

[ 文章编号 ] 1007-385X( 2002 )03-0190-04

## 血管内皮生长因子抗体对卵巢癌细胞株 SKOV3 体外生长的影响

李 力, 王丽梅, 张 玮 ( 广西医科大学附属肿瘤医院妇瘤科, 南宁 530021 )

[ 摘 要 ] **目的:** 探讨血管内皮生长因子抗体对卵巢癌细胞株 SKOV3 体外生长的影响。**方法:** 采用体外实验的方法将不同浓度的血管内皮生长因子抗体作用卵巢癌细胞系 SKOV3。用 RT-PCR 和免疫组化法测定处理前后卵巢癌细胞系 SKOV3 中血管内皮生长因子 mRNA 和蛋白的表达。采用 ELISA 法测定 SKOV3 分泌血管内皮生长因子的含量, 采用 MTT 和细胞直接计数方法测定处理前后卵巢癌细胞系 SKOV3 的抑制率和增殖速度。**结果:** 不同浓度的血管内皮生长因子抗体作用于卵巢癌细胞株 SKOV3 后, 其生长抑制率和细胞增殖速度与对照相比较, 无显著性差异(  $P > 0.05$  ); 不同浓度的血管内皮生长因子抗体作用于卵巢癌细胞株 SKOV3 后, 其血管内皮生长因子 mRNA、蛋白及其受体表达水平呈下调趋势; 不同浓度的血管内皮生长因子抗体作用于卵巢癌细胞株 SKOV3 后, 其血管内皮生长因子分泌明显下降(  $P < 0.05$  )。**结论:** 血管内皮生长因子抗体对卵巢癌细胞株 SKOV3 体外生长无直接影响, 但血管内皮生长因子抗体可下调血管内皮生长因子 mRNA、蛋白及其受体表达水平。抑制 SKOV3 分泌血管内皮生长因子。

[ 关键词 ] 卵巢癌; 细胞系; 血管内皮生长因子; 抗体

[ 中图分类号 ] R737.31 [ 文献标识码 ] A

## The Effect of Antibody of Vascular Endothelial Growth Factor on Ovarian Cancer Line SKOV3 *in vitro*

LI Li, Wang Li-mei, Zhang Wei ( Department of Gynecologic Oncology, Affiliate Tumor Hospital, Guangxi Medical University, Nanning 530021, China )

[ **Abstract** ] **Objective:** To explore the effect of antibody of vascular endothelial growth factor ( VEGF ) on ovarian cancer line SKOV3. **Methods:** The different concentrations of anti-VEGF-antibody was used to act on SKOV3 *in vitro*. The RT-PCR and immunohistochemically methods were used to determine mRNA and protein expression of VEGF in SKOV3. The VEGF content of SKOV3 in culture medium was test by ELISA. The MTT and cell counting were also used to determine the growth curve and inhibited rate of SKOV3 under different concentrations of anti-VEGF-antibody. **Results:** ( 1 ) After the different concentrate of anti-VEGF-antibody was used to act on SKOV3 *in vitro*, there is not significant difference in inhibition rate and proliferation rate compared with the control (  $P > 0.05$  ). ( 2 ) VEGF mRNA, protein and VEGF-receptor expression of SKOV3 treated with anti-VEGF-antibody is down-regulated. ( 3 ) The VEGF content of SKOV3 in culture medium treated with anti-VEGF-antibody is lower than that in control (  $P < 0.05$  ). **Conclusions:** VEGF antibody had no influence on growth of SKOV3 *in vitro*, but it could downregulate the expression of VEGF and it's receptor and inhibit the secretion of VEGF in SKOV3.

