

HSP90 抑制剂 17-DMAG 影响结肠癌 SW620 细胞生长的实验研究

邬叶锋 马芳 张丽军 汤建燕 赵登秋

【摘要】 目的 研究热休克蛋白 90 (HSP90) 新型抑制剂 17-DMAG 对结肠癌细胞株 SW620 增殖及凋亡的影响,并对其机制作初步探讨。方法 以不同浓度的 17-DMAG 作用于对数生长期的结肠癌 SW620 细胞,显微镜下观察细胞凋亡形态学变化;应用 CCK8 法检测其吸光度值,并计算细胞生长抑制率;以 Annexin V-FITC 和 PI 双染法检测各组细胞凋亡率的变化;采用流式细胞仪分析各组细胞的细胞周期变化。结果 光学显微镜观察到 17-DMAG 药物处理组的细胞出现细胞凋亡现象。CCK8 法显示 17-DMAG 对结肠癌 SW620 细胞株的生长增殖有抑制作用,并呈时间-剂量依赖性($P < 0.05$)。Annexin-FITC/PI 双染色法检测结果显示 17-DMAG 浓度为 1.0 $\mu\text{mol/L}$ 、2.5 $\mu\text{mol/L}$ 、5.0 $\mu\text{mol/L}$ 的细胞凋亡率分别为 30.03%、50.50% 和 77.23%,与对照组相比有统计学差异($P < 0.05$)。流式细胞仪细胞周期分析显示,经 17-DMAG 药物处理过的不同浓度的药物组与对照组比较,G0/G1 期细胞比例显著上升,S 期细胞比例下降,G2/M 期细胞比例显著上升,有统计学差异($P < 0.05$);但各浓度 17-DMAG 药物组间比较,G0/G1 期、S 期、G2/M 期细胞比例无明显变化,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 HSP90 抑制剂 17-DMAG 对结肠癌细胞 SW620 的生长增殖有明显的抑制作用,呈时间和剂量依赖性,并诱导其凋亡;同时,17-DMAG 影响 SW620 细胞的周期,但这种影响与 17-DMAG 的浓度无关。

【关键词】 结肠肿瘤; HSP90 热休克蛋白类; 细胞增殖; 细胞凋亡; 17-DMAG

Effects of HSP90 inhibitor 17-DMAG on the colon cancer cell line SW620: an experimental study WU Ye-feng, MA Fang, ZHANG Li-jun, TANG Jian-yan, ZHAO Deng-qiu. Department of General Surgery, The Sixth Affiliated People's Hospital of Jinshan Branch, Shanghai 201599, China
Corresponding author: ZHAO Deng-qiu, Email: zhaodengqiu@tom.com

【Abstract】 Objective To investigate effects of HSP90 novel inhibitor 17-DMAG on the proliferation and apoptosis of human colon cancer cell line SW 620 and explore its mechanism. **Methods** With different concentrations of 17-DMAG on growth period of the human colon cancer cell line SW 620, apoptotic morphological changes were observed under microscope; CCK8 method was applied to detect the absorbance values, and the cell growth inhibition rate were calculated; flow cytometric was used to analyse the cell cycle changes of each group; Annexin V-FITC and PI double staining method were used for detecting clusters of apoptotic cells rate of change. **Results** We observed through microscope that 17-DMAG drug treatment group cells appeared apoptosis. CCK8 assay suggested that 17-DMAG inhibited the proliferation of colon cancer cell line SW 620 in a dose- and time-dependent manner ($P < 0.05$). Annexin-FITC/PI assay revealed that cell apoptotic ratios of 1.0 $\mu\text{mol/L}$, 2.5 $\mu\text{mol/L}$, 5.0 $\mu\text{mol/L}$ concentrations were 30.03%, 50.50% and 77.23%, the difference was significant compared to the control group ($P < 0.05$). The cell cycle analysis by FCM showed that the 17-DMAG groups treated with different concentrations of the drug compared with the control group, the G0/G1 cell ratio increased significantly, S cell ratio decreased, G2/M cell ratio increased significantly, with statistical difference ($P < 0.05$); but the concentration of 17-DMAG drug groups comparison of G0/G1, S, G2/M period, the cell ratio did not change significantly, the differences were not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusions** HSP90 inhibitor 17-DMAG can inhibit the proliferation of the human colon cancer cell line SW 620 in a dose- and time-dependent, and induce its apoptosis. 17-DMAG can effect

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2012.24.034

基金项目: 上海市金山区卫生局科研基金(2011-12)

作者单位: 201599 上海市第六人民医院金山分院普外科(邬叶锋、汤建燕、赵登秋);上海市公共卫生临床中心科学研究部(马芳、张丽军)

通讯作者: 赵登秋, Email: zhaodengqiu@tom.com

the cell cycle of SW620 without dependence of the concentration of 17-DMAG.

