

FEN1 抑制剂 SC13 逆转 MCF-7/ADR 细胞的耐药性研究

刘 洁, 王源源, 郭志刚, 何凌峰

(南京师范大学生命科学学院, 江苏分子与医学生物技术重点实验室, 江苏 南京 210023)

[摘要] 癌细胞在化疗过程中产生的多药耐药性 (multidrug resistance, MDR) 仍然是目前临床治疗乳腺癌所面临的巨大挑战。肿瘤细胞中强大的 DNA 损伤修复能力可能是导致其耐药性的主要原因之一。研究发现, 碱基切除修复 (base excision repair, BER) 途径中的关键蛋白 Flap 核酸内切酶 1 (FEN1) 在耐阿霉素的人乳腺癌细胞 (MCF-7/ADR) 中高表达, 并且 FEN1 抑制剂 SC13 可以显著增强阿霉素对于 MCF-7/ADR 的治疗敏感性, 其具体的作用机制可能是通过 cGAS-STING-NF κ B 信号通路激活了抗肿瘤免疫反应。

[关键词] 乳腺癌, Flap 核酸内切酶 1, 阿霉素, 肿瘤治疗, 化疗耐药

[中图分类号] R3F36H **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2024)04-0077-09

FEN1 Inhibitor SC13 Reverses the Drug Resistance of MCF-7/ADR Cells

Liu Jie, Wang Yuanyuan, Guo Zhigang, He Lingfeng

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Jiangsu Key Laboratory for Molecular and Medical Biotechnology, Nanjing 210023, China)

Abstract: The development of multidrug resistance (MDR) in cancer cells during chemotherapy poses a significant challenge in the clinical treatment of breast cancer. One of the main contributors to drug resistance is the robust DNA damage repair capability of tumor cells. The research had revealed that Flap endonuclease 1 (FEN1), a core protein involved in the base excision repair (BER) pathway, was highly expressed in adriamycin-resistant breast cancer cells. Moreover, the study found that the FEN1 inhibitor SC13 significantly enhanced the sensitivity of MCF-7/ADR cells to adriamycin. While the precise mechanism of action was not yet fully understood, it was hypothesized that the enhanced sensitivity of MCF-7/ADR cells may be attributed to the activation of potent antitumor responses mediated by the cGAS-STING-NF κ B signaling pathways.

Key words: breast cancer, FEN1, adriamycin, tumor treatment, chemoresistance

乳腺癌 (breast cancer, BC) 的发病率是女性恶性肿瘤中最高的, 也是全球癌症相关死亡的第五大原因^[1]。目前化疗是临床治疗乳腺癌的主要手段之一, 但在化疗过程中出现的多药耐药性 (MDR) 经常是导致患者治疗失败的原因^[2]。尽管以往关于肿瘤耐药机制的研究已经有了很多发现, 但临床耐药问题仍未完全解决, 因此需要寻找新的方法以攻克癌细胞的化疗耐药。2015 年的诺贝尔化学奖获得者发现了 DNA 损伤修复途径与癌症的发生联系密切。因此研究认为通过靶向 DNA 损伤修复途径中的关键蛋白或许能为临床上乳腺癌的化疗提供新的思路。

化疗药物阿霉素 (ADR) 的有效性取决于其诱导癌细胞的 DNA 损伤, 从而发挥促进细胞凋亡的功能^[3]。然而, 癌细胞在化疗过程中经常出现耐药性, 导致阿霉素的使用受限。DNA 损伤的耐受性增加、DNA 复制和修复能力增强通常是导致耐药的主要原因^[4]。Flap 核酸内切酶 1 (FEN1) 是碱基切除修复 (BER) 途

收稿日期: 2023-07-19.

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81872284).

通讯作者: 何凌峰, 博士, 副教授, 研究方向: DNA 损伤修复. E-mail: lfhe22@139.com

径中的核心蛋白,作为唯一能够切除 FLAP 结构的酶参与到 DNA 复制过程中冈崎片段的成熟^[5]. FEN1 在细胞中的异常表达或突变可引起一系列病理反应,导致包括癌症在内的各种疾病^[6]. 越来越多的证据表明,FEN1 可以通过促进细胞增殖、迁移和侵袭以及减少细胞凋亡来促进包括宫颈癌、乳腺癌和非小细胞肺癌等癌症的发展^[7]. FEN1 也是肿瘤多发转移和预后不良的标志,在肿瘤中的异常表达与肿瘤的发展和化疗耐药密切相关^[8]. 实验室在对于 *FEN1* 基因结构和功能的研究基础上,开发了针对 FEN1 的小分子抑制剂并将其命名为 SC13. SC13 作为靶向于 FEN1 的小分子化合物,在乳腺癌中能够特异性地抑制 FEN1 的活性,被抑制 FEN1 活性的肿瘤细胞中的 DNA 复制及 DNA 损伤修复过程均会受到影响. SC13 主要通过抑制 FEN1 的 FEN 活性来抑制肿瘤细胞的生长、诱导肿瘤细胞产生染色体的不稳定性并积累细胞毒性^[9]. 值得一提的是,FEN1 抑制剂 SC13 对于 FEN1 表达量相对较低的正常乳腺细胞基本没有杀伤作用,这也说明 FEN1 抑制剂具有较好的靶向性和安全性.

基于以上报道,猜测 FEN1 抑制剂 SC13 可以使耐阿霉素的人乳腺癌细胞(MCF-7/ADR)重新对阿霉素治疗敏感. 为了模拟临床耐药细胞的复发性,通过浓度逐步递增的方法构建了 MCF-7 耐阿霉素的细胞,并以正常的 MCF-7 细胞作为对照,结果表明,SC13 可以逆转 MCF-7/ADR 细胞对阿霉素的耐药性,并且这可能是通过激活 cGAS-STING-NF κ B 信号通路实现的. 研究证明了靶向 FEN1 可能为阿霉素治疗乳腺癌提供新的策略和思路.

