



· 论 著 ·

Ku86通过调控TOP1和COPS5影响上皮性卵巢癌细胞对于顺铂的化疗敏感性

马倩^{1, 2*}, 刘懿萱¹, 开今言¹, 郭林¹, 卢仁泉¹

1. 复旦大学附属肿瘤医院检验科, 复旦大学上海医学院肿瘤学系, 上海 200032 ;
2. 西安交通大学第一附属医院检验科, 陕西 西安 710000

[摘要] 背景与目的: 卵巢癌是妇科恶性肿瘤中发病率排名第3、致死率排名第1的疾病。卵巢癌的预后很差, 这是由于大部分患者确诊时已处于晚期并且对铂类药物化疗易耐药, 异常的DNA修复是导致铂类耐药的重要原因, 针对性地干扰DNA损伤修复相关分子可能是提高铂类药物化疗敏感性的新手段。Ku86是参与非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)过程的一个关键分子, 能够有效地修复DNA双链断裂(DNA double-strand break, DSB)。方法: 使用免疫组织化学染色和细胞免疫荧光法检测Ku86在卵巢癌组织和细胞中的定位。使用RNAi技术下调Ku86, 用顺铂处理后使用流式细胞术检测凋亡, 使用细胞计数试剂盒(cell counting kit-8, CCK-8)法检测IC₅₀。使用蛋白质印迹法(Western blot)分别检测并分析Ku86与拓扑异构酶I(topoisomerase I, TOP1)及COP9信号复合体的第5种成分(the fifth component of the COP9 signalosome, COPS5)的关系。结果: 下调Ku86可以减少由于顺铂引起的细胞凋亡, 降低卵巢癌细胞对于顺铂的敏感性。Ku86对顺铂在卵巢癌药物敏感性中的这种影响可能是通过调节TOP1和COPS5发挥作用的。结论: TOP1和COPS5都是与DNA损伤修复有关并能影响铂类药物化疗敏感性的重要分子, 下调Ku86会使TOP1的表达增高和COPS5的表达减少。卵巢癌中与铂类药物敏感性有关的生物标志物之间有相关性, 靶向Ku86的治疗可能是提高卵巢癌药物敏感性的有效策略。

[关键词] Ku86; 拓扑异构酶I; COP9信号复合体的第5种成分; 顺铂; DNA损伤修复

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.02.003

中图分类号: R737.31 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2021)02-0100-08

Down-regulation of Ku86 inhibits cisplatin-induced chemotherapy sensitivity by regulating TOP1 and COPS5 in epithelial ovarian cancer MA Qian^{1, 2*}, LIU Yixuan¹, KAI Jinyan¹, GUO Lin¹, LU Renquan¹ (1. Department of Clinical Laboratory, Fudan University Shanghai Cancer Center; Department of Oncology, Shanghai Medical College, Fudan University, Shanghai 200032, China; 2. Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710000, Shaanxi Province, China)

Correspondence to: LU Renquan E-mail: lurenquan@126.com

[Abstract] **Background and purpose:** Ovarian cancer is the disease with the third highest incidence and the highest lethality among gynecological malignancies. Ovarian cancer has a poor prognosis because most patients are in advanced stages at the time of diagnosis and susceptible to resistance to platinum-based chemotherapy. Abnormal DNA repair is an important cause of platinum resistance. Targeting interference with DNA damage repair molecules may be a new way to improve the sensitivity to platinum chemotherapy. Ku86 is a key molecule involved in the process of non-homologous end joining (NHEJ), which can effectively repair DNA double-strand break (DSB). **Methods:** Immunohistochemical staining and cellular immunofluorescence were used to detect the localization of Ku86 in ovarian cancer tissues and cells. Ku86 was downregulated by RNAi technology, apoptosis was detected by flow cytometry after treatment with cisplatin, and IC₅₀ was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) method. Western blot was used to detect and analyze the relationship between Ku86 and topoisomerase I (TOP1) and the fifth component of the COP9 signalosome (COPS5). **Results:** This study found that downregulating Ku86 reduced the apoptosis caused by cisplatin and decreased the sensitivity of ovarian cancer cells to cisplatin. This effect of Ku86 on cisplatin in ovarian cancer drug sensitivity might be mediated by the regulation of TOP1 and COPS5. **Conclusion:** TOP1 and COPS5 are both important molecules related to DNA damage repair

*: 现工作单位为西安交通大学第一附属医院检验科。

基金项目: 国家自然科学基金(81572552, 81772774, 81772808); 上海市科学技术委员会引导项目(17411963500, 17411951000)。

通信作者: 卢仁泉 E-mail: lurenquan@126.com

and can affect platinum sensitivity in chemotherapy. Our study found that downregulating Ku86 increased the expression of TOP1 and decreased the expression of COPS5. This study preliminarily elucidated the relationship between biomarkers related to platinum drug sensitivity in ovarian cancer. Ku86-targeted therapy may be an effective strategy to improve drug sensitivity in ovarian cancer.

