

5-氮-2'-脱氧胞苷和曲古抑菌素 A 对子宫内膜腺癌细胞的抑制作用

张 嵩¹, 牟晓燕¹, 王红梅², 姜淑娟^{1*}, 王少华³, 刘春生³(1. 山东大学附属省立医院呼吸内科, 济南 250021; 2. 山东大学附属省立医院妇产科, 济南 250021; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, Mayo Comprehensive Cancer Center, Mayo Clinic and Foundation, Rochester, Minnesota 55905, USA)

[摘要] 目的: 研究去甲基化制剂 5-氮-2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-CdR)和组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素 A(trichostatin A, TSA)在体内外对子宫内膜腺癌 Ishikawa 细胞的抑制作用。方法: 以 5-Aza-CdR 和 TSA 单独或联合作用 Ishikawa 细胞, 锥虫蓝拒染法观察药物对肿瘤细胞生长的影响, 流式细胞仪检测细胞凋亡和分析细胞周期, Western blotting 检测肿瘤细胞凋亡信号通路中 caspase-8 活化及多聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)裂解情况。建立裸鼠 Ishikawa 细胞移植瘤模型, 观察两抑制剂作用下的移植成瘤率、肿瘤的体积和重量。结果: 5-Aza-CdR 和 TSA 对 Ishikawa 细胞增殖有明显的抑制作用, 呈剂量、时间依赖性; 两制剂联合作用时抑制作用更强($P < 0.05$)。5-Aza-CdR 或 TSA 均可诱导细胞凋亡, 联合作用后细胞的凋亡率更高($P < 0.05$); 5-Aza-CdR 和 TSA 联合应用使细胞发生明显的 G₁ 期阻滞; 5-Aza-CdR 和 TSA 诱导了 caspase-8 活化及 PARP 裂解。荷瘤小鼠予 5-Aza-CdR 和 TSA 治疗后移植瘤生长速度减慢, 移植瘤体积和重量明显减少。结论: 5-Aza-CdR 与 TSA 能抑制 Ishikawa 肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡, 两者联合作用时强度明显增加; 其机制与两制剂诱导 caspase-8 活化及 PARP 裂解有关。

[关键词] 5-氮-2'-脱氧胞苷; 曲古抑菌素 A; 子宫内膜腺癌细胞; 细胞增殖; 细胞周期; 凋亡

[中图分类号] R737.33; R730.54 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2008)04-0326-05

Inhibitory effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine and trichostatin A against human endometrial cancer cell line Ishikawa

ZHANG Song¹, MOU Xiao-yan¹, WANG Hong-mei², JIANG Shu-juan^{1*}, WANG Shao-hua³, LIU Chun-sheng³(1. Department of Respiratory Medicine, Provincial Hospital, Shandong University, Jinan 250021, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Provincial Hospital, Shandong University, Jinan 250021, China; 3. Department of Obstetrics and Gynecology, Mayo Comprehensive Cancer Center, Mayo Clinic and Foundation, Rochester, Minnesota 55905, USA)

[Abstract] **Objective:** To study the inhibitory effect of demethylating agent 5-Aza-2'-deoxycytidine(5-Aza-CdR) and trichostatin A (TSA) against human endometrial cancer cell line Ishikawa *in vitro*. **Methods:** Ishikawa cells were treated with 5-Aza-CdR, TSA or a combination of both and the growth curves of cells in each group were obtained by trypan-blue exclusion assay and cell counting. The cell apoptosis was examined by Annexin V, cell cycle by flow cytometry, and cleavage of poly ADP-ribose polymerase (PARP) and activation of caspase-8 by Western blotting. The effect of the 2 inhibitors on the survival rates of transplanted tumors, tumor sizes and weights were studied in mouse transplantation model of Ishikawa cells. **Results:** 5-Aza-CdR and TSA inhibited the growth of Ishikawa cells in a dose- and time-dependent manner. 5-Aza-CdR combined with TSA resulted in greater growth inhibition than they were used alone($P < 0.05$). 5-Aza-CdR and TSA both induced apoptosis of Ishikawa cells, and a combination of the two caused higher apoptosis rate($P < 0.05$). 5-Aza-CdR combined with TSA also induced the G₁ phase arrest of Ishikawa cells. Caspase-8 activation and cleavage of PARP were confirmed by Western blotting. 5-Aza-CdR and TSA inhibited the growth of transplanted tumors and reduced the volume and weight of tumors. **Conclusion:** 5-Aza-CdR and TSA can inhibit the growth of Ishikawa cells and induce their apoptosis, and combination of both has more potent effect, which might be related to the activation of caspase-8 and the cleavage of PARP.

