

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2006.02.01

研究生专栏

甲基硒酸对人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 增殖和凋亡作用及其分子机制的初步研究

刘洁薇 钟晓蓉 周清华 Allen C. Gao 王艳萍 朱文 马力 张芷旋

摘要 **背景与目的** 已有的研究表明硒具有防癌作用和抑制乳腺癌、前列腺癌细胞株增殖的作用, 但有关甲基硒酸(MSA)是否具有抗肺癌的作用目前尚不清楚。本研究的目的是探讨 MSA 对人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 是否具有生长抑制及诱导凋亡的作用, 并对其分子机制作初步探讨。**方法** 应用体外细胞培养技术, 以 MSA 处理 L9981 细胞株, 应用台盼蓝计数法、克隆形成实验和流式细胞术检测 MSA 处理 L9981 细胞株前后细胞株体外增殖、克隆形成和凋亡水平的变化。应用流式细胞术检测 MSA 处理 L9981 细胞株前后细胞周期、细胞周期相关蛋白和凋亡相关蛋白表达水平的变化。**结果** ¹ MSA 在大于 0.5 Lmol/L 的浓度时可显著抑制 L9981 细胞株的增殖($P < 0.05$), 细胞被阻滞于 G₀/G₁ 期。² MSA 浓度在 2.5 Lmol/L 时可诱导 L9981 细胞株进入凋亡($P < 0.05$)。³ MSA 在 5 Lmol/L 时可明显抑制 L9981 细胞株的克隆形成能力($P < 0.05$)。⁴ MSA 能显著上调 P53、P21、Fas、FasL 和 Bax 蛋白表达水平。**结论** ¹ MSA 可显著抑制人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 的体外增殖和克隆形成能力, 并诱导细胞凋亡;² MSA 的抗肺癌作用可能与其调控肺癌细胞株 L9981 细胞周期和细胞凋亡相关基因表达有关。

关键词 甲基硒酸 人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 生长抑制 凋亡

中图分类号 R734.2; R732.3

Primary experimental results of methylseleninic acid on the proliferation inhibition and apoptotic induction in human high metastatic large cell lung cancer cell line L9981 LIU Jiewei*, ZHONG Xiaorong*, ZHOU Qinghua*, Allen C. Gao^v, WANG Yanping*, ZHU Wen*, MA Li*, ZHANG Zhixuan*. * The Key Laboratory of Lung Cancer Molecular Biology of Sichuan Province, Cancer Center, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, P. R. China; ^v Departments of Medicine, Pharmacology and Therapeutics, Roswell Park Cancer Institute, State University of New York at Buffalo, Elm and Carlton Streets, Buffalo, New York 14263, USA (LIU Jiewei and ZHONG Xiaorong are co-first authors)

Corresponding author: ZHOU Qinghua, E-mail: zhouqh1016@yahoo.com.cn

Abstract **Background and objective** It has been proved that selenium has remarkable effects in the prevention of cancer and proliferation inhibition for breast cancer and prostate cancer. Up to now, little is known, however, if methylseleninic acid (MSA) has the anticancer effect on lung cancer or not. The objective of this study is to detect the effect of MSA on proliferation inhibition and apoptotic induction for human high metastatic large cell lung cancer cell line L9981, and to explore the molecular mechanisms. **Methods** The changes of proliferation, clone formation, apoptotic level and cell cycles were detected in L9981 by trypan blue staining, clone formation suppression test, and flow cytometry before and after treating with different concentration of MSA. The expression level of proliferative-related and apoptotic-related genes was also determined in L9981 by flow cytometry. **Results** ¹ The proliferation ability of L9981 was remarkably inhibited at the concentration of 0.5 Lmol/L of MSA ($P < 0.05$), and the cells were arrested at G₀/G₁ phase after treating with the same concentration. ² Apoptosis of L9981 was remarkably induced by MSA at the concentration of 2.5 Lmol/L ($P < 0.05$). ³ The clone formation ability of L9981 was significantly suppressed by MSA at the concentration of 5.0 Lmol/L ($P < 0.05$). ⁴ The expression levels of P53, P21, Fas, FasL and Bax were

remarkably upregulated after treatment with MSA. Conclusion MSA can significantly suppress the proliferation and clone formation ability of human high metastatic large cell lung cancer cell line L9981, and also induce apoptosis of L9981. The anticancer effects of MSA might be related to regulate the expression of cell cycle-related genes and apoptotic-related genes in the human high metastatic large cell lung cancer line L9981.