1 材料与方法

1.1 主要试剂

DMEM 培养基购自江苏凯基生物技术股份有限公司,胎牛血清购自南京森贝伽生物科技有限公司,胰蛋白酶(Trypsin)购自索莱宝生物科技公司,阿霉素购自 Selleck Chemical(S1208). FEN1 抑制剂(SC13)是在自己实验室合成. 本文使用的抗体: anti-FEN1 antibody (A8999, Abclonal), anti-Bax antibody (Proteintech, 50599-2-Ig), anti-Bcl-2 antibody (26967-1-AP, proteintech), anti- β -Tubulin antibody (10094-1-AP, proteintech), anti-cGAS antibody (Proteintech, 29958-1-AP), anti-STING antibody (Proteintech, 66680-1-Ig), anti-p-STING antibody (Abclonal, AP1369), anti-NF κ B antibody (Abclonal, A19653), anti-p-NF κ B antibody (Abclonal, AP1294), anti- γ -H2AX antibody (ab2893, Abcam), anti-Vinculin antibody (MAB3574, Millipore). CCK8 (CellTM Counting Kit-8)购自南京恩晶生物科技有限公司,BCA (BCA Protein Quantification Kit)购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司,极超敏 ECL 化学发光试剂盒(BeyoECL Moon)购自碧云天生物试剂公司,细胞周期检测试剂盒(Cell Cycle Detection Kit)、细胞凋亡检测试剂盒(Annexin V-EGFP/PI Apoptosis Detection Kit)购自江苏凯基生物技术股份有限公司.

1.2 主要方法

1.2.1 细胞培养

实验中所用细胞株 MCF-10A、MCF-7 和 MCF-7/ADR 均为本实验室历史保存. 细胞培养使用 DMEM 完全培养基,并放置于 37 $^{\circ}$ C 和 5%CO₂ 培养箱中培养,用 0.25%的胰蛋白酶消化传代,并于 1~2 d 传代一次.

1.2.2 乳腺癌 MCF-7 耐药细胞株的建立

- (1)用 CCK8 法检测 MCF-7 细胞株的 IC₅₀,然后按照 IC₅₀ 一半的浓度作为起始浓度开始诱导.
- (2)将细胞按照 5×10^5 /孔接种于 6 孔板,待细胞密度达到 50%~60%时用含有阿霉素的培养液培养 48 h.
- (3)48 h 后在显微镜下观察细胞发现绝大多数细胞已经死亡,有少数细胞存活. 弃去培养液加入新鲜的含阿霉素的培养液继续培养. 每日观察细胞变化.
- (4)剩余的细胞全部长满后再传 1~2 次使细胞状态逐渐恢复.
- (5)将状态恢复的 MCF-7 重新接种于 6 孔板中,加入下一浓度的阿霉素培养液培养,直至诱导出终浓度为 250 ng/mL 的阿霉素耐药乳腺癌 MCF-7 细胞.

1.2.3 药物敏感性实验

取 3 000 个/孔的 MCF-7/ADR 细胞和 MCF-7 细胞,单独与不同浓度的阿霉素或 SC13 孵育,或者阿霉

素联合 20 $\mu\text{mol/L}$ 的 SC13 共孵育,DMSO 处理的细胞作为对照.加药 48 h 后弃掉旧培养基,将 10 μL 的 CCK8 和 90 μL 的新鲜培养基混合添加到每个孔中,并于 37 $^{\circ}\text{C}$ 进一步孵育 1~2 h,在 450nm 处测量吸光度,根据吸光度计算细胞相对数量.

1.2.4 蛋白质印迹分析

待细胞密度达到 80%时,收集细胞.加入含蛋白酶抑制剂 PMSF 的 RIPA 裂解液,充分裂解细胞,并用无菌枪头刮下细胞,吸入离心管中,置于冰上,超声破碎 2~3 次.在 4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 rpm 离心 10 min.小心吸取上清液于另一洁净离心管中,并将 Loading buffer 与蛋白样品以 1:5 的比例充分混合后于 95 $^{\circ}\text{C}$ ~100 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min,促使蛋白变性.取 10 μL 蛋白样进行 SDS-PAGE 电泳.甲醇活化 PVDF 膜后,将蛋白转移至 PVDF 膜.在 5%脱脂牛奶中封闭 1.5 h,ddH₂O 清洗 3 遍,剪膜.加入一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育.用 PBST 洗膜 3 次,每次 10 min.加入 HRP 偶联的二抗(1:10 000)孵育 1.5 h.按 1:1 配制 ECL 蛋白质印迹检测试剂后于 Tanon 成像系统曝光显影并拍照.采用 ImageJ 处理图像,计算灰度值,以目的条带灰度值与内参(Vinculin)条带灰度值的比值作为目的蛋白相对表达量.

1.2.5 克隆形成实验

取对数生长状态良好的 MCF-7/ADR 细胞,用胰酶消化离心后计数.按照每孔 500 个细胞接种于 6 孔板中,24 h 后待细胞贴壁后换液,加相应的药物或抑制剂处理,于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、5% CO₂ 的细胞培养箱内培养两周,每 2~3 d 更换一次新鲜培养基.两周后,用 PBS 清洗细胞 2 遍,每孔加 800 μL 、4%多聚甲醛室温固定 15 min,弃去多聚甲醛,加 500 μL 结晶紫染色 5 min,吸去染色液,用 PBS 漂洗至背景透明,风干拍照.采用 ImageJ 计算克隆数量.