[Key words] 5-Aza-2'-deoxycytidine; trichostatin A; endometrial adenocarcinoma; cell cycle; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(4): 326-330]

[基金项目] 山东省引进国外智力项目基金资助(No. 20083700340). Supported by the Initiate Overseas Intelligence Program Foundation of Shandong Province (No. 20083700340)

[作者简介] 张 嵩(1973-)男, 汉族, 辽宁省大连市人, 博士研究生, 主要从事肿瘤分子生物学方面的研究

* Corresponding author. E-mail: shujuan-jiang@163.com

抑癌基因失活是肿瘤发生发展的关键因素之一。DNA 甲基化和组蛋白去乙酰化是抑癌基因失活的重要机制,两者在基因转录抑制方面具有协同作用^[1-4]。5-氮-2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-CdR)是一种 DNA 甲基转移酶抑制剂,可使抑癌基因 CpG 岛去甲基化而恢复其抑癌功能,抑制肿瘤细胞的生长^[5]。组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古抑菌素 A (trichostatin A, TSA)源自链霉菌代谢产物,可抑制肿瘤细胞增殖,诱导肿瘤细胞分化和凋亡,并可发挥免疫调节作用^[6]。

子宫内膜腺癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤,Ishikawa 细胞是高分化子宫内膜腺癌细胞,因其与正常子宫内膜细胞的特性相似,可用于研究子宫内膜的功能和特性。目前国内外应用 5-Aza-CdR 和 TSA 作用于子宫内膜腺癌的相关研究较少。本实验探讨 5-Aza-CdR 和 TSA 对子宫内膜腺癌 Ishikawa 细胞增殖和凋亡的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和实验动物

人子宫内膜腺癌 Ishikawa 细胞株由美国 Mayo Clinic 肿瘤实验室惠赠,以含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液于 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。5-Aza-CdR 和 TSA 购自 Sigma 公司(美国),用二甲基亚砜(DMSO)溶解备用。碘化丙锭(PI)购自 Sigma 公司,鼠抗人 Caspase-8 和 PARP 的单克隆抗体购自 Boehringer Mannheim 公司,辣根过氧化物酶偶联羊抗鼠 IgG 购自 Boehringer Mannheim 公司。Annexin V 试剂盒由 Mayo Clinic 肿瘤实验室惠赠。BALB/c 裸鼠,雄性,6~8 周,购自 NIC(美国国家癌症研究所)。由于本研究部分工作在美国 Mayo Clinic 肿瘤研究所完成,故实验用细胞株、部分试剂及动物均由该单位提供。

1.2 锥虫蓝拒染法检测 5-Aza-CdR 和 TSA 对人子宫内膜腺癌 Ishikawa 细胞生长的影响

将对数生长期 Ishikawa 细胞以 1×10^6 /ml 密度接种于 96 孔培养板上,加入 5-Aza-CdR 培养 48 h,洗涤后加入 TSA,终浓度分别为:5-Aza-CdR 0.5 μ mmol/L、5-Aza-CdR + TSA(0.5 + 0.5 μ mmol/L)、5-Aza-CdR + TSA(0.5 + 1.0 μ mmol/L)、5-Aza-CdR + TSA(1.0 + 1.0 μ mmol/L),另设空白对照组和单独 TSA 组(0.5 μ mmol/L),锥虫蓝拒染法光镜下计数细胞,以药物作用时间为横坐标,活细胞数为纵坐标,绘制细胞生长曲线。

1.3 Annexin V 染色流式细胞术检测 5-Aza-CdR 和 TSA 对 Ishikawa 细胞凋亡的影响

收集不同处理组细胞,PBS 洗 2 次,调整细胞密

度为 1×10^6 /ml,取 100 μ l 细胞悬液加入 5 μ l Annexin V-FITC 和 5 μ l 碘化丙锭,混匀,于暗室处室温孵育 15 min。上流式细胞仪检测。

