

· 论 著 ·

丙戊酸盐对胃癌细胞株 SGC-7901/VCR 耐药性的逆转作用*

缪肖波, 刘求真, 姚开泰, 肖广惠[△]

(南方医科大学肿瘤研究所, 广州 510515)

摘要:目的 探讨丙戊酸盐对人胃癌耐药细胞株 SGC-7901/VCR 耐药的逆转作用。方法 MTT 法检测 SGC-7901/VCR 对 VCR 的耐药指数; MTT 法检测丙戊酸盐对 SGC-7901 和 SGC-7901/VCR 细胞增殖的抑制作用和对 VCR 耐药逆转的效果; 用流式细胞术检测丙戊酸盐诱导细胞凋亡的作用, 将 SGC-7901/VCR 细胞用 VCR 联合丙戊酸盐处理 48 h 后, 检测各组凋亡率的差别; 用 Western blot 检测丙戊酸盐处理后蛋白质的表达水平, 分别用不同浓度(0, 0.5, 1.0, 2.0 mmol/L)的丙戊酸盐作用于 48 h 或同一浓度(1 mmol/L)作用 12, 24, 48 h 后, 检测 SGC-7901/VCR 细胞中乙酰化组蛋白 3(AcH3)表达水平对丙戊酸盐所呈现的剂量或时间依赖性变化。结果 与亲代细胞 SGC-7901 相比, 耐药细胞 SGC-7901/VCR 对 VCR 高度耐药, 耐药指数为 36.0 ($P < 0.05$); 亲代细胞 SGC-7901 和耐药细胞 SGC-7901/VCR 对丙戊酸盐的敏感性相似, 二者的 IC_{50} 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 丙戊酸盐与 VCR 联用能逆转 SGC-7901/VCR 细胞对 VCR 的耐药性, 并增加细胞的凋亡 ($P < 0.05$); 丙戊酸盐能增加 SGC-7901/VCR 细胞 AcH3 的表达, 且具有浓度和时间依赖性。结论 丙戊酸盐可通过诱导细胞凋亡和增加组蛋白的表达逆转 SGC-7901/VCR 细胞的耐药性。

关键词: 丙戊酸盐; 胃肿瘤; SGC-7901/VCR; 药物耐受性; 逆转

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.32.002

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)32-3356-04

Reversal effect of valproate on drug resistance in gastric cancer cell line SGC-7901/VCR*

Miao Xiaobo, Liu Qizhen, Yao Kaitai, Xiao Guanghui[△]

(Cancer Research Institution of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

Abstract: **Objective** To explore the reversal effect of valproate on drug resistance of gastric cancer cell line SGC-7901/VCR. **Methods** The reversal effect of valproate on VCR resistance of SGC-7901/VCR was analyzed by MTT assay. Cells were treated with VCR and valproate for 48 hours, followed by measurement of cell survival rates. The apoptosis rates of SGC-7901/VCR cells were detected by FACS, cells were treated with VCR in combination with valproate for 48 hours followed by apoptosis assay with Annexin V staining. To detect the effect of valproate on the expression levels of AcH3, SGC-7901/VCR cells were treated with increasing concentrations(0, 0.5, 1.0 and 2.0 mmol/L) of valproate for 48 hours, or with 1 mmol/L valproate for 12, 24 or 48 hours, the expression levels of AcH3 were assayed by Western blot. **Results** Compared with the parental cell line SGC-7901, the drug resistance cell line SGC-7901/VCR was highly resistant to VCR, and the resistance index was 36.0 ($P < 0.05$). The parental cell line SGC-7901 and the drug resistance cell line SGC-7901/VCR were almost equally sensitive to valproate with similar IC_{50} values ($P > 0.05$). Importantly, combinational use of VCR and valproate resulted in reversal of VCR resistance and induced apoptosis of SGC-7901/VCR cells ($P < 0.05$). Furthermore, treatment with valproate increased expression levels of AcH3 in SGC-7901/VCR cells in a time and dosage dependent manner. **Conclusion** Valproate can reverse VCR resistance of SGC-7901/VCR through inducing apoptosis and increasing the expression of AcH3.

