

# 世界华人消化杂志

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2005 年 7 月 28 日 第 13 卷 第 14 期 (Volume 13 Number 14)



**14/2005**

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊,  
2003年百种中国杰出学术期刊,

《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学  
类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊.

世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》,  
荷兰《医学文摘库/医学文摘》,  
俄罗斯《文摘杂志》收录.

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

## ● 目 次 ●

2005 年 7 月 28 日

第 13 卷

第 14 期

(总第142期)

### 述 评

- 1645 进一步加强慢性肝炎、肝纤维化治疗研究 姚希贤, 崔东来  
1650 胃肠道生理功能的再认识与肠衰竭 丁连安, 黎介寿

### 胃 癌

- 1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响  
黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众

### 肝 癌

- 1658 Maxizyme对肝癌突变抑癌基因p53的抑制作用 李岩, 林菊生, 孔心涓  
1663 肝癌组织中TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 1R II和NF- $\kappa$ B的表达  
缪林, 张锁林, 季国忠, 范志宁, 刘政, 张平, 杨春  
1667 肝细胞癌组织和外周血中肿瘤/睾丸抗原SSX-2和SSX-5的表达  
吴力群, 王新建, 张斌, 卢云, 杨金镛  
1673 肝细胞肝癌患者肿瘤/睾丸抗原SSX-1及NY-ESO-1mRNA的表达意义  
吴力群, 王新建, 卢云, 张斌, 杨金镛  
1679 重组人内皮抑素真核表达载体pCD-sEndo的构建和表达 邵俊伟, 刘然义, 易继林, 卢绮萍, 黄文林  
1684 蛋白质芯片飞行质谱技术检测体外培养的肝癌细胞株与转染HBV的肝癌细胞株蛋白质的差异表达  
丁守怡, 钱冬萌, 闫志勇, 宋旭霞, 牟文凤, 王斌

### 病毒性肝炎

- 1688 酵母双杂交技术筛选白细胞cDNA文库中新基因NS2TP蛋白结合蛋白基因  
张黎颖, 成军, 邓红, 郭江, 郭风劲, 王巧侠  
1692 抗HBV多聚酶TP区VH抗体体外可抑制HBV复制 于俊岩, 兰林, 王宇明, 丁世涛  
1696 黑龙江地区乙型肝炎病毒耐药变异与基因型 李迪, 张淑云, 谷鸿喜, 程险峰, 王晓燕  
1700 丙型肝炎病毒非结构蛋白2反式调节基因NS2TP的克隆化 张黎颖, 成军, 邓红, 刘妍, 王琳

### 基础研究

- 1705 苷脱氨酶基因对小鼠大剂量化疗的保护作用  
路平, 王永来, 金锋, 陈波, 姚凡, 王舒宝, 陈峻青, 徐惠绵, 赵实诚  
1713 三氧化二砷注射液对胰腺癌细胞系PC-3的体外作用 刘静冰, 秦叔逵, 李进  
1717 消炎痛和阿斯匹林对C57BL/6和Balb/c小鼠胃酸分泌的效应 王昌成  
1721  $^{103}$ Pd诱导犬胆管增殖平滑肌细胞凋亡及对相关基因的影响  
何贵金, 吴荣, 高沁怡, 许书河, 高红, 姜维国, 蒋涛, 戴显伟, 马凯

### 文献综述

- 1725 热休克蛋白家族与肝癌的关系 吴顺华, 成军, 郑玉建  
1731 HCV的基因型及其变异与肝细胞癌的关系 韩苏夏, 刘正稳, 马瑾璐  
1734 移植肝细胞基因调控研究 林勇, 曾欣  
1737 三氧化二砷治疗肝癌的分子机制 吴顺华, 成军, 郑玉建  
1744 丁酸钠抗肿瘤作用的新进展 崔路佳, 高善玲, 裴风华  
1747 聚乙二醇 $\alpha$ -干扰素治疗慢性乙型肝炎的研究进展 周平, 谢仁江  
1750 人类免疫缺陷病毒与黏膜免疫 杨贵波, 邵一鸣

