

As₂O₃ 通过 P38 微管聚合调节顺铂耐药胃癌细胞凋亡

倪盼¹, 许文侠², 陈琦², 徐珊¹

(¹南京医科大学基础医学院细胞生物学系,²公共卫生学院分子毒理实验室,江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:观察 P38 磷酸化水平对胃癌细胞微管聚合的影响,探讨三氧化二砷(As₂O₃)通过 P38 磷酸化调节胃癌顺铂耐药细胞凋亡的机制。方法:通过对亲本敏感胃癌细胞株 SGC7901 细胞长期低剂量诱导建立胃癌顺铂耐药细胞株 SGC7901/DDP, CCK-8 和流式细胞术检测其对 As₂O₃ 的耐受程度。通过抑制 SGC7901 细胞内 P38 的磷酸化水平,观察在 As₂O₃ 处理下细胞微管蛋白的聚合程度和耐药性的改变。结果:CCK-8 和 AV-PI 结果表明,SGC7901/DDP 相对于 SGC7901 对 As₂O₃ 具有显著的耐受性。磷酸化 P38 的表达在 SGC7901/DDP 细胞经 As₂O₃ 处理时被显著抑制,这与 SGC7901/DDP 细胞中微管的稳定性密切相关。As₂O₃ 处理细胞时,抑制 SGC7901 细胞中 P38 的磷酸化能显著减少细胞中微管的聚合和凋亡。结论:SGC7901/DDP 细胞对 As₂O₃ 的耐受性与细胞内 P38 磷酸化水平有关,微管聚合是胃癌细胞耐受 As₂O₃ 的重要机制。

[关键词] 三氧化二砷;顺铂;P38;微管;耐药

[中图分类号] Q255

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)08-1060-07

doi:10.7655/NYDXBNS20140812

As₂O₃ regulates apoptosis in cisplatin resistant gastric cancer cells

Ni Pan¹, Xu Wenxia², Chen Qi², Xu Shan¹

(¹Department of Cell Biology, School of Basic Medical Sciences, ²Department of Molecular Cell Biology & Toxicology, School of Public Health, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of P38 phosphorylation mediated by microtubules polymerization on and the mechanism of As₂O₃ induced apoptosis in cisplatin resistant gastric cancer cells. **Methods:** Cisplatin resistant cells SGC7901/DDP were produced from parental SGC7901 cells by persistent gradient exposure to cisplatin. CCK8 and flow cytometry assays were performed to detect the cytotoxicity of As₂O₃. The change in the polymerization and drug-fast of tubulin was observed by immunofluorescence microscopy. **Results:** CCK8 and flowcytometry assay indicated that, when compared with SGC7901, cisplatin resistant SGC7901/DDP cells enhanced anti-apoptosis capacity to As₂O₃. The expression level of p-P38 was significantly restrained in SGC7901/DDP cells with As₂O₃ treatment, whereas it was closely related to stability of microtubules in SGC7901/DDP cells. The inhibition of phosphorylation of P38 in SGC7901 cells significantly reduced tubulin polymerization and apoptosis produced by As₂O₃ treatment. **Conclusion:** The development of multidrug resistance in cisplatin resistant SGC7901/DDP cells gastric cancer cells to As₂O₃ was associated with the phosphorylation of P38 mediated tubulin polymerization, and tubulin polymerization plays an important role in the tolerance of As₂O₃ by gastric cancer cell.

[Key words] As₂O₃; cisplatin; P38; microtubule; drug resistance

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(08): 1060-1065, 1076]

恶性肿瘤是严重危害人类健康的疾病。临床上对于肿瘤的治疗手段包括手术治疗、放疗、化疗和生物治疗等,目前大多采用综合治疗手段。然而,对于肿瘤化疗耐药的问题却一直无法解决^[1]。化疗耐药已经存在于几乎所有人类已知肿瘤的治疗中,患者耐药的药物范围也在逐渐增大,且对于一种药物耐药的患者往往表现出对其他种类的化疗药物产生

交叉耐受,出现多药耐药的现象,其具体机制十分复杂^[2]。本文建立了胃癌多药耐药细胞模型,以探讨其产生多药耐药的条件和分子机制。

三氧化二砷(As₂O₃)是近年来新认识的对多种肿瘤有良好治疗效果的药物,可以诱导多种肿瘤细胞凋亡^[3-4]。目前,对As₂O₃诱导肿瘤细胞凋亡与细胞骨架的关系研究主要集中于微管,微管可能

