

Bölüm 3

KANSER TEDAVİSİNDE OTOFAJİK HÜCRE ÖLÜMÜ TEMELLİ TERAPÖTİK UYGULAMALAR

Gizem AYNA DURAN¹

GİRİŞ

Güncel literatürde hücre ölümü terapötik uygulamalar perspektifinden bakılarak hücre ölümüne neden olan “nedensel (Causal)” ya da hücre ölümünün gerçekleşmesine yardım eden “yardımcı (accessory)” komponentler değerlendirilerek yorumlanmaya çalışılmaktadır. Bir önceki kitap bölümünde ayrıntılı anlatıldığı üzere Hücre Ölümü Adlandırma Komitesi’nin 2018 yılında yayınladığı derlemede ani (accidental) ve regüle edilen (regulated) hücre ölümü sınıflandırılması özetle şu şekilde yapılmaktadır: Hücreler çok zorlu çevresel şartlara maruz kalırlar ise kontrol edilemeyen bir şekilde bir diğer deyişle “ani” bir şekilde hücre ölümü sürecine girebilirler. Bunun yanı sıra; hücreler görece daha hafif endojen ve egzogen çevresel şartlara maruz kalabilirler ve bu şartlar altında adaptif stres yanıtı geliştirip aktif bir ya da birden çok hücre ölümü sürecini başlatabilirler. Regule edilen hücre ölümü çeşitleri sırasında genellikle sinyal transdüksiyon modülleri arasında bir etkileşim sözkonusudur. Örneğin “ani” (accidental) hücre ölümü farmakolojik ve genetik manüplasyonlar ile durdurulamazken regüle edilen (regulated) hücre ölümü süreçlerine müdahale edilebilmektedir. Bu noktada kimyasal bir ajanla tedavi amaçlı müdahale edilebilen noktalarda bir sonraki bölümde de bahsedilecek olan terapötik uygulamalar klinikte yerini almaktadır (1). Birincil hücre ölümünü takip eden ikinci regüle edilen (regulated) hücre ölümü dalgası sırasında hücreler ortama sitotoksik moleküller (örneğin DAMP’lar) salılabilmektedirler. Bu kısım da farmakolojik olarak hedef olarak belirlenebilecek ve manüple edilebilecek bir nokta olmaktadır. Bu kitap bölümünde kanser tedavisinde hücre ölümünü (özellikle otofajik hücre ölümünü) hedefleyen patentli farmakolojik kimyasal ve ajanlardan ayrıntılı bir şekilde bahsedilecektir.

Otofaji Mekanizması

Bir önceki kitap bölümünde tüm güncel hücre ölümü çeşitlerinden ve mekanizmalarından bahsedilmiştir. Apoptotik olmayan hücre ölümü çeşitlerinden biri

¹ Dr. İzmir Ekonomi Üniversitesi, gizem.duran@ieu.edu.tr

lağı aktif olan kanser hücrelerinde AT-101 ile apoptoz tetiklenmektedir ve farklı çalışmalarda farklı kanserlerde gösterilmiştir (80–84).

Gossypolün anti-apoptotik Bcl-2 ailesi üyesi proteinleri inhibe eden ve dolaşısıyla hücre ölümünü tetikleyen ajanlar olan BH3 mimetiklerinden olduğu keşfedilmiştir. Bu özelliği birçok in vivo ve in vitro çalışmada gösterilmiştir. Örneğin küçük hücreli olmayan akciğer kanseri hücrelerinde AT-101 muamelesi ile sispaltin ile tetiklenen antitumor etkiyi arttırdığı gösterilmiştir (85). Malign periferik sinir kılıfı tümörlerinde AT-

101 muamelesi ile kaspaz bağımsız ve apoptotik olmayan bir hücre ölümü yolunu tetiklediği görülmüştür (86). MCF-7 hücrelerinde AT-101'in apoptozu tetiklediği ve aynı zamanda da otofajinin sitoprotektif rol oynayacak şekilde indüklendiği gösterilmiştir (87). Apoptotik yolağı inhibe olmuş kanser hücrelerinde AT-101 aracılığıyla otofajik hücre ölümünün tetiklendiği gösterilmiştir. AT-101 malign glioma hücrelerinde otofajik hücre ölümünü tetiklemektedir (88). Prostat kanseri hücrelerinde de gossypol ile otofajik hücre ölümü tetiklenmektedir (89,90).

