

三氧化二砷粉针剂联合重组腺病毒介导的I κ B α M治疗肝癌

杨雅雯, 刘丹, 刘婷, 胡丽红, 杜雅菊, 刘冰熔

杨雅雯, 刘丹, 刘婷, 胡丽红, 杜雅菊, 刘冰熔, 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
杨雅雯, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的基础及临床研究。
哈尔滨市科技计划基金资助项目, No. 2004AA9CS196-13
作者贡献分布: 此课题由刘冰熔与杜雅菊设计与指导; 研究过程由杨雅雯、刘婷及胡丽红共同完成; 数据分析由刘丹完成; 刘丹完成论文撰写; 由刘冰熔审核。
通讯作者: 刘冰熔, 教授, 主任医师, 博士生导师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学第二附属医院消化内科. liubingrong@medmail.com.cn
电话: 0451-86605980 传真: 0451-86605980
收稿日期: 2013-02-07 修回日期: 2013-03-07
接受日期: 2013-03-29 在线出版日期: 2013-05-08

Inhibitory effect of As₂O₃ combined with adenovirus carrying I κ B α M on proliferation of liver cancer cells *in vitro* and *in vivo*

Ya-Wen Yang, Dan Liu, Ting Liu, Li-Hong Hu, Ya-Ju Du, Bing-Rong Liu

Ya-Wen Yang, Dan Liu, Ting Liu, Li-Hong Hu, Ya-Ju Du, Bing-Rong Liu, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Supported by: the Science and Technology Project of Harbin City, No. 2004AA9CS196-13
Correspondence to: Bing-Rong Liu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Street, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. liubingrong@medmail.com.cn
Received: 2013-02-07 Revised: 2013-03-07
Accepted: 2013-03-29 Published online: 2013-05-08

Abstract

AIM: To analyze the inhibitory effect of arsenic trioxide (As₂O₃) combined with adenovirus carrying I κ B α M (Ad-I κ B α M) on proliferation of liver cancer cells *in vitro* and *in vivo*.

METHODS: The effect of As₂O₃ combined with Ad-I κ B α M on liver cancer cell growth was assessed by MTT assay. Wistar rats were treated with diethylnitrosamine (DEN) for about 16 wk to induce liver cancer. The index of apoptosis was assessed by TUNEL assay.

RESULTS: As₂O₃ induced cellular toxicity in a dose- and time-dependent fashion in SMMC-7721

cells. MTT assay showed that the proliferation of SMMC-7721 cells was most significantly suppressed by As₂O₃ at a dose of 16 μ mol/L, and the reduced rate of cell proliferation was 17.7% \pm 5.3%, 40.7% \pm 2.5% and 62.8% \pm 5.4% at 48, 72 and 96 h, respectively. The reduced rate of cell proliferation at 72 and 96 h in cells treated with 16 μ mol/L As₂O₃ and Ad-I κ B α M was 68.3% \pm 2.1% and 81.9% \pm 3.0%, significantly higher than those in other groups (all P < 0.01). DENA treatment successfully induced tumors in rats at week 16. There was no significant difference in life span of liver cancer-bearing rats among each group. TUNEL assay demonstrated that treatment with As₂O₃ and Ad-I κ B α M greatly enhanced apoptotic cell death.

CONCLUSION: Ad-I κ B α M has a synergistic effect with As₂O₃ in inhibiting liver cancer cell proliferation *in vitro* and *in vivo*.

© 2013 Baishideng. All rights reserved.

