

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.010

· 基础研究 ·

基于药物表达谱模式筛选结肠癌候选治疗药物

王纯忠¹, 杨邵宇¹, 肖慧莲¹, 刘丽娜², 王桂平²(1. 广州市第一人民医院 普通外科, 广东 广州 510380; 2. 广州医科大学 卫生职业技术学院 系统生物与肿瘤研究中心, 广东 广州 510180)

[摘要] **目的:** 药物表达谱是发现药物新用途的重要模式, 本项目探讨药物表达谱模式在结肠癌候选药物筛选中的应用价值。**方法:** 首先, 从PubMed的GEO数据库中获取结肠癌表达谱数据集(No. GSE41258), 从美国Memorial Sloan-Kettering癌症中心筛选出53对配对的结肠癌与癌旁正常组织样本数据, 采用RMAexpress软件进行质量分析; 然后, 采用Dchip软件建立结肠癌特征性表达谱; 最后通过Connectivity Map(CMAP)进行结肠癌候选化合物的筛选和实验验证。**结果:** 经芯片质量分析, 选择36对配对样本进行后续分析; 构建了一个由371个基因组成的结肠癌特征性表达谱, 其中上调基因94个, 下调基因277个; 通过CMAP分析, 筛选到vorinostat、tanespimycin(17-AAG)等10种候选药物, 选择其中一种富集分数较高的药物17-AAG进行验证; 后续实验证实17-AAG可有效抑制结肠癌SW480和HT29株细胞的增殖, 其作用24和48 h时, SW480细胞的 IC_{50} 分别为0.73和0.41 $\mu\text{mol/L}$; 而HT29细胞的 IC_{50} 分别为0.72和0.50 $\mu\text{mol/L}$ 。流式术分析显示, 17-AAG可使结肠癌细胞阻滞于G1期。**结论:** 本项目基于药物表达谱模式筛选到多种结肠癌候选药物, 揭示药物表达谱模式在药物发现中具有重要意义。

[关键词] 基因表达谱; 结肠癌; Connectivity Map; 候选治疗药物

[中图分类号] R735.3⁺8; R965.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2016)02-0212-06

Screening of candidate therapeutic compounds for colon cancer based on a pattern of gene expression profiles

WANG Chunzhong¹, YANG Shaoyu¹, XIAO Huilian¹, LIU Lina², WANG Guiping²(1. Department of General Surgery, the First People's Hospital of Guangzhou City, Guangzhou 510380, Guangdong, China; 2. Center of System Biology and Cancer Research, Health College, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510180, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** Gene expression profile is an important pattern to discover new uses of the existing drugs. Application value of the gene expression profile in screening of candidate drugs for colon cancer was discussed. **Methods:** First of all, data set of gene expression profile for colon cancer (No. GSE41258) was obtained from GEO data bank of PubMed. Fifty-three paired data of colon cancer and colonic mucosal tissues were selected from Memorial Sloan-Kettering Cancer Center of the United States, and their qualities analyzed with RMA express software. Then a gene expression profile for characteristics of colon cancer was established with Dchip software. Finally candidate compounds for therapy of colon cancer were screened by Connectivity Map (CMAP) and confirmed by experiments. **Results:** Thirty-six paired samples were selected through analysis of microarray chips for further research. A gene expression profile for characteristics of colon cancer was composed of 371 genes which include 94 up-regulation genes and 277 down-regulation genes. With analysis of CMAP, 10 candidate compounds, including vorinostat, tanespimycin (17-AAG) etc, were screened out, in which 17-AAG with high enrichment scores was selected for the validation. By the following experiments, it was confirmed that 17-AAG can effectively inhibit proliferation of colon cancer SW480 and HT29 cell lines. After treatment of 17-AAG for 24 and 48h, the IC_{50} values of SW480 cell line were 0.73 $\mu\text{mol/L}$ and 0.41 $\mu\text{mol/L}$ respectively, while the IC_{50} values of HT29 cell line was 0.72 $\mu\text{mol/L}$ and 0.5 $\mu\text{mol/L}$ respectively. Analysis of flow cytometry assay showed that 17-AAG

