

# 香加皮杠柳苷通过抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路 诱导结肠癌细胞 SW480 凋亡

杜彦艳, 刘鑫, 单保恩

Periplocin extracted from cortex periplocae induces apoptosis of SW480 cells through inhibiting the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

Yan-Yan Du, Xin Liu and Bao-En Shan

河北医科大学第四医院  
科研中心,  
河北 石家庄 050011

Research Center,  
The Fourth Hospital of Hebei  
Medical University,  
Shijiazhuang, Hebei, 050011,  
P.R. China

通讯作者: 单保恩

Correspondence to: Bao-En Shan  
Tel.: 86.311.86095283  
Fax: 86.311.86992004  
Email: baoenshan@yahoo.com  
.cn

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.30772752);河北省自然科学基金项目(No. C2008000952)

Grants: National Natural Science Foundation of China (No. 30772752); Natural Science Foundation of Hebei Province (No. C2008000952)

收稿日期:2008-10-09

修回日期:2009-01-19

**[Abstract]** **Background and Objective:** The Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway plays an important role in the development and progression of human cancers, especially in colorectal carcinomas. This study was to analyze the inhibition effect of periplocin extracted from cortex periplocae (CPP) on proliferation of human colon carcinoma cell line SW480 and the underlying mechanism. **Methods:** Cell proliferation of SW480 cells was measured by MTT assay. Cell apoptosis and cell cycle were analyzed by flow cytometry. Protein expression of  $\beta$ -catenin in total cell lysates, cytosolic extracts, and nuclear extracts were detected by Western blot. Binding activity of the T cell factor (TCF) complex in nucleus to its specific DNA binding site was measured by electrophoretic mobility shift assay (EMSA). Expressions of  $\beta$ -catenin, survivin, c-myc and cyclin D1 mRNA in cells after the treatment with CPP were detected by semi-quantitative RT-PCR. **Results:** CPP significantly inhibited the proliferation of SW480 cells in a time- and dose-dependent manner ( $P < 0.01$ ). CPP (0.5  $\mu\text{g/mL}$ ) also caused  $G_0/G_1$  cell cycle arrest of SW480 cells and induced cell apoptosis ( $P < 0.05$ ). Compared to untreated control cells, after the treatment with CPP, the protein levels of  $\beta$ -catenin in total cell lysates, cytosolic extracts, and nuclear extracts were reduced ( $P < 0.01$ ); the binding activity of the TCF complex in nucleus to its specific DNA binding site was suppressed; mRNAs of the downstream target genes survivin, c-myc and cyclin D1 were decreased ( $P < 0.01$ ) while  $\beta$ -catenin mRNA remained unchanged. **Conclusion:** CPP could significantly inhibit the proliferation of SW480 cells, which may be through down-regulating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway.

**Key words:** periplocin extracted from cortex periplocae, colorectal neoplasm, SW480 cells, Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway, cell cycle, cell apoptosis

**【摘要】** 背景与目的:Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在人类肿瘤尤其在大肠癌的发生发展中起着重要作用。本研究分析了香加皮杠柳苷(periplocin extracted from cortex periplocae, CPP)对人结肠癌细胞 SW480 增殖的抑制作用,及对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的调控作用。方法:MTT 法检测 CPP 对 SW480 细胞增殖的影响,流式细胞技术检测细胞周期的变化和凋亡。Western blot 法检测 CPP 处理组与对照组细胞总蛋白、细胞浆蛋白及细胞核蛋白中  $\beta$ -catenin 表达变化,电泳迁移率改变法分析 CPP 作用后 SW480 细胞核 TCF 复合物与其特异性 DNA 结合序列结合能力变化。半定量 RT-PCR 法检测 CPP 作用后细胞中  $\beta$ -catenin、survivin、c-myc 和 cyclin D1 mRNA 的表达。结果:CPP 明显抑制 SW480 细胞增殖( $P < 0.01$ ),并呈时间和浓度依赖性;0.5  $\mu\text{g/mL}$  CPP 可将 SW480 细胞阻滞于  $G_0/G_1$  期,并诱导细胞

