

葱贝素 (Embelin) 通过阻断 NF- κ B 信号通路抑制肝癌细胞 Bel-7404 生长的研究 *

王世兵 雷 文 徐燕华 郭科妮 王毅刚 **

(浙江理工大学生命科学学院 新元医学与生物技术研究所, 杭州 310018)

摘要 葱贝素(Embelin)是一种 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)的小分子抑制剂, 可以抑制 XIAP 的生成和活性, 从而解除 XIAP 的抗凋亡作用, 使凋亡顺利进行. 研究了 Embelin 抑制肝癌细胞 Bel-7404 增殖的机制. 采用不同浓度梯度, 通过荧光显微镜、Hoechst33342 染色、MTT 检测、Annexin V /PI 流式细胞术和 Western blot 分别检测 Embelin 对 Bel-7404 细胞的形态学变化、凋亡小体形成、细胞存活率、细胞凋亡水平、凋亡信号转导相关蛋白表达的影响. 结果显示, Embelin 能明显抑制 Bel-7404 细胞增殖, 并通过激活 caspase 通路以及阻断 NF- κ B 信号通路诱导 Bel-7404 细胞凋亡, 为进一步利用 Embelin 进行肝癌治疗的研究打下一定的基础.

关键词 XIAP 小分子抑制剂, 肝癌细胞, 凋亡, caspase, NF- κ B

学科分类号 Q789

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00300

凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, IAPs)是近年来备受瞩目的一类蛋白质家族, 是一类独立于 Bcl-2 的抗凋亡蛋白. 某些 IAPs 成员异常高表达常引起细胞凋亡受阻, 与肿瘤的发生发展密切相关. X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)是凋亡抑制基因(IAP)家族中最有效力的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(caspase)抑制物, 也是分子结构研究得最清楚的 IAP 家族成员. XIAP 能够选择性与 caspase-3、caspase-7、caspase-9 直接结合, 抑制其活性, 从而抑制细胞凋亡的发生^[1].

葱贝素(Embelin)是一种 XIAP 的小分子抑制剂, 能与 XIAP 蛋白分子中 BIR3 结构域结合, 从而阻止 XIAP 分子与 caspase-3、caspase-7、caspase-9 结合, 进而诱导细胞凋亡^[2].

肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 化疗是肝癌综合治疗中的重要手段. XIAP 小分子抑制剂 Embelin 作为一种潜在的有效抗肿瘤药物, 受到越来越多的关注与研究. 本实验以人肝癌 Bel-7404 细胞株为研究对象, 观察 XIAP 小分子抑制剂 Embelin 对 Bel-7404 细胞生长抑制的影响, 并检测

Embelin 作用后, 细胞中 caspase 信号通路以及 NF- κ B 信号通路中蛋白质的表达, 初步探讨 XIAP 小分子抑制剂 Embelin 抑制肝癌细胞生长的作用机制.

1 材料与方法

1.1 材料

肝癌细胞株 Bel-7404、Huh-7、PLC 及肝正常细胞 QSG-7701 由本实验室保存, 所有细胞在体积分数为 5% CO₂、37℃ 培养箱中培养, 培养液为含 10% FBS 的 DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium). DMEM 购自 GIBCO 公司. Embelin、MTT 和 Hoechst 33342 购自 Sigma 公司. BCA 蛋白定量试剂盒购自 Thermo Fisher 公司. β -Actin、

* 浙江理工大学研究生创新基金资助项目(YCX-S11021), 浙江理工大学科研启动基金资助项目(1016834-Y, 1016845-Y)和浙江省自然科学基金资助项目(Y2090935).

** 通讯联系人.

Tel: 0571-86843187, E-mail: wangiyan43@163.com

收稿日期: 2011-07-02, 接受日期: 2011-07-25

caspase-3、NF- κ B P65、PARP、荧光二抗等抗体分别购自 Beyotime、Abcam、Santa Cruz Biotechnology、Cell Signaling 公司。

1.2 方法

1.2.1 RT-PCR 检测 XIAP 的 mRNA 水平表达. 肝癌细胞 Bel-7404、Huh-7、PLC 和正常肝细胞 QSG-7701 培养于含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基, 37℃、5% CO₂ 条件下培养. 按 TRIZOL 法提取细胞总 RNA, 以抽提的总 RNA 为模板逆转录成 cDNA, 应用 Primer5.0 软件设计引物. cDNA 通过 SYBR qPCR Mix 进行荧光定量 PCR, 扩增体系为 20 μ l, 扩增参数为: 95℃ 1 min, 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 40 个循环. 结果由 Applied Biosystems 7300 real-time PCR 仪软件分析.

