

肿瘤热疗的细胞分子作用机制及应用进展

彭远飞, 郑民华

彭远飞, 郑民华, 上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科、上海市微创外科临床医学中心 上海市 200025
郑民华, 现任上海交通大学医学院瑞金临床医学院副院长, 瑞金医院副院长, 外科副主任, 主任医师, 上海市微创外科临床医学中心主任, 并兼任世界内镜外科联盟理事, 亚洲内镜与腹腔镜外科医师学会(ELSA)常务理事, 亚太疝学会创始委员, 中华医学会腹腔镜与内镜外科科学组主任委员, 中国抗癌协会大肠癌专业委员会常委, 中国抗癌协会大肠癌专业委员会腹腔镜外科科学组组长, 上海医学会循证医学学会委员, 上海市内镜手术质控中心专家组成员。共发表论文100余篇, 5篇被SCI收录, 出版专著3本, 参编8本。

通讯作者: 郑民华, 200025, 上海市瑞金二路197号, 上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科、上海市微创外科临床医学中心。
zmhtiger@yeah.net

电话: 021-64370045-664553

收稿日期: 2007-03-08 接受日期: 2007-03-31

Cellular and molecular mechanism and application of hyperthermia for tumor therapy

Yuan-Fei Peng, Min-Hua Zheng

Yuan-Fei Peng, Min-Hua Zheng, Department of General Surgery, Ruijin Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiao Tong University; Shanghai Minimally Invasive Surgery Center, Shanghai 200025, China

Correspondence to: Min-Hua Zheng, Department of General Surgery, Ruijin Hospital Affiliated to Medical College of Shanghai Jiao Tong University; Shanghai Minimally Invasive Surgery Center, 197 Ruijin Second Road, Shanghai 200025, China. zmhtiger@yeah.net

Received: 2007-03-08 Accepted: 2007-03-31

Abstract

Hyperthermia is effective in the treatment of neoplasm, but its mechanism remains unclear for a long time. In recent years, great advances were achieved on its mechanism. *In vitro* and *in vivo* studies show that heat-induced apoptosis plays a dominant role in mild and moderate hyperthermia while necrosis in serious one. Heat induces apoptosis through mitochondria or/and death receptor pathways, and oxidative stress, intracellular Ca^{2+} increase and some molecules such as p53 and Bax play important roles in this process. Based on this mechanism, new therapies have been investigated and developed, including hyperthermia combined with gene therapy, calcium- and oxidative stress-targeted therapy, or decreasing extracellular pH value, which may

remarkably enhance the effect of hyperthermia.

Key Words: Neoplasm; Hyperthermia; Mechanism; Application

Peng YF, Zheng MH. Cellular and molecular mechanism and application of hyperthermia for tumor therapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2007;15(12):1319-1323

摘要

热疗是肿瘤治疗的有效手段之一,但是其作用机制长期不甚明了。近年来,随着热疗重新成为研究的热点之一,热疗的作用机制研究取得了很大进展。研究表明,亚高温热疗杀伤细胞以诱导细胞凋亡为主,而高温热疗则直接导致细胞坏死。热诱导凋亡通过线粒体或(和)死亡受体途径实现,氧化应激、胞内 Ca^{2+} 增高等诱导凋亡过程中起重要作用。基于热诱导细胞凋亡机制的一些联合治疗方法,如热疗联合基因治疗、氧化应激、 Ca^{2+} 靶向治疗以及降低细胞外pH值等可显著增强热疗作用。

关键词: 肿瘤; 热疗; 机制; 应用

彭远飞, 郑民华. 肿瘤热疗的细胞分子作用机制及应用进展. *世界华人消化杂志* 2007;15(12):1319-1323

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/15/1319.asp>

0 引言

肿瘤热疗是肿瘤治疗的重要手段之一。近年来,随着热疗设备的不断革新和技术的不断进步,热疗重新成为研究的热点。于此同时,伴随着细胞分子生物学的飞速发展及其在热疗领域的渗透应用,热疗的细胞分子作用机制也已经有了很大进展,现就肿瘤热疗作用的细胞分子作用机制作一综述。

1 热疗对细胞的杀伤作用

热疗对于细胞的杀伤作用呈剂量依赖性,随热负荷的增加而增加。体外研究表明热疗的细胞杀伤作用通常分两个阶段,生存曲线呈肩峰状,在一定的临界温度以下,呈线性杀伤或生长抑