[ **Key words** ] ovarian cancer; cell line; vascular endothelial growth factor; antibody

\* 卵巢癌是妇科常见恶性肿瘤, 70% 的患者初诊时已为中晚期。其主要原因是卵巢癌极易早期扩散转移。血管内皮生长因子( vascular endothelial growth factor, VEGF )是目前发现的最为关键的血管形成刺激因子<sup>[1]</sup>。已有研究证明, 它的过量表达与卵巢癌等实体瘤浸润转移相关<sup>[2]</sup>。恶性肿瘤生长和转移的血管依赖性为通过抑制肿瘤新生血管形成进而阻止肿瘤浸润

转移提供了新的治疗思路。目前已有一些学者制备出 VEGF 抗体并在动物实验中发现, 它能抑制肿瘤的生

\* [ 基金项目 ] 广西壮族自治区科技厅自然科学基金( 桂科回 009009 )资助

[ 作者简介 ] 李力( 1959- ), 男, 四川成都人, 博士, 主任医师, 主要从事妇科肿瘤临床与基础研究。

长与浸润转移<sup>[3]</sup>。为了进一步探讨 VEGF 抗体治疗卵巢癌的机理,我们采用体外实验的方法观察了 VEGF 抗体对卵巢癌细胞株 SKOV3 体外生长以及它对该细胞 VEGF 表达和分泌的影响。现将结果报道如下:

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系

人卵巢上皮癌细胞系 SKOV3 由中国医学科学院肿瘤医院杨治华教授惠赠,该细胞系引自美国。SKOV3 在 RBMI-1640 培养液内加 10% 小牛血清条件下,置 37℃ CO<sub>2</sub> 培养箱内贴壁生长。

### 1.2 试剂

四氮唑蓝盐 (MTT) 为美国 Sigma 公司产品;异硫氰酸胍、二乙基焦碳酸 (DELP)、逆转录 cDNA 合成试剂盒购自上海生物工程公司;VEGF 受体抗体 (Flt-1) 购自武汉博士德生物工程公司;VEGF 抗体由中国医学科学院肿瘤医院杨治华教授惠赠;VEGF 质粒 DNA 由英国牛津大学皇家癌症基金会实验室张华堂博士惠赠;免疫组化试剂盒购自武汉博士德生物工程公司;VEGF-ELISA 试剂盒由中国医学科学院肿瘤医院研究所提供。

### 1.3 VEGF 和 GAPDH 寡核苷酸引物设计

VEGF 和 GAPDH 寡核苷酸引物根据 Genebank 人类 VEGF 和 GAPDH cDNA 序列设计,由上海生物工程公司合成。具体如下,ATG(+)VEGF-U 上游引物:5' ATGAACCTTCTGCTGCTTGG-3' TGA(-)VEGF-L 下游引物:5' TCACCGCCTCGGCTTGTGACA-3'。GAPDH 引物作为内参照,序列如下:U481GAPDH 上游引物:5' GACAACAGCCTCAAGATCATCA-3' L580GAPDH 下游引物:5' TCCTTCCACGATACCAAAGTT-3'。

### 1.4 SKOV3 细胞系 VEGFmRNA 表达测定

细胞总 RNA 提取采用异硫氰酸胍一步法<sup>[4]</sup>。VEGFmRNA 表达扩增采用 RNA 逆转录多聚酶链反应 (reverse transcription polymerase reaction, RT-PCR)。实验过程参照文献<sup>[2]</sup>的方法,选择 VEGF 质粒 DNA 作为阳性对照,离子水为空白对照,PCR 终产物经 2% 琼脂糖分离后,在紫外灯下,对照其参照分子标记条带观察其特异片段 (VEGF 为 435 bp, GAPDH 为 100 bp) 并置岛津-CS-936 薄层扫描仪上扫描,计算峰面积,若 VEGF 峰值/GAPDH 峰值 > 1.0, VEGFmRNA 表达阳性。

### 1.5 SKOV3 细胞系 VEGF 蛋白及其受体表达测定

采用免疫组化法,将载玻片置于细胞培养瓶中,待细胞爬满片后 48 h 取出,用 1 × 磷酸盐缓冲溶液 (phosphate buffer solution, PBS) 漂洗除去残余血清后,冷丙

酮固定 30 min,再用 1 × PBS 冲洗,然后按试剂盒说明书进行免疫组化染色,DAB 显色,苏木素衬染、脱水、透明、封片。光镜观察结果。以试剂盒提供的阳性片染色结果为阳性对照,以 PBS 代替一抗的免疫组化染色结果为阴性对照。结果分析参照 Fujimoto 等<sup>[5]</sup>提出的标准。