1.2.6 流式细胞术检测细胞周期

将 1×10^5 个/孔的 MCF-7/ADR 细胞接种在 6 孔板中,待药物或抑制剂处理时间结束后,收获所有细胞,用 PBS 洗涤细胞一次(离心 2 000 rpm,5 min),收集并调整细胞浓度为 $1\times 10^6/\text{mL}$,取 1 mL 单细胞悬液.将制备的单细胞悬液离心后,去除上清,在细胞中加入体积分数为 70%冷乙醇 500 μL 固定(2 h 至过夜),4 $^{\circ}\text{C}$ 保存,染色前用 PBS 洗去固定液,然后加入提前配制好的 500 μL PI/RNase A 染色工作液,室温避光 30~60 min;最后检测并记录激发波长 488 nm 处红色荧光.

1.2.7 免疫荧光

将加药处理过后的细胞,按照 3×10^4 个/孔的 MCF-7/ADR 细胞接种到 12 孔板中,待爬片之后,PBS 洗涤 2 次,用 4%甲醛固定 30 min,加入 Triton X-100 以通透细胞.载玻片用 3%BSA 封闭,然后与一抗过夜孵育,第二天孵育荧光二抗,然后用 DAPI 染色,在荧光显微镜下观察.

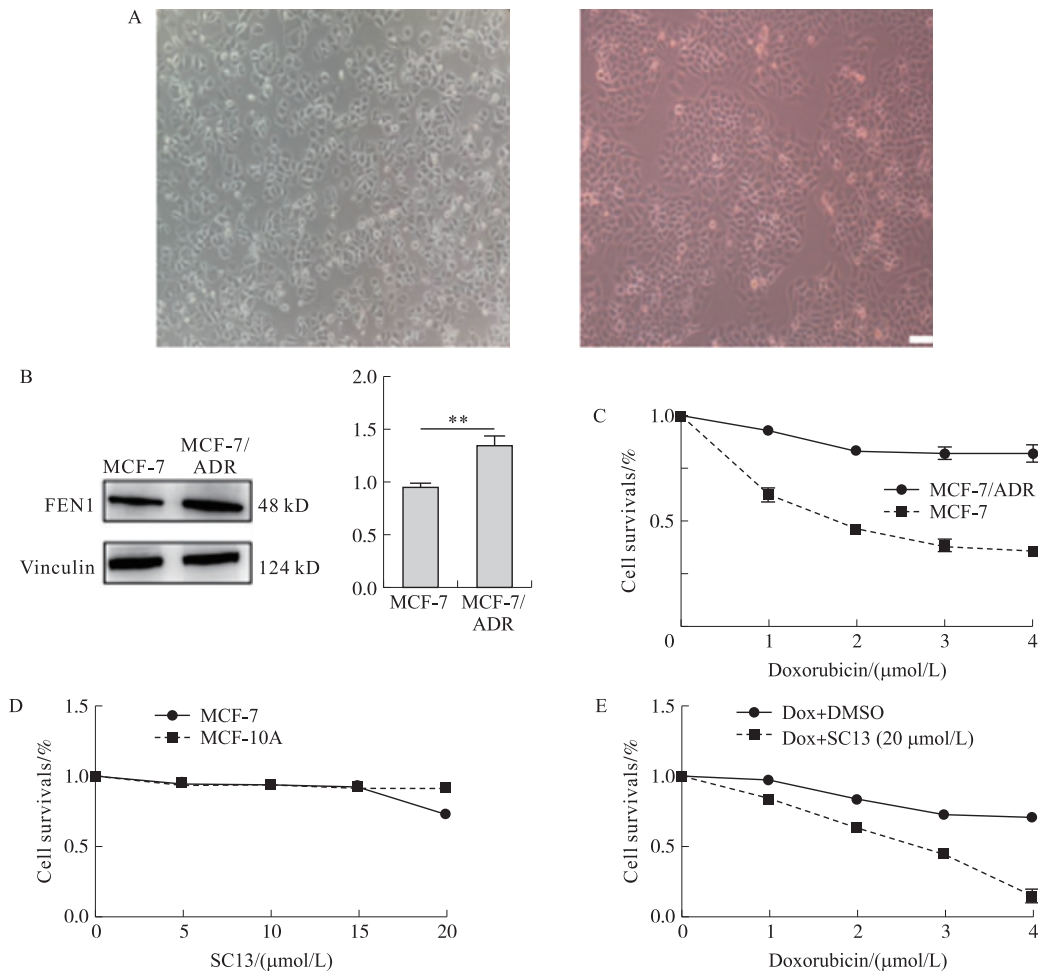
1.2.8 流式细胞术检测细胞凋亡

加药处理细胞 24 h 后,用 PBS 洗涤细胞 2 次(800 g 离心力,离心 5 min)收集 $1\times 10^5\sim 5\times 10^5$ 细胞,加入 500 μL 的 Binding buffer 轻轻吹匀成单细胞悬液,加入 5 μL Annexin V-EGFP 混匀后,加入 5 μL Propidium iodide,混匀.室温、避光、反应 10~20 min.用流式细胞仪检测,通过 FITC 通道(FL1)检测 Annexin V-EGFP($E_x=488\text{ nm}$, $E_m=530\text{ nm}$)的绿色荧光;通过 PI 通道(FL2 或 FL3)检测 PI 红色荧光($E_x=488\text{ nm}$, $E_m\geq 630\text{ nm}$).

2 结果与讨论

2.1 SC13 使 MCF-7/ADR 对于阿霉素治疗敏感

早有研究报道癌细胞中 DNA 修复能力的增强是造成其出现耐药性的主要原因^[10-11],并且 FEN1 作为碱基切除修复(BER)通路中的关键蛋白同时在多种耐药细胞中异常高表达^[6].研究以 MCF-7 细胞(图 1A 左)和 MCF-7/ADR(图 1A 右)细胞作为研究对象,检测了 FEN1 在这两种细胞系中的表达情况,结果显示,FEN1 在 MCF-7/ADR 中表达显著增高(图 1B).接着使用阿霉素同时处理 MCF-7 细胞和 MCF-7/ADR 细胞,结果发现相对于 MCF-7 细胞,MCF-7/ADR 细胞对阿霉素并不敏感(图 1C).之前的研究表明,20 $\mu\text{mol/L}$ 的 SC13 对于肿瘤细胞具有很好的杀伤作用,而对正常细胞影响不大(图 1D).因此选用 20 $\mu\text{mol/L}$ 的 SC13 联合阿霉素处理 MCF-7/ADR 细胞,结果发现相较于阿霉素的单独处理,联合处理对于细胞的杀伤效果更好(图 1E).



