

# 蛇毒与细胞凋亡\*

陈勇 刘洁生\*\* 邢少璟

(暨南大学生物工程学系 广州 510632)

**摘要:**简要介绍了细胞凋亡的形态学变化和生物化学等特性,及其主要的定性、定量检测方法;综述了蛇毒在细胞凋亡和肿瘤研究中的发展概况和国外最新进展。

**关键词:**蛇毒;细胞凋亡;肿瘤

**中图分类号:**Q255, R996.3 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2001)03-62-05

## Snake Venom and Apoptosis

CHEN Yong LIU Jie-Sheng XING Shao-Jing

(Bioengineering Department, Jinan University Guangzhou 510632, China)

**Abstract:** The paper simply introduces characteristic morphological and biochemical changes during apoptosis, as well as the main qualitative and quantitative methods detecting apoptotic cells. Moreover, the paper summarizes the advances on the snake venom's researches on apoptosis and tumor.

**Key words:** Snake venom; Apoptosis; Tumor

1996年的国际权威性学术刊物《血液》杂志报道了陈竺院士与张亭栋教授合作研究“瘤灵一号”治疗白血病——血癌的“震惊世界的研究”。“瘤灵一号”注射液的主要成分是中药砒霜,即三氧化二砷。他们发现,砷剂“瘤灵一号”对急性早幼粒细胞有诱导分化作用,并促进癌细胞凋亡。现在已普遍认为,三氧化二砷可显著诱导白血病NB4细胞、胃癌细胞株MKN45和SGC7901、肝癌细胞株SMMC7721及乳癌细胞凋亡,其原理是,上调促凋亡基因(P53、Fas、bax等)的表达及下调抑制凋亡基因(bcl-2)的表达。

由此可联想到,蛇毒——一种毒性不亚于砒霜的毒素。蛇毒是含有多种毒性多肽、酶和非酶蛋白等的混合物,是否是无毒成分在起作用?其作用是对细胞凋亡产生正还是负面的影响?它在肿瘤研究和治疗中

充当什么角色?人们对它研究到了什么程度?本文就此做一介绍。

## 1 细胞凋亡

近年来,通过分子生物学研究发现,细胞凋亡的异常与肿瘤等许多疾病有密切的关系,而且,人们也越来越多地发现,肿瘤的发生不仅与肿瘤细胞生长速度有关,也与死亡速度有关。应该说,肿瘤不仅是增殖和分

\* 国家自然科学基金资助项目(No.39570238);

\*\* 通讯作者, E-mail: tliujs@jnu.edu.cn

第一作者介绍 陈勇,男,26岁,硕士;研究方向:毒理学和神经生物学;

收稿日期:2000-06-10,修回日期:2001-03-05

化异常的疾病,也是细胞凋亡异常的疾病。人类多种类型的恶性肿瘤细胞,是对一些理化刺激引起的细胞凋亡能力的下降。

细胞凋亡(apoptosis, APO)<sup>[1-4]</sup>,又称为程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD),是细胞受到生理或某些病理信号刺激后通过启动自身内部机制,主要是通过内源性核酸内切酶激活而发生的细胞死亡过程,是基因调控下的主动“细胞自杀”,在多种组织和器官发育的特定阶段及各种组织的生长调节和自身反应免疫细胞的清除中发挥重要作用。细胞增殖、分化、死亡的动态平衡维持着多细胞生物的自身稳态,细胞坏死和细胞凋亡是细胞死亡的两种模式,但两者在形态学和生化等特性上有显著的区别。在形态学上,发生凋亡的细胞单个散在分布,最终裂解成大小不等的由细胞膜完整包裹的凋亡小体,在凋亡过程中不发生细胞内容物的外溢,不造成局部微环境的改变,无炎症反应。从单个细胞凋亡来看,先是细胞体积缩小,胞浆凝缩,内质网变疏松并与胞膜融合,核糖体、线粒体等聚集,但结构无明显改变,染色质逐渐凝聚成新弯月状附在核膜周边,嗜碱性增强,细胞核固缩呈均一的致密物,进而断裂,胞膜仍完整。然后,胞膜不断出芽、脱落,细胞变成数个大小不等的由膜包裹的凋亡小体。最终,凋亡小体被周围具有吞噬功能的细胞(如巨噬细胞、上皮细胞等)吞噬、降解。在生物化学变化上,主要是DNA的片断化,即凋亡细胞染色体DNA在核小体与核小体的连接部位被切断,产生180~200碱基对的整数倍的DNA片断<sup>[5,6]</sup>。

