

[文章编号] 1007-385X(2003)02-0105-05

抗人肝癌单克隆抗体 HAb18 Fd 及轻链基因的克隆与鉴定

陈志南, 邢金良, 杨向民, 宋 斐, 张思河(第四军医大学细胞工程研究中心, 西安 710032)

[摘要] 目的: 克隆抗人肝癌单抗 HAb18 Fd 及轻链基因, 并对其可靠性和准确性进行验证。方法: 从分泌单抗 HAb18 的杂交瘤细胞株中提取总 RNA, 利用 RT-PCR 扩增抗体 Fd 及轻链基因, 连入 pMD18T 载体后, 挑选阳性克隆进行序列测定并利用相应的软件对序列进行分析。然后将轻链及 Fd 基因依次克隆到噬菌体展示载体 pComb3 中, 转化大肠杆菌 XL1-blue 并利用辅助噬菌体 M13K07 进行挽救, 收获噬菌体后利用间接 ELISA 方法检测其抗原特异性。结果: 扩增的 HAb18 全长轻链和 Fd 基因大小分别为 665 bp 和 668 bp, 序列分析显示: VH 及 VL 均含有 2 个特征性的半胱氨酸, CH1 属于 IgG1 亚类, CL 属于 κ 亚型。ELISA 证实, Fab 基因表达产物具有与相应抗原特异结合的活性。结论: 成功克隆了肝癌单抗 HAb18 的 Fd 及轻链基因, 为下一步构建多种形式的基因工程抗体奠定了良好的基础。

[关键词] 肝癌; 单克隆抗体; 基因; 克隆

[中图分类号] Q786 **[文献标识码]** A

Cloning and Identification of Fd and Light Chain Genes of MAb HAb18 against Human Hepatoma

CHEN Zhi-nan, XING Jin-liang, YANG Xiang-min, SONG Fei, ZHANG Si-he (Cell Engineering Research Center, Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, China)

[Abstract] **Objective:** To clone Fd and light chain genes of monoclonal antibody HAb18 against human hepatoma and verify their accuracy and liability. **Methods:** Total RNA was extracted from hybridoma cell line secreting MAb HAb18, and Fd and light chain genes were amplified by RT-PCR. After PCR products were ligated into pMD18T vector, positive clones were screened and DNA sequences were tested and analysed by relative softwares. Then, light chain and Fd genes were sequential cloned into phage display vector pComb3. After recombinant vector was transformed into *E. coli* XL1-blue, recombinant vector was rescued by helper phage M13K07 and the specificity of phages to antigen was detected by indirect ELISA. **Results:** The size of amplified Fd and light chain genes was separately 665 bp and 668 bp. The results of sequence analysis showed that both VL and VH contained 2 characteristic cystines and CH1 was IgG1 classes and CL was κ . ELISA result identified that expressed Fab antibody could specially bind to corresponding antigen. **Conclusion:** Fd and light chain genes of MAb HAb18 were successfully cloned, which lay a good foundation for constructing a diversity of engineering antibody.

[Key words] hepatoma; monoclonal antibody; gene; cloning

* 肝癌是最常见的恶性肿瘤之一。目前, 主要治疗手段包括手术、放疗和化疗, 远期效果难以令人满意。随着免疫学的发展, 以单抗(monoclonal antibody, MAb)为载体的抗肝癌导向药物研究取得了较大的进展^[1]。我们中心用¹³¹I 标记 HAb18 F(ab')₂ 制备的第二代肝癌放射免疫治疗剂, 已完成 II 期临床研究。但 MAb 的 F(ab')₂ 是通过蛋白酶消化获得的, 制备工艺复杂, 成本较高。另外, 鼠源性抗体在病人体内可产生

不同程度的人抗鼠抗体反应(human anti-mouse antibody, HAMA), 从而削弱其治疗的有效性, 并对清除抗体的器官产生毒性损害。因此, 研制成本低、免疫原性

[基金项目] 本研究为国家“863”计划重点课题(No. 2001AA215101)和国家自然科学基金面上项目(No. 3020330)资助

[作者简介] 陈志南(1952-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事肿瘤细胞生物学的研究

低的新一代基因工程抗体很有必要。本研究中,我们用 RT-PCR 方法克隆了 HAb18 单抗 Fd 及轻链基因,并通过活性检测的手段对其准确性进行了验证,为进一步构建各种形式的基因工程抗体奠定了良好的基础。

