

# 三氧化二砷在消化系恶性肿瘤治疗中的作用

常圆, 杨甜, 关景明

常圆, 杨甜, 关景明, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科, 黑龙江省哈尔滨市 150086

常圆, 硕士, 主要从事消化系统恶性肿瘤治疗方面的研究.

作者贡献分布: 本文综述由常圆与杨甜完成; 关景明审核.

通讯作者: 关景明, 教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区保健路148号, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科.

guanjingming0451@yahoo.com.cn

收稿日期: 2012-08-09 修回日期: 2012-08-22

接受日期: 2012-09-20 在线出版日期: 2012-10-08

## Role of arsenic trioxide in the treatment of malignant tumors of the digestive system

Yuan Chang, Tian Yang, Jing-Ming Guan

Yuan Chang, Tian Yang, Jing-Ming Guan, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Jing-Ming Guan, Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. guanjingming0451@yahoo.com.cn  
Received: 2012-08-09 Revised: 2012-08-22

Accepted: 2012-09-20 Published online: 2012-10-08

## Abstract

Arsenic trioxide ( $As_2O_3$ ), also named arsenic, is a main ingredient of numerous traditional Chinese herbal recipes and has a long history of clinical application. It has positive anticancer effects and is effective in treating acute promyelocytic leukemia without toxic and side effects.  $As_2O_3$  can induce apoptosis of cancer cells. In recent years, it has been found that  $As_2O_3$  has an apoptosis-promoting effect on tumor cells in many human solid tumors, including liver cancer. Many *in vitro* and *in vivo* studies using digestive tract tumor cell lines or animal model have found that  $As_2O_3$  can induce apoptosis and inhibit growth of digestive tract cancer cells. Therefore,  $As_2O_3$  may have an important role in the prevention of malignant tumors of the digestive system. In this article, we discuss the possible cellular and molecular mechanisms by which  $As_2O_3$  induces apoptosis of digestive tract cancer cells.

Key Words: Arsenic trioxide; Digestive system tumors; Apoptosis; Metastasis; Multidrug resistance;

## Telomerase

Chang Y, Yang T, Guan JM. Role of arsenic trioxide in the treatment of malignant tumors of the digestive system. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2012; 20(28): 2691-2696

## 摘要

三氧化二砷(arsenic trioxide,  $As_2O_3$ ), 中药名为砒霜, 在临床上的应用有悠久的历史. 经过多年的实验室研究和临床应用,  $As_2O_3$ 在抗肿瘤方面有确切的疗效, 他是治疗急性早幼粒细胞白血病的药物之一, 且不良反应较小, 其主要机制为诱导细胞凋亡. 目前 $As_2O_3$ 已用于多种实体肿瘤的治疗, 且在消化系肿瘤如肝癌的临床治疗中, 疗效确切. 近年来, 在消化系统肿瘤的体外细胞系和体内动物模型的研究中均发现,  $As_2O_3$ 能够诱导胃癌、胰腺癌、肝癌和结肠癌细胞凋亡, 同时对癌细胞的生长起抑制作用. 因此, 研究 $As_2O_3$ 在消化系恶性肿瘤防治中的作用具有重要意义. 本文结合国内外文献对 $As_2O_3$ 在治疗消化系恶性肿瘤中的作用作一综述.

关键词: 三氧化二砷; 消化系肿瘤; 凋亡; 转移; 多药耐药性; 端粒酶

常圆, 杨甜, 关景明. 三氧化二砷在消化系恶性肿瘤治疗中的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20(28): 2691-2696

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/20/2691.asp>

## 0 引言

三氧化二砷( $As_2O_3$ )是中药砒霜的主要成分, 为白色粉末、无臭、无味、能溶于水、乙醇、酸类及碱类、加热则升散而发蒜臭. 其毒性很强, 进入人体后破坏细胞呼吸酶, 强烈刺激胃肠黏膜, 使胃黏膜溃烂、出血, 亦会损伤肝脏和血管, 严重的会引发呼吸和循环衰竭而死亡, 但临床用其治疗急性早幼粒细胞白血病获得显著疗效, 使人们对 $As_2O_3$ 高度关注并且重新认识.  $As_2O_3$ 的抗癌机制广泛而独特, 深入研究发现,  $As_2O_3$ 能够诱导细胞分化, 阻滞细胞周期, 这是其抑制肿瘤生长的重要机制之一<sup>[1]</sup>. 体外研究也发现,  $As_2O_3$ 对实体肿瘤细胞有抑制生长<sup>[2-6]</sup>和/或诱导

## ■背景资料

三氧化二砷( $As_2O_3$ )又称砒霜, 是一种剧毒药, 但在治疗白血病、肝癌等恶性肿瘤中取得了举世瞩目的效果, 然而由于其抗肿瘤机制较为复杂, 使得三氧化二砷在其他肿瘤的临床应用上仍受到一定程度的限制.

