

DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2005.04.01

# 人参单体 Rh<sub>2</sub> 诱导人肺腺癌 A549/DDP 细胞凋亡的体外研究

周东波 胡成平 苏晓丽 杨红忠

**【摘要】** 背景与目的 肺癌已成为人类癌症主要死亡原因之一。从植物中开发抗肿瘤药物是国内外抗肿瘤新药开发的一个热点。本研究的目的是观察人参单体 Rh<sub>2</sub> 诱导人肺腺癌 A549/DDP 细胞系凋亡的作用,并探讨其可能的分子机制。方法 体外培养的人肺腺癌 A549/DDP 细胞经不同浓度梯度的人参单体 Rh<sub>2</sub> 干预,分别应用 MTT 实验观察其对细胞增殖的影响,用流式细胞术检测细胞周期、凋亡指数及相关基因表达的改变,以及用双抗体夹心 ELISA 法测定细胞上清液 sAp $\sigma$  1/Fas 浓度变化。结果 ①人参单体 Rh<sub>2</sub> 可抑制 A549/DDP 细胞的生长,并呈剂量、时间依赖作用。②人参单体 Rh<sub>2</sub> 处理 A549/DDP 细胞 24 h,实验组凋亡指数显著高于对照组( $P < 0.001$ ),G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例显著高于对照组( $P < 0.01$ ),S 期细胞比例显著低于对照组( $P < 0.01$ ),G<sub>2</sub>/M 期细胞比例与对照组比较无显著性差异( $P > 0.05$ )。③实验组 p53、Fas 阳性表达率显著高于对照组( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ),Bcl 2 阳性表达率显著低于对照组( $P < 0.001$ )。④实验组 A549/DDP 细胞培养上清液于不同时间 sAp $\sigma$  1/Fas 含量均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。结论 人参单体 Rh<sub>2</sub> 具有诱导人肺腺癌 A549/DDP 细胞凋亡的作用,其分子机制可能是上调 p53 和 Fas 及下调 Bcl 2 的表达、通过 Fas/FasL 系统途径诱导细胞凋亡。

**【关键词】** 人参单体 Rh<sub>2</sub> 肺肿瘤 A549/DDP 细胞株 凋亡

**【中图分类号】** R285.5; R734.2

**Study on apoptosis of human lung adenocarcinoma cell line A549/DDP induced by ginsenoside Rh<sub>2</sub> in vitro**  
ZHOU Dongbo, HU Chengping, SU Xiaoli, YANG Hongzhong. Department of Respiratory Medicine, Xiangya Hospital, Central Southern University, Changsha, Hunan 410008, P. R. China

Corresponding author: HU Chengping, E-mail: huchengp28@hotmail.com

**【Abstract】 Background and objective** Lung cancer is one of the leading causes of cancer related death in mankind. To exploit antitumor drug from plant has been a highlight at home and abroad. The aim of this study is to investigate the apoptosis of human lung adenocarcinoma cell line A549/DDP induced by ginsenoside Rh<sub>2</sub> (G Rh<sub>2</sub>) and to explore its possible molecular mechanism. **Methods** The growth inhibition effect of G Rh<sub>2</sub> on A549/DDP cells was evaluated by MTT assay. Cell cycle analysis, apoptosis index and tumor related gene expression were detected by flow cytometry. The changes of sAp $\sigma$  1/Fas level in the cell culture supernatant were determined by ELISA method. **Results** ① G Rh<sub>2</sub> significantly inhibited the growth of A549/DDP cells in a dose time dependent manner. ② After 24 hours' treatment with G Rh<sub>2</sub>, apoptosis index of trial group was significantly higher than that of control group ( $P < 0.001$ ). The proportion of cells in G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> phase in trial group was much higher than that in control group ( $P < 0.01$ ), while proportion in S phase in trial group was markedly lower than that in control group ( $P < 0.01$ ). There was no significant difference in proportion in G<sub>2</sub>/M phase between trial group and control group ( $P > 0.05$ ). ③ The positive expression rate of p53 and Fas in trial group was significantly higher than that in control group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ), while the positive expression rate of Bcl 2 in trial group was significantly lower than that in control group ( $P < 0.001$ ). ④ The level of sAp $\sigma$  1/Fas in A549/DDP cell culture supernatant in trial group was remarkably lower than that in control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** G Rh<sub>2</sub> can induce the apoptosis of A549/DDP cells. Its molecular mechanism may be up regulating expression of p53 and Fas and down regulating expression of Bcl 2.

