

梁仁拔,李欣晓,朱小东. P21 抑制剂 UC2288 诱导鼻咽癌放射抗拒细胞 CNE-2R 凋亡的研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(8): 16-22.

Liang RB, Li XX, Zhu XD. Apoptosis of nasopharyngeal carcinoma radioresistant cell line CNE-2R induced by p21 inhibitor UC2288 [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(8): 16-22.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2020.08.003

P21 抑制剂 UC2288 诱导鼻咽癌放射抗拒细胞 CNE-2R 凋亡的研究

梁仁拔^{1#}, 李欣晓^{1#}, 朱小东^{1,2,3*}

(1.广西医科大学附属肿瘤医院, 南宁 530021; 2.广西区域高发肿瘤早期防治重点实验室, 南宁 530021;
3.广西医科大学附属武鸣医院, 南宁 530021)

【摘要】 目的 探讨 P21 抑制剂 UC2288 对鼻咽癌放射抗拒细胞 CNE-2R 增殖和凋亡的影响及可能的作用机制。**方法** 运用 CCK-8 实验检测 UC2288 对细胞活力的影响;利用克隆形成实验检测细胞克隆形成能力的情况;显微镜拍照法和 Hoechst 33342 染色实验观察细胞形态的变化;Annexin V-APC/7-AAD 双染法测定细胞凋亡;蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 Bax、Cleaved-caspase 3、Caspase 3、Bcl-2、Survivin、 γ -H2AX、P21、聚腺苷酸二磷酸核糖聚合酶 (PARP) 蛋白表达情况。**结果** CCK-8 实验结果显示, UC2288 显著降低 CNE-2R 细胞的活力和增殖, 呈剂量依赖性和时间依赖性;UC2288 抑制 CNE-2R 细胞的克隆形成能力;形态学观察结果显示, UC2288 处理后, 细胞呈圆形萎缩, 细胞核固缩, 体积变小;Annexin V-APC/7-AAD 实验结果显示, UC2288 呈剂量依赖性诱导 CNE-2R 细胞凋亡;UC2288 作用细胞后, Bax、Cleaved-caspase 3、Caspase 3 和 γ -H2AX 蛋白表达水平增加, Bcl-2、Survivin、P21 和 PARP 蛋白表达量减少。**结论** UC2288 显著抑制 CNE-2R 细胞增殖, 引起 DNA 损伤, 诱导凋亡, 其机制可能与 PARP 表达水平降低有关。

【关键词】 UC2288; 鼻咽癌; 凋亡; PARP

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2020) 08-0016-07

Apoptosis of nasopharyngeal carcinoma radioresistant cell line CNE-2R induced by P21 inhibitor UC2288

LIANG Renba^{1#}, LI Xinxiao^{1#}, ZHU Xiaodong^{1,2,3*}

(1. Guangxi Medical University Cancer Hospital, Nanning 530021, China. 2. Key Laboratory of Early Prevention and Treatment for Regional High Frequency Tumor (Guangxi), Ministry of Education, Nanning 530021.
3. Wuming Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021)

【Abstract】 Objective To assess the effects of P21 inhibitor UC2288 on proliferation and apoptosis of nasopharyngeal carcinoma radioresistant cell line CNE-2R and the possible mechanisms. **Methods** The effect of UC2288 on cell viability was examined by a CCK-8 assay. The colony formation ability was investigated by a colony formation assay. Changes of cell morphology were observed by microscopy and Hoechst 33342 staining. An annexin V-APC/7-AAD assay

[基金项目] 国家自然科学基金(81760544); 广西重点研发计划项目(桂科 AB18221007)。

[作者简介] 梁仁拔(1991—), 男, 在读博士, 研究方向: 鼻咽癌基础与临床研究。E-mail: liangrenba@stu.gxmu.edu.cn

李欣晓(1992—), 女, 在读博士, 研究方向: 肿瘤的基础与临床研究。E-mail: xiaoxiao92831@126.com

[通信作者] 朱小东(1966—), 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 鼻咽癌基础与临床研究。E-mail: zhuxdonggxmu@126.com

