

姜黄素对人淋巴瘤 Raji 细胞组蛋白 H3 乙酰化作用的影响

李新刚, 陈燕, 吴青, 孙春艳

Effect of Curcumin on Acetylation of Histone H3 in Human Lymphoma Cell Line Raji

LI Xin-Gang, CHEN Yan, WU Qing, SUN Chun-Yan

华中科技大学同济医学院
附属协和医院
血液病研究所,
湖北 武汉 430022

*Institute of Hematology,
Union Hospital,
Tongji Medical College,
Huazhong University of Science
and Technology,
Wuhan, Hubei, 430022,
P. R. China*

通讯作者: 陈燕

Correspondence to: CHEN Yan

Tel: 86-27-85726387

E-mail: yanchen@public.wh.hb
.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目
(No. 30271672)

Grant: National Natural Science
Foundation of China
(No. 30271672)

收稿日期: 2005-05-09

修回日期: 2005-07-19

[ABSTRACT] BACKGROUND & OBJECTIVE: Epigenetic change is an important mechanism of oncogenesis. The inhibitors of methyltransferases and deacetylases, with epigenetic modificative effects, could inhibit proliferation and induce apoptosis of tumor cells. This study was to investigate the effects of curcumin on the acetylation of histone H3 and the expression of p21^{WAF1/CIP1} gene in human lymphoma cell line Raji. **METHODS:** Raji cells were treated with 25 $\mu\text{mol/L}$ curcumin. The levels of acetylated histone H3 and p21^{WAF1/CIP1} were detected by Western blot, the expression of p21^{WAF1/CIP1} gene was detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR), and the level of acetylated histone H3 at the site of p21^{WAF1/CIP1} promoter gene was examined by chromatin immunoprecipitation assay. Cell cycle distribution was studied by flow cytometry. **RESULTS:** Curcumin induced hyperacetylation of histone H3 at the site of p21^{WAF1/CIP1} promoter by 1.9 folds, and enhanced the levels of p21^{WAF1/CIP1} mRNA by 4.2 folds and protein by 5.1 folds 24 h after treatment. Raji cells were arrested at G₂/M phase when treated with curcumin for 24 h, and at G₀/G₁ phase when treated for 36 h. **CONCLUSION:** Curcumin, with epigenetic modificative effects, could enhance the acetylation of histone H3 at the site of p21^{WAF1/CIP1} promoter gene, improve transcription of p21^{WAF1/CIP1} gene, and arrest cell cycle progression of Raji cells. **KEYWORDS:** Curcumin; Epigenetic modification; p21^{WAF1/CIP1}; Cell cycle; Leukemia; Raji cell; Histone H3

【摘要】 背景与目的: 表观遗传改变是肿瘤发生的一个重要原因, 具有表观遗传修饰作用的甲基化转移酶抑制剂和去乙酰化酶抑制剂可以抑制肿瘤增殖诱导凋亡。本研究探讨姜黄素对 Raji 细胞组蛋白 H3 的乙酰化作用和细胞周期素依赖性激酶抑制剂 p21^{WAF1/CIP1} 基因表达的影响。方法: 用 25 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素作用 Raji 细胞不同时间, Western blot 分析乙酰化组蛋白 H3 和 p21^{WAF1/CIP1} 变化; RT-PCR 检测 p21^{WAF1/CIP1} 基因表达; 染色质免疫沉淀分析 p21^{WAF1/CIP1} 的启动子基因位点组蛋白 H3 乙酰化水平; 流式细胞术检测细胞周期变化。结果: 姜黄素提高 p21^{WAF1/CIP1} 的启动子基因位点组蛋白 H3 乙酰化水平 1.9 倍; 使 p21^{WAF1/CIP1} mRNA 合成增加和蛋白表达上调, 在 24 h 时分别增加了 4.2 倍和 5.1 倍; 24 h 阻滞细胞在 G₂/M 期, 36 h 阻滞在 G₀/G₁ 期。结论: 姜黄素通过表观遗传修饰作用, 调节 p21^{WAF1/CIP1} 启动子基因位点组蛋白 H3 乙酰化水平, 促进 p21^{WAF1/CIP1} 基因转录, 阻滞 Raji 细胞周期进程。
关键词: 姜黄素; 表观遗传修饰; p21^{WAF1/CIP1}; 细胞周期; 淋巴瘤; Raji 细胞; 组蛋白 H3