**【Key words】** Ginsenoside Rh<sub>2</sub> (G Rh<sub>2</sub>) Lung neoplasms A549/DDP cell Apoptosis

中的广泛应用,肺癌对铂类的耐药已成为目前关注的热点。大多数化疗药物,无论单独还是联合,对晚期非小细胞肺癌疗效均不佳,且毒副反应大,因此寻求新的化疗药物和逆转耐药药物已成为目前研究的热点。从植物中开发抗肿瘤药物,是国内外抗肿瘤新药开发的一个热点。现代医学研究发现人参单体皂甙 Rh<sub>2</sub> (ginsenoside Rh<sub>2</sub>, G-Rh<sub>2</sub>) 具有较强的抗肿瘤生物活性,研究表明它对卵巢癌、黑色素瘤、前列腺癌、神经胶质瘤等肿瘤细胞的生长具有明显的抑制作用<sup>[1~4]</sup>。但关于 G-Rh<sub>2</sub> 对肺癌细胞的作用以及用于治疗肺癌的研究国内外尚未见报道。本实验以人肺腺癌 A549/DDP 细胞株为受试对象,研究 G-Rh<sub>2</sub> 的凋亡诱导作用,旨在进一步阐明中药人参抗肿瘤作用的机制,为其应用于肿瘤的临床治疗提供更多的实验依据,报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

A549/DDP 细胞为采用恒定药物浓度、周期性作用的体外诱导法反复筛选建成的一株耐顺铂的细胞系,由中科院生物所生物大分子国家重点实验室提供。G-Rh<sub>2</sub> 由吉林大学基础医学院生化研究室提供。四甲基偶氮唑蓝(MTT)为美国 Sigma 公司产品。碘化丙啶(PI)购自华美生物制剂公司。流式细胞仪型号为 Coulter Epics ALTRa Hppersort System (美国)。CO<sub>2</sub> 细胞培养箱为美国 SHELLLAB 公司产品。人 Fas ELISA 试剂盒购于晶美生物(北京)有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养传代

将 A549/DDP 细胞置于含 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 的饱和湿度培养箱中,在 RPMI1640 培养液(含有 12% 胎牛血清、青霉素 100 U/ml、链霉素 100 mg/L)中培养,0.25% 胰蛋白酶消化传代,取对数生长期的细胞进行实验。

#### 1.2.2 MTT 实验

分别接种 A549/DDP 细胞悬液于 96 孔板,每孔  $2 \times 10^4$  个细胞,24 h 后 A549/DDP 细胞中加入 G-Rh<sub>2</sub>, 药物浓度分别为 0.1 ~ 1000 μmol/L; 并设对照组,对照组中加入等体积的 RPMI1640 标准培养液。每种浓度设 3 个复孔,将 96 孔培养板在培养箱中培养 24、48、72 h,观察细胞形态变化。然后各孔分别加入 MTT 溶液(5 g/L),每孔 10 μl,继续在培养箱中培养 4 h 后弃去上清,每孔加入 DMSO(二甲基亚砷)溶液 100 μl,震荡后室温静置 10 min,使其充分溶解,然后用酶标仪于 570 nm 处测定吸光度(A)值,计算细胞生长抑制率。抑制率 ≥ 50% 为对该药物敏感

#### 1.2.3 流式细胞仪检测细胞周期变化、凋亡指数及相关基因蛋白表达

用 G-Rh<sub>2</sub> 50 μmol/L 处理对数生长期 A549/DDP 细胞 24 h; 并设对照组,对照组中加入等体积的 RPMI1640 标准培养液。经 0.25% 胰蛋白酶消化后,收集  $1 \times 10^6$  个细胞, PBS 缓冲液洗涤, 5 min × 3 次。70% 冷乙醇 4℃ 固定,于碘化丙啶一步染色液中染色后做流式细胞仪分析。激发波长为 488 nm,发射波长为 530 nm。实验重复 2 次。通过相关软件拟合出细胞周期各时相比比例及凋亡指数。并用 PBS 洗细胞 5 min × 3 次,分别加入兔或鼠抗人 p53、Fas 以及 Bcl2 抗体, 37℃ 孵育 30 min, PBS 洗细胞 5 min × 3 次,加入羊抗兔或鼠 FITC-IgG 100 μl, 37℃ 孵育 30 min, PBS 洗细胞 5 min × 3 次,离心过滤,用流式细胞仪检测细胞 p53、Fas 以及 Bcl2 蛋白的表达。以荧光标记细胞为阳性细胞,计算阳性率。

