

尖吻蝮蛇毒对人卵巢癌 A2780 细胞的抑制作用研究^{*}

熊艳, 李博, 和七一, 余晓东

(重庆师范大学 生命科学院 活性物质生物技术教育部工程研究中心 重庆市生物活性物质工程研究中心, 重庆 401331)

摘要:【目的】研究尖吻蝮(*Deinagkistrodon acutus*)蛇毒对人卵巢癌 A2780 细胞(后简称 A2780 细胞)形态学特征、细胞增殖活力及粘附能力的影响。【方法】采用倒置荧光显微镜观察在不同质量浓度和时间条件下,尖吻蝮蛇毒对 A2780 细胞形态学特征的影响;采用 CCK-8 法检测细胞增殖率的变化,使用细胞计数法检测尖吻蝮蛇毒对细胞粘附能力的影响。【结果】当尖吻蝮蛇毒质量浓度为 $3.125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, A2780 细胞出现少量皱缩、变圆、凋亡的现象;随着尖吻蝮蛇毒质量浓度增加,细胞凋亡的现象愈加明显。当用 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的尖吻蝮蛇毒处理 A2780 细胞 1 h 后,被处理细胞出现少量皱缩、变圆现象;12 h 后,被处理细胞粘连成团,出现大量凋亡现象。在 $3.125 \sim 200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 范围内,随着尖吻蝮蛇毒质量浓度的增加, A2780 细胞增殖活力逐渐减弱,且呈明显剂量依赖关系。当用 $3.125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的尖吻蝮蛇毒处理 A2780 细胞时,细胞粘附率降为 78.26%;当蛇毒质量浓度为 $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时,细胞粘附率降为不足 10%。【结论】尖吻蝮蛇毒可明显影响 A2780 细胞的形态学特征,抑制该细胞的增殖活力以及粘附能力。

关键词:尖吻蝮蛇毒;人卵巢癌 A2780 细胞;细胞增殖;粘附

中图分类号:Q599

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2019)05-0135-06

卵巢癌为高度异质性肿瘤,在妇科恶性肿瘤发生率排名中位居第三(排名前两位的依次为子宫内膜癌和宫颈癌),致死率则居妇科恶性肿瘤之首^[1]。根据统计资料显示,全世界每年诊断出的卵巢癌患者约有 239 000 例,而死于卵巢癌的患者约有 152 000 人^[2]。目前,对卵巢癌的一般治疗方式是手术,而化疗则作为辅助治疗手段。由于卵巢位于盆腔深部,生理结构及内分泌功能等较为复杂,患者在卵巢病变早期无明显的临床症状,因此给诊断带来不便,导致大多数卵巢癌患者在确诊时已处于癌症的中晚期^[3-4]。当卵巢癌发展为晚期而无法进行手术治疗时,患者主要靠化疗进行治疗。然而化疗存在一些副作用,如化疗耐药、恶心、呕吐、腹泻、脱发、肝肾功能损伤等^[5]。因此,探究治疗卵巢癌的新方法是当前有关学者的研究重点。近些年来,国内外大量文献报道蛇毒具有抗肿瘤的作用,如:Ebrahim 等人^[6]发现里海眼镜蛇(*Naja naja oxiana*)蛇毒对人乳腺癌细胞 MCF-7、人肝癌细胞 HepG2 和人前列腺癌细胞 DU145 均有抑制作用;Moridikia 等人^[7]报道伊朗蝰蛇(*Vipera latifii*)能明显抑制人肝癌细胞 HepG2 活性;Gomes 等人^[8]从印度蝰蛇(*Daboia russelli russelli*)分离出的 drCT-1 组分对人髓系白血病细胞有抗癌活性;等等。这些研究为卵巢癌的治疗提供了新思路。