### 1.6 SKOV3 细胞系 VEGF 分泌含量测定

取对数生长期的 SKOV3 细胞,制备单细胞悬液,调整细胞的浓度为 10<sup>5</sup> 细胞/ml。以 2 ml 细胞悬液/孔,接种于 6 孔板内培养至细胞贴壁后并生长基本满孔后换液,将 VEGF 抗体以培养液稀释成 7 个浓度 (125 mg/L, 100 mg/L, 75 mg/L, 50 mg/L, 25 mg/L, 12.5 mg/L, 6 mg/L) 按每浓度 3 孔,分别加入含有 VEGF 抗体的培养液,而同时设 3 孔对照则加入无 VEGF 抗体的培养液,培养 72 h 后换液,再培养 48 h 后取上清液待检。上清液中 VEGF 含量检测采用由中国医学科学院肿瘤医院研究所提供 VEGF-ELISA 试剂盒。操作按说明书。标准曲线的建立及结果判断:以标准品 VEGF 抗原系列浓度的对数值为 Y 轴,及其相应的 OD<sub>450</sub> 吸光值为 X 轴建立标准曲线 (pearson  $r = 0.951$ ,  $P = 0.004$ )。各个样品的浓度即可由标准曲线  $y = 3.22 + 0.871x$  获得。

### 1.7 细胞抑制率测定

采用 MTT 法,取对数生长期的 SKOV3 细胞,制备单细胞悬液,调整细胞的浓度为 10<sup>5</sup> 细胞/ml。以 200 μl/孔接种 96 孔培养板 (共种 32 孔),此悬液含 10% 小牛血清。同法以不加小牛血清的培养液制备单细胞悬液,接种到另 32 孔。置于 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 24 h。次日取出培养板,轻弃去每孔的培养液。VEGF 抗体以培养液稀释成 7 个浓度 (125 mg/L, 100 mg/L, 75 mg/L, 50 mg/L, 25 mg/L, 12.5 mg/L, 6 mg/L),每个浓度设 4 个复孔。加入 200 μl/孔,并设空白对照 (不加任何抗体)。继续培养 3 d 后,取出培养板,每孔加入 MTT 100 μl,避光培养 3.5 h。取出培养板,弃去培养液,加入 DMSO 200 μl/孔,充分振荡混匀 10 min。置酶标仪上测 OD<sub>450</sub> 值。结果分析:

$$\text{相对抑制率}(\%) = \left( \frac{\text{空白 OD}_{450} \text{均值} - \text{抗体组 OD}_{450} \text{均值}}{\text{空白 OD}_{450} \text{均值}} \right) \times 100\%$$

### 1.8 细胞生长倍增时间测定

取对数生长期的 SKOV3 细胞,制备单细胞悬液,调整细胞的浓度为 10<sup>5</sup> 细胞/ml。以 1 ml/孔接种 24 孔培养板置于 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养 24 h。次日取出培养板,轻弃去每孔的培养液。VEGF 抗体以培养液稀释成 7 个浓度 (125 mg/L, 100 mg/L, 75 mg/L, 50

mg/L, 25 mg/L, 12.5 mg/L, 6 mg/L), 每个浓度设 2 个复孔。加入 1 ml/孔, 并设对照不加抗体。在 37℃ 5% CO<sub>2</sub> 培养箱内继续培养, 2~6 d 各计数不同浓度两孔细胞数, 取均值, 绘制时间——细胞曲线。并按 Patterson 公式<sup>[4]</sup>计算细胞在对数生长期的倍增时间。

### 1.9 数据处理

采用 SPSS10.0 软件包处理数据; 均值采用 *t* 检验; 相关采用直线相关分析。

## 2 结果

### 2.1 VEGF 抗体对 SKOV3 的抑制作用

在不同浓度抗体作用下的 SKOV3 细胞生长与对照组比较, 经直线相关分析显示 VEGF 抗体对 SKOV3 细胞的生长无影响 ( $r = -0.705$ ,  $P > 0.05$ )。为进一步排除培养液中小牛血清含有生长因子对实验结果的影响, 我们又采用无血清培养的条件重复了上述实验, 得到了相似的结果 ( $r = -0.356$ ,  $P > 0.05$ ), 表明 VEGF 抗体在体外, 对卵巢癌细胞系 SKOV3 的生长无抑制作用。