1.2.2 MTT 染色检测细胞增殖. 收集对数生长期细胞, 调整细胞悬液浓度, 将细胞以 100 μ l/孔接种于 96 孔板, 使待测细胞密度为 1×10^4 /孔. 5% CO₂, 37℃ 孵育 12 h 后加药, 实验组及对照组分别设 5 个复孔. 孵育 24~96 h 后, 每孔加入 20 μ l MTT 溶液(5 g/L, 即 0.5%MTT), 继续培养 4 h. 小心地吸去孔内培养液. 每孔加入 150 μ l 二甲基亚砷, 置摇床上低速振荡 10 min, 使结晶物充分溶解. 用酶联免疫检测仪于 490 nm 处测量各孔的吸光值. 细胞生存率=(A_{药物作用孔}-A_{调零孔})/(A_{对照孔}-A_{调零孔}) $\times 100\%$

1.2.3 细胞形态学观察. 将 3.5×10^5 个/ml Bel-7404 细胞接种于 6 孔板中, 贴壁培养 12 h 后, 加药组加入 10 μ mol/L 的 Embelin, 对照组加等量的 PBS, 37℃、5% CO₂ 培养, 分别作用 24、48、72 h 后, 倒置光学显微镜下, 观察细胞形态学变化.

1.2.4 Hoechst33342 染色观察肿瘤细胞的凋亡. 对数期肿瘤细胞 Bel-7404 按 5×10^5 个/ml 接种至 6 孔板中, 过夜培养. 以 10 μ mol/L 的 Embelin 处理细胞, 5% CO₂、37℃ 培养箱培养 24~48 h 后, 加入 1 g/L 的 Hoechst 33342 染料 5 μ l 至每个孔中. 37℃ 染色 30 min 后荧光倒置显微镜观察, 然后置于共聚焦显微镜下拍照.

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡率. 6 孔板中接种 5×10^5 个/ml 的 Bel-7404 细胞, 贴壁培养 12 h 后, 在加药组中分别加入 1、5、10 μ mol/L 的 Embelin, 对照组中加入等量的 PBS, 37℃、5% CO₂ 培养箱培养. 48 h 后, 吸去培养基, 参照 Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂盒操作说明, 收集细胞, 用预冷的 PBS 洗涤细胞 2 遍, 用 100 μ l 的 1 $\times$ 结合缓冲液重

悬细胞, 加入 5 μ l 的 Annexin-V 和 1 μ l 的 PI, 冰上避光 15 min 后, 加入 400 μ l 1 $\times$ 结合缓冲液, 采用流式细胞仪分析.

1.2.6 Western blot 检测凋亡信号通路关键蛋白的表达.

收集对数生长期肿瘤细胞, 按 5×10^5 个/ml 接种至 60 mm 细胞培养皿, 过夜培养. 分别用不同浓度的药物处理细胞, 5% CO₂、37℃ 培养箱培养 48 h 后, 按照标准 Western blot 操作方法, 用蛋白裂解液预处理细胞, 并收集细胞及其上清于 1.5 ml 离心管中. -20℃ 保存或定量后直接使用.

将蛋白质样品用 BCA 蛋白定量试剂盒定量后, 每孔加入 10 μ g 总蛋白进行 SDS-PAGE, 电泳结束后按半干法将电泳产物转印到 NC 膜上. 5% BSA 室温封闭 3 h, 加一抗(1:1000 稀释), 室温孵育 2 h, TBST 洗膜 10 min $\times 3$ 次后, 加荧光二抗(1:15000 稀释), 室温孵育 1 h, TBST 洗膜 10 min $\times 3$ 次后, 红外扫描仪(odyssey infrared imaging system)扫描目的蛋白的表达.

