



DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.20190015

SAHA 对 HeLa 细胞增殖、凋亡、衰老以及迁移的影响

张朦朦, 刘雪娜, 来永巍, 刘 玥, 何红鹏

(工业发酵微生物教育部重点实验室, 天津市工业微生物重点实验室, 天津科技大学生物工程学院, 天津 300457)

摘要: 为研究 HDAC 抑制剂 SAHA 对宫颈癌 HeLa 细胞肿瘤生物学特性的影响, 使用 SAHA 处理 HeLa 细胞后, 在显微镜下观察细胞形态, 台盼蓝染色法检测细胞增殖, TUNEL 法检测细胞凋亡, β -半乳糖苷酶染色法检测细胞衰老, 划痕实验和小室迁移实验检测细胞迁移能力, 实时荧光定量 PCR (Real-time PCR) 和免疫印迹 (Western blot) 检测基因表达。结果显示: SAHA 处理 HeLa 细胞后, 细胞增殖能力下降, 发生衰老, 同时在分子水平上促进 p21 基因表达; 抑制细胞迁移, 在分子水平上迁移相关基因 MYL9 表达水平下降; SAHA 处理的细胞没有表现出明显凋亡现象。本研究结果提示 SAHA 可能通过促进 p21 和 MYL9 基因表达发挥抑制细胞增殖、促进细胞衰老和降低细胞迁移能力的作用。

关键词: SAHA; 宫颈癌; 细胞增殖; 细胞凋亡; 细胞衰老; 细胞迁移

中图分类号: R737.33

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2020)03-0016-06

Effects of SAHA on the Proliferation, Apoptosis, Aging and Migration of HeLa Cells

ZHANG Mengmeng, LIU Xuena, LAI Yongwei, LIU Yue, HE Hongpeng

(Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: To study the effects of SAHA on the biological characteristics of cervical cancer cells, HeLa cells were treated with SAHA and then the morphological changes were investigated under microscope. Cell proliferation was determined with trypan blue staining assay. Apoptosis was examined with TUNEL staining. Cell senescence was tested with β -galactosidase staining. Cell migrating ability was examined with wound-healing assay and transwell migration assay. Real-time PCR and Western blot were used to measure p21 and MYL9 expression. The results showed that the treatment of HeLa with SAHA could not only inhibit cell proliferation and cause the cell senescence but also increase the p21 gene expression. No apoptosis was observed in HeLa cells following SAHA treatment. Additionally, cell migration ability was undermined, which was consistent with the down-regulation of the migration-related gene MYL9. The above results indicate that, by promoting p21 and inhibiting MYL9 gene expression, SAHA may inhibit cell proliferation, promote cell senescence and reduce cell migration.

Key words: SAHA; cervical cancer; cell proliferation; cell apoptosis; cell aging; cell migration

宫颈癌是世界范围内威胁女性健康的第二大恶性肿瘤, 我国每年约有 10 万新发病例^[1]。宫颈癌的发病与高危型人乳头瘤病毒 (human papillomavirus, HPV) 持续感染密切相关, HPV 病毒 DNA 存在于约 97% 宫颈癌细胞中^[2]。应用 siRNA、shRNA 以及 CRISPR-CAS9 敲减或敲除宫颈癌细胞中 HPV 基因

可抑制癌细胞生长, 因此 HPV 基因成为宫颈癌治疗的靶标^[3-6]。

在哺乳动物细胞中, 染色质的最小结构单位是核小体, 由组蛋白和 DNA 构成。细胞内组蛋白存在乙酰化等多种形式的翻译后修饰, 这些翻译后修饰对基因表达发挥调控作用。细胞内蛋白质乙酰化和去乙

收稿日期: 2019-01-14; 修回日期: 2019-04-04

基金项目: 天津市自然科学基金项目资助项目 (18JCYBJC91500)

作者简介: 张朦朦 (1994—), 女, 天津人, 硕士研究生; 通信作者: 何红鹏, 副教授, hehongpeng@tust.edu.cn

酰化过程分别由组蛋白乙酰转移酶(histone acetyltransferase, HAT)和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase complex, HDAC)催化^[7]。

在宫颈癌细胞中,HDAC 表达水平升高活性增强,促进细胞癌变。因此,HDAC 抑制剂是具有抗癌潜能的药物^[8-9]。SAHA(suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA)又称伏立诺他(vorinostat),是美国FDA批准用于皮肤T细胞淋巴瘤治疗的HDAC抑制剂。在宫颈癌领域,多个研究发现SAHA与常规化疗药物或放疗方法联合应用时能增强癌细胞对化疗及放疗的敏感性,抑制癌细胞增殖,促进癌细胞凋亡^[10-13]。但是,SAHA单独应用在宫颈癌细胞中会产生怎样的生物学效应,特别是对细胞衰老和迁移的影响,目前没有文献报道。

