

紫杉醇联合顺铂对人乳腺癌细胞株 MCF-7 增殖抑制作用及其机制

张 华¹, 唐金海^{2*}, 李明华³, 吴建中⁴

(¹南京医科大学附属江苏省肿瘤医院普外科, ²乳腺外科, ³放疗科, ⁴科研科, 江苏 南京 210009)

[摘要] 目的:研究紫杉醇联合顺铂对人乳腺癌细胞 MCF-7 增殖抑制作用,探讨药物作用过程中与 MAPK 通路、Bcl-2 基因家族关系及相关机制。方法:采用 CCK-8 试剂盒检测不同浓度紫杉醇、顺铂单独或联合作用 MCF-7 细胞 48 h 后对细胞增殖的 50%抑制浓度(IC₅₀),以及紫杉醇、顺铂分别联合 ERK 通路阻断剂(U0126)、JNK 通路阻断剂(sp600125)对细胞增殖的抑制率;采用流式细胞仪检测紫杉醇、顺铂作用细胞 48 h 后的细胞周期分布情况;应用 Western blot 分别检测紫杉醇、顺铂及两药联合作用 MCF-7 细胞 48 h 后 MAPK 通路蛋白及 Bcl-2、Bax 蛋白表达。结果:紫杉醇(0.025~0.400 μmol/L)、顺铂(1~16 μmol/L)联合作用细胞时呈协同作用(CI < 0.95)。sp600125 对 MCF-7 细胞增殖具有明显的抑制作用,sp600125 联合紫杉醇、顺铂的抑制作用强于紫杉醇、顺铂单独作用细胞时的抑制作用。两药联合时处于 G₂ 期的细胞较紫杉醇单独作用时减少,较顺铂单独作用增加。紫杉醇、顺铂联合作用细胞 48 h 后 p-ERK、Bcl-2 蛋白表达较两药单独作用时降低,p-JNK/SAPK、p-p38 蛋白表达较对照组明显增加。结论:紫杉醇联合顺铂作用 MCF-7 细胞时具有协同作用,两药与 JNK 通路阻断剂联用时对细胞的抑制作用强于单独用药时。紫杉醇联合顺铂时可以减少细胞在 G₂/M 期的积聚,同时可以激活 JNK、p38 通路,抑制 ERK 通路的激活。

[关键词] 紫杉醇; 顺铂; MCF-7; MAPK 通路

[中图分类号] R737.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2012)03-338-05

The proliferation, inhibition and mechanisms of paclitaxel combined with cisplatin in human breast cancer cell line MCF-7

ZHANG Hua¹, TANG Jin-hai^{2*}, JI Ming-hua³, WU Jian-zhong⁴

(¹Department of General Surgery, ²Department of Breast Surgery, ³Department of Radiation Oncology, ⁴Department of Scientific Research, Affiliated Jiangsu Cancer Hospital of NJMU, Nanjing 210009, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effects of paclitaxel alone or combined with cisplatin against human breast cancer line MCF-7 *in vitro*, and to explore the related mechanisms with MAPK pathway and Bcl-2 gene family. **Methods:** MCF-7 cells were treated by paclitaxel with or without cisplatin, and the proliferation and 50% inhibitory concentration (IC₅₀) were calculated by cell counting kit-8 assay. The effects of ERK pathway inhibitor (U0126) and JNK pathway inhibitor (sp600125) on cell proliferation were also observed. Flow cytometry was used to determine cell cycle distribution, and Western blot was used to detect the protein expression level changes of MAPK pathway members, Bcl-2 and Bax when cells were given different treatments. **Results:** Paclitaxel (0.025~0.400 μmol/L) combined with cisplatin (1~16 μmol/L) showed an obvious synergistic effect (CI < 0.95). Sp600125 could significantly inhibit MCF-7 growth *in vitro*. Sp600125 combined with paclitaxel or cisplatin had a better antitumor activity than paclitaxel or cisplatin used alone. When treated with paclitaxel and cisplatin together, the cells at G₂/M phase were less than paclitaxel group but more than cisplatin group. Combination of paclitaxel and cisplatin was found to decrease p-ERK, Bcl-2 protein levels in contrast with paclitaxel group or cisplatin group and increase p-JNK/p-SAPK, p-p38 protein levels in contrast with control group after 48 hours. **Conclusion:** Combination of paclitaxel and cisplatin *in vitro* showed synergistic effect. JNK pathway inhibitor combined with paclitaxel and cisplatin showed more powerful inhibition on MCF-7 cells than the two drug combination. Combination of paclitaxel and cisplatin seems to limit the accumulation of MCF-7 cells in G₂/M and activate JNK and p38 signal pathway while inhibit the activation of ERK signal pathway.

