

Bcl-2 在紫杉醇耐药胃腺癌细胞中的表达及意义

张 丽 胡汪来 王家钰 张旭东 张林杰

摘要 目的 探讨凋亡抑制蛋白 Bcl-2 在紫杉醇(TAX)耐药胃腺癌细胞中的作用。方法 采用药物浓度梯度递增持续作用法建立耐 TAX SGC-7901 细胞株,PI 单染法流式细胞仪检测细胞凋亡率差异,MTT 比色法检测细胞生存率变化,Western blot 检测 TAX 处理后 SGC-7901 普通细胞株及耐药细胞株 Bcl-2、mcl-1、Bax、Bcl-xl 蛋白表达,半定量 PCR 检测 Bcl-2 mRNA 水平变化,流式细胞术检测 Bcl-2 基因沉默后的凋亡率变化,MTT 检测细胞生存率。结果 TAX 诱导胃腺癌细胞凋亡具有时间和剂量相关性,耐药胃腺癌细胞株对 TAX 诱导的凋亡不敏感,TAX 处理后 Western blot 检测到耐药细胞株中 Bcl-2 表达上调,亲本细胞株 Bcl-2 则表达下调,半定量 PCR 检测耐药胃腺癌细胞株中 Bcl-2 mRNA 水平亦上调。在耐药胃腺癌细胞株中沉默 Bcl-2 后,Bcl-2 蛋白水平下调,细胞凋亡率明显上升,细胞生存率显著下降。结论 Bcl-2 的表达上调可能是胃腺癌细胞对 TAX 耐药的重要机制。

关键词 胃肿瘤;紫杉醇;细胞凋亡;肿瘤耐药;Bcl-2

中图分类号 R 735.2; R 392.12

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)08-1048-05

胃癌是我国常见的恶性肿瘤,化疗是胃癌患者治疗的主要手段之一。紫杉醇(paclitaxel,TAX)作为胃癌化疗的一线药物,因其在临床初始化疗缓解后常产生耐药性,严重影响患者治疗效果^[1]。近年来通过建立 TAX 耐药的肿瘤细胞株^[2]探讨 TAX 耐药机制的研究^[3]表明:P-糖蛋白、微管 β 亚基和 α 亚基表达的改变,以及凋亡途径中相关分子的表达异常均与 TAX 耐药性有关。Bcl-2 家族中的抗凋亡蛋白在 TAX 等化疗药物耐药的肿瘤细胞中发挥重要作用。该研究旨在探讨 Bcl-2 蛋白在 TAX 耐药的胃腺癌细胞中的作用,了解胃腺癌细胞耐药的分子机制,以期寻找克服肿瘤细胞耐药的有效途径。

1 材料与方法

1.1 材料 SGC-7901 胃腺癌细胞株购自中国科学

2014-03-20 接收

基金项目:安徽省高等学校省级自然科学基金项目(编号:KJ2011A167)

作者单位:安徽医科大学免疫学教研室,合肥 230032

作者简介:张 丽,女,硕士研究生;

张林杰,男,教授,博士生导师,责任作者,E-mail:zlj33@ahmu.edu.cn

院上海细胞库;RPMI-1640 培养基、胰酶、小牛血清、Opti-MEM 购自美国 Gibco 公司;小鼠抗人 Bcl-2、Bax、mcl-1、Bcl-xl 单抗购自美国 CST 公司;小鼠抗人 β -actin 单抗及辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠 IgG 抗体购自北京中杉金桥公司;Bcl-2 小干扰 RNA 购自上海吉玛公司;脂质体 Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司;TAX 购自美国百时美施贵宝公司; β -actin 及 Bcl-2 引物由上海生工生物公司合成。

