

5-氮杂-2-脱氧胞苷通过上调 MGMT 表达增加 5-氟尿嘧啶联合紫杉醇的化疗敏感性

孟兰^{1,2,3}, 丁西平¹, 胡群力¹, 殷实¹, 沈千^{1,2}, 胡世莲^{1,2,3}

(1. 安徽医科大学附属省立医院, 合肥 230001; 2. 安徽省老年医学研究所; 3. 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室)

[摘要] **目的** 研究 5-氮杂-2-脱氧胞苷(5-Aza-dC)与传统化疗药物 5-氟尿嘧啶联合紫杉醇(5-FU + PTX)对人胃癌细胞生长的影响,探讨 5-Aza-dC 抗肿瘤的机制。**方法** 培养人胃癌细胞株 MKN-45,分为对照组、5-Aza-dC 组、5-FU + PTX 组和 5-Aza-dC + 5-FU + PTX 组,利用 CCK-8 细胞增殖检测试剂盒、流式细胞术检测各组细胞的增殖和凋亡情况,利用 RT-PCR 和 Western blot 方法分别检测各组胃癌细胞的 MGMT 基因 mRNA 与蛋白表达,及凋亡蛋白 cleaved caspase-3 的表达。**结果** 5-Aza-dC 及 5-FU 联合紫杉醇均可抑制 MKN-45 细胞的生长,48 h 细胞存活率分别为 $(71.60 \pm 5.77, 57.00 \pm 6.09)\%$,与 5-FU + PTX 组比较,三药联合使用后效果更明显 $(42.85 \pm 2.29)\%$, $P=0.02$; 5-Aza-dC 及 5-FU 联合紫杉醇组细胞凋亡率 $[(7.33 \pm 0.34)\%, (13.06 \pm 1.67)\%]$ 及凋亡蛋白 cleaved caspase-3 水平 $[(43.00 \pm 4.00)\%, (45.67 \pm 4.50)\%]$ 均增加,三药联合用药组凋亡率 $[(17.31 \pm 1.05)\%]$ 和 cleaved caspase-3 水平 $[(174.67 \pm 6.50)\%]$ 的表达更高。与对照组抑癌基因 MGMT mRNA 和蛋白表达量 $[(23.10 \pm 2.15)\%, (10.47 \pm 1.39)\%]$ 比较,5-Aza-dC 单独处理的 MKN-45 细胞 MGMT 基因 mRNA $(56 \pm 5.57)\%$ 及蛋白表达水平 $(20.33 \pm 5.50)\%$ 均升高,三药联合用药组 MGMT 升高程度更加明显 $[(75.67 \pm 6.50)\%, (174.67 \pm 6.50)\%]$, $P<0.001$,而 5-FU 联合紫杉醇组未发现明显变化。**结论** 5-Aza-dC 可以有效抑制胃癌细胞的生长,它与化疗药物 5-FU 和紫杉醇联合应用时抗肿瘤效应更加明显。

[关键词] 胃肿瘤; 氟尿嘧啶; 紫杉醇类; 脱氧胞苷核苷酸类; 药物相互作用

中图分类号: R735.2 文献标识码: A DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2017.05.028

5-Aza-2'-deoxycytidine enhances the anti-tumor effect of 5-FU combined paclitaxel against gastric cancer through up-regulation MGMT Meng Lan*, Ding Xiping, Hu Qunli, Yin Shi, Shen Gan, Hu Shilian (* Anhui Provincial Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230001, China)

