

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2010.02.005

· 基础研究 ·

曲古菌素 A 通过抑制 MAPK/ERK 通路上调食管癌 EC1 细胞 CAR 的表达

马俊芬,刘康栋,刘霞,杨洪艳,黄幼田,赵明耀,董子明(郑州大学基础医学院病理生理学教研室,河南郑州450052)

[摘要] 目的:观察曲古菌素 A(trichostatin A, TSA)对人食管癌细胞 EC1 膜表面柯萨奇病毒-腺病毒受体(Coxsachievirus and adenovirus receptor, CAR)表达水平的影响,探讨 MAPK/ERK 信号通路在 TSA 上调 CAR 表达中的作用。方法:0.3、0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的 TSA 处理 EC1 细胞 48 h,采用免疫荧光、RT-PCR、Western blotting 检测 CAR 的表达。以 1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA 作用 EC1 细胞 1、6、12、24、48 h,Western blotting 检测 p-ERK、CAR 表达水平的变化,分析 CAR 表达和 p-ERK 水平变化的相关性。结果:0.3、0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA 处理 EC1 细胞后,CAR 蛋白和 mRNA 水平均明显增加($P < 0.05$),并呈剂量依赖关系。1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA 作用 EC1 细胞 6、12、24、48 h 后,CAR 蛋白表达较对照组均明显增加($P < 0.05$);p-ERK 表达水平明显下降($P < 0.05$),两者变化呈显著负相关($r = -0.886, P < 0.01$)。结论:TSA 能够上调人食管癌 EC1 细胞膜表面 CAR 的表达水平,其机制可能与其抑制 MAPK/ERK 通路有关。

[关键词] 食管癌细胞;曲古菌素 A;柯萨奇病毒-腺病毒受体;细胞外信号调节激酶

[文献标志码] A **[文章编号]** 1007-385X(2010)02-0139-05

Trichostatin A up-regulates expression of Coxsachievirus and adenovirus receptor in human esophageal cancer EC1 cells through inhibiting MAPK/ERK pathway

MA Jun-fen, LIU Kang-dong, LIU Xia, YANG Hong-yan, HUANG You-tian, ZHAO Ming-yao, DONG Zi-ming (Department of Pathophysiology, Basic Medical College of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of trichostatin A (TSA) on Coxsachievirus and adenovirus receptor (CAR) expression in membrane of human esophageal cancer EC1 cells, and to discuss the role of MAPK/ERK signal pathway in the up-regulation of CAR expression triggered by TSA. **Methods:** EC1 cells were treated with TSA (0.3, 0.5, 1.0 $\mu\text{mol/L}$), and CAR expressions on EC1 cells were examined by immunofluorescence staining, RT-PCR and Western blotting analysis. EC1 cells were also treated with 1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA for 0, 1, 6, 12, 24, and 48 h, and then the CAR expression and phosphorylation of ERK were detected by Western blotting analysis. The correlation between ERK phosphorylation level and the CAR expression was analyzed. **Results:** CAR protein and mRNA expressions in EC1 cells were significantly increased after treatment with 0.3, 0.5, and 1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA ($P < 0.05$), and the increase was in a dose-dependent manner. EC1 cells treated with 1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA for different time periods also showed significantly increased CAR expression ($P < 0.05$), while p-ERK expression levels in EC1 cells were remarkably decreased. The expression of p-ERK in EC1 cells treated with TSA was negatively correlated with that of CAR ($r = -0.886, P < 0.01$). **Conclusion:** TSA can increase the expression of CAR in human EC1 cells, and the possible mechanisms may be related to the inhibition of ERK/MAPK pathway in EC1 cells.