was used to measure apoptosis. The protein levels of Bax, Cleaved-caspase 3, Caspase 3, Bcl-2, Survivin, γ -H2AX, P21, and PARP were measured by Western blot. **Results** The CCK-8 assay showed that UC2288 significantly reduced the viability and proliferation of CNE-2R cells in dose- and time-dependent manners. UC2288 also inhibited the colony formation of CNE-2R cells. Cells became round and atrophic, the nucleus shrunk, and the cell volume became smaller after treatment with UC2288. Annexin V-APC/7-AAD assays demonstrated that UC2288 induced apoptosis of CNE-2R cells in a dose-dependent manner. After treatment with UC2288, the expression levels of Bax, Cleaved-caspase 3, Caspase 3, and γ -H2AX increased accompanied by decreases of Bcl-2, Survivin, P21, and PARP. **Conclusions** UC2288 significantly inhibits the proliferation of CNE-2R cells, causes DNA damage, and induces apoptosis through possibly reducing the expression of PARP.

【Keywords】 UC2288; nasopharyngeal carcinoma; apoptosis; PARP

鼻咽癌是发生于鼻咽部的恶性上皮肿瘤,常见于我国南方及东南亚地区,尤其在广东省高发,俗称“广东瘤”^[1]。放射治疗是鼻咽癌的主要治疗手段,大部分早期患者通过放射治疗能得到根治。遗憾的是,临床上约有 20% 的鼻咽癌患者经过治疗后仍出现局部复发和远处转移^[2-3],主要归因于鼻咽癌放射抗拒。再程放疗毒副反应大,而且以铂类为基础的化疗反应率为 40%~65%,预后差^[3]。因此,有必要探索更多的治疗策略,为鼻咽癌的治疗提供新的选择。

P21 是周期蛋白依赖性激酶抑制剂,参与 DNA 损伤反应^[4]。UC2288,分子式为 $C_{20}H_{18}ClF_6N_3O_2$,全称为反-1-(4-氯-3-三氟甲基-苯)-3-[4-(5-三氟甲基-吡啶-2-烷氧基)-环己基]-脲。研究发现,UC2288 是 P21 的抑制剂,通过转录和转录后途径下调 P21 的表达^[5]。UC2288 的结构与索拉非尼的结构相似^[5]。作为多种激酶抑制剂,索拉非尼能有效延长晚期肝癌、肾癌患者生存时间^[6-7],在复发或者转移鼻咽癌患者中,也显示出一定的抗肿瘤作用^[8-9]。然而,与索拉非尼不同的是,UC2288 不抑制 RAF 激酶或者 VEGF 活性^[5]。研究发现,UC2288 对人结肠癌 HCT116 细胞有一定的抑制作用^[10],但其具体的作用机制及对其他肿瘤的影响尚不清楚,有必要进行更深入全面的研究。

本研究利用鼻咽癌放射抗拒细胞株 CNE-2R^[11-13],探讨 UC2288 对 CNE-2R 细胞增殖和凋亡的影响及其可能的作用机制,为鼻咽癌的治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

CNE-2R 细胞由广西医科大学肿瘤医院放疗科构建。

1.2 主要试剂与仪器

UC2288 购自美国 Abcam 公司;RPMI-1640 培养基,胎牛血清购自美国 Gibco 公司;青链霉素,二甲基亚砜(DMSO)购自中国索莱宝公司;0.25% 胰蛋白酶-EDTA 消化液购自中国碧云天公司;PBS 缓冲液购自中国中杉金桥公司;CCK-8 试剂盒购自日本同仁公司;Annexin V-APC/7-AAD 双染细胞凋亡检测试剂盒购自美国 BD 公司;Hoechst 33342 染色液中国索莱宝公司;BCA 蛋白定量试剂盒中国碧云天公司;Western blot 所用抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司;增强型化学发光自显影试剂盒(enhanced chemiluminescence, ECL)购自中国百智生物公司;EVOS FL Auto 荧光显微镜购自美国 Life technologies 公司;流式细胞仪购自美国 BD 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

鼻咽癌放射抗拒细胞 CNE-2R 用 RPMI-1640 完全培养液(含 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素)置于 37℃、5% CO₂ 的饱和湿度培养箱中培养,待细胞贴壁生长至融合度达 90% 以上时,用胰酶消化传代。

