

微囊藻毒素诱导细胞凋亡和促进肿瘤发生的双重作用研究进展

尹建勋¹, 帅怡², 仲伟鉴^{2*}, 肖萍²

摘要: 微囊藻毒素 (Microcystin) 是世界各地水华中存在最普遍、危害最严重的一类藻类毒素, 对环境和人类健康具有极大的危害性。以往研究表明, 微囊藻毒素作为一种特异性的肝脏毒素, 对细胞内蛋白磷酸酶具有强烈的抑制作用, 表现为诱导细胞凋亡和促进肿瘤发生的双重毒性效应。本文简要综述报道微囊藻毒素诱导细胞凋亡和促进肿瘤生成双重毒性作用的研究进展。

关键词: 微囊藻毒素; 细胞凋亡; 肿瘤促进

A Review of the Study on Dualistic Toxicity of Microcystin-induced Apoptosis and Tumor Promotion
YIN Jian-xun¹, SHUAI Yi², ZHONG Wei-jian^{2*}, XIAO Ping² (1. MOE Key Lab of Public Health Safety, Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Shanghai Municipal Center for Disease Control and Prevention, Shanghai 200336, China). *Address correspondence to ZHONG Wei-jian; E-mail: wjzhong@scdc.sh.cn

Abstract: Microcystin, as a major blue-green algae toxin in the eutrophic fresh water around the world has been frequently detected, and its hazards to nature and human shouldn't be ignored. It has been reported that microcystin, as a specific hepatotoxin, has a strong inhibitory effect on the protein phosphatase, showing the dualistic toxicity with induction of apoptosis and promotion of tumor. In this review, the dualistic toxicity of microcystins was briefly summarized.

Key Words: microcystin; apoptosis; tumor promotion

由于人类对环境的污染、地球气候的变暖、水体富营养化程度加剧, 在这些因素影响下, 藻类大量繁殖, 水华现象频繁发生。其中铜绿微囊藻 (*microcystis aeruginosa*)、水华鱼腥藻 (*anabaena flos-aquae*)、颤藻 (*oscillatoria aeruginosa*) 等产生的微囊藻毒素 (microcystin, MCs) 是淡水水体中危害性最大的一类。近年来, 因饮用含有 MCs 的水而引起家禽、家畜中毒及死亡的事件屡有发生, 巴西还报道过一起因医用透析用水中含有 MCs 而导致透析病人死亡的案例^[1]。目前世界范围内已发现了 89 种 MCs 的异构体^[2], 而存在最普遍、毒性较大的是 MC-LR、MC-RR 和 MC-YR。MCs 性质稳定, 常规饮用水净化处理措施很难将其有效清除, 并且能够在生物体内存留与富集^[3]。MCs 作为一种特异性的肝毒素, 其急性毒性表现为肝脏肿大、充血、坏死, 肝细胞结构破坏, 细胞间接触降低, 肝细胞变形等组织病理学变化^[4]。MCs 对细胞的作用十分复杂, 诱导细胞凋亡和促进细胞增殖的作用在 MCs 处理的细胞中同时存在。一般认为, MCs 的有效浓度是其诱导细胞凋亡或者促进

细胞增殖的关键, 高剂量的 MCs 引起细胞凋亡, 低剂量的 MCs 引起细胞增殖^[5]。WHO 颁布的《Guideline for Drinking-water Quality》^[6]和我国颁布的《生活饮用水卫生规范》^[7]建议的安全饮用水 MCs 标准均为 1.0 μg/L。这些标准的制定主要参考的是 MCs 的急性毒性作用, 若再综合考虑其慢性及致癌作用, 最高允许限量值可能更低, DUY 等^[8]研究推测在 0.3 μg/L 左右甚至更低。为了减轻 MCs 对人类健康的危害, 人们对其毒作用机制进行了深入、细致的研究, 本文拟就 MCs 诱导细胞凋亡和促进肿瘤发生双重作用的研究进展作一简要综述报道。