Corresponding author: Hu Shilian, Email: hushilian@126.com

[Abstract] **Objective** To explore the potential effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-dC), 5-FU combined Paclitaxel (PTX) for the treatment of patients with gastric cancer and its mechanism. **Methods** The inhibitory effects of 5-Aza-dC and/or 5-FU combined PTX on MKN-45 cell proliferation were assayed by using CCK-8 kit. The apoptosis of MKN-45 cell was determined by Annexin V-FITC/PI staining method. MGMT mRNA *in vitro* was determined by RT-PCR, and the cleaved caspase-3 and MGMT protein expression were detected by western blotting. **Results** The cell growth of human gastric carcinoma cell line MKN-45 was significantly inhibited by 5-Aza-dC $(71.60 \pm 5.77)\%$ or 5-FU combined PTX $(57.00 \pm 6.09)\%$, the combination of 5-Aza-dC and 5-FU + PTX $(42.85 \pm 2.29)\%$ resulted in a better inhibition. Compared with the control group, 5-Aza-dC and 5-FU combined PTX group induced the apoptosis of MKN-45 cells $[(7.33 \pm 0.34)\%, (13.06 \pm 1.67)\%]$, with the apoptotic rate significantly higher in the combination group than that in single drug treatment group $(17.31 \pm 1.05)\%$, as well as indicated in cleaved caspase-3 protein expression. Exposure of MKN-45 cell to 5-Aza-dC alone resulted in a significant increase in the expression levels of MGMT mRNA and protein $[(56.00 \pm 5.57)\%, (20.33 \pm 5.50)\%]$, and the effects were consequently more pronounced in the combined

基金项目: 国家自然科学基金(8107180); 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室绩效项目(1606c08236); 安徽省科技攻关项目(1501041142)

作者简介: 孟兰, 医师, Email: menglan871121@126.com

通信作者: 胡世莲, 主任医师, 教授, 博士生导师, Email: hushilian@126.com

group[(75.67 ± 6.50)%, (174.67 ± 6.50)%], $P < 0.001$. **Conclusion** 5-Aza-dC can inhibit cell proliferation and induce apoptosis in human gastric carcinoma. Moreover, 5-Aza-dC combined with 5-FU and PTX is more efficient than either 5-Aza-dC or 5-FU combined PTX alone.

[**Key words**] Stomach neoplasms; Fluorouracil; Taxoids; Deoxycytosine nucleotides; Drug interactions

胃癌死亡率占全世界癌症死亡常见原因的第2位^[1]。我国是胃癌高发国家,每年死于胃癌者约占全部肿瘤死亡者的1/5,尽管在过去的几年中,胃癌的治疗效果有了改善,但随着肿瘤多重耐药的发生(MDR),胃癌患者对常规的化疗药物不再敏感,5年生生存率低于20%,寻求更多新型并且行之有效的治疗手段已成为亟需解决的问题。表观遗传学研究表明,DNA甲基化转移酶(DNMTs)可调控基因的转录,导致抑癌基因表达沉默,丧失其抗肿瘤的作用^[2],5-Aza-dC作为研究最多的甲基转移酶抑制剂,已有多个研究证实5-Aza-dC可通过去甲基化干预从分子水平抑制肿瘤细胞生长^[3],其机制与恢复某些抑癌基因如MMR、RUNX3、CHFR等的表达密切相关^[4-6]。随着基础实验和临床研究的不断深入,5-Aza-dC(DAC)已经通过了食品和药品管理局(FDA)的认证,用于治疗造血系统的恶性疾病,但5-Aza-dC对实体肿瘤及其与传统化疗药物之间的关系,目前尚处于初级探索阶段。因此,本研究期望检测5-Aza-dC与传统化疗方案5-氟尿嘧啶(5-Fu)和紫杉醇联合应用时,药物之间的相互作用,为未来胃癌的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及材料

1.1.1 细胞株、培养基及药物 人胃癌细胞株MKN-45细胞购自北京肿瘤研究所,胎牛血清和培养液(RPMI1640)购于Gibco公司,胰蛋白酶、5-氟尿嘧啶和紫杉醇分别购自上海碧云天、上海旭东海普及北京华素药业有限公司,5-Aza-dC购于Sigma公司。

1.1.2 细胞增殖及凋亡试剂 细胞增殖实验试剂盒(CCK-8)购自上海同仁化学有限公司,Annexin-V、PI染料购于Sigma公司。

1.1.3 总RNA的提取、RT-PCR及核酸电泳试剂 Trizol及逆转录试剂盒购自Invitrogen公司,Oligo-dT18、dNTPmix(10mM)和Taq DNA聚合酶购于上海生工生物工程有限公司。 β -actin上游引物:5'-TGTGATGGTGGGTATGGGTCA-3',下游引物:5'-TTAATGTCACGCACGATTTCC-3';MGMT上游引物:

5'-TGAATGCCTATTTCCACC-3',下游引物:5'-CT-TCCATAACACCTGTCT-3',均由上海生工生物工程有限公司合成。琼脂糖、6×上样缓冲液、溴化乙锭(EB)和100 bp DNA ladder分别购自Spanish公司、大连宝生物工程有限公司、Amresco公司和Fermetas公司。

1.1.4 总蛋白的提取及蛋白质免疫印迹电泳检测试剂 彩色预染分子量Marker和Western-blot/PI裂解液均购于碧云天公司,山羊抗鼠、山羊抗兔二抗抗体、anti-MGMT抗体及anti- β -actin抗体均购于Santa Cruz公司,anti-cleaved caspase-3抗体购自Cell signaling公司。

1.2 实验方法

1.2.1 药物的配制、细胞培养及药物处理 将5-Aza-dC用DMSO溶解成1mg/mL的贮存液,分别与5-FU联合紫杉醇稀释后处理细胞。实验分组^[7]:(1)对照组(1640培养基);(2)5-Aza-dC组(10 μ M),培养72 h;(3)5-FU(15 mg/L) + PTX(0.1 μ M)组,培养24 h;(4)5-Aza-dC(10 μ M) + 5-FU(15 mg/L) + PTX(0.1 μ M)组,5-Aza-dC处理48 h后给予5-FU和PTX继续培养24 h。分别收集细胞和提取mRNA和蛋白。

1.2.2 MTT实验 收集处于对数生长期的MKN-45,计数并调整浓度为 1×10^4 /mL,接种于96孔板,200 μ L/孔,实验为4组:(1)对照组(1640培养基);(2)5-Aza-dC组(10 μ M);(3)5-FU(15 mg/L) + PTX(0.1 μ M);(4)5-Aza-dC(10 μ M) + 5-FU(15 mg/L) + PTX(0.1 μ M),设置3个不同的浓度梯度,培养72 h,每组设3个复孔,分别于24 h、48 h及72 h时间点各取1板,每孔加入10 μ L的CCK-8反应试剂,孵育1 h,测定OD₄₅₀,计算各组细胞生长抑制率(IR), $IR(\%) = 1 - (\text{实验组A值} - \text{空白孔A值}) / (\text{对照组A值} - \text{空白孔A值}) \times 100\%$ 。

1.2.3 细胞凋亡的检测 收集处于对数生长期的MKN-45,计数并调整浓度为 1×10^4 /mL,接种于6孔板,3 mL/孔,实验分组同前,共培养48 h后,使用不含EDTA的胰酶消化,收集细胞,并使用4℃预冷的PBS洗涤细胞2次(1500 r/min,离心5 min),调

整细胞浓度为 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 使用 $200 \mu\text{L}$ 的 Binding buffer 重悬细胞, 转管, 每管加入 $5 \mu\text{L}$ 的 Annexin V, 室温避光孵育 30 min , 每管加入 $5 \mu\text{L}$ 10 mg/mL 的 PI, 室温, 避光, 孵育 10 min , 使用 BD FACSCanto™ II Flow Cytometer 流式细胞仪检测, Winmd2.8 软件分析实验数据。

1.2.4 RT-PCR 反应 使用 TRIzol 试剂盒提取总 RNA, 之后进行逆转录, $2 \mu\text{g}$ 的总 RNA, $20 \mu\text{L}$ 反应体系。以 cDNA 作为模版, 按如下反应条件进行扩增: $95 \text{ }^\circ\text{C}$, 3 min ; ($95 \text{ }^\circ\text{C}$, 30 s ; $56 \text{ }^\circ\text{C}$, 30 s ; $72 \text{ }^\circ\text{C}$, 30 s), 重复 30 个循环, $72 \text{ }^\circ\text{C}$, 延伸 10 min , 产物进行电泳分析, 用 UVI 凝胶成像系统进行拍照、Quantity One 软件分析图像。

