DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X · 2008 · 06 · 003

· 基础研究 ·

曲古抑菌素 A 和紫杉醇对子宫内膜癌细胞增殖和凋亡的影响

张 嵩[1],张 焱[1],李 胜[3],王红梅[2],牟晓燕[1],姜淑娟[1*](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. 山东省潍坊市 市立医院 呼吸内科,山东 潍坊 261021)

[摘 要] 目的:研究曲古抑菌素 A(trichostatin A,TSA)和紫杉醇(paclitaxel, PTX)对人子宫内膜癌细胞株 KLE 增殖和凋亡的影响。方法:TSA 和 PTX、卡铂(carboplatin,Carbo)、多柔比星(doxorubicin,Dox)单独或联合作用于 KLE 细胞,锥虫蓝法观察药物对肿瘤细胞生长的影响;Annexin V、Hoechst 染色和线粒体膜电位检测细胞凋亡;Western blotting 检测肿瘤细胞凋亡信号通路中多聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)、半胱天冬氨酸蛋白酶 9(caspase-9)和乙酰化微管蛋白的表达。结果:PTX、Carbo、Dox 和 TSA 对 KLE 细胞增殖均有抑制作用,TSA 和 PTX 联用后抑制作用最强。Annexin V 染色、Hoechst 染色、线粒体膜电位法和 PARP、Caspase-9 的检测显示,单用 PTX 或 TSA 均可诱导细胞凋亡,联合应用产生最强的协同作用。Western blotting 和免疫组化分析显示,PTX 和 TSA 均可诱导微管蛋白乙酰化,联合用药后微管蛋白乙酰化明显增加。结论:TSA 和 PTX 联合使用有明显的协同作用,能显著抑制子宫内膜癌 KLE 细胞生长和诱导细胞凋亡,其机制与激活线粒体凋亡信号通路和增强微管蛋白乙酰化有关。

[关键词] 曲古抑菌素 A;紫杉醇;子宫内膜癌细胞;凋亡
[中图分类号] R737.33; R730.5 [文献标志码] A [文章编号] 1007-385X(2008)06-0516-06

Effect of trichostatin A and paclitaxel on growth and apoptosis of endometrial carcinoma cells

ZHANG Song[1], ZHANG Yan[1], LI Sheng[1], WANG Hong-mei[2], MOU Xiao-yan[1], JIANG Shu-juan[1*](1. Department of Respiratory, Provincial Hospital Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China; 2. Department of Obstetrics and Gynecology, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China; 3. Department of Respiratory, Weifang County Hospital, Shangdong Province, Weifang 261021, Shangdong, China)

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the effect of trichostatin A (TSA) and paclitaxel (PTX) on the growth and apoptosis of human endometrial carcinoma KLE cell line. **Methods**: KLE cells were cultured in the presence of PTX, doxorubicin, carboplatin, histone deacetylase inhibitor TSA or their combination. The growth curve was obtained by trypan-blue exclusion assay and cell counting. Cell apoptosis was observed by Annexin V, Hoechst staining and perturbation of mitochondrial membrane potential. The protein expression of PARP, caspase-9 and tubulin acetylation was detected by Western blotting. **Results**: Paclitaxel, doxorubicin, carboplatin, and TSA all significant inhibited the growth of KLE cells. PTX and TSA both induced cell apoptosis; the combined treatment with TSA and PTX induced more severe apoptosis. Western blotting and immunohistochemistry analysis demonstrated that TSA and PTX induced acetylation of tubulin, and a combination of both resulted in more severe acetylation of tubulin. **Conclusion**: The synergy of TSA and PTX can greatly inhibit the growth of KLE cells and induce their apoptosis.