1 微囊藻毒素诱导细胞凋亡及其机制

1.1 微囊藻毒素诱导细胞凋亡

MCs 与冈田酸 (okadaic acid, OA) 均可抑制细胞蛋白磷酸酶 1 (PP1) 和 2A (PP2A) 的活性, 人们受此启发来研究 MCs 对细胞的毒性作用, 以期揭示 MCs 诱导细胞凋亡的机制。BØE 等^[9]首次报道了 OA 能诱导多种类型的细胞凋亡, 随后 MACÍAS-SILVA 等^[10]发现, MCs 和 OA 可抑制大鼠肝细胞受体 G 蛋白介导的磷酸肌醇转换, 导致细胞骨架破坏和胞膜泡的形成, 最终引发细胞凋亡。GUZMAN 等^[11]报道暴露于亚急性毒性剂量 (45 μg/kg) MCs 的肝细胞内可见明显的凋亡特征: 细胞皱缩、核固缩、凋亡小体及 DNA 片段形成。这些研究结果表明, MCs 具有诱导肝细胞发生凋亡的效应, 之后关于 MCs 诱导细胞凋亡及其机制的研究逐渐增多。

研究发现, MCs 诱导细胞凋亡是一个由基因调控和细胞信

[基金项目] 国家自然科学基金 (编号: 30800935); 上海市公共卫生优秀青年人才培养计划资助 (编号: 08GWQ004)

[作者简介] 尹建勋 (1984-), 男, 硕士; 研究方向: 营养与食品卫生; E-mail: 13816944618@139.com

[*通信作者] 仲伟鉴主任医师; E-mail: wjzhong@scdc.sh.cn

[作者单位] 1. 复旦大学公共卫生学院营养与食品卫生教研室, 公共卫生安全教育部重点实验室, 上海 200032; 2. 上海市疾病预防控制中心, 上海 200336

号介导的有序过程,与细胞增殖和癌变有关的原癌基因和抑癌基因都参与了对细胞凋亡的调控,研究较多的主要有 *bcl-2*、*p53*、*fos*、*jun* 等基因^[12-14]。细胞信号传递系统调节过程中的一些信号可抑制或促进凋亡程序的激活,其中对 Ca^{2+} 的研究较多, WYLLIE 等^[15]认为 Ca^{2+} 可能是细胞凋亡的早期信号,在细胞发生凋亡前细胞内游离 Ca^{2+} 浓度持续升高,而此时细胞若处于低 Ca^{2+} 环境,细胞凋亡可抑制或延迟。

1.2 微囊藻毒素诱导细胞凋亡机制

1.2.1 细胞凋亡与氧化损伤 MCs 可诱发肝细胞内活性氧 (ROS) 含量增加,使细胞处于氧化应激状态。BOUAICHA 等^[16]研究发现,用 10 ng/mL 的 MC-LR 处理原代大鼠肝脏细胞,最短 1 h 内检测到了 ROS 的增加,而且呈剂量和时间依赖性。毒素暴露 3 h 以后谷胱甘肽 (GSH) 含量增加,未观察到细胞毒害作用;但暴露 24~48 h 以后,肝细胞内 GSH 含量急剧减少以至耗竭。张志勇等^[17]研究发现, GSH 的耗竭致使肝细胞抗氧化防御体系功能减弱或丧失,发生脂质过氧化,引起肝实质细胞的氧化损伤,造成细胞膜脂质破坏,膜功能丧失,最终导致细胞崩解死亡。

DING 等^[18]用 1 mmol/L 的 MC-LR 处理原代大鼠肝脏细胞,观察到大鼠肝脏细胞快速发生凋亡,同时观察到细胞内 ROS 含量的增加超过了 12 倍,提示 ROS 在细胞凋亡过程发挥了重要作用。进一步的研究发现, MCs 诱导产生的 ROS 升高继而导致线粒体通透性转换 (MPT) 的启动,而 MPT 的启动引发了线粒体基质与内膜之间离子平衡的改变,这引起了线粒体膜电位 (MMP) 的下降,随后引起细胞凋亡的发生。

1.2.2 细胞凋亡与 caspase caspase 是一组天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶,是细胞凋亡的关键酶类,激活之后能够特异性地裂解底物而发挥其诱导细胞凋亡的功能。傅文字等^[19]研究发现, MC-LR 可诱导大鼠肾细胞凋亡,呈现良好的剂量反应关系。用 10 nmol/L 的 MC-LR 处理正常大鼠肾细胞-NRK 细胞 1 h 后,采用 FAM-DEVD-FMK 法来检测 caspase-3 的活性,结果表明 caspase-3 活性比对照组增强了 56%。在不同 MC-LR 浓度和不同作用时间下, MC-LR 均表现出对 caspase-3 的激活作用,而且激活作用在一定时间或一定浓度出现峰值,作者认为 MC-LR 可能对细胞内存在的不同 caspase-3 激活和失活途径同时产生了影响。BOSSY-WETZEL 等^[20]研究发现, MCs 可以诱导细胞色素 C 从线粒体释放到胞质内,然后与凋亡蛋白酶激活因子-1 (Apaf-1) 结合,诱导其发生低聚反应,激活 caspase-9 前体进而激活 caspase-9 从而启动 caspase 级联反应,最终激活 caspase-3,导致 DNA 的断裂和细胞凋亡的发生。