[Key words] paclitaxel; cisplatin; MCF-7 cells; MAPK signaling pathway

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(3): 338-342]

[基金项目] 国家自然科学基金(30840093)

*通讯作者, E-mail: tangjh305@hotmail.com

丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinases, MAPKs) 是细胞内重要的信号转导途径, 它将细胞外刺激传递至细胞核, 参与细胞的生长、发育、分化等一系列生理过程, 并在细胞的恶性转化和肿瘤的发生发展中起重要作用^[1]。近来研究表明, MAPK 与乳腺癌发生机制密切相关, 从而使 MAPK 通路在临床上可作为一个潜在的分子治疗靶标。本实验通过观察紫杉醇、顺铂体外联合作用雌激素受体阳性的乳腺癌细胞过程中 MAPK 通路蛋白和 Bcl-2 基因家族蛋白表达, 初步探讨两者之间的关系和相关机制。

1 材料和方法

1.1 材料

MCF-7 细胞购于中国科学院上海细胞生物研究所, 紫杉醇注射液购自四川太极制药有限公司 (30 mg/5 ml), 注射用顺铂 (冻干型 20 mg) 为山东齐鲁制药有限公司产品; 高糖 DMEM 培养液、胎牛血清 (FBS) 均购自美国 Gibco 公司, CCK8 试剂盒购自南京凯基生物公司; JNK 通路阻断剂 sp600125 为美国 Cayman 公司产品; ERK 通路阻断剂 U0126 购自美国 Cell Signaling 公司; β -actin 一抗购自美国 Millipore 公司; 兔抗 p-ERK1/2、ERK1/2、p-JNK/SAPK、JNK/SAPK、p-p38 一抗为美国 Cell Signaling 公司产品; 鼠抗 Bcl-2、Bax 一抗购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司; ECL 发光试剂为美国 Millipore 公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

MCF-7 细胞给予含 10% FBS 的高糖 DMEM 培养液, 37℃ 5% CO₂ 饱和湿度的恒温培养箱内传代培养, 待细胞生长至对数期时加药。

1.2.2 CCK8 检测 MCF-7 细胞增殖

MCF-7 细胞用 0.25% 的胰酶消化后按照 1×10^4 个/孔接种到 96 孔板, 在 37℃、5% CO₂ 的培养箱中培养 24 h 后加药, 分别以 0、0.01、0.10、1.00、10.00、50.00 $\mu\text{mol/L}$ 6 个浓度的紫杉醇或顺铂作用细胞, 每个浓度重复 3 个孔, 设 3 个对照孔, 在培养箱中培养 48 h 后测 450 nm 处的光密度值, 计算紫杉醇、顺铂对 MCF-7 细胞增殖的 IC₅₀ 值。单药实验: MCF-7 细胞中分别加入以上 6 个不同浓度的紫杉醇、顺铂。联合用药实验: 紫杉醇 (0.025、0.050、0.100、0.200、0.400 $\mu\text{mol/L}$)、顺铂 (1、2、4、8、16 $\mu\text{mol/L}$) 分别以各自相应的倍比浓度加入 MCF-7 细胞中。依据中效原理 (Chou-Talalay 联合指数法) 为基础, 应用 Com-

biDrug 统计软件, 绘制剂量-效应曲线及不同效应下的合用指数曲线 (Fa-CI 曲线), 从两药合用的效应与合用指数的关系图表, 定量评价两药之间是协同、拮抗或相加关系。

U0126、sp600125 用 DMSO 溶解后, 分别配制成 20 $\mu\text{mol/L}$ 的终浓度作用, 培养液中 DMSO < 0.2%, 同法检测 MCF-7 细胞增殖。