Key words: Methylseleninic acid Human high metastatic large cell lung cancer line L9981 Growth inhibition Apoptosis

硒作为一种人体必需的微量元素,以硒代半胱氨酸形式掺入 12 个以上的已知蛋白或酶,发挥着非常重要的生理作用。硒的防癌抑癌作用是近年来人们关注的焦点。Clark 等第一次在双盲随机对照试验中发现硒酵母(200 Lg/d)能有效而安全地预防前列腺癌、肺癌和结肠癌^[1]。目前,至少有 8 个人体试验和 100 多个动物实验已证明,高于生理需要量的硒摄取对包括食道癌、胃癌、结直肠癌、肝癌、前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌及肺癌等^[2]肿瘤的发生均有预防作用。Ip 等^[3]合成了甲基硒酸(CH₃SeO₂H, methylseleninic acid, MSA),并证明体细胞可以不借助肝脏和肾脏的 B 裂解酶代谢途径,而是通过谷胱甘肽和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(NADPH)的非酶途径将摄取的 MSA 还原为甲基硒(methylselenol)。这种单甲基化形式的硒(methylselenol, CH₃SeH)则是硒在体内参与防癌抑癌的最佳活性化合物形式^[2,4,5]。已有的研究表明 MSA 可能是一种很有潜力的抗肿瘤制剂,体外实验已证实小剂量 MSA(5~10 Lmol/L)对多种人体肿瘤细胞株具有生长抑制和诱导凋亡的作用^[6-9]。迄今有关 MSA 是否具有抗肺癌作用及其分子机制人们尚知之甚少。本研究的目的旨在通过体外实验探讨 MSA 是否对人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 亦具有生长抑制和诱导凋亡作用,并试图对其分子机制作初步探讨。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 肺癌细胞株 本研究所用人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 系由四川大学华西医院四川省肺癌分子重点实验室筛选建立。人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 是应用单细胞克隆化技术从人大细胞肺癌细胞株 WCQH29801 中分离构建,该细胞株存在 nm232H₁ 等位基因杂合性缺失,具有较强的体外增殖能力、克隆形成率和体外侵袭力^[10]。

1.1.2 试剂 本研究所用 MSA 由美国纽约州立大学 Allen C. Gao 教授提供。MSA 配为 10 mmol/L 溶

液,-20℃ 避光保存;顺铂购自云南个旧药业生物有限公司;RPMI1640 培养基购自美国 GIBCO 公司;新生小牛血清购自成都哈里生物有限公司;胰蛋白酶购自上海化学试剂供应站;EDTA 等其余试剂为国产分析纯;所有溶液均用双蒸水配制。

1.1.3 设备材料 细胞培养 CO₂ 孵箱(法国 JOUAN 公司),超净台(AIR TECH 公司),倒置相差显微镜、光学显微镜(日本 Olympus 公司),Epic2XL 0 型流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司),低速自动平衡离心机 LD2522(北京医用离心机厂),12 孔板(Costar 公司),组织培养皿(30 mm @10 mm, Falcon 公司),细胞计数板(Neubauer FeinOptik Jena)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及生长曲线的绘制 L9981 细胞株于 RPMI1640 培养液(含 10% 小牛血清、100 u/mL 青霉素、100 u/mL 链霉素),37℃、5% CO₂ 孵箱中培养至对数生长期(细胞密度 80%~90%)。0.25% 胰蛋白酶消化 3~4 min,终止反应,吹打制备成单细胞悬液,调节细胞浓度,以 3.8 @10⁴ 个/孔密度接种于 12 孔板。培养 24 h 细胞贴壁后,弃原培养液,分别加入终浓度为 0.5、2.5、5.0、7.5 Lmol/L 的 MSA;同时设对照组,仅加入等体积培养液;设阳性对照组,加入终浓度为 2.5 mg/L 的 DDP。每组设 3 个重复孔。分别于药物作用后第 1、2、3、4、5 天,每处理组取 3 孔细胞消化,4% 台盼蓝染色,光镜下细胞计数板测定 3 孔活细胞总数,取均值,以时间为横轴,活细胞数为纵轴绘制各处理组生长曲线。并根据对数生长期计算 L9981 细胞株群体倍增时间:群体倍增时间= 生长时间/ log₂(细胞终浓度/初浓度)