【Key words】 Colonic neoplasms; HSP90 heat-shock proteins; Cell proliferation; Apoptosis; 17-DMAG

结肠癌是发病率和死亡率都极高的恶性肿瘤之一,全球每年约有 783 000 例的结肠癌新发病例报道^[1],西方发达国家的发病率居恶性肿瘤的第二位^[2],亚洲各国也有迅速升高的趋势^[3],据统计,我国结肠癌发病的上升速度远超 2% 的国际水平,死亡率也在持续上升,居我国癌症死亡率的第三位^[4]。虽然对结肠癌的诊治已经取得很大进展,但仍有大约半数患者就诊时已失去手术治疗的机会;其总体 5 年生存率始终在 50% 左右。

热休克蛋白 90 (heat shock protein 90, HSP90) 是细胞内重要的分子伴侣之一,参与细胞内多种蛋白的折叠、装配及转运,对肿瘤的发生发展起着重要作用,已成为治疗肿瘤的新靶点。HSP90 抑制剂是一类能与 HSP90 调节位点结合,引起 HSP90 构象改变并诱导其底物蛋白降解,从而发挥抑制作用的化合物^[5]。研究表明,阻断肿瘤中 HSP90 的分子伴侣作用,对细胞周期、细胞生长、细胞凋亡等均可产生重要影响^[6]。鉴于国内陈怡等^[7] 研究显示,结肠癌组织中的 HSP90 蛋白染色阳性率 (72.5%) 显著高于结肠癌旁组织 (42.5%) 及正常结肠腺体组织 (22.5%),间接提示 HSP90 在结肠癌的发生发展中具有重要作用,故本研究以不同浓度的 HSP90 抑制剂 17-DMAG 作用于体外结肠癌 SW620 细胞株,观察其对 SW620 细胞生长增殖的影响及诱导凋亡的作用,初步探讨其体外拮抗结肠癌细胞株 SW620 的机制。

材料和方法

一、实验材料

人结肠癌 SW620 细胞株来源于中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心,HSP90 抑制剂 17-DMAG 购自美国 Santa 公司,CCK8 试剂盒、Annexin-FITC/PI 双染试剂盒为碧云天生物技术有限公司产品;碘化丙啶 (PI) 和无 DNase 的 RNase A 购自上海生工生物工程技术有限公司;胰蛋白酶为美国 Invitrogen 公司产品。

二、方法

1. 主要材料准备:人结肠癌 SW620 细胞株在含 10% 美国进口胎牛血清和 90% Leibovitz's L-15 基本培养基的培养液中,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中进行贴壁培养,至细胞 90% 融合后按 1:3 进行传代。17-DMAG 溶于二甲基亚砷 (DMSO) 中,配置成 5 mmol/L 的储存液,-20 °C 避光保存,使用时,用细胞完全培养基稀释至所需浓度。

2. 细胞形态观察:SW620 细胞传代后分别添加 17-DMAG 至终浓度为 1.0 μmol/L、2.5 μmol/L、5.0 μmol/L,48 h 后于倒置光学显微镜下观察细胞形态的变化(显微镜放大倍数为 100 倍)。

3. 细胞增殖抑制实验:将传代 3~4 次状态良好的 SW620 细胞进行消化和重悬,接种到 96 孔板中,每孔 100 μl,17-DMAG 的处理浓度分别为:0、0.25、0.5、1.0、2.5、5.0 μmol/L,每一个浓度设 6 个复孔,在 37 °C 培养箱中进行培养,分别于培养的 24 h、48 h、72 h 各取一块 96 孔板进行 CCK8 法检测。每孔加入 10 μl CCK8 溶液;在 37 °C 细胞培养箱中继续保温 1 h 后进行酶标仪上测定,在波长 450 nm 处测定吸光度 OD 值;计算不同浓度、时间下 17-DMAG 对 SW620 细胞生长的抑制率,细胞生长抑制率 = (1 - 实验组平均 OD 值/对照组平均 OD 值) × 100%,用 Excel 软件绘制曲线。