1.2.5 Western-blot MKN-45 细胞分组同凋亡实验, 共处理 6 h , 收集各组细胞按 Western-blot/PI 裂解液方法提取蛋白, 采用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度, 每孔上样量为 $4 \mu\text{g}$, 用 10% SDS-PAGE 凝胶电泳, 转膜, 封闭, 加入一抗 ($1:1000$ 稀释), $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育, 过夜, TBST 漂洗 PVDF 膜 $7 \text{ min} \times 5$ 次, 加入二抗稀释液 ($1:2000$) $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育 1 h , TBST 漂洗 PVDF 膜 $7 \text{ min} \times 5$ 次。加入辣根过氧化物酶, HRP-ECL 发光法曝光, 使用 Image J 凝胶图像处理系统分析结果。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析, 所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组间差异使用方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 5-Aza-dC 联合 5-FU + PTX 对胃癌细胞 MKN-45 的增殖的影响 5-Aza-dC、5-FU + PTX 单独或联合处理 MKN-45 细胞 24 h 、 48 h 和 72 h 后, 细胞增殖均受到抑制; 与单独用药比较, 联合用药组细胞更明显 ($P < 0.05$); 5-Aza-dC 与 5-FU + PTX 对 MKN-45 细胞的抑制作用存在时间 - 剂量依赖性,

5-Aza-dC、5-FU 和 紫杉醇联合 ($50 \mu\text{M}$ 5-Aza-dC + 75 mg/L 5-FU + $0.5 \mu\text{M}$ PTX) 处理 72 h , 细胞存活率最低, 为 $(20.95 \pm 5.86)\%$ 。处理 48 h 后, 与对照组比较, 用药组均可抑制细胞生长 (5-Aza-dC 组 $P = 0.01$, 5-FU + PTX 组 $P = 0.01$), 与 5-FU + PTX 组比较, 三药联合用药组细胞抑制作用更明显 ($P = 0.02$), 稍高浓度用药组对 MKN-45 细胞的抑制更明显 ($P = 0.03$), 最高浓度用药组细胞存活率为 $(20.95 \pm 5.86)\%$, 抑制程度最明显 ($P = 0.04$)。见表 1。

2.2 5-Aza-dC 联合 5-FU + PTX 对胃癌细胞 MKN-45 凋亡的影响 使用 5-Aza-dC 及 5-FU + PTX 处理 48 h 后, MKN-45 细胞凋亡率分别为 $(7.33 \pm 0.34)\%$ 和 $(13.06 \pm 1.67)\%$, 三药联合处理组 MKN-45 细胞凋亡率 $(17.31 \pm 1.05)\%$, 上述各组与对照组 (1.43 ± 0.16)% 比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 1)。Western blot 方法检测的细胞的 cleaved caspase-3 的表达, 以 β -actin 的灰度值为参照, 5-Aza-dC 组为 $(43 \pm 4)\%$, 5-FU + PTX 组 $(45.67 \pm 4.50)\%$, 5-Aza-dC + 5-FU + PTX 组 $(174.67 \pm 6.50)\%$, 与对照组 $(23.33 \pm 1.53)\%$ 比较, 用药组 cleaved caspase-3 的表达升高, 且三药联合处理组升高更加明显 ($P < 0.05$, 图 2)。与对照组比较, 两组药物均可促进胃癌 MKN-45 细胞的凋亡, 并且三药联合时凋亡率远高于其他处理组, 见表 2。

2.3 5-Aza-dC 联合 5-FU 和 PTX 对胃癌细胞 MKN-45 MGMT 基因表达的影响 利用 5-Aza-dC、5-FU + PTX 单独或联合处理 MKN-45 细胞后, 检测抑癌基因 MGMT mRNA 和蛋白表达, 以 β -actin 的灰度值为参照, 各组表达水平分别为, 5-Aza-dC 组 $(56.00 \pm 5.57)\%$ 、5-FU + PTX 组 $(25.00 \pm 2.00)\%$ 、5-Aza-dC + 5-FU + PTX 组 $(75.67 \pm 6.50)\%$ 和 5-Aza-dC 组 $(20.33 \pm 5.50)\%$ 、5-FU + PTX 组 $(14.00 \pm 2.00)\%$ 、5-Aza-dC + 5-FU + PTX 组 $(174.67 \pm$