是砷的潜在靶点^[5-6]。

P38 MAPKs 信号通路和微管的动力学稳定性之间的关系正在被越来越多的科学家研究。Birukova 等^[7-8]报道微管与 P38 之间存在相互的紧密联系,P38 MAPKs 参与了微管抑制剂诺考达唑引起的肺内皮细胞反应,并且这些反应可能与内皮屏障功能的改变有关,P38 MAPKs 信号通路参与了微管网络的重构。有研究显示 P38 不仅参与胃癌细胞顺铂耐药的过程^[9],也和其他肿瘤细胞的多药耐药过程密切相关^[10-12],说明 P38 MAPKs 信号通路在肿瘤耐药形成过程中发挥了重要的作用。绝大多数细胞在 As₂O₃ 处理后都会引起 P38 磷酸化水平的提高,意味着 As₂O₃ 很有可能通过改变 P38 的磷酸化水平影响微管聚合从而调节细胞凋亡。

1 材料和方法

1.1 材料

人胃癌细胞株 SGC7901 购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库;SGC7901/DDP 高度耐药株为本实验室前期研究中采用浓度梯度递增法长期诱导获得。小牛血清购自杭州四季青生物工程材料有限公司;RPMI1640 培养基购自美国 Gibco 公司;免疫反应实验所用磷酸化 P38(p-P38)和 tubulin 抗体购自美国 Cell Signal Technology 公司;二抗、DAPI 购自上海碧云天生物技术有限公司;CCK-8 试剂盒购自同仁化学研究所;As₂O₃ 购自哈尔滨伊达药业有限公司产品;FITC 抗 α -tubulin 购自美国 Sigma 公司;SB203580 购自美国 Cell Signaling Technology 公司;Annexin V-PI 凋亡检测试剂盒购自南京凯基公司。

1.2 方法

1.2.1 耐药细胞的诱导

胃癌顺铂耐药细胞株由本课题组用梯度浓度法诱导建立^[13]。诱导起始顺铂浓度为 0.05 μ g/ml,每次药物作用后,敏感细胞逐渐死亡,只有耐药细胞可以在该浓度药物环境中存活,收集活细胞传代,给药培养达生长密度 70%以上时提高药物浓度。诱导过程持续约 10 个月,最终使耐药细胞可以在 1 μ g/ml 顺铂浓度时稳定传代生长 2 个月以上。这些细胞均培养于含 100 μ g/ml 链霉素、100 U/ml 青霉素和 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液中,于 37 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培养箱中培养。耐药细胞诱导所使用的顺铂事先配制成 5 mg/ml 的药物工作液,使用时按实验需要进行稀释。

1.2.2 CCK-8 实验

取对数生长期细胞,制成细胞悬液,以每孔 6 000 个细胞种于 96 孔板。培养 24 h 后对照组细胞换上新鲜培养液,处理组换上浓度分别为 0、1、2、4、6、7、8、9、10、15 μ g/ml As₂O₃ 的 RPMI1640 处理液。加药处理 24 h 后,每孔加入 10 μ l CCK-8 试剂,2 h 后使用酶标仪在 450 nm 波段测其光密度值,取平均值,绘制细胞生长曲线。

1.2.3 Annexin V-PI 流式细胞术检测细胞凋亡实验

取对数生长期细胞,调整待测细胞的浓度为 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个/ml,取 1 ml 细胞,1 000 r/min 4 $^{\circ}$ C 离心 10 min,弃上清,加 1 ml 预冷的 PBS,轻轻震荡使细胞悬浮,1 000 r/min,4 $^{\circ}$ C 离心 10 min,弃上清。将细胞重悬于 400 μ l 结合缓冲液,加入 10 μ l Annexin V-FITC 和 5 μ l 的 PI,轻轻混匀,避光室温反应 15 min 或 4 $^{\circ}$ C 反应 30 min,在 1 h 内上机检测。

1.2.4 免疫印迹法检测相关蛋白表达

收集对照组和处理组细胞,提取总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度,与 6 \times SDS 上样缓冲液 1:1 比例混合后置加热机 100 $^{\circ}$ C 加热 5 min,高速瞬时离心后按蛋白量 60 μ g 上样。10% SDS-PAGE 凝胶电泳后半干转印法转移蛋白至 PVDF 膜上。4 $^{\circ}$ C、5%BSA 封闭过夜;然后加入用 5 %BSA 稀释的 P-P38 抗体(抗体稀释 1:1 000),4 $^{\circ}$ C 条件下震荡孵育 12 h,TBST 洗膜 6 次,每次 5 min;加入用 5 % BSA 稀释的 HRP 标记的二抗(抗体稀释 1:1 000),室温条件下震荡孵育 1 h,TBST 洗膜 6 次,每次 5 min;ECL 显色观察。以 tubulin 做内参照。