1.3.2 药物配制

UC2288 用二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)配成 5 mmol/L 的母液,置于 -20℃ 冰箱储存。临用时用完全培养液配制成不同浓度的工作液。

1.3.3 CCK-8 实验

取对数生长期的 CNE-2R 细胞,以 3500 个/孔、每孔 100 μ L 接种于 96 孔板中培养,设空白组(不含细胞的培养液)、对照组(DMSO 组)及 UC2288 处理组(2、4、6、8、12、16 μ mol/L),每组 5 个平行孔。24 h 后,弃原培养液,按以上分组作用细胞 24、48 h,

每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 1 h 后, 用酶标仪测 450 nm 处吸光度 (OD) 值, 计算细胞存活率。存活率 (%) = (OD_{处理组} - OD_{空白组}) / (OD_{对照组} - OD_{空白组}) $\times$ 100%。

1.3.4 平板克隆形成实验

以 300 个细胞/孔接种于 6 孔板, 置培养箱中培养 24 h 后, 用不同浓度的药物 (0、2、4、6、8 μ mol/L) 作用细胞 48 h。更换新培养液继续培养 12 d 后, PBS 缓慢冲洗 2 次, 4% 多聚甲醛固定 30 min, 姬姆萨染色 30 min, 晾干后拍照, 利用 Image J 软件计算克隆数。

1.3.5 观察细胞形态

细胞接种于 6 孔板, 培养 24 h 后, 用不同浓度的药物 (0 (DMSO)、4、6、8、12、16 μ mol/L) 作用细胞 48 h。于倒置显微镜观察细胞数量及形态变化。

1.3.6 流式细胞术检测细胞凋亡

取适量细胞接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁后弃去旧培养基, 加入不同浓度的药物 (0、4、6、8、12 μ mol/L)。培养 48 h 后, 收集上清液, 用不含 EDTA 的胰蛋白酶消化并收集细胞, 根据 Annexin V-APC/7-AAD 试剂盒说明书操作, 1 h 内上流式机检测。

1.3.7 Hoechst 33342 染色实验

取适量细胞接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁后弃去旧培养基, 加不同浓度的药物 (0、4、8 μ mol/L)。作用 24 h 后, 用 PBS 缓慢冲洗 2 次, 每孔加入 1 mL Hoechst 33342 染色液, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min。弃染色液, 用 PBS 洗涤 2 次, 于荧光显微镜观察细胞核的形态及染色的亮度。

1.3.8 蛋白免疫印迹

将细胞接种于 25 cm^2 培养瓶中, 培养至融合度为 70% 左右时, 加不同浓度的药物 (0、4、8 μ mol/L)。处理 24 h 后, 提取细胞蛋白, 以 BCA 法测蛋白浓度。将蛋白样品等体积上样于 10% SDS-PAGE 电泳, 冰中恒压湿转。5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h。TBST 洗膜, 一抗 Bcl-2 (1:1000)、Bax (1:1000)、Survivin (1:1000)、Cleaved-caspase 3 (1:1000)、Caspase 3 (1:1000)、 γ -H2AX (1:1000)、P21 (1:1000)、PARP (1:1000)、GAPDH (1:1000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。HRP 标记的山羊抗兔 IgG 二抗 (1:1000) 室温孵育 1 h。TBST 洗膜 3 次, 每次 10 min。ECL 化学发光试剂盒进行曝光显影。

1.4 统计学方法

所有实验独立重复 ≥ 3 次, 计量资料以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 IBM SPSS 20.0 软件进行统计学分析。组间比较采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UC2288 降低 CNE-2R 细胞的活力