表 1 5-Aza-dC 联合 5-FU + PTX 对胃癌细胞 MKN-45 的增殖的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	MKN-45 细胞存活率 (按时间分, %)			MKN-45 细胞存活率 (按浓度分, %)		
	24 h	48 h	72 h	I	II	III
Control	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
5-Aza-dC	86.95 ± 2.73	71.60 ± 5.77	60.30 ± 6.87	78.10 ± 9.72	60.30 ± 6.87	44.97 ± 3.44
5-FU + PTX	71.57 ± 4.18	57.00 ± 6.09	47.95 ± 6.70	59.50 ± 7.93	47.95 ± 6.70	32.00 ± 5.24
5-Aza-dC + 5-FU + PTX	64.26 ± 4.98	42.85 ± 2.29	29.40 ± 3.62	52.10 ± 8.31	29.40 ± 3.62	20.95 ± 5.86

注: 5-Aza-dC 及 5-FU + PTX 分别设置三个浓度梯度为 I、II、III, 分别是 2 、 10 、 $50 \mu\text{mol/L}$, 3 、 15 、 75 mg/L 和 0.02 、 0.1 、 $0.5 \mu\text{mol/L}$, 时间依赖性分别选择中间浓度即 $10 \mu\text{mol/L}$ 、 15 mg/L 和 $0.1 \mu\text{mol/L}$

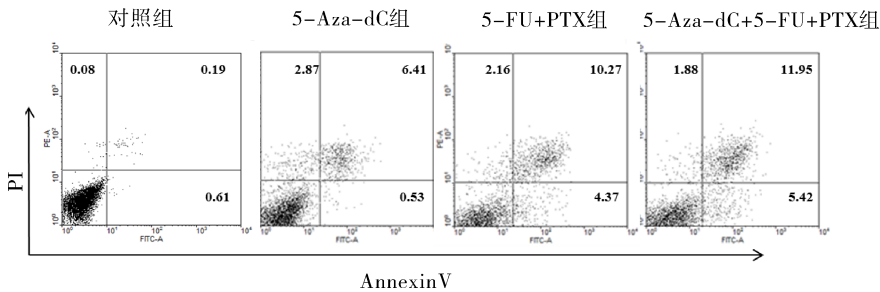


图1 5-Aza-dC 单独或联合 5-FU 和 PTX 对胃癌 MKN-45 凋亡的流式细胞图

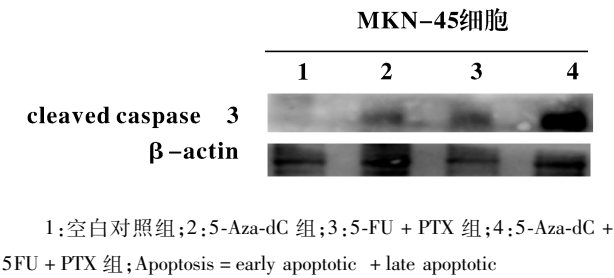


图2 5-Aza-dC 单独或联合 5-FU 和 PTX 增加胃癌

MKN-45 细胞凋亡蛋白 cleaved caspase-3 的蛋白质印迹图

表2 5-Aza-dC 单独或联合 5-FU 和 PTX 对胃癌 MKN-45 凋亡及 cleaved caspase-3 表达的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	MKN-45 细胞 凋亡情况	cleaved caspase-3 蛋白表达情况
对照组	1.43 ± 0.16	23.33 ± 1.53
5-Aza-dC 组	7.33 ± 0.34	43.00 ± 4.00
5-FU + PTX 组	13.06 ± 1.67	45.67 ± 4.50
5-Aza-dC + 5-FU + PTX 组	17.31 ± 1.05	174.67 ± 6.50

注:用药组细胞的凋亡情况与对照组比较明显升高,均为 $P < 0.001$;与 5-FU + PTX 组比较,三药联合时 MKN-45 细胞的凋亡及 cleaved caspase-3 的表达最高($P < 0.001, P = 0.030$)

6.50)%,与对照组(23.10 ± 2.15)%及(10.47 ± 1.39)%比较,5-Aza-dC 组抑癌基因 MGMT mRNA 和蛋白表达量明显升高($P < 0.05$),而 5-FU + PTX 组没有明显变化,当联合 5-Aza-dC 之后,MGMT 表达明显升高($P < 0.05$,图3,表3)。

