

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.16.010

## HSF1 在子宫内膜癌细胞中的表达及其与抗氧化的相关性研究 \*

梁声茹 陈必良<sup>△</sup> 李 佳 张建芳 刘海霞

(第四军医大学西京医院妇产科 陕西 西安 710032)

**摘要 目的:**探讨子宫内膜癌细胞在受到过氧化氢刺激时热休克因子 1(Heat Shock Factor 1, HSF1)表达的变化,以及 HSF1 对肿瘤细胞抗凋亡能力的影响。**方法:**选择子宫内膜癌的 Ishikawa、HEC-1-B 及 RL95-2 三株细胞。分别测定细胞中 HSF1 基因转录以及翻译表达水平。给予细胞不同浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激后,检测细胞内 HSF1 的 mRNA 表达变化并且统计受刺激后细胞受抑制情况,观察细胞存活和生长与 HSF1 含量的关系。**结果:**三株细胞中 HSF1mRNA 和蛋白表达的基水平不同;在受到 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激后,细胞内 HSF1 表达有不同程度的升高;Ishikawa、HEC-1-B 细胞分别在受到较高浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激后,细胞存活率出现明显下降;而 RL95-2 细胞在受到相对低浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激后,细胞存活率即出现明显降低。**结论:**一定范围内浓度的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激能够上调子宫内膜癌细胞中 HSF1 在转录以及蛋白水平的表达,而过高的浓度会使细胞中 HSF1 表达减少,对于不同细胞来说 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 刺激的适宜浓度不同。而能使细胞增殖与增长发生明显变化的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 浓度与细胞内 HSF1 表达水平相关。

**关键词:**热休克因子 1;子宫内膜癌;过氧化氢;氧化应激;细胞凋亡

**中图分类号:**R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)16-3038-04

## Heat Shock Factor-1 Expression in Different Endometrial Cancer Cells and its Effects on Tumor Cell Apoptosis Resistance\*

LIANG Sheng-ru, CHEN Bi-liang<sup>△</sup>, LI Jia, ZHANG Jian-fang, LIU Hai-xia

(Department of Gynecology and Obstetrics, Xijing hospital, Forth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the expression of Heat Shock Factor 1 (HSF1) mRNA gene in hydrogen peroxide treated endometrial cancer cells, and the influence of HSF1 on tumor cell apoptosis resistance. **Methods:** Three human endometrial cancer cell lines, Ishikawa and HEC-1-B and RL95-2 cells were performed in this study. HSF1 mRNA gene and protein expression of three cell lines were measured. Cells were treated with different hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) concentrations. The effect on HSF1 expression, cell growth and viability was analyzed. **Results:** HSF1 mRNA and protein expression of three cell lines was different. HSF1 mRNA gene expression increased with varying degrees in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treated cells. In comparison, cell growth and viability of Ishikawa and HEC-1-B cells decreased significantly in higher concentration H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, while that of RL95-2 cells declined considerably. **Conclusions:** H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> induced different effects according to cell type, time of incubation and concentration exposure. Within a certain range of concentration, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> increases HSF1 expression in endometrial cancer cells. However excessive H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> can reduce HSF1 expression in cells, and the suitable concentration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is different for variant cells. The H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> concentration that can make the obvious changes in cell proliferation and growth is associated with HSF1 expression levels in the cell.

**Key words:** Heat Shock Factor-1(HSF1); Endometrial cancer; Hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>); Oxidative stress; Apoptosis

**Chinese Library Classification(CLC):** R737.33 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2014)16-3038-04

### 前言

子宫内膜癌是女性生殖器官三大恶性肿瘤之一,占女性生殖道恶性肿瘤的 20%~30%,近年来在世界范围内发病率呈上升趋势<sup>[1]</sup>。针对肿瘤的扩散、复发及预测需要一个较好的候选标志物,但是目前关于子宫内膜癌的生物学指标仍有些不足,因此我们有必要进一步发现新的子宫内膜癌生物学指标。热休克反应是细胞的一种适应性反应,有助于维持细胞内稳态压

