

doi:10.3969/j.issn.1001-4616.2016.03.015

# 前列腺癌细胞中多烯紫杉醇下调 Smad3 不依赖 TGF- $\beta$ 1 信号

皮玉瑞,李同辉,陈秀彬,刘平,卢山

(南京师范大学生命科学学院,江苏省分子医学生物技术重点实验室,江苏南京 210023)

**[摘要]** 多烯紫杉醇(Docetaxel, DOC)来源于欧洲红豆杉针叶,作为紫杉烷类抗癌药物,已被广泛应用于多种癌症临床治疗中,但相关机理还有很多不清楚的地方.本研究主要通过逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)和蛋白免疫印迹实验(Western blot)等方法观察有 TGF- $\beta$  信号存在的前列腺癌细胞 PC-3 中 DOC 对 Smad3 表达水平的调控作用,再利用 TGF- $\beta$  RII 缺失的前列腺癌细胞 LNCaP 来探讨不依赖 TGF- $\beta$ 1 信号时 DOC 对细胞生长、Smad3 表达的影响及其分子机制.结果发现 DOC 不仅能以时间和浓度依赖方式下调 PC-3 细胞中 Smad3 的 mRNA 和蛋白表达水平,也能在 LNCaP 细胞中选择性地降低 Smad3 表达水平和抑制细胞生长,还能减少几乎不含 TGF- $\beta$ 1 的 PC-3 细胞中 Smad3 表达水平.同时,两种细胞中 Stat1 表达水平均受到 DOC 显著抑制,而且,Stat1 和 Smad3 能相互结合形成复合体.进一步分析 Smad3 核心启动子区域也预测存在 5 个 Stat1 结合位点.这些结果说明 DOC 下调 Smad3 不依赖于 TGF- $\beta$ 1 信号通路,且可能是通过调控 Stat1 在 Smad3 启动子内的结合来作用.

**[关键词]** 多烯紫杉醇, Smad3, 前列腺癌, 下调

**[中图分类号]** Q28 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2016)03-0089-07

## Docetaxel Down-Regulation of Smad3 Expression in Prostate Cancer Cell Lines Independent of TGF- $\beta$ 1 Signaling

Pi Yurui, Li Tonghui, Chen Xiubin, Liu Ping, Lu Shan

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

**Abstract:** As a taxane anticancer drug, docetaxel(DOC) derived from the European yew needles has been widely used as the therapies for multiple cancers in clinic though a lot of related mechanism remains unclear. In this study, the DOC regulation of Smad3 expression in the presence of TGF- $\beta$  signal was first observed in prostate cancer cell line PC-3 level, and then the effects of DOC on cell growth and Smad3 expression in the absence of TGF- $\beta$ 1 signal was investigated in prostate cancer LNCaP cells without TGF- $\beta$  RII to explore related mechanism mainly by reverse transcription polymerase chain reaction(RT-PCR), Western blot, etc. It was found that DOC not only down-regulated Smad3 mRNA and protein levels in PC-3 cells in a time-and dose-dependent ways, but also selectively reduced Smad3 expression and inhibited cell growth in LNCaP cells while Smad2 expression was not decreased, and DOC also reduced Smad3 expression in PC-3 cells cultured in the absence of TGF- $\beta$ 1. Meanwhile, the Stat1 expressions in both of PC-3 and LNCaP cells were significantly inhibited by DOC. Moreover, Stat1 and Smad3 could bind together to form complex. Besides, it is also speculated that 5 potential binding sites for Stat1 existed from the analysis for Smad3 core promoter region. In total, DOC down-regulation of Smad3 is not depend on the TGF- $\beta$ 1 signaling, and may be caused by affecting Stat1 bindings with Smad3 promoter specific sites.

**Key words:** docetaxel, Smad3, prostate cancer, down-regulation

收稿日期:2016-02-28.

基金项目:国家自然科学基金(81172007,81272850).