İlgili güncel derlemede de ayrıntılarıyla anlatıldığı gibi farklı birçok ajan farklı kanser hücrelerinde otofajik hücre ölümünü tetiklemektedir Aşağıda bahsedilen ajanlar ile ilgili araştırmacıların ilgili derlemeyi incelemeleri önerilmektedir (54). Örneğin, bir diğer BH3 mimetiklerinden olan **Obatoclast** ile lösemilerde, kolon, meme ve pankreas kanserinde otofajik hücre ölümü tetiklenirken, glioblastoma hücrelerinde otofajik hücre ölümü **TMZ** ve **TCH** ile indüklenmektedir. Hepatoselüler karsinom hücrelerinde lapatinib ile, lösemi ve lenfoma hücrelerinde ise **APO866** ile otofajik yolak bağımlı hücre ölümü gerçekleşmektedir.

Özet olarak ajanların kanser hücrelerinde tetikledikleri hücre ölümünün otofaji bağımlı olup olmadığını göstermek çalışmanın ilk adımı olabilmektedir. Ardından otofajinin makrotofajik yolak ile ya da spesifik otofajik yolak ile olup olmadığını göstermek önem arz etmektedir. Bir sonraki aşamada hücre ölümünün organizmada immün sistemi ne yönde tetiklediği tedavi süreçlerinde göz önünde bulundurulması gereken önemli bir noktadır.

KAYNAKÇA

1. Galluzzi L, Vitale I, Aaronson SA, et al. Molecular mechanisms of cell death: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2018. *Cell Death Differ.* 2018 Mar;25(3):486-541. doi: 10.1038/s41418-017-0012-4
2. Chen Y, Klionsky DJ. The regulation of autophagy Unanswered questions. *Journal of Cell Science* 2011 124: 161-170; doi: 10.1242/jcs.064576
3. He C, Klionsky DJ. Regulation Mechanisms and Signaling Pathways of Autophagy. *Annu Rev Genet.* 2009;43:67-93. doi: 10.1146/annurev-genet-102808-114910.
4. Kroemer G, Mariño G, Levine B. *Mol Cell.* 2010 Oct 22;40(2):280-93. doi: 10.1016/j.molcel.2010.09.023.
5. Thorburn A. Apoptosis and autophagy: Regulatory connections between two supposedly different processes. *Apoptosis.* 2008 Jan;13(1):1-9.

