

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.03.006

· 基础研究 ·

hSulf-1 过表达提高乳腺癌 MCF-7 细胞对 PARP 抑制剂 AZD2281 的敏感性

徐高亚^{1,2}, 季卫丹², 严妍², 包龙龙², 沈舒文², 顾蕾², 傅晓辉², 姜小清², 苏长青^{1,2}, 吴孟超² (1. 苏州大学基础医学与生物科学学院 病原生物学系, 江苏 苏州 215123; 2. 第二军医大学 东方肝胆外科医院 国家肝癌研究中心 分子肿瘤研究室, 上海 200438)

[摘要] **目的:** 探讨人硫酸酯酶-1 (human sulfatase 1, *hSulf-1*) 基因过表达是否提高乳腺癌 MCF-7 细胞对 PARP 抑制剂 AZD2281 的敏感性。**方法:** 采用不同浓度 AZD2281 处理细胞, 并筛选 AZD2281 处理的最佳浓度。将携 *hSulf-1* 基因的重组腺病毒 Ad5-hSulf1 感染 MCF-7 细胞, 以 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 单独或联合处理 MCF-7 细胞, 以 Ad5-EGFP 处理为对照。采用流式细胞术检测细胞周期, 克隆形成实验检测细胞克隆形成率, Western blotting 检测细胞周期蛋白依赖性激酶 4 (cyclin dependent kinase 4, CDK4) 及磷酸化蛋白激酶 B (phosphorylated protein kinase B, p-AKT) 的表达, Transwell 法、MTT 法分别检测细胞的迁移及增殖。**结果:** AZD2281 浓度为 7 $\mu\text{mol/L}$ 时对 MCF-7 细胞的抑制作用趋于峰值, 用于后续实验。Ad5-hSulf1 + AZD2281 联合处理与 AZD2281 单独处理相比, MCF-7 细胞的 G₂/M 期细胞比例明显增多 [(22.15 \pm 0.17)% vs (17.44 \pm 0.57)% , $P < 0.01$], 细胞克隆形成率 [(21.43 \pm 1.52)% vs (49.43 \pm 1.44)% , $P < 0.01$] 及细胞周期蛋白 CDK4 的表达 [(0.67 \pm 0.02) vs (0.72 \pm 0.02) , $P < 0.05$], AKT 的磷酸化水平 [(0.17 \pm 0.003) vs (0.42 \pm 0.02) , $P < 0.01$] 均明显降低, 同时细胞的增殖率和迁移能力也有明显下降 [(57.69 \pm 4.83)% vs (79.35 \pm 5.44)% ; (10.33 \pm 1.53) 个 vs (50.67 \pm 2.31) 个, 均 $P < 0.01$]。**结论:** *hSulf-1* 过表达可明显提高乳腺癌细胞 MCF-7 对 AZD2281 的化疗敏感性, 阻滞细胞周期于 G₂/M 期, 并更明显地抑制乳腺癌细胞的增殖和迁移能力, 这一效应可能是通过调节细胞周期蛋白 CDK4 及 AKT 通路产生的。

[关键词] 硫酸酯酶-1 基因; 乳腺癌; MCF-7 细胞; 周期蛋白; 增殖; 迁移; 化疗敏感性

[中图分类号] R737.9; R730.54; R730.59 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2014)03-0269-06

hSulf-1 overexpression enhance the sensitivity of breast cancer MCF-7 cells to the PARP inhibitor AZD2281

Xu Gaoya^{1,2}, Ji Weidan², Yan Yan², Bao Longlong², Shen Shuwen², Gu Lei², Fu Xiaohui², Jiang Xiaoqing², Su Changqing^{1,2}, Wu Mengchao² (1. Department of Pathogen Biology, School of Biology & Basic Medical Sciences, Soochow University, Suzhou 215123, Jiangsu, China; 2. Department of Molecular Oncology, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital & National Center of Liver Cancer, Second Military Medical University, Shanghai 200438, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the possibility of enhance the sensitivity of breast cancer MCF-7 cells to the PARP inhibitor AZD2281 by up-regulate the expression of *hSulf-1*. **Methods:** MCF-7 cells were infected with Ad5-hSulf1 or Ad5-EGFP. Transfectants were treated with different concentrations of AZD2281 and the most optimal concentration was determined. In further experiments, both Ad5-hSulf-1-overexpressing MCF-7 cells and Ad5-EGFP-expressing control MCF-7 cells were treated with AZD2281 at the optimal concentration determined. After treatment for 24 h, cell cycle progression was assessed by flow cytometry (FCM), formation ability of MCF-7 cells by colony formation assay, protein levels of cyclin dependent kinase 4 (CDK4) and phosphorylated protein kinase B (p-AKT) Western blotting, cell migration by Transwell assay, and proliferative ability by MTT assay. **Results:** AZD2281 showed the peak inhibitory activity at a concentration of 7 $\mu\text{mol/L}$. When this concentration was used, Ad5-EGFP-expressing MCF-7 cells showed significant