1.2 细胞培养及药物处理 SGC-7901 胃癌细胞系在含 10% 小牛血清、1% 双抗的 RPMI-1640 培养基,37 °C、5% CO₂ 饱和湿度下培养。TAX 溶于 DMSO 配成 1 mmol/L 储存液,-20 °C 保存,使用前稀释成所需浓度。细胞传代后 24 h,PBS 洗涤 2 次,未处理组更换新鲜培养液,药物组加入 TAX,不同时间收集备用。

1.3 耐药细胞系的建立 选取对数生长期的 SGC-7901 细胞,TAX 作用浓度从 0.03 μ mol/L 开始,48 h 后弃去培养液,加入新鲜培养液继续培养,观察没有明显死亡细胞后,选择对数生长期的细胞传代,并增加 25%~50% TAX 药物浓度,反复传代并使之稳定,直至该细胞株能在 0.3 μ mol/L 的 TAX 浓度下长期培养生长,命名为 SGC-7901/TAX。

1.4 PI 单染法流式细胞仪检测细胞凋亡率 将处于对数生长期的 SGC-7901 与 SGC-7901/TAX 细胞接种于 24 孔板培养过夜,选择不同剂量的 TAX 及不同时间点分别作用于上述两种细胞。收集 24 孔板中上清液,各孔再用 PBS 洗涤 1 遍,1 200 r/min 离心 10 min,弃上清液,每孔加入 750 μ l PI 染液,37 °C 避光,作用 20 min 后收集细胞。4 °C 避光过夜。次日上流式仪检测。每组实验重复 3 次,结果用 WinMDI 2.9 软件分析,具有 G1 期 DNA 含量的细胞比例即细胞凋亡率。

1.5 MTT 比色法检测细胞生存率 将处于对数生长期的 SGC-7901 与 SGC-7901/TAX 细胞接种于 96 孔板,37 °C、5% CO₂ 温箱培养 3 d,分别加 TAX 作用不同时间及浓度。每孔加 MTT 溶液 20 μ l,继续孵育 4 h,终止培养,小心吸弃孔内培养上清液,每孔加 150 μ l DMSO,振荡 10 min,使结晶物充分溶解。选择 490 nm 波长,在酶联免疫检测仪上测定各孔吸光

值,记录结果,以时间为横坐标,吸光值为纵坐标绘制细胞生长曲线。

1.6 Western blot 收集细胞,预冷 PBS 洗涤 2 遍,加入细胞裂解液,冰上孵育 30 min,4 ℃、12 000 r/min 离心 30 min,吸取上清液,即细胞总蛋白。用 BCA 法测定蛋白浓度。将已定量好的细胞总蛋白与 2 × 蛋白电泳上样缓冲液等量混合,沸水煮 3 ~ 5 min 备用。20 μg 总蛋白经 SDS-PAGE 电泳,转移至硝酸纤维素膜上,转膜后用 5% 脱脂牛奶/TBST 封闭 2 h,依次加入一抗(β-actin、小鼠抗人 Bax、Bcl-xl、Bcl-2、mcl-1)1 : 1 000 稀释,室温孵育 2 h,TBST 洗 3 次,每次 15 min,分别加辣根过氧化物酶标记的羊抗小鼠二抗(1 : 10 000 稀释)室温孵育 1 h,TBST 洗 3 次,每次 15 min。用 ECL 试剂盒进行显影曝光,拍摄图像保存。

1.7 RT-PCR 用 TRIzol 法提取 TAX 作用不同时间的 SGC-7901/TAX 细胞的总 RNA,并进行质量鉴定。按照逆转录试剂盒说明,冰上操作将不同时间点的 RNA 逆转录成 cDNA。再以逆转录出的 cDNA 为模板建立反应体系(25 μl)。β-actin 引物序列:正义链 5'-GACCTGACTGACTACCTCATGAAGAT-3',反义链 5'-GTCACACTTCATGATGGAGTTGAAGG-3'。Bcl-2 引物序列:正义链 5'-TTCGCCGAGTCCAGGC-3',反义链 5'-TCACTTGTGGCCAGATAGC-3'。反应的变性、退火、延伸条件为 94 ℃ 5 min;94 ℃ 30 s,60 ℃ 45 s,72 ℃ 1 min,共 35 个循环;72 ℃ 10 min。PCR 产物在 1.5% 琼脂糖凝胶进行电泳。

