

文章编号: 1671-038X(2006)03-0207-03

三氧化二砷对结肠癌作用的研究近况

郭化鑫¹, 陈 炜¹, 刘连新¹, 张亭栋²

(¹ 哈尔滨医科大学附属第一临床医学院 普外科, 黑龙江 哈尔滨 150001;

² 哈尔滨医科大学附属第一临床医学院 中西医结合科, 黑龙江 哈尔滨 150001)

关键词: 结肠肿瘤; 三氧化二砷; 凋亡

中图分类号: R 73. 53 文献标志码: A

三氧化二砷是中药砒霜的主要成分, 砒霜是砒石升华之后而成的晶体。砒霜在中医领域被广泛用于皮肤病、性病、类风湿、痔疮、肛瘘、气喘等。自古以来, 砒霜在中药中属于剧毒物质, 所以它的用途一度受到严格的限制。自上世纪 70 年代以后, 该院以张亭栋教授为首的科研人员首先将其应用于急性早幼粒细胞性白血病的治疗中, 并取得了显著疗效。后来相继人们将其用于肝癌、胃癌、肺癌、卵巢癌等, 取得了很大进展。目前国内外关于三氧化二砷对结肠癌作用的研究还处于初始阶段, 比较少见。现将其抗癌机制和对结肠癌的作用作如下综述。

1 三氧化二砷的抗癌机制

1.1 细胞毒作用

研究表明, 三氧化二砷是一种细胞毒物质。砷离子对蛋白及多种氨基酸均有较强的亲和力, 可以与多种含巯基的酶结合, 如磷酸氧化酶、细胞色素氧化酶、丙酮酸氧化酶等。砷离子与巯基结合后的酶活性受到抑制, 严重干扰酶的生物效应。砷与磷的结构类似, 代替磷与三磷酸甘油结合, 抑制 ATP 合成, 从而影响细胞的氧化磷酸化。砷也可通过抑制谷胱甘肽等抗氧化酶活性, 或选择性增强细胞色素氧化酶依赖的单氧化酶活性, 产生氧化性损伤。秦

叔逵等^[1] 和 刘连新等^[2,3] 在研究中也证实了高剂量的三氧化二砷作用于人和小鼠肝癌细胞株, 均可抑制癌细胞的增殖, 可见部分肝癌细胞出现破裂、坏死的形态学改变。提示其对肝癌细胞具有一定的细胞毒作用, 在癌细胞与正常细胞间具有一定的选择性。

1.2 诱导凋亡作用

三氧化二砷诱导凋亡的主要机制在于线粒体膜通透性增强, 转运孔的开放, 进而导致跨膜电位下降和促凋亡因子自线粒体释放入胞质, 并激活一部分凋亡效应分子, 其中半胱天冬酶(Caspases-3) 是细胞凋亡级联反应中的关键性成分。但人乳腺癌细胞系 MCF-7 不表达 Caspase-3, 应用一系列特异性的 Caspase-3 抑制剂进行研究发现, 在不表达 Caspase-3 的 MCF-7 细胞中, 凋亡通路绕开了 Caspase-3 而相继激活 Caspase-9、7 和 6, 最终引起细胞凋亡。三氧化二砷绕过线粒体上游诱导阶段, 直接触发肿瘤凋亡, 故而可以克服信号传导障碍引起的耐药。邓有平等^[4] 证实三氧化二砷能明显诱导食管癌 EG-109 细胞凋亡, 表明其有可能成为通过诱导细胞凋亡而发挥作用的抗食管癌药物。黄晓军^[5] 采用急性髓系白血病细胞株 HL-60 和 NB₄ 细胞作为体外模型观察 Caspase 酶抑制 Z-VAD.fmk 能抑制三氧化二砷诱导的细胞凋亡, 说明 Caspase 激活为三氧化二砷诱导细胞凋亡所必需。研究证实经三氧化二砷

收稿日期: 2005-06-26

术创伤的打击和腹腔感染的机会, 患者及其家属容易接受, 护理更加方便。

技术要点: ①操作者应有熟练的胃、肠、胆道等导丝导管操作经验, 并有熟悉的胃肠道立体解剖知识。②营养管内加入石蜡油润滑防止导丝扭动、抽出时用力过大伤及患者。③营养管进入胃内后容易扭曲打弯, 应配合患者体位调节导丝走形, 顺着产气粉所显示的胃十二指肠轮廓进入。④根据不同病情营养管远端最好置于空肠屈氏韧带以上 30 cm 以上。⑤证实置管成功后, 立即用 0.9% 氯化钠液冲洗营养管防止前端黏液堵塞。

X 线监视下导丝引导放置鼻-空肠营养管技术, 能够实现空肠营养管的有效放置, 为 EN 支持提供了一条安全可靠的营养途径。

参考文献:

- [1] 王永光. 消化内镜学[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1998: 76-80.
- [2] MARIK P E, ZALOGA G P. Early enteral nutrition in actuely ill patients: a systematic review[J]. Crit Care Med, 2001, 29: 2264-2270.
- [3] 顾葆春. 危重病人早期肠内营养的临床应用分析[J]. 肠外与肠内营养, 2004, 11(1): 20-22.