1.2.2 平板法克隆形成实验 取对数生长期细胞消化制成单细胞悬液,以每皿 300 个细胞的密度接种入组织培养皿中。培养 24 h 细胞贴壁后,分别加入 MSA 使其终浓度为 2.5、5.0、7.5 Lmol/L;同时设对照组,加入等体积培养液;每组设 3 个重复实验。药物作用 24 h 后换为普通培养液于 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养,倒置相差显微镜下观察至接种第 7 日,克隆已形

成且未相互融合时, 终止实验。弃原培养液, PBS 洗涤 2 次, 甲醇固定 30 min, Giemsa 染色 15 min, 铺网格纸, 肉眼计数可见蓝色克隆。由 2 人分别计数, 取均值, 并计算克隆形成率(克隆形成率=克隆形成数/接种细胞数 @100%)。

1.2.3 细胞凋亡百分率和细胞周期时相分布图的测定 取对数生长期细胞消化制成单细胞悬液, 以 1.1×10^6 密度接种 50 mL 培养瓶(底面积 24 cm^2) 中, 培养 24 h 细胞贴壁后(密度 70%), 弃原培养液, 分别加入终浓度为 2.5 和 5.0 Lmol/L 的 MSA; 同时设对照组, 加入等体积培养液。分别于药物作用后 6、12、24 和 36 h 消化收集细胞悬液, 离心(1000 r/min, 8 min), PBS 洗涤 2 次, 70%冷乙醇固定。采用溴化己啶(EB)染色法, 于 Epics2XL 型流式细胞仪上机检测细胞凋亡百分率, 用 Muticycle AV 分析软件对 DNA 细胞周期时相分布进行拟和分析。

1.2.4 流式细胞仪检测细胞周期和凋亡相关基因蛋白表达量 药物处理和细胞收集方法同 1.2.3。取单细胞悬液 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 加入鼠抗人单克隆抗体孵育 30 min, PBS 洗涤, 加入羊抗鼠 FITC2IgG 二抗孵育 30 min, PBS 洗涤并离心弃上清, 于 Epics2XL 型流式细胞仪上机测定蛋白免疫荧光标记物, 应用 Expo32 AD 进行免疫荧光数据分析。检测 FasL、Fas、Bax、Cyclin D1、P53 及 P21 蛋白表达水平。

1.2.5 统计学方法 所有数据的统计分析均采用 SPSS13.0 及 Microsoft Excel 2000 软件。采用方差分析和 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组肺癌细胞株 L9981 生长曲线的比较 各组肺癌细胞株体外增殖能力, 除 MSA 0.5 Lmol/L 组在第 3 天增殖情况与对照组比较无统计学差异外($P > 0.05$), 0.5、2.5、5.0 和 7.5 Lmol/L MSA 在第 3、4、5 天与对照组比较均有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P <$

0.01)。但各 MSA 浓度组在不同时间段与 DDP 组 2.5 mg/L 组间比较均无统计学差异($P > 0.05$) (图 1)。根据第 2 天至第 4 天对数生长期的增殖情况, 计算对照组和 MSA 组的群体倍增时间, 对照组的倍增时间为 13.5 h, 而 MSA 0.5 Lmol/L、2.5 Lmol/L、5.0 Lmol/L、7.5 Lmol/L 组倍增时间分别 11.8 h、15.3 h、75.6 h 和 173.6 h, MSA 5.0 和 7.5 Lmol/L 组倍增时间显著延长($P < 0.01$)。