[**Key words**] trichostatin A; paclitaxel; endomertrial carcinoma; apoptosis
[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(6): 516-521]

肿瘤的发生发展不但与肿瘤细胞的增殖和分化有关,与肿瘤细胞的凋亡调控失常也密切相关[1]。研究表明,化学药物主要通过诱导癌细胞的凋亡达到治疗目的。凋亡是一种由基因控制的自主性死亡过程。曲古抑菌素 A(trichostatin A,TSA)是组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor HDACI),可抑制肿瘤细胞增殖、阻滞细胞周期、诱

[基金项目] 山东省引进国外智力基金资助项目(No. 20083700340)。Supported by the Importing Overseas Intelligence Program Foundation of Shandong Province(No. 20083700340)
[作者简介] 张 嵩(1973-)男,辽宁省大连市人,博士研究生,主要从事肿瘤的分子生物学方面的研究
* Corresponding author. E-mail: shujuan-jiang@163.com

导肿瘤细胞分化和凋亡[2-5]。紫杉醇(paclitaxel, PTX)是一种新型的抗肿瘤药物,主要通过抗微管作用抑制肿瘤生长。近年来,体外研究[6-8]发现 PTX 还有诱导肿瘤细胞凋亡的作用。本实验选用子宫内膜癌细胞株 KLE,通过体内外实验观察 TSA 联用 PTX 引起子宫内膜癌细胞凋亡的细胞形态学特征、凋亡相关蛋白表达的变化以及对微管稳定性的影响,旨在探讨 TSA 和 PTX 对人子宫内膜癌细胞株 KLE 细胞增殖和凋亡的影响。

1　材料与方法

1.1　主要试剂

人子宫内膜腺癌 KLE 细胞株(低分化子宫内膜样腺癌)购自美国 ATCC;卡铂(carboplatin, Carbo)、多柔比星(doxorubicin, Dox)、PTX、TSA、奥沙利铂(oxamflatin, Oxa)和 HDAC 抑制剂-1 购自美国 Sigma 公司;膜联蛋白 V(annexin V-FITC)细胞凋亡检测试剂盒购自美国 BD 公司;鼠抗人 Caspase-9 和 PARP 的单克隆抗体购自 Roche 公司;鼠抗人微管蛋白乙酰化单克隆抗体和 FITC 标记的抗微管蛋白单克隆抗体购自美国 Sigma 公司;辣根过氧化物酶偶联兔抗鼠 IgG 购自 Santa Cruz 公司。

1.2　药物对细胞增殖的影响

KLE 细胞株培养于含 10% 胎牛血清、100 μg/ml 链霉素、100 U/ml 青霉素的 DMEM 培养液中,细胞于 37℃、5% CO_2 培养箱中培养,48 h 换液 1 次,细胞呈单层贴壁生长,胰蛋白酶消化传代。取对数生长期 KLE 细胞以 1×10^5/ml 密度分别接种于 96 孔培养板上,各组细胞分别用 1.5 nmol/L PTX、50 nmol/L Carbo 和 5 nmol/L Dox 单独或联合 25 nmol/L TSA 处理,另设空白对照组,每组浓度设 9 个平行孔,3 个 1 组,培养 4 d 后收集各组细胞,锥虫蓝拒染法光镜下计数,绘制生长曲线。

1.3　TSA 与 PTX 诱导下细胞形态学的改变

KLE 细胞分别用 PTX(1.5 nmol/L)单独或联合 TSA(25 nmol/L)处理,光镜下观察细胞形态学的改变。

1.4　Annexin V 染色法检测药物对 KLE 细胞凋亡的影响

KLE 细胞用 1.5 nmol/L PTX、50 nmol/L Carbo 和 5 nmol/L Dox 单独或联合 25 nmol/L TSA 处理 4 d,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 μl 细胞悬液加入 5 μl Annexin V-FITC 和 5 μl 碘化丙锭,混匀,于暗室处室温孵育 15 min。上流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.5　Hoechst 染色法检测药物对 KLE 细胞凋亡的影响

KLE 细胞以 PTX(1.5 nmol/L)单独或联合 TSA(25 nmol/L)处理 4 d,收集不同处理组细胞,吸尽培养液,加入 0.5 ml 碘化丙啶固定液,固定 10 min,去固定液,用 PBS 或 0.9% NaCl 洗 2 次,每次 3 min,加入 40 μl Hoechst 33258 染色液,染色 5 min。荧光显微镜观察,记数核染色质浓缩或碎裂的凋亡细胞,计算细胞凋亡率。

