

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.03.007

去乙酰化酶抑制剂 TSA 介导 Ku70 乙酰化对结肠癌 HT29 细胞 凋亡和自噬的影响 *

孟 瑾^{1,2} 刘新利³ 车 玲¹ 陈 明¹ 吴 漫¹ 马晨珂¹ 赵冠人^{1Δ}

(1 解放军总医院第八医学中心药剂科 北京 100091; 2 空军军医大学唐都医院肿瘤科 陕西 西安 710038;

3 西北工业大学生命学院 陕西 西安 710072)

摘要 目的:探讨不同浓度组蛋白去乙酰化酶抑制剂 TSA 对结肠癌 HT29 细胞的增殖、凋亡和自噬影响及其机制研究。**方法:**取对数生长期人结肠癌 HT29 细胞,采用 MTT 法检测不同浓度 TSA 处理对其细胞活力影响,并根据 IC₅₀ 值确定适宜给药浓度;采用流式细胞术检测不同浓度 TSA 处理后结肠癌 HT29 细胞的凋亡情况;Western blot 验证空白对照组与 TSA 给药处理组中凋亡标志蛋白 Ku70、acetyl-Ku70、Caspase3、Bax、Bcl-2 和自噬标志蛋白 LC3 和 Beclin1 的表达。**结果:**MTT 法实验结果表明 TSA 对结肠癌 HT29 细胞具有时间和浓度依赖性抑制作用,根据 IC₅₀=1.12 μM,本研究中 TSA 的给药浓度为 0.5 μM 和 1 μM;流式细胞凋亡检测结果表明 TSA 能够显著促进结肠癌 HT29 细胞凋亡,且其促凋亡作用存在浓度依赖性;此外,Western blot 检测结果证实,与空白对照组相比,TSA 给药处理可显著上调上述细胞中 acetyl-Ku70 以及促凋亡蛋白 Caspase3、Bax 和自噬标志蛋白 LC3 和 Beclin1 的表达,下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达($P<0.05$)。**结论:**组蛋白去乙酰化酶抑制剂(TSA)的体外抗结肠癌细胞的增殖、促进细胞凋亡和自噬作用与其上调 Ku70 蛋白乙酰化密切相关,有望成为临床潜在抗癌靶点。

关键词:结肠癌;Ku70 乙酰化;TSA;凋亡;自噬

中图分类号:R-33;R735.35 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)03-434-05

Effect of TSA - mediated Ku70 Acetylation on Apoptosis and Autophagy of Colon Cancer HT29 Cells*

MENG Jin^{1,2}, LIU Xin-li³, CHE Ling¹, CHEN Ming¹, WU Man¹, MA Chen-ke¹, ZHAO Guan-ren^{1Δ}

(1 Department of Pharmacy, The Eighth Medical Center of PLA, Beijing, 100091, China;

2 Department of Oncology, Tangdu Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China;

3 College of life, Northwestern Polytechnical University, Xi'an, Shaanxi, 710072, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect and mechanism of different concentrations of histone deacetylase inhibitor TSA on proliferation, apoptosis and autophagy in colon cancer HT29 cells. **Methods:** Human colon cancer HT29 cells in logarithmic growth phase were collected and the effect of TSA treatment at different concentrations on cell viability was determined by MTT assay, and the appropriate concentration was determined according to IC₅₀ value. Flow cytometry was used to detect the apoptosis of colon cancer HT29 cells treated with different concentrations of TSA. Western blot was used to verify the expression of acetyl-Ku70 and apoptotic proteins Caspase3, Bax, Bcl-2 and autophagy proteins LC3 and Beclin1 in both control group and TSA treatment group. **Results:** The result of MTT assay showed that TSA could inhibit the viability of colon cancer HT29 cells in a time- and concentration-dependent manner. According to IC₅₀=1.12 μM, the concentration of TSA used in this study were 0.5 μM and 1 μM respectively. Flow cytometry result showed that TSA could significantly promote the apoptosis of colon cancer HT29 cells in a concentration-dependent manner. In addition, Western blot analysis confirmed that compared with the control group, TSA treatment could significantly up-regulate the expression of acetyl-Ku70 and apoptotic proteins Caspase3 and Bax and autophagy proteins LC3 and Beclin1, and down-regulate the expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 ($P<0.05$). **Conclusion:** The effect of histone deacetylase inhibitor (TSA) on the proliferation, apoptosis and autophagy of colon cancer cells in vitro is closely related to the up-regulation of Ku70 acetylation, which is expected to be a potential clinical anticancer target.

