



DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.02.002

<http://www.gjbl.net/gjblx/fileup/PDF/20130298.pdf>

热休克蛋白 70 反义脱氧寡核苷酸对宫颈癌 HeLa 细胞生长和凋亡及化学治疗敏感性的影响

刘春梅¹, 丁依玲²

(1. 河南省宁陵县人民医院妇产科, 河南 宁陵 476700; 2. 中南大学湘雅二医院妇产科, 长沙 410011)

[摘要] 目的: 探讨反义脱氧寡核苷酸封闭 HSP70 基因对体外宫颈癌 HeLa 细胞增殖、凋亡及化疗敏感性的影响。方法: 1) 将体外培养的宫颈癌 HeLa 细胞分为正常对照组 (Ctrl 组)、反义寡核苷酸处理组 (AS 组)、正义寡核苷酸处理组 (S 组)、随机寡核苷酸处理组 (R 组), 每组各 5 例, 分别转染体外培养的宫颈癌 HeLa 细胞, 采用 Western 免疫印迹检测各组细胞 HSP70 蛋白表达。2) 将顺铂处理体外培养的宫颈癌 HeLa 细胞分为正常对照组 (Ctrl 组)、单纯顺铂处理组 (Cis 组)、反义寡核苷酸 + 顺铂处理组 (AS + Cis 组)、正义寡核苷酸 + 顺铂处理组 (S + Cis 组)、随机寡核苷酸 + 顺铂处理组 (R + Cis 组), 每组各 8 例。采用四甲基偶氮唑蓝光吸收法 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 法检测 HeLa 细胞的生长抑制率; 流式细胞术检测 HeLa 细胞的凋亡率。结果: 1) Ctrl 组、AS 组、S 组、R 组 HSP70 灰度比值分别为 1.365 ± 0.187 , 0.379 ± 0.134 , 1.403 ± 0.163 和 1.410 ± 0.158 , 转染 AS 组 HSP70 灰度比值明显下降 ($P < 0.01$); 2) AS + Cis 组生长抑制率和凋亡率明显高于其它各组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), S + Cis 组和 R + Cis 组细胞生长抑制率和凋亡率与 Cis 组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论: HSP70 反义脱氧寡核苷酸通过下调 HeLa 细胞中 HSP70 蛋白表达, 抑制细胞增殖并诱导细胞凋亡。HSP70 反义脱氧寡核苷酸与顺铂联合具有协同作用, 能提高细胞对顺铂化学治疗的敏感性。

[关键词] 热休克蛋白 70; 反义寡核苷酸; 宫颈癌; HeLa 细胞; 增殖; 凋亡; 化学治疗敏感性

Effect of heat shock protein 70 antisense oligodeoxynucleotides on growth, apoptosis and chemosensitivity for human cervical cancer HeLa cells

LIU Chunmei¹, DING Yiling²

(1. Department of Gynecology and Obstetrics, People's Hospital, Ningling Henan 476700;