1.2.5 免疫荧光法检测微管聚合

将细胞接种于 35 mm 免疫荧光专用培养皿中,按各实验的要求处理后,弃去培养液用甲醇直接固定 10 min;加入 1 ml PBST 振荡洗涤 3 次,每次 5 min;用 1:100 浓缩正常羊血清,500 μ l(1 000 g,离心 5 min)封闭非特异性位点 30 min;加入 1 ml PBST 振荡洗涤 3 次,每次 5 min;滴加 1:500 tubulin-FITC 一抗 500 μ l 单克隆抗体(1 000 g,离心 5 min)37 $^{\circ}$ C 摇床湿盒中孵育 1 h,或者 4 $^{\circ}$ C 于摇床湿盒中,孵育过夜;加入 1 ml PBST 振荡洗涤 3 次,每次 5 min;滴加 Vectashield 含 DAPI 抗淬灭剂 1 滴于 35 mm 小皿中央,37 $^{\circ}$ C 摇床湿盒中避光孵育 5 min,荧光显微镜观察拍照。

1.3 统计学方法

用 SPSS13.0 统计软件分析数据,计量数据以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, t 检验分析资料间的统计

学差异。P≤0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SGC7901/DDP 细胞显著耐受由 As₂O₃ 诱导的细胞凋亡

用凋亡诱导剂 As₂O₃(4 μg/ml)做诱导细胞凋亡浓度梯度模型,处理时间为 24 h。细胞生长曲线测定结果显示(图 1A),胃癌顺铂耐药细胞株 SGC7901/DDP 相对于其亲本敏感细胞株 SGC7901,对 As₂O₃ 表现出明显的耐受性。根据 CCK-8 实验结果发现,SGC7901/DDP 的半数抑制浓度(IC₅₀)值为 10.86 μg/ml,明显高于 SGC7901 的 IC₅₀ 值 4.26 μg/ml,说明 SGC7901/DDP 细胞在耐受顺铂的同时,对于 As₂O₃ 也产生了交叉耐药。同时用 Annexin V-PI 流式细胞术测细胞凋亡,验证后得到与 CCK-8 测凋亡相似的结果(图 1 B、C)。说明在同样 As₂O₃ 浓度条件下,SGC7901/DDP 细胞对 As₂O₃ 的耐受性显著

