

三氧化二砷联合维生素 C 抑制耐药性肺腺癌 裸鼠移植瘤生长机制的研究

蒋碧佳¹, 曾锦荣^{1*}, 王绩英¹, 黄岚珍²

(1. 桂林医学院附属医院呼吸内科, 广西 桂林 541001; 2. 桂林医学院科学实验中心, 广西 桂林 514004)

[摘要] 目的:探索三氧化二砷(As_2O_3)联合维生素 C(Vit C)对人耐药性肺腺癌裸鼠移植瘤抑制作用及其可能机制。方法:建立裸鼠人耐药性肺腺癌移植瘤模型,随机分为空白对照组,维生素 C 组($Vit C, 250 mg \cdot kg^{-1}$), As_2O_3 1 组($1.5 mg \cdot kg^{-1}$), As_2O_3 2 组($As_2O_3 3 mg \cdot kg^{-1}$), As_2O_3 联合 Vit C 组($As_2O_3, 1.5 mg \cdot kg^{-1} + VitC 250 mg \cdot kg^{-1}$), ip 2 周,观察并记录各组裸鼠移植瘤的生长情况及肿瘤体积和裸鼠体重的变化,计算肿瘤生长抑制率,用药 2 周后,取瘤组织进行病理学检查。用逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)和蛋白印迹法(Western blot)检测移植瘤内生存素(Survivin)与血管内皮生长因子(VEGF)的表达情况。结果:Vit C 组, As_2O_3 1, 2 组, As_2O_3 联合 Vit C 组的抑瘤率分别为:3.42%, 42.3%, 66.25%, 79.93%。与对照组相比, As_2O_3 各组 and $As_2O_3 + Vit C$ 组治疗后肿瘤体积减少,瘤质量减轻,差异均有显著性($P < 0.01$);与 As_2O_3 单独用药组比较, $As_2O_3 + Vit C$ 联合用药组肿瘤体积,瘤质量明显减少($P < 0.01$),抑瘤率明显增高;而 Vit C 组治疗后肿瘤体积及瘤质量没有明显减少。病理检查显示各 As_2O_3 组、 $As_2O_3 + Vit C$ 组治疗后可见肿瘤坏死增多。RT-PCR 及 Western blot 结果显示:联合组与 As_2O_3 组、Vit C 组比较 Survivin、VEGF 条带强度显著减小。结论: As_2O_3 与 Vit C 联合用药比 As_2O_3 单独应用抑制耐药性肺腺癌移植瘤生长的作用更强,二者具有协同抗肿瘤作用,其作用机制可能与下调 Survivin 及 VEGF 的表达有关。两者联用有望成为低毒高效的化疗组合。

[关键词] As_2O_3 ; 维生素 C; 肺肿瘤; 耐药; 凋亡; 生存素; 血管内皮生长因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)14-0196-05

Anti-tumor Mechanism of Combining Arsenic Trioxide with Vitamin C on Subcutaneously Transplanted Tumor of Drug Resistant Human Lung Tumors in Nude Mice

JIANG Bi-jia¹, ZENG Jin-rong^{1*}, WANG Ji-ying¹, HUANG Lan-zhen²

(1. The Hospital Affiliated of Guilin Medical College, Guilin 541001, China;

2. The Science Laboratory Center of Guilin Medical College, Guilin 541001, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect and mechanism of arsenic trioxide (As_2O_3) with vitamin C (Vit C) on the subcutaneously transplanted tumor of drug resistant human lung tumors in nude mice. **Method:** The subcutaneously transplanted tumor models of drug resistant human lung tumors in nude mice were established and then were divided at random into 5 groups: NS, Vit C ($250 mg \cdot kg^{-1}$), As_2O_3 ($1.5, 3.0 mg \cdot kg^{-1}$), and combining As_2O_3 with Vit C. They were injected intraperitoneally for two weeks. The weight of mice and volume of tumor pre- and post-administration were measured. All mice were killed after administration, and measured the mass of tumor and calculated the tumor inhibition. Tumor tissue was examined by pathological method. RT-PCR and Western blot