1.8 基因沉默 根据 Bcl-2 基因信息,分别设计 3 条针对 Bcl-2 的靶序列。SiRNA1:5'-CATCGCCCTGTGGATGACT-3',SiRNA2:5'-GACTCTGCTCAGTITGGCC-3';SiRNA3:5'-GTGAAGTCAACATGCCTGC-3'。取对数生长期的 SGC-7901/TAX,以 24 孔板为例,细胞密度为 1×10^5 ,接种于 24 孔板,用含 10% 小牛血清的无抗生素的 RPMI-1640 培养 24 h。将 SiRNA 与 Opti-MEM(转染专用培养基),Lipofectamine 2000 与 Opti-MEM 分别混匀后,再混合两种悬液,室温作用 20 min。将 SiRNA-脂质体复合物加入培养孔中,转染后 6 h,吸弃含 SiRNA-脂质体复合物的培养液,换为含 10% 小牛血清无抗生素的 RPMI-1640 培养,设空白、阴性对照组。

1.9 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 SGC-7901/TAX 与 SGC-7901 细胞形态比较

显微镜下观察 SGC-7901 细胞呈圆形,大小均一,形态规则,折光率高,呈铺路石状;SGC-7901/TAX 细胞变形,部分细胞体积增大,大小不均一,形态不规则,可见瘤巨细胞和凹陷,折光率减弱。见图 1。

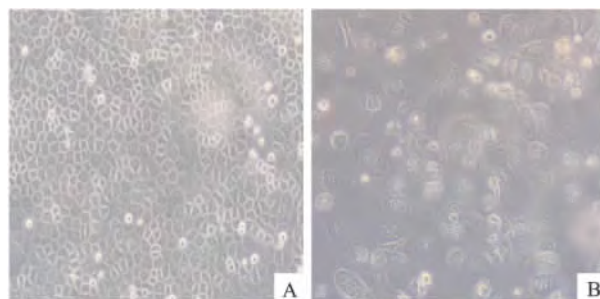


图 1 光镜下 SGC-7901 与 SGC-7901/TAX 细胞形态 SP×100
A:SGC-7901;B:SGC-7901/TAX

2.2 TAX 诱导 SGC-7901/TAX 与 SGC-7901 凋亡率比较

用不同浓度(0.1、0.2、0.3 μmol/L) TAX 诱导 SGC-7901/TAX 与 SGC-7901 细胞 36 h,两株细胞的凋亡率分别为 $(2.11 \pm 1.02)\%$ 、 $(7.23 \pm 0.71)\%$ 、 $(8.13 \pm 1.33)\%$ 和 $(3.64 \pm 0.82)\%$ 、 $(19.62 \pm 1.04)\%$ 、 $(33.72 \pm 0.93)\%$ 。在 0.2 μmol/L 时差异具有统计学意义($P < 0.05$)。同时选用 0.3 μmol/L TAX 作用 6、12、36 h 凋亡率分别为亲本株 $(4.03 \pm 0.81)\%$ 、 $(7.23 \pm 1.40)\%$ 、 $(33.7 \pm 0.97)\%$,耐药株 $(1.23 \pm 1.01)\%$ 、 $(3.60 \pm 0.73)\%$ 、 $(33.72 \pm 1.34)\%$ 。在 6 h 以后差异有统计学意义($P < 0.05$)。以上表明耐药株细胞较亲本株细胞对 TAX 诱导的凋亡明显耐受。