1.2.7 统计分析. 所有数据均采用 SPSS11.0 统计软件进行方差分析. 全部结果用($\bar{x} \pm s$)表示.

2 结 果

2.1 XIAP 在不同肝癌细胞中 mRNA 水平的表达

Real time PCR 结果显示, XIAP 在肝癌细胞系 Bel-7404、Huh-7 和 PLC 中的表达量相对于肝正常细胞系 QSG-7701 明显偏高, 并且 3 种肝癌细胞系中 Bel-7404 的 XIAP 表达量最高, 其表达水平是 QSG-7701 细胞的 7.6 倍(图 1).

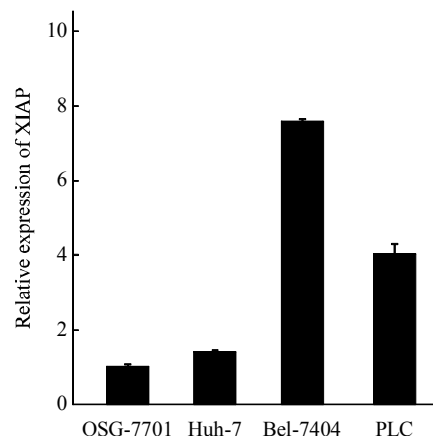
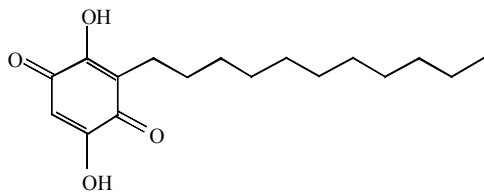


Fig. 1 The expression of XIAP of Bel-7404, Huh-7, PLC, QSG-7701 cells was detected by Quantitative real-time PCR (qRT-PCR)

2.2 MTT 分析检测 Embelin 对 Bel-7404 细胞的抑制作用

本实验所用的 XIAP 小分子抑制剂 Embelin 分子结构如图 2 所示. 结果显示, 不同浓度的 XIAP 小分子抑制剂 Embelin 作用不同时间后, 能明显抑制肝癌细胞 Bel-7404 生长, 呈现时间依赖性和浓度依赖性. 40 $\mu\text{mol/L}$ Embelin 作用 Bel-7404 细胞 24、48、72、96 h 的抑制率分别为 20%、40%、50%、58%. 通过 SPSS 软件分析, Embelin 作用 Bel-7404 细胞 24、48、72、96 h, IC_{50} 值分别为 299.6、51.1、37.7、18.9 $\mu\text{mol/L}$ (图 3).



Embelin [MW 294]
(2, 5-dihydroxy-3-undecyl-1, 4-benzoquinone)

Fig. 2 Structure of Embelin

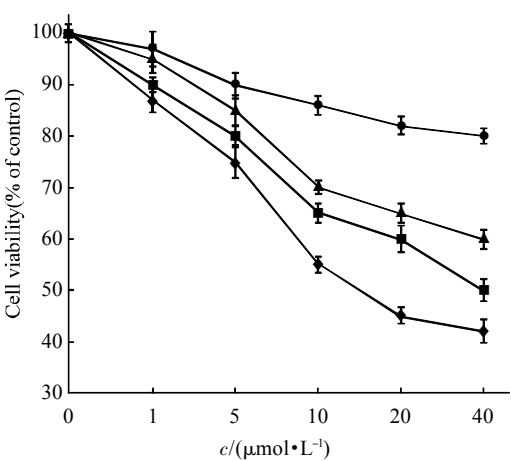


Fig. 3 Cell viability was assayed by MTT test

Hepatoma carcinoma cell (Bel-7404) was treated with Embelin at concentrations ($\mu\text{mol/L}$) of 1, 5, 10, 20 and 40. On days 1, 2, 3 and 4 posteffect, cells were stained with MTT as described in **Materials and methods**. Results are presented as $\bar{x} \pm s$ (error bars) of triplicate experiments and are expressed as a percentage of untreated control cells. ●—●: 24 h; ▲—▲: 48 h; ■—■: 72 h; ◆—◆: 96 h.

