

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2015.05.004

· 基础研究

## 新型 CRM1 抑制剂 S109 通过阻断核输出抑制非小细胞肺癌细胞增殖

刘雪娇<sup>1</sup>, 种玉龙<sup>1</sup>, 韩焱<sup>3</sup>, 牛铭山<sup>1,2</sup> (1. 徐州医学院临床学院 神经系统疾病研究所, 江苏 徐州 221002; 2. 徐州医学院附属医院 血液科, 江苏 徐州 221002; 3. 大连市疾病预防控制中心 微生物检验所, 辽宁 大连 116012)

**[摘要]** **目的:** 研究新型染色体区域稳定蛋白 1 (chromosome region maintenance 1, CRM1) 抑制剂 S109 对非小细胞肺癌细胞增殖的影响及其机制。 **方法:** S109 作用于非小细胞肺癌细胞株 H1975 和 H1650, 以 CCK-8 法检测其对细胞生长的影响, 以 EdU 法检测细胞中对细胞增殖的影响, 以集落形成实验检测对细胞克隆形成能力的影响, 以流式细胞术检测其对细胞周期的影响, 以免疫荧光法检测对核输出标志蛋白 RanBP1 细胞内定位的影响, 以 Western blotting 检测对细胞中 CRM1 和 Cyclin D1 蛋白表达的影响。 **结果:** S109 (0.04、0.2、1、5、25 和 50  $\mu\text{mol/L}$ ) 可以剂量依赖方式显著抑制非小细胞肺癌 H1975 和 H1650 细胞生长 ( $\text{IC}_{50}$  值分别为 1.4 和 1.2  $\mu\text{mol/L}$ ); 2 和 4  $\mu\text{mol/L}$  的 S109 均可以显著抑制非小细胞肺癌增殖 [(51.3  $\pm$  2.8)%、(23.2  $\pm$  2.1)% vs (100  $\pm$  1.2)%],  $P < 0.01$ ] 和克隆形成 [(43.6  $\pm$  3.2)%、(26.8  $\pm$  2.8)% vs (100  $\pm$  1.4)%],  $P < 0.01$ ], 并使细胞阻滞在  $G_1$  期 ( $G_1$  期细胞数量由 50.5% 增加至 74.9%)。S109 可以特异性抑制核质转运标志蛋白 RanBP1 的核输出, 并诱导 CRM1 蛋白降解。 **结论:** S109 通过特异性抑制 CRM1 功能阻断核输出, 从而抑制非小细胞肺癌细胞增殖并阻滞细胞周期。

**[关键词]** 非小细胞肺癌; H1975 细胞; H1650 细胞; 染色体区域稳定蛋白 1 (CRM1); 核输出增殖

**[中图分类号]** R734.2; R730.54

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-385X(2015)05-0573-05

## Novel CRM1 inhibitor S109 suppresses the proliferation of non-small cell lung cancer cells via inhibiting nuclear export

Liu Xuejiao<sup>1</sup>, Chong Yulong<sup>1</sup>, Han Yan<sup>3</sup>, Niu Mingshan<sup>1,2</sup> (1. Institute of Nervous System Diseases, Clinical College, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu, China; 2. Department of Hematology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu, China; 3. Institute of Microbiological Examination, Dalian Center for Disease Control and Prevention, Dalian 116021, Liaoning, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate if and how chromosome region maintenance 1 (CRM1) inhibitor S109 affects the proliferation of human lung cancer cells *in vitro*. **Methods:** Non-small cell lung cancer (NSLC) H197 and H1650 cells were treated with S109 at 0.04, 0.2, 1, 5, 25, 50  $\mu\text{mol/L}$ . After treatment for 72 h, cell viability, proliferation and colony formation were examined by CCK-8, EdU and clonogenic assays, respectively. Cell cycle arrest and subcellular localization of RanBP1 were analyzed by flow cytometry and fluorescence microscopy respectively. CRM1 and Cyclin D1 protein contents were assessed by Western blotting. **Results:** S109 inhibited the growth of H1975 and H1650 cells in a dose-dependent manner and the  $\text{IC}_{50}$  in these two cell lines was 1.4 and 1.2  $\mu\text{mol/L}$ , respectively. Compared with control, S109 reduced H1975 cell proliferation by (51.3  $\pm$  2.8)% at 2  $\mu\text{mol/L}$  and by (23.2  $\pm$  2.1)% at 4  $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.05$ ) and reduced colony formation by (43.6  $\pm$  3.2)% at 2  $\mu\text{mol/L}$  and by (26.8  $\pm$  2.8)% at 4  $\mu\text{mol/L}$  ( $P < 0.05$ ). S109 treatment increased the  $G_1$  fraction from 50.5% to 74.9% in H1975 cells ( $P < 0.05$ ), specifically inhibited nuclear export of RanBP1 and induced degradation of CRM1. **Conclusion:** S109 is able to suppress the proliferation and induces cell cycle arrest of NSLC cells, at least partially, via inhibiting nuclear export of RanBP1.