2. Department of Gynecology and Obstetrics, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, China)

收稿日期 (Date of reception): 2012-08-28

作者简介 (Biography): 刘春梅, 硕士, 主治医师, 主要从事宫颈癌和不孕不育症的临床研究。

通信作者 (Corresponding author): 丁依玲, Email: dylcsu@yahoo.com.cn

Abstract **Objective:** To explore the effect of heat shock protein 70 (HSP70) antisense oligodeoxynucleotides on proliferation, apoptosis and chemosensitivity for HeLa cells induced by cisplatin. **Methods:** 1) HeLa cells were transfected by antisense, sense or random oligonucleotides. The cells were divided into a control group (Ctrl group, $n=5$), a antisense oligodeoxynucleotides treatment group (AS group, $n=5$), a sense oligodeoxynucleotides treatment group (S group, $n=5$) and a random oligonucleotides treatment group (R group, $n=5$). The expression of heat shock proteins 70 (HSP70) in the cells from each group was detected. 2) The HeLa cells were treated by cisplatin and were divided into a control group (control group, $n=8$), a cisplatin treatment group (Cis group, $n=8$), a antisense oligodeoxynucleotides + cisplatin treatment group (AS + Cis group, $n=8$), a sense oligodeoxynucleotides + cisplatin treatment group (S + Cis group, $n=8$) and a random oligonucleotides + cisplatin treatment group (R + Cis group, $n=8$). The growth inhibitory rate of HeLa cells was determined by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. The apoptosis rate was detected by flow cytometry (FCM). **Results:** 1) The optical density of HSP70 band in the Ctrl group, the AS group, the S group, and the R group were (1.365 ± 0.187) , (0.379 ± 0.134) , (1.403 ± 0.163) and (1.410 ± 0.158) , respectively, which was significantly decreased in the AS group ($P < 0.01$). 2) Compared with the control group, the growth inhibitory rate and the apoptosis rate of HeLa cells were significantly increased only in AS+Cis group ($P < 0.05$). **Conclusion:** HSP70 antisense oligodeoxynucleotides can effectively inhibit the proliferation of HeLa cells and induce its apoptosis through down-regulation of HSP70 expression. HSP70 antisense oligodeoxynucleotides can increase the chemosensitivity of tumor to cisplatin treatment.

Key words heat shock proteins 70; antisense oligodeoxynucleotides; cervical carcinoma; HeLa cells; proliferation; apoptosis; chemosensitivity

宫颈癌是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤, 每年全球新增宫颈癌病例约49万多例, 其中80%在发展中国家^[1-2]。近年来我国宫颈癌的发病率呈增高趋势, 且宫颈腺癌比例增加, 发病明显趋于年轻化^[3]。宫颈腺癌易早期发生淋巴结转移, 对治疗的敏感性差, 对化学治疗容易产生耐药, 故而治疗难度加大, 预后差。寻找一种科学、可行的途径来增强放射治疗、化学治疗疗效已成为宫颈癌治疗领域研究的热点问题。

热休克蛋白(heat shock proteins, HSPs)又名应激蛋白, 各种应激刺激可诱导其快速高表达, 具有维持细胞蛋白稳定、对抗有害应激、保护细胞生存等功能, 其中最重要和最保守的一类是HSP70家族^[4-5]。研究发现HSP70在人类肿瘤细胞和培养的肿瘤细胞系中均优先大量表达, 在宫颈癌和Ⅲ级宫颈上皮内瘤样病变(cervical intra-epithelial neoplasia, CIN)组织中HSP70的表达显著高于正常宫颈组织^[6], 而且其表达水平与肿瘤的发生、转移、耐药、预后等密切相关^[7]。本研究采用反义脱氧寡核苷酸技术合成HSP70反义脱氧核糖核酸序列, 以脂质体为载体进行包裹后转染人宫颈癌HeLa细胞株, 观察转染后HSP70蛋白的表达情况, 及对顺铂诱导的HeLa细胞的增殖及凋亡的影响, 进一步了解 HSP70 在宫颈癌发生、发展过程中的

作用, 及对肿瘤化学治疗敏感性的影响, 为临床宫颈癌基因治疗提供理论基础和体外实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人宫颈癌HeLa细胞株购自中南大学湘雅医学院细胞中心。顺铂购自美国Sigma公司, 反义等寡核苷酸探针购自上海博亚生物技术公司, 鼠抗HSP70单克隆抗体购自美国Stressgen公司, 兔抗 β -actin和Tubulin多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司, 辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase, HRP)标记的羊抗鼠、羊抗兔IgG购自武汉博士德公司。Lipofectamine™ 2000转染试剂盒购自美国Invitrogen公司, DAB显色试剂盒购自武汉博士德生命技术公司。

1.2 方法

1.2.1 HSP70 反义寡核苷酸的设计

依据王慷慨等^[8]的报道设计HSP70反义核酸序列, 并同时设计相应的正义和随机核酸序列(表1), 正义寡核苷酸序列来自于人HSP70基因mRNA序列(BC002453)。所有核酸序列均由上海博雅生物技术有限公司加以合成。所有三条