■背景资料

热疗是肿瘤治疗的有效手段之一,但是其作用机制长期不甚明了。本文全面综述了肿瘤热疗的细胞分子机制的进展,并阐述了以机制研究进展为基础的相关应用,包括基因治疗等。

■同行评价

本文综述了近年来肿瘤热疗的分子生物学研究进展,文献引述全面,表述准确,观点客观,对于肿瘤热疗的作用机制及应用研究有一定的参考价值。

制,温度超过临界温度后呈指数性细胞杀伤^[1]。临界温度随细胞的种类以及基因特征的不同而有一定的差异。大多数细胞的临界温度通常为42.5-43℃^[1],少数细胞可高达44℃^[2]。热负荷决定于温度时间两个因素,通常可用如下公式比较计算^[1,3]: $D = tR^{T-43}$, D为热疗作用剂量, t为作用时间, T为作用温度, R为常数, $T \geq 43^\circ\text{C}$ 时, $R = 2$; $T < 43^\circ\text{C}$ 时, $R = 4$ 。意为温度高于43℃时,温度每升高1℃,要达到同样杀伤效应的加热时间只需原来的1/2;而低于43℃时,每升高1℃,要获得同样的杀伤效应,加热时间只需要原来的1/4。

2 热疗杀伤作用的细胞机制

热作用既可以诱发细胞凋亡,又可以对细胞产生直接致死效应。体外研究表明热疗通常存在一个临界温度,在临界温度以下热诱导细胞凋亡为热作用的主要机制,而临界温度以上则主要引起细胞坏死^[4]。不同种类细胞株的临界温度不一,差异很大。有些细胞株在较低的治疗温度即可诱导凋亡,而有的细胞则需较高温度。Votrotonkonva *et al*^[5]报道大肠癌细胞暴露于40℃ 45 min后100%细胞凋亡,温度提高至42℃后,细胞坏死增加,凋亡的比例下降。而Tang *et al*^[6]研究表明43℃热作用对于大多数胃癌细胞株仅仅有暂时的细胞增殖抑制作用而无热诱导细胞凋亡作用。不仅仅是不同种类的细胞间的热敏感性有很大差异,同种不同遗传特性的细胞对热的敏感性也有很大的差异,如携带不同类型的p53的同种细胞对热的敏感性有很大差异^[4,7]。

热作用除有效杀伤体外癌细胞外,还能诱导细胞周期阻滞,使受热作用后仍存活的细胞群发生细胞周期时相同步化,细胞周期阻滞与热诱导细胞凋亡和细胞增殖抑制密切相关,并对临床制定热联合化疗的具体方案具有重要意义。对于多数细胞,热疗通常诱导G1期细胞周期阻滞^[8], G2/M期细胞周期阻滞报道较少^[9]。

3 热疗杀伤作用的分子机制

3.1 热诱导细胞凋亡 热诱导细胞凋亡是亚高温热疗的主要机制,明确其具体机制对于实施进一步的应用治疗有重要意义。目前的研究表明,热疗既可通过线粒体(内源性)途径也可通过死亡受体(外源性)途径诱导细胞凋亡,氧化应激等一些因素也在热诱导细胞凋亡中起重要作用。不同细胞之间热诱导凋亡的机制差异很大。

3.1.1 线粒体途径的激活 热疗可激活线粒体,通

过释放细胞色素C引发caspase依赖性凋亡和(或)释放AIF, Smac/Diablo等物质引发非caspase依赖性凋亡。Ren *et al*^[10]报道42-44℃ 10-60 min热作用于舌鳞癌细胞Tca8113后,线粒体释放细胞色素C,诱发线粒体-caspase依赖性细胞凋亡。Fukami *et al*^[11]使用4株携带不同类型p53的胶质瘤细胞,43-47℃ 1 h热作用后线粒体呈温度依赖性释放细胞色素C和AIF,细胞凋亡,同时发现该作用与p53状态无关。Frank *et al*^[12]报道人类成纤维细胞热作用后线粒体释放细胞色素C和Smac/Diablo(但是无AIF释放), Smac/Diablo与XIAP等结合,阻断其对caspase的抑制作用,促进凋亡。