A:显微镜下观察到的 MCF-7 细胞(左图)和 MCF-7/ADR 细胞(右图)的形态;B:Western blot 检测 FEN1 在 MCF-7 细胞和 MCF-7/ADR 细胞中的表达;C:不同浓度的阿霉素处理的 MCF-7 细胞和 MCF-7/ADR 细胞药物敏感性分析;D:不同浓度的 SC13 处理的 MCF-7 和 MCF-10A 细胞药物敏感性分析;E:不同浓度的阿霉素联合 20 $\mu\text{mol/L}$ 的 SC13 和单独使用阿霉素处理的 MCF-7/ADR 细胞药物敏感性分析. 比例尺,100 μm .

图 1 阿霉素和 SC13 单独处理或联合处理对 MCF-7/ADR 细胞的杀伤效果

Fig. 1 The killing effect of doxorubicin and SC13 alone or in combination on MCF-7/ADR cells

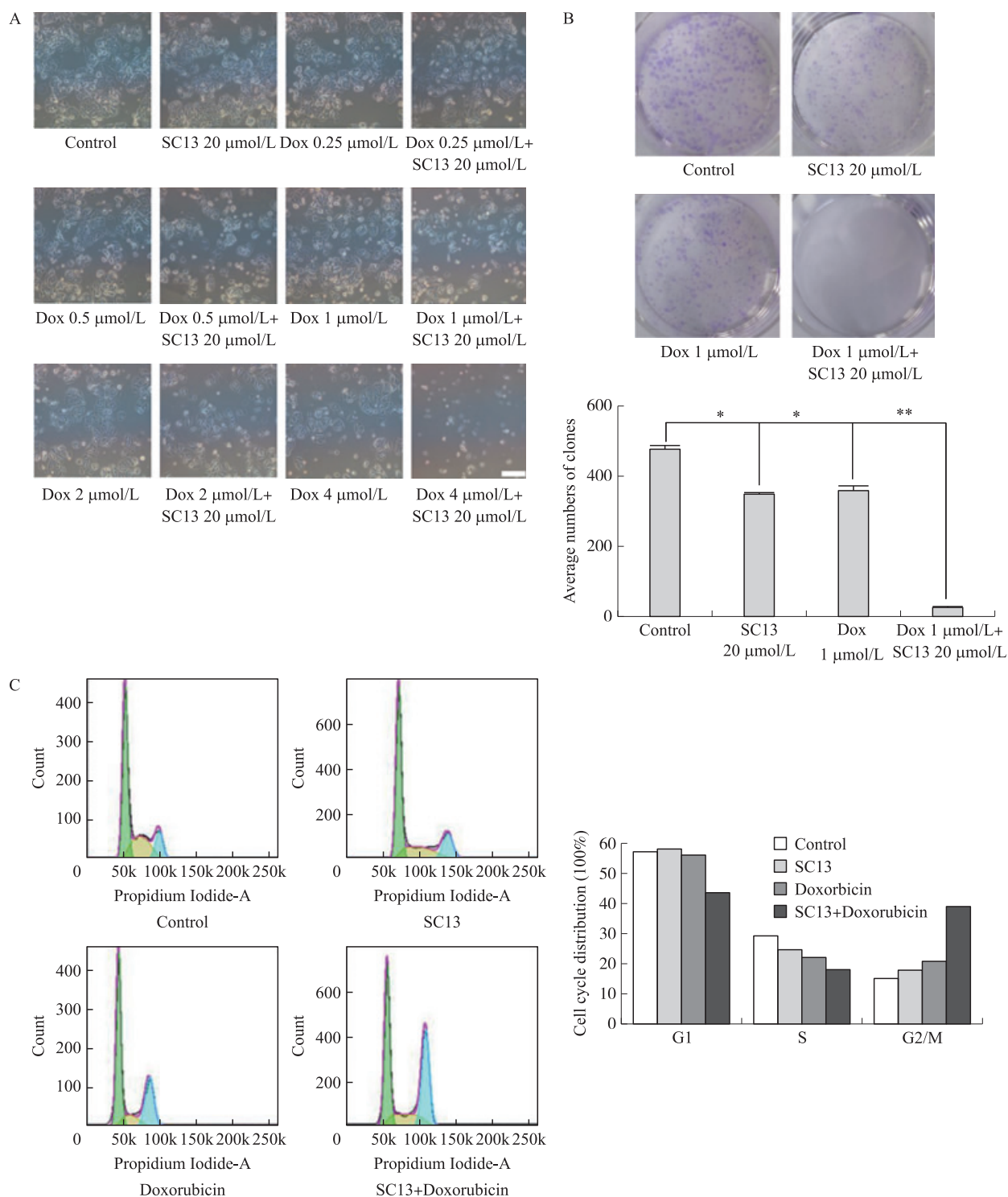
2.2 SC13 联合阿霉素显著抑制 MCF-7/ADR 细胞的增殖

为了探究 SC13 联合阿霉素对于 MCF-7/ADR 细胞增殖的影响,使用不同浓度的阿霉素和 20 $\mu\text{mol/L}$ 的 SC13 单独或联合处理 MCF-7/ADR 细胞,通过对其细胞典型形态和数量的观察发现,相较于 SC13 和阿霉素单独处理组,联合处理组细胞数量显著减少(图 2A). 然后进行了克隆形成实验,同样发现相对于单独处理组,联合处理组对于细胞的克隆形成能力的抑制更明显(图 2B).