中图分类号: R733.4 文献标识码: A

文章编号: 1000-467X(2006)05-0582-05

表观遗传学(epigenetics)是指非基因序列改变所致基因表达水平的变化。表观遗传修饰是基因表达的主要修饰方式, 包括 DNA 甲基

化、组蛋白乙酰化和 RNA 干扰等。在转录调控上,表观遗传起着极为重要的作用,组蛋白高乙酰化和 DNA 低甲基化可促进基因表达;而组蛋白去乙酰化和 DNA 高甲基化可抑制基因表达。组蛋白乙酰化和 DNA 甲基化这两种分子机制互相协调,实现对基因表达的精确调控。蛋白质的乙酰化作用是由组蛋白乙酰化转移酶(histone acetyltransferase, HAT)和去乙酰化酶(histone deacetylases, HDAC)共同调节的。HATs 和 HDACs 不仅调节组蛋白乙酰化水平,而且也参与细胞的增殖、分化和发育^[1]。近年研究发现,HATs 和 HDACs 的功能紊乱与血液系统的肿瘤发生密切相关^[2],与淋巴瘤细胞的增殖分化相关^[3],这可能都与细胞周期调控蛋白基因的沉寂有关。激活沉寂的肿瘤抑制基因表达是一种新的抗癌机制。本实验旨在研究姜黄素对 Raji 细胞组蛋白 H3 的乙酰化调节和细胞周期调节机制,观察姜黄素的表现遗传修饰作用,探讨姜黄素抗淋巴瘤的作用机制。

1 材料与方 法

1.1 主要试剂与抗体

姜黄素(curcumin),分子式 $C_{21}H_{20}O_6$,分子量 368.4,纯度大于 95%,购自 Sigma 公司;用二甲基亚砷稀释成 $5 \times 10^3 \mu\text{mol/L}$,等量分装, -20°C 保存。乙酰化 H3 抗体、p21^{WAF1/CIP1} 抗体均购自 Santa Cruz 公司。前者为兔抗人多抗,后者为鼠抗人单抗。羊抗兔和羊抗鼠二抗以及 BCA 蛋白定量试剂盒均购自晶美生物制品公司。RPMI-1640 为 Gibco 公司产品。胎牛血清购自天津生物技术公司。

1.2 细胞培养与药物处理

淋巴瘤 Raji 细胞购自上海生物细胞研究所。细胞培养采用含 10%胎牛血清、100 u/ml 青霉素、100 $\mu\text{g/ml}$ 链霉素的 RPMI-1640 培养基,在 37°C 、5% CO_2 、饱和湿度培养箱中培养,每 48 h 换液传代一次。取生长良好、细胞活性大于 98%的细胞进行实验。根据 MTT 法测得的姜黄素对 Raji 细胞作用 24 h 的 IC_{50} (25 $\mu\text{mol/L}$)值,用 IC_{50} 浓度的姜黄素作用 Raji 细胞,检测组蛋白 H3 乙酰化水平、p21^{WAF1/CIP1} mRNA 和 P21^{WAF1/CIP1} 蛋白变化以及细胞周期改变。并用曲古菌素 A(trichostatin A, TSA)作用组(150 nmol/L)作为蛋白质乙酰化作用的阳性对照^[4],未处理组作为阴性对照。

1.3 细胞总蛋白提取

1.3.1 组蛋白 H3 的提取 组蛋白 H3 的提取参

照文献[5]进行。两组细胞($1 \times 10^6/\text{ml}$)分别用 TSA 和姜黄素处理 10 h,离心去上清,用冷 PBS 洗两次,直接加入 100 μl 煮沸的 Laemmli(含 10%的 2-巯基乙醇,不含溴酚蓝)裂解缓冲液。混匀后,加入 1 mol/L 的盐酸 10 μl ,冰上放置 30 min,12 000 r/min 离心 10 min,取上清进行蛋白质定量。直接进行蛋白质印迹实验。