1 材料与方法

1.1 主要试剂、细胞株、菌株和载体

分泌抗人肝癌 MAb HAb18(IgG1)的杂交瘤细胞株,由本中心构建并保存。Trizol 试剂为 Gibco BRL 公司产品。反转录试剂盒购自 Promega 公司。噬菌体展示载体 pComb3 系本校微生物教研室白文涛博士赠送, *E. coli* 感受态菌株 JM109 和 XL1-blue 为本室制备保存。T 载体、PCR 试剂及限制性内切酶和连接酶,均为大连宝生物公司产品。MAb HAb18 由本室自制。IPTG 及 HRP 标记的抗 M13 gVIII 蛋白单抗购于华美公司。

1.2 引物设计与合成

根据 MAb HAb18 属 IgG1 κ 的特点^[2],设计了克隆抗体 Fd 及轻链基因的上、下游引物和假基因剔除引物,同时在引物中分别引入了相应的酶切位点。引物由北京赛百盛公司合成。

1.3 总 RNA 的提取

收集 1×10^7 处于对数生长期的 MAb HAb18 杂交瘤细胞,利用异硫氰酸胍-酚-氯仿法提取总 RNA,具体步骤参见 Trizol 试剂使用说明书。

1.4 RT-PCR 反应及 DNA 测序

直接利用含有 PolyA + mRNA 的总 RNA 作为 RT 反应的模板,以 Oligo(dT)₁₅ 为引物,逆转录合成 cDNA(具体步骤参见试剂盒说明书)。以合成的 cDNA 为模板,用相应的特异引物扩增 Fd 和轻链全长基因。PCR 反应条件设定为:起始 94℃ 5 min 变性;然后,94℃ 1 min,54℃ 1 min,72℃ 1 min,30 循环;最后 72℃ 延伸 10 min。PCR 扩增产物经凝胶纯化试剂盒纯化并回收后,分别与载体 pMD18-T 进行连接(具体参见试剂盒说明书),构建成克隆载体 pMD18-T/Fd 和 pMD18-T/L,并转化感受态大肠杆菌 JM109 挑选阳性克隆,利用假基因引物进行 PCR 鉴定后,进一步进行酶切分析和 DNA 序列测定。

1.5 DNA 序列分析

利用 Blastn 在 Genebank 数据库中对获得的抗体 Fd 和轻链全长基因序列进行同源性分析^[3],同时利用 KabatMan 数据库^[4]进行特殊残基的鉴定。

1.6 HAb18 Fab 基因噬菌体展示载体的构建及辅助噬菌体挽救

以 Sac I + Xba I 分别双酶切表达载体 pComb3 和

测序分析的克隆载体 pMD18-T/L,经琼脂糖凝胶电泳分离纯化目的片段后,连接、转化,筛选阳性克隆并进行酶切鉴定。然后,用 Xho I + Spe I 双酶切构建的轻链表达载体 pComb3/L 和已测序分析的克隆载体 pMD18-T/Fd,重复连接、转化、筛选及鉴定的步骤,构建成 Fab 展示型载体 pComb3/Fd-g III-L。挑取鉴定正确的重组克隆单个菌落,利用 M13K07 辅助噬菌体进行挽救。收集挽救后的噬菌体上清 4℃ 保存备用。

1.7 Phage ELISA 法检测展示型 Fab 抗体的抗原结合活性

以 HAb18G^[5](MAb HAb18 的相应抗原)胞外区的原核融合表达产物 GST-HAb18GE 和粗纯化的 GST 包被 ELISA 板,检测挽救的 Fab 展示噬菌体,以 MAb HAb18 作为阳性对照,辅助噬菌体作为阴性对照,BSA 作为抗原对照,PBS 作为空白对照。

2 结果

2.1 HAb18 MAb Fd 及轻链基因的克隆

分别用 Fd 5'端和 3'引物以及轻链 5'端和 3'引物,成功地扩增出 Fd 和轻链目的基因。经 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳显示,HAb18 全长轻链和 Fd cDNA 的大小均在 660 bp 左右(图 1),与预期的大小相符。序列测定结果(如图 2 所示):轻链及 Fd 基因片段的大小分别为 665 bp 和 668 bp,均含有正确的引物序列和酶切位点。阴影区为 CDR 序列,划线处为恒定区序列。