众所周知,DNA 损伤反应会诱导细胞周期阻滞,主要包括 G1/S 期和 G2/M 期的阻滞^[12-14]. 而由于大多数肿瘤细胞的 p53 依赖性 G1 途径被破坏,导致其主要靠 G2/M 检查点来维持基因组完整性以应对 DNA 损伤^[15-16]. 而在 MCF-7 细胞中,DNA 损伤同样会诱导细胞的 G2/M 期停滞^[17-18]. 因此通过流式细胞术检测细胞周期,发现 SC13 联合阿霉素处理后更多的细胞停留在 G2/M 期,细胞出现了明显的 G2/M 期阻滞(图 2C). 以上结果说明 SC13 联合阿霉素对细胞的增殖抑制效果更加显著.

2.3 SC13 和阿霉素联合治疗导致癌细胞中 DNA 损伤增加

SC13 作为 FEN1 抑制剂可以诱导癌细胞中的 DNA 损伤, γH2AX 是检测 DNA 损伤的主要标志物. 用 SC13 和阿霉素单独处理或其组合处理后,通过蛋白质印迹和免疫荧光检测 MCF-7/ADR 细胞中的 DNA 损伤情况. 免疫荧光结果显示,在联合处理组的细胞核中观察到了更多的 γH2AX 表达(图 3A). 蛋白印迹结果与此一致,联合处理组的 γH2AX 蛋白表达水平更高(图 3B). 上述数据表明,SC13 和阿霉素联合会导致癌细胞中未修复的 DSB 的积累和 DNA 损伤的增加.



A:不同浓度的阿霉素和 SC13 单独或联合处理 48 h 后,显微镜下观察到的 MCF-7/ADR 细胞形态分析;B:SC13 和阿霉素单独或联合处理后,MCF-7/ADR 细胞的克隆形成结果分析;C:流式细胞术检测 SC13 和阿霉素单独或联合处理后,MCF-7/ADR 细胞的细胞周期结果分析。比例尺,100 μm ; * $P < 0.05$, ** $P < 0.05$ 。

图 2 SC13 和阿霉素单独或联合处理对 MCF-7/ADR 细胞增殖的影响

Fig. 2 The effect of SC13 and doxorubicin alone or in combination on the proliferation of MCF-7/ADR cells

2.4 SC13 和阿霉素联合治疗促进耐药细胞凋亡

研究阿霉素与 SC13 联合处理能否促进 MCF-7/ADR 细胞的凋亡作用,在加药处理 24 h 后,使用流式细胞仪检测 Annexin V-FITC 和 PI 双染后的细胞,结果发现联合加药组相对于单药处理组显著增强了细胞的凋亡(图 4A)。Western blot 结果也显示促凋亡蛋白 Bax 显著上调,抗凋亡蛋白 Bcl-2 显著下调(图 4B),说明 SC13 能够增强阿霉素的促凋亡作用。

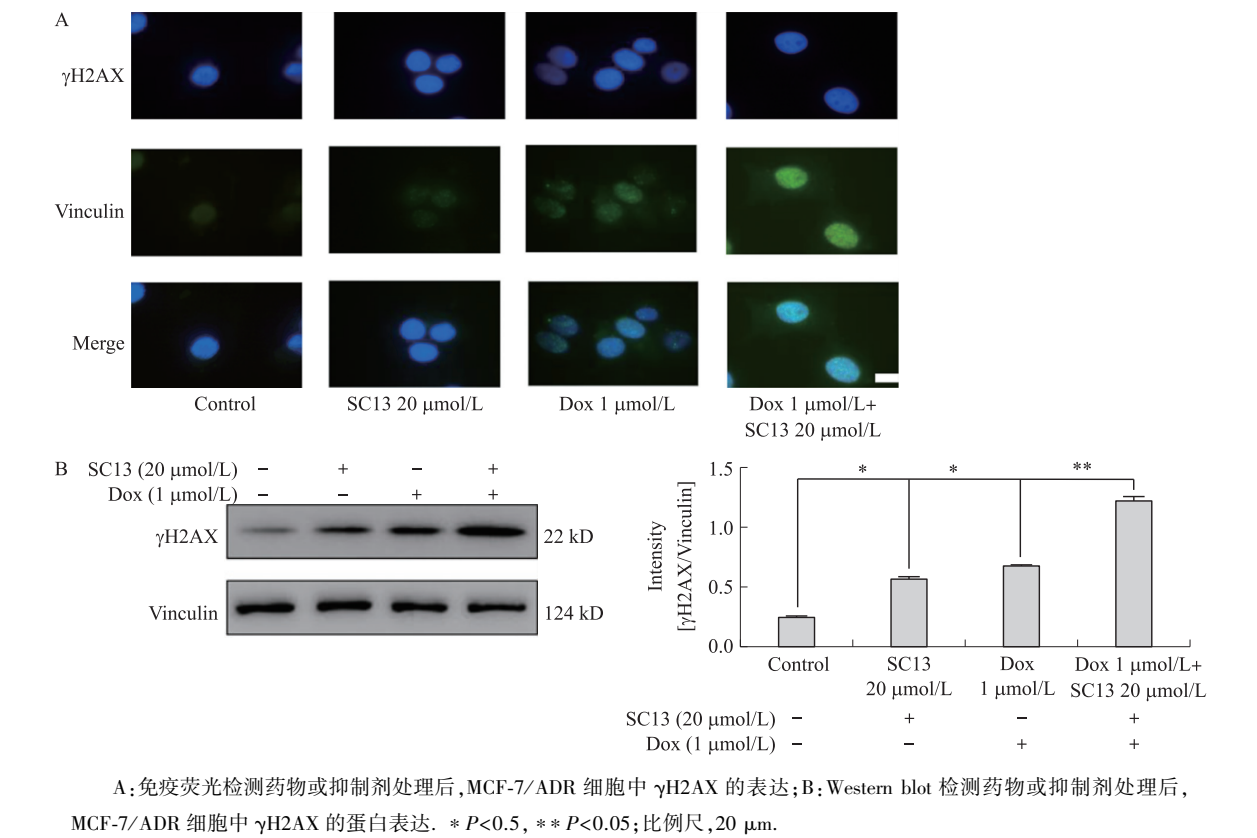


图 3 SC13 和阿霉素单独处理或组合处理后诱导了 MCF-7/ADR 细胞的 DNA 损伤

Fig. 3 SC13 and doxorubicin alone or in combination induce DNA damage in MCF-7/ADR cells