Key words: Colon cancer; Ku70 acetylation; TSA; Apoptosis; Autophagy

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.35 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)03-434-05

* 基金项目:解放军总医院第八医学中心基金项目(2016MS-016);陕西省自然科学基金研究计划项目(2017JM8034)

作者简介:孟瑾(1978-),博士,主管药师,研究方向:分子药理学,E-mail:zymengjin@163.com

Δ 通讯作者:赵冠人(1979-),硕士,副主任药师,研究方向:药物分析与分子药理学,E-mail:yanliqun79@163.com

(收稿日期:2019-05-23 接受日期:2019-06-18)

前言

结肠癌是一种常见的高发性于中老年人群的恶性消化道肿瘤,尽管临床上靶向结肠癌的治疗方法不断创新,但较强的细胞增殖及抗凋亡能力往往导致治疗失败及高致死率。因此,寻找高效低毒的抗癌治疗方法及药物是临床迫切解决的难题^[1]。Ku70 是经典的 DNA 损伤修复和凋亡调控分子,最新研究报道在结肠癌和肝癌中,Ku70 蛋白表达水平与肿瘤增殖及抗凋亡能力呈正相关,而与患者生存期呈负相关^[2,3]。其中 Ku70 蛋白乙酰化已被证明是多种药物诱导凋亡及细胞自噬的重要机制之一,包括组蛋白去乙酰化酶抑制剂^[4]、强效的表皮生长因子酪氨酸激酶选择性抑制剂吉非替尼 Gefitinib 等^[5],胞浆中 Ku70 被乙酰化后可释放出结合的前凋亡蛋白 Caspase3 和 Bax,二者向线粒体转位而触发细胞凋亡及自噬过程,提示 Ku70 可作为患者临床预后指标以及抗肿瘤治疗潜在靶点^[7]。尽管 Ku70 的生物学活性在肿瘤中日益凸显,然而其乙酰化修饰对结肠癌细胞凋亡及自噬的影响尚未报道。因此,本研究以人结肠癌 HT29 细胞为研究对象,探讨组蛋白去乙酰化酶抑制剂曲古霉素 A(TrichostatinA, TSA)是否通过上调 Ku70 乙酰化水平发挥促结肠癌细胞凋亡及自噬的作用,为临床抗结肠癌治疗提供新的作用靶点和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

人结肠癌 HT29 细胞由德国合作实验室馈赠;胎牛血清、蛋白酶抑制剂和细胞裂解液购自美国 Thermo Fisher 生物公司;高糖 DMEM 培养基、青链霉素混合液和胰蛋白酶消化液购自西安壮志生物公司;Annexin V-FITC 细胞凋亡检测试剂盒购自赛默飞世尔生物公司;SDS-PAGE 蛋白凝胶试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒和 ECL 化学发光试剂盒均购自西安碧云天科技生物公司;Ku70、acetyl-Ku70、Caspase3、Bax、Bcl-2、LC3 和 Beclin1 抗体分别购自英国 Abcam 生物公司和美国 Cell Signaling Technology(CST)生物公司;山羊抗兔/鼠二抗、MTT 和 4%多聚甲醛溶液购自西安科昊生物公司;TSA 购自上海顺元生物公司。

1.2 细胞培养

37℃水浴速溶人结肠癌 HT29 细胞,无菌操作台内采用微量移液器将细胞转入 15 mL 高压灭菌离心管中,加入 5-6 mL 含 10%FBS 高糖 DMEM 完全培养液轻轻吸打混匀,常温离心 3 min,1000 rpm;弃上清,加入 10 mL 含 10% FBS 的高糖 DMEM 完全培养液吸打混匀后转入 25 cm² 细胞培养瓶中,37℃、5% CO₂ 恒温培养箱中培养并密切观察细胞生长状态。