寡核苷酸碱基全部进行硫代修饰,并在反义核酸序列5'端加上荧光标记物,以便观察其导入细胞情况。

1.2.2 细胞培养及分组

HeLa 细胞用含10%小牛血清、100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 链霉素、100 U/mL氨苄青霉素的DMEM培养基调整为 $1 \times 10^6/\text{mL}$ 后接种于细胞培养瓶,24 h后用于实验。将培养的HeLa细胞随机分为四组:1)正常对照组(Ctrl组),细胞中加入2 mL无血清DMEM培养基,置于37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱中培养6 h后,再加入等体积的含20%小牛血清的DMEM培养基,培养24或48 h;2)正义寡核苷酸处理组(S组),细胞

中加入2 mL含脂质体包裹的正义寡核苷酸,无血清DMEM培养基,6 h后加入等体积的含20%小牛血清的DMEM培养基,培养24或48 h;3)反义寡核苷酸处理组(AS组),细胞中加入2 mL含脂质体包裹的反义寡核苷酸,其余处理同2);4)随机寡核苷酸处理组(R组),细胞中加入2 mL含脂质体包裹的随机寡核苷酸,其余处理同2)。随后加入终浓度为8 mmol/L顺铂处理12 h,分为五组:正常对照组(Ctrl组)、单纯顺铂处理组(Cis组)、反义寡核苷酸+顺铂处理组(AS+Cis组)、正义寡核苷酸+顺铂处理组(S+Cis组)、随机寡核苷酸+顺铂处理组(R+Cis组)。

表1 HSP70反义寡核苷酸与其相应正义与随机寡核苷酸序列

Table 1 Sequence of HSP70 antisense and its sense and random oligonucleotides

名称	碱基序列	修饰
反义寡核苷酸	5'-X-CTC CGC TGC TGC CGC AGA CGC CAT-3'	硫代修饰
正义寡核苷酸	5'-ATG GCG TCT GCG GCA GCA GCG GAG-3'	硫代修饰
随机寡核苷酸	5'-TCG CTG CCA GCA TGC CGA CCG TCC-3'	硫代修饰

X: 绿色荧光

1.2.3 脂质体转染

根据生命技术公司提供的转染操作说明书进行。用0.25 mL不含血清及抗生素(下同)的DMEM培养基溶解8 μg 合成的寡核苷酸,并将其与0.25 mL含15 μL 脂质体的DMEM培养基充分混匀,室温放置20 min。细胞用DMEM培养基洗涤3遍后,加入1.5 mL DMEM培养基,然后加入上述寡核苷酸与脂质体的混合物,37 $^{\circ}\text{C}$,5%的 CO_2 培养箱中培养,6 h后置于荧光显微镜下观察,确认全细胞有荧光发出后拍照记录,再加入2 mL含20%小牛血清的DMEM培养基,于24 h后收集细胞,进行后续实验。

1.2.4 Western 免疫印迹检测 HSP70 蛋白表达

分别收集转染后的各组细胞,用预冷的PBS洗涤,加入蛋白裂解液,提取总蛋白,采用Bradford法测定蛋白质浓度。制备好的蛋白样品置-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。每泳道以30 μg 蛋白上样,经SDS-PAGE电泳后,电转膜至硝酸纤维素膜。封闭3 h后加入一抗,室温孵育1 h,加入HRP标记的二抗孵育30 min,DAB显色,拍摄照片,记录实验结果。同时检测 β -actin或Tubulin作为内对照。用Bandleader软件对Western免疫印迹条带进行灰度扫描,按下述公式计算蛋白的相对含量:蛋白相对含量=(该蛋白条带的灰度值-背景的灰度值)/(上

样对照条带的灰度值-背景的灰度值)。

1.2.5 MTT 法检测细胞生长抑制率

将对数生长期的HeLa细胞制备成单细胞悬液,以每孔 1×10^4 密度接种于96孔培养板内,在含10%新生小牛血清的条件下培养24 h,分别转染反义、正义及随机寡核苷酸2 $\mu\text{g}/\text{孔}$,于24及48 h向每孔中加入5 mg/mL MTT溶液20 μL ,继续培养4 h,弃去孔内培养液,每孔加入二甲基亚砷100 μL ,于37 $^{\circ}\text{C}$ 振荡10 min,使紫色的甲胺结晶完全溶解,将96孔板放入酶标仪,测量570 nm处吸光值。统计分析以正常对照组光密度值为1,其余各组分别与之相比后再计算均数与标准差。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡率