1.4 流式细胞术检测 5-Aza-CdR 和 TSA 对 Ishikawa 细胞周期的影响

收集经 5-Aza-CdR 和 TSA 处理前后培养的细胞,生理盐水洗 2 次,调整细胞密度为 1×10^6 /ml,70% 的冷乙醇 -20℃ 固定 24 h 以上,加入 1 mg/ml RNase A(Sigma 公司)300 μ l,37℃ 温育 30 min,加入 100 μ g/L 碘化丙锭 300 μ l,4℃ 室温避光 30 min,而后用流式细胞仪分析细胞周期。

1.5 Western blotting 检测 5-Aza-CdR 和 TSA 作用后 Ishikawa 细胞多聚 ADP 核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase,PARP)和 Caspase-8 表达的影响

收集 1×10^6 个细胞,PBS 洗 2 次,用三去污剂裂解液提取总蛋白质,用考马斯亮蓝法(Bradford 法)方法测定蛋白质浓度。蛋白质采用 8% SDS-PAGE 进行分离,然后转至 PVDF 膜上,室温下摇动封闭(TBS2T + 5% 脱脂奶粉)2 h 后,加入鼠抗人 Caspase-8 和 PARP 的单克隆抗体 4℃ 过夜。室温下洗膜后加入辣根过氧化物酶偶联羊抗鼠 IgG 孵育 2 h,最后用化学发光底物进行发光检测。

1.6 5-Aza-CdR 和 TSA 对裸鼠 Ishikawa 细胞移植瘤的影响

取 20 只 6~8 周雄性 BALB/c 裸鼠,随机分成 2 组,将经 1.0 μ mmol/L 5-Aza-CdR 和 1.0 μ mmol/L TSA 处理 24 h 的和未处理过的 Ishikawa 细胞分别接种裸鼠腹部皮下,接种数为 1×10^6 /0.2 ml,每 3 d 测瘤体积 1 次,瘤体积 = 1/2 最大直径 \times 横径²。接种 50 d 后处死所有裸鼠,取瘤组织称重、测量体积。

1.7 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间连续变量比较用 *t* 检验,多组间连续变量比较用方差分析,所有统计用 SPSS13.0 软件完成。

2 结果

2.1 5-Aza-CdR 和 TSA 作用对 Ishikawa 细胞增殖的抑制

细胞生长曲线显示,单用 5-Aza-CdR 和 TSA 均有抑制 Ishikawa 细胞生长的作用,与对照组差异有统计学意义($P < 0.05$, $P < 0.01$);而且在一定范围内,随着剂量的增高和时间的延长,对 Ishikawa 细胞增殖的抑制作用越明显。各联合用药组对细胞的抑制作用均高于单独用药组($P < 0.05$, $P < 0.01$),也呈剂量和时间依赖性(图 1)。

2.2 5-Aza-CdR 和 TSA 作用对 Ishikawa 细胞凋亡的影响

Annexin V 染色流式术检测显示,无药物作用的 Ishikawa 细胞的凋亡率仅为(5.1 ± 0.35)% ,5-Aza-CdR 和 TSA 单独作用于 Ishikawa 细胞的凋亡率分别为(10.1 ± 0.74)% 和(17.8 ± 1.25)% ,与对照组比较有统计学意义($P < 0.05$);联合用药组细胞凋亡率明显升高,且凋亡率与 5-Aza-CdR 和 TSA 有剂量依赖关系,表现为两药的相加作用(图 2、表 1)。

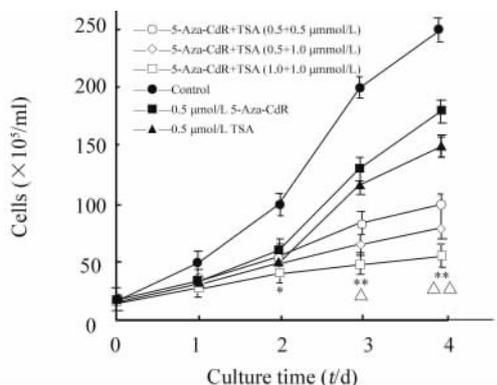


图 1 5-Aza-CdR 和 TSA 作用对 Ishikawa 细胞生长的抑制

Fig. 1 Inhibitory effect of 5-Aza-CdR and TSA on Ishikawa cell proliferation

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs 0.5 μmol/L 5-Aza-CdR or 0.5 μmol/L TSA group