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 81370552, No. 81172303, No. 81172019)。Project supported by the National Natural Scientific Foundation of China (No. 81370552, No. 81172303, No. 81172019)

[作者简介] 徐高亚 (1988 -), 女, 江苏省盐城市人, 硕士生, 主要从事病毒载体改造及分子肿瘤学研究。E-mail: xugaoyamm@126.com

[通信作者] 苏长青 (Su Changqing, corresponding author), E-mail: suchangqing@gmail.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.3872/j.issn.1007-385X.2014.03.006.html>

increased in the proportion of G₂/M phase cells ([22.15 ± 0.17]% vs [17.44 ± 0.57]% , $P < 0.01$), the colony formation ability ([21.43 ± 1.52]% vs [49.43 ± 1.44]% , $P < 0.01$), levels of cell cycle protein CDK4 (0.67 ± 0.02 vs 0.72 ± 0.02 , $P < 0.01$) and p-AKT (0.17 ± 0.003 vs 0.42 ± 0.02 , $P < 0.01$), and the rate of migration ([57.69 ± 4.83]% vs [79.35 ± 5.44]% , $P < 0.01$) and proliferation (10.33 ± 1.53 vs 50.67 ± 2.31 , $P < 0.01$), as compared with MCF-7 cells expression Ad5-hSulf-1. **Conclusion:** The overexpression of hSulf-1 may significantly increase the chemosensitivity of MCF-7 cells to AZD2281, induce cell cycle arrest at G₂/M-phase and inhibit cell proliferation and migration capacities, possibly through regulation of CDK4 expression and AKT phosphorylation.

[**Key words**] human sulfatase-1 (*hSulf-1*) gene; breast cancer; MCF-7 cell; cycle protein; proliferation; migration; chemosensitivity

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(3): 269-274]

人硫酸酯酶-1 (human sulfatase 1, *hSulf-1*) 基因定位于人 8 号染色体长臂 8q13.39, 编码 871 个氨基酸的芳基硫酸酯酶激活酶^[1-3]。 *hSulf-1* 在许多肿瘤组织中低表达或不表达, *hSulf-1* 过表达可以抑制肿瘤细胞增殖, 促进药物诱导肿瘤细胞凋亡^[4]。

AZD2281 作为二磷酸腺苷核糖多聚酶 [poly (ADP-ribose) polymerase, PARP] 抑制剂之一, 已被用于乳腺癌易感基因 (breast and ovarian cancer susceptibility gene, *BRCA*) 突变型肿瘤化放疗的联合治疗。 AZD2281 通过抑制 DNA 损伤修复促进肿瘤细胞凋亡, 从而增强放疗疗效, 临床多用于三阴性乳腺癌及 *BRCA* 相关性乳腺癌的治疗^[5-7]。

本课题组前期研究^[8]发现, *hSulf-1* 可以通过下调 VEGF-2 信号通路发挥抗癌效应。 Narita 等^[9-10]证实, *hSulf-1* 能够抑制肿瘤生长及血管生成, 其下调与周期蛋白 D1 的表达水平有关, 并诱导 S 期细胞比例下降、G₂/M 期细胞比例增高, 从而促进肿瘤细胞凋亡。 临床试验^[11]表明, AZD2281 与抗血管生成药物联用, 使肿瘤患者的获益提高。 Byers 等^[12]发现, AZD2281 对小细胞肺癌有明显抑制作用, 其作用与抗血管生成及抑制细胞周期有紧密联系。 本研究旨在观察 *hSulf-1* 过表达能否提高乳腺癌 MCF-7 细胞对 AZD2281 的敏感性, 同时探索其可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 主要材料