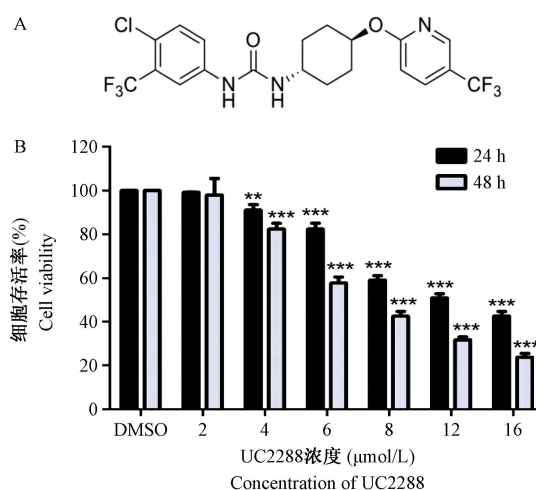
UC2288 结构如图 1A 所示。CCK8 结果显示, UC2288 明显抑制 CNE-2R 细胞的增殖, 呈剂量依赖和时间依赖关系。与对照组相比, 当 UC2288 浓度 ≥ 4 μ mol/L 时, 各组间存活率差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 1B)。

2.2 UC2288 抑制 CNE-2R 细胞克隆形成

为进一步验证 UC2288 对细胞增殖的影响, 进行克隆形成实验。结果表明, 浓度 ≥ 4 μ mol/L 处理组的克隆形成数目明显减少 (图 2A), 与对照组比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 2B)。这显示 UC2288 对细胞的长期增殖能力也有明显的抑制作用。

2.3 显微镜下观察细胞形态的变化

UC2288 处理 CNE-2R 细胞 48 h 后, 直接在显微镜下观察, 随着浓度的增加, 细胞圆形萎缩或结构不完整, 体积变小, 脱落增多。当浓度为 16 μ mol/L 时, 细胞大部分脱落死亡 (图 3A)。Hoechst 染色后通过荧光显微镜观察, 经药物处理



注: A: UC2288 结构式; B: 细胞活力。与对照组相比, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 1 UC2288 对 CNE-2R 细胞活力的影响

Note. A, Structure of UC2288. B, Cell viability. Compared with control group, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

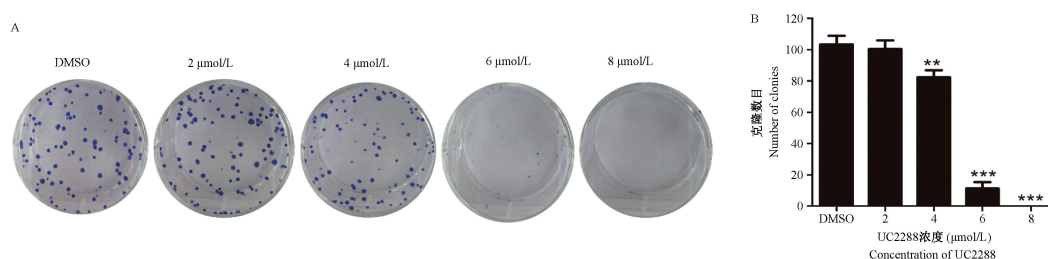
Figure 1 The effects of UC2288 on cell viability of CNE-2R

后,细胞核皱缩,染色亮度增高,呈致密浓染或呈碎块状致密浓染(图 3B),表明细胞染色质凝聚浓缩,发生凋亡。

2.4 流式细胞术检测细胞凋亡

鉴于 UC2288 抑制细胞的增殖,且形态学观察

发现细胞在药物的作用下发生死亡,本研究运用流式细胞术进一步检测 UC2288 对细胞凋亡的影响。Annexin V-APC/7-AAD 双染实验表明,随着 UC2288 浓度的增高,细胞凋亡率显著增加(图 4A),各处理组间差异具有统计学差异($P<0.05$,图 4B)。