1.6　Annexin V 染色法检测 Oxa、HDAC 抑制剂-1(HI-1)和 PTX 对 KLE 细胞凋亡的影响

KLE 细胞株用 100 nmol/L Oxa 和 200 nmol/L HI-1 单独或联合 1.5 nmol/L PTX 处理 24 h,流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.7　细胞线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)测定

取 TSA 与 PTX 处理过的 KLE 细胞,制备成单个细胞悬液,调节细胞密度为 1×10^6 个/ml,加入 Rhodamine123 储备液使之终浓度为 10 nmol/ml。37 ℃避光孵育 60 min,PBS 洗 2 次,流式细胞仪检测线粒体膜电位的变化,用荧光指数表示线粒体膜电位。

1.8　Western blotting 检测凋亡相关蛋白多聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)和半胱天冬氨酸蛋白酶 9(caspase-9)的表达

收集 1×10^6 个细胞,PBS 洗 2 次,用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。等量蛋白质采用 8% SDS 聚丙烯酰胺凝胶垂直电泳进行分离,然后转至 PVDF 膜上,室温下摇动封闭(TBST + 5% 脱脂奶粉)2 h 后,加入鼠抗人 Caspase-9 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兔抗鼠 IgG 孵育 2 h,最后用化学发光底物 ECL 进行发光检测。

1.9　TSA 与 PTX 对微管蛋白乙酰化及微管稳定性的协同作用

1.9.1　微管蛋白乙酰化的 Western blotting 检测

KLE 细胞应用 PTX(1.5 nmol/L)单独或联合 TSA(25 nmol/L)处理 24 h 后,蛋白印迹法检测乙酰化微管蛋白的表达,方法同凋亡相关蛋白的检测,一抗为鼠抗人微管蛋白乙酰化单克隆抗体。

1.9.2　共聚焦显微镜法观察微管稳定性

将对数生长期 KLE 细胞以 1×10^5/ml 密度分别接种于 96 孔培养板上,各组细胞单独或联合加入 TSA(25 nmol/L)和 PTX(1.5 nmol/L)作用 12 h,PBS 洗 2

次,-20 ℃应用甲醇固定 10 min,-20 ℃丙酮冲洗,PBS 水化 30 min。细胞用 FITC 标记的抗微管蛋白单克隆抗体室温孵育 60 min。DAPI(4,6-联脒-2-苯基吲哚二盐酸盐)复染,共聚焦显微镜观察。

1.10　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,应用 SPSS13 软件处理。在处理细胞周期各数据时用方差分析进行多组间变量的比较。$P < 0.05$ 表示两组值有统计学差异。

2　结　果

2.1　TSA 和细胞毒性药物对 KLE 细胞增殖的抑制作用

KLE 细胞分别用 PTX(1.5 nmol/L)、Carbo(50 nmol/L)、Dox(5 nmol/L)单独或联合 TSA (25 nmol/L)处理 4 d,根据 3 个平行实验绘制细胞生长曲线。结果显示,PTX、Carbo、Dox 和 TSA 单独应用时均可抑制肿瘤细胞增殖,PTX、Carbo、Dox 和 TSA 联合应用时对 KLE 细胞抑制作用更强,但 TSA 与 PTX 有最强的协同作用(图 1)。