### 研究快报

- 1760 胰腺外分泌功能研究大鼠模型的建立 陈小燕, 李兆申, 屠振兴, 曹晓鹏  
1762 乳杆菌细胞壁表面黏附相关蛋白的提取和鉴定 王斌, 魏泓  
1766 幽门螺杆菌和促胃液素在胃癌前病变中的作用 郑宗茂, 吴灵飞, 冯家琳, 李国平, 王炳周  
1768 表皮生长因子及其受体mRNA在胃溃疡发生与愈合过程中的表达 谭永港, 舒晴, 邱猛进, 张永锋  
1770 巢式PCR-RFLP法对湖南省乙型肝炎病毒Bj和Ba基因亚型的初步鉴定  
温志立, 谭德明, 杨铁一, 徐铿  
1773 阿霉素对胃癌细胞内游离Ca $^{2+}$ 浓度的影响 邢承忠, 路平, 郭晓临, 刘瑾, 徐惠绵, 袁媛  
1776 BALB/C小鼠炎症性肠病动物模型建立方法探讨 刘敬军, 郑长青, 潘丽丽, 闻英, 胡刚正

临床经验	1779 社会因素对老年人群幽门螺杆菌感染的影响 张玫, 汤哲, 汤欣, 蔡玲, 牛小羽, 孙书春 1781 口服药物致食管溃疡22例 王孟春, 张丽瑶, 钟琳琳 1782 经内镜乳头括约肌预切开术在困难ERCP中的应用 王庆, 秦明放, 勾承月, 李宁, 王震宇, 邹富胜 1785 肠镜检查肠道准备无效率的影响因素 蔡文智, 智发朝, 李凤伶, 陈秀云, 姜泊 1787 中国人与非洲黑人 <i>H. pylori</i> 相关胃十二指肠疾病发生情况比较及分析 廖常奎, Geojanna GA 1790 大肠癌术后时辰化疗联合中医时间医学治疗的临床研究 张思奋, 罗湛滨, 吴文江, 何晶, 范小华 1792 幽默疗法辅助治疗慢性萎缩性胃炎53例 阮鹏, 阮浩然 1794 肝炎肝硬化患者血清IL-10、IL-18水平及意义 谭永港, 刘俊, 丁世华, 刘新民 1797 暴发性胰腺炎时腹腔室隔综合征的联合治疗40例 孙早喜, 孙诚谊
致 谢	1800 致谢世界华人消化杂志编委
封面故事	1652 AGS细胞系中12-LOX的表达及其抑制剂对细胞增殖的影响 黄彩云, 陈丰霖, 李建英, 陈治新, 王小众 世界华人消化杂志 2005;13(14):1652-1657 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.htm">http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.htm</a>
国际会议	13th United European Gastroenterology Week, UEGW October 15-20, 2005  American College of Gastroenterology Annual Scientific Meeting October 28-November 2, 2005  ISGCON 2005 November 11-15, 2005 <a href="mailto:isgcon2005@yahoo.co.in">isgcon2005@yahoo.co.in</a> <a href="http://www.isgcon2005.com">isgcon2005.com</a>  Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 <a href="http://www.asge.org/education">www.asge.org/education</a>  II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 <a href="mailto:gec@stradini.lv">gec@stradini.lv</a> <a href="http://www.gastroenterologs.lv">www.gastroenterologs.lv</a>  2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 <a href="mailto:c.chase@imedex.com">c.chase@imedex.com</a> <a href="http://www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm">www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm</a>  10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 <a href="mailto:isde@sapmea.asn.au">isde@sapmea.asn.au</a> <a href="http://www.isde.net">www.isde.net</a>

<div>世界华人消化杂志</div> <div>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</div> <div>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (半月刊)  创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2005-07-28 原刊名 新消化病学杂志</div> <div>名誉总编辑 潘伯荣 社长总编辑 马连生 编辑部主任 张海宁 中文编辑 潘伯荣 张海宁 英文编辑 张海宁 排版校对 张敏 张勇 李琪</div>	<div>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 出版 世界胃肠病学杂志社 100023, 北京市2345信箱 E-mail: <a href="mailto:wjgd@wjgnet.com">wjgd@wjgnet.com</a> <a href="http://www.wjgnet.com">http://www.wjgnet.com</a> 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893 印刷 北京科信印刷厂 发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱) 订购 全国各地邮电局 邮购 世界胃肠病学杂志社发行部 (100023, 北京市2345信箱) 电话: 010-85381901 传真: 010-85381893</div>	<div>世界华人消化杂志被评为中国科技核心期刊, 2003年百种中国杰出学术期刊, 《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊, 中国科技论文统计源期刊. 世界华人消化杂志的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录.</div> <div>特别声明 本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.</div> <div>2005年版权归世界胃肠病学杂志社所有</div>
--	---	---

ISSN 1009-3079	邮发代号	国外代号	国内定价	广告经营许可证
CN 14-1260/R	82-262	M 4481	每期24.00元 全年576.00元	1401004000050