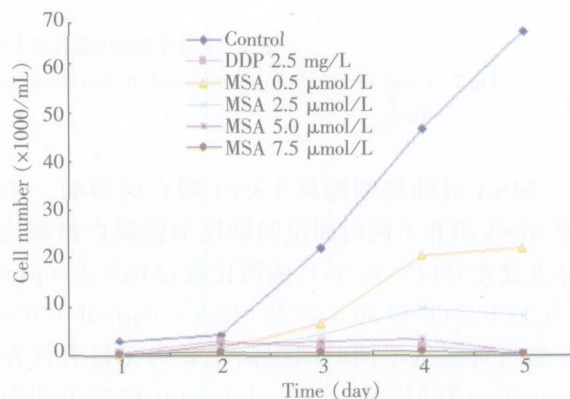


图 1 不同处理组人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 生长曲线比较
Fig 1 The growth curves of different human high2metastatic large cell lung cancer cell line L9981 groups, including control, positive control (DDP 2.5 mg/L), MSA group (0.5Lmol/L, 2.5Lmol/L, 5.0Lmol/L, 7.5Lmol/L) (Trypan blue staining cell counting)

2.2 MSA 对肺癌细胞株 L9981 克隆形成能力的影响 不同浓度 MSA 组克隆形成率经方差分析有显著性差异($P < 0.05$); 两两比较: MSA 5.0 Lmol/L 和 7.5 Lmol/L 组克隆形成率显著低于对照组 ($P < 0.05$), 而 MSA 2.5 Lmol/L 组与对照组间比较无显著性差异 ($P > 0.05$)。MSA 7.5 Lmol/L 与 MSA 5.0 Lmol/L 和 MSA 2.5 Lmol/L 组间比较均有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但 MSA 5.0 Lmol/L 与 MSA 2.5 Lmol/L 组间比较则无显著性差异($P > 0.05$) (表 1, 图 2)。

表 1 MSA 对人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 克隆形成能力的影响 (χ^2 s)

Tab 1 Effect of MSA on clone formation in human high2metastatic large cell lung cancer cell line L9981 (χ^2 s)

Item	Group			
	Control	MSA 2.5 Lmol/L	MSA 5.0Lmol/L	MSA 7.5 Lmol/L
Clone number ^a	175.50? 1.80	156.00? 22.10	144.17? 20.46 ^a	112.83? 10.32 ^{ab}
Clone rate (%) ^a	58.50? 0.60	51.94? 7.46	48.00? 6.89	37.61? 3.44

a: Significantly different compared with the corresponding control value ($P < 0.05$); b: Group of MSA 7.5 Lmol/L was significantly different compared with groups of MSA 2.5 Lmol/L and MSA 5.0Lmol/L ($P < 0.05$)

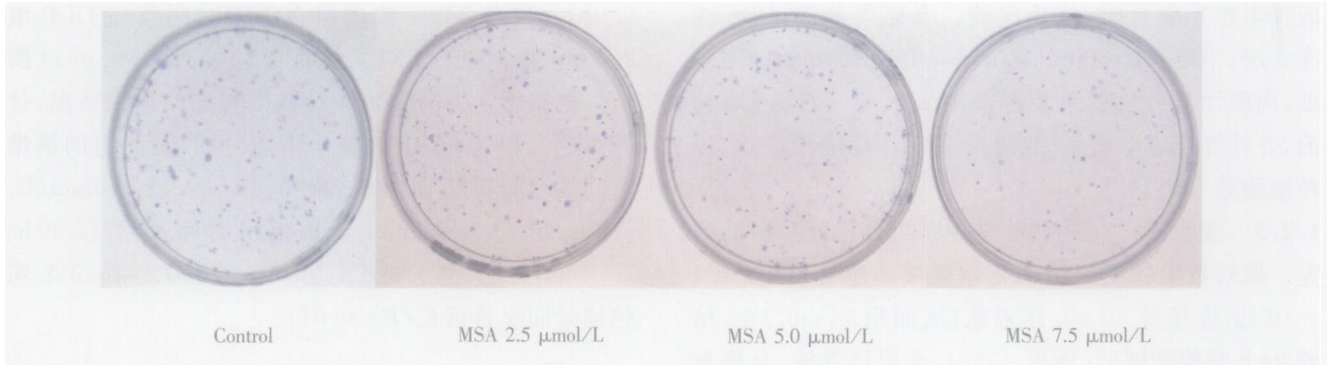


图 2 不同处理组人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 克隆形成的大体照片

Fig 2 Clone formation for human high2metastatic large cell lung cancer cell L9981 treated with different concentration of MSA