人乳腺癌 MCF-7 细胞购于中国科学院上海细胞研究所细胞库。 腺病毒 Ad5-hSulf1 及 Ad5-EGFP (病毒阴性对照) 由第二军医大学东方肝胆外科医院分子肿瘤实验室构建并保存^[13]。 胎牛血清、DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司, 周期染色试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒、结晶紫染色剂、牛血清白蛋白及 DMSO 均购自上海碧云天生物技术有限公司, 细胞裂解液 RIPA 及蛋白酶抑制剂 PMSF 购自上

海博彩生物技术有限公司, 鼠抗人多克隆抗体 AKT、兔抗人多克隆抗体磷酸化 AKT 购自美国 Santa Cruz 公司, 兔抗人单克隆抗体 CDK4 为美国 Cell Signaling 公司产品, HRP 标记的山羊抗鼠或山羊抗兔 IgG 购自上海 R&D 生物科技公司, Transwell 小室购自美国 Millipore 公司, MTT 购自美国 Sigma 公司。 FACS Aria™ 流式细胞仪购自美国 BD 公司。

1.2 MCF-7 细胞的培养及重组腺病毒的感染

MCF-7 细胞用含 10% 胎牛血清、100 μg/ml 双抗 (青霉素、链霉素) 的 DMEM 培养基, 于 5% CO₂、37 °C 恒温培养箱中培养。 以每孔 3 × 10⁵ 个细胞传代, 当细胞完全贴壁后, 无双抗血清饥饿处理 5 h, 换正常培养基。 对 *hSulf-1* 基因的前期研究中发现, 在病毒感染强度为 30 PFU/细胞时, 细胞出现不完全抑制, 因此选用 MOI = 30 的 Ad5-hSulf1 及 Ad5-EGFP 感染细胞。 细胞加入 AZD2281 浓度梯度为 0、3.5、7、10.5、14 μmol/L, 继续培养 24、36 h, 并筛选 AZD2281 处理细胞的最佳浓度为 7 μmol/L 用于后续实验。

1.3 流式细胞术检测 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 处理对 MCF-7 细胞周期的影响

将 MCF-7 细胞以约 3 × 10⁵/孔的数量接种于 6 孔板内, 细胞贴壁完全后分别用 Ad5-hSulf1、Ad5-EGFP + AZD2281、Ad5-hSulf1 + AZD2281、AZD2281 处理细胞, 细胞处理前血清饥饿处理 6 h 后, 换成含 10% 胎牛血清、双抗 DMEM 培养基于细胞培养箱中继续培养 24 h 后收集细胞。 将上述收集的细胞用 PBS 洗两遍, 75% 酒精固定后在 4 °C 冰箱过夜。 次日, 细胞用 PBS 洗 1 遍, 含 RNA 酶的 PI 混合液避光染色 30 min, 上流式细胞仪检测各组细胞的周期。 实验各重复 3 次。

1.4 软琼脂克隆形成实验检测 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 处理对 MCF-7 细胞克隆形成能力的影响

用 PBS 配制 0.6% 和 1.2% 的低熔点软琼脂溶

液,灭菌。57 ℃ 水浴融化软琼脂,42 ℃ 恒温保持,1.2%的低熔点软琼脂与等体积的 2 × DMEM 混合 24 ml,铺在六孔板中,放置 1 h 左右,待其凝固即为下层胶。消化细胞,用含 20% FBS 的 DMEM 重悬细胞至 1×10^4 个/ml,与等体积的 0.6% 低熔点软琼脂混匀,铺在下层已铺有 1.2% 低熔点软琼脂的六孔板内,细胞数目控制在每孔 8×10^3 个。继续培养 20 d 后,吉姆萨染色,倒置显微镜观察 10 个视野并计数克隆数。实验重复 3 次。

1.5 Western blotting 检测各实验组细胞 CDK4 及 p-AKT 蛋白的表达

收集各组蛋白并用 BCA 法测定蛋白浓度,SDS-PAGE 分离蛋白、转膜并封闭 2 h 后,孵育一抗 CDK4 (1:1 000)、AKT (1:300)、p-AKT (1:300) 及内参 GAPDH 抗体(1:5 000),4 ℃ 过夜,TBST 液洗膜 3 次,用山羊抗兔、山羊抗鼠 IgG 二抗(1:5 000)室温孵育 1 h,TBST 洗膜 3 次,用 ECL 试剂盒显影并曝光,采集图片,Image J 1.42 软件分析各组蛋白的灰度值。实验重复 3 次。