4. 细胞凋亡实验:以 CCK8 法结果为依据,选择不同浓度 (0 μmol/L、1.0 μmol/L、2.5 μmol/L、5.0 μmol/L) 的 17-DMAG 作为干预浓度,作用于 SW620 细胞 12 h 后,进行凋亡试剂盒处理,把细胞培养液吸出至 10 ml 离心管内,PBS 洗涤贴壁细胞一次,加入适量胰酶细胞消化液消化细胞。至消化完毕时,吸弃胰酶消化液,将该细胞培养液加入细胞,将细胞从壁上吹打下来并混匀,转移到离心管内,500 × g 离心 5 min,弃上清,收集细胞,用 2 ml PBS 轻轻重悬细胞并计数。计算并取 1 × 10⁶ 个重悬的细胞,500 × g 离心 5 min,弃上清,加入 195 μl Annexin V-FITC 结合液轻轻重悬细胞。加入 5 μl Annexin V-FITC,轻轻混匀。室温 (20~25 °C) 避光孵育 10 min。加入 10 μl PI 染色液,轻轻混匀,冰浴避光放置。进行流式细胞仪检测,按公式计算细胞凋亡率:凋亡率 = 早期凋亡细胞比例 + 晚期凋亡细胞比例,实验重复 3 次取平均值。

5. 细胞周期实验:将状态良好的 SW620 细胞进行消化、重悬,37 °C 培养箱中培养 24 h 后以 17-DMAG 处理,17-DMAG 的处理浓度为 1.0 μmol/L、2.5 μmol/L、5.0 μmol/L,同时设空白对照组两组,一组什么都不加,一组加 DMSO。在 37 °C 培养箱中继续培养 6 h,吸弃细胞培养上清,用 PBS 清洗细胞一遍。用胰酶将细胞消化下来。离心弃上清,用 PBS 重悬细胞。细胞计数,取 (1~2) × 10⁶ 个细胞,离心,弃上清,加入 200 μl PBS 重悬细胞,充分用枪吹打混匀,然后再在漩涡振荡器上混匀使细胞成为单细胞悬液。取 1 ml 70% -20 °C 的乙醇,边震荡边滴加入该单细胞悬液。充分

混匀后放置4℃冰箱,细胞固定后加入50 μg/ml的PI染色液100 μl,4℃下避光染色30 min。采用流式细胞仪对样品进行检测,激发波长450 nm,分析软件CellQuest计算细胞周期。按公式计算细胞增殖指数(cPI): $cPI = (S + G2/M) / (G0/G1 + S + G2/M) \times 100\%$ 。

三、统计学处理

所得实验结果应用统计软件包SPSS 10.1处理,统计学数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,分析采用单因素方差分析、组间比较用SNK两两比较法, $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

结 果

1. 17-DMAG干预后SW620细胞形态的改变:在倒置光学显微镜下观察发现,未经17-DMAG处理过的SW620细胞(对照组)分布较均匀,数量较多,以梭形为主,大小一致性好,胞膜完整,胞质透亮,胞核大小正常。经过浓度为1.0 μmol/L、2.5 μmol/L和5.0 μmol/L的17-DMAG作用48 h后,SW620细胞形态发生明显改变,细胞变圆,体积变小,细胞膜皱缩明显,部分细胞发生融合,细胞数量明显减少。且随着17-DMAG药物浓度的增加,上述改变越明显(图1~4)。

2. 17-DMAG对结肠癌SW620细胞增殖的影响:CCK8法测得不同浓度和时间点17-DMAG作用于SW620细胞的OD值,按照细胞生长抑制率公式测得不同浓度和时间点17-DMAG对SW620细胞的增殖抑制率(表1),并绘制生长抑制曲线图(图5)。结果提示17-DMAG药物作用SW620细胞后,SW620细胞的增殖活性受到抑制,并且随着17-DMAG药物浓度的增加,作用时间的延长,细胞生长抑制率有逐渐增加的趋势,差异有显著性($P < 0.05$)。

3. 17-DMAG诱导细胞凋亡结果:细胞凋亡率对照组为(1.70 ± 0.20)%,1.0 μmol/L组为(30.03 ± 1.53)%,2.5 μmol/L组为(50.50 ± 3.31)%,5.0 μmol/L组为(77.23 ± 3.27)%。结果显示,随着17-DMAG药物浓度的增加,各浓度药物组凋亡率随之增加(图6)。每个浓度组间比较,差异均具有统计学意义($P < 0.01$)。