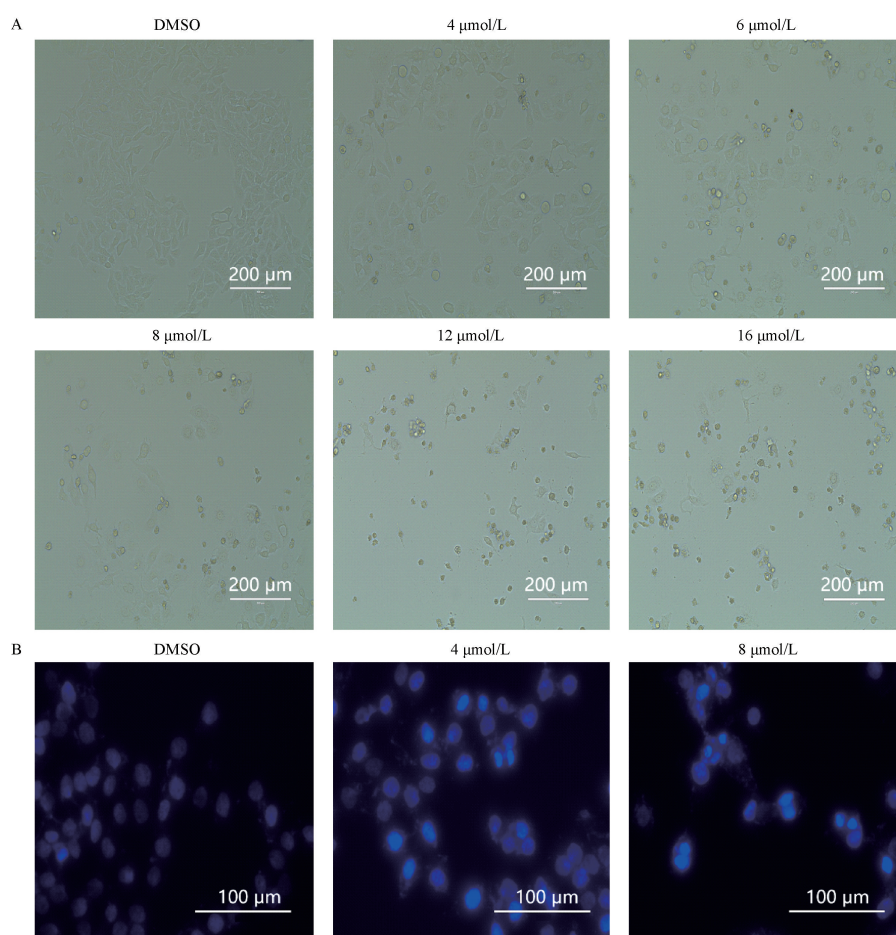


注:与对照组相比,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

图 2 UC2288 对 CNE-2R 细胞克隆形成能力的影响

Note. Compared with control group, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

Figure 2 The Effects of UC2288 on clone formation ability of CNE-2R



注:A:光学显微镜下细胞形态;B:Hoechst 33342 染色。

图 3 UC2288 对 CNE-2R 细胞形态的影响

Note. A, Cell morphology under light microscope. B, Hoechst 33342 staining.