2.3 5-Aza-CdR 和 TSA 作用对 Ishikawa 细胞周期的影响

流式细胞术检测显示,与对照组相比,单独使用 5-Aza-CdR 时,各期细胞分布无明显变化;单独使用 TSA 时, G_1 期细胞比例增高($P < 0.05$),S 期 G_2/M 期细胞减少;联合用药则有显著的 G_1 期阻滞($P < 0.05$),该作用呈剂量依赖性(表 2)。

2.4 5-Aza-CdR 和 TSA 作用对 Ishikawa 细胞 PARP 和 Caspase-8 蛋白表达的影响

Western blotting 检测显示,单用 5-Aza-CdR 和 TSA 可诱导 PARP 和 Caspase-8 蛋白的表达,TSA 对 PARP 和 Caspase-8 蛋白的诱导优于 5-Aza-CdR,两者联合使用可见明显的协同作用(图 3)。

2.5 5-Aza-CdR 和 TSA 作用对裸鼠 Ishikawa 细胞移植瘤生长的影响

对照组有 3 只裸鼠分别于接种后第 30、42 和 45 d 死亡,实验组裸鼠无死亡现象。对照组和实验组移植瘤成瘤率分别为 100% 和 80%。肿瘤早期为椭圆形,表面光滑;后期为不规则形,表面呈结节状。实验组和对照组裸鼠的移植瘤体积分别为(0.3 ± 0.12) cm^3 和(0.8 ± 0.23) cm^3 ,移植瘤重量分别为(0.1 ± 0.32)g 和(0.3 ± 0.45)g,用药实验组裸鼠移植瘤的生长受到明显的抑制($P < 0.05$)。

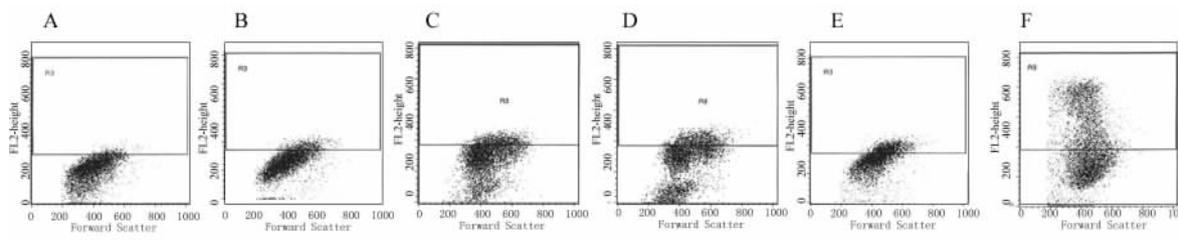


图 2 流式细胞术检测 5-Aza-CdR 和 TSA 对 Ishikawa 细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effects of 5-Aza-CdR and TSA on apoptosis of Ishikawa cells by FCM

A: Control; B: 5-Aza-CdR; C: TSA; D: 5-Aza-CdR + TSA (0.5 + 0.5 μmmol/L); E: 5-Aza-CdR + TSA (0.5 + 1.0 μmmol/L); F: 5-Aza-CdR + TSA (1.0 + 1.0 μmmol/L)

3 讨论

启动子 CpG 岛异常甲基化导致的基因失活在肿瘤发生发展过程中起着非常重要的作用。DNA 的过甲基化主要见于机体老化和肿瘤发生过程中。DNA 的过甲基化并不改变核苷酸的序列,只是部分碱基对发生甲基化后的修饰,这种异常甲基化模式是可以逆转的。5-Aza-CdR 是有效的甲基转移酶抑制剂,能时间和剂量依赖性引起 CpG 岛过甲基化的

抑癌基因去甲基化,恢复其 mRNA 和蛋白质的表达^[7],在基因表达调控、DNA 修复、基因稳定及基因抑制方面起着重要作用。组蛋白的乙酰化和去乙酰化与基因调控密切相关。组蛋白乙酰化转移酶(HATs)乙酰化组蛋白氨基末端、激活基因转录,而组蛋白去乙酰化酶(HDACs)的功能相反,抑制基因转录,HATs 和 HDACs 的异常与肿瘤的发生有着密切关系。TSA 是组蛋白去乙酰化抑制剂,能有效激活基因表达、抑制细胞增殖、引起细胞分化或调