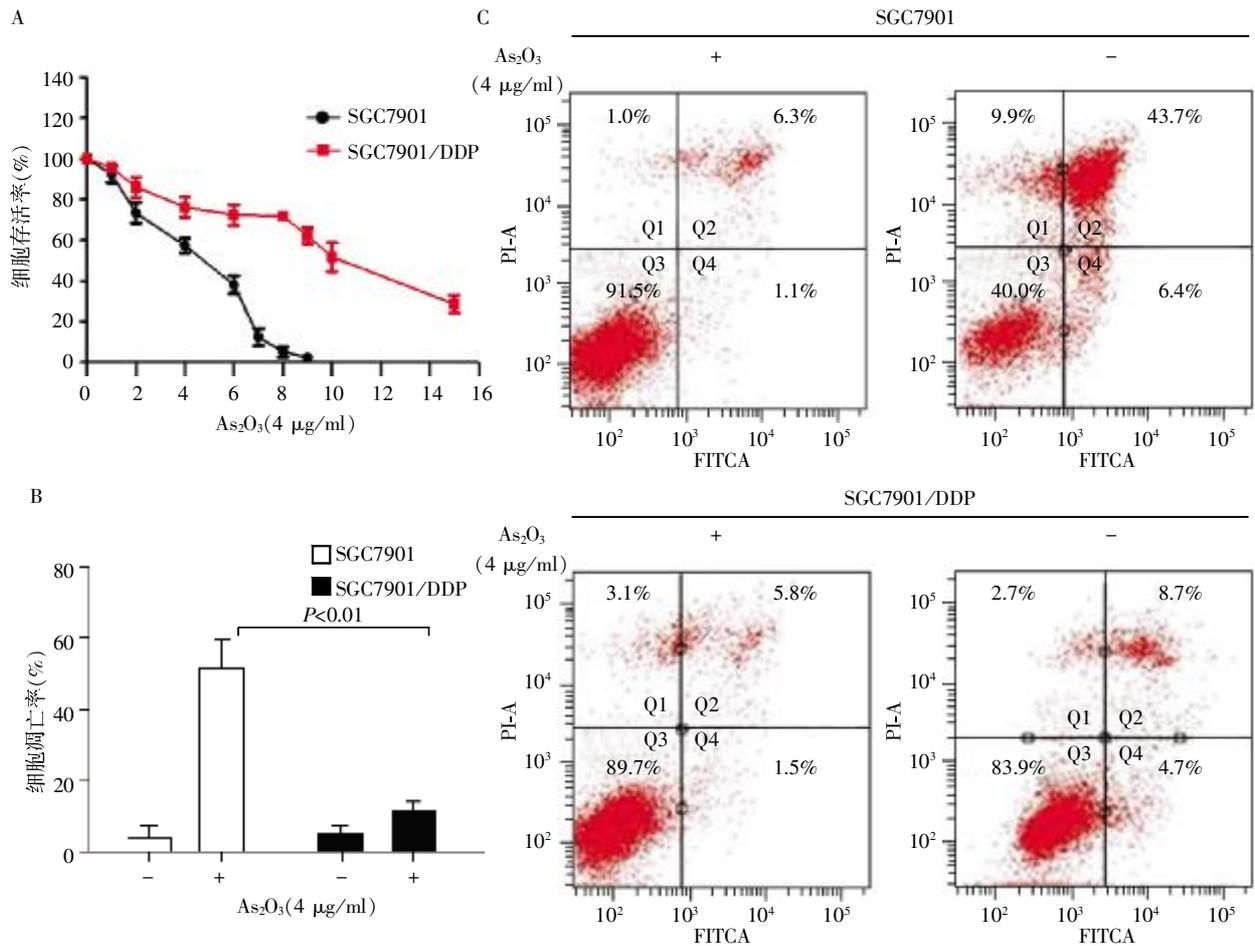
高于 SGC7901 细胞。

2.2 SGC7901/DDP 细胞抵抗 As₂O₃ 微管聚合作用

SGC7901 和 SGC7901/DDP 细胞经 4 μg/ml As₂O₃ 处理 24 h 后,运用免疫荧光法观察微管变化。如图 2 所示,As₂O₃ 作用于细胞后,细胞内的微管聚合呈长而粗的束状结构,密度增加。相对于 SGC7901,SGC7901/DDP 细胞中由于 As₂O₃ 处理而引起的微管聚合明显减弱。这些结果表明 As₂O₃ 能够促进微管聚合,顺铂耐药的胃癌细胞因抵抗 As₂O₃ 诱导的微管聚合而耐受 As₂O₃。

2.3 As₂O₃ 激活 SGC7901/DDP 细胞 p-P38 的剂量和时间效应关系

如图 3 所示,在时间和剂量梯度反应过程中,随着处理时间和 As₂O₃ 浓度的增加,SGC7901 细胞中 p-P38 表达水平不断升高,而 SGC7901/DDP 中 p-P38 表达水平则基本不变。这些结果提示,在 As₂O₃ 诱导肿瘤细胞的凋亡过程中,p-P38 的表达升高促



A: CCK-8 检测; B: 细胞凋亡率比较; C: 流式细胞术检测。

图 1 As₂O₃ 对 SGC7901 和 SGC7901/DDP 凋亡的影响

Figure 1 The effect of As₂O₃ on the apoptosis of SGC7901 and SGC7901/DDP cells

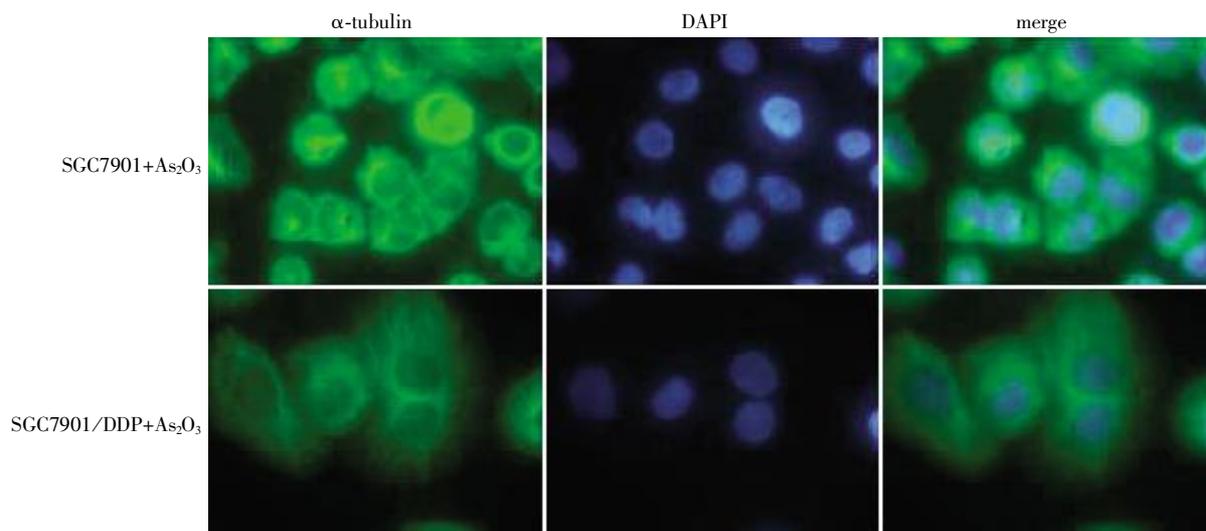


图 2 As_2O_3 对 SGC7901 和 SGC7901/DDP 微管聚合的影响

Figure 2 The effect of As_2O_3 on the microtubule polymerization of SGC7901 and SGC7901/DDP cells