尖吻蝮(*Deinagkistrodon acutus*)又称五步蛇,隶属蝰蛇科(Viperidae)蝰亚科(Crotalinae)尖吻蝮属(*Deinagkistrodon*),广泛分布于中国南方地区^[9]。近些年来,国内学者从尖吻蝮蛇毒中分离和鉴定出多种具有抑制和杀伤癌细胞的组分。段涛等人^[10]证实细胞毒素 I3H3 对人鼻咽癌细胞株 KB、胃癌细胞株 BGC 和肺癌细胞株 A549 均有较强抑制和杀伤作用。吴勇等人^[11]纯化出 3 个小分子多肽即焦谷氨酰赖氨酸色氨酸、焦谷氨酰门冬酰胺色氨酸和焦谷氨酰谷氨酰胺色氨酸,并发现它们对人低分化胃癌细胞 BGC-283、乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和人肝癌细胞 SMMC-7721 具有抑制增殖的作用。徐平等人^[12]分离出酸性蛋白 AAVC-1,证实该组分对人肺癌 A549 细胞具有明显抑制作用,并能诱导细胞凋亡。

目前,关于尖吻蝮蛇毒抑制卵巢癌的研究报道还较为匮乏。本研究以人卵巢癌 A2780 细胞(后简称 A2780

^{*} 收稿日期:2019-03-27 修回日期:2019-08-02 网络出版时间:2019-09-26 11:24

资助项目:国家自然科学基金(No. 31470570);重庆师范大学校级项目(No. 17XLB013);重庆市科技局社会事业与民生保障科技创新专项(No. cstc2017shms-xdny80077)

第一作者简介:熊艳,女,研究方向为生物毒素与药物开发,E-mail:863223470@qq.com;通信作者:余晓东,男,教授,博士,E-mail:yxd@cqnu.edu.cn

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20190926.1124.030.html>

细胞)为研究对象,探究尖吻蝮蛇毒对 A2780 细胞形态学、增殖活力及粘附能力的影响,以便为从尖吻蝮蛇毒中分离出有效抑制卵巢癌细胞增殖、转移的组分提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

成年尖吻蝮蛇购自湖南省湘西土家族苗族自治州乌龙山,采用咬皿法制备蛇毒,经冷冻干燥后置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温保存备用。A2780 细胞购买于 American Type Culture Collection(Rockville,MD,USA)。

1.2 仪器与试剂

本研究所用的主要仪器为:GI54D 高压灭菌器(美国 ZEALWAY 公司)、高温烘烤箱(上海精宏实验设备有限公司)、超净工作台(上海博讯实业有限公司)、TGL-16B 台式离心机(上海迪索仪器有限公司)、MCO-15AC 二氧化碳培养箱(日本 SANYO 公司)、TH4-200 倒置荧光显微镜(日本 OLYMPUS 公司)、TGL-20 高速冷冻离心机(四川蜀科仪器有限公司)和酶联免疫检测仪(美国 Bio-Rad 公司)。主要耗材与试剂为:25 cm^2 细胞培养瓶和细胞培养板(美国 Corning 公司)、细胞计数板(上海新睿生物科技有限公司)、Basal medium/DMEM-H(美国 Genview 公司)、Cell Counting Kit-8(美国 Genview 公司)、Fetal Bovine Serum(美国 Sigma 公司)、青霉素-链霉素(美国 HyClone 公司)、Phosphate Buffered Saline(PBS)(美国 HyClone 公司)和 Trypsin 0.25%(1 $\times$)Solution(美国 HyClone 公司)。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 培养 A2780 细胞时,培养液选择 DMEM 培养基加质量分数为 10% 的 Fetal Bovine Serum 和 $100\text{ U}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的青霉素-链霉素,置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、体积分数为 5% 的 CO_2 以及饱和湿度的培养箱中培养。A2780 细胞呈贴壁生长。后续实验中,有关 A2780 细胞的培养液配方以及培养箱中的理化参数均保持不变。

