

ω-3多不饱和脂肪酸对人多发性骨髓瘤耐药细胞株MM.1R的增殖抑制作用及增强地塞米松敏感性的研究

吴圣豪 郑翠苹 陈松燕 刘珍 林弼靖 范玉芳 翁珊珊

Effects of ω-3 polyunsaturated fatty acids on multiple myeloma growth inhibition and enhanced sensitivity of dexamethasone Wu Shenghao, Zheng Cuiping, Chen Songyan, Liu Zhen, Lin Bijing, Fan Yufang, Weng Shanshan
Corresponding author: Wu Shenghao, Department of Hematology, The Dingli Clinical Institute of Wenzhou Medical University (Wenzhou Central Hospital), Wenzhou 325000, China. Email: wushenghaoyouxiang@163.com

多发性骨髓瘤(MM)是一种起源于浆细胞的恶性肿瘤。近年来新型化疗药物的应用使MM的治疗取得了长足进展,但是患者的预后仍较差。耐药是MM难治、复发的原因之一^[1]。MM细胞异质性强,基因组高度不稳定,生长增殖高度依赖骨髓微环境,是耐药细胞出现和存在的主要原因^[1]。ω-3多不饱和脂肪酸(polyunsaturated fatty acid, PUFA)为人体必需脂肪酸,是细胞膜的组成成分,参与基因表达、生长发育等多种生理功能^[2]。ω-3 PUFA包括二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)和二十二碳六烯酸(docosahexaenoic acid, DHA)。研究表明,ω-3 PUFA可通过影响某些基因转录而抑制细胞增殖、阻滞细胞周期及诱导细胞凋亡,发挥抗肿瘤作用^[3]。在本研究中,我们观察EPA、DHA单药/联合地塞米松(DEX)对耐DEX的MM细胞株MM.1R增殖、细胞周期和凋亡的影响,为ω-3 PUFA治疗MM提供实验依据。

材料与方 法

1. 试剂与材料:对DEX耐药的人MM细胞株MM.1R由本实验室长期保存,实验前从液氮取出,常规快速复苏后传代培养。RPMI 1640培养基和胎牛血清均购自美国Gibco公司;EPA、DHA和DEX均购自美国Sigma公司;MTT试剂盒购自日本同仁化学研究所;细胞周期检测试剂盒、流式凋亡检测试剂盒购自南京凯基公司;cleaved caspase-3抗体、procaspase-3抗体、BCL-2抗体、Bax抗体、GAPDH抗体均购自美国Abcam公司;蛋白裂解液、BCA蛋白浓度测定试剂盒、

荧光二抗、ECL化学发光试剂盒均购自上海碧云天公司。

2. 细胞培养:MM.1R细胞常规培养于含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素、100 U/ml链霉素的RPMI 1640培养基中,置于37℃、5%CO₂、饱和湿度下培养,每2~3 d换液传代1次,取对数生长期细胞用于实验。

3. 实验分组:根据既往文献报道及预实验结果,用DMSO配制10 mmol/L的DEX储备液,然后用RPMI 1640培养基稀释为10 μmol/L工作液。用无水乙醇配制100 mmol/L的EPA和DHA储备液,然后用RPMI 1640培养基稀释为10、20、50、100 μmol/L工作液。联合加药组中先加入不同浓度EPA/DHA培养12 h,再加入10 μmol/L DEX继续培养24 h后进行相关实验。空白对照组中加入等体积的含DMSO或无水乙醇的RPMI 1640培养基。

4. MTT法检测细胞增殖:收集对数生长期的MM.1R细胞,以0.25%胰酶消化后制成细胞悬液,调整细胞密度为1×10⁵/ml,接种于96孔培养板中(200 μl/孔),每个浓度设5个复孔,37℃、5%CO₂、饱和湿度条件下培养24 h,待细胞贴壁后,加入不同浓度的药物,分别处理24、48 h,吸去各孔培养液,换无血清培养液并加入5 mg/ml MTT(20 μl/孔),继续培养4 h;吸尽各孔培养液,加入DMSO(200 μl/孔),振荡溶解5~10 min,以空白对照调零,用自动酶标读数仪读取各组吸光度(A)值,检测波长为492 nm。按以下公式计算细胞增殖抑制率。实验重复3次,结果取平均值。

$$\text{细胞增殖抑制率(\%)} = \frac{A_{\text{对照组}} - A_{\text{实验组}}}{A_{\text{对照组}} - A_{\text{空白组}}} \times 100\%$$