1.2.3 细胞周期的测定

MCF-7 细胞分为对照组 (control)、紫杉醇组 (TXT 0.05 $\mu\text{mol/L}$)、顺铂组 (DDP 2 $\mu\text{mol/L}$)、联合组 (0.05 $\mu\text{mol/L}$ TXT+2 $\mu\text{mol/L}$ DDP), 待细胞生长至对数期时加药, 作用 48 h 后收获细胞 1×10^4 个, 加生理盐水 1 ml 以 1 200 r/min 离心 5 min, 重复 3 次; 加 100 μl 0.9% NaCl 混匀, 再加入 1 ml 70% 酒精, 混匀; 加碘化丙啶至终浓度 65 $\mu\text{g/ml}$, 于 4℃ 孵育 30 min, 流式细胞仪检测细胞周期。

1.2.4 Western blot 分析

细胞分组处理同 1.2.3, 收获细胞后用预冷的 PBS 液洗 3 次, 加入预冷至 0℃ 的裂解液, 冰上裂解细胞 30 min, 将细胞移至 EP 管中, 4℃ 12 000 r/min 离心 5 min, 取上清。考马斯亮蓝法测蛋白浓度后加 1 \times SDS 上样缓冲液, 100℃ 煮沸 5 min。每泳道加入 100 μg 蛋白, 10% SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳后将电泳产物转移至硝酸纤维膜上。用封闭液 (含 5% BSA) 封闭 2 h, 加 MAPK 通路蛋白一抗 (1:1 000)、Bcl-2 和 Bax 一抗 (1:500), 4℃ 孵育过夜。TBST 洗膜 5 min \times 3 次, 辣根过氧化物酶标记的二抗室温下作用 1.5 h (1:2 000), TBST 洗膜 5 min \times 3 次, ECL 显色 5 min, 压片。

1.3 统计方法

使用 SPSS13.0 统计学软件, 实验结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 统计方法两组资料采用独立样本的 *t* 检验 (双侧), 多组资料采用方差分析 (ANOVA), 组间比较采用 LSD 法, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 单药和联合用药的 IC₅₀

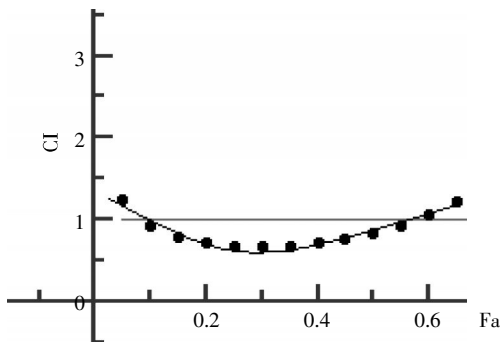
紫杉醇、顺铂均能抑制体外培养的 MCF-7 细胞的生长, 呈剂量依赖性。紫杉醇、顺铂以 1:400 的浓度比联合作用细胞 48 h 后, 细胞的抑制率较两药单独作用细胞时增强。较低浓度紫杉醇 (0.025~0.400 $\mu\text{mol/L}$)、顺铂 (1~16 $\mu\text{mol/L}$) 联合使用时呈协同作用 (CI < 0.95), 随着药物浓度的增加, 两药联合趋于

相加或拮抗作用(CI > 1.05), 两药联合后的 IC₅₀ 较紫杉醇、顺铂单独作用时降低。Fa 为两药合用效应, 当效应 Fa > 0.6 时(即所需两药物浓度大时), 两药合用指数 CI > 1, 为拮抗作用效应; Fa < 0.6 时(即所需两药物浓度较小时)两药合用指数 CI < 1, 为协同效应(表 1、图 1)。

表 1 联合用药前后紫杉醇、顺铂对 MCF-7 细胞的 IC₅₀
Table 1 The IC₅₀ of MCF-7 breast cancer cells before and after the paclitaxel and cisplatin combination

用药方式	(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	
	紫杉醇	顺铂
单独用药	0.46 ± 0.21	17.60 ± 2.90
联合用药	0.23 ± 0.03	9.32 ± 1.25*