通过对DNA片段的检测或通过对细胞凋亡相关基因及其表达的研究,目前已建立了多种定量检测细胞凋亡的技术<sup>[6-8]</sup>。例如,流式细胞分析法(flow cytometry, FCM)、酶联免疫法(ELISA)、原位末端标记技术(*in situ* end labelling, ISEL)、DNA电泳改良法、DNA多聚酶的原位缺口翻译法(*in situ* nick translation, ISNT)染色法、放射自显影法、图像分析法、玻璃纤维/二乙氨基乙基双滤器结合法(glass fiber/diethylaminoethyl double filter binding assay)、间接检测法,等等,其中,FCM法是最常用、最有效、最有说服力的检测技术之一。而作为辅助性检测的定性检测则是必备的技术,如,倒置显微镜的形态观察、荧光显微镜的凋亡小体观察、电子显微镜的细胞结构观察、台盼兰计数法、MTT细胞数量检测法<sup>[9]</sup>和DNA琼脂糖凝胶电泳法,等等。

## 2 蛇毒与细胞凋亡

毒药是人类在劳动生产与疾病做斗争过程中而发

现的一类药物。其起源多追溯于我国原始人类的渔猎时代。经过不断实践,逐渐将食物与毒物区分开,并根据毒药中毒的表现而反籍以治病,如,近代利用河豚毒止痛、蟾酥强心、斑蝥素治癌、蝎毒治风湿、蛇毒镇痛等。

自古以来,蛇和蛇毒都是被作为动物毒中的医学重点来研究,《本草纲目》中被称为中药的蛇就有十来种,其药用部分包括蛇皮、蛇肉、蛇胆和蛇毒等。其中,蛇毒的治疗作用有十几种,包括抗肿瘤、镇痛消炎、降压等作用,可治疗脑血栓、心肌梗塞、冠心病、皮肤病、心血管疾病、神经炎、中风、心衰、中老年高脂血症,等等,而在蛇毒的抗肿瘤作用方面人们已做了大量的研究。从1987年开始,福建医学院蛇毒研究室与连江县医院肿瘤外科联合开展了应用蛇毒治疗消化道恶性肿瘤的研究,在蛇毒的体外抗肿瘤研究中,研究了国产眼镜王蛇、眼镜蛇、金环蛇、银环蛇、海蛇和蝮蛇等9种毒蛇的蛇毒对鼻咽癌、宫颈癌、肝癌和胃癌四株人体肿瘤细胞杀伤或生长抑制作用,发现这些蛇毒均对不同肿瘤细胞有不同程度的作用<sup>[10]</sup>。而上海市新乐、周家桥等地区医院数以万例的报告也证实,用粗制的蛇毒制剂——787蛇毒胶囊,治疗胃癌、肝癌、肠癌、胰腺癌、食道癌等肿瘤有效率可达55%~68%<sup>[10]</sup>。同样,浙江省湖州市中医院自制的蛇毒胶囊就是以具有止痛消肿抗癌作用的蝮蛇毒为主要成份,再配以蟾酥、牛黄等,协同蛇毒提高抗癌止痛作用和改善新陈代谢等<sup>[11]</sup>。

其实,早在形成“细胞凋亡”这一概念之前,蛇毒就被用于抗癌和镇痛等的研究。其研究进展遵循着研究对象由个体到细胞;蛇毒由粗毒到单一纯化组分;肿瘤对象由一般肿瘤扩展到血管和神经疾病等的规律。

最初的蛇毒抑癌实验都是在生物个体的基础上进行的,细胞水平的研究则是在发现细胞凋亡现象之后。早在1936年,Taguet就用眼镜蛇做了对小白鼠的抑癌实验,在用药15天内可见到肿瘤软化甚至完全消失,但在人体内仅引起局限性的部分坏死,因此主张蛇毒注射部位最好选择肿瘤周围组织,他还发现蛇毒有止痛、暂时停止肿瘤生长及延迟恶液质的出现等作用。随后,Calderon、Kurotchkin、Veward、Soeterso、Ligneris等人开展了抑癌实验研究,都证明蛇毒对动物肿瘤有不同程度的抑制生长作用。而当今的研究大多都是细胞水平的,且多数是从细胞凋亡的角度来研究。

根据所用毒素的纯度不同,蛇毒治疗肿瘤的研究可分为两个阶段<sup>[11]</sup>。第一,粗毒阶段(1933~1964年),在这30年过程中,由于粗毒组分复杂、副作用大,大多进行整体水平研究,且治疗病人均系晚期癌,不易取得