3 讨论

5-Fu 联合紫杉醇是近年来治疗胃癌较为有效的化疗方案。5-FU 抗肿瘤主要通过三重酶活化反应完成,其中起重要作用的 TP 酶因在实体瘤中表达高于正常组织,尤其是对于化疗不敏感的乏氧区活性更高,所以 5-FU 具有独特的抗肿瘤作用以及对正常组织毒性较小的高选择性^[8];紫杉醇是一种抗微管药物,通过促使细胞中微管稳定和聚合,致使细胞有丝分裂受阻,从而有效抑制肿瘤细胞的生

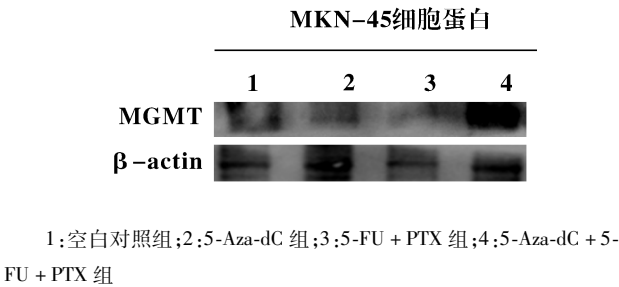
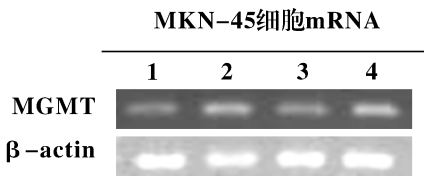


图3 5-Aza-dC 单独或联合 5-FU 和 PTX 对

胃癌 MKN-45 细胞 MGMT 表达的蛋白质印迹图

表3 5-Aza-dC 单独或联合 5-FU 和 PTX 对胃癌 MKN-45 细胞 MGMT 基因表达的影响($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	MKN-45 细胞 MGMT mRNA	MKN-45 细胞 MGMT 蛋白
对照组	23.10 ± 2.15	10.47 ± 1.39
5-Aza-dC 组	56.00 ± 5.57	20.33 ± 5.50
5-FU + PTX 组	25.00 ± 2.00	14.00 ± 2.00
5-Aza-dC + 5-FU + PTX 组	75.67 ± 6.50	174.67 ± 6.50

注:与对照组比较,5-Aza-dC 组 MKN-45 细胞的 mRNA 和蛋白表达较高($P = 0.010, P = 0.040$);与 5-FU + PTX 用药比较,三药联合时 MKN-45 细胞的 mRNA 和蛋白的表达最高($P < 0.001, P < 0.001$)

长,由于两种药物作用机制不同,故毒性互不交叉^[9],并且 Sasagawa 等^[10]在动物模型中证实,5-FU 的前体卡培他滨和紫杉醇联合应用抗肿瘤作用高于两药单独使用。然而在临床应用中,5-氟尿嘧啶和紫杉醇也常常治疗失败,其中化疗后 DNA 损伤(DNA damage)导致的肿瘤耐药为主要原因^[11]。MGMT(O^6 -甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶)是人类目前为止发现的唯一一种 DNA 修复酶,能够修复烷化

剂造成的烷化损伤,广泛存在于机体各种正常组织细胞中,防止细胞癌变和死亡,其表达缺失或突变与许多恶性肿瘤有关^[12],并且与肿瘤耐药的产生密切相关^[13]。5-氮杂-2-脱氧胞苷作为甲基转移酶抑制剂,可以通过去甲基化作用使多种沉默的抑癌基因再表达,如 RUNX3、CHFR 等^[14],发挥其抗肿瘤作用,而 5-Aza-dC 联合传统化疗药物的临床疗效及作用机制还有待评估^[15]。基于化疗耐药的产生主要由 DNA 损伤反应引起,本研究选择 5-Aza-dC 联合传统化疗方案 5-FU 和紫杉醇干预胃癌细胞 MKN-45,检测 MGMT 基因的表达情况。结果发现,5-Aza-dC 单独应用能提高 MGMT mRNA 和蛋白的表达,联合 5-FU 及 PTX 后 MGMT mRNA 和蛋白的表达水平升高更加明显;CCK-8 实验和流式检测结果进一步证实了 5-Aza-dC 联合 5-FU 和紫杉醇均可以抑制胃癌细胞的增殖和促进其凋亡,发挥抗肿瘤作用,三药联合后效果更明显,而 cleaved caspase-3 是执行细胞凋亡的效应蛋白,Western blot 结果也提示 5-Aza-dC 可以提高化疗方案 5-FU 联合紫杉醇促胃癌细胞凋亡的作用。