Key words: valproate; gastric neoplasms; SGC-7901/VCR; drug tolerance; reversal

胃癌是世界常见恶性肿瘤之一^[1], 目前早期胃癌多采用手术治疗为主的综合治疗, 而对于中晚期患者, 化疗则是综合治疗的重要措施之一^[2]。然而导致化疗失败的重要原因就是化疗过程中形成的多药耐药性(multidrug resistance, MDR)^[3]。多药耐药性是指恶性肿瘤细胞接触一种抗癌药后, 继而对多种结构不同、作用机制各异的其他抗癌药产生耐药性的现象^[4], 其成为化疗失败以及缓解后复发的主要原因。因此, 寻找能够逆转 MDR 的药物成为胃癌研究的热点。丙戊酸盐(Valproate)是一种短链脂肪酸, 目前在临床上被作为一线药物用来治疗癫痫^[5-6], 后有实验证明丙戊酸盐具有抑制组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)的作用^[7], 这类抑制剂被称为组蛋白去乙酰化酶抑制剂, 是一种新型且有效的抗肿瘤药物, 可促进组蛋白乙酰化, 激活某些基因转录, 诱导细胞生长停

滞、促进细胞分化和凋亡, 并具有抑制肿瘤血管生成和转移的作用^[8]。丙戊酸盐作为抗肿瘤药物的临床实验正在进行。本实验选择 SGC-7901 和 SGC-7901/VCR 细胞作为实验对象, 观察丙戊酸盐对耐药细胞 SGC-7901/VCR 耐药性的逆转作用, 并探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 细胞培养 人胃癌细胞株 SGC-7901 及其耐药株 SGC-7901/VCR 由中南大学湘雅医学院细胞中心提供, 将细胞置入含青/链霉素 100 U/mL 青/链霉素和 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养液中, 在 37 °C, 5% CO₂ 恒温培养箱密闭条件下培养, 每 3 天换 1 次液。

1.2 主要试剂和药物 胎牛血清、RRPMI-1640 培养液、青/链霉素(Gibco); MTT(Sigma); 二甲亚砜(DMSO, Sigma); 长春

* 基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划, 2010CB529400)。

通讯作者, Tel: 13070251782; E-mail: ghxiao@126.com。

新碱(VCR,深圳万乐药业);丙戊酸盐(Chalbiochem);Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(凯基生物);抗乙酰化组蛋白 3(acetylated histone H3, AcH3)单克隆抗体、 β -Actin 抗体(Santa Cruz)。

1.3 MTT 法检测 SGC-7901 及 SGC-7901/VCR 细胞对 VCR 及丙戊酸盐的敏感性 以每孔 5 000 个细胞接种于 96 孔培养板中,每孔体积 100 μ L,每组 3 孔,同时设空白对照(仅加培养基),分别加入 VCR(浓度梯度为 10.000、5.000、2.500、1.250、0.625、0.320、0.160 和 0.000 μ mol/L)或丙戊酸盐(浓度梯度为 32.0、16.0、8.0、4.0、2.0、1.0、0.5 和 0.0 mmol/L)培养 48 h 后,每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 20 μ L,37 $^{\circ}$ C 继续培养 4 h 后终止培养,小心吸弃孔内培养基,加入二甲基亚砜(DMSO)150 μ L,室温孵育 10 min,微振荡器振荡 10 min,使结晶物充分溶解,以空白对照孔调零,测定 OD 值,绘制耐药曲线。IC₅₀ 软件分析 SGC-7901 和 SGC-7901/VCR 细胞对 VCR 及丙戊酸盐的 IC₅₀,并计算耐药指数,对某一药物的 RI=耐药细胞 IC₅₀/亲本细胞 IC₅₀。

