

# 中国鲎素和正丁酸钠对人胃腺癌 BGC-823 细胞形态与超微结构的影响

石松林<sup>1,2</sup> 王永煜<sup>1,2</sup> 梁盈<sup>1,2</sup> 李祺福<sup>1,2\*</sup>

(1. 厦门大学生命科学学院细胞生物学研究室; 2. 厦门大学细胞生物学与肿瘤细胞工程教育部重点实验室, 厦门 361005)

**[摘要]** 目的 以正丁酸钠为平行对照, 比较观察鲎素和癌细胞诱导分化物对人胃癌细胞形态与超微结构变化的影响。方法 采用光镜、扫描电镜与透射电镜, 观察经 2.0 mg/L 鲎素、2.0 mmol/L 正丁酸钠和 1.0 mg/L 鲎素 + 1.0 mmol/L 正丁酸钠组合处理的人胃腺癌 BGC-823 细胞。结果 光镜观察显示, 鲎素和正丁酸钠以及鲎素 + 正丁酸钠处理的 BGC-823 细胞形态均较为一致, 细胞体积增大, 趋于扁平铺展状态, 细胞核质比例减小, 细胞核形状较圆整, 核仁数量减少。扫描与透射电镜观察可见经鲎素、正丁酸钠及其组合处理的 BGC-823 细胞均出现细胞表面微绒毛稀少, 细胞边缘丝状伪足减少, 片状伪足增多; 细胞核形态较规则, 核内异染色质减少, 常染色质增多; 细胞质内线粒体增多, 结构较为一致, 高尔基复合体呈较为典型发达状态, 并出现粗面内质网增多和多聚核糖体减少等变化。结论 鲎素具有与正丁酸钠等诱导分化物相似的改变人胃癌细胞形态与超微结构恶性表型特征的作用, 和与诱导分化物协同加成的诱导分化效果。

**[关键词]** 鲎素; 正丁酸钠; 胃腺癌细胞; 细胞形态; 扫描电镜; 超微结构

**[中图分类号]** Q247; Q28 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0529-1356(2006)03-326

## EFFECTS OF TACHYPLESIN AND N-SODIUM BUTYRATE ON THE MORPHOLOGY AND ULTRASTRUCTURE CHANGES OF HUMAN GASTRIC ADENOCARCINOMA CELLS LINE BGC-823

SHI Song-lin<sup>1,2</sup>, WANG Yong-yu<sup>1,2</sup>, LIANG Ying<sup>1,2</sup>, LI Qi-fu<sup>1,2\*</sup>

(1. Laboratory of Cell Biology, School of Life Science; 2. the Key laboratory of Ministry of Education for Cell Biology and Tumor Cell Engineering, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

**[Abstract Objective]** To compare the morphology and ultrastructure changes of human gastric adenocarcinoma cell line treated by tachyplesin and n-sodium butyrate. **Methods** Light microscope, scanning electron microscope and transmission electron microscope were used to observe human gastric adenocarcinoma cell line BGC-823 treated by 2.0 mg/L tachyplesin, 2.0 mmol/L n-sodium butyrate and 1.0 mg/L tachyplesin in combination with 1.0 mmol/L n-sodium butyrate respectively. **Results** Light microscope observation showed that BGC-823 cells treated by tachyplesin, n-sodium butyrate and tachyplesin + n-sodium butyrate possessed the similar cell modality as follow: the volume of cell increased, the shape of cell became flat and outspread, nucleocytoplasmic ratio decreased, the shape of nucleus was rounder, the number of nucleolus decreased. Scanning electron microscope and transmission electron microscope observation showed that, in the BGC-823 cells which were treated with tachyplesin, n-sodium butyrate and tachyplesin in combination with n-sodium butyrate respectively, microvilli and filopodia reduced, sheet pseudopodia increased, the shape of nucleus became regular, heterochromatin decreased while euchromatin increased, the number of mitochondria increased and its structure appeared consistent, Golgi complex turned to be typical, the amount of rough endoplasmic reticulum increased and that of polyribosome decreased. **Conclusion** All of these results showed that tachyplesin possessed the similar effects to n-sodium butyrate on changing morphology and ultrastructure of human gastric adenocarcinoma cells and possessed an additive role of inducing tumor cells to differentiate cooperatively with n-sodium butyrate to induce carcinoma cell differentiation.