[收稿日期] 20110210(007)

[基金项目] 广西自然科学基金项目(桂科自 0991262); 广西高等学校优秀人才资助计划(桂教人才 0824)

[第一作者] 蒋碧佳, 硕士研究生, Tel: 13077633951, E-mail: dayanleipaopao2@qq.com

[通讯作者] * 曾锦荣, Tel: 13607739932, E-mail: Lingwu222@sohu.com

were used to detect the vascular endothelial growth factor and survivin. **Result:** The tumor inhibitory rate of Vit C, As_2O_3 (1.5, 3.0 $mg \cdot kg^{-1}$), and combining As_2O_3 with Vit C were 3.42%, 42.3%, 66.25%, 79.93% accordingly, and the volume, mass of tumor were decreased after treatment, in contrast to the saline group, the differences were significant ($P < 0.01$). The tumor mass and volume were decreased in the test groups, more markedly in the combined drug group than single-drug groups. Moderate necrosis was found in tumor tissues. The expression of survivin mRNA and VEGF mRNA in the combination group was markedly lower than those in the other groups. The result of Western blot was also support RT-PCR's. **Conclusion:** Combined As_2O_3 and Vit C has stronger inhibition effect on tumor growth than single use of each drug, with a synergic anticancer effect on transplanted lung cancer in nude mice. Possible mechanism is related to the down-regulation of the expression of survivin and VEGF. Application of vitamin C and As_2O_3 might be a chemotherapy combination with low toxicity and efficient.

[Key words] arsenic trioxide; vitamin C; lung tumor; drug resistant; apoptosis; survivin; vascular endothelial growth factor

非小细胞肺癌(NSCLC)为发病率较高的肿瘤,对放化疗敏感性差,易发生耐药,诱导肿瘤细胞凋亡、逆转其耐药成为目前治疗耐药性肺癌的热点,且NSCLC瘤体血管丰富,抑制血管生成也可成为抗肿瘤的重要机制之一。有研究已证实 As_2O_3 可诱导耐药性肺癌细胞凋亡,且能抑制血管内皮细胞增殖及血管生成,而维生素 C(Vit C)对化疗药物所致细胞损伤具有保护作用。本研究应用 As_2O_3 (As_2O_3) 联合 Vit C 对人耐药肺腺癌裸鼠移植瘤模型进行干预,观察抑瘤效果,探讨其抑瘤机制。

1 材料

1.1 动物和瘤株 BALB/c-nu 裸鼠 40 只,雄性,鼠龄 6~8 周,体质量 16~24 g,由桂林医学院实验动物中心提供,合格证号 SCXK(桂)2007-0001。瘤株:肺腺癌耐药株 A549/R(实验室自备)。

1.2 药物及试剂 DMEM 高糖型细胞培养液(GIBICOL 公司,批号 681841),胎牛血清(FBS,杭州四季青生物工程材料有限公司,批号 090901), As_2O_3 (哈尔滨伊达药业有限公司,批号 20090203), Vit C 注射液(天津药业集团新郑股份有限公司,批号 1009291), Trizol (TaKaRa 公司,批号 BK2305), PCR 反应体系 (TaKaRa 公司,批号 BK901), DNA marker (TaKaRa 公司,批号 B301A), Survivin mRNA, VEGF mRNA 引物(上海生工生物工程技术有限公司), Western blot 及 IP 细胞裂解液(货号 P0013), BCA 蛋白浓度测定试剂盒(增强型)(货号 P0010S), 预染蛋白质相对分子质量标准(货号 P0066), 超敏 ECL 化学发光试剂盒(货号 P0018 均