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (No. 81400167, No. 81402074)。Project supported by National Natural Science Foundation of China (No. 81400167, No. 81402074)

**[作者简介]** 刘雪娇 (1983 -), 女, 辽宁省本溪市人, 博士, 助理研究员, 主要从事肿瘤靶向治疗的研究, E-mail: liuxuejiao0923@126.com

**[通信作者]** 牛铭山 (Niu Mingshan, corresponding author), E-mail: msniu24@hotmail.com

**[优先发表]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20151017.1627.012.html>

[ **Key words** ] non-small cell lung cancer; H1975 cell; H1650 cell; chromosome region maintenance 1 ( CRM1 ); nuclear export proliferation

[ Chin J Cancer Biother, 2015, 22(5): 573-577 ]

目前,肺癌是中国发病率和病死率最高的癌症,其中非小细胞肺癌占 85% 左右<sup>[1]</sup>。约 50% 以上的肺癌患者被确诊时已是晚期,给治疗带来很大困难。因此,寻找肺癌治疗更有效的靶点和靶向药物非常重要。抑癌基因 *P53* 在肺癌细胞中的突变率非常高,约占初诊非小细胞肺癌患者的 40% ~ 90%; 存在 *P53* 基因突变的患者预后较差<sup>[2]</sup>。染色体区域稳定蛋白 1 ( chromosome region maintenance 1, CRM1 ) 是最主要的调控蛋白核输出的核受体,其通过识别目标蛋白的核输出序列将蛋白运输至细胞核外<sup>[3]</sup>。这些蛋白包括 *P53* 和 *P73* 在内的很多抑癌蛋白。研究<sup>[4]</sup>发现,CRM1 在多种肿瘤中高表达,并与预后相关。因此,CRM1 可能是肿瘤治疗的有效靶点。但是经典的 CRM1 抑制剂 Leptomycin B 是非可逆抑制剂,由于毒性过大,致使临床 I 期试验终止<sup>[5]</sup>。本实验研究课题组自行设计的新型 CRM1 抑制剂 S109<sup>[6]</sup> 对非小细胞肺癌增殖的影响及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

新型 CRM1 抑制剂 S109<sup>[6]</sup> 由本实验室设计(图 1),委托苏州科曼达药物研发有限公司合成。CCK-8 细胞增殖检测试剂盒购自日本同仁研究所,细胞周期检测试剂盒购自苏州跃亚生物技术有限公司,兔抗人 CRM1、RanBP1、CyclinD1、Actin 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司,驴抗兔荧光二抗购自美国 Invitrogen 公司,5-乙炔基-2'-脱氧尿苷(5-ethynyl-2'-deoxyuridine, EdU)、4',6-联脒-2-苯基吡啶(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染料购自美国 Sigma 公司。

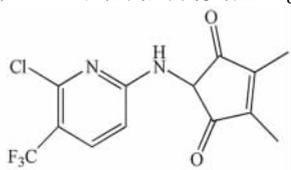


图 1 S109 化学式结构图

Fig. 1 Chemical structure of S109

### 1.2 细胞培养

人非小细胞肺癌 H1975 和 H1650 细胞株购自中国科学院细胞库。细胞培养条件为 37℃、5% CO<sub>2</sub>, 培养基为含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,细胞为贴壁细胞,用 0.25% 胰酶消化传代。

