

三氧化二砷治疗癌症机制研究进展

刘欢, 那仁满都拉* (浙江大学药学院, 杭州 310058)

摘要: 三氧化二砷(As_2O_3 , ATO)在治疗人类急性早幼粒细胞白血病(APL)中发挥了不可替代的作用, 鉴于其突出的医疗价值, 人们在不同类型的癌症治疗中对其进行了应用。作为一个多靶点、多通路的治疗药物, ATO 的应用尚有争论。无论如何, 明确其药物作用机制, 对进一步开展相关研究意义重大。本文就此做一综述。

关键词: 三氧化二砷; 癌症

中图分类号: R961

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2013)03-0338-05

Mechanisms of Arsenic Trioxide Used in Cancers Therapy

LIU Huan, Narenmandura* (College of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

ABSTRACT: Arsenic trioxide(As_2O_3 , ATO) is one of the most effective therapeutic agents for patient with acute promyelocytic leukemia(APL), common but irreplaceable. Depending on its potential values, it has also been developed for treatment of other forms of tumors (e.g. liver and lungs cancer). Although As_2O_3 has been studied *in vivo* and *in vitro* for many years, there are some controversies regarding the usage of ATO for its multi-targeted action. In this review, we focused on the current state of knowledge with respect to the effect of arsenic trioxide *in vivo* and *in vitro*.

KEY WORDS: arsenic trioxide; cancer

1 三氧化二砷(ATO)作为药物的发展概述

砒霜具有以毒攻毒、攻坚蚀疮的功效, 在我国传统、蒙、藏医药临床实践中, 砒霜被应用于瘰疬、恶疮等的治疗。近 20 年, 国内外学者围绕砒霜的主要活性成分三氧化二砷(arsenic trioxide, As_2O_3 , ATO)抗肿瘤效应和安全性开展了大量的研究, 研究表明, ATO 对急性早幼粒细胞白血病等恶性血液病以及肝癌和脑胶质瘤等实体肿瘤均具有较强的抗肿瘤活性。事实上, 早在公元前 2000 年, 人类就已经从熔炼的铜当中提取出 ATO 作为药物或者毒物^[1]。关于其近代历史, 在 19 世纪和 20 世纪 30 年代, 西方也曾用过 ATO 治疗白血病, 但未被普遍接受。ATO 对白血病的治疗作用来源于中医的实践。20 世纪 70 年代, 哈尔滨医科大学张亭栋等发现 ATO 治疗白血病的作用并对其展开了广泛的研究与应用。此后在世界范围内, ATO 逐渐受到关注。

癌症, 是威胁人类生命健康的严重疾病之一。由于食品安全、环境污染等各方面因素, 近年来, 癌症发病率一直呈现上升趋势。患者出现相关症状进行初诊多数已发展至晚期, 预后差, 病死率高。鉴于 ATO 在治疗急性早幼粒细胞白血病(APL)

中的突出表现, 越来越多的科学家将治疗癌症的目光投向 ATO, 相关研究也是逐日而增, 其临床应用也愈加广泛。但是分析近年来的研究结果发现, ATO 治疗癌症的机制是多通路, 多作用位点, 甚至多种机制共存的。所以有必要对其进行一个系统的归纳与整理, 以便相关工作人员进行更深层次的研究。

2 ATO 治疗癌症机制的研究进展

2.1 促进细胞凋亡

细胞凋亡是机体维持自身稳定的一种基本生理机制, 是许多基因产物与细胞因子参与的一种有序的细胞自我消亡的形式。通过细胞凋亡, 机体可消除损伤、衰老与突变的细胞, 从而维持自身的稳态平衡。引起细胞凋亡的机制有很多, 如线粒体途径、内质网信号途径、死亡受体途径等。癌症的发生, 可以看做这种稳态的失衡, 所以促进细胞凋亡可以作为其治疗策略之一。