鉴于HPV基因对宫颈癌的重要性,本实验室前期研究了SAHA对宫颈癌细胞中HPV基因表达的影响,发现SAHA抑制HPV基因表达并引起细胞周期阻滞^[14]。然而,SAHA对宫颈癌其他癌细胞表型的作用并不明确,因此,本课题从细胞凋亡、细胞衰老和细胞迁移这些方面进行深入研究。

1 材料与方法

1.1 材料

宫颈癌细胞HeLa来自美国ATCC。胎牛血清,天津康源生物技术有限公司;细胞完全培养基DMEM-LG,美国Gibco公司;SAHA,美国Sigma公司;p21抗体、十字孢碱(ST)及细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒,上海碧云天生物技术有限公司;Trizol试剂、M-MLV逆转录试剂盒,美国Invitrogen公司;Fluorometric TUNEL System试剂盒, Promega公司;SYBR Green染料,德国DBI公司;青霉素、链霉素、胰酶及RNase A,北京索莱宝科技有限公司;MYL9抗体、 β -actin抗体, Santa Cruz公司;山羊抗兔荧光二抗、山羊抗鼠荧光二抗,美国LI-COR公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养

宫颈癌HeLa细胞培养于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素、0.1 mg/mL链霉素的DMEM-LG培养基,在37℃、5% CO₂恒温培养箱中进行贴壁培养。待细胞汇合度达到70%~80%时,采用0.25%胰酶温和消化传代。

1.2.2 台盼蓝染色计细胞数

等量的HeLa细胞接种于6孔板,加药处理24 h

后用胰酶消化下来制备成单细胞悬液,并适当稀释。细胞悬液与0.4%台盼蓝溶液以9:1混匀,孵育3 min后,在显微镜下用血球计数板分别计数活细胞和死细胞,死细胞被染成淡蓝色,而活细胞拒染。

1.2.3 β -半乳糖苷酶法检测细胞衰老

HeLa细胞用SAHA处理72 h后,用细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒,按说明书检测衰老相关 β -半乳糖苷酶活性。用染色固定液室温固定15 min, PBS漂洗后加入含有X-Gal的染色工作液,37℃孵育过夜。在光学显微镜下观察并拍照。

1.2.4 免疫印迹(Western blot)分析

提取细胞总蛋白,进行琼脂糖凝胶电泳(SDS-PAGE)检测。通过半干电转移法将蛋白转移至硝酸纤维素膜。用封闭液室温封闭1 h,继之分别用p21抗体、MYL9抗体、 β -actin抗体孵育,4℃过夜,洗膜后加入相对应的二抗(山羊抗兔荧光二抗、山羊抗鼠荧光二抗)室温避光孵育1.5~2 h,洗膜3次,用Odyssey成像系统扫膜。

1.2.5 PCR检测

4℃条件下用Trizol裂解细胞,提取总RNA,进行逆转录得到cDNA,随后进行常规PCR或实时荧光定量PCR(Real-time PCR)。引物序列为GAPDH:上游5'-ATTCAACGGCACAGTCAAGG-3',下游5'-GCAGAAGGGGCGGAGATGA-3'; 18S rRNA,上游5'-CACGGGAAACCTCACCCGGG-3',下游5'-CGGGTGGCTGAACGCCACTT-3'; MYL9,上游5'-ATTCAACGGCACAGTCAAGG-3',下游5'-GCAGAAGGGGCGGAGATGA-3'; p21,上游5'-GACACCACTGGAGGGTGACT-3',下游5'-CAGGTCCACATGGTCTTCC T-3'。PCR反应条件:95℃ 5 min; 95℃变性30 s, 56℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 28次循环; 72℃ 10 min。Real-time PCR反应条件:95℃预变性2 min; 95℃变性10 s, 60℃退火30 s, 95℃延伸1 min, 40个循环; 95℃ 10 s终止反应并以 $\Delta\Delta C_t$ 法对结果进行计算。

1.2.6 细胞划痕实验

将状态良好的HeLa细胞接种于24孔板,培养24 h后用小号枪头划线,用PBS洗2次,去除划下来的细胞,然后加入5 μ mol/L SAHA继续培养,36 h后显微镜下观察并拍照。用Image J软件测量划痕宽度,按照式(1)计算细胞迁移率。

$$\text{细胞迁移率} = \frac{0 \text{ h划痕宽度} - 36 \text{ h划痕宽度}}{0 \text{ h划痕宽度}} \quad (1)$$