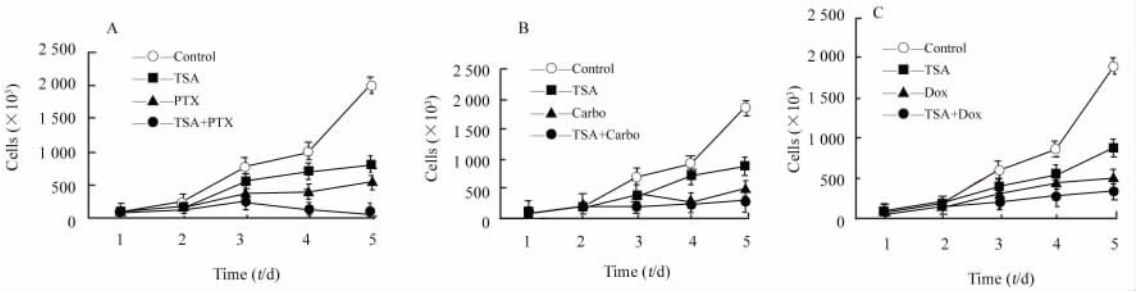

图 1　TSA 和几种细胞毒性药物联用对 KLE 细胞增殖的抑制作用

Fig. 1　Inhibitory effects of TSA and cytotoxic drugs on KLE cells proliferation

A: TSA + PTX; B: TSA + Carbo; C: TSA + Dox

2.2　TSA 与 PTX 诱导下细胞形态学的改变

KLE 细胞分别用 PTX 单独或联合 TSA 处理。与对照组相比,TSA 处理后细胞变大,并呈长指状改变,而 PTX 处理后的细胞变大并呈多角形。TSA 与 PTX 联合应用的细胞培养液中可见到悬浮死细胞。TSA 与 PTX 处理后的细胞培养液中均可见细胞密度降低和悬浮死细胞(图 2)。

2.3　TSA 和细胞毒性药物对 KLE 细胞凋亡影响的 Annexin V 染色检测结果

PTX、Carbo、Dox 和 TSA 单独应用时均可诱导肿瘤细胞凋亡,PTX、Carbo、Dox 和 TSA 联合应用时可进一步诱导细胞凋亡($P < 0.05$),TSA 与 PTX 联用协同作用最好,细胞凋亡率达 50%(图 3)。

2.4　TSA 和 PTX 对 KLE 细胞凋亡影响的 Hoechst 染色法检测结果

为了进一步验证药物对 KLE 细胞细胞凋亡的影响,肿瘤细胞用 TSA、PTX 和 TSA 联合 PTX 分别处理,Hoechst 染色法观察浓缩和破裂的细胞核数。无药物作用的 KLE 细胞的凋亡率为 2.8%,TSA 和 PTX 作用后细胞的凋亡率分别为 8% 和 12%, TSA 和 PTX 联用效果最好,凋亡率达 25%(图 4)。

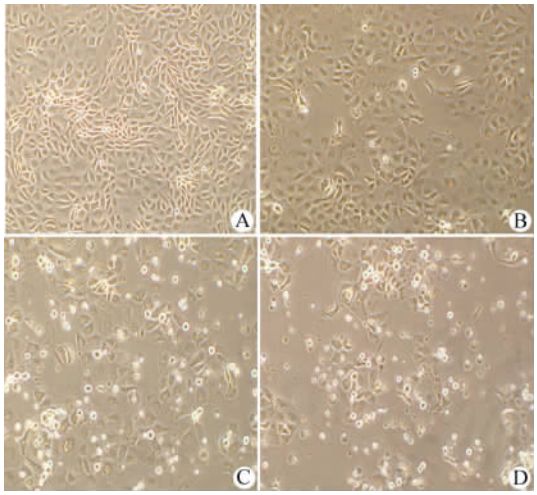

图 2　TSA 与 PTX 诱导下细胞形态学的改变(×400)

Fig. 2　Morphological change of cells induced by TSA and PTX(×400)

A:Control; B:TSA; C:PTX; D:TSA + PTX

Compared with control, many TSA-treated cells became enlarged or formed long digitiform processes. Paclitaxel-treated cells became polygonal and enlarged; floating dead cells can be seen in cultures with TSA or paclitaxel. Reduced cell density and a marked increase of floating dead cells were observed in cultures treated with both TSA and paclitaxel