半胱氨酸天冬氨酸蛋白水解酶(Caspases)是一组存在于细胞质中具有类似结构的蛋白酶家族。其功能是特异性切割靶蛋白天冬氨酸残基上的肽键, 从而引起细胞凋亡。在众多成员中, Caspase-2, -8, -9, -10, -11 为凋亡起始者, Caspase-3, -6,

作者简介: 刘欢, 男 Tel: 13732252964 E-mail: liu.scott@live.cn
(0571)88208402 E-mail: narenman@zju.edu.cn

*通信作者: 那仁满都拉, 男, 博士, 教授, 博导 Tel:

-7 为凋亡执行者。在正常细胞中, Caspase 处于非活化的酶原状态, 人体内有多种抑制凋亡分子, 包括 p53, CrmA, Bcl-2 家族来维持其稳态。通过对这类分子的直接或间接作用, 可以达到调节 Caspase 活性的目的, 引发细胞的不可逆凋亡, 获得治疗作用。

2.1.1 ATO 对 Bcl-2 家族的影响 Bcl-2 蛋白家族有众多成员, 如 Mcl-1, NR-B, A1, Bcl-w, Bcl-x_L, Bax, Bak, Bad, Bim 等。根据其功能可以分为 2 组: Bcl-2, Bcl-x_L, Bcl-w 等抑制细胞凋亡; Bax, Bak, Noxa 等促进细胞凋亡。

早在 1996 年, 陈国强等^[2]就发现, 针对连续表达 Bcl-2, Bax, p53, c-myc 等凋亡相关基因的 NB4 细胞, 以 1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ATO 进行处理, Bcl-2 基因转录被下调, 12 h 后基本无表达。同时进行的蛋白免疫印迹实验结果与上述结论一致, 且处理 48 h 后, Bcl-2 蛋白完全消失。研究还表明, ATO 并不会对 Bax, Bcl-x, c-myc 和 p53 的表达产生影响。以 ATO 处理的 APL 细胞中 PML-RAR α 蛋白出现降解, 对于此机制的研究会在后面进行具体分析。2004 年 Karlsson 等^[3]使用 SK-N-BE(2) 细胞系与 LA-N-1 细胞系进行了 ATO 作用机制的探索, 这 2 种细胞系由于基因突变使其 p53 基因的表达受到影响。实验结果表明, Bax 表达上调, 在无 p53 参与的情况下, 引起了细胞的凋亡。吉林大学 Zhao 等^[4]证明, ATO 可以通过下调 Bcl-x_L mRNA 的表达, 从而增强 Caspase-3 的表达, 促进细胞凋亡。鉴于实验材料选择对实验结果的影响, Baysan 等于 2007 年^[5]采用人类 B 细胞(无 Bcl-2 蛋白表达)进行了同类研究, 结果发现, ATO 通过产生活性氧(ROS)激活线粒体通路, 同时上调 Bax 与 Bim 的表达, 促进了细胞的凋亡, 该变化可以通过改变外源 GSH 水平改善。

近期, Park 等^[6]用人类肺纤维细胞(HPF)进行了相关实验发现, 以 30~40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ (IC₅₀ 浓度) ATO 处理 HPF, 能够促进 p53 表达增加, 并下调 Bcl-2 表达。通过干扰 Caspase-8 或者抑制 Bcl-2 可以增加细胞凋亡发生, 同样的操作, 对于 p53 和 Caspase-3 则不起作用。实验结论是, HPF 作为一种 ATO 不敏感细胞, 在大剂量引发的生长抑制与凋亡过程中, ATO 是通过调节 Bcl-2 与 Caspase-8 来发挥作用的。

2.1.2 ATO 对细胞内钙离子浓度的调解 内质网

对细胞内的钙离子浓度的调控, 是活化 Caspase 的重要途径之一。

2007 年 Florea 等^[7]就已发现钙离子是 ATO 治疗机制中重要的信号分子。跟进研究^[8]表明, ATO 可以使内质网应激, 继而使钙离子储存耗竭, 从而引发细胞凋亡。类似的研究结果^[9-10]也证实了这一结论, 但其暴露浓度比较高。