**[Key words]** Tachyplesin; N-sodium butyrate; Gastric adenocarcinoma cell; Cellular morphology; Scanning electron microscope; Ultrastructure

[收稿日期] 2005-05-10 [修回日期] 2006-01-09

[基金项目] 国家自然科学基金资助[30170724]

[作者简介] 石松林(1974—), 男(汉族), 安徽省凤阳县人, 博士。

\*通讯作者(To whom correspondence should be addressed)

E-mail: chifulee@xmu.edu.cn Tel: (0592)2185363

鲎素(tachyplesin)是存在于具有活化石之称的海洋节肢动物鲎(horseshoe crab)血液中的一类小分子多肽<sup>[1]</sup>, 我们从中国鲎(Tachypelus tridentatus)血细胞中分离了这一活性组分, 并证实它具有诱导人胃癌和肝癌等肿瘤细胞分化的抗肿瘤作用<sup>[2,3]</sup>。为进一步分析鲎素诱导肿瘤细胞分化的效果, 本研究以

在肿瘤细胞诱导分化中广泛使用,对不同类型肿瘤细胞均具有显著诱导分化作用的小分子极性化合物正丁酸钠<sup>[4]</sup>作为平行对照,比较观察鲨素、正丁酸钠及其低剂量组合对人胃腺癌 BGC-823 细胞形态与超微结构的影响,从而为深入研究和鉴定鲨素等具有干预和调控细胞增殖和分化功能的海洋抗肿瘤低分子天然活性肽提供实验依据。

## 材料和方法

### 1. 鲨素的分离提取

参照 Nakamura 等<sup>[5]</sup>的方法,将鲨血细胞酸提取物进行 sephadexG-50、CM-sepharose CL-6B 柱层析,分离提取鲨素。

### 2. 细胞培养与诱导分化处理

2.1 细胞培养: BGC-823 细胞培养在 PRMI-1640 培养液中,内含 20%灭活小牛血清、青霉素  $10^5$  IU/L、链霉素 100 mg/L 以及卡那霉素 50 mg/L,置 37 °C 培养,接种 24 h 进行实验处理。

2.2 诱导分化处理:经分离纯化冻干的鲨素溶于 D-Hank 液中配制成 100 mg/L 浓度的干液,并以培养液配制成所需浓度作用液。正丁酸钠(n-sodium butyrate)购自 Sigma 公司,用适量 D-Hank 液溶解,定容配成 200 mmol/L 干液。实验中鲨素处理组(Ta)作用液浓度为 2.0 mg/L 鲨素,正丁酸钠处理组(SB)作用液为 2.0 mmol/L 正丁酸钠,鲨素+正丁酸钠处理组(Ta+SB)处理组作用液浓度为 1.0 mg/L 鲨素+1.0 mmol/L 正丁酸钠。实验过程实验组细胞弃旧培养液,分别更换为上述不同处理组作用液,对照组 BGC-823 细胞同时换上不含诱导物的新鲜培养液,连续培养后备用。

### 3. 光学显微镜样品制备与观察

将对照组和实验组细胞分别以  $5 \times 10^4$  /ml 浓度接种于放有盖玻片条的小青霉素瓶中,培养 72 h 后从小青霉素瓶中取出长有对照组和实验组细胞的盖玻片条,用 D-Hank 清洗 3 次, Bouin-Hollande 固定液固定 24 h,按常规 HE 染色制成标本。Olympus BH-2 型光学显微镜下观察摄片。

### 4. 扫描电子显微镜样品的制备与观察

对照组和实验组细胞按上法接种,经培养后分别从小青霉素瓶中取出长有对照组和实验组细胞的盖玻片条,经 pH7.2 的磷酸缓冲液(PBS,含 8 g/L NaCl、0.2 g/L KCl、2.89 g/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、0.2 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )漂洗 3 次,2.5%戊二醛固定 1 h, PBS 漂洗 3 次,1%锇酸固定 1 h,乙醇系列脱水,临界点干燥,真空喷镀金膜后,在日立 S-520 扫描电镜下观察摄片。

### 5. 透射电子显微镜样品的制备与观察

将 BGC-823 细胞以  $10 \times 10^4$  细胞/ml 接种于

100 ml 培养瓶中,培养 24 h 后实验组细胞分别加鲨素、正丁酸钠及其组合作用液处理。连续培养 10 d 后实验组和对照组细胞分别经 D-Hank 液洗涤,用橡皮刮刀将贴壁细胞从瓶底刮离移入离心管中,  $650 \times g$  离心 15 min,弃上清,2.5%戊二醛 4 °C 低温固定 1 h,0.1 mol/L PBS 洗 3 次,1%四氧化锇后固定,乙醇系列脱水,环氧树脂 618 包埋,醋酸双氧铀和枸橼酸铅双染色后,于 JEM 100CX II 型透射电镜下观察,记录摄片结果。