2.3 MSA 对肺癌细胞株 L9981 凋亡的影响 不同浓度 MSA 组和不同时间组间肺癌细胞凋亡指数比较有显著性差异(P < 0.05); 两两比较: MSA 2.5 Lmol/L 6 h、12 h、24 h 和 36 h, 以及 MSA 5.0 Lmol/L 6 h 和 12 h 组与对照组不同时间组间比较均无显著性差异(P > 0.05); 但 MSA 5.0 Lmol/L 24 h 和 36 h 组与对照组和 MSA 2.5 Lmol/L 不同时间组间比较均有显著性差异(P < 0.05) (图 3)。

2.4 MSA 对肺癌细胞株 L9981 细胞周期的影响 MSA 2.5 Lmol/L 处理 12 h、24 h 组和 MSA 5.0 Lmol/L 处理 6 h、12 h、24 h、36 h 组的 G₀/G₁ 期细胞显著高于对照组(P < 0.01), 处理 6 h、12 h 时, 两 MSA 组间 G₀/G₁ 期细胞无统计学差异(P > 0.05), 而处理 24 h、36 h 时, 两 MSA 组间有显著性差异(P < 0.01) (表 2)。

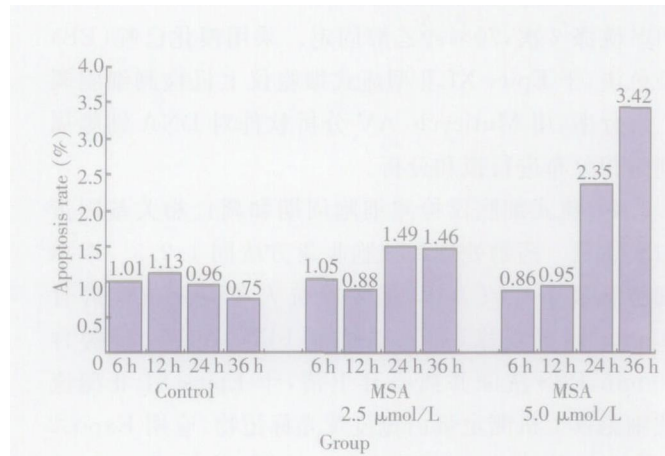


图 3 不同处理组人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 凋亡百分率比较
Fig 3 Comparison of apoptosis rate in human high2metastatic large cell lung cancer cell line treated with different concentration of MSA and different time

表 2 MSA 对人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 细胞周期分布的影响 (%)

Tab 2 The effects of MSA on the cell cycle in human high2metastatic large cell lung cancer cell line L9981 treated with different concentration of MSA (%)

Cycle phase	Control				MSA 2.5 Lmol/L				MSA 5.0 Lmol/L (h)			
	6 h	12 h	24 h	36 h	6 h	12 h	24 h	36 h	6 h	12 h	24 h	36 h
G ₁ /G ₀	22.6	25.1	31.4	32.8	23.3	29.8	41.1	32.5	24.9	29.2	37.5	61.5
S	44.2	37.5	36.9	37.7	41.9	17	23.6	31.9	29.4	7.37	2.88	0
G ₂ /M	33.2	37.4	31.7	29.4	34.8	53.2	35.3	35.6	45.8	63.4	59.6	38.5

2.5 MSA 对肺癌细胞株 L9981 凋亡相关基因表达水平的影响 MSA 2.5 Lmol/L 和 5.0 Lmol/L 处理肺癌细胞株 12 h 和 36 h 后, FasL、Fas、Bax 表达水平较对照组相同时间组明显上调(P < 0.05) (表 3)。

2.6 MSA 对肺癌细胞株 L9981 细胞周期相关基因表达水平的影响 MSA 2.5 Lmol/L 和 5.0 Lmol/L 处理肺癌细胞株 36 h 后, Cydin D1、P53 和 P21 表达水平均较对照组显著上调(P < 0.05) (表 4)。

表 3 MSA 对人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 凋亡相关基因表达水平的影响

Tab 3 The effect of MSA on the apoptosis2related gene expression in human high2metastatic lung cancer cell L9981 treated with MSA for 36 hours