李静秀等^[11]研究发现, ATO 介导的胞内 ROS 增加可以升高胞内游离钙离子浓度, 这使得核酸内切酶被活化, 造成 DNA 不可逆损伤, 从而引发凋亡。通过使用 ROS 抑制剂 NAC 或钙离子螯合剂 BAPTA 均可有效控制凋亡的发生。同年, 蔡本志等^[12]后续研究发现, 用不同浓度的 ATO 处理骨髓间质干细胞(BMSCs)可以引起胞内 Caspase-3 活性增加而使细胞凋亡, 通过应用 Caspase-3 抑制剂 Ac-DEVD-CHO 可以逆转 ATO 引起的这一变化。进一步的探究发现, 不同浓度 ATO 孵育的 BMSCs 内部钙离子浓度均有升高, 阻滞钙离子通道对细胞凋亡没有抑制作用, 而应用细胞内钙离子螯合剂 BAPTA-AM 可以显著抑制 ATO 引起的凋亡。

2.1.3 其他凋亡机制 ATO 是一个多作用位点药物, 近年来在蛋白与基因水平上, 都得到了比较深入的研究, 这些机制包括: ①通过激活 c-Src 调控 NADPH 活性^[13] 和增加 DNA 损伤标志物 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)^[14-15], 降低细胞内谷胱甘肽(GSH)的量, 从而引起细胞内 ROS 生成, ROS 生成后进一步介导 cytochrome C 由线粒体释放至胞浆, 诱发 Caspase 级联反应, 最终导致细胞凋亡; ②由 ROS 介导的对 p38 MAPK 及 JNK 的活化, 使得 Bax 迁移至线粒体, Bcl-2 被磷酸化修饰, 从而引发凋亡。Kang 等^[16-17]研究发现, 对 p28 MAPK 的抑制可以使得 Bax 的迁移与 Bcl-2 的磷酸化修饰同时减弱, 对 JNK 的抑制仅影响 Bcl-2 的修饰而不对 Bax 产生影响, 如果阻断 ROS 的产生, 则上述变化均不出现。当然, 也有学者^[18]认为 ATO 主要通过影响 JNK1/2 的活性来促进凋亡, 当它们被抑制时, ERK1/2 也会发挥部分促凋亡的作用; ③诱导肿瘤细胞产生 ROS, 氧化转录因子 SP1 (specificity protein 1)^[19]。SP1 在各种细胞中表达, 调控很多重要的基因如核酸代谢相关基因^[20]。SP1 在肿瘤细胞中的作用主要有促进血管生成, 调节细胞凋亡。SP1 调节细胞凋亡的作用及其复杂, 早期 SP1 抑制细胞凋亡^[21], 晚期则可促进细胞凋

