

# 三氧化二砷联合维生素 C 抑制肺腺癌细胞增殖及多西酚氧化酶表达的研究进展

Research Progress in Arsenic Trioxide Combined with Vitamin C on Proliferation and Phosphorylation Oncogene Expression in Lung Adenocarcinoma Cell

WANG Cui-cui, HU Cai-lian, MA Bo-lin

王翠翠,呼彩莲,马伯林

(延安大学附属医院,陕西延安 716000)

**摘要:**多西酚氧化酶(proliferation and phosphorylation oncogene, PPO)是一个与癌症有关的新癌基因,与癌细胞的增殖和磷酸化有关,在各种腺癌(如肝癌、肺癌、宫颈癌、结肠癌、乳腺癌及胃癌等)中呈高表达状态,并为腺癌诊断的标志物、分子靶向治疗提供新的研究方向。三氧化二砷( $As_2O_3$ )可抑制 PPO 的活性,使癌细胞的增殖和磷酸化受到抑制,从而延缓肿瘤的发生与发展。

**关键词:**肺腺癌;  $As_2O_3$ ; 多西酚氧化酶; 维生素 C; 细胞凋亡

**中图分类号:** R734.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-0242(2013)04-0279-05

据 2002 年 WHO 数据显示,肺癌全球新发病例数为 135 万,死亡病例数为 118 万,病死率超过 90%,其发病率、死亡率均高居癌症之首<sup>[1,2]</sup>。在我国,肺癌死亡率已居城市居民肿瘤死亡率的第一位并呈逐年上升的趋势。肺腺癌在原发性肺癌中极为常见,但传统放化疗对其治疗效果均不甚理想。多西酚氧化酶(proliferation and phosphorylation oncogene, PPO)是一个与癌症有关的新癌基因,与癌细胞的增殖和磷酸化有关,在多种癌症中均有过度表达,尤其在各种腺癌中呈高表达状态。研究发现, PPO 与肺腺癌的发生发展有密切关系,三氧化二砷( $As_2O_3$ )可抑制 PPO 活性,使癌细胞的增殖和磷酸化受到抑制,从而延缓了肿瘤的发生与发展。本文就  $As_2O_3$  联合维生素 C 在肺腺癌治疗中的应用作一综述。

## 1 PPO 与肺腺癌

刘思源等<sup>[3]</sup>通过对细胞遗传学的研究,利用克隆筛选技术在 1 号染色体末端 1p36 区克隆出一个

新癌基因(PPO),编号为 KIAA0090, DNA 长度约为 36 000bp, cDNA 长度约为 6 022bp, 包含 25 个外显子,共编码 993 个氨基酸。刘亚玲等<sup>[4]</sup>应用 PPO 基因的 cDNA 序列来免疫雌性小鼠,取其脾脏细胞行体外培养,将骨髓瘤细胞与脾细胞融合,寻找杂交瘤抗体进行克隆。单克隆抗体利用免疫扩散法行 Ig 亚类测定。给小鼠腹腔内注射克隆化的杂交瘤细胞,抽取腹水后使抗体纯化,完成了 PPO 抗体的制作,并用免疫印迹法检测 PPO 基因在恶性黑色素瘤(简称 MM)中的表达情况并检测 PPO 抗体。结果表明, PPO 抗体具有很强的特异性,可以作为检测恶性肿瘤的一种特异性抗体。PPO 基因与细胞增殖密切相关,该基因编码的蛋白能使细胞外调节蛋白激酶 2(ERK2)和丝裂原活化蛋白激酶(MEK1/2)磷酸化,此蛋白与肿瘤的发生、发展及转移有密切关系。癌症发生的一个重要通路是丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)通路,因此 PPO 与多种癌症的发生与发展密切相关。研究表明该基因在肺腺癌、卵巢癌、前列腺癌、结肠癌、脑胶质瘤、宫颈癌、胆管癌、恶性黑色素瘤、胰腺癌、肝癌、胃癌、子宫内膜癌、乳腺癌等多种癌组织中都有过度表达。有研究表明, PPO 在正常细胞组织中少量存在,在癌组织被激活后表达量

收稿日期:2012-11-30

通讯作者:呼彩莲, E-mail: huyancailian@163.com

明显提高,这符合癌基因的特点,是一个新的癌基因。但是,随着 *PPO* 基因表达量的增加,肺腺癌的恶性程度是否也增加,仍需进一步研究。这将可能为肺腺癌诊断及预后提供帮助。

