

· 基础研究 ·

## 联合应用MS-275和MDV3100对前列腺肿瘤干细胞样微球的作用

汤思洁<sup>1</sup>, 江佳佳<sup>2</sup>, 程慧颖<sup>2</sup>, 郭佳倩<sup>2</sup>, 黄 灿<sup>2</sup>, 李晓华<sup>2,3\*</sup>, 顾 洛<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>南京医科大学生理学系, 江苏 南京 211166; <sup>2</sup>江苏大学附属澳洋医院病理和检验医学中心, 江苏 苏州 215600; <sup>3</sup>国家基因检测技术应用示范中心, 合肥金域医学检验所有限公司, 安徽 合肥 230088

**[摘要]** 目的:探讨雄激素受体(Androgen Receptor, AR)拮抗剂和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)抑制剂对前列腺肿瘤干细胞样微球的作用,并探讨其可能的分子机制。方法:采用无血清悬浮培养前列腺LNCaP和22RV1肿瘤细胞以获取干细胞样肿瘤微球细胞,然后单独和联合使用AR拮抗剂MDV3100和HDAC I类抑制剂MS-275分别处理2种微球细胞,镜下观察细胞形态,评估其克隆形成能力。应用实时荧光定量聚合酶链反应检测微球细胞中CD133的转录水平,Western blot检测DNA损伤标志物磷酸化H2A.X(p-H2A.X)的表达和细胞凋亡标志蛋白聚ADP-核糖聚合酶(PARP)特异性裂解片段的水平,同时检测Wnt信号通路关键分子 $\beta$ -catenin以及原癌基因c-Myc、cyclin D1蛋白表达情况。结果:MDV3100单独处理能明显降低肿瘤干细胞标志物CD133的表达;而MS-275单独或联合MDV3100处理均能明显抑制肿瘤干细胞样肿瘤微球的形成、降低肿瘤微球细胞CD133的表达,并促进肿瘤微球细胞产生PARP的特异性裂解,使p-H2A.X表达水平升高,同时可以明显降低 $\beta$ -catenin、c-Myc及cyclin D1的表达。结论:联合应用MS-275和MDV3100可以显著增强MDV3100的抗肿瘤活性,具体表现在抑制肿瘤干细胞样微球细胞生成及克隆形成、损伤细胞的DNA、诱导细胞凋亡等。该结果为临床联合应用HDAC I类抑制剂MS-275和AR拮抗剂MDV3100治疗前列腺肿瘤提供了一定的实验依据。

**[关键词]** 前列腺肿瘤干细胞样微球;MDV3100;MS-275

**[中图分类号]** R737.25

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2019)04-465-07

**doi:**10.7655/NYDXBNS20190401

## Experimental study on the combination of MDV3100 and MS-275 for the treatment of prostate tumorsphere cells

Tang Sijie<sup>1</sup>, Jiang Jiajia<sup>2</sup>, Cheng Huiyin<sup>2</sup>, Guo Jiaqian<sup>2</sup>, Huang Can<sup>2</sup>, Li Xiaohua<sup>2,3\*</sup>, Gu Luo<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Physiology, NMU, Nanjing 211166; <sup>2</sup>The Center for Pathology & Laboratory Medicine, the Affiliated Aoyang Hospital of Jiangsu University, Suzhou 215617; <sup>3</sup>National Center for Gene Testing Technology Application & Demonstration; Center for Cancer Diagnostics & Clinical Genomics, Hefei KingMed Diagnostics Co., Ltd, Hefei 230088, China

**[Abstract]** **Objective:** To study the treatment effects of androgen receptor (AR) antagonist combined with class I histone deacetylase (HDAC) inhibitors on prostate tumorsphere, and to investigate the possible molecular mechanisms involved in the process. **Methods:** Prostate cancer LNCaP and 22RV1 cells were cultured in serum-free suspension condition, and the obtained two tumorsphere stem-like cells were treated with AR antagonist MDV3100 with or without the presence of HDAC class I inhibitor MS-275 to study the morphology change and the ability of cell clone formation in monolayer culture condition. Then, quantitative real-time fluorescence polymerase chain reaction (qRT-PCR) was utilized to analyze cancer stem cell marker CD133 expression, and Western blot was used to detect the levels of DNA damage marker H2A.X (p-H2A.X), the cleavage of poly ADP-ribose polymerase (PARP),  $\beta$ -catenin, proto-oncogene c-Myc and cyclin D1. **Results:** Treatment with MDV3100 alone inhibited CD133 expression in tumorsphere cells. Combination treatment of MDV3100 with MS-275 reduced the number of tumorsphere, inhibited CD133 transcription, enhanced the level of both PARP cleavage and p-H2A.X, decreased expression of  $\beta$ -catenin, c-Myc and cyclin D1. **Conclusion:** Compared with the

