

[文章编号] 1000-2200(2008)01-0015-04

· 基础医学 ·

## As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对乳腺癌细胞的生长及端粒酶活性的影响

胡 博<sup>1</sup>, 陈正徐<sup>1</sup>, 夏 俊<sup>2</sup>, 王东萍<sup>1</sup>, 高绪峰<sup>1</sup>

**[摘要]** **目的:**探讨不同浓度 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 端粒酶及其亚单位 hTERT-mRNA 活性表达的影响,为临床治疗乳腺癌提供理论和实验依据。**方法:**将不同浓度的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 与 MDA-MB-231 细胞共培养不同时间后,MTT 比色法检测 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对 MDA-MB-231 细胞的生长抑制作用;TRAP-PAGE-银染法检测 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用后细胞端粒酶活性的改变;RT-PCR 法测定 MDA-MB-231 细胞 hTERT-mRNA 的表达。**结果:**As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 可显著抑制 MDA-MB-231 细胞生长,且存在浓度、时间效应关系,其 24 h IC<sub>50</sub> 为 24.73 μmol/L,48 h IC<sub>50</sub> 为 6.99 μmol/L;用终浓度分别为 10、20、40 μmol/L 的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 与 MDA-MB-231 细胞作用 24 h、48 h,银染条带显示出端粒酶活性显著下降;RT-PCR 产物电泳条带显示出 hTERT-mRNA 的表达明显下降。**结论:**As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 在体外可显著抑制 MDA-MB-231 细胞的生长,具有较明显的细胞毒作用;As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 能显著抑制 MDA-MB-231 细胞端粒酶及其亚单位端粒酶逆转录酶的活性,且抑制作用具有明显的时间和浓度依赖关系。

[关键词] 乳腺肿瘤;三氧化二砷;MDA-MB-231 细胞;端粒酶;比色法

[中国图书资料分类法分类号] R 737.9;O 612.5 [文献标识码] A

### Influence of arsenic trioxide on breast cancer cell and telomerase activity

HU Bo<sup>1</sup>, CHEN Zheng-xu<sup>1</sup>, XIA Jun<sup>2</sup>, WANG Dong-ping<sup>1</sup>, GAO Xu-feng<sup>1</sup>

(1. Research Center of Nincal Laboratory Science, 2. Department of Biochemistry and Molecular Biology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the inhibitory effect of different concentrations of arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) on breast cancer cells MDA-MB-231 and on the activity of telomerase hTERT-mRNA so as to provide theoretical and experimental basis for the treatment of breast cancer. **Methods:** MDA-MB-231 cells were cultured with As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> different concentrations. The growth inhibition was analyzed by MTT assay; the telomerase activity was determined by TRAP-PAGE-SILVER staining; the hTERT-mRNA expression was examined by RT-PCR assay. **Results:** As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> could obviously inhibit the growth of MDA-MB-231 cells, which was related with the concentrations of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> and time of culture. Its 24-hour inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) was 24.73 μmol/L and 48-hour inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) was 6.99 μmol/L. Treated with As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (10–40 μmol/L) for 24–48 h, the telomerase activity and hTERT-mRNA expression of MDA-MB-231 cells were greatly inhibited. **Conclusions:** As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> can inhibit the growth of MDA-MB-231 cells significantly. Treated with As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, the activity of telomerase and telomerase hTERT-mRNA can be inhibited remarkably, and the effects are dependent on the concentrations and time of culture.