1.3.2 P21^{WAF1/CIP1} 蛋白的提取 参照文献[6]进行。用 25 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理细胞分别于 4、8、12、24、48 h 收获细胞,1 000 r/min 离心 5 min,吸去上清,用冷 PBS 洗涤 2 次,加入裂解缓冲液(20 mmol/L Tris-HCl, pH7.4, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L EDTA, 1 mmol/L EGTA, 1% NP-40, 1 mmol/L Na_3VO_4 , 1 mmol/L PMSF, 5 $\mu\text{g/ml}$ leupeptin, 5 $\mu\text{g/ml}$ aprotinin, 5 $\mu\text{g/ml}$ chynostatin),冰上放置 30 min。 4°C 、12 000 r/min 离心 15 min,取上清用 BCA 法进行蛋白定量,等量分装后 -80°C 冻存。

1.4 RT-PCR 检测 p21^{WAF1/CIP1} 转录水平

应用 TRIzol 试剂盒,按其说明书操作,提取细胞总 RNA。每 1×10^7 细胞加入 1 ml TRIzol,吹打裂解细胞,室温放置 5 min,加入 0.2 ml 氯仿,振荡, 4°C 、12 000 r/min 离心 15 min,把上层水相转移至新的 EP 管中。加入 0.5 ml 异丙醇,充分混匀,室温放置 10 min。 4°C 、10 000 r/min 离心 15 min,弃上清。加入 75%乙醇(用 0.01% DEPC 水配制)1 ml,悬起沉淀物, 4°C 、7 500 r/min 离心 10 min,去上清,室温干燥。加适量 RNA 酶抑制剂和去离子水溶解,取 1~2 μl 稀释后测定 RNA 的纯度和浓度。调整浓度至终浓度为 5~10 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$,进行 RT-PCR。用通用引物进行逆转录反应,反应产物 cDNA 进行 PCR 扩增,引物设计为 5'-GGATGTC CGTCAGAACCCA-3'(正义链),5'-CAGGTCCACAT GGTCTTCC-3'(反义链)。反应条件为 95°C 5min,以后 94°C 50 s、 55°C 50 s、 72°C 1 min 35 个循环, 72°C 5 min 结束反应。扩增产物长度 399 bp。同时以 β -actin 作为内参,引物序列为:正义链 5'-CGCTGCGCTGGTCGTCGACA-3',反义链 5'-GTCA CGCACGATTTCCCG-3'。扩增产物长度 619 bp。PCR 产物在 2%的琼脂糖凝胶上电泳,EB 染色。用凝胶成像分析仪摄像分析,PCR 产物量以光密度 $\text{INT} \times$ 面积表示,计算与内参的比值。

1.5 Western blot 分析乙酰化 H3、P21^{WAF1/CIP1} 蛋白及内参照 β -actin 的表达水平

蛋白提取物经定量后,取 30 μg 在 SDS-PAGE

凝胶上电泳。然后电转膜到醋酸纤维素膜上,丽春红染色观察转膜情况。转膜成功后,用5%的脱脂奶粉封闭2 h。加一抗(乙酰化 H3 抗体,p21^{WAF1/CIP1} 抗体,内参照 β -actin 抗体)在4℃条件下过夜或37℃孵育1~2 h;充分用PBS漂洗3次,每次10 min,再用二抗(1:2 000 稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔,羊抗鼠 IgG)振荡孵育2 h。洗去未结合的二抗,滴加 ECL 化学发光试剂,X 线片曝光显影。扫描 X 光片,计算机软件处理,进行密度分析,计算灰度值。本实验重复3次。