**[基金项目]** 国家自然科学基金(81572741, 81372319); 吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金(320.6750.14120); 苏州市科技发展计划(SYSD2014009)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: joshua28li@kingmed.com.cn; lgu@njmu.edu.cn

treatment of MDV3100 alone, combination treatment of MDV3100 with MS-275 significantly inhibited cancer stem-like tumorsphere cell formation and promoted apoptotic cell death. The drugs-reduced over activation of Wnt/ $\beta$ -catenin/c-Myc/cyclin D1 pathway was possibly involved in the antitumor process. These results provide guidance for clinical application of MDV3100 and MS-275 in prostate cancer management of personal medicine.

[Key words] prostate tumorsphere; MDV3100; MS-275

[J Nanjing Med Univ, 2019, 39(04):465-471]

前列腺肿瘤(prostate cancer, PCa)是男性最常见的恶性肿瘤之一,其发病率在我国呈逐年上升的趋势。其中大多数为前列腺腺上皮癌(prostate adenocarcinoma, CaP),其发生发展机制尚未完全明确。该类肿瘤早期一般为激素依赖型,临床上可以通过内分泌治疗获得良好的治疗效果。但随着治疗的进展,患者最终会对该类药物产生耐药,进而发展成雄激素非依赖性和转移性的去势抵抗性肿瘤(metastatic castrate-resistant prostate cancer, mCRPC)。mCRPC患者的死亡率极高,在欧美国家占男性肿瘤死亡率第2位<sup>[1-3]</sup>。

内分泌疗法是治疗早期前列腺肿瘤的首选方案,针对雄激素及其受体(androgon receptor, AR)所介导的细胞信号通路的药物治疗效果显著。目前,第二代的内分泌药物AR拮抗剂恩杂鲁胺(enzalutamide, MDV3100)已应用于早期CaP的临床治疗。由于MDV3100对AR具有更高的亲和力,食品药品监督管理局(FDA)于2012年8月31日批准其用于mCRPC的治疗。但问题是,应用MDV3100治疗一段时间后,患者最终也会产生耐药<sup>[4]</sup>。因此,有必要探索更好的治疗方案以期对CaP进行更加有效的治疗。

组蛋白乙酰化是调控基因表达的重要机制,研究表明其可以促进肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,同时也可以通过阻止基因转录延伸抑制某些癌基因的表达<sup>[5-7]</sup>。已有研究证实,组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACi)可以通过促进组蛋白乙酰化从而调控肿瘤相关基因的表达,进而抑制肿瘤细胞生长、促进肿瘤细胞凋亡<sup>[8]</sup>。恩替诺特(Entinostat, MS-275)是一种人工合成的苯甲酰胺类HDACi,可以通过抑制组蛋白去乙酰化酶活性,使靶细胞内组蛋白高度乙酰化,进而影响特定基因表达,促进肿瘤细胞的凋亡<sup>[9]</sup>。大量实验证明,MS-275的肿瘤杀伤作用具有靶向性,对正常细胞则无影响<sup>[10-11]</sup>。

应用HDACi联合其他化疗药物治疗肿瘤的研究已有报道。前期本实验室的研究表明,应用MS-275,

以及联合应用Trichostatin A和Docetaxel处理前列腺肿瘤细胞均取得了良好的效果<sup>[12-14]</sup>。因为肿瘤干细胞与PCa的发生发展以及mCRPC的形成有着密切关系。因此,本研究联合应用AR拮抗剂MDV3100和HDAC I抑制剂MS-275处理前列腺肿瘤干细胞样微球细胞,研究其抗肿瘤作用以及可能的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 主要试剂

RPMI1640培养基、DMEM/F12培养基、B27(Gibco公司,美国);胰酶、胎牛血清(Biological Industries公司,以色列);人重组表皮生长因子(EGF)、人重组碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、人重组白血病抑制因子(LIF)(PeproTech公司,美国);牛血清白蛋白(BSA, Sigma公司,美国);MDV3100、MS-275(Selleck公司,美国);蛋白浓度测定试剂盒(Thermo公司,美国);抗PARP抗体、抗p-H2A.X、抗 $\beta$ -catenin抗体、抗c-Myc抗体、抗cyclin D1抗体(Cell Signaling Technology公司,美国);辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG二抗(Santa Cruz公司,美国);RNA提取试剂盒(Life Technology公司,美国);逆转录试剂盒、实时荧光定量聚合酶链反应试剂盒(Applied Biosystems公司,美国)。