热作用如何激活线粒体尚不明,已知可能与Bax/Bcl-2途径有关:热作用后Bax表达水平增高^[13],但是不增加Bcl-2表达,使Bax/Bcl-2比例增高,作用于线粒体膜通透性转运孔(MMP),导致线粒体激活释放细胞色素C等物质。Bax表达增加并不依赖p53,但是野生型p53可明显增高Bax表达增高。应用遗传解剖学技术对HCT-116细胞以及66例患者的直肠癌肿瘤标本的研究^[14]表明热作用后Bax表达显著增加,且与p53无显著相关。Bax缺失但p53及其下游物质不缺失的同源性HCT116突变细胞对热作用耐受。

3.1.2 死亡受体途径 热疗可以通过细胞受体途径诱导凋亡,已知的可能机制有:(1)热诱导细胞膜死亡受体的相应配体表达并通过自分泌和旁分泌诱导细胞凋亡:Vertrees *et al*^[15]研究表明,肺癌细胞BZR-T33在43℃ 3 h热作用后TRAIL, TNF- α , FAS-L基因表达显著增加, TRAIL和FAS-L水平显著增高,并通过激活细胞膜的TNF家族死亡受体途径诱导BZR-T33细胞凋亡。Tang *et al*^[6]研究也证实,热疗可以提高胃癌细胞AGS表面Fas的表达;(2)热疗增强Fas-L, TRAIL和TNF- α 的下游以及caspase上游的作用,从而通过增加细胞对死亡受体的敏感性诱导细胞凋亡:Klostergaard *et al*^[16]研究表明TNF耐受的MCF-7细胞株在热作用后可以克服TNF耐受,诱导TNF介导的细胞凋亡。热作用后, TNF耐受的细胞株热敏感性增加了100倍,而TNF不耐受的细胞株热敏感性仅仅增加了10倍。热增强作用与持续激活TNF对应的上游caspase有关。Hermisson *et al*^[17]的研究报道:热疗并不改变Fas在细胞表面的表达,但是增加恶性胶质瘤细胞对FasL和TRAIL诱导凋亡的敏感性。

3.1.3 氧化应激 氧化应激在热疗诱导凋亡中凋亡起辅助作用。细胞膜由脂质双分子层组成,热

可以诱导活性氧族(ROS)产生^[18], ROS作用于细胞膜导致膜脂质过氧化损伤, 同时还可引起线粒体膜电位变化, 从而在凋亡中起重要作用^[19-20]. 应用抗氧化剂可以防止脂质过氧化, 在一定程度上抑制凋亡. Cui *et al*^[21]研究了抗氧化剂对人类淋巴瘤U937细胞44℃ 30 min热处理的凋亡的抑制作用, 结果表明抗氧化剂可以显著抑制热诱导凋亡^[22]. 而与之相反, 使用ROS发生剂则可显著增强热诱导凋亡作用. 温度依赖性自由基引发剂AAPH^[20]和AMVN^[19]单独应用时对细胞无细胞毒性, 与热疗联合运用时则显著增强细胞凋亡.

3.1.4 胞内Ca²⁺增高 热诱导凋亡与热作用后胞内Ca²⁺增高密切相关. 热处理可以引起细胞膜损伤, 胞外Ca²⁺入内, 导致胞内Ca²⁺升高, Ca²⁺增高可激活核酸内切酶、蛋白酶、蛋白激酶C等激活凋亡通路诱发凋亡. Hashimoto *et al*^[23]报道44℃ 1 h热作用增加人肺癌细胞系LK-2胞内Ca²⁺水平, Ca²⁺升高激活凋亡通路诱导凋亡发生. 若在加热前给予LK-2细胞胞内钙离子螯合剂BAPTA, 则细胞凋亡数目明显减少.