[Key words] breast neoplasms; As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; MDA-MB-231 cells; telomerase; colorimetry

三氧化二砷 (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) 是中药砒霜的主要成分,自《SCIENCE》杂志报道 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 成功治愈急性早幼粒细胞白血病 (acute promyelocytic leukemia, APL) 的成果以来,对 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 的药理作用的探索引起了世界医学界的重视。研究表明<sup>[1,2]</sup> As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 不仅对血液肿瘤,而且对于多种实体瘤如食管癌、肝癌,以及恶性黑色素瘤细胞的生长等均具有凋亡和(或)抑制生长的作用<sup>[3,4]</sup>,但对于 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 影响乳腺癌细胞生长的报道较少。为此,本实验选择人乳腺癌细胞株

MDA-MB-231 为研究模型,探讨不同浓度的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对乳腺癌细胞凋亡、端粒酶及其亚单位 hTERT-mRNA 活性表达的影响。以初步探讨 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 抑制乳腺癌细胞生长的作用机制,为进一步开展体内实验奠定基础,也为砷剂能否用于乳腺癌的临床治疗提供理论和实验依据。

### 1 材料与方法

1.1 材料 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>、硝酸银、MTT 购自美国 Sigma 公司;丙烯酰胺、N,N' 亚甲基丙烯酰胺、TEMED 购自华美公司;RT-PCR 试剂盒购自 MBI Fermentas 公司;Trizol 试剂购自 Invitrogen 公司;端粒酶活性检测试剂盒 Roche 公司。

#### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人乳腺癌细胞株 MDA-MB-231 细胞(购于 American Type Culture Collection)。将其

[收稿日期] 2006-12-19

[基金项目] 安徽省教育厅自然科学研究资助项目(2003kj256)

[作者单位] 蚌埠医学院 1. 临床检验诊断学实验中心, 2. 生物化学与分子生物学教研室,安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 胡 博(1982-),女,硕士研究生,研究方向:肿瘤分子生物学。

[通讯作者] 夏 俊,女,教授,研究生导师。

接种于含体积分数为 10% 灭活小牛血清的新鲜 RPMI 1640 培养液中,置 37 °C 饱和湿度 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中。2~3 天传代 1 次。所有实验操作均采用对数生长期的细胞。

1.2.2 MTT 比色 MDA-MB-231 细胞经胰酶消化,接种于 96 孔培养板,每孔 100  $\mu$ l 培养液含 2 000 个细胞,培养 24 h 后弃培养液,每孔加入 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 终浓度分别为 1、5、10、20、40  $\mu$ mol/L 的培养液 50  $\mu$ l,对照组不加药,另加空白组(只加培养液,无细胞),每组 8 个复孔,重复 4 个批次,分别于培养后的 24 h、48 h 加入 MTT(5  $\mu$ g/ml) 10  $\mu$ l,4 h 后每孔加入 DMSO 100  $\mu$ l,避光震荡摇匀,以空白孔调零,在酶标仪上检测 570 nm 处的吸光度值(A<sub>570</sub>),肿瘤细胞生长抑制率(%) = (1 - 实验组 A<sub>570</sub>值/对照组 A<sub>570</sub>值)  $\times$  100%。

1.2.3 诱导 接种细胞于 24 孔培养板中,每孔接种量为 1.0 ml,细胞密度为 1.5  $\times$  10<sup>8</sup>/L,加入 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 共同培养,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 终浓度分别为 10、20、40  $\mu$ mol/L,并以未加 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 组作为对照。培养 24 h、48 h 后收集细胞,用于端粒酶活性测定及端粒酶 hTERT 表达的检测。

1.2.4 端粒酶活性的测定(TRAP-PAGE-银染法)

收集细胞(1.5  $\times$  10<sup>5</sup>),4 °C,6 500 r/min 离心 5 min 以形成细胞团。去除上清,用 PBS 重悬细胞并重复离心步骤。加入 200  $\mu$ l 裂解液重悬细胞小团,冰上预冷并充分混匀,于冰上孵育 30 min。4 °C,15 000 r/min 离心 20 min,小心将上清(约 175  $\mu$ l)移至另一洁净的 Eppendorf 管中,-80 °C 保存备用或即用。取上述提取液 1~3  $\mu$ l 加入 25  $\mu$ l 扩增液,用无菌焦碳酸二乙酯(DEPC)水补足体积至 50  $\mu$ l,加 40  $\mu$ l 石蜡油覆盖,在 PCR 扩增仪上运行:25 °C 30 min 引物延伸;94 °C 5 min 端粒酶灭活;扩增反应:94 °C 30 s,50 °C 30 s,72 °C 90 s,循环 30 次;72 °C 平衡 10 min。