#### 1.1.2 细胞来源及培养

前列腺肿瘤细胞株LNCaP来源于美国ATCC,采购自中国科学院上海细胞库,前列腺肿瘤细胞株22RV1来源于南京医科大学,经鉴定均无支原体污染。经本实验室验证LNCaP和22RV1细胞系均稳定表达AR。LNCaP和22RV1细胞均常规培养于含10%胎牛血清、青霉素(100 U/mL)以及链霉素(100  $\mu$ g/mL)的RPMI1640完全培养基。细胞培养于37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱中,每隔48 h换液1次。待细胞生长至80%~90%融合时,以合适的比例传代。药物处理细胞时,取对数生长期的细胞接种于100 mm<sup>2</sup>培养皿或普通6孔培养板中过夜,待细胞贴

壁并生长良好后,用完全培养基制备相应浓度的药物取代已有的培养液,进行药物处理的实验研究。

## 1.2 方法

### 1.2.1 肿瘤干细胞样微球悬浮培养

采用已建立的无血清悬浮培养法培养前列腺肿瘤干细胞样微球<sup>[13]</sup>。细胞生长至80%~90%融合时,用胰蛋白酶消化并收集细胞,然后取 $5 \times 10^6$ 个细胞置入100 mm<sup>2</sup>的超低吸附培养皿中,加入含有100 U/mL青霉素、100  $\mu$ g/mL链霉素、20 ng/mL EGF、10 ng/mL bFGF、20 ng/mL LIF、0.2% BSA和2%B27的DMEM/F12无血清培养基,置于37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>的培养箱中培养。每周传代2次,并通过温和离心(980 r/min)收集细胞微球,然后将得到的微球细胞制成单个细胞重新悬浮在不含血清的培养基中,经半量换液使其重新形成球体。当细胞培养至第3代后,单独和(或)联合加入MDV3100(5  $\mu$ mol/L)和MS-275(2  $\mu$ mol/L)处理细胞72 h,观察干细胞微球的折光性、数目及大小,并拍照记录。

### 1.2.2 肿瘤微球细胞克隆形成实验

分别将无血清悬浮培养第3代后的LNCaP和22RV1肿瘤微球细胞转入低吸附6孔板,单独和(或)联合加入MDV3100和MS-275处理72 h后,胰酶消化收集细胞,并进行细胞计数。将相同数量的细胞( $5 \times 10^4$ 个)加入普通RPMI1640培养基(含10%胎牛血清)中培养,次日能观察到细胞贴壁,48 h后其伸出伪足逐渐形成单层贴壁细胞,形态与常规贴壁培养的LNCaP及22RV1细胞相似。

### 1.2.3 蛋白免疫印迹实验(Western blot)

收集药物处理后的肿瘤微球细胞,用预冷磷酸盐缓冲液PBS洗涤细胞2次。加入RIPA细胞裂解液提取蛋白并以BCA法测定蛋白浓度。以10%、12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)分离蛋白质,然后转移至PVDF膜上,5%脱脂奶粉溶液室温封闭40 min。经不同的一抗4  $^{\circ}$ C孵育过夜。TBST洗膜,辣根过氧化物酶标记的二抗(1:20 000)室温孵育1 h。经TBST洗膜,ECL试剂盒在荧光成像仪TANON5500显影后保存蛋白条带。根据显色带的密度分析目的基因的相对表达量。

### 1.2.4 逆转录实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)

使用RiboPure试剂盒提取和纯化细胞总RNA,检测样本 $D(260 \text{ nm})$ 和 $D(280 \text{ nm})$ 值并计算RNA纯度和浓度,并经逆转录合成cDNA第一链为模板,利用qRT-PCR扩增技术分析基因表达水平。CD133

的引物为:5'-CCAAGTTCTACCTCATGTTTGG-3'和5'-ACCAACAGGGAGATTGCAAAGC-3'。GAPDH的引物为:5'-ATCACCATCTTCCAGGAGCGA-3'和5'-GCCAGTGAGCTTCCCGTTCA-3'。反应混合物置于荧光定量PCR仪中,经95  $^{\circ}$ C 5 min预变性后,进行95  $^{\circ}$ C 15 s $\rightarrow$ 65  $^{\circ}$ C 35 s共40循环并检测C<sub>t</sub>值。以GAPDH为内参基因,应用2<sup>- $\Delta\Delta$ C<sub>t</sub></sup>法计算CD133的相对表达量。

上述所有实验均至少重复3次。

## 1.3 统计学方法

实验数据均采用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。使用Graphpad Prism 7软件进行统计分析,组间比较采用 $t$ 检验, $P \leq 0.05$ 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