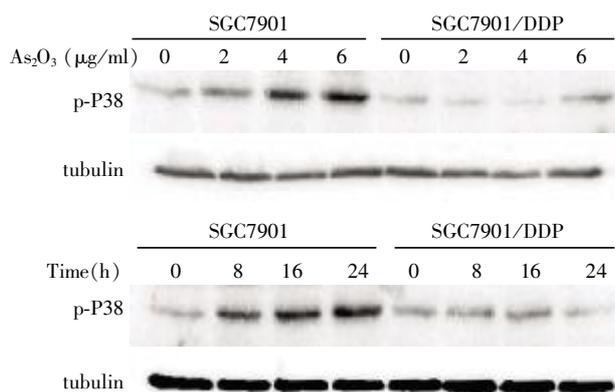


图 3 免疫印迹法检测不同浓度和时间下 As_2O_3 对 SGC7901 和 SGC7901/DDP 中 p-P38 表达的影响

Figure 3 The dose- and time-response relationships of p-P38 activation induced by As_2O_3 in SGC7901 and SGC7901/DDP cells by Western blot

进了细胞的凋亡。

2.4 As_2O_3 通过激活 P38 磷酸化影响细胞的微管聚合和凋亡

为了探讨 P38 磷酸化在 As_2O_3 诱导的凋亡过程中的作用, 本研究进而观察了阻断 P38 活化对 As_2O_3 诱导凋亡的影响。结果发现, SGC7901 细胞经 As_2O_3 处理后, 细胞内 p-P38 被激活, 微管发生了明显的聚合; 而加了 P38 抑制剂 SB203580 后, p-P38 被明显抑制, 其微管的聚合程度也明显低于单纯 As_2O_3 组(图 4A)。此外, P38 抑制剂的预处理能显著降低 As_2O_3 引起的细胞凋亡(图 4B)。说明 P38 磷酸化在 As_2O_3 诱导的胃癌细胞微管聚合和凋亡过程中

起到了关键性的作用。

3 讨论

胃癌是人类癌症中病死率居第 2 位的恶性肿瘤^[14]。手术和放化疗结合是临床上治疗胃癌的主要手段。然而, 临床上胃癌常常产生耐药性, 而且会从一种药物的耐受发展为对多种药物的交叉耐受, 最终导致化疗失败。很多研究也发现, 肿瘤细胞对一种药物的耐药往往导致对其他药物的交叉耐药, 产生多药耐药现象^[15-16]。除了已经发现的药物外排蛋白 P-糖蛋白(P-gp)、多药耐药相关蛋白(MDR)、肺耐药蛋白(LDR)等功能及表达增强, DNA 修复增强及部分抑制凋亡基因的表达等已知机制外, 近年来其他一些与多药耐药相关的因素也陆续被发现^[17-20]。提示不同药物虽然结构和药理作用不同, 但肿瘤细胞可能存在应对外源性药物的普遍机制以抵抗药物的攻击, 最终表现出耐药。研究显示, 包括胃癌在内的许多肿瘤中多药耐药的发生可能是多种机制联合或者协同作用造成的^[21]。

细胞骨架是细胞的重要组成部分, 维持细胞的正常形态和功能, 与肿瘤的多药耐药有着密切的关系^[22]。受凋亡因素作用时, 多种细胞骨架蛋白, 如肌动蛋白(actin)、肌球蛋白(myosin)、微管蛋白(tubulin)等蛋白结构或者动力学发生改变, 进而引起凋亡细胞的形态改变。细胞骨架的改变在细胞凋亡发生过程中具有重要作用。