力。热休克蛋白基因在无脊椎动物,如酵母菌、线虫、果蝇中,被一种热休克因子 (Heat Shock Factor, HSF) 调控进行转录激活。相比之下,在脊椎动物中热休克因子已经进化为四种 HSF<sup>[2]</sup>。其中,HSF1 与无脊椎动物的 HSF 是功能对等的,缺乏 HSF1 基因的小鼠无法提高 HSP 水平,表明 HSF1 在哺乳动物的功能不能被其他 HSFs 所替代。不同种类的 HSF 结构上相似,但功能上存在不同程度的差异<sup>[3-6]</sup>。HSF1 是一种转录调控因子,它可以被热应激、氧化应激、化学应激和生理应激等激活,主要介导热

\* 基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81001161)

作者简介:梁声茹(1989-),硕士研究生, E-mail:lsandra131@126.com, 电话:13022900258

<sup>△</sup>通讯作者:陈必良, E-mail:cblixjh@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2013-10-30 接受日期:2013-11-22)

休克蛋白(HSPs)合成,它的热休克应答效应对机体有着很重要的病理生理学意义<sup>[7-11]</sup>。目前大量研究表明 HSF1 通过调节各种 HSPs 基因以及多种非 HSPs 基因的表达,从而影响生物机体各方面的生命活动<sup>[12-14]</sup>。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 主要试剂 胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司),DMEM 培养基(Hyclone 公司),Trizol(Invitrogen 公司),反转录试剂盒(TaKaRa 公司),SYBR Premix Ex Taq II 实时荧光定量 PCR 试剂盒(TaKaRa 公司),兔抗人 HSF1 抗体(Bioworld),MTT(Sigma 公司),DMSO(Sigma 公司)。引物订购由上海生工生物工程有限公司完成。

1.1.2 主要仪器 超净工作台(苏州净化设备公司);CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(Thermo 公司);5414 型台式离心机(Eppendorf 公司);紫外分光光度计(Bio-Rad 公司);PCR 仪(Bio-Rad 公司);DYY-6C 电泳仪(北京市六一仪器厂);DMN-9602 酶联免疫检测仪(北京普朗新技术有限公司)。

1.1.3 细胞株 Ishikawa、HEC-1-B 及 RL95-2 细胞。

### 1.2 实验方法

1.2.1 实验分组 实验组按照给药浓度分为 5 个小组,对照组以等量培养液代替过氧化氢刺激。

1.2.2 细胞培养 将人子宫内膜癌 HEC-1-B、Ishikawa 及 RL95-2 细胞置于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液中,在 37℃,饱和湿度,5% CO<sub>2</sub> 培养箱中常规培养。

1.2.3 过氧化氢刺激 设置对照组和 5 个不同给药浓度实验组,取对数期生长的肿瘤细胞接种于 6 孔培养板,置 37℃,5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 24 h,分别加入不同浓度以培养液稀释的过氧化氢溶液 3 mL,使其终浓度分别为 50 μmol/L、100 μmol/L、300 μmol/L、500 μmol/L、700 μmol/L 过氧化氢,对照组加入 3 mL 培养液,处理 1h。

1.2.4 qRT-PCR 检测 HSF1 mRNA 的表达水平 取经过“1.2.3”项下处理的细胞,用 PBS 洗两次加入 1 mL Trizol,室温裂解 1 min 后吹下细胞置于 EP 管中加氯仿,4℃ 离心 10 min 将上清移至另一 EP 管中加等体积异丙醇,室温静置 10 min 后 4℃ 离心 10 min,小心吸弃上清液加 75%乙醇 4℃ 离心 5 min,弃上清空气干燥 5 min,溶于 40 μL DEPC 处理水中。用紫外分光光度计测定浓度之后,用逆转录试剂盒得到 cDNA,以 GAPDH 作为内参照,进行 qPCR 扩增(表 1)。qPCR 扩增条件为 95℃ 预变性 3 min,95℃ 10 s,56℃ 15 s,72℃ 15 s,45 个循环结束。PCR 反应结束后对所扩增的 PCR 产物熔解曲线进行分析,荧光定量 PCR 仪读取循环阈值(cycle threshold,Ct),首先计算各样本测定基因 Ct 值与内对照 GAPDH 基因 Ct 值的差值 ΔCt,再用各实验组样本的 ΔCt 减去正常对照样本的 ΔCt,得到 ΔΔCt,采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法进行计算,表示实验组测定基因相对的表达水平。