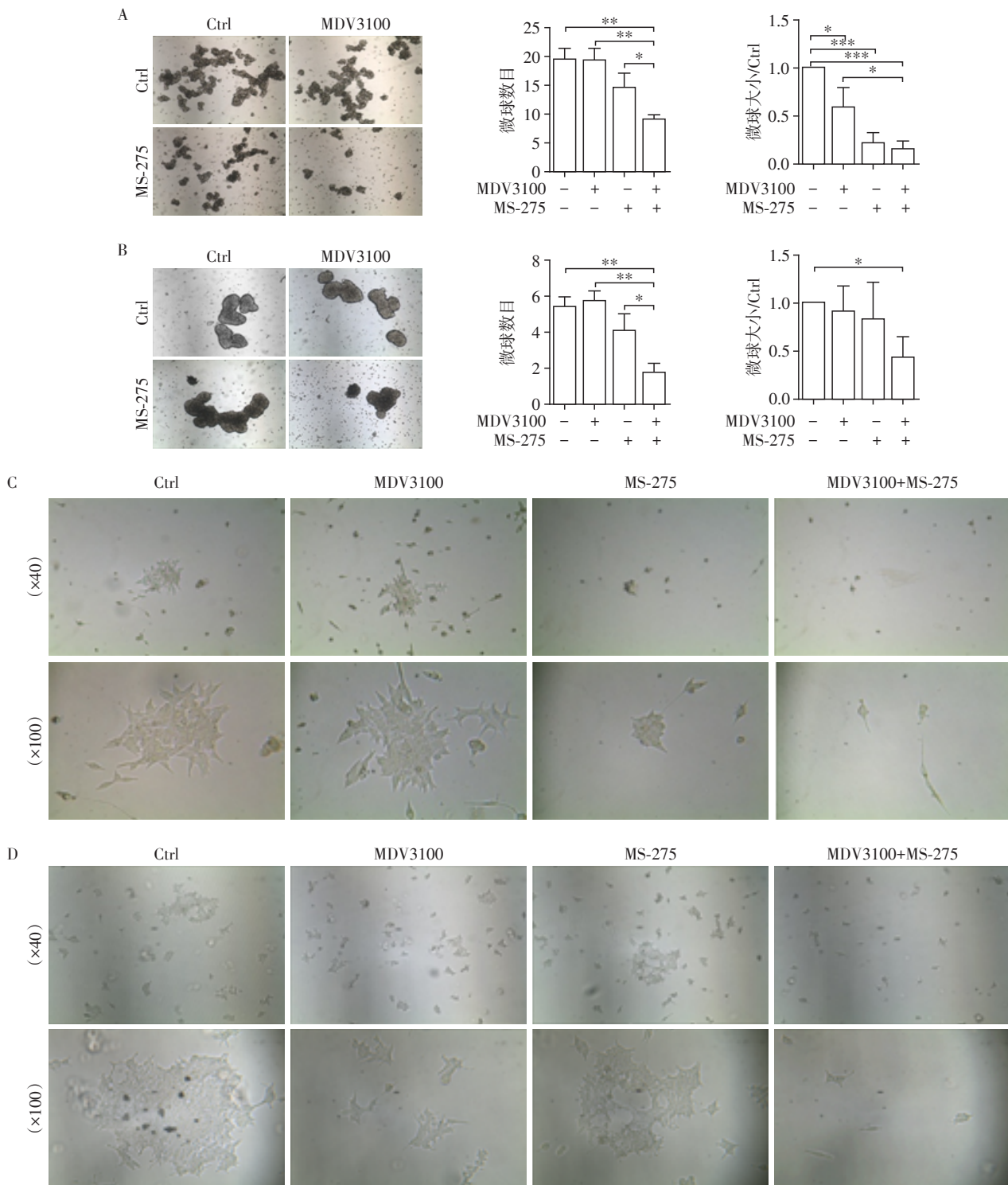
### 2.1 联合应用MDV3100和MS-275可抑制前列腺肿瘤细胞LNCaP和22RV1干细胞样微球的形成

肿瘤细胞LNCaP和22RV1经无血清悬浮培养至第3代后,用MDV3100(5.00  $\mu$ mol/L)和MS-275(2.00  $\mu$ mol/L)单独或联合处理72 h,结果显示,与对照组相比,MDV3100单独处理组肿瘤微球细胞的形态无明显变化,但是MS-275单独处理组的干细胞样微球细胞表面折光性降低较为明显,提示细胞活力可能降低。MDV3100和MS-275联合处理后不仅微球表面折光性降低,微球数目以及大小也均有显著减少(图1A、B,  $P < 0.05$ )。