### 1.3 CCK-8 法检测 S109 对 H1975 和 H1650 细胞生长的影响

将 H1975 或 H1650 细胞接种于 96 孔细胞培养板,每孔接种  $4 \times 10^4$  个细胞,培养过夜。分别加入 0.04、0.2、1、5、25 和 50  $\mu\text{mol/L}$  浓度梯度的 S109,继续培养 72 h。每孔加入 10  $\mu\text{l}$  CCK-8 溶液,孵育 4 h。震荡混匀后,在酶标仪上 450 nm 处检测各孔光密度(*D*)值。实验设 3 个平行孔,重复 3 次。细胞存活率(%) = 处理组 *D* 值/对照组 *D* 值  $\times 100\%$ 。

### 1.4 EdU 法检测 S109 对 H1975 细胞增殖的影响

将 H1975 细胞接种于 96 孔板中,培养过夜。分别用不同浓度的 S109 处理 12 h,对照组用等体积的 0.1% DMSO 孵育。每孔加入 100  $\mu\text{l}$  含 50  $\mu\text{mol/L}$  的 EdU 培养基孵育 2 h,然后依次进行细胞固定液孵育 30 min,50  $\mu\text{l}$  2 mg/mL 的甘氨酸孵育 5 min,含 0.5% Triton X-100 的 PBS 渗透剂孵育 10 min, Apollo 染色 30 min,渗透剂清洗两次,甲醇清洗两次,PBS 清洗一次,加 DAPI 染核,染色后立即用荧光显微镜观察、拍照,统计分析细胞增殖数。

### 1.5 集落形成实验检测 S109 对 H1975 细胞集落形成的影响

按照每孔 500 个细胞,将 H1975 细胞接种于 6 孔板中,37℃ 培养过夜。待细胞贴壁且完全伸展开后,分别给予不同浓度的 S109(2  $\mu\text{mol/L}$  和 4  $\mu\text{mol/L}$ ) 孵育 6 h,对照组用等体积的 0.1% DMSO 孵育。培养 3 周后予以 4% 的多聚甲醛固定细胞,摇床 30 min 后弃液,PBS 清洗 2 次,再加入 20% 的甲醇溶液破膜 20 min,PBS 清洗 2 次后结晶紫染色 30 min,照相机拍照。在倒置显微镜下计数所有菌落数量和直径大于 1 mm 的大菌落数量,数据进行统计学分析。

### 1.6 流式细胞术检测 H1975 细胞周期

将 H1975 细胞接种于 6 孔板,待细胞贴壁且融合度达到 70% 时,用 2  $\mu\text{mol/L}$  S109 处理。孵育 24 h 后,用胰酶消化,PBS 清洗 2 次后制成单细胞悬液。加入 75% 冰乙醇固定,-20℃ 过夜后 PBS 洗涤,弃上清,重悬细胞;加入 RNase 和碘化丙啶(PI) 37℃ 孵育 1 h 后用流式细胞仪检测,细胞周期分布使用 Cell Quest 软件分析。

### 1.7 免疫荧光染色观察 S109 对 CRM1 诱导核输出的影响

将 H1975 细胞接种于 96 孔细胞培养板,每孔

接种  $1.5 \times 10^4$  个细胞,培养过夜。分别加入 1、2 和  $4 \mu\text{mol/L}$  的 S109 孵育 2 h, PBS 清洗细胞。加入  $150 \mu\text{l}$  含有 4% 多聚甲醛的 PBS, 室温固定 20 min。PBS 清洗细胞后, 加入含 0.3% Triton X-100 的 PBS, 室温静置 30 min, 通透细胞膜。PBS 清洗细胞后, 加入含 1% BSA 的 PBS 室温 1 h 进行封闭。再按 1:100 的稀释比例加入 RanBP1 抗体, 孵育过夜。PBS 清洗后, 按 1:500 的稀释比例加入荧光二抗, 孵育 1 小时。再加入 DAPI 溶液, 染核 10 min。PBS 清洗后, 显微镜观察、拍照。

### 1.8 Western blotting 法检测 S109 对 CRM1 和 Cyclin D1 蛋白表达的影响

将 H1975 或 H1650 细胞接种于 6 孔细胞培养板, 每孔接种  $1.8 \times 10^5$  个细胞, 培养过夜。分别加入终浓度为 0.5、1、2 和  $4 \mu\text{mol/L}$  的 S109 孵育 24 h。PBS 清洗细胞后加入含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液 10 min, 离心取上清进行 SDS-PAGE, 然后进行转 PVDF 膜。PVDF 膜用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 然后加入抗 CRM1 或 Cyclin D1 一抗(稀释比 1:1 000) 孵育 1 h。洗膜后, 加入二抗(稀释比 1:4 000) 孵育 1 h。洗膜后, 用 ECL 显色液与膜孵育 3 min, 用 GE 公司成像仪扫描成像。