1.6 Transwell 法检测各组细胞的迁移能力

将 Transwell 小室置于 24 孔板中,在小室的上室加入经 AZD2281、Ad5-hSulf1、AZD2281 + Ad5-hSulf1、AZD2281 + Ad5-EGFP 处理后的细胞,每小室加入 200 μ l 细胞悬液(含 4×10^5 个细胞),下室中加入 500 μ l 含 20% 胎牛血清的培养基,24 h 后取出,擦去小室上层细胞,用 0.1% 结晶紫染色 20 min,光学显微镜下随机取 4 个低倍视野进行计数并拍照。实验重复 3 次。

1.7 MTT 法检测 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 处理对 MCF-7 细胞增殖活性的影响

将对数期生长的 MCF-7 细胞用含双抗、10% 胎牛血清的 DMEM 液重悬,每孔 200 μ l (5×10^3 个细胞)均匀铺在 96 孔板中,于 5% CO₂、37 ℃ 培养箱中过夜,设 Ad5-hSulf1、Ad5-hSulf1 + AZD2281、Ad5-EGFP + AZD2281、AZD2281 及空白对照组,每组设 6 个平行孔。培养 24 h,避光加入 20 μ l (5 mg/ml) 的 MTT,孵育 4 h,吸尽孔中液体后,加入 150 μ l DMSO,振荡 10 min。酶联免疫检测仪检测 490 nm 处光密度(D)值。细胞增殖率(%) = (处理组 D 值/空白对照组 D 值) × 100%。实验重复 3 次。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计学软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间两两比较采用 LSD-t 检验,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ad5-hSulf1 联合 AZD2281 处理致 MCF-7 细胞周期阻滞于 G₂/M 期

流式细胞术检测结果(图 1)显示,与 AZD2281 单独处理组相比,Ad5-hSulf1 + AZD2281 联合处理组 G₂/M 期细胞比例明显增加[(22.15 ± 0.17)% vs (17.44 ± 0.57)% , $P < 0.01$],而 AZD2281 单独处理组与阴性对照组的差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果提示,Ad5-hSulf1 联合 AZD2281 处理致 MCF-7 细胞周期阻滞于 G₂/M 期。

2.2 Ad5-hSulf1 联合 AZD2281 处理加强对 MCF-7 细胞克隆形成能力的抑制

软琼脂克隆形成实验检测结果(图 2)显示,Ad5-hSulf1 + AZD2281 联合处理组 MCF-7 细胞克隆形成率明显低于 AZD2281 单独处理组[(21.43 ± 1.52)% vs (49.43 ± 1.44)% , $P < 0.01$]。而 AZD2281 单独处理组与阴性对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果提示,Ad5-hSulf1 联合 AZD2281 处理明显加强抑制 MCF-7 细胞的克隆形成能力。

2.3 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 联合处理后 MCF-7 细胞中 CDK4 及 p-AKT 蛋白的表达

Western blotting 法检测结果(图 3)显示,与 AZD2281 单独处理组相比,Ad5-hSulf1 + AZD2281 联合处理组周期相关蛋白 CDK4[(0.67 ± 0.02) vs (0.72 ± 0.02) , $P < 0.05$]及 p-AKT 蛋白[(0.17 ± 0.003) vs (0.42 ± 0.02) , $P < 0.01$]表达水平明显下降,AZD2281 单独处理组与空白对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果提示,Ad5-hSulf1 和 AZD2281 联合处理能抑制 MCF-7 细胞中 CDK4 及 p-AKT 蛋白的表达。

2.4 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 联合处理后 MCF-7 细胞的迁移能力

Ad5-hSulf1 + AZD2281 联合处理组与 AZD2281 单独处理相比,MCF-7 细胞的迁移能力明显减弱[迁移细胞数:(10.33 ± 1.53) vs (50.67 ± 2.31)个, $P < 0.01$];阴性对照组和药物单独处理组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$)。结果提示,Ad5-hSulf1 联合 AZD2281 处理能加强对 MCF-7 细胞迁移能力的抑制(图 4)。

2.5 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 联合处理后 MCF-7 细胞的增殖能力

MTT 法检测细胞增殖结果(图 5)显示,Ad5-hSulf1 + AZD2281 联合处理组与 AZD2281 单独处理

组相比, 细胞增殖率明显下降[(57. 69 ± 4. 83)% vs (79. 35 ± 5. 44)% , $P < 0. 01$], 而 AZD2281 单独处理组与阴性对照组相比, 差异无统计学意义($P >$

