

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.011

· 基础研究 ·

HDAC1 过表达诱导胶质瘤细胞产生耐药性

郭谦, 曹蕾, 卓小煌, 王彰昭, 张欢, 强兆艳, 何景华(天津医科大学基础医学院 药理学教研室, 天津 300070)

[摘要] **目的:** 构建组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase 1, HDAC1)过表达胶质瘤 U87 细胞系, 探讨 HDAC1 过表达对胶质瘤细胞化疗药耐药性的影响。**方法:** 分别用 HDAC1 重组过表达慢病毒载体 pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro 和阴性空载体病毒 pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro 转染 U87MG 细胞, 通过嘌呤梯度浓度筛选出 HDAC1 稳定过表达细胞系 U87MG-HDAC1 和空载体对照细胞系 U87MG-Control, 经 Western Blotting 鉴定, 用不同浓度替尼泊昔(VM-26)和顺铂(cisplatin, DDP)对两种细胞进行处理, MTT 法检测存活率, Hoechst/PI 双染法检测细胞凋亡, Western Blotting 检测 Bcl-2、Bax 及 Caspase-3 蛋白表达。**结果:** 成功构建 U87MG-HDAC1 稳定过表达细胞系。与 U87MG-Control 组相比, U87MG-HDAC1 组中 U87MG-HDAC1 蛋白的表达显著升高[1.148 ± 0.024] vs [0.580 ± 0.003], $P < 0.01$]; 药物处理后, U87MG-HDAC1 细胞存活率显著升高[$0.1 \mu\text{g/ml}$ VM-26: (95.57 ± 0.45)% vs (68.8 ± 1.49)%, $P < 0.01$], [$0.08 \mu\text{g/ml}$ DDP: (99.20 ± 7.4)% vs (72.48 ± 2.03)%, $P < 0.01$]; 凋亡细胞个数比例明显下降(均 $P < 0.05$), Caspase-3 蛋白表达量显著降低($P < 0.01$), Bcl-2/Bax 蛋白表达量比值明显升高($P < 0.01$)。**结论:** 胶质瘤 U87MG 细胞中 HDAC1 过表达明显增强细胞对化疗药耐药性与 Caspase-3 和 Bcl-2/Bax 表达有关。

[关键词] 组蛋白去乙酰化酶; 胶质瘤; 耐药性

[中图分类号] R739.41; R730.54; R939

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)01-0067-06

Drug resistance of glioma cells induced by over-expression of HDAC1

GUO Qian, CAO Lei, ZHUO Xiaohuang, WANG Zhangzhao, ZHANG Huan, QIANG Zhaoyan, HE Jinghua(Department of Pharmacology, School of Basic Medical Sciences, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of histone deacetylase 1 (HDAC1) over-expression on drug resistance of glioma cells. **Methods:** U87MG cells were infected with a recombinant lentiviral vector pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro/over-expressing HDAC1 and a control lentiviral pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro, respectively. Cell line U87MG-HDAC1 which stably over expressing HDAC1, and control cell line U87MG-Control were selected with purine gradient concentration and identified by Western blotting. After processed with VM-26 and DDP at different concentrations assessed by MTT of the cells was evaluated by Hoechst/PI double staining assay, and the expressions of Bcl-2、Bax and Caspase-3 were examined by Western blotting. **Results:** Cell line U87MG-HDAC1 that stably over expressing HDAC1 was successfully constructed. Compared with U87MG-Control group, the expression of U87MG-HDAC1 protein was significantly increased in U87MG-HDAC1 group ([1.148 ± 0.024] vs [0.580 ± 0.003], $P < 0.01$). After drug treatment the survival rate of U87MG-HDAC1 cell was remarkably higher ($0.1 \mu\text{g/ml}$ VM-26: [95.57 ± 0.45] % vs [68.8 ± 1.49] %, $P < 0.01$); ($0.08 \mu\text{g/ml}$ DDP: [99.20 ± 7.4] % vs [72.48 ± 2.03] %, $P < 0.01$); Number of apoptotic cells decreased ($P < 0.05$); the expression of Caspase-3 protein decreased significantly ($P < 0.01$) and the expression ratio of Bcl-2/Bax proteins was significantly enhanced ($P < 0.01$). **Conclusion:** The over-expression of HDAC1 in glioma cell U87MG remarkably enhance of resistance of the cells to chemotherapeutic drugs, which was may associated with the expressions of