处理的 NB₄、KOCL₄₄、LyH₇ 可进行性的下调 bcl-2 基因表达,而相关基因 bax, bcl-x, G-MYC, P₅₃ 基因的表达不受影响^[6-8]。三氧化二砷能使胃癌细胞株 SGG-7901 的 G-MYC 基因的表达降低^[9],而使肝癌细胞 Fas、Fas-C 的表达增加^[10]。所以三氧化二砷可能是通过降低 bcl-2, CMY-C 增加 Fas、Fas-L 的表达来诱导肿瘤细胞凋亡。蔡循等^[11]对耐维甲酸的 APL 细胞株 MR-2 的研究发现,细胞中 PML-RAR α 融合蛋白的降解早于凋亡。认为 PML-RAR α 是三氧化二砷作用的靶蛋白,三氧化二砷可能通过降解 PML-RAR α 融合蛋白而诱导凋亡。同时,三氧化二砷能增强 PML 融合蛋白在其 K160 位点处与泛素相关多肽 Sumo-1 的结合,PML 泛素化后,又能直接或间接促进 PML 和 PML-RAR α 的分解代谢,促进凋亡。也就是说三氧化二砷能在两个环节上发挥作用,促进 PML 降解,诱导凋亡^[12]

1.3 诱导细胞分化

Zhu 等^[13]在研究了三氧化二砷及其他细胞分化诱导剂间的联合作用后,发现低浓度的三氧化二砷与[AMP]类似物 8-CPT-cAMP 之间有较强的协同作用,能完全诱导 NB₄、NB₄-R 以及新鲜的 APL 细胞分化。而且细胞蛋白 EA 的拮抗剂 H-89 能阻断三氧化二砷诱导的细胞分化作用。提示三氧化二砷诱导细胞分化可能有其他的信号通道。

1.4 抑制增殖

肖冬梅等^[14]研究表明:三氧化二砷可抑制 Rb 蛋白磷酸化,使得 Rb 与 E2F 等转录因子及 G-ABL 蛋白的结合可能被加强,从而抑制细胞 G₁/S 期的转换,使细胞周期延长;同时,Rb 磷酸化的减少,也可能使 Rb 与 BCR/ABL 蛋白的结合增加,而抑制 BCR/ABL 蛋白的 PTK 活性,从而干扰 BCE/ABL 蛋白致癌信号的传导,抑制 K-562 细胞生长。多数人认为三氧化二砷可能对 G₁/S 和 G₂/M 2 个控制点均起作用,从而使整个细胞周期延长^[15,16]。

1.5 影响肿瘤血管生成

三氧化二砷有诱导肿瘤血管内皮细胞凋亡,使白血病细胞 VEGF 表达量减少,干扰内皮细胞与白血病细胞之间的互相促进的环式作用,诱导内皮细胞凋亡,抑制肿瘤细胞新生血管生成^[17]。还可直接作用于毛细血管,造成血管壁通透性增加或血栓,从而抑制肿瘤生长^[18]。肿瘤的血供和营养的摄取是维持肿瘤细胞快速生长必不可少的,一旦发生障碍,肿瘤生长就会减慢,甚至停滞,最后导致死亡。