### 1.9 统计学处理

使用 Graphpad 统计学软件, 计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间均数比较采用 *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 S109 对非小细胞肺癌细胞生长的抑制作用

分别以 0.04、0.2、1、5、25 和  $50 \mu\text{mol/L}$  的抑制剂 S109 作用于非小细胞肺癌 H1975 或 H1650 细胞 72 h, 采用 CCK8 法检测其细胞活性, 结果(图 2)显示, S109 对 H1975 和 H1650 细胞生长的抑制作用均成剂量依赖性,  $\text{IC}_{50}$  值分别为 1.4 和  $1.2 \mu\text{mol/L}$ 。

### 2.2 S109 处理显著抑制 H1975 细胞的增殖能力

EdU 是一种胸腺嘧啶核苷类似物, 通过渗入 DNA 合成检测细胞增殖。荧光显微观察(图 3)显示, S109 可以显著抑制 H1975 细胞 EdU 的渗入率, 而且成剂量依赖性。对 EdU 阳性细胞进行计数, 结果显示, S109 对 H1975 细胞增殖率具有抑制作用, 其中 1、2 和  $4 \mu\text{mol/L}$  的 S109 与对照组相比均具有显著性[( $74.6 \pm 3.9$ )%、( $51.3 \pm 2.8$ )%、( $23.2 \pm 2.1$ )% vs ( $100 \pm 1.2$ )%,  $P < 0.01$ ]。

### 2.3 S109 显著抑制 H1975 细胞集落形成能力

S109 (2 和  $4 \mu\text{mol/L}$ ) 处理 H1975 细胞 6 h, 然

后细胞继续培养 3 周, 检测 S109 对 H1975 细胞集落形成能力的影响。结晶紫染色后, 使用相机拍照, 显示 S109 处理组集落大小和数量均较对照组减少(图 4A)。倒置显微镜下观察计数, 结果显示(图 4B), 2 和  $4 \mu\text{mol/L}$  的 S109 可显著抑制 H1975 细胞集落形成能力, [( $43.6 \pm 3.2$ )%、( $26.8 \pm 2.8$ )% vs ( $100 \pm 1.4$ )%,  $P < 0.01$ ]。

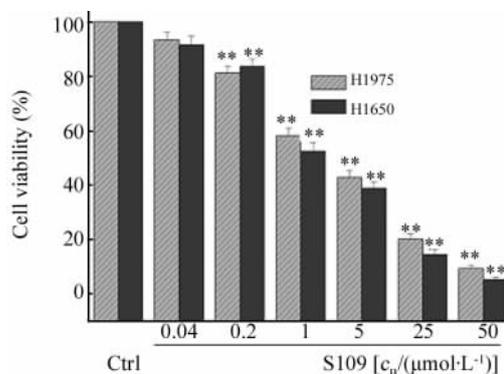


图 2 S109 对 H1975 和 H1650 细胞生长的抑制作用

Fig. 2 Dose-dependent effects of S109 on the viability of H1975 and H1650 cells

\*\*  $P < 0.01$  vs Ctrl

### 2.4 S109 对非小细胞肺癌细胞周期的阻滞作用

S109 ( $2 \mu\text{mol/L}$ ) 处理 H1975 细胞 24 h, 流式细胞术检测结果(图 5)显示, S109 能使 H1975 细胞  $G_1$  期数量由 50.5% 增加到 74.9%, 而 S 期细胞数量由 45.2% 减少到 17.5%, 实验结果提示 S109 可使 H1975 细胞阻滞于  $G_1/S$  期。

### 2.5 S109 抑制 RanBP1 的核输出

RanBP1 是检测抑制 CRM1 介导的核输出作用的标志蛋白<sup>[7]</sup>。免疫荧光染色观察结果(图 6)显示, RanBP1 在对照细胞中定位于细胞质, 而 S109 处理 2 h 后 RanBP1 定位于细胞核。随着 S109 浓度(1、2 和  $4 \mu\text{mol/L}$ ) 的增加, 核输出的抑制作用也逐渐增强。结果说明 S109 是特异性的 CRM1 抑制剂。