凋亡( $P<0.05$ )。CPP 作用后 SW480 细胞总蛋白、胞浆蛋白及细胞核蛋白中的  $\beta$ -catenin 表达均明显降低( $P<0.01$ ),细胞核中 TCF 复合物与其特异性 DNA 结合序列结合能力受到抑制,其下游靶基因 mRNA 表达水平下降( $P<0.01$ ),而  $\beta$ -catenin mRNA 表达未见明显改变。结论:CPP 可明显抑制 SW480 细胞增殖并诱导细胞凋亡,其作用机制与抑制细胞 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号转导通路有关。

关键词:香加皮杠柳苷;结肠肿瘤;SW480 细胞;Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路;细胞周期;细胞凋亡

中图分类号:R735.1;R392 文献标识码:A

文章编号:1000-467X(2009)05-0456-05

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号途径是调控细胞增殖和分化的关键通路,在胚胎发育及肿瘤发生、发展、转移过程中起着关键作用,在许多人类肿瘤组织中该信号通路分子呈高表达状态,例如结肠癌、黑色素瘤、乳腺癌、肝细胞癌、宫颈癌、成神经管细胞瘤<sup>[1]</sup>、前列腺癌等,寻找针对该信号通路的有效药物已成为抗肿瘤药物的研发热点<sup>[2]</sup>。

中药香加皮主要功能为祛风湿、强筋骨,常用于风寒湿痹、腰膝酸软、心悸气短、下肢水肿的治疗<sup>[3]</sup>。本研究组以往的研究结果显示,香加皮有较强的抗肿瘤活性。杠柳苷是从香加皮正丁醇萃取部分纯化得到的抗肿瘤单体化合物<sup>[4]</sup>,对多种肿瘤细胞株增殖具有较强的抑制作用<sup>[4,5]</sup>。本研究旨在探讨香加皮杠柳苷(periplocin extracted from cortex periplocae, CPP)对 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路的影响,明确其抗肿瘤效应机制,为抗肿瘤新药开发提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料和试剂

CPP 为本室提取和纯化,纯度 $>96\%$ 。人结肠癌细胞株 SW480 为本室保存。RPMI-1640 购自 Gibco 公司,胎牛血清购自杭州四季青公司,MTT、PI 购自 Sigma 公司。蛋白质分子量 Marker 购自 Solarbio 公司。Nuclear-Cytosol Extraction Kit 购自凯基生物公司,小鼠抗人  $\beta$ -catenin 单克隆抗体及兔抗人 GAPDH 多克隆抗体为 Santa Cruz 产品,IRDye<sup>®</sup> 800CW Conjugated Goat (polyclonal) Anti-Mouse IgG 及 IRDye<sup>®</sup> 700CW Conjugated Goat (polyclonal) Anti-Rabbit IgG 为美国 LI-COR 公司产品。LightShift Chemiluminescent EMSA kit 为美国 Pierce 公司产品。Trizol 为 Invitrogen 公司产品,RT-PCR 两步法试剂盒购自 Promega 公司。

### 1.2 细胞培养

SW480 细胞用含 10% 胎牛血清、100 u/mL 青霉素和 100  $\mu$ g/mL 链霉素的 RPMI-1640 培养基,于 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中 37℃ 培养,以 0.25% 的胰蛋白酶消化细胞传代,取对数生长期细胞用于实验。

### 1.3 MTT 法检测 CPP 对 SW480 细胞增殖的影响

将 SW480 细胞悬液调整为  $1 \times 10^5$  个/mL,接种于 96 孔培养板中,每孔 90  $\mu$ L,待细胞贴壁后,空白对照组加含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基 10  $\mu$ L,实验组每孔分别加入不同浓度 CPP(0.125、0.25、0.5、1.0、2.0  $\mu$ g/mL),分别培养 24、48、72 h 后加入 MTT(5 mg/mL)20  $\mu$ L,继续培养 4 h,弃去培养上清,每孔加入 DMSO 150  $\mu$ L,用酶标仪测定 570 nm 波长下各孔的吸光度值(A 值),按下式计算对细胞的抑制率,并绘制生长曲线。抑制率 =  $(1 - \text{实验组 } A \text{ 值} / \text{对照组 } A \text{ 值}) \times 100\%$ 。

