doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.16.001

·基础研究·

KDM2A 对人卵巢癌顺铂耐药细胞株 A2780 增殖和凋亡的影响及机制研究 *

卢丹华 洪 莉△ 杨 将 高利昆 曾婉玲

(武汉大学人民医院 湖北 武汉 430060)

摘要 目的:探讨赖氨酸脱甲基酶 2A(Lysine-specific demethylase 2A,KDM2A)对顺铂(cisplatin,DDP)耐药的人卵巢癌细胞 A2780 细胞增殖和凋亡的影响及其可能作用机制。**方法**:通过构建慢病毒载体转染 A2780/DDP,分为 A2780、A2780/DDP、A2780/DDP/KDM2A(转染 KDM2A)、A2780/DDP/Jagged1(转染 Jagged1)以及 A2780/DDP/NC(转染病毒载体)组。采用 Western blot 检测 3 组 KDM2A、Jagged1、Bcl2 和 BAX 蛋白表达,CCK8 和平板克隆形成实验检测细胞对顺铂的敏感性,流式细胞术检测细胞凋亡情况。**结果**:A2780/DDP 细胞 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白表达水平均显著高于 A2780 细胞(*P<0.05*),且 A2780/DDP/KDM2A 细胞中 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白表达均低于 A2780/DDP 以及阴性对照组 A2780/DDP/NC(*P<0.05*);A2780/DDP/Jagged1 细胞的 Jagged1 蛋白表达低于 A2780/DDP 以及 A2780/DDP/NC(*P<0.05*),而其 KDM2A 蛋白的表达比较差异无统计学意义(*P>0.05*)。不同浓度 DDP 处理的 A2780/DDP/KDM2A 细胞的生长抑制率均显著高于 A2780/DDP/NC 和 A2780/DDP 细胞(*P<0.05*),A2780/DDP/KDM2A 细胞克隆形成数量亦明显高于 A2780/DDP/NC 和 A2780/DDP 细胞(*P<0.05*)。A2780/DDP/KDM2A 细胞凋亡率为 (25.84± 3.27)%,明显高于 A2780/DDP 细胞 [(14.29± 1.96)%](*P<0.05*) 和 A2780/DDP/NC 细胞 [(12.46± 2.15)%](*P<0.05*)。A2780/DDP/KDM2A 细胞中 Bcl-2 蛋白表达明显低于 A2780/DDP 细胞(*P<0.05*),而 A2780/DDP/KDM2A 细胞 Bax 的表达水平却高于 A2780/DDP 细胞(*P<0.05*)。**结论**:KDM2A 可能通过上调 Jagged1 的表达,促进人卵巢癌细胞 A2780 的增殖并抑制其凋亡,进而降低人卵巢癌耐药细胞 A2780 的顺铂敏感性。

关键词:卵巢癌;A2780 细胞;KDM2A;Jagged1;顺铂;耐药

中图分类号:R-33; R737.31; R730.5 **文献标识码**:A **文章编号**:1673-6273(2018)16-3001-06

Effects of KDM2A on the Resistance of Human Ovarian Cancer A2780 Cells to Cisplatin and Its Mechanisms*

LU Dan-hua[1], HONG Li[1△], YANG Jiang[1], GAO Li-kun[1], ZENG Wan-ling[1]

(Renmin hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei, 430060, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of lysine emethylase 2A on the proliferation and apoptosis of human ovarian cancer A2780 cells with cisplatin resistance and its potential mechanism. **Methods:** A2780/DDP was transfected by lentivirus vector including A2780/DDP/KDM2A, A2780/DDP/Jagged1 and A2780/DDP/NC cells. The expression of KDM2A, Jagged1, Bcl2 and BAX protein in 3 groups was detected by Western blot. The sensitivity of cells to cisplatin was compared by CCK8 and plate clone assay. The flow cytometry was used to detect the apoptosis in 3 groups. **Results:** The expression levels of KDM2A and Jagged1 were significantly higher in A2780/DDP cells than those in A2780 cells. The expression levels of KDM2A and Jagged1 proteins were significantly lower in A2780/DDP/KDM2A cells than those in A2780/DDP and A2780/DDP/NC cells (*P<0.05*). The expression of Jagged1 was significantly lower in A2780/DDP/Jagged1 cells than those in A2780/DDP cells(*P<0.05*), and the expression of KDM2A in A2780/DDP/Jagged1 cells showed no significant differences in comparison with that in A2780/DDP and A2780/DDP/NC cells (*P>0.05*). The inhibition rate of A2780/DDP/ KDM2A cells treated with different concentrations of DDP was significantly higher than that of A2780/DDP and A2780/DDP/NC cells (*P<0.05*). Moreover, the cell formation clones of A2780/DDP/KDM2A cells were also higher than those of A2780/DDP and A2780/DDP/NC cells (*P<0.05*). The 10 μmol/L DDP induced apoptotic rate of A2780/DDP/KDM2A cells [(25.84± 3.27)%] was significantly higher than that of A2780/DDP [(14.29± 1.96)%](*P<0.05*) and A2780/DDP/NC cells [(12.46± 2.15)%](*P<0.05*). The expression of Bcl2 in A2780/DDP/KDM2A cells was significantly lower than that of A2780/DDP cells (*P<0.05*), but the expression of Bax in A2780/DDP/KDM2A cells was higher than that of A2780/DDP cells (*P<0.05*). **Conclusion:** KDM2A could

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81471442)

作者简介:卢丹华(1970-),硕士研究生,主要研究方向:盆底功能障碍性疾病,E-mail: 510957836@qq.com

△ 通讯作者:洪莉(1970-),博士生导师,教授,主要研究方向:盆底功能障碍性疾病和卵巢癌,

E-mail: 510957836@qq.com,电话:13026134308

(收稿日期:2018-04-04 接受日期:2018-04-30)

upregulate the expression of Jagged1, facilitate the proliferation, inhibitedapoptosis and enhance the cisplatin sensitivity of human ovarian cancer cell line A2780.