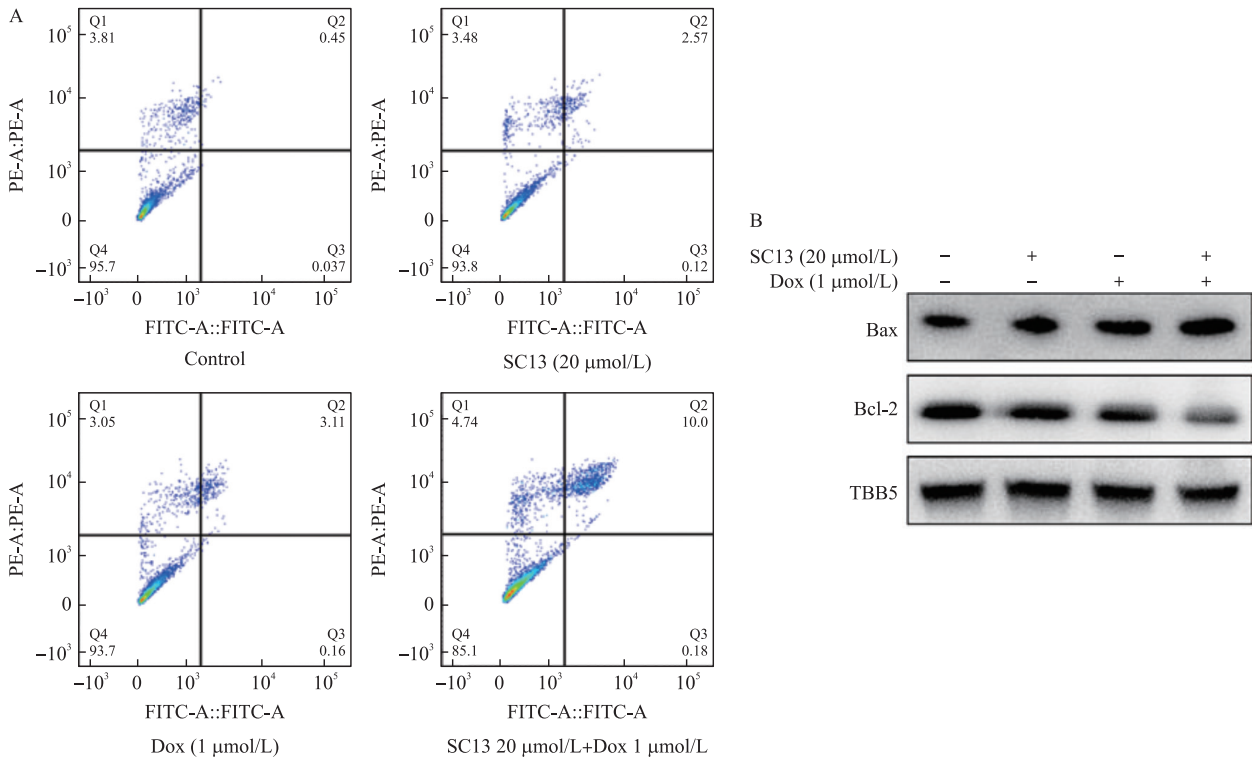


图 4 SC13 联合阿霉素增强了 MCF-7/ADR 细胞的凋亡作用

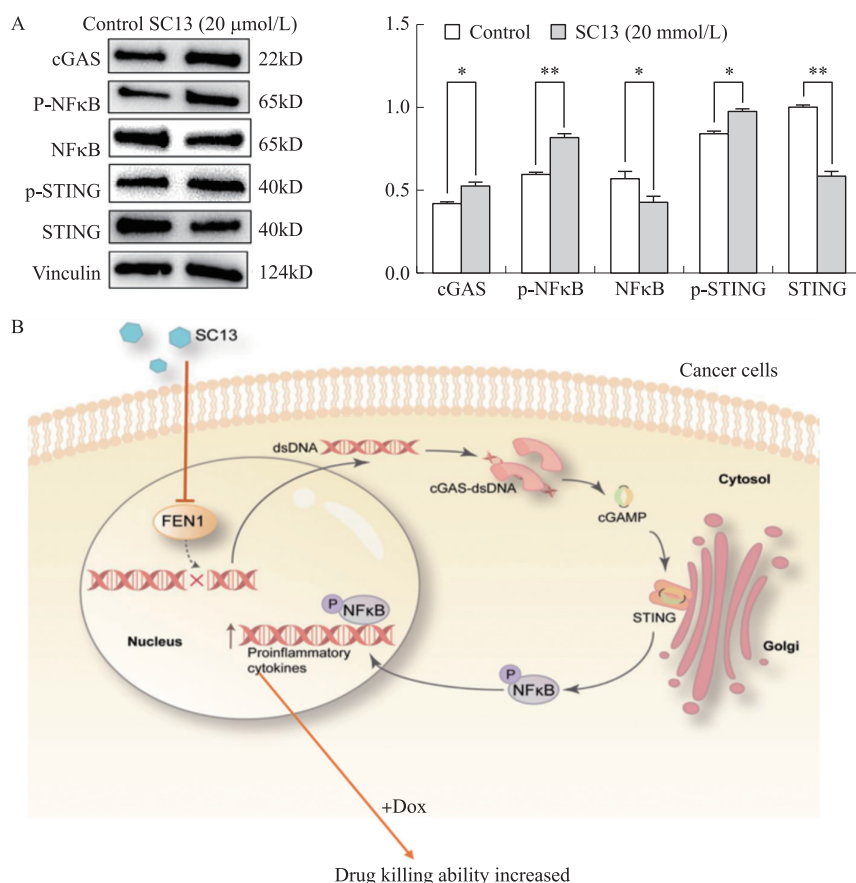
Fig. 4 SC13 combined with adriamycin enhanced apoptosis of MCF-7/ADR cells