经验与临床效果,因而只停留于镇痛范围;第二是分离毒素阶段(1965年至今),自从1965年开展蛇毒分离纯化工作以来,已可以找到具有专一性的抗癌组分,进入细胞水平的研究,因为实验周期大大缩短,再加上有细胞凋亡理论做基础,蛇毒的抑癌实验已不仅仅停留于止痛,而是研究其对肿瘤细胞生长的影响,如细胞凋亡等,但对其机理的研究还无人触及。

应用蛇毒对细胞凋亡的研究,国内主要是针对于消化道肿瘤,然而从蛇毒的毒性成份上看,蛇毒一般或以血循毒为主,或以神经毒为主,或是两者的含量相近的混合毒;从蛇毒的作用途径来看,蛇毒首先是进入血液,再随血液循环至各毒素的靶组织或靶细胞而产生毒理效应。因而,我们的视线应该从消化道肿瘤转到血液系统疾病——白血病或心血管疾病和神经系统疾病——如老年性痴呆症和帕金森氏病等。国外明显注意到这一点,研究中已将重点放在了神经系统和血液循环系统。

在神经系统方面,研究较多的是运动神经元<sup>[13,14]</sup>或神经-肌肉接头<sup>[15]</sup>、施旺氏细胞<sup>[16,17]</sup>、PC12细胞<sup>[18]</sup>、海马神经元<sup>[19]</sup>和大脑皮层<sup>[20]</sup>等。例如,Renshaw在这方面做过较多的研究,1995年,他和Dyson等给小鸡胚胎腹膜内注射 $\alpha$ -BTX,25小时后,在臂和腰部脊髓等处检测代谢标志物2-脱氧葡萄糖(2-deoxyglucose)和细胞色素氧化酶(cytochrome oxidase)。他们发现,整个脊髓的葡萄糖摄入量和细胞色素氧化酶活性均下降了,而外侧运动柱的情况更显著,并认为, $\alpha$ -BTX处理后脊髓神经元代谢活性下降也许能在阻止发育阶段运动神经元凋亡中起重要作用<sup>[14]</sup>。1996年,Renshaw和Goldie等人又进一步证实,卵内注射 $\alpha$ -BTX能抑制发育阶段运动神经元的凋亡,而且认为这个过程可能是通过脊髓或神经-肌肉接头或两者细胞膜上的 $\alpha$ -BTX敏感的烟碱乙酰胆碱能受体来介导的<sup>[15]</sup>。同一年,Dolors等人对小鸡胚胎肌肉内注射 $\beta$ -BTX,发现 $\beta$ -BTX能引起侧运动柱运动神经元(lateral motor column motoneurons)和背根神经节神经元(DRG neurons)两者的大量死亡,而且,腹侧和背侧神经根内固缩的施旺氏细胞显著增多<sup>[16]</sup>。1998年,Berger等人报道了 $\alpha$ -BTX-ACHRs受体受抑能够引起海马前期细胞的凋亡<sup>[19]</sup>。

在血液循环系统中,研究的对象主要是血管上皮或内皮细胞<sup>[21-24]</sup>,对血细胞的研究很少。1997年,Torii等人发现来自*Crotalus atrox*蛇毒的L-氨基酸氧化酶(L-amino acid oxidase, LAO)能诱导人脐静脉内皮细胞凋亡<sup>[21]</sup>;1999年,Dulce等人对从蝮蛇(*Akistrodon contortrix laticinctus*)蛇毒中提取的LAO的晶体结构做了初步研