## 结 果

### 1. 光学显微镜观察

光镜观察可见 BGC-823 细胞大小不一、排列不规则。细胞呈上皮样、圆形、梭形、肾形等不规则形态,同时还较常见癌巨细胞、多核细胞、以及多极分裂相等。细胞体积较小,细胞核大,形态不规则,常见畸形核,核内常见多个核仁,细胞质较少,HE 染色不均匀,着色深浅不一(图 I-1)。

经 2.0 mg/L 鲨素处理后的 BGC-823 细胞形态较为一致,排列比较规则。细胞体积增大,趋于铺展状态,细胞形态较为一致,以上皮样细胞为主。细胞核质比例减少,细胞核较小、形状较圆整,核仁数量减少,细胞质比较丰富,HE 染色均匀(图 I-2)。而经 2.0 mmol/L 正丁酸钠处理后的 BGC-823 细胞形态产生明显变化,部分细胞出现长胞质突起,形成长梭形和星形细胞,部分细胞为扁平铺展状,其体积明显增大。细胞核质比例明显下降,细胞核多为圆形或椭圆形,核仁数目减少为 1~2 个,细胞质丰富,HE 染色较浅而均匀(图 I-3)。

BGC-823 细胞经 1.0 mg/L 鲨素+1.0 mmol/L 正丁酸钠组合处理后,细胞群体中既有多边形胞质突起的细胞又有扁平铺展的上皮样细胞,细胞形态变化明显,大部分细胞体积增大,核质比例减小,细胞核多为卵圆形,核仁数量减少,细胞质较丰富,HE 染色较均匀(图 I-4)。

### 2. 扫描电子显微镜观察

扫描电镜观察可见 BGC-823 细胞具有球形、梭形和扁平铺展形等形态细胞。各类型的细胞表面均存在丰富的微绒毛。在球形细胞的表面微绒毛分布十分密集,而在梭形细胞和铺展细胞的中部区域微绒毛分布比较密集,边缘区域则较稀疏。梭形和铺展细胞边缘均存在较多丝状伪足,铺展细胞边缘则有少量片状伪足(图 I-5,9)。

经鲨素、正丁酸钠及其组合处理的 BGC-823 细胞同样可见球形、梭形和扁平细胞等形态,但以扁平铺展细胞占大多数,其他形态细胞减少。各类型细胞表面微绒毛呈明显减少或消失,细胞表面较为光

