

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- β 1、TGF- β 1R II和NF- κ 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 α -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 http://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v13/i14/1652.htm
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 isgcon2005@yahoo.co.in isgcon2005.com Advanced Capsule Endoscopy Users Course November 18-19, 2005 www.asge.org/education II Latvian Gastroenterology Congress November 29, 2005 gec@stradini.lv www.gastroenterologs.lv 2005 CCFA National Research and Clinical Conference - 4th Annual Advances in the Inflammatory Bowel Diseases December 1-3, 2005 c.chase@imedex.com www.imedex.com/calendars/therapeutic.htm 10th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus February 22-25, 2006 isde@sapmea.asn.au www.isde.net

<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: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com 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

三氧化二砷治疗肝癌的分子机制

吴顺华, 成军, 郑玉建

吴顺华, 成军, 北京地坛医院传染病研究所 北京市 100011
吴顺华, 郑玉建, 新疆医科大学公共卫生学院劳动卫生与环境卫生学教研室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054
国家自然科学基金攻关项目, No. C03011402, No. C30070689
军队“九五”科技攻关项目, No. 98D063
军队回国留学人员启动基金项目, No. 98H038
军队“十五”科技攻关青年基金项目, No. 01Q138
军队“十五”科技攻关面上项目, No. 01MB135
通讯作者: 成军, 100011, 北京市, 北京地坛医院传染病研究所.
cj@genetherapy.com.cn
电话: 010-64481639 传真: 010-64281540
收稿日期: 2004-09-18 接受日期: 2005-05-25

摘要

三氧化二砷(As_2O_3)在白血病和各类实体瘤的治疗中广泛应用. 肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是消化系统常见的肿瘤. 其恶性程度高、预后差. As_2O_3 在与肝癌细胞的研究表明, 它可以发挥细胞凋亡的正向调控作用, 抑制肿瘤细胞增殖, 是较好的抗肿瘤药物之一. 但 As_2O_3 同时作为一种致癌物, 与含巯基的大分子蛋白结合, 影响细胞的正常代谢, 导致细胞内信号转导通路异常调节, 抑癌基因失活等, 从而引起皮肤异常改变和其他内脏肿瘤如肝癌、肺癌、膀胱癌的发生. 因此研究 As_2O_3 对肝细胞作用的机制对有效防治 HCC 有很重要的意义. 本文从 As_2O_3 的生物学抗癌效应入手综述其治疗肝癌的分子机制.

吴顺华, 成军, 郑玉建. 三氧化二砷治疗肝癌的分子机制. 世界华人消化杂志 2005;13(13):1737-1743
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1737.asp>

0 引言

砷是一种灰色类金属, 元素周期表中第 33 号元素, 相对原子质量 A_r 74. 192, 相对密度 5. 173, 不溶于水和强酸, 在自然界中, 砷分布较广泛, 在岩石和砷矿中, 砷常以硫化物的形式存在, 其他形式多以三价砷和五价砷的化合物形式存在, 如亚砷酸酐、砷酸酐、亚砷酸钠、砷酸钠等. 砷的生物学特性具有两面性, 一方面为其剧毒性, 另一方面也是生命所必需的超微量元素, 并且有抗癌作用. 在很久以前人类就发现了砷的医用价值, 三氧化二砷(As_2O_3)及四硫化四砷(As_4S_4 , 雄黄的主要成分)在白血病和各类实体瘤治疗中都广泛应用, 并已经在中国、美国、欧洲等国成功上市.

我国学者应用 As_2O_3 治疗急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)取得良好的疗效, 并研究发现 As_2O_3 治疗 APL 的主要机制是诱导细胞凋亡, 从而为实体瘤的治疗提供了一个新思路. 肝细胞肝癌(HCC)是消化系统常见的肿瘤, 其恶性程度高、预后差. As_2O_3 治疗肝细胞癌的研究表明, 他是较好的抗肿瘤药物

之一^[1-5]. 但 As_2O_3 同时是一种致癌物, 可以引起皮肤异常改变和其他内脏肿瘤如肺癌、膀胱癌、肝癌等发生. 因此研究 As_2O_3 对肝细胞作用的分子机制对有效防治 HCC 有很重要的意义. 本文从 As_2O_3 的生物学抗癌效应入手综述其治疗肝癌的分子机制.

1 As_2O_3 对巯基酶及大分子蛋白的影响

1.1 As_2O_3 与巯基的相互作用 砷是一种细胞原浆毒, 细胞内的相邻巯基是三价砷的主要化学受体. As_2O_3 主要通过巯基结合, 改变和影响机体多种酶和大分子蛋白的活性, 继而引起一系列生物学抗癌效应. 进入体内的外源性砷通过激活特异性激酶, 抑制依赖巯基(-SH)的磷酸酶或干扰磷酸转移酶等作用, 改变蛋白的磷酸化状态. 受影响的重要酶系统有: 丙酮酸脱氢酶、磷酸酯酶、细胞色素氧化酶、DNA 聚合酶、谷胱甘肽(GSH)、半胱氨酸和二巯基化合物如二巯基丙醇等, 由磷酸酶衍变成砷还原酶, 将五价砷还原为三价砷, 抵抗 As_2O_3 的毒性作用. 因此 As_2O_3 的毒理学作用机制是对许多酶的巯基有可逆性结合.

砷剂直接作用于巯基(-SH), 以含巯基的酶为主攻方向, 以这类酶的巯基为靶向, 与相关的大分子蛋白结合^[6]. Hossain *et al*^[7] 发现 $NaAsO_2$ 通过细胞膜到细胞核的信号级联反应, 诱导鼠胸腺 T 淋巴细胞凋亡. $NaAsO_2$ 诱导 GPI 固定蛋白 THY1 聚集, 继而有丝分裂原家族激酶 MAK 和 c-Jun 激活, 多聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)降解, 这个全部过程均可被二巯基苏糖醇(DTT)所阻断, 这证明 As^{3+} 必须与巯基蛋白结合, 才能通过信号转导过程诱导 T 淋巴细胞凋亡.