[Key words] Ku86; Topoisomerase I; The fifth component of the COP9 signalosome; Cisplatin; DNA damage repair

卵巢癌是女性第5常见的癌症^[1]。在全球范围内,它是妇科肿瘤中死亡率排名第1的恶性肿瘤,每年约有239 000例新诊断病例,每年有150 000例死亡^[2]。人类卵巢癌的标准治疗方法包括手术与铂类药物(如卡铂或顺铂)联合化疗。然而,尽管对铂类药物化疗起始有效,多数晚期卵巢癌患者在单药治疗后仍会复发,并具有致命的后果^[3]。对卵巢癌而言,疾病的分型至关重要^[4-5]。卵巢癌有两种主要的亚型,由组织来源决定,分为上皮性和非上皮性。上皮性卵巢癌是最常见的亚型,其特征是基因组不稳定和对铂类化学疗法的敏感性^[6]。

DNA修复的主要途径有5种:错配修复(mismatch repair, MMR)、碱基切除修复(base excision repair, BER)、核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)、同源重组(homologous recombination, HR)和非同源末端连接修复(non-homologous end joining, NHEJ)^[7]。这些不同途径之间的协同作用导致DNA修复和细胞存活。低水平的修复可能导致多种病理学变化,包括肿瘤的发生和对药物耐药性的产生^[8-9]。Ku86,也称为Ku80或X线修复交叉互补蛋白5(X-ray repair cross complementing 5, XRCC5),与Ku70一起形成二聚体复合物,并通过非同源末端连接修复DNA双链损伤(DNA double-strand break, DSB)^[10]。Ku86参与人体的许多重要生理过程,目前对哺乳动物细胞NHEJ的研究已应用于肿瘤治疗^[10]。但是,关于Ku86在药物敏感性方面的研究仍然很少。因此,本项目旨在研究Ku86在上皮性卵巢癌药物敏感性中的作用,并探讨Ku86与相关分子之间的关系。

1 材料和方法

1.1 组织样本

卵巢癌组织和正常组织取自于2014—2016年在复旦大学附属肿瘤医院妇科的原发性卵巢癌患

者,患者通过病理学检查确诊。本研究得到复旦大学附属肿瘤医院伦理委员会的批准(证书编号:050432-4-1212B),所有患者均签署知情同意书。

1.2 免疫组织化学检测

免疫组织化学分析使用抗Ku86鼠抗体(sc-5280,美国Santa Cruz公司),并用PBS以1:50稀释。如前所述进行免疫组织化学法(immunohistochemistry, IHC)染色^[11]。

1.3 细胞培养

在含有10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的RPMI-1640培养基中培养A2780和HO8910细胞系。将HEK-293T细胞在含有10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的DMEM中培养。所有细胞系均在37℃培养箱中于CO₂体积分数为5%的条件下培养。上述试剂均购自美国Gibco公司。

1.4 顺铂处理细胞

将细胞以3×10⁵个细胞/孔的密度接种在6孔板中。将顺铂(2CL)添加到A2780和HO8910细胞培养液中,并以无顺铂的孔作为对照,将细胞培养24 h。

1.5 建立Ku86或COP9信号复合体的第5种成分(the fifth component of the COP9 signalosome, COPS5)敲低的细胞模型

短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)是使用制造商的RNAi Designer程序设计的,其序列如表1所示。将shRNA克隆到pLKO.1-puro双酶切质粒(AgeI和EcoRI)(美国Addgene公司)中,以产生重组质粒。使用Lipofectamine™2000转染试剂(美国Invitrogen公司)将重组质粒,包装质粒psPAX2和包膜载体pMD2.G(美国Addgene公司)转染到HEK-293T细胞中。48 h后,收集病毒上清液,并使用浓度为8 μg/mL的聚乙烯(美国Sigma-Aldrich公司)将其转移至卵巢癌细胞系中24 h。使用2 mg/mL嘌呤霉素(美国Sigma-Aldrich公司)筛选稳定转染的细胞7 d。并通过蛋白质印迹法(Western blot)检测验证敲

低效率。

1.6 实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)

操作步骤和方法请参见参考文献 [11]。RTFQ-PCR中使用的特异性引物列于表2。

表 1 用于转染的shRNA序列

Tab. 1 Sequence of shRNA for transfection

Name	Sequence
shCtrl (scrambled sequence)	5'-CCTAAGGTTAAGTCGCCCTCG-3'
shKu86-1	5'-CGTGGGCTTACCATGAGTAA-3'
shKu86-2	5'-AGAGGAAGCCTCTGGAAGTTC-3'
shCOPS5-1	5'-CGCCTTTAGGACATACCCAAA-3'
shCOPS5-2	5'-GTCTCAGGTTATTAAGGATAA-3'

表 2 RTFQ-PCR的引物序列

Tab. 2 Primer sequences for RTFQ-PCR

Name	Sequence
COPS5 RTFQ-PCR forward	5'-GATCGGGAGGCAACTTGAAG-3'
COPS5 RTFQ-PCR reverse	5'-TGCGGATATTGTCTTGTGGA-3'
Ku86 RTFQ-PCR forward	5'-TAAATCGGAGGGGAAGTGCT-3'
Ku86 RTFQ-PCR reverse	5'-TGAATCAGGGAGGAAAGTGC-3'
β -actin RTFQ-PCR forward	5'-AAGGTGACAGCAGTCGGTT-3'
β -actin RTFQ-PCR reverse	5'-TGTGTGGACTTGGGAGAGG-3'