Key Words: Ad-I κ B α M; Arsenic trioxide; Gene therapy; Liver cancer

Yang YW, Liu D, Liu T, Hu LH, Du YJ, Liu BR. Inhibitory effect of As₂O₃ combined with adenovirus carrying I κ B α M on proliferation of liver cancer cells *in vitro* and *in vivo*. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2013; 21(13): 1159-1163
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1159.asp>
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1159>

摘要

目的: 探讨三氧化二砷(arsenic trioxide, As₂O₃)粉针剂联合重组腺病毒介导的I κ B α M抑制肝癌细胞增殖及对大鼠肝癌的治疗效果。

方法: MTT法检测不同浓度As₂O₃联合Ad-I κ B α M对肝癌细胞增殖的抑制作用。探讨体内As₂O₃联合Ad-I κ B α M对二乙基亚硝胺诱发的大鼠肝癌的抑制作用, 并应用TUNEL法检测各处理组肝癌的凋亡指数。

结果: As₂O₃处理肝癌细胞SMMC-7721的细胞毒作用存在剂量依赖性以及时间依赖性, 16 μ mol/L的As₂O₃抑制率最高, 48、72、96 h

■背景资料

三氧化二砷(arsenic trioxide, As₂O₃)是中国传统医药“砒霜”的活性成分, 能够诱导多种实体瘤细胞和白血病细胞的凋亡。本文将As₂O₃粉针剂与腺病毒介导的核因子(nuclear factor- κ B, NF- κ B)超抑制物I κ B α M联合应用于肝癌治疗, 观察其对肝癌增殖及凋亡的影响。

■同行评议者

施晓雷, 副主任医师, 南京大学医学院附属鼓楼医院

■ 研发前沿

肝癌是严重威胁人类生命的恶性肿瘤之一,近年来肝癌的治疗模式逐渐向多元化发展,除占有重要地位的化疗,基因治疗也成为具有广泛应用前景的治疗手段之一。

分别为 $17.7\% \pm 5.3\%$ 、 $40.7\% \pm 2.5\%$ 、 $62.8\% \pm 5.4\%$ 。16 $\mu\text{mol/L}$ As_2O_3 联合转染Ad-I κ B α M处理组在72 h和96 h,对肝癌细胞抑制率分别为 $68.3\% \pm 2.1\%$ 和 $81.9\% \pm 3.0\%$,显著高于16 $\mu\text{mol/L}$ As_2O_3 联合Ad-I κ B α 组(P 值分别为0.004)。二乙基亚硝胺于第16周诱发大鼠肝癌,成瘤率约达80%。各处理组成瘤大鼠(包括无菌生理盐水组、 As_2O_3 组、 As_2O_3 +Ad-I κ B α 组以及 As_2O_3 +Ad-I κ B α M组)的生存期无明显差别。 As_2O_3 联合Ad-I κ B α M处理组肝癌的凋亡率较其他处理组均显著增高。

结论:腺病毒介导的I κ B α M与 As_2O_3 具有协同作用,转染Ad-I κ B α M可以明显增强 As_2O_3 的抑制肝癌细胞增殖作用以及体内抑瘤作用。

© 2013年版权归Baishideng所有。

关键词: Ad-I κ B α M; 三氧化二砷; 基因治疗; 肝癌

核心提示:腺病毒介导的I κ B α M与三氧化二砷(arsenic trioxide, As_2O_3)具有协同作用,转染重组腺病毒-I κ B α M可以明显增强 As_2O_3 的抑制肝癌细胞增殖作用以及体内抑瘤作用。

杨雅雯, 刘丹, 刘婷, 胡丽红, 杜雅菊, 刘冰熔. 三氧化二砷粉针剂联合重组腺病毒介导的I κ B α M治疗肝癌. 世界华人消化杂志 2013; 21(13): 1159-1163 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/21/1159.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v21.i13.1159>

0 引言

细胞核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)是一种广泛存在于细胞中的具有多向调节作用的蛋白质因子,是恶性肿瘤抗凋亡的重要机制之一^[1,2]。三氧化二砷(arsenic trioxide, As_2O_3)在肿瘤治疗中的研究,已经从血液系统肿瘤扩展到实体瘤,研究表明 As_2O_3 可选择性抑制多种人类肿瘤细胞生长,诱导肿瘤细胞凋亡与分化^[3-8]。在前期工作中,我们用已经克隆成功的中国人I κ B α 基因定点诱变构建NF- κ B超抑制物I κ B α M,并在此基础上应用最新的腺病毒构建系统构建重组腺病毒-I κ B α M(adenovirus carrying-I κ B α M, Ad-I κ B α M)以及对照组腺病毒Ad-I κ B α ^[9]。本研究中我们应用粉针剂 As_2O_3 联合Ad-I κ B α M进行肝癌的治疗研究,为今后的肝癌基因治疗打下坚实的基础。