1.6 染色体免疫沉淀分析 p21^{WAF1/CIP1} 启动子基因位点乙酰化状态

染色体免疫沉淀分析参照文献[7]进行,适当改良。两组细胞(1×10^6 /ml)分别用 TSA (150 nmol/L)和姜黄素(25 μ mol/L)处理10 h,离心去除培养基后,加入1%的甲醛溶液(用PBS配制)室温作用15 min,用冷PBS洗2次,加入含有蛋白酶抑制剂的裂解液100 μ l (1% SDS,10 mmol/L EDTA,50 mmol/L Tris-HCl,pH 8.1)。细胞裂解物用超声破碎机作用10次,每次10 s,产生大约500~1 000 bp的染色体片段(电泳证实);将裂解物14 000 r/min离心15 min。取上清用稀释缓冲液(0.01% SDS,1.1% Triton X-100,1.2 mmol/L EDTA,16.7 mmol/L Tris-HCl, pH 8.1, 167 mmol/L NaCl)稀释10倍,取100 μ l上清提取DNA,作为乙酰化H3沉淀时取等量样本定量。其余上清分两等份加入60 μ l 50%的蛋白A琼脂糖浆(内含鲑鱼精子DNA约30 μ g),4℃振荡30 min,5 000 r/min离心2 min,上清转移到一个新的EP管。将每个样本上清分两等份分别加入3 μ g抗乙酰化H3抗体和正常兔血清(阴性对照),4℃震荡过夜。再加入60 μ l含鲑鱼精子DNA的50%的蛋白A琼脂糖浆,4℃震荡1 h,10 000 r/min离心10 min收集免疫沉淀复合物,将免疫沉淀复合物用冷的低盐洗涤缓冲液(0.1% SDS,1% Triton X-100, 2 mmol/L EDTA,20 mmol/L Tris-HCl pH 8.1,150 mmol/L NaCl)、高盐洗涤缓冲液(0.1% SDS,1% Triton X-100, 2 mmol/L EDTA, 20 mmol/L Tris-HCl,pH 8.1, 500 mmol/L NaCl)、氯化锂洗涤缓冲液(0.25 mol/L LiCl, 1% NP-40, 1% 脱氧胆酸, 1 mmol/L EDTA, 10 mmol/L Tris-HCl, pH8.1)、Tris-EDTA 缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0)依次洗涤离心。将沉淀物溶在100 μ l洗脱缓冲液(1% SDS,0.1 mol/L NaHCO₃)中,室温下放置30 min,加入200 μ l 5

mol/L NaCl 65℃过夜,逆转组蛋白和DNA的交联作用。然后用基因组DNA小量制备试剂盒提取DNA(杭州维特洁生化技术有限公司),进行PCR扩增。p21^{WAF1/CIP1}启动子基因扩增的引物序列为:正义链5'-CCAGCC CTTTGATGGTTT-3',反义链5'-GCCTCCTTTCT GTGCC TGA-3';反应条件为95℃ 35 s,61℃ 40 s,72℃ 50 s,扩增片段长度420 bp。初始变性和反应结束时的延伸适当延长时间。PCR反应产物用2%的琼脂糖凝胶电泳,EB染色。DNA的扩增产物用凝胶成像分析仪摄像分析。

1.7 细胞周期分析

取生长良好的细胞,用无血清培养基培养24 h后,改用含血清培养基培养,并用25 μ mol/L姜黄素分别处理24 h和36 h,收集细胞,PBS洗涤后用70%乙醇固定过夜(4℃),离心洗涤后加入RNase A 37℃作用30 min,加入PI,4℃避光作用30 min后用流式细胞仪检测,Cell modifit软件分析。

1.8 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 10.5软件包进行统计学分析。

2 结果

2.1 姜黄素阻滞Raji细胞周期进程

用25 μ mol/L姜黄素分别作用24 h和36 h后,细胞周期各期分布分别为:G₁/G₀期(21.80 \pm 5.43)%,(35.71 \pm 4.79)%;S期(50.43 \pm 4.18)%,(49.83 \pm 6.24)%;G₂/M期(27.76 \pm 2.45)%,(14.46 \pm 3.62)%。24 h时细胞主要阻滞在G₂/M期,但在36 h时G₁/G₀期细胞数增加,显示阻滞在S期前。

2.2 姜黄素对组蛋白H3乙酰化的影响

姜黄素和TSA作用Raji细胞10 h,均上调组蛋白H3的乙酰化水平,与未用药物处理组相比,分别增加了1.7倍(灰度值44.2 \pm 9.6 vs 25.8 \pm 7.2)和3.1倍(灰度值79.4 \pm 12.5 vs 25.8 \pm 7.2)。 β -actin的表达未见明显变化(灰度值264.5 \pm 31.8 vs 276.1 \pm 27.3)。(见图1)