1.7 Western blot检测

Western blot的具体操作方法参见参考文献 [11]。用于检测的抗体为: Ku86 (sc-5280, 浓度1:500, 美国Santa Cruz公司), TOP1 (ab121681, 浓度1:3000, 美国Abcam公司), COPS5 (浓度1:1000, 英国Bethyl公司), β -actin (60008-1-Ig, 浓度1:3000, 武汉三鹰生物技术有限公司)。蛋白质条带的密度通过Image J软件 (美国国立医学图书馆) 定量。

1.8 细胞凋亡检测

收获细胞并重悬于0.5 mL结合缓冲液中, 然后与Annexin V/PI双重染色剂 (BD Biosciences) 一起温育15 min, 最后通过流式细胞仪测定。

1.9 IC₅₀检测

将细胞接种到96孔板中, 并用不同浓度的顺铂 (0~64 μ g/mL) 处理48 h。之后向每个孔中加入CCK-8试剂 (日本同仁化学研究所), 并在37 $^{\circ}$ C温育2 h。用酶标仪在450 nm处检测吸光度 (D) 值。使用以下公式确定细胞存活率: $(D_{\text{实验}} - D_{\text{背景}}) / (D_{\text{未经处理}} - D_{\text{背景}}) / 100\%$ 。使用非线性回归计算与未处理的对照组相比存活的细胞降低了50%时顺铂的IC₅₀值 (GraphPad Prism v3.0)。

1.10 细胞免疫荧光检测

细胞在24孔板里的盖玻片上生长, 用预冷的PBS洗涤, 在室温下用4.0%多聚甲醛固定10 min, 然后在0.5% Triton X-100上破膜15 min。用牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 封闭1 h后, 将样品与所需的第一抗体在4 $^{\circ}$ C温育过夜。洗涤后, 将样品与1:5000稀释的二抗 (Alexa Fluor 488和594, 美国Life Technologies公司) 在室温下于黑暗中温育45 min。洗涤后, 将样品用含有DAPI (美国Invitrogen公司) 的Prolong Gold防褪色试剂固定。使用多光子共聚焦显微镜系统 (德国LAS-AF-Lite公司) 捕获图像。

1.11 统计学处理

使用SPSS 20.0软件进行统计分析。通过方差分析 (ANOVA) 和Student t 检验来检验组之间的差异。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Ku86在细胞内的表达部位及相关水平

首先在卵巢癌细胞中对Ku86进行定位。应用细胞免疫荧光技术在上皮性卵巢癌细胞系A2780中对Ku86进行定位。用DAPI对细胞核进行定位后发现, Ku86主要在细胞核内的细胞核膜上表达 (图1A)。使用IHC对来自于患者的癌和癌旁组织进行染色后发现, Ku86在细胞核内表达较多, 并且与正常卵巢组织相比, Ku86在卵巢癌组织中的表达较高 (图1B)。以上结果说明Ku86在细胞内存在于细胞核上, 并且可能影响细胞核内相关的生物学效应。

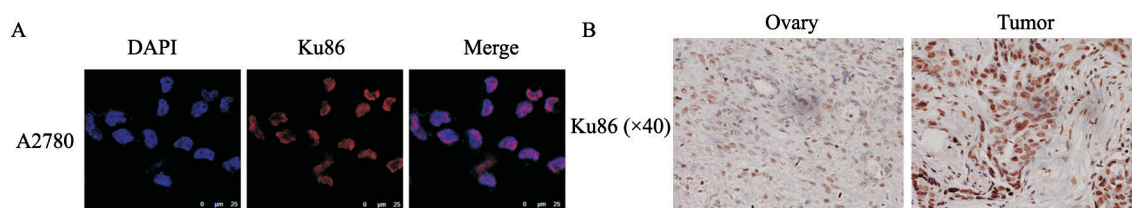


图1 Ku86在卵巢癌细胞内主要定位于细胞核

Fig. 1 Ku86 was mainly localized in the nucleus in ovarian cancer cells

A: Fluorescence confocal microscopy revealed the location of Ku86 in A2780; B: The expression and localization of Ku86 in normal ovarian and ovarian cancer tissues