## ■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

## ■研发前沿

关于As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抗肿瘤作用机制的研究近年来备受关注, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>通过诱导肿瘤细胞分化、凋亡、抑制血管生成、抑制肿瘤细胞转移等方面发挥抗癌作用,但目前还不能明确其确切的信号传导机制。因此,加强As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抗肿瘤机制的研究,将在理论上指导As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>在临床治疗上的应用。

凋亡<sup>[6,7]</sup>的作用。因此,从上述有关机制入手,对消化系统恶性肿瘤体外细胞系和动物模型进行了大量研究。

## 1 体外细胞系

1.1 抑制癌细胞株生长,促进癌细胞凋亡 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对体外培养的癌细胞株具有明显的抑制作用。刘洪义等<sup>[7]</sup>采用MTT法、TUNEL法、激光共聚焦显微镜观察等实验方法,观测紫杉醇、As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>单独及联合用药对结肠腺癌LS-174T细胞体外生长情况的影响,结果表明人结肠腺癌细胞株LS-174T对紫杉醇和As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>联合应用的敏感性高,二者具有抑制其增殖、促进凋亡的协同作用。细胞凋亡是细胞外界环境因素与细胞自身综合作用的结果,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>诱导癌细胞凋亡是多途径、多靶点的复杂过程。随着对细胞凋亡研究的不断深入,发现*BXL-2*基因和Bax蛋白在肿瘤细胞凋亡中具有重要的调控作用,抑制凋亡基因*BXL-2*和促进凋亡蛋白Bax在*BXL-2*家族中最有代表性,且Bax蛋白是*BXL-2*基因活性的主要调控因子<sup>[8]</sup>。有研究显示, *BXL-2*蛋白可与Bax蛋白形成Bcl-2-Bax异源二聚体,二者的比值决定细胞接受刺激信号是凋亡还是存活, *Bcl-2*基因过量表达则细胞存活, Bax蛋白过量表达则细胞凋亡。Bax蛋白不仅能与Bcl-2蛋白形成异源二聚体抑制凋亡,且还能与自身形成Bax-Bax同源二聚体诱导凋亡<sup>[9]</sup>。张丽芳等<sup>[10]</sup>的研究结果显示,经As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用的胃癌细胞株,用Annexin-V荧光探针、流式仪及免疫组织化学等方法检查后,胃癌细胞*Bcl-2*基因表达水平降低、Bax表达水平增加,证实这两者参与了细胞凋亡的过程,且As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可诱导胃癌发生凋亡。单悦梅等<sup>[11]</sup>的实验研究结果显示,1 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对细胞增殖抑制作用较小,随着As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度的增高及作用时间的延长,其抑制率相应增加,流式细胞仪检测结果显示As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>能显著诱导胃癌细胞的凋亡,不同浓度As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用于胃癌细胞SGC-7901后, *Bcl-2*基因呈低表达, Bax蛋白呈高表达, *Bcl-2*/Bax比值降低呈剂量依赖性<sup>[11]</sup>,也说明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可能通过诱导胃癌细胞凋亡而达到抗肿瘤的作用<sup>[12]</sup>。Qin等<sup>[13]</sup>的免疫组织化学实验结果显示,各浓度As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>处理胃癌细胞48 h后, Bax蛋白表达明显增强,且在凋亡细胞更明显,而*Bcl-2*基因表达较对照组减弱,胞质内棕黄色颗粒减少,亦证明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对人胃癌细胞的生长有明显的抑制作用。刘静冰等<sup>[14]</sup>的实验中,流式细胞仪(flow cytometry, FCM)分析

显示As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用于胰腺癌细胞48 h后,细胞凋亡率一直随时间的延长而持续上升;细胞周期分析显示: S期细胞比例呈上升趋势(14.9%-63.7%),而G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期呈下降趋势(60.9%-31.8%),说明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>诱导胰腺癌细胞凋亡的机制之一是将细胞周期阻滞于S期,从而抑制细胞的有丝分裂。李岚等<sup>[15]</sup>实验结果提示As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对胃癌BGC823细胞具有杀伤作用, G<sub>2</sub>/M期细胞有正常对照的25.0%增加到46.3%,出现了明显的G<sub>2</sub>/M期阻滞,亚二倍体凋亡细胞有4%增加到18%。周艳等<sup>[16]</sup>在As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用于肝癌细胞株SMMC-7721后,荧光显微镜下显示,对照组细胞核发出均匀弥散的蓝色荧光;不同浓度As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用后细胞出现典型的凋亡形态学改变, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>>0.25 μg/mL时,细胞凋亡率与药物浓度和作用时间呈依赖性,凋亡率呈上升趋势。其他研究报道<sup>[17-19]</sup>,亦证明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可诱导肿瘤细胞周期阻滞和凋亡。有实验证明<sup>[20,21]</sup>, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可直接干扰血管内皮细胞的细胞周期,阻滞细胞在G<sub>1</sub>期,并诱导细胞凋亡,进而抑制血管内皮细胞的增殖。