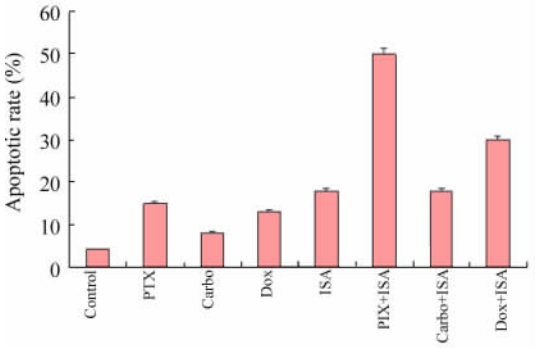

图 3　TSA 和细胞毒性药物联用对 KLE 细胞凋亡的影响

Fig. 3　Influence of TSA and cytotoxic agents on KLE cells apoptosis

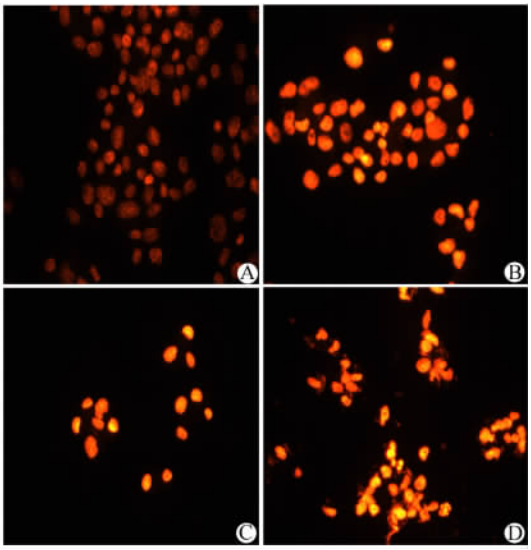

图 4　Hoechst 染色法检测 TSA 和 PTX 对 KLE 细胞凋亡的影响(×400)

Fig. 4　Apoptosis of KLE cells treated with TSA and PTX detected by Hoechst staining(×400)

A:Control; B:TSA; C:PTX; D:TSA + PTX

Cell nuclei were visualized by Hoechst staining. The condensed and fragmented nuclei were counted. The strongest effect was observed in cells treated with TSA + PTX

2.5　Oxa、HI-1 和 PTX 联用诱导 KLE 细胞的凋亡

KLE 细胞株用另外两种组蛋白去乙酰化酶抑制剂 Oxa (100 nmol/L)和 HI-1 (200 nmol/L)分别与 PTX(1.5 nmol/L)单独或联合处理 24 h。应用 Annexin V 染色检测显示单独应用 PTX 或 Oxa 细胞凋亡率分别为(15.8 ± 0.55)%、(12.2 ± 0.21)%,两者联用细胞凋亡率为(46.8 ± 2.62)%。单独应用 PTX 或 HI-1 细胞凋亡率分别为(16.5 ± 0.84)%、(9.5 ± 0.79)%,两者联用细胞凋亡率为(38.2 ± 1.94)%,Oxa 和 HI-1 与 PTX 联用均具有协同作用。比较 3 种组蛋白去乙酰化酶抑制剂与 PTX 的致凋亡协同作用,以 TSA 与 PTX 的协同作用最强。

2.6　TSA 和 PTX 作用对 KLE 细胞线粒体膜电位的影响

TSA 和 PTX 均可损伤 KLE 细胞线粒体,诱导 KLE 细胞线粒体膜电位的部分消失,其消失的程度分别为 7.3%、5.0%,与对照组比较(1.4%)差异有统计学意义($P<0.05$)。PTX 联合 TSA 处理后的细胞中可见线色体膜电位消失的程度(17.2%)显著增加($P<0.05$)。

2.7　TSA 和 PTX 作用对 KLE 细胞 PARP 和 Caspase-9 表达的影响

应用 PTX 单独或联合 TSA 处理 KLE 细胞 24 h,结果显示单一药物较少或几乎不引起 PARP 和 Caspase-9 的裂解。当 TSA 与 PTX 联合应用,PARP 和 Caspase-9 的裂解明显增加(图 5)。

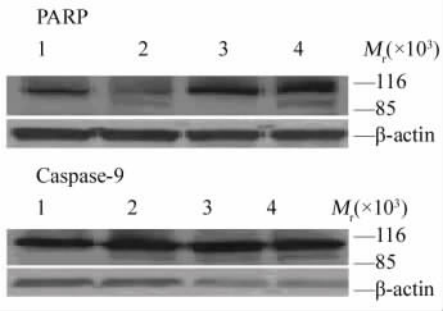

图 5　TSA 和 PTX 对 KLE 细胞 PARP 和 Caspase-9 表达的影响

Fig. 5　Influence of PTX and TSA on PARP and Caspase-9 expression in KLE cells

1:Control;2:PTX;3:TSA;4:PTX + TSA

2.8　TSA 与 PTX 对微管蛋白乙酰化及微管稳定性的协同作用

KLE 细胞应用 PTX (1.5 nmol/L)单独/联合 TSA (25 nmol/L)处理 24 h。Western blotting 法显示 PTX 和 TSA 可诱导微管蛋白乙酰化,联合用药后乙酰化的微管蛋白的表达明显增加(图 6)。