购自上海碧云天生物技术有限公司), Survivin 一抗(Santa Cruz 公司,批号 K1609), VEGF 一抗(Santa Cruz 公司,货号 sc-507), 辣根酶标记抗小鼠 IgG 二抗(北京中杉金桥生物技术公司,货号 ZB-2305), 辣根酶标记抗兔 IgG 二抗(北京中杉金桥生物技术公司,货号 ZB-2301) PVDF 膜, 0.22 μm (Millipore 公司,货号 ISEQ00010) X-OMAT BT 医用 X 射线胶片(Kodak 公司,批号 013405213)。

1.3 仪器 CO_2 培养箱(德国 Thermo scientific 公司), 超净工作台(苏州净化设备有限公司), 倒置相差显微镜(德国 ZEISS 公司), 5804R 多功能高速冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司), MLDEL680 酶标仪(美国 Bio-RAD 公司), Personal48 PCR 仪(德国 Biometra 公司), 紫外分光光度计(德国 Eppendorf 公司), JS-780 全自动数码凝胶成像分析系统(培清科技), DYY-6D 电泳仪电源和 DYCP-31A 琼脂糖电泳槽(北京六一仪器厂), MINI-4 垂直电泳仪(美国 Bio-RAD 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养及裸鼠移植瘤模型建立 A549/R 细胞置于含 10% 小牛血清, 100 $U \cdot mL^{-1}$ 青霉素, 100 $mg \cdot L^{-1}$ 链霉素的 DMEM 培养液中, 在 37 $^{\circ}C$ 5% CO_2 培养箱中传代培养。每 2~3 d 换液 1 次, 4 d 传代。取指数生长期 A549/R 细胞加入 0.25% 胰蛋白酶消化 1 min, 收集细胞确定细胞活力在 95% 以上, 细胞不成团, 再以 1 000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 5 min, 弃去上清液, 加入 PBS 洗 3 次, 最后调整细胞密度为 1×10^8 个/mL 细胞悬液备用。

裸小鼠(BALB/c-nu)饲养于恒温(26~28℃)、恒定湿度(40%~60%)的SPF层流实验室中。用经高压灭菌的饲料和水供动物自由饮食。取上述细胞悬液以0.2 mL/只接种于裸鼠右前肢腋窝皮下,接种后每天观察有无肿瘤形成及注射点有无破溃红肿,按规定时间测量肿瘤体积大小,肿瘤长至体积约为100~130 mm³左右且无自发性出血、坏死及感染病灶时为模型建立成功。

2.2 分组及处理 选择荷瘤成功的裸鼠30只,随机分5组,每组6只。①空白对照组只给予生理盐水,0.2 mL/次 ip,每48 h注射1次,共8次。②Vit C组按250 mg·kg⁻¹给药,0.2 mL/次 ip,每48 h注射1次,共8次。③As₂O₃1组按1.5 mg·kg⁻¹给药,0.2 mL/次 ip,每48 h注射1次,共8次。④As₂O₃2组按3 mg·kg⁻¹给药,0.2 mL/次 ip,每48 h注射1次,共8次。⑤As₂O₃联合Vit C组:As₂O₃按1.5 mg·kg⁻¹,Vit C按250 mg·kg⁻¹给药,各取0.2 mL/次 ip,每48 h注射1次,共8次。

2.3 观察指标及方法

2.3.1 移植瘤体积及抑制率 每周测量肿瘤长、宽最大垂直直径,按公式计算肿瘤体积。用药结束后2 d处死裸鼠,取出肿瘤,称质量。按公式计算肿瘤抑制率。

$$\text{肿瘤体积(mm}^3\text{)} = \text{肿瘤长径} \times \text{肿瘤短径}^2 / 2$$

$$\text{抑制率} = (\text{对照组平均瘤质量} - \text{治疗组平均瘤质量}) / \text{对照组平均瘤质量} \times 100\%$$