Figure 3 The effects of UC2288 on cell morphology of CNE-2R

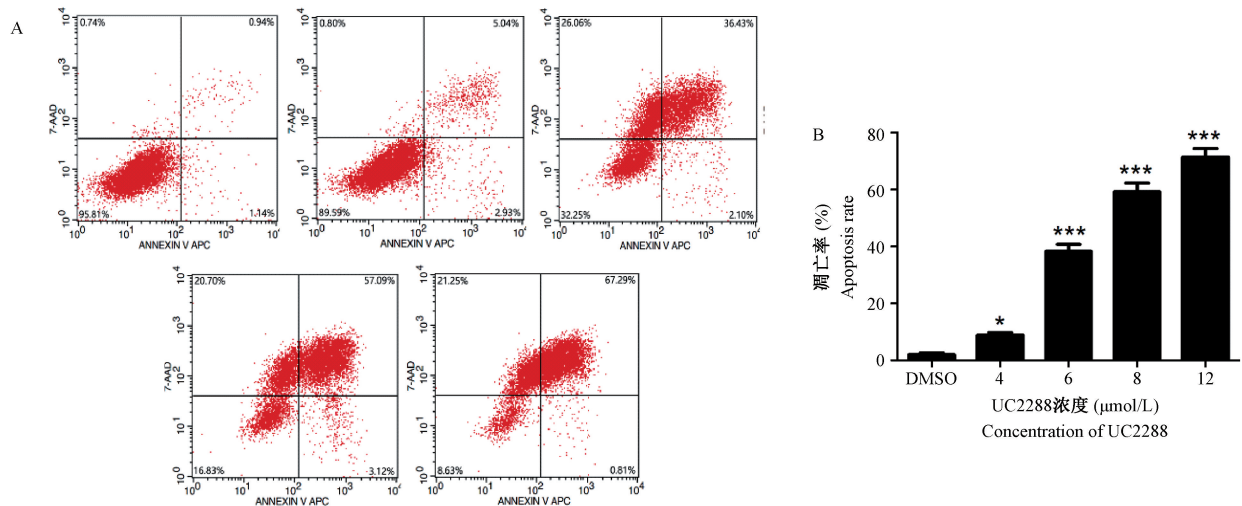
2.5 UC2288 对凋亡相关蛋白的影响

蛋白免疫印迹结果显示,与对照组相比,随着 UC2288 浓度的提高,促凋亡蛋白 Bax、Cleaved-caspase 3、Caspase 3 表达增高,而抗凋亡蛋白 Bcl-2、Survivin 表达下降。DNA 双链断裂标志蛋白 γ -H2AX 表达升高,预示 DNA 发生断裂损伤。结果表明,UC2288 可能通过诱导 DNA 双链断裂,引起细胞

凋亡(图 5)。

2.6 UC2288 对 PARP 蛋白的影响

聚腺苷二磷酸核糖聚合酶[poly(ADP-ribose) polymerase, PARP]是 DNA 修复酶。如图 6 所示,UC2288 作用细胞后,PARP 表达水平明显降低。这表明,UC2288 可能通过抑制 PARP 表达,诱导 DNA 损伤。

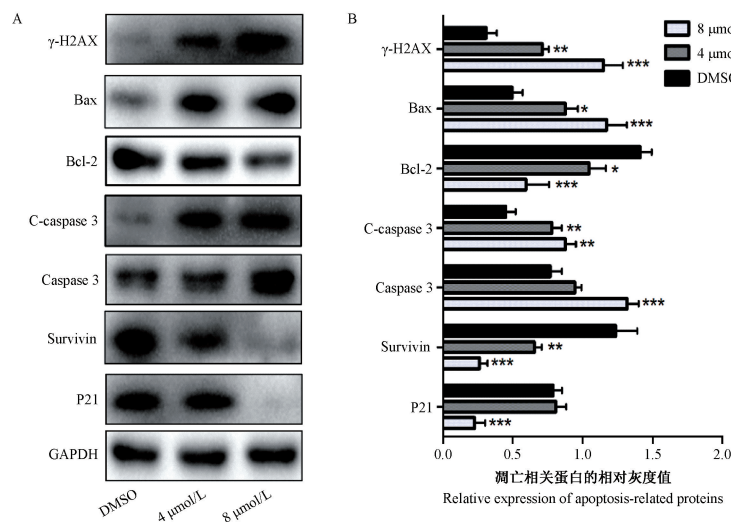


注:与对照组相比, * $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 4 UC2288 对 CNE-2R 细胞凋亡的影响

Note. Compared with control group, * $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figure 4 The effects of UC2288 on cell apoptosis of CNE-2R

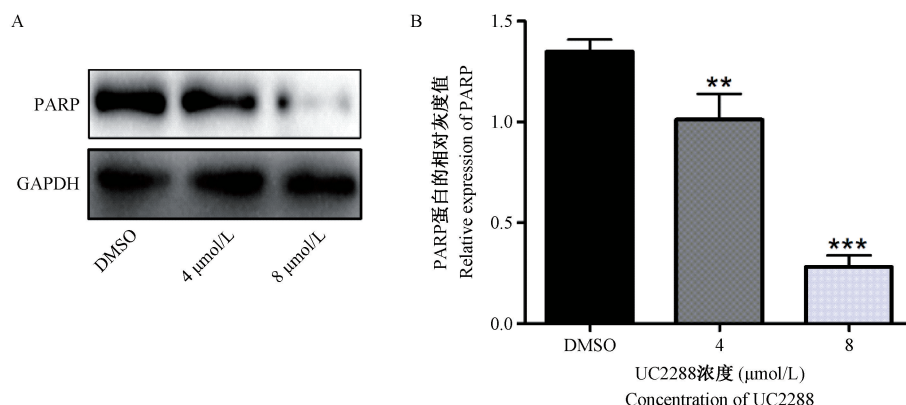


注:与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 5 UC2288 对 CNE-2R 细胞凋亡相关蛋白表达的影响