4. 17-DMAG作用于SW620细胞的细胞周期变化(表2):经17-DMAG作用6 h后,SW620细胞出现细胞周期变化。各浓度药物组与对照组相比较,G0/G1期所占比例升高、S期所占比例减低、G2/M期所占比例增高,有统计学差异($P < 0.05$)。各浓度17-DMAG药物组间比较,G0/G1期、S期、G2/M期细胞比例无明显变化,除S期2.5 μmol/L组与1.0 μmol/L组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)外,其余各组差异无统计学意义(图7)。cPI同样显示各浓度17-DMAG药物组与对

照组相比较有统计学差异,在各浓度药物组间比较差异无统计学意义。

表1 不同浓度和时间点17-DMAG对SW620细胞的增殖抑制率(% , $\bar{x} \pm s$, $n = 6$)

17-DMAG	24 h	48 h	72 h
0	-	-	-
0.25 μmol/L	0.8597 ± 0.3426	6.4738 ± 2.6129	13.1897 ± 2.7750
0.5 μmol/L	2.5285 ± 0.1591	10.8251 ± 5.0053	15.8171 ± 2.9644
1.0 μmol/L	4.2984 ± 0.7270	15.5479 ± 2.2810	17.9716 ± 2.6260
2.5 μmol/L	10.1391 ± 0.8671	22.7381 ± 1.5933	24.1198 ± 2.2946
5.0 μmol/L	20.5563 ± 1.0002	25.5505 ± 0.8700	31.3715 ± 3.1791

注:同一时间不同实验组组间比较,同一实验组在不同时间点比较, P 均 < 0.05

表2 17-DMAG对SW620细胞周期的影响(% , $\bar{x} \pm s$)

17-DMAG	G0/G1	S	G2/M	cPI
0	56.99 ± 0.54	39.17 ± 0.92	3.84 ± 0.12	43.01 ± 0.54
1.0 μmol/L	62.74 ± 1.31 ^a	28.20 ± 1.20 ^a	9.06 ± 0.79 ^a	37.26 ± 1.31 ^a
2.5 μmol/L	63.71 ± 0.66 ^a	25.71 ± 0.66 ^{ab}	10.57 ± 0.59 ^a	36.29 ± 0.66 ^a
5.0 μmol/L	62.03 ± 1.08 ^a	27.06 ± 1.04 ^a	10.91 ± 0.85 ^a	37.97 ± 1.08 ^a

注:与0 μmol/L组比较,^a $P < 0.05$;与1.0 μmol/L组比较,^b $P < 0.05$

讨 论

HSP是广泛存在于哺乳动物细胞内的一类蛋白质,具有高度保守的编码基因及氨基酸序列。HSP通常与具有不同功能的多种蛋白质在细胞内形成复合体,并通过复合体的形成或解离而参与有关蛋白的折叠、细胞内运输以及蛋白质的降解等过程。它调节底物蛋白的活性和功能,但又不参与底物蛋白的组成,所以HSP又被称作“分子伴侣”^[8]。根据其同源程度以及分子量的大小,HSP可分为HSP110、HSP90、HSP70、HSP60、小分子HSP及泛素等几个家族。其中HSP90是细胞内表达最丰富、功能最为活跃的分子伴侣之一,在真核细胞内含量尤为丰富,约占细胞蛋白总量的1%~2%^[9]。在肿瘤细胞中,由于受到细胞内外环境的影响,其含量可以达到正常细胞的2~10倍^[10]。HSP90本身在癌细胞中的过量表达使得肿瘤细胞比正常细胞更容易适应周围恶劣的环境^[11],使其具有无限制生长潜能、浸润和转移、逃避凋亡等特点,近期国内杨士勇等^[12]通过研究胰腺癌组织中HSP90的表达,佐证了这一观点。HSP90的底物蛋白在维持肿瘤细胞的这些特点中发挥了无可替代的作用。研究表明,HSP90对其底物蛋白的成熟、结构稳定及功能的发挥起到重要的作用^[13],HSP90的过度表达可使肿瘤细胞逃脱免疫监视,促进肿瘤细胞的生长。因此,阻断肿瘤中HSP90的分子伴侣作用,就可能会影响到肿瘤细胞中多条信号转导通路,实现对肿瘤细胞的多点打击,进而干预肿瘤