2.2 Ku86与TOP1在卵巢癌铂类药物敏感性中的关系

Ku86是DNA依赖性蛋白激酶(DNA-dependent protein kinase, DNA-PK)的调节亚基。拓扑异构酶I(topoisomerase I, TOP1)也是一种细胞核酶,可在DNA复制和转录过程中催化超螺旋DNA的松弛^[12]。TOP1与药物敏感性的研究成果已在临床上应用^[13]。因此,接下来我们研究了Ku86与TOP1的关系,通过Oncomine(<https://www.oncomine.org/>)数据库对相关数据进行分析。结果显示,与对顺铂敏感的细胞相比,Ku86和TOP1的mRNA水平在对顺铂不敏感的细胞中都较低(图2A)。为了探讨Ku86和TOP1对于顺铂的敏感性,我们用不同浓度的顺铂处理A2780后,检测了蛋白表达水平的变化。结果显示,随着药物浓度的增高,TOP1的蛋白表达明显下调,而Ku86变化则不明显(图2B)。为了进一步研究Ku86与TOP1在卵巢癌药物敏感性中的关系,我们通过Gepia(gepia.cancer-pku.cn/)分析了Ku86和TOP1在卵巢癌中的表达相关性。结果显示,随着Ku86 mRNA水平的上升,TOP1的mRNA水平也增高,呈现一种正相关的趋势(图2C)。接下来我们使用RANi技术在A2780细胞系将Ku86敲低。结果显示,与对照组相比,下调Ku86后TOP1表达明显上调(图2D)。Ku86与TOP1同为存在于细胞核上的两种重要核酶,因此当下调Ku86时,TOP1可能补偿性升高。提示Ku86与TOP1存在明显的相关性,推测Ku86与TOP1是一种竞争的关系。

2.3 Ku86和COPS5在卵巢癌中的关系

COPS5通过调节DNA损伤修复途径在细胞

对顺铂的反应中起重要作用。我们之前的研究发现,COPS5参与卵巢癌的发生、发展过程,近期也有文献^[14]表明,COPS5与卵巢癌的药物敏感性有关。那么Ku86与COPS5的关系又如何呢?我们将Ku86敲低后检测COPS5的变化,无论是在A2780还是HO8910细胞系中,与对照组相比,当Ku86的mRNA水平下调时,COPS5的mRNA水平也明显下调(图3A~B)。在蛋白水平进一步验证结果,发现下调Ku86会导致COPS5的蛋白表达减少。而将COPS5敲低时,Ku86的蛋白表达水平不受影响(图3C~D)。这些结果说明,Ku86会影响到COPS5,而COPS5不会影响到Ku86。进一步查看Ku86和TOP1在卵巢癌中的表达相关性,结果显示,当Ku86表达较高时,COPS5的表达也较高(图3E)。接下来我们通过Gepia探索了COPS5高表达和低表达时对卵巢癌患者生存情况的影响。结果显示,在前60个月,COPS5的高表达与低表达对患者的生存状态不产生明显影响。但是60个月,高表达COPS5的患者组与低表达COPS5的患者组相比表现出较好的生存情况(图3F)。

2.4 顺铂处理后,下调Ku86使细胞凋亡减少

引发凋亡是铂类药物发挥抗癌作用的重要环节^[14]。为了探究Ku86对顺铂药物敏感性的影响,我们接下来检测了在药物作用下细胞的凋亡情况。加入2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的顺铂处理细胞48 h后,使用流式细胞术对细胞凋亡情况进行检测。结果显示,在A2780和HO8910细胞系中,与对照组相比,下调了Ku86的实验组细胞凋亡程度较少(图4A)。我们进一步检测了各组细胞的 IC_{50} ,结果显示Ku86下调组的细胞 IC_{50} 值增加(图4B),说明下调Ku86降低了卵巢癌细

胞对于顺铂的敏感性。简而言之, 下调Ku86会使TOP1表达升高, TOP1的高表达又会使细胞的凋亡程度减少。当用顺铂处理卵巢癌细胞时, Ku86下调的细胞通过调控TOP1来使细胞的凋亡程度减少, 使细胞对顺铂的敏感性

降低。此外, 下调Ku86也会使COPS5表达减少, 但是如何通过调控COPS5来改变顺铂的敏感性仍有待研究(图4C)。这些结果提示我们针对于Ku86的靶向治疗可改变卵巢癌的顺铂敏感性。