### 1.4 流式细胞仪检测细胞凋亡和细胞周期

收集以 0.5  $\mu$ g/mL CPP 作用 0、6、12、24 h 的 SW480 细胞,PBS 洗涤,用预冷的 70% 乙醇 4℃ 固定 2 h,离心弃固定液,PBS 重悬,5 min 后经 300 目筛网过滤;加入 PI 染液,4℃ 避光染色 30 min,用流式细胞仪分析细胞周期分布和凋亡率。

### 1.5 Western blot 法检测细胞 $\beta$ -catenin 蛋白表达

分别取经 0、0.125、0.5、2.0  $\mu$ g/mL CPP 作用后的 SW480 细胞  $1 \times 10^7$  个,用总蛋白提取试剂盒与 Nuclear-Cytosol Extraction Kit 分别提取细胞总蛋白、胞浆蛋白和胞核蛋白。分别取一定量蛋白与上样缓冲液混匀,100℃ 水浴 7 min,冷却后进行 SDS-PAGE 电泳,然后将凝胶中的蛋白转移至 PVDF 膜,1% 脱脂牛奶封闭 60 min 后,依次加小鼠抗人  $\beta$ -catenin 单抗,4℃ 过夜,加羊抗小鼠 IgG,室温避光孵育 60 min,用 Odyssey 双色红外荧光扫描系统进行检测及灰度分析,以目标蛋白显色条带与 GAPDH 条带的灰度比值作为目标蛋白的相对表达量。以上实验重复 3 次。

### 1.6 电泳迁移率改变(EMSA)法分析 SW480 细胞核 TCF 复合物与其特异性 DNA 结合序列结合能力

实验分组同方法 1.5,提取细胞核蛋白。将 Poly(dI,dC)、核蛋白及生物素标记的 DNA 探针(5'-CCCTTTGATCTTACC-3')<sup>[6]</sup>等混合后,室温反应 20 min,在 0.5% 的 TBE 电泳液中非变性后,行 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳;将凝胶中的蛋白用水浴式电印迹法转染尼龙膜(380 mA 电流 45 min)。将正电

荷尼龙膜于紫外灯下交联 10 min; 在封闭液中缓慢振摇 15 min; 与链霉卵白素-酶结合物溶液室温振摇反应 15 min; 洗膜 4 次, 每次 5 min; 加入底物反应 5 min, 滴加化学发光底物, 于暗室中曝光 X 光片后观察结果。

### 1.7 RT-PCR 分析 SW480 细胞 $\beta$ -catenin、survivin、c-myc 和 cyclin D1 mRNA 的表达

实验分组同上, 用 Trizol 试剂抽提细胞总 RNA, 经逆转录反应, 以逆转录反应液为模板, 加入相应引物 (见表 1) 行 PCR 扩增。反应产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像仪进行拍照并进行扫描分析, 分别以  $\beta$ -catenin/ $\beta$ -actin、survivin/ $\beta$ -actin、c-myc/ $\beta$ -actin、cyclinD1/ $\beta$ -actin 条带的光密度值进行  $\beta$ -catenin、survivin、c-myc、cyclinD1 mRNA 表达水平半定量分析, 实验重复 3 次。

表 1  $\beta$ -catenin、survivin、c-myc 和 cyclinD1 基因扩增引物序列

Table 1 Primer sequences of  $\beta$ -catenin, survivin, c-myc and cyclin D1

Gene	Primer	Product size
$\beta$ -catenin	Upstream: CGCATGGAGGAGATAGTTG	332 bp
	Downstream: CGAAAGCCGTTTCTGTAG	
Survivin	Upstream: AGCCCTTCTCAAGACCAC	363 bp
	Downstream: GCACTTCTCCGAGTTTCC	
c-myc	Upstream: CCTACCCTCTCAACGACAGC	494 bp
	Downstream: GTTGTGTGTTCCGCTCTTGA	
Cyclin D1	Upstream: GATGCCAACCTCCTCAACGAC	171 bp
	Downstream: CTCCTCGCACTTCTGTTCCTC	
$\beta$ -actin	Upstream: TGAGACCTTCAACACCCAG	312 bp
	Downstream: GCCATCTCTGCTCGAAGTC	

### 1.8 统计学处理

所有数据采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析, 实验结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 CPP 对 SW480 细胞增殖的抑制作用

