

5-氮杂-2'-脱氧胞苷对胃癌SGC7901细胞增殖的抑制作用研究

曹哲^{1*}, 王贵军², 唐冠杰¹, 郑晓库^{2#} (1. 辽宁医学院, 辽宁锦州 121000; 2. 辽宁医学院附属第一医院胃肠外科, 辽宁锦州 121001)

中图分类号 R965; R979.1 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)13-1176-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.13.09

摘要 目的: 研究5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-CdR)对胃癌SGC7901细胞增殖的抑制作用。方法: 取SGC7901对数生长期细胞, 分别加入0(未给药)、0.1、0.5、1.0、5.0 μmol/L 5-Aza-CdR, 每个浓度设3个复孔, 分别于给药后24、48、60、72 h, 采用MTT法检测细胞增殖情况, 采用蛋白质印迹法和逆转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)法分别检测细胞内组织因子途径抑制物2(TFPI-2)蛋白和mRNA的表达情况。结果: 与未给药比较, 除作用24 h外, 各浓度5-Aza-CdR作用48、60、72 h后SGC7901细胞的增殖活性均明显降低, 细胞内TFPI-2蛋白和mRNA表达均明显增加($P < 0.05$), 且与浓度和时间呈正相关。结论: 5-Aza-CdR可上调SGC7901细胞中TFPI-2基因的表达, 对SGC7901细胞增殖具有抑制作用。

关键词 5-氮杂-2'-脱氧胞苷; 胃癌SGC7901细胞; 组织因子途径抑制物2; 基因表达; 抑制作用

Inhibitory Effects of 5-Aza-CdR on the Proliferation of Gastric Cancer SGC7901 Cell

CAO Zhe¹, WANG Gui-jun², TANG Guan-jie¹, ZHENG Xiao-ku² (1. Liaoning Medical College, Liaoning Jinzhou 121000, China; 2. Dept. of Gastrointestinal Surgery, The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical College, Liaoning Jinzhou 121001, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the inhibitory effects of 5-Aza-2'-deoxycytidine(5-Aza-CdR) on the proliferation of gastric cancer SGC7901 cell. METHODS: SGC7901 cells were treated with 0 (not administered), 0.1, 0.5, 1.0 and 5.0 μmol/L of 5-Aza-CdR with each dose of 3 bores. 24 h, 48 h, 60 h and 72 h after medication, MTT assay was used to detect proliferative activity, and the protein and mRNA expression of tissue factor pathway inhibitor-2 (TFPI-2) in each group were observed by western blot and RT-PCR. RESULTS: Compared with not administered, except for 24 h, the proliferation activity of SGC7901 cells decreased significantly while the protein and mRNA expression of TFPI-2 increased significantly after treated with different concentrations of 5-Aza-CdR for 48 h, 60 h and 72 h ($P < 0.05$), in concentration and time-dependent manner. CONCLUSIONS: 5-Aza-CdR can up-regulate the expression of TFPI-2 gene in SGC7901 cells, and inhibit their proliferation.

KEY WORDS 5-Aza-2'-deoxycytidine; Gastric cancer SGC7901 cell; Tissue factor pathway inhibitor-2; Gene expression; Inhibitory effect

动脉灌注给药作为临床通常使用的介入治疗方法, 在多种肿瘤晚期患者治疗中取得了良好的效果, 减轻了患者痛苦, 改善了患者生活。本文研究了HCPT经大鼠尾静脉和经导管颈动脉给药的药动学特点, 为寻找最佳给药途径、提高临床疗效、降低毒副作用、减轻患者痛苦提供了重要的理论和实验依据。

参考文献

- [1] 龚明涛, 张钧寿, 戴晓鸣. 羟喜树碱纳米乳在大鼠体内的药代动力学研究[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(4): 324.
- [2] Kunii R, Onishi H, Machida Y. Preparation and antitumor characteristics of PLA/(PEG-PPG-PEG) nanoparticles loaded with camptothecin[J]. *Eur J Pharm Biopharm*, 2007, 67(1): 9.
- [3] Souto EB, Wissing SA, Barbosa CM, *et al.* Development of a controlled release formulation based on SLN and NLC for topical clotrimazole delivery[J]. *Int J Pharm*, 2004, 278(1): 71.