[Key words] esophageal cancer cell; trichostatin A; Coxsachievirus and adenovirus receptor (CAR); extracellular signal-regulated kinase (ERK)

[Chin J Cancer Biother, 2010, 17(2): 139-143]

随着基因治疗技术的发展,越来越多的基因治疗方案被用于肿瘤治疗的临床试验中。以腺病毒为载体的基因治疗因其操作简便、安全性好及技术相对成熟而受到重视,但是由于肿瘤细胞对腺病毒感染率较低,严重影响了腺病毒为载体

[基金项目] 教育部科技创新工程基金资助重点项目(No. 207150)。Project supported by the Key Foundation of Science and Technology Innovation Program of Education Ministry of China (No. 207150)

[作者简介] 马俊芬(1970-),河南杞县人,博士研究生,讲师,主要从事食管肿瘤发病机制的研究。E-mail: majunfen@zzu.edu.cn

[通信作者] 董子明(DONG Zi-ming, corresponding author), E-mail: dongzm@zzu.edu.cn

的基因治疗的效果。腺病毒要进入肿瘤细胞依赖于细胞表面柯萨奇-腺病毒受体(Coxsachievirus and adenovirus receptor, CAR)和 α_v 整合素的表达,腺病毒通过CAR黏附在细胞表面并依赖 α_v 整合素通过细胞内摄取过程进入细胞。研究^[1-2]表明,恶性肿瘤CAR表达水平往往较低甚至缺如。本课题组前期工作^[3-5]也证明食管癌细胞CAR表达水平也较低。但腺病毒的转导效率及减瘤作用很大程度上取决于CAR表达水平,因此通过各种手段提高CAR的表达已成为研究的热点。曲古菌素A(trichostatin A, TSA)源自链霉菌代谢产物,是一种抗真菌药物,同时也是强大的组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACi)。Sequra-pacheco等^[6]研究发现,用HDACi抑制丙戊酸可以引起乳腺癌细胞CAR表达上调,作为HDACi经典代表药物的TSA能否使食管癌细胞CAR表达上调尚不清楚。细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)是蛋白激酶家族的有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs)的重要成员,介导细胞的多种生物学反应。CAR的功能不仅仅局限于促进病毒黏附受体,同时也是一种重要的细胞间黏附分子。Chen等^[7]研究表明,抑制MAPK信号通路可以上调细胞间的黏附分子如ZO-1等的表达。基于以上研究,本课题探讨:(1)TSA作用食管癌EC1细胞后能否上调细胞表面CAR表达?(2)TSA是否通过抑制ERK信号转导通路上调CAR?实验结果将为探索高效的肿瘤病毒基因治疗方案提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料

曲古菌素A购自美国Sigma公司,溶于二甲基亚砜(DMSO)配成2.5 mmol/L的贮存液备用。一步法RT-PCR试剂盒购自大连TaKaRa公司,RPMI 1640购自美国Gibco公司,胎牛血清购自天津TBD生物有限公司,TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司。cDNA逆转录试剂盒、PCR合成试剂盒购自上海生工公司。CAR鼠抗人单克隆抗体购自美国Santa Cruz公司,ERK、p-ERK兔抗人抗体购自美国Cell Signaling Technology公司,辣根酶标记山羊抗鼠二抗、山羊抗兔二抗及FITC标记的山羊抗鼠二抗、SP超敏免疫组化试剂盒均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。人食管癌EC1细胞由本室保存。

1.2 免疫荧光检测食管癌EC1细胞CAR的表达

食管癌EC1细胞在含100 ml/L胎牛血清1640的完全培养基中培养,待细胞汇合至80%时制备细胞爬片进行分组实验。实验分为溶剂对照组、0.3 μ mol/L TSA组、0.5 μ mol/L TSA组、1.0 μ mol/L TSA组、3.0 μ mol/L TSA组,作用48 h后用PBS清洗长有细胞的盖玻片3次,轻轻吸去残余液体;室温下用40 g/L多聚甲醛(溶于0.01 mol/L PBS, pH 7.2~7.4)固定细胞30 min, PBS洗细胞5 min \times 3次;用含50 g/L BSA的封闭液封闭非特异性结合位点,室温静置30 min;用含50 g/L BSA的PBS 1:50稀释一抗,吸净盖玻片上的液体,将稀释后的一抗滴加至盖玻片上,湿盒中静置,4 $^{\circ}$ C过夜;PBS代替一抗作阴性对照。PBS冲洗细胞5 min \times 3次;用含50 g/L BSA的PBS稀释(1:100)FITC标记的山羊抗鼠二抗,滴加二抗稀释液至玻片上,室温避光孵育1 h,荧光显微镜观察。以细胞膜上出现绿色荧光颗粒为阳性细胞,评估CAR的表达水平。