[基金项目] 国家自然科学基金青年科学基金资助项目(No. 30701030); 天津市应用基础及前沿技术研究计划资助(No. 11JCYBJ14900)。Project supported by the Youth Foundation of the National Natural Science Foundation of China(No. 30701030), and the Project of Research Foundation in Application and Frontier Technology of Tianjin City(No. 11JCYBJC14900)

[作者简介] 郭谦(1989 -), 女, 河北省保定市人, 硕士生, 主要从事肿瘤化疗耐药研究, E-mail: wojiaoguoqian@sina.cn

[通信作者] 强兆艳(QIANG Zhaoyan, corresponding author), E-mail: qzyss@sina.com; 何景华(HE Jinghua, co-corresponding author), E-mail: hejinghua@163.com

Caspase-3 and Bcl-2/Bax.

[**Key words**] histone deacetylase 1(HDAC1); glioma tumor; drug resistance

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(1): 67-72. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.01.011]

组蛋白去乙酰化酶(HDAC)在肿瘤发生、发展中起重要的调节作用^[1], HDAC1 属于第一类 HDAC, 与调节细胞周期、增殖、分化的转录因子和有丝分裂过程密切相关, 因此其表达异常可导致多种细胞生长、分化和周期进程产生紊乱^[2]。研究^[3]发现, HDAC1 在多种肿瘤细胞系和肿瘤组织中过表达, 表明 HDAC1 蛋白可能成为治疗癌症的一个新靶点。

脑胶质瘤是神经外科常见恶性肿瘤, 由于其为侵袭性生长, 很难彻底根除, 患者预后较差^[4-5], 通过新疗法患者的存活时间并没有得到实质性延长^[6]。传统化疗手段由于胶质瘤生长部位的特殊性, 血脑屏障作用严重影响化疗药的效果^[7], 且胶质瘤对化疗药耐药性很强^[8-9], 因此研究化疗药耐药作用机制对胶质瘤治疗有指导意义。

课题组前期研究^[10]通过 cDNA 基因芯片技术, 筛查出胶质瘤细胞中与耐药相关的差异表达基因 21 个, 其中 *HDAC1* 基因上调最为明显。本实验将 HDAC1 作为重要靶点, 研究其对胶质瘤耐药性的影响。本实验通过慢病毒感染胶质瘤 U87MG 细胞, 构建 U87MG-HDAC1 稳定过表达细胞系, 进而研究 HDAC1 与肿瘤细胞的增殖、凋亡及耐药性之间的关系。

1 材料与方法

1.1 细胞株、质粒与主要试剂

人脑胶质瘤细胞 U87MG 获赠于天津医科大学生命科学中心, 293T 细胞购自中国医学科学院肿瘤细胞库(两类细胞系均用 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基置于 37 °C、5% CO₂ 孵箱培养); 载体 pSIMPLE-18 EcoR V/BAP Vector 购自 Takara 公司, 表达质粒 pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro 和包装质粒 pMDLg/pRRE、pSV-Rev 和 pMD 2. G 均购自 SBI 公司, 质粒提取试剂盒购自天根生化科技公司, 引物由金唯智生物科技有限公司合成, 顺铂(cisplatin, DDP) 购自云南生物谷灯盏花药业公司, 替尼泊昔(VM-26) 购自北京双鹤制药公司, 一抗 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 均购自 Santa Crus 公司。

1.2 HDAC1 克隆引物的设计合成

依据 GeneBank 中 HDAC1(NM 004964.2)序列, 设计合成 HDAC1 基因特异性引物, 正义链: 5'-

GCTCTAGAGCCACCATGGCGCAGACGCAGG-3', 含 *Xba*I 酶切位点, 反义链: 5'-CGGAATTCTCAGGCCAACTT-GACCTCC-3', 含 *Eco*RI 酶切位点。

1.3 重组慢病毒载体的构建、包装及转染

选用肿瘤细胞 U87MG 提取 RNA, RT-PCR 扩增 HDAC1(扩增程序: 95 °C 5 min, 95 °C 15 s, 62 °C 10 s, 72 °C 2 min, 共 30 个循环, 72 °C 10 min), 经 1% 琼脂糖凝胶水平电泳鉴定正确后, 回收纯化 PCR 产物, 产物磷酸化, 与 pSIMPLE-18 T Vector 载体连接得 TA 克隆产物, 转化 DH5 α 感受态细菌, 37 °C 培养过夜, 筛选出阳性克隆产物, 质粒小量提取, *Xba*I 和 *Eco*R I 双酶切鉴定 HDAC1。