3.1.5 其他 (1)p53: p53与热诱导凋亡密切相关, 主要表现在: 含野生型p53细胞的热敏感性显著高于突变型p53细胞^[7]; 恢复p53正常功能后细胞对热敏感性增加^[24-25]; 敲除p53或转染突变型p53后细胞热敏感性降低或丧失^[26]. 但是, 必须指出的是, 热诱导凋亡并非p53依赖性, 大多数的癌细胞p53为突变型, 但是仍然可以发生热诱导凋亡; (2)Bcl-2家族: Bax/Bcl-2比例影响线粒体膜通透性及细胞色素C的释放. 通常热可以诱导Bax表达, 抑制Bcl-2增加线粒体通透性, 导致线粒体途径的激活(如上述); (3)热休克蛋白(HSP): HSP在热作用后增高, 可提高细胞对热的耐受性, 保护细胞免受热损伤. 应用siRNA^[27]及显性负性突变体(mHSF1)^[28]技术抑制HSP表达可以显著增加热和热化疗的敏感性. 此外, 使用HSP抑制剂或基因治疗手段抑制HSP表达, 可以提高热敏感性, 都充分表明HSP对热作用的耐受保护作用; (4)基因芯片与热疗机制探讨及应用: 使用基因芯片可以快速全面筛选热疗相关的基因, 并进一步通过RT-PCR, Western blot, siRNA等验证分析, 确定相关靶基因, 从而明确作用机制, 制定相应的诊断、分选、治疗策略. Narita *et al*^[29]通过基因芯片分析人头颈部癌细胞、咽癌细胞以及舌癌细胞在44℃ 30 min热作用前后的基因表达变化. 结果表明不同的细胞在热作用后基因

的表达有很大差异, 热诱导上调的基因包括凋亡相关基因, 肿瘤侵袭相关, 细胞周期检查点控制基因, 信号传导以及热休克相关基因. Harima *et al*^[30]对19例宫颈癌患者的病灶穿刺活检组织进行热作用, 以基因芯片检测基因表达改变, 研究热作用相关基因与热敏感性的关系. 结果筛选出35个基因并发展出一套预测评分体系, 可以清楚地将热放疗敏感组与耐受组区分开, 通过基因表达特征可以预测晚期宫颈癌热放疗的结果, 为个性化治疗提供了可能.

3.2 细胞坏死机制 45℃以上的高温热疗通常直接导致细胞死亡. 细胞坏死与热对细胞膜, 细胞骨架等的损伤有关^[1]. 45℃高温热疗杀伤肿瘤细胞的同时对于正常组织也有损伤作用, 因而实际的应用价值不大, 研究较少.

4 热疗细胞分子机制的应用

4.1 热疗联合基因治疗 (1)HSP靶向性: HSP与自杀基因: 利用热作用诱导HSP高表达的特点, 将自杀基因如单纯疱疹病毒胸苷激酶(HSV-tK)与HSP启动子合并, 构建相应腺病毒, 导入细胞, 细胞内在热作用后高表达自杀基因, 然后予以甘昔洛韦联合热作用, 杀伤细胞, 体外研究显示有显著杀伤作用^[31], 体内研究亦显示对肿瘤有显著的抑制作用^[32]; HSP抑制: 抑制HSP蛋白功能或抑制HSP的表达从而抑制细胞耐热性, 提高热敏感性. HSP抑制剂包括KNK437, 槲皮素(quer-
cetin), Vit-K1/2等, 体外及体内研究表明HSP抑制剂可显著增加热诱导凋亡^[33-35]; (2)p53靶向性: 大多数肿瘤细胞的p53发生突变, 通过恢复细胞p53的正常功能可增强热作用: 导入野生型p53: 通常使用腺病毒导入野生型p53^[24-25]; 化学物质恢复突变型p53的功能: 使用甘油等可恢复突变型p53的癌细胞的功能, 增加p53依赖性热诱导细胞凋亡^[36].

4.2 降低pH值增加热疗敏感性 降低pH可以增加热敏感性, 且该作用与p53, Bcl-2及Bax等状态无关^[37]. 可以使用单独应用时对细胞无毒性的药物或其他化学物质降低细胞外环境的pH, 以增强热作用. 如白桦脂酸(betulinic acid)可降低细胞外环境pH至6.7, 对照正常pH7.3环境培养, 显著增加耐酸人类黑素瘤细胞对热的敏感性^[38].

4.3 Ca²⁺靶向治疗 增加胞内Ca²⁺水平可增强热作用, 可以通过药物增加胞膜对Ca²⁺的通透性以及胞内Ca²⁺储存部位释放Ca²⁺实现. 局麻药: 酰胺类局部麻醉剂如利多卡因增强热诱导凋亡, 呈

剂量依赖性^[39]。维拉帕米: 使用维拉帕米可增加细胞内Ca²⁺浓度, 显著增加热作用后细胞凋亡。Shchepotin *et al*^[40]报道腹腔维拉帕米热灌注显著抑制人类结肠癌细胞HT-29种植, 细胞凋亡率增加至50%。