究,并发现LAO具有诱导HL-60细胞凋亡的活性<sup>[25]</sup>。1997年,Torii等人还从西部菱纹背响尾蛇(*Crotalus atrox*)蛇毒中纯化出一种分子量约为100 ku(在SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳中是分子量为55 ku的两条蛋白带)、等电点为6.0~6.5、具有LAO活性的新蛋白Apoxin I,他们的研究表明,Apoxin I能够诱导人脐静脉内皮细胞、人早幼粒白血病HL-60肿瘤细胞、人卵巢癌A2780细胞和小鼠内皮KN-3细胞等的细胞凋亡<sup>[21]</sup>。在2000年,Torii等人进一步分析了Apoxin I的氨基酸序列,发现Apoxin I具有一个黄素腺嘌呤二核苷酸(flavin adenine dinucleotide, FAD)结合区,并且与来自链孢霉(*Neurospora crassa*)的LAO、人单氨酸氧化酶B和小鼠白介素-4诱导的F1G1蛋白等具有同源性<sup>[26]</sup>。1997年,Masuda等人也从西部菱纹背响尾蛇蛇毒中提纯出一种分子量为110 ku、等电点为8.5的可引起血管内皮细胞凋亡的同源二聚体蛋白组份,并将其命名为VAP(vascular apoptosis-inducing protein)。第二年,Masuda等又从西部菱纹背响尾蛇毒中提取出一种酸性单体血管内皮细胞凋亡诱导蛋白VAP2,VAP2的分子量为55 ku,等电点为4.5。在进行了部分氨基酸序列分析后,Masuda等认为,VAP和VAP2均属于金属蛋白水解酶家族。Abe等人用高效液相色谱(HPLC)方法,从饭匙倩蛇毒中,也分离出一种分子量为55 ku的甘草甜素结合蛋白(glycyrrhizin-binding protein, gp55)<sup>[27]</sup>。这种gp55被认为是一种Apoxin I样蛋白,而甘草甜素(glycyrrhizin, GL)则是Apoxin I样蛋白的强有力的抑制剂。此外,Araki等人研究发现,从西欧沙蛙(*Viper ammodytes*)、膨大蛙蛇(*Büis arietans*)、饭匙倩(*Trimeresurus flavoviridis*)、响尾蛇和蝮蛇(*A. halys blomhottii*)等蛇的毒汁中提取的出血性蛇毒均对血管内皮细胞有凋亡作用,且能够被蛋白合成抑制剂——纤维原细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)或放线菌酮环己酰亚胺(cycloheximide, CHX)阻抑,而从海蛇(*Enhydryna schistosa*)、泰国眼镜蛇(*Naja naja kaouthia*)和金环蛇(*Bungarus fasciatus*)等毒蛇中提取的神经毒素只能诱导细胞坏死(necrotic cell death);他们还研究了出血性蛇毒对不同细胞的作用,发现出血性蛇毒仅对人肺动脉内皮细胞(human pulmonary artery endothelial cell)有凋亡作用,对牛平滑肌细胞(bovine smooth muscle cells)、大鼠平滑肌细胞(rat smooth muscle cells)、人胚胎肺纤维原细胞(human embryonic lung fibroblast cells)等无凋亡作用,但在高浓度时,对这些细胞有坏死诱导作用,而且,这种坏死不能被FGF或CHX抑制<sup>[28]</sup>。在血细胞方面,只有Strizhkov等人做过初步研究,发现从眼镜蛇(*N. n. oxiana*)中提取的神经毒素

II (neurotoxin II) 对白血病 K562 和 L929 肿瘤细胞有凋亡诱导作用<sup>[29]</sup>。

### 3 国内研究现状

国内蛇毒与肿瘤的研究在 70 年代后期刚起步,80 年代在全国引起重视,90 年代则达到研究高峰期,90 年代末期触角开始深入到细胞凋亡领域。在国内 20 年来的文献报道中,与抗肿瘤有关的蛇毒最多的是蝮蛇和眼镜蛇蛇毒,金环蛇和尖吻蝮蛇蛇毒次之<sup>[30]</sup>。

蛇毒是神经生长因子 (nerve growth factor, NGF) 的主要来源之一,国内对 NGF 的研究较深入。章军建等人研究了神经生长因子对大鼠脑缺血后海马 CA1 区神经细胞凋亡的影响,发现外源性 NGF 对脑缺血所致的神经细胞凋亡可能有一定的保护作用<sup>[31]</sup>;吴俊芳等人研究了神经生长因子对大鼠脑皮质神经细胞凋亡的影响,发现 NGF 能拒抗 NMDA 或缺氧/缺糖诱导的神经细胞凋亡<sup>[32]</sup>。Carter 等人的研究认为,神经生长因子是通过其 P75 受体来激活促进凋亡的转录因子 NF- $\kappa$ B,也可引起鞘磷脂水解成神经酰胺,提高 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK) 的活力,最终导致细胞凋亡<sup>[33]</sup>。广州医学院等研究机构对眼镜蛇毒某些组分对白血病细胞的凋亡作用进行了初步研究<sup>[34,35]</sup>。