1.3.2 不同质量浓度蛇毒对 A2780 细胞的形态学影响 采用徐平等^[13]的方法并稍作修改:取对数期生长的 A2780 细胞,经胰酶消化成悬液,使细胞密度为 $2.5\times 10^5\text{ 个}\cdot\text{mL}^{-1}$,接种于 24 孔板中,置于培养箱中培养;细胞贴壁后弃上清,用 PBS 清洗 1 次,每孔加入 900 μL 培养液,再加入不同质量浓度的蛇毒样品各 100 μL ,使蛇毒的终质量浓度分别为 3.125,6.25,12.5,25,50,100 和 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,而空白对照(蛇毒质量浓度为 0)加入等量的 PBS,置于培养箱中培养 12 h,之后拍照记录细胞形态变化。

1.3.3 不同蛇毒作用时间对 A2780 细胞的形态学影响 仍然采用徐平等^[13]的方法并稍作修改,且在加入蛇毒前的操作步骤同 1.3.2 部分;然后加入蛇毒 100 μL 使蛇毒的终质量浓度为 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,以未加蛇毒为对照(即 0 h),置于培养箱中培养 1,6,12 h,并在以上时间点拍照记录细胞形态变化。

1.3.4 蛇毒对 A2780 细胞增殖活力的影响 采用 Cell Counting Kit-8(CCK-8)试剂盒检测蛇毒对 A2780 细胞增殖能力的影响,根据试剂盒说明书进行如下操作:取对数期生长的 A2780 细胞,经胰酶消化成悬液,使细胞密度为 $2.5\times 10^5\text{ 个}\cdot\text{mL}^{-1}$,接种于 96 孔板中,置于培养箱中培养,细胞贴壁后弃上清;用 PBS 清洗 1 次,每孔加入 90 μL 培养液,再加入不同质量浓度的蛇毒样品各 10 μL ,使蛇毒的终质量浓度分别为 3.125,6.25,12.5,25,50,100 和 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,空白对照(蛇毒质量浓度为 0)加入等量的 PBS,每组 6 个复孔;再置于培养箱中培养 12 h,每孔加入 10 μL CCK-8,在培养箱中孵育 1 h;酶联免疫检测仪于 450 nm 波长检测吸光度,采用以下公式进行细胞增殖活力的计算:

$$V=\frac{A_2-A_0}{A_1-A_0}\times 100\%。$$

其中: V 为细胞增殖活力; A_0 为有培养基、CCK-8 但无培养细胞孔的吸光度; A_1 为有培养细胞、CCK-8、PBS 孔的吸光度; A_2 为有培养细胞、CCK-8 溶液、蛇毒样品孔的吸光度。

1.3.5 蛇毒对 A2780 细胞粘附能力的影响 在李博等人方法^[14]基础上稍作修改:取对数期生长的 A2780 细胞,经胰酶消化成悬液,使细胞密度为 $2.5\times 10^5\text{ 个}\cdot\text{mL}^{-1}$,接种于 24 孔板中,加入 100 μL 不同质量浓度的蛇毒样品使得蛇毒终质量浓度分别为 3.125,6.25,12.5,25,50,100 和 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$,空白对照(蛇毒质量浓度为 0)加入等量的 PBS,轻轻摇匀,置于培养箱中孵育 12 h;再用 PBS 清洗两次,于显微镜下拍照,并随机选择 3 个视野进行计数(放大倍率为 10 $\times$ 20 倍),以粘附率来表示 A2780 细胞的粘附能力:

$$R = \frac{Q_1}{Q_0} \times 100\%。$$

其中: R 为粘附率; Q_1 和 Q_0 分别为蛇毒处理后的培养细胞数量和空白对照的培养细胞数量。

1.3.6 数据统计 本研所得数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 18.0 软件对细胞增殖活力、粘附率等数据进行单因素方差分析,当 $p < 0.05$ 时,分析结果具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度蛇毒处理后 A2780 细胞的形态学变化