4.4 氧化应激途径靶向性 通过增强氧化应激可以增加热作用, 可以显著增加细胞死亡。主要途径有: 抑制抗氧化成分: 使用胞内抗氧化成分的抑制剂, 如二乙基二硫代氨基甲酸酯(DDC)^[41], 热疗联合DDC可显著增加细胞杀伤作用; 增加ROS发生: ROS发生剂包括过氧化物发生剂如H₂O₂发生剂(6-FP)^[42], 温度依赖性自由基引发剂AAPH^[20]、AMVN^[43]等, 他们与热疗联合应用时可以显著增强热作用。

总之, 热疗是恶性肿瘤治疗的重要方法之一, 近年来, 伴随着分子生物学等的进步和交叉渗透, 热疗的细胞分子机制得以相当程度的明确, 基于细胞分子作用机制的联合治疗显著增强了热疗的作用。展望未来, 伴随热疗分子机制的进一步阐明和应用, 热疗将进一步发挥其作用, 更好地服务于肿瘤的治疗。

5 参考文献

- Hildebrandt B, Wust P, Ahlers O, Dieing A, Sreenivasa G, Kerner T, Felix R, Riess H. The cellular and molecular basis of hyperthermia. *Crit Rev Oncol Hematol* 2002; 43: 33-56
- Lim CU, Zhang Y, Fox MH. Cell cycle dependent apoptosis and cell cycle blocks induced by hyperthermia in HL-60 cells. *Int J Hyperthermia* 2006; 22: 77-91
- 张安平, 刘宝华, 张连阳. 温热治疗肿瘤的基础研究进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1726-1730
- O'Neill KL, Fairbairn DW, Smith MJ, Poe BS. Critical parameters influencing hyperthermia-induced apoptosis in human lymphoid cell lines. *Apoptosis* 1998; 3: 369-375
- Vorotnikova E, Ivkov R, Foreman A, Tries M, Braunhut SJ. The magnitude and time-dependence of the apoptotic response of normal and malignant cells subjected to ionizing radiation versus hyperthermia. *Int J Radiat Biol* 2006; 82: 549-559
- Tang R, Zhu ZG, Qu Y, Li JF, Ji YB, Cai Q, Liu BY, Yan M, Yin HR, Lin YZ. The impact of hyperthermic chemotherapy on human gastric cancer cell lines: preliminary results. *Oncol Rep* 2006; 16: 631-641
- Yasumoto J, Kirita T, Takahashi A, Ohnishi K, Imai Y, Yuki K, Ohnishi T. Apoptosis-related gene expression after hyperthermia in human tongue squamous cell carcinoma cells harboring wild-type or mutated-type p53. *Cancer Lett* 2004; 204: 41-51
- Zolzer F, Streffer C. Quiescence in S-phase and G1 arrest induced by irradiation and/or hyperthermia in six human tumour cell lines of different p53 status. *Int J Radiat Biol* 2000; 76: 717-725
- Zolzer F, Streffer C. G2-phase delays after irradiation and/or heat treatment as assessed by two-parameter flow cytometry. *Radiat Res* 2001; 155: 50-56
- Ren GX, Guo W, Ye DX, Shen GF, Bai JF, Li SJ, Chen YZ. A study on the mechanism of inducing apoptosis of Tca8113 cells by means of ultrasound hyperthermia. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 2006; 15: 507-511
- Fukami T, Nakasu S, Baba K, Nakajima M, Matsuda M. Hyperthermia induces translocation of apoptosis-inducing factor (AIF) and apoptosis in human glioma cell lines. *J Neurooncol* 2004; 70: 319-331