### 4 展望

综上所述,目前对蛇毒的细胞凋亡作用的研究还处于初始阶段,仅仅在于寻找其起凋亡作用的活性成分,因而,对其凋亡作用机理的研究相对较少,这将是该领域未来发展的趋势所在。蛇毒中起细胞凋亡作用的活性成份主要为:作用于神经系统的  $\alpha$ -BTX、 $\beta$ -BTX 和 NGF,及作用于血液系统的具有 L-氨基酸氧化酶活性的蛋白成份,等等。 $\alpha$ -BTX 和  $\beta$ -BTX 的作用机理与神经细胞膜上对应的烟碱乙酰胆碱受体有关,但前者是突触后神经毒素,后者是突触前神经毒素,作用于不同种类的受体,它们的细胞凋亡机理是否相同呢?值得深入研究。LAO 的作用在于氧化 L-亮氨酸,产生  $H_2O_2$ ,微量的  $H_2O_2$  能够激活抑制细胞死亡的某些基因的转录,当其浓度增大时,则会诱导细胞凋亡<sup>[21]</sup>,这两种截然相反的作用效果,其具体机制及定量关系如何?有待于进一步研究。蛇毒的有毒或无毒、酶类或非酶类的十几种组分之间对细胞凋亡是否有协同效应?等等。这些均是将来应该研究的问题。

### 参 考 文 献

[1] 方福德,杨焕明,张德昌等主编.分子生物学前沿技术

——现代生物医学丛书.北京:北京医科大学,中国协和医科大学联合出版社,1998.67~174.

- [2] Linda, J. M., M. Jean. Apoptosis. *Science*, 1998, **281** (5381):1301.
- [3] Michael, H. Apoptosis: death by crowd control. *Science*, 1998, **281**: 1298~1299.
- [4] Gerard, E., L.Trevor. A matter of life and cell death. *Science*, 1998, **281**:1317~1322.
- [5] Steller, H. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science*, 1995, **267**: 1445~1449.
- [6] Gavriell, Y., Y.Sherman, S.A.Ben-Sasson. Identification of programmed cell death *in situ* via specific labeling of nuclear DNA fragmentation. *J. Cell Biol.*, 1992, **119**: 493~501.
- [7] Clarke, P.G.H., R.W.Oppenheim. Neuron death in vertebrate development: *in vivo* methods. In: Schwartz, L.M., B.A.Osborne ed. *Methods in Cell Biology: Cell Death*. New York: Academic, 1995. **46**: 277.
- [8] Kerr, J.F.R., G.C.Gobe, C.M.Winterford *et al.* Anatomical methods in cell death. In: Schwartz, L.M., B.A.Osborne ed. *Methods in Cell Biology*. San Diego: Academic, 1995. **46**: 1.
- [9] Efferth, T., U.Fabry, R.Osieka. Apoptosis and resistance to daunorubicin in human leukemic cells. *Leukemia*, 1997, **11** (7): 1180~1186.
- [10] 李俊德,杨通礼,孙永章主编.防治肿瘤特技集成.北京:北京科学技术出版社,1997. 15~17.
- [11] 杨永华,贾建华.“蛇毒胶囊”治疗癌性疼痛 50 例. *上海中医药杂志*, 1998, **10**:44.
- [12] 陈远聪,李文杰主编.中国生物化学会专题讨论会文集 (2):蛇毒的生化、毒理和应用.北京:科学出版社,1983. 62~74,112~114.
- [13] Renshaw, G. M. [<sup>125</sup>I]-alpha-bungarotoxin binding co-varies with motoneurone density during apoptosis. *Neuroreport*, 1994, **5**(15): 1949~1952.
- [14] Renshaw, G. M., S. E. Dyson. Alpha-BTX lowers neuronal metabolism during the arrest of motoneurone apoptosis. *Neuroreport*, 1995, **6**(2):284~288.
- [15] Renshaw, G. M., R.Goldie. Neuronal bungarotoxin displaces (<sup>125</sup>I) alpha-bungarotoxin binding at the neuromuscular junction as well as to the spinal cord during embryogenesis. *Brain Res.*, 1996, **709**(2): 316~318.
- [16] Dolores, C., C. Jordi, W. O. Ronald, E. E. Josep. Schwann cell apoptosis during normal development and after axonal degeneration induced by neurotoxins in the chick embryo. *Neuroscience*, 1996, **16**(12): 3979~3990.
- [17] Syroid, D. E., P. R. Maycox, P. G. Burrola *et al.* Cell death in the schwann cell lineage and its regulation by neuregulin.

- Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, **93**(17): 9 229 ~ 9 234.
- [18] Chan, J., M. Quirk. A role for the nicotinic alpha-bungarotoxin receptor in neurite outgrowth in PC12 cells. *Neuroscience*, 1993, **56**(2): 441 ~ 451.
- [19] Berger, F., F. H. Gage, S. Vijayaraghavan. Nicotinic receptor-induced apoptotic cell death of hippocampal progenitor cells. *J. Neurosci.*, 1998, **18**(17): 6 871 ~ 6 881.
- [20] Ikonomidou, C., F. Bosch, M. Miksa *et al.* Blockade of NMDA receptors and apoptotic neurodegeneration in the developing brain. *Science*, 1999, **283**(5 398): 70 ~ 74.
- [21] Torri, S., N. Mikihiko, T. Takashi. Apoxin I, a novel apoptosis-inducing factor with L-amino acid oxidase activity purified from western diamondback rattlesnake venom. *Biochemistry and Molecular Biology*, 1997, **272**(14): 9 539 ~ 9 542.
- [22] Masuda, S., S. Araki, T. Yamamoto *et al.* Purification of a vascular apoptosis-inducing factor from hemorrhagic snake venom. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1997, **235**: 59 ~ 63.
- [23] Suzuki, K., M. Nakamura, Y. Hatanaka *et al.* Induction of apoptotic cell death in human endothelial cells treated with snake venom; implication of intracellular reactive oxygen species and protective effects of glutathione and superoxide dismutases. *J. Biochem. (Tokyo)*, 1997, **122**(6): 1 260 ~ 1 264.
- [24] Masuda, S., H. Hayashi, S. Araki. Two vascular apoptosis-inducing proteins from snake venom are members of the metalloprotease / disintegrin family. *Eur. J. Biochem.*, 1998, **253**(1): 36 ~ 41.
- [25] Dulce, H., F. Souza, L. M. Eugenio, J. E. Fletcher *et al.* Isolation and structural characterization of a cytotoxic L-amino acid oxidase from *Agkistrodon contortrix laticinctus* snake venom: preliminary crystallographic data. *Arch. Biochem. Biophys.*, 1999, **368**(2): 285 ~ 290.
- [26] Torri, S., K. Yamane, T. Mashima *et al.* Molecular cloning and functional analysis of apoxin I, a snake venom-derived apoptosis-inducing factor with L-amino acid oxidase activity. *Biochemistry*, 2000, **39**(12): 3 197 ~ 3 205.
- [27] Abe, Y., Y. Shimoyama, H. Munakata *et al.* Characterization of an apoptosis-inducing factor in Habu snake venom as a glycyrrhizin (GL)-binding protein potentially inhibited by GL *in vitro*. *Biol. Pharm. Bull.*, 1998, **21**(9): 924 ~ 927.
- [28] Araki, S., T. Ishida, T. Yamamoto *et al.* Induction of apoptosis by hemorrhagic snake venom in vascular endothelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1993, **190**: 148 ~ 153.
- [29] Strizhkov, B. N., E. Yu. Blishchenko, D. K. Satpaev *et al.* Both neurotoxin II from venom of *Naja naja oxiana* and its endogenous analogue induce apoptosis in tumor cells. *FEBS-Lets.*, 1994, **340**(1 ~ 2): 22 ~ 24.
- [30] 张于平. 国内 20 年蛇毒与肿瘤文献分析. *蛇志*, 1998, **10**(2): 20 ~ 22.
- [31] 章军建, 阮银洲, 田有勇等. 神经生长因子对大鼠脑缺血后海马 CA1 区神经细胞凋亡的影响. *中风与神经疾病杂志*, 1999, **16**(4): 217 ~ 218.
- [32] 吴俊芳, 王洁, 苏丹等. 神经生长因子对大鼠脑皮质神经细胞凋亡的影响. *中国药理学通报*, 1999, **15**(1): 80 ~ 83.
- [33] Carter, B. D., K. Christian, K. Barbara. Selective activation of NF-B by nerve growth factor through the neurotrophin receptor p75. *Science*, 1996, **272**: 542 ~ 545.
- [34] 郝玉书, 应红光, 林振桃等. 中华眼镜蛇蛇毒组分 C 诱导白血病细胞凋亡作用的研究. *中国中西医结合杂志*, 2000, **20**(4): 272 ~ 275.
- [35] 谭获, 余清声, 应红光等. 眼镜蛇毒 M 组分对白血病细胞株的毒性作用. *中华血液学杂志*, 1999, **20**(11): 598 ~ 599.