### 2.6 S109 降低 CRM1 和 Cyclin D1 蛋白的表达

Western blotting 结果(图 7)显示, 0.5、1、2 和  $4 \mu\text{mol/L}$  的 S109 分别处理 H1975 或 H1650 细胞 24 h, 由条带灰度可以看出, CRM1 蛋白的表达量随 S109 浓度的升高而降低。S109 处理细胞 24 h, 细胞周期蛋白 Cyclin D1 的表达量同样随 S109 浓度的升高而降低。

## 3 讨论

由于各种原因导致肿瘤的发病率逐年上升, 尤

其肺癌是中国发病率和病死率最高的癌症。目前,尚无能有效治疗非小细胞肺癌的药物,因此寻求新型药物对该病的治疗具有重要意义。CRM1 蛋白被证明在多种肿瘤高表达,且是治疗的理想靶点<sup>[8]</sup>。但是最初的 CRM1 抑制剂 Leptomycin B 由于是非可

逆抑制剂,毒性过高,使临床试验终止<sup>[9]</sup>。本课题组设计合成了 CRM1 抑制剂 S109,并研究 S109 对非小细胞肺癌细胞增殖、周期和克隆形成能力等功能的影响,并初步阐明其作用机制。

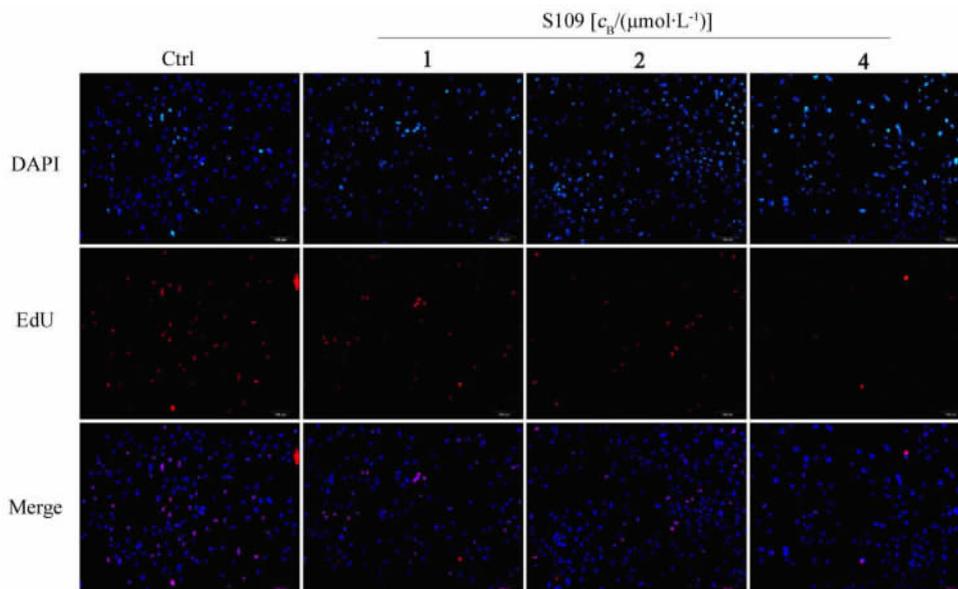


图 3 EdU 法检测 S109 对 H1975 细胞增殖的影响( ×200 )

Fig. 3 Effect of S109 on the cell proliferation of H1975 cells detected by EdU( ×200 )