1.2.7 Transwell 细胞迁移实验

计数 5×10^5 个 HeLa 细胞,用含有 SAHA 的无血清培养基悬浮并加入到 Transwell 上室中,下室加入含有 10% 血清的培养液,培养 10 h. 取上层小室,用棉签擦去滤膜正面的细胞,再用含 4% 多聚甲醛溶液固定滤膜底面的细胞,DAPI 溶液染核,通过激光扫描共聚焦显微镜对至少 5 个视野照相. 相对细胞迁移率按照式(2)计算.

$$\text{相对细胞迁移率} = \frac{\text{SAHA组穿过滤膜细胞数}}{\text{DMSO组穿过滤膜细胞数}} \quad (2)$$

1.2.8 TUNEL 法检测细胞凋亡

加药处理 HeLa 细胞, DMSO 作为阴性对照组. 24 h 后,按照 Fluorometric TUNEL System 试剂盒的步骤处理细胞,荧光显微镜下观察并拍照.

1.3 统计分析

实验数据使用 SPSS v13.0 软件处理, 各组实验数据以“平均值 \pm 标准差”表示. 组间统计学差异分析采用 *t* 检验, *表示 $P < 0.05$, **表示 $P < 0.01$.

2 结果与分析

2.1 SAHA 对宫颈癌 HeLa 细胞增殖的影响

SAHA 处理 HeLa 细胞 24 h 后,显微镜下观察细胞密度和形态学变化. 十字孢碱(ST)可以诱导肿瘤细胞凋亡,用作阳性对照. 结果显示,与未加药组或 DMSO 组相比, SAHA 组细胞密度小,细胞面积变大,细胞伪足变尖(图 1). 而十字孢碱处理组细胞密度也减小,但细胞体积变小、形态变圆,与 SAHA 处理的细胞明显不同.

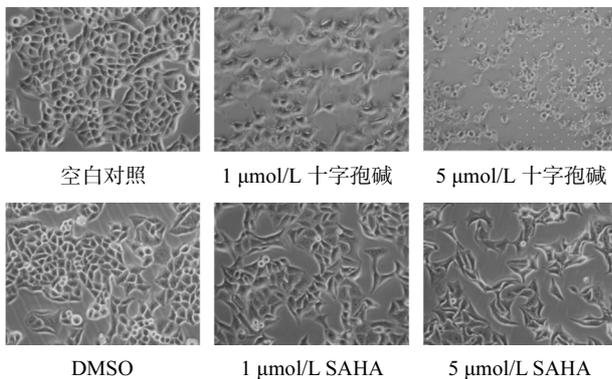


图 1 加药处理后 HeLa 细胞的形态学变化

Fig. 1 Morphological changes of HeLa cells after SAHA or ST treatment

为了定量分析 SAHA 对宫颈癌细胞的作用,利用台盼蓝染色法进行活细胞计数,结果如图 2 所示. SAHA 抑制 HeLa 细胞的增殖,并且随着 SAHA

浓度的加大,活细胞数目逐渐减少;当 SAHA 浓度为 5 $\mu\text{mol/L}$ 时,活细胞数目约为空白对照组的 50%. 以上结果表明: SAHA 抑制宫颈癌 HeLa 细胞增殖.

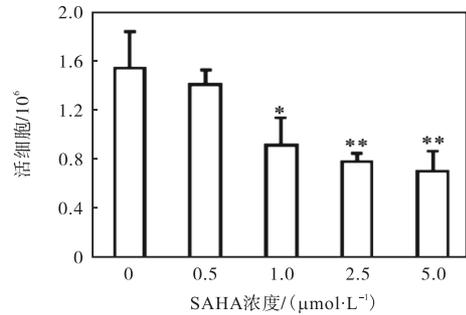
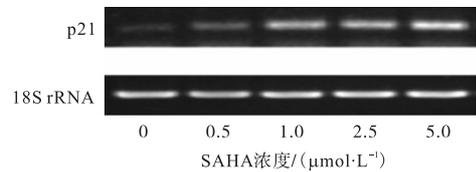


图 2 台盼蓝染色法计数 SAHA 处理后 HeLa 活细胞的数量

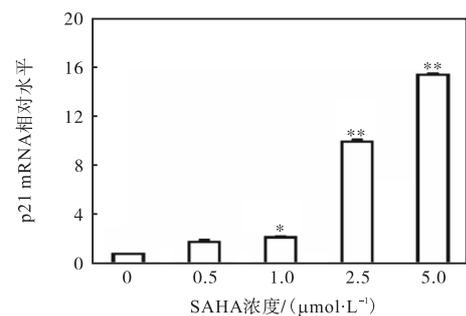
Fig. 2 Quantification of viable HeLa cells after SAHA treatment