单独应用MDV3100处理这2种肿瘤干细胞72 h后发现,在LNCaP细胞中,其细胞的克隆形成能力与对照组相比没有明显变化,而MS-275则可抑制细胞克隆的形成,联合用药后其抑制克隆形成效果更为显著(图1C)。在22RV1细胞中,单独应用MDV3100或MS-275均能抑制细胞克隆形成,而联合用药其抑制克隆形成效果更显著(图1D)。该结果提示,联合用药可降低肿瘤干细胞样微球细胞的克隆形成,而单独用药对不同来源的肿瘤细胞表现出的效果具有一定差异。

### 2.2 MDV3100和MS-275抑制肿瘤干细胞标志物分子的表达

实验结果显示,和未处理细胞相比,肿瘤微球细胞表达CD133显著增加(图2,  $P < 0.001$ );单独应用MDV3100或MS-275处理细胞,均可显著抑制CD133的表达;联合用药后,CD133的表达也均有降低,但在22RV1细胞中降低更为明显(图2B,  $P < 0.001$ )。该结果提示,不同来源的肿瘤细胞对药物



A、B:单独及联合应用MDV3100和MS-275处理LNCaP(A)及22RV1(B)肿瘤干细胞样微球形成,微球大小=0.5×长径×短径<sup>2</sup>( $\mu\text{m}^3$ );\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001, n \geq 3$ ;C、D:单独及联合应用MDV3100和MS-275处理LNCaP(C)及22RV1(D)肿瘤干细胞样微球细胞的克隆形成能力。

图1 药物处理肿瘤干细胞样微球细胞的形态及克隆形成能力

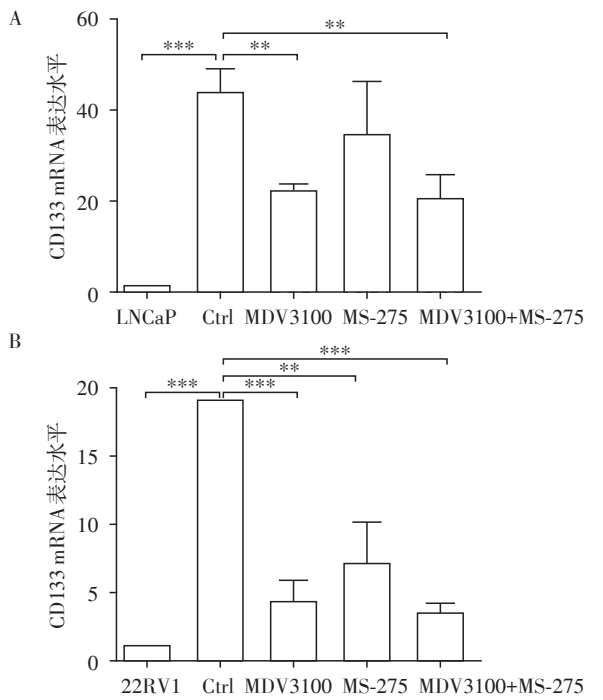
Figure 1 Morphology and clonality of drug-treated stem cell-like tumorspheres

治疗所引起的分子表达及药物敏感性具有差异。

### 2.3 药物引起肿瘤细胞的Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路及下游分子c-Myc、cyclin D1的表达

为了进一步研究药物处理肿瘤干细胞样微球

后所引起的肿瘤相关分子的表达,我们检测了 $\beta$ -catenin及其下游分子c-Myc和cyclin D1的表达。结果显示,在LNCaP细胞中,单独应用MDV3100处理无明显作用,MS-275处理可降低c-Myc的表达;二者



A: LNCaP 细胞中 CD133 表达水平; B: 22RV1 细胞中 CD133 表达水平。\* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$ ,  $n \geq 3$ 。

图2 肿瘤干细胞标志物分子 CD133 的表达

Figure 2 Expression of tumor stem cell marker molecule CD133

联合应用显著降低 $\beta$ -catenin、c-Myc 和 cyclin D1 三者的水平(图 3A)。在 22RV1 细胞中,单独应用 MDV3100 处理无明显作用,MS-275 处理显著降低 $\beta$ -catenin 和 c-Myc 的表达;二者联合应用显著降低 $\beta$ -