2.5 SC13 通过激活 cGAS-STING-NFκB 增强 MCF-7/ADR 细胞的药物敏感性

环磷酸鸟苷-腺苷合成酶(Cyclic guanosine monophosphate-adenosine monophosphate synthase, cGAS)是一种识别细胞胞质 DNA 的感受器,属于 Mab-21(Male abnormal 21)蛋白家族^[19-20]。干扰素基因刺激因子(Stimulator of interferon gene, STING)也被称为内质网干扰素刺激蛋白,以二聚体的形式存在,是机体用于激活干扰素的启动子的重要蛋白^[21]。有研究报道 DNA 的损伤造成 DNA 双链断裂(DSB)的积累,同时会有双链 DNA(dsDNA)从细胞核泄露到细胞质中^[22],cGAS 在与 dsDNA 结合时感知并被激活。cGAS 的激活反过来刺激适配蛋白 STING 触发干扰素信号传导^[23],然后信号级联并最终到达细胞核中的干扰素调节因子 3(IRF3)和 NF-κB 靶点,造成促炎细胞因子的释放及抗肿瘤免疫反应的增强^[24-25]。在这里提出 SC13 有可能通过抑制 FEN1 的表达引起细胞的 DNA 损伤,进而导致细胞质内产生大量 dsDNA 片段而引起 cGAS-STING 通路的激活。因此使用 SC13 处理 MCF-7/ADR 细胞后,检测 cGAS-STING-NFκB 通路相关蛋白的表达变化,结果显示 cGAS、p-NFκB、p-STING 表达均上调,而 NFκB、STING 表达下调(图 4A),证明该通路被激活。

2.6 讨论

随着化疗、内分泌治疗及放射治疗的发展,乳腺癌死亡率呈下降趋势。对于大多数乳腺癌患者来说,化疗是改善乳腺癌预后的必要手段。然而,多药耐药仍然是乳腺癌患者复发的重要障碍,也是复发的主要原因^[26],而且目前并没有发现有效的靶点去克服多药耐药性。FEN1 作为 DNA 损伤修复的关键蛋白,它的过度表达可能增强了多种癌细胞的化疗耐药^[27-28],并且研究也证实了在 MCF-7/ADR 细胞中 FEN1 的表达相对于野生型的 MCF-7 细胞是显著升高的。这表明乳腺癌耐药细胞中 FEN1 的表达可能存在缺陷或突变。因此尝试使用 FEN1 抑制剂 SC13 去逆转 MCF-7/ADR 细胞的耐药性。其结果与猜测的 SC13 联合阿霉



A: Western blot 检测 SC13 处理后的 MCF-7/ADR 细胞中, cGAS-STING-NFκB 通路相关蛋白表达变化; B: 本研究模式图。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 5 SC13 激活了 cGAS-STING-NFκB 通路

Fig. 5 SC13 activates cGAS-STING-NFκB pathway

素对于 MCF-7/ADR 细胞显示出很好的杀伤效果。

在过去的研究中,PARP 抑制剂的抗肿瘤机制获得了广泛的认可,其通过抑制同源重组修复(HR)造成 DNA 损伤并激活了 cGAS-STING 信号通路,引发了炎症反应^[29-31]。FEN1 抑制剂可能同样通过抑制碱基切除修复(BER)而造成 dsDNA 的泄露,并激活 cGAS-STING-NFκB 信号通路而引发抗肿瘤免疫反应,从而使得阿霉素联合 SC13 能够发挥出更加强大的抗肿瘤作用。

3 结论

本研究证明了 FEN1 在乳腺癌细胞中过度表达,这提示 FEN1 或许可以作为克服乳腺癌化疗耐药的潜在靶点。研究结果表明,FEN1 抑制剂 SC13 通过影响 BER 修复途径促进了癌细胞凋亡,从而为乳腺癌的治疗提供了新的策略。

[参考文献]