1.3 MTT 法检测 TSA 对细胞活力的影响

取对数生长期上述培养细胞,采用 0.25%胰蛋白酶消化、中和、离心后重悬于含 10% FBS 高糖 DMEM 完全培养基,以 $3 \times 10^4/200 \mu\text{L}$ 孔密度接种于 96 孔培养板中置于 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养。次日,弃上清分别给予 0 μM 、0.3 μM 、1 μM 、3 μM 和 10 μM 的 TSA 终浓度处理,37℃、5% CO₂ 孵箱中继续培养 24 h。取出培养板,每孔加入 20 μL 的 5 mg/mL MTT 溶液继

续孵育 4 h。弃上清,每孔加入 150 μL 的 DMSO 充分振荡 10 min 以促使结晶溶解,酶联免疫检测仪 570 nm 检测 OD 值。

1.4 流式细胞凋亡检测

取对数生长期结肠癌 HT29 细胞,消化重悬后以 $5 \times 10^5/2 \text{ mL}$ 孔密度接种于 6 孔培养板中,37℃、5% CO₂ 孵箱培养 24 h。设空白对照组及不同浓度 TSA(1 μM 、3 μM)给药处理组,给药时间为 24 h,每组各设置 3 个复孔;随后采用 0.25%的胰蛋白酶消化收集上述对照组及 TSA 给药处理组细胞,1000 rpm 常温离心 3 min 后弃上清;加入 4℃预冷的 PBS 清洗 3 次后重悬于 200 μL 结合缓冲液中;加入 10 μL Annexin V-FITC 和 5 μL PI,混匀后 4℃避光反应 30 min;加入 300 μL 结合缓冲液;400 目筛网过滤,流式细胞仪检测细胞凋亡率,获取并分析数据。

1.5 Western blot 检测蛋白表达

对数生长期结肠癌 HT29 细胞,消化重悬后以 $6 \times 10^5/2 \text{ mL}$ 孔密度接种于 6 孔培养板中,37℃、5% CO₂ 孵箱内培养 24 h。设空白对照组及不同浓度 TSA(1 μM 、3 μM)给药处理组 24 h,每组设置 3 个复孔;随后采用 0.25%胰蛋白酶消化收集上述对照组及 TSA 给药处理组细胞,1000 rpm 常温离心 3 min 后弃上清。根据所得细胞团大小加入含适量蛋白酶抑制剂的细胞裂解液冰上裂解 30 min,4℃离心机 16,000 rpm 离心 20 min。采用 BCA 试剂盒进行蛋白定量,并计算 30 μg /孔蛋白样品上样体积。加入 $5 \times$ Loading buffer 混匀,沸水浴煮 7 min 使蛋白变性。采用 SDS-PAGE 凝胶试剂盒进行蛋白电泳,NC 膜转膜,5%丽春红染液染色后裁剪目的条带并用 PBST 洗脱;5%脱脂奶粉室温封闭 1 h,5% BSA 稀释液 1:1000 稀释的兔/鼠抗 Caspase3、Bax、Bcl-2、LC3 和 Beclin1 抗体 4℃孵育过夜。次日, PBST 清洗目的条带,山羊抗兔/鼠二抗 1:5000 稀释后室温孵育 1 h。ECL 显色后化学发光仪检测目的蛋白的表达情况,拍照,统计数据。

1.6 统计学方法

本实验所有计量数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验。实验数据均采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析,所有统计检验均为双侧检验,* $P < 0.05$ 和 ** $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MTT 法观察 TSA 对结肠癌 HT29 细胞活力的影响

采用不同终浓度 TSA 处理结肠癌 HT29 细胞结果发现, TSA 可浓度依赖性抑制上述细胞的活力,并计算其 IC₅₀=1.12 μM ,差异有统计学意义(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$),见图 1。

2.2 MTT 法观察 TSA 对结肠癌 HT29 细胞增殖能力的影响

依据 TSA 对结肠癌细胞的 IC₅₀ 值为 1.12 μM ,因此本研究选取的 TSA 实际处理浓度应当低于该 IC₅₀ 值。选取 0.5 μM 和 1 μM 两个不同终浓度观察 TSA 的抑制作用是否呈浓度和时间依赖性,采用 MTT 法观察其对结肠癌 HT29 细胞增殖能力的影响,结果表明 TSA 对结肠癌 HT29 细胞的增殖能力呈时间和浓度依赖性抑制,差异有显著统计学意义(* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$),见图 2。