Gene	Control	MSA 2.5 Lmol/L	MSA 5.0 Lmol/L	P value
Fas	38.8	51.3	56.9	< 0.05
FasL	40.4	61.3	59.7	< 0.05
Bax	47.4	81.6	181.3	< 0.05

表 4 MSA 对人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 细胞周期相关基因表达水平的影响

Tab 4 The effect of MSA on the cell cycle related gene expression in human high metastatic lung cancer cell line L9981 treated with MSA for 36 hours

Gene	Control	MSA		P value
		2.5 Lmol/L	5.0 Lmol/L	
P21	65.9	101.4	153.6	< 0.05
P53	58.7	64.9	81.2	< 0.05
Cyclin D1	54.8	66.7	111.9	< 0.05

3 讨论

肺癌是发病率和死亡率增长最快,对人类健康和生命威胁最大的恶性肿瘤。研究和开发天然抗肿瘤药物是目前抗肿瘤药研发中的前沿和热点课题^[9,11]。硒是近年来被发现具有防癌和抑癌作用的天然微量元素或/和天然防癌抑癌药物^[12-25]。

硒是人体和哺乳动物必需的微量元素,许多流行病学资料和一些临床试验已初步证明硒具有防癌或/和抑癌作用^[1-5]。1996年,美国学者 Clark 等^[1]在总结 1312 例应用硒预防皮肤癌的双盲随机对照试验结果时意外地发现,服用硒可明显降低前列腺癌、结肠直肠癌和肺癌的发生率。2000年, Liu 等报道硒可抑制肝癌细胞株(H22)的体外增殖能力^[22]。另外,亦有研究发现硒不但能抑制化学致癌剂^[23,24]和病毒诱发肿瘤的发生,而且在自发性和移植性肿瘤动物模型^[25]中,硒也有抑制肿瘤发生和生长的作用。

近年来,国外研究发现硒除了具有防癌作用外,硒在体内外均有抗癌作用^[7,8,15-20]。2001年, Sinha 等^[7]报道 MSA 能抑制鼠乳腺癌细胞株的增殖能力。2002年, Zhu 等^[8]发现 MSA 能使肿瘤细胞阻滞于 G₀/G₁ 期。本研究应用不同浓度的 MSA 处理人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 后,观察到 MSA 在 0.5 Lmol/L 浓度时就能明显抑制 L9981 的体外增殖能力,而且 MSA 对 L9981 体外增殖能力的抑制作用具有剂量和时间依赖性。MSA 对 L9981 肺癌细胞株的抑制作用与抗肺癌经典化疗药物顺铂比较,无显著性差异(P > 0.05),表明 MSA 具有与 DDP 类似或/和相同的抗肺癌效率。此外,本研究还观察到 MSA 能显著延长 L9981 细胞的倍增时间。本研究体外克隆形成抑制实验结果显示,2.5 Lmol/L 的 MSA 可明显抑制 L9981 的克隆形成率。同样,MSA 抑制人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 克隆形成率的能力亦具有剂量和时间依赖性。本研究流式细胞术结果显示,MSA 处理 L9981 后,大部分肺癌细胞被阻滞在 G₀/G₁ 期。上述结果表明,MSA 具有明显的抗肺癌作用。

关于硒抗肿瘤作用的分子机制的研究已有一些报道^[12-18]。2001年, Jiang 等^[12]发现 MSA 通过影响 caspases 信号传导通路,诱导前列腺癌细胞株 Du2145 凋亡。2004年, Dong 等^[15]发现硒通过破坏雄激素受体信号传导,下调前列腺特异抗原(PSA)表达,抑制前列腺癌细胞增殖。2005年, Dong 等^[16]进一步发现雄激素信号传导是前列腺癌细胞对硒的生长抑制作用敏感性的关键因素。2005年, Lee 等^[18]报道硒通过改变人乳腺癌细胞株雌激素受体表达和配体与受体的结合,破坏雌激素受体信号传导,从而抑制人乳腺癌细胞株的增殖能力。本研究应用流式细胞术检测 MSA 处理人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 前后细胞凋亡和细胞周期相关基因蛋白表达水平的变化,观察到 2.5 Lmol/L 和 5.0 Lmol/L 的 MSA 处理 L9981 后,均能显著上调 Fas、FasL、Bax、p21、p53 和 Cyclin D1 基因表达水平。上述结果与国外研究硒处理乳腺癌和前列腺癌细胞株后得到的结果相似。