图 1 HAb18 Fd 及轻链基因的 PCR 扩增
Fig.1 PCR amplification of Fd and light chain gene of MAb HAb18

1: DL-2000 marker; 2: Fd gene; 3: Light chain gene

2.2 DNA 序列分析

序列(如图 2)分析显示,轻链由可变区 VL 和恒定区 CL 组成,CL 属于 κ 亚型。Fd 片段含有 VH 和 CH1,CH1 属于 IgG1 亚类。VH 及 VL 均含有 2 个特征性的半胱氨酸,CDR 序列显示为阴影区,为依 Kabat 定义

法^[6]确定。轻、重链的恒定区序列与 Genebank 的鼠抗体(IgG1, κ)的序列完全相同。另外,利用 Blastn 在 Genebank 数据库中分别对 Fd 和轻链全长基因序列进行同源性分析的结果表明,获得的 2 个基因序列为新的抗体基因序列,且分别与鼠抗 DNA 抗体的 κ 链的可变区和鼠抗体重链可变区的胚系基因具有较高的同

源性,分别为 96% 和 94%。同时利用 KabatMan 数据库鉴定的特殊残基为轻链的 L12, L55 和 L106A,其相应氨基酸 V, N 和 K 的出现几率分别为 0.223%, 0.414% 和 0.542%;重链为 H55, H78 和 H101,其相应氨基酸 H, I 和 T 的出现几率分别为 0.677%, 0.777% 和 0.677%。

Fd:(668 bp)

AGGTGAAGCTG CTCGAG TCTGGAGGAGGCTTGCTGCAACCTGGAGGATCCATGAAACTGCTTGTGTTCCTCTGGATTAC
 TTTTACTGACGCCTGGATGGACTGGGTCCGCCAGTCTCCAGAGAAGGGACTTGAGTGGGTTGCTGAAATTAGAAGCAAAGCCA
 ATAATCATGCACCATACTATACTGAGTCTGTGAAAGGGAGGTTACCATCTCACGAGATGATTCAAAAAGTATTATCTACCTGCA
 AATGAACAACCTTAAGAGCTGAAGACACTGGCATTATTACTGTACCAGGGATAGCACGGCTACCCACTGGGGCCAAGGGACTCT
 GGTCACTGTCTCTGCA GCCAAAACGACACCCCATCTGTCTATCCACTGGCCCTGGATCTGCTGCCAAACTAACTCCATGGT
GACCCTGGGATGCCTGGTCAAGGGCTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGACCTGGAACTCTGGATCCCTGTCCAGCGGTGTGCA
CACCTTCCAGCTGTCTGCAGTCTGACCTTACACTCTGAGCAGCTCAGTGACTGTCCCTCCAGCACCTGGCCAGCGAGACC
GTCACCTGCAACGTTGCCACCCGCCAGCAGCACCAAGGTGGACAAGAAAATTGTGCCAGGGATTGT ACTAGT AAGCCT

Light chain:(665 bp)

GATGTGAGCTCGTGATGACCCAGACTCCACATTCTGGTTGTATCAGCAGGAGACAGGGTTACCATAACCTGCAAGGCCAGTCA
 GAGTGTGATTAATGATGTAGCTTGTAACCAACAGAAGCCAGGGCAGTCTCCTAAACTGCTGATATTCTATGCATCCAATCGCAAC
 TACGGAGTTCCTGATCGCTTCACTGGCAGTGGATATGGGACGGATTTCACTTTCACCATCAGCACTGTGCAGGCTGAAGACCTGGC
 AGTTTTATTCTGTCAGCAGGATTATAGTCTCCATTACGTTCCGGCTCGGGGACAAAGTTGAAATAAAA CGGGCTGATGCTGCAC
CAACTGTATCCATCTTCCACCATCCAGTGAGCAGTTAACATCTGGAGGTGCCTCAGTCGTGTGCTTCTTGAACAACTTCTACCCCAA
AGACATCAATGTCAAGTGAAGATTGATGGCAGTGAACGACAAAATGGCGTCTGAACAGTTGGACTGATCAGGACAGCAAAGAC
AGCACCTACAGCATGAGCAGCACCCCTACGTTGACCAAGGACGAGTATGAACGACATAACAGCTATACTGTGAGGCCACTCACA
AGACATCAACTTCACCCATTGTCAAGAGCTTCAACAGGAATGAGTGTTAATTC TCTAGA CGGCGC