1.2.3 细胞凋亡与 CaMKII 钙调蛋白激酶 (CaMK) 亚族中表达最丰富的主要是钙调蛋白激酶 II (CaMK II) 和肌凝蛋白轻链激酶 (MLCK)。目前已经明确, MCs 具有特异性抑制 PP1 和 PP2A 活性的作用,因此导致细胞内蛋白酶类普遍过磷酸化。CaMKII 在 Ca^{2+} 和钙调蛋白 (CaM) 存在的情况下在苏氨酸 286 位发生自身磷酸化反应而被激活,其去磷酸化需要 PP1 和 PP2A 的活性,因此由于 MCs 的作用,致使 CaMK II 处于过磷酸化状态^[5]。暴露于 MCs 后, CaMK II 活性升高,细胞内蛋白磷酸化水平也相应升高,加入 CaMK II 特异性抑制剂 KN-93 和

KT5926 后,即可彻底抑制蛋白质的磷酸化并且阻止细胞凋亡级联反应的发生^[21]。以上研究表明, CaMK II 可能在 MCs 诱导细胞凋亡的过程中起关键作用。

CaMK II 并不能直接催化肌凝蛋白轻链 (MLC) 发生磷酸化,但可以激活 MLCK。在细胞暴露于 MCs 或节球藻毒素 (Nodularin) 的早期就可以观察到 MLC 磷酸化,并且 MLC 磷酸化的程度与细胞凋亡的程度呈正相关^[22]。FLADMARK 等^[21]观察到 CaMK II 抑制剂 KN-93 可以抑制节球藻毒素诱导的 MLC 的磷酸化,对此最合理的解释可能是 CaMK II 对 MLCK 的激活作用被 KN-93 阻断。由以上研究可以看出, MCs 诱导的磷酸化需要 CaMK II 的激活, CaMK II 在 MCs 诱导的细胞凋亡过程中发挥着重要作用。

2 微囊藻毒素促进肿瘤发生及其机制

2.1 微囊藻毒素促进肿瘤发生

肿瘤发生过程一般包括启动、促进和形成三个阶段。研究发现, MCs 引起细胞蛋白质磷酸化 (去磷酸化) 平衡的改变是其促进肿瘤形成的决定性因素。细胞蛋白磷酸化 (去磷酸化) 平衡是细胞信号转导的调节枢纽,该平衡协调和控制着细胞内多种生化反应过程,如生长、分裂、增殖和细胞形态维持等。MCs 抑制细胞内蛋白磷酸酶的活性,打破了细胞内蛋白激酶和蛋白磷酸酶之间的相对活力平衡,导致蛋白激酶和蛋白磷酸酶的无序调节,引发蛋白质的过磷酸化,导致细胞生理生化代谢紊乱,最终促进肿瘤的形成^[23]。

近年来,人们研究发现 MCs 对细胞的作用十分复杂,除了急性毒性以外,长期、低浓度的 MCs 暴露还有促进肝癌发生的潜在危害性。人群流行病学调查发现,长期饮用含 MCs 的平均质量浓度低于 0.3 $\mu\text{g/L}$ 的淡水,会对肝脏造成损害,引起血清中部分肝脏酶含量升高,从而导致肝癌高发^[24]。俞顺章等^[25]在原发性肝癌高发地区应用流行病学、生态学、病例-对照等方法,研究慢性 MCs 暴露与人类肝脏肿瘤的关系,发现饮用塘沟水的人群肝癌发病率是饮用深井水人群的 8 倍。目前公认的肝癌癌前病变指标 γ -谷氨酰转肽酶 (γ -GT) 属于转移酶类,在体内的主要功能是参与“ γ -谷氨酰循环”,国内外许多二阶段致癌动物模型实验都采用 γ -GT 作为检测指标,证实了 MCs 具有明显的促肝癌作用^[26-27]。