[www.wjgnet.com](http://www.wjgnet.com)

# 三氧化二砷注射液对胰腺癌细胞系 PC-3 的体外作用

刘静冰, 秦叔逵, 李 进

刘静冰, 秦叔逵, 中国人民解放军第八一医院全军肿瘤中心  
江苏省南京市 210002  
李进, 上海复旦大学医学院附属肿瘤医院 上海市 200032  
刘静冰, 女, 1975-04-06 生, 江苏省睢宁县人, 汉族, 2001 级南京中医药大学中西医结合肿瘤内科硕士。  
南京军区医学科研“十·五”计划课题, No. 02MA014  
通讯作者: 秦叔逵, 210002, 江苏省南京市杨公井 34 标 34 号, 中国人民解放军第八一医院全军肿瘤中心肿瘤内科。qinsk@cscs.org.cn  
电话: 025-84453932 传真: 025-84453906  
收稿日期: 2005-02-14 接受日期: 2005-03-22

## Effect of arsenic trioxide on pancreatic carcinoma cell line PC-3 *in vitro*

Jing-Bing Liu, Shu-Kui Qin, Jin Li

Jing-Bing Liu, Shu-Kui Qin, Oncology Center of Chinese PLA 81<sup>st</sup> Hospital, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China  
Jin Li, the Affiliated Tumor Hospital, Medical College, Shanghai Fudan University, Shanghai, 200032, China  
Supported by Nanjing Military Region, No. 02MA014  
Correspondence to: Shu-Kui Qin, Cancer Center of PLA 81<sup>st</sup> Hospital, No.34, 34 Biao, Yanggongjing Street, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. qinsk@hotmail.com  
Received: 2005-02-14 Accepted: 2005-03-22

## Abstract

**AIM:** To explore the biological effect of arsenic trioxide ( $As_2O_3$ ) on human pancreatic carcinoma cell line PC-3 and its mechanism.

**METHODS:** MTT assay was used to observe the inhibitory actions of  $As_2O_3$  on PC-3 cells at various concentrations. The apoptotic rate and growth cycle of the cells were detected by flow cytometry. The changes of the cells' ultra-structures were observed under electron microscope. The expression of apoptosis-related gene protein (Fas, Fas-L, Bcl-2, Bax) was detected by immunohistochemical staining.

**RESULTS:**  $As_2O_3$  inhibited the proliferation of PC-3 cells in a concentration- and time-dependent manner. Marked apoptosis peak was observed and the cells were mainly blocked in S phase (14.86-63.66%). PC-3 cells showed obvious feature of apoptosis under electron microscope, such as intact cell membrane, pyknosis of chromatin, nuclear fragmentation and apoptotic body formation. Bcl-2 protein was weakly expressed (+++) in controls, but strongly expressed (+) in  $As_2O_3$ -treated cells. Fas-L protein were weakly (+) and negatively (-) expressed in con-

trols respectively, but strongly expressed (+++) in  $As_2O_3$ -treated cells.

**CONCLUSION:**  $As_2O_3$  can inhibit the proliferation and induce the apoptosis of human pancreatic carcinoma cell PC-3 and the mechanism is probably related to its effect on the regulation of Fas, Fas-L and Bcl-2 expression.

**Key Words:** Arsenic trioxide; Pancreatic carcinoma; MTT assay; Flow cytometry; Immunohistochemistry

Liu JB, Qin SK, Li J. Effect of arsenic trioxide on pancreatic carcinoma cell line PC-3 *in vitro*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(14):1713-1716

## 摘要

**目的:** 探讨三氧化二砷(亚砷酸,  $As_2O_3$ )注射液对人类胰腺癌细胞的生物学效应及其作用机制。

**方法:** 采用MTT法观察不同浓度的 $As_2O_3$ 对人类胰腺癌细胞株PC-3细胞生长的抑制作用;以流式细胞术观察细胞的凋亡率及生长周期的变化;以透射电镜观察其超微结构的变化;以免疫组织化学的方法,观察凋亡相关基因蛋白(Fas, Fas-L, Bcl-2和Bax)表达的变化。

**结果:** 不同剂量(1、2和4 mg/L)的 $As_2O_3$ 均可抑制PC-3细胞的增殖,且抑制率具有浓度和时间依赖性;流式细胞仪检测显示明显的凋亡峰出现,并使细胞周期主要被阻滞在S期(14.86-63.66%);电镜观察显示了药物作用后的癌细胞具有明显的凋亡特征性改变:细胞膜完整、染色质固缩、核碎裂、凋亡小体形成等;免疫组化研究表明 $As_2O_3$ 注射液对PC-3细胞表达的凋亡相关基因具有一定调节作用,即可下调Bcl-2(+++~+)的表达,上调Fas(+~+++)、Fas-L(-~+++~+)的表达。