2.3 TAX 对 SGC-7901/TAX 与 SGC-7901 的增殖抑制作用比较

分别采用不同浓度的 TAX(0.1、0.2、0.3 μmol/L)作用于 SGC-7901/TAX 与 SGC-7901 细胞 36 h 后,MTT 法检测细胞存活率分别为 $(96.43 \pm 2.52)\%$ 、 $(91.97 \pm 2.90)\%$ 、 $(89.11 \pm 3.52)\%$ 和 $(88.54 \pm 0.93)\%$ 、 $(83.31 \pm 2.07)\%$ 、 $(69.56 \pm 3.20)\%$ 。在 TAX 0.1 μmol/L 时差异有统计学意义($P < 0.05$)。同时,采用 0.3 μmol/L TAX 作用两株细胞 6、12、36 h 后,MTT 检测存活率耐药株为 $(95.17 \pm 1.84)\%$ 、 $(89.34 \pm 2.61)\%$ 、 $(84.33 \pm 3.12)\%$,亲本细胞株为 $(93.42 \pm 2.31)\%$ 、 $(80.77 \pm 3.74)\%$ 、 $(69.12 \pm 1.93)\%$,12 h 后差异有统计学意义($P < 0.05$)。以上表明 TAX 对耐药株细胞的增殖抑制作用较亲本株细胞明显减弱。

2.4 TAX 作用于 SGC-7901 和 SGC-7901/TAX 后

对 Bcl-2 家族蛋白表达的影响 检测 Bcl-2 蛋白家族 Bcl-2、mcl-1、Bcl-xl、Bax 在两株细胞中表达的变化情况,结果显示 Bcl-2 在亲本细胞株中表达下调,与 0 h 蛋白表达量比较,在 6 h 后开始降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 2;同时 Bcl-2 在 TAX 耐药细胞株中表达明显上调,与 0 h 蛋白表达量比较,在 6 h 后开始升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 3。Bcl-2 在两株细胞中的表达差异说明抗凋亡蛋白 Bcl-2 变化可能在 TAX 耐药机制中起重要作用。

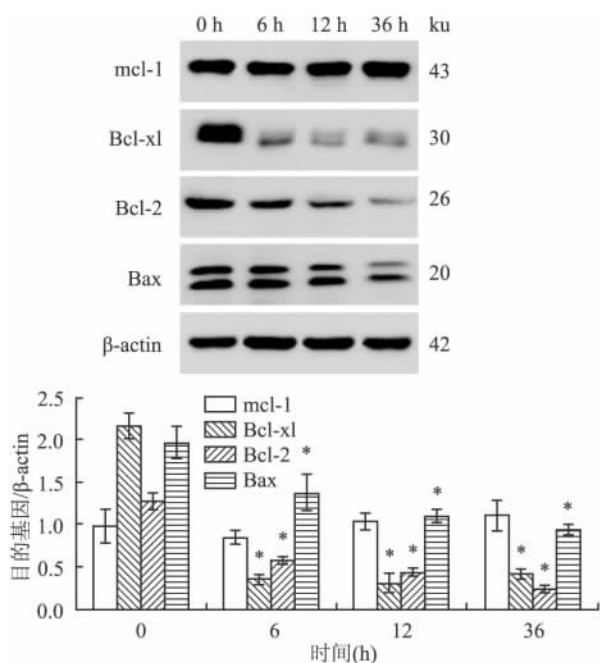


图2 TAX(0.3 μmol/L)诱导SGC-7901细胞Bcl-2家族蛋白的变化
与同种蛋白0 h比较:* $P < 0.05$

2.5 TAX 诱导耐药细胞株 SGC-7901/TAX 中 Bcl-2 mRNA 表达水平变化 在明确了 TAX 作用于胃腺癌细胞耐药株 SGC-7901/TAX 后 Bcl-2 的蛋白水平是上调的,进一步探讨 mRNA 水平的变化。TAX 处理胃腺癌耐药细胞株 SGC-7901/TAX 后,提取作用不同时间点的 mRNA,采用特异性引物通过 RT-PCR 反应检测 Bcl-2 mRNA 水平也是上调的,见图 4,与蛋白水平变化一致,说明 Bcl-2 的变化受到转录水平上的调控。