1.2 As_2O_3 影响细胞氧化还原状态的酶类 一般认为, 成人口服砷的中毒剂量为 10-50 mg, 致死剂量为 60-200 mg. 急性砷中毒通常发生在摄入后 30 min, 如与食物一起摄入, 中毒症状出现的时间可延迟. 其主要表现为: 剧烈的恶心、呕吐、腹痛、腹泻和胃肠道出血, 可因脱水和循环系统衰竭导致死亡. 慢性砷中毒则以神经系统症状为主. As^{3+} 进入体内与多种含巯基的酶如 6-磷酸葡萄糖脱氢酶、细胞色素氧化酶、6-氨基酸氧化酶、磷酸氧化酶、胆碱氧化酶、氨基转移酶, 特别是丙酮酸氧化酶相结合, 导致细胞呼吸和氧化磷酸化过程及能量代谢障碍, 损害细胞的呼吸作用. 砷还可通过抑制还原型谷胱甘肽(GSH)等的抗氧化活性或选择性增强细胞色素 P450 依赖的单加氧酶活性而产生细胞毒性作用. GSH 是细胞内抗氧化物. As^{3+} 与 GSH 的巯基结合, 抑制了 GSH 清除自由基抗氧化功能

及其重要的解毒功能,或选择性增强细胞色素氧化酶P450依赖的单氧化酶活性诱导细胞产生活性氧类(ROS). Sakurai *et al*^[8]认为砷剂引起的细胞呼吸、氧化过程、氧化磷酸化过程和能量代谢的障碍以及活性氧类等对细胞多方位的氧化性损害,可能是导致肿瘤细胞杀灭、凋亡及抑制增殖的基本机制. Yang *et al*^[9]研究膀胱癌、APL和胃肠癌等17种癌细胞系发现GSH在哺乳动物细胞对As₂O₃解毒中起着重要作用. 癌细胞中GSH含量低的对As₂O₃敏感, GSH含量高则对As₂O₃耐药. 而对As₂O₃的敏感性与肿瘤细胞中GSH的转移酶Pi和多药耐药相关蛋白I的水平无关,他们认为肿瘤细胞的GSH水平和 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶抑制剂BSO(buthionine Sulfoximine)对GSH的调节水平可作为选用As₂O₃治疗实体瘤的指征. Akao *et al*^[10]在对神经母细胞瘤(NB)细胞的系列研究中也发现对As₂O₃敏感的NB,其细胞内GSH浓度均低于40 nmol/mg;当NB细胞内GSH浓度>40 nmol/mg时,As₂O₃不能导致其发生凋亡,所以内源性GSH浓度的变化是癌细胞对砷剂治疗的敏感性指标. Dai *et al*^[11]研究也表明细胞内GSH含量对As₂O₃诱导凋亡有决定性作用. GSH的含量降低能增加肿瘤细胞对As₂O₃的敏感性,提示干扰肿瘤细胞内GSH氧化还原系统可以使肿瘤对As₂O₃的抑制增殖和诱导凋亡作用更敏感. 用N-酰半胱氨酸或硫辛酸增加细胞内GSH浓度,可阻断As₂O₃诱导的凋亡. 用BSO降低细胞内GSH浓度,可使HL60和U937细胞对As₂O₃的敏感性增加. Kito *et al*^[12]研究As₂O₃治疗HCC, HLE, HLF, HuH7和HepG2时,发现BSO通过下调GSH的表达使HLE细胞对As₂O₃化疗敏感. 当BSO和As₂O₃联合应用时增加ROS产物,促进细胞凋亡.

2 As₂O₃治疗肝癌的分子机制

2.1 诱导细胞凋亡 细胞凋亡是细胞的一种基本生物学现象,在多细胞生物去除不需要的或异常的细胞中起着必要的作用,在生物体的进化、内环境的稳定以及多个系统的发育中起重要作用. 细胞凋亡不仅是一种特殊的细胞死亡类型,而且具有重要的生物学意义及复杂的分子生物学机制^[13]. As₂O₃诱导恶性肿瘤细胞凋亡的分子机制是基因控制的自主有序过程,需多种基因及其产物参与. (1)在As₂O₃诱导细胞凋亡的过程中,凋亡信号直接作用于线粒体,引起其结构与功能的改变. 线粒体是对砷最敏感的细胞器,线粒体功能障碍可能是细胞启动凋亡的重要因素之一. 线粒体膜通透性转运孔(MPT)是位于线粒体内膜和外膜接触点的一组多蛋白的复合物,主管膜内外交通. MPT的重要成分是邻近含巯基的腺嘌呤核苷转位蛋白(ANT),ANT很可能是As₂O₃诱导MPT开放和细胞凋亡的触发器. As³⁺与这些巯基结合形成二硫键,则MPT开放. 当As³⁺导致细胞能量代谢障碍及ROS等氧化物损害了线粒体膜时,也同样使MPT通透性增强. 随之是线粒体跨膜电位($\Delta\psi$ m)降低或消失,细胞色素C和其他凋亡诱导因子(AIF)的产生和释

放到胞质中,继而出现级联凋亡反应^[14]. As₂O₃诱导细胞凋亡途径是多种形式、复杂变化的. Shen *et al*^[15]报道以As₂O₃处理食管癌细胞系2 d后即可见凋亡现象,表现为线粒体的凝聚,这种变化早于染色质的凝聚,证明线粒体是As₂O₃作用的最早目标. Susin *et al*^[16]发现亚砷酸以环孢素Cyclosporin和Bcl-2抑制的方式诱导MPT开放. 体外纯化重组的0.2 μ mol/L的DTT能阻断As₂O₃诱导的细胞 $\Delta\psi$ m的消失,并阻断Caspase(胱冬肽酶)活化和细胞凋亡,BSO则能与As₂O₃协同增强凋亡作用. As₂O₃除引起线粒体功能障碍诱导凋亡外,还有:(2)与蛋白和氨基酸分子中的巯基结合,影响巯基酶活性,使蛋白灭活,导致细胞代谢异常而发生细胞凋亡;(3)As₂O₃处理肿瘤细胞后,Bcl-2表达减少,Bax表达增加,使Bcl-2与Bax比例下降而发生细胞凋亡;(4)通过促使癌细胞Fas的表达而促进癌细胞凋亡;(5)激活胱冬肽酶的活性诱导凋亡. 细胞粒体功能障碍导致胱冬肽酶级联激活,促使凋亡反应最终得以完成. MPT半开放,线粒体AIF释放到胞质后,激活了胱冬肽酶家族的某些成员,导致细胞蛋白选择性降解. Bcl家族成员可能通过调控这些分子的亚细胞定位和活性,实现其调控细胞凋亡的作用. Akao *et al*^[10]发现砷剂诱导KOLL44和LYH7的凋亡与胱冬肽酶有关,As₂O₃诱导NB4细胞凋亡与胱冬肽酶-3(Cp-3)活化有关,通过Western blot方法应用胱冬肽酶-8抑制物ACIETD-CHO进行凋亡抑制分析,结果显示NB4细胞凋亡时伴有胱冬肽酶-8的活化. Jiang *et al*^[17]研究发现以As₂O₃诱导人胃癌细胞系AGS凋亡时伴有胱冬肽酶-3的激活,同时可见胱冬肽酶-3的 M_r 17 000肽的碎片、PARP裂解的 M_r 85 000裂解产物,他们用胱冬肽酶的广谱抑制物ZVAD-fmk和胱冬肽酶-3特异抑制物DEAD-fmk可以部分抑制CP激活的AGS凋亡. 一些研究还认为在胱冬肽酶家族中胱冬肽酶-2、8、9、10为始动酶,而胱冬肽酶-3、6、7则起效应作用. 因此,胱冬肽酶级联形式的活化是As化合物诱导凋亡的重要信号通路. 在某一剂量范围的As₂O₃所激活的胱冬肽酶家族成员,参与了某种或某些方式的诱导凋亡.