取 PCR 反应产物 10  $\mu$ l,进行 12% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳,电压 180 V,1 h 左右,银染。当出现相隔 6 个 bp 的梯形条带为端粒酶活性阳性。采用 Smart view 生物电泳图像分析系统(上海复日科技有限公司产品)扫描存储图像并进行分析。

1.2.5 RT-PCR 检测端粒酶 hTERT-MRNA 的表达

(1)总 RNA 抽提:用不含小牛血清的 RPMI 1640 培养液洗涤收集的 MDA-MB-231 细胞 2 次,计数 4  $\times$  10<sup>6</sup> 细胞,加入 Eppendorf 管,离心沉淀后加 Trizol 试剂 1 ml,抽提总 RNA。(2)cDNA 链合成:按逆转

录试剂盒说明书操作。终体积 20  $\mu$ l,其中总 RNA 4  $\mu$ l,随机引物 1  $\mu$ l,5  $\times$  buffer 4  $\mu$ l,核糖核酸酶抑制剂(RNasin)1  $\mu$ l,10 mmol/L dNTP 2  $\mu$ l,鼠白血病病毒逆转录酶(M-MuLVRT)1  $\mu$ l,ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ l。PCR 扩增仪上运行:25 °C 10 min,42 °C 60 min,70 °C 10 min;4 °C 保存。(3)引物:hTERT 和  $\beta$ -actin 引物由上海 Sangon 合成。引物序列及反应条件见表 1。

表 1 引物序列及反应条件

引物	序列	扩增长度	反应条件
hTERT	上游:5'GCTGCTCAGGTCTTCTTTTA 3'	118 bp	94 °C 45 s,58 °C 45 s,
	下游:5'CTTCAAGTCTGCTGATTC 3'		72 °C 60 s;30 个循环
$\beta$ -actin	上游:5'GCTCACCATGGATGATATC 3'	275 bp	95 °C 45 s,63 °C 45 s,
	下游:5'GCCAGATTTCTCCATGCTGC 3'		72 °C 45 s;30 个循环

PCR 反应体系终体积为 25  $\mu$ l,含 10  $\times$  buffer 2.5  $\mu$ l,Mg<sup>2+</sup> 1.5  $\mu$ l,dNTPs 0.5  $\mu$ l,cDNA 1  $\mu$ l,上下游引物各 1  $\mu$ l(20  $\mu$ mol/L),Taq 酶 1  $\mu$ l。取 5  $\mu$ l 扩增产物 2% 琼脂糖凝胶电泳,紫外灯下用 Smart view 凝胶图像软件分析。

1.3 统计学方法 采用方差分析和 *q* 检验,*t* 检验和等级相关分析。

## 2 结果

### 2.1 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对 MDA-MB-231 细胞生长的抑制作用

以 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 不同浓度和肿瘤细胞生长抑制率分析显示,作用 24 h,*r*<sub>1</sub> = 1.000,*P* < 0.01;作用 48 h,*r*<sub>1</sub> = 1.000,*P* < 0.01。表明 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 与 MDA-MB-231 细胞生长抑制率之间有显著的浓度、时间依赖关系,24 h IC<sub>50</sub> 为 24.73  $\mu$ mol/L,48 h IC<sub>50</sub> 为 6.99  $\mu$ mol/L(见表 2)。

表 2 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对 MDA-MB-231 细胞的生长抑制作用(*n*<sub>1</sub> = 4; $\bar{x} \pm s$ )