2.6 TAX 作用于沉默 Bcl-2 的耐药细胞株 SGC-7901/TAX 后凋亡率变化情况 由于 Bcl-2 在耐药细胞株中表达上调,于是在耐药细胞株 SGC-7901/TAX 中沉默 Bcl-2 基因,Western blot 鉴定 Bcl-2 蛋白表达可见转染小干扰 RNA 后,Bcl-2 的蛋白表达

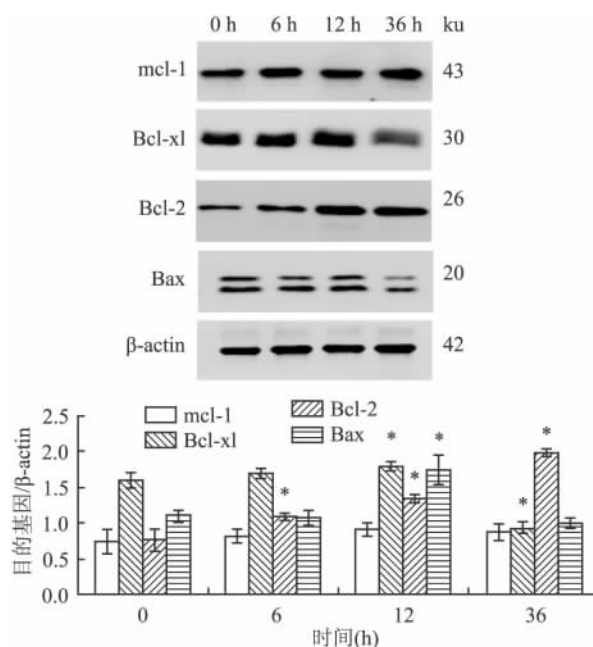


图3 TAX(0.3 μmol/L)诱导SGC-7901/TAX细胞
Bcl-2家族蛋白的变化
与同种蛋白0 h比较:* $P < 0.05$

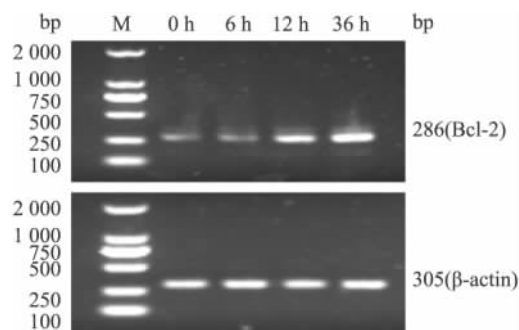


图4 TAX(0.3 μmol/L)诱导胃腺癌细胞耐药株
SGC-7901/TAX Bcl-2 mRNA 的表达
M: Marker DL2000

显著下调,见图 5,说明沉默基因有效。转染 24 h 后加 TAX 作用 36 h,流式细胞仪检测细胞凋亡率示 3 条小干扰 RNA 分别为 $(14.32 \pm 0.92)\%$ 、 $(18.53 \pm 1.06)\%$ 、 $(29.16 \pm 0.47)\%$,较空白对照 $(7.20 \pm 0.32)\%$ 和阴性对照 $(8.41 \pm 0.65)\%$ 明显提高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 6,同时 MTT 比色法检测示转染 3 条小干扰 RNA 后细胞存活率分别为 $(79.82 \pm 1.34)\%$ 、 $(76.11 \pm 3.42)\%$ 、 $(66.72 \pm 1.53)\%$,与空白对照 $(89.12 \pm 1.97)\%$ 和阴性对照 $(88.15 \pm 2.64)\%$ 相比显著下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