1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞系SMMC-7721、人胚肾细

胞系293T均购自中科院上海细胞所细胞库;试验动物是6周龄Wistar大鼠,共25只,均为♂,体质量为 $110 \text{ g} \pm 10 \text{ g}$,购自哈医大二院动物中心洁净动物房。分析纯的 As_2O_3 粉针剂购自北京五七六零一化工厂;二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DENA)为Sigma公司产品,用纯净水配制成95 mg/L溶液,每日新鲜配制并避光保存;TUNEL细胞凋亡原位检测试剂盒购自Roche公司;NF- κ B P65小鼠单克隆抗体(一抗)及鼠SP免疫组织化学染色试剂盒均购自北京中山金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 重组腺病毒的构建:含Ser32和36位丝氨酸定点诱变为丙氨酸的中国人I κ B α 基因编码区cDNA序列并表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的Ad-I κ B α M、含未突变的中国人I κ B α 基因并表达GFP的重组腺病毒Ad-I κ B α ,均系刘冰熔博士构建^[9]。

1.2.2 试验动物及动物模型制备:试验动物随机分笼饲养,每笼5只,每日正常饲料喂饲,将每日新鲜配制的DENA水溶液(浓度为95 mg/L)按每只大鼠20 mL/d药液饮饲(饮饲容器用避光容器)。所有动物均在相同条件下饲养。

1.2.3 肝癌细胞的体外增殖试验:采用四甲基偶氮唑盐(MTT)方法检测,取对数生长期人肝癌细胞系SMMC-7721分别转染实验组腺病毒Ad-I κ B α M(2.0×10^8 pfu)和对照组腺病毒Ad-I κ B α (2.0×10^8 pfu)。转染后24 h将各组细胞接种于96孔板中,每组设6个复孔,1000-2000个细胞/孔,待细胞贴壁后分别加入不同浓度三氧化二砷使之终浓度为0、2、4、8和16 $\mu\text{mol/L}$ 。分别取4个时间点进行检测,分别为24、48、72和96 h。检测前首先更换培养液100 μL /孔在培养箱继续培养,MTT溶液10 mL/孔,反应1 h后,选择450 nm和630 nm双波长测定各孔的吸光度值。

1.2.4 成瘤大鼠的处理:实验分 As_2O_3 联合Ad-I κ B α M组(注入药物为 As_2O_3 2.2 mg/kg、碘化油0.5 mL/kg、Ad-I κ B α M 2.0×10^8 pfu); As_2O_3 联合Ad-I κ B α 组(As_2O_3 2.2 mg/kg、碘化油0.5 mL/kg、Ad-I κ B α 2.0×10^8 pfu); As_2O_3 组(As_2O_3 2.2 mg/kg、碘化油0.5 mL/kg);生理盐水对照组(等体积生理盐水)。术前大鼠禁食12 h,采用10 mg/mL戊巴比妥钠(按大鼠体质量30 mg/kg)腹腔注射麻醉。应用29 G胰岛素针经肝固有动脉注射各组药物。将各组大鼠分笼饲养2 wk后麻醉处死取出肝脏,10%中性甲醛固定,脱水、石蜡包埋处理。