- Frank S, Oliver L, Lebreton-De Coster C, Moreau C, Lecabellec MT, Michel L, Vallette FM, Dubertret L, Coulomb B. Infrared radiation affects the mitochondrial pathway of apoptosis in human fibroblasts. *J Invest Dermatol* 2004; 123: 823-831
- He Y, Mao Z, Bian L, Liang X, Gao Z, Zuo H, Cao X. Relationship between the expression of Bax and apoptosis induced by hyperthermia in BcaCD885 cells. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2001; 19: 14-16
- Sturm I, Rau B, Schlag PM, Wust P, Hildebrandt B, Riess H, Hauptmann S, Dorken B, Daniel PT. Genetic dissection of apoptosis and cell cycle control in response of colorectal cancer treated with preoperative radiochemotherapy. *BMC Cancer* 2006; 6: 124
- Vertrees RA, Das GC, Coscio AM, Xie J, Zwischenberger JB, Boor PJ. A mechanism of hyperthermia-induced apoptosis in ras-transformed lung cells. *Mol Carcinog* 2005; 44: 111-121
- Klostergaard J, Leroux ME, Auzenne E, Khodadadian M, Spohn W, Wu JY, Donato NJ. Hyperthermia engages the intrinsic apoptotic pathway by enhancing upstream caspase activation to overcome apoptotic resistance in MCF-7 breast adenocarcinoma cells. *J Cell Biochem* 2006; 98: 356-369
- Hermisson M, Wagenknecht B, Wolburg H, Glaser T, Dichgans J, Weller M. Sensitization to CD95 ligand-induced apoptosis in human glioma cells by hyperthermia involves enhanced cytochrome c release. *Oncogene* 2000; 19: 2338-2345
- Zhao QL, Fujiwara Y, Kondo T. Mechanism of cell death induction by nitroxide and hyperthermia. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 1131-1143
- Li FJ, Kondo T, Zhao QL, Hayashi Y, Ogawa R, Cui ZG, Feril LB Jr. A lipophilic free radical initiator, 2,2'-azobis (2,4-dimethylvaleronitrile) (AMVN) enhances caspase-dependent apoptosis induced by hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 2003; 19: 165-177
- Yuki H, Kondo T, Zhao QL, Fujiwara Y, Tanabe K, Ogawa R, Nakashima A, Fushiki H, Fujimura M, Saito S. A free radical initiator, 2,2'-azobis (2-aminopropane) dihydrochloride enhances hyperthermia-induced apoptosis in human uterine cervical cancer cell lines. *Free Radic Res* 2003; 37: 631-643
- Cui ZG, Kondo T, Feril Jr LB, Waki K, Inanami O, Kuwabara M. Effects of antioxidants on X-ray- or hyperthermia-induced apoptosis in human lymphoma U937 cells. *Apoptosis* 2004; 9: 757-763
- Thews O, Lambert C, Kelleher DK, Biesalski HK, Vaupel P, Frank J. Possible protective effects of alpha-tocopherol on enhanced induction of reactive oxygen species by 2-methoxyestradiol in tumors. *Adv Exp Med Biol* 2005; 566: 349-355
- Hashimoto T, Shibata MA, Ito Y, Nakao KI, Sasaki S,