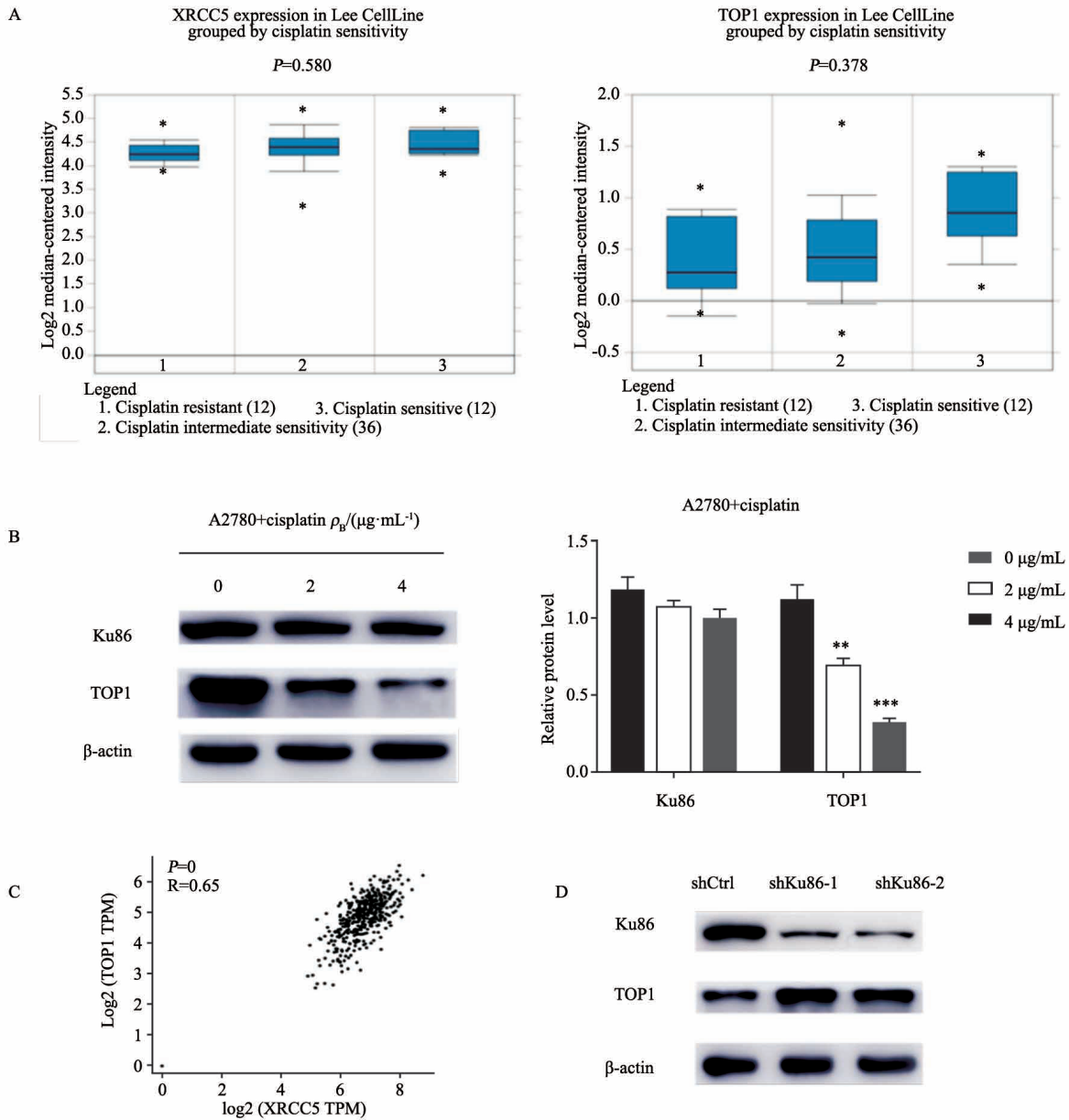


图 2 Ku86与TOP1在卵巢癌铂类药物敏感性中的关系

Fig. 2 The relationship between Ku86 and TOP1 in cisplatin sensitivity of ovarian cancer

A: Oncomine data analysis of Ku86 and TOP1 in ovarian cancer; B: Western blot revealed changes in Ku86 and TOP1 expressions after 24 hours of treatment of A2780 cells with different concentrations of cisplatin; C: Correlation analysis of Ku86 and TOP1 in ovarian cancer using Gepia; D: Down-regulation of Ku86 increased TOP1 expression in A2780 cells; **: $P<0.01$, compared with 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$; ***: $P<0.001$, compared with 0 $\mu\text{g}/\text{mL}$