## 2 $As_2O_3$ 在肺腺癌中的应用

### 2.1 $As_2O_3$ 治疗肺腺癌作用机制

$As_2O_3$  是砒霜的主要毒性成分,最早应用于治疗急性早幼粒细胞白血病(APL)。近年来,很多学者对其在抗肿瘤及其机制方面做了大量的研究, $As_2O_3$  对肝癌、肺癌、宫颈癌、结肠癌、乳腺癌及胃癌等多种肿瘤都有抑制作用<sup>[5-7]</sup>,其作用机制包括细胞毒作用、改变线粒体膜通透性、诱导癌细胞凋亡与分化、调节凋亡相关基因表达<sup>[8,9]</sup>、抑制癌细胞端粒酶活性、阻止细胞周期、改变细胞内氧化还原状态、抑制肿瘤血管生成及调节多种基因表达等<sup>[10]</sup>。

研究证实, $As_2O_3$  可以明显抑制肺癌细胞株的增殖、诱导其凋亡,其机制包括 *bcl-2* 基因表达下调,突变型 *p53* 基因表达上调等<sup>[11]</sup>。王绩英等<sup>[12]</sup>发现  $As_2O_3$  可通过改变 *bcl-2* 和 *Bax* 表达来诱导胃腺癌 SGC-7901 细胞凋亡。同时发现阿司匹林可以与  $As_2O_3$  协同诱导 SGC-7901 细胞凋亡。另有文献报道  $As_2O_3$  可使人 B 细胞来源的恶性淋巴瘤细胞株 MBC-1 中 *cmy-c* 和 *Bcl-2* 基因的表达下调,*cmy-c* 和 *Bcl-2* 的下调可促进细胞凋亡的发生<sup>[13]</sup>。APL 是急性非淋巴细胞白血病的一种亚型,其染色体 t(15:17) 易位可形成 *PML/RAR $\alpha$*  融合基因,该基因对细胞凋亡有抑制作用。梁红等<sup>[14]</sup>发现  $As_2O_3$  治疗 APL 的作用点为 *PML/RAR $\alpha$*  基因, $As_2O_3$  通过对 *PML/RAR $\alpha$*  基因的调节,使细胞进入凋亡程序,大剂量  $As_2O_3$  促进细胞凋亡,小剂量诱导细胞分化,还可通过对细胞因子水平的调节来抑制血管形成,进而抑制白血病细胞增生。 $As_2O_3$  主要作用于细胞内的相邻巯基,与巯基作用后可通过降低巯基的氧化还原反应来诱导细胞凋亡。冯觉平等<sup>[15]</sup>研究报道  $As_2O_3$  可下调谷胱甘肽-S 转移酶及多药耐药性相关蛋白 mRNA,而逆转人肺腺癌 A549/R 细胞对阿霉素的耐药性。

$As_2O_3$  可以增强耐药肿瘤细胞的敏感性。 $As_2O_3$  通过抑制肿瘤耐药细胞株的表达,提高肿瘤细胞内的化疗药物浓度,增强耐药细胞的敏感性。肿瘤细胞

耐药最主要的因素是多药耐药性(MDR)。其耐药机制之一可能是多药耐药相关蛋白(MRP)的过度表达。信卉等<sup>[16]</sup>通过对  $As_2O_3$  体外逆转乳腺癌多药耐药的研究发现, $As_2O_3$  通过抑制乳腺癌耐药细胞株的表达,来阻断细胞膜转运蛋白(Pgp)的表达,进而抑制 Pgp 泵的功能,最终提高乳腺癌细胞株 MCF-7/ADM 内的化疗药物浓度,增强耐药细胞的敏感性。

$As_2O_3$  对肿瘤的放射治疗也有一定的影响<sup>[17]</sup>。其作用机制可能为通过抑制癌细胞的修复、增生来促进放射治疗效应而起放射增敏作用。国外有研究者在放疗前用  $As_2O_3$  治疗乳腺癌患者皮肤转移病灶,结果证明  $As_2O_3$  可增加放射治疗的效果。然而,不同细胞周期呈现出不同的特点,并对不同药物及放射线的敏感性不同。王德林等<sup>[18]</sup>证实了  $As_2O_3$  可影响细胞周期的重新分布,将细胞阻滞在对放射敏感的 G<sub>2</sub>/M 期,而使对射线不敏感的 S 期细胞比例减少。Ho 等<sup>[19]</sup>认为  $As_2O_3$  可以改变细胞周期促使放射诱导的凋亡,从而使放疗敏感性增加。任庆兰等<sup>[20]</sup>通过建立动物模型发现  $As_2O_3$  能使照射后肺癌移植瘤组织 VEGF、Ku70 mRNA 及蛋白表达水平下调,降低了照射后肿瘤细胞血管生成能力、细胞修复能力,从而抑制肿瘤细胞生长、增殖,这也可能是  $As_2O_3$  对肺癌细胞放射增敏的又一机制。