5. 流式细胞术检测细胞周期和凋亡:细胞处理同上。培养48 h后收集各组细胞,用4℃预冷的PBS洗涤细胞2次,250×g离心5 min。取1×10⁵个细胞,加入4℃预冷的70%乙醇固定6 h。用4℃预冷的PBS洗细胞2次,250×g离心5 min。将细胞重悬于100 μl PBS中,加入5 μl碘化丙啶(PI),混匀后室温避光反应15 min,加入300 μl PBS,立即上流式细胞仪(BD FASC Calibur)检测。取1×10⁵个细胞,用100 μl结合缓冲液重新悬浮细胞,加入5 μl Annexin V-FITC和5 μl PI,混匀后于室温避光孵育15 min,加入400 μl结合缓冲液,立即上流式细胞仪分析。采用Modifit 1.0软件分析细胞周期分布,采用CellQuest Pro软件分析细胞凋亡。实验重复3次,结果取平均值。

6. Western blot法检测蛋白表达:细胞处理同上。培养24 h后收集各组细胞,用蛋白裂解液裂解细胞后,离心去细胞碎片,取上清液,BCA法定量细胞总蛋白,各组取20 μg总蛋白进行120 g/L SDS-PAGE并转移至PVDF膜,用10 g/L

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.12.016

基金项目:浙江省医药卫生科技计划(2016RCB018);温州市科技计划(Y20130242)

作者单位:325000 温州市中心医院(温州医科大学定海临床学院)血液化疗科

通信作者:吴圣豪,Email:wushenghaoyouxiang@163.com

牛血清白蛋白(BSA)和0.05% Tween 20 封闭非特异性抗原后,一抗4℃温育过夜。次日TBST洗膜后,二抗1:5 000稀释,37℃温育1h,TBST洗膜后ECL荧光显色。蛋白质条带用扫描仪进行扫描,以GAPDH条带作为参照,用Imagaquent 5.1软件进行相对定量分析。以目的蛋白条带与GAPDH灰度比值表示蛋白相对表达水平。实验重复3次,结果取平均值。

7. 统计学处理:应用SPSS 16.0软件进行结果分析。所有数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两样本t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. MTT法检测EPA、DHA单药/联合DEX对MM.1R细胞增殖的影响:EPA、DHA单药/联合DEX均对MM.1R细胞增殖有抑制作用;同一时间点不同浓度EPA/DHA对MM.1R细胞的增殖抑制率差异有统计学意义(P 值均 < 0.05);同一浓度EPA/DHA不同作用时间(24、48h)对MM.1R细胞的增殖抑制率差异也有统计学意义(P 值均 < 0.05);联合DEX较单药的细胞抑制作用更强(P 值均 < 0.05)。详见表1、表2。

2. 流式细胞术检测EPA、DHA单药/联合DEX对MM.1R细胞周期和细胞凋亡的影响:不同浓度EPA、DHA作用MM.1R细胞48h后,随着药物浓度增加, G_0/G_1 期细胞逐渐增加、S期和 G_2 期细胞逐渐减少,细胞阻滞在 G_0/G_1 期;联合DEX组较单药组细胞阻滞更明显(P 值均 < 0.05) (表3、4)。不同浓度EPA或DHA作用MM.1R细胞48h后,细胞凋亡率随着药物浓度增加而升高,联合DEX组较单药组细胞凋亡率增加更明显(P 值均 < 0.05) (表3、4)。

表1 二十碳五烯酸(EPA)单药/联合地塞米松(DEX)对MM.1R细胞增殖的影响(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	细胞增殖抑制率	
	24 h	48 h
空白对照组	0	0
10 $\mu\text{mol/L}$ EPA	8.45 \pm 0.57 ^a	12.07 \pm 0.94 ^{ac}
20 $\mu\text{mol/L}$ EPA	15.24 \pm 1.27 ^a	24.59 \pm 1.29 ^{ac}
50 $\mu\text{mol/L}$ EPA	21.97 \pm 2.14 ^a	35.47 \pm 2.41 ^{ac}
100 $\mu\text{mol/L}$ EPA	23.44 \pm 2.21 ^a	41.58 \pm 2.19 ^{ac}
50 $\mu\text{mol/L}$ EPA+10 $\mu\text{mol/L}$ DEX	38.78 \pm 2.73 ^{ab}	68.24 \pm 2.02 ^{abc}

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与50 $\mu\text{mol/L}$ EPA组比较,^b $P < 0.05$;与24 h比较,^c $P < 0.05$ 。实验重复3次