2.3 细胞形态学变化

Bel-7404 细胞用 Embelin 处理后出现典型凋亡变化. 光学显微镜下观察, XIAP 小分子抑制剂 Embelin 以 10 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度处理 24~72 h 后, Bel-7404 细胞生长受到明显抑制, 出现典型的凋亡形态学变化, 细胞皱缩、细胞膜出现发泡现象、细胞核浓缩(图 4).

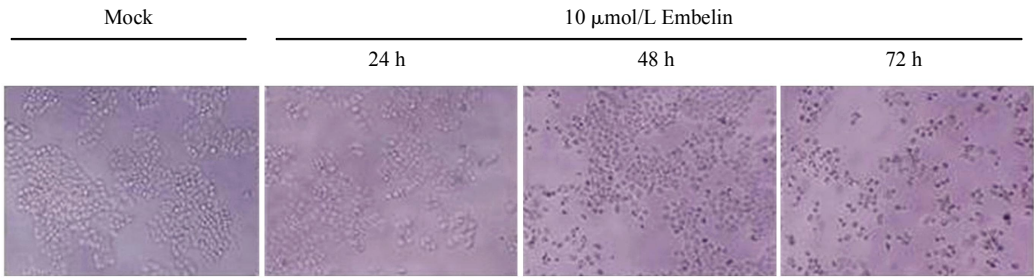


Fig. 4 The size and configuration of Bel-7404 cells treated with Embelin, compared with untreated Bel-7404 cells
Original magnification $\times 200$.

Hoechst33342 染色检测 Embelin 以 10 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度作用于 Bel-7404 细胞 12、24、36、48 h 后, 细胞凋亡效应: 对照组染色质均匀, 无浓缩、边集现象, 荧光显微镜下观察, 细胞核染色均一, 无明显亮蓝色. 而 Embelin 处理组细胞核染色质明显凝集、固缩, 并有核碎裂出现凋亡小体. 荧光显微

镜下观察, 呈现致密浓染或者碎块状致密浓染(图 5).

2.4 流式细胞术检测细胞凋亡率

XIAP 小分子抑制剂分别以 1、5 和 10 $\mu\text{mol/L}$ 的浓度作用于 Bel-7404 细胞 48 h, 收集细胞, 经 Annexin V/PI 双染后, 流式细胞仪检测细胞凋亡.

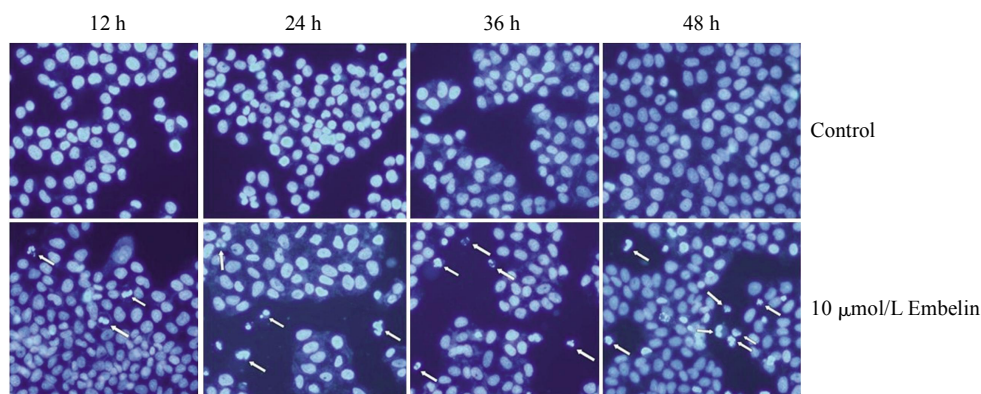


Fig. 5 Bel-7404 cells were stained with Hoechst 33342 after treated with Embelin at concentrations of 10 $\mu\text{mol/L}$ for 12, 24, 36 and 48 hours respectively
Control acted as untreated cells. Original magnification $\times 200$.

在 Annexin V 高染而 PI 低染区域的细胞为早期凋亡细胞, 结果显示, 随着 Embelin 浓度的增加, Bel-7404 凋亡率明显升高, 1、5 和 10 $\mu\text{mol/L}$

Embelin 作用于 Bel-7404 细胞 48 h 后, 其凋亡率分别为 2.1%、12.4%和 21.9%(图 6).