**结论:**  $As_2O_3$ 注射液对人类胰腺癌细胞株PC-3具有较强的直接抑制作用,可以诱导癌细胞凋亡,这可能与它能够调节癌细胞的Fas, Fas-L和Bcl-2等基因蛋白的表达密切相关。

**关键词:** 三氧化二砷; 胰腺癌; MTT 法; 流式细胞术; 免疫组化

刘静冰, 秦叔逵, 李进. 三氧化二砷注射液对胰腺癌细胞系PC-3的体外作用. *世界华人消化杂志* 2005;13(14):1713-1716  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1713.asp>

## 0 引言

胰腺癌(pancreatic carcinoma)<sup>[1-4]</sup>是胰腺的外分泌性腺癌,为临床常见的消化系统恶性肿瘤,其发病率占全部恶性肿瘤的1-2%,并呈逐渐增加的趋势;因本病的预后极差,死亡率几乎与发病率接近,而被称之为癌症的王中之王。吉西他滨(Gemcitabine, GEM, 双氟胞苷, 健择)<sup>[5-8]</sup>在减轻患者疼痛和改善生活质量方面具有一定的作用,可使中位生存期从3.5 mo延长至4.5 mo,虽然其客观有效率仅11%,与5-Fu相比并没有明显提高,对于多数患者疗效仍然不能令人满意,而且价格昂贵。三氧化二砷(arsenic trioxide, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 亚砷酸)注射液治疗APL疗效突出,在原发性肝癌<sup>[9-15]</sup>的研究和临床应用上亦取得可喜的成果,显示出良好的前景,但As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>与胰腺癌<sup>[16-20]</sup>的研究仍处于初期阶段,仅见个别文献。我们以人类胰腺癌细胞株PC-3作为模型,研究As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>注射液对胰腺癌细胞的生物学效应及其作用机制,希望为胰腺癌的临床治疗提供一种新的有效药物。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人类胰腺癌细胞株PC-3,引种自北京协和医科大学协和医院病理科。将细胞接种于无菌培养瓶中,加入适量RPMI1640培养液(含150 mL/L的小牛血清、青霉素100 mg/L、链霉素100 mg/L),于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>及饱和湿度的培养箱中培养。细胞呈单纯贴壁生长,每3-5 d传代1次。亚砷酸(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)注射液:哈尔滨伊达药业有限公司上市药品。

**1.2 方法** 将对数生长期的细胞按 $1 \times 10^9$ /L接种于培养瓶中,待细胞完全贴壁后(约4-5 h),给药组加入不同浓度的药物,阴性对照组加入等体积的培养液,培养至预定时间,用倒置显微镜观察细胞生长状况和形态学改变。取 $2 \times 10^7$ /L的活细胞接种于96孔培养板中,待细胞贴壁后,加入不同浓度的药物培养至预定时间,每孔加入5 g/L的MTT 20  $\mu$ L,继续培养3 h,弃上清,每孔加入二甲亚砜(DMSO)100  $\mu$ L,

波长570 nm处测出用药后24、48、72 h各孔吸光度值(A),并计算细胞生长抑制率(%) =  $(1 - \text{加药孔平均} A \text{值} / \text{对照孔平均} A \text{值}) \times 100\%$ 。取 $1.0 \times 10^6$ 的活细胞接种于培养瓶中,待细胞贴壁后分别加入终浓度为2 mg/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>溶液,置培养箱中培养至预定时间。消化,离心,固定,加入5 g/L的碘化丙啶(Propidium Iodide)1 mL进行染色,过滤后,存放在4℃冰箱内20 min后上流式细胞仪检测。使用软件CELL Quest进行分析。取 $1.0 \times 10^6$ 活细胞接种于培养瓶中,待细胞贴壁后,加入终浓度为2 mg/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>溶液,培养至预定时间后刮取细胞,2 000 r/min离心15 min后以40 g/L戊二醛固定、脱水、渗透、包埋、超薄切片,铀-铅双染色,透射电镜下观察,摄片。收集与As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(终浓度为2 mg/L)孵育48 h的PC-3细胞,固定,晾干。按免疫组化试剂盒所示方法(SP法)进行操作。阳性判断:以胞质和/或胞膜呈棕黄色为阳性细胞,油镜下观察200个细胞,计算阳性细胞百分率。以阳性率<5%为(-);5-25%为(+);26-50%为(++);>50%则为(+++)。