- Otsuki Y. Elevated levels of intracellular Ca^{2+} and apoptosis in human lung cancer cells given heat-shock. *Int J Hyperthermia* 2003; 19: 178-192
- 24 Nashimoto T, Komata T, Kanzawa T, Aoki H, Endo S, Kon T, Uzuka T, Takahashi H, Kondo S, Tanaka R. Mild hyperthermia plus adenoviral p53 over-expression additively inhibits the viability of human malignant glioma cells. *Int J Hyperthermia* 2005; 21: 615-629
- 25 Zhang S, Xu G, Liu C, Xiao S, Sun Y, Su X, Cai Y, Li D, Xu B. Clinical study of recombinant adenovirus-p53 (Adp53) combined with hyperthermia in advanced cancer (a report of 15 cases). *Int J Hyperthermia* 2005; 21: 631-636
- 26 Tamamoto T, Yoshimura H, Takahashi A, Asakawa I, Ota I, Nakagawa H, Ohnishi K, Ohishi H, Ohnishi T. Heat-induced growth inhibition and apoptosis in transplanted human head and neck squamous cell carcinomas with different status of p53. *Int J Hyperthermia* 2003; 19: 590-597
- 27 Rossi A, Ciafre S, Balsamo M, Pierimarchi P, Santoro MG. Targeting the heat shock factor 1 by RNA interference: a potent tool to enhance hyperthermochemotherapy efficacy in cervical cancer. *Cancer Res* 2006; 66: 7678-7685
- 28 Wang JH, Yao MZ, Zhang ZL, Zhang YH, Wang YG, Liu XY. HSF1 blockade-induced tumor thermotolerance abolishment is mediated by JNK-dependent caspase-3 activation. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 321: 736-745
- 29 Narita N, Noda I, Ohtsubo T, Fujieda S, Tokuriki M, Saito T, Saito H. Analysis of heat-shock related gene expression in head-and-neck cancer using cDNA arrays. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2002; 53: 190-196
- 30 Harima Y, Togashi A, Horikoshi K, Imamura M, Sougawa M, Sawada S, Tsunoda T, Nakamura Y, Katagiri T. Prediction of outcome of advanced cervical cancer to thermoradiotherapy according to expression profiles of 35 genes selected by cDNA microarray analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004; 60: 237-248
- 31 Isomoto H, Ohtsuru A, Braiden V, Iwamatsu M, Miki F, Kawashita Y, Mizuta Y, Kaneda Y, Kohno S, Yamashita S. Heat-directed suicide gene therapy mediated by heat shock protein promoter for gastric cancer. *Oncol Rep* 2006; 15: 629-635
- 32 Braiden V, Ohtsuru A, Kawashita Y, Miki F, Sawada T, Ito M, Cao Y, Kaneda Y, Koji T, Yamashita S. Eradication of breast cancer xenografts by hyperthermic suicide gene therapy under the control of the heat shock protein promoter. *Hum Gene Ther* 2000; 11: 2453-2463
- 33 Ohnishi K, Takahashi A, Yokota S, Ohnishi T. Effects of a heat shock protein inhibitor KNK437 on heat sensitivity and heat tolerance in human squamous cell carcinoma cell lines differing in p53 status. *Int J Radiat Biol* 2004; 80: 607-614
- 34 Shimohara S, Murakami T, Morikawa M, Matsuo J, Nagayama S, Shuto T, Suico MA, Okiyoneda T, Yamatsu I, Mizushima T, Shimasaki T, Kai H. Vitamins K1 and K2 potentiate hyperthermia by down-regulating Hsp72 expression *in vitro* and *in vivo*. *Int J Oncol* 2005; 27: 1527-1533
- 35 Asea A, Ara G, Teicher BA, Stevenson MA, Calderwood SK. Effects of the flavonoid drug quercetin on the response of human prostate tumours to hyperthermia *in vitro* and *in vivo*. *Int J Hyperthermia* 2001; 17: 347-356
- 36 Ohnishi T, Ohnishi K, Takahashi A. Glycerol restores heat-induced p53-dependent apoptosis of human glioblastoma cells bearing mutant p53. *BMC Biotechnol* 2002; 2: 6
- 37 Narita N, Fujieda S, Tokuriki M, Takahashi N, Tsuzuki H, Ohtsubo T, Matsumoto H. Inhibition of histone deacetylase 3 stimulates apoptosis induced by heat shock under acidic conditions in human maxillary cancer. *Oncogene* 2005; 24: 7346-7354
- 38 Wachsberger PR, Burd R, Wahl ML, Leeper DB. Betulinic acid sensitization of low pH adapted human melanoma cells to hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 2002; 18: 153-164
- 39 Arai Y, Kondo T, Tanabe K, Zhao QL, Li FJ, Ogawa R, Li M, Kasuya M. Enhancement of hyperthermia-induced apoptosis by local anesthetics on human histiocytic lymphoma U937 cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 18986-18993
- 40 Shchepotin IB, McRae DA, Shabahang M, Buras RR, Evans SR. Hyperthermia and verapamil inhibit the growth of human colon cancer xenografts *in vivo* through apoptosis. *Anticancer Res* 1997; 17: 2213-2216
- 41 Moriyama-Gonda N, Igawa M, Shiina H, Urakami S, Shigeno K, Terashima M. Modulation of heat-induced cell death in PC-3 prostate cancer cells by the antioxidant inhibitor diethyldithiocarbamate. *BJU Int* 2002; 90: 317-325
- 42 Wada S, Cui ZG, Kondo T, Zhao QL, Ogawa R, Shoji M, Arai T, Makino K, Furuta I. A hydrogen peroxide-generating agent, 6-formylpterin, enhances heat-induced apoptosis. *Int J Hyperthermia* 2005; 21: 231-246
- 43 Li FJ, Kondo T, Zhao QL, Hayashi Y, Ogawa R, Cui ZG, Feril LB Jr. A lipophilic free radical initiator, 2,2'-azobis (2,4-dimethylvaleronitrile) (AMVN) enhances caspase-dependent apoptosis induced by hyperthermia. *Int J Hyperthermia* 2003; 19: 165-177

电编 张敏 编辑 张焕兰