亡^[22]。研究证明, ATO 诱导 NB4 细胞产生 ROS, ROS 氧化转录因子 SP1, SP1 氧化后与 DNA 的结合遭到破坏, 抑制启动子 hTERT, C17, C-Myc, 介导细胞凋亡; ④抑制 NF- κ B 的活化, 激活 JNK 通路, 直接诱导细胞凋亡^[23]; ⑤激活 ATR(ataxia telangiectasia mutated and Rad3-related)激酶, ATR 激酶继续激活 Chk2, 进一步激活 P53 通路, 诱导 APL 凋亡^[24]; ⑥上调 Fas 蛋白表达, 促进 Fas 介导的细胞凋亡^[25]。本实验中研究人员发现, MMP-7 并不能完全阻断 Fas 介导的凋亡过程, 证明该过程仍有其他信号分子参与; ⑦影响细胞周期。Qu 等^[26]在研究 ATO 对于人类肺癌细胞作用时发现, ATO 可以将细胞阻滞在 G2/M 期, 通过下调生存素 (survivin) 进一步诱导凋亡, 且该作用对于缺氧和有氧条件下的癌细胞都是显著的; 2010 年 Zhou 等^[27]研究发现, ATO 可以通过下调 DNMT3A 与 DNMT3B 的表达, 进而影响 p16 基因的甲基化状态, 其结果是将恶性淋巴瘤 CA46 阻滞在 G0/G1 期。新近的研究^[28]发现, 细胞周期关键的调控基因 p21 与 p27 在 ATO 治疗人类乳腺癌中发挥着重要作用, 研究人员通过检测相关 mRNA 与蛋白表达水平, 将目光锁定在 p21 与 p27 上, 对其敲除后, ATO 引起的凋亡与细胞周期阻滞虽没有完全消失, 但是却显著减弱。这说明, ATO 是通过上调 p21 与 p27 将人类乳腺癌细胞阻滞在 G1, G2/M 期, 并引起凋亡; ⑧下调端粒酶活性。端粒是线状染色体末端的 DNA 重复序列, 在正常细胞中随分裂次数增加而逐渐缩短, 从而控制细胞的生存期。端粒酶是一种反转录酶, 能够修复延长端粒, 使其不受分裂的影响。端粒酶的活性受到严格调控, 其活性仅在造血干细胞、生殖细胞等不断分裂的细胞中才能检测到。目前研究发现, 端粒酶的活性与肿瘤的发生发展有一定联系。在癌细胞中, 端粒酶活性高者细胞凋亡少, 而活性降低, 则细胞凋亡增加。通过用 ATO 治疗, 可以对端粒酶产生一定的抑制效果^[29]; ⑨自噬作用。自 Isakson 等^[30]发现 NB4 细胞可以通过自噬作用降解 PML-RAR α 融合蛋白以来, 关于此方面的研究更加深入。Pucer 等^[31]使用自噬抑制剂减弱了 ATO 对胶质瘤细胞的毒性, 研究认为, ATO 可以显著降低溶酶体蛋白 CatB 表达水平, 但是对于 CatL 并无影响, 但如果同时抑制后者, 就可增强 ATO 细胞毒性。这一结论可以帮助减少

临床用药剂量, 从而避免 ATO 的不良反应。Smith 与 Raffoul^[32-33]分别证明了 ATO 可以通过调节卵巢癌细胞 SnoN/Ski1 的表达, 引发 Beclin-1 非依赖的自噬作用。Chiu 等^[34]研究发现, 生存素对于神经胶质瘤的自噬与凋亡都有抑制作用, ATO 可以抑制 PI3K/Akt 的产生, 激活 MAPK 信号通路, 下调生存素, 发挥药效。最新研究发现^[35], ATO 能够上调肿瘤细胞中 Beclin-1 与 LC3 基因的表达, 激发自噬作用, 降低抗凋亡蛋白 Bcl-2 的量, 从而发挥抗肿瘤作用。

2.2 诱导细胞分化

肿瘤细胞的分化程度与其病理等级密切相关。分化程度越高, 意味着越接近相应的正常发源组织, 生长慢, 治疗后不易复发; 而分化程度差的肿瘤细胞生长迅速, 易转移。以药物诱导肿瘤细胞分化, 对于缓解患者症状有着重要的治疗意义。

2.2.1 ATO 对 PML-RAR α 蛋白的降解作用

PML 蛋白是核体(PML oncogenic domain, POD)的组成部分, 是细胞生长和转化的抑制蛋白。视黄酸受体 RAR 是体内维甲酸受体。在 NB4 细胞中, 15 号染色体 PML 基因和 17 号染色体 RAR α 受体基因异位形成的融合蛋白 PML-RAR α , 其后果为:

①破坏正常分布在细胞核中的核小体的结构, PML 的正常抑制增殖和促凋亡功能发生障碍导致细胞增殖, 凋亡减少; ②融合蛋白的积累, 抑制早幼粒细胞分化成熟。故对于该蛋白的降解, 有助于核小体恢复功能, 促进细胞分化。