6. Tanida I, Ueno T, Kominami E. LC3 conjugation system in mammalian autophagy. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* Volume 36, Issue 12, December 2004, Pages 2503-2518
7. Mizushima N. Methods for monitoring autophagy. *Int J Biochem Cell Biol.* 2004 Dec;36(12):2491-502.
8. Munafó DB, Colombo MI. A novel assay to study autophagy: Regulation of autophagosome vacuole size by amino acid deprivation. *J Cell Sci.* 2001 Oct;114(Pt 20):3619-29.
9. Mizushima N, Yoshimori T. How to interpret LC3 immunoblotting. *Autophagy.* 2007 Nov-Dec;3(6):542-5.
10. Linder B, Kögel D. Autophagy in cancer cell death. *Biology* 2019, 8(4), 82; doi.org/10.3390/biology8040082
11. Levine B, Kroemer G. Autophagy in the Pathogenesis of Disease. *Cell.* 2008 11;132(1):27-42. doi: 10.1016/j.cell.2007.12.018.
12. Tang D, Kang R, Berghe T Vanden, et al. The molecular machinery of regulated cell death. *Cell Research*, 2019, 29(5). p.347-364.
13. Degenhardt K, Mathew R, Beaudoin B, et al. Autophagy promotes tumor cell survival and restricts necrosis, inflammation, and tumorigenesis. *Cancer Cell.* 2006 Jul;10(1):51-64.
14. Ding WX, Ni HM, Gao W, Hou YF, Melan MA, Chen X, et al. Differential effects of endoplasmic reticulum stress-induced autophagy on cell survival. *J Biol Chem.* 2007 Feb 16;282(7):4702-10.
15. Hu YL, DeLay M, Jahangiri A, Molinaro AM, Rose SD, Carbonell WS, et al. Hypoxia-induced autophagy promotes tumor cell survival and adaptation to antiangiogenic treatment in glioblastoma. *Cancer Res.* 2012 Apr 1;72(7):1773-83. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-11-3831.
16. Zhong L-X, Zhang Y, Wu M-L, et al. Resveratrol and STAT inhibitor enhance autophagy in ovarian cancer cells. *Cell Death Discov.* 2016 Jan 25;2:15071. doi: 10.1038/cddiscovery.2015.71.
17. Sui X, Chen R, Wang Z, et al. Autophagy and chemotherapy resistance: A promising therapeutic target for cancer treatment. *Cell Death Dis.* 2013 Oct 10;4:e838. doi: 10.1038/cddis.2013.350.
18. Das CK, Mandal M, Kögel D. Pro-survival autophagy and cancer cell resistance to therapy. *Cancer Metastasis Rev.* 2018 Dec;37(4):749-766. doi: 10.1007/s10555-018-9727-z.
19. Notte A, Ninane N, Arnould T, et al. Hypoxia counteracts taxol-induced apoptosis in MDA-MB-231 breast cancer cells: Role of autophagy and JNK activation. *Cell Death Dis.* 2013 May 16;4:e638. doi: 10.1038/cddis.2013.167.
20. Min H, Xu M, Chen ZR, et al. Bortezomib induces protective autophagy through AMP-activated protein kinase activation in cultured pancreatic and colorectal cancer cells. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014 Jul;74(1):167-76. doi: 10.1007/s00280-014-2451-7.
21. Yang S, Wang X, Contino G, et al. Pancreatic cancers require autophagy for tumor growth. *Genes Dev.* 2011 Apr 1;25(7):717-29. doi: 10.1101/gad.2016111.
22. DeVorkin L, Hattersley M, Kim P, et al. Autophagy inhibition enhances sunitinib efficacy in clear cell ovarian carcinoma. *Mol Cancer Res.* 2017 Mar;15(3):250-258. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-16-0132.
23. Qiu S, Sun L, Jin Y, et al. Silencing of BAG3 promotes the sensitivity of ovarian cancer cells to cisplatin via inhibition of autophagy. *Oncol Rep.* 2017 Jul;38(1):309-316. doi: 10.3892/or.2017.5706.
24. Hengartner MO. The biochemistry of apoptosis. *Nature.* 2000 Oct 12;407(6805):770-6.
25. Kroemer G, Martin SJ. Caspase-independent cell death. *Nature Medicine.* 2005, 725-730.
26. Nikolettoulou V, Markaki M, Palikaras K, et al. Crosstalk between apoptosis, necrosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta.* 2013 Dec;1833(12):3448-3459. doi: 10.1016/j.bbamcr.2013.06.001.
27. Green DR, Levine B. To be or not to be? How selective autophagy and cell death govern cell fate. *Cell.* 2014 Mar 27;157(1):65-75. doi: 10.1016/j.cell.2014.02.049.
28. Chen Y, McMillan-Ward E, Kong J, et al. Oxidative stress induces autophagic cell death independent of apoptosis in transformed and cancer cells. *Cell Death Differ.* 2008 Jan;15(1):171-82.
29. Zhu P, Xue J, Zhang ZJ, et al. Helicobacter pylori VacA induces autophagic cell death in gastric epithelial cells via the endoplasmic reticulum stress pathway article. *Cell Death Dis.* 2017, 8, 3207.