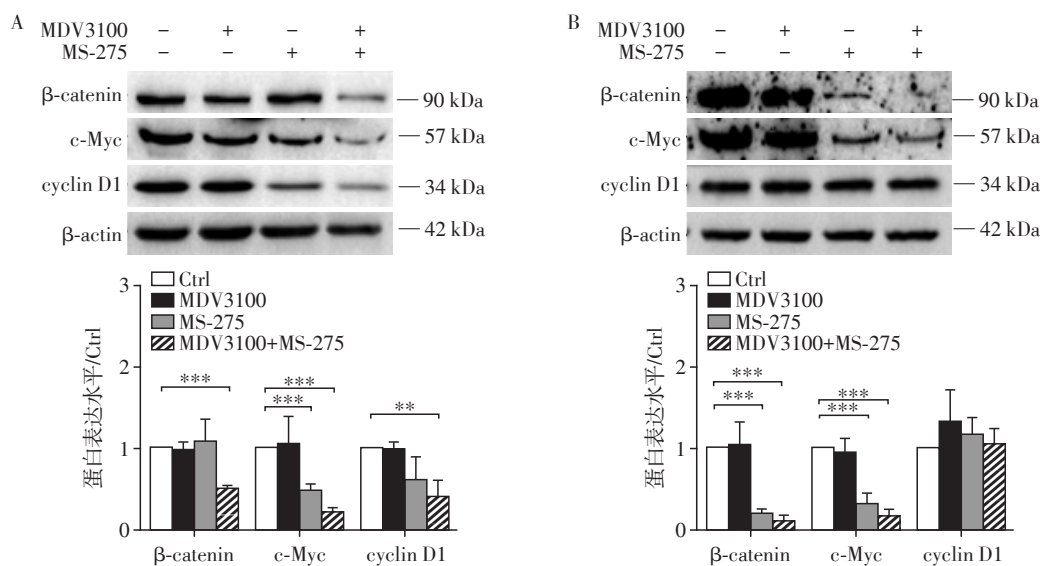
catenin 和 c-Myc 的水平,但对 cyclin D1 无明显抑制作用(图 3B)。该结果提示 MDV3100 和 MS-275 均在不同程度上抑制了 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路中相关分子的表达,且联合处理后抑制作用更加显著。同时,该结果再次表明,药物对不同组织来源的肿瘤细胞存在不同的作用机制,因此,在临床上肿瘤化疗时注意个体化差异。

### 2.4 药物可诱导前列腺肿瘤 LNCaP 和 22RV1 干细胞样微球细胞产生凋亡

为了进一步研究药物抑制干细胞生长的机制,我们检测了药物处理后细胞损伤和凋亡情况<sup>[15-16]</sup>,结果显示,单独应用 MDV3100 处理细胞能轻微诱导 p-H2A.X 水平升高;而单独应用 MS-275 处理不仅能显著诱导蛋白酶 PARP 的裂解,产生 86 kDa 的特异性裂解片段产物,也能显著激活组 H2A 的磷酸化,使 p-H2A.X 水平升高;联合应用 MDV3100 和 MS-275 处理则明显增加 PARP 的裂解和细胞 p-H2A.X 的表达水平(图 4,  $P < 0.05$ )。该结果提示,联合用药促进了肿瘤干细胞样微球细胞的 DNA 损伤及细胞凋亡。

### 3 讨论

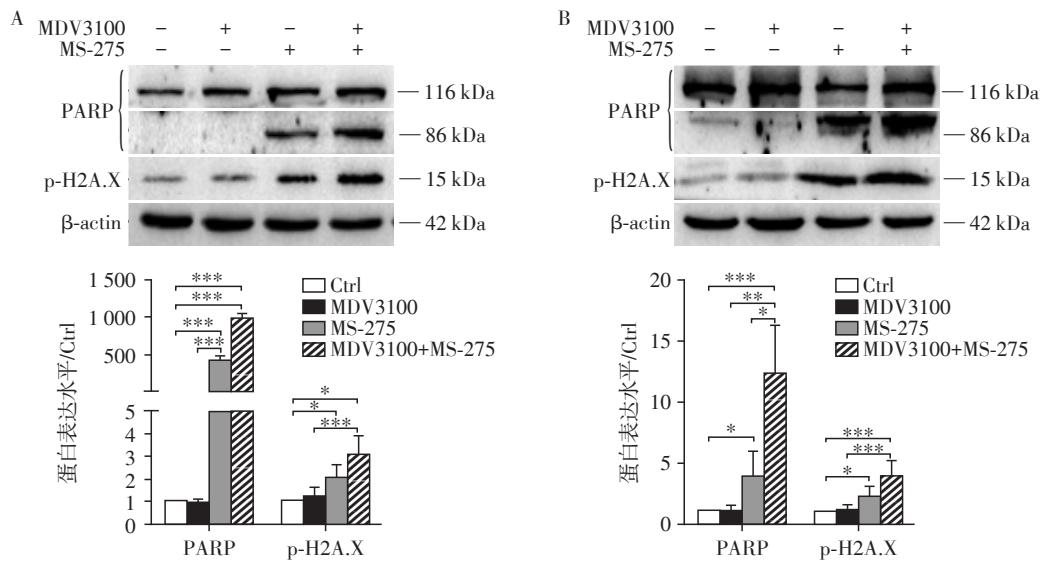
大量研究证明,MDV3100 在延长患者生存期的同时也在后期产生耐药,无论是原发性或是继发性耐药都使得 MDV3100 耐药机制的研究显得尤为重要。基于肿瘤干细胞具有的自我更新以及无限增