将 HDAC1 TA 克隆与 pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro 载体经 *Xba*I 和 *Eco*R I 双酶切, 凝胶电泳回收正确条带。T4 DNA 连接酶, 16 °C 连接过夜, 转化 DH5 α 感受态细菌, 37 °C 培养过夜, 筛选出阳性克隆产物, 质粒小量提取, *Xba*I 和 *Eco*R I 双酶切鉴定 HDAC1 条带位置的正确性。

将 pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro 过表达慢病毒载体和 pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro 空白载体分别与 pMDLg/pRRE、pRSV-Rev 和 pMD2. G 三质粒混匀, 选用 Lipofectamine™ 2000 共转染 293T 细胞, 作用 4 h 后, 更换完全培养基, 继续培养。

共转染 293T 细胞 48 h 后, 收集上清, 0.45 μ m 滤器过滤, 作用于 U87MG 细胞, 48 h 后更换为完全 DMEM 培养基, 加入终浓度为 4 μ g/ml 的嘌呤霉素, 继续培养 4 d 后获得 HDAC1 过表达细胞 U87MG-HDAC1 及 HDAC1 正常表达细胞 U87MG-Control。

1.4 Western blotting 检测转染后 U87MG 细胞中 HDAC1 蛋白的表达

裂解转染成功的 U87MG-HDAC1 及 U87MG-Control 组细胞, 提取总蛋白并用 BCA 试剂盒进行蛋白定量。按每孔上样量 25 μ g, 10% 分离胶电泳 2 h, 冰浴转膜 1.5 h, 室温下 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 4 °C 一抗 HDAC1(1:500)孵育过夜, TBST 缓冲溶液洗膜 3 次, 每次 10 min, 室温二抗孵育 2 h, ECL 发光液显色 1 min, ChemiScope series 曝光仪曝光。通过 Quantity one(v4.6.2 版)软件进行灰度值分析, 实验重复 3 次。

1.5 MTT 法检测 U87MG 细胞耐药性的改变

取 U87MG-HDAC1 及 U87MG-Control 对数生长

期细胞,均为 5×10^3 个/孔,分别接种于 96 孔培养板,24 h 后更换培养基,给药,终质量浓度 VM-26 为 0.1、0.5、2.5 和 12.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$,DDP 为 0.08、0.4、2 和 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$,均设置 3 个复孔。药物作用 48 h 后,每孔加入 0.5% MTT 溶液 20 μl ,37 $^{\circ}\text{C}$ 作用 4 h,弃上清,每孔加入 200 μl DMSO,酶标仪测定各孔在 490 nm 波长处的光密度(D)值,计算细胞存活率。细胞存活率(%) = (实验组 D_{490} - 空白组 D_{490}) / (未给药组 D_{490} - 空白组 D_{490}) $\times 100\%$ 。

1.6 Hoechst 33258/PI 双染法检测 U87MG 细胞的凋亡形态

取 U87MG-HDAC1 及 U87MG-Control 对数生长期细胞,均以细胞密度为 4×10^4 个/孔,分别接种于 24 孔培养板。药物处理同 MTT 法。48 h 后细胞经 PBS 溶液轻洗 2 次,避光加入 Hoechst 33258 100 μl /孔,37 $^{\circ}\text{C}$ 作用 15 min,再分别避光加入 PI 染料 100 μl /孔,4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱作用 10 min,荧光显微镜紫外光下观察 U87MG 细胞染色情况,暗蓝色代表正常细胞,亮蓝色代表凋亡细胞。各组随机选取 3 个视野进行凋亡细胞计数^[11],凋亡细胞个数比例(%) = (亮蓝色细胞个数/总细胞个数) $\times 100\%$

1.7 Western blotting 法检测 U87MG 细胞凋亡相关

蛋白

取 U87MG-HDAC1 及 U87MG-Control 两种对数生长期细胞,均以细胞密度为 2×10^5 个/孔,分别接种于 6 孔培养板。药物处理同 MTT 法。提取各组蛋白,一抗稀释比例 Bcl-2 为 1:1 000, Bax 为 1:1 000, Caspase-3 为 1:500。3 种蛋白表达水平测定同 1.4,实验重复 3 次。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建重组慢病毒载体质粒 pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro

将鉴定正确的阳性克隆培养进行质粒小体,产物经 *Xba*I 和 *Eco*RI 双酶切鉴定,进行 1% 琼脂糖凝胶电泳出现 1 450 bp HDAC1 条带及 7 400 bp pCDH-CMV-MCS-EF1-Puro 载体条带(图 1A)。测序结果(图 1B) NCBI 标准序列比对完全一致。说明重组质粒 pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro 构建成功。

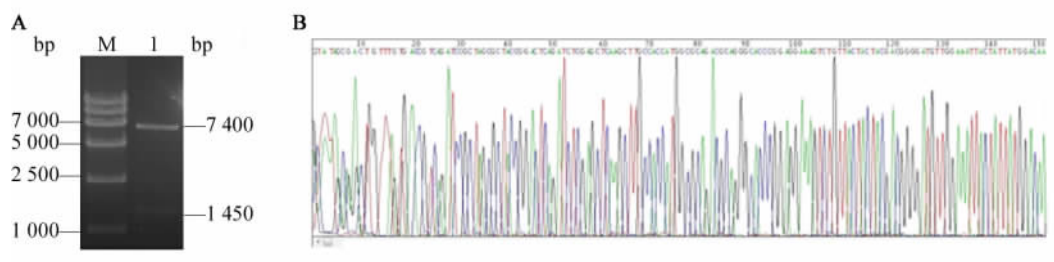


图 1 pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro 的 *Xba*I 和 *Eco*RI 双酶切(A)及测序峰图(B)

Fig. 1 Restriction enzyme digestion(A) of pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro plasmid by *Xba*I and *Eco*RI double digestion and sequencing peak map(B)

2.2 成功构建 HDAC1 过表达 U87MG 细胞系

加入梯度浓度嘌呤进行筛选,在嘌呤浓度(1、2、3 $\mu\text{g}/\text{ml}$)下,未转染对照组 U87MG 细胞存活率逐渐下降,而转染后 U87MG-HDAC1 及 U87MG-Control 组正常生长;在 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 嘌呤浓度下,未转染对照组 U87MG 存活率为 0,而转染后 U87MG-HDAC1 及 U87MG-Control 组存活率 80% 以上。

Western blotting 检测结果(图 2)显示,U87MG-HDAC1 组中 HDAC1 蛋白的表达较 U87MG-Control 组显著增加[(1.148 \pm 0.0240) vs (0.580 \pm 0.003), $P < 0.01$]。

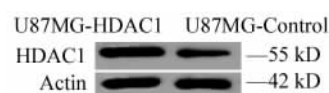


图 2 pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro 转染后上调 U87MG 细胞 HDAC1 的表达

Fig. 2 Upregulating expression of the HDAC1 in U87MG cells transfected with pCDH-CMV-MCS-HDAC1-EF1-Puro

2.3 HDAC1 过表达对 U87MG 细胞耐药性的影响

MTT 检测(图 3)显示,随不同浓度 VM-26 和

DDP 递增,细胞存活率下降。而在相同 VM-26 浓度或相同 DDP 浓度下,U87-HDAC1 组存活率显著高于 U87-Control 组[0.1 $\mu\text{g/ml}$ VM-26:(95.6 \pm 0.450)% vs (68.8 \pm 1.49)% , $P < 0.01$]; [0.08 $\mu\text{g/ml}$ DDP:(99.2 \pm 7.40)% vs (72.5 \pm 2.03)% , $P < 0.01$]。VM-26 作用后,U87MG-HDAC1 和 U87MG-Control 的 IC_{50} 值分别为 0.931 $\mu\text{g/ml}$ 和 0.299 $\mu\text{g/ml}$,前者是后者的 3.11 倍;DDP 作用后,U87MG-HDAC1 和 U87MG-Control 的 IC_{50} 值分别为 1.732 $\mu\text{g/ml}$ 和 0.665 $\mu\text{g/ml}$,前者是后者的 2.60 倍。