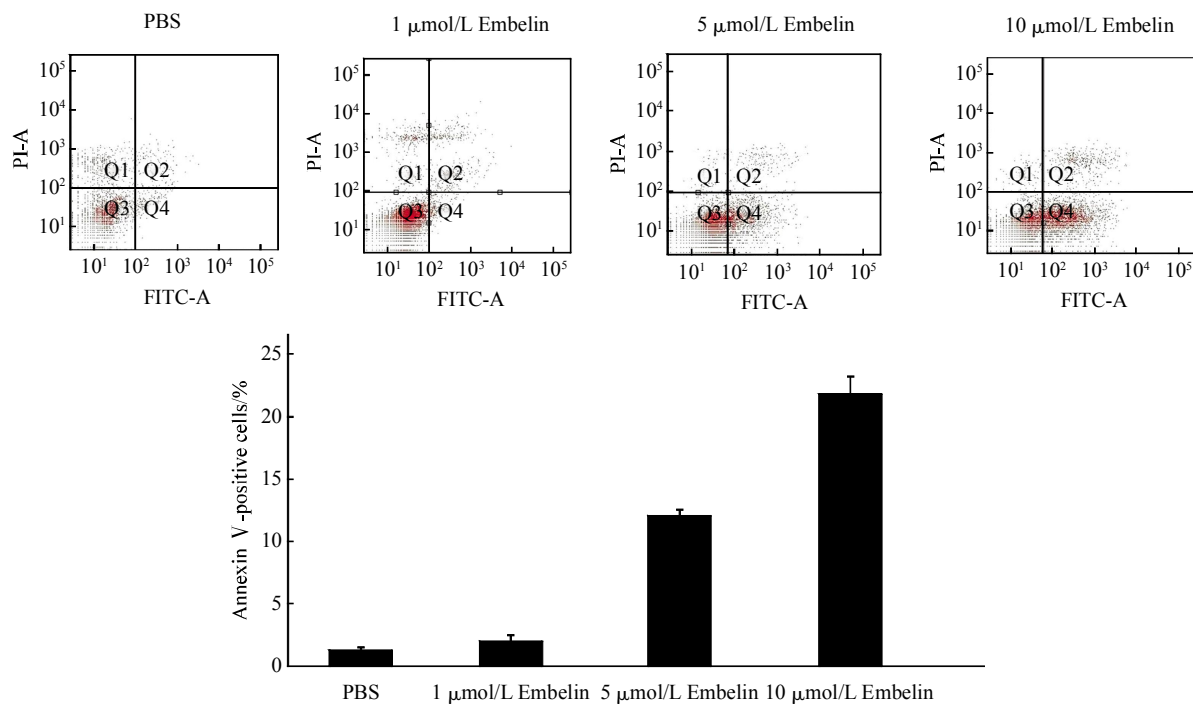


Fig. 6 Apoptosis detection assay by Annexin V-binding assay

Bel-7404 cells were treated for 48 h at concentration of 1, 5, 10 $\mu\text{mol/L}$ with Embelin, or remained PBS-treated as a control.

2.5 Western blot 检测凋亡相关蛋白的变化

XIAP 小分子抑制剂 Embelin 以不同浓度作用于肝癌 Bel-7404 细胞 24 h 后, Western blot 检测凋亡信号途径中相关蛋白的表达. 结果表明, Embelin 可以促使 caspase-3 的活化, 产生 caspase-3

的剪切体, 并且呈剂量依赖性, 随着 Embelin 浓度的增大, caspase-3 活化增强. 同时, caspase-3 的活化继而剪切凋亡底物 PARP, 并与 Embelin 的浓度呈正相关(图 7).

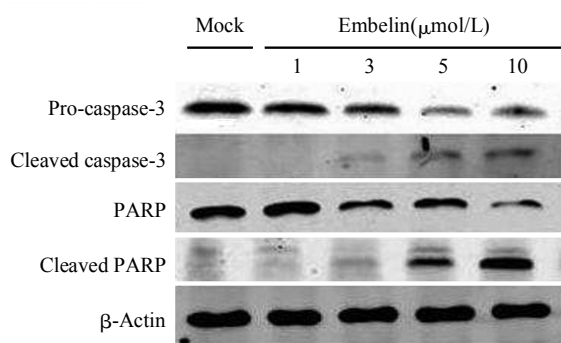


Fig. 7 Embelin activates caspase-mediated apoptosis signaling pathway

Bel-7404 cells were treated with different-concentration of Embelin, for 24 h. Western blot analysis apoptosis-related protein in Bel-7404 cells treated with Embelin. β -Actin was used as a loading control.