2.2 SAHA 对 p21 基因表达的影响

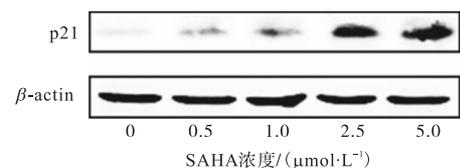
真核细胞的增殖周期受到多种因素调控. p21 蛋白对细胞增殖周期起负调控作用,引起细胞周期阻滞. 为了探究 SAHA 抑制细胞增殖与 p21 基因表达的关系,用不同浓度 SAHA 处理 HeLa 细胞 24 h,然后提取 RNA,利用 RT-PCR 和 Real-time PCR 检测 p21 的 mRNA 水平,结果如图 3 所示.



(a) PCR 产物电泳检测 p21 mRNA 水平



(b) Real-time PCR 检测 p21 mRNA 水平



(c) Western blot 检测 p21 蛋白水平

图 3 SAHA 上调 p21 基因表达

Fig. 3 Expression of p21 increased after SAHA treatment

p21 mRNA 水平随 SAHA 浓度升高逐渐上调, 与常规 PCR 结果一致. Real-time PCR 结果显示: SAHA 处理后 p21 mRNA 水平升高约 16 倍. 用不同浓度 SAHA 处理 HeLa 细胞 48 h 后裂解细胞提取总蛋白, Western blot 检测 p21 蛋白水平结果显示: p21 蛋白随着 SAHA 浓度的增加而增加. 可见, SAHA 引起 HeLa 细胞中 p21 基因表达的上调, 从而阻滞了 HeLa 细胞周期, 最终抑制 HeLa 细胞增殖.

2.3 SAHA 对宫颈癌 HeLa 细胞凋亡的影响

本实验利用 TUNEL 法检测 SAHA 处理的 HeLa 细胞是否会发生凋亡, 十字孢碱 (ST) 处理组为阳性对照组, DMSO 组为阴性对照组, 结果如图 4 所示. 加药处理 24 h 后, ST 处理组细胞核内出现绿色荧光, 表明 ST 诱导 HeLa 细胞发生凋亡; 而 SAHA 处理组与 DMSO 对照组 TUNEL 染色均为阴性, 说明无细胞凋亡现象. 以上结果表明: SAHA 并不会引起 HeLa 细胞凋亡.

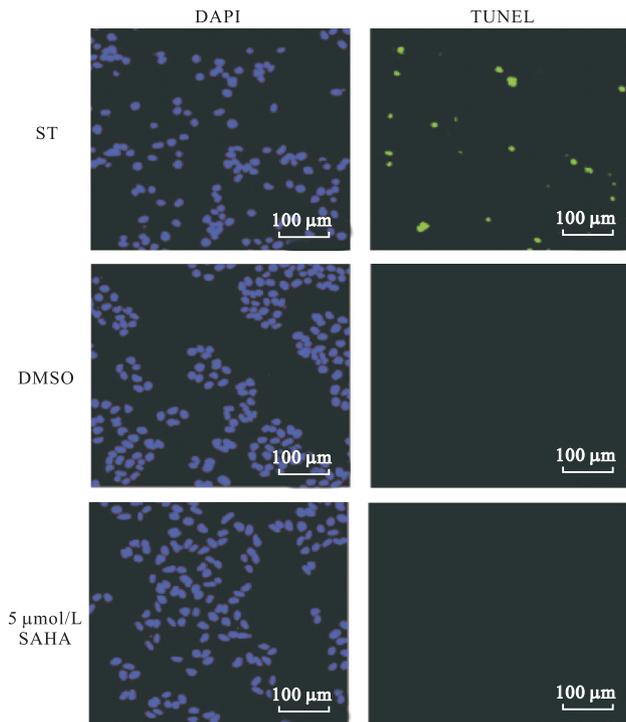


图 4 TUNEL 法检测 SAHA 处理对 HeLa 细胞凋亡的影响
Fig. 4 TUNEL assay determining the apoptosis of HeLa cells following SAHA treatment

2.4 SAHA 诱导 HeLa 细胞衰老

细胞衰老受到 p53-p21 信号通路的调节^[15]. 图 1 显示 SAHA 处理后 HeLa 细胞贴壁良好, 体积变大, 形态改变, 符合细胞衰老的特点. 图 3 显示 SAHA 上调 p21 基因表达. 这些实验结果提示 SAHA 可能诱导细胞衰老.