1.2.5 Western blot 检测 HSF1 的蛋白表达水平 取经过“1.2.3”项处理的细胞,用冰 RIPA 提取各组细胞的蛋白,以 BCA 法得到标准曲线求得样品浓度,加入上样缓冲液,煮沸 5 min。上样、SDS-PAGE 电泳、转膜、5%脱脂奶粉封闭、加入一抗、二抗,在

化学发光检测系统中检测成像结果。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Table 1 Primers for quantitative real-time PCR analyses

| Gene                | Primers(5'→3')                                               |
|---------------------|--------------------------------------------------------------|
| HSF1(Gene ID:3297)  | Sense:GCACATTCCATGCCCAAGTAT<br>Antisense:GGCCTCTCGTCTATGCTCC |
| GAPDH(Gene ID:2597) | Sense:TCACCAGGGCTGCTTTTAAC<br>Antisense:GACAAGCTTCCCGTTCTCAG |

\*注:HSF1:热休克因子 1;GAPDH:磷酸甘油醛脱氢酶

\*Note:HSF1: Heat Shock Factor 1;GAPDH: glyceraldehyde-phosphate dehydrogenase

1.2.6 MTT 检测 将细胞进行消化、离心收集细胞沉淀、用终浓度分别为 50 μmol/L、100 μmol/L、300 μmol/L、500 μmol/L、700 μmol/L 过氧化氢的培养液重悬、细胞计数,同时设置空白对照组,每组设 5 个复孔。将稀释后的细胞悬液加入 96 孔板,放入孵箱常规培养,分别在 3 h、6 h、12 h、24 h 后取出一块 96 孔板每孔加入 MTT 溶液 20 μL,孵育 4 h 后吸弃孔内上清液加入 DMSO 150 μL,在酶联免疫仪上选择 490 nm 波长测定吸光度值,记录并计算 5 孔的平均值。

1.2.7 统计学方法 应用 Graphpad Prism 5 软件处理实验数据并作出柱状图,均数的比较采用两独立样本 t 检验。

## 2 结果

### 2.1 三株细胞内 HSF1 的 mRNA 和蛋白表达基水平

使用 qRT-PCR、Western blot 测定三株子宫内膜癌细胞中 HSF1 的基水平含量,发现 Ishikawa 细胞中表达最高,HEC-1-B 其次,RL95-2 最低(图 1 和图 2)。

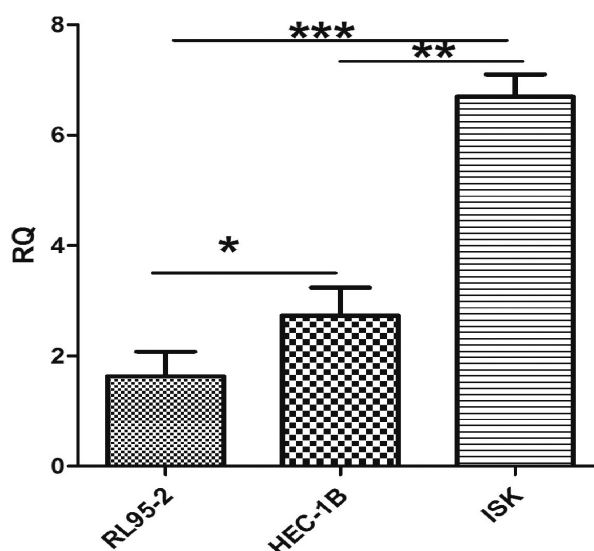


图 1 RL95-2、HEC-1-B 和 Ishikawa 细胞中 HSF1 mRNA 表达

\*表示  $P < 0.05$ ; \*\*表示  $P < 0.01$ ; \*\*\*表示  $P < 0.001$

Fig. 1 HSF1 mRNA gene expression in RL95-2, HEC-1-B and Ishikawa cells. \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$