1.3 RT-PCR检测EC1细胞CAR mRNA的表达

参照TRIzol试剂盒说明书提取各组细胞总RNA。以随机引物1 μ l做逆转录引物,4 μ l RNA在AMV的作用下合成cDNA第一链,以逆转录产物2 μ l做PCR模板进行检测。检测CAR表达的上游引物为TTCAGGTGCGAGATGTTA,下游引物为GAATGATTACTGCCGATG,PCR产物为477 bp。人 β -actin的上游引物为CTGGGACGACATGGAGAA,下游引物为AAGGAAGGCTGGAAGAGTGC,PCR产物为564 bp。PCR反应条件:94 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min,共30个循环;最后72 $^{\circ}$ C延伸6 min。PCR产物在1.5%琼脂糖凝胶中电泳,至少重复5次RT-PCR全过程,以凝胶成像分析仪分析电泳结果。以目的CAR片段与 β -actin片段的光密度(D)比值作为CAR mRNA的相对量,然后进行组间比较。

1.4 Western blotting检测TSA处理后EC1细胞CAR的变化

采用总蛋白试剂盒提取对照组和0.3、0.5、1.0 μ mol/L TSA组EC1细胞总蛋白,Bradford法检测蛋白质的含量,50 μ g上样量,12% SDS-PAGE,转移PVDF膜,用含50 g/L BSA封闭3 h,按1:200稀释CAR鼠抗人一抗4 $^{\circ}$ C过夜, TBST洗涤3次,将膜放于相应TBST稀释的二抗中,室温中轻摇2 h,用TBST洗涤3次, ECL发光法进行显影。以看家基因 β -actin作为内对照。用Gel-Doc图像分析软件检测各条带灰度,将各处理组灰度值与对照组灰度

值比较,得到实验组与对照组增加的倍数。实验至少重复3次。

1.5 Western blotting 检测 TSA 作用不同时间后 EC1 细胞 p-ERK 和 CAR 的表达

选取 1.0 μmol/L TSA 分别作用 EC1 细胞 1、6、12、24、48 h, Western blotting 检测 p-ERK 和 CAR 表达的变化。1:1 000 稀释 p-ERK、ERK 兔抗人一抗 4 ℃ 过夜,加入相应的山羊抗兔二抗,检测实验条件同上。用 Gel-Doc 图像分析软件检测各条带灰度,各处理组灰度值与 β-actin 灰度值比较,得到目的蛋白的相对值。

1.6 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS10.0 统计软件处理,组间比较采用单因素方差分析,采用 Pearson 法进行双因素相关分析。

2 结果

2.1 TSA 作用增加 EC1 细胞表面 CAR 表达

免疫荧光细胞化学检测结果显示,分别用 0.3、0.5、1.0 μmol/L TSA 作用 EC1 细胞 48 h 后,EC1 细胞膜上均有绿色荧光颗粒,和对照组相比,EC1 细胞表面绿色荧光颗粒明显增加(图 1)。

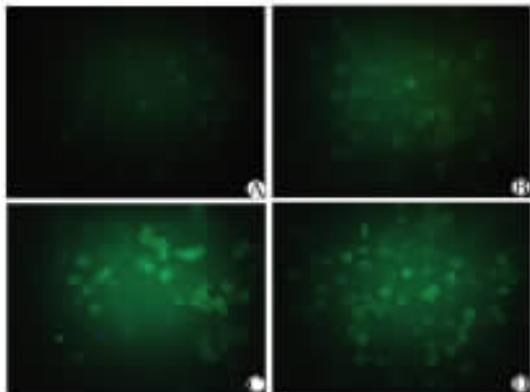


图 1 免疫荧光法检测不同浓度 TSA 作用后 EC1 细胞 CAR 的表达(×400)