30. Bursch W, Ellinger A, Kienzl H, et al. Active cell death induced by the anti-estrogens tamoxifen and ICI 164 384 in human mammary carcinoma cells (MCF-7) in culture: The role of autophagy. *Carcinogenesis*. 1996;17(8):1595–607.
31. Öz Arslan D, Oz Arslan D, Korkmaz G, et al. Autophagy: a cellular stress and a cell death mechanism (Otofaji: bir hücresel stres yanıtı ve ölüm mekanizması). *Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilim Derg*. 2011; Cilt:2, Sayı:4
32. Mehrpour M, Esclatine A, Beau I, et al. Overview of macroautophagy regulation in mammalian cells. *Cell Res*. 2010 Jul;20(7):748–62. doi: 10.1038/cr.2010.82.
33. Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: Recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012. *Cell Death Differ*. 2012 Jan;19(1):107–20. doi: 10.1038/cdd.2011.96.
34. Blommaert EFC, Krause P, Schellens JPM, et al. Title The phosphatidylinositol 3-kinase inhibitors wortmannin and LY294002 inhibit autophagy in isolated rat hepatocytes *Eur J Biochem*. 1997 Jan 15;243(1-2):240–6.
35. Seglen PO, Gordon PB. 3-Methyladenine: Specific inhibitor of autophagic/lysosomal protein degradation in isolated rat hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1982 Mar;79(6):1889–92.
36. Liu Y, Shoji-Kawata S, Sumpter RM, et al. Autosis is a Na⁺,K⁺-ATPase-regulated form of cell death triggered by autophagy-inducing peptides, starvation, and hypoxia-ischemia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Dec 17;110(51):20364–71. doi: 10.1073/pnas.1319661110.
37. Nassour J, Radford R, Correia A, et al. Autophagic cell death restricts chromosomal instability during replicative crisis. *Nature*. 2019, 565, 659–663.
38. Berry DL, Baehrecke EH. Growth Arrest and Autophagy Are Required for Salivary Gland Cell Degradation in *Drosophila*. *Cell*. 2007 Dec 14;131(6):1137–48.
39. Yu L, Wan F, Dutta S, et al. Autophagic programmed cell death by selective catalase degradation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006 Mar 28;103(13):4952–7.
40. Shimizu S, Kanaseki T, Mizushima et al. Role of Bcl-2 family proteins in a non-apoptotic programmed cell death dependent on autophagy genes. *Nature Cell Biology* 6, 1221–1228
41. Yu L, Alva A, Su H, et al. Regulation of an ATG7-beclin 1 program of autophagic cell death by caspase-8. *Science*. 2004 Jun 4;304(5676):1500–
42. Jia L, Dourmashkin RR, Allen PD, et al. Inhibition of autophagy abrogates tumour necrosis factor α induced apoptosis in human T-lymphoblastic leukaemic cells. *Br J Haematol*. 1997 Sep;98(3):673–85.
43. Chi S, Kitanaka C, Noguchi K, et al. Oncogenic Ras triggers cell suicide through the activation of a caspase-independent cell death program in human cancer cells. *Oncogene*. 1999 Apr 1;18(13):2281–90.
44. Xue L, Fletcher GC, Tolkovsky AM. Autophagy is activated by apoptotic signalling in sympathetic neurons: An alternative mechanism of death execution. *Mol Cell Neurosci*. 1999 Sep;14(3):180–98.
45. Petrovski G, Zahuczky G, Katona K, et al. Clearance of dying autophagic cells of different origin by professional and non-professional phagocytes. *Cell Death Differ*. 2007;14(6):1117–28.
46. Petrovski G, Ayna G, Majai G, et al. Phagocytosis of cells dying through autophagy induces inflammasome activation and IL-1 β release in human macrophages. *Autophagy*. 2011;7(3):321–30.
47. Ayna G, Krysko D V, Kaczmarek A, et al. ATP release from dying autophagic cells and their phagocytosis are crucial for inflammasome activation in macrophages. *PLoS One*. 2012;7(6):e40069. doi: 10.1371/journal.pone.0040069.
48. Meredith JE, Fazeli B, Schwartz MA. The extracellular matrix as a cell survival factor. *Mol Biol Cell*. 1993 Sep;4(9):953–61.
49. Raff MC. Social controls on cell survival and cell death. *Nature*. 1992 Apr 2;356(6368):397–400.
50. Gilmore AP. Anoikis. *Cell Death Differ*. 2005 Nov;12 Suppl 2:1473–7
51. Chiarugi P, Giannoni E. Anoikis: A necessary death program for anchorage-dependent cells. *Biochemical Pharmacology*. *Biochem Pharmacol*. 2008 Dec 1;76(11):1352–64. doi: 10.1016/j.bcp.2008.07.023.