与单独用药相比, *P < 0.05。



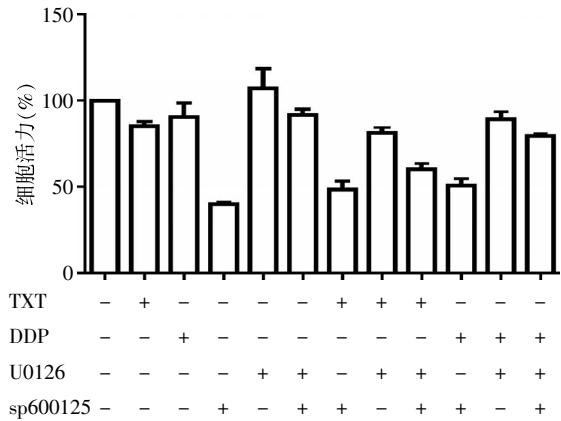
CI: 合用指数, Fa: 两药合用效应; CI < 1 是协同作用, CI > 1 是拮抗作用, CI ≈ 1 是相加作用; 黑点: 药物合用不同 Fa 对应的 CI 值。

图 1 顺铂与紫杉醇联合对 MCF-7 细胞的协同作用

Figure 1 Synergistic anti-tumor effects of paclitaxel and cisplatin on MCF-7 cells

2.2 紫杉醇、顺铂联合 MEK1/2、JNK 特异性阻断剂 U0126、sp600125 对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用
sp600125 对 MCF-7 细胞增殖具有明显的抑制

作用, 其联合紫杉醇、顺铂对细胞增殖的抑制作用强于紫杉醇、顺铂单独作用。U0126 对 MCF-7 细胞增殖的抑制作用不明显, 其与 sp600125 联用时, 可以拮抗 sp600125 的抑制作用。同时阻断两条通路后, 紫杉醇、顺铂的抑制作用并未明显增强(图 2)。



与紫杉醇单独作用比较, *P < 0.01; 与顺铂单独作用比较, **P < 0.01。

图 2 紫杉醇、顺铂分别联合 MEK1/2、JNK 阻断剂 U0126、sp600125 对 MCF-7 细胞的抑制作用

Figure 2 Inhibitory effects of paclitaxel, cisplatin alone or combined with ERK pathway inhibitor (U0126) or JNK pathway inhibitor (sp600125) against MCF-7 cells

2.3 紫杉醇、顺铂对 MCF-7 细胞周期的影响

紫杉醇可以使 MCF-7 细胞阻滞在 G₂/M 期, 顺铂可以使细胞阻滞在 G₁ 期。两药联合时使细胞阻滞在 G₁ 期, 但与对照组相比 G₁ 期细胞减少, G₂ 期增加。两药联合时的协同作用并没有出现细胞周期的协同, 反而 G₂ 期细胞较紫杉醇单独作用组减少, 较顺铂单独作用组增加(表 2)。

表 2 紫杉醇、顺铂作用 MCF-7 细胞后的细胞周期分布

Table 2 Cells cycle distribution after MCF-7 cells were treated with paclitaxel or cisplatin (% , $\bar{x} \pm s$)

细胞周期	对照组	紫杉醇组	顺铂组	联合组
G ₁	58.68 ± 1.42	37.93 ± 2.07	56.38 ± 0.64	46.40 ± 1.29
S	33.80 ± 1.48	21.27 ± 1.27	26.38 ± 1.16	25.17 ± 0.37
G ₂ /M	7.51 ± 0.07	40.80 ± 0.92	16.36 ± 0.61	28.43 ± 1.27

2.4 紫杉醇、顺铂对 MCF-7 细胞 MAPK 蛋白的影响

紫杉醇、顺铂及两药联合作用细胞 48 h 后收获蛋白, 紫杉醇组、联合组 p-ERK1/2 蛋白较对照组和顺铂组明显降低, p-JNK/SAPK 蛋白表达增加, 顺铂对 MAPK 通路蛋白表达的影响不如紫杉醇明显。两药联用后, p-JNK/SAPK、p-p38 蛋白较两药单用时明显增加, pERK1/2 蛋白表达降低。紫杉醇、顺铂及