本实验由北京鼎国生物技术公司协助完成。在转染反义寡核苷酸等24 h后,刮下细胞并收集于10 mL离心管中,1000 r/min常温下离心8 min,弃上清,预冷PBS洗涤2次,离心去PBS;用预冷的80%乙醇重悬并固定细胞,离心去固定液;预冷的PBS液重悬细胞,加50 $\mu\text{g}/\text{L}$ 碘丙啶、20 $\mu\text{g}/\text{L}$ RNA酶、1 mg/L枸橼酸钠、1% Triton X-100,避光孵育,上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.3 统计学处理

采用“简明医学统计学处理系统1.0”软件进

行统计学分析。数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间比较用 t 检验, 多组间比较用单因素方差分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 反义寡核苷酸对 HeLa 细胞中 HSP70 蛋白表达的影响

在同一激发光下, 仅用脂质体转染组细胞没有任何荧光, 而导入脂质体包裹的反义寡核苷酸

组细胞可见明显的绿色荧光, 弥散分布于细胞浆和细胞核(图1)。转染24 h后, 检测HSP70蛋白的表达显示: 正常对照组、AS组、S组、R组HSP70灰度比值分别为 1.365 ± 0.187 , 0.379 ± 0.134 , 1.403 ± 0.163 和 1.410 ± 0.158 , 反义寡核苷酸显著抑制了HSP70的表达, 可使其表达水平下调约75%($P<0.01$), 而正义与随机寡核苷酸则对HSP70的表达无明显影响, S组与R组条带灰度值与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P>0.05$; 图2)。

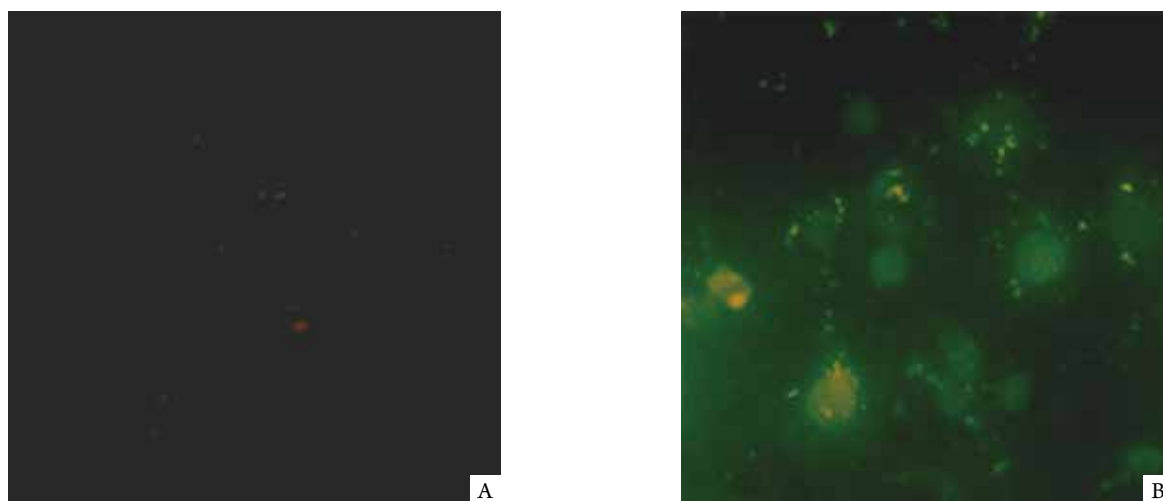


图1 用荧光显微镜检测HeLa细胞摄取HSP70反义寡核苷酸($\times 200$)。A: 正常对照组; B: AS组。

Figure 1 Uptake of HSP70 antisense oligonucleotides by HeLa cells under fluorescent microscope ($\times 200$). A: Normal control group; B: AS group.