不同质量浓度的尖吻蝮蛇毒作用于 A2780 细胞 12 h 后,在倒置荧光显微镜下观察细胞形态。结果显示:空白对照 A2780 细胞贴壁良好,轮廓清晰,分布均匀,呈规则形态(图 1a);当蛇毒质量浓度为 $3.125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, A2780 细胞皱缩、变圆,出现少量凋亡的现象(图 1b);随着蛇毒质量浓度的增加,大量 A2780 细胞皱缩、变圆、黏连成团,出现明显的凋亡现象(图 1c~f)。以上结果说明尖吻蝮蛇毒可诱导 A2780 细胞凋亡,且两者呈剂量依赖关系,即:蛇毒剂量越大,细胞凋亡现象越明显。

为探究不同时间条件下尖吻蝮蛇毒对 A2780 细胞的形态学影响,选用 $50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的蛇毒作用于 A2780 细胞,结果如图 2 所示:未加蛇毒时, A2780 细胞贴壁良好,轮廓清晰,分布均匀,呈规则形态(图 2a);当蛇毒处理 A2780 细胞 1 h 时,少量被处理细胞出现皱缩、变圆的现象(图 2b);当蛇毒处理 A2780 细胞 6 h 时,大量被处理细胞皱缩、变圆的现象(图 2c);当蛇毒处理 A2780 细胞 12 h 时,被处理细胞粘连成团并大量出现凋亡现象。以上结果说明尖吻蝮蛇毒诱导 A2780 细胞凋亡的时间越长,细胞凋亡现象越明显。

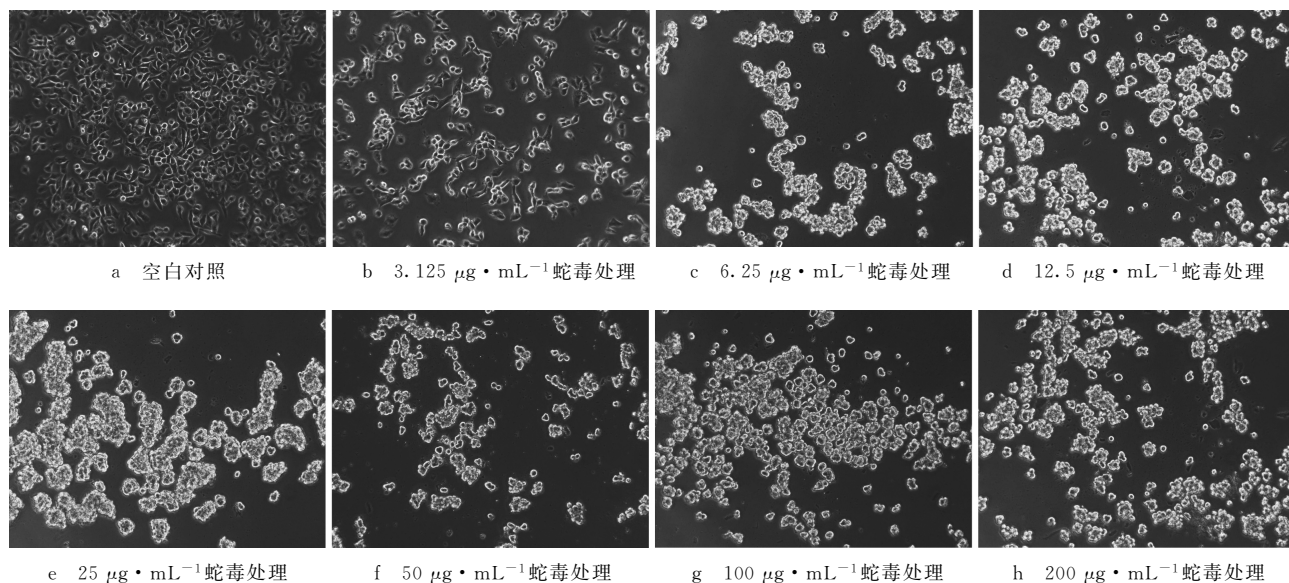


图1 不同质量浓度尖吻蝮蛇毒处理 A2780 细胞 12h 后形态学变化

Fig. 1 Morphological changes of human ovarian cancer cell line A2780 treated with different mass concentration of *D. acutus* venom for 12 h