1.4 丙戊酸盐对耐药细胞 SGC-7901/VCR 耐 VCR 的逆转作用 制备单细胞悬液,接种于 96 空培养板,每孔 5 000 个细胞,37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱过夜,待细胞完全贴壁后,加入药物。MTT 法检测丙戊酸盐对耐药细胞 SGC-7901/VCR 耐 VCR 的逆转时,VCR 设 8 个药物梯度,分别为 10.000、5.000、2.500、1.250、0.625、0.320、0.160 和 0.000 μ mol/L;丙戊酸盐设 3 个药物梯度,分别为 1.0、0.5 和 0.0 mmol/L。共设 3 个实验组:(1)VCR;(2)0.5 mmol/L + VCR;(3)1.0 mmol/L + VCR。加入药物继续培养 48 h 后,每孔加入 5 mg/mL 的 MTT 20 μ L,37 $^{\circ}$ C 继续培养 4 h 后终止培养,小心吸弃孔内培养基,加入二甲基亚砜(DMSO)150 μ L,室温孵育 10 min,微振荡器振荡 10 min,使结晶物充分溶解,以空白对照孔调零,测定 OD 值,绘制耐药曲线。观察耐药细胞 SGC-7901/VCR 对 VCR 的敏感性,计算 IC₅₀ 和逆转指数(逆转指数=使用逆转药物前 IC₅₀/使用逆转药物后 IC₅₀)。

1.5 流式细胞术检测细胞凋亡 收集对数生长期的 SGC-7901/VCR 细胞,消化、计数、铺板,37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 培养箱中培养,待培养 12 h 细胞完全贴壁后,进行不同处理(未处理组、1.0 μ mol/L VCR 处理组、0.5 mmol/L 丙戊酸盐处理组、1.0 mmol/L 丙戊酸盐处理组、1.0 μ mol/L VCR + 0.5 mmol/L 丙戊酸盐处理组和 1 μ mol/L VCR + 1.0 mmol/L 丙戊酸盐处理组),药物作用 48 h 后,收集所有细胞(包括液体中悬浮的细胞)后计数,调整细胞浓度为 1 \times 10⁶/mL。SGC-7901/VCR 细胞未处理组分别设空白对照管和凋亡检测管,其余药物处理组只设凋亡检测管。凋亡检测管反应容积为 100 μ L,加入 FITC-Annexin V 和 PI 各 5 μ L 后室温避光孵育 30 min。孵育完成后,D-Hanks 洗涤 2 次后 D-hanks 重悬,上 BD 公司 FAC-SAria 型号流式细胞仪检测细胞凋亡,并计算总凋亡率(早期凋亡+晚期凋亡)。

1.6 Westernblot 实验检测 SGC-7901/VCR 细胞中乙酰化组蛋白 AcH3 的表达 首先提取亲代细胞 SGC-7901 和耐药细胞 SGC-7901/VCR 的总蛋白,检测两细胞中 AcH3 的表达差异。继而用不同浓度(0.0、0.5、1.0 或 2.0 mmol/L)的丙戊酸盐作用于 SGC-7901/VCR 细胞 48 h 或同一浓度(1 mmol/L)作用 12、24、48 h 后,检测丙戊酸盐其影响 AcH3 表达的规律。为了明确丙戊酸盐对 AcH3 的特异性,4 种处理方法(未处理、1.0 μ mol/L VCR、1.0 mmol/L 丙戊酸盐和 1.0 μ mol/L VCR

+ 1.0 mmol/L 丙戊酸盐)处理 SGC-7901/VCR 细胞 48 h 后,检测细胞中 AcH3 的表达。提取的蛋白经 BCA 法测定蛋白浓度后,煮沸变性上样于 SDS-PAGE 凝胶进行电泳分离,转膜,封闭,然后依次结合 AcH3 单克隆抗体和 HRP 标记的二抗,将 ECL 发光液 Solution A 和 Solution B 按 1:1 比例混合,Bio-Rad 公司 molecular Imager ChemiDoc™ XRS+ 成像系统下采集曝光图像。

1.7 统计学处理 数据采用 SPSS13.0 进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两样本比较采用独立样本 *t* 检验分析;One-way ANOVA 比较同一细胞不同处理组的差异;两细胞不同药物处理的凋亡率数据采用析因设计方差分析,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 SGC-7901 及 SGC-7901/VCR 细胞对 VCR 及丙戊酸盐的敏感性 与亲代细胞 SGC-7901 相比,耐药细胞 SGC-7901 对 VCR 不敏感,IC₅₀ 分别为 (0.073 \pm 0.020) μ mol/L 和 (2.530 \pm 0.287) μ mol/L,两者差异具有统计学意义(*t* = -14.793, *P* = 0.004),耐药倍数为 36.0。而 SGC-7901 和 SGC-7901/VCR 细胞对丙戊酸盐的 IC₅₀ 分别为 3.681 \pm 0.889 mmol/L 和 3.313 \pm 0.511 mmol/L,两者之间差异无统计学意义(*t* = 0.621, *P* = 0.568),这表明 SGC-7901 和 SGC-7901/VCR 对丙戊酸盐的敏感性基本相同。根据丙戊酸盐抑制细胞增殖曲线可知,丙戊酸盐在 0.5 mmol/L 和 1 mmol/L 时,对 SGC-7901 和 SGC-7901/VCR 细胞的抑制作用较弱,细胞存活率大于 60%,细胞毒性较弱,本研究选择这两个浓度作为逆转耐药时的药物处理浓度,见表 1。