Key words: Ovarian cancer; A2780 cells; KDM2A; Jagged1; Cisplatin; Drug resistance

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.31; R730.5 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2018)16-3001-06

前言

卵巢癌是女性生殖系统常见的恶性肿瘤之一，发病率居妇科恶性肿瘤第 2 位[1]。由于卵巢癌起病隐匿，病情发展迅速，病死率居妇科恶性肿瘤首位，5 年生存率仅为 30%[2]。目前，卵巢癌的临床治疗手段主要是手术联合铂类为基础的系统化疗，但部分晚期患者尤其是复发患者对铂类药物易产生化疗耐药。一旦患者出现卵巢癌复发或产生耐药的情况，其中位生存时间仅有 12~24 月[3]。

化疗耐药是多因素、多水平、多基因参与的复杂过程。Jagged1 是 Notch 信号通路的主要配体之一，其通过与相邻细胞的 Notch 胞外域结合后，形成 Notch 胞内区入核参与调控核内靶基因，影响肿瘤细胞的生物学行为[4,5]。研究表明 Jagged1 通过促血管生成因子如 PDGFA 等参与调节血管形成，其高表达与高密度血管、淋巴结转移、肿瘤复发和耐药密切相关[6-9]。Chen [10] 等对乳腺癌的实验结果显示赖氨酸脱甲基酶 2A(Lysine-specific demethylase 2A，KDM2A)通过作用 Jagged 启动子启动抗凋亡程序，阻止细胞在 G1 期发生凋亡，促进癌细胞发生耐药反应。但 KDM2A 和 Jagged1 在人卵巢癌化疗耐药方面尚无报道。本研究主要探讨了 KDM2A 和 Jagged1 在人卵巢癌顺铂(cisplatin，DDP)耐药细胞株 A2780/DDP 中的作用，旨在为临床化疗耐药治疗提供参考证据。

1 材料与方法

1.1 细胞系和细胞培养基

人卵巢癌敏感性细胞株 A2780 和顺铂耐药性细胞株 A2780/DDP(上海典型物保藏中心)以及 RPMI-1640 培养基、双抗、胎牛血清和胰蛋白酶(武汉科瑞生物技术有限公司)。

1.2 细胞培养及转染

卵巢癌细胞株 A2780 和 A2780/DDP 于含 10%胎牛血清，10%的 RPMI1640 培养基中，5%CO_2 条件下 37℃恒温培养箱中培养，饱和湿度条件下连续培养 72 h。将 2.0× 10^5/mL 的细胞接种于 6 孔培养板培养 24 h 后，根据说明书方法转染 LV、LV-KDM2A 和 LV-Jagged1。空白对照组以无血清 RMPI1640 培养基代替；阴性对照组转染慢病毒。

1.3 细胞增殖检测

使用 CCK8 法分析细胞活性，A2780/DDP、A2780/DDP/NC 和 A2780/DDP/KDM2A 按每孔密度 5× 10^3 个 / 孔接种 96 孔板，每样品设置 3 个平行浓度，加入浓度梯度 0 μmol/L、5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L、80 μmol/L 和 160 μmol/L DDP 48 h 后，每孔加入 100 μL CCK8 溶液，酶标仪检测。

使用平板克隆形成实验，A2780/DDP/KDM2A 按密度 500 个 / 孔接种于培养皿，加入 10 μmol/L DDP 浓度 2 周后，75%酒精固定 15 min，PBS 洗 3 次，0.05%结晶紫染色 10 min，PBS 洗 3 次，进行投影扫描。

1.4 细胞凋亡测定

加入 DDP48 h 后，消化细胞、离心弃上清。加入 100 μL Binding buffer，同时加入 Annexin V-PE 和 7AAD，避光室温孵育 15 min，再次加入 400 μL Binding buffer，1 h 内使用流式细胞仪检测两组细胞凋亡率。

1.5 蛋白表达检测

采用 Western blot 方法。用 0.25%胰蛋白酶消化各组细胞，离心收集细胞，PBS 洗涤 3 次，弃上清，用适量 PBS 重悬细胞，加入 100 μL 蛋白提取液，冰上反应 30 min，12000 r/min 离心 10 min，采用二喹啉甲酸(BCA)试剂盒说明书提供梯度曲线法方法测算各组细胞蛋白含量。煮沸振荡 10 min。以 GAPDH 为内参照，KDM2A、Jagged1、Bcl2 和 BAX 抗体浓度均为 1∶500。

1.6 统计学方法

应用 SPSS23.0 统计软件分析，多组间计量资料比较采用方差分析，进一步两组间比较采用 SNK-q 检验，以 *P<0.05* 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 KDM2A 和 Jagged1 蛋白在 A2780/DDP 和 A2780 细胞中的表达

Western blot 结果显示：与 A2780 细胞比较，A2780/DDP细胞中 KDM2A 和 Jagged1 蛋白表达显著增强(*P<0.05*)，见图 1。

2.2 KDM2A 和 Jagged1 蛋白在 A2780/DDP、A2780/DDP/sh-KDM2A 和 A2780/DDP/sh-Jagged1 细胞中的表达

Western blot 结果显示：KDM2A 慢病毒载体转染 A2780/DDP 细胞后，KDM2A 和 Jagged1 表达均下降(*P<0.05*)，见图 2。Jagged1 慢病毒载体转染 A2780/DDP 细胞后，Jagged1 蛋白表达下降(*P<0.05*)，而 KDM2A 蛋白表达无明显变化(*P>0.05*)，见图 3。