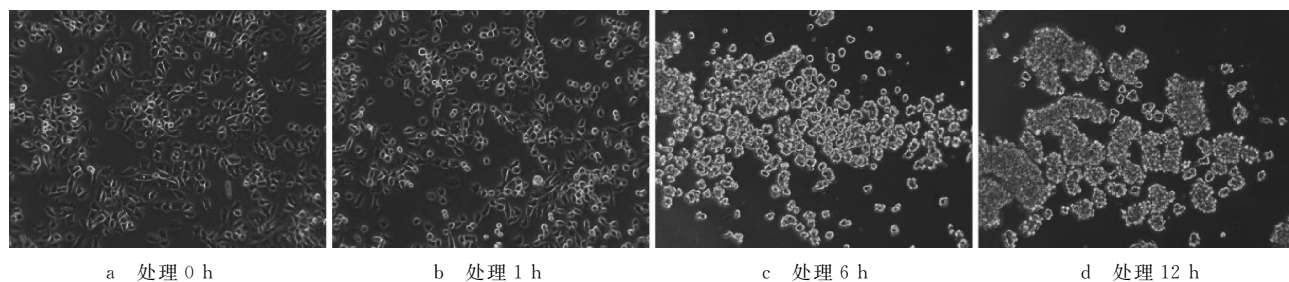


图2 尖吻蝮蛇毒处理 A2780 细胞不同时间的形态学变化

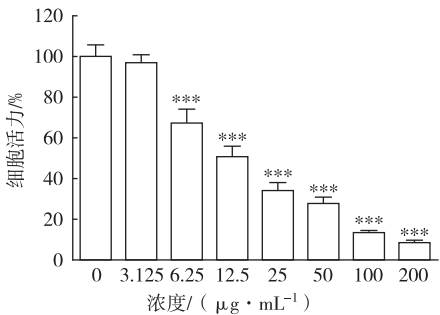
Fig. 2 Morphological changes of the different time of human ovarian cancer cell line A2780 in the ovarian cancer with the effect of *D. acutus* venom

2.2 蛇毒对 A2780 细胞体外增殖能力的影响

不同质量浓度尖吻蝮蛇毒对 A2780 细胞增殖能力的影响如图 3 所示:当蛇毒质量浓度大于或等于 $6.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,A2780 细胞的增殖活力受到明显的抑制,与空白对照中细胞增殖活力相比差异均具有统计学意义($p<0.000\text{ }1$);而且,蛇毒质量浓度与细胞增殖活力呈剂量依赖关系,蛇毒质量浓度越大则细胞增殖活力越低。

2.3 蛇毒对 A2780 细胞体外粘附的影响

图 4 显示了不同质量浓度尖吻蝮蛇毒处理 A2780 细胞 12 h 后的粘附能力变化。其中:空白对照的细胞贴壁良好,轮廓清晰,分布均匀,呈规则形态(图 4a);随着蛇毒质量浓度的增加,粘附在壁上的细胞数量越来越少,且细胞形态皱缩、变圆(图 4b~h)。根据表 1 可知:与空白对照相比,研究所设置的 7 种不同质量浓度的蛇毒处理后的细胞粘附率均有统计学意义上的下降($p<0.05$);而且当蛇毒质量浓度高于 $6.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 时,细胞粘附率锐减;随着蛇毒质量浓度的升高,细胞粘附作用越来越小。



注:***表示与空白对照(蛇毒质量浓度为 0)相比数据差异在 $p<0.000\text{ }1$ 水平上具有统计学意义,各处理样本量 $n=6$ 。

图 3 不同质量浓度尖吻蝮蛇毒处理 A2780 细胞 12h 后细胞活力的影响

Fig. 3 Effects of different mass concentration of *D. acutus* venom on cell viability of human ovarian cancer cell line A2780 after 12 h