Fig.1 CAR expressions on EC1 cells treated with different concentrations of TSA as detected by immunofluorescence staining(×400)

A: Control; B: 0.3 μmol/L TSA;

C: 0.5 μmol/L TSA; D: 1.0 μmol/L TSA

2.2 TSA 作用增加 EC1 细胞 CAR mRNA 表达

RT-PCR 实验结果显示,0.3、0.5、1.0 μmol/L TSA 组 EC1 细胞 CAR mRNA 的表达分别为 0.67 ± 0.03 、 0.77 ± 0.03 、 0.89 ± 0.06 ,和对照组的 $0.47 \pm$

0.03 相比,EC1 细胞 CAR mRNA 的表达水平均显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);并随着 TSA 浓度的增加而增大,呈剂量依赖关系(图 2)。

2.3 TSA 作用增加 EC1 细胞 CAR 蛋白表达

Western blotting 检测结果显示,0.3、0.5、1.0 μmol/L TSA 作用 EC1 细胞 48 h 后,与对照组相比均能增加 CAR 蛋白表达($P < 0.05$, $P < 0.01$),且随着 TSA 浓度增高而增高($P < 0.05$,图 3)。

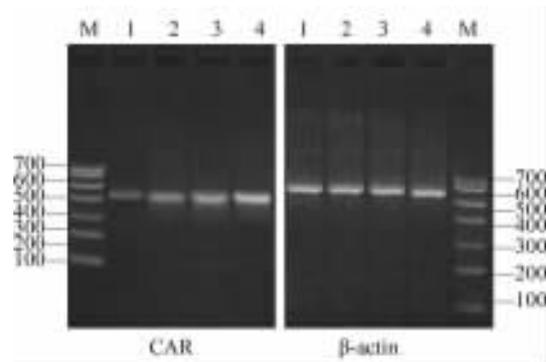


图 2 RT-PCR 检测不同浓度 TSA 作用后 EC1 细胞 CAR mRNA 的表达

Fig. 2 CAR mRNA expressions in EC1 cells treated with different concentrations of TSA as detected by RT-PCR

M: Marker; 1: Control; 2: 0.3 μmol/L TSA; 3: 0.5 μmol/L TSA; 4: 1.0 μmol/L TSA

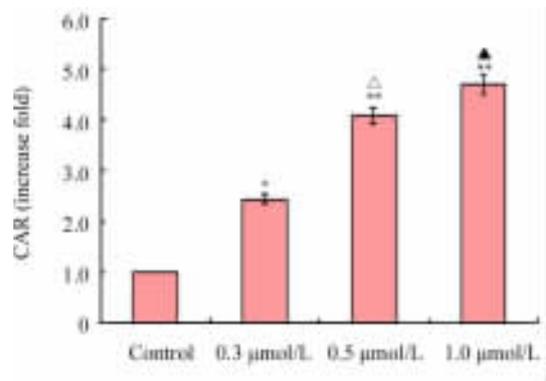


图 3 不同浓度 TSA 作用后 EC1 细胞 CAR 蛋白表达的变化

Fig.3 Changes of CAR protein expressions on EC1 cells treated with different concentrations of TSA

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

Δ $P < 0.05$ vs 0.3 μmol/L TSA, ▲ $P < 0.05$ vs 0.5 μmol/L TSA

2.4 TSA 作用于 EC1 细胞不同时间后 p-ERK 的下调和 CAR 的上调

Western blotting 检测结果显示,1.0 μmol/L TSA 作用于 EC1 细胞 1 h 后 CAR 表达无明显变化,6 h

明显增加,48 h 时达到高峰。检测 p-ERK 表达,对对照组(0 h)EC1 细胞本身有一定的表达,TSA 作用 1 h 后无明显变化,以后随着作用时间的延长,p-ERK 表达水平逐渐下降,48 h 时降至最低($P < 0.05$, 表 1,图 4)。