- [4] 龚明涛, 张钧寿, 沈益. 羟喜树碱纳米乳的制备及其抗癌作用初步研究[J]. 中国天然药物, 2005, 3(1): 41.
- [5] 李军尧, 唐忠志. 羟喜树碱对人肝癌BEL-7402细胞毒性的评价[J]. 华中科技大学学报: 医学版, 2004, 33(1): 71.
- [6] 宋高平, 江英强, 何平, 等. 白细胞介素-2联合羟喜树碱治疗晚期肝癌53例[J]. 肿瘤研究与临床, 2006, 18(2): 123.
- [7] 王建华. 羟喜树碱联合顺铂腹腔灌注治疗晚期肝癌腹腔积液临床观察[J]. 肿瘤研究与临床, 2006, 18(5): 343.
- [8] 程国华, 鲍辛南. 注射用羟基喜树碱与羟喜树碱注射液稳定性的研究[J]. 中国医院药学杂志, 2003, 23(12): 741.
- [9] 阎昭, 赵国臣, 焦建杰, 等. 注射用纳米羟基喜树碱的药代动力学和组织分布研究[J]. 中国肿瘤临床, 2005, 32(19): 1116.
- [10] 董隽, 郭建新, 平其能, 等. 羟喜树碱脂肪乳的制备及其在人血浆中稳定性考察[J]. 中国新药杂志, 2005, 14(6): 720.
- [11] 黄莉莉, 陈军, 方芸, 等. HPLC法测定兔血浆中羟喜树碱浓度[J]. 中国药事, 2005, 19(3): 178.
- [12] 周卫, 平其能, 王丽杰. 羟喜树碱脂质体的粒径对组织分布的影响[J]. 中国药科大学学报, 2005, 36(1): 125.

(收稿日期: 2012-09-24 修回日期: 2012-11-20)

* 硕士研究生。研究方向: 胃肠道肿瘤。E-mail: cao19850307zhe@163.com

通信作者: 主任医师。研究方向: 胃肠道肿瘤。电话: 0416-4197643。E-mail: zxk69478@163.com

逃避凋亡是恶性肿瘤无限增殖的基础,在这一病理过程中肿瘤抑制基因(Tumor suppressor gene, TSG)的功能失活成为关键。研究^[1]发现, TSG的DNA甲基化是导致其失活的重要因素。5-氮杂-2'-脱氧胞苷(5-Aza-2'-deoxycytidine, 5-Aza-CdR)是一种DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)抑制剂,在细胞内可通过去甲基化作用使多种TSG重新表达。组织因子途径抑制物2(Tissue factor pathway inhibitor-2, TFPI-2)是新近发现的一种丝氨酸蛋白酶抑制物,在肿瘤细胞内可增加促凋亡因子的合成,增强其活性,促使肿瘤细胞凋亡。TFPI-2基因在人体正常组织中呈现出高表达,而在肿瘤组织中则表现为低表达,甚至不表达^[2-4]。本研究用5-Aza-CdR对胃癌SGC7901细胞行药物干预,观察5-Aza-CdR对SGC7901细胞增殖的抑制作用,旨在为胃癌的临床治疗提供试验基础。

1 材料

1.1 仪器

高速台式离心机(江苏中大仪器厂);BB5060型CO₂培养箱(美国Heracus公司);反转录-聚合酶链式反应(RT-PCR)测定仪(德国Eppendorf公司);硝酸纤维素膜电转系统(美国Bio-Rad公司);UVP型凝胶图像分析系统(杭州汇尔仪器设备有限公司);倒置相差显微镜(上海普赫光电科技有限公司);Chemi-genius凝胶成像系统(英国Syngene公司)。