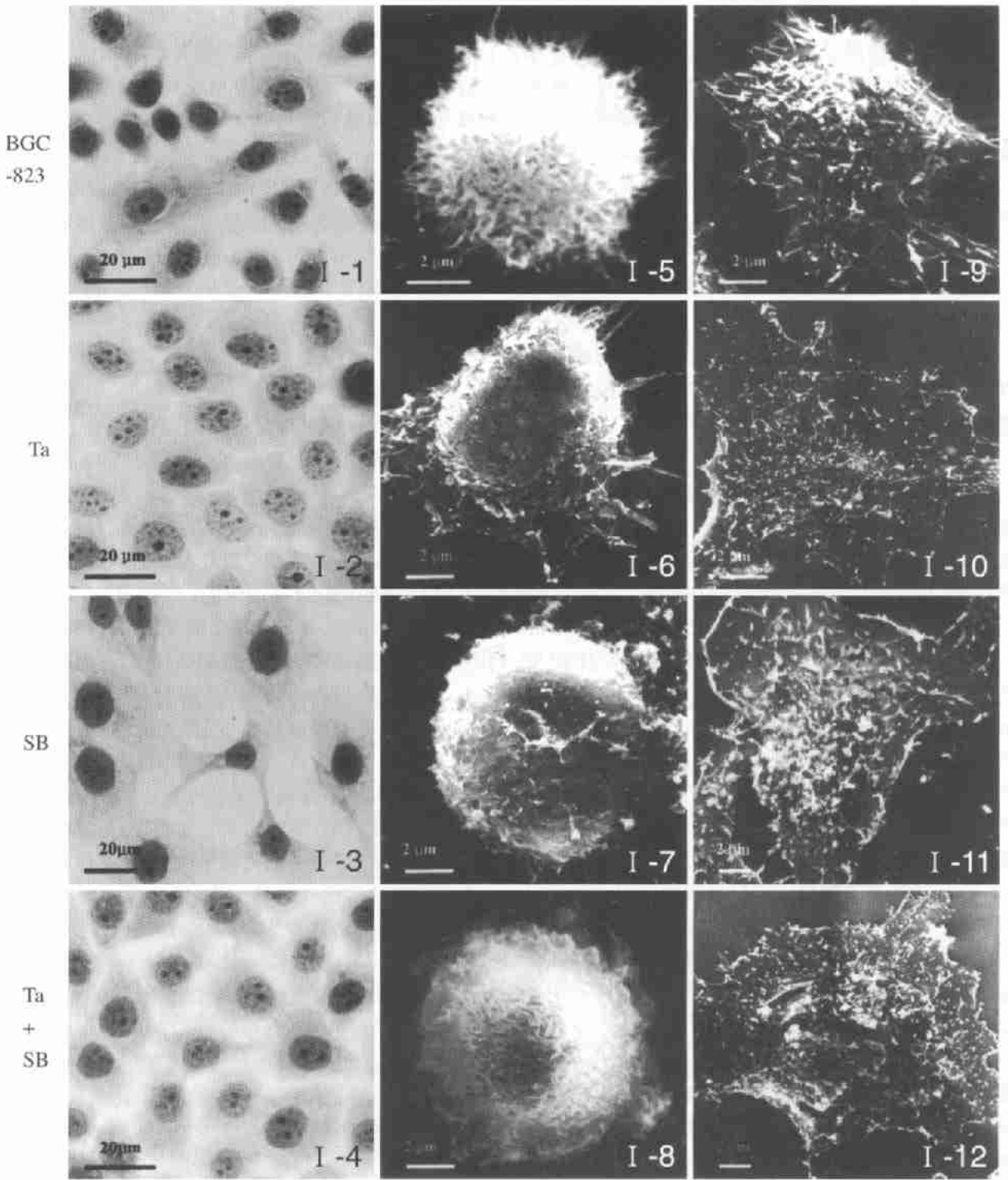


图 I 1~4 光镜观察照片示 BGC-823 细胞(图 I -1)、鲎素(Ta, 图 I -2)、正丁酸钠(SB, 图 I -3)和鲎素与正丁酸钠组合(Ta+SB, 图 I -4)处理组细胞群体。

图 I 5~8 扫描电镜观察示 BGC-823 球形细胞(图 I -5)表面微绒毛丰富, 细胞边缘有较多丝状伪足, 经鲎素(图 I -6)、正丁酸钠(图 I -7)、鲎素与正丁酸钠组合(图 I -8)处理的球形细胞表面微绒毛基本消失。

图 I 9~12 BGC-823 扁平细胞(图 I -9)表面有丰富的微绒毛、细胞边缘有较多丝状伪足, 经鲎素(图 I -10)、正丁酸钠(图 I -11)、鲎素与正丁酸钠组合(图 I -12)处理的扁平铺展细胞表面微绒毛稀少, 并萎缩变短, 细胞边缘出现片状伪足。

Fig. I 1-4 Light microscope observation showed BGC-823 cells (I -1) treated with tachyplesin (I -2), n-sodium butyrate (I -3) and tachyplesin+n-sodium butyrate (I -4).

Fig. I 5-8 Scanning electron microscope observation showed that in the BGC-823 global cells (I -5) treated with tachyplesin (I -6), n-sodium butyrate (I -7) and tachyplesin+n-sodium butyrate (I -8), microvilli and filopodia reduced.

Fig. I 9-12 On the surface of BGC-823 flat cells (I -9), the microvilli and filopodia are abundant when treated with tachyplesin (I -10), n-sodium butyrate (I -11) and tachyplesin+n-sodium butyrate (I -12), microvilli reduced, sheed pseudopodia increased.