[基金项目] 广东省中医药局建设中医药强省项目(No. 20121001)。Project supported by the Program of Building Strong Traditional Chinese Medicine, Bureau of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Province (No. 20121001)

[作者简介] 王纯忠(1966-), 男, 湖南省衡阳市人, 博士, 主任医师, 主要从事胃肠道肿瘤的诊断和治疗, E-mail: wcz1hospital@163.com

[通信作者] 王桂平(Wang Guiping, corresponding author), E-mail: docgpwang@163.com

could block cell cycle of the colon cancer cells at G1 phase. **Conclusion:** Multiple candidate therapeutic compounds for colon cancer were identified based on a pattern of gene expression profiles. A pattern of gene expression profiles might be of an important significance in screening of candidate drugs.

[**Key words**] gene expression profiles; colon cancer; Connectivity Map(CMAP); candidate therapeutic drug

[Chin J Cancer Biother, 2016, 23(2): 212-217. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2016.02.010]

结肠癌(colon cancer)是人类常见的恶性肿瘤,在西方发达国家的发病率居恶性肿瘤第二位。在我国,结肠癌的发病率呈逐渐上升之势,已跃居为恶性肿瘤发病率的第三至五位。结肠癌发病隐匿,早期诊断困难,多数患者在初诊时已出现局部淋巴或血道转移^[1-2]。虽然肿瘤治疗技术有迅猛发展,但结肠癌的临床疗效不尽理想,5年生存率始终徘徊在50%左右^[3]。因此,通过新的途径,发现新的高效低毒治疗药物或化疗增效剂,对改善结肠癌的治疗具有重要意义。

通常一个药物的开发要花费约50亿美元、耗时10~20年,并且有近九成的药物在研发中“流产”。近年来,系统生物及生物信息学获得快速发展,为药物的研发提供新的途径和方式。现已诞生 Iconix' Drug Matrix、Gene Logic's Bio Express 及 Connectivity Map(CMAP)等多个用于药物筛选的数据库平台,其中以 CMAP 数据库应用最广^[4-5]。CMAP 数据库是一种基于基因表达谱的药物发现新模式,主要通过计算生物学和系统生物学的策略进行药物筛选。近期,已有较多学者利用该策略成功筛选到前列腺癌、胃癌、白血病及肺癌等多种肿瘤治疗候选药物或化合物,极大地加速药物的研发过程^[6-9]。本项目拟通过基于基因表达谱的药物发现模式,筛选和发现结肠癌治疗候选药物或化合物,为结肠癌临床治疗提供新的手段,以改善结肠癌的预后。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

坦螺旋霉素(tanespimycin ,17-AAG)购自 Sigma 公司,用二甲基亚砜(DMSO)溶解,配制1 mmol/L 母液备用。CCK8 试剂盒购自广州安邦生物科技有限公司,细胞周期检测试剂盒(KGA511)购自凯基生物科技股份有限公司, Triton X-100、RNase A 酶及 Propidium Iodide(PI)均购自 Sigma 公司。人结肠癌细胞 SW480 和 HT29 株由本实验室保存,采用 RPMI 1640 培养基,置于37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。

1.2 GEO 数据集的获取

首先,从 PubMed 的 GEO 数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>)获取结肠癌基因表达谱数据集

(No: GSE41258)。该数据集采用 Affy 公司的 GPL96 芯片平台,含390个基因表达谱数据。纳入研究的生物样本来源于美国 Memorial Sloan-Kettering 癌症中心的结肠癌患者(1992 - 2004 年),样本包括原发结肠癌、肝或肺转移癌及相应配对的正常结肠黏膜组织。删除各类转移癌、未配对样本等数据,获得53个配对的结肠癌与正常结肠组织样本数据,纳入本项目初步研究。