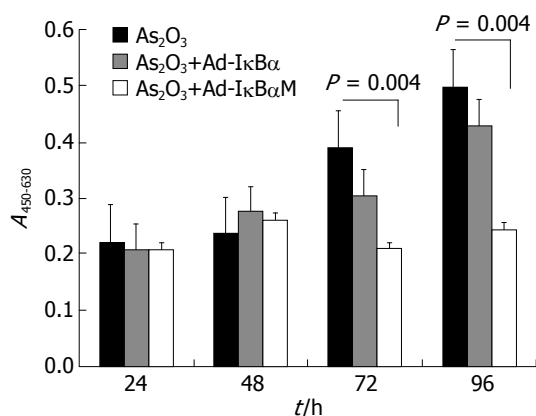


图1 体外转染Ad-IκBαM抑制肝癌细胞SMMC-7721增殖。
As₂O₃: 三氧化二砷。

1.2.5 免疫组织化学法检测NF-κB/P65的表达: 3% H₂O₂灭活、抗原修复、血清封闭、滴加1:100稀释的一抗, 4℃过夜; PBS洗涤3次, 每次5 min; 滴加二抗, 室温静置1 h, PBS洗涤3次; DAB显色5-10 min, 自来水浸洗终止反应, 苏木素复染2 min后盐酸乙醇分化、氨水返蓝, 封片, 读片。

1.2.6 TUNEL法检测凋亡: 3% H₂O₂灭活阻断内源性辣根过氧化物酶, PBS洗2次, 每次5 min, 2×SSC中80℃浸泡20 min, PBS洗2次, 每次5 min; 蛋白酶K消化0-20 min; PBS洗2次, 每次5 min, TdT缓冲液孵育10 min, TdT反应液37℃孵育1 h; 2×SSC溶液浸泡10 min, 终止反应; PBS洗2次, 每次5 min; 链卵白素标记的辣根过氧化物酶孵育30 min, PBS洗2次, 每次5 min; DAB显色5-10 min, 苏木素复染3-5 min, 封片。凋亡指数的计算: 随机计数高倍视野下细胞每100个细胞中的阳性细胞数。

统计学处理 数据结果均采用mean±SD表示, 组间差异显著性分析采用配对t检验, 应用SPSS10.0统计软件进行数据分析。

2 结果

2.1 MTT比色法测定As₂O₃联合Ad-IκBαM对肝癌细胞的抑制率 As₂O₃对肝癌细胞SMMC-7721增殖的抑制作用具有时间依赖性和浓度依赖性, 16 μmol/L的As₂O₃对肝癌细胞的抑制率最高, 48、72、96 h分别为17.7%±5.3%、40.7%±2.5%、62.8%±5.4%。如图1所示, 在72 h和96 h时间点, 16 μmol/L As₂O₃联合转染Ad-IκBαM处理组吸光度值显著低于16 μmol/L As₂O₃联合转染Ad-IκBα组, 前者抑制率分别为68.3%±2.1%和81.9%±3.0%, 二者比较具有显著统计学

表1 TUNEL方法检测不同处理组组织中肝癌细胞的凋亡百分率 (n=5, %)

不同处理组	凋亡指数	P值
生理盐水	1.18 ± 0.32	0.009 ^a
As ₂ O ₃	4.64 ± 1.16	0.032 ^c
As ₂ O ₃ + Ad-IκBα	4.66 ± 1.75	0.032 ^e
As ₂ O ₃ + Ad-IκBαM	7.52 ± 1.59	

^aP<0.05 vs As₂O₃ + Ad-IκBαM组; ^cP<0.05 vs As₂O₃ + Ad-IκBαM组; ^eP<0.05 vs As₂O₃ + Ad-IκBαM组。As₂O₃: 三氧化二砷。

差异(P值均为0.004)。

2.2 DENA诱发大鼠肝癌 喂饮DENA 16 wk后大鼠开始出现精神萎靡, 活动减少, 进食饮水减少以及体质量下降, 大鼠肝脏表面粗糙并形成肿瘤(图2A), 成瘤率约为80%。应用免疫组织化学方法检测各处理组肝癌中NF-κB/P65表达情况(图2C, D)。各处理组大鼠的生存期无显著差别。