表 1 MTT 比较 SGC-7901 和 SGC-7901/VCR 细胞的耐药能力($\bar{x}\pm s, n=3$)

细胞系	IC ₅₀	
	VCR(μ mol/L)	丙戊酸盐(mmol/L)
SGC-7901	0.073 \pm 0.020	3.681 \pm 0.889
SGC-7901/VCR	2.530 \pm 0.287	3.313 \pm 0.511
<i>t</i>	-14.793	0.621
<i>P</i>	0.004	0.568
耐药指数	36.0	1.0

2.2 丙戊酸盐对 SGC-7901/VCR 细胞耐 VCR 的逆转作用 与 SGC-7901 细胞相比,SGC-7901/VCR 细胞对 VCR 的耐药指数约为 36.0。为了检测丙戊酸盐对耐药细胞耐 VCR 逆转作用的效果,将丙戊酸盐与 VCR 联用,在 0.5 mmol/L 或 1.0 mmol/L 丙戊酸盐存在的条件下,SGC-7901/VCR 细胞对 VCR 的敏感性明显增加,IC₅₀ 由 (2.433 \pm 0.208) μ mol/L 分别降为 (0.850 \pm 0.132) μ mol/L 和 (0.433 \pm 0.104) μ mol/L,且随着丙戊酸盐浓度的上升逆转作用增强,各处理组间差异有统计学意义(*F* = 139.826, *P* = 0.000),逆转指数分别为 2.86 和 5.62,见表 2。

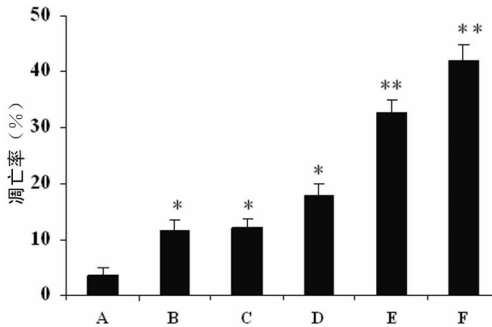
2.3 丙戊酸盐与 VCR 联用可增加 SGC-7901/VCR 细胞的凋亡率 为了检测丙戊酸盐单用或联合 VCR 使用后对细胞凋亡的影响,将耐药细胞 SGC-7901/VCR 依次进行 6 种处理,分别为未处理、1.0 μ mol/L VCR 处理、0.5 mmol/L 丙戊酸盐处理、1.0 mmol/L 丙戊酸盐处理、1.0 μ mol/L VCR + 0.5 mmol/L 丙戊酸盐处理和 1.0 μ mol/L VCR + 0.5 mmol/L 丙戊

酸盐处理。48 h 后流式细胞术检测细胞凋亡结果显示凋亡率分别为(3.600±0.552)%、(11.600±2.193)%、(12.133±2.103)%、(17.967±2.616)%、(32.7±2.685)%和(41.900±3.659)%。除 1.0 μmol/L VCR 处理组与 0.5 mmol/L 丙戊酸盐处理组之间差异无统计学意义(P>0.05)外,其余各组之间的差异均有统计学意义(P<0.05)。此结果表明丙戊酸盐与 VCR 联用可促进细胞的凋亡,且这种作用具有浓度依赖性,见图 2。

表 2 丙戊酸盐对 SGC-7901/VCR 细胞耐药性的逆转作用(n=3)