治疗肿瘤最重要的作用机制就是促进肿瘤细胞凋亡. 对肝癌的研究也证实As₂O₃有明显的效果. Qian *et al*^[18]用As₂O₃治疗中晚期原发性肝胆癌共33例,其中肝癌29例,胆囊癌4例,单用As₂O₃ 15 mg·d⁻¹,静脉滴注,连用14-21 d为一周期,间歇2 wk重复. 结果29例原发性肝癌中,4例达PR,21例无变化(NC),4例PD;4例胆囊癌中,1例CR,2例NC,1例PD,总有效率(CR+PR)为15.2%. 因此,无论是在血液肿瘤还是肝胆肿瘤中As₂O₃都是通过促进细胞凋亡达到抑瘤效果的.

2.2 As₂O₃干扰细胞信号转导和转录活化因子(signal transducers and ctivators of transcription, STAT)途径 细胞信号转导通路的激活,对于肝细胞内信号转导通路的影响,使肝细胞基因组转录产生异常调节,抑癌基因表达水

平的下降或失活, 以及原癌基因和癌基因的激活、过表达都可对 HCC 的发生、发展产生影响^[19]. 有丝分裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 是介导细胞信号转导的重要分子, 普遍存在于多种生物, 包括酵母和哺乳动物细胞. 自 Sturgill *et al*^[20] 于 1991 年从动物细胞中鉴定出细胞外信号调节激酶 (ERK) 以后, MAPK 信号转导通路的研究取得迅速发展. 除 ERK 外, 还发现并克隆了 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) / 应激激活蛋白激酶 (SAPK)、p38 和 ERK5 等 MAPK 亚族. 该激酶级联首先在促细胞分裂素所致的微管结合蛋白 (MAP) 激酶活化的途径中发现, 故称 MAP 激酶级联. MAPK 级联的核心是由三个 Ser/Thr 蛋白激酶: MAPK、MAPKK、MAPKKK 组成. 级联方向为 MAPKKK-MAPKK-MAPK. MAPK 信号转导通路采用高度保守的三级激酶级联转导信号, 细胞外刺激通过某些环节使 MAPKK 激活, 转化 MAP 激酶激酶 (MKK, MAP kinase kinase), 然后通过对苏氨酸和酪氨酸双位点磷酸化激活 MAPK. 细胞外刺激作用于细胞, 通过多级激酶级联使 MAPK 激活, 激活的 MAPK 可通过磷酸化转录因子、细胞骨架相关蛋白、酶等多种底物调节细胞生理过程. 因此, 促细胞分裂素刺激的胞内信号级联反应概括为 4 步连续反应: (1) Ras 的活化; (2) Raf-1 的活化; (3) MAPK 级联的活化; (4) 核效应. 哺乳动物细胞中, 存在三条平行的 MAPK 级联反应, 有 ERK 途径、JNK/SAPK、p38 途径. 后两条途径主要对抑制细胞生长的刺激产生应答, 如化学制剂、渗透压改变、热休克、蛋白合成抑制剂、脂多糖 (LPS) 和肿瘤坏死因子 (TNF) 等. 三条 MAPK 级联的 Ser/Thr 蛋白激酶具有相似的一级结构、活化机制和被底物识别的最小序列 (TYY). 同一刺激能引起不同的平行级联应答, 表明这些平行途径之间存在互相影响的通路. 三条途径的重要区别在于 MAPK 级联上游激酶活化的机制不同, ERK 途径的 MAPK 级联上游激酶 Raf-1 被 Ras 直接活化, 在凋亡信号启动的细胞凋亡过程中, PAK65 可能是 JNK 和 p38 途径的 MAPK 级联上游激酶, 受 Ras 的间接调节而被活化^[21]. 他们通过相互独立的信号途径激活小 G2 蛋白-MAPKKKs-MAPKKs-MAPKs. 当细胞经 As₂O₃ 处理后, 则出现 MAPK 信号转导, 同时应激相关的 JNK、SAPK 以及 p38/MPK2, 表明 As₂O₃ 诱导凋亡可能与 MAPK 信号通路有关^[22-23]. 此外, As₂O₃ 还可以降低酪氨酸激酶 (PTK) 活性, PTK 在细胞增殖和分化的信号转导中起重要的作用. Li *et al*^[24] 在研究 As₂O₃ 诱导 K562 凋亡中观察到细胞的 PTK 活性和 BCR/ABL 及 ABL 特异蛋白的 PTK 活性均降低. 随着 PTK 活性降低, 细胞内某些蛋白酪氨酸磷酸化过程也减少, 提示 As₂O₃ 通过降低 PTK 活性来阻断 BCL/ABL 的抗凋亡信号的传导而诱导 K562 细胞凋亡. Hossain *et al*^[7] 研究也证明 NaAsO₂ 诱导多胺合成的限速酶-鸟氨酸脱羧酶 (ODC) 的活性表达增高, 从而导致鼠 T 淋巴细胞 MAPK 信号转导激活引起凋亡.