滑并出现小泡状突起和皱痕状结构, 细胞边缘丝状伪足减少而片状伪足增多。其中经鲨素处理的细胞中, 球形和梭形细胞表面的微绒毛大多消失, 细胞边缘有少量丝状伪足。铺展细胞体积增大趋于扁平状态, 细胞表面的微绒毛萎缩成小泡状散在分布, 由中部向周围逐渐减少(图 I -6, 10)。经正丁酸钠处理细胞中球形与梭形细胞表面微绒毛稀疏, 萎缩变短形成小泡状结构, 铺展细胞表面微绒毛减少, 缩短为小泡状结构并主要集中于中部区域(图 I -7, 11)。而经鲨素和正丁酸钠组合处理后的 BGC-823 细胞中只存在少量梭形和球形细胞, 其表面微绒毛十分稀少, 细胞表面较为光滑, 细胞边缘丝状伪足很少并出现片状伪足结构。占细胞群体中多数的扁平铺展细胞其表面微绒毛多萎缩退化, 并形成较多的小泡状结构, 细胞边缘丝状伪足很少而出现较大型的片状伪足结构(图 I -8, 12)。

### 3. 透射电子显微镜观察

透射电镜观察结果显示, BGC-823 细胞体积较小, 形状不规则, 核质比例大。细胞核较大, 形态不规则。细胞核内异染色质团块较多, 核仁体积较大, 形状多样, 有较多核仁小泡, 并出现多个核仁。在细胞质内, 线粒体数量较少, 形状不规则, 线粒体嵴的数量较少, 基质的电子密度较低且不均匀, 并常见空泡化现象。高尔基复合体较小, 高尔基膜囊数目少排列不规则, 极性不明显, 膜囊腔有明显的膨胀现象。粗面内质网不发达, 数量少, 长度相对较短。细胞质多聚核糖体较多, 游离核糖体较少。有些细胞还有少量的分泌颗粒, 细胞表面还有较多的微绒毛(图 II-1, 5, 9)。

经诱导分化处理后的 BGC-823 细胞的超微结构发生了明显的变化。细胞体积增大, 形状比较规则, 核质比例减小, 细胞质中细胞器结构趋于正常。其中经 2.0 mg/L 鲨素处理后, 细胞体积增大明显, 核质比例减小。细胞核形态趋于规则, 一般呈椭圆形或卵圆形, 细胞核内异染色质减少、常染色质增多, 核仁体积缩小, 结构比较均一。在细胞质内, 线粒体的数量增多, 多呈典型短棒状或椭圆形。线粒体嵴的数量增多、变长, 而且基质的电子密度增高, 分布也比较均匀。高尔基复合体增大, 高尔基膜囊数目增加, 排列较为规则, 高尔基液泡和高尔基小囊泡增多, 结构较为典型。另外细胞质中粗面内质网的数量明显增多, 而且长度变长, 同时细胞质内多聚核糖体的数量减少、游离核糖体增多(图 II-2, 6, 10)。

经 2.0 mmol/L 正丁酸钠处理后的 BGC-823 细胞体积增大、核质比例减小。细胞核体积较小, 形状多为椭圆形, 与鲨素处理组相似。细胞核内异染色质显著减少, 核仁的体积小, 核仁结构显得较为致密均

一。在细胞质中, 线粒体的数量增多, 形态椭圆形或棒状, 线粒体嵴数量增多、基质比较均匀。高尔基复合体增大, 高尔基膜囊的数目增加, 结构典型。细胞质内粗面内质网数量增多、增长, 多聚核糖体减少、游离核糖体增多, 细胞边缘的微绒毛减少(图 II-3, 7, 11)。

鲨素+正丁酸钠联合诱导后的 BGC-823 细胞体积明显增大, 细胞核质比例减小。细胞核体积较小形状比较圆整。细胞核内异染色质显著减少、常染色质增多, 核仁较小、结构均匀。细胞质中线粒体数量增多, 呈较为典型的椭圆或短棒状, 线粒体内嵴数量增多、长度变长, 基质比较均一。高尔基复合体结构较为典型, 与鲨素和正丁酸钠单独处理后的变化类似。另外, 细胞质中粗面内质网数量增多, 多聚核糖体减少, 多为均匀分布的游离核糖体, 这比鲨素和正丁酸钠单独处理更为明显(图 II-4, 8, 12)。

## 讨 论

肿瘤细胞的形态和超微结构与其相应的正常细胞存在着较大的差别, 肿瘤细胞一般均表现出细胞形态大小不一致、核质比例较大, 核畸形、核仁较大数目较多, 细胞器不发达和细胞表面微绒毛增多等一系列恶性形态结构表型特征。因此, 考察和鉴定肿瘤细胞形态与超微结构特征的变化, 历来都是鉴定外源性物质尤其是诱导分化物对肿瘤细胞效应的重要判断指标<sup>9</sup>。而一系列化学诱导分化物诱导白血病、肝癌、肺癌细胞分化的结果均表明, 经诱导分化处理的癌细胞在形态结构上表现出与正常细胞相似的特征<sup>7-9</sup>。

