物[11]。研究发现，希罗达能够明显上调胃癌组织中 Bax 蛋白的表达，提示希罗达能诱导胃癌细胞发生凋亡并抑制其生长[12]。在课题组的前期研究中，发现 COE 也能诱导胃癌细胞发生凋亡，并应用了流式细胞免疫荧光技术检测 COE 作用胃癌细胞后 p53 蛋白的表达，结果发现与对照组相比，p53 蛋白的表达明显上调[3]。p53 蛋白是细胞内重要的肿瘤抑制因子，当细胞处于基因组损伤、致癌基因表达以及某些化学抗癌药物处理的情况下，p53 蛋白会被激活并诱导细胞凋亡来杀死异常细胞[13]。在本研究中，利用免疫组化法和 Western blotting 技术检测 COE 处理后移植瘤组织和 SGC-7901 细胞中 p53 蛋白的表达，结果发现 p53 蛋白的表达均明显上调，这与前期的研究结果相符合，提示 COE 促进胃癌细胞凋亡的机制可能与上调 p53 蛋白的表达有关。

Bcl-2 家族分子在细胞凋亡的调控中也起着极为重要的作用，其中 Bcl-2 和 Bax 是最具代表性的抑制和促进凋亡基因，是决定凋亡的一个重要因素[14]。当 Bax 蛋白在细胞中表达较高时，可形成同源二聚体 Bax/Bax，从而促进细胞凋亡；当 Bcl-2 蛋白表达量较高时，可形成异源二聚体 Bcl-2/Bax，抑制细胞凋亡[15]。研究还表明，p53 为 Bcl-2 的上游调控基因，p53 可通过调节 caspase-3 蛋白酶上调 Bcl-2 的基因表达，从而影响相关凋亡功能，提示 p53 诱导线粒体介导的细胞凋亡信号通路有 Bcl-2 参与，它们共同促进肿瘤的发生，抑制细胞凋亡[16]。在本实验中，发现 Bax 蛋白在移植瘤组织和肿瘤细胞中的表达随着 COE 质量浓度的增加而逐渐升高，但 Bcl-2 蛋白的表达随着 COE 质量浓度的增加而逐渐降低。由此推测 COE 作用于胃癌细胞后，可以上调 p53 蛋白的表达，调节 Bcl-2 和 Bax 的表达，促使 Bax 蛋白自身形成同源二聚体，从而诱导细胞发生凋亡。这可能是 COE 抗胃癌的主要作用机制之一，可为 COE 防治胃癌提供新的实验依据，并为 COE 进一步用于临床抗肿瘤药物的研究奠定很好的理论基础。

总之，COE 可以通过增加 p53、Bax 蛋白的表达，降低 Bcl-2 蛋白水平，促进胃癌细胞凋亡，从而发挥抗胃癌的作用。COE 是直接作用于 p53 基因

还是通过调节其上游激酶和/或信号分子而间接发挥作用仍不清楚，COE 除通过调节 p53 基因外，是否还可调节其他信号通路促进 SGC-7901 细胞凋亡尚需进行更深入的研究。

参考文献

[1] Ferlay J, Shin H R, Bray F, *et al*. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008 [J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917.

[2] 黄泰康. 现代本草纲目 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2001.

[3] 王维民, 刘延庆, 戴小军. 南蛇藤提取物诱导 SGC-7901 胃癌细胞凋亡及其机制 [J]. 中国生物制品学杂志, 2010, 23(2): 154-156.

[4] 刘延庆. 南蛇藤茎总萜提取物及其制备方法及用途: 中国, ZL 200710025343.3 [P]. 2012-02-08.

[5] 昝 珂, 陈筱清, 王 强, 等. 南蛇藤茎的化学成分研究 [J]. 中草药, 2007, 38(10): 1455-1456.

[6] Kwon Chung K J, Sorrell T C, Dromer F, *et al*. Cryptococcosis: clinical and biological aspects [J]. *Med Mycol*, 2000, 38(1): 205-213.

[7] 杨庆伟, 刘延庆, 刘 丽, 等. 南蛇藤总萜提取物对肝癌 7721 细胞侵袭转移能力的影响 [J]. 中草药, 2009, 40(3): 434-437.

[8] 汪茂荣. 中药南蛇藤抗肿瘤作用的研究进展 [J]. 中医学报, 2011, 11(6): 1055-1057.

[9] Gao X, Cui Y, Levenson R M, *et al*. *In vivo* cancer targeting and imaging with semiconductor quantum dots [J]. *Nat Biotechnol*, 2004, 22(8): 969-976.

[10] Wu K, Nie Y, Guo C, *et al*. Molecular basis of therapeutic approaches to gastric cancer [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2009, 24(1): 37-41.

[11] Popa E C, Shah M A. Capecitabine in the treatment of esophageal and gastric cancers [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2013, 22(12): 1645-1657.

[12] Pietrantonio F, Biondani P, de Braud F, *et al*. Bax expression is predictive of favorable clinical outcome in chemonaive advanced gastric cancer patients treated with capecitabine, oxaliplatin, and irinotecan regimen [J]. *Transl Oncol*, 2012, 5(3): 155-159.

[13] Liao J M, Cao B, Zhou X, *et al*. New insights into p53 functions through its target microRNAs [J]. *J Mol Cell Biol*, 2014, 6(3): 206-213.

[14] Wood W G, Igbavboa U, Muller W E, *et al*. Statins, Bcl-2, and apoptosis: cell death or cell protection? [J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 48(2): 308-314.

[15] Autret A, Martin S J. Emerging role for members of the Bcl-2 family in mitochondrial morphogenesis [J]. *Mol Cell*, 2009, 36(3): 355-363.

[16] Aoyama I, Yaegaki K, Calenic B, *et al*. The role of p53 in an apoptotic process caused by an oral malodorous compound in periodontal tissues: a review [J]. *J Breath Res*, 2012, 6(1): 017104.