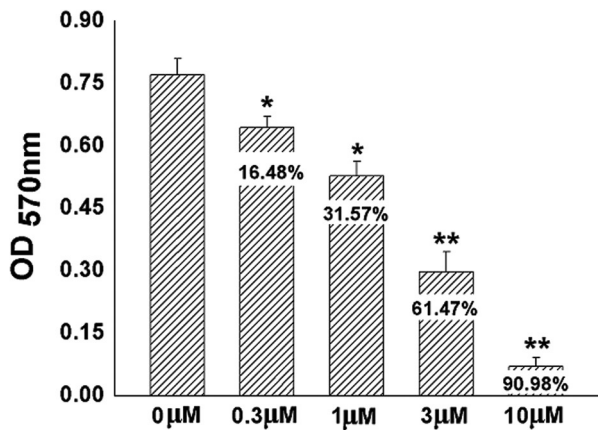


图1 MTT 法检测 TSA 对结肠癌 HT29 细胞活力的影响

Fig.1 Effect of TSA on the viability of colon cancer HT29 cells by MTT assay

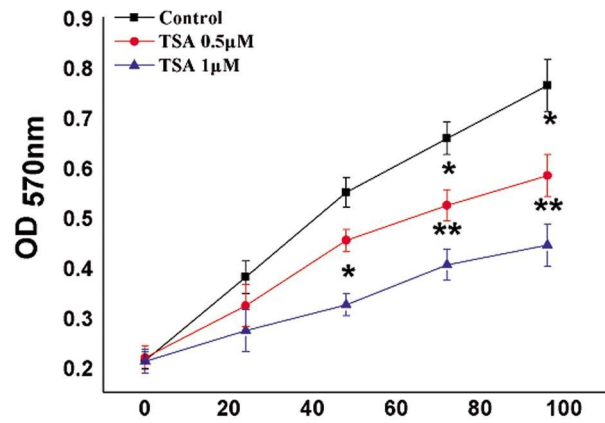


图2 MTT 法观察 TSA 对结肠癌 HT29 细胞增殖能力的影响

Fig.2 Effect of TSA on the proliferation of colon cancer HT29 cells by MTT assay

2.3 流式细胞术检测 TSA 对结肠癌 HT29 细胞凋亡的影响

采用流式细胞术观察 TSA 对结肠癌 HT29 细胞凋亡的影响, 结果表明较对照组细胞相比, TSA 能够显著促进结肠癌

HT29 细胞的凋亡, 且其促凋亡作用呈浓度依赖性, 差异有统计学意义 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$), 见图 3。