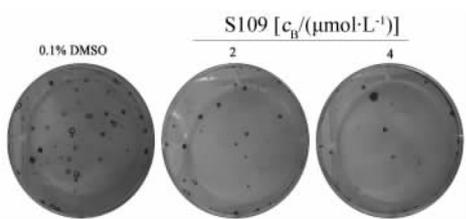


图 4 S109 对 H1975 细胞克隆形成的抑制作用

Fig. 4 Effect of S109 on the cell colony formation of H1975 cells

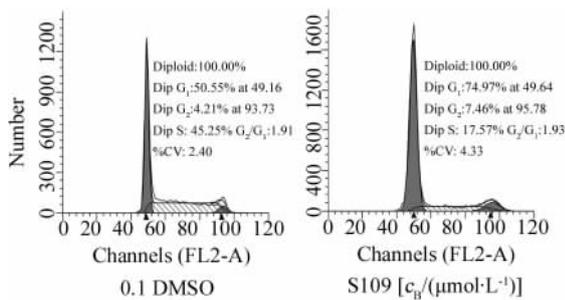


图 5 S109 对 H1975 细胞周期的作用

Fig. 5 Effect of S109 on the cell cycle of H1975 cells

CRM1 可以调控多种肿瘤抑制蛋白的核输出,而 CRM1 在肿瘤细胞内高表达,可使肿瘤抑制蛋白错误地定位于细胞质,无法发挥其肿瘤的抑制功能<sup>[10-11]</sup>。抑制 CRM1 功能,可以使这些肿瘤抑制蛋白恢复核定位功能,CRM1 抑制剂可通过阻滞肿瘤细胞的细胞周期而抑制细胞增殖<sup>[12-14]</sup>。CRM1 抑制剂还可通过抑制 P53 和 foxo1 等肿瘤抑制蛋白的核输出,使其发挥相关功能,并进一步调控周期相关蛋白的表达<sup>[15-18]</sup>。本研究结果也显示 S109 可将细胞阻滞于 G<sub>1</sub> 期,从而抑制肺癌细胞增殖。同时,S109 降低了细胞周期蛋白 Cyclin D1 的表达,且其抑制核输出的浓度与抑制细胞增殖的浓度很接近,说明 S109 可能是通过特异性抑制 CRM1 功能而调控细胞生长。S109 抑制 CRM1 并使其降解,Western blotting 结果显示,S109 作用于非小细胞肺癌细胞可使 CRM1 蛋白表达水平显著降低。而文献<sup>[19]</sup>报道非可逆抑制剂 Leptomycin B 并不能降低 CRM1 的表达水平。本课题组前期实验证明 S109 是可逆抑制剂<sup>[6]</sup>,但 S109 对 CRM1 的作用是解离后导致 CRM1 构象发生变化而被降解,还是先使 CRM1 降解后才使其成为可逆抑制剂仍需进一步研究。

综上,本研究结果提示,S109 通过抑制 CRM1 阻滞核输出功能,下调细胞周期相关蛋白,从而阻滞非小细胞肺癌细胞周期,抑制其生长、增殖及克隆形成。本研究对于 S109 用于治疗非小细胞肺癌提供了实验依据,S109 因其合成方法简单、合成成本低,作为抗癌药物应用于临床具有广阔前景。

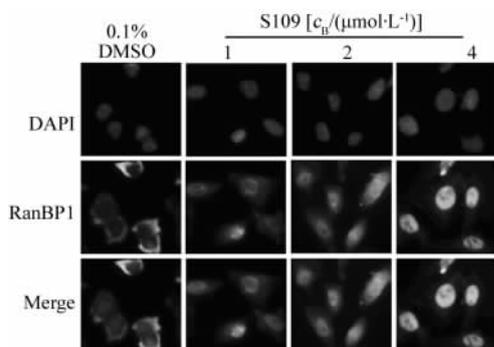


图 6 S109 对 RanBP1 核输出的抑制作用(×400)

Fig. 6 Effect of S109 on the nuclear export of RanBP1(×400)