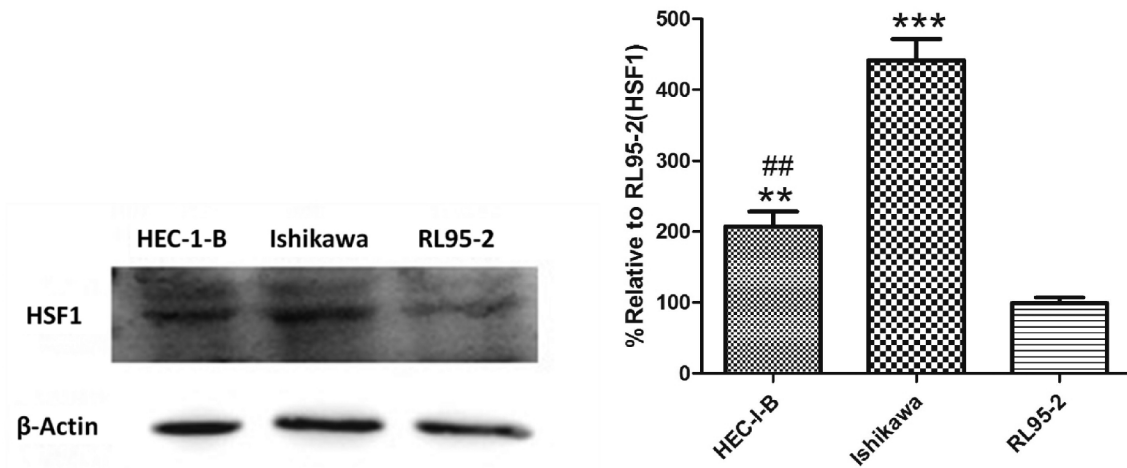


图2 Western blot 测定 RL95-2、HEC-1-B 和 Ishikawa 细胞中 HSF1 蛋白表达水平

\*\* 表示与 RL95-2 比较  $P > 0.01$ ; \*\*\* 表示与 RL95-2 比较  $P < 0.001$ ; ## 表示与 Ishikawa 比较  $P < 0.01$ 。

Fig2 Levels of HSF1 protein in RL95-2, HEC-1-B and Ishikawa cells by Western blotting

\*\* $P < 0.01$  compared to RL95-2; \*\*\* $P < 0.001$  compared to RL95-2; ## $P < 0.01$  compared to Ishikawa.

## 2.2 受到不同浓度 $H_2O_2$ 刺激后细胞内 HSF1 表达的变化

三株细胞在受到  $H_2O_2$  刺激后, 细胞内 HSF1 的 mRNA 表达均有不同程度的升高(图 3)。其中 HEC-1-B 细胞在受到 300  $\mu\text{mol/L}$  过氧化氢刺激时 HSF1 表达出现明显增高, 而当刺激浓度为 500  $\mu\text{mol/L}$  时 HSF1 的表达出现降低, 700  $\mu\text{mol/L}$  浓度刺激时甚至低于基水平; Ishikawa 细胞当受到 300  $\mu\text{mol/L}$  过氧化氢刺激时 HSF1 表达出现明显增高, 刺激浓度为 500  $\mu\text{mol/L}$  时

继续升高, 而当浓度到达 700  $\mu\text{mol/L}$  时 HSF1 表达较 500  $\mu\text{mol/L}$  有所降低; RL95-2 细胞在 50  $\mu\text{mol/L}$  低浓度过氧化氢刺激时 HSF1 表达即出现明显上升, 当浓度 300  $\mu\text{mol/L}$  时 HSF1 表达与低浓度相比已有所降低, 当大于等于 500  $\mu\text{mol/L}$  过氧化氢刺激时 HSF1 出现了低于基水平的表达。可见以适当浓度的过氧化氢刺激可以上调细胞内 HSF1 表达水平, 而过高浓度的刺激则会使 HSF1 表达水平降低。