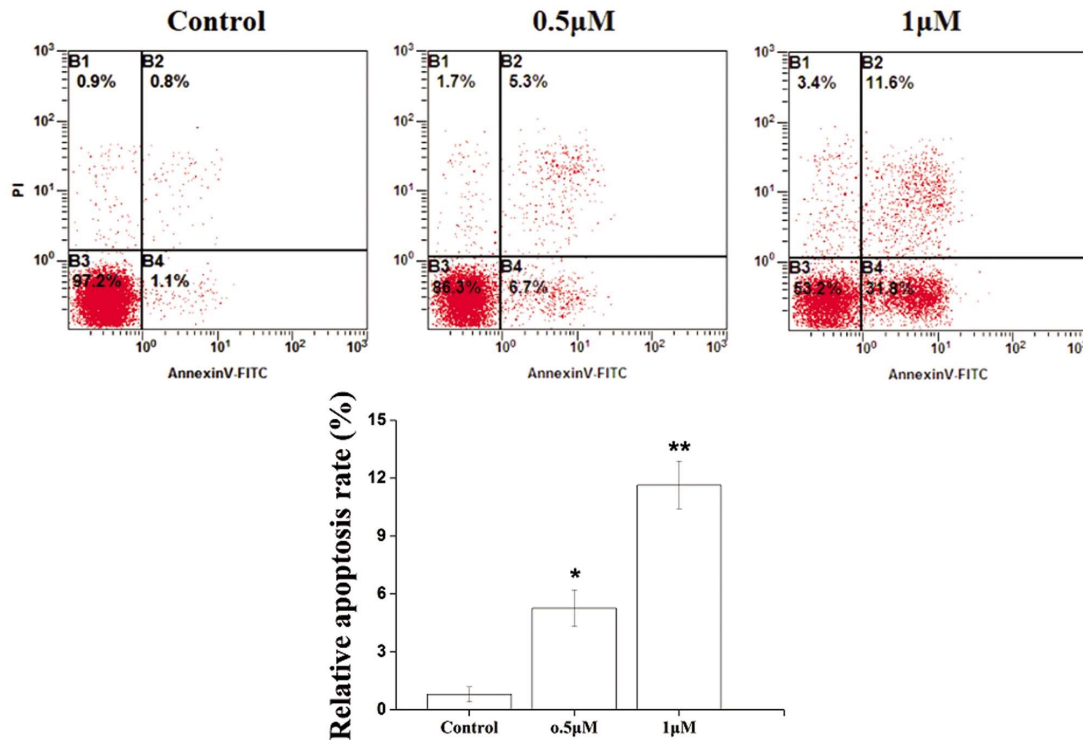


图3 流式细胞术观察不同浓度 TSA 对结肠癌 HT29 细胞凋亡的影响

Fig.3 Flow cytometry to observe the effect of different concentrations of TSA on apoptosis of colon cancer HT29 cells

2.4 Western blot 检测 TSA 对结肠癌 HT29 细胞凋亡和自噬相关蛋白表达的影响

为进一步研究 TSA 对结肠癌 HT29 细胞凋亡和自噬的影响, 采用 Western blot 检测上述对照组及不同浓度 TSA 处理组细胞中凋亡和自噬相关蛋白的表达。结果表明, 与对照组相比, TSA 处理能够显著上调结肠癌 HT29 细胞中 Ku70 的乙酰化水平和促凋亡和自噬蛋白 Caspase3、Bax、LC3 和 Beclin1 的表达, 并下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达。差异有统计学意义 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$), 见图 4。

3 讨论

结直肠癌是全球最常见的高发于中老年人群的恶性肿瘤之一^[8,9]。最新研究报道近年来我国结肠癌发病率和死亡率逐年上升, 严重威胁人民健康, 其中生活方式、吸烟、饮酒、缺乏体育锻炼、家族病史、慢性炎症和微生物群体紊乱或功能异常是导致结直肠癌发生的重要危险因素。目前, 临床上针对结直肠癌的治疗手段主要为手术切除结合放化疗^[10-12]。然而, 由于肿瘤细胞较高的侵袭转移性能、个体差异以及药物靶向性较差等综合

因素,导致临床上患者出现较高的放化疗耐受,严重降低患者的有效治愈率并缩短患者生存期。因此,寻找靶向结肠癌的治疗策略和靶点是临床上有效降低患者死亡率,延长其生存期的重要难题^[13]。

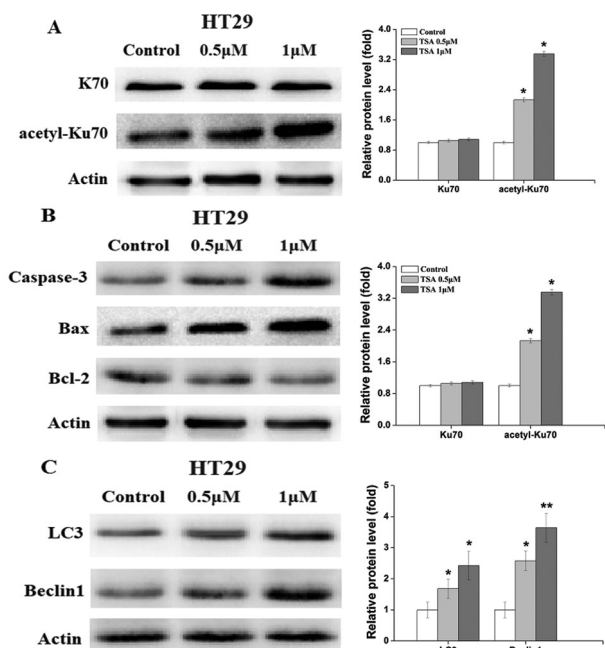


图4 Western blot 检测 TSA 对结肠癌 HT29 细胞凋亡和自噬相关蛋白表达的影响 (A. TSA 对结肠癌 HT29 细胞 Ku70 乙酰化水平的影响; B. TSA 对结肠癌 HT29 细胞凋亡相关蛋白表达的影响; C. TSA 对结肠癌 HT29 细胞自噬相关蛋白表达的影响)