2 三氧化二砷对结肠癌的作用机制

2.1 对结肠癌细胞系作用

郁宝铭等^[19]通过丫啶橙活细胞荧光染色的形

态学观察,发现三氧化二砷诱导的 LOVO 细胞死亡呈现凋亡特征,认为三氧化二砷对 LOVO 细胞增殖抑制的作用可能是通过促进凋亡来实现。在对 LOVO 细胞周期影响的研究中表明低浓度三氧化二砷通过干扰细胞 S 期而影响其周期,高浓度三氧化二砷处理后的细胞,S 期比例下降,而凋亡细胞比例即亚 G₁ 峰则上升,前者下降的幅度正好与后者上升的幅度相一致。同一浓度下,随作用时间延长,凋亡细胞所占比例进行性降低。由此推测三氧化二砷可能是选择性地诱导 S 期细胞凋亡,细胞周期中 G₁/S 期的转换决定细胞周期。吴永平等^[20]提出三氧化二砷对结肠癌 LOVO 细胞凋亡和坏死呈时间和剂量相关。流式细胞仪分析显示在 G₁ 期前出现亚二倍体的凋亡细胞峰。生化分析测定发现:三氧化二砷浓度是 2 μ mol/L 时,培养上清液中的 LDH 增加。另外,经三氧化二砷处理后 LS-174-T 细胞生长抑制率上升,集落形成率下降,细胞周期中 G₂ 期细胞比例上升,S 期和 G₂/M 期细胞比例下降。TUNEL 法显示凋亡细胞数增加,免疫细胞结果显示 bcl-2 的表达明显减弱^[21]。姚和瑞等^[22]研究发现三氧化二砷能明显抑制结肠癌细胞株 SW-620 的生长,其作用呈剂量及时间依赖性,三氧化二砷作用后,随浓度升高,SW-620 细胞系 PCNA 阳性细胞逐渐下降。

2.2 对裸鼠移植瘤模型作用

蔡洪培等^[23]取不同浓度的三氧化二砷腹腔内治疗 1 周的裸鼠行腹腔穿刺抽液,镜下可见 LOVO 细胞呈典型的凋亡特征改变,细胞变小、变圆,胞质浓缩、胞核深染,染色质聚集于核膜下呈新月型,细胞膜突出,呈小泡状。说明低剂量的三氧化二砷主要是抑制肿瘤细胞的增殖和使部分癌细胞凋亡,抑制腹水的生成;中、高剂量的三氧化二砷除了具有抑制腹水生成,延长荷瘤裸鼠寿命外,还可不同程度地减少 LOVO 细胞的致瘤率,从而使部分腹腔内接种结肠癌细胞的裸鼠呈去瘤状态生存。所以三氧化二砷消除 LOVO 细胞致瘤性与其剂量相关,随着剂量增加,致瘤率降低;中、高剂量的三氧化二砷还能使腹水中的癌细胞数量明显减少,大量癌细胞凋亡,腹腔内脏器的表面间质细胞未见明显形态学改变。马丹等^[21]研究证实,三氧化二砷能明显抑制结肠癌裸鼠肝转移,降低荷瘤裸鼠血清、腹水中 CEA,并能选择性地作用于肿瘤细胞 S 期抑制其生长。在体外证实三氧化二砷对结肠癌细胞具有杀伤效应后,建立与术后腹腔内复发机制相似的人结肠癌裸鼠腹腔种植模型,利用大容量腹腔化疗可使药物直接与癌细胞接触的特点。采用大容量三氧化二砷腹腔化疗

模式,可以成功地抑制结肠癌细胞在腹腔内种植,并提升在机体可耐受的前提下,剂量大,效果好。考虑到IPC所具有的药代动力学优势,将三氧化二砷作为腹腔化疗药物,既可利用其细胞毒性达到对肿瘤细胞的杀伤效应,还可避免静脉给药时过高体循环浓度造成对其他脏器的损伤。

目前,国内外对三氧化二砷治疗结肠癌的机制以及应用的研究虽然取得了初步进展,但目前研究都是从某一个特定的角度去阐述,尚没有对三氧化二砷作用机制进行全面和综合的研究。近年蓬勃发展的微阵列技术可以全面的分析数以万计的基因变化,从整体上发现问题。所以微阵列技术是种非常高效的分子生物学研究技术。它可以从基因水平来阐述细胞内的分子事件,从而使人们对一些复杂的事件,如疾病的发生、发展、转化等,在基因水平有一个更全面和早期的认识,从而更有利于疾病的预防和治疗。该院正在将微阵列技术应用到三氧化二砷的研究当中,它将系统全面地验证三氧化二砷在结肠癌治疗中的应用,并寻找其最佳的用药途径和剂量,为其临床应用打下坚实的基础。通过其对结肠癌方面的研究,可以揭示其可能的作用机制。不仅可为结肠癌,乃至其他恶性肿瘤的药物治疗提供新的、不良反应小的、理想的一种选择。

参考文献:

[1] 秦叔逵,陈洪,陈惠英,等.三氧化二砷诱导人肝癌细胞株凋亡的初步研究[J].临床肿瘤学杂志,1998,3(2):40-41.

[2] 刘连新,朱安龙,姜洪池,等.三氧化二砷对肝癌细胞系BEL-7402的影响[J].中国普外基础与临床杂志,2001,8(4):209-212.