2.2 微囊藻毒素促进肿瘤发生机制

2.2.1 肿瘤促进与基因调节 人类细胞中普遍存在癌基因和抑癌基因,在正常情况下,这两类基因是人类细胞生长所必需的,当它们在体内的活性发生改变时,可导致正常细胞恶性转化,引起肿瘤的发生。MCs 强烈抑制 PP1 和 PP2A 的活性,导致细胞内多种蛋白质过磷酸化,使细胞内蛋白质磷酸化 (去磷酸化) 调节失衡,并通过细胞信号系统改变多种酶的活性,继而影响与细胞生长有关的基因表达。大量研究表明,随着 MCs 暴露时间及浓度的不同,可引发不同癌基因和抑癌基因的表达发生变化。

ZEGURA 等^[28]研究发现, MC-LR 可诱导 (HepG2) 细胞发生 DNA 损伤。用无细胞毒性浓度 (0.01, 0.1 和 1.0 $\mu\text{g/mL}$) 的 MC-LR 处理 HepG2 细胞 8 h,可观察到抑癌基因 *p53* 及其下

游与 DNA 修复和细胞周期调节相关的基因—*p21*、*gadd45a*、*mdm2* 等的表达明显升高, 观察结果表明 MC-LR 具有基因毒性。胡志坚等^[12]研究报道指出, MCs 可上调促癌基因 *bcl-2* 和下调抑癌基因 *bax* 的表达, 使 *bcl-2/bax* 的比率发生变化, 肝细胞的凋亡机制受阻, 一些 DNA 受损的肝细胞逃避了细胞凋亡机制而成为快速增殖的细胞, 从而使细胞生长失控, 引发肝脏肿瘤。他们还研究发现, MCs 可上调肝癌前病灶的增殖细胞核抗原 (PCNA) 表达, 同时可下调 *p21^{WAF1}* 的表达。*p21^{WAF1}* 发生了改变, 不能与 PCNA 直接作用或与细胞周期素 (cyclin)、细胞周期素依赖性激酶 (CDK)、PCNA 形成复合物, 无法调控组织中病变细胞的细胞周期, 使病变细胞无限制生长, 这也一定程度上解释了病灶区细胞增殖的原因, 而这种无限制的细胞增殖有可能导致肿瘤的发生^[29]。可见, 调节与细胞增殖和凋亡相关的基因的表达可能是 MCs 诱发癌变的重要机制之一。

2.2.2 肿瘤促进与细胞周期 人类正常静止细胞中, *p53* mRNA 和 *P53* 蛋白的水平非常低, 当 DNA 受到损伤时, *p53* mRNA 和 *p53* 蛋白合成的速率就会明显增加^[30-31], 诱导下游的 *p21^{WAF1}* 基因出现高表达, 产生大量的 *p21* 蛋白与 cyclin、CDK、PCNA 结合, 组成四聚体复合物, 从而抑制 CDK 的活性, 使细胞停顿于 G₁ 期不能进入 S 期, DNA 损伤得到修复, 保证了复制的准确性。当 DNA 损伤发生在 G₁ 期, *p21^{WAF1}* 结合 CDK 复合体, 从而抑制 CDK 活性, 使细胞周期不能进入 S 期; 当 DNA 损伤发生在 S 期, *p21^{WAF1}* 结合 PCNA, 抑制 DNA 聚合酶的活化, 从而修复损伤的 DNA。但是当 *p53* 基因发生突变或其表达减少时, *p21^{WAF1}* 表达随之减少, 损伤的 DNA 不能修复, 染色体发生异常, 诱导肿瘤发生^[32]。*p16* 基因在细胞周期中的关键作用是通过抑制 CDK4 (CDK6) 介导的视网膜母细胞瘤蛋白 (pRb) 的磷酸化来调节 G₁-S 期的转换, *p16*-CDK (cyclin-pRb) 这一通路在细胞周期过程中起着非常重要的作用。当通路中任一组分发生变化时, 比如 *p16* 基因的缺失或突变、CDK 或细胞周期素的过量表达、由 CKD 基因突变导致的 *p16* 基因的失活, 都会导致 pRb 的磷酸化及随后发生的 G₁ 期向 S 期的转化^[33]。