多数恶性程度高的肿瘤细胞系都有较高的 NF- κ B 表达水平, NF- κ B 对肿瘤的发生起重要作用^[3]. 有研究报道, 肿瘤坏死因子 α 可以通过激活 NF- κ B 信号通路, 诱导 cyclinD1 表达, 加快肝细胞周期进程, 促进肿瘤的发生发展^[4]. 本实验探究 Embelin 在抑制肝癌细胞 Bel-7404 增殖的过程中, NF- κ B 信号通路的变化. Embelin 以不同浓度作用于 Bel-7404 细胞, 24 h 后, Western blot 分析 NF- κ B 亚基 P65 蛋白表达, 结果显示, 随着 Embelin 的浓度升高, P65 蛋白的表达量降低(图 8).

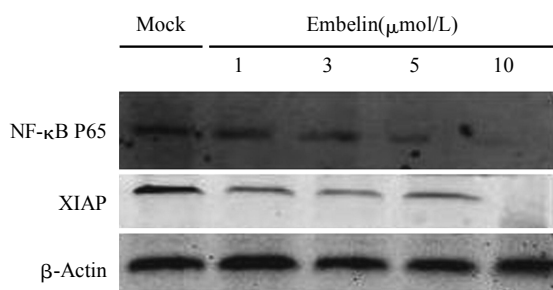


Fig. 8 Embelin blocks NF- κ B signaling pathway

Western blot to investigate the expression of NF- κ B subunit P65. The results suggest that Embelin inhibits NF- κ B activity in a concentration-dependent manner.

3 讨 论

XIAP(X-linked inhibitor of apoptosis protein)是人类凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein,

IAPs)家族的重要成员, 是一种具有抑制细胞凋亡作用的蛋白质, 在 IAP 家族中, XIAP 是最具成效的内源性 caspase 抑制因子, 能够通过多种途径影响细胞凋亡^[5]. XIAP 基因作为一种具有潜在价值的肿瘤标记物, 在肿瘤的早期诊断以及研究肿瘤耐药中具有重要意义. 体外实验发现, XIAP 在很多恶性程度高的肿瘤细胞系中均过表达, 而且肿瘤对化疗耐药与 XIAP 的过表达密切相关^[6]. 研究发现, 在肝癌细胞和肝癌组织中 XIAP 的表达量升高, 而在正常肝细胞和肝组织中 XIAP 低表达. XIAP 的过表达与肿瘤的凋亡下调相关, 与肿瘤的增殖无关^[7]. 目前针对 XIAP 开展的肿瘤治疗技术包括反义寡核苷酸技术、RNA 干扰技术以及 XIAP 小分子抑制剂^[8-11].

NF- κ B(nuclear factor- κ B)是转录因子家族成员, 是细胞内重要的核转录因子, NF- κ B 在许多细胞刺激介导的细胞信息的转录调控中起核心作用, 参与多种基因的表达和调控, 是细胞激活的标志^[12]. NF- κ B 能够上调一些凋亡抑制蛋白, 如 XIAP 的表达, 阻断 caspase 的激活以及引起的凋亡^[13].

Embelin 是 XIAP 的小分子抑制剂, 可以抑制 XIAP 的生成及活性, 从而阻断了 XIAP 对凋亡过程的抑制作用, 使凋亡顺利进行. 本研究中, Embelin 作用于肝癌 Bel-7404 细胞, 以时间梯度获得蛋白质, 进行 Western blot 分析, 随着药物浓度的增加, 导致 caspase-3 的激活, 其剪切体也得到相应表达并增强. Caspase-3 的活化在细胞凋亡信号转导中起核心作用. 它是 caspase 级联反应中一种公共的下游效应分子, 凋亡的执行人, 激活后可以引起其下游底物包括多聚 ADP-核糖聚合酶(PARP)的降解^[14]. PARP 是早期凋亡过程中 caspase-3 的作用靶点. Caspase-3 经激活后能识别 PARP 中的 Asp-Glu-Val-Asp(DVCD)序列, 从而剪切 PARP^[15]. PARP 被剪切后失去正常功能, 激活受 PARP 负调控的核酸内切酶活性影响, 最终使核小体间 DNA 降解. 因此, 在肝癌 Bel-7404 细胞中, XIAP 的小分子抑制剂 Embelin 可以通过激活 caspase 通路诱导细胞凋亡.