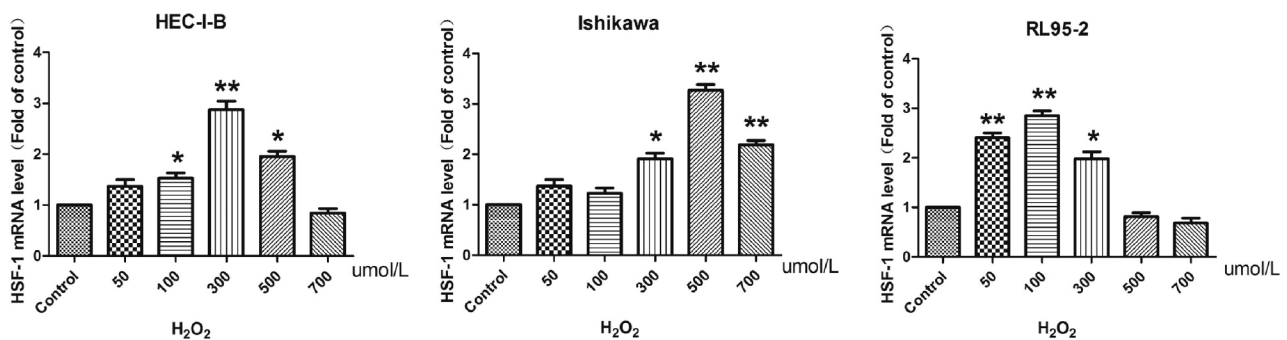


图3 HEC-1-B、Ishikawa 和 RL95-2 细胞受不同浓度过氧化氢刺激后 HSF1 的 mRNA 表达水平

\* 表示与对照组(未给予  $H_2O_2$  刺激)比较  $P < 0.05$ ; \*\* 表示与对照组比较  $P < 0.01$ 。

Fig. 3 HSF1 mRNA gene expression in HEC-1-B, Ishikawa and RL95-2 cells treated with different  $H_2O_2$  concentrations

\* $P < 0.05$  compared to control (cells not treated with  $H_2O_2$ ); \*\* $P < 0.01$  compared to control.

## 2.3 MTT 法测定细胞增殖和生长曲线

三株细胞受到刺激后 MTT 测定结果显示, Ishikawa、HEC-1-B 细胞分别在受到浓度为 700  $\mu\text{mol/L}$  和 500  $\mu\text{mol/L}$  的  $H_2O_2$  刺激后, 细胞抑制率显著增高, 具有统计学意义; 而 RL95-2 细胞在受到 300  $\mu\text{mol/L}$  的  $H_2O_2$  刺激后, 细胞抑制率即出现具有统计学意义的明显改变。这与三株细胞内 HSF1 基水平测定的结果呈现相关性, HSF1 基水平最高的 Ishikawa 细胞

抑制率  $> 50\%$  时的刺激浓度最高, 为 700  $\mu\text{mol/L}$ ; HSF1 基水平最低的 RL95-2 细胞出现抑制率  $> 50\%$  时的刺激浓度最低, 为 300  $\mu\text{mol/L}$ ; 而 HSF1 基水平介于两者之间的 HEC-1-B 细胞出现抑制率  $> 50\%$  时也处于 500  $\mu\text{mol/L}$  的中间浓度。我们可以认为 HSF1 的高表达有利于细胞抵抗氧化应激损伤, 从而增强了细胞的抗凋亡能力。

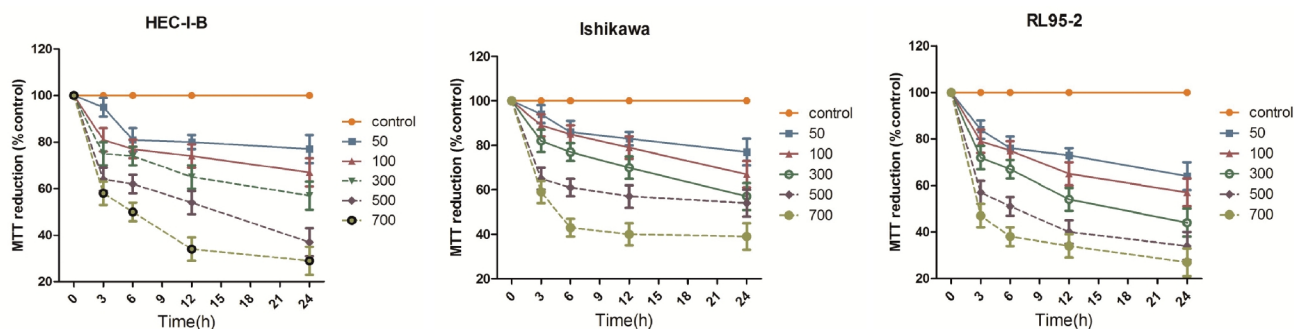


图4 HEC-1-B、Ishikawa 和 RL95-2 细胞受不同浓度过氧化氢刺激后细胞抑制情况

Fig. 4 The effect of different  $H_2O_2$  concentrations on proliferation of HEC-1-B, Ishikawa and RL95-2 cells