胡志坚等^[34]研究发现, MC-LR 在促大鼠肝癌过程中能显著增加大鼠肝脏 *p53* mRNA 表达强度, 而对 *p16* mRNA 表达强度没有影响, 提示 *p53* 基因可能在 MC-LR 促癌的过程中发挥重要作用。OFFER 等^[35]研究指出, *p53* 对细胞周期的调控具有时相特异性, 在细胞受到基因毒性刺激后, 野生型 *p53* 蛋白在 G₀-G₁ 期诱导碱基切除修复活性, 促进 DNA 修复和细胞增殖; 在 G₂-M 期则减弱碱基切除修复活性, 促进细胞凋亡。赵金明等^[13]研究报道指出, MCs 能介导 G₀-G₁ 期细胞进入分裂状态, 导致 S、G₂-M 期细胞比例明显增加。G₁-S 期转换是细胞周期中非常敏感的一个时期, 当 DNA 受到损伤时促癌基因呈显性, 与肿瘤的发生具有相关性。从上述研究中可以发现, 细胞周期调节的失控可能在 MCs 促进肝癌发生的过程中起重要作用。

2.2.3 肿瘤促进与 MAPK 丝裂原激活蛋白激酶 (MAPK) 信号通路是细胞信号转导途径的通路之一, 它通过 Raf (MAPKK 激酶, MAPKKK)-MAPK 激酶 (MAPKK)-MAPK 三级酶促级联反应, 激活转录因子, 调节特定基因的表达, 参与细胞的增殖、转化和凋亡等过程^[36], 该通路受到可逆性蛋白磷酸化的调

节, 使细胞内蛋白激酶和蛋白磷酸酶的活性保持平衡。PP1 和 PP2A 是这一通路上的重要调节蛋白, 对 MAPK 途径起负调控作用, 而 MCs 对 PP1、PP2A 活性的抑制, 导致 MAPK 过度激活, 使调控细胞增殖与凋亡的基因平衡失调, 细胞生长失控^[37]。

根据多年实验研究经验, TOIVOLA 等^[23]提出了一个 MCs 促进肝癌形成的分子机制假说: MCs 对 PP2A 抑制是其促进肿瘤的关键, 因为 PP2A 是 MAPK 信号途径中最主要的负调控因子。在细胞增殖过程中, MAPK 信号通路调节的数个基因转录启动被激活, MCs 引起 MAPK 活性增加就会激活转录因子, 促进细胞生长和分化所需基因的转录, 最终导致细胞增殖增加。还有研究表明, MCs 通过诱导肝细胞内 MAPK 磷酸化水平升高而激活 *fos*、*jun* 等早期反应基因表达, 推动肝细胞周期进入 S 期, 使肝细胞无限增殖^[38]。HOLMSTROM 等^[39]证明 MAPK 激活, 不仅能抑制 Fas 介导的淋巴细胞凋亡, 还能抑制表达 Fas 的细胞凋亡。由于肝细胞可持续表达 Fas, 因而可能的机制是 MCs 通过抑制 PP1 和 PP2A 的活性, 激活 MAPK 抑制 Fas 介导的细胞凋亡, 使肝细胞逃避了凋亡途径。由此可见, MAPK 信号通路在 MCs 引发肝脏肿瘤的过程中发挥着重要作用, 其可能为 MCs 诱发肝癌的机制之一。

3 结语

MCs 在诱导细胞凋亡和促进肿瘤发生的机制多有共通之处, 起催化作用的酶以及底物也差不多, 为什么却产生了两种截然相反的结果呢? HUMPAGE 等^[40]在研究中发现, 纳摩尔水平的 MCs 能够抑制细胞分裂并诱导细胞凋亡, 而皮摩尔水平的 MCs 可增强细胞分裂并促进细胞增殖。虽然 MCs 的研究历史已近百年, 而且也取得了很多有价值的研究成果, 但在 MCs 诱导凋亡及促癌机制等方面仍有很多尚未解决的问题, 值得后续研究加以深入探讨。

参考文献:

- [1] POURIA S, de ANDRADE A, BARBOSA J, et al. Fatal microcystin intoxication in haemodialysis unit in Caruaru, Brazil [J]. Lancet. 1998, 352(9121): 21-26.
- [2] WELKER M, von DOHREN H. Cyanobacterial peptides - Nature's own combinatorial biosynthesis [J]. FEMS Microbiol Rev, 2006, 30(4): 530-563.
- [3] 胡智泉, 李敦海, 刘永定, 等. 微囊藻毒素对水生生物的生态毒理学研究进展 [J]. 自然科学进展. 2006, 16(1): 16-22.
- [4] CHEN T, CUI J, LIANG Y, et al. Identification of human liver mitochondrial aldehyde dehydrogenase as a potential target for microcystin-LR [J]. Toxicology, 2006, 220(1): 71-80.
- [5] GEHRINGER MM. Microcystin-LR and okadaic acid-induced cellular effects: a dualistic response [J]. FEBS letters. 2004, 557(1/2/3): 1-8.
- [6] WHO. Cyanobacterial toxins: Microcystin-LR. WHO Guidelines for Drinking Water Quality [R]. Geneva: World Health Organization, 1998.
- [7] 中华人民共和国卫生部卫生法制与监督司. 生活饮用水卫生规范 [S]. 2001.