有关 MSA 诱导肿瘤细胞凋亡的分子机制不同作者的研究结果不完全一致,但 MSA 诱导肿瘤细胞凋亡主要是通过 caspase 级联反应来实现的这一观点已被大多数学者所接受^[12-14]。较为公认的观点是:MSA 在诱导 caspase 级联的凋亡反应中, caspase28 作为凋亡反应的上游调控蛋白,起着最为关键和核心的作用。caspase28 的活化将激活 caspase29 或/和 caspase27,二者又分别激活 caspase23,并最终导致 PARP[poly(ADP-ribose) polymerase] 分裂和 DNA 断裂,细胞进入凋亡程序。此外, caspase23 的激活将诱导线粒体中的细胞色素 C 释放,从而正反馈促进 caspase28 的进一步活化。本研究观察到 MSA 可诱导人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 细胞凋亡,其部分机制可能与 MSA 上调 Fas 和 FasL 表达有关。由于 Fas 和 FasL 的结合是 caspase28 活化的上游调控基因,故推测 MSA 可能通过促进 Fas 和 FasL 的表达和结合,从而激活以 caspase28 为核心的 caspase 级联反应,进而诱导人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 凋亡。此外,本研究还观察到 MSA 可上调 P53、Bax 和 P21 的表达,亦可以启动其它凋亡程序,进一步促进肺癌细胞凋亡。

综上所述,本研究初步观察到 MSA 具有明显抑制人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 的体外增殖、克隆形成能力,并能诱导其凋亡。此外,MSA 还能上调人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 凋亡相关基因的表达水平。但是,MSA 抗人高转移大细胞肺癌细胞株 L9981 的确切机制远未能完全明了,还必须进行更深