表2 二十二碳六烯酸(DHA)单药/联合地塞米松(DEX)对MM.1R细胞增殖的影响(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	细胞增殖抑制率	
	24 h	48 h
空白对照组	0	0
10 $\mu\text{mol/L}$ DHA	7.21 \pm 0.61 ^a	15.47 \pm 0.64 ^{ac}
20 $\mu\text{mol/L}$ DHA	12.67 \pm 0.91 ^a	26.49 \pm 0.96 ^{ac}
50 $\mu\text{mol/L}$ DHA	24.37 \pm 1.24 ^a	37.22 \pm 1.37 ^{ac}
100 $\mu\text{mol/L}$ DHA	29.74 \pm 1.35 ^a	50.64 \pm 3.49 ^{ac}
50 $\mu\text{mol/L}$ DHA+10 $\mu\text{mol/L}$ DEX	43.54 \pm 2.68 ^{ab}	71.28 \pm 3.33 ^{abc}

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与50 $\mu\text{mol/L}$ DHA组比较,^b $P < 0.05$;与24 h组比较,^c $P < 0.05$ 。实验重复3次

3. EPA、DHA单药/联合DEX对MM.1R细胞凋亡相关蛋白表达的影响:不同浓度EPA或DHA作用MM.1R细胞24h后,随着药物浓度增加,凋亡相关蛋白cleaved caspase-

表3 二十碳五烯酸(EPA)单药/联合地塞米松(DEX)对MM.1R细胞周期和凋亡的影响(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	细胞周期分布			细胞凋亡率
	G_0/G_1 期	S期	G_2 期	
空白对照组	34.27 \pm 1.24	8.34 \pm 1.07	56.14 \pm 2.39	4.28 \pm 1.39
10 $\mu\text{mol/L}$ EPA	40.37 \pm 1.71 ^a	10.58 \pm 0.91 ^a	48.91 \pm 1.33 ^a	18.97 \pm 3.41 ^a
20 $\mu\text{mol/L}$ EPA	49.24 \pm 1.38 ^a	8.14 \pm 0.64 ^a	41.08 \pm 3.44 ^a	29.74 \pm 3.55 ^a
50 $\mu\text{mol/L}$ EPA	55.37 \pm 2.51 ^a	5.04 \pm 0.57 ^a	38.28 \pm 2.19 ^a	42.38 \pm 3.87 ^a
100 $\mu\text{mol/L}$ EPA	59.75 \pm 3.52 ^a	5.57 \pm 0.68 ^a	33.55 \pm 1.08 ^a	49.39 \pm 4.04 ^a
50 $\mu\text{mol/L}$ EPA +10 $\mu\text{mol/L}$ DEX	76.92 \pm 3.18 ^{ab}	4.22 \pm 1.11 ^{ab}	18.94 \pm 0.87 ^{ab}	78.31 \pm 4.55 ^{ab}

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与50 $\mu\text{mol/L}$ EPA组比较,^b $P < 0.05$ 。实验重复3次

表4 二十二碳六烯酸(DHA)单药/联合地塞米松(DEX)对MM.1R细胞周期和凋亡的影响(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	细胞周期分布			细胞凋亡率
	G_0/G_1 期	S期	G_2 期	
空白对照组	32.04 \pm 1.81	6.28 \pm 0.46	41.28 \pm 1.62	5.09 \pm 1.05
10 $\mu\text{mol/L}$ DHA	41.08 \pm 2.02 ^a	8.21 \pm 1.62 ^a	50.37 \pm 1.43 ^a	13.54 \pm 1.36 ^a
20 $\mu\text{mol/L}$ DHA	52.05 \pm 2.67 ^a	8.04 \pm 1.57 ^a	39.39 \pm 2.04 ^a	26.71 \pm 2.07 ^a
50 $\mu\text{mol/L}$ DHA	57.39 \pm 2.37 ^a	5.39 \pm 0.51 ^a	36.75 \pm 2.69 ^a	40.67 \pm 3.06 ^a
100 $\mu\text{mol/L}$ DHA	62.38 \pm 3.40 ^a	4.29 \pm 0.59 ^a	32.48 \pm 1.17 ^a	53.69 \pm 3.41 ^a
50 $\mu\text{mol/L}$ DHA +10 $\mu\text{mol/L}$ DEX	78.69 \pm 4.28 ^{ab}	3.71 \pm 0.36 ^b	18.91 \pm 1.08 ^{ab}	82.40 \pm 5.69 ^{ab}