1.2 药品与试剂

5-Aza-CdR(白色粉末, EINECS编号:219-089-4,纯度:≥97%)、MTT(批号:M-2128)均由美国Sigma公司提供;二甲亚砜(DMSO,美国Amresco公司,批号:0231);达尔伯克改良伊格尔(DMEM)培养基、0.25%胰蛋白酶[赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司,批号:NXC0591、NWM0527];胎牛血清(浙江天杭生物科技有限公司,批号:111013);兔抗人TFPI-2抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记鼠抗兔二抗(北京博奥森生物技术有限公司);兔抗人β-肌动蛋白(β-actin,武汉博士德生物工程有限公司);β-actin[宝生物工程(大连)有限公司];1 kb plus DNA ladder分子量计物[天根生化科技(北京)有限公司];新型总RNA抽提试剂(Trizol)、RT-PCR试剂盒(上海江莱生物科技有限公司);MTT溶于0.01 mol/L磷酸盐缓冲液(PBS)中,质量浓度为5 mg/ml,4℃避光保存。

1.3 细胞

胃癌SGC7901细胞株(中国细胞系资源库)。

2 方法

2.1 细胞培养

将SGC7901细胞株接种于含10%胎牛血清的DMEM培养基中,37℃、5%CO₂恒温培养箱中培养,1~2 d更换培养基,当贴壁细胞融合度到80%~90%时传代,细胞进入对数生长期后,开始试验。

2.2 分组与给药

取对数生长期的SGC7901细胞,胰酶消化后1 000 r/min离心10 min,10%胎牛血清的DMEM培养基重悬细胞,制成细胞数为20 000/ml的细胞悬液。取96孔无菌培养板,每孔加入200 μl细胞悬液,分别加入0(未给药)、0.1、0.5、1.0、5.0 μmol/L的5-Aza-CdR进行干预,每个浓度设3个复孔,分别于给药后24、48、60、72 h进行观察。

2.3 5-Aza-CdR对细胞增殖的影响

采用MTT法,取“2.2”项下各浓度细胞,吸去培养基,PBS洗涤2次,每孔加入MTT液20 μl培养4 h,小心吸去每孔内上清液,分别加入150 μl DMSO,放置于摇床上缓慢振摇,在酶联免疫检测仪上570 nm波长处检测吸光度。SGC7901细胞增殖情况以吸光度的平均值计算^[5],吸光度越大,增殖表达越明显。

2.4 细胞内TFPI-2蛋白表达检测

采用蛋白质印迹(Western blot)法,取“2.2”项下各浓度5-Aza-CdR处理后的细胞,室温下裂解细胞,提取蛋白,酚试剂法进行蛋白定量。热变性10 min,每组取60 μg加样,10%的十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶,于电压160 V电泳,稳压转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,5%脱脂奶粉室温封闭1 h,PBS稀释兔抗人TFPI-2抗体(1:500),4℃下孵育过夜,加TBST缓冲液,置于摇床上,缓慢洗膜4次,每次5 min,加HRP标记鼠抗兔二抗(1:2 000)室温孵育2 h,二氨基联苯胺(DAB)显色。用Chemi-genius凝胶成像系统分析扫描胶片,β-actin为内参,以目的条带吸光度值与相应的内参条带吸光度值的比值作为指标进行结果分析^[6]。

2.5 细胞内TFPI-2 mRNA表达检测

采用RT-PCR法,TFPI-2基因的上游引物序列为:5'-ATG-GACCCCGCTCGCCCCCTGGGGCTG-3',下游引物序列为:5'-GTAAATTGCTTCTTCCGAATTTCCG-3',产物大小为708 bp;β-actin作为内参,上游引物序列为5'-GCTCGTCGTC-GACAACGGCT-3',下游引物序列为:5'-CAAACATGATCT-GGGTCATCTTCTC-3',产物大小为353 bp。取“2.2”项下各浓度细胞,Trizol试剂提取细胞总RNA,反转录合成cDNA。PCR反应条件为:95℃预变性5 min,然后95℃变性30 s,56℃退火30 s,72℃延伸1 min,共25个循环,最后72℃延伸5 min。取各组产物,于1.5%琼脂糖凝胶电泳,UVP型凝胶图像分析系统分析结果,以TFPI-2基因与内参的灰度值之比表示TFPI-2基因在SGC7901细胞中的mRNA表达量。

2.6 统计学处理

应用SPSS 17.0软件行统计学分析处理。试验数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析加两两比较 t 检验法分析。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