2.3 KDM2A 对 A2780/DDP 细胞增殖的影响

CCK8 结果显示：当 DDP 浓度为 0 μmol/L、5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L、80 μmol/L 和 160 μmol/L 时，A2780/DDP (0，11.3 ± 1.2，26.7 ± 1.4，37.7 ± 1.8，38.0 ± 1.3，41.2± 1.1，44.6± 1.4)% 和 A2780/DDP/NC 细胞(0，13.7± 1.8，27.2± 1.3，35.1± 1.5，37.3± 1.4，39.2± 1.6，42.5± 1.2)% 对于 DDP 的抵抗性显著强于 A2780/DDP/KDM2A 细胞(0，31.5 ± 1.4，49.5 ± 1.6，63.7 ± 1.2，69.4 ± 1.3，73.6 ± 1.5，78.0± 1.6)%，差异均有统计学意义(*P<0.05*)，见图 4。平板克隆形成实验也得到同样结果，10 μmol/L DDP 作用 2 周后，A2780/DDP/KDM2A、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP 细胞克隆形成数量分别是(404± 31)、(256± 23)、(238± 19)个。见图 5。

2.4 KDM2A 对 A2780/DDP 细胞凋亡的影响

流式细胞仪检测结果显示：A2780/DDP/KDM2A 细胞凋亡

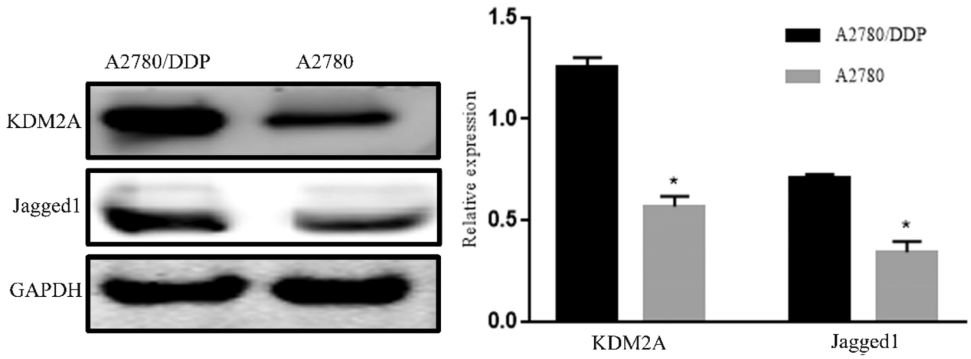


图 1 A2780 和 A2780/DDP 细胞中 KDM2A 和 Jagged1 蛋白的表达情况

Fig.1 Expression of KDM2A and Jagged1 protein in A2780 and A2780/DDP cells

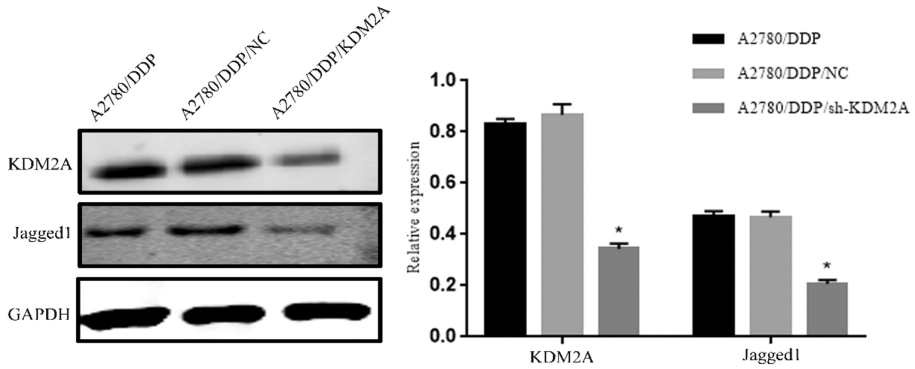


图 2 A2780/DDP、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP/KDM2A 细胞中 KDM2A 和 Jagged1 蛋白的表达情况

Fig.2 Expression of KDM2A and Jagged1 protein in A2780/DDP, A2780/DDP/NC and A2780/DDP/KDM2A cells

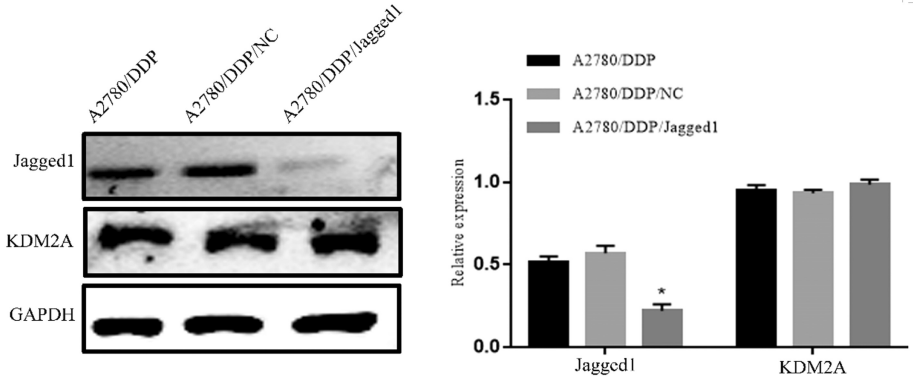


图 3 A2780/DDP、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP/Jagged1 细胞中 Jagged1 和 KDM2A 蛋白的表达情况

Fig.3 Expression of Jagged1 and KDM2A protein in A2780/DDP, A2780/DDP/NC and A2780/DDP/Jagged1 cells