Fig.4 Western blot analysis of the effect of TSA on apoptosis and

expression of autophagy-related proteins in colon cancer HT29 cells

(A. Effect of TSA on acetylation level of Ku70 in colon cancer HT29 cells;

B. Effect of TSA on apoptosis-related protein expression in colon cancer

HT29 cells. C. Effect of TSA on expression of autophagy related proteins

in colon cancer HT29 cells)

近年来组蛋白去乙酰化酶(Histone Deacetylase, HDAC)抑制剂对恶性肿瘤的治疗作用在体内、外研究中均得到证实^[14]。研究表明 HDAC 能够促进中枢神经系统肿瘤、乳腺癌、肺癌、卵巢癌和膀胱癌等多种恶性肿瘤细胞的凋亡、抑制细胞增殖并导致周期阻滞。新型 HDAC 抑制剂在小剂量、低浓度情况下可诱导肿瘤细胞分化、选择性凋亡,对正常细胞无毒性,且其抗肿瘤谱广,具有较大的临床抗癌潜力^[15-18]。曲古霉素 A(Trichostatin A, TSA)是由抗真菌药物衍生而来的一种活性作用强的(HDAC)非竞争性抑制剂,可作用于第 I、II 类 HDA,属于广谱 HDAC 抑制剂。近年来大量研究证实它对多种组织来源的恶性肿瘤细胞均表现出较强的抗癌活性^[19,20]。Ku70 是经典的 DNA 损伤修复和抗凋亡分子,既参与 DNA 双链断裂(DSBs)损伤修复过程,同时能够结合促凋亡蛋白 BAX 形成 Ku70-BAX 异二聚体,抑制其从胞质向线粒体的转位,从而发挥抗凋亡作用^[21-24]。研究报道 Ku70 介导的肿瘤细胞 DNA 修复功能的增强可导致其对放化疗抵抗而影响疗效,而其抗凋亡作用可以通过降低肿瘤细胞对放化疗的敏感性而导致治疗失败^[25,26]。此外,研究发现 Ku70 蛋白乙酰化已被证实是多种药物诱导凋亡的机制之一,

包括 HDAC 和强效的表皮生长因子酪氨酸激酶选择性抑制剂吉非替尼 Gefitinib 等^[27]。Ku70 含有多个带正电的赖氨酸位点,能够被乙酰转移酶乙酰化释放出结合的前凋亡蛋白 Bax 进而诱导细胞凋亡和自噬^[28-30],提示 Ku70 有望成为临床抗肿瘤治疗的潜在靶点。然而尽管 Ku70 在肿瘤发生发展进程中的生物学获悉和功能日益凸显,但目前关于 Ku70 对结肠癌细胞增殖、凋亡及自噬能力的影响及其作用机制尚未见报道。深入研究 Ku70 与结肠癌发生发展的关系,探究上调其乙酰化水平对结肠癌细胞活力、增殖能力以及凋亡和自噬的影响,为临床翻译后修饰角度揭示靶向 Ku70 发挥抗结肠癌治疗的新路径和新靶点。