本研究中, 我们探究了 XIAP 的小分子抑制剂 Embelin 在抑制 XIAP 的过程中, NF- κ B 信号通路中 P65 蛋白的表达情况, 结果显示, 随着 Embelin 药物浓度的增加, P65 蛋白表达量逐渐减少. NF- κ B 参与多种细胞活动, 发挥其生物学功能. NF- κ B 最重要的一个功能为调节细胞增殖及凋亡,

抑制 NF- κ B 活性可以促进细胞凋亡, 活化 NF- κ B 可以抑制促凋亡基因和肿瘤抑制基因^[3, 16]。研究证明了 NF- κ B 在细胞增殖和胚胎发育中的作用, 缺乏 P65 基因的大鼠在胚胎发育过程中, 胚胎会发生坏死^[17]。在肿瘤细胞中, NF- κ B 活性增强, 抑制 NF- κ B 的活性可以抑制肿瘤细胞的增殖, 并诱导肿瘤细胞的凋亡^[3]。

综上所述, XIAP 的小分子抑制剂 Embelin 可以显著抑制肝癌细胞 Bel-7404 的生长, 并且研究显示, Embelin 可能通过激活 caspase 通路以及阻断 NF- κ B 通路诱导肝癌细胞凋亡, 为进一步利用 Embelin 进行抗癌研究打下一定的基础。

参 考 文 献

- [1] Deveraux Q L, Takahashi R, Salvesen G S, *et al.* X-linked IAP is a direct inhibitor of cell-death proteases. *Nature*, 1997, **388**(6639): 300-304
- [2] Nikolovska-Coleska Z, Xu L, Hu Z, *et al.* Discovery of embelin as a cell-permeable, small-molecular weight inhibitor of XIAP through structure-based computational screening of a traditional herbal medicine three-dimensional structure database. *J Med Chem*, 2004, **47**(10): 2430-2440
- [3] Shishodia S, Aggarwal B B. Nuclear factor-kappaB: a friend or a foe in cancer. *Biochem Pharmacol*, 2004, **68**(6): 1071-1080
- [4] 杨季云, 张思仲, 郭红, 等. 肿瘤坏死因子 α 通过激活 NF- κ B 信号通路加快肝细胞周期进程. *生物化学与生物物理进展*, 2007, **34**(6): 604-610
Yang J Y, Zhang S Z, Guo H, *et al.* *Prog Biochem Biophys*, 2007, **34**(6): 604-610
- [5] Holcik M, Komeluk R G. XIAP. The guardian angel. *Nat Rev Mol Cell Bio*, 2001, **2**(7): 550-556
- [6] 陈复辉, 曲宏岩, 隋广杰. 凋亡抑制蛋白 XIAP 基因对 A549 细胞凋亡和化疗敏感性的影响. *中国肺癌杂志*, 2008, **11**(3): 368-372
Chen F H, Qu H Y, Sui G J. *Chin J Lung Cancer*, 2008, **11**(3): 368-372
- [7] Shiraki K, Sugimoto K, Yamanaka Y, *et al.* Overexpression of X-linked inhibitor of apoptosis in human hepatocellular carcinoma. *Int J Mol Med*, 2003, **12**(5): 705-708
- [8] Dean E, Jodrell K, Connolly K, *et al.* Phase I trial of AEG35156 administered as a 7-day and 3-day continuous intravenous infusion in patients with advanced refractory cancer. *J Clin Oncol*, 2009, **27**(10): 1660-1666
- [9] Wang R, Li B, Wang X, *et al.* Inhibiting XIAP expression by RNAi to inhibit proliferation and enhance radiosensitivity in laryngeal cancer cell line. *Auris Nasus Larynx*, 2009, **36**(3): 332-339
- [10] Mohd A B, Huang I. Expression sensitizes ovarian cancer cells to cell death mediated by XIAP inhibition. *Br J Cancer*, 2009, **101**(2): 269-277
- [11] Yang L, Mashima T, Sato S, *et al.* Predominant suppression of apoptosome by inhibitor of apoptosis protein in non-small cell lung cancer H460 cells: therapeutic effect of a novel polyarginine-conjugated Smac peptide. *Cancer Res*, 2003, **63**(4): 831-837
- [12] 沈利群, 徐祥, 吕凤林, 等. 核因子 κ B 的跨膜转运及其调控机制. *生物化学与生物物理进展*, 2002, **29**(3): 368-371
Shen L Q, Xu X, Lv F L, *et al.* *Prog Biochem Biophys*. 2002, **29**(3): 368-371
- [13] Hofer-Warbinek R, Schmid J A, Stehlik C, *et al.* Activation of NF- κ B by XIAP, the x chromosome-linked inhibitor of apoptosis, in endothelial cells involves TAK1. *J Biol Chem*, 2000, **275**(29): 22064-22068
- [14] Nikrad M, Johnson T, Puthalalath H, *et al.* The proteasome inhibitor bortezomib sensitizes cells to killing by death receptor ligand TRAIL via BH3-only proteins bik and bim. *Mol Cancer Ther*, 2005, **4**(3): 443-449
- [15] Katsuda K, Kataoka M, Uno F, *et al.* Activation of caspase-3 and cleavage of Rb are associated with p16-mediated apoptosis in human non-small cell lung cancer cells. *Oncogene*. 2002, **21**(13): 2108-2113
- [16] Mistry P, Deacon K, Mistry S, *et al.* NF-kappaB promotes survival during mitotic cell cycle arrest. *J Biol Chem*, 2004, **279**(2): 1482-1489
- [17] Fujioka S, Schmidt C, Sclabas G M, *et al.* Stabilization of p53 is a novel mechanism for proapoptotic function of NF-kappaB. *J Biol Chem*, 2004, **279**(26): 27549-27559