注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与50 $\mu\text{mol/L}$ DHA组比较,^b $P < 0.05$ 。实验重复3次

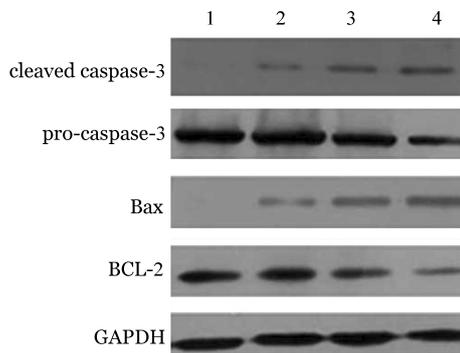
3、Bax 表达逐渐增加, pro-caspase-3、BCL-2 表达逐渐减少, 均呈剂量依赖性。联合 DEX 组 cleaved caspase-3、Bax 蛋白表达增加及 pro-caspase-3、BCL-2 蛋白表达减少更明显(P 值均 <0.05)。详见表 5、表 6、图 1、图 2。

讨 论

糖皮质激素是目前治疗 MM 的一线药物, 是联合化疗方案中不可缺少的药物。然而在化疗过程中, 临床上不同 MM 患者对糖皮质激素的反应差异很大, 某些 MM 患者即使加大糖皮质激素剂量仍表现为反应差甚至无反应, 这种现象称为糖皮质激素抵抗(glucocorticoid resistance, GCR)^[4]。GCR 导致化疗无效或出现药物严重不良反应, 这是 MM 治疗的难点。因此, 降低化疗药物用量从而减少不良反应的发生尤为重要。

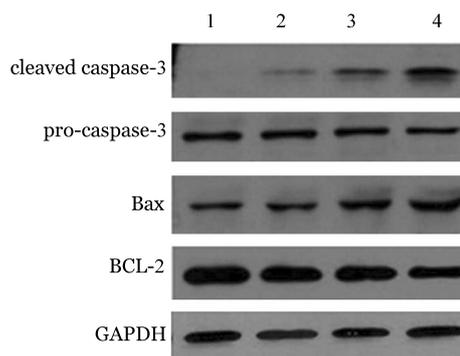
ω -3 PUFA 与肿瘤的关系有如下证据^[5-6]: ①进展期肿瘤患者血 ω -3 PUFA 浓度降低; ②抗肿瘤治疗期间补充 ω -3 PUFA 可以提高治疗反应并改善患者生活质量; ③ ω -3 PUFA 在提高抗肿瘤治疗的疗效以及减轻化疗不良反应等方面扮演着重要角色。

本研究结果表明, EPA、DHA 单药对 DEX 耐药 MM 细胞株 MM.1R 的生长均有显著的抑制作用, 抑制效果随着剂量的增加和作用时间的延长而增强, 呈浓度梯度和时间梯度依赖性, 表明 ω -3 PUFA 对耐药的 MM 细胞具有增强化疗敏感性的作用。本研究结果还显示, 采用 50 μ mol/L EPA/DHA 联合 10 μ mol/L DEX 的细胞增殖抑制效果均强于 EPA、DHA 单药且抑制效果也随着时间的延长而增强, 表明 EPA/DHA 与 DEX 对 MM.1R 细胞具有协同抑制作用, 能够发挥更大的肿瘤杀伤效果, 并且能够改善 MM 细胞的 GCR。 ω -3 PUFA 的增强化疗敏感性的作用在临床实体肿瘤中也获得了证实。Murphy 等^[7]以接受化疗的非小细胞肺癌患者为研究对象, 对照组给予标准治疗方案, 干预组在加用富含 EPA 和 DHA 的鱼油, 结果发现干预组术后 1 年生存率更高。在动



1: 空白对照组; 2: 20 μ mol/L EPA; 3: 50 μ mol/L EPA; 4: 50 μ mol/L EPA + 10 μ mol/L DEX

图 1 Western blot 法检测二十碳五烯酸(EPA)单药/联合地塞米松(DEX)对 MM.1R 细胞凋亡相关蛋白表达的影响



1: 空白对照组; 2: 20 μ mol/L DHA; 3: 50 μ mol/L DHA; 4: 50 μ mol/L DHA + 10 μ mol/L DEX

图 2 Western blot 法检测二十二碳六烯酸(DHA)单药/联合地塞米松(DEX)对 MM.1R 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