52. Frisch SM, Francis H. Disruption of epithelial cell-matrix interactions induces apoptosis. *J Cell Biol.* 1994 Feb;124(4):619-26.
53. Mathew R, Karantza-Wadsworth V, White E. Role of autophagy in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2007 Dec;7(12): 961-967.
54. Fulda S, Kögel D. Cell death by autophagy: Emerging molecular mechanisms and implications for cancer therapy. *Oncogene.* 2015 Oct 1;34(40):5105-13. doi: 10.1038/onc.2014.458.
55. Jang M, Cai L, Udeani GO, et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. *Science.* 1997 Jan 10;275(5297):218-20.
56. Selvaraj S, Sun Y, Sukumaran P, et al. Resveratrol activates autophagic cell death in prostate cancer cells via downregulation of STIM1 and the mTOR pathway. *Mol Carcinog.* 2016 May; 55(5):818-831.
57. Fukuda T, Oda K, Hiraike OW, et al. Autophagy inhibition augments resveratrol-induced apoptosis in Ishikawa endometrial cancer cells. *Oncol Lett.* 2016 Oct;12(4):2560-2566.
58. Dasari SK, Bialik S, Levin-Zaidman S, et al. Signalome-wide RNAi screen identifies GBA1 as a positive mediator of autophagic cell death. *Oncol Lett.* 2016 Oct;12(4):2560-2566.
59. Puissant A, Robert G, Fenouille N, et al. Resveratrol promotes autophagic cell death in chronic myelogenous leukemia cells via JNK-mediated p62/SQSTM1 expression and AMPK activation. *Cancer Res.* 2010 Feb 1;70(3):1042-52. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-3537.
60. Pyo JO, Jang MH, Kwon YK, et al. Essential roles of Atg5 and FADD in autophagic cell death: Dissection of autophagic cell death into vacuole formation and cell death. *J Biol Chem.* 2005 May 27;280(21):20722-9.
61. Li P, Du Q, Cao Z, et al. Interferon-gamma induces autophagy with growth inhibition and cell death in human hepatocellular carcinoma (HCC) cells through interferon-regulatory factor-1 (IRF-1). *Cancer Lett.* 2012 Jan 28;314(2):213-22. doi: 10.1016/j.canlet.2011.09.031.
62. Chang CP, Yang MC, Lei HY. Concanavalin A/IFN-gamma triggers autophagy-related necrotic hepatocyte death through IRGM1-mediated lysosomal membrane disruption. *PLoS One.* 2011;6(12):e28323. doi: 10.1371/journal.pone.0028323.
63. Cea M, Cagnetta A, Fulciniti M, et al. Targeting NAD⁺ salvage pathway induces autophagy in multiple myeloma cells via mTORC1 and extracellular signal-regulated kinase (ERK1/2) inhibition. *Blood.* 2012 Oct 25;120(17):3519-29. doi: 10.1182/blood-2012-03-416776.
64. Ginet V, Puyal J, Rummel C, et al. A critical role of autophagy in antileukemia/lymphoma effects of APO866, an inhibitor of NAD biosynthesis. *Autophagy.* 2014 Apr;10(4):603-17. doi: 10.4161/auto.27722.
65. Lima S, Takabe K, Newton J, et al. TP53 is required for BECN1- and ATG5-dependent cell death induced by sphingosine kinase 1 inhibition. *Autophagy.* 2018;14(6):942-957. doi: 10.1080/15548627.2018.1429875.
66. Liu YL, Yang PM, Shun CT, et al. Autophagy potentiates the anti-cancer effects of the histone deacetylase inhibitors in hepatocellular carcinoma. *Autophagy.* 2010, Nov;6(8):1057-65. DOI:10.4161/auto.6.8.13365.
67. Segala G, David M, De Medina P, et al. Dendrogenin A drives LXR to trigger lethal autophagy in cancers. *Nat Commun.* 8: 1903. DOI:10.1038/s41467-017-01948-9.
68. Antman KH. Introduction: The History of Arsenic Trioxide in Cancer Therapy. *Oncologist.* 2001;6 Suppl 2:1-2. DOI: 10.1634/theoncologist.6-suppl_2-1
69. Li CL, Wei HL, Chen J, et al. Arsenic trioxide induces autophagy and antitumor effects in Burkitt's lymphoma Raji cells. *Oncol Rep.* 2014 Oct;32(4):1557-63. doi: 10.3892/or.2014.3369.
70. Goussetis DJ, Altman JK, Glaser H, et al. Autophagy is a critical mechanism for the induction of the antileukemic effects of arsenic trioxide. *J Biol Chem.* 2010 Sep 24;285(39):29989-97. doi:10.1074/jbc.M109.090530.
71. Isakson P, Bjørås M, Bøe SO, et al. Autophagy contributes to therapy-induced degradation of the PML/RARA oncoprotein. *Blood.* 2010 Sep 30;116(13):2324-31. doi: 10.1182/blood-2010-01-261040.