两药联合作用细胞 48 h 后, 紫杉醇、顺铂都使凋亡蛋白 Bcl-2 表达降低, 两药联合时更为明显。而 Bax 蛋白表达并未因为紫杉醇、顺铂单独或联合而明显改变(图 3、4)。

3 讨论

MAPK 作为细胞信号的重要传递者, 与乳腺癌

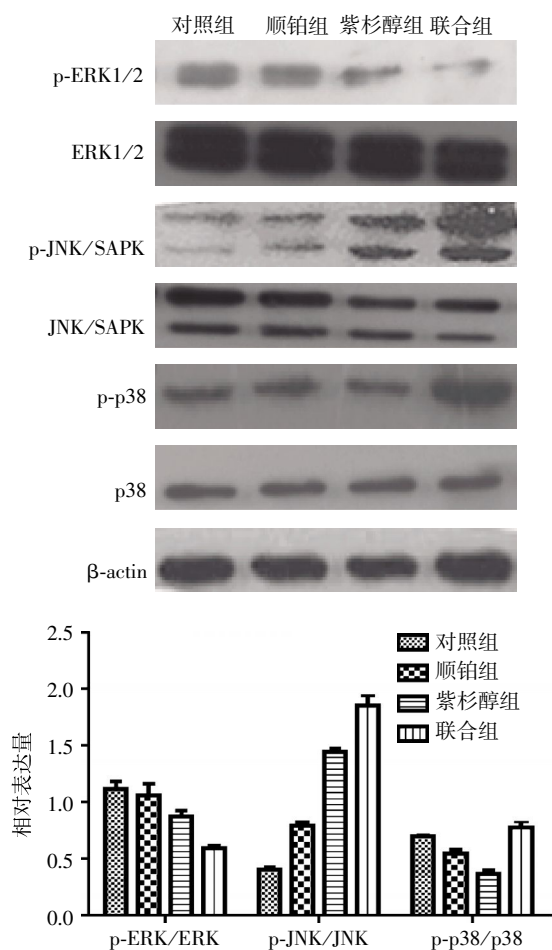


图 3 紫杉醇、顺铂作用 MCF-7 细胞 48 h 后 MAPK 蛋白表达
Figure 3 MAPK pathway protein expression when MCF-7 cells were treated with paclitaxel or Cisplatin for 48 h

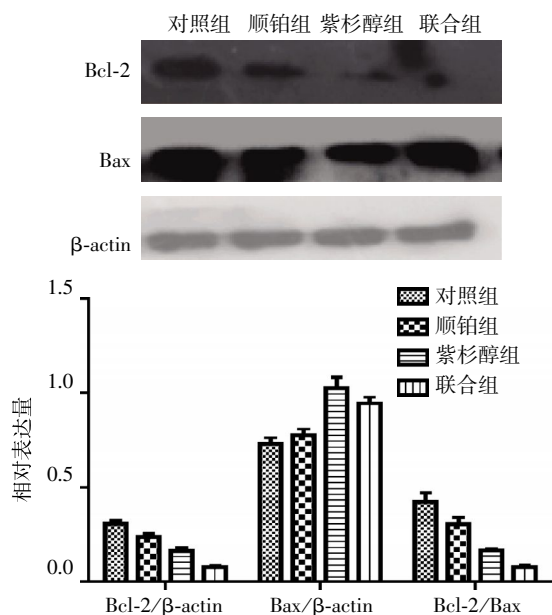


图 4 紫杉醇、顺铂作用 MCF-7 细胞 48 h 后凋亡蛋白的表达
Figure 4 Bcl-2 gene family protein expression when MCF-7 cells were treated with paclitaxel or cisplatin for 48 h

发生机制密切相关,在哺乳动物细胞已经确定 MAPK 的 4 个成员 ERK、p38、JNK、ERK5 均与乳腺癌有关^[1]。凋亡抑制基因 Bcl-2 和凋亡促进基因 Bax 是 Bcl-2 基因家族的两个成员,其表达产物在线粒体调节的凋亡过程中起着关键的作用^[2]。本实验通过体外紫杉醇、顺铂联合作用雌激素受体阳性的 MCF-7 人乳腺癌细胞,观察两药联合后对细胞增殖的影响,初步探讨 MAPK 通路和 Bcl-2 家族基因在该过程中的作用。