1.2 抑制癌细胞的转移 肿瘤血管生成是肿瘤恶性生长、浸润和转移的形态学基础,且与预后密切相关。肿瘤组织中微血管的数量与肿瘤转移的潜能呈正相关。肿瘤血管的形成受许多血管生成因子与抑制因子的调节,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)作为特异性的内皮细胞有丝分裂素,是最重要的血管生长促进因子<sup>[22]</sup>。目前认为VEGF和其受体的信号转导在血管生成中的内皮增殖、迁移、侵袭以及分化中发挥重要作用<sup>[23]</sup>。VEGF的表达预示着包括胃癌在内的胃肠道恶性肿瘤的进展并且预后差<sup>[24]</sup>。范永肿等<sup>[25]</sup>用As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>及PDTC处理胃癌细胞系SGC-7901细胞检测VEGF的表达情况,在普通培养条件下SGC-7901有VEGF表达,阳性单位为10.90±0.40, 2 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>时VEGF表达下降为8.18±0.51, 1 μmol/L PDTC组VEGF表达为9.14±0.76, PDTC联合用药组VEGF表达明显降低为6.96±0.30。邱静等<sup>[26]</sup>通过As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>联合阿司匹林应用于人胃癌裸鼠移植瘤组织检测VEGF的表达情况显示, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组、阿司匹林组及As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>联合阿司匹林组较对照组表达明显下降,联合治疗组VEGF表达情况显著低于As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组和阿司匹林组。郝雁飞等<sup>[27]</sup>研究发现, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可抑制甲胎蛋白阳性胃癌细胞株FU97增殖,通过下调甲胎蛋白、VEGF、STAT3基因的表达阻止甲胎蛋白阳性胃癌的恶性进程。Li、Kawakami、On-

ogawa等<sup>[28-30]</sup>的研究分别证明了VEGF-C在前列腺癌及结肠癌总呈高表达, 与肿瘤淋巴转移密切相关. 大量研究表明, MMP-9在多种恶性肿瘤中呈现过表达<sup>[31,32]</sup>, 因此被认为在恶性肿瘤的浸润转移中扮演着重要角色. 杜然然等<sup>[33]</sup>建立结肠癌小鼠移植瘤模型, 分为1 mg/(kg·d)As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组、2 mg/(kg·d)As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组和生理盐水组(注射等体积生理盐水), 应用免疫组织化学方法检测肾小球足突细胞黏蛋白(podoplanin)、VEGF-C、基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)的表达并计数微淋巴管密度(microlymphatic density, MLD), 结果显示As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>处理组VEGF-C和MMP-9的表达均较生理盐水组明显减弱, 2 mg/(kg·d)As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组VEGF-C和MMP-9的表达明显弱于1 mg/(kg·d)As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组; As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>处理组MLD较生理盐水组明显减少, 2 mg/(kg·d)As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组MLD明显少于1 mg/(kg·d)As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组; 以上差异均具有统计学意义. 由此证明, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对小鼠结肠癌移植瘤的淋巴管形成与MMP-9表达均有抑制作用. TGF-β<sub>1</sub>作为一种生长调节因子, 通过调控VEGF表达, 可诱导肿瘤新生血管形成. 张俊文等<sup>[34]</sup>应用细胞免疫化学观察As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用于SGC-7901细胞48 h后TGF-β<sub>1</sub>基因表达下调. COX-2促进肿瘤形成的作用主要通过促进细胞生长、抑制凋亡来实现, 而促进肿瘤浸润和血管形成则与其促进细胞黏附和运动等作用有关<sup>[35]</sup>. 唐印华等<sup>[36]</sup>采用免疫组织化学检测肝脏肿瘤组织中VEGF、COX-2、HIF-1α和CD44V6的表达情况, 结果各组细胞均着色, 治疗组VEGF、COX-2、HIF-1α和CD44V6阳性表达率较对照组均降低, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>治疗组明显下降, 以高剂量组更明显, 说明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>能够抑制肝癌的侵袭与转移, 且与剂量呈正相关. 肖延风等<sup>[37]</sup>研究证明, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抑制肿瘤血管生成的机制中除了VEGF分泌减少的直接作用外, 还与Ang-2促进肿瘤血管退化作用有关. Ang-2主要在新生的内皮细胞表达, 在转移性的黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌、胃癌和直肠癌等的肿瘤性血管内皮细胞上的表达明显高于正常组织<sup>[38]</sup>, 并且他的表达与病理分期、肿瘤转移及预后密切相关<sup>[39]</sup>, 故可能作为新生血管的标志物, 成为肿瘤新生血管研究的新指标.