As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ( $\mu$ mol/L)	24 h		48 h		<i>t</i>	<i>P</i>
	A <sub>570</sub>	抑制率(%)	A <sub>570</sub>	抑制率(%)		
对照组	0.817 7 $\pm$ 0.134 2	—	0.823 0 $\pm$ 0.122 3	—	0.06	>0.05
1	0.643 4 $\pm$ 0.123 7	21.31	0.501 9 $\pm$ 0.130 7**	39.02	1.57	>0.05
5	0.547 2 $\pm$ 0.113 6*	33.08	0.418 2 $\pm$ 0.112 8**	49.18	1.61	>0.05
10	0.427 4 $\pm$ 0.144 1**	47.73	0.388 8 $\pm$ 0.135 3**	52.76	0.39	>0.05
20	0.354 8 $\pm$ 0.125 1**	56.61	0.299 3 $\pm$ 0.114 0**	63.63	0.66	>0.05
40	0.271 6 $\pm$ 0.143 1**	66.78	0.244 6 $\pm$ 0.138 5**	70.28	0.27	>0.05
<i>F</i>	9.39	—	10.65	—	—	—
<i>P</i>	<0.01	—	<0.01	—	—	—
MS <sub>组内</sub>	0.017	—	0.016	—	—	—

2.2 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对 MDA-MB-231 细胞端粒酶活性的影响 取不同浓度的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 与 MDA-MB-231 细胞共培养不同时间后的 PCR 扩增产物进行非变性 PAGE, 银染后可见间隔 6 个 bp 的梯状条带(见图 1、2)。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用不同浓度、不同时间后, 细胞端粒酶活性不同, 表现为间隔 6 个 bp 的梯状条带的灰度不同, 电泳图谱经 Smart view 图像软件分析, 用各泳道灰度减阴性对照的灰度后与对照组的灰度比值作为端粒酶活性的相对值。结果显示, 在相同的作用时间内, 随着 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 浓度的增加, 端粒酶活性的银染条带逐渐减弱直至消失; 同一浓度的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 和细胞作用不同的时间, 随着共培养时间的延长, 端粒酶活性的

银染条带也逐渐减弱直至消失。表明 MDA-MB-231 细胞端粒酶活性抑制与 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 的作用浓度和时间有依赖关系(见表 3)。

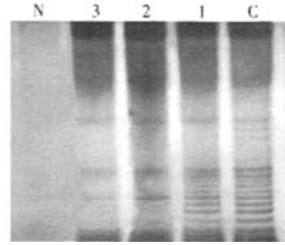


图 1 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用 MDA-MB-231 细胞 24 h 的 TRAP-PAGE 图谱

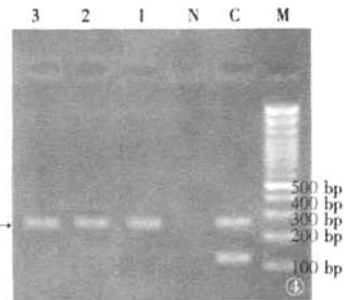
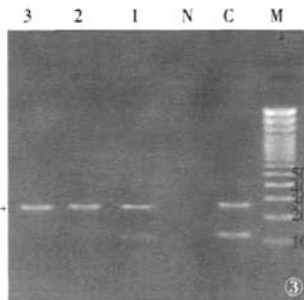
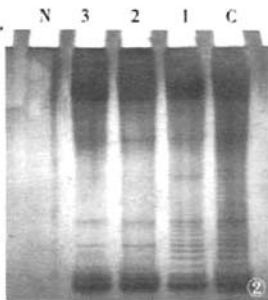
表 3 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对 MDA-MB-231 细胞端粒酶活性(相对活性%)的影响(n<sub>i</sub> = 4;  $\bar{x} \pm s$ )