药理浓度的 As_2O_3 对急性早幼粒细胞白血病(acute promyelocyte leukemia, APL)细胞具有诱导分

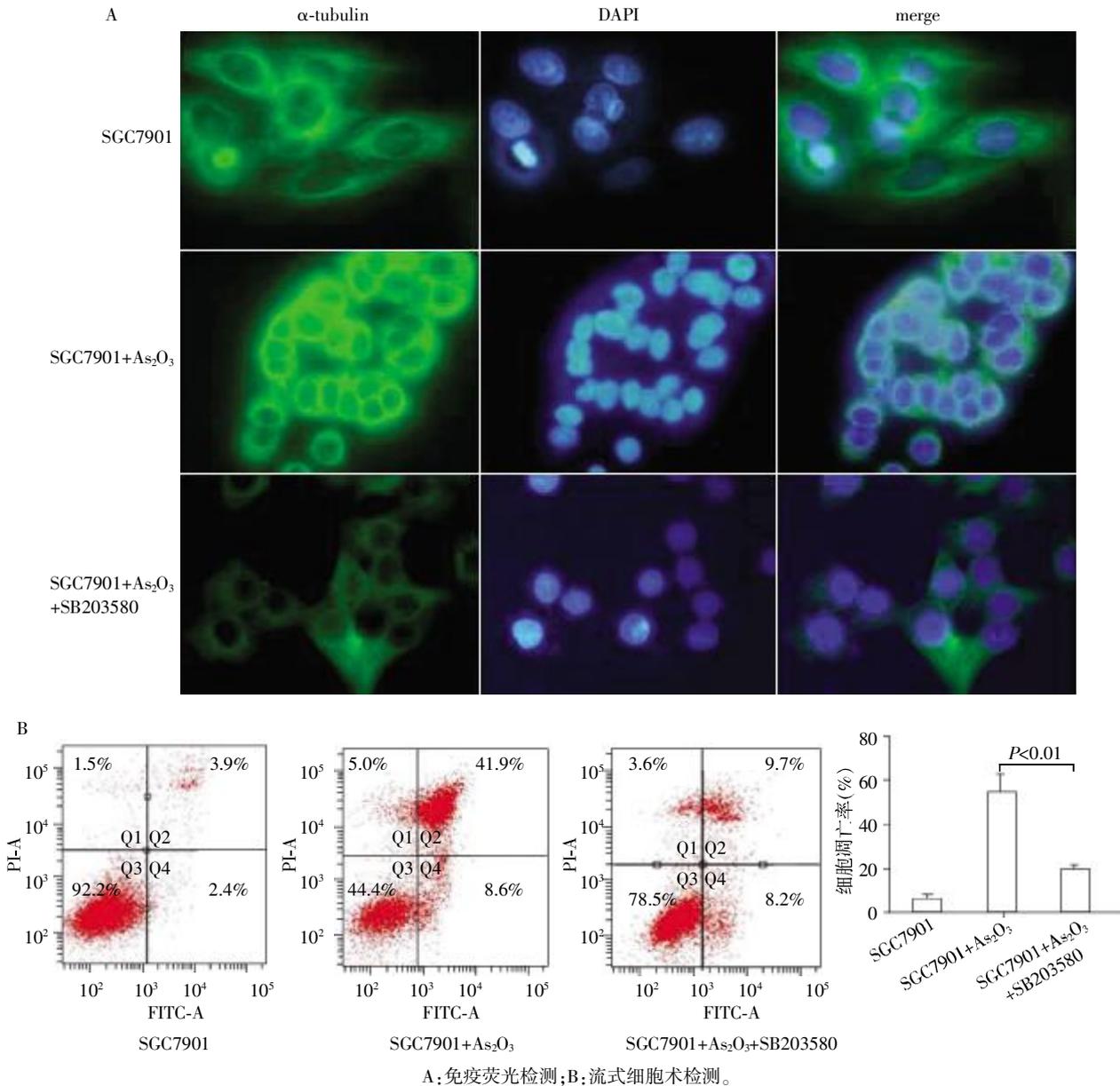


图 4 阻断 P38 磷酸化抑制 SGC7901 细胞微管聚合并增强其对 As₂O₃ 的耐受性

Figure 4 The effect of phosphorylation of P38 on microtubule polymerization and As₂O₃ resistance in SGC7901 cells

化和凋亡效应，从而发挥治疗肿瘤的作用。同时，As₂O₃ 诱导细胞凋亡效应也存在于大多数实体瘤，如淋巴瘤、胃癌、肝癌、肺癌等^[23]。砷作为药物治疗时的靶点有很多，如丙酮酸脱氢酶、糖皮质激素受体、谷胱甘肽转移酶和细胞骨架等^[6,24-27]。本课题组先前的研究已经表明，P38 与细胞骨架中微管的聚合密切相关^[28]，而微管的主要组分微管蛋白含有较多的巯基，三价砷能通过结合或抑制含巯基蛋白或酶系统产生毒性，从而使微管成为其作用靶点^[26-27]。有研究显示，As₂O₃ 能促进微管多聚化，将细胞捕获于 M 期，进而诱导凋亡，但其机制并不是与微管蛋白的 GTP 位点结合。研究显示，砷以“纺锤体关卡依赖方式”

诱导肿瘤细胞中心体放大及 M 期捕获，该机制涉及砷诱导的 M 期细胞死亡^[29]。这些研究表明，As₂O₃ 可以通过影响细胞骨架(如微管)而诱导细胞凋亡，但其确切机制还不清楚。有文献报道 P38 与微管的动力稳定性密切相关，可能起到调控作用^[14,30]，而 As₂O₃ 可能是通过 P38 来调节微管聚合的^[28]。

本研究采用浓度梯度递增法长期诱导形成的胃癌耐药细胞株 SGC7901/DDP，加 As₂O₃ 处理后发现相较于亲本敏感细胞，其对于 As₂O₃ 也产生了显著的耐受性，说明 SGC7901/DDP 具有交叉耐药性。As₂O₃ 通过促进细胞骨架微管的聚合从而实现细胞的凋亡已经得到了证实，然而胃癌耐药细胞中对