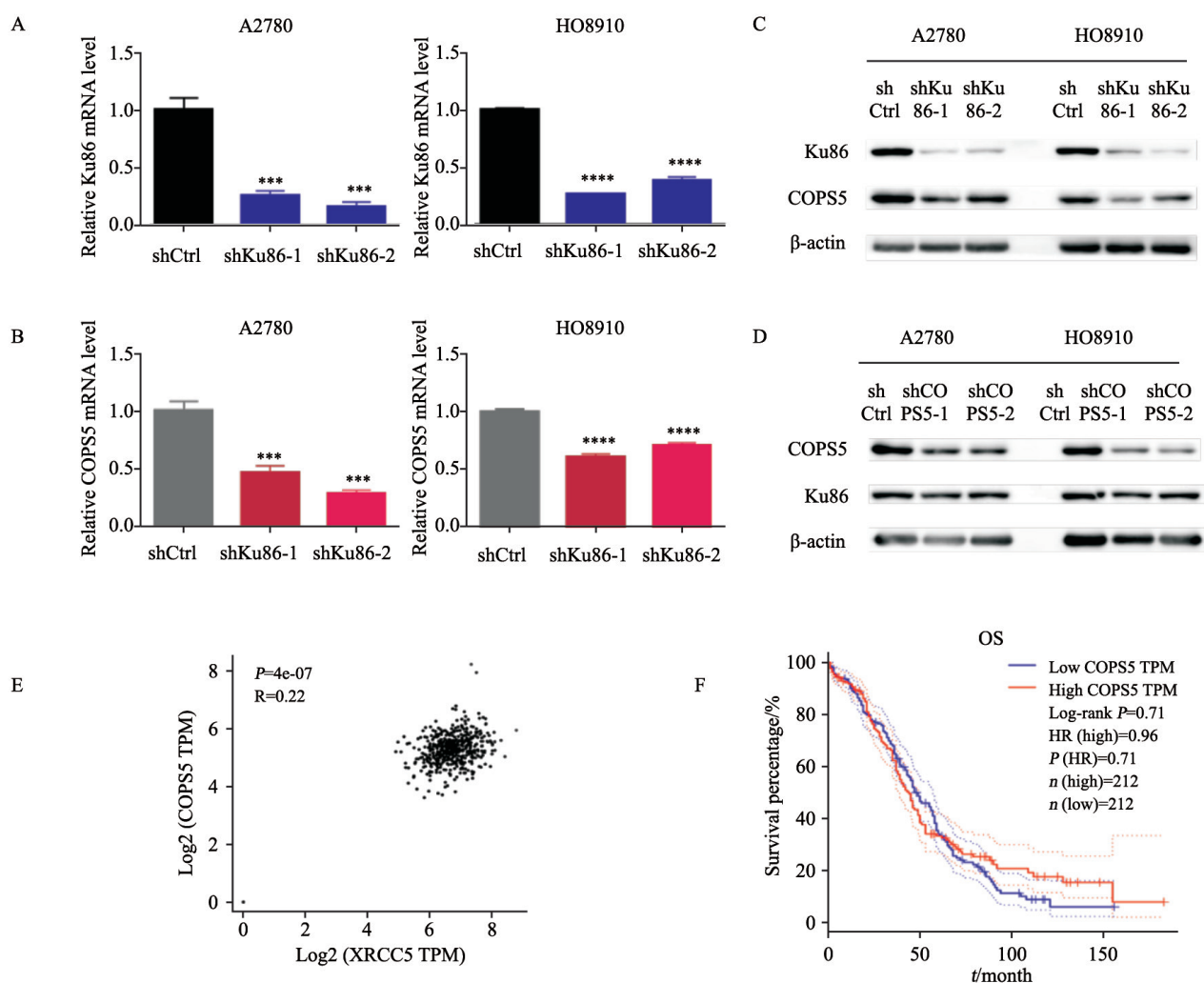


图3 Ku86与COPS5在卵巢癌中的关系

Fig. 3 Relationship between Ku86 and COPS5 in ovarian cancer

A: Ku86 mRNA changes after knocking down Ku86 in epithelial ovarian cancer cell lines A2780 and HO8910; B: COPS5 mRNA Changes after knocking down Ku86 in A2780 and HO8910 cells; C: COPS5 expression was reduced after Ku86 was down-regulated in A2780 and HO8910 cells; D: Ku86 did not change significantly after down-regulating COPS5 in A2780 and HO8910 cells; E: Correlation analysis of Ku86 and COPS5 in ovarian cancer using Gepia; F: Survival analysis of ovarian cancer patients using Gepia; ***: $P < 0.001$, compared with shCtrl group; ****: $P < 0.0001$, compared with shCtrl group

3 讨论

Ku86通过参与NHEJ来修复DSB。异常的DNA损伤修复以及与之相关的细胞凋亡是铂类药物发挥作用的重要机制。但是，Ku86在铂类药物敏感性方面的作用与机制仍不清楚。本研究发现，下调Ku86后由顺铂导致的细胞凋亡减少，细胞的 IC_{50} 值增高，说明低水平的Ku86使细胞对顺铂的作用不敏感。此外，本研究还发现，Ku86与TOP1和COPS5有显著的相关性，Ku86可通过影

响这两个分子来调节药物敏感性。

异常的DNA修复是导致铂类药物敏感性降低的重要机制。TOP1通过释放转录或复制过程中产生的拓扑DNA应力在维持基因组完整性方面起着至关重要的作用^[15]。喜树碱(camptothecin, CPT)是一类重要的抗癌药物，其发挥作用的机制主要是抑制TOP1^[16]。已有研究报道，TOP1的抑制剂可以增加细胞凋亡率^[17]。本研究发现，下调Ku86可导致TOP1表达明显增高，并且在顺铂作用后，下调Ku86的细胞凋亡率较低，这种现象可能是Ku86通过调控TOP1来完成的。