CPP 作用于 SW480 细胞后, 细胞增殖反应较空白对照组明显下降 ( $P < 0.01$ ), 抑制率呈明显的浓度和时间依赖性。2.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CPP 作用 72 h 对细胞的抑制率最高, 达到 91.71%, 见图 1。CPP 作用 24 h 时对 SW480 细胞的  $\text{IC}_{50}$  为 0.46  $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。根据 CPP 作用的  $\text{IC}_{50}$  值, 采用 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CPP 进行下述实验。

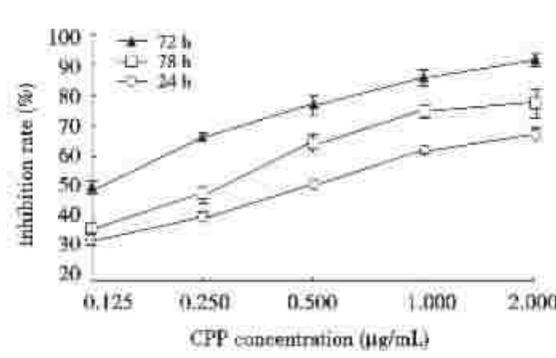


图 1 CPP 对 SW480 细胞增殖的抑制作用

Figure 1 Inhibition effects of periplocin extracted from cortex periplocae (CPP) on proliferation of SW480 cells

### 2.2 CPP 对 SW480 细胞周期分布和细胞凋亡的影响

用终浓度为 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  的 CPP 处理 SW480 细胞, 随着作用时间的延长 (0、6、12、24 h),  $G_0/G_1$  期细胞明显增多 (由 17.54% 上升至 37.87%), 细胞凋亡率逐渐增高, 作用 6、12、24 h 与 0 h 相比细胞凋亡率差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CPP 对 SW480 细胞周期及凋亡的影响  
Table 2 Effect of 0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  periplocin extracted from cortex periplocae (CPP) on cell cycle and apoptosis of SW480 cells

Treatment time (h)	Apoptotic rate (%)	Cell cycle distribution (%)		
		$G_0/G_1$	S	$G_2/M$
0	3.89 $\pm$ 0.64	17.54 $\pm$ 1.40	58.63 $\pm$ 1.12	23.83 $\pm$ 0.51
6	13.38 $\pm$ 0.83 <sup>a</sup>	25.87 $\pm$ 2.00 <sup>a</sup>	51.63 $\pm$ 1.28 <sup>a</sup>	22.50 $\pm$ 1.37
12	21.73 $\pm$ 2.02 <sup>a</sup>	31.60 $\pm$ 1.84 <sup>a</sup>	47.83 $\pm$ 1.61 <sup>a</sup>	20.53 $\pm$ 1.26
24	33.60 $\pm$ 3.24 <sup>a</sup>	37.87 $\pm$ 0.57 <sup>a</sup>	42.70 $\pm$ 1.35 <sup>a</sup>	19.43 $\pm$ 1.00 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs. 0 h.

### 2.3 CPP 对 SW480 细胞中 $\beta$ -catenin 表达的影响

Western blot 结果显示, 随着 CPP 浓度的增加, SW480 细胞总蛋白及胞浆和胞核蛋白中的  $\beta$ -catenin 表达均明显降低, 见图 2。

### 2.4 CPP 对 SW480 细胞核中 TCF 复合物与其特异性 DNA 结合序列结合活性的影响

EMSA 结果显示, 未处理组细胞出现明显的阻滞条带, 游离 DNA 条带很浅, 说明核蛋白与 DNA 充分结合; 而 CPP 作用后细胞的阻滞条带变浅、游离 DNA 条带变深, 提示 CPP 处理后的核蛋白与其特异性 DNA 序列结合能力变弱, 见图 3。