2.3.2 组织学检查 留取组织经10%福马林固定,石蜡切片,HE染色,作常规病理检查,观察组织的形态学改变。

2.3.3 RT-PCR检测肿瘤Survivin mRNA, VEGF mRNA的表达水平 液氮磨组织提取RNA,取100 mg组织加入1 mL Trizol,提取总RNA。紫外分光光度计测定A₂₆₀及A₂₈₀,分析RNA纯度并调整浓度。逆转录反应(cDNA的制备)反应体系按试剂盒说明进行。Survivin mRNA上游引物:5'-CCCTTTCTC AAGGACCACCGCATC-3',下游引物:5'-GCCAA GTCTGGCTCGTTCTCAGTG-3',扩增产物133bp; VEGF mRNA上游引物:5'-CTTTCTGCTGTC TTGGGTGCATTGGAG-3',下游引物:5'-GATGTCTAT CAGCGCAGCTACTGCCAT-3',扩增产物154 bp;β-actin上游引物:5'-AGTGTGACGTGGACATCCGCA-3',下游引物:5'-ATCCACATCTGCTGGAAGGTGGAC-3',扩增产物243 bp。PCR条件:94℃预变性5 min,

94℃30 s,61℃30 s,72℃45 s,共30个循环,72℃延伸7 min。扩增后取扩增产物用2.5%琼脂糖凝胶电泳检测,溴化乙锭(EB)显色应用凝胶成像系统对电泳条带进行扫描分析,计算相对表达水平(与β-actin的比值)。统计分析数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2.3.4 Western blot检测肿瘤Survivin, VEGF蛋白表达水平 液氮磨组织提取蛋白,取100 mg组织加入0.75 mL细胞裂解液,提取总蛋白。运用BCA法测定蛋白量。每例取50 μg,与4×上样缓冲液混合后煮沸5 min,在15% SDS-PAGE电泳,然后电转移至0.22 μm PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭1 h后,加入Survivin, VEGF兔多抗IgG一抗(稀释浓度1:200)4℃孵育过夜,辣根酶标记抗兔IgG二抗(稀释浓度1:8 000)37℃孵育1 h;β-actin鼠单克隆抗体一抗(稀释浓度1:1 000)4℃孵育过夜,辣根酶标记抗鼠IgG二抗(稀释浓度1:8 000)37℃孵育1 h, ECL荧光显色后暗室X片曝光。

2.4 统计学方法 采用SPSS 17.0统计软件进行数据处理,实验重复3次,采用单因素方差分析,P<0.05有统计学意义。

3 结果

3.1 一般性观察 裸鼠体内成瘤情况40只裸鼠,有38只荷瘤成功,成瘤率95%,成瘤时间为细胞种植后第7~16天。肿瘤细胞种植后第21天,肿瘤直径平均达5 mm。实验前各组裸鼠一般状态良好;实验结束时30只裸鼠全部存活。动态观察发现,生理盐水组裸鼠活动减少,反应迟钝;4个治疗组裸鼠觅食、饮水、活动等状况良好,未发现腹泻、瘀血等现象。

3.2 体重变化 各组治疗前裸鼠体质量均无显著性差异,治疗后1.5,3 mg·kg⁻¹As₂O₃组及As₂O₃+Vit C组裸鼠体质量无统计学差异,NS组与Vit C组较其他组体质量减少(P<0.05),见表1。

表1 各组治疗前后裸鼠体质量变化($\bar{x} \pm s, n=6$) g

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	治疗前	治疗后
NS	-	18.49 ± 1.52	17.84 ± 0.78
Vit C	250	18.59 ± 2.16	17.76 ± 1.97
As ₂ O ₃	1.5	17.76 ± 1.27	18.73 ± 1.39 ¹⁾
	3.0	18.67 ± 1.57	20.51 ± 1.82 ¹⁾
As ₂ O ₃ + Vit C	1.5 + 250	19.30 ± 2.48	21.19 ± 2.67 ¹⁾

注:与NS组及Vit C组相比¹⁾P<0.05。

3.3 肿瘤体积及质量变化 各组裸鼠治疗前肿瘤体积无统计学差异具有可比性;治疗7 d后1.5,3

mg·kg⁻¹ As₂O₃组及 As₂O₃ + Vit C 组裸鼠肿瘤体积较 NS 组相比肿瘤减小 ($P < 0.05$); 治疗 14 d 后 1.5, 3 mg·kg⁻¹ As₂O₃组及 As₂O₃ + Vit C 组裸鼠肿