0. 05)。结果提示, Ad5-hSulf1 和 AZD2281 联合处理能显著加强对 MCF-7 细胞增殖能力的抑制。

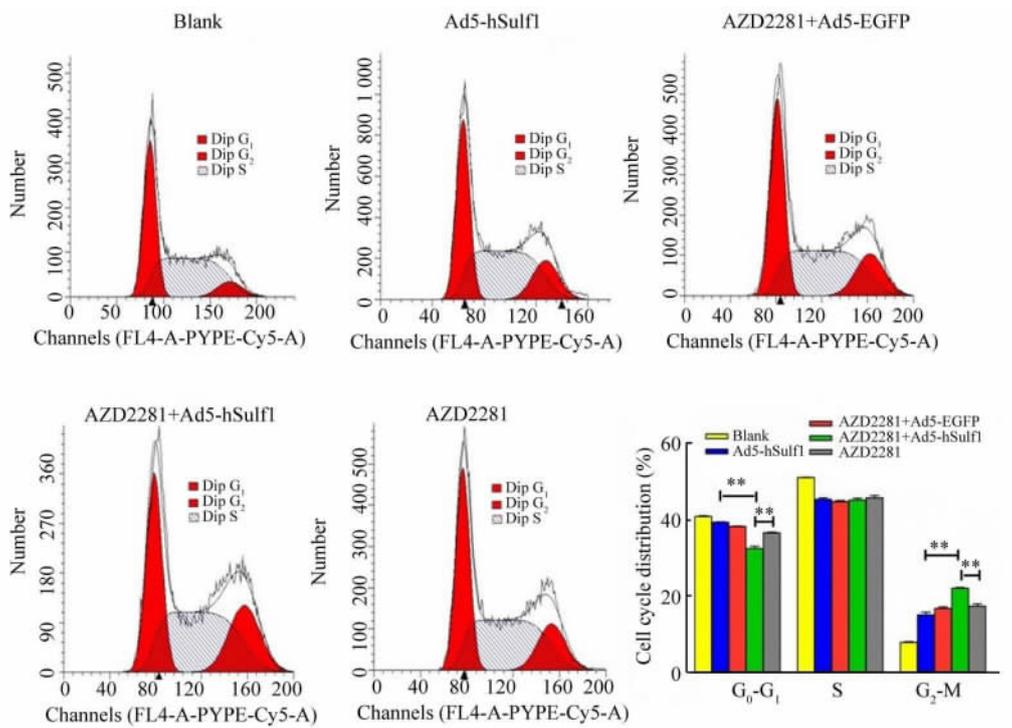


图 1 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 单独或联合处理对 MCF-7 细胞周期的影响

Fig. 1 Impact of treatment with Ad5-hSulf1 and AZD2281 alone or in combination on the cell cycle distribution of MCF-7 cells

** $P < 0. 01$ vs AZD2281 or AZD2281 + Ad5-EGFP or Ad5-hSulf1

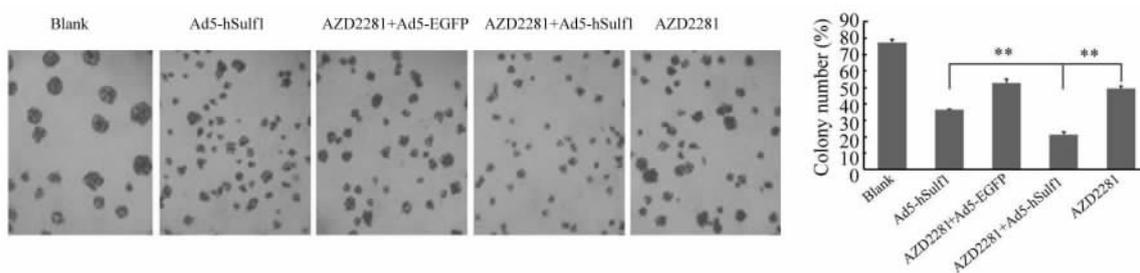


图 2 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 单独或联合处理对 MCF-7 细胞的克隆形成能力的影响(× 40)