2.3 TUNEL法检测各处理组肝癌组织中的凋亡情况 每个取材组织选取5个以上高倍视野, 每个视野计数100个细胞, 计算阳性细胞数(棕黄色)占全部细胞的百分数, 即凋亡指数(apoptosis index, AI)(图3, 表1)。

3 讨论

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是严重威胁人类生命的恶性肿瘤之一, 我国每年约有11万人死于肝癌, 占全球肝癌死亡人数的45%。尽管手术切除和肝移植是HCC首选治疗方式, 但多数患者诊断时已不具备手术适应症, 且术后肿瘤复发率高以及肝移植的高额医疗成本限制了其普遍应用。近年来肝癌的治疗模式逐渐向多元化发展, 除占有重要地位的化疗外, 基因治疗也成为具有广泛应用前景的治疗手段之一^[10]。

As₂O₃是中国传统医药“砒霜”的活性成分, 能够诱导多种实体瘤细胞和白血病细胞的凋亡^[11-14]。与以往对As₂O₃的研究一致, 我们的研究表明, 体外培养基中As₂O₃的浓度在2 μmol/L以上就可抑制肝癌细胞SMMC-7721的生长, 并且随着剂量的增加其抑制作用显著增强, 此外As₂O₃对细胞增殖的抑制作用具有明显的时间依赖性。

许多抗癌药物以诱导细胞凋亡作为治疗肿瘤的机制之一, 但是肿瘤细胞往往对抗癌药物诱导的细胞凋亡产生耐药性, 从而削弱治疗的效果^[15,16]。大量研究表明, 肿瘤细胞核转录因子

■ 相关报道

研究表明, NF-κB一旦被激活可以诱导凋亡抑制基因表达, 对抗化疗药物引起的细胞凋亡, 造成肿瘤细胞的化疗抵抗。因此, 抑制NF-κB通路的活化将在肿瘤治疗中发挥重要作用。