**统计学处理** 采用SPSS-11软件进行相关资料处理。统计变量以mean $\pm$ SD表示, $P < 0.05$ 表示差异具有显著性。

## 2 结果

**2.1 PC-3细胞的形态学变化** 倒置显微镜下观察,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>注射液可明显抑制PC-3细胞的生长。随着与As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>共同孵育时间的延长,PC-3细胞的增殖逐渐受到抑制,细胞形态逐渐变圆,脱壁。细胞间接触松散,胞质中颗粒增多,细胞周围出现碎片,部分细胞死亡后漂浮在培养液中,而未用药对照组细胞呈上皮型,贴壁生长,细胞轮廓清楚,细胞间接触紧密,胞质中无异常颗粒出现,增殖旺盛(图1)。

**2.2 PC-3细胞生长的影响** MTT法的原理是噻唑蓝在活细胞内线粒体脱氢酶的催化下还原为深蓝色的甲臆而死细胞无此作用,因此可以根据甲臆生成量的多

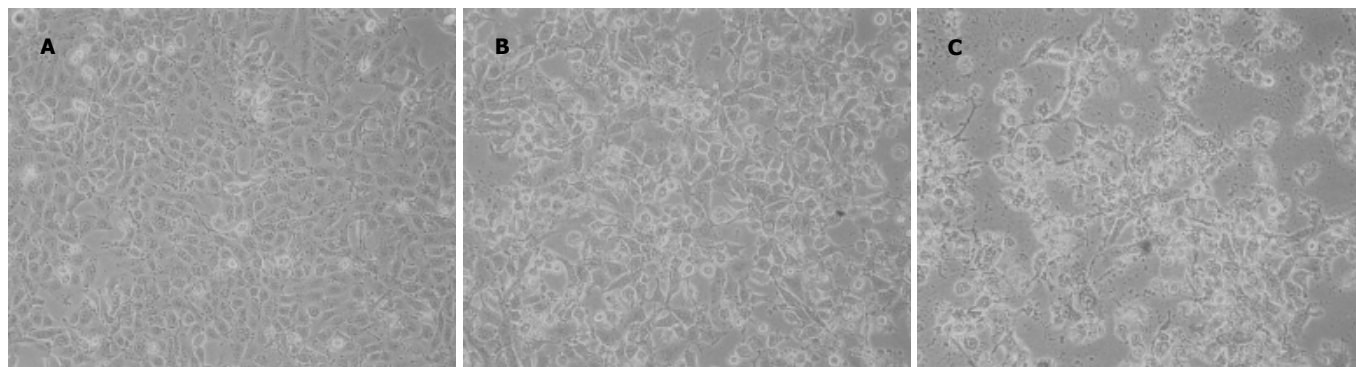


图1 PC-3细胞的形态学变化。A: 未用药对照组; B: 2 mg/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用24 h; C: 2 mg/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用48 h。

少, 来判断活细胞的数量, 以此观察药物对某种细胞生长的影响.  $\text{As}_2\text{O}_3$  对 PC-3 细胞具有明显的抑制作用; 经统计学处理, 相同浓度、不同时间的各组间比较均有显著差异 ( $^aP < 0.05$ , 表 1); 而相同时间、不同浓度除 48 h  $\text{As}_2\text{O}_3$  2 mg/L 组和 4 mg/L 组无显著差异外, 其余各组也有显著性差异 ( $^bP < 0.05$ ); 由此表明  $\text{As}_2\text{O}_3$  的抑制作用与药物浓度和作用时间呈现一定的依赖关系, 即剂量越大、药物作用时间越长则对 PC-3 细胞的抑制率越高 (图 2).

表1  $\text{As}_2\text{O}_3$  作用后 PC-3 细胞生长的抑制率(%)

$\text{As}_2\text{O}_3$ 浓度(mg/L)	24 h	48 h	72 h
1	23.1 ± 1.8	40.1 ± 2.8	50.6 ± 3.9
2	34.1 ± 4.3	50.6 ± 5.2	59.7 ± 2.0
4	43.9 ± 3.7	56.1 ± 1.5	67.1 ± 2.4

2.3 流式细胞术(FCM)分析 2 mg/L  $\text{As}_2\text{O}_3$  注射液分别作用 12、24、48 及 72 h 后的胰腺癌 PC-3 细胞, 经流式细胞仪检测, 结果显示对照组细胞的凋亡率为 0.21%;  $\text{As}_2\text{O}_3$  作用组细胞的凋亡率随作用时间的延长而增加, 且随用药时间的延长, S 期细胞比例呈上升趋势, 而  $G_0/G_1$  期呈下降趋势; 但在药物作用 72 h 后, 凋亡细胞的比例反而明显减少, 细胞周期的分布基本等同于对照组细胞 (表 2).