#### 1.2.4 细胞培养上清液 sApo-1/Fas 检测

用 G-Rh<sub>2</sub> 50 μmol/L 分别处理对数生长期 A549/DDP 细胞 24、48、72 h; 并设对照组,对照组中加入等体积的 RPMI1640 标准培养液。取细胞培养上清液,双抗体夹心 ELISA 法测定其 sApo-1/Fas 水平,严格按照试剂盒说明步骤进行。主要步骤:酶标板每孔(抗人 Fas 单抗已包被于酶标板上)加 100 μl 标准品(浓度分别为 0、31.25、62.5、125、250、500、1000、2000 ng/L)或样品,室温孵育 120 min,洗板 4 次,再加入生物素化的抗人 sApo-1/Fas 抗体和辣根氧化物酶标记的亲合素,室温孵育 120 min,洗板 4 次,加入显色剂 100 μl/孔,避光室温 20 min,加入终止液 100 μl/孔后变黄,在 450 nm 处测 OD 值, Fas 浓度与 OD<sub>450</sub> 值之间呈正比,通过绘制标准曲线求出标本中 Fas 浓度。

#### 1.2.5 统计学处理

统计学方法采用  $\chi^2$  检验、配对 *t* 检验及 one way ANOVA 方差分析,用 SPSS10.0 统计软件包处理。

## 2 结果

### 2.1 G-Rh<sub>2</sub> 对 A549/DDP 细胞的细胞毒作用

不同浓度的 G-Rh<sub>2</sub> 干预 A549/DDP 细胞 24、48、72 h 后,倒置显微镜下观察。镜下可见对照组细胞呈梭形或多边形生长,细胞透亮,折光性好,状态佳。A549/DDP 细胞系在 0.1 μmol/L 剂量组细胞形态无明显改变;而在中剂量组(1~50 μmol/L)细胞数目减少,细胞形态欠规则,呈梭形或少数圆形贴壁生长,胞浆内变化不明显或略有变化,细胞形态变化随着药物浓度增加、作用时间延长而更加明显;高剂量组(100 μmol/L 及以上)细胞折光性差,明显增大,轮廓模糊,胞内空泡增多,部

分细胞已坏死, 漂浮于培养液中。MTT 检测结果显示其抑制作用随药物浓度增加、作用时间延长而增强, 呈现剂量、时间依赖作用, 经统计学检验差异有显著性 ( $P < 0.01$ ) (表 1)。

**表 1** 不同浓度 G-Rh<sub>2</sub> 对 A549/DDP 细胞的生长抑制率 ( $n = 3, \%, \bar{x} \pm s$ )

**Tab 1** The growth inhibition rate of A549/DDP cells induced by G-Rh<sub>2</sub> of different concentration ( $n = 3, \%, \bar{x} \pm s$ )

Concentration of G-Rh <sub>2</sub> ( $\mu\text{mol/L}$ )	Time		
	24 h	48 h	72 h
0 (Control group)	0	0	0
0.1	12.38 ± 3.68*	15.45 ± 2.33*	18.78 ± 4.34*
1	16.45 ± 3.21* $\Delta$	23.67 ± 6.32* $\Delta$	30.46 ± 5.11*
10	26.35 ± 5.24* $\Delta$	30.44 ± 4.87* $\Delta$	35.56 ± 1.78*
20	34.57 ± 4.36* $\Delta$	40.93 ± 5.39* $\Delta$	45.45 ± 2.66*
50	39.68 ± 6.23* $\Delta$	50.36 ± 3.64* $\Delta$	54.86 ± 1.89*
100	49.44 ± 5.48* $\Delta$	57.48 ± 4.35* $\Delta$	64.39 ± 6.22*
1000	60.36 ± 7.82* $\Delta$	70.37 ± 5.30* $\Delta$	78.44 ± 3.56*