1.3 逆转肿瘤的多药耐药性 肿瘤细胞的耐药性, 特别是多药耐药(multidrug resistance, MDR)导致的化疗失败是大多数癌症患者治疗中的一个主要问题. 多药耐药基因(multidrug resistance associated protein, MRP)是近年发现的肿瘤耐药

相关基因, 在肿瘤耐药过程中其一定作用<sup>[40]</sup>, 他定位于1p13.1, 由1 531个氨基酸组成, 属于ATP结合盒式转运蛋白超家族成员, 其相对分子量为190×10<sup>3</sup>, 其耐药谱广, 但对顺铂耐药不明显<sup>[41]</sup>. 目前认为, MRP在各种类型胃癌中均有表达, 具有很高的耐药诊断价值, 是一种良好的耐药指标. 郑著家等<sup>[42]</sup>的研究结果显示, 人胃癌细胞系MGC803经As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用72 h, 琼脂糖凝胶电泳图显示1.0 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>使MRP mRNA表达明显减弱, 6.0 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>使MRP mRNA表达明显增强. 得出结论: As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用于人胃癌细胞系MGC803后, 低浓度的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>较高浓度的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抑制MRP作用强, 顺铂联用低浓度As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 在增强抗肿瘤效果, 预防抗癌药物耐药方面, 可能有独特的作用. 而且不良反应小, 安全性好, 对胃癌治疗将会有较好的应用前景. 韩继广等<sup>[43]</sup>通过逐渐递增长春新碱浓度诱导胃癌细胞株SGC7901产生耐药性SGC7901/VCR, 应用MTT法、Western blot等方法, 测定肿瘤细胞内P-gp、GST-s的表达, 证明胃癌SGC7901/VCR细胞对VCR/5-Fu、表阿霉素的耐药倍数分别为16.56倍、2.69倍及13.05倍, 经As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>预处理24 h后, 上述3者的耐药倍数显著下降, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可使SGC7901/VCR细胞内P-gp、GST-s蛋白表达显著下降, 证明了As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可以抑制P-gp和GST-s蛋白的表达, 从而降低细胞的耐药性.

1.4 抑制端粒酶活性 端粒酶与肿瘤发生发展的密切关系已经使其成为当今肿瘤防治领域最受重视的新靶点之一. 端粒酶是细胞增生所必需的, 其功能是添加重复序列与DNA端粒末端, 促进癌细胞无限增生. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对端粒-端粒酶系统的影响及抑制肿瘤血管生成也是抑制肿瘤生长的重要机制<sup>[44]</sup>. 徐丹等<sup>[45]</sup>应用MTT法计算细胞生长抑制率, 电镜下观察细胞形态学变化, RT-PCR法检测细胞端粒酶hTERT-mRNA的表达, TRAP-PCR-ELISA法检测细胞端粒酶活性, 结果显示1.0 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>能促进细胞分化, 0.2 μg/mL顺铂和合用组均能诱导细胞凋亡, 同时都下调端粒酶hTERT-mRNA的表达, 降低端粒酶的活性, 且具有时间依赖性; 细胞生长抑制率与细胞端粒酶hTERT-mRNA的表达、端粒酶活性的下调呈负相关; 细胞端粒酶hTERT-mRNA的表达与细胞端粒酶活性呈正相关. 因此, 1.0 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对人大肠癌CCL-187细胞有促进分化的作用, 0.2 μg/mL顺铂和合用组有诱导凋亡的作用, 其机制可能是下调细胞端粒酶hTERT-mRNA的

#### ■ 相关报道

Ashkan等提出As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>治疗APL的效果确切, 不仅可以降低复发率, 还可以提高患者存活率, 虽然其与其他系统恶性肿瘤中的作用不能完全明确, 但他联合其他药物治疗恶性肿瘤有显著疗效.

## ■创新盘点

本文综述了As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抑制消化系统恶性肿瘤细胞生长和促进其凋亡等方面的作用机制,研究As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>在消化系统恶性肿瘤防治中的作用,为消化系统恶性肿瘤的治疗提供新的治疗方法。

基因表达,从而抑制端粒酶的活性。苏颖等<sup>[46]</sup>采用原位杂交方法检测了不同浓度的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对人肝癌细胞株(SMMC-7721)细胞端粒酶表达的影响,5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对癌细胞的端粒酶表达即产生明显的抑制作用,随着浓度的提高抑制作用明显增强。