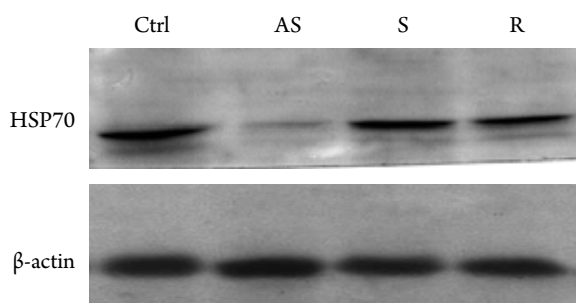


图2 Western免疫印迹检测反义寡核苷酸对HSP70蛋白表达的影响。Ctrl: 正常对照组; AS, S, R: 分别为转染反义、正义及随机寡核苷酸组。

Figure 2 Western blot shows the effects of antisense oligonucleotides on the expression of HSP70 protein in HeLa cells. Ctrl: Normal control group; AS, S, R: HeLa cell groups transfected with antisense, sense, and random oligonucleotides of HSP70, respectively.

2.2 HSP70 表达下调对顺铂诱导 HeLa 细胞生长抑制的影响

Cis组: 以未行任何处理的HeLa细胞的增殖活力为100%, 顺铂处理12 h后, HeLa细胞的增殖能力下降了18%, 为 $82.3\pm 5.6\%$ ($P<0.05$); AS+Cis组: 在HSP70反义寡核苷酸处理24 h后, 再加入顺铂处理12 h, 此时HeLa细胞生长即受到了显著的抑制, 增殖能力在单纯顺铂处理的基础上又下降了约20%, 为 $62.8\pm 3.2\%$, 仅相当于正常生长HeLa细胞增殖能力的60%, 与Cis组和Ctrl组比较, 差异具有统计学意义($P<0.01$)。S+Cis组, R+Cis组: 采用HSP70正义寡核苷酸和随机寡核苷酸处理24 h后, 再加入顺铂处理12 h, 此时HeLa细胞增殖能力与Cis组基本相当, 差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.3 HSP70 反义寡核苷酸对顺铂诱导 HeLa 细胞凋亡的影响

正常对照组 HeLa 细胞凋亡核百分率为 4.3%, Cis 组细胞凋亡核百分率为 14.9%, 两者相比具有统计学意义 ($P < 0.05$)。AS+Cis 组 HeLa 细胞凋亡核百分率为 24.6%, S+Cis 组细胞凋亡核百分率

为 16.6%, 两者相比具有统计学意义 ($P < 0.05$), AS+Cis 组与 Cis 组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.05$), 与正常对照组相比差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。S+Cis 组、R+Cis 组与 Cis 组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$; 图 3)。