BGC-823 细胞是一株增殖快, 分化程度低的恶性胃腺癌细胞, 本研究光镜、扫描电镜与透射电镜观察结果显示, 其具有典型的肿瘤细胞形态与超微结构恶性表型特征。经鲨素、正丁酸钠及其组合处理后, BGC-823 细胞则呈现出细胞大小较为一致、排列较为规则, 细胞体积增大、趋于铺展状态, 和上皮样细胞增多的状况; 并产生细胞核质比例减小, 细胞核型较为圆整, 核仁体积减小, 核内异染色质减少和常染色质增多的变化; 同时在细胞内出现了线粒体数量增加, 形态较一致, 线粒体嵴增多, 高尔基复合体结构典型和内质网数量增多等细胞器较为发达的现象, 以及细胞质内多聚核糖体减少, 游离核糖体增多和细胞表面微绒毛减少及细胞边缘丝状伪足减少, 片状伪足增多等一系列变化。这些变化和 BGC-823 细胞形态和超微结构特征有较大差异而与相应的正常细胞较为相似。

正丁酸钠是一种对肿瘤细胞具有明确诱导分化作用的小分子极性化合物, 在肿瘤细胞诱导分化实

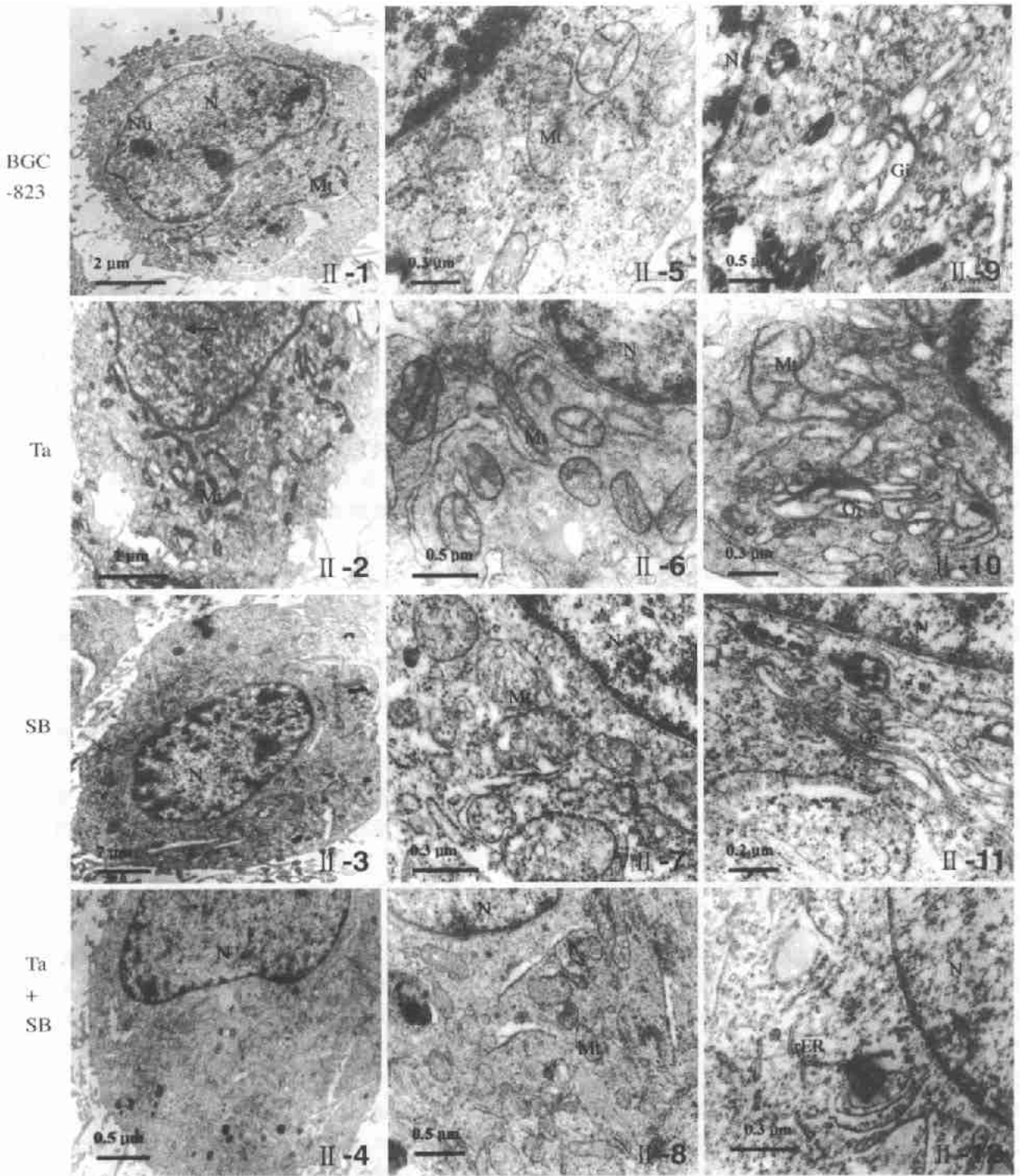


图 II-1-4 透射电镜观察照片示 BGC-823 细胞(图 II-1)核质比值大, 细胞核形不规则, 细胞质内细胞器少, 而经螯素(Ta, 图 II-2)、正丁酸钠(SB 图 II-3)和螯素与正丁酸钠组合(Ta+ SB 图 II-4)处理组细胞体积增大, 核质比值减小, 细胞核形较规则, 细胞质内细胞器增多。

图 II-5-8 透射电镜观察照片示 BGC-823 细胞(图 II-5)中线粒体(Mt)内嵴数量少, 基质电子密度低, 在经螯素(图 II-6)、正丁酸钠(图 II-7)、螯素与正丁酸钠组合(图 II-8)处理组细胞中线粒体内嵴增多, 基质电子密度增高。

图 II-9-12 BGC-823 细胞(图 II-9)和螯素(图 II-10)、正丁酸钠(图 II-11)、螯素与正丁酸钠组合(图 II-12)处理组细胞局部透射电镜照片, 示细胞内高尔基复合体(Gi)、粗面内质网(rER)等细胞器  
(图中字母分列示: N, 细胞核; Nu, 核仁; Mt, 线粒体; Gi, 高尔基复合体; rER, 粗面内质网)