Fig. 2 Impact of treatment with Ad5-hSulf1 and AZD2281 alone or in combination on the clonogenicity ability of MCF-7 cells(× 40)

** $P < 0. 01$ vs AZD2281 or AZD2281 + Ad5-EGFP or Ad5-hSulf1

3 讨论

hSulf-1 基因表达产物分布于细胞膜表面, 它能够使 HSPGs 脱硫酸化, 从而抑制 HSPGs 介导的肝素结合细胞生长因子受体酪氨酸激酶的激活, 下调肝素结合细胞生长因子受体信号通路的活性, 抑制细

胞的增殖^[1]; 其在卵巢癌、乳腺癌及其他肿瘤细胞系中可明显抑制肿瘤生长及迁移, *hSulf-1* 下调的自分泌信号与周期蛋白 D1 的表达水平有关^[10]。除此之外, 它还与细胞的黏附性、细胞骨架修复、凝血功能、以及转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β1)、Wnt/β-catenin、AKT/ERK 和上皮细胞

间质转化的信号通路高度相关^[14]。本课题组前期研究证实,*hSulf-1* 还与 miR-21 的调节有关^[15]。

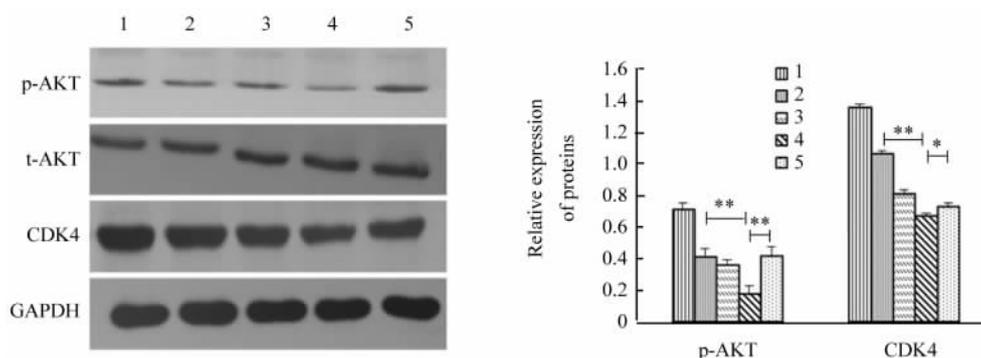


图3 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 单独或联合处理后 MCF-7 细胞中 CDK4 和 p-AKT 蛋白的表达

Fig. 3 Expressions of CDK4 and p-AKT in MCF-7 cells treated by Ad5-hSulf1 combined with AZD2281

1: Blank; 2: Ad5-hSulf1; 3: Ad5-EGFP + AZD2281; 4: Ad5-hSulf1 + AZD2281; 5: AZD2281

** $P < 0.01$ vs AZD2281 or Ad5-hSulf1 or Ad5-EGFP + AZD2281

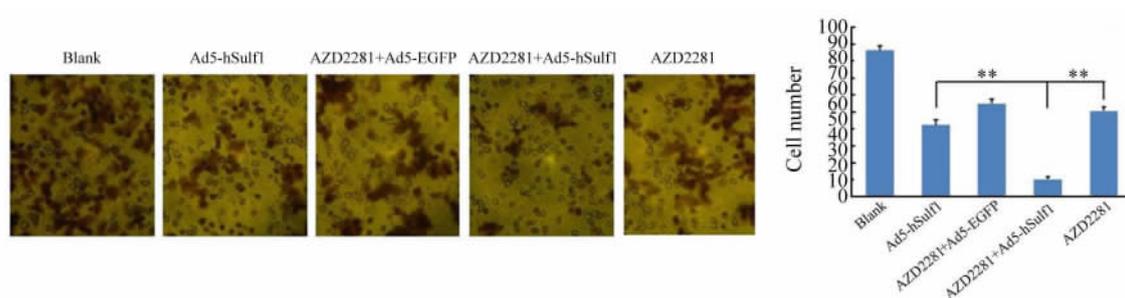


图4 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 联合处理对 MCF-7 细胞迁移能力的抑制(×200)

Fig. 4 Inhibitory effect of Ad5-hSulf1 combined with AZD2281 on the migration ability of MCF-7 cells (×200)