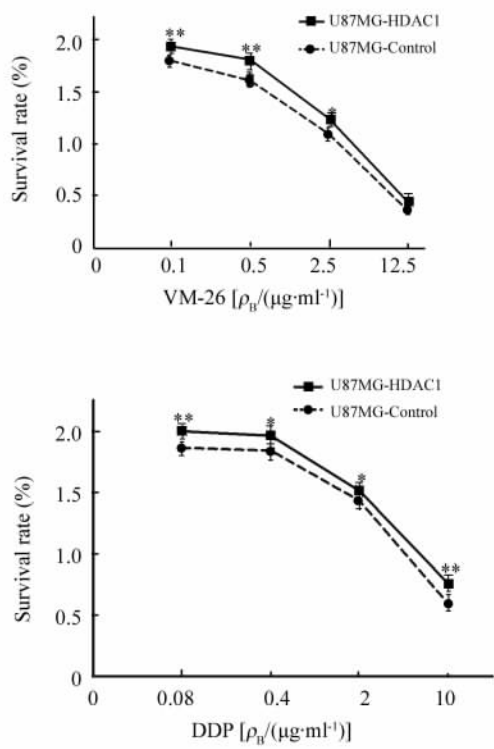


图3 HDAC1 过表达对 VM-26 or DDP 处理的 U87MG 细胞存活率的影响

Fig.3 Effect of the HDAC1 overexpression on survival rate of U87MG cells treated with VM-26 or DDP

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs U87MG-Control

2.4 HDAC1 过表达对 U87MG 细胞凋亡形态的影响

Hoechst 33258/PI 双染法检测结果(图4)显示,随药物浓度增高,细胞核固缩凝聚明显呈致密浓染,亮蓝色凋亡细胞比例增大。在相同 VM-26 或相同 DDP 药物浓度下,U87MG-HDAC1 组凋亡细胞个数比例显著低于 U87MG-Control 组[0.1 $\mu\text{g/ml}$ VM-26:(7.01 \pm 1.32)% vs (16.23 \pm 3.37)% , $P < 0.05$]; [0.08 $\mu\text{g/ml}$ DDP:(3.93 \pm 0.98)% vs (7.51 \pm 1.24)% , $P < 0.05$],结果提示 U87MG-

HDAC1 耐药性明显增强。

2.5 HDAC1 过表达对 U87MG 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Western blotting 检测结果(图5)显示,随两药浓度增大,U87-HDAC1 及 U87-Control 两组细胞 Caspase-3、Bax 蛋白表达水平均递增;抗凋亡蛋白 Bcl-2 则呈递减趋势。

在同样 VM-26 浓度或同样 DDP 浓度下,与 U87MG-Control 组相比,U87MG-HDAC1 组中 Caspase-3 蛋白表达明显降低[0.1 $\mu\text{g/ml}$ VM-26:(0.38 \pm 0.01)vs(0.45 \pm 0.01), $P < 0.01$], [0.08 $\mu\text{g/ml}$ DDP:(0.53 \pm 0.01)vs(0.66 \pm 0.01), $P < 0.01$];而 Bcl-2/Bax 蛋白比值显著增大[0.1 $\mu\text{g/ml}$ VM-26:(1.12 \pm 0.01)vs(0.56 \pm 0.01), $P < 0.01$], [0.08 $\mu\text{g/ml}$ DDP:(1.43 \pm 0.07)vs(0.87 \pm 0.03), $P < 0.01$]。

3 讨论

胶质瘤患者在接受传统化疗药治疗后,仍存在很大程度转移、复发^[12],且不同个体对相同化疗药物敏感性不同,这与胶质瘤多药耐药性有很大关系。因此寻找与胶质瘤耐药性相关作用靶点,成为提高胶质瘤临床治疗药物效果的有效途径。

本课题组前期研究已通过基因芯片技术筛选出胶质瘤耐药相关基因,分别与细胞凋亡、生长分化和信号转导相关^[10]。其中组蛋白去乙酰化酶的表达,与细胞凋亡关系密切;HDACs 蛋白可以参与调节肿瘤的发生和发展,主要通过两种机制来完成。首先,参与组蛋白的去乙酰化,进而改变基因结构,抑制基因表达;其次,HDACs 使各种非组蛋白去乙酰化,从而调节细胞内蛋白质的稳定性及各种蛋白间相互关系^[13-14],例如可使 P53 转录因子去乙酰化等作用;HDAC1 还在多种实体瘤中高表达^[15-17]。有研究^[18]显示,HDAC1 异常表达可导致 DNA 修复缺陷和染色体结构不稳定,其与很多断裂双链非同源末端的连接修复有关。通过免疫组化染色法发现,HDAC1 表达量在恶性前列腺癌组织和毗邻的良性癌旁组织有显著性差异,揭示在不同恶性程度的同类肿瘤细胞 HDAC1 的表达量不同^[19],这也可能成为预测肿瘤恶化程度的参考指标之一。