3 结果

3.1 细胞增殖情况

药物作用24 h时,与未给药比较,各浓度5-Aza-CdR对SGC7901细胞的增殖无明显影响($P>0.05$),故该作用时间不进入后续试验。药物作用48、60、72 h时,与未给药比较,各浓度5-Aza-CdR均明显抑制SGC7901细胞的增殖($P<0.05$)。当药物浓度为1.0、5.0 μmol/L时,作用24 h与72 h比较有显著性差异($P<0.05$),其余组间比较无明显差异($P>0.05$)。具体见表1。

3.2 TFPI-2蛋白的表达情况

与未给药比较,各浓度5-Aza-CdR作用48、60、72 h后细胞内TFPI-2蛋白表达均明显增加($P<0.05$)。与0.1 μmol/L浓度比较,0.5、1.0、5.0 μmol/L 5-Aza-CdR作用48、60、72 h后细胞内TFPI-2蛋白表达均明显增加($P<0.05$);与0.5 μmol/L浓度比较,1.0、5.0 μmol/L 5-Aza-CdR作用48、72 h后细胞内TFPI-2蛋白表达均明显增加($P<0.05$);与1.0 μmol/L浓度比较,5.0 μmol/L 5-Aza-CdR作用72 h后细胞内TFPI-2蛋白表达明显增加($P<0.05$)。与作用48 h比较,0.1 μmol/L 5-Aza-CdR作用72 h和1.0 μmol/L 5-Aza-CdR作用60、72 h后的细胞内TFPI-2

表1 不同浓度5-Aza-CdR对细胞增殖的影响(吸光度, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 1 Effects of different concentrations of 5-Aza-CdR on proliferation of cells (absorbance, $\bar{x} \pm s$, $n=3$)

5-Aza-CdR 浓度, $\mu\text{mol/L}$	作用时间, h			
	24	48	60	72
0	0.368 ± 0.044	0.458 ± 0.052	0.513 ± 0.030	0.582 ± 0.044
0.1	0.343 ± 0.043	0.358 ± 0.036*	0.391 ± 0.038*	0.431 ± 0.049*
0.5	0.323 ± 0.028	0.362 ± 0.027*	0.382 ± 0.037*	0.404 ± 0.056*
1.0	0.320 ± 0.030	0.321 ± 0.051*	0.363 ± 0.033*	0.397 ± 0.034**
5.0	0.275 ± 0.052	0.269 ± 0.060*	0.324 ± 0.025*	0.379 ± 0.038**

与未给药比较: * $P<0.05$; 与作用24 h比较: # $P<0.05$

vs. not administered; * $P<0.05$; vs. treated for 24 h: # $P<0.05$

蛋白表达明显降低($P<0.05$); 与作用60 h比较, 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 5-Aza-CdR作用72 h后细胞内TFPI-2蛋白表达明显增加($P<0.05$)。电泳图见图1, 具体结果见表2。

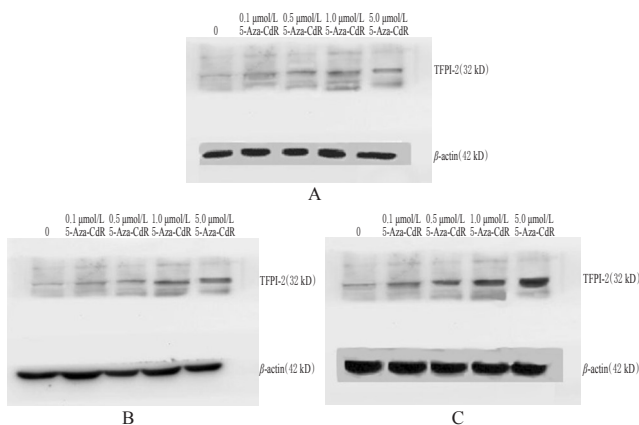


图1 不同浓度5-Aza-CdR作用后细胞内TFPI-2蛋白表达的电泳图

A.作用48 h; B.作用60 h; C.作用72 h

Fig 1 Electrophoretogram of the protein expression of TFPI-2 in cells treated with different concentrations of 5-Aza-CdR