Suppression of Hepatoma Carcinoma Cell Bel-7404 by Small Molecule XIAP Inhibitor Embelin Through Blocking NF- κ B Signaling Pathway*

WANG Shi-Bing, LEI Wen, XU Yan-Hua, GUO Ke-Ni, WANG Yi-Gang**

(School of Life Sciences, Xinyuan Institute of Medicine and Biotechnology, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

Abstract Embelin, a small molecule XIAP (X-linked inhibitor of apoptosis protein) inhibitor, can inhibit the expression and activation of XIAP, thereby removing the antiapoptotic ability of XIAP and resulting in apoptosis process smoothly. This study is attempt to explore the mechanism of the inhibition to hepatocarcinoma cell Bel-7404 growth by Embelin. After treated with different-concentration of Embelin, the morphological change, formation of apoptotic bodies, cells viability, cell apoptosis and the apoptosis-related protein expression in Bel-7404 cells were assessed by fluorescence microscope, Hoechst33342 staining, MTT assay, Annexin V/PI flow cytometry and Western blotting *et al.* The results indicated that Embelin remarkably inhibited human hepatocarcinoma cell Bel-7404 growth. Further experiments found that the mechanism of tumor cell growth inhibition by Embelin was due to the cell apoptosis with the activation of caspase apoptotic pathway and blockage of NF- κ B signal pathway. The studies laid a base on the further treatment of human hepatoma carcinoma by using Embelin.

Key words small molecule XIAP inhibitor, hepatoma carcinoma cell, apoptosis, caspase, NF- κ B

DOI: 10.3724/SP.J.1206.2011.00300

*This work was supported by grants from Zhejiang Sci-Tech University Graduate Innovation Fund(YCX-S11021), Zhejiang Sci-Tech University Study Start-up Grant(1016834-Y, 1016845-Y) and Zhejiang Natural Science Foundation (Y2090935).

**Corresponding author.

Tel: 86-571-86843187, E-mail: wanyigang43@163.com

Received: July 2, 2011 Accepted: July 25, 2011