### 3 讨论

子宫内膜癌是发生于子宫内膜的一组上皮性恶性肿瘤,好发于围绝经期和绝经后女性,为女性常见的生殖道恶性肿瘤之一。随着社会的发展和经济条件的改善,近年来子宫内膜癌的发病率和病死率呈上升趋势。子宫内膜癌的具体发病原因目前尚不明确,一般认为是受雌激素长期、单一的刺激所引起的子宫内膜上皮细胞失控,从而增殖过度,癌基因被激活,抑癌基因失活、细胞信号转导途径表达异常。

为了抑制蛋白应激毒性和保持蛋白质平衡,生物具有可感应刺激应力的分子机制来检测和中和蛋白损伤。应激细胞一个突出的特点是热休克蛋白(HSPs)表达升高,它可以帮助错误折叠的多肽重新折叠并抑制蛋白聚合<sup>[9]</sup>。热休克反应是由热休克因子1(HSF1)激活转录的,HSF1在细胞内通过调控热休克蛋白对细胞起到保护作用。有关HSF1功能与结构的研究已经进行了许多年,它已被证明在细胞周期进程和细胞凋亡中扮演重要角色并且与许多疾病过程相关<sup>[16-18]</sup>。尽管HSF1保护细胞和有机体来对抗严重的有害刺激的作用已被广泛研究,但在HSF1感知不同形式刺激过程中的定性、定量方面仍知之甚少,关于HSF1在子宫内膜癌中的作用及影响也尚不明确。

现在临床上子宫内膜癌的常用治疗药物如顺铂、阿霉素、紫杉醇、环磷酰胺、氟尿嘧啶、丝裂霉素、依托泊苷、抗雌激素制剂等,主要是通过干扰核酸合成代谢、与DNA作用干扰其复制功能、抑制有丝分裂、抑制蛋白质合成等达到治疗目的<sup>[19,20]</sup>。目前临床使用的抗肿瘤化学治疗药物均有不同程度的毒副作用,这是限制药物剂量或使用的直接原因。它们在杀伤肿瘤细胞的同时,又会杀伤正常组织的细胞,尤其是杀伤人体中生长发育旺盛的血液、淋巴组织细胞等。而这些细胞与组织是人体重要的免疫防御系统,破坏了人体的免疫系统,癌症就可能迅速发展,造成严重后果。近期的毒性反应有局部反应(如局部组织坏死、栓塞性静脉炎等)和全身性反应(消化道、造血系统、免疫系统、皮肤和粘膜反应、神经系统、肝功能损害、心脏反应、肺毒性反应、肾功能障碍及其他反应等)。远期毒性反应主要是生殖功能障碍及致癌作用、致畸作用等。此外,化疗由于其毒副作用,有时还可出现并发症<sup>[21]</sup>。

该实验主要针对子宫内膜癌 HSF1 表达水平不同的细胞株,研究在受到过氧化氢刺激时细胞状态与 HSF1 基水平之间

的关系,实验结果显示处理后细胞的抑制率与 HSF1 表达水平呈负相关。这反应出 HSF1 在过氧化氢的刺激下对细胞起到保护作用,降低了细胞抑制率,对细胞抗凋亡能力产生了有利影响。既然肿瘤内高水平的 HSF1,能使肿瘤比普通细胞具有更强的抗凋亡能力,那么假如在进行化学治疗的同时也对 HSF1 进行抑制,是否能提高肿瘤细胞的药物敏感性而减少化疗药物的用量和毒副作用,这对临床肿瘤治疗很有意义。