本研究通过采用 TSA 处理结肠癌 HT29 细胞,观察 TSA 处理对上述结肠癌 HT29 细胞中 Ku70 蛋白的乙酰化修饰水平以及细胞活力、增殖能力、凋亡和自噬能力的影响。结果表明 TSA 可显著抑制结肠癌 HT29 细胞的活力和增殖能力,且其抑制作用呈时间和浓度依赖性;采用流式细胞术观察 TSA 对结肠癌 HT29 细胞凋亡的影响,结果表明 TSA 可明显促进结肠癌 HT29 细胞的凋亡,且其促凋亡作用呈浓度依赖性。此外,采用 Western blot 进一步证实 TSA 可显著上调结肠癌 HT29 细胞中 Ku70 蛋白的乙酰化水平,并上调促凋亡蛋白和自噬相关蛋白 Caspase3、Bax、LC3 和 Beclin1 的表达,同时下调抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达。上述研究结果表明,组蛋白去乙酰化酶抑制剂 TSA 通过上调结肠癌 HT29 细胞中 Ku70 的乙酰化水平进而抑制细胞活力和增殖能力,同时大大促进细胞发生凋亡和自噬,进而发挥较强的抑癌作用,为从翻译后修饰角度阐明并解释其抑癌作用和机制提供了重要的理论基础和实验依据,同时为临床结肠癌治疗提供潜在的治疗靶点。

参考文献(References)

- [1] Lieber MR. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway [J]. Annu Rev Biochem, 2010, 79(27): 181-211
- [2] Cohen HY, Lavu S, Bitterman KJ, et al. Acetylation of the C terminus of Ku70 by CBP and PCAF controls Bax-mediated apoptosis [J]. Mol Cell, 2004, 13(5): 627-638
- [3] Liu Y, Mondello P, Erazo T, et al. NOXA genetic amplification or pharmacologic induction primes lymphoma cells to BCL2 inhibitor-induced cell death [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(47): 34-39
- [4] Egidi A, Filippi S, Manganello F, et al. Modulation of chromatin conformation by the histone deacetylase inhibitor trichostatin A promotes the removal of radiation-induced lesions in ataxia telangiectasia cell lines[J]. Mutat Res, 2018, 836(45): 09-16
- [5] 王加伟, 朱云祥. 组蛋白去乙酰化酶及其抑制剂在结直肠癌发生发展及治疗中作用的研究进展[J]. 当代医药论丛, 2017, 57(15): 45-46
- [6] Zhang T, Zhang X, Shi W, et al. The DNA damage repair protein Ku70 regulates tumor cell and hepatic carcinogenesis by interacting with FOXO4[J]. Pathol Res Pract, 2016, 212(3): 153-161
- [7] Tomoyasu C, Kikuchi K, Kaneda D, et al. OBP801, a novel histone deacetylase inhibitor, induces Mphase arrest and apoptosis in rhabdomyosarcoma cells[J]. Oncol Rep, 2019, 41(1): 643-649
- [8] Minegaki T, Suzuki A, Mori M, et al. Histone deacetylase inhibitors