## 2 体内动物模型

郭德东等<sup>[47]</sup>建立人胃癌裸鼠移植瘤模型后,分别按2.5 mg/kg(低剂量组)和5 mg/kg(高剂量组)剂量给予As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>腹腔注射治疗;对照组给予等体积生理盐水。测量瘤块体积并观察肿瘤的生长情况;采用电镜观察和原位末端标记(TUNEL)法检测肿瘤细胞的凋亡情况;采用免疫组织化学法检测Fas/FasL的表达。结果表明:裸鼠移植瘤在给药前、给药第6天瘤块的平均体积无明显差异,但在给药第11天,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>治疗组瘤块的平均体积均显著小于对照组( $P<0.05$ ),且高剂量治疗组显著小于低剂量治疗组( $P<0.05$ );透射电镜下观察肿瘤细胞可见对照组典型的瘤细胞表现,瘤细胞大小不一、形态不规则、胞核较大、多核、核仁大小不一、不居中现象甚至边集和凋亡细胞极少见;低剂量治疗组可见凋亡细胞,但比高剂量组少,且典型的“凋亡小体”极少见;高剂量组可见较多的凋亡细胞,染色质浓染边集,有的正在或已经被周围细胞所吞噬,凋亡细胞集中的区域可见典型的“凋亡小体”。TUNEL法检测结果,对照组的荧光强度为 $12.49\pm 3.22$ ,低剂量组和高剂量组的荧光强度分别为 $25.74\pm 3.82$ 和 $85.39\pm 8.92$ ,说明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>治疗组肿瘤组织中凋亡细胞的数量较对照组显著增多( $P<0.01$ )。免疫组织化学法检测Fas/FasL,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>治疗组肿瘤细胞的Fas表达显著高于对照组( $P<0.05$ ),但FasL的表达两组间无显著性差异( $P>0.05$ )。由此得知,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对人胃癌移植瘤的生长具有明显的抑制作用,其机制可能与上调Fas表达、诱导胃癌细胞凋亡有关。梁桃等<sup>[48]</sup>的研究显示,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米粒子可抑制HR8348裸鼠皮下移植瘤的生长,4.0 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>纳米粒子组增殖指数(31.61%)低于对照组(66.75%),而凋亡指数(19.21%)高于对照组(6.47%), $P<0.05$ 。可抑制肿瘤细胞的增殖,诱导细胞凋亡。

## 3 联合抗肿瘤药物

刘琳等<sup>[49]</sup>探讨As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>联合华蟾素对裸鼠人肝癌移植瘤血管新生的作用及其相关机制实验,采用

免疫组织化学、光镜和透射电镜进行观察移植瘤VEGF、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)及移植瘤病理,并对裸鼠肝、肾组织病理学和血常规进行检测,结果显示:As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组、华蟾素组及联合组的平均瘤质量( $0.65\text{ g}\pm 0.25\text{ g}$ 、 $0.70\text{ g}\pm 0.27\text{ g}$ 、 $0.42\text{ g}\pm 0.16\text{ g}$ )及平均瘤体积( $0.44\text{ cm}^3\pm 0.14\text{ cm}^3$ 、 $0.46\text{ cm}^3\pm 0.19\text{ cm}^3$ 、 $0.26\text{ cm}^3\pm 0.11\text{ cm}^3$ )均低于对照组平均瘤质量( $1.06\text{ g}\pm 0.25\text{ g}$ )及平均瘤体积( $0.67\text{ cm}^3\pm 0.17\text{ cm}^3$ ,  $P<0.05$ );两药相互作用系数(coefficient of drug interaction, CDI)值计算结果为:瘤质量CDI(0.97)<1,体积CDI(0.86)<1,表明两药有协同抑制移植瘤生长的作用。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>和华蟾素均能抑制移植瘤VEGF和EGFR的表达,并可降低肿瘤MVD,两药联合后上述作用均显著增强( $P<0.05$ )。裸鼠原位移植瘤的光镜和电镜下观察结果显示As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、华蟾素及两药联合均可抑制原位移植瘤组织细胞生长;且联合用药并未增加裸鼠肝、肾和造血系统的毒性,亦说明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>联合华蟾素协同抑制裸鼠人肝癌移植瘤的血管新生,能有效抑制移植瘤生长;同时联合用药对于荷瘤裸鼠的肝、肾和造血系统未见明显毒性。刘洪义等<sup>[7]</sup>的实验表明,不同浓度的紫杉醇与As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>联合组对人结肠腺癌LS-174T细胞增殖的抑制作用均强于紫杉醇或As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>单用药组,联合用药组从形态学观察及应用TUNEL法和Annexin V-FITC、PI染色结果显示联合用药组可检测到大量凋亡结肠腺癌细胞,明显多于单用药组,可知紫杉醇与As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>联合应用于人结肠腺癌LS-174T细胞可协同抑制其增殖,并可明显诱导肿瘤细胞凋亡发生。在As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>与其他抗肿瘤药物联合应用的实验中,亦均表现出显著的抗癌作用,提出其机制与协同诱导胃癌细胞凋亡、抑制NF-κB的活化,调控凋亡相关基因的转录表达及引起细胞周期阻滞有关<sup>[10,11,24,50]</sup>。