1.3 Dchip 筛选结肠癌差异表达基因

哈佛大学开发的 Dchip 软件分析包(www.dchip.org)可基于 Windows 平台的综合性芯片分析软件进行差异基因、层次聚类芯片数据分析。具体差异表达基因分析按 Dchip 操作指南进行(<http://www.chenglilab.net/software.html>),采用2样本 *t* 检验方法筛选差异基因,最终选择2倍差异的基因作为差异表达基因。同时,筛选出差异上调基因和下调基因,建立结肠癌特征性表达谱。

1.4 CMAP 筛选结肠癌候选治疗药物

用 Connectivity Map(CMAP, build 02)数据库平台筛选结肠癌治疗候选药物,该平台含有7 000个表达谱数据,涉及1 309种化合物,可发现具有相似作用的药物,并提示药物作用机制及从现有药物中筛选到疾病治疗的药物。其药物发现原理为:比对疾病表达谱与药物表达谱数据,用非参数 Kolmogorov-Smirnov 统计学方法排列,获得负分值的药物表示可以改善某一疾病或对该疾病有一定的治疗价值。将上述获得的上调或下调差异基因分别输入 CMAP 进行药物筛选分析。CMAP 候选药物筛选标准:检出次数>4次、*P*<0.01 和化合物名称明确。

1.5 细胞增殖抑制实验

用 CCK-8 试剂盒检测 17-AAG 对结肠癌细胞的增殖抑制作用。取对数生长期 SW480 或 HT29 细胞(5×10^5 /L),接种于96孔板(200 μ l/孔),边缘孔用无菌 PBS 填充,置37℃、5% CO₂ 培养箱培养24 h。随机分6组,即 DMSO 组和不同浓度 17-AAG 组(0.1、0.2、0.4、0.8 和 1.6 μ mol/L),每组3个复孔。药物处理24或48 h后,每孔加入20 μ l CCK8 试剂,37℃孵育1 h,用酶标仪(450 nm 波长)测定各孔光密度(*D*)值,实验重复3次。以空白组 *D* 值调零,计

算细胞生长抑制率(IR), 肿瘤细胞 IR(%) = (对照组 D 值 - 实验组 D 值) / 对照组 D 值 $\times 100\%$ 。

1.6 流式细胞术检测细胞周期

取 2 ml 对数生长期结肠癌细胞接种于 6 孔板($1 \times 10^6/\text{ml}$), 置 37°C 、 5% CO_2 培养箱培养 12 h。实验设药物组($1 \mu\text{mol/L}$ 17-AAG)和 DMSO 对照组(含 0.1% DMSO 的 RPMI 1640 培养基), 培养 48 h 后, 用 0.25% 胰蛋白酶消化细胞, 离心收集细胞悬液, 用预冷 PBS 洗涤 2 次, 加入预冷 70% 乙醇, 于 4°C 固定过夜。用 $500 \mu\text{l}$ PBS 重悬细胞, 加入 $5 \mu\text{l}$ RNase A 酶(10 mg/ml) 37°C 消化 1 h。然后, 加入含 20% Triton X-100 的碘化丙啶(PI, 5 mg/ml) 染色, 4°C 避光孵育 30 min, 用流式细胞仪以标准程序检测, 结果用细胞周期拟和软件 ModFit 分析。

1.7 统计学处理

用 SPSS17.0 统计软件分析数据, 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用方差分析, 独立样本比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 芯片数据预处理

本研究选择 53 对配对样本, 采用 RMAexpress 软件进行质量分析, 质量合格的芯片经归一化后才进行后续的数据分析, 归一化结果如图 1。采用基因表达谱数据集 GSE41258, 删除偏差大的一些样本数据, 最后获得 72 个样本, 包括 36 个结肠癌样本和 36 个正常结肠组织样本。

2.2 差异基因分析与基因表达谱构建

用 Dchip 软件包分析 GSE41258 数据集 72 个合格芯片样本的差异基因, 获得 371 个差异基因, 其中上调基因 94 个、下调基因 277 个。然后, 按 C-MAP 数据操作指南, 建立结肠癌基因表达谱搜索文件。