综上所述,一方面,5-Aza-dC 可以通过诱导胃癌细胞凋亡和抑制细胞增殖发挥抗肿瘤作用;另一方面,在 5-Aza-dC 联合 5-FU 和紫杉醇应用时,表现出明显的协同抗肿瘤效应,为胃癌临床治疗新方案的开辟提供了新思路。

参考文献

- [1] DE MARTEL C, FORMAN D, PLUMMER M. Gastric cancer: epidemiology and risk factors [J]. *Gastroenterol Clin North Am*, 2013, 42(2): 219-240.
- [2] CHIAM K, CENTENERA MM, BUTLER LM, et al. GSTP1 DNA methylation and expression status is indicative of 5-aza-2'-deoxycytidine efficacy in human prostate cancer cells [J]. *PLoS One*, 2011, 6(9): 1-11.
- [3] LI D, XU CY, CUI RJ, et al. DNA methylation inhibitor, decitabine, promotes MGC803 gastric cancer cell migration and invasion via the upregulation of NEDD41 [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(6): 8201-8208.
- [4] 孙玉蓓, 胡冰, 沈干, 等. 胃癌组织中抑癌基因 RUNX3 和 CHFR 启动子异常甲基化的临床意义 [J]. *中国临床保健杂志*, 2010, 13(3): 236-238.
- [5] 刘林青, 胡世莲, 沈干, 等. 5-氮杂-2-脱氧胞苷及曲古抑菌素 A 对人胃癌 SGC-7901 细胞生长及 CHFR 基因表达水平的影响 [J]. *中国癌症杂志*, 2012, 22(8): 573-577.
- [6] 卞庚, 赵文英, 杨志敏, 等. 5-氮杂-2-脱氧胞苷联合紫杉醇与氟尿嘧啶对人胃癌细胞系 MKN-45 裸鼠移植瘤生长的抑制作用 [J]. *中国临床保健杂志*, 2013, 16(4): 394-397.
- [7] MENG CF, ZHU XJ, FENG G, et al. Re-expression of methylation-induced tumor suppressor gene silencing is associated with the state of histone modification in gastric cancer cell lines [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(46): 6166-6171.
- [8] WU H, LI W, WANG TS, et al. Paeoniflorin suppress NF- κ B activation through modulation of I κ B α and enhances 5-fluorouracil-induced apoptosis in human gastric carcinoma cells [J]. *Biomed Pharmacother*, 2008, 62(9): 659-666.
- [9] GANTA S, AMIJI M. Coadministration of paclitaxel and curcumin in nanoemulsion formulations to overcome multidrug resistance in tumor cells [J]. *Mol Pharm*, 2009, 6(3): 928-939.
- [10] SASAGAWA T, SOLANO H, VEGA W, et al. The effectiveness of extended lymph node dissection for gastric cancer performed in Costa Rica under the supervision of a Japanese surgeon: a comparison with surgical results in Japan [J]. *Am J Surg*, 2008, 195(1): 53-60.
- [11] HARI M, LOGANZO F, ANNABLE T, et al. Paclitaxel-resistant cells have a mutation in the paclitaxel-binding region of beta-tubulin (Asp26Glu) and less stable microtubules [J]. *Mol Cancer Ther*, 2006, 5(2): 270-278.
- [12] CLARK SJ, MELKI J. DNA methylation and gene silencing in cancer: Which is the guilty part? [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2002, 21(35): 5380-5387.
- [13] CALDERA V, MELLAI M, ANNOVAZZI L, et al. MGMT Hypermethylation and MDR system in glioblastoma cancer stem cells [J]. *Cancer Genom Proteom*, 2012, 9(4): 171-178.
- [14] HU S, HUANG D, SUN Y, et al. Pathobiologic implications of methylation and expression status of Runx3 and CHFR genes in gastric cancer. [J]. *Medical Oncology*, 2010, 28(2): 447-454.
- [15] QIN T, JELINEK J, SI J, et al. Mechanisms of resistance to 5-aza-2-deoxycytidine in human cancer cell lines [J]. *Blood*, 2009, 113(3): 659-667.

(收稿日期: 2017-07-01)