除了 MAPK 级联的 ERK、JNK/SAPK、p38 和 PTK 外,

在信号转导中起着重要作用的还有丝氨酸/苏氨酸 (Ser/Thr) 磷酸化激酶. MAPKK 磷酸化并激活 MAPK, 而 MAPKK 被上游的蛋白激酶如 Raf、Mos 和 MAPKKK 激活^[25]. 最常见的如 Raf-1, 是已知的许多激活 MAPKK 的细胞激酶之一, 在细胞对刺激产生增殖响应的 Ras 信号转导通路中起着关键作用. 被激活的 Ras (即 Ras-GTP) 可与 Raf-1 的 N-末端域结合. 在与 Ras-GTP 结合并且其酪氨酸被磷酸化后, Raf-1 可激活 MAPKK. 例如, 在白介素-2 (IL-2) 刺激下, Raf-1 的酪氨酸被激活的 SRC 激酶 (pp60^{src}) 磷酸化. 这个磷酸化作用对于 Raf-1 与 Ras-GTP 结合, 并激活激酶 MAPKK 是绝对必须的^[26]. 许多因子都可以充分激活 Raf-1, 例如, 蛋白激酶 C (PKC), Ras-GTP 和被激活的 SRC 激酶. 然而, 这些因子最终并不总是导致同样的结果, 相反地, 常常产生各种各样不同的响应. 比如, 蛋白激酶 C 将 Raf-1 磷酸化, 随后用佛波酯处理, 尽管这使得 Raf-1 的自身磷酸化增加了, 但是 MAPKK 并未被激活. 而一旦 MAPKK 被 Raf-1 激活, 就会把目标瞄准 MAP 激酶的异构体. 这些胞质 Ser/Thr MAP 激酶的异构体, 即 ERK-1 和 ERK-2 被激活和向细胞核转移是信号转导通路上游 Ras 激活的最终结果. 如上所述, Raf-1 激活了 MAPKK, 后者则将 MAPK 的苏氨酸和酪氨酸磷酸化而将他激活. 然后, MAPK 磷酸化, 并激活细胞核的转录因子, 包括 c-myc、c-Jun、c-fos、核因子-IL-6 (NF-IL-6)、细胞质磷脂酶 A2 (cPLA2)、表皮生长因子受体 (EGF-R) 和蛋白激酶, 如 c-Raf-1、MAPKK 和 p90^{rsk} (蛋白磷酸酯酶-1, PP-1 的糖原结合亚基)^[21, 26]. 用 MEK2 作为酵母双杂交的诱饵, 除 c-Raf 和 KSR 外, a-Raf 是和 MEK2 作用的新配体. 体外结合实验证实了这种作用, 作用点位于代表 a-Raf 激酶区的 255-606 氨基酸残基末端^[27]. 可见细胞核转录因子参与了 MAPK 信号转导通路.

信号转导及转录活化因子 (STAT) 家族包括 7 个成员. 不仅参与正常的生理过程, 而且还存在于肿瘤组织中. 信号通常产生于细胞膜表面的受体, PTK 被组成性激活 (导致信号转导蛋白持续激活) 后, 再激活 STAT 分子并使之磷酸化, 然后进入细胞核内, STAT 在核内与特异性的 DNA 启动子结合调节相关基因的表达. 正常生理条件下各种 STAT 蛋白的活化过程是短暂的, 通常持续数分钟至几小时. 大多数人类肿瘤中都有 STAT 的组成性激活, 尤其是 STAT1, STAT3 和 STAT5. STAT1 的功能主要与生长抑制有关, 而 STAT3 和 STAT5 可通过抑制凋亡或诱导细胞增生作用参与肿瘤的发生和发展. 通过小分子抑制剂阻断 PTK 的信号转导可抑制不同肿瘤细胞株中 STAT3 或 STAT5 的组成性激活. 相对而言, 缺乏 STAT 活性作用的正常细胞或肿瘤细胞对药物的耐受能力更强, 如使用非显性 STAT 或反义寡核苷酸直接干预 STAT 信号时可获得相似的效应. 有关 STAT 信号途径的研究为人类肿瘤的干预治疗提供了新的分子靶标. 开发 STAT 蛋白 (尤其是作为肿瘤治疗分子靶点的 STAT3 和 STAT5) 的抑制剂有助于进一步探究这些蛋白在

人类肿瘤中所起的重要作用^[28]. Cheng *et al*^[29]研究发现As₂O₃可以抑制由IL-6诱导的STAT3酪氨酸激酶磷酸化,可以直接抑STAT3,激活MAPK,使JAK-STAT通路失活.因此As₂O₃可作为STAT3抑制剂发挥抗癌效应.

2.3 As₂O₃诱导DNA损伤和促进抑癌基因的表达 砷能抑制DNA修复酶,加重DNA损伤.从而抑制肿瘤细胞的增殖.同时有许多重要的抑癌基因如Bax、Bcl-2、p53及c-myc大量表达,其中Bcl-2更为重要. Bcl-2蛋白是抗凋亡调控的最后的共同途径之一. 目前认为Bcl-2可能通过以下机制抑制凋亡: (1)对脂质过氧化有保护作用,使自由基源产生系统不活化; (2)抑制Δψ_m的降低,从而抑制MPT开放,抑制细胞色素C(Cyto-C)和凋亡诱导因子(AIF)的释放; (3)可抑制IL1β转化酶(ICE, 属半胱氨酸蛋白酶),从而抑制IL1β前体转化成有活性的IL1β,继而诱导Fas基因表达.因此, Bcl-2下降时,可引发细胞凋亡. 邓友平 *et al*^[30]发现As₂O₃明显降低人宫颈癌Hela细胞存活率,但不依赖Bcl-2途径,主要可能通过抑制c-myc基因和病毒致癌基因的表达来诱导其凋亡. Chen *et al*^[31]报道As₂O₃能在mRNA和蛋白水平明显降低Bcl-2,但不影响Bax、Bcl-2、c-myc和p53基因的表达. Jiang *et al*^[17]用As₂O₃诱导AGS细胞凋亡时发现,在As₂O₃处理后4 h即见p53蛋白水平的明显增加,如同时加入拮抗p53的寡聚核苷酸抑制p53高表达,则也抑制了细胞凋亡,表明As₂O₃抑制胃癌细胞株增殖和诱导凋亡作用与p53高表达有关. 邓友平 *et al*^[30]在诱导GLC82凋亡中发现As₂O₃对c-myc移位的调节作用可能是诱导凋亡的主要原因, p53基因参与其凋亡是早期过程,后期可能由p53基因激活的下游基因参与,同时观察到p16参与其凋亡过程. 另一个重要的肿瘤抑制基因是p15,其在某些白血病和实体瘤中由于高度甲基化而失活. 陈洪 *et al*^[32]用As₂O₃静脉注射建立的HepA腹水型荷肝癌小鼠和实体型荷瘤鼠模型7 d,发现210 mg/(kg·d)组、315 mg/(kg·d)组均可有效抑制实体瘤的生长,抑瘤率分别是31.63%、42.13%,明显比DMSO对照组高($P<0.01$). 腹水型荷肝癌小鼠两组平均生存时间分别是(22.50±2.43)d、(22.74±3.65)d,两组延命率分别是59.29%、76.69%,明显比DMSO对照组高($P<0.01$). 流式细胞术分析腹水标本发现315 mg/(kg·d)组平均凋亡率达53.17%,而且还发现HepG2肝癌荷瘤鼠经As₂O₃处理后,实体瘤组织标本中Bcl-2表达下降, Bax表达增加,使Bcl-2/Bax的比例下降,认为这可能是诱导肝癌细胞凋亡的分子机制之一. As₂O₃可选择性地抑制肝癌细胞的凋亡^[33-38]. As₂O₃诱导细胞凋亡可能是通过改变Bcl-2, Bax的表达以及二者之间的比例实现的.