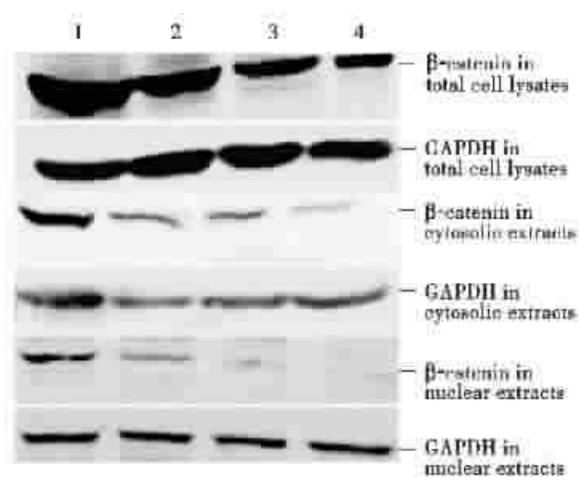


图2 不同浓度 CPP 作用 24 h 后 SW480 细胞中  $\beta$ -catenin 表达变化

Figure 2 Expression of  $\beta$ -catenin in SW480 cells after incubation with different concentrations of periplocin extracted from cortex periplocae (CPP) for 24 h

1: control; 2: 0.125  $\mu$ g/mL CPP; 3: 0.5  $\mu$ g/mL CPP; 4: 2.0  $\mu$ g/mL CPP.

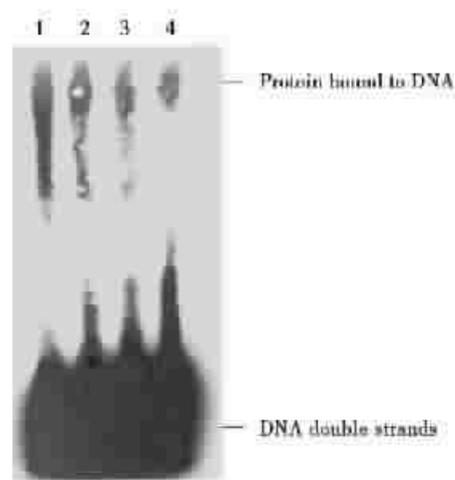


图3 不同浓度 CPP 作用 24 h 后 SW480 细胞核 TCF 复合物与其特异性 DNA 结合序列结合能力变化

Figure 3 Effect of periplocin extracted from cortex periplocae (CPP) on the binding activity of the TCF complex in nucleus to its specific DNA binding site in SW480 cells after 24 h of treatment

1: control; 2: 0.125  $\mu$ g/mL CPP; 3: 0.5  $\mu$ g/mL CPP; 4: 2.0  $\mu$ g/mL CPP.

### 2.5 CPP 对 SW480 细胞 $\beta$ -catenin、survivin、c-myc 和 cyclinD1 mRNA 表达的影响

经不同浓度 CPP 处理 24 h 后,SW480 细胞中  $\beta$ -catenin mRNA 表达水平无明显变化,与对照组相比差异没有统计学意义( $P>0.05$ )。而  $\beta$ -catenin/TCF 下游靶基因 survivin、c-myc 和 cyclin D1

mRNA 表达水平随 CPP 作用浓度的增加而降低,2.0  $\mu$ g/mL CPP 作用 24 h 后 survivin、c-myc 和 cyclin D1 mRNA 表达分别由对照组的 ( $0.95 \pm 0.13$ )、( $1.02 \pm 0.04$ )、( $0.96 \pm 0.15$ ) 下降到 ( $0.15 \pm 0.03$ )、( $0.07 \pm 0.02$ )、( $0.15 \pm 0.04$ ),差异具有统计学意义( $P<0.01$ ),见图 4。

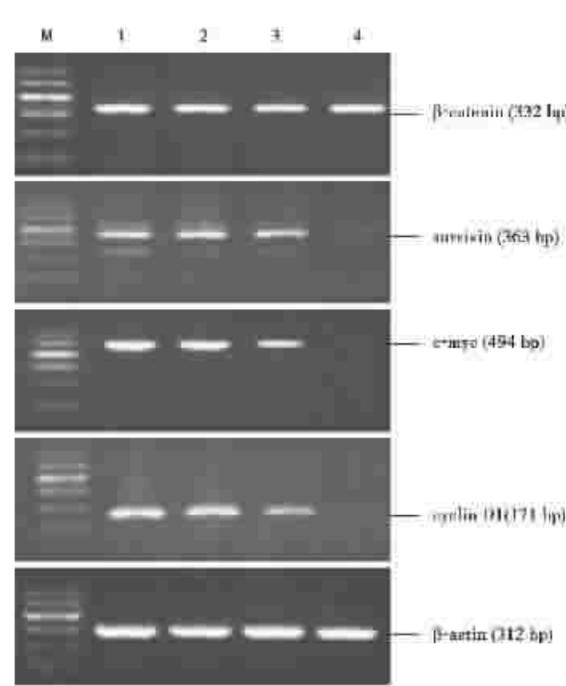


图4 不同浓度 CPP 处理 24 h 后 SW480 细胞中  $\beta$ -catenin、survivin、c-myc 和 cyclin D1 mRNA 的表达