应用共聚焦显微镜在药物作用前后观察 KLE 细胞微管的变化。在 PTX 或 TSA 单独作用的细胞中可见致密和浓密的微管束;当两者联用后,显性的微管着色更明亮,致密的微管束形成环状结构围绕在核周(图 7)。

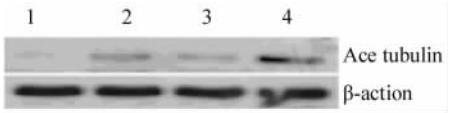

图 6　Western blotting 检测 PTX 和 TSA 对微管蛋白乙酰化的影响

Fig. 6　Synergistic effects of TSA and PTX on tubulin acetylation as detected by Western blotting

1:Control ;2:PTX;3:TSA;4:PTX + TSA

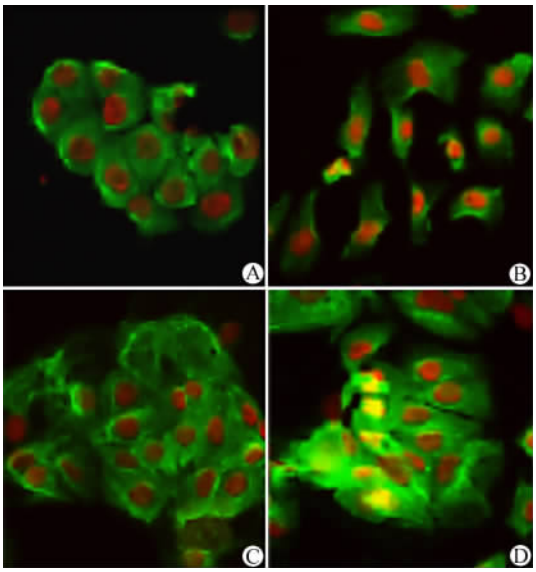

图 7　TSA 与 PTX 对 KLE 细胞微管稳定性的协同作用(×400)

Fig. 7　Synergistic effects of TSA and PTX on microtubule stabilization in KLE cells

A:Control; B:PTX;C:TSA;D:TSA + PTX

Compared with control, thicker and denser microtubule bundles were evident in PTX-or TSA-treated cells. When the cells were treated with both reagents simultaneously, prominent microtubules with brighter staining were observed; thick microtubles can be seen to form continuous ring-like structures around nuclei

3　讨　论

子宫内膜癌是较常见的妇科恶性肿瘤,其治疗是以手术为主,放疗、化疗、激素治疗为辅的综合治疗。子宫内膜癌的化疗主要用于晚期、复发、和高危早期患者,目前尚无标准的化疗方案。据文献[9]报道,顺铂、异环磷酰胺、Carbo 和 Dox 治疗晚期和复发性子宫内膜癌的单药有效率均为 20% 左右。铂类和 Dox 类药物的联合化疗是疗效较好者,但亦不理想,且对改善远期生存的作用不肯定。寻找新的治疗方法已成为目前研究的热点。HDACI 能特异地杀死肿瘤细胞,目前至少有 4 种 HDACI 进入了Ⅱ期临床试验,HDACI 单独或与其他抗癌药物联用都能显示良好的抗癌效果[10]。PTX 作为抗癌药,目前临床上已应用于子宫内膜癌。TSA 和 PTX 在子宫内膜癌中的应用近年来受到关注[11-12]。