[3] 刘连新,姜洪池,朱安龙,等.三氧化二砷对肝癌细胞系HLE的影响[J].中国普通外科杂志,2001,10(2):134-138.

[4] 邓有平,林晨,张雪艳,等.三氧化二砷诱导食管癌EG-109细胞凋亡伴随G-MYC基因的降调节[J].中国医学科学院学报,2000,22(1):67-70.

[5] 黄晓军.三氧化二砷诱导细胞凋亡的调节[J].中华血液学杂志,1999,20(5):258-260.

[6] AKAO Y, YAMADA H, NALAGAWA Y. Arsenic induced apoptosis in malignant cells in vitro[J]. Leuk Lymphoma, 2000, 37: 53-63.

[7] AKAO Y, MIZOGUCHI H, KOJIMA S, et al. Arsenic induces apoptosis in B-cell leukaemic cell lines in vitro: activation of caspases and down-regulation of bcl-2 protein[J]. Br J Haematol, 1998, 102: 1055-1060.

[8] 陈国强,朱军,石学耕,等.三氧化二砷诱导早幼粒细胞白血病细胞凋亡及其分子机制的初步研究[J].中华血液学杂志,1997,18(1):25-28.

[9] 邓有平,林晨,张雪艳,等.三氧化二砷诱导人胃癌SGG-7901细胞程序化死亡并降低G-MYC基因的表达[J].药学报,1999,34(5):333-337.

[10] 邓志华,蔡洪培,李石,等.三氧化二砷对正常肝细胞及肝癌细胞株的影响[J].中华消化杂志,1999,19(4):227-229.

[11] 蔡循,贾培敏,石学耕,等.三氧化二砷诱导维甲酸耐药早幼粒细胞白血病细胞(MR-2)凋亡的体外研究[J].中华血液学杂志,1998,19(7):339-341.

[12] LALLEMAND-BREITENBACH V, EBU J, PURFON F, et al. Role of Promyelocytic leukemia(PML) Sumolation in nuclear body formation 11s proteasome recruitment and As₂O₃-induced PML or PML/retinoic acid receptor alpha degradation[J]. J Exp Med, 2001, 193: 1361-1371.

[13] ZHU Q, ZHANG J W, ZHU H Q, et al. Synergic effects of arsenic trioxide and cAMP during acute promyelocytic leukemia cell maturation subtends a novel signaling cross-talk[J]. Blood, 2002, 99: 1014-1022.

[14] 肖冬梅,孙关林,苏卉,等.三氧化二砷对K-562细胞周期的影响及其机制的研究[J].中华医学杂志,1999,79(4):306-307.

[15] 涂水平,江石湖,谭继宏,等.三氧化二砷抑制胃癌SGG-7901细胞增殖和诱导凋亡作用[J].世界华人消化杂志,1999,7(1):18-21.

[16] ZHANG W, OHNISHI K, SHIGENO K, et al. The induction of apoptosis and cell cycle arrest by arsenic trioxide in cymphoid neoplasms[J]. Leukemia, 1998, 12: 1383-1391.

[17] ROBOE G L, DINS S, LAM G, et al. Arsenic trioxide induces dose and time dependent apoptosis of endothelium and may exert an anti-leukemic effect via inhibition of angiogenesis[J]. Blood, 2000, 96: 1525-1530.

[18] LDW Y S, BROW S L, GRIFFIN R J, et al. Arsenic trioxide causes selective necrosis in solid murine tumors by vascular shutdown[J]. Cancer Res, 1999, 59: 6033-6037.

[19] 郁宝铭,崔巍,陆爱国,等.三氧化二砷诱导的结肠癌细胞凋亡及其与细胞周期的关系[J].中国癌症杂志,2000,10(2):159-162.

[20] 吴永平,柳红,黄艳,等.三氧化二砷通过诱导结肠癌LOVO细胞凋亡和坏死抑制其生长[J].徐州医学院学报,2001,21(6):434-437.

[21] 马丹,葛海艳.三氧化二砷对人结肠癌细胞增殖及凋亡的影响[J].重庆医学,2003,32(1):55-56.

[22] 姚和瑞,谢得荣,詹俊,等.三氧化二砷对大肠癌细胞的生长抑制作用[J].现代临床医学生物工程杂志,2000,6(1):18-19.

[23] 蔡洪培,邓志华,李石,等.三氧化二砷对裸鼠结肠癌腹腔转移的抑制作用[J].中华消化杂志,1999,19(6):378-380.