- [1] PAN X,HONG X,LI S,et al. METTL3 promotes adriamycin resistance in MCF-7 breast cancer cells by accelerating pri-microRNA-221-3p maturation in a m6A-dependent manner[J]. *Experimental & molecular medicine*,2021,53(1):91-102.
- [2] ALAMOLHODAEI N S,TSATSAKIS A M,RAMEZANI M,et al. Resveratrol as MDR reversion molecule in breast cancer:an overview[J]. *Food and chemical toxicology*,2017,103(3):223-232.
- [3] KCIUK M,GIELECINSKA A,MUJWAR S,et al. Doxorubicin:an agent with multiple mechanisms of anticancer activity[J]. *Cells*,2023,12(4):659.
- [4] WANG J,ZHOU L,LI Z,et al. YY1 suppresses FEN1 over-expression and drug resistance in breast cancer[J]. *BMC cancer*,2015,15(1):50.
- [5] ZHENG L,JIA J,FINGER L D,et al. Functional regulation of FEN1 nuclease and its link to cancer[J]. *Nucleic acids research*,2011,39(3):781-794.
- [6] YANG F,HU Z,GUO Z. Small-molecule inhibitors targeting FEN1 for cancer therapy[J]. *Biomolecules*,2022,12(7):1007.
- [7] WU H,YAN Y,YUAN J,et al. miR-4324 inhibits ovarian cancer progression by targeting FEN1[J]. *Journal of ovarian research*,2022,15(1):32.
- [8] ABDEL-FATAH T M,RUSSELL R,ALBARAKATI N,et al. Genomic and protein expression analysis reveals flap endonuclease 1(FEN1) as a key biomarker in breast and ovarian cancer[J]. *Molecular oncology*,2014,8(7):1326-1338.
- [9] HE L,ZHANG Y,SUN H,et al. Targeting DNA flap endonuclease 1 to impede breast cancer progression[J]. *EBiomedicine*,2016,14(11):32-43.
- [10] BUKOWSKI K,KCIUK M,KONTEK R. Mechanisms of multidrug resistance in cancer chemotherapy[J]. *International journal of molecular sciences*,2020,21(9):3233.
- [11] AMIRI-KORDESTANI L,BASSEVILLE A,KURDZIEL K,et al. Targeting MDR in breast and lung cancer:discriminating its potential importance from the failure of drug resistance reversal studies[J]. *Drug resistance updates*,2012,15(1/2):50-61.
- [12] SANCAR A,LINDSEY-BOLTZ L A,UNSAL-KACMAZ K,et al. Molecular mechanisms of mammalian DNA repair and the DNA damage checkpoints[J]. *Annu review of biochemistry*,2004,73(1):39-85.
- [13] SELVARAJAH J,ELIA A,CARROLL V A,et al. DNA damage-induced S and G2/M cell cycle arrest requires mTORC2-dependent regulation of Chk1[J]. *Oncotarget*,2015,6(1):427-440.
- [14] SUNADA S,SAITO H,ZHANG D,et al. CDK1 inhibitor controls G2/M phase transition and reverses DNA damage sensitivity[J]. *Biochemical and biophysical research communications*,2021,550(2):56-61.
- [15] ALLDAY M J,INMAN G J,CRAWFORD D H,et al. DNA damage in human B cells can induce apoptosis,proceeding from G1/S when p53 is transactivation competent and G2/M when it is transactivation defective[J]. *EMBO journal*,1995,14(20):4994-5005.
- [16] THOMAS C G,STROM A,LINDBERG K,et al. Estrogen receptor beta decreases survival of p53-defective cancer cells after DNA damage by impairing G2/M checkpoint signaling[J]. *Breast cancer research and treatment*,2011,127(2):417-427.
- [17] ZHANG T,TAN Y,ZHAO R,et al. DNA damage induced by oridonin involves cell cycle arrest at G2/M phase in human MCF-7 cells[J]. *Contemporary oncology(pozn)*,2013,17(1):38-44.
- [18] ZHANG R,ZHU L,ZHANG L,et al. PTEN enhances G2/M arrest in etoposide-treated MCF-7 cells through activation of the

- ATM pathway[J]. *Oncology reports*,2016,35(5):2707-2714.
- [19] CAI X, CHIU Y H, CHEN Z J. The cGAS-cGAMP-STING pathway of cytosolic DNA sensing and signaling[J]. *Molecular cell*,2014,54(2):289-296.
- [20] LI X D, WU J, GAO D, et al. Pivotal roles of cGAS-cGAMP signaling in antiviral defense and immune adjuvant effects[J]. *Science*,2013,341(6152):1390-1394.
- [21] WANG Y, LUO J, ALU A, et al. cGAS-STING pathway in cancer biotherapy[J]. *Molecular cancer*,2020,19(1):136.
- [22] ZHAO Y, SIMON M, SELUANOV A, et al. DNA damage and repair in age-related inflammation[J]. *Nature reviews immunology*,2023,23(2):75-89.
- [23] CHANUT R, PETRILLI V. Cytosolic DNA sensing by the cGAS-STING pathway in cancer[J]. *Medical sciences(Paris)*,2019,35(6/7):527-534.
- [24] MOTWANI M, PESIRIDIS S, FITZGERALD K A. DNA sensing by the cGAS-STING pathway in health and disease[J]. *Nature reviews genetics*,2019,20(11):657-674.
- [25] DECOUT A, KATZ J D, VENKATRAMAN S, et al. The cGAS-STING pathway as a therapeutic target in inflammatory diseases[J]. *Nature reviews immunology*,2021,21(9):548-569.
- [26] CHENG K, WANG X H, HUA Y T, et al. The tissue transglutaminase;a potential target regulating MDR in breast cancer[J]. *European review for medical and pharmacological sciences*,2020,24(11):6175-6184.
- [27] LI J L, WANG J P, CHANG H, et al. FEN1 inhibitor increases sensitivity of radiotherapy in cervical cancer cells[J]. *Cancer medicine*,2019,8(18):7774-7780.
- [28] HE L, LUO L, ZHU H, et al. FEN1 promotes tumor progression and confers cisplatin resistance in non-small-cell lung cancer[J]. *Molecular oncology*,2017,11(6):640-654.
- [29] PANTELIDOU C, SONZOGNI O, DE OLIVERIA T M, et al. PARP Inhibitor Efficacy depends on CD8(+)T-cell recruitment via intratumoral sting pathway activation in BRCA-deficient models of triple-negative breast cancer[J]. *Cancer discovery*,2019,9(6):722-737.
- [30] CHABANON R M, MUIRHEAD G, KRASTEV D B, et al. PARP inhibition enhances tumor cell-intrinsic immunity in ERCC1-deficient non-small cell lung cancer[J]. *Journal of clinical investigation*,2019,129(3):1211-1228.
- [31] STANISZEWSKA A D, ARMENIA J, KING M, et al. PARP inhibition is a modulator of anti-tumor immune response in BRCA-deficient tumors[J]. *Oncoimmunology*,2022,11(1):2083755.

[责任编辑:黄 敏]