- sensitize 5-fluorouracil-resistant MDA-MB-468 breast cancer cells to 5-fluorouracil[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6202-6208
- [9] Cheng YW, Liao LD, Yang Q, et al. The histone deacetylase inhibitor panobinostat exerts anticancer effects on esophageal squamous cell carcinoma cells by inducing cell cycle arrest [J]. *Cell Biochem Funct*, 2018, 36(8): 398-407
- [10] Meng J, Zhang F, Zhang XT, et al. Ku70 is essential for histone deacetylase inhibitor trichostatin A-induced apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(1): 581-586
- [11] 蒋琛琛, 乔志新, 张淑贞, 等. 新型组蛋白去乙酰化酶抑制剂对结肠癌细胞的增殖抑制作用[J]. *军事医学*, 2014, 64(09): 708-713
- [12] O'Sullivan D, Henry M, Joyce H, et al. 7B7: a novel antibody directed against the Ku70/Ku80 heterodimer blocks invasion in pancreatic and lung cancer cells[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(7): 6983-6997
- [13] Tun N, Shibata Y, Soe MT, et al. Histone deacetylase inhibitors suppress transdifferentiation of gonadotrophs to prolactin cells and proliferation of prolactin cells induced by diethylstilbestrol in male mouse pituitary[J]. *Histochem Cell Biol*, 2018, 13(7): 56-63
- [14] Ahn MY. HDAC inhibitor apicidin suppresses murine oral squamous cell carcinoma cell growth in vitro and in vivo via inhibiting HDAC8 expression[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6552-6560
- [15] 李明志, 于敬坤, 陈景志, 等. 自噬相关基因与结肠癌耐药性的研究进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2018, 56(62): 52-53
- [16] Kaliszczak M, van Hechanova E, Li Y, et al. The HDAC6 inhibitor C1A modulates autophagy substrates in diverse cancer cells and induces cell death[J]. *Br J Cancer*, 2018, 119(10): 1278-1287
- [17] Soflaei SS, Momtazi-Borojeni AA, Majeed M, et al. Curcumin: A Natural Pan-HDAC Inhibitor in Cancer [J]. *Biochem Pharmacol*, 2016, 15(108): 58-74
- [18] Hesham HM, Lasheen DS, Abouzid KAM, et al. Chimeric HDAC inhibitors: Comprehensive review on the HDAC-based strategies developed to combat cancer[J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(6): 2058-2109
- [19] Roche J, Bertrand P. Inside HDACs with more selective HDAC inhibitors[J]. *Eur J Med Chem*, 2016, 4(121): 451-483
- [20] Ramakrishnan S, Ku S, Ciamporcerio E, et al. HDAC 1 and 6 modulate cell invasion and migration in clear cell renal cell carcinoma[J]. *BMC Cancer*, 2016, 9(16): 617-620
- [21] 刘勇, 徐天娇, 霍金莲. Ku70 乙酰化在硒诱导人肺腺癌 A549 细胞凋亡中的作用[J]. *新乡医学院学报*, 2017, 34(02): 99-103
- [22] Morii M, Kubota S, Honda T, et al. Src Acts as an Effector for Ku70-dependent Suppression of Apoptosis through Phosphorylation of Ku70 at Tyr-530[J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(5): 1648-1665
- [23] Anisenko AN, Knyazhanskaya ES, Zetsepin TS, et al. Human Ku70 protein binds hairpin RNA and double stranded DNA through two different sites[J]. *Biochimie*, 2017, 18(45): 85-93
- [24] Xing M, Björås M, Daniel JA, et al. Synthetic lethality between murine DNA repair factors XLF and DNA-PKcs is rescued by inactivation of Ku70[J]. *DNA Repair*, 2017, 7(57): 133-138
- [25] Cai J, Wei J, Schrott V, et al. Induction of deubiquitinating enzyme USP50 during erythropoiesis and its potential role in the regulation of Ku70 stability[J]. *J Investig Med*, 2018, 66(1): 1-6
- [26] Fell VL, Walden EA, Hoffer SM, et al. Ku70 Serine 155 mediates Aurora B inhibition and activation of the DNA damage response[J]. *Sci Rep*, 2016, 16(6): 37194
- [27] Tao NN, Ren JH, Tang H, et al. Deacetylation of Ku70 by SIRT6 attenuates Bax-mediated apoptosis in hepatocellular carcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 485(4): 713-719
- [28] Wang A, Ning Z, Lu C, et al. USP22 Induces Cisplatin Resistance in Lung Adenocarcinoma by Regulating γ H2AX-Mediated DNA Damage Repair and Ku70/Bax-Mediated Apoptosis [J]. *Front Pharmacol*, 2017, 17(8): 274-278
- [29] Ngo J, Matsuyama M, Kim C, et al. Bax deficiency extends the survival of Ku70 knockout mice that develop lung and heart diseases[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 26(6): 1706-1710
- [30] Matsuyama S, Palmer J, Bates A, et al. Bax-induced apoptosis shortens the life span of DNA repair defect Ku70-knockout mice by inducing emphysema [J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2016, 241 (12): 1265-1271
- (上接第 483 页)
- [20] Gallagher E J, Leroith D. Diabetes, antihyperglycemic medications and cancer risk: smoke or fire? [J]. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*, 2013, 20(5): 485-494
- [21] 那彦群, 叶章群, 孙光. 中国泌尿外科疾病诊断治疗指南 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 44-54
- [22] Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus[J]. *Endocr Rev*, 2016, 37(3): 278-316
- [23] 简伟明, 雷云震, 吴利平, 等. 糖尿病与膀胱癌相关性研究进展[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2019, 18(2): 152-156
- [24] Gunlusoy B, Ceylan Y, Degirmenci T, et al. The potential effect of age on the natural behavior of bladder cancer: Does urothelial cell carcinoma progress differently in various age groups? [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2016, 32(5): 261-266