\* :  $P < 0.01$  vs control group;  $\Delta$  : 24 h group vs 48 h group,  $P < 0.05$ ;  $\blacktriangle$  : 48 h group vs 72 h group,  $P < 0.05$

**2.2 G-Rh<sub>2</sub> 对 A549/DDP 细胞系凋亡水平和细胞周期的影响** 实验组 A549/DDP 细胞凋亡指数 38.51% 显著高于对照组 5.76% ( $P < 0.001$ )。实验组 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例 77.6% 显著高于对照组 67.3% ( $P < 0.01$ ), S 期细胞比例 11.3% 显著低于对照组 24.5% ( $P < 0.01$ ), G<sub>2</sub>/M 期细胞比例 11.1% 与对照组 8.2% 比较无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

**2.3 G-Rh<sub>2</sub> 对 A549/DDP 细胞系凋亡相关基因阳性表达率的影响** 实验组 A549/DDP 细胞 p53 阳性表达率 35.5% 显著高于对照组 27.8% ( $P < 0.01$ ), Fas 阳性表达率 70.4% 显著高于对照组 20.5% ( $P < 0.001$ ), Bcl2 阳性表达率 36.8% 显著低于对照组 55.4% ( $P < 0.001$ )。

**2.4 G-Rh<sub>2</sub> 对 A549/DDP 细胞系细胞培养上清液 sAp $\sigma$  1/Fas 含量的影响** 实验组 A549/DDP 细胞培养上清液于不同时间的 sAp $\sigma$  1/Fas 含量均显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。

### 3 讨论

研究发现, 虽然大多数化疗药物都具有诱导肿瘤细胞凋亡的作用, 但化疗药物的毒副作用限制了其临床应用, 而植物抗癌成份倍受人们关注。人参 (Panax ginseng C. A. Meyer) 为五加科多年生草本植物, 现代医学表明人参具有抗肿瘤、抗衰老、抗辐射等多种生物学活性<sup>[5]</sup> G-Rh<sub>2</sub> 属于二萜组皂甙 是由人参中提取

**表 2** G-Rh<sub>2</sub> 对 A549/DDP 细胞系细胞培养上清液 sAp $\sigma$  1/Fas 含量的影响 (ng/L)

**Tab 2** The effect of G-Rh<sub>2</sub> on the level of sAp $\sigma$  1/Fas in A549/DDP cell culture supernatant (ng/L)

Group	Time		
	24 h	48 h	72 h
Control group	15.65 ± 2.13	16.37 ± 3.45	18.34 ± 1.25
Trial group	8.64 ± 1.52	10.66 ± 3.24	12.74 ± 2.88
P value	< 0.05	< 0.05	< 0.05

的天然活性成分, 近年来体内外实验证实, 它可以通过诱导分化或凋亡抑制肿瘤细胞的增殖与生长, 如卵巢癌、黑色素瘤、前列腺癌、神经胶质瘤等, 并证明其对正常组织毒性甚低, 但 G-Rh<sub>2</sub> 能否诱导人肺腺癌 A549/DDP 细胞的凋亡, 国内外尚未见报道。本研究结果提示, G-Rh<sub>2</sub> 可诱导细胞形态学发生改变, 诱导细胞凋亡, 影响细胞的增殖活力, 抑制其生长, 且这一变化在实验范围内呈现剂量、时间依赖性作用。于广久等<sup>[6]</sup> 观察了 G-Rh<sub>2</sub> 对人喉癌细胞株 Hep2 的抗增殖作用。李殿友等<sup>[4]</sup> 在检测 Rh<sub>2</sub> 对 C<sub>6</sub> 胶质瘤细胞增殖率的实验中, 不同浓度 (2、4、8  $\mu\text{mol/L}$ ) 的 Rh<sub>2</sub> 对 C<sub>6</sub> 细胞的增殖抑制作用随剂量增加和时间延长而明显增强, 台盼蓝排斥实验证实 C<sub>6</sub> 细胞存活百分率不论实验组还是对照组均大于 90%, 实验结果说明 Rh<sub>2</sub> 可明显抑制体外 C<sub>6</sub> 胶质瘤细胞的增殖, 且在实验剂量范围内没有明显毒性。我们的实验结果与其报道相一致。