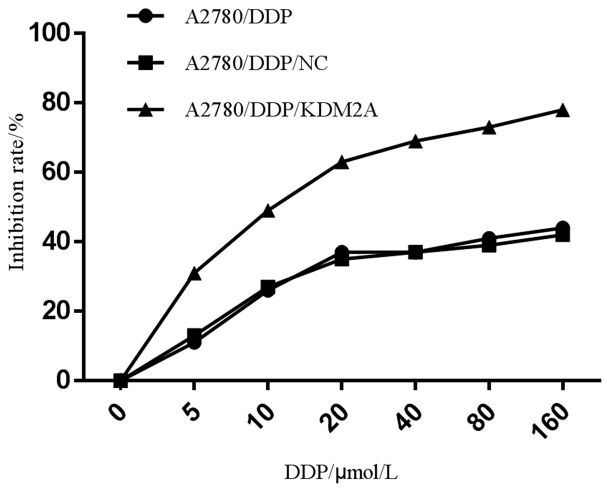


图 4 A2780/DDP、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP/KDM2A 细胞对不同浓度 DDP 的抑制率

Fig.4 Inhibition rate of A2780/DDP, A2780/DDP/NC and A2780/DDP/KDM2A cells with the concentration gradient

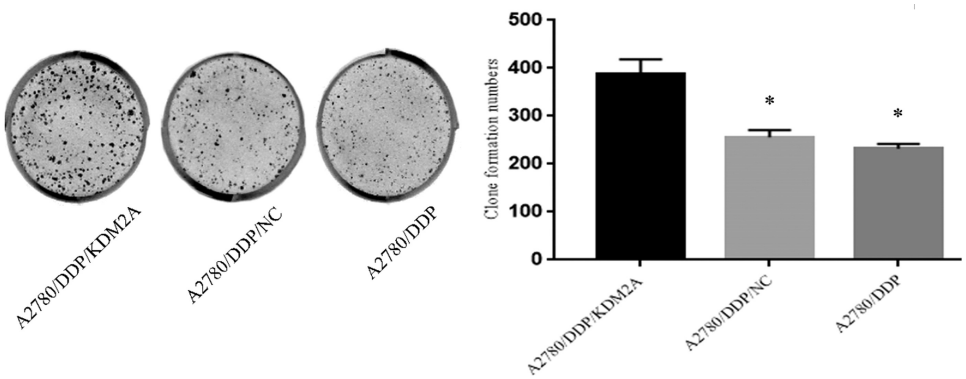
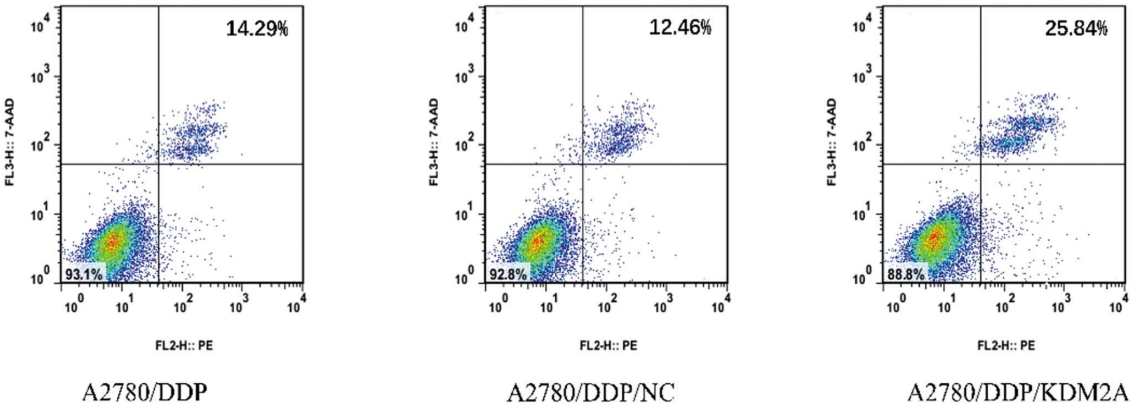


图 5 10 μmol/L DDP 作用 A2780/DDP/KDM2A、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP 细胞克隆形成数

Fig.5 Cell formation numbers ofA2780/DDP/KDM2A, A2780/DDP/NC and A2780/DDP cells treated with 10 μmol/L DDP



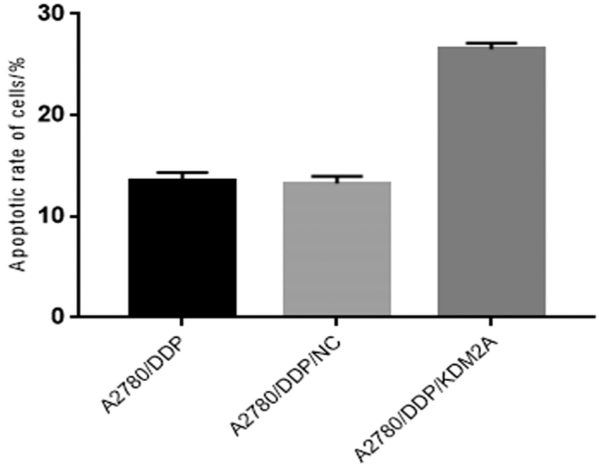


图 6 10 μmol/L DDP 作用 A2780/DDP、A2780/DDP/NC 以及 A2780/DDP/KDM2A 细胞凋亡率

Fig.6 Apoptotic rate ofA2780/DDP, A2780/DDP/NC and A2780/DDP/KDM2A cells treated with 10 μmol/L DDP