A: 药物处理 LNCaP 肿瘤干细胞样微球细胞后相关分子表达水平; B: 药物处理 22RV1 肿瘤干细胞样微球细胞后相关分子表达水平。\* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$ ,  $n \geq 3$ 。

图3 MDV3100和MS-275作用后 $\beta$ -catenin、c-Myc和cyclin D1的表达

Figure 3 Expression of  $\beta$ -catenin, c-Myc and cyclin D1 after the action of MDV3100 and MS-275



A: LNCaP 肿瘤干细胞药物作用后导致死亡的关键分子表达; B: 22RV1 肿瘤干细胞药物作用后导致死亡的关键分子表达。\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ,  $n \geq 3$ 。

图4 MDV3100和MS-275诱导的PARP裂解和磷酸化H2A.X水平

Figure 4 PARP cleavage and phosphorylation levels of H2A.X after the induction of MDV3100 and MS-275

殖能力,我们认为MDV3100耐药和前列腺肿瘤干细胞相关。近年来肿瘤形成的干细胞理论已被广泛接受<sup>[17-18]</sup>,本研究采用本实验室早先建立的经典无血清悬浮培养法富集肿瘤干细胞样微球细胞,以检测到分子标志物CD133确定所获得微球细胞的干细胞特性,并利用富集成功的前列腺肿瘤微球细胞进行后续实验。我们观察到MDV3100单独用药显著降低CD133的表达,但未观察到肿瘤微球的形成数量和形态的改变,这可能是由于细胞内分子的变化要早于形态学的改变,且CD133仅作为肿瘤干细胞表达的一个指标,不能代表肿瘤干细胞数目的绝对降低。单独使用MDV3100或MS-275处理肿瘤微球均降低CD133的表达,且MDV3100抑制CD133表达作用较MS-275显著,提示两者均具有抑制干细胞形成的作用,虽然MDV3100降低CD133的作用较MS-275更显著,但结合MS-275能诱导肿瘤微球细胞产生DNA损伤和凋亡,而MDV3100对前列腺肿瘤的影响仅体现在降低肿瘤干细胞CD133标志物,提示MS-275的作用较MDV3100更广泛。虽然联合用药CD133总体水平低于单独用药,但与MDV3100单独用药相比未见显著性差异,提示还有其他机制参与联合用药的抗肿瘤活性,不可否认联合用药也初见成效。

进一步的研究表明,MS-275单独处理2个前列腺肿瘤细胞来源的干细胞样肿瘤微球均表现出细胞杀伤作用,并且联合MDV3100能进一步增强对肿

瘤微球细胞的杀伤效应,但单独使用MDV3100对该肿瘤微球的作用不显著,类似的现象也表现在对该肿瘤微球细胞克隆形成能力的影响。该结果提示,不同的肿瘤微球细胞对AR拮抗剂MDV3100的反应也不同,我们推测可能与细胞中AR表达量以及相关的分子网络不同有关。研究发现,MDV3100仅对LNCaP细胞表达 $\beta$ -catenin和cyclin D1有抑制作用,表明在LNCaP细胞系中可以通过影响细胞周期蛋白cyclin D1,从而对前列腺肿瘤干细胞进行调控。而对22RV1细胞中的上述分子的表达影响不显著,这可能和前列腺肿瘤细胞的异质性相关。异质性是肿瘤普遍存在的现象,肿瘤干细胞突变造成异质性的可能性不容忽视,同时这种不确定性和肿瘤基因组的不稳定性也有很大关系,所以个体化治疗更是目前研究的关键。由于c-Myc和cyclin D1是Wnt/ $\beta$ -catenin细胞信号通路中的重要下游分子,虽然本研究在22RV1细胞系中cyclin D1未有显著降低,但却进一步证实了上述不同分子网络的推测,也提示MS-275和(或)MDV3100可能通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin/c-Myc细胞信号通路而促进细胞的凋亡,而联合两种药物的确起到了更为显著的细胞杀伤作用。