检测细胞衰老的主要方法是 β -半乳糖苷酶染色法. 衰老相关 β -半乳糖苷酶在 pH 6.0 左右有活性, 催化 X-Gal 发生颜色反应, 使衰老细胞蓝染. 用 5 μ mol/L SAHA 处理 HeLa 细胞 72 h, 结果如图 5 所示. SAHA 组多数细胞内生成的蓝色产物证明细胞内衰老相关 β -半乳糖苷酶活性提高, 而 DMSO 组多数细胞内没有蓝染, 仅个别细胞内和细胞间隙出现蓝色, 蓝染的细胞数量和染色程度远低于 SAHA 处理组. 此结果证明 SAHA 诱导 HeLa 细胞发生衰老.

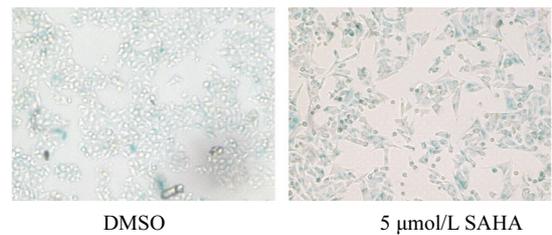
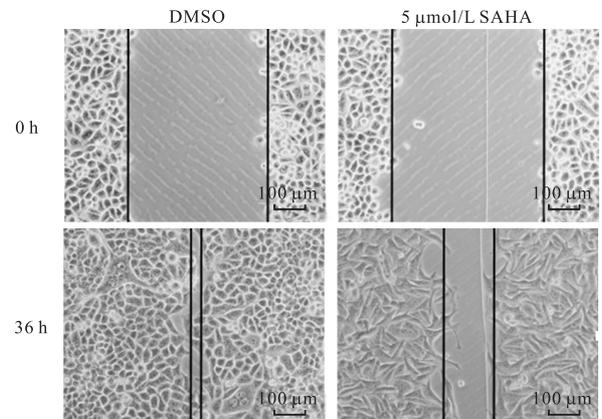


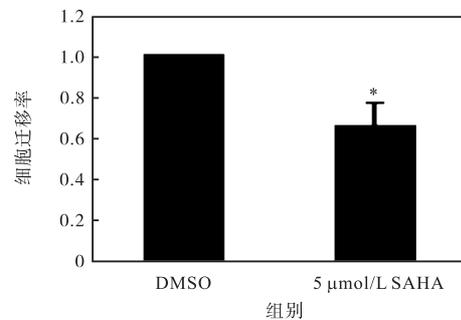
图 5 衰老相关 β -半乳糖苷酶染色法检测细胞衰老
Fig. 5 Examination of cell senescence with β -galactosidase staining method

2.5 SAHA 抑制 HeLa 细胞迁移能力

恶性肿瘤细胞迁移能力增强会导致肿瘤转移. 为观察 5 μ mol/L SAHA 对 HeLa 细胞迁移能力的影响进行划痕实验, 结果如图 6 所示.



(a) 细胞划痕实验



(b) Image J 软件定量分析

图 6 划痕实验检测 SAHA 对 HeLa 细胞迁移能力的影响
Fig. 6 Measuring the effect of SAHA on the migration of HeLa cells with scratch wound-healing assay

36 h 时对照组细胞的划痕几近愈合；而此时 SAHA 组细胞划痕明显没有愈合. Image J 软件定量分析, SAHA 组细胞划痕愈合能力明显减弱, 细胞迁移率下降了 40% 左右, 说明 SAHA 能够抑制 HeLa 细胞的迁移能力.

划痕实验结果表明 SAHA 抑制 HeLa 细胞的水平方向迁移, 为探究 SAHA 是否也可以影响细胞空间迁移能力, 采用 transwell 实验进行验证, 结果如图 7 所示. 由图 7(a) 可见, 与 DMSO 组相比, 加药组的细胞穿过小室滤膜从滤膜正面迁移到底面的数量明显减少. 图 7(b) 结果显示, SAHA 处理后细胞迁移率下降 70%, 与划痕实验结果一致. 综合细胞划痕和 transwell 实验结果表明, SAHA 抑制 HeLa 细胞的迁移能力.