### 参考文献(References)

- [1] 丰有吉,沈铿. 妇产科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:334-338  
Feng You-ji, Shen Jian. Gynecology and Obstetrics [M]. People's Medical Publishing House, 2010:334-338
- [2] Xiao X, Zuo X, Davis AA, et al. HSF1 is required for extra-embryonic development, postnatal growth and protection during inflammatory responses in mice[J]. EMBO J, 1999, 18(2):5943-52
- [3] Ostling P, Bjork JK, Roos-Mattjus P, et al. Heat shock factor 2HSF2 contributes to inducible expression of hsp genes through interplay with HSF1[J]. J Biol Chem, 2007, 282:7077-86
- [4] Wang G, Zhang J, Moskopidis D, et al. Targeted disruption of the heat shock transcription factor hsf-2 gene results in increased embryonic lethality, neuronal defects, and reduced spermatogenesis [J]. Genesis, 2003, 36:48-61
- [5] Fujimoto M, Hayashida N, Katoh T, et al. A novel mouse HSF3 has the potential to activate nonclassical heat-shock genes during heat shock[J]. Mol. Biol. Cell, 2010, 21:106-16
- [6] Fujimoto M, Izu H, Seki K, et al. HSF4 is required for normal cell growth and differentiation during mouse lens development[J]. EMBO J, 2004, 23:4297-306
- [7] Lindquist S. The heat-shock response [J]. Annu. Rev. Biochem, 1986, 55:1151-91
- [8] Kubota H, Yamamoto S, Itoh E, et al. Increased expression of co-chaperone HOP with HSP90 and HSC70 and complex formation in human colonic carcinoma [J]. Cell Stress Chaperones, 2010, 15: 1003-1011
- [9] Hsu H, Lin J, Huang W, et al. Chemoresistance of lung cancer stemlike cells depends on activation of Hsp27[J]. Cancer, 117, 2010, 1516-1528
- [10] Barginear MF, Poznak CV, Rosen N, et al. The heat shock protein 90 chaperone complex: an evolving therapeutic target, Curr [J]. Cancer, 2008, 8:522-535

(下转第 3059 页)

发病率增高相关,与冠心病的严重程度相关。心力衰竭是心脏疾病进展的末期表现,在心脏病的末期阶段,尿酸是否也起着重要的作用?末期阶段的尿酸水平的高低,是否与患者的预后相关?尿酸的水平的高低是否可以作为患者预警指标的一项,并由此判断患者的预后及转归?控制尿酸水平的治疗是否可以给冠心病患者带来收益?在后期的研究中,我们将增加对心力衰竭患者的病例分析及预后随访观察,以更加明确尿酸水平在心血管疾病的发生、发展中所扮演的角色和所起到的作用,为冠心病的预防、诊治及康复指导提供依据。