瘤体积及肿瘤质量较 NS 组肿瘤明显减小 ($P < 0.01$), 以联合用药组最为明显, 抑瘤率为 79.93%, 其次为 As₂O₃ 2 组(66.25%)。见表 2~3。

表 2 各组治疗前后裸鼠肿瘤体积变化 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

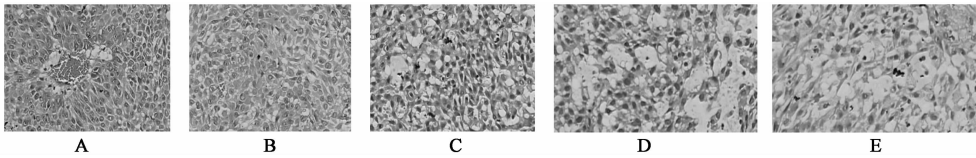
组别	剂量/mg·kg ⁻¹	治疗前/mm ³	治疗 7 d/mm ³	治疗 14 d/mm ³
NS	-	108.97 ± 5.51	2 536.86 ± 135.14	3 443.89 ± 168.37
Vit C	250	114.32 ± 9.58	2 480.66 ± 158.67	3 323.78 ± 191.37
As ₂ O ₃	1.5	112.42 ± 5.55	2 131.65 ± 166.05 ¹⁾	1 986.34 ± 192.27
	3	115.05 ± 8.09	1 395.66 ± 271.41 ¹⁾	1 162.36 ± 217.05 ²⁾
As ₂ O ₃ + Vit C	1.5 + 250	116.96 ± 16.84	884.99 ± 254.09 ¹⁾	691.13 ± 217.31 ²⁾

注:与 NS 组相比 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 3~4 同)。

表 3 各组治疗后裸鼠肿瘤质量及抑瘤率 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	肿瘤质量/g	抑瘤率/%
NS	-	2.92 ± 0.14	-
Vit C	250	2.82 ± 0.16	3.42
As ₂ O ₃	1.5	1.69 ± 0.16	42.30
	3	0.99 ± 0.18 ²⁾	66.25
As ₂ O ₃ + Vit C	1.5 + 250	0.59 ± 0.18 ²⁾	79.93

3.4 肺肿瘤组织的变化 空白对照组, 肿瘤组织细胞密集, 血管丰富。Vit C 组肿瘤组织学无明显改变, As₂O₃ 组随着浓度的增加, 肿瘤组织出血坏死增多, 瘤组织减少, 瘤组织内瘤细胞数目减少, 失去典型肺腺癌细胞特征, 外形不规则, 瘤细胞间隙加大, 界限不清, 细胞核缩小或消失, 部分细胞核固缩变形, 细胞中结构消失, 空泡化明显。而 As₂O₃ 联合 Vit C 组较单一使用 As₂O₃ 更为明显。见图 1。



A. 生理盐水组; B. Vit C 250 mg·kg⁻¹ 组; C. As₂O₃ 1.5 mg·kg⁻¹ 组; D. As₂O₃ 3.0 mg·kg⁻¹ 组; E. As₂O₃ 1.5 mg·kg⁻¹ + Vit C 250 mg·kg⁻¹ 组(图 2 同)

图 1 As₂O₃ 及 As₂O₃ 联合 Vit C 治疗后裸鼠移植 A549/R 肿瘤组织学改变 (HE, ×200)

3.5 PCR 检测 As₂O₃ 能下调 Survivin mRNA, VEGF mRNA 的表达, 呈剂量依赖性。单用 Vit C 对 Survivin mRNA, VEGF mRNA 没有明显的抑制作用。而 Vit C 联合低剂量 As₂O₃ 能明显抑制 Survivin mRNA, VEGF mRNA, 效果优于高剂量 As₂O₃ 组。见表 4。