Note. Compared with control group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figure 5 The effects of UC2288 on expression of apoptosis-related proteins in CNE-2R



注:与对照组相比, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 6 UC2288 对 CNE-2R 细胞 PARP 蛋白表达的影响

Note. Compared with control group, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figure 6 The effects of UC2288 on expression of PARP in CNE-2R

3 讨论

鼻咽癌好发于东南亚地区。每年新发病大约 87000 例,70% 患者是局部晚期^[14]。局部晚期鼻咽癌的标准治疗方案是放化疗。经过治疗后,仍有 10% 患者出现残留或局部复发^[15-16]。再程放疗和手术可挽救局部治疗失败。然而,再程放疗风险大,约 33% 患者发生 5 级毒副反应^[17]。鼻咽位置较深,结构复杂,挽救性手术难度大,且 40% 以上的患者出现面部麻木、牙关紧闭、腭痿等并发症^[18]。对于远处转移患者,采用以顺铂为基础的姑息化疗,反应率为 40%~65%。因此,需探索更多的治疗策略,为提高鼻咽癌疗效提供更多的选择。

本研究发现,UC2288 明显抑制 CNE-2R 细胞的增殖,呈浓度-效应和时间-效应关系;Hoechst 33342 染色实验和流式细胞术结果提示 UC2288 诱导 CNE-2R 细胞凋亡,随着浓度的增加,凋亡率显著升高,且 Western blot 中促凋亡蛋白 Bax、Cleaved-caspase 3、Caspase 3 表达增高和抗凋亡蛋白 Bcl-2、Survivin 表达下降,更加验证 UC2288 的促凋亡作用。

聚腺苷二磷酸核糖聚合酶在 DNA 单链断裂 (single strand breaks, SSBs) 修复中发挥重要的作用,主要通过碱基切除修复 (base excision repair, BER) 途径^[19]。PARP 被激活时,招募其他 DNA 修复蛋白,参与 DNA 损伤修复^[20]。抑制 PARP 活性,可阻止 DNA 单链断裂的修复,产生双链断裂,最终导致细胞死亡^[21-22]。因此,PARP 抑制剂已运用于临床,在卵巢癌、乳腺癌、胰腺癌和前列腺癌治疗中

取得良好的疗效^[23]。有研究发现,P21 调节 PARP 活性,参与 DNA 损伤修复^[24]。敲除 P21,引起 PARP 活化,减少 DNA 损伤^[25]。本研究中,UC2288 作用 CNE-2R 细胞后, γ -H2AX 表达增加,PARP 表达下降,而 P21 表达不呈剂量依赖性变化,这提示 UC2288 可能不是通过 P21 途径调控 PARP,UC2288 可能通过直接抑制 PARP 的活性,而引起 DNA 双链断裂。然而,这需要进一步实验的探索。

综上,本研究表明 UC2288 可显著抑制 CNE-2R 细胞的增殖,诱导细胞凋亡,这可能与降低 PARP 活性,引起 DNA 双链断裂有关。这为 UC2288 进一步的研究提供理论基础,有可能为鼻咽癌的综合治疗提供更多的选择。

参考文献:

- [1] 肖洋洋,卿吉琳,李宝铤,等.鼻咽癌实验动物模型的研究进展[J].中国比较医学杂志,2018,28(12):108-112.
- [2] Xiao WW, Huang SM, Han F, et al. Local control, survival, and late toxicities of locally advanced nasopharyngeal carcinoma treated by simultaneous modulated accelerated radiotherapy combined with cisplatin concurrent chemotherapy: long-term results of a phase 2 study [J]. Cancer, 2011, 117(9): 1874-1883.
- [3] Chen YP, Chan ATC, Le QT, et al. Nasopharyngeal carcinoma [J]. Lancet, 2019, 394(10192): 64-80.
- [4] Deng T, Yan G, Song X, et al. Deubiquitylation and stabilization of p21 by USP11 is critical for cell-cycle progression and DNA damage responses [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115(18): 4678-4683.
- [5] Wettersten HI, Hee Hwang S, Li C, et al. A novel P21 attenuator which is structurally related to sorafenib [J]. Cancer Biol Ther, 2013, 14(3): 278-285.