本研究主要针对细胞凋亡相关蛋白 HDAC1 与抗肿瘤药物耐药性的关系。实验结果发现,分别采用 VM-26 和 DDP 药物处理后,与 U87MG-Control 组相比,U87MG-HDAC1 的 IC_{50} 值分别提高至 3.11 倍和 2.60 倍,提示 U87MG 细胞耐药性增强;Ho-

chest/PI 双染法从细胞形态学观察结果表明, U87MG-HDAC1 组 U87MG 细胞凋亡率明显低于 U87MG-Control 组;通过 Western blotting 蛋白质印迹法检测结果证明, U87MG-HDAC1 组 Bcl-2/Bax 比值

显著高于 U87MG-Control 组, 凋亡执行蛋白 Caspase-3 低于 U87MG-Control 组, 提示 U87MG-HDAC1 细胞系耐药性增强, 且对 DDP 和 VM-26 均显示明显的耐药性。

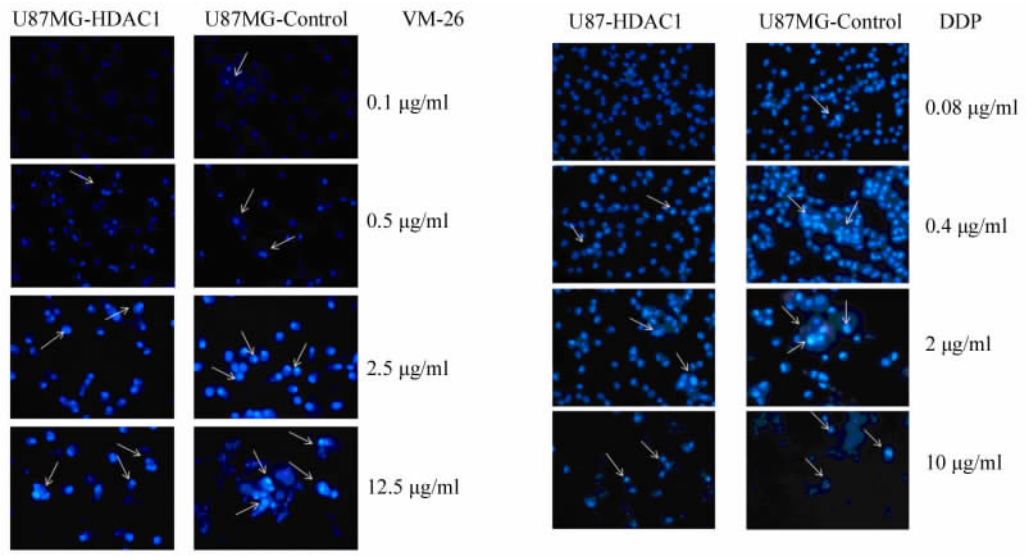


图 4 HDAC1 过表达对 VM-26 or DDP 处理的 U87MG 细胞凋亡的影响($\times 100$)(箭头所指为凋亡细胞)

Fig. 4 Effect of HDAC1 overexpression on apoptosis of U87MG cells treated with VM-26 and DDP($\times 100$)(Arrows indicate the apoptotic cells)

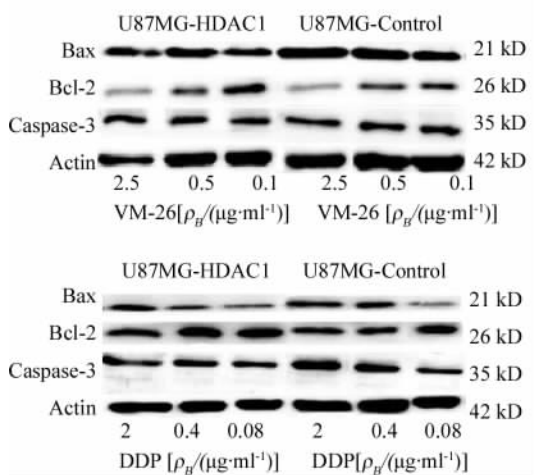


图 5 HDAC1 过表达对 VM-26 or DDP 处理的 U87MG 细胞中 Caspase-3, Bcl-2 和 Bax 表达的影响
Fig. 5 Effect of HDAC1 overexpression on the expressions of Caspase-3, Bcl-2 and Bax in U87MG cells treated with VM-26 and DDP