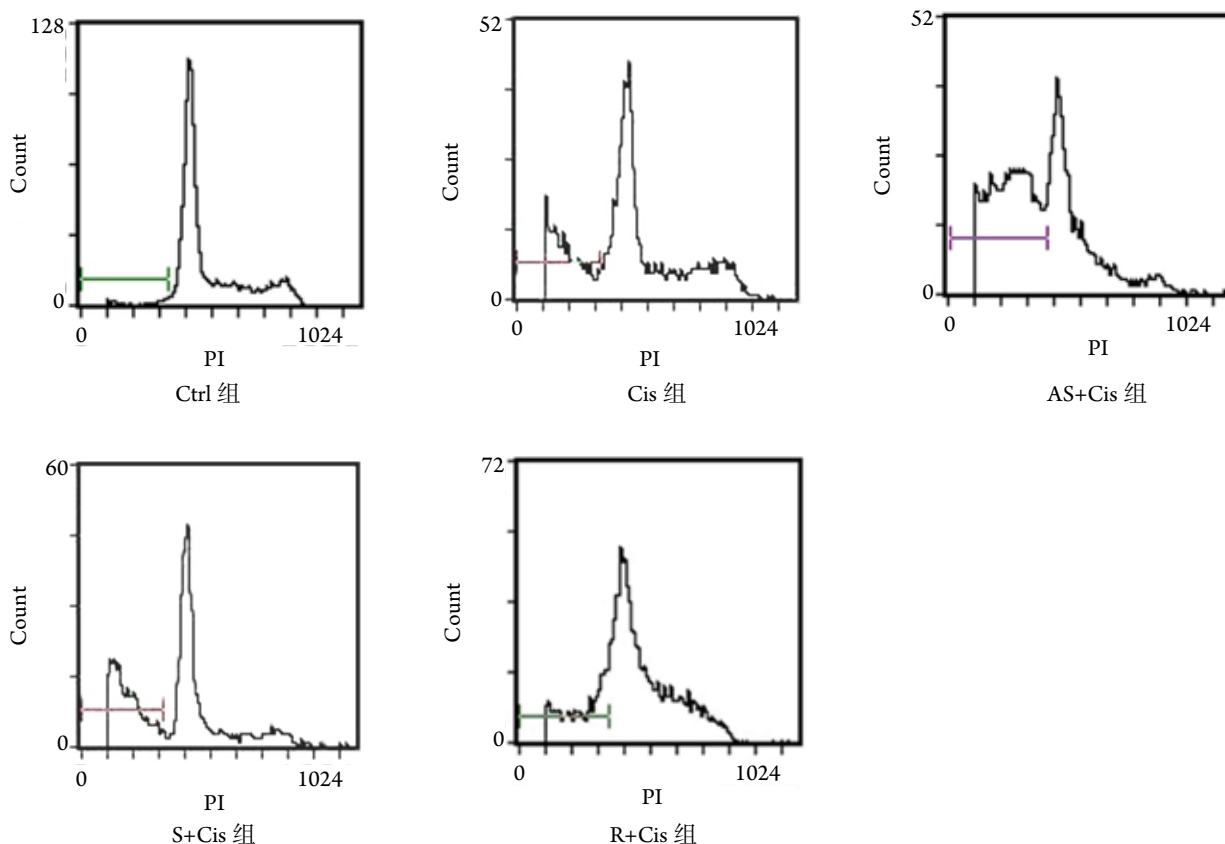


图3 流式细胞术检测HSP70反义寡核苷酸对顺铂诱导HeLa细胞凋亡的影响。Ctrl: 正常细胞组; Cis: 单纯顺铂处理组; AS+Cis: HSP70反义寡核苷酸+顺铂处理组; S+Cis: 正义寡核苷酸+顺铂处理组; R+Cis: 随机寡核苷酸+顺铂处理组。

Figure 3 FCM assay shows the effect of antisense oligonucleotides of HSP70 on apoptosis of HeLa cells inhibition-mediated by cisplatin. Ctrl: Normal control group; Cis: Cisplatin treatment group; AS+Cis: Antisense oligodeoxynucleotides + cisplatin treatment group; S+Cis: Sense oligodeoxynucleotides + cisplatin treatment group; R+Cis: Random oligodeoxynucleotides + cisplatin treatment group.

3 讨论

HSPs之所以被称作热休克蛋白,是因为它们首先在处于高温环境的细胞中被发现,但是后来研究证实它们的合成受很多因素的影响,感染、氧自由基、缺血、中毒以及恶变等状况下均可诱导细胞表达HSPs。在肿瘤形成过程中,肿瘤细胞不断增殖,合成代谢增强,产生大量的异常蛋白,这些变性或不正常的蛋白质的存在刺激 HSPs

大量合成,使其呈现持续的高诱导表达^[9]。HSP70的高表达能与多种原癌基因相互作用,与癌基因产物结合形成 HSP70-癌蛋白复合物,介导癌蛋白构象成熟及转运,维持癌蛋白结构与功能的完整。宫颈癌既是女性最常见恶性肿瘤之一,同时又是HSP70高表达的肿瘤。大量研究表明:HSP70在宫颈癌和宫颈原位癌组织中的表达比其在癌旁组织及正常组织中的表达显著增多,与细胞的转化和恶变过程密切相关^[10-11]。

反义寡核苷酸技术即反义DNA技术,就是用一段人工合成的能与RNA或DNA互补结合的特异寡核苷酸,使其专一性地抑制基因的表达。反义寡核苷酸技术作用原理有二:一方面设计合成脱氧寡核苷酸,掺入基因组特异区域形成三股螺旋DNA(triplex DNA)、D环(D loop)或对转录因子的套圈作用,从而在复制或转录水平上抑制或封闭靶基因的表达;另一方面反义寡核苷酸能与mRNA形成DNA-RNA双链结构激活细胞内固有的核糖核酸酶H(Rnase H),特异降解杂交体中的mRNA从而十分有效地阻滞mRNA的翻译^[12]。1978年Zameenik首次将反义技术应用于抑制病毒基因表达研究并获得成功,此后随着研究的进展,反义技术日趋成熟,反义脱氧寡核苷酸作为一种治疗药物用于抗肿瘤治疗,是目前最有可能应用于临床的基因疗法。福米韦生(fomivirsen)通过美国FDA批准为第一个进入市场的反义脱氧寡核苷酸类药物^[13]。