药物	IC ₅₀ ($\bar{x} \pm s, \mu\text{mol/L}$)	耐药指数	逆转指数
VCR	2.433±0.208	36.00	—
VCR+0.5 mmol/L 丙戊酸盐	0.850±0.132	11.60	2.86
VCR+1.0 mmol/L 丙戊酸盐	0.433±0.104	5.61	5.62
F	139.826	—	—
P	0.000	—	—

—:表示无数据。



A:未处理;B:1.0 μmol/L VCR;C:0.5 mmol/L 丙戊酸盐;D:1.0 mmol/L 丙戊酸盐;E:1.0 μmol/L VCR + 0.5 mmol/L 丙戊酸盐;F:1.0 μmol/L VCR + 1.0 mmol/L 丙戊酸盐。*:P<0.05; **:P<0.01,与 A 比较。

图 2 丙戊酸盐与 VCR 联用对 SGC-7901/VCR 细胞凋亡的影响(n=3)

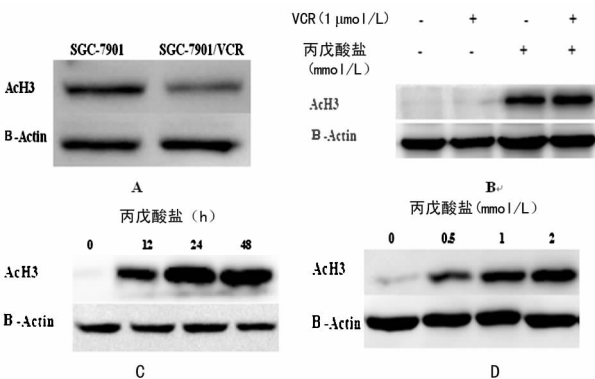


图 3 丙戊酸盐诱导 SGC-7901/VCR 细胞中组蛋白的增加

2.4 丙戊酸盐逆转 SGC-7901/VCR 细胞耐药的机制 Western blot 实验结果显示,与亲代细胞 SGC-7901 相比,耐药细胞 SGC-7901/VCR 的 AcH3 的表达降低(图 3A)。未处理、1 μmol/L VCR、1.0 mmol/L 丙戊酸盐和 1 μmol/L VCR + 1.0 mmol/L 丙戊酸盐等 4 种处理后 SGC-7901/VCR 细胞中 AcH3 检测结果显示:与未处理组相比,1.0 mmol/L 丙戊酸盐和 1.0 μmol/L VCR + 1.0 mmol/L 丙戊酸盐处理组 AcH3 表

达明显增高,而 1.0 μmol/L VCR 处理组无变化(图 3B)。这说明丙戊酸盐能够增加 SGC-7901/VCR 细胞中 AcH3 的表达。用 0.5、1.0 或 2.0 mmol/L 丙戊酸盐分别处理 SGC-7901/VCR 细胞 48 h 后,AcH3 的表达量随药物浓度的上升而逐渐增加(图 3C);用同一浓度(1.0 mmol/L)的丙戊酸盐处理 SGC-7901/VCR 细胞 12、24、48 h 后发现,随处理时间的延长,AcH3 的表达量也逐渐增加(图 3D)。这说明丙戊酸盐增加 AcH3 的表达具有浓度和时间依赖性。

3 讨论

在近代肿瘤治疗进程中,MDR 已成为影响化疗效果和远期预后的重要因素^[9]。自 1970 年 Bieder 等^[10]首次阐述 MDR 以来,对 MDR 形成机制的研究持续存在。肿瘤细胞对化疗药物产生耐药性是治疗失败的主要原因,也是临床所需要解决的难题^[11]。由于肿瘤细胞发生 MDR 的机制十分复杂,因此选择理想的耐药细胞模型是解决问题最基本的条件。本研究选择的耐药细胞 SGC-7901/VCR 与亲代细胞 SGC-7901 相比对 VCR 化疗药物均有较强耐药性,耐药倍数高达 36.0,是研究逆转耐药的较好模型。Kim 等^[12]的实验发现多数胃癌组织中有 HDAC1 mRNA 和蛋白高表达,这表明在胃癌组织中组蛋白去乙酰化酶的表达增加,而组蛋白的表达是明显降低的。亲代细胞 SGC-7901 与耐药细胞 SGC-7901/VCR 细胞作为胃癌细胞系,也具有此特点,因此可以选择胃癌细胞作为丙戊酸盐逆转耐药的研究对象。