■创新盘点

As_2O_3 和 Ad-I κ B α M 联合无论在抑制肝癌细胞的增殖还是促进肿瘤细胞的凋亡方面均具有明显的协同作用。

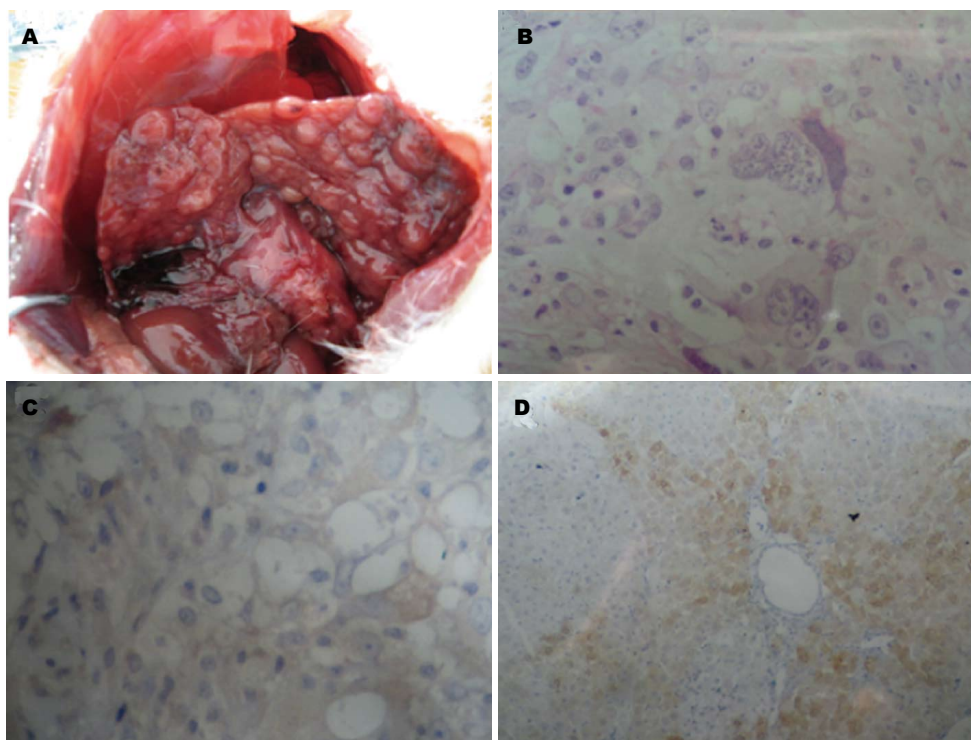


图2 大鼠肝癌模型的建立及鉴定. A: 大鼠肝脏上的原发癌结节; B: 原发癌结节的HE染色鉴定; C: As_2O_3 联合Ad-I κ B α M处理组肝癌中NF- κ B/P65的表达; D: As_2O_3 联合Ad-I κ B α M处理组肝癌中NF- κ B/P65的表达. NF- κ B: 核因子; As_2O_3 : 三氧化二砷.

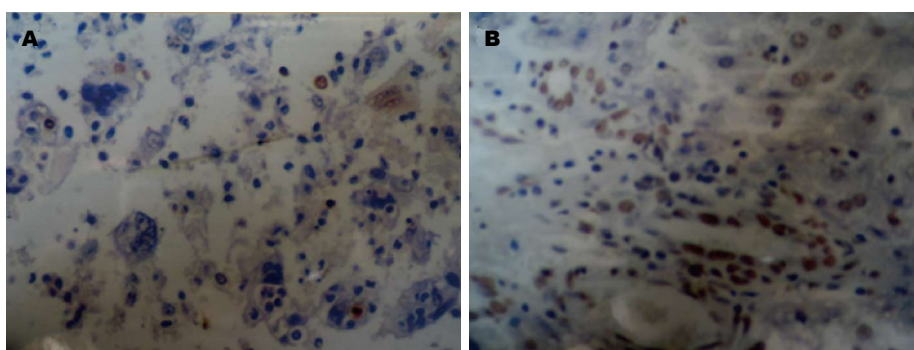


图3 转染Ad-I κ B α M能够促进肝癌细胞凋亡. A: As_2O_3 联合Ad-I κ B α M处理组肝癌细胞凋亡检测; B: As_2O_3 联合Ad-I κ B α M处理组肝癌细胞凋亡检测. Ad-I κ B α M: 重组腺病毒-I κ B α M; As_2O_3 : 三氧化二砷.

NF- κ B的活化是其耐药性产生机制之一. NF- κ B通常以二聚体形式与其抑制蛋白I κ B形成复合物, 以非活性形式存在于细胞质中, 在受到各种理化因素的作用后I κ B将被磷酸化、降解, 因而NF- κ B将会被解离、活化进入细胞核内发挥调节基因转录表达的作用, 参与免疫调节、细胞转化、肿瘤的发生发展和转移以及细胞凋亡. 因此, NF- κ B一旦被激活可以诱导凋亡抑制基因表达, 对抗化疗药物引起的细胞凋亡, 造成肿瘤细胞的化疗抵抗^[17-19]. 因此, 抑制NF- κ B通路的活化将在肿瘤治疗中发挥重要作用^[20-22].

在前期工作中我们应用新型腺病毒载体构建系统AdEasy system构建含突变的I κ B α 基因的

重组腺病毒Ad-I κ B α M, 他是NF- κ B的超抑制物, 是调控NF- κ B活性的有力武器. 本研究发现Ad-I κ B α M与 As_2O_3 具有协同作用, 转染Ad-I κ B α M可以明显增强 As_2O_3 的抑制肝癌细胞增殖作用以及体内抑瘤作用. 16 μ mol/L As_2O_3 联合转染Ad-I κ B α M处理组在72 h和96 h的抑制率分别为68.3% \pm 2.1%和81.9% \pm 3.0%, 显著高于16 μ mol/L As_2O_3 联合转染Ad-I κ B α 组. 经肝固有动脉注入 As_2O_3 和Ad-I κ B α M后肿瘤组织中的凋亡细胞显著增多. 由此可见, As_2O_3 和Ad-I κ B α M联合无论在抑制肝癌细胞的增殖还是促进肿瘤细胞的凋亡方面均具有明显的协同作用. 本研究中 As_2O_3 联合Ad-I κ B α M处理组荷瘤大鼠的生存期与其

他处理组相比没有显著延长, 其原因可能是各组试验动物较少以及观察时间较短. 总之, Ad-IκBαM重组腺病毒在肝癌治疗中的应用值得进一步研究.