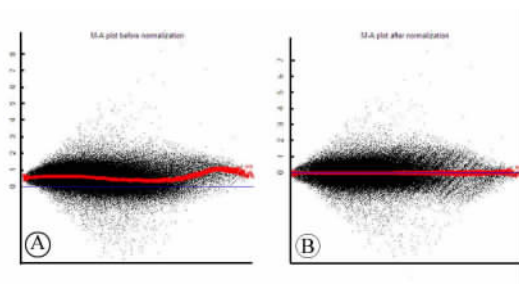


图 1 芯片数据 M-A 散点图

Fig. 1 M-A plots of microarrays

A: Data without treatment of normalization;

B: Data with treatment of normalization

2.3 CMAP 筛选出的候选药物

分析 CMAP 以获得可以逆转或改善结肠癌基因表达谱的候选药物。用上述 371 个基因(94 个上调基因, 277 个下调基因) 建立结肠癌基因表达谱。以此特征性基因表达谱输入 CMAP 数据库, 进行药物筛选分析。删除检出次数 < 4 次、 $P > 0.01$ 和尚未命名或还在研究中的候选物, 获得 10 个抗结肠癌候选化合物或药物。它们主要包括 HDAC 抑制剂伏立诺他(vorinostat)、银胶菊内酯(parthenolide)和丁酸苯酯(phenylbutyrate), 热激 90 抑制剂坦螺旋霉素(tanespimycin)和阿螺旋霉素(alvespimycin), PKC 抑制剂十字孢碱(staurosporine), 有丝分裂抑制剂 monastrol, 血管生成抑制剂 醉茄素 A(withaferin A), 抗菌素黏杆菌素(colistin)及非类固醇消炎止痛药甲灭酸(mefenamic acid)等 7 类药物(表 1)。上述候选药物负性富集分数较高, 可较好地逆转结肠癌表达谱, 提示这些药物可能成为治疗结肠癌候选药物。同时, 对筛选到的候选药物进行文献分析, 发现所有的候选药物均已进行肿瘤相关研究, 大部分药物属于肿瘤治疗领域的研究热点, 并且均显示有抗结肠癌作用(表 2), 提示本研究抗癌药物筛选策略是可行的。

2.4 17-AAG 抑制结肠癌细胞增殖

在筛选到的候选药物中, 17-AAG 的检出次数最多且负性富集分数较高(表 1, 图 2)。目前有关 17-AAG 结肠癌研究的数据较少, 为进一步验证本研究的发现及探讨 17-AAG 在结肠癌治疗中应用价值, 用 CCK-8 试剂盒评价 17-AAG 对结肠癌 SW480 或 HT29 细胞的生长抑制作用, 发现 17-AAG 对结肠癌 SW480 和 HT29 细胞均有明显抑制作用, 且抑制作用随剂量升高显著增强, 具有一定剂量和时间依赖性(图 3); 并且 17-AAG 对 2 株结肠癌细胞株作用 48 h 的 IC_{50} 比作用 24 h 显著降低($P < 0.05$)。

2.5 17-AAG 对结肠癌细胞周期影响

用流式细胞术检测 17-AAG($1 \mu\text{mol/L}$) 对结肠癌 SW480 或 HT29 细胞的细胞周期影响, 发现与 DMSO 对照相比, 17-AAG 可使结肠癌细胞 G1 期细胞比例升高, 特别是结肠癌 SW480 细胞阻滞明显, G1 期细胞由 67.98% 提高至 86.66% (图 4A), 在 HT29 细胞中也观察到类似现象(图 4B), 提示 17-AAG 可阻滞结肠癌细胞 G1 期进展至 S 期。

表 1 CMAP 筛选的抗结肠癌候选药物
Tab. 1 Candidate therapeutic compounds for colon cancer screened by CMAP