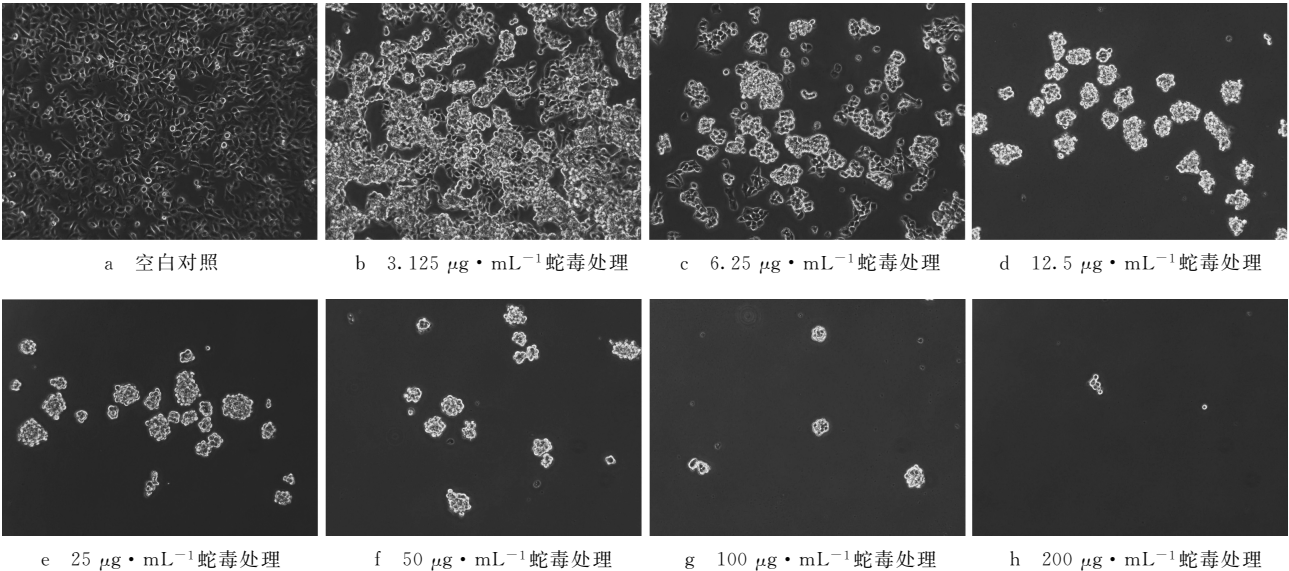


图 4 不同浓度尖吻蝮蛇毒处理 A2780 细胞 12 h 后细胞粘附能力的影响

Fig. 4 Effect of different concentrations of *D. acutus* venom on cell adhesion of human ovarian cancer cell line A2780 after 12 h

表 1 不同质量浓度的尖吻蝮蛇毒对 A2780 细胞粘附的影响

Tab.1 Effect of different mass concentration of *D. acutus* venom on adhesion of human ovarian cancer cell line A2780

蛇毒质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	A2780 细胞粘附率/%	蛇毒质量浓度/ $(\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1})$	A2780 细胞粘附率/%
0	100.00 ± 10.15	25	$6.11\pm0.89^{***}$
3.125	$78.26\pm5.99^{**}$	50	$3.20\pm0.27^{***}$
6.25	$36.50\pm5.48^{***}$	100	$1.68\pm0.58^{***}$
12.5	$12.38\pm1.54^{***}$	200	$0.72\pm0.15^{***}$

注:**和***分别表示与空白对照(蛇毒质量浓度为 0)相比数据差异在 $p<0.05$ 和 $p<0.000\text{ }1$ 水平上具有统计学意义,各处理样本量 $n=3$ 。