3.6 Western blot 检测 As₂O₃ 能有效下调 Survivin, VEGF 蛋白的表达, 呈剂量依赖性, 单用 Vit C 对 Survivin, VEGF 蛋白表达没有明显的抑制作用, 而 Vit C 联合低剂量 As₂O₃ 则能明显抑制 Survivin, VEGF 蛋白表达, 效果优于单用高剂量 As₂O₃ 组。见图 2。

4 讨论

血管生成是肿瘤生长、浸润和转移必需的条件, VEGF 是血管重要的正性调控因子之一, 它能直接或间接地激活血管内皮细胞, 促进新血管的生成, 增加血管通透性; 抑制宿主抗原提呈细胞的成熟, 使肿

表 4 各组移植瘤 Survivin, VEGF mRNA 相对表达情况 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	Survivin	VEGF
NS	-	0.553 ± 0.072	0.955 ± 0.015
Vit C	250	0.504 ± 0.069	0.939 ± 0.028
As ₂ O ₃	1.5	0.468 ± 0.049 ¹⁾	0.611 ± 0.029 ²⁾
As ₂ O ₃	3	0.257 ± 0.067 ¹⁾	0.486 ± 0.036 ²⁾
As ₂ O ₃ + Vit C	1.5 + 250	0.160 ± 0.059 ¹⁾	0.203 ± 0.034 ²⁾

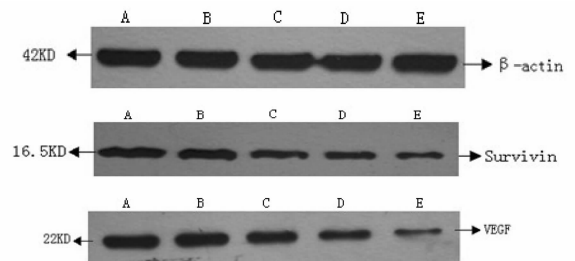


图 2 各组移植瘤 Survivin, VEGF 蛋白表达情况

瘤细胞逃避免疫监视, 减少肿瘤细胞的凋亡^[1-2]。

Survivin 基因是目前发现最强的凋亡抑制基因,它可直接或间接与 Caspase-3, Caspase-7 结合并抑制它们的活性^[3],并可通过与纺锤体纤维结合,间接抑制 Caspase 对纺锤体的水解,有利于保护有丝分裂的完整性,从而抑制细胞的凋亡。

Survivin 与 VEGF 在 NSCLC 组织中的表达呈正相关,内皮细胞中的 VEGF 可诱导和促进 Survivin 的高表达,而 Survivin 又能维持和保护 VEGF 的促内皮细胞的功能,促进肿瘤血管生成和转移^[4],反之,使用 Survivin 的反义核苷酸可特异性抑制 VEGF,促进肿瘤血管内皮细胞凋亡和毛细血管退化^[5],抑制肿瘤的生长。

As₂O₃ 是中药砒霜的主要成分,已用于急性早幼粒白血病的临床治疗。对实体肿瘤的研究也已取得一定成果,但 As₂O₃ 抗癌机制复杂而广泛,尚未完全明确,目前有研究显示 Survivin 和 VEGF 可能是其作用的靶点。As₂O₃ 不仅可以下调肺癌细胞 Survivin 基因的表达^[6]促进肺癌细胞凋亡,抑制其增殖,还能通过抑制血管内皮细胞、血管平滑肌细胞增殖及 VEGF 的表达,促进肿瘤血管内皮细胞凋亡,干扰内皮细胞和肿瘤细胞之间相互促进的环式作用,抑制肿瘤细胞增殖^[7-9]。本实验结果显示:As₂O₃ 能抑制耐药性肺癌移植瘤的生长,并有效抑制 Survivin, VEGF 的表达,呈剂量依赖性。