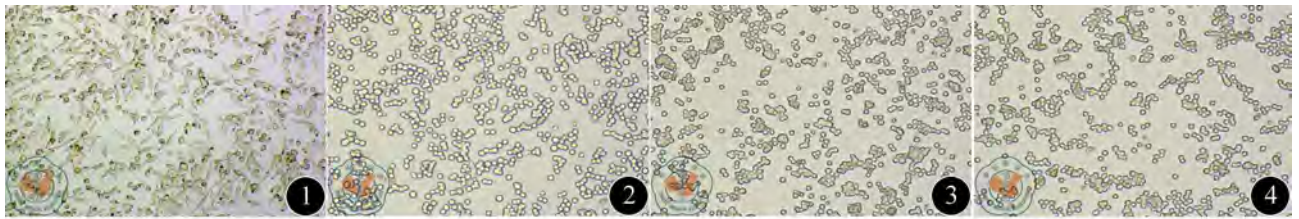


图1 对照组SW620细胞形态(×100) 图2 1.0 μmol/L 17-DMAG组SW620细胞形态(×100) 图3 2.5 μmol/L 17-DMAG组SW620细胞形态(×100) 图4 5.0 μmol/L 17-DMAG组SW620细胞形态(×100)

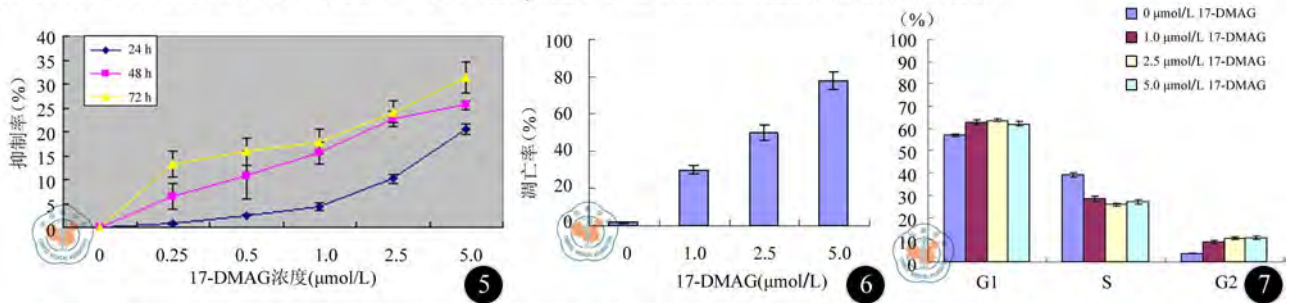


图5 不同浓度和时间点17-DMAG对SW620细胞的生长抑制曲线图 图6 17-DMAG对结肠癌SW620凋亡率的影响 图7 17-DMAG对SW620细胞周期的影响

细胞赖以生存的整个信号传递网络,使肿瘤发生、发展、侵袭和转移等各个过程均受到影响。

HSP90 抑制剂能抑制 HSP90 的靶点,与细胞内信号转导通路中的信号蛋白相互作用,维持这些蛋白的正常结构与功能,在肿瘤的发生发展中起重要作用,目前已成为抗肿瘤研究的热门靶点^[14]。它可通过降解 HSP90 的底物蛋白,达到多点攻击,产生多路径抗肿瘤效应。格尔德霉素(geldanamycin, GA)是 HSP90 的天然抑制剂^[15],其衍生物主要有 17-AAG 和 17-DMAG。17-AAG 是第一个用于临床试验的 HSP90 抑制剂,它具有 GA 全部活性,毒性较 GA 低^[16]。已有多个临床试验完成,取得了良好的抗肿瘤效果,但它具有水溶性较差,口服利用度差,需要使用特殊的溶媒溶解等缺点,在一定程度上限制了它的应用。17-DMAG 是继 17-AGG 之后的又一种新型衍生物,有更好的溶解度及生物利用率,且体内代谢简单,毒性更低,安全性更高。临床试验表明该药具有良好的药理作用特性,它能广泛分布于人体组织,并能特异地与肿瘤细胞结合,48 h 后仅在肿瘤组织中检测到^[17]。它能够靶向抑制肿瘤源性的 HSP90,使多条细胞信号转导通路的关键调节蛋白降解,抑制细胞增殖,诱导细胞凋亡,从而抑制肿瘤生长,并且其肝毒性和骨髓抑制效应也比 17-AGG 小。