No.	Candidate compound	Detection time	Score of enrichment	P	Drug category
1	Vorinostat	12	-0.704	0	HDAC inhibitor
2	17-AAG	62	-0.366	0	HSP90 inhibitor
3	Alvespimycin	12	-0.594	0.0002	HSP90 inhibitor
4	Monastrol	8	-0.635	0.0013	Mitosis inhibitor
5	Parthenolide	4	-0.822	0.00189	HDAC inhibitor
6	Withaferin A	4	-0.788	0.00408	Angiogenesis inhibitor
7	Phenylbutyrate	7	-0.617	0.00443	HDAC inhibitor
8	Staurosporine	4	-0.752	0.00768	PKC inhibitor
9	Mefenamic acid	5	-0.678	0.00805	Non-steroid anti-inflammat org drug
10	Colistin	4	-0.739	0.00901	Antibacterial agent

表 2 PubMed 数据库中候选药物在肿瘤领域研究状况
Tab. 2 Research situation of candidate therapeutic compounds in cancer field found from PubMed databank

No.	Candidate drug	Num 1	Num 2
1	Vorinostat	46	1168
2	17-AAG	23	526
3	Alvespimycin	8	138
4	Monastrol	4	55
5	Parthenolide	18	264
6	Withaferin A	4	169
7	Phenylbutyrate	22	327
8	Staurosporine	124	2277
9	Mefenamic acid	5	45
10	Colistin	1	113

Num1: Number of literatures releted with colon cancer in PubMed databank; Num2: Number of literatures releted with cancers in PubMed databank

3 讨 论

新药研发的道路已经变得越来越艰难,大多数药物在开发过程中均以失败告终,例如有 5 000 个化合物进入临床前实验,其中仅有 5 个能进入临床阶段,最多有 1 个能够上市^[10]。因此,新药开发是一个既耗时又耗钱的过程。CMAP 是一个基于基因表达谱的药物发现平台,它揭示疾病、药物、基因之

间的联系,在发现老药的新用途方面具有重要应用价值^[5]。基于基因表达谱发现药物模式极大缩短药物研发时间,加速药物开发进程;同时节约药物开发成本,变革传统的药物开发模式^[7-9]。本研究采用 CMAP 药物筛选平台,获得 10 种结肠癌治疗候选药物,主要包括 HDAC 抑制剂、热激 90 抑制剂、PKC 抑制剂、有丝分裂抑制剂和血管生成抑制剂等 7 类药物。在筛选到的候选药物中,所有的药物均已被报道对包括结肠癌在内的多种人类肿瘤具有抗肿瘤活性,并且有些药物例如十字孢碱、伏立诺他等,已成为结肠癌治疗领域的研究热点,提示本研究构建的基于表达谱模式筛选抗结肠癌候选药物是可行的。此外,本研究还筛选到 monastrol、醉茄素 A、黏杆菌素和甲灭酸等 4 种药物,目前它们在结肠癌治疗中的研究极少,因此,本研究为结肠癌的治疗提供多种新的候选药物。

组蛋白去乙酰酶(histone deacetylase,HDAC)抑制剂是一类新型的抗肿瘤药物,已成为肿瘤靶向治疗研究新热点,已证实它对肿瘤细胞迁移、侵袭、转移的抑制作用和抗肿瘤血管生成作用^[11]。HDAC 抑制剂能有效抑制结肠癌、肺癌、卵巢癌、骨髓瘤等实体瘤细胞的增殖,对白血病和淋巴瘤等血液系统的恶性肿瘤也有治疗作用^[12-14]。有趣的是,本研究筛选到伏立诺他、银胶菊内酯和丁酸苯酯等三种 HDAC 抑制剂,文献^[15-16]报道它们均具有良好的抗结肠癌作用,其中伏立诺他和银胶菊内酯在相关肿瘤已进入临床研究阶段,进一步说明本研究的方法是可行的。