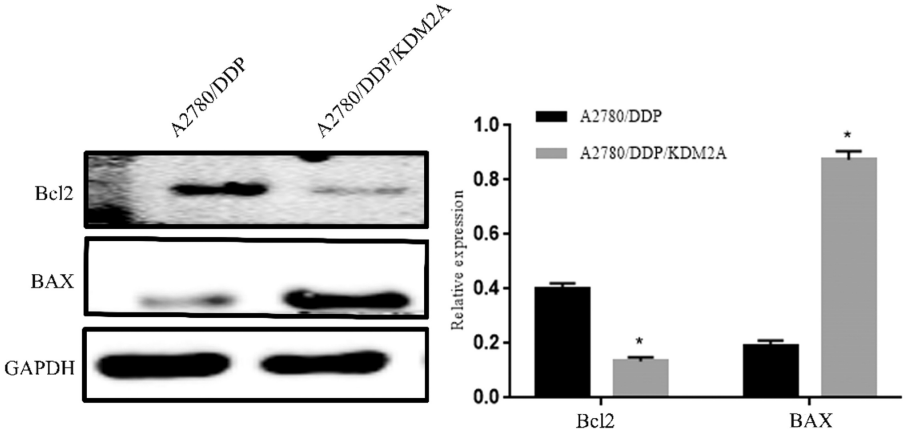


图 7 A2780/DDP 和 A2780/DDP/KDM2A 细胞中 Bcl2 和 BAX 蛋白的表达情况

Fig.7 Expression of Bcl2 and BAX protein in A2780/DDPand A2780/DDP/KDM2A cells

率为 (25.84± 3.27)%，明显高于 A2780/DDP 细胞 [(14.29± 1.96)%](*P<0.05*)和 A2780/DDP/NC[(12.46± 2.15)%](*P<0.05*)，见图 6。Western blot 结果显示：A2780/DDP/KDM2A 细胞中 Bcl-2 蛋白表达水平明显低于 A2780/DDP(*P<0.05*)，而 BAX 蛋白表达则相反(*P<0.05*)，见图 7。

3 讨论

据报道，约 70%上皮性卵巢癌患者初诊为 FIGO Ⅲ~Ⅳ期，死亡率居妇科肿瘤首位[2]。铂类方案全身化疗是目前大多数卵巢癌患者无法避免的治疗手段之一，然而化疗后卵巢癌细胞引发多机制耐药行为包括药物外排泵、抗凋亡蛋白或者 DNA 修复增强等导致肿瘤细胞耐药性形成，是造成临床化疗失败的主要原因之一[11]。Notch 信号通路是通过相邻细胞上的受体相互作用产生传递信号从而调节胚胎发育，影响组织形成和发育[12]。研究显示 Notch 信号通路异常表达与肿瘤的侵袭和转移、肿瘤血管密度增加，肿瘤干细胞形成，抗肿瘤化疗药耐药形成等有关[15,16]。

Jagged1 可以通过调控多种转录因子启动 Notch 信号通路调节靶基因[13,14]。Jagged1 结合 Notch1 能诱导上皮间质转化发生，并且 Jagged1 和 Notch1 高表达与患者低生存率具有相关性[17]。此外，Notch1 受体及其配体 Jagged1 与肝癌细胞的肝外转移行为密切相关[18]。Zhang[19]等发现在舌鳞癌细胞中 Jagged1 高表达，通过慢病毒载体转染 Jagged1 基因使得癌细胞增殖明显受抑制。Kanamori[20]等实验结果表明多种血液系统恶性肿瘤中 Jagged1 和 Notch1 高表达，尤其是慢性 B 淋巴细胞性白血病的患者中表达明显增高。Lu[21]等发现非功能性垂体腺瘤中的 Jagged1/Notch3 信号传导通路高表达，且促进癌细胞增殖。Twist1-Jagged1/KLF4(Kruppel-like factor 4) 信号轴可能参与调节头颈部肿瘤细胞分化为内皮细胞的过程，且与获得性化疗耐药的发生密切相关[22]。人卵巢癌细胞中，Jagged1 的表达水平较其他 Notch 信号通路配体(DLL1,3,4、Jagged1)亦增高[23]。研究表明作为 Notch 信号通路的重要配体，沉默 Jagged1 基因可通过明显降低人卵巢癌细胞增殖活性、增强紫杉醇敏感性以及降低肿瘤微血管密度[24]；Jagged1 在卵巢癌细胞株中高表达，尤其在紫杉醇耐药的癌细胞株细胞中增强程度更大，通过下调 Jagged1 基因的表达能够明显抑制卵巢癌细胞增殖并且逆转癌细胞对紫杉醇耐药的发生[25]。Park[26]等研究显示 Jagged1 和受体 Notch3 在卵巢癌中表达增高，且两者相互作用可能引起化疗药物卡铂耐药，最终导致卵巢癌复发相关。人卵巢癌顺铂耐药细胞株 A2780 中的 Jagged1 蛋白表达水平显著高于顺铂敏感株 A2780 细胞，表明 Jagged1 蛋白可能通过某一因子或者机制参与人卵巢癌细胞 A2780 DDP 耐药机制过程[27]。