2.4 PC-3 细胞的超微结构变化 透射电镜下观察, 未加药的对照组 PC-3 细胞形态不规则, 大小不一, 胞

核较大, 核仁明显, 常染色体丰富, 异染色体紧贴核膜周边形成一薄层, 细胞膜表面有少量微绒毛, 细胞间出现连接结构, 细胞器丰富, 可见粗面内质网、发达的高尔基体、游离核糖体、小而圆的线粒体以及溶酶体. 而  $\text{As}_2\text{O}_3$  注射液作用后, PC-3 细胞则发生了超微结构的明显改变, 表现为细胞连接和特化的质膜结构消失, 核仁增大, 细胞内出现染色体, 随着药物作用时间的延长, 进一步发展, 细胞表面形成数目不等, 大小不一的细胞突起, 使细胞外形呈星状; 核膜扭曲内褶, 并发生断裂, 使核碎裂为大小不等的颗粒或碎块而分散于细胞中, 胞质内质网扩张, 线粒体形态基本不变, 初期细胞膜保持完整, 继而细胞膜内陷, 至  $\text{As}_2\text{O}_3$  注射液作用 48 h 时, 细胞被分割成外有膜包绕的细胞质团块, 其中含有核染色质碎块及细胞器成分, 即典型的凋亡小体 (图 3).

2.5 PC-3 细胞凋亡相关基因蛋白的表达 未加药的对照组 PC-3 细胞, Bax 表达强(+++), Bcl-2 表达强(+++), Fas 表达弱(+), Fas-L 表达阴性(-); 经  $\text{As}_2\text{O}_3$  作用 48 h 后, Bax 仍表达较强(+++), Bcl-2 表达弱(+), Fas 表达增强(+++), Fas-L 表达增强(+++).

表2  $\text{As}_2\text{O}_3$  对 PC-3 细胞凋亡及细胞周期的影响(%)

T/h	凋亡	$G_0/G_1$	S	$G_2/M$
0	0.2	60.9	14.9	24.2
12	3.8	39.5	23.9	36.6
24	21.9	38.6	37.1	24.3
48	27.4	31.8	63.7	4.6
72	2.1	87.2	0	12.8

### 3 讨论

三氧化二砷(arsenic trioxide,  $\text{As}_2\text{O}_3$ , 亚砷酸)是传统中药砒霜的主要成分. 韩云太 *et al* 采取静脉注射  $\text{As}_2\text{O}_3$  注射液治疗急性早幼粒细胞白血病 (AML-M<sub>3</sub> 型, 简称 APL), 获得突出效果, 该药主要是通过诱导白血病细胞分化和凋亡而发挥抗肿瘤作用<sup>[21-24]</sup>. 经

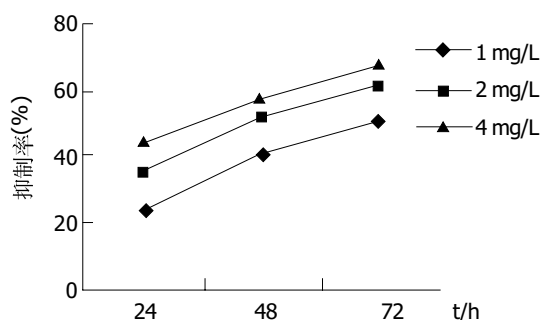


图2  $\text{As}_2\text{O}_3$  对 PC-3 细胞生长的抑制率.