结肠癌是常见的消化道恶性肿瘤之一,目前认为结肠癌是多基因变异所致的病变,其发生是细胞生长、分化、凋亡紊乱的结果。在肿瘤研究中发现,HSP90 失活后,依赖 HSP90 众多信号转导系统的成员被泛素化而在蛋白酶体中降解,有关信号转导通路活化水平下调,从而产生抑制增殖、诱导凋亡等一系列反应。17-DMAG 就是通过抑制 HSP90 的分子伴侣功能干扰细胞

内多条信号转导通路的调节,抑制细胞生长、诱导肿瘤细胞凋亡。Brown 等^[18]认为 17-DMAG 是通过抑制 HSP90 的功能,干扰信号转导蛋白 HER2、Raf、Ras、Akt、STAT 等达到对肿瘤细胞的生长抑制作用。以表皮生长因子受体(EGFR)为靶点的西妥昔单抗和帕尼单抗等药物治疗晚期大肠癌标志着大肠癌进入了分子靶向治疗的新纪元,但目前仍然存在治疗药物耐药、用药的个体化及不良反应等问题。

在本研究中,显微镜下观察经 17-DMAG 处理过的 SW620 细胞,随着 17-DMAG 药物浓度的增加,SW620 细胞密度及数量逐渐减少,细胞皱缩明显,细胞形态大小不一,部分细胞融合,表明结肠癌 SW620 细胞的形态随着 17-DMAG 药物浓度的增加而改变越明显,间接反映了 17-DMAG 有促进 SW620 细胞凋亡作用。CCK-8 检测法具有灵敏度高、重复性好、无放射性污染等优点,对细胞没有毒性,可直接加入到细胞样品中长时间孵育,安全简便,故本研究通过 CCK-8 法检测不同浓度和时间点 17-DMAG 对结肠癌 SW620 细胞增殖的影响,结果显示不同浓度 17-DMAG 作用于 SW620 细胞 24 h、48 h、72 h 后,SW620 细胞的增殖受到抑制,并且细胞生长抑制率随着 17-DMAG 药物浓度的增加和作用时间的延长而增加,差异有统计学意义,表明 17-DMAG 对 SW620 细胞有明显的增殖抑制作用,并呈时间和剂量依赖性。Annexin V/PI 双染色法特异性强,通过两种染色方法可将早期凋亡细胞与晚期凋亡细胞区分开来,成为目前测定细胞早期凋亡的“金标准”,本实验的结果显示不同浓度(0 μmol/L、1.0 μmol/L、2.5 μmol/L、5.0 μmol/L)的 17-DMAG 作用于 SW620 细胞 12 h 后,细胞凋亡率随着药物浓度的增加而增加,

每个浓度组间均具有统计学差异,提示 17-DMAG 有诱导结肠癌 SW620 细胞凋亡的作用,且凋亡率随 17-DMAG 药物浓度增加而增加。目前认为人结肠癌是一种细胞周期失调性疾病。细胞增殖是通过细胞周期实现的,而肿瘤细胞增殖是由于细胞周期调控失衡所致。细胞周期紊乱是基因组不稳定的一个中心环节,其结果是使不稳定细胞发生进一步癌变的可能性增高,从而参与肿瘤的发生、发展^[19]。细胞周期在细胞周期蛋白和细胞周期蛋白依赖性激酶复合物(CDK)的驱动下依次经 G0(静止期)-G1(DNA 合成前期)-S(DNA 合成期)-G2(有丝分裂前期)-M(有丝分裂期)进行。在细胞周期进程中,有多个周期调控点;其中 G1/S 期和 G2/M 期是细胞受损后进行修复的两个最重要检测点。细胞周期“靶向”治疗是临床晚期结肠癌化疗药物应用的一个重要策略^[20]。本实验应用流式细胞仪测定结肠癌 SW620 细胞周期,结果表明 17-DMAG 药物能降低 SW620 细胞 DNA 合成的能力,抑制细胞的增殖和生长,影响细胞周期,但对细胞周期的影响没有浓度依赖关系。

综上所述,17-DMAG 能够抑制人结肠癌 SW620 细胞株的增殖,诱导凋亡,影响细胞周期,其作用机制可能是通过抑制 HSP90 的分子伴侣功能,引起 HSP90 底物蛋白的降解,影响肿瘤细胞内信号通路的调节,从而抑制细胞增殖并诱导其凋亡。HSP90 抑制剂 17-DMAG 的抗肿瘤作用为结肠癌的治疗提供了一个新的方向,但是其抗肿瘤作用机制尚未完全清楚,有待在蛋白基因水平深入研究。