### 2.2 $As_2O_3$ 与 PPO

$As_2O_3$  可以通过诱导细胞分化与凋亡、阻滞细胞周期、调节多种基因表达及抗肿瘤血管生成而抑制肿瘤的发生、发展。近年研究发现  $As_2O_3$  可通过抑制 *C-IAP2* 基因和核转录因子(NF- $\kappa$ B)P65 核蛋白的表达,从而诱导黑色素瘤细胞凋亡。张国强等<sup>[8]</sup>通过培养人 MM A375 细胞株,采用 MTT 法检测不同浓度  $As_2O_3$  对 A375 细胞增殖的抑制作用,发现  $As_2O_3$  对 A375 细胞增殖有显著性抑制作用,且呈现时间和剂量依赖关系。通过流式细胞术分析  $As_2O_3$  对细胞周期的影响,结果表明随着药物浓度的增加,S 期细胞显著性增加,出现 S 期阻滞;采用 SP 法检测用药前后癌基因 *PPO* 的表达及变化,发现 *PPO* 蛋白表达于 A375 细胞浆内,染色呈棕黄色,表明在 MM A375 细胞中 *PPO* 蛋白存在过表达,并且发现  $As_2O_3$  作用后的 MM A375 细胞中 *PPO* 蛋白的表达显著减少,认为  $As_2O_3$  对人 MM A375 细胞的作用可能和下调 *PPO* 的表达相关,通过下调 *PPO* 的表达,阻断了

MAPK 通路下游的 MEK1/2 和 ERK2 磷酸化,证实  $As_2O_3$  能诱导 MMA375 细胞凋亡、抑制其增殖,并为  $As_2O_3$  抗肿瘤作用提供新的治疗靶向。

### 3 维生素 C 在肺腺癌中的应用

维生素 C (Vitamin C, 简称 VitC) 为水溶性己糖衍生物,其主要生物学功能包括:参与氨基酸代谢;降低毛细血管的通透性,促使血液凝固,刺激凝血功能,促进铁吸收,降低血脂;加速神经递质、胶原蛋白和组织细胞间质的合成;增强抗感染力;抗氧化、解毒功能,并有抗组胺及阻止致癌物质生成的作用<sup>[21]</sup>。临床上已将其与抗癌药物联合应用于各种肿瘤的治疗。

VitC 抗肿瘤主要机制包括:①作为电子供体在细胞外液中生成  $H_2O_2$ ,清除有害的氧自由基,杀伤肿瘤细胞,对机体细胞起保护作用。Chen 等<sup>[22]</sup>研究表明 VitC 可通过在体液内发生一系列氧化还原反应生成的  $H_2O_2$  来杀伤胰腺癌细胞。有研究者通过细胞培养法检测顺铂与三氧化砷对细胞及基因毒性的影响发现, Vit C 是对化疗药物引起副作用的一种保护剂,它可降低电离辐射造成的 DNA 氧化损伤及细胞 DNA 毒性,其机制可能是通过调节基因 *p53*、*Bcl-2* 的表达而实现。②VitC 可以清除活性氧类物质,从而减少氧化性 DNA 的损害,维持基因的稳定性,以预防癌症的发生与发展。基质金属蛋白酶 2 (MMP2) 是重要的蛋白水解酶,在胰腺癌组织中存在过表达,通过降解细胞外基质和基底膜,促进胰腺癌细胞的转移,陈雄等<sup>[23]</sup>发现大剂量的 VitC 在体外可以减弱细胞的侵袭能力并抑制胰腺癌细胞 MMP2 的表达。Beck 等<sup>[24]</sup>研究发现, VitC 主导氧化还原反应产生的氧化应激可杀灭乳腺癌细胞株 MCF7。超氧化物歧化酶(SOD)是体内主要的抗氧化自由基的酶促防御系统,丙二醛(MDA)作为生物膜不饱和脂肪酸与氧自由基发生脂质过氧化反应的产物,其含量变化反映了细胞损伤的程度和组织中氧自由基的含量。陈珑等<sup>[25]</sup>研究显示, VitC 诱导胃癌细胞株 MKN45 24h 后,其细胞内 SOD 活性与对照组相比显著性下降,而 MDA 含量则明显上升,证实 VitC 诱导胃癌细胞凋亡的机制与氧化应激密切相关。③抑制肿瘤细胞周期,诱导肿瘤细胞凋亡等。研究证实 Caspase-3 为