A. treated for 48 h; B. treated for 60 h; C. treated for 72 h

表2 不同浓度5-Aza-CdR作用后细胞内TFPI-2蛋白的表达量($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 2 The protein expression of TFPI-2 in cells treated with different concentrations of 5-Aza-CdR ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

5-Aza-CdR 浓度, $\mu\text{mol/L}$	TFPI-2/ β -actin(吸光度比值)		
	48 h	60 h	72 h
0	0.032 ± 0.011	0.048 ± 0.009	0.025 ± 0.009
0.1	0.078 ± 0.011*	0.069 ± 0.008*	0.056 ± 0.006**
0.5	0.184 ± 0.021**	0.167 ± 0.004**	0.090 ± 0.009*** [▲]
1.0	0.286 ± 0.017** [△]	0.175 ± 0.018***	0.196 ± 0.037** [△] [◇]
5.0	0.267 ± 0.040** [△]	0.229 ± 0.043**	0.286 ± 0.031** [△] [◇]

与未给药比较: * $P<0.05$; 与0.1 $\mu\text{mol/L}$ 比较: # $P<0.05$; 与0.5 $\mu\text{mol/L}$ 比较: [△] $P<0.05$; 与1.0 $\mu\text{mol/L}$ 比较: [◇] $P<0.05$; 与作用48 h比较: * $P<0.05$; 与作用60 h比较: [▲] $P<0.05$

vs. not administered; * $P<0.05$; vs. 0.1 $\mu\text{mol/L}$ group: # $P<0.05$;

vs. 0.5 $\mu\text{mol/L}$ group: [△] $P<0.05$; vs. 1.0 $\mu\text{mol/L}$ group: [◇] $P<0.05$; vs.

treated for 48 h: * $P<0.05$; vs. treated for 60 h: [▲] $P<0.05$

3.3 TFPI-2 mRNA的表达情况

与未给药比较, 各浓度5-Aza-CdR作用48、60、72 h后细

胞内TFPI-2 mRNA表达均明显增加($P<0.05$)。与0.1 $\mu\text{mol/L}$ 浓度比较, 除0.5 $\mu\text{mol/L}$ 5-Aza-CdR作用48 h外, 其余各浓度作用48、60、72 h后细胞内TFPI-2 mRNA表达均明显增加($P<0.05$); 与0.5 $\mu\text{mol/L}$ 浓度比较, 1.0、5.0 $\mu\text{mol/L}$ 5-Aza-CdR作用48、60、72 h后细胞内TFPI-2 mRNA表达均明显增加($P<0.05$); 与1.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度比较, 5.0 $\mu\text{mol/L}$ 5-Aza-CdR作用48、60、72 h后细胞内TFPI-2 mRNA表达均明显增加($P<0.05$)。与作用48 h比较, 0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 5-Aza-CdR作用60 h和0.1、0.5、1.0、5.0 $\mu\text{mol/L}$ 5-Aza-CdR作用72 h后细胞内TFPI-2 mRNA表达明显增加($P<0.05$); 与作用60 h比较, 0.1、0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 5-Aza-CdR作用72 h后细胞内TFPI-2 mRNA表达明显增加($P<0.05$)。电泳图见图2, 具体结果见表3。

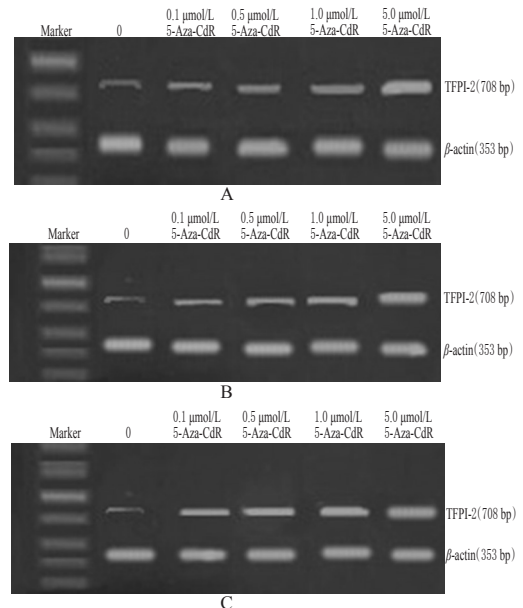


图2 不同浓度5-Aza-CdR作用后细胞内TFPI-2 mRNA表达的电泳图

A.作用48 h; B.作用60 h; C.作用72 h

Fig 2 Electrophoretogram of the mRNA expression of TFPI-2 in cells treated with different concentrations of 5-Aza-CdR