As₂O₃产生耐受的分子机制尚未阐明。本研究结果表明,胃癌耐顺铂细胞株SGC7901/DDP相对于SGC7901细胞株,在相同浓度As₂O₃处理时,SGC7901/DDP的抗微管聚合能力明显高于SGC7901,而这一表型与SGC7901/DDP细胞中P38磷酸化水平降低有着密切的关系。通过P38抑制剂SB203580将SGC7901细胞中的P38活性降低之后,在相同浓度的As₂O₃处理时,加抑制剂的细胞其微管聚合和凋亡率都明显低于未加抑制剂组。

综上所述,P38磷酸化水平在胃癌细胞的微管聚合和多药耐药产生过程中发挥重要作用,调节微管聚合是胃癌顺铂耐药细胞耐受As₂O₃的有效机制之一,调节P38的磷酸化将可能是逆转肿瘤多药耐药的有效途径。

[参考文献]

- [1] Lage H. An overview of cancer multidrug resistance: a still unsolved problem [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2008, 65 (20): 3145-3167
- [2] Zahreddine H, Borden KL. Mechanisms and insights into drug resistance in cancer [J]. *Front Pharmacol*, 2013, 4 (1): 28
- [3] Yu Q, Chen B, Zhang X, et al. Arsenic trioxide-enhanced, matrine-induced apoptosis in multiple myeloma cell lines [J]. *Planta Med*, 2013, 79(9): 775-781
- [4] Kerl K, Moreno N, Holsten T, et al. Arsenic trioxide inhibits tumor cell growth in malignant rhabdoid tumors in vitro and in vivo by targeting overexpressed Gli1 [J]. *Int J Cancer*, 2014, [Epub ahead of print]
- [5] Li W, Chou IN. Effects of sodium arsenite on the cytoskeleton and cellular glutathione levels in cultured cells [J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 1992, 114(1): 132-139
- [6] Li YM, Broome JD. Arsenic targets tubulins to induce apoptosis in myeloid leukemia cells [J]. *Cancer Res*, 1999, 59(4): 776-780
- [7] Jia Z, Vадnais J, Lu ML, et al. Rho/ROCK-dependent pseudopodial protrusion and cellular blebbing are regulated by P38 MAPK in tumour cells exhibiting autocrine c-Met activation [J]. *Biol Cell*, 2006, 98(6): 337-351
- [8] Birukova AA, Birukov KG, Gorshkov B, et al. MAP kinases in lung endothelial permeability induced by microtubule disassembly [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2005, 289(1): L75-84
- [9] Kim IK, Park SM, Cho HJ, et al. 14-3-3σ attenuates RhoGDI2-induced cisplatin resistance through activation of Erk and p38 in gastric cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2013, 4(11): 2045-2056
- [10] Graziosi L, Mencarelli A, Santorelli C, et al. Mechanistic role of p38 MAPK in gastric cancer dissemination in a rodent model peritoneal metastasis [J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 674(2-3): 143-152
- [11] Guo X, Ma N, Wang J, et al. Increased p38-MAPK is responsible for chemotherapy resistance in human gastric cancer cells [J]. *BMC Cancer*, 2008, 8: 375
- [12] Chen Y, Zhao Y, Wang C, et al. Inhibition of p38 MAPK diminishes doxorubicin-induced drug resistance associated with P-glycoprotein in human leukemia K562 cells [J]. *Med Sci Monit*, 2012, 18(10): BR383-388
- [13] Xu W, Wang S, Chen Q, et al. TXNL1-XRCC1 pathway regulates cisplatin-induced cell death and contributes to resistance in human gastric cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5: e1055
- [14] 徐彪, 王建明. 胃癌流行病学研究 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2006, 13(1): 1-7
- [15] Luqmani YA. Mechanisms of drug resistance in cancer chemotherapy [J]. *Med Princ Pract*, 2005, 14 (Suppl 1): 35-48
- [16] Zhang D, Fan D. Multidrug resistance in gastric cancer: Recent research advances and ongoing therapeutic challenges [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2007, 7 (10): 1369-1378
- [17] Hong L, Yang Z, Ma J, et al. Function of mirna in controlling drug resistance of human cancers [J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(10): 1118-1127
- [18] Lespine A, Menez C, Bourguinat C, et al. P-glycoproteins and other multidrug resistance transporters in the pharmacology of anthelmintics: Prospects for reversing transport-dependent anthelmintic resistance [J]. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist*, 2011, 2: 58-75
- [19] Lord CJ, Ashworth A. Mechanisms of resistance to therapies targeting BRCA-mutant cancers [J]. *Nat Med*, 2013, 19(11): 1381-1388
- [20] Orlowski RZ. Novel agents for multiple myeloma to overcome resistance in phase III clinical trials [J]. *Semin Oncol*, 2013, 40(5): 634-651
- [21] 潘光栋, 严律南. 肿瘤多药耐药形成机制研究进展 [J]. *医学综述*, 2009, 15(8): 1162-1164
- [22] Fojo T, Menefee M. Mechanisms of multidrug resistance: the potential role of microtubule-stabilizing agents [J]. *Ann Oncol*, 2007, 18(Suppl 5): v3-8
- [23] Chan JY, Siu KP, Fung KP. Effect of arsenic trioxide on multidrug resistant hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2006, 236(2): 250-258
- [24] Samikkannu T, Chen CH, Yih LH, et al. Reactive oxygen