本研究发现,PTX、Carbo、Dox 和 TSA 单独应用时均可抑制肿瘤细胞增殖,PTX、Carbo、Dox 和 TSA 联合应用时对 KLE 细胞抑制作用更强,TSA 与 PTX 有最强的协同作用。PTX、Carbo、Dox 和 TSA 单独应用时均可诱导 KLE 细胞凋亡, TSA 与 PTX 联用同样有最好的协同作用。实验进一步应用另两种 HDACI(Oxa 和 HI-1)与 PTX 联用,联用后细胞凋亡增多,证实 TSA 可能是通过 HDAC 相关机制与 PTX 发挥协同作用的。Western blotting 检测发现 TSA 和 PTX 处理后 KLE 细胞的乙酰化微管蛋白的表达水平明显增强。Zhang 等[13]报道 HDAC-6 可以在体外与提纯的微管蛋白、微管相互作用,HDAC-6 使聚合的微管中的 α-微管蛋白去乙酰化,使细胞的运动增加。TSA 对 HDAC 的抑制可增加微管的乙酰化[14-15],完全敲除 HDAC-6 的细胞中,α-微管的乙酰化增多。由此认为 HDAC-6 是一种微管蛋白去乙酰化酶[13]。PTX 与微管蛋白结合并增加其稳定性,诱导细胞凋亡。TSA 联用 PTX 的抗癌作用可能部分来源于两者对微管稳定性的联合作用,两者可能经由不同的途径稳定微管:PTX 与微管直接结合,而 TSA 则经由乙酰化途径。

细胞凋亡的途径主要有两条,一条是通过胞外信号激活细胞内的凋亡酶 caspase,一条是通过线粒体释放凋亡酶激活因子激活 caspase。细胞色素 C 正常情况下存在于线粒体膜间隙,结合于线粒体内膜,不能通过外膜;其一旦进入细胞质,可在 ATP/dATP 的协同作用下与凋亡蛋白酶活化因子 1 结合形成寡聚体,导致 caspase-9 活化再激活下游的 caspase-3,使 PARP 被切割降解、丧失 DNA 修复功能,促进细胞凋亡的发生[16-17]。本研究中,线粒体膜电位测定和 PARP、caspase-9 表达的检测提示,TSA 与 PTX 联合应用可促进 KLE 细胞凋亡。本实验用荧光探针 Rhodamine123 检测发现细胞的荧光强度明显下降,说明细胞线粒体膜电位下降使得染料无法进入线粒体。线粒体膜电位下降是细胞凋亡不可逆转的标志。线粒体膜电位下降使得线粒体通透性增加,导致细胞色素 C 等蛋白从线粒体释放,经级联放大作用,形成 caspase-9、caspase-3 活化复

合物(凋亡体),能将细胞内蛋白质降解,最终引起细胞不可逆的凋亡。

有研究表明,TSA 和 HDAC 抑制剂酪酸钠均可下调 bcl-2 的表达,其机制与 bcl-2 启动子中 H3 去乙酰化、SP1/EBPa 乙酰化有关[18]。而且,bcl-2 过表达会抑制 TSA 诱导的凋亡,这点在 Nuydens 等[19]关于 PTX 对神经元形态及微管稳定性作用研究中得到证明。他们发现 bcl-2 的过表达会减少 PTX 诱导的乙酰化微管蛋白在总微管蛋白中的比例。因此,TSA 引起的 bcl-2 的抑制作用可以用来解释联合用药时大规模细胞死亡的现象,因为它不仅减轻了对凋亡的抑制,而且促进了 PTX 引起的微管乙酰化。P21 的诱导被认为是 PTX 诱导凋亡的重要机制[20]。类似的,HDACI 会诱导 P21 的活性,而 P21 与 Rho 相互作用促进微管的聚积[21]。在 TSA/PTX 协同作用中,P21 诱导的意义仍需进一步研究。

本研究证实,TSA 与 PTX 联用可以更好地抑制 KLE 细胞增殖并诱导其凋亡。其诱导凋亡的机制一方面与凋亡的两条途径特别是线粒体途径有关;另一方面与 TSA 抑制 HDAC-6 的活性,增加微管蛋白的乙酰化修饰,并与 PTX 一起使微管稳定性增加,影响肿瘤细胞正常的细胞分裂,诱导细胞凋亡有关。研究结果显示,HDAC 抑制剂是一类可与传统细胞毒性药物(特别是 PTX)联合应用治疗子宫内膜癌较有开发意义的药物,随着对 HDAC 抑制剂更深入的研究,此类药物在与现有药物的联合应用中必会越来越有效,而且不良反应会越来越少。

[参 考 文 献]

[1] Favrot M, Coll JL, Louis N, *et al*. Cell death and cancer: replacement of apoptotic genes and inactivation of death suppressor genes in therapy[J]. Gene Ther, 1998, 5(6): 728-739.