实验发现,紫杉醇、顺铂均能在体外抑制 MCF-7 细胞的生长,并呈剂量依赖性,紫杉醇通过加强微管蛋白的聚合,使癌细胞分裂停滞于 G₂/M 期,进而抑制肿瘤细胞的分裂和增殖。顺铂作为一种周期非特异性药物,通过 P53 依赖途径诱导细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK)抑制因子的激活,抑制 CDK 表达,继而阻滞细胞周期于 G₁ 期^[3-4]。低剂量时[紫杉醇(0.025~0.400 μmol/L)、顺铂(1~16 μmol/L)],两药联用呈协同作用,同时伴随细胞周期的变化。随着药物浓度增加,两药联用趋于拮抗作用。两药联用后细胞周期的变化并没有呈现简单的协同或拮抗作用,处于 G₂ 期的细胞较紫杉醇单独作用时减少。紫杉醇在对细胞周期的阻断过程中占主导,顺铂拮抗部分紫杉醇的抗微管作用,使联用组 G₂ 期的细胞数介于紫杉醇组和顺铂组之间。

MAPK 通路的激活通常伴随着 ERK1/2、JNK、p38 通路下游蛋白的激活。实验发现 sp600125 对 MCF-7 细胞增殖具有明显的抑制作用,其联合紫杉醇、顺铂对细胞增殖的抑制作用强于紫杉醇、顺铂单独作用。JNK 通路活化介导的多数生物效应是细胞凋亡,但在一定条件下,也能增加细胞的存活能力,甚至导致肿瘤的进展^[5]。sp600125 作为 JNK 通路的阻断剂可以剂量依赖性地阻断 JNK 下游蛋白 c-Jun 的磷酸化,进而降低多种耐阿霉素乳腺癌细胞的活性^[6]。但两药联用后的抑制作用并未因为 JNK 通路的阻断而明显增强,由此可见在两药联用过程中 JNK 通路并未发挥明显促细胞存活的作用。U0126 作为第一代 MEK1/2 小分子抑制剂,通过减少细胞黏附和血管生成来降低肿瘤侵袭与转移,促进细胞分化、诱导凋亡^[7]。但这种对细胞的抑制作用在本实验中并不明显,其与 sp600125 联用时,反而拮抗 sp600125 的抑制作用。且同时阻断 ERK1/2、JNK 通路后紫杉醇或顺铂对细胞的抑制作用并没有较两药单独作用时明显增强,可能因为 MAPK 系统是一个复杂、独立而又存在着广泛交叉作用的系统,

使紫杉醇或顺铂以某个点或者某个通路为靶的特异性难以保证。紫杉醇、顺铂在对肿瘤细胞的抗凋亡过程中还需要 JNK 通路和 p38MAPK 通路的活化,这是抗肿瘤药物诱导细胞凋亡的原因,在启动肿瘤细胞死亡的过程中也是必需的^[8]。本实验发现,两药联合的协同作用使 p-ERK 蛋白表达较单药作用时相比明显降低,而 p-JNK、p-p38 蛋白表达与单独作用时比则显著增加。ERK 通路的抑制或 JNK、p38 通路的激活诱导了下游蛋白表达发生变化,进而促进细胞凋亡。细胞存活或凋亡与 ERK、JNK、p38 的不同活化程度有关,且细胞是存活还是凋亡取决于生长因子活化的 ERK 通路和应激活化的 JNK、p38 信号通路之间的动态平衡^[9]。在两药联合作用过程中,MAPK 通路蛋白表达的变化也可能处于这种动态变化中,使得 ERK、JNK、p38 的蛋白表达因药物的协同作用而发生适应性的变化。文献报道紫杉醇和顺铂可诱发多种肿瘤细胞的 p38MAPK 活化而阻滞有丝分裂^[10]。实验发现两药联合后在诱导 MCF-7 细胞凋亡过程中也同样诱发 p38MAPK 磷酸化,其促凋亡机制可能与转录因子 3(ATF-3)有关。在顺铂诱导的细胞凋亡中激活 ATF-3 发挥着媒介作用,顺铂与 MAPK 通路阻断剂联合使用后可以明显降低 ATF-3 的蛋白表达水平^[11]。