综上所述,本研究结果表明,HDAC I抑制剂MS-275能协同增强MDV3100对肿瘤干细胞样微球细胞的细胞毒作用和诱导细胞凋亡,同时可以抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,进而体现其抗肿瘤活性。因此,临床上可以考虑联合使用雄激素受体拮抗剂

和组蛋白去乙酰化酶抑制剂对前列腺肿瘤进行治疗,该方案不仅对早期前列腺肿瘤有效,也对进展期的CaP治疗具有指导意义。但是,临床医生在制定以降低药物毒性、提高治疗效果为出发点的联合化疗方案的同时,需要充分了解肿瘤细胞来源的差异以及同一肿瘤组织的肿瘤细胞异质性,理解这些差异所带来的对同一药物所产生的治疗效果的不同。

#### [参考文献]

- [1] Mukherji D, Pezaro CJ, Shamseddine A, et al. New treatment developments applied to elderly patients with advanced prostate cancer [J]. *Cancer Treat Rev*, 2013, 39(6):578-583
- [2] Lorient Y, Zoubeidi A, Gleave ME. Targeted therapies in metastatic castration-resistant prostate cancer: beyond the androgen receptor [J]. *Urol Clin North Am*, 2012, 39(4): 517-531
- [3] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer Statistics, 2017 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2017, 67(1):7-30
- [4] Korpala M, Korn JM, Gao X, et al. An F876L mutation in androgen receptor confers genetic and phenotypic resistance to MDV3100 (enzalutamide) [J]. *Cancer Discov*, 2013, 3(9): 1030-1043
- [5] Roos WP, Krumm A. The multifaceted influence of histone deacetylases on DNA damage signalling and DNA repair [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(21): 10017-10030
- [6] Greer CB, Tanaka Y, Kim YJ, et al. Histone deacetylases positively regulate transcription through the elongation machinery [J]. *Cell Rep*, 2015, 13(7): 1444-1455
- [7] Kim YJ, Greer CB, Cecchini KR, et al. HDAC inhibitors induce transcriptional repression of high copy number genes in breast cancer through elongation blockade [J]. *Oncogene*, 2013, 32(23): 2828-2835
- [8] Bose P, Dai Y, Grant S. Histone deacetylase inhibitor (HDACI) mechanisms of action: emerging insights [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 143(3): 323-336
- [9] Kurz EU, Wilson SE, Leader KB, et al. The histone deacetylase inhibitor sodium butyrate induces DNA topoisomerase II alpha expression and confers hypersensitivity to etoposide in human leukemic cell lines [J]. *Mol Cancer Ther*, 2001, 1(2): 121-131
- [10] Nishioka C, Ikezoe T, Yang J, et al. Blockade of mTOR signaling potentiates the ability of histone deacetylase inhibitor to induce growth arrest and differentiation of acute myelogenous leukemia cells [J]. *Leukemia*, 2008, 22(12): 2159-2168
- [11] Larsson C. Epigenetic aspects on therapy development for gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors [J]. *Neuroendocrinology*, 2013, 97(1): 19-25
- [12] 江佳佳,印金徐,郭佳倩,等. 曲古抑菌素A和多西他赛联合应用治疗前列腺肿瘤的实验研究 [J]. *中华临床实验室管理电子杂志*, 2018, 6(3): 145-152
- [13] Bernardo MM, Kaplun A, Dzinic SH, et al. Maspin expression in prostate tumor cells averts stemness and stratifies drug sensitivity [J]. *Cancer Res*, 2015, 75(18): 3970-3979
- [14] Li X, Kaplun A, Lonardo F, et al. HDAC1 inhibition by maspin abrogates epigenetic silencing of glutathione S-transferase pi in prostate carcinoma cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2011, 9(6): 733-745
- [15] Bai P. Biology of poly(ADP-ribose) polymerases: The factotums of cell maintenance [J]. *Mol Cell*, 2015, 58(6): 947-958
- [16] Sharma A, Singh K, Almasan A, et al. Histone H2AX phosphorylation: a marker for DNA damage [J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 920: 613-626
- [17] Liu T, Chi H, Chen J, et al. Curcumin suppresses proliferation and in vitro invasion of human prostate cancer stem cells by ceRNA effect of miR-145 and lncRNA-ROR [J]. *Gene*, 2017, 631: 29-38
- [18] da Silva-Diz V, Lorenzo-Sanz L, Bernat-Peguera A, et al. Cancer cell plasticity: Impact on tumor progression and therapy response [J]. *Semin Cancer Biol*, 2018, 53: 48-58

[收稿日期] 2018-10-22