4 参考文献

- 1 Yan X, Shen H, Jiang H, Hu D, Wang J, Wu X. External Qi of Yan Xin Qigong Inhibits Activation of Akt, Erk1/2 and NF-κB and Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Colorectal Cancer Cells. *Cell Physiol Biochem* 2013; 31: 113-122 [PMID: 23363659 DOI: 10.1159/000343354]
- 2 Samy RP, Rajendran P, Li F, Anandi NM, Stiles BG, Ignacimuthu S, Sethi G, Chow VT. Identification of a novel Calotropis procera protein that can suppress tumor growth in breast cancer through the suppression of NF-κB pathway. *PLoS One* 2012; 7: e48514 [PMID: 23284617 DOI: 10.1371/journal.pone.0048514]
- 3 Maeda H, Hori S, Nishitoh H, Ichijo H, Ogawa O, Kakehi Y, Kakizuka A. Tumor growth inhibition by arsenic trioxide (As₂O₃) in the orthotopic metastasis model of androgen-independent prostate cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 5432-5440 [PMID: 11454688]
- 4 Nakagawa Y, Akao Y, Morikawa H, Hirata I, Katsu K, Naoe T, Ohishi N, Yagi K. Arsenic trioxide-induced apoptosis through oxidative stress in cells of colon cancer cell lines. *Life Sci* 2002; 70: 2253-2269 [PMID: 12005185 DOI: 10.1016/S0024-3205(01)01545-4]
- 5 Jutooru I, Chadalapaka G, Sreevalsan S, Lei P, Barhoumi R, Burghardt R, Safe S. Arsenic trioxide downregulates specificity protein (Sp) transcription factors and inhibits bladder cancer cell and tumor growth. *Exp Cell Res* 2010; 316: 2174-2188 [PMID: 20435036 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.04.027]
- 6 Kodigepalli KM, Dutta PS, Bauckman KA, Nanjundan M. SnoN/SkiL expression is modulated via arsenic trioxide-induced activation of the PI3K/AKT pathway in ovarian cancer cells. *FEBS Lett* 2013; 587: 5-16 [PMID: 23178716 DOI: 10.1016/j.febslet.2012.11.003]
- 7 Jang M, Kim Y, Won H, Lim S, K R J, Dashdorj A, Min YH, Kim SY, Shokat KM, Ha J, Kim SS. Carbonyl reductase 1 offers a novel therapeutic target to enhance leukemia treatment by arsenic trioxide. *Cancer Res* 2012; 72: 4214-4224 [PMID: 22719067 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-1110]
- 8 Long YM, Ye S, Rong J, Xie WR. Nuclear factor kappa B: a marker of chemotherapy for human stage IV gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4739-4744 [PMID: 18720533 DOI: 10.3748/wjg.14.4739]
- 9 刘冰熔, 黄爱龙, 肖戡君. NF-κB超抑制物IκBαM重组腺病毒的构建. 免疫学杂志 2004; 20: 65-70
- 10 何年安, 王文平. 肝癌基因治疗的研究. 医学综述 2006; 13: 786-788
- 11 Zhang X, Su Y, Zhang M, Sun Z. Opposite effects of arsenic trioxide on the Nrf2 pathway in oral squamous cell carcinoma in vitro and in vivo. *Cancer Lett* 2012; 318: 93-98 [PMID: 22155346 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.12.005]
- 12 Chun YJ, Park IC, Park MJ, Woo SH, Hong SI, Chung HY, Kim TH, Lee YS, Rhee CH, Lee SJ. Enhancement of radiation response in human cervical cancer cells in vitro and in vivo by arsenic trioxide (As₂O₃). *FEBS Lett* 2002; 519: 195-200 [PMID: 12023044 DOI: 10.1016/S0014-5793(02)02765-5]