参 考 文 献

- [1] Kim MS, Lee J, Sidransky D. DNA methylation markers in colorectal cancer. *Cancer And Metastasis Rev*, 2010, 29:181-206.
- [2] Javle M, Hsueh CT. Updates in Gastrointestinal Oncology-insights from the 2008 44th annual meeting of the American Society of Clinical Oncology. *Hematol Oncol*, 2009, 2:9.
- [3] Yako-Suketomo H, Marugame T. Comparison of time trends in colon, rectum and anus cancer incidence (1973-2002) in Asia, from Cancer Incidence in Five Continents. *Clin Oncol*, 2009, 39:196-198.
- [4] Milicevic Z, Bogojevic D, Krivokapic Z, et al. Molecular characterization of hsp90 isoforms in colorectal cancer cells and its association with tumour progression. *Int J Oncol*, 2008, 32:1169-1178.
- [5] Tony T, Weilin S, Gabriela C, et al. Discovery and Development of

heat shock protein 90 inhibitors. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17: 2225-2235.

- [6] Lang SA, Klein D, Moser C, et al. Inhibition of heat shock protein90 impairs epidermal growth factor-mediated signaling in gastric cancer cells and reduces tumor growth and vascularization *in vivo*. *Mol Cancer Ther*, 2007, 6:1123-1132.
- [7] 陈怡,冉志华,陈翔,等. HSP70, HSP90 在结肠癌中表达及其和生物学行为的相关性. *世界华人消化杂志*, 2006, 14:3201-3205.
- [8] Stangl K, Gunther C, Frank T, et al. Inhibition of the ubiquitin-proteasome pathway induces differential heat-shock protein response in cardiomyocytes and renders early cardiac protection. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 291:542-549.
- [9] Chen B, Zhong D, Monteiro A. Comparative genomics and evolution of the HSP90 family of genes across all kingdoms of organisms. *BMC Genomics*, 2006, 7:156.
- [10] Gooljarsingh LT, Fernandes C, Yan K, et al. A biochemical rationale for the anticancer effects of HSP90 inhibitors: slow, tight binding inhibition by geldanamycin and its analogues. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103:7625-7630.
- [11] Bishop SC, Burlison JA, Blagg BS. HSP90: a novel target for the disruption of multiple signaling cascades. *Curr Cancer Drug Targets*, 2007, 7:369-388.
- [12] 杨士勇,胡斌斌,杨坤兴. 热休克蛋白 90 α 在胰腺癌组织中的表达及临床意义 [J/CD]. *中华临床医师杂志: 电子版*, 2012, 6: 1553-1555.
- [13] Cortés-González CC, Ramírez-González V, Ariza AC, et al. Functional significance of heat shock protein 90. *Rev Invest Clin*, 2008, 60: 311-320.
- [14] Li Y, Zhang T, Schwartz SJ, et al. New developments in HSP90 inhibitors as anti-cancer therapeutics: mechanisms, clinical perspective and more potential. *Drug Resist Updat*, 2009, 12:17-27.
- [15] Whitesell L, Mimnaugh EG, De Costa B, et al. Inhibition of heat shock protein HSP90-pp60v-src heteroprotein complex formation by benzoquinone ansamycins: essential role for stress proteins in oncogenic transformation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91:8324-8328.
- [16] Fukuyo Y, Hunt CR, Horikoshi N. Geldanamycin and its anti-cancer activities. *Cancer Lett*, 2010, 290:24-35.
- [17] Chiosis G, Huezio H, Rosen N, et al. 17-AAG: low target binding affinity and potent cell activity-finding an explanation. *Mol Cancer Ther*, 2003, 2:123-129.
- [18] Brown JM, Attardi LD. The role of apoptosis in cancer development and treatment response. *Nat Rev Cancer*, 2005, 5:231-237.
- [19] Powers MV, Workman P. Targeting of multiple signalling pathways by heat shock protein 90 molecular chaperone inhibitors. *Endocr Relat Cancer*, 2006, 13 Suppl 1:S125-135.
- [20] Freemantle SJ, Liu X, Feng Q, et al. Cyclin degradation for cancer therapy and chemoprevention. *J Cell Biochem*, 2007, 102:869-877.

(收稿日期:2012-08-03)

(本文编辑:马超)