#### 参考文献(References)

- [1] Verdecchia P, Schillaci G, Reboldi G, et al. Relation between serum uric acid and risk of cardiovascular disease in essential hypertension: the PIUMA study[J]. Hypertension, 2000, 36(6): 1072-1078
- [2] Gur M, Yilmaz R, Demirbag R, et al. Relation of serum uric acid levels with the presence and severity of angiographic coronary artery disease[J]. Angiology, 2008, 59(2): 166-171
- [3] Anker SD, Doehner W, Rauchhaus M, et al. Uric acid and survival in chronic heart failure: validation and application in metabolic, functional, and hemodynamic staging [J]. Circulation, 2003, 107(15): 1991-1997
- [4] Edwards NL. The role of hyperuricemia in vascular disorders [J]. Curr Opin Rheumatol, 2009, 21(2): 132-137
- [5] Edwards NL. The role of hyperuricemia and gout in kidney and cardiovascular disease [J]. Cleve Clin J Med, 2008, 75 (Suppl 5): S13-S16
- [6] Chen JH, Chuang SY, Chen HJ, et al. Serum uric acid level as an independent risk factor for all-cause, cardiovascular, and ischemic stroke mortality: a Chinese cohort study[J]. Arthritis Rheum, 2009, 61 (2): 225-232
- [7] Lin GM, Li YH, Zheng NC, et al. Serum uric acid as an independent predictor of mortality in high-risk patients with obstructive coronary artery disease: a prospective observational cohort study from the ET-CHD registry, 1997-2003[J]. J Cardiol, 2013, 61(2): 122-127
- [8] Abbott RD, Brand FN, Kannel WB, et al. Gout and coronary heart disease: the Framingham study [J]. J Clin Epidemiol, 1988, 41(3): 237-242
- [9] Culleton BF, Larson MG, Kannel WB, et al. Serum uric acid and risk for cardiovascular disease and death: the Framingham Heart study[J]. Ann Intern Med, 1999, 131(1): 7-13
- [10] Freedman DS, Williamson DF, Gunter EW, et al. Relation of serum uric acid to mortality and ischemic heart disease: the NHANES I epidemiologic follow-up study [J]. Am J Epidemiol, 1995, 141(7): 637-644
- [11] Fang J, Alderman MH. Serum uric acid and cardiovascular mortality: the NHANES I epidemiologic follow-up study, 1971-1992[J]. JAMA, 2000, 283(18): 2404-2410
- [12] Krishnan E, Baker JF, Furst DE, et al. Gout and the risk of myocardial infarction[J]. Arthritis Rheum, 2006, 54(8): 2688-2696
- [13] Dutta A, Henley W, Pilling LC, et al. Uric acid measurement improves prediction of cardiovascular mortality in later life [J]. J Am Geriatr Soc, 2013, 61(3): 319-326
- [14] Ioachimescu AG, Brennan DM, Hoar BM, et al. Serum uric acid is an independent predictor of all-cause mortality in patients at high risk of cardiovascular disease: a preventive cardiology information system (PreCIS) database cohort study [J]. Arthritis Rheum, 2008, 58 (2): 623-630
- [15] Duran M, Kalay N, Akpek M, et al. High levels of serum uric acid predict severity of coronary artery disease in patients with acute coronary syndrome[J]. Angiology, 2012, 63(6): 448-452
- [16] Feig DI, Soletsky B, Johnson RJ. Effect of allopurinol on blood pressure of adolescents with newly diagnosed essential hypertension: a randomized trial[J]. JAMA, 2008, 300(8): 924-932

#### (上接第 3041 页)

- [11] Citri A, Harari D, Shohat G, et al. HSP90 recognizes a common surface on client kinases[J]. J. Biol. Chem, 2006, 281(20): 14361-14369
- [12] McMillan DR, Xiao X, Shao L, et al. Targeted disruption of heat shock transcription factor 1 abolishes thermotolerance and protection against heat-inducible apoptosis[J]. J. Biol. Chem, 1998, 273: 7523-7528
- [13] Ehrlich ES, Wang T, Luo K, et al. Regulation of HSP90 client proteins by a Cullin5-RING E3 ubiquitin ligase. [J]. PNAS 106, 2009, 20330-20335
- [14] Knowlton AA, Sun L. Heat-shock factor-1, steroid hormones, and regulation of heat-shock protein expression in the heart [J]. Am J Physiol, 2001, 280: H455-H464
- [15] Julius A, Lea S. Regulation of HSF1 function in the heat stress response: implications in aging and disease [J]. Annu. Rev. Biochem, 2011, 80: 1089-115
- [16] Shamovsky I, Nudler E. New insights into the mechanism of heat shock response activation [J]. Cellular and molecular life sciences, 2008, CMLS 65, 855-861
- [17] Dai C, Whitesell L, Rogers AB, et al. Heat shock factor 1 is a powerful multifaceted modifier of carcinogenesis [J]. Cell, 2007, 130 (6): 1005-1018
- [18] Morimoto RI. Proteotoxic stress and inducible chaperone networks in neurodegenerative disease and aging[J]. Genes, 2008, 22(11): 1427-1438
- [19] Federação Brasileira das Associações de Ginecologia e Obstetrícia and Sociedade Brasileira de Cancerologia. Endometrial carcinoma: treatment[J]. Rev Assoc Med Bras, 2012, 58(3): 281-286
- [20] Thigpen JT, Brady MF, Homesley HD, et al. Phase III trial of doxorubicin with or without cisplatin in advanced endometrial carcinoma: a gynecologic oncology group study [J]. J Clin Oncol, 2004, 22(19): 3902-3908
- [21] Zack E. Chemotherapy and biotherapeutic agents for autoimmune diseases[J]. Clin J Oncol Nurs, 2012, 16(4): 125-132