A. treated for 48 h; B. treated for 60 h; C. treated for 72 h

表3 不同浓度5-Aza-CdR作用后细胞内TFPI-2 mRNA表达量($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Tab 3 The mRNA expression of TFPI-2 in cells treated with different concentrations of 5-Aza-CdR ($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

5-Aza-CdR 浓度, $\mu\text{mol/L}$	TFPI-2/ β -actin(灰度比值)		
	48 h	60 h	72 h
0	0.139 ± 0.008	0.136 ± 0.002	0.133 ± 0.005
0.1	0.270 ± 0.035*	0.332 ± 0.019*	0.535 ± 0.030** [▲]
0.5	0.328 ± 0.022*	0.417 ± 0.007** [△]	0.624 ± 0.041** [△] [◇]
1.0	0.435 ± 0.024** [△]	0.557 ± 0.017** [△] [◇]	0.747 ± 0.031** [△] [◇]
5.0	0.775 ± 0.065** [△] [◇]	0.861 ± 0.037** [△] [◇]	0.952 ± 0.054** [△] [◇]

与未给药比较: * $P<0.05$; 与0.1 $\mu\text{mol/L}$ 比较: # $P<0.05$; 与0.5 $\mu\text{mol/L}$ 比较: [△] $P<0.05$; 与1.0 $\mu\text{mol/L}$ 比较: [◇] $P<0.05$; 与作用48 h比较: * $P<0.05$; 与60 h组比较: [▲] $P<0.05$

vs. not administered; * $P<0.05$; vs. 0.1 $\mu\text{mol/L}$ group: # $P<0.05$;

vs. 0.5 $\mu\text{mol/L}$ group: [△] $P<0.05$; vs. 1.0 $\mu\text{mol/L}$ group: [◇] $P<0.05$; vs.

treated for 48 h: * $P<0.05$; vs. treated for 60 h: [▲] $P<0.05$

4 讨论

细胞凋亡(Apoptosis, Apo)是细胞内促凋亡因子和抑制凋亡因子相互作用的一种复杂的病理过程,在机体的整个生命进程中发挥着重要作用。在机体正常细胞中复制增殖和凋亡处于相对平衡状态,而在肿瘤细胞中该平衡状态被破坏,体现在肿瘤细胞的复制增殖能力增强、凋亡受到抑制,尤其以后者为主。

TFPI-2基因定位于人类7号染色体7q22,全长约7 kb。其mRNA启动因子具有典型的管家基因特征,在基因转录起始区域含有CpG岛结构。在多种肿瘤细胞中,可通过TFPI-2基因启动子的甲基化而使其在肿瘤细胞中的表达下降^[7]。相关研究^[8]显示,用TFPI-2基因的正义表达载体转染人高度恶性胶质瘤细胞株SNB-19后,SNB-19细胞内的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Caspase-3)、Caspase-7和bax凋亡蛋白等促凋亡因子的表达增加,活性增强;而用TFPI-2基因的反义表达载体转染人低度恶性胶质瘤细胞株Hs683后,Hs683细胞内的Caspase-3、Caspase-7和bax凋亡蛋白等促凋亡因子的表达下降,而Bcl-2蛋白增加。说明TFPI-2基因具有促进促凋亡因子合成作用,可促使肿瘤细胞发生凋亡。此外,TFPI-2基因还可以通过抑制基质金属蛋白酶(MMP)和多种组织蛋白酶,维持细胞外基质(ECM)的结构完整性和抑制血管的重塑^[9],起到降低肿瘤细胞的侵袭和转移的作用。通过对喉鳞癌细胞^[10]的研究表明,TFPI-2通过抑制ECM的降解可以使其癌细胞的侵袭和转移能力下降。