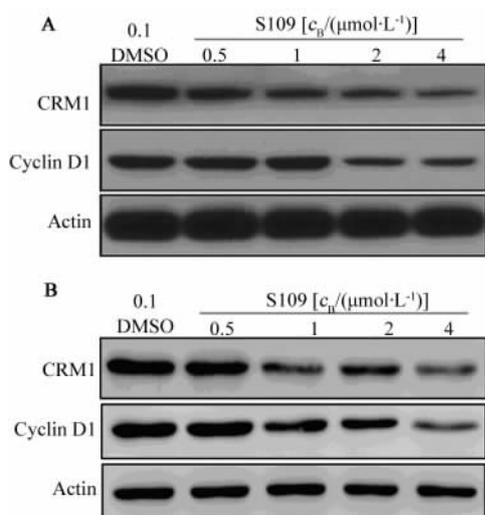


图 7 S109 对 CRM1 和 Cyclin D1 蛋白表达的影响

Fig. 7 Effects of S109 on the protein expression of CRM1 and Cyclin D1

A: H1975 cells; B: H1650 cells

## [参考文献]

- [1] Dong J, Hu Z, Wu C, et al. Association analyses identify multiple new lung cancer susceptibility loci and their interactions with smoking in the Chinese population [J]. *Nat Genet*, 2012, 44(8): 895-899.
- [2] Zhang N, Wei X, Xu L. miR-150 promotes the proliferation of lung cancer cells by targeting P53 [J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(15): 2346-2351.
- [3] Turner JG, Dawson J, Cubitt CL, et al. Inhibition of CRM1-dependent nuclear export sensitizes malignant cells to cytotoxic and targeted agents [J]. *Semin Cancer Biol*, 2014, 27: 62-73.
- [4] Han X, Wang J, Shen Y, et al. CRM1 as a new therapeutic target for non-Hodgkin lymphoma [J]. *Leuk Res*, 2015, 39(1): 38-46.
- [5] Hutten S, Kehlenbach RH. CRM1-mediated nuclear export: to the pore and beyond [J]. *Trends Cell Biol*, 2007, 17(4): 193-201.
- [6] Niu M, Chong Y, Han Y, et al. Novel reversible selective inhibitor of nuclear export shows that CRM1 is a target in colorectal cancer cells [J]. *Cancer Biol Ther*, 2015, 16(7): 1110-1118.
- [7] Monecke T, Haselbach D, Voss B, et al. Structural basis for cooperativity of CRM1 export complex formation [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(3): 960-965.
- [8] Gao W, Lu C, Chen L, et al. Overexpression of CRM1: A characteristic feature in a transformed phenotype of lung carcinogenesis and a molecular target for lung cancer adjuvant therapy [J]. *J Thorac Oncol*, 2015, 10(5): 815-825.
- [9] Nguyen KT, Holloway MP, Altura RA. The CRM1 nuclear export protein in normal development and disease [J]. *Int J Biochem Mol Biol*, 2012, 3(2): 137-151.
- [10] Turner JG, Sullivan DM. CRM1-mediated nuclear export of proteins and drug resistance in cancer [J]. *Curr Med Chem*, 2008, 15(26): 2648-2655.
- [11] Schmidt J, Braggio E, Kortuem KM, et al. Genome-wide studies in multiple myeloma identify XPO1/CRM1 as a critical target validated using the selective nuclear export inhibitor KPT-276. [J]. *Leukemia*, 2013, 27(12): 2357-2365.
- [12] Sakakibara K, Saito N, Sato T, et al. CBS9106 is a novel reversible oral CRM1 inhibitor with CRM1 degrading activity [J]. *Blood*, 2011, 118(14): 3922-3931.
- [13] Mendonca J, Sharma A, Kim HS, et al. Selective inhibitors of nuclear export (SINE) as novel therapeutics for prostate cancer [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(15): 6102-6112.
- [14] Gao J, Azmi AS, Aboukameel A, et al. Nuclear retention of Fbw7 by specific inhibitors of nuclear export leads to Notch1 degradation in pancreatic cancer [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(11): 3444-3454.
- [15] Yang J, Bill MA, Young GS, et al. Novel small molecule XPO1/CRM1 inhibitors induce nuclear accumulation of TP53, phosphorylated MAPK and apoptosis in human melanoma cells [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(7): e102983.
- [16] Santiago A, Li D, Zhao LY, et al. p53 SUMOylation promotes its nuclear export by facilitating its release from the nuclear export receptor CRM1 [J]. *Mol Biol Cell*, 2013, 24(17): 2739-2752.
- [17] Cheng Y, Holloway MP, Nguyen K, et al. XPO1 (CRM1) inhibition represses STAT3 activation to drive a survivin-dependent oncogenic switch in triple-negative breast cancer [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(3): 675-686.
- [18] Muqbil I, Bao B, Abou-Samra AB, et al. Nuclear export mediated regulation of microRNAs: Potential target for drug intervention [J]. *Curr Drug Targets*, 2013, 14(10): 1094-1100.
- [19] Saito N, Sakakibara K, Sato T, et al. CBS9106-induced CRM1 degradation is mediated by cullin ring ligase activity and the neddylation pathway [J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(12): 3013-3023.

[收稿日期] 2015-02-02

[修回日期] 2015-07-10

[本文编辑] 阮芳铭