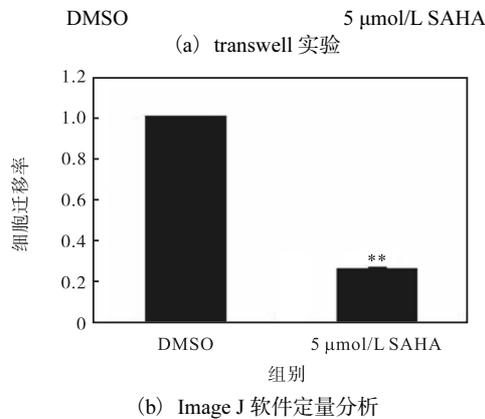
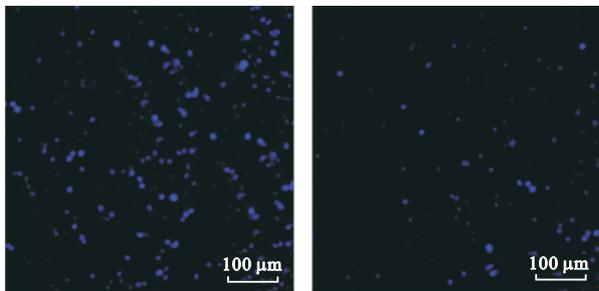


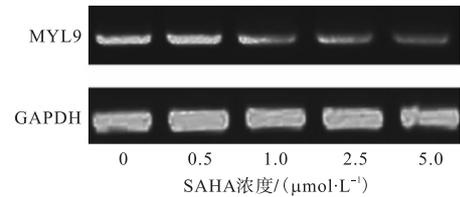
图 7 Transwell 法检测 SAHA 对 HeLa 细胞迁移能力的影响

Fig. 7 Effects of SAHA on the migration of HeLa cells determined with Transwell assay

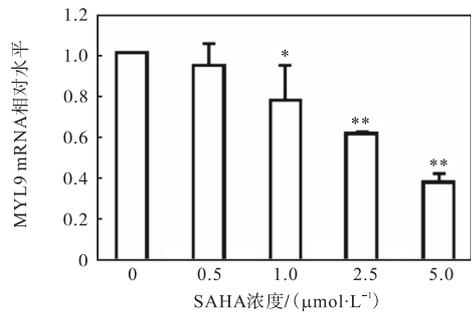
2.6 SAHA 对迁移相关基因表达的影响

MYL9 即肌球蛋白轻链 9, 是细胞骨架结构的重要组成部分, 参与细胞的运动与形态变化, 影响细胞迁移能力. 为了揭示 SAHA 抑制 HeLa 细胞迁移的机制, 本实验使用不同浓度 SAHA 处理细胞, 利用 RT-PCR、Real-time PCR 和 Western blot 的方法检测了 MYL9 在 RNA 水平与蛋白水平的表达情况, 结果如图 8 所示. 由图 8 可知: SAHA 下调 MYL9 mRNA 水

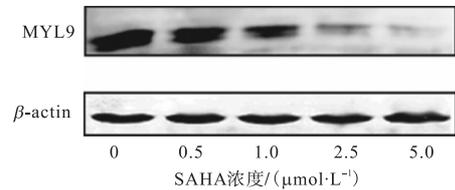
平且呈现浓度依赖性; Real-time PCR 结果与 RT-PCR 结果一致, 5 μmol/L SAHA 处理后 HeLa 细胞中 MYL9 mRNA 水平下降约 60%; Western blot 结果显示, MYL9 蛋白水平随 SAHA 浓度增加而逐渐下降. 以上实验结果证明, SAHA 抑制迁移相关基因 MYL9 的表达.



(a) RT-PCR 检测 MYL9 mRNA 水平



(b) Real-time PCR 检测 MYL9 mRNA 水平



(c) Western blot 检测 MYL9 蛋白水平

图 8 SAHA 抑制迁移相关基因 MYL9 表达

Fig. 8 Expression of the migration-related MYL9 gene decreased after SAHA treatment

3 讨论

为了探究以 SAHA 为代表的 HDAC 抑制剂的抗宫颈癌作用, 本课题通过细胞和分子水平的实验证明 SAHA 抑制宫颈癌 HeLa 增殖而不引起细胞凋亡; 同时, SAHA 上调衰老相关 β-半乳糖苷酶活性, 诱导细胞衰老; 下调迁移相关基因 MYL9 表达, 降低细胞迁移能力. 已往研究多数关注 SAHA 对细胞增殖和凋亡的影响, SAHA 与其他放疗、化疗联合应用时抑制细胞增殖、促进细胞凋亡. 而本文发现 SAHA 本身并不促进 HeLa 细胞凋亡, 而是诱导 HeLa 细胞衰老和抑制 HeLa 细胞迁移. 宫颈癌等恶性肿瘤导致病人死

亡的主要原因是肿瘤细胞从原发灶转移至肺、脑等重要脏器破坏其功能. SAHA降低宫颈癌HeLa细胞迁移能力,提示SAHA可能降低宫颈癌细胞转移的几率,是潜在的抗宫颈癌药物.