研究表明 KDM2A 可特异性结合 H3K36 发挥去甲基化作用，通过 Jagged1 基因促进乳腺癌干细胞生成和肿瘤间质微血管形成 [10]。KDM2A 属于 KDMs 组蛋白赖氨酸去甲基化酶家族，催化组蛋白以及相关蛋白的赖氨酸残基特异位点的去甲基化。KDMs 被分成两种功能酶家族。一方面是包括两个成员(KDM1A/LSD1 和 KDM1B/LSD2)的第一家族，可通过胺基氧化反应去除组蛋白的单甲基和二甲基化的赖氨酸残基。第二家族是通过加氧酶机制去除单甲基、二甲基和三甲基化的赖氨酸残基。其中，第二家族去甲基化酶根据结构的相似性和序列可被分成 7 种不同的亚家族 (KDM2-8)。已有多项研究表明 KDM5B 参与发生癌症耐药过程[28]。Roesch 等[29]研究表明化学药物治疗黑色素瘤后可发生高表达 KDM5B 低细胞周期的细胞富集，这类型细胞被称为肿瘤干细胞，可引起多种抗肿瘤药物耐药；在体内实验中，敲低 KDM5B 会增强黑色素瘤细胞对于化疗药物的敏感性。Lin[30]等研究结果显示在口腔鳞状细胞癌中，下调 KDM5B 可抑制肿瘤细胞发生发展、干细胞特性以及促进化疗的敏感性。有学者认为，在癌细胞中基因和表观遗传事件执行中是相互依存的，KDM2A 和 KDM5B 以不依赖亚型的方式具有较高频率的基因扩增和过表达；KDM5B 和 KDM2A 分别在 HER2+ 过表达型和管腔 B 型乳腺癌中具有较高频率的基因扩增；KDM2A 的 mRNA 高表达与乳腺癌患者的较短生存期之间有显著地相关性[31]。

生理条件下，KDM2A 是一种具有组蛋白去甲基化和 F-box 结构域的重要的赖氨酸去甲基酶，可特异性催化组蛋白 H3K36 起到去甲基化的作用，从而阻止基因转录[32]。KDM2A 在细胞的有丝分裂中起到维持基因组稳定性和丝粒完整性[33]。目前，KDM2A 相关实验研究亦主要集中在肺癌、胃癌以及乳腺癌细胞发生发展以及侵袭转移等方面，而沉默 KDM2A 的表达较上皮性卵巢良性组织高，癌细胞发生发展受到抑制[34-36]。在裸鼠模型中，KDM2A 的沉默可抑制肿瘤细胞的增殖、促凋亡以及减缓肿瘤生长[37]。机体发生癌变时，原癌基因低甲基化与卵巢癌耐药性形成以及总体预后相关[38-40]。KDM2A 基因在肿瘤铂类化疗耐药性的作用中鲜少报道。本研究结果显示通过构建慢病毒载体下调 A2780/DDP 细胞 KDM2A 和 Jagged1 基因后 A2780/DDP 细胞中的 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白水平均明显高于 A2780 细胞；A2780/DDP/KDM2A 细胞中 KDM2A 和 Jagged1 的蛋白水平均明显低于 A2780/DDP 和 A2780/DDP/NC 细胞；A2780/DDP/Jagged1 细胞中的 Jagged1 蛋白水平均明显低于 A2780/DDP 和 A2780/DDP/NC 细胞，而 A2780/DDP/KDM2A、A2780/DDP 和 A2780/DDP/NC 细胞中的 KDM2A 蛋白水平差异无统计学意义，表明在人卵巢癌细胞 A2780 中 Jagged1 表达水平受 KDM2A 的调控，其可能作为 KDM2A 的下游靶基因。此外，本研究结果显示 A2780/DDP/KDM2A 细胞增殖受抑制程度明显高于 A2780/DDP 和 A2780/DDP/NC 细胞，且凋亡率增加，提示下调 KDM2A 基因能够有效逆转 A2780/DDP 细胞株的耐药性，增强化疗敏感性，而干扰 KDM2A 可下调 Jagged1 的表达，介导人卵巢癌细胞 A2780 的增殖与凋亡，增强人卵巢癌耐药细胞 A2780 的顺铂敏感性。

与基因突变相比较，表观遗传学的改变是可以逆转的。目前，临床治疗卵巢癌还没有表观遗传药物的使用前例，但已有部分治疗其他类型的癌症药物已经得到 FDA 批准 (如 romidepsin/ 罗米地辛、decitabine/ 地西他滨和 vorinostat/ 伏立诺他)，尤其是非实体肿瘤的治疗。因此，KDM2A 基因相关抑制剂的构成有可能成为新一代的肿瘤治疗靶向药物。

参 考 文 献(References)

[1] Isobe A, Sawada K, Kinose Y, et al. Interleukin 6 receptor is an Independent prognostic factor and a potential therapeutic target of

ovarian cancer[J]. Plos One, 2015, 10(2): e0118080

[2] 孙燕, 石远凯. 临床肿瘤内科手册 [M]. 6 版. 北京人民卫生出版社, 2015: 582
Sun Yan, Shi Yuan-kai. Manual of medical oncology [M]. 6 version. People's Medical Publishing House, 2015: 582

[3] Daly MB, Ozols RF. Symptoms of Ovarian Cancer-Where to Set the Bar? [J]. Jama the Journal of the American Medical Association, 2004, 291(22): 2705-2712

[4] Parrsturgess CA, Rushton DJ, Parkin ET. Ectodomain shedding of the Notch ligand Jagged1 is mediated by ADAM17, but is not a lipid-raft-associated event [J]. Biochemical Journal, 2010, 432 (2): 283-294

[5] Pedrosa AR, Trindade A, Carcalho C, et al. Endothelial Jagged1 promotes solid tumor growth through both pro-angiogenic and angiocrine functions[J]. Oncotarget, 2015, 6(27): 24404-24423

[6] Anan K, Morisaki T, Katano M, et al. Vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor are potential angiogenic and metastatic factors in human breast cancer [J]. Surgery, 1996, 119: 333-339

[7] Luengo-Gil G, Gonzalez-Billalabeitia E, Chaves-Benito A, et al. Effects of conventional neoadjuvant chemotherapy for breast cancer on tumor angiogenesis [J]. Breast Cancer Res Treat, 2015, 151: 577-587

[8] Qiu XX, Wang CH, You N, et al. High Jagged1 expression is associated with poor out come in primary glioblastoma [J]. Med Oncol, 2015, 32(1): 341

[9] Xue TC, Zou JH, Chen RX, et al. Spatial localization of the JAG1/Notch1/osteopontin cascade modulates extrahepatic metastasis hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol,2014, 45(5): 1883-1890