亡^[8]。5-Aza-CdR 和 TSA 可使抑癌基因重新表达而达到治疗肿瘤的目的。

表 1 5-Aza-CdR 和 TSA 对 Ishikawa 细胞凋亡的影响
Tab. 1 Effect of 5-Aza-CdR and TSA on apoptosis of Ishikawa cells

Group	Apoptosis rate(%)
Control	5.1 ± 0.35
5-Aza-CdR (0.5 μmmol/L)	10.1 ± 0.74 *
TSA (0.5 μmmol/L)	17.8 ± 1.25 *
5-Aza-CdR + TSA(0.5 + 0.5 μmmol/L)	23.1 ± 1.87 ** [△]
5-Aza-CdR + TSA(0.5 + 1.0 μmmol/L)	30.4 ± 2.09 ** [△]
5-Aza-CdR + TSA(1.0 + 1.0 μmmol/L)	35.4 ± 3.18 ** [△]

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group;

[△] $P < 0.05$, ^{△△} $P < 0.01$ vs 5-Aza-CdR or TSA group

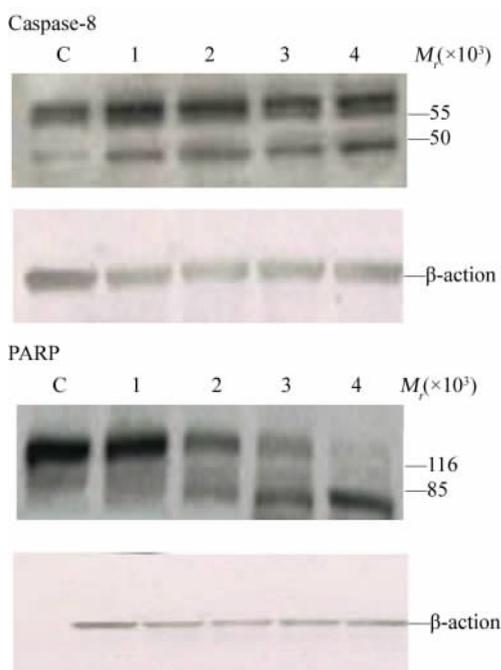


图 3 5-Aza-CdR 和 TSA 作用对 Ishikawa 细胞 PARP 和 Caspase-8 蛋白表达的影响

Fig. 3 Influence of 5-Aza-CdR and TSA on PARP and Caspase-8 levels in Ishikawa cells

C: Control; 1: 5-Aza-CdR (0.5 μmmol/L); 2: TSA (0.5 μmmol/L); 3: 5-Aza-CdR + TSA (0.5 + 0.5 μmmol/L); 4: 5-Aza-CdR + TSA (1.0 + 1.0 μmmol/L)

有研究表明,5-Aza-CdR 通过抑制 DNA 甲基转移酶(DNMT1)的过表达而促进子宫内膜腺癌细胞 Ras 相关区域家族 1A(Ras association domain family 1 A,

RASSF1A)、RASSF2A 和 BLU 基因 mRNA 表达增加^[9]。TSA 通过上调妊娠相关蛋白的表达诱导 Ishikawa 细胞分化^[10]。本研究探讨 5-Aza-CdR 和 TSA 单独或联合使用对子宫内膜癌 Ishikawa 细胞的抑制效应,结果显示,单用 5-Aza-CdR 和 TSA 均有抑制 Ishikawa 细胞生长的作用;应用 5-Aza-CdR 处理肿瘤细胞 2 d 后再应用 TSA 处理可进一步增强对肿瘤细胞的抑制作用,其作用呈浓度依赖性和时间依赖性。5-Aza-CdR 和 TSA 均可诱导 Ishikawa 细胞凋亡,两者联合用药可使细胞凋亡率明显升高,其原因可能与凋亡关联的甲基化基因在去甲基化后,被激活有关。而 TSA 可能通过促进癌细胞生长抑制和凋亡相关的蛋白质的合成,从而使细胞凋亡,抑制和杀伤了癌细胞。5-Aza-CdR 和 TSA 联合用药的协同作用可能是由于 DNA 甲基化状态影响局部的乙酰化水平,DNA 甲基化可导致染色质乙酰化水平降低^[11]。