## 4 不良反应

砒霜经胃肠道口服毒性极大,20 mg即可致死,而As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>采用非胃肠道给药方式,不良反应却较小。常见的不良反应如下:(1)消化道反应:在治疗过程中,部分患者用药后出现腹胀口苦、口腔干涩及纳差等。不过这些症状可通过剂量调整和对症处理得到缓解;(2)皮肤改变:少数患者用药后出现皮肤干燥、脱屑、粗糙集色素沉着、偶可见皮肤瘙痒,应用抗组胺类抗过敏药物后可缓解,不影响继续用药;(3)肝肾毒性:部分患者

出现肝功改变, 肾功一般变化不大, 但有些出现颜面或下肢水肿, 停药后症状好转消失。因此, 必要时可预防性应用护肝、利尿剂; (4)骨髓移植: 少数患者用药2 wk以上时白细胞有所下降, 一般停药或升白药物治疗后能迅速恢复正常; (5)其他: 偶见手足末端麻木感, 个别患者可有心电图异常等。

## 5 结论

关于As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抗肿瘤作用机制的研究近年来备受关注, 且取得了很多进展。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>通过诱导肿瘤细胞分化、凋亡、抑制血管生成和抑制肿瘤细胞转移等方面发挥抗癌作用, 尤其在促凋亡机制方面, 发现其与多条信号转导通路相关, 也反映了As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抗肿瘤机制是多途径多靶点的<sup>[51]</sup>, 但目前还不能明确其确切的信号传导机制。因此, 加强As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抗肿瘤机制的研究, 有利于指导As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>在临床治疗中的应用。

## 6 参考文献

- Burchiel SW, Mitchell LA, Lauer FT, Sun X, McDonald JD, Hudson LG, Liu KJ. Corrigendum to "Immunotoxicity and biodistribution analysis of arsenic trioxide in C57B1/6 mice following a 2-week inhalation exposure": [Toxicol. Appl. Pharmacol. 241 (2009) 253-259]. *Toxicol Appl Pharmacol* 2010; 246: 188
- Shao QS, Ye ZY, Ling ZQ, Ke JJ. Cell cycle arrest and apoptotic cell death in cultured human gastric carcinoma cells mediated by arsenic trioxide. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 3451-3456
- Baumgartner M, Sturlan S, Roth E, Wessner B, Bachleitner-Hofmann T. Enhancement of arsenic trioxide-mediated apoptosis using docosahexaenoic acid in arsenic trioxide-resistant solid tumor cells. *Int J Cancer* 2004; 112: 707-712
- Chan JY, Siu KP, Fung KP. Effect of arsenic trioxide on multidrug resistant hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Lett* 2006; 236: 250-258
- Wang XS, Wang GY, Xu HT, Wang K, Liu M, Fu SB, Geng JS, Zhang QF, Dong XS, Zhao JH. [The effect of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> on induction of apoptosis and inhibition of telomerase activity in colon cancer LS-174T cells]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2007; 29: 415-418
- Yu J, Qian H, Li Y, Wang Y, Zhang X, Liang X, Fu M, Lin C. Arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) reduces the invasive and metastatic properties of cervical cancer cells in vitro and in vivo. *Gynecol Oncol* 2007; 106: 400-406
- 刘洪义, 王权, 于金海, 王大广, 所剑. 紫杉醇联合三氧化二砷作用人结肠腺癌LS-174T细胞增殖及凋亡的实验研究. *中国实验诊断学* 2009; 13: 324-327
- 曹琦, 韦国栋, 郭红荣. 三氧化二砷诱导恶性肿瘤细胞凋亡机制的研究进展. *现代肿瘤医学* 2007; 15: 731-734