细胞衰老指细胞增殖和分化能力及生理功能发生衰退,可发生于非肿瘤细胞,也可以发生于肿瘤细胞.当正常细胞受到损伤时,细胞衰老可以防止损伤细胞增殖和癌变.恶性肿瘤细胞增殖能力显著强于正常细胞,一般不发生衰老.应用放化疗方法治疗肿瘤时,大量的损伤可诱导肿瘤细胞发生衰老^[16].这种治疗相关的肿瘤细胞衰老一方面可以抑制肿瘤细胞增殖,达到抗癌效果;另一方面,衰老的细胞保持了产生细胞因子的能力,可能因此改变肿瘤微环境,促进免疫系统清除肿瘤细胞.另外,也有研究认为这种衰老却不死亡的肿瘤细胞在治疗结束后可能成为肿瘤复发的原因^[16-18].肿瘤治疗相关的细胞衰老对疗效的影响目前还不确定,本研究发现SAHA单独使用诱发细胞衰老而不是凋亡,所以,在应用SAHA治疗宫颈癌时应考虑其诱导细胞衰老现象,制定合理治疗方案.

目前发现的HPV病毒有100多种亚型,根据是否致癌,可分为低危型和高危型HPV.导致宫颈癌的高危型HPV亚型包括16型、18型、52型等,其中16型和18型HPV在宫颈癌组织的阳性率超70%^[19-20],因此宫颈癌研究多以携带16型或18型HPV的细胞系为模式细胞,本研究选择的是携带HPV18的HeLa细胞系.为了验证SAHA对宫颈癌的抑制作用是否也适用于携带其他HPV亚型的癌细胞,下一步工作将对携带HPV16的CaSki、SiHa等宫颈癌细胞系进行检测,并计划在动物水平检测SAHA的抗宫颈癌作用.通过分子、细胞和动物水平的研究,为研发具有抗宫颈癌作用的SAHA及其衍生物奠定理论基础.

参考文献:

- [1] Shi J F, Canfell K, Lew J B, et al. The burden of cervical cancer in China: Synthesis of the evidence[J]. *International Journal of Cancer*, 2012, 130(3): 641-652.
- [2] Yugawa T, Kiyono T. Molecular mechanisms of cervical carcinogenesis by high-risk human papillomaviruses: Novel functions of E6 and E7 oncoproteins[J]. *Reviews in Medical Virology*, 2009, 19(2): 97-113.
- [3] Zhen S, Hua L, Takahashi Y, et al. In vitro and in vivo growth suppression of human papillomavirus 16-positive cervical cancer cells by CRISPR/Cas9[J]. *Biochemical Biophysical Research Communications*, 2014, 450(4): 1422-1426.
- [4] Zhen S, Li X. Oncogenic human papillomavirus: Application of CRISPR/Cas9 therapeutic strategies for cervical cancer[J]. *Cell Physiology and Biochemistry*, 2017, 44(6): 2455-2466.
- [5] Sato N, Saga Y, Uchibori R, et al. Eradication of cervical cancer in vivo by an AAV vector that encodes shRNA targeting human papillomavirus type 16 E6/E7[J]. *International Journal of Oncology*, 2018, 52(3): 687-696.
- [6] Jung H S, Rajasekaran N, Song S Y, et al. Human papillomavirus E6/E7-specific siRNA potentiates the effect of radiotherapy for cervical cancer in vitro and in vivo[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(6): 2243-2260.
- [7] Tessarz P, Kouzarides T. Histone core modifications regulating nucleosome structure and dynamics[J]. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2014, 15(11): 703-708.
- [8] Lakshmaiah K C, Jacob L A, Aparna S, et al. Epigenetic therapy of cancer with histone deacetylase inhibitors[J]. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2014, 10(3): 469-478.
- [9] Cang S, Ma Y, Liu D. New clinical developments in histone deacetylase inhibitors for epigenetic therapy of cancer[J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2009, 2: 22.
- [10] Xing J, Wang H, Xu S, et al. Sensitization of suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA) on chemoradiation for human cervical cancer cells and its mechanism[J]. *European Journal of Gynaecological Oncology*, 2015, 36(2): 117-122.
- [11] Feng D, Wu J, Tian Y, et al. Targeting of histone deacetylases to reactivate tumour suppressor genes and its therapeutic potential in a human cervical cancer xenograft model[J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e80657.
- [12] Jiang Y, Wang Y, Su Z, et al. Synergistic induction of apoptosis in HeLa cells by the proteasome inhibitor bortezomib and histone deacetylase inhibitor SAHA[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2010, 3(4): 613-619.
- [13] Jin K L, Park J Y, Noh E J, et al. The effect of combined treatment with cisplatin and histone deacetylase inhibitors on HeLa cells[J]. *Journal of Gynecologic Oncology*, 2010, 21(4): 262-268.