已有研究证实^[20], HDAC1 过表达乳腺癌可以下调抑癌基因 P53 蛋白表达, 推测本实验结果显示 U87MG 细胞的耐药机制可能是 P53 基因下调导致

Bax 下调, 同时使 Bcl-2 上调, Bcl-2 通过介导线粒体外膜通透转运孔孔道复合体开放抑制细胞色素 c 的释放而发挥抗凋亡作用; 另一方面, Bcl-2 上调能与 Apaf-1 结合抑制其功能, 阻止 Procaspase-9 活化, 进而抑制 Caspase-3 的激活实现抗凋亡作用, 导致耐药性增强。

有研究^[21]表明, 相比于普通亲代宫颈癌 SiHa 细胞系, 耐药株 SiHaR 中 MDR1 和 P-gp1 表达量显著升高, 加入 HDAC1 抑制剂 TSA 可以降低 MDR1 和 P-gp1 的表达, 降低人宫颈癌对 DDP 耐药性。HDAC1 抑制剂提高肿瘤药物敏感性可能通过使 Ku70 蛋白去乙酰化, 降低 Bax/Ku70 蛋白的结合, 从而使 Bax 释放出来, 促进细胞凋亡, 这与 PI3K/mTOR 信号转导通路也有密切关系^[22]。在乳腺癌中有丝分裂原激活 PI3K/mTOR 通路, 依赖于核糖体蛋白 S6 激酶, 促进 HDAC1 磷酸化而发挥作用, 且证实 PI3K 抑制剂与 HDAC1 抑制剂联合应用能更大程度抑制肿瘤细胞耐药性, 并发挥协同作用^[23]。

综上所述, 在本研究的基础上, 将 HDAC1 作为一个重要的耐药靶点进一步研究其耐药机制及其与 P-gp 表达, 以及与 PI3K 信号转导通路的相互交联作用, 对临床药物治疗恶性胶质瘤有指导意义。

[参 考 文 献]