[10] Chen JY, Li CF, Chu PY, et al. Lysine demethylase 2A promotes stemness and angiogenesis of breast cancer by upregulating Jagged1 [J]. Oncotarget, 2016, 7(19): 27689-27710

[11] Kachalaki S, Ebrahimi M, Mohamed KL, et al. Cancer chemoresistance;biochemical and molecular aspects: a brief overview [J]. Eur J Pharm Sci, 2016, 89: 20-30

[12] Takebe N, Miele L, Harris PJ, et al. Targeting Notch, Hedgehog, and Wnt pathways in cancer stem cells: Clinical update [J]. Nat Rec Clin Oncol, 2015, 12(8): 445-464

[13] Pelullo M, Quaranta R, Talora C, et al. Notch3/Jagged1 circuitry reinforces notch signaling and sustains T-ALL [J]. Neoplasia, 2014, 16(12): 1007-1017

[14] Kim EJ, Kim SO, Jin X, et al. Epidermal growth factor receptor variant Ⅲ renders glioma cancer cells less differentiated by JAGGED1[J]. Tumour Biol, 2014, 36 (4): 2921-2928

[15] Wang Z, Li Y, Banerjee S, et al. Emerging role of Notch in stem cells and cancer[J]. Cancer Lett, 2009, 279(1): 8-12

[16] 张艳, 张菊新. 复发性卵巢癌诊疗进展[J].中华实用诊断与治疗杂志, 2013, 27(10): 942-943
Zhang Yan, Zhang Ju-xin. Progress of diagnosis and treatment in recurrent ovarian cancer [J]. J Chin Pract Diagn Ther, 2013, 27(10): 942-943

[17] Leong KG, Niessen K, Kulic I, et al. Jagged1-mediated Notch activation induces epithelial-to-mesenchymal transition through Slug-induced repression of E-cadherin[J]. J Exp Med, 2007, 204(12): 2935-2948

[18] Xue TC, Zou JH, Chen RX, et al. Spatial localization of the JAG1/Notch1/osteopontin cascade modulates extrahepatic metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Oncol, 2014, 45(5): 1883-1890

[19] Zhang TH, Liu HC, Liang YJ, et al. Suppression of tongue squamous cell carcinoma growth by inhibition of Jagged1 in vitro and in vivo[J]. J Oral Pathol Med, 2013, 42(4): 322-331

[20] Kanamori E, Itoh M, Tojo N, et al. Flow cytometric analysis of Notch1 and Jagged1 expression in normal blood cells and leukemia cells[J]. Exp Ther Med, 2012, 4(3): 397-400

[21] Lu R, Gao H, Wang H, et al. Overexpression of the Notch3 receptor and its ligand Jagged1 in human clinically non-functioning pituitary adenomas[J]. Oncol Lett, 2013, 5(3): 845-851

[22] Chen HF, Huang CH, Liu CJ, et al. Twist1 induces endothelial differentiation of tumour cells through the Jagged1-KLF4 axis[J]. Nat Commun, 2014, 22 (5): 4697

[23] Choihoi JH, Park JT, Davidson B, et al. Jagged1 and Notch3 juxtacrine loop regulates ovarian tumor growth and adhesion [J]. Cancer Res, 2008, 68(14): 5716-5723

[24] Steg AD, Katre AA, Goodman B, et al. Targeting the Notch ligand Jagged1 both tumor cells and stroma in ovarian cancer [J]. Clin Cancer Res, 2011, 17(17): 5674-5685

[25] Lǒpez-Arribillaga E, Rodilla V, Colomer C, et al. Manic Fringe deficiency imposes Jagged1 addiction to intestinal tumor cells[J]. Nat Commun. 2018, 9(1): 2992

[26] Park JT, Chen JT, Chen X, et al. Notch3 overexpression is related to the recurrence of ovarian cancer and confers resistence to carboplatin [J]. Am J Pathol, 2010, 177(3): 1087-1094

[27] 杨将, 邢辉, 洪莉, 等. Twist1 与 Jagged1 基因在人卵巢癌 A2780 细胞顺铂耐药中的作用 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31 (11): 1067-1071
Yang Jiang, Xing Hui, Hong Li, et al. Effects of Twist1 and Jagged1 genes on the resistance of human ovarian cancer A2780 cells to cisplatin[J]. J Chin Pract Diagn Ther, 2017, 31(11): 1067-1071

[28] Banelli B, Daga A, Forlani A, et al. Small molecules targeting histone demethylase genes (KDMs)inhibit growth of temozolomide-resistant glioblastoma cells[J]. Oncotarget, 2017, 8(21): 34896-34910

[29] Roesch A, Fukunaga-Kalabis M, Schmidt EC, et al. Atempo rarily distinct subpopulation of slow-cycling melanoma cells is required for continuous tumor growth[J]. Cell, 2010, 141(4): 583-598

[30] Lin CS, Lin YC, Adebayo BO, et al. Silencing JARID1B suppresses oncogenicity,stemness and increases radiation sensitivity in human oral carcinoma[J]. Cancer Lett, 2015, 368(1): 36-45

[31] 刘辉. 综合 KDMs 的基因组和功能分析确定乳腺癌中可致癌的 KDM2A[J].吉林大学, 2015, 5: 1-79
Liu Hui. Integrated genomic and functional analyses of histone lysine demethylases (KDMs) identify oncogenic KDM2A isoform in breast cancer[J]. Jilin university, 2015, 5: 1-79

[32] Pfau R, Tzatsos A, Kampranis SC, et al. Members of a family of JmjC domain-containing oncoproteins immortalize embryonic fibroblasts via a JmjC domain-dependent process [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(6): 1907-1912 （下转第 3011 页）