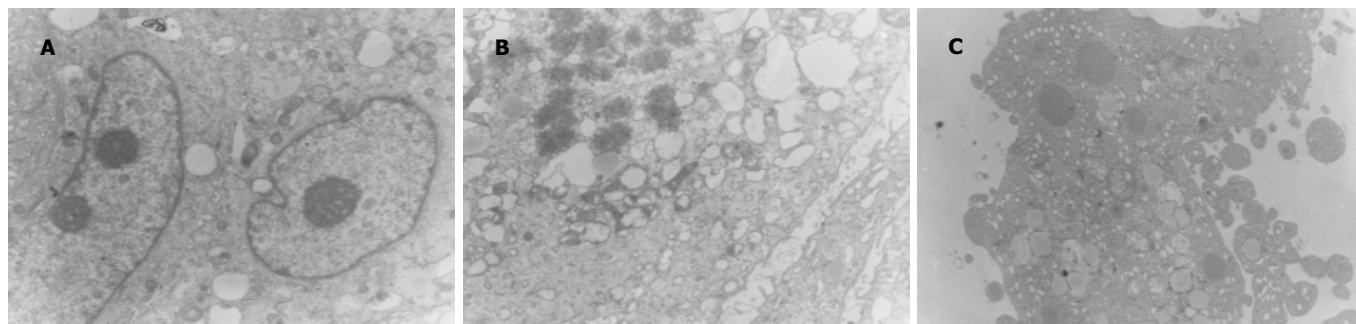


图3 PC-3 细胞的超微结构变化. A: 未加药组; B:  $\text{As}_2\text{O}_3$  作用 24 h; C:  $\text{As}_2\text{O}_3$  作用 48 h.



As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用后, 通过对胰腺癌细胞生长活力和诱导凋亡情况的动态观察, 我们发现药物作用于细胞后 1-3 d 内, 细胞抑制率一直随时间的延长而持续上升, 而细胞的凋亡率却在 48 h 达到较高水平后开始下降, 这提示我们 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 引起的人胰腺癌细胞死亡是非典型死亡, 即凋亡与坏死现象共存, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 在诱导人胰腺癌细胞凋亡的同时也发挥了一定的细胞毒作用; 另一原因可能是在凋亡后期发生继发性细胞膜改变而成为继发性坏死. 通过流式细胞术发现, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 可将细胞周期阻滞于 S 期, 从而抑制细胞有丝分裂. 透射电镜观察到 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用 24 h 后, 较多细胞处于分裂期, 核膜消失, 出现染色体. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对细胞周期的影响, 可能是其诱导凋亡的机制之一.

Bcl-2 家族<sup>[25-26]</sup> 在细胞凋亡的调控中起着重要的作用, Bcl-2 具有抑制细胞凋亡, 延长细胞生命的功能. 在诸多凋亡相关基因中尤显重要, 被看做是细胞凋亡调控的最后共同通路之一. Bax<sup>[27-29]</sup> 是 Bcl-2 家族的另一成员, 与 Bcl-2 作用相反, 具有促进细胞凋亡的作用. Fas 基因<sup>[30-32]</sup> 也称 APO-1 或 CD95, 是存在于人细胞表面介导凋亡的蛋白质分子, 属于 TNF 受体和 NGF 受体家族的成员, 通过与其配体 (Fas-L) 交联, 即可诱导典型的细胞凋亡. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 诱导的人胰腺癌 PC-3 细胞凋亡存在以上基因主动参与的激活过程. 本研究为临床上应用 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 注射液治疗胰腺癌提供了科学客观的实验依据.