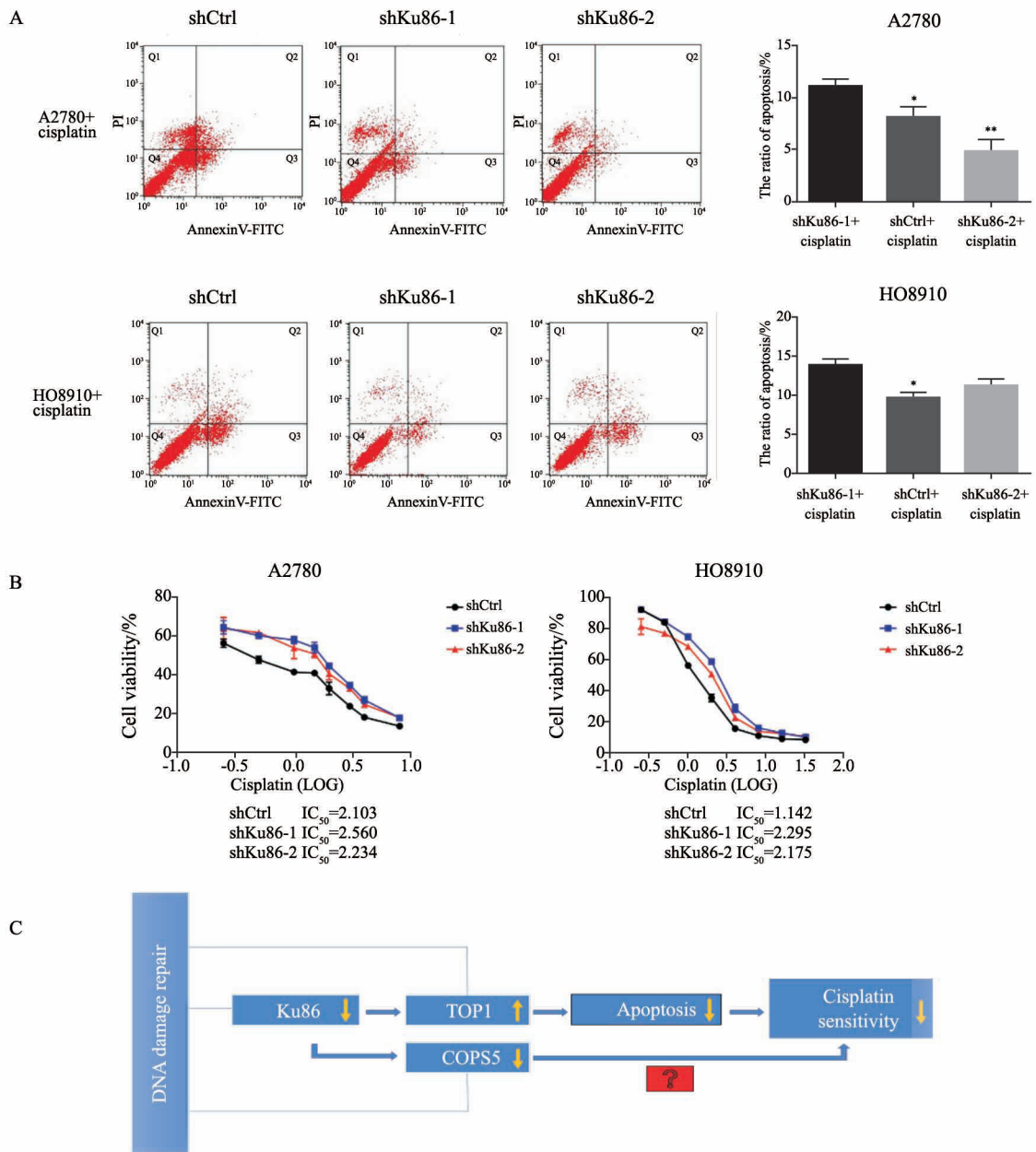


图 4 Ku86的下调减少了顺铂诱导的细胞凋亡

Fig. 4 Down-regulation of Ku86 reduces cisplatin-induced apoptosis

A: After applying cisplatin at 2 μg/mL in HO8910 and A2780 for 48 hours, knocking down Ku86 could reduce cell apoptosis. B: IC₅₀ was detected in A2780 and HO8910 cells. The concentration of cisplatin used was 0, 2, 4, 8, 16, 32, 64 μg/mL. All experiments were repeated three times. C: Down-regulation of Ku86 in ovarian cancer cells increased the expression of TOP1 and decreased the expression of COPS5, eventually leading to reduced sensitivity to cisplatin. Data were shown as $\bar{x} \pm s$; *: $P < 0.05$, compared with shCtrl+cisplatin group; **: $P < 0.01$, compared with shCtrl+cisplatin group

顺铂的化疗抵抗一般是因为细胞具有较强的DNA损伤修复能力。Ku86与TOP1同为参与DNA损伤修复的分子，它们的存在能够有效修复受损断裂的DNA，维持基因组稳定性。加入顺铂处理会造成DNA双链断裂，Ku86能通过直接连接受损末端的方式进行DNA修复，理论上下调Ku86的细胞会因为DNA的损伤修复能力减弱而对顺铂

更敏感。但实际上，由于下调Ku86会造成TOP1的补偿性升高，有文献^[18-19]报道，TOP1可使DNA修复增加，从而使肿瘤细胞对DNA的损伤产生抵抗，使基因组趋向稳定，从而使细胞对顺铂不敏感。

COPS5最初被认为是c-Jun辅助激活剂，也被称为COP9信号复合体的第5种成分^[20]。先前的

研究表明, COPS5通过调节DNA损伤修复途径在细胞对顺铂的反应中起重要作用。最近, 越来越多的证据^[21-22]表明, COPS5在癌症进展中具有重要作用, 包括DNA损伤反应和细胞凋亡。本研究发现, 下调Ku86可以导致COPS5的蛋白质和mRNA水平下降。并且发现在卵巢癌疾病后期(60个月左右)COPS5的高表达对应较好的生存率。敲低Ku86会使细胞对顺铂的敏感性降低, 这是否与Ku86调控COPS5有关仍有待研究。