Fig. II-1-4 Transmission electron microscope observation showed that in the BGC-823 cells (II-1) treated with tachyplesin (II-2), n-sodium butyrate (II-3) and tachyplesin+n-sodium butyrate (II-4), the volume of cell increased, nucleo-cytoplasmic ratio decreased, the shape of nucleus became regular, organelle increased.

Fig. II-5-8 Transmission electron microscope observation showed that in the BGC-823 cells (II-5) treated with tachyplesin (II-6), n-sodium butyrate (II-7) and tachyplesin+n-sodium butyrate (II-8), the mitochondrion cristae increased and its structure appeared consistent

Fig. II-9-12 Transmission electron microscope observation showed organelles in the BGC-823 cells (II-9) treated with tachyplesin (II-10), n-sodium butyrate (II-11) and tachyplesin+n-sodium butyrate (II-12) (N, nucleus; Nu, nucleolus; Mt, mitochondrion; Gi, Golgi complex; rER, rough endoplasmic reticulum)



验中得到广泛使用<sup>[4, 10]</sup>。本研究有关正丁酸钠对 BGC-823 细胞形态与超微结构变化的诱导效果与国内外学者有关正丁酸钠对胃癌和其他肿瘤细胞形态与超微结构变化的诱导分化作用的报道是一致的<sup>[11-13]</sup>, 显示正丁酸钠具有诱导 BGC-823 细胞分化的明确作用。而本研究以正丁酸钠为平行对照的实验结果直接显示了鲎素对 BGC-823 细胞形态和超微结构变化的影响与正丁酸钠的作用结果基本一致, 从而能进一步肯定鲎素有与癌细胞诱导分化物相似的诱导肿瘤细胞分化的作用。