- 13 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 [PMID: 11984073 DOI: 10.1097/00001813-200203000-00011]
- 14 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 cells through up-regulation of p53 and activation of caspase-3. *Int J Cancer* 2001; 91: 173-179 [PMID: 11146441]
- 15 He H, Chen J, Xie WP, Cao S, Hu HY, Yang LQ, Gong B. Ketamine used as an anesthetic in human breast cancer therapy causes an undesirable side effect, upregulating anti-apoptosis protein Bcl-2 expression. *Genet Mol Res* 2013 Jan 4. [Epub ahead of print] [PMID: 23315866]
- 16 Kim HJ, Kim JC, Min JS, Kim MJ, Kim JA, Kor MH, Yoo HS, Ahn JK. Aqueous extract of Tribulus terrestris Linn induces cell growth arrest and apoptosis by down-regulating NF-κB signaling in liver cancer cells. *J Ethnopharmacol* 2011; 136: 197-203 [PMID: 21549825 DOI: 10.1016/j.jep.2011.04.060]
- 17 Hien TT, Kim HG, Han EH, Kang KW, Jeong HG. Molecular mechanism of suppression of MDR1 by puerarin from Pueraria lobata via NF-kappaB pathway and cAMP-responsive element transcriptional activity-dependent up-regulation of AMP-activated protein kinase in breast cancer MCF-7/adr cells. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54: 918-928 [PMID: 20077420 DOI: 10.1002/mnfr.200900146]
- 18 Kim HG, Hien TT, Han EH, Hwang YP, Choi JH, Kang KW, Kwon KI, Kim BH, Kim SK, Song GY, Jeong TC, Jeong HG. Metformin inhibits P-glycoprotein expression via the NF-κB pathway and CRE transcriptional activity through AMPK activation. *Br J Pharmacol* 2011; 162: 1096-1108 [PMID: 21054339 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01101.x]
- 19 苏剑东, 吴灵飞. NF-κB与细胞凋亡. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1411-1418
- 20 Shibata-Kobayashi S, Yamashita H, Okuma K, Shiraishi K, Igaki H, Ohtomo K, Nakagawa K. Correlation among 16 biological factors [p53, p21(waf1), MIB-1 (Ki-67), p16(INK4A), cyclin D1, E-cadherin, Bcl-2, TNF-α, NF-κB, TGF-β, MMP-7, COX-2, EGFR, HER2/neu, ER, and HIF-1α] and clinical outcomes following curative chemoradiation therapy in 10 patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 2013; 5: 903-910 [PMID: 23426606]
- 21 Ke SZ, Ni XY, Zhang YH, Wang YN, Wu B, Gao FG. Camptothecin and cisplatin upregulate ABCG2 and MRP2 expression by activating the ATM/NF-κB pathway in lung cancer cells. *Int J Oncol* 2013; 42: 1289-1296 [PMID: 23381786 DOI: 10.3892/ijo.2013.1805]
- 22 Peinado C, Kang X, Hardamon C, Arora S, Mah S, Zhang H, Ngolab J, Bui JD. The NF-κB pathway down-regulates expression of the NKG2D ligand H60a in vitro: implications for use of NF-κB inhibitors in cancer therapy. *Immunology* 2013 Jan 28. [Epub ahead of print] [PMID: 23350962 DOI: 10.1111/imm.12080]

同行评价

本文具有较高的临床应用价值. 课题设计严谨, 观察指标能说明Ad-IκBαM联合As₂O₃粉针剂对肝癌细胞增殖和凋亡的作用.

编辑 田滢 电编 鲁亚静