Figure 4 mRNA expressions of  $\beta$ -catenin, survivin, c-myc and cyclin D1 in SW480 cells after incubation with different concentrations of CPP for 24 h

M: marker; 1: control; 2: 0.125  $\mu$ g/mL CPP; 3: 0.5  $\mu$ g/mL CPP; 4: 2.0  $\mu$ g/mL CPP.

### 3 讨论

Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路在胚胎发育和肿瘤发生、发展过程中发挥着关键作用,近年来,针对 Wnt 通路的抗肿瘤药物筛选成为研究热点。

$\beta$ -catenin 是 Wnt 通路中一种重要的信号转导分子<sup>[7]</sup>。在没有 Wnt 信号的情况下,细胞质中的  $\beta$ -catenin 和许多蛋白如大肠腺瘤息肉蛋白(APC)、AXIN、酪蛋白激酶(casein kinase, CK)1a、CK1e、糖原合成激酶(GSK-3 $\beta$ )一起形成多蛋白复合物。GSK-3 $\beta$  将  $\beta$ -catenin 第 41、37 和 33 位残基进行磷酸化后,CK1 进一步对  $\beta$ -catenin 第 45 位氨基酸进行丝氨酸/苏氨酸磷酸化,这一磷酸化过程启动了泛素化依赖的蛋白降解过程,将  $\beta$ -catenin 降解。

Wnt 蛋白可与跨膜受体 Frizzelds 以及共同受体——低密度脂蛋白受体相关蛋白(LRP-5, LRP-6)结合,激活 Wnt 通路,抑制  $\beta$ -catenin-AXIN-APC-GSK3 复合物形成,降低 GSK-3 $\beta$  的活性,从而抑制  $\beta$ -catenin 的磷酸化<sup>[8,9]</sup>。未磷酸化的  $\beta$ -catenin 转位到细胞核,促进转录因子淋巴细胞增强结合因子(lymphocyte enhancer-binding factor, LEF)/T 细胞因子(TCF)激活下游靶基因表达,包括 survivin<sup>[10]</sup>、c-myc<sup>[11]</sup>、cyclin D1<sup>[12]</sup>和 FGF18<sup>[13]</sup>等,在肿瘤形成和发展中发挥重要作用。许多人类肿瘤组织中  $\beta$ -catenin 呈异常表达,如 90% 的人结肠癌细胞  $\beta$ -catenin 信号转导活性异常。因此,本文采用靶基因生长调控涉及  $\beta$ -catenin 信号转导的人恶性肿瘤细胞株 SW480 作为实验对象。

本课题组前期研究工作证实, CPP 具有显著的抗肿瘤作用。本研究结果显示, CPP 对 SW480 细胞增殖具有明显的抑制作用,且在一定浓度范围内表现出时间和浓度依赖性。0.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  CPP 就能明显影响细胞周期发展、诱导细胞凋亡。随着 CPP 作用时间的延长,  $G_0/G_1$  期细胞比例明显上升, S 期减少, 凋亡峰逐渐增高, 作用 24 h 的凋亡率可达到 36.52%。Cyclin D1 和 c-myc 在细胞周期中能加速  $G_1/S$  期进程<sup>[14]</sup>, 本研究结果显示, CPP 作用后, cyclin D1 和 c-myc mRNA 表达均降低, 与 CPP 作用后 SW480 细胞被阻滞在  $G_0/G_1$  期结果相一致。Survivin 在抗凋亡中起着重要作用<sup>[15]</sup>, CPP 作用后 SW480 细胞凋亡的增加与 survivin mRNA 表达降低有关。