近年来研究发现许多抗肿瘤药物作用于肿瘤细胞的 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期。Lee 等<sup>[7]</sup> 用流式细胞仪检测 G-Rh<sub>2</sub> 体外抑制肝癌细胞 SK-HEP-1 增殖的实验表明, G-Rh<sub>2</sub> 能够使细胞阻滞于 G<sub>1</sub> 期, 滞留于 G<sub>1</sub>/S 关卡处, 阻止其向 S 期发展。Ota 等<sup>[8]</sup> 也报道 G-Rh<sub>2</sub> 能够使黑色素瘤细胞 B16 发生 G<sub>1</sub> 期阻滞, 细胞周期的进行受阻。本实验用流式细胞仪检测也显示, G-Rh<sub>2</sub> 以细胞毒性作用不明显的剂量作用于 A549/DDP 细胞 24h 以后, 实验组的凋亡指数明显高于对照组, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞较对照组明显增多, 而 S 期细胞数目减少, 提示 G-Rh<sub>2</sub> 对 A549/DDP 细胞的周期调控作用主要发生于 G<sub>1</sub> 期, 阻止其向 S 期发展, 可将细胞阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期, 从而抑制其 DNA 合成。

目前研究表明, 诱导细胞凋亡的因素很多, 不同的因素诱导细胞凋亡的信号传导途径不同<sup>[9]</sup>, p53、Fas、Bcl2 基因是较早确定的凋亡调节基因。肺癌的发生、发展与多种凋亡基因相关, 如 p53 缺失或表达异常, Fas、Bcl2 基因表达异常<sup>[10]</sup>。为了探讨 G-Rh<sub>2</sub> 的作用机制, 我们检测了凋亡相关基因的阳性表达率 本研

究实验组 A549/DDP 细胞 p53、Fas 基因阳性表达率较对照组升高, Bcl-2 基因阳性表达率较对照组下降。因此我们推测 G-Rh<sub>2</sub> 可能通过上调 p53 和 Fas 基因及下调 Bcl-2 基因而诱导 A549/DDP 细胞凋亡。

Apo-1/Fas 是一种细胞表面诱导凋亡的分子, 也称为 CD95, 相对分子量为 44 600, 系跨膜糖蛋白, 属于肿瘤坏死因子受体(TNFR)与神经生长因子受体(NGFR)超家族成员, 是一个细胞凋亡信号受体, 可以诱导 Apo-1/Fas 蛋白所在的细胞凋亡<sup>[11]</sup>。正常肺泡细胞上皮及肺癌细胞中均有 Fas 表达<sup>[12]</sup>; Apo-1/Fas 配体(Apo-1/Fas ligand, Apo-1/FasL) 是一种 II 型跨膜蛋白, 与 TNFR 家族有同源性, Apo-1/FasL 主要表达于活化的 T 细胞、NK 细胞表面。Apo-1/Fas 与 Apo-1/FasL 结合是 Apo-1/Fas 在体内发挥作用的唯一途径。Apo-1/Fas 受体有两种形式: 膜型 Apo-1/Fas (mApo-1/Fas) 和可溶型 Apo-1/Fas (sApo-1/Fas)。细胞表面的 mApo-1/Fas 通过与 Apo-1/FasL 结合而激发 Apo-1/Fas 阳性细胞凋亡, sApo-1/Fas 通过与 Apo-1/FasL 竞争结合而抑制 mApo-1/Fas 途径介导的细胞凋亡, 因此可以认为 sApo-1/Fas 与肿瘤细胞逃避免疫监视以及恶性肿瘤的演变有关<sup>[13]</sup>。梁启廉等<sup>[14]</sup> 研究发现 58 例肝癌患者化疗后有效患者血清 sApo-1/Fas 浓度明显低于化疗前。本实验应用 G-Rh<sub>2</sub> 不同时间干预 A549/DDP 细胞后, 细胞培养上清液 sApo-1/Fas 含量均显著低于对照组, 说明 G-Rh<sub>2</sub> 可通过 Fas/FasL 系统途径诱导肺腺癌细胞凋亡。

综上所述, 人参单体 Rh<sub>2</sub> 具有诱导人肺腺癌 A549/DDP 细胞凋亡的作用, 其分子机制可能是上调 p53 和 Fas 及下调 Bcl-2 的表达、通过 Fas/FasL 系统途径诱导细胞凋亡。