- Barrezueta LF, Oshima CT, Lima FO, De Oliveira Costa H, Gomes TS, Neto RA, De Franco MF. The intrinsic apoptotic signaling pathway in gastric adenocarcinomas of Brazilian patients: Immunoexpression of the Bcl-2 family (Bcl-2, Bcl-x, Bak, Bax, Bad) determined by tissue microarray analysis. *Mol Med Report* 2012; 3: 261-267
- 张丽芳, 孙晓琪. 三氧化二砷诱导胃癌细胞凋亡及其机制的探讨. *中国实验诊断学* 2008; 12: 1398-1399
- 单悦梅, 万勃威. 三氧化二砷诱导胃癌细胞凋亡及其对bcl-2基因和bax蛋白表达的影响. *中国全科医学* 2012; 15: 1727-1729
- 郑亦胡, 周蒙滔, 单云峰, 张启瑜. 三氧化二砷诱导胃癌细胞凋亡和Bcl-2表型变化的意义. *温州医学院学报* 2010; 40: 6-8, 12
- Qin HB, Wei L, Zhang JW, Tang JM. [Study on functions and mechanism of curcumin in inducing gastric carcinoma BGC apoptosis]. *Xibao Yu Fenzi Mianyixue Zazhi* 2011; 27: 1227-1230
- 刘静冰, 秦叔逵, 李进. 三氧化二砷诱导胰腺癌细胞系PC-3凋亡及其抑制转移的作用. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1952-1955
- 李岚, 张敬东, 刘云鹏, 侯科佐. 三氧化二砷对胃癌BGC-823细胞增殖及细胞周期的影响. *肿瘤学杂志* 2008; 14: 190-192
- 周艳, 于嘉伟, 郭红霞, 于志坚. 三氧化二砷诱导人肝癌SMMC-7721细胞凋亡及对OPN表达的影响. *山东医学* 2009; 49: 7-9
- 吴瑛, 张敬东, 刘云鹏, 侯科佐. 三氧化二砷诱导肠癌HT-29细胞周期阻滞及凋亡的研究. *中国医科大学学报* 2006; 35: 589-590, 593, F0002
- Xie D, Yin S, Ou Y, Bai H, Ding F, Wang X, Liu Z, Zhou C, Wu M. Arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) induced apoptosis and its mechanisms in a human esophageal squamous carcinoma cell line. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 280-285
- 郝一, 李译. 高明, 董雯, 胡美茹, 宋伦. 三氧化二砷通过抑制IKK/NF-κB信号通路活化发挥促乳腺癌细胞凋亡效应. *军事医学* 2012; 36: 263-266
- 陈玺, 肖延凤, 刘陕西, 郭德东, 任利芬. 三氧化二砷对血管内皮细胞增殖和周期的影响. *陕西医学杂志* 2008; 37: 651-653
- 张俊文, 王丕龙. 三氧化二砷对胃癌细胞侵袭转移和血管生成的抑制作用. *实用肿瘤杂志* 2004; 19: 409-412
- Gong W, Wang L, Yao JC, Ajani JA, Wei D, Aldape KD, Xie K, Sawaya R, Huang S. Expression of activated signal transducer and activator of transcription 3 predicts expression of vascular endothelial growth factor in and angiogenic phenotype of human gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 1386-1393
- Dvorak HF. Rous-Whipple Award Lecture. How tumors make bad blood vessels and stroma. *Am J Pathol* 2003; 162: 1747-1757
- Cabuk D, Basaran G, Celikel C, Dane F, Yumuk PF, Iyikesici MS, Ekenel M, Turhal NS. Vascular endothelial growth factor, hypoxia-inducible factor 1 alpha and CD34 expressions in early-stage gastric tumors: relationship with pathological factors and prognostic impact on survival. *Oncology* 2007; 72: 111-117
- 范永坤, 任元满. 三氧化二砷联合PDT诱导胃癌细胞凋亡及其对VEGF表达的影响. *山西医科大学学报* 2008; 39: 494-496
- 邱静, 吴永平, 柳红. 三氧化二砷联合阿司匹林对人胃癌裸鼠移植瘤生长的影响. *中国中西医结合杂志* 2009; 29: 418-421
- 郑雁飞, 汪运山, 周芳, 胡安拉, 马晓丽, 肖东杰, 苏占涛. 三氧化二砷对人AFP阳性胃癌细胞株FU97的作用及其机制. *肿瘤防治研究* 2008; 35: 169-172
- Li R, Younes M, Wheeler TM, Scardino P, Ohori M,