2.3 姜黄素对p21^{WAF1/CIP1} mRNA合成和蛋白表达的作用

25 μ mol/L的姜黄素作用Raji细胞,p21^{WAF1/CIP1} mRNA表达在8 h时升高,持续24 h后有所降低,24 h时与内参照的比值比12 h升高2.6倍,与阴性对照组相比增加了4.2倍;p21^{WAF1/CIP1}蛋白表达有相同结果,12 h时和对照组相比增加了2.4倍

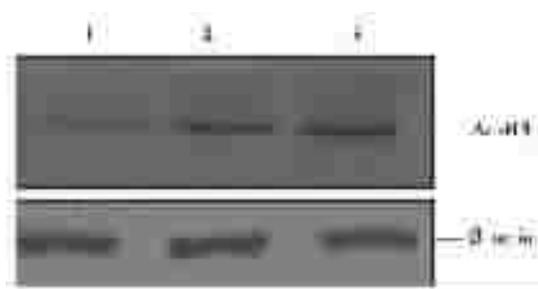


图1 Western blot 分析姜黄素和 TSA 对 Raji 细胞组蛋白 H3 的乙酰化作用影响

Figure 1 The acetylation levels of histone H3 in Raji cells after different treatments detected by Western blot

Lane 1: control Raji cells; lane 2: Raji cells treated with curcumin; lane 3: Raji cells treated with trichostatin A (TSA).

(128.5 ± 41.8 vs 49.3 ± 30.1), 24 h 时增加了 5.1 倍 (201.8 ± 50.5 vs 49.3 ± 30.1)。β-actin 的表达未见明显变化(灰度值 184.7 ± 20.8 vs 166.8 ± 17.4)。(见图 2, 图 3)

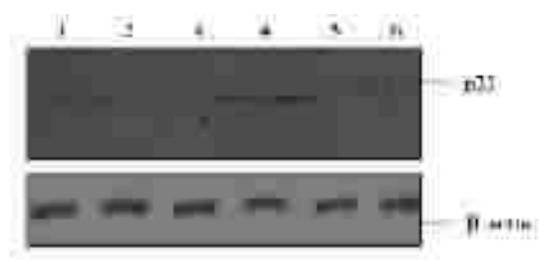


图2 Western blot 分析姜黄素(25 μmol/L)对 Raji 细胞 P21^{WAF1/CIP1} 表达的影响

Figure 2 The expression of P21^{WAF1/CIP1} in Raji cells after treatment with curcumin (25 μmol/L) detected by Western blot

Lanes 1-6: Raji cells treated with curcumin for 0, 4, 8, 12, 24, and 48 h, respectively.



图3 RT-PCR 分析姜黄素对 p21^{WAF1/CIP1} mRNA 表达的影响

Figure 3 The expression of p21^{WAF1/CIP1} mRNA in Raji cells after treatment with curcumin detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR)

Lane M: marker; lanes 1-6: Raji cells treated with curcumin for 0, 4, 8, 12, 24, and 48 h, respectively.

2.4 姜黄素对 p21^{WAF1/CIP1} 启动子基因位点乙酰化组蛋白 H3 的影响

染色质免疫沉淀分析发现, 姜黄素和 TSA 免疫沉淀组 DNA 扩增后, 其 DNA 产量分析显示与对照组相比增加了 1.9 倍和 3.5 倍, 证明在 Raji 细胞 p21^{WAF1/CIP1} 启动子基因位点乙酰化组蛋白 H3 水平分别增加了 1.9 倍和 3.5 倍, 说明姜黄素和 TSA 对 Raji 细胞 p21^{WAF1/CIP1} 启动子基因位点乙酰化组蛋白 H3 有选择性作用。(见图 4)

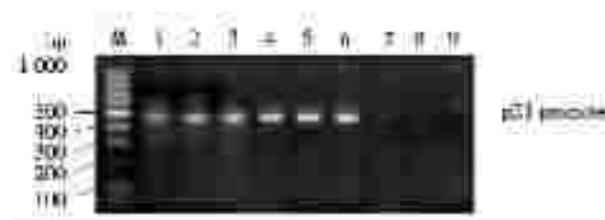


图4 CHIP 分析姜黄素和 TSA 对 p21 启动子基因位点组蛋白 H3 乙酰化水平的影响

Figure 4 The acetylation of histone H3 at the site of p21 promoter gene in Raji cells after treatment with curcumin or

TSA detected by chromatin immunoprecipitation assay

Lane M: marker; lane 1: negative control; lane 2: Raji cells treated with curcumin; lane 3: Raji cells treated with TSA; lanes 4-6: non-Ab; lanes 7-9: normal rabbit serum.