作用时间 (h)	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (μmol/L)				F	P	MS <sub>组内</sub>
	对照	10	20	40			
24	96.31 ± 2.56	85.42 ± 2.81 **	30.12 ± 3.13 **	20.18 ± 3.57 **	638.30	<0.01	9.248
48	95.44 ± 2.78	66.27 ± 2.54 **	25.23 ± 3.04 **	9.78 ± 2.56 **	810.98	<0.01	7.494
t	0.46	10.11	2.24	4.73	—	—	—
P	>0.05	<0.001	>0.05	<0.001	—	—	—

q 检验: 与对照组比较 \* \* P < 0.01

2.3 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对 MDA-MB-231 细胞 hTERT-mRNA 的影响 凝胶成像可见 MDA-MB-231 细胞 hTERT-mRNA 随 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 浓度的升高及作用时间的延长而减弱(见图 3、4)。电泳图谱经 Smart view 图像软件分析, 将各泳道灰度减去阴性对照后与 β-actin 条带灰度的比值作为 hTERT-mRNA 的相对活性值。结果显示, 相同的作用时间, 10 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用细胞后, hTERT-mRNA 的表达较对照组减弱, 两者差异

有统计学意义(P < 0.01); 在相同的浓度 10 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用下, 48 h 组的 hTERT-mRNA 表达较 24 h 组减弱, 两者差异有统计学意义(P < 0.01); 20 μmol/L 的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用 24 h, 10 μmol/L 的 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用 48 h 后, hTERT-mRNA 的活性几乎被完全抑制。表明 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 对 MDA-MB-231 细胞 hTERT-mRNA 表达的抑制作用呈浓度和时间依赖关系(见表 4)。



N: negative control; C: control; M: marker; 1-3: As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 10、20、40 μmol/L

图 2 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 作用 MDA-MB-231 细胞 48 h 的 TRAP-PAGE 图 图 3 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 诱导 MDA-MB-231 细胞 24 h 后 hTERT-mRNA 的表达 图 4 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 诱导 MDA-MB-231 细胞 48 h 后 hTERT-mRNA 的表达

### 3 讨论

本实验从细胞毒性、端粒酶活性、端粒酶逆转录酶 hTERT-mRNA 活性的表达等方面对 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 抑制

人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 增殖及诱导其凋亡的机制进行了初步研究, 以探讨 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 抗乳腺癌的作用机制, 旨在为临床治疗乳腺癌提供理论和实验依据。

表4 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对MDA-MB-231细胞hTERT-mRNA活性(相对活性%)的影响(n<sub>i</sub>=4;  $\bar{x} \pm s$ )

作用时间 (h)	As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> (μmol/L)				F	P	MS <sub>组内</sub>
	对照	10	20	40			
24	70.25 ± 2.67	60.26 ± 2.75 **	1.54 ± 0.31 **	1.21 ± 0.33 **	1 478.86	<0.01	3.724
48	69.78 ± 3.11	1.32 ± 0.24 **	1.15 ± 0.36 **	1.05 ± 0.27 **	1 895.62	<0.01	2.483
t	0.23	47.70	1.64	5.44	—	—	—
P	>0.05	<0.001	>0.05	<0.001	—	—	—

q 检验:与对照组比较 \*\* P < 0.01

MTT法采用细胞培养技术,根据活细胞线粒体在代谢过程中使可溶性的黄色MTT还原为不可溶性的蓝色甲瓞结晶的原理,运用比色法测出活细胞与死细胞的比值,从而得出肿瘤细胞对化疗药物是否敏感的结论。该法现已在恶性肿瘤化疗药物的筛选方面得到较为广泛的应用<sup>[5,6]</sup>。本实验采用MTT法检测As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>在体外对MDA-MB-231细胞生长的抑制作用,结果显示As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对MDA-MB-231细胞的生长抑制作用具有时间-浓度依赖性,随As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度的递增、时间的延长而增强。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对MDA-MB-231细胞作用24 h IC<sub>50</sub>为24.73 μmol/L,作用48 h IC<sub>50</sub>为6.99 μmol/L。