图 2 重链 Fd 片段和轻链全长的核苷酸序列

Fig. 2 The nucleotide sequences of heavy chain Fd and full-length light chain genes

Underlined sequences are constant regions, Shaded sequences are CDR regions, Squared sequences are restriction sites, Italic and overstriking sequences are primers

2.3 Fab 噬菌体展示载体 pComb3/Fd-g III-L 的构建
 构建的载体结构见图 3。酶切鉴定结果显示,目

的基因片段已正确插入载体 pComb3 中相应的酶切位点,大小均为 660 bp 左右,为单拷贝插入(图 4)。

图 3 Fab 噬菌体展示载体 pComb3/Fd-g III-L

Fig. 3 Phage display vector pComb3/Fd-g III-L of Fab gene

2.4 间接 ELISA 法检测展示型 Fab 抗体的抗原结合活性

间接 ELISA 显示,展示于噬菌体表面的 Fab 抗体可与 HAB18G 的胞外区片段特异性结合,OD_{450 nm} 值为 0.368,而其它对照均为阴性结果。

一种是配对于 FR4 和恒定区相接的区域,可直接获得重链和轻链 V 区基因,但可能在 FR4 区引入突变。另一种是配对于重链 CH1 和铰链区部位或轻链恒定区 3'端。这种选择可获得可变区准确的 3'端序列,同时可直接构建成 Fab 形式的抗体而对扩增抗体基因的可靠性进行鉴定。

综合上述各有设计方案的优缺点,结合该 HAB18 MAbs 为 IgG1κ 型的特点,我们选用了与 FR1 5'端序列互补的 5'端通用引物和与重链 IgG1 铰链区或 κ 轻链恒定区 3'端配对的 3'端引物来扩增 Fd 基因和轻链全长基因。结果成功地扩增出 Fd 及 L 基因。测序表明, Fd 及 L 基因只在设计的酶切位点区分别有 3 个和 5 个碱基不严格配对,但并不会影响 Fab 结合抗原的活性^[9]。

Cabilly 等^[10]在分析一株经 SP2/0 融合的抗 CEA 杂交瘤中的轻链基因时发现,该杂交瘤除含有抗 CEA 单克隆抗体的轻、重链基因之外,还存在一种异常 κ 链基因。这种异常 κ 链在不同杂交瘤中表达差异非常明显,有时甚至超过功能性轻链 mRNA 表达,对扩增功能性抗体基因带来了一定的困难,尤其是采用可变区通用简并引物。因此,在扩增功能性抗体基因时,应根据不同引物的选择,设计有效的措施去除异常 κ 链的扩增^[11-12]。本研究中我们选用的扩增 MAbs HAB18 全长轻链引物经鉴定没有扩增出假基因。而我们在应用另外一套可变区引物(分别配对于 V 区信号肽序列和 FR4 区)进行扩增 MAbs HAB18 的 VH 和 VL 时,却扩增出大量的假基因,序列测定显示与 Cabilly 等报道的假基因完全一致(另文报道)。该结果可能预示本实验中我们设计选择的引物对于扩增功能性抗体基因具有较好的效果,这一点还需在其他的抗体基因扩增中进一步证实。

文献报道一株杂交瘤细胞中可以含有两种功能性轻链(κ 和 λ)或两种功能性重链^[12-13],但只有其中一种能与对应的重链或轻链结合成为特定抗原特异性的抗体。因此在从杂交瘤细胞中克隆到抗体基因后,还须对其进行抗原结合活性的鉴定,从而确定他们的可靠性。常用的鉴定方法包括 Fab, ScFv 或嵌合 IgG 抗体的构建,但 these 方法都具有操作步骤繁琐、鉴定周期长以及受表达量限制等不足。近年来,噬菌体抗体库技术^[14]在基因工程抗体制备中的应用取得了极大的进展。该技术的最大优点就是将表型与基因型结合在一起,这种功能性筛选方法大大的提高了筛选的准确性和数量。本研究中我们将 MAbs HAB18 的 Fd 和轻链展示于噬菌体的表面,准确快速的鉴定了扩增抗体基因的可靠性。同时也显示了该方案的可行性。