Rank	CMAP name	Dose	Cell	Score	Up	Down
5258	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.412	-0.056	0.116
5272	tanespimycin	1 μmol/L	PC3	-0.417	-0.072	0.103
5319	tanespimycin	1 μmol/L	PC3	-0.43	-0.076	0.105
5368	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.452	-0.067	0.122
5537	tanespimycin	1 μmol/L	PC3	-0.499	-0.117	0.092
5570	tanespimycin	1 μmol/L	PC3	-0.508	-0.086	0.127
5634	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.528	-0.138	0.083
5666	tanespimycin	1 μmol/L	PC3	-0.538	-0.102	0.123
5755	tanespimycin	1 μmol/L	PC3	-0.573	-0.137	0.103
5869	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.623	-0.067	0.194
5879	tanespimycin	1 μmol/L	PC3	-0.628	-0.121	0.142
5885	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.631	-0.096	0.168
5888	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.632	-0.073	0.192
5894	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.634	-0.065	0.2
5925	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.65	-0.101	0.171
5937	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.657	-0.097	0.178
5946	tanespimycin	1 μmol/L	HL60	-0.66	-0.174	0.103
5962	tanespimycin	1 μmol/L	HL60	-0.668	-0.171	0.109
5964	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.67	-0.077	0.203
5982	tanespimycin	1 μmol/L	HL60	-0.685	-0.11	0.177
5988	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.697	-0.097	0.195
5995	tanespimycin	1 μmol/L	ssMCF7	-0.701	-0.119	0.174
5999	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.704	-0.089	0.206
6015	tanespimycin	1 μmol/L	HL60	-0.713	-0.107	0.192
6021	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.717	-0.116	0.185
6027	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.721	-0.098	0.204
6030	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.724	-0.091	0.212
6048	tanespimycin	1 μmol/L	HL60	-0.746	-0.093	0.219
6058	tanespimycin	1 μmol/L	MCF7	-0.756	-0.107	0.21
6081	tanespimycin	1 μmol/L	HL60	-0.806	-0.12	0.218
6086	tanespimycin	0 nmol/L	MCF7	-0.826	-0.166	0.181

图2 17-AAG 在 CMAP 中的富集结果

Fig.2 Enrichment results of 17-AAG in CMAP

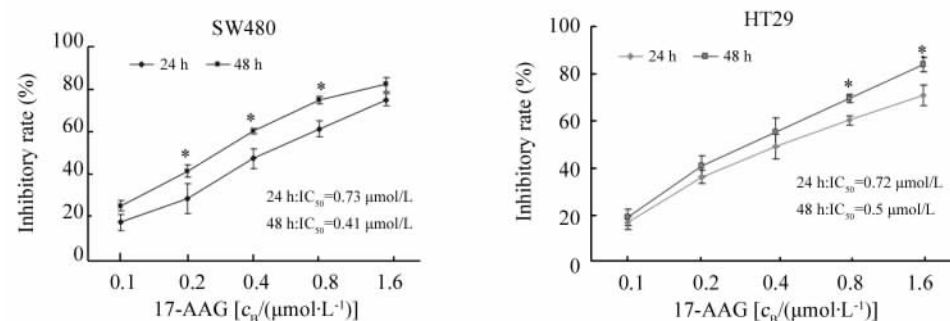


图3 17-AAG 对 SW480 和 HT29 细胞的抑制作用(CCK-8 法)

Fig. 3 Inhibitory effect of 17-AAG on proliferation of SW480 or HT29 cells detected by CCK-8 assay

* $P < 0.05$ vs treatment of 24 h

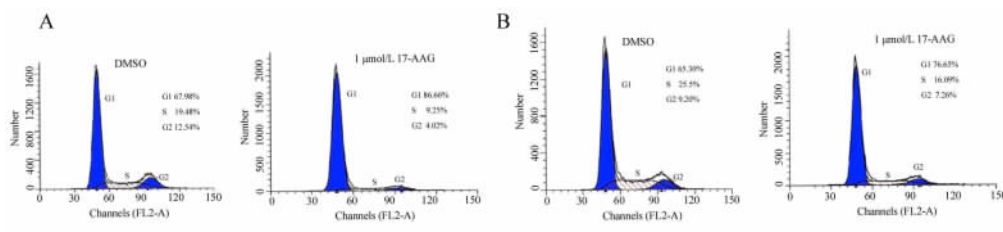


图4 流式细胞术检测 17-AAG 对结肠癌 SW480(A)和 HT29(B)细胞周期的影响

Fig.4 Effect of 17-AAG on cell cycle of colon cancer cells SW480 (A) and HT29(B)detected by flow cytometry assay