5-Aza-CdR在肿瘤细胞内可以使含有超甲基化CpG岛结构的TSG基因去甲基化,恢复其活性^[11]。本研究采用不同药物浓度的5-Aza-CdR对SGC7901细胞进行干预,结果显示,随着5-Aza-CdR药物浓度的增加,SGC7901细胞的增殖明显受到抑制;随着药物浓度的增加和时间的延长,SGC7901细胞中TFPI-2基因的表达量增加。Bender CM等^[12]在相同的药物浓度下用5-Aza-CdR分别干预恶性肿瘤细胞和正常纤维细胞,发现对肿瘤细胞增殖的抑制作用明显,而对正常纤维细胞增殖的抑制作用不明显。因此推测,5-Aza-CdR对SGC7901细胞增殖的抑制作用不是通过药物的毒性作用实现的,可能是因为使SGC7901细胞中的TFPI-2基因重新表达,从而促进了SGC7901细胞的凋亡。

胃癌的发生与TSG的DNA甲基化密切相关,Koul S等^[13]认为,TSG的超甲基化可能导致了对铂类化疗药物的耐药作用。因此,5-Aza-CdR可能会降低因TSG的甲基化而产生的对铂类化疗药物耐药的影响,值得进一步研究。

参考文献

[1] Lund AH, van Lohuizen M. Epigenetics and cancer[J]. *Genes Dev*, 2004, 18(19): 2 315.

[2] Takada H, Wakabayashi N, Dohi O, *et al*. Tissue factor pathway inhibitor 2 (TFPI 2) is frequently silenced by aberrant promoter hypermethylation in gastric cancer[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 197(1): 16.

[3] Glockner SC, Dhir M, Yi JM, *et al*. Methylation of TFPI 2 in stool DNA: a potential novel biomarker for the detection of colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 2009, 69(11): 4 691.

[4] Tsunoda S, Smith E, de Young NJ, *et al*. Methylation of CLDN6, FBN2, RBP1, RBP4, TFPI2, and TMEFF2 in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2009, 21(4): 1 067.

[5] 沈文静,戴冬秋,滕玥,等.5-Aza-CdR调控胃癌细胞系RASSF1A基因表达及对细胞生长的抑制作用[J]. *中华胃肠外科杂志*, 2009, 12(1): 57.

[6] 杨青,罗俊生,关宁,等.罗格列酮对人单核巨噬细胞THP-1中胆固醇代谢的影响机制研究[J]. *中国药房*, 2012, 23(17): 1 565.

[7] Miyagi Y, Koshikawa N, Yasumitsu H, *et al*. cDNA cloning and mRNA expression of a serine proteinase inhibitor secreted by cancer cells: identification as placental protein 5 and tissue factor pathway inhibitor-2[J]. *J Biochem*, 1994, 116(5): 939.

[8] Tasiou A, Konduri SD, Yanamandra N, *et al*. A novel role of tissue factor pathway inhibitor-2 in apoptosis of malignant human gliomas[J]. *Int J Oncol*, 2001, 19(3): 591.

[9] Gessler F, Voss V, Selfert V, *et al*. Knockdown of TFPI-2 promotes migration and invasion of glioma cells[J]. *Neurosci Lett*, 2011, 497(1): 49.

[10] 张慧燕,刘鸣,孙亚男,等.组织途径抑制因子-2基因重组腺病毒载体的构建及其抑制喉鳞癌侵袭的研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2009, 19(18): 2 741.

[11] Paz MF, Fraga MF, Avila S, *et al*. A systematic profile of DNA methylation in human cancer cell lines[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(5): 1 114.

[12] Bender CM, Pao MM, Jones PA. Inhibition of DNA methylation by 5-aza-2'-deoxycytidine suppresses the growth of human tumor cell lines[J]. *Cancer Res*, 1998, 58(1): 95.

[13] Koul S, McKiernan JM, Narayan G, *et al*. Role of promoter hypermethylation in cisplatin treatment response of male germ cell tumors[J]. *Mol Cancer*, 2004(3): 16.

(收稿日期:2012-11-26 修回日期:2013-01-06)

《中国药房》杂志——《中国科学引文数据库》(CSCD)来源期刊,欢迎投稿、订阅