2.5 TSA 作用于 EC1 细胞不同时间后 p-ERK 和

CAR 表达变化呈负相关

采用 Pearson 法双因素相关性分析显示,1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA 作用于 EC1 细胞引起 CAR 表达水平变化和 p-ERK 变化呈显著负相关($r = -0.886, P < 0.01$)。由此说明,TSA 通过下调 p-ERK 水平上调 EC1 细胞表面 CAR 的表达。

表 1 1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA 作用不同时间后 EC1 细胞 CAR 和 p-ERK 表达量的变化

Tab.1 Changes of CAR and p-ERK expressions in EC1 cells treated with 1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA for different time periods

| Item | Control | 1 h | 6 h | 12 h | 24 h | 48 h |
|-------|-----------------|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| CAR | 0.48 \pm 0.02 | 0.50 \pm 0.03 | 0.70 \pm 0.09* | 0.73 \pm 0.09* | 0.74 \pm 0.02* | 0.94 \pm 0.02** |
| p-ERK | 1.75 \pm 0.08 | 1.81 \pm 0.10 | 1.34 \pm 0.04* | 0.80 \pm 0.05** | 0.61 \pm 0.04** | 0.56 \pm 0.02** |

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

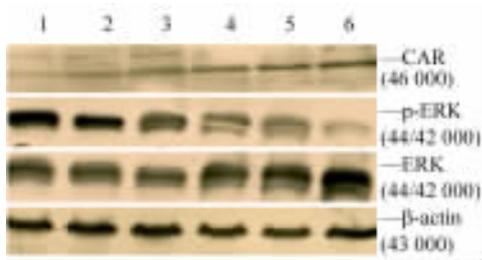


图 4 Western blotting 检测 TSA 作用不同时间后 EC1 细胞 CAR 和 p-ERK 的表达

Fig.4 CAR and p-ERK expressions in EC1 cells treated with TSA at different time points as detected by Western blotting

1: Control; 2: 1 h; 3: 6 h; 4: 12 h; 5: 24 h; 6: 48 h

3 讨论

目前,由 II 和 V 型腺病毒构建的各种腺病毒载体正在广泛应用于基因治疗研究。但研究已证实,腺病毒载体的感染效率受到靶细胞表面 CAR 表达水平的限制,因此,通过各种手段增强肿瘤细胞表面 CAR 的表达成为增加腺病毒感染效率的重要手段^[8-10]。研究^[11-13]表明,HDAC 抑制剂、化疗药物、细胞因子以及 Raf/MEK/ERK 信号通路抑制剂等可以提高部分肿瘤细胞 CAR 的表达。但是,上述这些制剂对肿瘤细胞 CAR 的调节具有细胞株的特异性,某一种制剂可能仅引起部分肿瘤细胞株 CAR 的上调,而对另外一些细胞株则可能不起作用。Watanabe 等^[14]研究证实,用 HDAC 抑制剂 FR901228 可以提高人非小细胞肺癌细胞株 A549 和 H460 细胞

表面 CAR 的表达,由此增加了它们对复制选择性腺病毒的感染率。本研究用另一种 HDAC 抑制剂 TSA 作用于 EC1 细胞,以免疫荧光细胞化学、RT-PCR 及 Western blotting 检测均显示 CAR 表达较对照组明显升高,并且呈现剂量依赖关系,由此证实了 TSA 可增强食管癌细胞株 EC1 细胞表面 CAR 的表达。