2.4 As₂O₃影响细胞周期的调控 细胞周期素(Cyclin)和其依赖的激酶(CDK)及CDK抑制蛋白(CKLs)三者相互协调从而完成细胞周期. 前二者正向调节, CLKs起负向调节. Huang *et al*^[39]报道,人Hela细胞在5 μmol/L的

NaAsO₂作用下, KB细胞在10 μmol/L的NaAsO₂作用下,两种细胞总数的35%阻抑在分裂期,且伴有丝分裂异常,包括混乱的染色体聚合,纺锤体两极间拉长,荧光染色微管着色增强. 剂量分析发现NaAsO₂在100 μmol/L以下即能显著增加微管聚合作用,结果提示As³⁺诱导有丝分裂阻滞是由于As³⁺影响纺锤体功能所致;他们在研究Hela细胞时,还发现在诱导有丝分裂同时伴随细胞周期素B(Cyclin B)的逐渐降解和细胞凋亡;As³⁺对Bcl-2转染的Hela细胞只诱导分裂期细胞堆积,而不诱导凋亡;并见到Bcl-2高表达抑制Cyclin B的降解,这表明Cyclin B的降解速度是促进凋亡的决定性因素.

Li *et al*^[40]发现As₂O₃明显抑制GTP诱导的微管蛋白的多聚化和微管形成,但仍保持GTP诱导的微管蛋白多聚体的稳定性. As₂O₃诱导微管蛋白分子中的两个相邻的半胱氨酸残基(Cys-12和Cys-13)交联,使结合GTP的这个位点失活,这可能是As₂O₃抑制GTP诱导效应的机制,这种非竞争性抑制可导致细胞凋亡. Park *et al*^[41]报道As₂O₃能显著并呈剂量依赖性的使8种骨髓瘤细胞系阻滞在G1/G2-M期,抑制这些细胞的增殖,这种作用与As₂O₃诱导周期素依赖激酶的抑制物p21的mRNA及其蛋白水平的增高有关. 他们还观察到As₂O₃通过下调Bcl-2使线粒体膜转运能力的丧失以及Cp-3增高活性,诱发骨髓瘤细胞凋亡. Seol *et al*^[42]观察到As₂O₃对4种头颈癌细胞系都有抑制增殖作用,最敏感的PCL细胞系细胞被阻抑在G2/M期. 在此期间,周期素依赖激酶的抑制物呈时间依赖性增加. 细胞周期调节蛋白的分析证明, As₂O₃并不影响CDK2、CDK4、CDK6和细胞周期素D1、E和A,但CDC2和细胞周期素B1蛋白水平下降, As₂O₃还能使p21与CDC2的结合显著地增多,使CDC2激酶活性下降,结果表明As₂O₃的细胞阻抑作用与诱导p21增高和抑制CDC有关. 刘琳 *et al*^[36]用0.5-4.0 mg/L As₂O₃注射液作用于人肝癌细胞株(QGY27701、QGY27703)和正常人肝细胞株(L02)0-72 h,发现前者细胞生长均受到不同程度抑制,且抑制作用与药物浓度和作用时间均呈明显依赖关系,而L02细胞生长未受明显抑制. 秦叔逵 *et al*^[33]发现As₂O₃体内外抗肝癌作用,主要与As₂O₃诱导肝癌细胞发生凋亡有关,经药物作用后,肝癌细胞呈典型凋亡形态改变,如出现凋亡小体,流式细胞仪检测到亚G1期细胞形成的凋亡峰, As₂O₃实验组实体瘤组织切片检测到凋亡细胞,其研究还发现As₂O₃作用后肝癌荷瘤鼠组织标本中均见凋亡拮抗基因Bcl-2表达减少, Bax表达增加,这可能是As₂O₃诱导肝癌细胞凋亡的分子生物学基础. 刘琳 *et al*^[36]研究表明As₂O₃诱导QGY27701细胞凋亡属于迟发性凋亡,在肝癌细胞与正常肝细胞间具有选择性诱导凋亡作用,并与Bcl-2等基因调控有关,实验中观察到As₂O₃可使Bcl-2基因表达减少, Bax基因表达增加,并发现As₂O₃可使癌细胞周期阻滞于S期,从而阻滞有丝分裂.

2.5 As₂O₃对端粒酶的调节 端粒-端粒酶在肿瘤的发生、

发展中起重要作用. Rb、p53、p16、c-myc 及 p21 等癌基因均可影响端粒酶(TLMA)的活性. 绝大多数肿瘤TLMA活性增高. Hytiroglou *et al*^[43]对肝炎和肝癌的端粒酶活性进行比较发现, 肝癌中 85%(28/33)显示端粒酶阳性, 肝炎中 50%(19/38)端粒酶呈弱阳性, 4例正常肝组织端粒酶阴性. Nakashio *et al*^[44]研究表明, 肝癌细胞的分化程度与端粒酶活性也有关. 分化良好的肝癌细胞端粒酶阳性率为 73%(11/15), 中等分化的肝癌细胞为 94%(16/17), 低分化的肝癌细胞为 100%(5/5). 端粒酶活性的表达可能在肝癌的形成中起重要作用. 楼芳^[45]采用序列重复扩增法(TRAP)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)银染法检测经As₂O₃作用后的肝癌细胞端粒酶活性变化, 发现 8.0 mg/L As₂O₃ 作用于肝癌细胞株 SMMC-7721 和 QGY-7703, 72 h 后可完全抑制其端粒酶活性; 3.5 mg/L 的As₂O₃连续静脉给药 7 d 后可完全抑制HepG2肝癌小鼠瘤体组织的端粒酶活性; 而5-Fu对照组端粒酶活性未被抑制. 可见, As₂O₃可能是一种良好的肝癌细胞端粒酶活性抑制剂.