** $P < 0.01$ vs AZD2281 or Ad5-hSulf1 or Ad5-EGFP + AZD2281

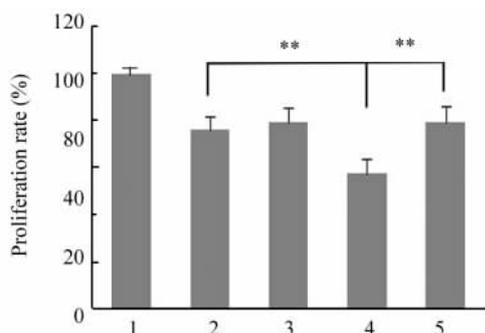


图5 Ad5-hSulf1 和 AZD2281 联合处理能加强对 MCF-7 细胞增殖的抑制

Fig. 5 Treating with Ad5-hSulf1 and AZD2281 in combination can enhance the inhibitory effect on the proliferation of MCF-7 cells

1: Blank; 2: Ad5-hSulf1; 3: Ad5-EGFP (MOI = 30) + AZD2281; 4: Ad5-hSulf1 + AZD2281; 5: AZD2281

** $P < 0.01$ vs AZD2281 or Ad5-hSulf1 or Ad5-EGFP + AZD2281

PARP 是修复 DNA 链断裂的关键酶,因此抑制 PARP 的活性可引起 DNA 的损伤。AZD2281 被认为是 PARP 的有效抑制剂之一,已经用于治疗 BRCA 突变型肿瘤及与铂类药物的联合使用^[16-17],单独用 AZD2281 治疗 BRCA1 及 BRCA2 突变的肿瘤患者目前处于 II 期临床试验阶段^[5,18-19]。在对非小细胞肺癌的研究中发现,AZD2281 不仅可以抑制 DNA 的修复,并且可以改变肿瘤的血供,增强放疗作用^[20]。还有实验^[21]证明,AZD2281 可用于治疗低雌激素水平下的 PTEN 敲除的子宫内膜癌。CDK4 可与周期蛋白 D1 结合,进而使 p-Rb 失活,促进转录因子 E2F 的释放,最终促进细胞进入 S 期,CDK4 合成减少,细胞则不能进入 S 期。研究^[22]发现,卵巢癌 *hSulf-1* 表达下调,癌细胞对顺铂药物治疗的抵抗增加,临床研究分析表明,高水平 *hSulf-1* 表达的卵巢癌患者对化疗的有效率高,提示 *hSulf-1* 的表达与化疗敏感性有关。为进一步研究 *hSulf-1* 的作用,本课题以乳腺癌细胞 MCF-7 为研究对象,

用 Ad5-hSulf1 感染 AZD2281 处理后乳腺癌细胞 MCF-7, 观察细胞增殖、迁移及形态学变化。实验结果显示, MCF-7 细胞过表达 hSulf-1 联合 AZD2281 与 AZD2281 单独处理相比, 可明显阻滞细胞于 G₂-M 期, 细胞克隆形成率更明显降低; 同时细胞周期相关蛋白 CDK4 表达水平下调, 说明 AZD2281 与 Ad5-hSulf1 通过影响相关周期蛋白来影响细胞周期的进程; p-AKT 也明显下降, 说明 AZD2281 与 Ad5-hSulf1 联合应用后, 可能通过调节 AKT 的信号通路进而降低乳腺癌细胞的增殖和迁移能力。以上结果表明, hSulf-1 可提高 MCF-7 细胞对 AZD2281 的敏感性。

Ad5-hSulf1 联合 AZD2281 处理乳腺癌细胞 MCF-7, 细胞被阻滞 G₂/M 期, 迁移、增殖及细胞克隆形成能力明显降低, 这一效应可能是通过调节相关周期蛋白及 AKT 信号通路产生的。

[参考文献]