组蛋白氨基端富含赖氨酸残基,对其中保守位点的乙酰化修饰可以影响 DNA 与转录调节复合物的结合,调控 DNA 的复制和修复、基因表达、染色质组装和细胞有丝分裂^[13]。组蛋白的乙酰化状态由两类酶来决定,即组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)和组蛋白脱乙酰基酶(histone deacetylase, HDAC)^[14]。这两类酶对组蛋白乙酰化作用调控的失衡,可导致染色质结构改变,使调节细胞周期、细胞分化、凋亡的基因转录失衡,从而导致细胞的恶变。HDACIs 作为一类新型、有效的抗肿瘤化合物,可促进组蛋白乙酰化,激活某些基因转录,诱导细胞生长停滞、促进细胞分化和凋亡^[15]。丙戊酸盐作为一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACIs),与 SAHA、TSA 等 HDACIs 相比,具有作用时间长,毒性作用较弱等优点^[16]。而且本研究发现丙戊酸盐对 SGC-7901 和 SGC-7901/VCR 细胞的 IC₅₀ 分别为(3.681±0.889)mmol/L 和(3.313±0.511)mmol/L,二者之间差异无统计学意义,这表明与 SGC-7901 相比,SGC-7901/VCR 对丙戊酸盐的敏感性相同。本研究选取 0.5 mmol/L 和 1.0 mmol/L 两个较低浓度丙戊酸盐与 VCR 联用,观察其逆转耐药效果,结果发现丙戊酸盐使 SGC-7901/VCR 细胞对 VCR 的敏感性明显增加,IC₅₀ 由(2.433±0.208)mol/L 分别降为(0.850±0.132)μmol/L 和(0.433±0.104)μmol/L,逆转指数分别为 2.86 和 5.62。

Keshelava 等^[17]在神经母细胞瘤的研究中发现,耐药细胞中组蛋白去乙酰化酶的表达明显增加,即乙酰化组蛋白表达明显降低。通过抑制 HDAC 的表达或降低其活性可增加多药耐药细胞对普通化疗药物的敏感性。为了探讨丙戊酸盐逆转耐药的机制,本实验首先检测了亲代细胞和耐药细胞中 AcH3 的表达,结果证实耐药细胞 SGC-7901/VCR 中 AcH3 的表达量明显低于亲代细胞 SGC-7901。丙戊酸盐单独或与 VCR 联用后检测结果显示 VCR 不能增加 AcH3 的表达,而丙戊酸盐增加 AcH3 表达则具有浓度和时间依赖性。增加的乙酰化组蛋

白通过多种途径杀灭肿瘤细胞,其中最重要的就是增加细胞凋亡^[18]。因此,本实验将低浓度丙戊酸盐和 VCR 联用后流式检测细胞凋亡的变化,结果发现:与未处理组相比,单独丙戊酸盐或 VCR 处理细胞均可诱导凋亡但比例较低,而两药联用时耐药细胞 SGC-7901/VCR 细胞的凋亡率明显增加。因此,丙戊酸盐通过抑制去乙酰化酶增加乙酰化组蛋白(如 AcH3)的表达,进而通过一系列机制促进细胞凋亡逆转耐药。

目前,许多组蛋白去乙酰化酶抑制剂类药物进入了临床实验和一线治疗,如 MS-275、他地那兰、belinostat、vorinostat、帕比司他等,均显示了较好的抗肿瘤效果^[19]。作为一种新型非细胞毒的广谱抗肿瘤药物,HDACi 具有良好的临床应用前景和价值,作为其中的一种,由于丙戊酸盐作用时间长、安全范围大等特点,特别是联合其他化疗药物时对化疗疗效的促进作用,将会使其应用得到越来越多的重视。

参考文献:

- [1] Alberts SR, Cervantes A, van de Velde CJ. Gastric cancer: epidemiology, pathology and treatment[J]. *Ann Oncol*, 2003, 14(2): 31-36.
- [2] Sasako M. Principles of surgical treatment for curable gastric cancer[J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(23 Suppl): 274-275.
- [3] Kowalski P, Stein U, Scheffer GL, et al. Modulation of the atypical multidrug resistant phenotype by a hammerhead ribozyme directed against the ABC transporter BCRP/MXR/ABCG2[J]. *Cancer Gene Ther*, 2002, 9(7): 579-586.
- [4] Pastan I, Cottesman MM. Multidrug resistance[J]. *Annu Rev Med*, 1991, 42: 277-286.
- [5] Eong MR, Hashimoto R, Senatorov VV, et al. Valproic acid, a mood stabilizer and anticonvulsant, protects rat cerebral cortical neurons from spontaneous cell death: a role of histone deacetylase inhibition[J]. *FEBS Lett*, 2003, 542(1/2/3): 74-78.
- [6] Phiel CJ, Zhang F, Huang EY, et al. Histone deacetylase is a direct target of valproic acid, a potent anticonvulsant, mood stabilizer, and teratogen[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(39): 36734-36741.
- [7] Gottlicher M, Minucci S, Zhu P, et al. Valproic acid defines a novel class of HDAC inhibitors inducing differentiation of transformed cells[J]. *EMBO J*, 2001, 20(24): 6969-6978.
- [8] Marks PA, Richon VM, Rifkind RA. Histone deacetylase inhibitors: inducers of differentiation or apoptosis of transformed cells[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(15):

1210-1216.

- [9] Perez-Tomas R. Multidrug resistance: retrospect and prospects in anti-cancer drug treatment[J]. *Curr Med Chem*, 2006, 13(16): 1859-1876.
- [10] Biedler JL, Riehm H. Cellular resistance to actinomycin D in Chinese hamster cells in vitro: Cross-resistance, radioautographic, and cytogenetic studies [J]. *Cancer Res*, 1970, 30(4): 1174-1184.
- [11] Lin XS, Rui M, Rong L, et al. Reversal effect of tyrosyl-valine(YSV) tripeptide on multi-drug resistance in resistant human hepatocellular carcinoma cell line BEL-7402/5-FU[J]. *Cancer Letters*, 2008, 269(1): 101-110.
- [12] Kim JH, Choi YK, Yang HK, et al. Downregulation of gelsolin and retinoic acid receptor beta expression in gastric cancer tissues through histone deacetylase 1[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2004, 19(2): 218-224.
- [13] Huang C, Sloan EA, Boerkoel CF. Chromatin remodeling and human disease[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2003, 13(3): 246-249.
- [14] Khochbin S, Verdel A, Lemercier C, et al. Functional significance of histone deacetylase diversity[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2001, 11(2): 162-166.
- [15] Marks PA, Richon VM, Rifkind RA. Histone deacetylase inhibitors: inducers of differentiation or apoptosis of transformed cells[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(15): 1210-1216.
- [16] Vandermeers F, Hubert P, Delvenne P, et al. Valproate, in combination with pemetrexed and cisplatin, provides additional efficacy to the treatment of malignant mesothelioma [J]. *Clin Cancer Res*, 2009, 15(8): 2818-2828.
- [17] Keshelava N, Davicioni E, Wan Z, et al. Histone Deacetylase 1 Gene Expression and Sensitization of Multidrug-Resistant Neuroblastoma Cell Lines to Cytotoxic Agents by Dipeptide[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99(14): 1107-1119.
- [18] Burgess A, Ruefli A, Beamish H, et al. Histone deacetylase inhibitors specifically kill nonproliferating tumour cells[J]. *Oncogene*, 2004, 23(40): 6693-6701.
- [19] 焦杰,徐文方. 新型抗肿瘤药组蛋白脱乙酰基抑制剂的临床研究进展[J]. *中国新药与临床杂志*, 2009, 28(3): 161-163.

(收稿日期:2012-02-11 修回日期:2012-07-01)

(上接第 3355 页)

et al Clinical impact of different classes of infiltrating T cytotoxic and helper cells (Th1, th2, treg, th17) in patients with colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 2011, 71(4): 1263-1271.

- [15] Chen T, Guo J, Han C, et al. Heat shock protein 70, re-

leased from heat-stressed tumor cells, initiates antitumor immunity by inducing tumor cell chemokine production and activating dendritic cells via TLR4 pathway[J]. *J Immunol*, 2009, 182(3): 1449-1459.

(收稿日期:2012-02-09 修回日期:2012-06-12)