3 讨论

姜黄素是中药姜黄的有效活性成分, 是近年来发现的预防肿瘤化学新药, 在体内外有明显的抗肿瘤作用。姜黄素能上调 EVC304 细胞的 p21^{WAF1/CIP1}、p27^{KIP1} 和 p53, 抑制细胞周期进程^[6]; 能够促进野生型 p53 的表达及 p53 下游靶蛋白 Bax 的水平升高, 诱导人乳腺癌细胞 MCF-7 凋亡^[8]; 能够下调 egr-1、c-myc、bcl-x_L、NF-κB 和 p53 的基因表达, 抑制 B 细胞淋巴瘤细胞的生长和促进细胞凋亡^[9]; 抑制 cyclin D3 表达和促进 p27^{KIP1} 表达, 阻滞 HL-60 细胞在 G₀/G₁ 及 G₂/M 期, 诱导 HL-60 细胞凋亡^[10]; 改变大肠癌细胞表面的粘附分子表达, 诱导细胞凋亡和阻止细胞粘附, 防止浸润和转移^[11]。

表观遗传修饰是基因表达的主要修饰方式, 包括 DNA 甲基化、组蛋白乙酰化和 RNA 干扰等。正常体细胞中启动子和 5' 调节区附近的胞嘧啶-鸟嘌呤二磷酸核苷(CpG)岛通常是未甲基化的, 而在肿瘤转化期间, 常染色体基因发生 CpG 岛广泛甲基化, 并导致基因沉默。组蛋白高乙酰化使染色

质呈开放状态,是转录活化所必需的。一般来说,染色质高乙酰化区域是转录活跃的,而低乙酰化区域则是沉默的。近几年研究表明,表观遗传改变在肿瘤发生中扮演一个重要角色,肿瘤发生的主要表观遗传改变是抑制肿瘤生长的基因发生 DNA 过甲基化和染色质中的组蛋白去乙酰化修饰;并发现甲基化转移酶抑制剂和去乙酰化酶抑制剂可以抑制肿瘤细胞增殖,诱导分化和凋亡。最近有学者报道,用组蛋白去乙酰化酶抑制剂诱导治疗耐药复发的白血病患者,取得完全的临床缓解^[12]。这说明 HATs/HDACs 功能紊乱是白血病发生或耐药的一个重要机制,调节 HATs/HDACs 的平衡,促进蛋白质的正常乙酰化,可能是治疗白血病及其它恶性肿瘤的新途径。笔者在最近的研究中发现,姜黄素能抑制 Burkitt's 淋巴瘤细胞系 Raji 的 HDAC1 活性,抑制 Raji 细胞增殖和诱导细胞凋亡(待发表)。本实验中发现,25 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素处理 Raji 细胞 10 h,明显上调组蛋白 H3 的乙酰化作用,使组蛋白 H3 的乙酰化水平增加 1.7 倍,并且使 p21^{WAF1/CIP1} 启动子位点组蛋白 H3 乙酰化水平提高,促进 P21^{WAF1/CIP1} 蛋白表达,提示姜黄素抑制 Raji 细胞增殖与组蛋白 H3 的乙酰化有关。

细胞周期是由细胞周期依赖性激酶(cdk)序贯性激活和失活所控制。p21^{WAF1/CIP1} 是一种广谱 cdk 抑制剂,通常在肿瘤细胞中低表达或表达缺失,其主要原因可能是 p21^{WAF1/CIP1} 基因启动子区域 DNA 的高度甲基化或组蛋白的低乙酰化。有研究表明, p21^{WAF1/CIP1} 启动子位点可能也是 HDACs 抑制剂天然靶基因^[13]。抑制 HDACs 的活性,提高 p21^{WAF1/CIP1} 启动子位点组蛋白乙酰化水平,有可能促进的 p21^{WAF1/CIP1} 基因转录。本实验应用染色质免疫沉淀分析发现,姜黄素作用 Raji 细胞 8 h 后, p21^{WAF1/CIP1} 启动子位点组蛋白 H3 乙酰化水平增加了 1.9 倍,24 h 时 p21^{WAF1/CIP1} mRNA 合成增加了 4.2 倍, P21^{WAF1/CIP1} 蛋白表达增加 5.1 倍;细胞周期分析也证实,24 h 主要阻滞在 G₂/M 期,36 h G₀/G₁ 期细胞数增加,显示阻滞在 S 期前。说明姜黄素是通过调节组蛋白 H3 的乙酰化作用,提高细胞周期依赖性激酶抑制剂 p21^{WAF1/CIP1} 的表达而阻止了 Raji 细胞的周期进程。