- [1] Morimoto-Tomita M, Uchimura K, Werb Z, et al. Cloning and characterization of two extracellular heparin-degrading endosulfatases in mice and humans [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(51): 49175-49185.
- [2] Frese MA, Milz F, Dick M, et al. Characterization of the human sulfatase Sulf1 and its high affinity heparin/heparan sulfate interaction domain [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(41): 28033-28044.
- [3] Yang JD, Sun Z, Hu C, et al. Sulfatase 1 and sulfatase 2 in hepatocellular carcinoma: associated signaling pathways, tumor phenotypes, and survival [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2011, 50(2): 122-135.
- [4] Lai J, Chien J, Staub J, et al. Loss of HSulf-1 up-regulates heparin-binding growth factor signaling in cancer [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(25): 23107-23117.
- [5] Tutt A, Robson M, Garber JE, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: A proof-of-concept trial [J]. *Lancet*, 2010, 376(9737): 235-244.
- [6] Dent RA, Lindeman GJ, Clemons M, et al. Phase I trial of the oral PARP inhibitor olaparib in combination with paclitaxel for first- or second-line treatment of patients with metastatic triple-negative breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2013, 15(5): 88-96.
- [7] Rajan A, Carter CA, Kelly RJ, et al. A phase I combination study of olaparib with cisplatin and gemcitabine in adults with solid tumors [J]. *Clin Cancer Res*, 2012, 18(8): 2344-2351.
- [8] Weidan Ji, Jiahe Yang, Duanming Wang, et al. hSulf-1 gene exhibits anticancer efficacy through negatively regulating VEGFR-2 signaling in human cancers [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(8): e23274.
- [9] Narita K, Staub J, Chien J, et al. HSulf-1 inhibits angiogenesis and tumorigenesis in vivo [J]. *Cancer Res*, 2006, 66(12): 6025-6032.
- [10] Narita K, Chien J, Mullany SA, et al. Loss of HSulf-1 expression enhances autocrine signaling mediated by amphiregulin in breast cancer [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(19): 14413-14420.
- [11] Liu JF, Tolaney SM, Birrer M, et al. A phase 1 trial of the poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib (AZD2281) in combination with the anti-angiogenic cediranib (AZD217) in recurrent epithelial ovarian or triple-negative breast cancer [J]. *Eur J Cancer*, 2013, 49(14): 2972-2978.
- [12] Byers LA, Wang J, Nilsson MB, et al. Proteomic profiling identifies dysregulated pathways in small cell lung cancer and novel therapeutic targets including PARP1 [J]. *Cancer Discov*, 2012, 2(9): 798-811.
- [13] 季卫丹, 包龙, 严妍, 等. hSulf-1 基因腺病毒表达载体的构建及其对血管内皮细胞增殖、迁移能力的影响 [J]. *第二军医大学学报*, 2012, 33(3): 247-251.
- [14] Bret C, Moreaux J, Schved JF, et al. SULFs in human neoplasia: Implication as progression and prognosis factors [J]. *J Transl Med*, 2011, 9(1): 72-81.
- [15] Bao L, Yan Y, Xu C, et al. MicroRNA-21 suppresses PTEN and hSulf-1 expression and promotes hepatocellular carcinoma progression through AKT/ERK pathways [J]. *Cancer Lett*, 2013, 337(2): 226-236.
- [16] Rottenberg S, Jaspers JE, Kersbergen A, et al. High sensitivity of BRCA1-deficient mammary tumors to the PARP inhibitor AZD2281 alone and in combination with platinum drugs [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2008, 105(44): 17079-17084.
- [17] Evers B, Drost R, Schut E, et al. Selective inhibition of BRCA2-deficient mammary tumor cell growth by AZD2281 and cisplatin [J]. *Clin Cancer Res*, 2008, 14(12): 3916-3925.
- [18] Fong PC, Boss DS, Yap TA, et al. Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerase in tumors from BRCA mutation carriers [J]. *N Engl J Med*, 2009, 361(2): 123-134.
- [19] Audeh MW, Carmichael J, Penson RT, et al. Oral poly(ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and recurrent ovarian cancer: A proof-of-concept trial [J]. *Lancet*, 2010, 376(9737): 245-251.
- [20] Joana M Senra, Brian A Telfer, Kim E Cherry, et al. Inhibition of PARP-1 by olaparib (AZD2281) increases the radiosensitivity of a lung tumor xenograft [J]. *Mol Cancer Ther*, 2011, 10(10): 1949-1958.
- [21] Janzen DM, Paik DY, Rosales MA, et al. Low levels of circulating estrogen sensitize PTEN-null endometrial tumors to PARP inhibition in vivo [J]. *Mol Cancer Ther*, 2013, 12(12): 2917-2928.
- [22] Staub J, Chien J, Pan Y, et al. Epigenetic silencing of HSulf-1 in ovarian cancer: Implications in chemoresistance [J]. *Oncogene*, 2007, 26(34): 4969-4978.

[收稿日期] 2014-01-26

[修回日期] 2014-04-10

[本文编辑] 周玲琳, 韩丹