### 2.2 VEGF 抗体对 SKOV3 的细胞生长倍增时间影响

分别在 125 mg/L, 100 mg/L, 75 mg/L, 50 mg/L, 25 mg/L, 12.5 mg/L 和 6.25 mg/L 浓度抗体作用下的 SKOV3 细胞生长倍增时间分别为 ( $30 \pm 2.9$ ) h, ( $28 \pm 3.3$ ) h, ( $28 \pm 3.1$ ) h, ( $29 \pm 4.0$ ) h, ( $30 \pm 3.1$ ) h, ( $27 \pm 3.5$ ) h 和 ( $28 \pm 2.8$ ) h 与对照的倍增时间 ( $29 \pm 3.9$ ) h 相比较, 差异均无显著性 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 VEGF 抗体对 SKOV3 细胞系 VEGF 分泌含量的影响

VEGF 抗体可抑制 SKOV3 细胞系的 VEGF 分泌, 且呈剂量依赖趋势。分别在 125 mg/L, 100 mg/L, 75 mg/L, 50 mg/L, 25 mg/L, 12.5 mg/L 和 6.5 mg/L 浓度抗体作用下的 SKOV3 细胞 VEGF 分泌量分别为 ( $17.6 \pm 3.4$ ) ng/L, ( $18.0 \pm 4.1$ ) ng/L, ( $25.9 \pm 9.8$ ) ng/L, ( $33.9 \pm 11.2$ ) ng/L, ( $67.3 \pm 14.9$ ) ng/L, ( $70.3 \pm 20.0$ ) ng/L 和 ( $84.8 \pm 18.9$ ) ng/L, 其中使用 VEGF 抗体 50 mg/L 以上剂量后, SKOV3 细胞系的 VEGF 分泌明显下降, 与对照组 [ $86.0 \pm 18.9$ ] ng/L 相比较, 差异均有显著性 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。

### 2.4 VEGF 抗体对 SKOV3 细胞系 VEGF 表达的影响

VEGF 抗体能使 SKOV3 的 VEGF 及其受体表达呈下调趋势。其中 VEGF 抗体 50 mg/L 或以上浓度作用后, SKOV3 的 VEGF mRNA 表达明显下降, 与对照组相比较, 差异均有显著性 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

VEGF 为一重要的血管生成调节因子。已有研究

结果证实, 它通过特异性地与 III 型酪氨酸激酶受体 Flt-1 和 KDR/Flk1 相结合而发挥多种生物学效应。如促进血管内皮细胞分裂增殖, 增加血管通透性等<sup>[1]</sup>。实体肿瘤的生长、浸润和转移则有赖于肿瘤新生血管的形成。因此, VEGF 在肿瘤的生长、浸润和转移中发挥极其重要的作用。Fujimoto 等<sup>[6]</sup>在对 128 例卵巢癌及 20 例正常对照进行 VEGF 表达检查证实, 癌组织中 VEGF 阳性表达率明显高于正常组织。另外其它的研究结果也发现卵巢癌组织中的 VEGF 阳性表达以及卵巢癌患者血清标本中 VEGF 含量的与其临床期别和是否有远处转移病灶呈正相关<sup>[2]</sup>。另外, 也有研究证实, 卵巢癌患者极易在腹腔内广泛种植转移以及大量腹水形成, 也与 VEGF 的表达与分泌增多相关<sup>[7]</sup>。提示, VEGF 与卵巢癌发生、发展及浸润转移密切相关。

根据肿瘤的生长和转移依赖于血管生成的机理, 血管生成这一重要环节抑制肿瘤血管生成, 从而抑制肿瘤的生长已成为目前肿瘤治疗的新思路。VEGF 作为血管生成的刺激因子, 其拮抗剂是抗肿瘤血管生成的重要环节。Mesiano 等<sup>[7]</sup>将表达 VEGF 的卵巢癌细胞株 SKOV3 接种裸鼠后进行研究。结果显示, 癌细胞接种 3~6 周腹水形成、恶病质出现后, 对其中 16 只采用抗人特异性 VEGF 抗体治疗: ①尸检发现治疗组 (3/3) 腹水消失; 而对照组 (2/3) 有中等量腹水; ②治疗组仅 1 例出现大量腹水, 5.5 周后死亡, 而对照组均出现腹水, 平均生存 4.5~6.5 周; ③停止治疗后, 腹水又出现。其它学者的研究也得到类似的结果并发现 VEGF 抗体能抑制裸鼠负荷卵巢癌的生长<sup>[8,9]</sup>。这些结果均提示 VEGF 抗体能阻断卵巢癌的发展及腹水的形成。