2.6 As₂O₃抑制NF-κB的活化 核因子κB(nuclear factor of κB, NF-κB)是一种广泛存在的转录因子, 几乎每个真核细胞中都存在NF-κB, 不同的刺激信号激活该转录因子后, 参与相应的基因表达的调控, 如细胞的生长、分化、凋亡、炎症反应、肿瘤发生等. NF-κB是一种普遍存在的转录因子, 已发现有 150 多种物质可以激活NF-κB, 受NF-κB调控的基因多达 150 余种. 最初研究发现NF-κB是由p50和p65两个亚单位组成的异二聚体, 后来发现存在有NF-κB家族, 由于NF-κB与Rel家族有较强的同源性, 所以又把NF-κB与Rel合称为Rel/NF-κB家族, 在哺乳类动物中已发现有Rel/NF-κB家族的5个成员: p65(Re1A)、RelB、c-Rel、p50(NF-κB1)、p52(NF-κB2). 在大多数细胞中, p50和p65是NF-κB活性形式的主要成分, 所以通常所说的NF-κB或Rel/NF-κB即为p50/p65异源二聚体^[46]. As₂O₃可强烈抑制HTLV21和HTLV22(human T2cell leukemia virus type 1, 2)细胞的IκBα磷酸化, 使F-κB不能进入细胞核中, 即抑制了NF-κB的活化, 下调NF-κB依赖性的抗凋亡蛋白Bcl-2启动子的表达. 使得Δψ_m下降及Cyto-c的释放, 导致caspase-3激活, 最终诱导了HTLV21和HTLV22这两种对大多数凋亡诱导剂有抵抗作用的细胞发生凋亡. 可见, 抑制NF-κB的活性也是砷剂诱导肿瘤细胞凋亡的机制之一^[47]. As₂O₃可以通过激活NF-κB选择性地抑制磷酸肌醇3激酶(PI3K)存活通路, 抑制这种治疗的耐药性^[48]. 也可以在非常低剂量下改变糖皮质激素受体(GR)介导的基因激活而不是糖皮质激素基因的表达, 激活GR和GRBD的水平与砷存在明显的剂量反应关系, 这种作用与AP-1和NF-κB介导的基因激活有关^[49].

2.7 As₂O₃的其他调控途径 Ca²⁺, NO 是新的凋亡信号转导信使^[50]. As₂O₃可以提高胞质Ca²⁺、NO浓度, 胞质

Ca²⁺、NO浓度升高与细胞凋亡呈平行关系, 且二者对As₂O₃呈时间、剂量依赖性. 推测砷可能通过以下机制改变胞质Ca²⁺浓度: (1)由于膜表面的Bcl-2相关蛋白具有阳离子选择性通道的功能, Bcl-2能在内质网、细胞核和线粒体水平影响Ca²⁺的亚细胞分布. 因而, 砷等凋亡信号对Bcl-2的抑制作用使Ca²⁺通道开放, 胞质Ca²⁺浓度升高; (2)细胞内活性氧(ROS)活性升高及砷剂直接作用于细胞内钙离子转位酶的巯基均可使胞内外Ca²⁺平衡失控; (3)线粒体Δψ_m下降使Ca²⁺吸收逆转, 导致Ca²⁺由线粒体转移至胞质. 内质网及线粒体内Ca²⁺耗竭可直接或通过加强线粒体内氧化应激而导致细胞凋亡, 而且钙离子本身作为一种凋亡信号, 可调节钙离子敏感的关键酶如蛋白激酶、磷脂酶、核酸内切酶及谷氨酰氨转移酶等诱导凋亡^[51-52]. 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)是一种具有多种生物学效应的细胞因子, 其生物学效应包括促进细胞生长、分化、凋亡及炎症诱发等. TNF的生物学效应都是通过细胞表面的两种TNF受体引发的, 即Fas(CD95)/FasL(CD178)蛋白, 他们主要分布于活化的T细胞表面, 属于TNF家族, 大多作用于线粒体上游阶段, 由于NB4细胞缺乏CD95, 因此过去认为, As₂O₃诱导凋亡效应不通过Fas/FasL通路. 最近发现As₂O₃通过上调CD95/CD95L的表达、活化胱冬肽酶-8和胱冬肽酶-3将HL260和RL(一种B淋巴细胞系)细胞阻滞在G1期, 并抑制其增生, 诱导其凋亡. 用抗CD95抗体处理细胞, 能够阻止通过CD95/CD95L信号通路诱导的凋亡^[53]. Liao *et al*^[54]研究AP-1、NF-κB和As₂O₃的关系时, 发现低剂量的As₂O₃可上调AP-1和NF-κB的表达, 通过介导Fas/FasL通路诱导凋亡. 即通过诱发肿瘤坏死因子α介导的免疫应答促使细胞凋亡^[55].

肿瘤的发生、发展是一个复杂的自然过程. 近年来, 随着人们对凋亡分子机制的深入研究, 认识到促进肿瘤细胞凋亡是一条全新和有效的治疗途径. As₂O₃正是通过诱导细胞凋亡而起到抗肿瘤作用的, 因此, 诱导肿瘤细胞凋亡已成为研究热点. As₂O₃用于临床治疗白血病已经取得了很大的进展, 但用于治疗肝癌, 国内尚处于多中心协作的临床试验阶段, 国外也正在开展实体瘤I、II期临床研究. As₂O₃诱导肿瘤细胞凋亡的某些具体机制尚未完全阐明. 其可能的机制为: (1)As₂O₃选择性的与肝细胞的大分子蛋白或氨基酸分子中的巯基具有强的亲和性, 能影响巯基酶的活性或直接与蛋白的巯基结合, 使蛋白灭活, 引起细胞代谢异常而发生细胞凋亡; (2)下调致癌基因表达或上调抑癌基因表达; (3)导致线粒体内膜电位Δψ_m破坏, 使ATP合成异常, 不能为细胞提供充足能量而引起凋亡; (4)抑制细胞缝隙连接间通讯(GJIC)功能, 使细胞增殖能力减弱而凋亡; (5)As₂O₃体内代谢所形成的亚砷酸取代了磷酸而干扰细胞的能量代谢, 致使细胞退行性变, 发生凋亡; (6)干扰细胞正常的信号转导通路, 导致细胞转录因子异常调节, 诱导凋亡.

总之, As_2O_3 既是一种剧毒物质, 又是抑制肿瘤的良好药物, 其确切的致 / 治癌双向作用机制并未完全阐明. 如何正确的应用其有利的一面是研究关键所在. 因此, 在对 As_2O_3 的研究过程中, 应运用现代分子生物学新技术, 从新的角度探索其可能的作用机制, 把 As_2O_3 更好地应用于临床.