不同诱导分化物的联合诱导分化在于加成其诱导分化效果和降低其作用剂量以减轻毒副作用, 不仅是癌细胞诱导分化研究的重要方向, 并对于肿瘤细胞诱导分化治疗的临床应用前景具有积极意义<sup>[14]</sup>。本研究光镜和扫描与透射电镜观察结果显示, 应用 1.0 mg/L 鲎素 + 1.0 mmol/L 正丁酸钠对 BGC-823 细胞的诱导处理所产生的细胞形态与超微结构特征变化具有与 2.0 mg/L 鲎素和 2.0 mmol/L 正丁酸钠单独处理同样明显的诱导分化效果。由此进一步表明, 鲎素在诱导肿瘤细胞分化中与癌细胞诱导分化物相似, 具有协同与加成的诱导分化效应, 本实验为鲎素在胃癌等肿瘤细胞诱导分化研究与诱导分化治疗提供了更为充分的科学依据。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Jwanaga S, Kawabata S, Muta T. New types of clotting factors and defence molecules found in horseshoe crab hemolymph; their structure and functions [ J ]. J Biochem, 1998, 123(1): 1-15.
- [ 2 ] Li QF, Ouyang GL, Li CY, et al. Effect of tachyplesin on the proliferation and expression of c-erbB-2 and p53 genes in BGC-823 cells [ J ]. Int J Modern Cancer Therapy, 2000, 3(2): 30-33.
- [ 3 ] Li QF, Ouyang GL, Li CY, et al. Effect of tachyplesin on the regulation of cell cycle in human hepatocarcinoma SMMC-7721 cells [ J ]. World J Gastroenterol, 2003, 9(3): 454-458.
- [ 4 ] Witt O, Schulze S, Kanbach K, et al. Tumor cell differentiation by butyrate and environmental stress [ J ]. Cancer Letters, 2001, 171 (2): 173-182.
- [ 5 ] Nakamura T, Furunaka H, Miyata T, et al. Tachyplesin a class of antimicrobial peptide from the hemolymph of the horseshoe crab (*Tachyplesus tridentatus*), isolation and chemical structure [ J ]. J Biochem, 1998, 263(32): 16709-16713.
- [ 6 ] Flickinger RA. Induction of tumor cell differentiation [ J ]. Differentiation, 2000, 65(5): 241-245.
- [ 7 ] Ryves WJ, Dimitrijevic S, Gorge PC, et al. HL-60 cell differentiation induced by phorbol and 12-deoxyphorbol esters [ J ]. Carcinogenesis, 1994, 15(11): 2501-2506.
- [ 8 ] Vesey DA, Cunningham JM, Seiden AC, et al. Dimethyl sulphoxide induces agrowth rate, altered cell morphology and increased epidermal growth-factor binding in HepG2 cells [ J ]. Biochem J, 1991, 277 (pt3): 773-777.
- [ 9 ] KKhan MZ, Freshney RI, Menicol AM, et al. Induction of phenotypic changes in SCLC cell line *in vitro* by hexamethylene bisacetamide, sodium butyrate, and cyclic AMP [ J ]. Ann Oncol, 1993, 4 (6): 499-507.
- [ 10 ] Sasahara Y, Mutoh M, Takahashi M, et al. Suppression of promotor-dependent transcriptional activity of inducible nitric oxide synthase by sodium butyrate in colon cancer cell [ J ]. Cancer Letters, 2002, 177(2): 155-161.
- [ 11 ] Li F, Wu YD, Wang YQ, et al. Some phenotypic changes in human colorectal carcinoma cells induced by sodium butyrate during differentiation [ J ]. J Chin Med Univ, 2000, 29(6): 404-407.  
李丰, 吴一迪, 王芸庆, 等. 丁酸钠诱导大肠癌细胞成熟分化中的表型变化 [ J ]. 中国医科大学学报, 2000, 29(6): 404-407.
- [ 12 ] Wu W, Yang Y, Cao J, et al. Effect of sodium butyrate on cytodynamics and ultrastructure in SW1116 [ J ]. Journal of Practical Oncology, 1995, 10(4): 232-234.  
吴伟, 杨骅, 曹江, 等. 丁酸钠对大肠癌细胞系 SW1116 动力学影响合超微结构改变的初步研究 [ J ]. 实用肿瘤杂志, 1995, 10(4): 232-234.
- [ 13 ] Teray Y, Nishida J, Horiuchi S, et al. Sodium butyrate induces growth arrest and senescence-like phenotypes in gynecologic cancer cells [ J ]. Int J Cancer, 2001, 94(2): 257-267.
- [ 14 ] Verlinden L, Verstuyf A, Mathieu C, et al. Differentiation induction of HL-60 cells by 1, 25(OH)(2)D-3 all trans retinoic acid,  $\gamma$  TGF-beta (2) and their combinations [ J ]. J steroid Biochem, 1997, 60(1-2): 87-97.

(编辑 郭崇洁)