物研究中, Chen 等^[8]发现, 小鼠灌服外源性 ω -3 PUFA, 无论是在体外还是体内, 均有预防乳腺癌发生、生长和转移的作用。此外 ω -3 PUFA 在增强化疗药物敏感性方面也显示了良好的发展前景。Abdi 等^[9]研究表明 EPA 和 DHA 能诱导 MM

表 5 二十碳五烯酸(EPA)单药/联合地塞米松(DEX)对 MM.1R 细胞凋亡相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	cleaved caspase-3	pro-caspase-3	Bax	BCL-2
空白对照组	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
20 μ mol/L EPA	1.39 \pm 0.06 ^a	0.90 \pm 0.05 ^a	1.54 \pm 0.09 ^a	0.87 \pm 0.05 ^a
50 μ mol/L EPA	1.79 \pm 0.08 ^a	0.81 \pm 0.06 ^a	1.87 \pm 0.12 ^a	0.76 \pm 0.06 ^a
50 μ mol/L EPA + 10 μ mol/L DEX	4.44 \pm 0.24 ^{ab}	0.51 \pm 0.05 ^{ab}	3.04 \pm 0.27 ^{ab}	0.48 \pm 0.03 ^{ab}

注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 50 μ mol/L EPA 组比较, ^b $P < 0.05$ 。实验重复 3 次

表 6 二十二碳六烯酸(DHA)单药/联合地塞米松(DEX)对 MM.1R 细胞凋亡相关蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	cleaved caspase-3	pro-caspase-3	Bax	BCL-2
空白对照组	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
20 μ mol/L DHA	1.40 \pm 0.06 ^a	0.84 \pm 0.06 ^a	1.67 \pm 0.05 ^a	0.85 \pm 0.06 ^a
50 μ mol/L DHA	2.21 \pm 0.07 ^a	0.79 \pm 0.06 ^a	2.04 \pm 0.10 ^a	0.76 \pm 0.05 ^a
50 μ mol/L DHA + 10 μ mol/L DEX	3.47 \pm 0.18 ^{ab}	0.54 \pm 0.03 ^{ab}	4.27 \pm 0.19 ^{ab}	0.45 \pm 0.04 ^{ab}

注: 与空白对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与 50 μ mol/L DHA 组比较, ^b $P < 0.05$ 。实验重复 3 次

细胞凋亡,增加硼替佐米对MM细胞的敏感性,而正常人外周血单个核细胞的活性不受影响。Fahrman等^[10]对慢性B淋巴细胞白血病细胞系EHEB和MEC-2、B细胞性幼淋巴细胞白血病细胞系JVM-2进行体外培养,观察在有或无PUFA的情况下细胞对阿霉素、长春新碱或氟达拉滨的敏感性,结果提示EPA和DHA能通过G₂/M阻滞、脂质过氧化作用诱导细胞凋亡,增加上述化疗药物的敏感性。

ω -3 PUFA影响肿瘤的机制非常复杂^[11]:① ω -3 PUFA可以渗入膜磷脂层影响膜相关信号转导。可能关联的信号转导通路有Ras、PI3K/Akt、HER-2/neu等;②脂质过氧化作用: ω -3 PUFA的脂质过氧化作用产物可抑制肿瘤细胞DNA合成、细胞分裂及生长,诱导凋亡;③抑制NF- κ B信号转导通路:NF- κ B是重要的核转录因子,激活后可调控多种基因表达,参与炎症反应、免疫应答以及细胞的增殖、分化、凋亡等生物学过程。④改变肿瘤细胞膜通透性,增加抗肿瘤药物的摄入;⑤作用于细胞凋亡相关因子,诱导肿瘤细胞凋亡。

在本研究中,我们发现EPA、DHA单药/联合DEX可使MM.1R细胞的细胞周期阻滞在G₀/G₁期,且阻滞效果随着药物剂量增加和作用时间的延长而增强,提示 ω -3 PUFA作用于G₀/G₁期。与此相一致的是,药物作用48 h后出现了细胞凋亡,且凋亡率随着药物剂量的增加而增高,并且 ω -3 PUFA与DEX联合应用细胞凋亡增加更明显,提示 ω -3 PUFA具有细胞周期阻滞、诱导凋亡的双重作用。