本实验的结果提示, 在体外实验条件下 VEGF 单抗对 SKOV3 细胞系的增殖并无抑制作用, MTT 结果也显示, VEGF 单抗本身对 SKOV3 细胞系也无直接的细胞毒作用。因此, VEGF 抗体在体内实验条件下所显示出来的抑制裸鼠负荷卵巢癌的生长和腹水形成可能通过间接途径而实现。本研究结果显示, VEGF 抗体能下调 SKOV3 细胞系 VEGF mRNA 以及蛋白的表达, 同时也能下调 VEGF 受体 Flt-1 的表达和抑制 VEGF 的分泌。并且这些作用呈 VEGF 抗体剂量—强度依赖。因此提示, VEGF 抗体在体内实验条件下所显示出来的抑制裸鼠负荷卵巢癌的生长和腹水形成可能通过降低 VEGF 表达、阻断 VEGF 受体进而抑制 VEGF 的分泌, 达到降低 VEGF 对血管内皮细胞增生的刺激作用。减少肿瘤新生血管的形成这一途径而实现。这些结果也进一步佐证了已有的研究发现, 即在裸鼠负荷卵巢癌使用 VEGF 抗体治疗后组织形态学检查发现其肿瘤组织血管化明显减少<sup>[10]</sup>。这将为使用 VEGF 抗体作

为卵巢恶性肿瘤血管生成抑制剂提供理论依据。

## [参考文献]

- [1] Dvorak HF, Brown LF, Detmar M, *et al.* Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor, microvascular hyperpermeability, and angiogenesis[J]. *Am J Pathol.* 1995, 146(5): 1029-1039.
- [2] Ueda M, Terai Y, Kumagai K, Ueki K, *et al.* Vascular endothelial growth factor C gene expression is closely related to invasion phenotype in gynecological tumor cells[J]. *Gynecol Oncol.* 2001, 82(1): 162-166.
- [3] Mesiano S, Ferrara N, Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian cancer: Inhibition of ascites formation by immunoneutralization[J]. *Am J Pathol.* 1998, 153(4): 1249-1256.
- [4] Noonan KE, Beck C, Holzmayer TA, *et al.* Quantitative analysis of MDR1 (multidrug resistance) gene expression in human tumors by polymerase chain reaction[J]. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1990, 87(18): 7160-7164.
- [5] Fujimoto J, Sakaguchi H, Aoki I, *et al.* Clinical implications of expression of vascular endothelial growth factor in metastatic lesions

of ovarian cancers[J]. *Br J Cancer.* 2001, 85(3): 313-316.

- [6] Fujimoto J, Sakaguchi H, Hirose R, *et al.* Biologic implications of the expression of vascular endothelial growth factor subtypes in ovarian carcinoma[J]. *Cancer.* 1998, 83(12): 2528-2533.
- [7] Mesiano S, Ferrara N, Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian cancer: Inhibition of ascites formation by immunoneutralization[J]. *Am J Pathol.* 1998, 153(4): 1249-1256.
- [8] Yukita A, Asano M, Okamoto T, *et al.* Suppression of ascites formation and re-accumulation associated with human ovarian cancer by an anti-VPF monoclonal antibody *in vivo* [J]. *Anticancer Res.* 2000, 20(1A): 155-160.
- [9] Asano M, Yukita A, Matsumoto T, *et al.* An anti-human VEGF monoclonal antibody, MV833, that exhibits potent anti-tumor activity *in vivo* [J]. *Hybridoma.* 1998, 17(2): 185-190.
- [10] Gossmann A, Helbich TH, Mesiano S, *et al.* Magnetic resonance imaging in an experimental model of human ovarian cancer demonstrating altered microvascular permeability after inhibition of vascular endothelial growth factor[J]. *Am J Obstet Gynecol.* 2000, 183(4): 956-963.