3 参考文献

- Yang LJ, Wang WL. Preparation of monoclonal antibody against apoptosis-associated antigens of hepatoma cells by subtractive immunization. *World J Gastroenterol* 2002;8:808-814
- Wang FS, Liu MX, Zhang B, Shi M, Lei ZY, Sun WB, Du QY, Chen JM. Antitumor activities of human autologous cytokine-induced killer (CIK) cells against hepatocellular carcinoma cells in vitro and in vivo. *World J Gastroenterol* 2002;8:464-468
- Zhang G, Long M, Wu ZZ, Yu WQ. Mechanical properties of hepatocellular carcinoma cells. *World J Gastroenterol* 2002;8:243-246
- Sun ZJ, Pan CE, Liu HS, Wang GJ. Anti-hepatoma activity of resveratrol in vitro. *World J Gastroenterol* 2002;8:79-81
- Pu YS, Hour TC, Chen J, Huang CY, Guan JY, Lu SH. Arsenic trioxide as a novel anticancer agent human transitional carcinoma: characterizing its apoptotic pathway. *Anticancer Drugs* 2002;13:293-298
- Nemeti B, Gregus Z. Reduction of arsenate to arsenite in hepatic cytosol. *Toxicol Sci* 2002;70:4-12
- Hossain K, Akhand AA, Kato M, Du J, Takeda K, Wu J, Takeuchi K, Liu W, Suzuki H, Nakashima I. Arsenite induces apoptosis of murine T lymphocytes through membrane raftlinked signaling for activation of c-Jun aminoterminal kinase. *J Immunol* 2000;165:4290-4297
- Sakurai T, Ochiai M, Kojima C, Ohta T, Sakurai MH, Takada NO, Qu W, Waalkes MP, Fujiwara K. Role of glutathione in dimethylarsinic acid-induced apoptosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2004;198:354-365
- Yang CH, Kuo ML, Chen JC, Chen YC. Arsenic trioxide sensitivity is associated with low level of glutathione in cancer cells. *British J Cancer* 1999;81:796-799
- Akao Y, Yamada H, Nakagawa Y. Arsenic-induced apoptosis in malignant cells in vitro. *Leuk Lymphoma* 2000;37:53-63
- Dai J, Weinberg RS, Waxman S, Jing Y. Malignant cells can be sensitized to undergo growth inhibition and apoptosis by arsenic trioxide through modulation of the glutathione redox system. *Blood* 1999;93:268-277
- Kito M, Akao Y, Ohishi N, Yagi K, Nozawa Y. Arsenic trioxide-induced apoptosis and its enhancement by buthionine sulfoximine in hepatocellular carcinoma cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;291:861-867
- Messmer UK, Pfeilschifter J. New insights into the mechanism for clearance of apoptotic cells. *Bioessays* 2000;22:878-881
- Yu Y, Jia P, Huang Y, Cai X, Chen G. Diamide and cyclosporin A enhanced arsenic trioxide-induced apoptosis in NB4 cells. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi* 2002;23:254-257
- Shen ZY, Shen J, Cai WJ, Hong C, Zheng MH. The alteration of mitochondria in an early event of arsenic trioxide induced apoptosis in esophageal carcinoma cells. *Int J Mol Med* 2000;5:155-158
- Susin SA, Lorenzo HK, Zamzami N, Marzo I, Snow BE, Brothers GM, Mangion J, Jacotot E, Costantini P, Loeffler M, Larochette N, Goodlett DR, Aebersold R, Siderovski DP, Penninger JM, Kroemer G. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 1999;397:441-446
- Jiang XH, Wong BC, Yuen ST, Jiang SH, Cho CH, Lai KC, Lin MC, Kung HF, Lam SK. Arsenic trioxide induces apoptosis in human gastric cancer cell through up-regulation of p53 and activation of caspase-3. *Int J Cancer* 2001;91:173-179
- Qian J, Qin S, He Z. Arsenic trioxide in the treatment of advanced primary liver and gallbladder cancer. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2001;23:487-489
- 成军. 肝炎病毒蛋白对肝细胞基因组转录调节及信号转导机制的影响. *世界华人消化杂志* 2004;12:253-257
- Sturgill TW, Ray LB, Anderson NG, Erickson AK. Purification of mitogen-activated protein kinase from epidermal growth factor-treated 3T3-L1 fibroblasts. *Methods Enzymol* 1991;200:342-351
- 成军. 肿瘤相关基因. 第一版. 北京: 北京医科大学出版社, 1999: 96-100
- Iwama K, Nakajo S, Aiuchi T, Nakaya K. Apoptosis induced by arsenic trioxide in leukemia U937 cells is dependent on activation of p38, inactivation of ERK and the Ca^{2+} dependent production of superoxide. *Int J Cancer* 2001;92:518-526
- Kang SH, Song JH, Kang HK, Kang JH, Kim SJ, Kang HW, Lee YK, Park DB. Arsenic trioxide induced apoptosis independent of stress responsive signaling pathways but sensitive to inhibition of inducible nitric oxide synthase in HepG2 cells. *Exp Mol Med* 2003;35:83-90
- Li JE, Wu WL, Wang ZY, Sun GL. Apoptotic effect of As_2S_3 on K562 cells and its mechanism. *Acta Pharmacol Sin* 2002;23:991-996
- Cook JG, Bardwell L, Thorner J. Inhibitory and activating functions for MAPK Kss1 in the *S. cerevisiae* filamentous-growth signalling pathway. *Nature* 1997;390:85-88
- 方福德, 杨焕明. 分子生物学前沿技术. 第一版. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1997:54-56
- Yin XL, Chen S, Yan J, Hu Y, Gu JX. Identification of interaction between MEK2 and A-Raf-1. *Biochim Biophys Acta* 2002;1589:71-76
- 俞丽芬, 吴云林. 信号传导及转录活化因子 STAT 与消化系统疾病的关系. *世界华人消化杂志* 2004;12:1196-1201
- Cheng HY, Li P, David M, Smithgall TE, Feng L, Lieberman MW. Arsenic inhibition of the JAK-STAT pathway. *Oncogene* 2004;23:3603-3612
- 邓友平, 林晨, 梁萧. As_2O_3 诱导人宫颈癌 Hela 细胞凋亡及 Bcl-2 保护作用的机制研究. *中国科学(C 辑)* 1999;29:335-338
- Chen Z, Wang ZY, Chen SJ. Acute promyelocytic leukemia: cellular and molecular basis of differentiation and apoptosis. *Pharmacol Ther* 1997;76:141-149
- 陈洪, 秦叔逵, 陈惠英. As_2O_3 诱导人肝癌细胞株 SMMC-7721 凋亡的实验研究. *肿瘤防治研究* 1998;25:336-338
- 秦叔逵, 陈洪, 陈惠英. As_2O_3 诱导人肝癌细胞株凋亡的初步研究. *临床肿瘤学杂志* 1998;3:40
- 刘琳, 秦叔逵, 陈惠英. As_2O_3 对人肝癌细胞株选择性抑制作用的实验研究. *临床肿瘤学杂志* 1999;4:39-41
- 陈洪, 秦叔逵, 潘麒声. As_2O_3 抗肝癌作用的实验研究. *中华肝脏病杂志* 2000;8:27-29
- 刘琳, 秦叔逵, 陈惠英. As_2O_3 选择性诱导人肝癌细胞凋亡及相关基因的实验研究. *中华肝脏病杂志* 2000;8:70-73
- 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
- 陈惠英, 王为, 秦叔逵. As_2O_3 对人肝癌细胞株 VEGF 表达的影响. *临床肿瘤学杂志* 2000;5:2
- Huang SC, Lee TC. Arsenic inhibits mitotic division and perturbs spindle dynamics in HeLa 3 cells. *Carcinogenesis* 1998;19:889-896
- Li YM, Broome JD. Arsenic targets tubulins to induce apoptosis in myeloid leukemia cells. *Cancer Res* 1999;59:776-780
- Park WH, Seol JG, Kim ES, Hyun JM, Jung CW, Lee CC, Kim BK, Lee YY. Arsenic trioxide mediated growth inhibition in MC/CAR myeloma cells via cell cycle arrest in association with induction of cyclin-dependent kinase inhibitor p21 and apoptosis. *Cancer Res* 2000;60:3065-3071
- Seol JG, Park WH, Kim ES, Jung CW, Hyun JM, Kim BK, Lee YY. Effect of arsenic trioxide on cell cycle arrest in head and neck cancer cell line PCI-1. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;265:400-404