本实验将人工合成的HSP70反义脱氧寡核苷酸以脂质体为介导转染宫颈癌HeLa细胞,应用Western免疫印迹及免疫荧光技术检测,结果显示HSP70蛋白的表达呈显著下调。这表明HSP70反义脱氧寡核苷酸进入细胞后作用于靶基因,能特异性地抑制宫颈癌HeLa细胞HSP70的表达。

在确认HSP70反义脱氧寡核苷酸之有效性后,本实验将HSP70反义脱氧寡核苷酸对细胞增殖活性的影响进行了检测,发现HSP70反义寡核苷酸能明显促进顺铂诱导的HeLa细胞增殖抑制作用,而HSP70正义及随机寡核苷酸则没有影响。进一步采用流式细胞术检测了HeLa细胞凋亡情况。结果显示:HSP70反义寡核苷酸能明显增强顺铂诱导的HeLa细胞凋亡的发生,细胞凋亡百分率显著高于单纯顺铂处理组,而HSP70正义及随机寡核苷酸则同样对顺铂诱导的HeLa细胞凋亡没有任何影响。

化学药物治疗已经作为宫颈癌主要的辅助治疗,对肿瘤的治疗、预防复发有明显疗效。顺铂广泛应用于恶性肿瘤的治疗,是宫颈癌化学治疗中的一线药物^[14]。而多药耐药(multidrugresistance, MDR)是肿瘤进行化学药物治疗时的一大障碍,联合反义脱氧寡核苷酸和化学治疗药物成为目前肿瘤研究中较为常见的策略。

许多研究表明:诱导恶性肿瘤细胞凋亡是化学治疗药物发挥杀伤作用的重要机制之一,而凋亡抑制基因的过度表达使肿瘤细胞对化学治疗药物敏感性下降^[15-16]。HSP作为一种抗凋亡蛋白,

其表达随着重复刺激次数的增加(如反复给予抗肿瘤药)而增加,而HSP的增加则可能使肿瘤细胞对抗肿瘤药的敏感性降低,产生耐药性。研究发现对化学治疗药物敏感的K562细胞系,若高表达HSP70,无论在体内还是在体外,都对化学治疗药物产生耐受^[17]。而Lee等^[18]在鼠脑细胞瘤中发现:经热处理的肿瘤细胞有HSP70表达,产生对长春新碱、柔红霉素的耐药性,HSP70表达水平的高低与耐药性有很强的相关性。因此应用抗HSP试剂或阻断HSP基因的方法,有可能解决某些抗癌药物的耐药性难题。

作者的研究证实,将顺铂联合HSP70反义脱氧寡核苷酸,发现HSP70反义脱氧寡核苷酸具有协同和增效作用,可增加顺铂化学治疗诱导的细胞凋亡,增强顺铂化学治疗对肿瘤的生长抑制,显著提高肿瘤对化学治疗的敏感性。因此,HSP70可成为宫颈癌基因治疗的靶标,HSP70反义脱氧寡核苷酸联合化学治疗药物可以作为宫颈癌治疗的新途径。

参考文献

1. Reynolds EA, Tierney K, Keeney GL, et al. Analysis of outcomes of microinvasive adenocarcinoma of the uterine cervix by treatment type [J]. *Obstet Gynecol*, 2010, 116(5): 1150-1157.
2. Grce M, Matovina M, Milutin-Gasperov N, et al. Advances in cervical cancer control and future perspectives [J]. *Coll Antropol*, 2010, 34(2): 731-736.
3. 郎景和. 子宫颈癌预防的现代策略 [J]. *中国医学科学院学报*, 2007, 29(5): 575-578.
LANG Jinghe. Modern prevention strategies of cervical cancer [J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2007, 29(5): 575-578.
4. Lanneau D, Brunet M, Frisan E, et al. Heat shock proteins: essential proteins for apoptosis regulation [J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(3): 743-761.
5. Kaźmierczuk A, Kiliańska ZM. The pleiotropic activity of heat-shock proteins [J]. *Postepy Hig Med Dosw*, 2009, 63: 502-521.
6. Castle PE, Ashfaq R, Ansari F, et al. Immunohistochemical evaluation of heat shock proteins in normal and preinvasive lesions of the cervix [J]. *Cancer Lett*, 2005, 229(2): 245-252.
7. Ciocca DR, Calderwood SK. Heat shock proteins in cancer: diagnostic, prognostic, predictive, and treatment implications [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2005, 10(2): 86-103.
8. 王慷慨, 邓恭华, 肖献忠, 等. 采用反义寡核苷酸探讨HSP70对