Wnt 信号的最终效应是通过  $\beta$ -catenin 在核内与 TCF4 结合后激活靶基因的转录而实现的。本实验结果显示, CPP 作用后, SW480 细胞总蛋白、胞浆蛋白及细胞核蛋白中的  $\beta$ -catenin 分子表达均明显降低, 而  $\beta$ -catenin mRNA 表达水平未见明显变化, 说明 CPP 对细胞  $\beta$ -catenin 的调节不在 mRNA 水平, 很可能在蛋白降解水平。CPP 处理后, 胞浆蛋白中  $\beta$ -catenin 分子表达减少, 从而使转位到细胞核的  $\beta$ -catenin 蛋白减少, 并且  $\beta$ -catenin/TCF-4 转录因子复合物与其特异性 DNA 结合序列结合活性下降, 导致其不能有效启动下游靶基因表达, 失去维持细胞存活的能力。CPP 作用后其下游靶基因 survivin、c-myc 和 cyclin D1 mRNA 表达降低, 诱导细胞凋亡, 这与 CPP 抑制 Wnt 通路相一致。故可认为 CPP 抑制 Wnt 信号途径是其发挥抗肿瘤作用的分子机制之一。

综上所述, CPP 通过抑制 SW480 细胞 Wnt 信号转导通路, 介导细胞凋亡, 发挥抗肿瘤作用。关

于 CPP 抑制 Wnt 信号通路的作用位点及其体内抑瘤机制的进一步研究, 可使该物质作为 Wnt 通路的有效抑制剂用于抗肿瘤治疗。

#### [参 考 文 献]

- [1] Terstappen GC, Gaviraghi G, Caricasole A. The Wnt signaling pathway as a target for the treatment of neurodegenerative disorders [J]. *IDrugs*, 2006, 9(1):35-38.
- [2] Dihlmann S, von Knebel Doeberitz M. Wnt/beta-catenin-pathway as a molecular target for future anti-cancer therapeutics [J]. *Int J Cancer*, 2005, 113(4):515-524.
- [3] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005:181.
- [4] 张 静, 单保恩, 刘刚叁, 等. 香加皮提取物抗肿瘤活性的研究 [J]. *癌变·畸变·突变*, 2006, 2(12):108-111.
- [5] 张引娟, 鹿 刚, 单保恩, 等. 杠柳苷对 BT-549 细胞增殖的抑制作用与 p16、p27 表达关系的研究 [J]. *癌变·畸变·突变*, 2008, 20(3):216-219.
- [6] Park CH, Chang JY, Hahm ER, et al. Quercetin, a potent inhibitor against beta-catenin/TCF signaling in SW480 colon cancer cell [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 328(1):227-234.
- [7] Haydon RC, Deyrup A, Ishikawa A, et al. Cytoplasmic and/or nuclear accumulation of the beta-catenin protein is a frequent event in human osteosarcoma [J]. *Int J Cancer*, 2002, 102(4):338-342.
- [8] Mi K, Dolan PJ, Johnson GV. The low density lipoprotein receptor-related protein 6 interacts with glycogen synthase kinase 3 and attenuates activity [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(8):4787-4794.
- [9] DasGupta R, Kaykas A, Moon RT, et al. Functional genomic analysis of the Wnt-wingless signaling pathway [J]. *Science*, 2005, 308(5723):826-833.
- [10] Ma H, Nguyen C, Lee KS, et al. Differential roles for the coactivators CBP and p300 on TCF/ $\beta$ -catenin-mediated survivin gene expression [J]. *Oncogene*, 2005, 24(22):3619-3631.
- [11] He TC, Sparks AB, Rago C, et al. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway [J]. *Science*, 1998, 281(5382):1509-1512.
- [12] Shutman M, Zhurinsky J, Simcha I, et al. The cyclin D1 gene is a target of the beta-catenin/LEF-1 pathway [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(10):5522-5527.
- [13] Shimokawa T, Furukawa Y, Sakai M, et al. Involvement of the FGF18 gene in colorectal carcinogenesis, as a novel downstream target of the beta-catenin/T-cell factor complex [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(19):6116-6120.
- [14] Hung WC, Huang JS, Chuang LY. Antisense oligodeoxynucleotides targeted against different regions of cyclin D1 mRNA may exert different inhibitory effects on cell growth and gene expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1996, 220(3):719-723.
- [15] Watson AJ. An overview of apoptosis and the prevention of colorectal cancer [J]. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2006, 57(2):107-121.

[编辑及校对:张 菊]