陈竺等^[36]在最近的研究中发现, ATO 直接与 PML 和 PML-RAR α 中 PML 的 RBCC 结构域中 C3H4 锌指蛋白结合, 该作用导致 PML 构象变化和聚合化, 进而 SUMO 和泛素修饰后被蛋白酶体降解。科研人员还指出, ATO 只能对特异性的有 PML-RAR α 融合蛋白的患者有效果, 其他类型白血病细胞如 HL-60 及 APL 的变异型 PLZF-RAR α 融合基因无作用, 说明融合蛋白 PML-RAR α 是 ATO 治疗急性早幼粒细胞性白血病的直接药物靶点。

2.2.2 ATO 对组蛋白甲基化的影响

组蛋白的甲基化修饰对基因的表达有着重要的影响, 它参与异染色质形成、基因印记、X 染色体失活和转录调控等多种主要生理功能。周雪等^[37]研究发现, 将人类肺癌细胞(human lung carcinoma A549)暴露

于 ATO 中可以增加 H3K9 的二甲基化与 H3K27 的三甲基化,同时降低 H3K4 的三甲基化。相关研究证明, H3K9 与 H3K27 为基因沉默标记物, H3K4 为基因活化标记物。通过他们的实验可以证实, ATO 诱发的癌症,以及 ATO 介导的癌症治疗作用均与选择性结合相关组蛋白有关,其更深的作用机制还有待进一步研究。

2.3 抑制血管再生

肿瘤组织是机体内生长最为旺盛的部分,它依靠新生血管维持自身的养分供应。抑制肿瘤血管的生成可以在极大程度上达到“饿死肿瘤”的目的。

血管内皮生长因子 VEGF 是血管内皮细胞特异性的肝素结合生长因子,可在体内诱导血管新生。事实上,在 2000 年 Roboz 等^[38]就已提出 ATO 对于 VEGF 的抑制作用,跟进研究^[39-43]补充了 ATO 对于 MMP-2, 9, Pgp 蛋白, VEGF 相关受体如 Flt-1, KDR 的影响。

2.4 降低耐药性

肿瘤组织生长旺盛,且伴随着突变。治疗后期多药耐药性的发生,是多数患者死亡的重要原因。对这一问题的解决,也是延长患者生存期的重要手段。

P-gp, Bcl-2, Topo-2 和 GST- π 是常见的耐药蛋白,检测其含量变化对于分析耐药性有重要的意义。Zhao 等^[44]对 ATO 降低阿霉素耐药性的机制进行了分析,发现 ATO 通过选择性抑制 GST- π , 并调控 Bcl-2 与 Topo-2 的表达,显著改善了肿瘤细胞对于阿霉素的耐药性。

3 ATO 作为抗肿瘤药物的弊端与展望

综上所述,ATO 作为一种临床用药,依然不能很好地确定其作用机制。这种多通路、多靶点的作用方式为扩大临床应用带来很多困扰。已经发现的心脏毒性、肾毒性、肝毒性等问题,也使得其应用受到严格的限制。通过观察比较可以发现,ATO 治疗作用的发挥往往是多机制共存的,且应用不同的研究材料所得到的实验结果不完全一致。这一方面是由于不同细胞表达产物不同,另一方面与 ATO 自身性质有关,它对细胞中含巯基的蛋白均有较强的亲和力,能够与之结合并令其失活。细胞生理功能的调控是一个多通路结合,彼此之间又相互联系的过程。这使得研究 ATO 作用机制变得更加复杂。

最近, Ghaffari 等^[45]的研究对于解开 ATO 多作用方式的机制提供了一个思路。研究人员检测了 88 种肿瘤相关的 miRNA, 结果发现, 治疗浓度为 $2 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 ATO 处理后的 NB4 细胞中, 有 51 种 miRNA 发生了不同程度的折叠。这些 miRNA 与细胞周期的调控、凋亡的发生以及血管的生成密切相关。正是由于 ATO 与其发生的相互作用, 发挥了其后期相关的治疗效果。