线粒体细胞色素 C 途径及死亡受体途径的共同通道,所以 Caspase-3 表达增加意味着细胞内凋亡机制启动。

VitC 与抗癌药具有协同作用,近年来 VitC 被作为辅助药与化疗药物联合应用抗癌,可提高骨髓细胞的凋亡率。有文献报道 VitC 与  $As_2O_3$  联合使用时表现出对 K562 的协同作用,联合组细胞凋亡率明显高于单用  $As_2O_3$  组,并且呈现剂量依赖效应,说明联用 VitC 可降低  $As_2O_3$  剂量,提高细胞的凋亡率。曾锦荣等<sup>[26]</sup>研究表明, VitC 处理后肺腺癌 A549 细胞 Caspase-3 mRNA 表达增加,提示 VitC 能通过氧化作用干扰肿瘤 *Bcl-2* 合成,导致 CytC 释放并与 Apaf-1 结合,在 dATP 存在下活化 Caspase-3 从而引起肺癌细胞凋亡。肿瘤多药耐药发生过程中的关键基因是 *MRP1* 及 *MDR1*,和谷胱甘肽 S 转移酶(GSTs) 联用并参与化疗药物在肿瘤细胞内的外排作用。近年研究发现,  $As_2O_3$  通过降低肺癌细胞株 *MRP1* mRNA 表达以逆转肺癌细胞的耐药性,但也可增加正常细胞内  $As_2O_3$  的蓄积,从而增加毒副作用。研究还表明, VitC 可上调 *MDR1* mRNA 表达,对  $As_2O_3$  诱导 A549 细胞的凋亡有协同作用。VitC 能增强  $As_2O_3$  对耐药性肺癌的抗癌作用,并且能明显减小  $As_2O_3$  的使用量,减少毒副作用。蒋碧佳等<sup>[27]</sup>通过  $As_2O_3$  联合 VitC 对人耐药肺腺癌裸鼠移植瘤抑制的作用研究显示, Vit C 能提高  $As_2O_3$  对耐药性肺癌的抗癌作用,其可能机制是通过抑制 Survivin 和 VEGF 的表达,抑制血管生成,促进细胞凋亡,抑制肿瘤增殖浸润及转移。该实验完善了  $As_2O_3$  联合 VitC 抗肿瘤的机制,为其临床运用提供了一定理论基础。因此可以推论 VitC 既是细胞保护剂,也是  $As_2O_3$  抑制肿瘤的协同抗癌剂。

### 4 展 望

$As_2O_3$  和 VitC 分别属于外源性和内源性的分化诱导剂,两者联合抗肺腺癌 A549 细胞具有协同作用,可增强肿瘤对诱导剂的敏感性并加强肿瘤的抑制作用,从而降低单药剂量,减少毒副作用,进而提高治疗效果。其机制为上调 Caspase-3 的表达,两者联合应用有望成为高效低毒的化疗组合。PPO 的发现为腺癌诊断的标志物和分子靶向治疗提供了新的

研究方向。As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 和 VitC 联合应用后是否可以通过下调 PPO 来抑制肺腺癌的发生与发展,其作用机制尚不明确,有待进一步研究与探讨。