3 讨论

肿瘤细胞主要特征是无限增殖、侵袭和转移。肿瘤细胞侵袭和转移机制复杂,涉及许多调控因子、细胞因子

等之间的相互作用——这是导致肿瘤恶性发展的主要原因。细胞之间粘附能力的变化是细胞转移的初始阶段,并有助于肿瘤细胞从原发部位脱落,浸润周围的组织,启动转移程序^[15-16]。本研究中,经尖吻蝮蛇毒处理的 A2780 细胞形态发生了明显变化:细胞变小、变圆、皱缩,且蛇毒质量浓度及时间与 A2780 细胞的形态变化呈剂量依赖关系。A2780 细胞形态的变化可能是由于尖吻蝮蛇毒破坏了细胞结构,从而影响了维持细胞正常形态的功能^[17]。当尖吻蝮蛇毒的质量浓度为 $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, A2780 细胞活力低于 50%, 显示蛇毒对该细胞具有明显的抑制细胞增殖作用。蛇毒抑制癌细胞增殖主要通过两个途径:一是上调抑癌基因表达与下调促癌基因表达,二是阻滞细胞周期^[18]。但尖吻蝮蛇毒抑制 A2780 细胞增殖的具体途径还有待进一步的研究。在本研究中,当尖吻蝮蛇毒质量浓度高于 $6.25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时, A2780 细胞粘附率锐减,其中原因有可能是蛇毒引起受处理细胞的紧密连接蛋白表达异常,从而导致细胞连接完整性被破坏,继而使细胞之间粘附能力下降^[19]。然而,尖吻蝮蛇毒影响 A2780 细胞粘附的分子机制也有待进一步探究。

总之,本研究结果显示,尖吻蝮蛇毒能明显影响 A2780 细胞的形态学结构,抑制 A2780 细胞的增殖活力及粘附能力。该结果可为后期从尖吻蝮蛇毒中分离具有抑制卵巢癌增殖、转移的功效组分提供理论依据。

参考文献:

- [1] SIEGEL R, NAISHADHAM D, JEMAL A. Cancer statistics, 2012[J]. A Cancer Journal for Clinicians, 2012, 62(1): 10-29.
- [2] REID B M, PERMUTH J B, SELLERS T A. Epidemiology of ovarian cancer; a review[J]. Cancer Biology & Medicine, 2017, 14(1): 17-40.
- [3] RAPKIEWICZ A V, ESPINA V, PETRICIOIN III E F, et al. Biomarkers of ovarian tumours[J]. European Journal of Cancer, 2004, 40(17): 2604-2612.
- [4] MUNKARAH A, CHATTERJEE M, TAINSKY M A. Update on ovarian cancer screening[J]. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology, 2007, 19(1): 22-26.
- [5] LAI D, VISSER-GRIEVE S, YANG X. Tumour suppressor genes in chemotherapeutic drug response[J]. Bioscience Reports, 2012, 32(4): 361-374.
- [6] EBRAHIM K, VATANPOUR H, ZARE A, et al. Anticancer activity of caspian cobra (*Naja naja oxiana*) snake venom in human cancer cell lines via induction of apoptosis[J]. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 2016, 15 (Special issue): 101-112.
- [7] MORIDIKIA A, ZARGAN J, SOBATI H, et al. Anticancer and antibacterial effects of Iranian viper (*Vipera latifii*) venom; an *in-vitro* study[J]. Journal of Cellular Physiology, 2018, 233(9): 6790-6797.
- [8] GOMES A, CHOUDHURY S R, SAHA A, et al. A heat stable protein toxin (drCT-I) from the Indian viper (*Daboia russelli russelli*) venom having antiproliferative, cytotoxic and apoptotic activities[J]. Toxicon, 2007, 49(1): 46-56.
- [9] LIU Q, ZHANG X, YIN W, et al. A catalog for transcripts in the venom gland of the *Agkistrodon acutus*; identification of the toxins potentially involved in coagulopathy[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2006, 341(2): 522-531.
- [10] 段涛, 黄春洪, 孔毅, 等. 广西产尖吻蝮蛇毒细胞毒素的纯化与活性鉴定[J]. 药物生物技术, 2005, 12(3): 167-170.
- [11] 吴勇, 徐宏江, 张喜全, 等. 来源于浙江尖吻蝮蛇毒抗肿瘤多肽的纯化与特性[J]. 中国医药工业杂志, 2012, 43(6): 428-431.
- [12] 徐平. 尖吻蝮蛇毒抑瘤组分 I 对 A549 细胞及 VEC 细胞增殖和凋亡的影响[D]. 芜湖: 皖南医学院, 2014.
- [13] 徐平, 张根葆, 王斐, 等. 尖吻蝮蛇毒抑瘤组分 I 对人肺癌 A549 细胞增殖抑制作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2014, 19(5): 493-500.
- [14] 李博. 神经生长因子对上皮性卵巢癌细胞生物学行为的影响及相关机制研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2017.
- [15] SAWADA N, MURATA M, KIKUCHI K, et al. Tight junctions and human diseases[J]. Medical Electron Mi-