TAX 是从紫杉树皮中分离得到的抗癌药物,其

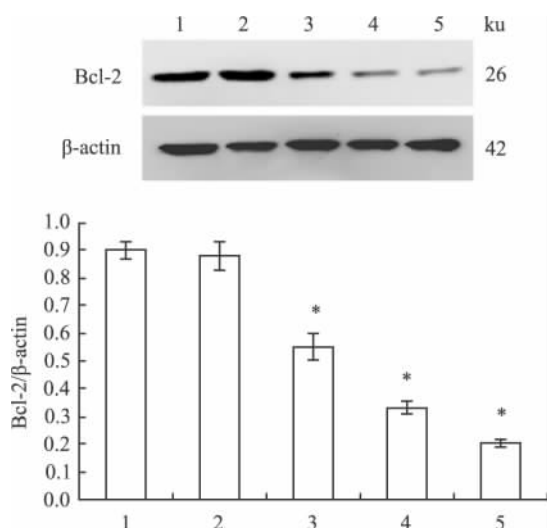


图5 Western blot 检测沉默 Bcl-2 基因后 Bcl-2 的表达变化

1:空白对照组;2:阴性对照组;3:Bcl-2-SiRNA1 组;4:Bcl-2-SiRNA2 组;5:Bcl-2-SiRNA3 组;与空白对照组比较:* $P < 0.05$

作用机制^[4]主要是促进微管双聚体装配成微管,抑制微管的解聚,从而影响细胞的正常分裂,使细胞阻滞于 G2/M 期。同时 TAX 与微管蛋白结合十分稳定,可抑制细胞内外某些调控因素对微管系统的作用,可诱导细胞最终以凋亡方式死亡。临床应用于治疗多种肿瘤如胃癌、食道癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌等。但是,与其他化疗药物一样 TAX 也面临着肿瘤细胞的耐药性问题。

肿瘤耐药的机制非常复杂^[5],主要可分为 4 种:

① 降低药物活性或提高细胞解毒能力;② 通过转运蛋白降低细胞内或区域内的药物浓度;③ 改变药物作用靶点或提高细胞对破坏靶点的修复能力;④ 提高细胞抗凋亡能力。这种耐药可为原发性也可为继发性,并已成为肿瘤化疗的一大障碍。

本实验采用药物浓度梯度递增持续作用法建立了耐 TAX 的胃腺癌细胞株 SGC-7901/TAX,光镜下

观察 SGC-7901 细胞呈圆形或椭圆形,大小均一,形态规则,边界清晰,核大,SGC-7901/TAX 耐药细胞形态不规则,大小不一,细胞体积稍增大,边界不清楚,细胞核不规则,可见较大的凹陷和巨细胞。流式细胞术检测 TAX 诱导的两株细胞随着药物作用浓度的增加及时间的延长凋亡率增加,并且耐药细胞株较亲本细胞对 TAX 诱导的凋亡明显耐受。同时,MTT 实验显示 TAX 诱导后耐药细胞株的生存率比亲本细胞明显提高,这些都显示建立了 TAX 耐药细胞株 SGC-7901/TAX 模型成功。之后,TAX 分别作用于两株细胞,Western blot 检测了与凋亡密切相关的 Bcl-2 家族相关蛋白的表达情况,结果显示 Bcl-2 在 SGC-7901 细胞株中蛋白表达水平下调,而在 SGC-7901/TAX 耐药细胞株中的蛋白表达却是上调。这提示 Bcl-2 作为抗凋亡 Bcl-2 家族中的重要一员,其在 TAX 诱导的耐药胃腺癌细胞凋亡中起抑制作用。为了进一步证实 Bcl-2 在 TAX 耐药中的作用,在 Bcl-2 高表达的耐药细胞 SGC-7901/TAX 中沉默 Bcl-2 基因后,TAX 再作用此沉默 Bcl-2 基因的耐药细胞株,流式结果显示细胞凋亡率较沉默基因前明显升高,MTT 也提示沉默 Bcl-2 基因后耐药细胞株生存率较沉默基因前明显减少。由此进一步表明 SGC-7901/TAX 对 TAX 耐药与 TAX 诱导 Bcl-2 的表达增加有关。