## 参考文献:

- [1] Niu HY, Mu HY, Wang Y. Progress of molecular targeted therapy in lung cancer[J]. Journal of Modern Oncology, 2008, 16(12):2236-2239. [牛怀印, 穆海玉, 王岩. 肺癌分子靶向治疗进展[J]. 现代肿瘤医学, 2008, 16(12):2236-2239.]
- [2] Lang Z, Cheng G. Status of molecular targeted therapies in lung cancer[J]. International Journal of Respiration, 2009, 29(16):1015-1020. [郎哲, 陈刚. 肺癌的分子靶向治疗进展现状[J]. 国际呼吸杂志, 2009, 29(16):1015-1020.]
- [3] Liu SY, Zhang YX. PPO, a new putative oncogene in MAPK signaling pathway[J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2006, 33(23):1205-1209. [刘思源, 张玉想. PPO 在 MAPK 通路中的一个新的癌基因[J]. 中国肿瘤临床, 2006, 33(23):1205-1209.]
- [4] Liu YL, Liu SY, Yang JS, et al. Preparation of monoclonal antibody against PPO and studying the expression in malignant melanoma[J]. Chin J Cancer Prev Treat, 2007, 14(6):422-424. [刘亚玲, 刘思源, 杨劲松, 等. PPO 基因单克隆抗体的制备以及在恶性黑色素瘤中表达的研究[J]. 中国肿瘤防治杂志, 2007, 14(6):422-424.]
- [5] Fan HZ, Fan Y. Effects of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> on expression of polo-like kinase-1 of colon cancer SW-480 cell line [J]. Medicine World, 2006, 8(2):82-83. [范慧珍, 范钰. 三氧化二砷对结肠癌 SW-480 细胞凋亡及 polo-like kinase-1 基因表达的影响[J]. 医药世界, 2006, 8(2):82-83.]
- [6] Xu B, Wang J, Bian DH. Research on apoptosis of Arsenic trioxide induced cervical cancer cell out of body and its mechanism[J]. The Journal of Practical Medical, 2006, 22(3):245-247. [徐波, 王洁, 卞度宏. 三氧化二砷体外诱导宫颈癌细胞株凋亡及其机制的研究[J]. 实用医学杂志, 2006, 22(3):245-247.]
- [7] Lin LM, Li BX, Xiao JB, et al. Synergistic effect of all-trans-retinoic acid and arsenic trioxide on growth inhibition and apoptosis in human hepatoma, breast cancer, and lung cancer cells in vitro[J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(36):5633-5637.
- [8] Zhang GQ, Liu SY, Geng CJ, et al. Effect of arsenic trioxide and PPO in human melanom cell line A375[J]. Chinese Journal of Gerontology, 2011, 31(3):423-425. [张国强, 刘思源, 耿春杰, 等. 三氧化二砷对人恶性黑色素瘤 A375 细胞增殖及新癌基因 PPO 表达的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(3):423-425.]
- [9] Zhou C, Boggess JF, Bae-Jump V, et al. Induction of apoptosis and inhibition of telomerase activity by arsenic trioxide(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)in endometrial carcinoma cells[J]. Gynecol Oncol, 2007, 105(31):218-222.
- [10] Karin M. Nuclear factor-kappa B in cancer development and progression[J]. Nature, 2006, 441(7092):431-436.
- [11] Han B, Zhou G, Zhang Q, et al. Effect of arsenic trioxide (ATO) on human lung carcinoma PG cell line: ATO induced apoptosis of PG cells and decreased expression of Bcl-2 Pgp [J]. J Exp Ther Oncol, 2004, 4(4):335-342.
- [12] Wang JY, Wang T, Zeng JR, et al. Combining arsenic trioxide with Fenofibrate in induction of apoptosis and inhibition of lung adenocarcinoma cell line A549[J]. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2011, 22(12):2894-2896. [王绩英, 王涛, 曾锦荣, 等. 三氧化二砷联合非诺贝特对人肺癌 A549 细胞抑制和凋亡的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2011, 22(12):2894-2896.]
- [13] Ren QL, Chen XP, Wu YZ, et al. Radiosensitization effect of arsenic trioxide on human lung cancer cell line A2[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2011, 36(2):156-159. [任庆兰, 陈晓品, 吴永忠, 等. 三氧化二砷对人肺癌细胞株 A2 放射增敏的实验研究[J]. 重庆医科大学学报, 2011, 36(2):156-159.]
- [14] Liang H, Yao FS, Zhang L, et al. The combination of all-trans retinoic and arsenic trioxide for the treatment of acute promyelocytic leukemia[J]. Anhui Medical Journal, 2011, 32(4):441-444. [梁红, 姚福生, 张林, 等. 全反式维甲酸和三氧化二砷联合诱导分化治疗急性早幼粒白血病[J]. 安徽医学, 2011, 32(4):441-444.]
- [15] Feng JP, Kong QZ, Huang T, et al. Effect of arsenic trioxide on drug resistance in drug-resistance human lung adenocarcinoma cell line A549/R[J]. Chin J Exp Surg, 2006, 23(2):201-203. [冯觉平, 孔庆志, 黄涛, 等. 三氧化二砷对肺腺癌耐药细胞 A549/R 耐药性的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2006, 23(2):201-203.]
- [16] Xin H, Ding B. MDR-reversing effect of arsenic trioxide on MCF-7/ADM cell line of human breast cancer[J]. MMJC, 2011, 13(3):38-40. [信卉, 丁波. 三氧化二砷逆转乳腺癌细胞株 MCF-7/ADM 多药耐药的研究[J]. 中国现代医药杂志, 2011, 13(3):38-40.]
- [17] Lai YL, Chang HH, Huang MJ, et al. Combined effect of topical arsenic trioxide and radiation therapy on skin-infiltrating lesions of breast cancer-a pilot study[J]. Anticancer Drugs, 2003, 14(10):825-828.