## ■应用要点

前期研究已得出, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对白血病、肝癌、胃癌等恶性肿瘤细胞有明显的诱导凋亡和抑制生长的作用, 本文进一步探讨其诱导凋亡、抑制生长及抗转移作用的机制, 为临床治疗提供更为可靠的治疗依据。

## ■名词解释

多药耐药(MDR): 是指肿瘤细胞对作用于他的药物产生耐药的同时, 也对不同种类和结构的其他未作用于他的药物产生耐药性。

## ■同行评价

本文具有一定的  
临床应用价值。

- 29 Kawakami M, Furuhashi T, Kimura Y, Yamaguchi K, Hata F, Sasaki K, Hirata K. Quantification of vascular endothelial growth factor-C and its receptor-3 messenger RNA with real-time quantitative polymerase chain reaction as a predictor of lymph node metastasis in human colorectal cancer. *Surgery* 2003; 133: 300-308
- 30 Onogawa S, Kitadai Y, Tanaka S, Kuwai T, Kimura S, Chayama K. Expression of VEGF-C and VEGF-D at the invasive edge correlates with lymph node metastasis and prognosis of patients with colorectal carcinoma. *Cancer Sci* 2004; 95: 32-39
- 31 Mroczko B, Groblewska M, Okulczyk B, Kedra B, Szmitkowski M. The diagnostic value of matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases 1 (TIMP-1) determination in the sera of colorectal adenoma and cancer patients. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 1177-1184
- 32 Nalla AK, Gorantla B, Gondi CS, Lakka SS, Rao JS. Targeting MMP-9, uPAR, and cathepsin B inhibits invasion, migration and activates apoptosis in prostate cancer cells. *Cancer Gene Ther* 2010; 17: 599-613
- 33 杜然然, 程慧敏. 三氧化二砷对结肠癌小鼠移植瘤淋巴管形成与MMP-9表达的影响. 徐州医学院学报 2011; 31: 28-31
- 34 张俊文, 王丕龙. 三氧化二砷诱导胃癌细胞凋亡及其对C-myc和TGF- $\beta$ 1表达的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2006; 15: 7-9
- 35 Chen WT, Hung WC, Kang WY, Huang YC, Su YC, Yang CH, Chai CY. Overexpression of cyclooxygenase-2 in urothelial carcinoma in conjunction with tumor-associated-macrophage infiltration, hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression, and tumor angiogenesis. *APMIS* 2009; 117: 176-184
- 36 唐印华, 梁桃, 尚国印, 史立军. 三氧化二砷抑制裸鼠肝癌侵袭及转移的体内实验研究. 哈尔滨医科大学学报 2010; 44: 447-454
- 37 肖延风, 刘陕西, 郭德东, 陈玺, 任利芬. 三氧化二砷对人胃癌裸鼠移植瘤血管生成素-2和血管内皮生长因子表达的影响. 西安交通大学学报(医学版) 2009; 30: 52-56
- 38 张真真, 张声. 血管生成素及其受体与肿瘤的血管生成. 国际病理科学与临床杂志 2004; 24: 159-162
- 39 Wang J, Wu K, Zhang D, Tang H, Xie H, Hong L, Pan Y, Lan M, Hu S, Ning X, Fan D. Expressions and clinical significances of angiopoietin-1, -2 and Tie2 in human gastric cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 337: 386-393
- 40 许三鹏, 柯昌庶, 王渝, 龙浩成, 龚建平. 凋亡相关蛋白与多药耐药相关蛋白在结肠癌的表达及其意义. 中国组织化学与细胞化学杂志 2008; 17: 212-214
- 41 杜方冰, 梅小冬. 多药耐药相关蛋白2及其在肿瘤耐药中的研究进展. 现代肿瘤医学 2008; 16: 478-480
- 42 郑著家, 李长福, 博挽澜. 三氧化二砷对人胃癌细胞系MGC803凋亡及耐药基因表达影响的实验研究. 现代肿瘤医学 2009; 17: 2082-2084
- 43 韩继广, 薛英威, 张纯慧, 李宝馨, 杨宝锋. 三氧化二砷对胃癌耐药细胞P-gp、GST-s表达的抑制. 哈尔滨医科大学学报 2009; 43: 37-44
- 44 Nabeshi H, Yoshikawa T, Kamada H, Shibata H, Sugita T, Abe Y, Nagano K, Nomura T, Minowa K, Tsunoda S, Tsutsumi Y. Arsenic trioxide induces down-regulation of gp46 via protein oxidation: proteomics analysis of oxidative modified proteins in As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-treated HTLV-1-infected cells. *Pharmazie* 2010; 65: 702-707
- 45 徐丹, 杨幼林, 徐洪雨, 于刘宏. 三氧化二砷和顺铂对大肠癌细胞端粒酶活性及细胞凋亡的影响. 中国现代医学杂志 2008; 18: 73-97
- 46 苏颖, 陈增, 林可焯, 邹长棣, 林华妹. 三氧化二砷抑制肝癌细胞端粒酶表达及诱导细胞凋亡作用. 世界华人消化杂志 2003; 11: 264-267
- 47 郭德东, 肖延风, 姚定姝. 三氧化二砷诱导人胃癌裸鼠移植瘤细胞凋亡及其对Fas/FasL表达的影响. 西安交通大学学报(医学版) 2010; 31: 84-87
- 48 梁桃, 陈颖颖, 薄挽澜. 三氧化二砷纳米粒子对直肠癌作用的实验研究. 国际遗传学杂志 2010; 33: 330-333
- 49 刘琳, 陈宝安, 秦叔逵, 赵伟, 李苏宜, 邱少敏, 王南瑶. 三氧化二砷联合华蟾素抗裸鼠人肝癌移植瘤血管新生的作用. 中国中西医结合杂志 2011; 31: 67-72
- 50 梁军, 冷宁, 赵园园, 姚如永, 丁爱萍, 曹芳丽, 尚庆军. 三氧化二砷联合5-FU体外抗人胃癌细胞SGC-7901作用及机制的研究. 中国肿瘤临床 2006; 33: 1274-1276
- 51 Pu YS, Hour TC, Chen J, Huang CY, Guan JY, Lu SH. Arsenic trioxide as a novel anticancer agent against human transitional carcinoma--characterizing its apoptotic pathway. *Anticancer Drugs* 2002; 13: 293-300

编辑 田滢 电编 鲁亚静

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2012年版权归世界华人消化杂志

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.