Bcl-2 基因家族是线粒体凋亡途径中的重要凋亡调节蛋白^[6],分为两类,一类为抗凋亡成员位于内质网、线粒体膜和核膜等处,包括 Bcl-2、Bcl-xL、mcl-1 均含有 3~4 个 BH 结构域;另一类为促凋亡成员:正常时存在于胞质或者细胞骨架中,包括 Bim、Bid、Bax、Bad 等。

Bcl-2 蛋白最早在人类滤泡样的 B 细胞淋巴瘤中由染色体 [t(14:18)(q32;q21)] 易位的断裂点克隆发现^[7],已知 Bcl-2 主要通过阻止凋亡而促进细

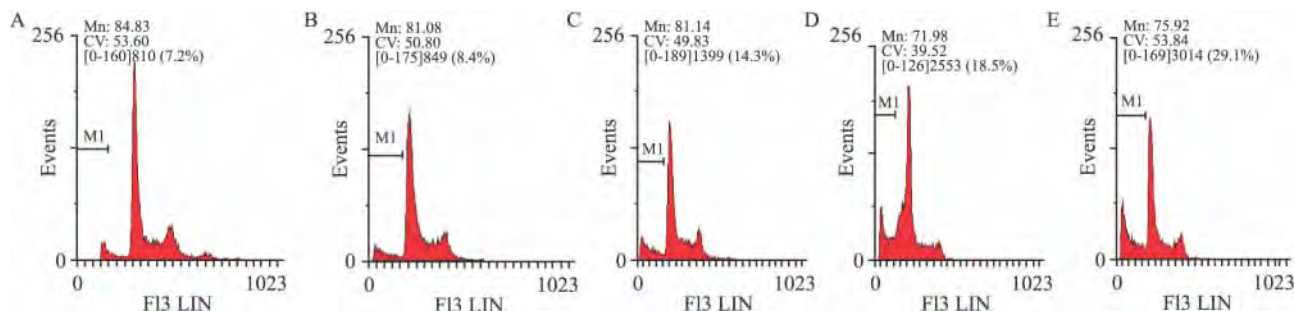


图6 沉默 Bcl-2 基因后,TAX 诱导 SGC-7901/TAX 的凋亡率

A:空白对照组;B:阴性对照组;C:Bcl-2-SiRNA1 组;D:Bcl-2-SiRNA2 组;E:Bcl-2-SiRNA3 组

胞存活。Bcl-2 定位于细胞核膜、内质网和线粒体外膜上。Bcl-2 通过 BH3 结构域与同家族的促凋亡分子如 Bax 形成异源二聚体,有研究^[8]显示当肿瘤细胞受到凋亡诱导因子的刺激后是否存活取决于 Bcl-2/Bax 的比率,当 Bax 增加时,形成 Bax/Bax 同二聚体,加速细胞凋亡,当 Bcl-2 表达增加时,形成 Bcl-2/Bax 异二聚体,抑制 Bax/Bax 同二聚体诱导的凋亡,但这些复合物凋亡调节的具体机制尚不清楚。研究^[9]显示将 Bcl-2 转染到乳腺癌细胞中,转染 Bcl-2 的细胞在相同化疗药物的作用下凋亡率明显降低了。Konopleva et al^[10]将 Bcl-2 反义寡核苷酸导入白血病细胞中,抑制其 Bcl-2 表达,发现转染后细胞的凋亡率明显减低,并且对多种化疗药物的敏感性升高。Han et al^[11]将 Bcl-2 的小干扰 RNA 转染入耐 TAX 的肺癌细胞后,细胞凋亡率较转染前明显提高了。这都与该实验结果相符合。因此,对反义 Bcl-2 寡核苷酸或其反义表达质粒的体内外抗肿瘤作用研究有重要意义,可能成为未来逆转肿瘤耐药治疗的新靶点、新思路。