- 43 Hytioglou P, Kotoula V, Thung SN, Tsokos M, Fiel MI, Papadimitriou CS. Telomerase activity in pre-cancerous hepatic nodules. *Cancer* 1998;82:18-31
- 44 Nakashio R, Kitamoto M, Tahara H, Nakanishi T, Ide T, Kajiyama G. Significance of telomerase activity in the diagnosis of small differentiated hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 1997;74:141-147
- 45 楼芳. 砷制剂治疗实体瘤的研究进展. *临床肿瘤学杂志* 2000;5:69-73
- 46 Mahieux R, Pise-Masison C, Gessain A, Brady JN, Olivier R, Perret E, Misteli T, Nicot C. Arsenic trioxide induces apoptosis in human T-cell leukemia virus type 1-and type 2-infected cells by a caspase-3-dependent mechanism involving Bcl-2 cleavage. *Blood* 2001;98:3762-3769
- 47 巨立中, 成军, 钟彦伟. 核因子 κ B 的信号转导机制及研究策略. *世界华人消化杂志* 2004;12:948-950
- 48 Tabellini G, Cappellini A, Tazzari PL, Fala F, Billi AM, Manzoli L, Cocco L, Martelli AM. Phosphoinositide 3-kinase/Akt involvement in arsenic trioxide resistance of human leukemia cells. *J Cell Physiol* 2005;202:623-634
- 49 Bodwell JE, Kingsley LA, Hamilton JW. Arsenic at very low concentrations alters glucocorticoid receptor (GR)-mediated gene activation but not GR-mediated gene repression: complex dose-response effects are closely correlated with levels of activated GR and require a functional GR DNA binding domain. *Chem Res Toxicol* 2004;17:1064-1076
- 50 Shen ZY, Shen WY, Chen MH, Shen J, Cai WJ, Yi Z. Nitric oxide and calcium ions in apoptotic esophageal carcinoma cells induced by arsenite. *World J Gastroenterol* 2002;8:40-43
- 51 Shen ZY, Shen WY, Chen MH, Shen J, Cai WJ, Zeng Y. Mitochondria, calcium and nitric oxide in the apoptotic pathway of esophageal carcinoma cells induced by As₂O₃. *Int J Mol* 2002;9:385-390
- 52 Iwama K, Nakajo S, Aiuchi T, Nakaya K. Apoptosis induced by arsenic trioxide in leukemia U937 cells is dependent on activation of p38, inactivation of ERK and the Ca²⁺ dependent production of superoxide. *Int J Cancer* 2001;92:518-526
- 53 Zhu J, Okumura H, Ohtake S, Nakamura S, Nakao S. Arsenic trioxide induces apoptosis in leukemia lymphoma cell lines via the CD95/CD95L system. *Oncol Rep* 2003;10:705-709
- 54 Liao WT, Chang KL, Yu CL, Chen GS, Chang LW, Yu HS. Arsenic induces human keratinocyte apoptosis by the FAS/FAS ligand pathway, which correlates with alterations in nuclear factor-kappa B and activator protein-1 activity. *J Invest Dermatol* 2004;122:125-129
- 55 Ivanov VN, Hei TK. Arsenite sensitizes human melanomas to apoptosis via tumor necrosis factor alpha-mediated pathway. *J Biol Chem* 2004;279:22747-22758

编辑 王谨晖 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

第六届全国胃肠动力学术研讨会征文通知

本刊讯 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组定于 2005-11 月上旬在武汉召开全国第六届胃肠动力学术会议, 届时将邀请国内外胃肠动力学专家就本学科的基础和临床研究进展作专题演讲, 并进行广泛的学术交流. 现将征文有关事项通知如下:

1 征文内容

(1) 胃肠动力障碍性疾病的基础和临床研究; (2) 胃肠功能性疾病的基础和临床研究; (3) 胃肠神经系统功能与胃肠动力学基础研究; (4) 胃肠动力学检测方法的临床应用.

2 征文要求

(1) 论文摘要不得超过 800 字, 电脑打印(附软盘), 格式为: 题目, 作者, 单位, 邮编, 目的, 方法, 结果和结论, 联系电话及 E-mail 地址; (2) 已在全国公开发表的论文不予受理.

3 投稿地址

武汉市解放大道 1277 号协和医院消化科 刘劲松收(邮编: 430022), 电话: 027-85726381; 2 武汉市丁字桥路 100 号湖北省医学会林勇 胡丽萍收(邮编: 430064), 电话: 027-87893467.

4 截稿日期

2005-07-30

5 会议具体地点

另行通知. 会议信息, 论文投稿, 表格下载请登陆网站: <http://hubeiyiyuan.go.nease.net>.

中华医学会消化病学分会

消化病学分会胃肠动力学组