目前认为,HDAC 抑制剂提高细胞表面 CAR 表达的机制是由于抑制了 HDAC 的活性,使靶细胞中组蛋白高度乙酰化,通过乙酰化修饰改变了 DNA 链与组蛋白的结合状态,使染色体结构变得疏松,从而通过加强转录因子与 DNA 的结合而增加 CAR 基因的转录^[15-17]。但是,HDAC 抑制剂除具有调控基因转录的功能外,还参与 DNA 复制、修复、染色体组装和细胞周期调控等许多重要生理过程^[18]。HDAC 抑制剂 TSA 究竟通过影响哪一条信号转导途径来提高细胞 CAR 的表达水平,目前尚不很清楚。

Anders 等^[19]研究证实,用有丝分裂原活化蛋白激酶的阻断剂 U0126 和 PD184352 阻断 Raf/MEK/ERK 信号转导通路,p-ERK 水平下降,并检测到结肠癌细胞株 SW480 与 HCT116、胰腺癌 MIA Paca 2 等细胞 CAR 表达的上调,复制选择性腺病毒的溶细胞效应随之显著提高。本研究结果表明,用 1.0 $\mu\text{mol/L}$ TSA 作用于 EC1 细胞 6、12、24、48 h, CAR 表达水平与对照组相比明显增加,同时 p-ERK 水平逐渐下降,两者呈显著负相关。由此可认为,一定浓度的 TSA 可以通过抑制 MAPK/ERK 通路上调 CAR 的表达。Ras/ MAPK 信号通路对细胞分化、增殖、死亡等具有重要的调节作用,它包括了一系列蛋白激酶的级联反应,MEK、MAPK 依次被磷酸化激活,