入的研究加以阐明。

参 考 文 献

- Clark LC, Combs GF Jr, Turnbull BW, et al. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA*, 1996, 276(24) B 1952-1563. Erratum in: *JAMA*, 1997, 277(19) B 1520.
- Whanger PD. Selenium and its relationship to cancer: an update dagger. *Br J Nutr*, 2004, 91(1) B 1228.
- Ip C, Thompson HJ, Zhu Z, et al. In vitro and in vivo studies of methylseleninic acid: evidence that a monomethylated selenium metabolite is critical for cancer chemoprevention. *Cancer Res*, 2000, 60(11) B 2882-2886.
- Abdulah R, Miyazaki K, Nakazawa M, et al. Chemical forms of selenium for cancer prevention. *J Trace Elem Med Biol*, 2005, 19(23) B 1412-150.
- Huang HH, Su M. Advances in the study on selenium and its chemoprevention and mechanisms of anticarcinogenic effect. *J Environ Occup Med*, 2003, 20(3) B 242-245. [黄梅花, 苏敏. 硒及其化合物防癌抗癌机制新进展. *环境与职业医学*, 2003, 20(3) B 242-245.]
- Dong Y, Zhang H, Hawthorn L, et al. Delineation of the molecular basis for selenium-induced growth arrest in human prostate cancer cells by oligonucleotide array. *Cancer Res*, 2003, 63(1) B 52-59.
- Sinha R, Unni E, Ganther HE, et al. Methylseleninic acid, a potent growth inhibitor of synchronized mouse mammary epithelial tumor cells in vitro. *Biochem Pharmacol*, 2001, 61(3) B 312-317.
- Zhu Z, Jiang W, Ganther HE, et al. Mechanisms of cell cycle arrest by methylseleninic acid. *Cancer Res*, 2002, 62(1) B 152-164.
- Swede H, Dong Y, Reid M, et al. Cell cycle arrest biomarkers in human lung cancer cells after treatment with selenium in culture. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 2003, 12(11 Pt 1) B 1248-1252.
- Zhou QH, Wang YP, Che GW, et al. Establishment and their biological characteristics of clonal cell subpopulations (NL9980 and L9981) from a human lung large cell carcinoma cell line (WCQH9801). *Chin J Lung Cancer*, 2003, 6(6) B 464-468. [周清华, 王艳萍, 车国卫, 等. 人大细胞肺癌细胞系 NL9980 和 L9981 的建立及其生物学特性研究. *中国肺癌杂志*, 2003, 6(6) B 464-468.]
- El-Bayoumy K, Sinha R. Molecular chemoprevention by selenium: A genomic approach. *Mutat Res*, 2005, 591(22) B 22-236.
- Jiang C, Wang Z, Ganther H, et al. Caspases as key executors of methyl selenium-induced apoptosis (anoikis) of DU145 prostate cancer cells. *Cancer Res*, 2001, 61(7) B 3062-3070.
- Hu H, Jiang C, Ip C, et al. Methylseleninic acid potentiates apoptosis induced by chemotherapeutic drugs in androgen-independent prostate cancer cells. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(6) B 2372-2388.
- Zu K, Ip C. Synergy between selenium and vitamin E in apoptosis induction is associated with activation of distinctive initiator caspases in human prostate cancer cells. *Cancer Res*, 2003, 63(20) B 6982-6995.
- Dong Y, Lee SO, Zhang H, et al. Prostate specific antigen expression is downregulated by selenium through disruption of androgen receptor signaling. *Cancer Res*, 2004, 64(1) B 1922.
- Dong Y, Zhang H, Gao AC, et al. Androgen receptor signaling intensity is a key factor in determining the sensitivity of prostate cancer cells to selenium inhibition of growth and cancer-specific biomarkers. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(7) B 1042-1055.
- Cho SD, Jiang C, Malewicz B, et al. Methyl selenium metabolites decrease prostate specific antigen expression by inducing protein degradation and suppressing androgen-stimulated transcription. *Mol Cancer Ther*, 2004, 3(5) B 602-611.
- Lee SO, Nadiminty N, Wu XX, et al. Selenium disrupts estrogen signaling by altering estrogen receptor expression and ligand binding in human breast cancer cells. *Cancer Res*, 2005, 65(8) B 3482-3492.
- Shah YM, Al-Dhaheeri M, Dong Y, et al. Selenium disrupts estrogen receptor (alpha) signaling and potentiates tamoxifen antagonism in endometrial cancer cells and tamoxifen-resistant breast cancer cells. *Mol Cancer Ther*, 2005, 4(8) B 1232-1249.
- Shah YM, Kaul A, Dong Y, et al. Attenuation of estrogen receptor alpha (ERalpha) signaling by selenium in breast cancer cells via downregulation of ERalpha gene expression. *Breast Cancer Res Treat*, 2005, 92(3) B 239-250.
- Ganther H, Ip C. Thioredoxin reductase activity in rat liver is not affected by supranutritional levels of monomethylated selenium in vivo and is inhibited only by high levels of selenium in vitro. *J Nutr*, 2001, 131(2) B 301-304.
- Liu S, Shia D, Liu G, et al. Roles of Se and NO in apoptosis of hepatoma cells. *Life Sci*, 2000, 68(6) B 603-610.
- El-Bayoumy K, Narayanan BA, Desai DH, et al. Elucidation of molecular targets of mammary cancer chemoprevention in the rat by alpha2-ganoselenium compounds using cDNA microarray. *Carcinogenesis*, 2003, 24(9) B 1505-1514.
- Zhu MX, Zhang JS, Yang ZH, et al. Nanoselenium prevents lung tumorigenesis induced by 42(methylnitrosamino)-2-(2-pyridyl)-2-butanolone in Kunming mice. *Chin J Cancer*, 2000, 19(10) B 882-886. [朱茂祥, 张劲松, 杨陟华, 等. 纳米硒对 42(甲基亚硝胺)-2(2-吡啶)-2-丁酮诱发昆明小鼠肺癌的防治研究. *癌症*, 2000, 19(10) B 882-886.]
- Cheng DS, Deng YP, Lu XY. Effect of selenium supplementation on transplantive tumor growth and lymphocyte functions in mice. *Acta Univ Sci Med Chongqing*, 2000, 25(1) B 41-43. [程道胜, 邓一平, 卢贤瑜. 补硒对小鼠移植瘤生长及淋巴细胞功能的影响. *重庆医科大学学报*, 2000, 25(1) B 41-43.]

(收稿: 2006-02-01 修回: 2006-02-28)

(本文编辑 张世雯)