细胞周期中存在两个重要的调控点,即 G₁/S 和 G₂/M 期调控点,只要 G₁ 期内的正调控点积累到一定程度,周期越过 G₁/S 交界点后细胞就不再依赖于细胞外促生长因子而顺序完成整个细胞周期,因而,G₁/S 调控点是影响细胞周期的关键^[12-13]。本实验显示,单用 TSA 处理肿瘤细胞后,G₁ 期细胞比率增高,单用 5-Aza-CdR 时,各期细胞比率与对照组相似,这与文献报道一致^[14],联合应用后大多数细胞处于 G₁ 期,说明 5-Aza-CdR 抑制 Ishikawa 肿瘤细胞生长的作用与其细胞周期的改变关系不大。另有报道^[15]表明,人乳腺癌细胞在 5-Aza-CdR 作用下出现了 G₁ 期阻滞,说明药物对细胞周期的影响可能具有组织特异性。细胞周期的失控在肿瘤的发病中处于极其重要的环节,5-Aza-CdR 和 TSA 联合应用可使细胞周期阻滞在 G₁ 期,说明两者可通过调节细胞周期进程,诱导细胞凋亡而有效抑制肿瘤细胞的生长。

Caspase 蛋白酶与细胞凋亡密切相关。caspase-8 为启动者,Caspase-8 基因定位在染色体 2q33 上,caspase-8 基因 5'-CpG 岛启动子区处于去甲基化状态时,该基因表达正常,而该基因为高甲基化状态时表达受抑。本研究发现 5-Aza-CdR 和 TSA 诱导 Ishikawa 细胞凋亡过程中 PARP 被切割。可以推测,在 5-Aza-CdR 和 TSA 作用下,通过去甲基化或基因改变使 caspase-8 再表达而被激活,活化的 caspase-8 引发 caspase 蛋白酶级联反应,激活下游的效应物 caspase-3,活化的 caspase-3 使 PARP 被切割降解,使其降解而丧失其 DNA 修复功能,促进细胞凋亡的发生^[16-17]。

表2 5-Aza-CdR 和 TSA 作用对 Ishikawa 细胞周期的影响(%)
Tab. 2 Effect of 5-Aza-CdR and TSA on cell cycle of Ishikawa cells

Group	G ₁	S	G ₂
Control	48.2 ± 4.1	32.6 ± 3.9	17.2 ± 1.2
5-Aza-CdR (0.5 μmmol/L)	50.2 ± 4.3	39.9 ± 2.7	10.5 ± 1.5
TSA (0.5 μmmol/L)	60.6 ± 5.2*	31.0 ± 2.3	12.6 ± 1.7
5-Aza-CdR + TSA(0.5 + 1.0 μmmol/L)	75.4 ± 5.8*	18.3 ± 1.5*	8.3 ± 2.1*
5-Aza-CdR + TSA(0.5 + 1.0 μmmol/L)	80.2 ± 6.2**	15.4 ± 1.1**	7.1 ± 2.2**
5-Aza-CdR + TSA(1.0 + 1.0 μmmol/L)	84.3 ± 6.8**	10.2 ± 0.2**	4.4 ± 2.5**

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control group

动物实验进一步证实 5-Aza-CdR 和 TSA 可以降低裸鼠移植瘤的成瘤率,与对照组相比肿瘤的体积和重量明显减少,对照组中裸鼠死亡的原因可能为肿瘤生长过快所致,这些结果进一步说明 5-Aza-CdR 和 TSA 能抑制实体瘤的生长。

尽管本实验表明 5-Aza-CdR 和 TSA 可通过激活 caspase-8 诱导细胞凋亡,但这显然不是诱导凋亡的唯一途径。另外,对细胞周期调节仍需要更深入的研究,以明了他们对于肿瘤细胞抑制作用的机制。尽管如此,去甲基化制剂和组蛋白去乙酰化转移酶抑制剂具有良好的协同作用,两者联合应用可加强抑制肿瘤细胞的功能,诱导肿瘤细胞大量凋亡。随着的研究深入,此两类药物在与现有细胞毒性药物的联合应用中必然会发挥越来越重要的作用。