#### 4 参考文献

- Verma M. Pancreatic cancer epidemiology. *Technol Cancer Res Treat* 2005;4:295-301
- Saif MW, Svinglin H, Carpenter M. Impact of ethnicity on outcome in pancreatic carcinoma. *JOP* 2005;6:246-254
- Hahn SA, Bartsch DK. Genetics of hereditary pancreatic carcinoma. *Gastroenterol Clin North Am* 2004;33:919-934
- Hahn SA, Bartsch DK. Genetics of hereditary pancreatic carcinoma. *Clin Lab Med* 2005;25:117-133
- 张明娟, 黄珏东, 孙宇光, 庞效芬. 单药吉西他滨治疗老年晚期胰腺癌的临观察. *中国肿瘤临床与康复* 2005;12:71-72
- 王晓稼. 抗肿瘤新药吉西他滨临床研究进展. *肿瘤学杂志* 2005;11:69-71
- 吕平, 王春友, 熊炯妍, 刘芳, 周峰, 陈立波, 润晓勤, 赵刚, 王帆. 吉西他滨对进展期胰腺癌的治疗作用. *中华肝胆外科杂志* 2004;10:238-241
- 崔朝勃, 麦灿荣, 李龙芸. 吉西他滨治疗胰腺癌. *中国新药杂志* 1999;8:516-519
- 陈惠英, 刘文虎, 秦叔逵. 三氧化二砷对肝癌细胞株凋亡的诱导作用. *世界华人消化杂志* 2000;8:532-535
- 苏颖, 陈增, 邹长棣, 林可焯, 林华妹. 三氧化二砷对人肝癌细胞作用的研究. *肿瘤防治杂志* 2003;10:1069-1071
- 任经纬, 李弘, 张涓. 三氧化二砷对肝癌细胞生长抑制作用差异性探讨. *中国病理生理杂志* 2004;7:1179-1182
- 华海清, 秦叔逵, 王锦鸿, 陈惠英. 三氧化二砷对人肝癌细胞黏附和侵袭影响的实验研究. *中国中西医结合杂志* 2004;24:922-925
- Liu LX, Zhu AL, Chen W, Guo HX, Wang XQ, Liu ZH, Zhang TD, Jiang HC, Wu M. The effect and mechanism of arsenic trioxide on hepatocellular carcinoma. *Zhonghua Waike Zazhi* 2005;43:33-36
- 秦叔逵. 三氧化二砷治疗原发性肝癌的研究进展. *肿瘤学杂志* 2001;7:115-117
- 项颖, 黄凤鸣. 三氧化二砷注射液治疗中晚期原发性肝癌 16 例报告. *临床肿瘤学杂志* 2003;8:36-37
- 高勇, 贾绍昌, 王杰军, 许青, 郭静. 三氧化二砷诱导人胰腺癌细胞凋亡的实验研究. *第二军医大学学报* 2001;22:43-46
- 张兴荣, 蔡洪培, 陈岳祥, 谢渭芬, 沈建伟. 氧化砷诱导胰腺癌细胞凋亡的实验研究. *胰腺病学* 2002;2:38-40
- 陈其奎, 袁世珍, 黄志清. 三氧化二砷诱导胰腺癌细胞周期阻滞与凋亡作用. *中华医学杂志* 1998;78:578-579
- 张兴荣, 蔡洪培, 邓志华, 沈建伟. 细胞内 Ca<sup>2+</sup> 变化在砷剂诱导胰腺癌细胞凋亡中的作用. *第二军医大学学报* 2001;22:422-424
- Li X, Ding X, Adrian TE. Arsenic trioxide causes redistribution of cell cycle, caspase activation, and GADD expression in human colonic, breast, and pancreatic cancer cells. *Cancer Invest* 2004;22:389-400
- 马军. 三氧化二砷在白血病治疗中的临床应用. *中国处方药* 2004;10:17-20
- 杜可军, 陈景元. 三氧化二砷与肿瘤的细胞凋亡. *微量元素与健康研究* 2001;18:67-69
- 卢香兰, 王萍萍, 刘云鹏, 李霞. 三氧化二砷对人白血病细胞株 NB4 和 K562 及 MOLt4 的增殖、周期及凋亡的影响. *肿瘤防治杂志* 2004;11:586-588
- 麦玉洁, 邱录贵. 三氧化二砷治疗恶性血液系统疾病的机制. *国外医学·生理、病理科学及临床分册* 2004;24:166-169
- Sharma J, Srinivasan R, Majumdar S, Mir S, Radotra BD, Wig JD. Bcl-XL protein levels determine apoptotic index in pancreatic carcinoma. *Pancreas* 2005;30:337-342
- Brazdil J, Lukas Z, Hermanova M, Pazourkova M, Ruzicka M, Habanec B, Kren L, Dite P. Apoptosis and expression of bcl-2 protein in invasive ductal adenocarcinoma of the pancreas. *Cesk Patol* 2003;39:168-173
- 吴晓康, 吴育连, 郑樟栋, 吴荣进, 楼善贤, 王丽霞. 胰腺癌细胞凋亡与 bcl-2, bax 基因的表达. *中国普通外科杂志* 2002;11:171-173
- Manoj K, Liu ZR, Tian R, Qin RY. Mechanisms of inhibition of growth of human pancreatic carcinoma implanted in nude mice by somatostatin receptor subtype 2. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2004;84:760-765
- 张元, 夏曙霞, 钱家勤. Bax 基因表达在胰腺癌组织细胞凋亡中的作用. *肝胆外科杂志* 2002;10:344-346
- Pernick NL, Sarkar FH, Tabaczka P, Kotcher G, Frank J, Adsay NV. Fas and Fas ligand expression in pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas* 2002;25:136-141
- Radfar S, Davrinche C, Hollande E. Serial in vivo loss and in vitro gain of Fas expression and function in human cancerous pancreatic duct cells. *Int J Cancer* 2005;115:214-223
- Bernstorff WV, Glickman JN, Odze RD, Farraye FA, Joo HG, Goedegebuure PS, Eberlein TJ. Fas (CD95/APO-1) and Fas ligand expression in normal pancreas and pancreatic tumors. Implications for immune privilege and immune escape. *Cancer* 2002;94:2552-2560

编辑 潘伯荣 审读 张海宁