- 活性氧所致心肌细胞损伤的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2004, 14(1): 12-16.
- WANG Kangkai, DENG Gonghua, XIAO Xianzhong, et al. Study of effect of HSP70 on acute injury of cardiomyocyte induced by hydrogen peroxide using antisense oligonucleotides [J]. China Journal of Modern Medicine, 2004, 14(1): 12-16.
9. Dudeja V, Vickers SM, Saluja AK. The role of heat shock proteins in gastrointestinal diseases [J]. Gut, 2009, 58(7): 1000-1009.
 10. 柳爱华, 邓志敏, 余志惠, 等. HSP70基因在人乳腺癌及宫颈癌中高表达和癌变关系的研究 [J]. 中国医药科学, 2011, 1 (10): 45-49.
LIU Aihua, DENG Zhimin, YU Zhihui, et al. Relationship between the over-expression of HSP70 gene and human breast cancer and cervical cancer [J]. China Medicine and Pharmacy, 2011, 1 (10): 45-49.
 11. Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, et al. Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis [J]. Trends Biochem Sci, 2006, 31(3): 164-172.
 12. Calabretta B, Skorski T, Szczyluk C, et al. Prespects for gene-directed therapy with antisense oligodeoxynucleotides [J]. Cancer Treat Rev, 1993, 19 (2):169-179.
 13. Yacyszyn BR, Bowen-Yacyszyn MB, Jewel LL, et al. A placebo-controlled trial of ICAM-1 antisense oligonucleotide in the treatment of Crohn's disease [J]. Gastroenterology, 1998, 114(6): 1133-1142.
 14. 郝敏, 张娜. 宫颈癌新辅助化疗与同步放疗 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2010, 26(3) : 168-174.
HAO Min, ZHANG Na. A overview of neoadjuvant chemotherapy and concurrent chemoradiotherapy for cervical cancer [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 2010, 26(3) :168-174.
 15. Mena S, Rodriguez ML, Ortega A, et al. Glutathione and Bcl-2 targeting facilitates elimination by chemoradiotherapy of human A375 melanoma xenografts overexpressing bcl-xl, bcl-2, and mcl-1 [J]. J Transl Med, 2012,10(1): 8-20.
 16. Taylor K, Micha D, Ranson M, et al. Recent advances in targeting regulators of apoptosis in cancer cells for therapeutic gain [J]. Expert Opin Investig Drugs, 2006, 15(6): 669-690.
 17. Pocaly M, Lagarde V, Etienne G, et al. Overexpression of the heat-shock protein 70 is associated to imatinib resistance in chronic myeloid leukemia [J]. Leukemia, 2007, 21(1): 93-101.
 18. Lee WC, Lin KY, Chen KD, et al. Induction of HSP 70 is associated with vincristine resistance in heat-shocked 9L rat brain tumour cells [J]. Br J Cancer, 1992, 66(4): 653-959.

(本文编辑 傅希文)

本文引用: 刘春梅, 丁依玲. 热休克蛋白 70 反义脱氧核苷酸对宫颈癌 HeLa 细胞生长和凋亡及化学治疗敏感性的影响 [J]. 国际病理科学与临床杂志, 2013, 33(1): 98-104. DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.02.002

Cite this article as: LIU Chunmei, DING Yiling. Effect of heat shock protein 70 antisense oligodeoxynucleotides on growth, apoptosis and chemosensitivity for human cervical cancer HeLa cells [J]. International Journal of Pathology and Clinical Medicine, 2013, 33(1): 98-104. DOI:10.3969/j.issn.1673-2588.2013.02.002