- [28] Scirè S, Minicò S, Crisafulli C. Pt catalysts supported on H-type zeolites for the catalytic combustion of chlorobenzene[J]. *Applied Catalysis B: Environmental*, 2003, 45(2): 117–125.
- [29] Guo X L, Li J, Zhou R X. Catalytic performance of manganese doped CuO-CeO₂ catalysts for selective oxidation of CO in hydrogen-rich gas[J]. *Fuel*, 2016, 163: 56–64.
- [30] Liu Z G, Zhou R X, Zheng X M. Influence of preparation methods on CuO-CeO₂ catalysts in the preferential oxidation of CO in excess hydrogen[J]. *Journal of Natural Gas Chemistry*, 2008, 17(2): 125–129.
- [31] Jia A P, Hu G S, Meng L, et al. CO oxidation over CuO/Ce_{1-x}Cu_xO_{2-δ} and Ce_{1-x}Cu_xO_{2-δ} catalysts: Synergetic effects and kinetic study[J]. *Journal of Catalysis*, 2012, 289: 199–209.
- [32] Tsoncheva T, Issa G, Blasco T, et al. Catalytic VOCs elimination over copper and cerium oxide modified mesoporous SBA-15 silica[J]. *Applied Catalysis A: General*, 2013, 453: 1–12.

责任编辑:周建军

(上接第 21 页)

- [14] He H, Liu X, Wang D, et al. SAHA inhibits the transcription initiation of HPV18 E6/E7 genes in HeLa cervical cancer cells[J]. *Gene*, 2014, 553(2): 98–104.
- [15] Wang G, Fu Y, Hu F, et al. Loss of BRG1 induces CRC cell senescence by regulating p53/p21 pathway[J]. *Cell Death & Disease*, 2017, 8(2): e2607.
- [16] Calcinotto A, Alimonti A. Aging tumour cells to cure cancer: “pro-senescence” therapy for cancer[J]. *Swiss Medical Weekly*, 2017, 147: w14367.
- [17] Lecot P, Alimirah F, Desprez P Y, et al. Context-dependent effects of cellular senescence in cancer development[J]. *British Journal of Cancer*, 2016, 114(11): 1180–1184.
- [18] Perez-Mancera P A, Young A R, Narita M. Inside and out: The activities of senescence in cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2014, 14(8): 547–558.
- [19] Ma L, Cong X, Shi M, et al. Distribution of human papillomavirus genotypes in cervical lesions[J]. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 2017, 13(2): 535–541.
- [20] Castle P E, Stoler M H, Wright T C, et al. Performance of carcinogenic human papillomavirus (HPV) testing and HPV16 or HPV18 genotyping for cervical cancer screening of women aged 25 years and older: A subanalysis of the ATHENA study[J]. *Lancet Oncology*, 2011, 12: 880–890.

责任编辑:郎婧

(上接第 32 页)

- tion to determine loss in shear strength of fiber-fiber bonds upon pulp drying[J]. *Tappi Journal*, 1996, 79(9): 206–210.
- [18] 陶劲松,刘焕彬,闫东波,等. 纤维间剪切结合强度的一种测量方法[J]. *中国造纸学报*, 2006, 21(4): 74–80.
- [19] 薛崇昀,贺文明,张睿玲. 人工种植构树的材性特点及制浆性能研究[J]. *中国造纸*, 2006, 25(9): 1–5.
- [20] Sundberg K E, Holmbom B R, Pranovich A V. Chemical changes in thermomechanical pulp at alkaline conditions[J]. *Journal of Wood Chemistry and Technology*, 2003, 23(1): 89–112.
- [21] 璩爱玉. 速生材制浆性能综合评估研究[D]. 北京:中国林业科学研究院, 2008.
- [22] 徐宁攀,刘苇,侯庆喜,等. MgO 部分替代 NaOH 对杨木 CTMP 过氧化氢漂白的影 响[J]. *中国造纸*, 2015, 34(7): 6–12.

责任编辑:周建军