综合上述分析,姜黄素作为新型的化学性肿瘤治疗药物,具有组蛋白乙酰化调节作用,能提高 Raji 细胞 p21^{WAF1/CIP1} 启动子位点组蛋白 H3 乙酰化水平,促进细胞周期素依赖性激酶抑制剂的表达

和阻滞细胞周期进程。姜黄素对 Raji 细胞的表观遗传修饰作用可能是其抗淋巴瘤的机制之一。

[参 考 文 献]

- [1] Goodman R H, Smolik S. CBP/p300 in cell growth, transformation, and development [J]. *Genes Dev*, 2000,14(13): 1553-1577.
- [2] Cress W D, Seto E. Histone deacetylase, transcriptional control and cancer [J]. *J Cell Physiol*, 2000,184(1):1-16.
- [3] Bereshchenko O R, Gu W, Riccardo D F. Acetylation inactivates the BCL-6 transcriptional repressor [J]. *Blood*, 100:137a.
- [4] 李新刚,陈燕,吴青. 曲古菌素 A 调节组蛋白乙酰化和 P21 表达的研究 [J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2005,34(1):41-47.
- [5] Vigushin D M, Ali S, Pace P E, et al. Trichostatin A is a histone deacetylase inhibitor with potent antitumor activity against breast cancer in vivo [J]. *Clin Can Res*, 2001,7(4):971-976.
- [6] Park M J, Kim E H, Park I C, et al. Curcumin inhibits cell cycle progression of immortalized human umbilicalvein endothelial (ECV304) cells by up-regulating cyclin-dependent kinase inhibitor, p21^{WAF1/CIP1}, p27^{KIP1} and p53 [J]. *Int J Oncol*, 2002,21(2):379-383.
- [7] Richon V M, Sandhoff T W, Rifkind R A, et al. Histone deacetylase inhibitor selectively induces P21^{WAF1} expression and gene-associated histone acetylation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000,97(18):10014-10019.
- [8] Choudhuri T, Pal S, Agwarwal M L, et al. Curcumin induces apoptosis in human breast cancer cells through p53-dependent Bax induction [J]. *FEBS Lett*, 2002,512(1-3): 334-340.
- [9] Han S S, Chung S T, Robertson D A, et al. Curcumin causes the growth-arrest and apoptosis of B cell lymphoma by downregulation of egr-1, c-myc, bcl-xl, NF-KB, and p53 [J]. *Clin Immunol*, 1999,93(2):152-161.
- [10] 陈燕,吴裕丹,陈文娟,等. 姜黄素联用 γ -IFN 对 Cyclin D3、p27^{KIP1} 在 HL-60 细胞增殖中的影响 [J]. *中华血液学杂志*, 2000,21(9):495-486.
- [11] Jaiswal A S, Marlow B P, Gupta N, et al. β -Catenin-mediated transactivation and cell-cell adhesion pathways are important in curcumin(diferuylmethane)-induced growth arrest and apoptosis in colon cancer cells [J]. *Oncogene*, 2002,21(55):8414-8427.
- [12] He L Z, Tolentino T, Grayson P, et al. Histone deacetylase inhibitors induce remission in transgenic models of therapy-resistant acute promyelocytic leukemia [J]. *J Clin Invest*, 2001,108(9):1321-1330.
- [13] Milutinovic S, Knox J D, Szyf M. DNA methyltransferase inhibition induces the transcription of the tumor suppressor p21 (WAF1/CIP1/Sdi1) [J]. *J Biol Chem*, 2000,275(9): 6353-6359.

[编辑:甘可建;校对:夏宁静]