[收稿日期] 2002-01-21

[修回日期] 2002-04-20

## · 研究简报 ·

[文章编号] 1007-385X(2002)03-0193-01

## c-myc 反义寡核苷酸诱导肝癌细胞凋亡的研究

杨丽敏<sup>1</sup>, 张秀丽<sup>2</sup>, 云玉珍<sup>3</sup>(1. 内蒙古医学院微生物学免疫学教研室, 呼和浩特 010059; 2. 内蒙医院皮肤科, 呼和浩特 010040; 3. 内蒙古医学院第一附属医院)

c-myc 属细胞原癌基因编码的一种核蛋白, 刺激细胞增生并与突变型 p53 一起在肝癌的发生中起协同作用。c-myc 表达增强可能是肝癌发生的原因之一。研究表明在 c-myc 过量表达的肿瘤细胞中人为地降低其水平可诱导细胞发生凋亡。为了研究 c-myc 硫代磷酸反义寡核苷酸(antisense phosphorothiate oligodeoxynucleotide, Aspo)对肝癌的影响, 寻找治疗肝癌的新途径, 我们将人工合成的 c-myc Aspo 静脉注射到小鼠肝癌模型中进行实验研究。

c-myc Aspo 序列是根据 c-myc 基因 cDNA 设计, 与起始部位的 15 个核苷酸互补, 同时将 4 个核苷酸错配的序列(mismatched oligodeoxynucleotide, MM)设为对照。As 的序列为 AACGTTGAGGGGCAT, MM 的序列为 AACGAGTTGGG-GCAT。于 BALB/c 小鼠肋部皮下接种 H22 细胞  $1 \times 10^4$  (L·只), 以此建立小鼠肝癌模型。随机将 16 只实验小鼠分为治疗组(As 处理组)和对照组(MM 处理组), 根据剂量的不同两组又分别分为 3 组, 即 100  $\mu\text{g}/\text{d}$  组、200  $\mu\text{g}/\text{d}$  组和 300  $\mu\text{g}/\text{d}$  组。2 周后颈椎脱臼处死动物, 剥离组织, 称瘤重。将肝癌组织用 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 常规病理切片, HE 染色, 光镜检查瘤细胞生长情况, 并采用 TUNEL 法检测石蜡切片的凋亡发生。同时取一定量的肝癌组织提取细胞总 RNA, PCR 后经凝胶图象分析仪分析结果, 计算 c-myc 与微管蛋白

的比值, 得出 c-myc 的相对量, 并计算出 c-myc mRNA 相对下降百分率。

经凝胶图象分析仪分析, As 处理后 200  $\mu\text{g}/\text{d}$  组与 100  $\mu\text{g}/\text{d}$  组比较, c-myc mRNA 下降的百分率明显升高, 统计学分析有显著差异( $P < 0.01$ ), 300  $\mu\text{g}/\text{d}$  组与 200  $\mu\text{g}/\text{d}$  组之间、同浓度组间无显著差别( $P > 0.05$ )。As 处理后 200  $\mu\text{g}/\text{d}$  组较 100  $\mu\text{g}/\text{d}$  组肿瘤明显减小, 统计学分析有显著差异( $P < 0.01$ ), 300  $\mu\text{g}/\text{d}$  组与 200  $\mu\text{g}/\text{d}$  组之间、同浓度组间无显著差别( $P > 0.05$ )。As 处理组和 MM 处理组相比, 两组的抑瘤效应存在显著差异( $P < 0.01$ )。TUNEL 染色结果显示, As 处理后肝癌细胞中可见明显的细胞核呈棕褐色着染的阳性凋亡细胞, 而 MM 处理组均无明显着色, 这表明 c-myc Aspo 以凋亡的方式诱导肝癌细胞死亡。

我们以基因编码区 ATG 起始密码子部位的 15 个核苷酸作为靶序列, 可特异地抑制 c-myc mRNA 的剪切、翻译、转运等过程, 促进肝癌细胞凋亡。这表明 c-myc Aspo 是一种极具潜力的肿瘤生物制剂, 为肝癌的基因治疗提供了一个新的治疗策略。

[关键词] c-myc; 反义寡核苷酸; 肝癌; 凋亡

[中图分类号] R735.7; R73-76

[文献标识码] D

[收稿日期] 2002-01-21

[修回日期] 2002-04-15