Bcl-2 基因在肿瘤细胞中高表达可以促进肿瘤发生、发展,而 Bcl-2 基因的表达下调或缺失则导致肿瘤生长受抑制。本研究发现紫杉醇、顺铂联合作用细胞后 Bcl-2 蛋白较对照组和两药单独作用时明显降低,Bax 蛋白略有增加。凋亡抑制基因与凋亡促进基因之间存在着动态平衡,很大程度上,细胞分裂增殖与死亡之间的平衡取决于细胞内 Bcl-2 蛋白/Bax 蛋白的比例。联用后的协同作用使得 Bcl-2 蛋白/Bax 蛋白的比例降低,Bcl-2 通路下调,促进细胞的凋亡,进而抑制肿瘤的生长。Bcl-2 通路的下调使得紫杉醇对 MCF-7 细胞敏感性增强,该过程与 MCF-7 细胞的雌激素受体表达有关^[12]。因此调控 Bcl-2 家族可能增强雌激素受体阳性乳腺癌对紫杉醇的化疗敏感性,使之成为乳腺癌治疗的一个潜在治疗靶点^[13]。

总之,MAPK 系统作为一个复杂、独立而又存在着广泛交叉作用的系统,与 Bcl-2 基因家族存在着密切关系,在肿瘤的发生、发展过程中发挥着重要作用。该通路的研究将来定能够为乳腺癌的控制和治疗提供新的思路和方法。

[参考文献]

- [1] Whyte J, Bergin O, Bianchi A, et al. Key signalling nodes in mammary gland development and cancer. Mitogen-activated protein kinase signalling in experimental models of breast cancer progression and in mammary gland development[J]. *Breast Cancer Res*, 2009, 11(5): 209
- [2] Czabotar PE, Lessene G. Bcl-2 family proteins as therapeutic targets[J]. *Curr Pharm Des*, 2010, 16(28): 3132-3148
- [3] McGrogan BT, Gilmartin B, Carney DN, et al. Taxanes, microtubules and chemoresistant breast cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1785(2): 96-132
- [4] Otto AM, Paddenber R, Schubert S, et al. Cell-cycle arrest, micronucleus formation, and cell death in growth inhibition of MCF-7 breast cancer cells by tamoxifen and cisplatin [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1996, 122(10): 603-612
- [5] Kobel M, Pohl G, Schmitt WD, et al. Activation of mitogen-activated protein kinase is required for migration and invasion of placental site trophoblastic tumor [J]. *Am J Pathol*, 2005, 167(3): 879-885
- [6] Kim JH, Kim TH, Kang HS, et al. SP600125, an inhibitor of Jnk pathway, reduces viability of relatively resistant cancer cells to doxorubicin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 387(3): 450-455
- [7] 杨亚平, 李敏. 作用于 MAPK 信号转导系统的抗肿瘤药物研究 [J]. *国际药学研究杂志*, 2008, 35(3): 178-183, 188
- [8] Cuenda A, Rousseau S. p38 MAP-kinases pathway regulation, function and role in human diseases [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2007, 1773(8): 1358-1375
- [9] Xia Z, Dickens M, Raingeaud J, et al. Opposing effects of ERK and JNK-p38 MAP kinases on apoptosis [J]. *Science*, 1995, 270(5240): 1326-1331
- [10] 张莹, 李殿俊. JNK 信号转导通路在砷剂治疗白血病中的作用 [J]. *中国肿瘤*, 2004, 13(4): 66-68
- [11] St GC, Niknejad N, Ma L, et al. Cisplatin induces cytotoxicity through the mitogen-activated protein kinase pathways and activating transcription factor 3 [J]. *Neoplasia*, 2010, 12(7): 527-538
- [12] Bhalla KN. Microtubule-targeted anticancer agents and apoptosis [J]. *Oncogene*, 2003, 22(56): 9075-9086
- [13] Tabuchi Y, Matsuoka J, Gunduz M, et al. Resistance to paclitaxel therapy is related with Bcl-2 expression through an estrogen receptor mediated pathway in breast cancer [J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(2): 313-319

[收稿日期] 2011-10-16