HSP90 是一种新的抗肿瘤靶点, HSP90 抑制剂可使效应蛋白降解, 抑制肿瘤生长, 因此, HSP90 抑制剂也成为一类新型抗肿瘤制剂^[17]。本研究筛选到 2 种 HSP90 抑制剂 17-AAG 和阿螺旋霉素, 它们的负性富集分数均较高, 提示其对结肠癌有较好治疗价值(图 2)。17-AAG 是格尔德霉素衍生物, 也是

第一个进入临床试验的 HSP90 抑制剂。本研究初步证实, 17-AAG 对结肠癌细胞具有较好的体外抑制效应(图 3), 17-AAG 作用 24 和 48 h 时, SW480 细胞的 IC_{50} 分别为 0.73 和 0.41 $\mu\text{mol/L}$; 而 HT29 细胞的 IC_{50} 分别为 0.72 和 0.5 $\mu\text{mol/L}$ 。

细胞周期失控也是肿瘤发生和进展的重要原因。

HSP90 是多种细胞周期调控蛋白的分子伴侣,这些蛋白涉及 G0 至 G1 和 G2 至 M 细胞周期控制点,针对不同细胞,HSP90 的抑制可导致细胞周期阻滞于 G1 或 G2 ~ M 期。如 17-AAG 通过诱导 HER2 和雄激素受体降解等途径,导致前列腺癌细胞产生 G1 期阻滞^[18]。而 17-AAG 通过下调 cyclin B1 和 P53 表达,诱导霍奇金淋巴瘤细胞产生 G2 ~ M 期^[19]。本研究发现 17-AAG 可阻滞结肠癌 SW480 和 HT29 细胞 G1 期进展(图 4),但其作用机制尚需进一步研究。

综上所述,本研究建立的基于基因表达谱筛选药物模式寻找肿瘤治疗候选药物是可行的,发现了多种结肠癌治疗候选药物,其中 HDAC 抑制剂和热休克 90 抑制剂可能对结肠癌治疗具有重要价值。17-AAG 可诱导多种效应蛋白降解,从而阻断肿瘤生长、转移信号通路中的多个靶点,是一类具有开发前景的抗肿瘤药物。本项目仅从体外细胞水平初步证实其具有抑制结肠癌细胞生长的效应,其抗结肠癌机制和体内抗结肠癌效果等问题,均需要作更多的实验加以证实。

[参 考 文 献]