### 参 考 文 献

- 1 Ota T, Maeda M, Odashima S, et al. G1 phase specific suppression of the Cdk2 activity by ginsenoside Rh<sub>2</sub> in cultured murine cells. *Life Sci*, 1997, 60(2): PL39-44.
- 2 Tode T, Kikuchi Y, Kita T, et al. Inhibitory effects by oral administration of ginsenoside Rh<sub>2</sub> on the growth of human ovarian cancer cells in nude mice. *J Cancer Res Clin Oncol*, 1993, 120(12): 24-26.
- 3 Zhou GH, Meng Y, Li Y, et al. Study of inhibitory effects of Ginsenoside Rh<sub>2</sub> on cultured PG-3M cell. *J N Bethune Univ Med Sci*, 2001,

27(6): 595-597. [周桂华, 孟艳, 李扬, 等. 人参单体皂甙 Rh<sub>2</sub> 对体外培养的前列腺癌细胞株 PG-3M 抑制效应的研究. *白求恩医科大学学报*, 2001, 27(6): 595-597.]

- 4 Li DY, Yang H, Luo YN. Inhibition of growth and induced of apoptosis of Ginsenoside Rh<sub>2</sub> on cultured C6 glioma cells. *J N Bethune Univ Med Sci*, 2000, 26(4): 342-344. [李殿友, 杨红, 罗毅男. 人参单体皂甙 Rh<sub>2</sub> 对 C6 胶质瘤细胞的增殖抑制和诱导凋亡作用. *白求恩医科大学学报*, 2000, 26(4): 342-344.]
- 5 Zhang JT. Retrospection and prospection of Ginseng research. *Acta Pharmaceutica Sin*, 1995, 30: 321. [张均田. 人参研究的回顾和展望. *药学学报*, 1995, 30: 321.]
- 6 Yu GJ, Kang J, Guo F. Anti proliferative effect and the mechanism of Ginsenoside Rh<sub>2</sub> on human laryngeal carcinoma a cell line Hep 2. *J Jinzhou Med College*, 2003, 24(6): 34-37. [于广久, 康健, 郭凤. 人参单体皂甙 Rh<sub>2</sub> 对人喉癌细胞株 Hep2 抗增殖作用的研究. *锦州医学院学报*, 2003, 24(6): 34-37.]
- 7 Lee KY, Park JA, Chung E, et al. Ginsenoside Rh<sub>2</sub> blocks the cell cycle of SK-HEP-1 cells at the G1/S boundary by selectively inducing the protein expression of p27kip1. *Cancer Lett*, 1996, 110(1-2): 193-200.
- 8 Ota T, Kohno H, Maeda M, et al. Involvement of peanut agglutinin binding sugar chains in experimental metastasis of B16 melanoma cells. *Oncol Res*, 1993, 5(67): 235-243.
- 9 Kim HJ, Lee KJ. Heat shock and ceramide have different apoptotic pathways in radiation induced fibrosarcoma (RIF) cells. *Mol Cell Biochem*, 2002, 229(1-2): 139-151.
- 10 Minna JD, Fong K, Zochbauer Muller S, et al. Molecular pathogenesis of lung cancer and potential translational applications. *Cancer J*, 2002, 8(Suppl 1): S41-S46.
- 11 Nagata S, Golstein P. The Fas death factor. *Science*, 1995, 267(5203): 1449-1456.
- 12 Fine A, Anderson NL, Rothstein TL, et al. Fas expression in pulmonary alveolar type II cells. *Am J Physiol*, 1997, 273(1 Pt 1): L64-71.
- 13 Cascino I, Papoff G, De Maria R, et al. Fas/Apo-1 (CD95) receptor lacking the intracytoplasmic signaling domain protects tumor cells from Fas-mediated apoptosis. *J Immunol*, 1996, 156(1): 13-17.
- 14 Liang QL, Pan DC, Yin ZM, et al. Effect of serum soluble Apo-1/Fas in patients with hepatocellular carcinoma after chemotherapy and its clinical significance. *Chin J Clin Oncol*, 2002, 29(4): 234-240. [梁启廉, 潘达超, 银正民, 等. 化疗对肝癌患者血清可溶性 Apo-1/Fas 水平的影响及其临床意义. *中国肿瘤临床*, 2002, 29(4): 234-240.]

(收稿: 2004-07-26 修回: 2004-09-29)  
(本文编辑 李蓓兰)