[参考文献]

[1] Fang JY, Lu YY. Effects of histone acetylation and DNA methylation on p21WAF1 regulation [J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(3): 400-405.
 [2] Zhang X, Yashiro M, Ohira M, et al. Synergic antiproliferative effect of DNA methyltransferase inhibitor in combination with anticancer drugs in gastric carcinoma [J]. Cancer Sci, 2006, 97(9): 938-944.
 [3] Zhang X, Yashiro M, Ren J, et al. Histone deacetylase inhibitor, trichostatin A, increases the chemosensitivity of anticancer drugs in gastric cancer cell lines [J]. Oncol Rep, 2006, 16(3): 563-568.
 [4] Gore SD, Baylin S, Surgar E, et al. Combined DNA methyltransferase and histone deacetylase inhibition in the treatment of myeloid neoplasms [J]. Cancer Res, 2006, 66(12): 6361-6369.
 [5] Ateeq B, Unterberger A, Szyf M, et al. Pharmacological inhibition of DNA methylation induces proinvasive and prometastatic genes *in vitro* and *in vivo* [J]. Neoplasia, 2008, 10(3): 266-278.
 [6] Dalgard CL, Van Quill KR, O'Brien JM. Evaluation of the *in vitro* and *in vivo* antitumor activity of histone deacetylase inhibitors for the therapy of retinoblastoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(10): 3113-3123.
 [7] Fulda S, Kufer MU, Meyer E, et al. Sensitization for death recep-

tor- or drug-induced apoptosis by re-expression of caspase-8 through demethylation or gene transfer [J]. Oncogene, 2001, 20(41): 5865 - 5877.
 [8] Habold C, Poehlmann A, Bajbouj K, et al. Trichostatin A causes p53 to switch oxidative-damaged colorectal cancer cells from cell cycle arrest into apoptosis [J]. J Cell Mol Med, 2008, 12(2): 607-621.
 [9] Liao X, Siu MK, Chan KY, et al. Hypermethylation of RAS effector related genes and DNA methyltransferase 1 expression in endometrial carcinogenesis [J]. Int J Cancer, 2008, 123(2): 296-302.
 [10] Uchida H, Maruyama T, Nagashima T, et al. Histone deacetylase inhibitors induce differentiation of human endometrial adenocarcinoma cells through up-regulation of glycodeilin [J]. Endocrinology, 2005, 146(12): 5365-5373.
 [11] Eden S, Hashimshony T, Keshet I, et al. DNA methylation models histone acetylation [J]. Nature, 1998, 394(6696): 842.
 [12] Hirai Y, Tanaka N, Furuta R, et al. Somatic mutations of the PTEN/NMCI gene associated with frequent chromosomal loss detected using comparative genomic hybridization in endometrial cancer [J]. Gynecol Oncol, 2001, 83(1): 81-88.
 [13] Lu KH, Wu W, Dave B, et al. Loss of tuberous sclerosis complex-2 function and activation of mammalian target of rapamycin signaling in endometrial carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 2008, 14(9): 2543-2550.
 [14] Yang Q, Shan L, Yoshimura G, et al. 5-aza-2'-deoxycytidine induces retinoic acid receptor beta 2 demethylation, cell cycle arrest and growth inhibition in breast carcinoma cells [J]. Anticancer Res, 2002, 22(5): 2753-2756.
 [15] Bender CM, Pao MM, Jones PA. Inhibition of DNA methylation by 5-aza-2'-deoxycytidine suppresses the growth of human tumor cell lines [J]. Cancer Res, 1998, 58(1): 95-101.
 [16] Kothakota S, Azuma T, Reinhard C, et al. Caspase-3-generated fragment of gelsolin, effector of morphological change in apoptosis [J]. Science, 1997, 278(5336): 294-298.
 [17] Janicke RU, Sprengart ML, Wati MR, et al. Caspase-3 is required for DNA fragmentation and morphological changes associated with apoptosis [J]. J Biol Chem, 1998, 273(25): 9357-9360.

[收稿日期] 2008-05-26 [修回日期] 2008-07-20
 [本文编辑] 王莹