91. Kanzawa T, Zhang L, Xiao L, et al. Arsenic trioxide induces autophagic cell death in malignant glioma cells by upregulation of mitochondrial cell death protein BNIP3. *Oncogene*. 2005 Feb 3;24(6):980-DOI: 10.1038/SJ.ONC.1208095.
73. Daido S, Kanzawa T, Yamamoto A, et al. Pivotal role of the cell death factor BNIP3 in ceramide-induced autophagic cell death in malignant glioma cells. *Cancer Research* 64(12):4286-93. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-03-3084.
74. Wang W jia, Wang Y, Chen H zi, et al. Orphan nuclear receptor TR3 acts in autophagic cell death via mitochondrial signaling pathway. *Nat Chem Biol*. 2014; 10: 133-140.
75. Sentelle RD, Senkal CE, Jiang W, et al. Ceramide targets autophagosomes to mitochondria and induces lethal mitophagy. *Nat Chem Biol*. 2012 Oct;8(10):831-8. DOI: 10.1038/nchembio.1059.
76. Dany M, Gencer S, Nganga R, et al. Targeting FLT3-ITD signaling mediates ceramide-dependent mitophagy and attenuates drug resistance in AML. *Blood*. 2016 Oct 13;128(15):1944-1958. DOI: 10.1182/blood-2016-04-708750.
77. Králová V, Benešová S, Rudolf E, et al. Selenite-induced apoptosis and autophagy in colon cancer cells. *Toxicol In Vitro*. 2012 Mar;26(2):258-68. doi: 10.1016/j.tiv.2011.12.010.
78. Kim EH, Sohn S, Kwon HJ, et al. Sodium selenite induces superoxide-mediated mitochondrial damage and subsequent autophagic cell death in malignant glioma cells. *Cancer Res*. 2007 Jul 1;67(13):6314-24.
79. Coutinho EM. Gossypol: A contraceptive for men. *Contraception*. 2002 Apr;65(4):259-63.
80. Meng Y, Tang W, Dai Y, et al. Natural BH3 mimetic (-)-gossypol chemosensitizes human prostate cancer via Bcl-xL inhibition accompanied by increase of Puma and Noxa. *Mol Cancer Ther*. 2008 Jul;7(7):2192-202. doi: 10.1158/1535-7163.MCT-08-0333.
81. Paoluzzi L, Gonen M, Gardner JR, et al. Targeting Bcl-2 family members with the BH3 mimetic AT-101 markedly enhances the therapeutic effects of chemotherapeutic agents in in vitro and in vivo models of B-cell lymphoma. *Blood*. 2008 Jun 1;111(11):5350-8. doi: 10.1182/blood-2007-12-129833.
82. Wolter KG, Wang SJ, Henson BS, et al. (-)-Gossypol inhibits growth and promotes apoptosis of human head and neck squamous cell carcinoma in vivo. *Neoplasia*. 2006 Mar;8(3):163-72. DOI: 10.1593/neo.05691.
83. Balakrishnan K, Wierda WG, Keating MJ, et al. Gossypol, a BH3 mimetic, induces apoptosis in chronic lymphocytic leukemia cells. *Blood*. 2008; 112(5):1971-1980.
84. Lu MD, Li LY, Li PH, et al. Gossypol induces cell death by activating apoptosis and autophagy in HT-29 cells. *Mol Med Rep*. 2017 Aug;16(2):2128-2132. doi: 10.3892/mmr.2017.6804.
85. Ren T, Shan J, Li M, et al. Small-molecule BH3 mimetic and pan-Bcl- inhibitor AT-101 enhances the antitumor efficacy of cisplatin through inhibition of APE1 repair and redox activity in non-small-cell lung cancer. *Drug Des Devel Ther*. 2015 Jun 8;9:2887-910. doi: 10.2147/DDDT.S82724
86. Kaza N, Kohli L, Graham CD, et al. BNIP3 regulates AT101 [(-)-gossypol] induced death in malignant peripheral nerve sheath tumor cells. *PLoS One*. 2014 May 13;9(5):e96733. doi: 10.1371/journal.pone.0096733.
87. Antonietti P, Gessler F, Düssmann H, et al. AT-101 simultaneously triggers apoptosis and a cytoprotective type of autophagy irrespective of expression levels and the subcellular localization of Bcl-xL and Bcl-2 in MCF7 cells. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Apr;1863(4):499-509. doi: 10.1016/j.bbamcr.2015.12.016.
88. Voss V, Senft C, Lang V, et al. The pan-Bcl-2 inhibitor (-)-gossypol triggers autophagic cell death in malignant glioma. *Mol Cancer Res*. 2010 Jul;8(7):1002-16. doi: 10.1158/1541-7786.MCR-09-0562.
89. Lian J, Wu X, He F, et al. A natural BH3 mimetic induces autophagy in apoptosis-resistant prostate cancer via modulating Bcl-2-Beclin1 interaction at endoplasmic reticulum. *Cell Death Differ*. 2011 Jan;18(1):60-71. doi: 10.1038/cdd.2010.74.
90. Lian J, Karnak D, Xu L. The Bcl-2-Beclin 1 interaction in (-)-gossypol-induced autophagy versus apoptosis in prostate cancer cells. *Autophagy*. 2010 Nov;6(8):1201-3. doi: 10.1038/cdd.2010.74.