参考文献

- [1] Galletti E, Magnani M, Renzulli M L, et al. Paclitaxel and docetaxel resistance: molecular mechanisms and development of new generation taxanes[J]. *Chem Med Chem*, 2007, 2(7): 920 - 42.
- [2] Chen H, Landen C N, Li Y, et al. Epigallocatechin gallate and sulforaphane combination treatment induce apoptosis in paclitaxel-resistant ovarian cancer cells through hTERT and Bcl-2 down-regulation[J]. *Exp Cell Res*, 2013, 319(5): 697 - 706.
- [3] Zhou J, Zhao W Y, Ma X, et al. The anticancer efficacy of paclitaxel liposomes modified with mitochondrial targeting conjugate in resistant lung cancer[J]. *Biomaterials*, 2013, 34(14): 3626 - 38.
- [4] Fang W S, Liang X T. Recent progress in structure activity relationship and mechanistic studies of taxol analogues[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2005, 5(1): 1 - 12.
- [5] Lo H W, Ali-Osman F. Genetic polymorphism and function of glutathione S-transferases in tumor drug resistance[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2007, 7(4): 367 - 74.
- [6] Thomas S, Quinn B A, Das S K, et al. Targeting the Bcl-2 family for cancer therapy[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17(1): 61 - 75.
- [7] Zinkel S, Gross A, Yang E. Bcl-2 family in DNA damage and cell cycle control[J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(8): 1351 - 9.
- [8] Hansen P J, Fear J M. Cheating death at the dawn of life: developmental control of apoptotic repression in the preimplantation embryo[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 413(2): 155 - 8.
- [9] Aggarwal H, Lubana P S, Jain D K, et al. Estimation of Bcl-2 protein in carcinoma of the breast and its clinical correlation in locally advanced breast cancer[J]. *J Cancer Res Ther*, 2007, 3(4): 207 - 10.
- [10] Konopleva M, Tari A M, Estrov Z, et al. Liposomal Bcl-2 antisense oligonucleotides enhance proliferation, sensitize acute myeloid leukemia to cytosine-arabinoside, and induce apoptosis independent of other antiapoptotic proteins[J]. *Blood*, 2000, 95(12): 3929 - 38.
- [11] Han Z X, Wang H M, Jiang G, et al. Overcoming paclitaxel resistance in lung cancer cells *via* dual inhibition of stathmin and bcl-2[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2013, 28(5): 398 - 405.

The role of Bcl-2 in paclitaxel-resistant gastric adenocarcinoma cells

Zhang Li, Hu Wanglai, Wang Jiayu, et al

(Dept of Immunology, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To investigate the role of Bcl-2 in paclitaxel-resistant gastric adenocarcinoma cells. **Methods**

The paclitaxel-resistant cell line SGC-7901/TAX was established by increasing drug concentration gradient and continuing induction. The difference of apoptosis rate was measured by flow cytometry using propidium iodide staining. MTT colorimetric detected cell survival rate. The protein expression levels of Bcl-2, bcl-1, Bax, Bcl-xl were detected by Western blot. The expression of Bcl-2 mRNA level in the resistant cell line was monitored by RT-PCR. Silencing of gene Bcl-2 expression was accomplished by small interfering RNA techniques. **Results** Paclitaxel-induced apoptosis in gastric adenocarcinoma cells was in a time and dose-dependent manner. Drug-resistant gastric adenocarcinoma cell line was not sensitive to paclitaxel induced apoptosis. The up-regulation of Bcl-2 protein level was obvious in the drug-resistant cell line, and Bcl-2 mRNA level was also found to be up regulated by semi-quantitative PCR. Inhibiting Bcl-2 expression by SiRNA in resistant gastric adenocarcinoma cell line increased the cell apoptosis. **Conclusion** Bcl-2 up regulation plays an important role in gastric adenocarcinoma cells resistant to paclitaxel induced apoptosis.

Key words gastric adenocarcinoma; paclitaxel; cell apoptosis; tumor drug-resistance; Bcl-2