综上, 本研究发现, 下调Ku86可以减少由顺铂引起的细胞凋亡, 并且Ku86可以调控TOP1和COPS5, 下调Ku86可使TOP1增多, 使COPS5减少。Ku86、TOP1和COPS5都是参与DNA损伤修复的分子, 而异常的DNA损伤修复是导致铂类耐药的重要机制。本文着重探讨了卵巢癌中与铂类药物敏感性有关的生物标志物之间的关系, 提示针对Ku86的靶向治疗可能是提高铂类药物化疗敏感性的有效策略, 未来有较好的应用前景。

[参 考 文 献]

- [1] REID B M, PERMUTH J B, SELLERS T A. Epidemiology of ovarian cancer: a review [J]. *Cancer Biol Med*, 2017, 14(1): 9-32.
- [2] VAN ZYL B, TANG D, BOWDEN N A. Biomarkers of platinum resistance in ovarian cancer: what can we use to improve treatment [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2018, 25(5): R303-R318.
- [3] OZOLS R F, BUNDY B N, GREER B E, et al. Phase III trial of carboplatin and paclitaxel compared with cisplatin and paclitaxel in patients with optimally resected stage III ovarian cancer: a Gynecologic Oncology Group study [J]. *J Clin Oncol*, 2003, 21(17): 3194-3200.
- [4] HAYCOX A, LOMBARD M, NEOPTOLEMOS J, et al. Review article: current treatment and optimal patient management in pancreatic cancer [J]. *Aliment Pharmacol Ther*, 1998, 12(10): 949-964.
- [5] CORTEZ A J, TUDREJ P, KUJAWA K A, et al. Advances in ovarian cancer therapy [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2018, 81(1): 17-38.
- [6] MATULONIS U A, SOOD A K, FALLOWFIELD L, et al. Ovarian cancer [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2: 16061.
- [7] CURTIN N J. DNA repair dysregulation from cancer driver to therapeutic target [J]. *Nat Rev Cancer*, 2012, 12(12): 801-817.
- [8] CECCALDI R, RONDINELLI B, D'ANDREA A D. Repair pathway choices and consequences at the double-strand break [J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(1): 52-64.
- [9] LORD C J, ASHWORTH A. The DNA damage response and cancer therapy [J]. *Nature*, 2012, 481(7381): 287-294.
- [10] MEEK K, GUPTA S, RAMSDEN D A, et al. The DNA-dependent protein kinase: the director at the end [J]. *Immunol Rev*, 2004, 200: 132-141.
- [11] LU R, SUN M, FENG J, et al. Myofibrillogenesis regulator 1 (MR-1) is a novel biomarker and potential therapeutic target for human ovarian cancer [J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 270.
- [12] GONGORA C, VEZZIO-VIE N, TUDURI S, et al. New topoisomerase I mutations are associated with resistance to camptothecin [J]. *Mol Cancer*, 2011, 10: 64.
- [13] DAS S K, REHMAN I, GHOSH A, et al. Poly(ADP-ribose) polymers regulate DNA topoisomerase I (Top1) nuclear dynamics and camptothecin sensitivity in living cells [J]. *Nucleic Acids Res*, 2016, 44(17): 8363-8375.
- [14] MIKULA-PIETRASIK J, WITUCKA A, PAKULA M, et al. Comprehensive review on how platinum- and taxane-based chemotherapy of ovarian cancer affects biology of normal cells [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2019, 76(4): 681-697.
- [15] CHAMPOUX J J. DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism [J]. *Annu Rev Biochem*, 2001, 70: 369-413.
- [16] POMMIER Y. Topoisomerase I inhibitors: camptothecins and beyond [J]. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(10): 789-802.
- [17] MCKENZIE J A, MBOFUNG R M, MALU S, et al. The effect of topoisomerase I inhibitors on the efficacy of T-cell-based cancer immunotherapy [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2018, 110(7): 777-786.
- [18] TESAURO C, SIMONSEN A K, ANDERSEN M B, et al. Topoisomerase I activity and sensitivity to camptothecin in breast cancer-derived cells: a comparative study [J]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 1158.
- [19] BERETTA G L, COSSA G, GATTI L, et al. Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 1 targeting for modulation of camptothecin-based treatment [J]. *Curr Med Chem*, 2010, 17(15): 1500-1508.
- [20] CLARET F X, HIBI M, DHUT S, et al. A new group of conserved coactivators that increase the specificity of AP-1 transcription factors [J]. *Nature*, 1996, 383(6599): 453-457.
- [21] PAN Y, ZHANG Q, TIAN L, et al. Jab1/CSN5 negatively regulates p27 and plays a role in the pathogenesis of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cancer Res*, 2012, 72(7): 1890-1900.
- [22] PAN Y, ZHANG Q, ATSAVES V, et al. Suppression of Jab1/CSN5 induces radio- and chemo-sensitivity in nasopharyngeal carcinoma through changes to the DNA damage and repair pathways [J]. *Oncogene*, 2013, 32(22): 2756-2766.

(收稿日期: 2020-01-02 修回日期: 2020-03-16)