- [1] 李连娣, 饶克勤, 张思维, 等. 中国 12 市县 1993 年 - 1997 年肿瘤发病和死亡登记资料统计分析 [J]. 中国肿瘤, 2002, 11 (9): 497-507. DOI: 10.3969/j.issn.1004-0242.2002.09.001.
- [2] TAKAYAMA T, MIYANISHI K, HAYASHI T, et al. Colorectal cancer: genetics of development and metastasis [J]. Gastroenterol, 2006, 41(3): 185-192. DOI: 10.1007/s00535-006-1801-6.
- [3] 郑树. 我国大肠癌防治研究的挑战与机遇 [J]. 浙江大学学报, 2004, 33(5): 375-378. DOI:10.3785/j.issn.1008-9292.2004.05.001.
- [4] MURRAY J A, KHANIMK F L, HAYDEN R E, et al. Combined bezafibrate and medroxyprogesterone acetate have efficacy without haematological toxicity in elderly and relapsed acute myeloid leukaemia (AML) [J]. Br J Haematol, 2010, 149(1): 65-69. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.08055.x.
- [5] LAMB J, CRAWFORD E D, PECK D, et al. The Connectivity Map: using gene-expression signatures to connect small molecules, genes, and disease [J]. Science, 2006, 313(5795): 1929-1935. DOI: 10.1126/science.1132939.
- [6] ZHAO H, ZHU C, QIN C, et al. Fenofibrate down-regulates the expressions of androgen receptor (AR) and AR target genes and induces oxidative stress in the prostate cancer cell line LNCaP [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 432(2): 320-325. DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.01.105.
- [7] CLAERHOUT S, LIM J Y, CHOI W, et al. Gene expression signature analysis identifies vorinostat as a candidate therapy for gastric cancer [J/OL]. PLoS ONE, 2011, 6: e24662 [2016-02-01]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0024662>. DOI: 10.1371/journal.pone.0024662.
- [8] HASSANE D C, GUZMAN M L, CORBETT C, et al. Discovery of agents that eradicate leukemia stem cells using an in silico screen of public gene expression data [J]. Blood, 2008, 111 (12): 5654-5662. DOI: 10.1182/blood-2007-11-126003.
- [9] DE PRETER K, DE BROUWER S, VAN MAERKEN T, et al. Meta-mining of neuroblastoma and neuroblast gene expression profiles reveals candidate therapeutic compounds [J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(11): 3690-3696. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2699.
- [10] ZERBINI L F, BHASIN M K, DE VASCONCELLOS J F, et al. Computational repositioning and preclinical validation of pentamidine for renal cell cancer [J]. Mol Cancer Ther, 2014, 13(7): 1929-1941. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0750.
- [11] GOLABEK K, STRZELCZYK J K, WICZKOWSKI A, et al. Potential use of histone deacetylase inhibitors in cancer therapy [J]. Contemp Oncol, 2015, 19(6): 436-440. DOI: 10.5114/wo.2015.51824.
- [12] TURTOI A, PEIXOTO P, CASTRONOVO V, et al. Histone deacetylases and cancer-associated angiogenesis: current understanding of the biology and clinical perspectives [J]. Crit Rev Oncog, 2015, 20(1/2): 119-137. DOI: 10.1615/critrevoncog.2014012423.
- [13] ARRIGHETTI N, CORNO C, GATTI L. Drug combinations with HDAC inhibitors in antitumor therapy [J]. Crit Rev Oncog, 2015, 20 (1/2): 83-117. DOI: 10.1615/critrevoncog.2014012378.
- [14] LAKSHMAIAH K C, JACOB L A, APARNA S, et al. Epigenetic therapy of cancer with histone deacetylase inhibitors [J]. J Cancer Res Ther, 2014, 10(3): 469-478. DOI: 10.4103/0973-1482.137937.
- [15] REE A H, DUELAND S, FOLKVORD S, et al. Vorinostat, a histone deacetylase inhibitor, combined with pelvic palliative radiotherapy for gastrointestinal carcinoma: the pelvic radiation and vorinostat (PRAVO) phase 1 study [J]. Lancet Oncol, 2010, 11 (5): 459-464. DOI: 10.1016/S1470-2045(10) 70058-9.
- [16] CURRY E A, MURRY D J, YODER C, et al. Phase I dose escalation trial of feverfew with standardized doses of parthenolide in patients with cancer [J]. Invest New Drugs, 2004, 22(3): 299-305. DOI: 10.1023/b:drug.0000026256.38560.
- [17] CULLINAN S B, WITSELL L. Heat shock protein 90: a unique chemotherapeutic target [J]. Semin Oncol, 2006, 33(4): 457-465. DOI: 10.1053/j.seminoncol.2006.04.001.
- [18] PROIA D A, KAUFMANN G F. Targeting heat-shock protein 90 (HSP90) as a complementary strategy to immune checkpoint blockade for cancer therapy [J]. Cancer Immunol Res, 2015, 3 (6): 583-589. DOI: 10.1158/2326-6066.cir-15-0057.
- [19] OKAMOTO J, MIKAMI I, TOMINAGA Y, et al. Inhibition of Hsp90 leads to cell cycle arrest and apoptosis in human malignant pleural mesothelioma [J]. J Thoracic Oncol, 2008, 3(10): 1089-1095. DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181839693.

[收稿日期] 2016 - 02 - 03

[修回日期] 2016 - 03 - 10

[本文编辑] 宋关鸿