3875-3881

[9] Gao X, Li C, Tang YL, et al. Effect of Hedyotis diffusa water extract on protecting human hepatocyte cells (LO2) from H_2O_2-induced cytotoxicity[J]. Pharm Biol, 2016, 54(7): 1148-1155

[10] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108

[11] Torre LA, Siegel RL, Ward EM, et al. Global Cancer Incidence and Mortality Rates and Trends--An Update [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2016, 25(1): 16-27

[12] Chen Y, Lin Y, Li Y, et al. Total flavonoids of Hedyotis diffusa Willd inhibit inflammatory responses in LPS-activated macrophages via suppression of the NF-κB and MAPK signaling pathways [J]. Exp Ther Med, 2016, 11(3): 1116-1122

[13] Kang MJ, Kim JI, Yim JE. Anti-inflammatory effects of Hedyotis diffusain ob/ob mice (688.2) [J]. The FASEB Journal, 2014, 28 (1 Supplement): 688

[14] Li P, Wang SS, Liu H, et al. Elevated serum alpha fetoprotein levels promote pathological progression of hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2011, 17(41): 4563-4571

[15] Hu E, Wang D, Chen J, et al. Novel cyclotides from Hedyotis diffusa induce apoptosis and inhibit proliferation and migration of prostate cancer cells[J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(3): 4059-4065

[16] Zhang P, Zhang B, Gu J, et al. The Study of the Effect of Hedyotis diffusa on the Proliferation and the Apoptosis of the Cervical Tumor in Nude Mouse Model[J]. Cell Biochem Biophys, 2015, 72(3): 783-789

[17] Chen R, He J, Tong X, et al. The Hedyotis diffusa Willd. (Rubiaceae): A Review on Phytochemistry, Pharmacology, Quality Control and Pharmacokinetics[J]. Molecules, 2016, 21(6). pii: E710

[18] Lin M, Lin J, Wei L, et al. Hedyotis diffusa Willd extract inhibits HT-29 cell proliferation via cell cycle arrest[J]. Exp Ther Med, 2012, 4(2): 307-310

[19] Lin J, Wei L, Xu W, et al. Effect of Hedyotis Diffusa Willd extract on tumor angiogenesis[J]. Mol Med Rep, 2011, 4(6): 1283-1288

[20] Kuo YJ, Yang JS, Lu CC, et al. Ethanol extract of Hedyotis diffusa willd upregulates G0/G1 phase arrest and induces apoptosis in human leukemia cells by modulating caspase cascade signaling and altering associated genes expression was assayed by cDNA microarray [J]. Environ Toxicol, 2015, 30(10): 1162-1177

[21] Willimott S, Barker J, Jones LA, et al. Apoptotic effect of Oldenlandia diffusa on the leukaemic cell line HL60 and human lymphocytes[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 114(3): 290-299

[22] Wang N, Li DY, Niu HY,et al. 2-hydroxy-3-methylanthraquinone from Hedyotis diffusa Willd induces apoptosis in human leukemic U937 cells through modulation of MAPK pathways [J].Arch Pharm Res, 2013, 36(6): 752-758

[23] Lin J, Chen Y, Wei L, et al. Hedyotis Diffusa Willd extract induces apoptosis via activation of the mitochondrion-dependent pathway in human colon carcinoma cells[J]. Int J Oncol, 2010, 37(5): 1331-1338

[24] Cai Q, Lin J, Wei L, et al. Hedyotis diffusa Willd inhibits colorectal cancer growth in vivo via inhibition of STAT3 signaling pathway [J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(5): 6117-6128

[25] Zardawi SJ, O'Toole SA, Sutherland RL, et al. Dysregulation of Hedgehog, Wnt and Notch signalling pathways in breast cancer [J]. Histol Histopathol, 2009, 24(3): 385-398

[26] Taipale J, Beachy PA. The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer[J]. Nature, 2001, 411(6835): 349-354

（上接第 3006 页）

[33] Frescas D, Guardavaccaro D, Kuchay SM, et al. KDM2A represses transcription of centromeric satellite repeats and maintains the heterochromatic state[J]. Cell Cycle, 2008, 7(22): 3539-3547

[34] Liu H, Liu L, Holowatyj A, et al. Integrated genomic and functional analyses of histone demethylases identify oncogenic KDM2A isoform in breast cancer[J]. Molecular Carcinogenesis, 2016, 55(5): 977-99

[35] Dhar SS, Alam H, Li N. Transcriptional repression of histone deacetylase 3 by the histone demethylase KDM2A is coupled to tumorigenicity of lung cancer cells[J]. Journal of Biological Che mistry, 2014, 289(11): 7483

[36] Huang Y, Liu Y, Yu L, et al. Histone demethylase KDM2A promotes tumor cell growth and migration in gastric cancer[J]. Tumor Biology, 2015, 36(1): 271-278

[37] Frescas D, Guardavaccaro D, Kuchay S M. KDM2A represses transcription of centromeric satellite repeats and maintains the heterochromatic state[J]. Cell Cycle, 2008, 7(22): 3539-3547

[38] Honda H, Pazin MJ, Ji H, et al. Crucial roles of Sp1 and epigenetic modifications in the regulation of the CLDN4 promoter in ovarian cancer cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(30): 21433-21444

[39] Lee PS, Teaberry VS, Bland AE, et al. Elevated MAL expression is accompanied by promoter hypomethylation and platinum resistance in epithelial ovarian cancer[J]. Int J Cancer, 2010, 126(6): 1378-1389

[40] Woloszynska-Read A, James SR, Link PA, et al. DNA methylation-dependent regulation of BORIS/CTCFL expression in ovarian cancer [J]. Cancer Immun, 2007, 7: 21