- tamate biosynthesis and release *in vitro* by low levels of ammonium ions[J]. *Brain Res*, 1982, 237(2): 339-350
- [4] Wang JX, Li Y, Zhang LK, et al. Taurine inhibits ischemia/reperfusion-induced compartment syndrome in rabbits[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2005, 26(7): 821-827
- [5] Chou CT, Lin WF, Kong ZL, et al. Taurine prevented cell cycle arrest and restored neurotrophic gene expression in arsenite-treated SH-SY5Y cells[J]. *Amino Acids*, 2013, 45(4): 811-819
- [6] Waterhouse EG, Xu B. New insights into the role of brain-derived neurotrophic factor in synaptic plasticity[J]. *Mol Cell Neurosci*, 2009, 42(2): 81-89
- [7] Luo CX, Jin X, Cao CC, et al. Bidirectional regulation of neurogenesis by neuronal nitric oxide synthase derived from neurons and neural stem cells[J]. *Stem Cells*, 2010, 28(11): 2041-2052
- [8] Klein SD, Walt H, Richter C. Photosensitization of isolated rat liver mitochondria by tetra(m-hydroxyphenyl)chlorin[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1997, 348(2): 313-319
- [9] Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn[J]. *Biol Neonate*, 2001, 79(3-4): 180-186
- [10] Hegde ML, Mantha AK, Hazra TK, et al. Oxidative genome damage and its repair: implications in aging and neurodegenerative diseases [J]. *Mech Ageing Dev*, 2012, 133(4): 157-168
- [11] Gharibani PM, Modi J, Pan C, et al. The mechanism of taurine protection against endoplasmic reticulum stress in an animal stroke model of cerebral artery occlusion and stroke-related conditions in primary neuronal cell culture [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2013, 776: 241-258
- [12] Li Y, Hu Z, Chen B, Bu Q, et al. Taurine attenuates methamphetamine-induced autophagy and apoptosis in PC12 cells through mTOR signaling pathway [J]. *Toxicol Lett*, 2012, 215(1): 1-7
- [13] Yamagata T, Satoh T, Ishikawa Y, et al. Brain-derived neurotrophic factor prevents superoxide anion-induced death of PC12h cells stably expressing TrkB receptor via modulation of reactive oxygen species [J]. *Neurosci Res*, 1999, 35(1): 9-17
- [14] Huang YZ, McNamara JO. Neuroprotective effects of reactive oxygen species mediated by BDNF-independent activation of TrkB [J]. *J Neurosci*, 2012, 32(44): 15521-15532
- [15] Bennett MR, Lagopoulos J. Stress and trauma: BDNF control of dendritic-spine formation and regression [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 112: 80-99

[收稿日期] 2014-01-14

(上接第 1065 页)

- species are involved in arsenic trioxide inhibition of pyruvate dehydrogenase activity [J]. *Chem Res Toxicol*, 2003, 16(3): 409-414
- [25] Kaltreider RC, Davis AM, Lariviere JP, et al. Arsenic alters the function of the glucocorticoid receptor as a transcription factor [J]. *Environ Health Perspect*, 2001, 109(3): 245-251
- [26] Uslu R, Sanli UA, Sezgin C, et al. Arsenic trioxide-mediated cytotoxicity and apoptosis in prostate and ovarian carcinoma cell lines [J]. *Clin Cancer Res*, 2000, 6(12): 4957-4964
- [27] Bernstam L, Nriagu J. Molecular aspects of arsenic stress [J]. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev*, 2000, 3(4): 293-322
- [28] Shen L, Xu W, Li A, et al. JWA enhances As₂O₃-induced tubulin polymerization and apoptosis via P38 in HeLa and MCF-7 cells [J]. *Apoptosis*, 2011, 16(11): 1177-1193
- [29] Yih LH, Tseng YY, Wu YC, et al. Induction of centrosome amplification during arsenite-induced mitotic arrest in CGL-2 cells [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(4): 2098-2106
- [30] Shtil AA, Mandlikar S, Yu R, et al. Differential regulation of mitogen-activated protein kinases by microtubule-binding agents in human breast cancer cells [J]. *Oncogene*, 1999, 18(2): 377-384
- [31] Li Y, Li S, Han Y, et al. Calebin-A induces apoptosis and modulates MAPK family activity in drug resistant human gastric cancer cells [J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 591(1-3): 252-258
- [32] Kim IK, Park SM, Cho HJ, et al. 14-3-3sigma attenuates RhoGDI2-induced cisplatin resistance through activation of Erk and p38 in gastric cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2013, 4(11): 2045-2056

[收稿日期] 2014-02-24