- [6] Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, et al. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma [J]. *N Engl J Med*, 2008, 359(4): 378–390.
- [7] Hsieh JJ, Purdue MP, Signoretti S, et al. Renal cell carcinoma [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17009.
- [8] Elser C, Siu LL, Winquist E, et al. Phase II trial of sorafenib in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck or nasopharyngeal carcinoma [J]. *J Clin Oncol*, 2007, 25(24): 3766–3773.
- [9] Xue C, Huang Y, Huang PY, et al. Phase II study of sorafenib in combination with cisplatin and 5-fluorouracil to treat recurrent or metastatic nasopharyngeal carcinoma [J]. *Ann Oncol*, 2013, 24(4): 1055–1061.
- [10] Gupta R, Dong Y, Solomon PD, et al. Synergistic tumor suppression by combined inhibition of telomerase and CDKN1A [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(30): E3062–E3071.
- [11] 苏芳, 朱小东, 曲颂, 等. 人鼻咽癌放射抗拒细胞株建立及其细胞周期的观察 [J]. *中华肿瘤防治杂志*, 2009, 16(16): 1221–1224.
- [12] Chen KH, Guo Y, Li L, et al. Cancer stem cell-like characteristics and telomerase activity of the nasopharyngeal carcinoma radioresistant cell line CNE-2R [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(9): 4755–4764.
- [13] Guo Y, Zhu XD, Qu S, et al. Identification of genes involved in radioresistance of nasopharyngeal carcinoma by integrating gene ontology and protein-protein interaction networks [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(1): 85–92.
- [14] Pan JJ, Ng WT, Zong JF, et al. Prognostic nomogram for refining the prognostication of the proposed 8th edition of the AJCC/UICC staging system for nasopharyngeal cancer in the era of intensity-modulated radiotherapy [J]. *Cancer*, 2016, 122(21): 3307–3315.
- [15] Mao YP, Tang LL, Chen L, et al. Prognostic factors and failure patterns in non-metastatic nasopharyngeal carcinoma after intensity-modulated radiotherapy [J]. *Chin J Cancer*, 2016, 35(1): 103.
- [16] Zhang MX, Li J, Shen GP, et al. Intensity-modulated radiotherapy prolongs the survival of patients with nasopharyngeal carcinoma compared with conventional two-dimensional radiotherapy: A 10-year experience with a large cohort and long follow-up [J]. *Eur J Cancer*, 2015, 51(17): 2587–2595.
- [17] Leong YH, Soon YY, Lee KM, et al. Long-term outcomes after reirradiation in nasopharyngeal carcinoma with intensity-modulated radiotherapy: A meta-analysis [J]. *Head Neck*, 2018, 40(3): 622–631.
- [18] Chan JY, Tsang RK, Wei WI. Morbidities after maxillary swing nasopharyngectomy for recurrent nasopharyngeal carcinoma [J]. *Head Neck*, 2015, 37(4): 487–492.
- [19] de Murcia JM, Niedergang C, Trucco C, et al. Requirement of poly(ADP-ribose) polymerase in recovery from DNA damage in mice and in cells [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(14): 7303–7307.
- [20] Caldecott KW. Single-strand break repair and genetic disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2008, 9(8): 619–631.
- [21] O'Connor MJ. Targeting the DNA damage response in cancer [J]. *Mol Cell*, 2015, 60(4): 547–560.
- [22] Satoh MS, Lindahl T. Role of poly(ADP-ribose) formation in DNA repair [J]. *Nature*, 1992, 356(6367): 356–358.
- [23] Lord CJ, Ashworth A. PARP inhibitors: Synthetic lethality in the clinic [J]. *Science*, 2017, 355(6330): 1152–1158.
- [24] Cazzalini O, Dona F, Savio M, et al. p21CDKN1A participates in base excision repair by regulating the activity of poly(ADP-ribose) polymerase-1 [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2010, 9(6): 627–635.
- [25] Yao H, Sundar IK, Gorbunova V, et al. P21-PARP-1 pathway is involved in cigarette smoke-induced lung DNA damage and cellular senescence [J]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e80007.

[收稿日期] 2020-01-09