- [1] NAKAGAWA M, ODA Y, EGUCHI T, et al. Expression profile of class I histone deacetylases in human cancer tissues [J]. *Oncol Rep*, 2007, 18(4): 769-774. DOI: 10. 3892/or. 18. 4. 769.
- [2] SENESE S, ZARAGOZA K, MINARDI S, et al. Role for histone deacetylase 1 in human tumor cell proliferation [J]. *Mol Cell Biol*, 2007, 27(13): 4784-4795. DOI: 10. 1128/ MCB. 00494-07.
- [3] XIE H J, NOH J H, KIM J K, et al. HDAC1 inactivation induces mitotic defect and caspase-independent autophagic cell death in liver cancer [J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(4): e34265. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0034265.
- [4] MUTZE K, LANGER R, BECKER K, et al. Histone deacetylase (HDAC) 1 and 2 expression and chemotherapy in gastric cancer [J]. *Ann Surg Oncol*, 2010, 17(12): 3336-3343. DOI: 10. 1245/s10434-010-1182 -1.
- [5] CHEN D Q, PAN B Z, HUANG J Y, et al. HDAC 1/4-mediated silencing of microRNA-200b promotes chemoresistance in human lung adenocarcinoma cells [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(10): 3333. DOI: 10. 18632/oncotarget. 1948.
- [6] BAJBOUJ K, MAWRIN C, HARTIG R, et al. P53-dependent anti-proliferative and pro-apoptotic effects of trichostatin A (TSA) in glioblastoma cells [J]. *J Neurooncol*, 2012, 107(3): 503-516. DOI: 10. 1007/s11060-011-0791-2.
- [7] MENDES B, MARQUES C, CARVAIHO I, et al. Influence of glioma cells on a new co-culture in vitro blood-brain barrier model for characterization and validation of permeability [J]. *Int J Pharm*, 2015, 490(1): 94-101. DOI: 10. 1016/j. ijpharm. 2015. 05. 027.
- [8] OTHMAN R T, KIMISHI I, BRADSHAW T D, et al. Overcoming multiple drug resistance mechanisms in medulloblastoma [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2014, 2: 57. DOI: 10. 1186/2051-5960-2-57.
- [9] 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 depsipeptide [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2007, 99(14): 1107-1119. DOI: 10. 1093/jnci/djm044.
- [10] 强兆艳, 汤华, 李欣, 等. cDNA 基因芯片对人胶质瘤组织原发性耐药相关基因的筛查 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2008, 15(4): 369-373. DOI: 10. 3872/j. issn. 1007- 385X. 2008. 04. 015.
- [11] WANG Y, CHEN X, HU X, et al. Enhancement of silencing DNA polymerase β on the radiotherapeutic sensitivity of human esophageal carcinoma cell lines [J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(10): 10067-10074. DOI: 10. 1007/s13277-014-2308-z.
- [12] BURDEISKI C, RUGE O M, MELLING N, et al. HDAC1 overexpression independently predicts biochemical recurrence and is associated with rapid tumor cell proliferation and genomic instability in prostate cancer [J]. *Exp Mol Pathol*, 2015, 98(3): 419-426. DOI: 10. 1016/j. yexmp. 2015. 03. 024.
- [13] AGARWAL S, MANCHANDA P, VOGELBAUM M A, et al. Function of the blood-brain barrier and restriction of drug delivery to invasive glioma cells: findings in an orthotopic rat xenograft model of glioma [J]. *Drug Metabol Drug Interact*, 2013, 41(1): 33-39. DOI: 10. 1124/ dmd. 112. 048322.
- [14] ZHANG B, WANG Y, PANG X. Enhanced radiosensitivity of EC109 cells by inhibition of HDAC1 expression [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(1): 340-348. DOI: 10. 1007/s12032-010-9559 -3.
- [15] SASAKI H, MORIYAMA S, NAKASHIMA Y, et al. Histone deacetylase 1 mRNA expression in lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2004, 46(2): 171-178. DOI: 10. 1016/ j. lungcan. 2004. 03. 021.
- [16] MARQUARD L, POULSEN C B, GJERDRUM L M, et al. Histone deacetylase 1, 2, 6 and acetylated histone H4 in B and T cell lymphomas [J]. *Histopathology*, 2009, 54(6): 688-698. DOI: 10. 1111/j. 1365-2559. 2009. 03290. x.
- [17] MARQUARD L, GJERDRUM L M, CHRISTENSEN I J, et al. Prognostic significance of the therapeutic targets histone deacetylase 1, 2, 6 and acetylated histone H4 in cutaneous T-cell lymphoma [J]. *Histopathology*, 2008, 53(3): 267-277. DOI: 10. 1111/j. 1365-2559. 2008. 03109. x.
- [18] SHIN H J, BAEK K H, JEON A H, et al. Inhibition of histone deacetylase activity increases chromosomal instability by the aberrant regulation of mitotic checkpoint activation [J]. *Oncogene*, 2003, 22(25): 3853-3858. DOI: 10. 1038/sj. onc. 1206502.
- [19] HALKIDOU K, GAUGHAN L, COOK S, et al. Upregulation and nuclear recruitment of HDAC1 in hormone refractory prostate cancer [J]. *Prostate*, 2004, 59(2): 177-189. DOI: 10. 1002/pros. 20022.
- [20] MELLERT H S, STANEK T J, SYKES S M, et al. Deacetylation of the DNA-binding domain regulates p53-mediated apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(6): 4264-4270. DOI: 10. 1074/jbc. M110. 184663.
- [21] ROY M, MUKHERJEE S. Reversal of resistance towards cisplatin by curcumin in cervical cancer cells [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 15(3): 1403-1410. DOI: 10. 7314/ APJCP. 2014. 15. 3. 1403.
- [22] JEANNOT V, BUSSE B, BRAMBILLA E, et al. The PI3K/AKT pathway promotes gefitinib resistance in mutant KRAS lung adenocarcinoma by a deacetylase-dependent mechanism [J]. *Int J Med Sci*, 2014, 13(11): 2560-2571. DOI: 10. 1002/ijc. 28594.
- [23] CITRO S, MICCOLOI C, MELONI L, et al. PI3K/mTOR mediate mitogen-dependent HDAC1 phosphorylation in breast cancer: a novel regulation of estrogen receptor expression [J]. *J Mol Cell Biol*, 2015, 7(2): 132-142. DOI: 10. 1093/jmcb/mjv021.

[收稿日期] 2015 - 09 - 06

[修回日期] 2015 - 11 - 04

[本文编辑] 阮芳铭