图 4 Fab 噬菌体展示载体 pComb3/Fd-gIII-L 的限制性酶切分析

Fig. 4 Restrictive enzyme digestion analysis of Fab gene phage display vector pComb3/Fd-gIII-L

M: DNA marker; 1: pComb3; 2: pComb3/Fd-gIII-L/Sac I + Xba I; 3: pComb3/Fd-gIII-L/Xho I + Spe I; 4: pComb3/Fd-gIII-L/Xho I + Xba I; 5: pComb3/Fd-gIII-L/Spe I + Nhe I

3 讨论

构建基因工程抗体的第一步,也是最重要的一步,就是准确地克隆抗体轻、重链可变区基因。为了从杂交瘤细胞中获得目的抗体基因,以往常使用限制性内切酶酶解加 Southern 印迹分析法^[7]。近年来, RT-PCR 技术因其简便有效已被广泛用于克隆抗体基因。其中,PCR 引物的设计对于能否顺利的扩增目的基因具有关键性作用。鼠抗体基因 5'端引物根据配对的位置不同,设计方式主要分两种:一种是重链和轻链 V 区 5'端引物与 V 区的前导肽序列互补。利用该种引物可以扩增出准确的抗体 FR1 区,最大程度上避免在工程抗体的构建中引入突变氨基酸,同时扩增的前导肽序列也可用于在哺乳动物细胞表达系统中进行高效表达。但由于前导肽序列的保守性低于 FR1 区,因此相应引物的通用性不高,可能会导致部分特殊单抗的基因无法扩增^[8];另一种是重链和轻链 V 区 5'端引物与 V 区的 FR1 5'端序列互补。该种引物的扩增效率较高,且扩增后可直接用于原核表达研究。但可能在 FR1 区引入突变氨基酸。同样,3'端引物的选择也有两种方式,

[参考文献]

- [1] 边惠洁, 陈志南, 何凤昌, 等. ^{131}I 标记肝癌单克隆抗体 HAb18 F(ab')₂ 的 NBS 法研究[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 1996, 12(2): 28-30.
- [2] 李 竞, 王 琰, 王卓智, 等. 抗胃癌鼠单抗 3H11Fab 段载体的构建、表达及抗体活性检测[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1999, 19(2): 158-161.
- [3] Madden TL, Tatusov RL, Zhang J. Applications of network BLAST server[J]. Meth Enzymol, 1996, 266: 131-141.
- [4] Andrew CR. Martin. AbCheck - Antibody Sequence Test[OL]. URL: <http://www.rubic.rdg.ac.uk/abs/seqtest.html>
- [5] 邢金良, 陈志南, 米 力, 等. 高效表达肝癌相关抗原 HAb18G 的 CHO 细胞株的建立[J]. 肿瘤, 2001, 21(1): 4-6.
- [6] José Saldanha. Humanization by design[OL]. URL: <http://people.cryst.bbk.ac.uk/~ubeg07s/>
- [7] 周昌奎. 嵌合抗体的基因克隆、表达及应用前景[J]. 单克隆抗体通讯, 1995, 11(1): 76-78.
- [8] 李 竞, 王 琰. 抗胃癌鼠单抗 3H11V 区基因的克隆及人-鼠嵌合轻链的表达[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 1997, 17(3): 227-230.
- [9] Froyen G, Hendrix D, Ronsse I, *et al.* Effect of VH and VL consensus sequence-specific primers on the binding and neutralizing potential of a single-chain FV directed towards HuIFN- γ [J]. Mol Immunol, 1995, 32(7): 515-521.
- [10] Cabilly S, Riggs AD. Immunoglobulin transcripts and molecular history of a hybridoma that produces antibody to carcinoembryonic antigen[J]. Gene, 1985, 40: 157-61.
- [11] Cochet O, Martin E, Fridman WH, *et al.* Selective PCR amplification of functional immunoglobulin light chain from hybridoma containing the aberrant MOPC 21-derived V kappa by PNA-mediated PCR clamping[J]. Biotechniques, 1999, 26: 818-822.
- [12] Krebber A, Bornhauser S, Burmester J, *et al.* Reliable cloning of functional antibody variable domains from hybridomas and spleen cell repertoires employing a reengineered phage display system[J]. J Immunol Methods, 1997, 201: 35-55.
- [13] Spira G, Yuan R, Paizi M, *et al.* Simultaneous expression of kappa and lambda light chains in a murine IgG3 anti-Cryptococcus neoformans hybridoma cell line[J]. Hybridoma, 1994, 13: 531-535.
- [14] 寿成超. 噬菌体抗体库技术的研究进展[J]. 细胞生物学杂志, 2002, 24(1): 1-4.