端粒是真核生物线性染色体末端的特殊结构,它有重要的生物学功能,可维持染色体的稳定和DNA的完整复制,防止染色体互相融合、重组,保证细胞的正常分化和增殖,而端粒的合成又依赖于端粒酶。目前认为恶性肿瘤增殖失控的关键在于端粒酶的激活,端粒长度的维持;王丽等<sup>[7]</sup>研究表明,砷剂诱导肿瘤细胞凋亡、抑制细胞核酸合成与端粒酶活性有关,砷剂还能诱导抑癌基因的表达;章尧等<sup>[8]</sup>已证实,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可抑制HL-60细胞端粒酶的活性,且呈时间-浓度的依赖性。本研究表明,随着As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用浓度的递增与诱导时间的延长,对人乳腺癌细胞MDA-MB-231端粒酶活性的抑制作用表现的更加突出:终浓度为10、20、40 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用24 h的端粒酶表达的相对活性为88.62%、60.18%、33.12%;作用48 h的端粒酶表达的相对活性为72.16%、26.11%、9.62%。说明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可引起端粒酶活性明显下降,提示As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可作为一种有效的端粒酶活性抑制剂,端粒酶活性的下降与其浓度与诱导时间呈一定的量效关系。

端粒酶逆转录酶(hTERT)作为端粒酶的催化亚单位,目前认为与肿瘤细胞永生生化关系最为密切。本文应用RT-PCR方法检测出MDA-MB-231细胞中端粒酶hTERT-mRNA的阳性表达,并进一步采用三种浓度的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>处理MDA-MB-231细胞24、48 h后,RT-PCR检测As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对hTERTmRNA表达的影

响:终浓度为10、20、40 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用24 h的hTERT-mRNA表达的相对活性为40.28%、1.14%、1.02%;作用48 h的hTERT mRNA表达的相对活性为1.32%、1.12%、1.01%。此结果表明终浓度为20 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用24 h,10 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用48 h后端粒酶hTERT-mRNA的活性几乎被完全抑制,且其活性与浓度和时间之间的量效关系与TRAP-PAGE-银染法所反映的端粒酶与浓度和时间之间的量效关系有一定的相关性。表明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对MDA-MB-231细胞端粒酶hTERT-mRNA的表达呈下调效应,并与诱导细胞凋亡的效应相对应。推测As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>可能通过抑制端粒酶活性及其亚单位hTERT-mRNA表达并最终诱导MDA-MB-231细胞凋亡。

#### [参 考 文 献]

- [1] Shen ZY, Zhang Y, Chen JY, et al. Intratumoral injection of arsenic to enhance antitumor efficacy in human esophageal carcinoma cell xenografts[J]. *Oncol Rep*, 2004, 11(6): 1 552 - 1 591.
- [2] Kang SH, Song JH, Kang HK, et al. Arsenic trioxide-induced apoptosis is independent of stress-responsive signaling pathways but sensitive to inhibition of inducible nitric oxide synthase in HepG2 cells[J]. *Exp Mol Med*, 2003, 35(2): 83 - 90.
- [3] 陈治文, 夏俊, 胡守芬, 等. 三氧化二砷诱导恶性黑色素瘤A375和B16细胞凋亡的研究[J]. *癌变·畸变·突变*, 2002, 14(4): 218 - 221.
- [4] 夏俊, 陈俊霞, 于丽华, 等. 三氧化二砷抑制小鼠B16黑色素瘤生长作用及其机制[J]. *中国药理学通报*, 2004, 20(9): 1 054 - 1 058.
- [5] Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays[J]. *J Immunol Methods*, 1983, 65(1-2): 55 - 63.
- [6] Suto A, Kubota T, Shimoyama T, et al. MTT assay with reference to the clinical effect of chemotherapy[J]. *Surg Oncol*, 1989, 42(1): 28 - 32.
- [7] 王丽, 陈治文, 夏俊, 等. 三氧化二砷对黑色素瘤B16细胞端粒酶活性影响[J]. *蚌埠医学院学报*, 2004, 29(3): 202 - 204.
- [8] 章尧, 赵燕, 陈昌杰. 三氧化二砷对HL-60细胞端粒酶活性表达的诱导效应[J]. *中国医学检验杂志*, 2001, 2(6): 368 - 370.