- [8] DUY TN, LAM P, SHAW GR, et al. Toxicology and risk assessment of freshwater cyanobacterial (blue-green algal) toxins in water [J]. Rev Environ Contam Toxicol, 2000, 163: 113-185.
- [9] BØE R, GJERTSEN BT, VINTERMYR OK, et al. The protein phosphatase inhibitor Okadaic acid induces morphological changes typical of apoptosis in mammalian-cells [J]. Exp Cell Res, 1991, 195 (1): 237-246.
- [10] MACÍAS-SILVA M, GARCÍA-SAINZ J A. Inhibition of hormone-stimulated inositol phosphate production and disruption of cytoskeletal structure - effects of Okadaic Acid, microcystin, chlorpromazine, W7 and nystatin [J]. Toxicon, 1994, 32 (1): 105-112.
- [11] GUZMAN RE, SOLTER PF. Characterization of sublethal microcystin-LR exposure in mice [J]. Vet Pathol, 2002, 39 (1): 17-26.
- [12] 胡志坚, 陈华, 孙昌盛, 等. 微囊藻毒素促肝癌过程中肝细胞 bcl-2 及 bax 基因表达研究 [J]. 中华预防医学杂志, 2002, 36 (4): 239-242.
- [13] 赵金明, 朱惠刚. 藻毒素对 fos、jun 基因表达及细胞周期的影响 [J]. 中华预防医学杂志, 2003, 37 (1): 23-25.
- [14] FU W Y, CHEN J P, WANG M M, et al. Altered expression of p53, Bcl-2 and Bax induced by microcystin-LR in vivo and in vitro [J]. Toxicon, 2005, 46 (2): 171-177.
- [15] WYLLIE A H, KERR J F, CURRIE A R. Cell death: the significance of apoptosis [J]. Int Rev Cytol, 1980, 68: 251-306.
- [16] BOUAICHA N, MAATOUK I. Microcystin-LR and nodularin induce intracellular glutathione alteration, reactive oxygen species production and lipid peroxidation in primary cultured rat hepatocytes [J]. Toxicol Lett, 2004, 148 (1/2): 53-63.
- [17] 张志勇, 梁恒进, 沈汉民, 等. 蓝藻提取物对原代培养大鼠肝细胞的氧化损伤作用研究 [J]. 中国公共卫生, 1999, 15 (4): 280-282.
- [18] DING W X, SHEN H M, ONG C N. Critical role of reactive oxygen species and mitochondrial permeability transition in microcystin-induced rapid apoptosis in rat hepatocytes [J]. Hepatology, 2000, 32 (3): 547-555.
- [19] 傅文字, 陈加平, 徐立红. Caspase-3 在微囊藻毒素诱导的细胞凋亡中的作用 [J]. 中国环境科学, 2004, 2 (1): 6-8.
- [20] BOSSY-WETZEL E, GREEN DR. Apoptosis: checkpoint at the mitochondrial frontier [J]. Mutat Res, 1999, 434 (3): 243-251.
- [21] FLADMARK K E, BRUSTUGUN O T, MELLGREN G, et al. Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II is required for microcystin-induced apoptosis [J]. J Biol Chem, 2002, 277 (4): 2804-2811.
- [22] IKEBE M, REARDON S. Phosphorylation of smooth myosin light chain kinase by smooth-muscle CA-2+/Calmodulin-dependent multifunctional protein-kinase [J]. J Biol Chem, 1990, 265 (16): 8975-8978.
- [23] TOIVOLA DM, ERIKSSON JE. Toxins affecting cell signaling and alteration of cytoskeletal structure [J]. Toxicol in Vitro, 1999, 13 (4/5): 521-530.
- [24] 柳丽丽, 钟儒刚, 曾毅. 微囊藻毒素污染及其促肝癌作用研究进展 [J]. 卫生研究, 2006, 35 (3): 377-379.
- [25] YU SZ, CHEN G. Blue-green algal toxins and liver cancer [J]. Chn J Cancer Res, 1994, 6: 9.
- [26] SOLT DB, MEDLINO A, FARBER E. Rapid emergence of carcinogen-induced hyperplastic lesions in a new model for the sequential analysis of liver carcinogenesis [J]. Am J Pathol, 1977, 88 (3): 595-618.
- [27] 陈刚, 俞顺章. 微囊藻毒素 LR 和黄曲霉毒素 B1 对肝脏促癌作用的实验研究 [J]. 癌变 · 畸变 · 突变, 1996, 8 (3): 129-132.
- [28] ZEGURA B, ZAJC I, LAH TT, et al. Patterns of microcystin-LR induced alteration of the expression of genes involved in response to DNA damage and apoptosis [J]. Toxicon, 2008, 51 (4): 615-623.
- [29] 胡志坚, 陈华, 李一伟, 等. 微囊藻毒素促肝癌过程中肝细胞 PCNA、p21waf1 基因表达研究 [J]. 中国公共卫生, 2002, 18 (5): 538-540.
- [30] GUDAS JM, OKA M, DIELLA F, et al. Expression of wild-type p53 during the cell cycle in normal human mammary epithelial cells [J]. Cell Growth Differ, 1994, 5 (3): 295-304.
- [31] MAZZATTI DJ, LEE YD, HELT CE, et al. p53 modulates radiation sensitivity independent of p21 transcriptional activation [J]. Am J Clin Oncol-cance, 2005, 28 (1): 43-50.
- [32] GARTEL A. P21 (WAF1/CIP1) may be a tumor suppressor after all [J]. Cancer Biol Ther, 2007, 6 (8): 1171-1172.
- [33] OMURA-MINAMISAWA M, DICCIANNI MB, CHANG RC, et al. p16/p14 (ARF) cell cycle regulatory pathways in primary neuroblastoma: p16 expression is associated with advanced stage disease [J]. Clin Cancer Res, 2001, 7 (11): 3481-3490.
- [34] 胡志坚, 陈华, 庞春艳, 等. 微囊藻毒素 LR 促肝癌过程 p53、p16 基因 mRNA 表达 [J]. 福建医科大学学报, 2007, 41 (1): 36-38.
- [35] OFFER H, ZURER I, BANFALVI G, et al. p53 modulates base excision repair activity in a cell cycle-specific manner after genotoxic stress [J]. Cancer Res, 2001, 61 (1): 88-96.
- [36] KREBS EG, GRAVES JD. Interactions between protein kinases and proteases in cellular signaling and regulation [J]. Adv Enzyme Regul, 2000, 40: 441-470.
- [37] 殷丽红, 屈卫东, 朱惠刚. 微囊藻毒素致肝癌研究进展 [J]. 国外医学: 卫生学分册, 2005, 32 (3): 170-174.
- [38] SUEOKA E, SUEOKA N, OKABE S, et al. Expression of the tumor necrosis factor alpha gene and early response genes by nodularin, a liver tumor promoter, in primary cultured rat hepatocytes [J]. J Cancer Res Clin Oncol, 1997, 123 (8): 413-419.
- [39] HOLMSTROM TH, CHOW SC, ELO I, et al. Suppression of Fas/APO-1-mediated apoptosis by mitogen-activated kinase signaling [J]. J Immunol, 1998, 160 (6): 2626-2636.
- [40] HUMPAGE AR, FALCONER IR. Microcystin-LR and liver tumor promotion: Effects on cytokinesis, ploidy, and apoptosis in cultured hepatocytes [J]. Environ Toxicol, 1999, 14 (1): 61-75.

(收稿日期: 2009-11-12)

(英文编审: 黄建权; 编辑: 徐新春; 校对: 王晓宇)