[收稿日期] 2003 - 03 - 28

[修回日期] 2003 - 04 - 10

· 研究简报 ·

[文章编号] 1007-385X(2003)02-0083-01

亚砷酸诱导人鼻咽癌细胞凋亡及其对细胞周期的影响

林英城¹, 吴名耀², 李德锐¹, 杜彩文¹, 吴肾英², 陈炯玉¹, 洪超群¹, 郑瑞明¹(1. 汕头大学医学院附属肿瘤医院内科, 广东 汕头 515031; 2. 汕头大学医学院病理学教研室, 广东 汕头 515031)

细胞凋亡与肿瘤的发生和治疗的关系是近年来肿瘤学界研究的热点, 细胞凋亡受阻将导致细胞代谢的紊乱和肿瘤的发生与发展。本研究拟探讨亚砷酸体外对人鼻咽癌细胞株 CNE1 的凋亡诱导作用以及对细胞周期的影响, 以寻求鼻咽癌治疗的新途径。

将浓度 5×10^5 /ml 的 CNE1 细胞接种于 50 ml 培养瓶中, 置于 37℃, 5% CO₂ 条件下培养 24 h, 大部分细胞贴壁后, 实验组加入不同浓度的亚砷酸, 继续培养至预定的时间, 收集悬浮及贴壁细胞, 70% 冷酒精固定过夜, 常规碘化丙锭 (PI) 染色, 流式细胞仪检测 DNA 含量及细胞周期分析。细胞离心成团, 用 1% 冰醋酸无水酒精固定 1 h, 脱水浸蜡制成细胞团蜡块, 切成 4 μm 厚, 进行形态学研究。HE 染色: 显微镜下观察细胞凋亡的特征性变化; 按 TUNEL 试剂盒操作说明检测凋亡细胞。

CNE1 细胞经不同浓度亚砷酸作用后, 流式细胞仪分析细胞 DNA 的含量, 可见亚二倍体峰, 随作用时间的延长以及药物浓度的增加, 凋亡细胞的数量明显增多。不同浓度亚砷酸作用 CNE1 细胞 72 h 后, 细胞周期发生明显改变, 表现为随着亚砷酸浓度的增加, G₂/M 期细胞比例逐渐增多, 对照组占 7.64%, 0.125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组占 11.24%, 0.25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组占

16.48%, 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组占 22.83%, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 组占 23.2%。HE 染色, 可看到较为典型的细胞凋亡的形态学变化: 细胞核固缩, 染色质片断化或凝集, 呈新月形紧贴于核膜周边, 核碎裂, 凋亡小体形成等。原位末端标记法 (TUNEL) 检测 CNE1 细胞与亚砷酸作用后, 细胞核呈现棕褐色颗粒, 未经亚砷酸作用的 CNE1 细胞未见棕褐色颗粒。

亚砷酸在一定条件下能诱导 CNE1 细胞发生凋亡, 并呈一定的时效和量效关系。流式细胞仪检测显示, 经亚砷酸处理后, CNE1 细胞周期发生明显变化, 其中 G₂/M 期细胞增多, 说明亚砷酸可能作用于 G₀/G₁ 期, 使 G₂/M 期细胞堆积。但亚砷酸引起人鼻咽癌细胞株 CNE1 细胞周期分布改变和诱导其发生凋亡的关系, 以及具体机制如何, 有待于进一步实验证实。

[关键词] 亚砷酸; 鼻咽癌; 细胞凋亡; 细胞周期; 治疗

[中图分类号] R739.63

[文献标识码] D

[收稿日期] 2002 - 10 - 25

[修回日期] 2003 - 01 - 15

[基金项目] 汕头大学研究和发基金资助 (No. L03002), 汕头市重点科技计划项目 (汕府科 [2002] 90 号)