在今后进一步的研究中, 除了要真正解决 ATO 的作用机制外, 还应该将目光锁定在 ATO 的某一通路, 按照其药理特征, 设计合成 ATO 样作用途径的药物分子, 以期获得更多有临床应用价值的新药。

REFERENCES

- [1] JOLLIFFE D M. A history of the use of arsenicals in man [J]. J R Soc Med, 1993, 86(5): 287-289.
- [2] CHEN G Q, ZHU J, SHI X G, et al. *In vitro* studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide (As_2O_3) in the treatment of acute promyelocytic leukemia: As_2O_3 induces NB4 cell apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR α /PML proteins [J]. Blood, 1996, 88(3): 1052-1061.
- [3] KARLSSON J, ORA I, PORN-ARES, et al. Arsenic trioxide-induced death of neuroblastoma cells involves activation of Bax and does not require p53 [J]. Clin Cancer Res, 2004, 10(9): 3179-3188.
- [4] GE Q F, OUYANG G F, CHEN Y, et al. Effects of arsenic trioxide combined with bortezomib on apoptosis of multiple myeloma cell line KM3 and its mechanisms [J]. J Exp Hematol (中国实验血液学杂志), 2012, 20(1): 112-115.
- [5] BAYSAN A, YEL L, GOLLAPUDI S, et al. Arsenic trioxide induces apoptosis via the mitochondrial pathway by upregulating the expression of Bax and Bim in human B cells [J]. Int J Oncol, 2007, 30(2): 313-318.
- [6] PARK W H, KIM S H. Arsenic trioxide induces human pulmonary fibroblast cell death via the regulation of Bcl-2 family and caspase-8 [J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(4): 4311-4318.
- [7] FLOREA A M, SPLETTSTOESSER F, BUSSELBERG D. Arsenic trioxide (As_2O_3) induced calcium signals and cytotoxicity in two human cell lines: SY-5Y neuroblastoma and 293 embryonic kidney (HEK) [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2007, 220(3): 292-301.
- [8] ZHANG H, DUNCAN G, WANG L, et al. Arsenic trioxide initiates ER stress responses, perturbs calcium signalling and promotes apoptosis in human lens epithelial cells [J]. Exp Eye Res, 2007, 85(6): 825-835.
- [9] ZHAO X Y, LI G Y, LIU Y, et al. Resveratrol protects against arsenic trioxide-induced cardiotoxicity in vitro and *in vivo* [J]. Br J Pharmacol, 2008, 154(1): 105-113.
- [10] FLOREA A M, BUSSELBERG D. Arsenic trioxide in environmentally and clinically relevant concentrations interacts with calcium homeostasis and induces cell type specific cell death in tumor and non-tumor cells [J]. Toxicol Lett, 2008, 179(1): 34-42.
- [11] LI J X, SHEN Y Q, CAI B Z, et al. Arsenic trioxide induces the apoptosis in vascular smooth muscle cells via increasing