[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] Law AY, Lai KP, Lui WC, *et al*. Histone deacetylase inhibitor-induced cellular apoptosis involves stanniocalcin-1 activation[J]. Exp Cell Res, 2008, 314(16):2975-2984.

[4] Lee EJ, Lee BB, Kim SJ, *et al*. Histone deacetylase inhibitor scriptaid induces cell cycle arrest and epigenetic change in colon cancer cells[J]. Int J Oncol, 2008, 33(4): 767-776.

[5] 张　嵩,牟晓燕,王红梅,等. 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[J]. .中国肿瘤生物治疗杂志,2008,15(4):326-330.

[6] Liao PC, Tan SK, Lieu CH, *et al*. Involvement of endoplasmic reticulum in paclitaxel-induced apoptosis[J]. J Cell Biochem, 2008,104(4):1509-1523.

[7] Kutuk O, Letai A. Alteration of the mitochondrial apoptotic pathway is key to acquired paclitaxel resistance and can be reversed by ABT-737[J]. Cancer Res, 2008,68(19):7985-7994.

[8] Zhang L, Dermawan K, Jin M, *et al*. Differential impairment of regulatory T cells rather than effector T cells by paclitaxel-based chemotherapy[J]. Clin Immunol, 2008, 129(2):219-229.

[9] Elit L, Hirte H. Current status and future innovations of hormonal agents, chemotherapy and investigational agents in endometrial cancer[J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2002 ,14(1):67-73.

[10] Budillon A, Bruzzese F, Di Gennaro E, *et al*. Multiple-target drugs: inhibitors of heat shock protein 90 and of histone deacetylase[J]. Curr Drug Targets, 2005, 6(3): 337-351.

[11] Watanabe M, Kobayashi Y, Takahashi N, *et al*. Expression of melatonin receptor (MT1) and interaction between melatonin and estrogen in endometrial cancer cell line[J]. J Obstet Gynaecol Res, 2008, 34(4):567-573.

[12] Haumaitre C, Lenoir O, Scharfmann R . Histone deacetylase inhibitors modify pancreatic cell fate determination and amplify endocrine progenitors[J]. Mol Cell Biol, 2008, 28(20): 6373-6383.

[13] Zhang Y, Li N, Caron C, *et al*. HDAC-6 interacts with and deacetylates tubulin and microtubules *in vivo*[J]. EMBO J, 2003, 22(5):1168-1179.

[14] Tran AD, Marmo TP, Salam AA, *et al*. HDAC6 deacetylation of tubulin modulates dynamics of cellular adhesions[J]. J Cell Sci, 2007, 120(Pt 8): 1469-1479.

[15] 张旭辉,于晓妩,赵　名,等. 曲古菌素 A 诱导前列腺癌 DU-145 细胞有丝分裂的灾变[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2007, 14(3):206-211.

[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] Jänicke 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(16):9357-9360.

[18] Duan H, Heckman CA, Boxer LM. Histone deacetylase inhibitors down-regulate bcl-2 expression and induce apoptosis in t(14;18) lymphomas[J]. Mol Cell Biol, 2005, 25(5):1608-1619.

[19] Nuydens R, Dispersyn G, Van Den Keiboom G, *et al*. Bcl-2 protects against apoptosis-related microtubule alterations in neuronal cells[J]. Apoptosis, 2000, 5(1): 43-51.

[20] Blagosklonny MV, Schulte TW, Nguyen P, *et al*. Taxol induction of p21WAF1 and p53 requires c-raf-1[J]. Cancer Res, 1995, 55(20): 4623-4626.

[21] Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology[J]. Nature, 2002, 420(6916): 629-635.

[收稿日期] 2008-08-20　　[修回日期] 2008-10-01
[本文编辑] 王　莹