可影响到转录因子、蛋白激酶的活性。Tatebe 等^[20]研究发现,用 HDAC 抑制剂丙戊酸可以通过抑制 MAPK/ERK 通路上调组蛋白 H3 和 H4 的乙酰化水平,从而改变基因的转录水平。本研究证实了 TSA 可以通过抑制 MAPK/ERK 通路增强 EC1 细胞表面 CAR 的表达,但 ERK 磷酸化水平下降通过细胞核内何种方式来引起 CAR 表达水平的改变有待继续探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Wakayama M, Abei M, Kawashima R, Seo E, Fukuda K, Ugai H, *et al.* E1A, E1B double-restricted adenovirus with RGD-fiber modification exhibits enhanced oncolysis for CAR-deficient biliary cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(10): 3043-3050.
- [2] Han SY, Lee YJ, Jung HI, Lee SW, Lim SJ, Hong SH, *et al.* Gene transfer using liposome-complexed adenovirus seems to overcome limitations due to Coxsackievirus and adenovirus receptor-deficiency of cancer cells, both *in vitro* and *in vivo* [J]. *Exp Mol Med*, 2008, 40(4): 427-434.
- [3] Wang Y, Thorne S, Hannon J, Francis J, Au T, Reid T, *et al.* A novel assay to assess primary human cancer infectibility by replication-selective oncolytic adenoviruses [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(1): 351-360.
- [4] Abdolazimi Y, Mojarrad M, Pedram M, Modarressi MH. Analysis of the expression of Coxsackievirus and adenovirus receptor in five colon cancer cell lines [J]. *World J Gastroenterol*, 2007, 13(47): 6365-6369.
- [5] Sasaki Y, Negishi H, Idogawa M, Suzuki H, Toyota M, Shinomura Y, *et al.* Histone deacetylase inhibitor FK228 enhances adenovirus-mediated p53 family gene therapy in cancer models [J]. *Mol Cancer Ther*, 2008, 7(4): 779-787.
- [6] Sequra-pacheco B, Avalos B, Ranquel E, Velazquez D, Cabrera G. HDAC inhibitor valproic acid upregulates CAR *in vitro* and *in vivo* [J]. *Genet Vaccines Ther*, 2007, 5(10): 1-10.
- [7] Chen Y, Lu Q, Schneeberger EE, Goodenough DA. Restoration of tight junction structure and barrier function by down-regulation of the mitogen-activated protein kinase pathway in ras-transformed Madin-Darby canine kidney cells [J]. *Mol Biol Cell*, 2000, 11(3): 849-862.
- [8] Manabu Y, Asami I, Kenji K, Sakurai F, Mizuguchi H. Expression of Coxsackie and adenovirus receptor reduces the lung metastatic potential of murine tumor cells [J]. *Int J Cancer*, 2007, 121(8): 1690-1696.
- [9] Annders M, Vieth M, Röchen C, Ebert M, Pross M, Gretschel S, *et al.* Loss of the Coxsackie and adenovirus receptor contributes to gastric cancer progression [J]. *Br J Cancer*, 2009, 100(2): 352-359.
- [10] Marchion DC, Bicaku E, Daud AI, Sullivan DM, Munster PN. Valproic acid alters chromatin structure by regulation of chromatin modulation proteins [J]. *Cancer Res*, 2005, 65(9): 3815-3822.
- [11] Bieler A, Mantwill K, Dravits T, Bernshausen A, Glockzin G, Köhler-vergas N, *et al.* Novel three-pronged strategy to enhance cancer cell killing in glioblastoma cell lines: histone deacetylase inhibitor, chemotherapy, and oncolytic adenovirus dl520 [J]. *Hum Gene Ther*, 2006, 17(1): 55-57.
- [12] Zurakowski R, Wodarz D. Model-driven approaches for *in vitro* combination therapy using ONYX-015 replicating oncolytic adenovirus [J]. *Theor Biol*, 2007, 245(1): 1-8.
- [13] Zhang NH, Song LB, Wu XJ, Li RP, Zeng MS, Zhu XF, *et al.* Proteasome inhibitor MG-132 modifies Coxsackie and adenovirus receptor expression in colon cancer cell line Lovo [J]. *Cell Cycle*, 2008, 7(7): 925-933.
- [14] Watanabe T, Hioki M, Fujiwara T, Nishizaki M, Kagawa S, Taki M, *et al.* Histone deacetylase inhibitor FR901228 enhances the antitumor effect of telomerase-specific replication-selective adenoviral agent OBP-301 in human lung cancer cells [J]. *Exp Cell Res*, 2006, 312(3): 256-265.
- [15] Pong RC, Roark R, Ou JY, Fan J, Stanfield J, Frankel E, *et al.* Mechanism of increased Coxsackie and adenovirus receptor gene expression and adenovirus uptake by phytoestrogen and histone deacetylase inhibitor in human bladder cancer cells and the potential clinical application [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(17): 8822-8828.
- [16] Fan S, Maguire CA, Ramirez SH, Bradel-Tretheway B, Sapinoro R, Sui Z, *et al.* Valproic acid enhances gene expression from viral gene transfer vectors [J]. *Viral Methods*, 2005, 125(1): 23-33.
- [17] Ma G, Kawamura K, Li Q, Suzuki N, Liang M, Namba M, *et al.* Cytotoxicity of adenoviruses expressing the wild-type p53 gene to esophageal carcinoma cells is linked with the CAR expression level and indirectly with the endogenous p53 status [J]. *Cancer Gene Ther*, 2009, 16(11): 832-840.
- [18] Boyle GM, Martyn AC, Parsons PG. Histone deacetylase inhibitors and malignant melanoma [J]. *Pigment Cell Res*, 2005, 18(3): 160-166.
- [19] Anders M, Christian C, McMahon M, McCormick F, Korn WM. Inhibition of the Raf/MEK/ERK pathway up-regulates expression of the Coxsackievirus and adenovirus receptor in cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(9): 2088-2095.
- [20] Tatebe H, Shimizu M, Shirakami Y, Sakai H, Yasuda Y, Tsurumi H, *et al.* Acyclic retinoid synergises with valproic acid to inhibit growth in human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Cancer Lett*, 2009, 285(2): 210-217.

[收稿日期] 2009 - 12 - 29

[修回日期] 2010 - 02 - 25

[本文编辑] 王莹