研究显示,EPA和DHA主要通过影响线粒体膜电位和激活caspase-3诱导细胞凋亡^[12-13]。caspase-3在细胞凋亡中起着不可替代的作用,是细胞凋亡过程中最主要的剪切酶。另外BCL-2和Bax是调控细胞凋亡非常重要的两个基因,在调节细胞凋亡和细胞耐药方面具有重要作用^[14]。在本研究中,MM.1R细胞经EPA/DHA作用后cleaved caspase-3、Bax蛋白表达均上调,pro-caspase-3、BCL-2蛋白表达下调,而且具有剂量依赖性,提示 ω -3 PUFA可能通过caspase途径和调节BCL-2/Bax比率来诱导MM.1R细胞凋亡。

综上所述, ω -3 PUFA可增强MM.1R细胞对化疗药物的敏感性,为MM尤其是发生GCR患者提供了一种新的治疗思路。目前该药物对MM增强化疗敏感性仍停留在初步研究阶段,后续还需要动物实验和临床试验进一步研究和证实。

参考文献

[1] 藏美蓉,邱录贵.多发性骨髓瘤耐药机制相关研究进展:第55届美国血液学会年会报道[J].白血病·淋巴瘤,2014,23(3):133-136. doi: 10.3760/cma.j.issn.1009-9921.2014.03.002.

[2] 郎丽巍,王洪允,胡蓓,等.多不饱和脂肪酸在癌症及炎症疾病方面的研究进展[J].中国生化药物杂志,2014,34(1):153-155.

[3] 王席娟,刘亚玲.n-3多不饱和脂肪酸的肿瘤治疗作用及其机制[J].肿瘤防治研究,2010,37(8):967-970. doi: 10.3971/j.issn.1000-8578.2010.08.030.

[4] 郝敏,林江涛.糖皮质激素不敏感分子机制研究进展[J].中华医学杂志,2014,94(26):2073-2075. doi:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2014-26-018.

[5] D'Eliseo D, Velotti F. Omega-3 fatty acids and cancer cell cytotoxicity: implications for multi-targeted cancer therapy [J]. J Clin Med, 2016, 5(2). pii: E15. doi: 10.3390/jcm5020015.

[6] Devi KP, Rajavel T, Russo GL, et al. Molecular targets of omega-3 fatty acids for cancer therapy [J]. Anticancer Agents Med Chem, 2015, 15 (7):888- 895. doi: 10.2174/1871520615666150424124606.

[7] Murphy RA, Mourtzakis M, Chu QS, et al. Supplementation with fish oil increases first-line chemotherapy efficacy in patients with advanced nonsmall cell lung cancer [J]. Cancer, 2011, 117(16): 3774-3780. doi: 10.1002/cncr.25933.

[8] Chen Z, Zhang Y, Jia C, et al. mTORC1/2 targeted by n-3 polyunsaturated fatty acids in the prevention of mammary tumorigenesis and tumor progression [J]. Oncogene, 2014, 33 (37):4548-4557. doi: 10.1038/ncr.2013.402.

[9] Abdi J, Garssen J, Faber J, et al. Omega-3 fatty acids, EPA and DHA induce apoptosis and enhance drug sensitivity in multiple myeloma cells but not in normal peripheral mononuclear cells [J]. J Nutr Biochem, 2014, 25 (12):1254-1262. doi: 10.1016/j.jnutbio.2014.06.013.

[10] Fahrman JF, Hardman WE. Omega 3 fatty acids increase the chemo-sensitivity of B-CLL-derived cell lines EHEB and MEC-2 and of B-PLL-derived cell line JVM-2 to anti-cancer drugs doxorubicin, vincristine and fludarabine [J]. Lipids Health Dis, 2013, 12:36. doi: 10.1186/1476-511X-12-36.

[11] Laviano A, Rianda S, Molfino A, et al. Omega-3 fatty acids in cancer [J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care, 2013, 16(2): 156-161. doi: 10.1097/MCO.0b013e32835d2d99.

[12] Puertollano MA, de Pablo MA, Alvarez de Cienfuegos G. Polyunsaturated fatty acids induce cell death in YAC-1 lymphoma by a caspase-3-independent mechanism [J]. Anticancer Res, 2003, 23(5A): 3905-3910.

[13] 许庆文,刘春安,何可,等.n-3多不饱和脂肪酸对大鼠大肠癌及Caspase-3蛋白表达的影响[J].广东医学,2014,35(13):1987-1989. doi: 10.3969/j.issn.1001-9448.2014.13.004.

[14] Czabotar PE, Lessene G, Strasser A, et al. Control of apoptosis by the BCL-2 protein family: implications for physiology and therapy [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2014, 15 (1):49-63. doi: 10.1038/nrm3722.

(收稿日期:2016-04-09)

(本文编辑:徐茂强)