- croscopy, 2003, 36(3): 147-156.
- [16] CHRISTOFORI G. New signals from the invasive front [J]. Nature, 2006, 441(7092): 444-450.
- [17] 韩毅敏, 闫永达, 隋丽华. 人卵巢癌细胞微观形态的 AFM 观察[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(8): 1158-1160.
- HAN Y M, YAN Y D, SUI L H. Morphological observation on human ovary carcinoma by AFM [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2007, 7(8): 1158-1160.
- [18] 黄秒. 蛇毒抗肿瘤应用及其机制的研究进展[J]. 中国肿瘤临床, 2017, 44(19): 988-992.
- HUANG M. Advances in the research on application and antitumor mechanism of snake venom [J]. Chinese Journal of Clinical Oncology, 2017, 44(19): 988-992.
- [19] HANNIGAN G, TROUSSARD A A, DEDHAR S. Integrin-linked kinase: a cancer therapeutic target unique among its ILK [J]. Nature Reviews Cancer, 2005, 5(1): 51-63.

Inhibitory Effect of *Deinagkistrodon acutus* Venom on Human Ovarian Cancer Cell Line A2780

XIONG Yan, LI Bo, HE Qiyi, YU Xiaodong

(Chongqing Engineering Research Center of Bioactive Substance, Engineering Research Center of Active Substance and Biotechnology (Ministry of Education), College of Life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: [Purposes] To study the effects of *Deinagkistrodon acutus* venom on morphology, cell proliferation and adhesion of human ovarian cancer cell A2780 (A2780 cells). [Methods] Under the different concentrations and times, the effects of *D. acutus* venom on morphology of A2780 cells were observed using inverted fluorescence microscope. The cell proliferation activity was detected by CCK-8 method, and the changes of the cell adhesion was detected by cell counting method. [Findings] When the concentration of *D. acutus* venom was $3.125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, ovarian cancer A2780 cells appeared a small number of shrinkage, roundness, apoptosis phenomenon; with the increase of the concentration of *D. acutus* venom, the phenomenon of apoptosis was more obvious. When A2780 cells were treated with *D. acutus* venom ($50 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) for 1 h, a small number of cells became crinkled and rounded, and 12 h later, the cells conglutinated and showed a large number of apoptotic phenomena. Within the concentration ranging from 3.125 to $200 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the proliferation activity of A2780 cells decreased gradually with the increase of *D. acutus* venom concentration in a dose-dependent manner. When A2780 cells were treated with $3.125 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ *D. acutus* venom, the adhesion rate of A2780 cells decreased to 78.26%. At the concentration of $25 \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$, the cell adhesion rate decreased to less than 10%. [Conclusions] *D. acutus* venom could significantly affect the morphological characteristics of human ovarian cancer A2780 cells, and inhibit the proliferation and adhesion of the cells.

Keywords: *Deinagkistrodon acutus*; human ovarian cancer cell line A2780; cell proliferation; adhesion

(责任编辑 方 兴)