- intracellular calcium and ROS formation [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(3): 1569-1576.
- [12] CAI B Z, MENG F Y, ZHU S L, et al. Arsenic trioxide induces the apoptosis in bone marrow mesenchymal stem cells by intracellular calcium signal and caspase-3 pathways [J]. *Toxicol Lett*, 2010, 193(2): 173-178.
 - [13] TSENG H Y, LIU Z M, HUANG H S. NADPH oxidase-produced superoxide mediates EGFR transactivation by c-Src in arsenic trioxide-stimulated human keratinocytes [J]. *Arch Toxicol*, 2012, 86(6): 935-945.
 - [14] NINOMIYA M, KAJIGUCHI T, YAMAMOTO K, et al. Increased oxidative DNA products in patients with acute promyelocytic leukemia during arsenic therapy [J]. *Haematologica*, 2006, 91(11): 1571-1572.
 - [15] DING W, HUDSON L G, LIU K J. Inorganic arsenic compounds cause oxidative damage to DNA and protein by inducing ROS and RNS generation in human keratinocytes [J]. *Mol Cell Biochem*, 2005, 279(1/2): 105-112.
 - [16] KANG Y H, LEE S J. Role of p38 MAPK and JNK in enhanced cervical cancer cell killing by the combination of arsenic trioxide and ionizing radiation [J]. *Oncol Rep*, 2008, 20(3): 637-643.
 - [17] KANG Y H, LEE S J. The role of p38 MAPK and JNK in Arsenic trioxide-induced mitochondrial cell death in human cervical cancer cells [J]. *J Cell Physiol*, 2008, 217(1): 23-33.
 - [18] EGUCHI R, FUJIMORI Y, TAKEDA H, et al. Arsenic trioxide induces apoptosis through JNK and ERK in human mesothelioma cells [J]. *J Cell Physiol*, 2011, 226(3): 762-768.
 - [19] CHOU W C, CHEN H Y, YU S L, et al. Arsenic suppresses gene expression in promyelocytic leukemia cells partly through Sp1 oxidation [J]. *Blood*, 2005, 106(1): 304-310.
 - [20] BAI X, DENG H. Research progress on relationship between transcription factor Sp1 and tumor [J]. *J Zhejiang Univ(浙江大学学报)*, 2010, 39(2): 215-220.
 - [21] XU R, ZHANG P, HUANG J, et al. SP1 and SP3 regulates basal transcription response of survivin gene [J]. *Biochem Biophys Res Commun(生物化学与生物物理学研究通讯)*, 2007, 356(1): 286-292.
 - [22] DENLAUD E, BAGUET J, MATHIEU A, et al. Overexpression of SP1 transcription factor induces apoptosis [J]. *Oncogene*, 2006, (25): 7096-7105.
 - [23] MATHEIU J, BESANCON F. Arsenic trioxide represses NF-kappaB activation and increases apoptosis in ATRA-treated APL cells [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, (1090): 203-208.
 - [24] JOE Y, JEONG J H, YANG S, et al. ATR, PML, and CHK2 play a role in arsenic trioxide-induced apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(39): 28764-28771.
 - [25] YANG G F, LI X H, ZHAO Z, et al. Arsenic trioxide up-regulates Fas expression in human osteosarcoma cells [J]. *Chin Med J(Eng)(中华医学杂志 英文版)*, 2010, 123(13): 1768-1773.
 - [26] QU G P, XIU Q Y, LI B, et al. Arsenic trioxide inhibits the growth of human lung cancer cell lines via cell cycle arrest and induction of apoptosis at both normoxia and hypoxia [J]. *Toxicol Ind Health*, 2009, 25(8): 505-515.
 - [27] ZHOU H R, SHEN J Z, FU H Y, et al. Arsenic trioxide reverses hypermethylation of p16 and activates its transcription in malignant lymphoma cell line CA46 [J]. *J Exp Hematol(中国实验血液学杂志)*, 2010, 18(2): 403-409.
 - [28] WANG X, GAO P, LONG M, et al. Essential role of cell cycle regulatory genes p21 and p27 expression in inhibition of breast cancer cells by arsenic trioxide [J]. *Med Oncol*, 2011, 28(4): 1225-1254.