- [18] Wang DL, Mi C, Chen ZX, et al. Influences of arsenic trioxide on the cell cycle of human renal cell carcinoma 786-0 cells in vitro and its mechanisms[J]. Journal of Chongqing Medical University, 2007, 32(4):362-365. [王德林, 米粲, 陈在贤, 等.  $As_2O_3$  对肾癌细胞 786-0 细胞周期的影响及其机制的研究[J]. 重庆医科大学学报, 2007, 32(4):362-365.]
- [19] Ho SY, Huang PC, Guo HR, et al. Mechanisms of apoptosis induction and cell cycle regulation in irradiated leukemia U937 cells and enhancement by arsenic trioxide[J]. Radiat Res, 2006, 165(4):390-399.
- [20] Ren QL, Wu YZ, Chen XP, et al. Radiosensitization effects of arsenic trioxide in lung cancer xenografts[J]. Carcinogenesis, Teratogenesis & Mutagenesis, 2011, 23 (1):22-30. [任庆兰, 吴永忠, 陈晓品, 等. 三氧化二砷对肺癌移植瘤的放疗增敏效应[J]. 癌变·畸变·突变, 2011, 23(1):22-30.]
- [21] Jing XJ, Du JH, He KJ. Research progress on role of vitamin C in tumor therapy[J]. Medical Recapitulate, 2010, 16(4): 554-557. [荆晓娟, 杜冀晖, 贺克俭. 维生素 C 在肿瘤治疗中的作用研究进展[J]. 医学综述, 2010, 16(4):554-557.]
- [22] Chen Q, Espey MG, Sun AY, et al. Pharmacologic doses of ascorbate act as a prooxidant and decrease growth of aggressive tumor xenografts in mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(32):11105-11109.
- [23] Chen X, Sun WJ, Liao J. Effect of high-dose vitamin C on MMP2 expression and invasive ability in human pancreatic cancer cell line PANC-1[J]. Journal of Chinese Physician, 2010, 12(6):736-739. [陈雄, 孙维佳, 廖杰, 等. 大剂量维生素 C 对胰腺癌 PANC-1 侵袭能力及 MMP2 表达的影响[J]. 中国医师杂志, 2010, 12(6):736-739.]
- [24] Beck R, Verrax J, Dejeans N, et al. Menadione reduction by pharmacological doses of ascorbate induces an oxidative stress that kills breast cancer cells[J]. Int J Toxicol, 2009, 28(1):33-42.
- [25] Chen L, Xu X, Liu XL. Research of vitamin C inducing apoptosis in gastric cancer cell lines and its mechanism[J]. Shandong Medical Journal, 2011, 51(1): 7-9. [陈珑, 徐霞, 刘旭良. 维生素 C 诱导人胃癌细胞株 MKN45 凋亡的实验研究[J]. 山东医药, 2011, 51(1): 7-9.]
- [26] Zeng JR, Tan N, Zhai PY, et al. Effect of vitamin C on the arsenic trioxide roles of inhibiting the proliferation and inducing the apoptosis in lung carcinoma cell lines A549 and its mechanism[J]. Shandong Medical Journal, 2010, 50(3):7-9. [曾锦荣, 谭宁, 翟鹏勇, 等. 维生素 C 对  $As_2O_3$  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):7-9.]
- [27] Jiang BJ, Zeng JR, Wang JY, et al. Anti-tumor mechanism of combining arsenic trioxide with vitamin C on subcutaneously transplanted tumor of drug resistant human lung tumors in nude mice[J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 2011, 17(14):196-200. [蒋碧佳, 曾锦荣, 王绩英, 等. 三氧化二砷联合维生素 C 抑制耐药性肺癌裸鼠移植瘤生长机制的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(14):196-200.]