Vit C 是水溶性己糖衍生物,它可通过激活 pro-Caspase-3 诱导 A549 细胞凋亡^[10]。亦可通过下调 Cox-2 的表达,抑制 P42/44 激酶途径抑制 VEGF 的生产^[11],进而抑制肿瘤生长。虽然有体外实验证实临床使用量的 Vit C 能抑制肺癌细胞,但本实验单用 Vit C 对移植瘤没有明显的抑制作用,这可能与药物在体内代谢情况,血药浓度及到达肿瘤组织的有效药物量等相关。且 Vit C 在抗肿瘤方面存在争议,它虽然能修复 DNA 损伤增强机体免疫功能,诱导细胞凋亡,但大剂量也能对正常细胞有毒性作用,甚至导致细胞的癌变^[12],Vit C 被建议作为肿瘤辅助治疗药物。本实验结果显示 Vit C 能增强 As₂O₃ 对耐药性肺癌的抗癌作用,并且能明显减小 As₂O₃ 的使用量,减少毒副作用。因此可以推论 Vit C 既是细胞保护剂,也是 As₂O₃ 抑制肿瘤的协同抗癌剂。

综合上所述,As₂O₃ 联合 Vit C 抑制耐药性肺癌可能是通过增加抑制 Survivin, VEGF 的表达,促进细胞凋亡,抑制血管生成,而达到抑制肿瘤增殖、浸

润及转移。本实验进一步完善 As₂O₃ 联合 Vit C 抗肿瘤的机制,为其临床运用提供了一定理论依据。

[参考文献]

- [1] Baillie R, Harads K, Carlile J, et al. Expression of vascular endothelial growth factor in normal and tumoral tissues with different antibodies[J]. Histochem J, 2001, 33(5):287.
- [2] Harris S R, Schoeffner D J, Yoshiji H, et al. Tumor growth enhancing effects of vascular endothelial growth factor are associated with increased nitric oxide synthase activity and inhibition of apoptosis in human breast carcinoma xenografts[J]. Cancer Lett, 2002, 179:95.
- [3] Xu Z X, Zhao R X, Ding T, et al. Promyelocytic leukemia protein 4 induces apoptosis by inhibition of survivin expression [J]. J Biol Chem, 2004, 279(3): 1838.
- [4] 吕喜英,李青山,张秀琴,等. Survivin 与 VEGF 在肺癌中的表达及意义[J]. 山东医药,2007,47(13):4.
- [5] Wu Y, Wang G, Wei J, et al. Survivin protein expression positively correlated with proliferative activity of cancer cells in bladder cancer[J]. Indian J Med Sci. 2005,59(6):235.
- [6] 曹琦,郭红荣,韦国栋,等. As₂O₃ 诱导 A549 细胞凋亡及对 survivin, cyclinD1 表达的影响[J]. 现代肿瘤学, 2008,16(4):521.
- [7] 喻智勇,工曙光,秦红军,等. As₂O₃ 诱导血管内皮细胞凋亡和抑制血管生成的实验研究[J]. 武警医学, 2004, 15(1):22.
- [8] 栾天竹,梅宇,许冬秀,等. As₂O₃ 对球囊拉伤后兔血管平滑肌细胞作用的实验研究[J]. 中华医学杂志, 2003,83(10):859.
- [9] 何凯,张桂荣,杨淑丽,等. As₂O₃ 对人卵巢癌细胞 VEGF 基因表达的作用[J]. 中国实验诊断学,2008, 12(4):452.
- [10] 曾锦荣,谭宁,翟彭勇,等. 维生素 C 对 As₂O₃ 抑制肺癌 A549 细胞增殖、诱导细胞凋亡作用的影响及机制[J]. 山东医药,2010,50(3):7.
- [11] Kim H N, Kim H, Kong J M, et al. Vitamin C down-regulates VEGF production in B16F10 murine melanoma cells via the suppression of p42/44 MAPK activation [J]. Cell Biochem,2011,112(3):894.
- [12] Lee S H, O E T, Blair I A. Vitamin C induced decomposition of lipid hydroperoxides to endogenous genotoxins[J]. Science, 2001, 292(5524): 2083.

[责任编辑 聂淑琴]