 - [29] WANG X, WANG G, DONG D, et al. Inhibition on LS-174T cell growth and activity of telomerase *in vitro* and *in vivo* by arsenic trioxide [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2008, 60(6): 481-488.
 - [30] ISAKSON P, BJORAS M, BOE S O, et al. Autophagy contributes to therapy-induced degradation of the PML/RARA oncoprotein [J]. *Blood*, 2010, 116(13): 2324-2331.
 - [31] PUCER A, CASTINO R, MIRKOVIC B, et al. Differential role of cathepsins B and L in autophagy-associated cell death induced by arsenic trioxide in U87 human glioblastoma cells [J]. *Biol Chem*, 2010, 391(5): 519-531.
 - [32] SMITH D M, PATEL S, RAFFOUL F, et al. Arsenic trioxide induces a beclin-1-independent autophagic pathway via modulation of SnoN/SkiL expression in ovarian carcinoma cells [J]. *Cell Death Differ*, 2010, 17(12): 1867-1881.
 - [33] RAFFOUL F, CAMPLA C, NANJUNDAN M. SnoN/SkiL, a TGF β signaling mediator: a participant in autophagy induced by arsenic trioxide [J]. *Autophagy*, 2010, 6(7): 955-957.
 - [34] CHIU H W, HO Y S, WANG Y J, et al. Arsenic trioxide induces autophagy and apoptosis in human glioma cells *in vitro* and *in vivo* through downregulation of survivin [J]. *J Mol Med(Berl)*, 2011, 89(9): 927-941.
 - [35] CHENG J, WEI H L, CHEN J, et al. Antitumor effect of arsenic trioxide in human K562 and K562/ADM cells by autophagy [J]. *Toxicol Mech Methods*, 2012, 22(7): 512-519.
 - [36] ZHANG X W, YAN X J, ZHOU Z R, et al. Arsenic trioxide controls the fate of the PML-RARalpha oncoprotein by directly binding PML [J]. *Science*, 201, 328(5975): 240-243.
 - [37] ZHOU X, SUN H, ELLEN T P, et al. Arsenite alters global histone H3 methylation [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29(9): 1831-1836.
 - [38] ROBOZ G J, DIAS S, LAM G, et al. Arsenic trioxide induces dose- and time-dependent apoptosis of endothelium and may exert an antileukemic effect via inhibition of angiogenesis [J]. *Blood*, 2000, 96(4): 1525-1530.
 - [39] YU M J, DUAN Y, LIU H, et al. Inhibited proliferation of B-lymphoma Raji cells and down-regulated expression of VEGF by arsenic trioxide [J]. *J Exp Hematol(中国实验血液学杂志)*, 2006, 14(4): 704-707.
 - [40] ZHANG Y, ZHANG J D, GU J, et al. Effect of arsenic trioxide on VEGF/R and MMP-2, 9 expressed in K562 cells [J]. *J Exp Hematol(中国实验血液学杂志)*, 2007, 28(2): 107-110.
 - [41] LIANG H, ZHANG Y, ZHANG J D, et al. Effects of arsenic trioxide on expressions of vascular endothelial growth factor and P-glycoprotein in multidrug resistant leukemia cell line K562/A02 [J]. *J Chin Integr Med(中西医结合学报)*, 2007, 5(6): 647-650.
 - [42] XIAO T F, WU D D, LIU S X, et al. Effect of arsenic trioxide on vascular endothelial cell proliferation and expression of vascular endothelial growth factor receptors Flt-1 and KDR in gastric cancer in nude mice [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(48): 6498-6505.
 - [43] XIAO Y F, CHEN X, LIU S X, et al. Effect of arsenic trioxide on vascular endothelial growth factor-C and its receptor (VEGFR-3) in nude mice with gastric cancer [J]. *J Exp Hematol(中国实验血液学杂志)*, 2008, 16(6): 1303-1307.
 - [44] ZHAO D, JIANG Y, DONG X, et al. Arsenic trioxide reduces drug resistance to adriamycin in leukemic K562/A02 cells via multiple mechanisms [J]. *Biomed Pharmacother*, 2011, 65(5): 354-358.
 - [45] GHAFARI S H, BASHASH D, DIZAJI M Z, et al. Alteration in miRNA gene expression pattern in acute promyelocytic leukemia cell induced by arsenic trioxide: a possible mechanism to explain arsenic multi-target action [J]. *Tumour Biol*, 2012, 33(1): 157-172.

收稿日期: 2012-06-15