通讯联系人:卢山,教授,硕士生导师,研究方向:肿瘤发生发展分子机理及调控. E-mail:lu\_shan@hotmail.com

多烯紫杉醇, 又称多西紫杉醇或多西他赛(Docetaxel, DOC), 为欧洲红豆杉(*Taxus baccata*) 针叶中提取出的紫杉烷类抗癌药物, 具有广谱抗肿瘤效应, 已有效应用于乳腺、卵巢、肺以及头颈癌等临床治疗中<sup>[1]</sup>. 近年来, 还是无法治愈的进展期前列腺癌的一线标准化疗法<sup>[2]</sup>. DOC 主要是作为微管稳定剂, 抑制微管解聚, 使细胞周期停留在 G2/M 期, 从而抑制肿瘤细胞生长、增殖, 呈现抗肿瘤效果的<sup>[3]</sup>; 也有文献报道同属紫杉烷类抗癌药物的紫杉醇(Paclitaxel, PTX) 能够干扰肿瘤细胞中上皮细胞-间质转化(Epithelial-mesenchymal transition, EMT) 过程<sup>[4-6]</sup>. EMT 是上皮细胞癌浸润和转移的关键启动步骤, 与前列腺癌等多种肿瘤的侵袭转移恶化有密切关联. 转化生长因子(Transforming Growth Factor, TGF)- $\beta$ 1 已证实为 EMT 的重要诱发因素, 它属于具有多种生物学功能的多肽类细胞因子 TGF- $\beta$  超家族, 为前列腺 TGF- $\beta$  的主要表达形式, 且过表达于前列腺癌. 当 TGF- $\beta$  信号通路启动时, TGF- $\beta$ 1 首先识别并结合细胞膜表面的 TGF- $\beta$  受体(TGF- $\beta$  Receptor, T $\beta$ R) II, 然后与 T $\beta$ R I 形成复合物. 期间 T $\beta$ R II 发生自体磷酸化, 继而激活 T $\beta$ R I. 活化的 T $\beta$ R I 再进一步特异性地识别并结合 Smad2 和/或 Smad3, 并使之磷酸化. 然后, 激活的 Smad2 和/或 Smad3 与 Smad4 形成异聚体进入细胞核, 与特定的 DNA 序列如 Smad 结合元件(Smad binding element, SBE) 结合, 协同其他转录因子如 Activator protein 1 等共同调控靶基因如 EMT 相关标志基因等的转录活动<sup>[7]</sup>. 其中, Smad3 蛋白作为将 TGF- $\beta$ 1 与其受体结合后产生的信号从胞质转导到细胞核内的中介分子, 在调控 TGF- $\beta$ 1 诱导 EMT 发生过程中起到关键作用. 但前列腺癌中 DOC 的抑癌作用及机理仍然有很多地方没有弄清楚, 对 Smad3 的相关研究也多集中于 TGF- $\beta$ 1 信号通路的转导功能, 而针对无 TGF- $\beta$  信号条件下 DOC 调控 Smad3 的研究尚未见文献报道. 因此, 本文首先关注了具有 TGF- $\beta$  信号的前列腺癌细胞 PC-3 中 DOC 对 Smad3 表达水平的调控作用, 再利用前列腺癌细胞 LNCaP 来探讨 TGF- $\beta$ 1 信号缺失条件下 DOC 对细胞生长、Smad3 表达的影响及机理, 旨在为深入剖析前列腺癌中 DOC 的抗肿瘤机制和 Smad3 独立于 TGF- $\beta$ 1 信号通路的作用奠定基础.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试剂

多烯紫杉醇(纯度 $\geq 99\%$ ) 购自南京景竹生物有限公司, 以 DMSO 溶解, 制备浓度为 100 mmol/L 的储存液. RPMI1640 培养基来源于 Wisent 生物公司. 青霉素和链霉素、胎牛血清(Fetal bovine serum, FBS) 从 Hyclone 公司购买. Smad2, Smad3 和 pSmad3 抗体均从 Cell Signaling Technology 公司获得. 信号转导与转录激活子(Signal transducer and activator of transcription, Stat)1 抗体来自 Proteintech 公司. Protein G/Agarose, Goat anti-Mouse IgG 和  $\beta$ -actin 抗体购于 Santa Cruz Biotechnology 公司. 人源转化生长因子(Transforming Growth Factor, TGF- $\beta$ 1) 由 Gibco 公司获得. 细胞裂解液 RIPA 购自江苏碧云天生物技术公司.

#### 1.1.2 细胞

前列腺癌细胞系 PC-3 和 LNCaP 为南京军区总院王建东博士馈赠, 采用含 10%FBS、10  $\mu$ g/mL 链霉素和 10 U/mL 青霉素的 RPMI1640, 于 37  $^{\circ}$ C, 5%CO<sub>2</sub> 条件下培养.

### 1.2 方法

#### 1.2.1 药物处理

将细胞接种于 6 孔培养皿中, 当细胞密度为 80% 时, 加入 10 nmol/L DOC 刺激不同时间, 或者相同时间下加入不同浓度 DOC(详见结果部分). 与 TGF- $\beta$ 1 联合处理时, 须使用含 0.5%FBS 的 RPMI1640 提前 12 h 饥饿细胞.

#### 1.2.2 逆转录-聚合酶链式反应(Reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)

利用 Trizol(Invitrogen) 溶液, 严格按照说明书步骤, 提取细胞总 RNA. 然后根据本实验室常用方法逆转录为 cDNA, 再进行 PCR 扩增<sup>[8]</sup>. Smad3 引物(FW: 5'-CCTCAACACAGCGAAGTTAACTG-3'; RV: 5'-ACTGGCTGTGCCCAACTCTTCC-3') 和  $\beta$ -actin 引物(FW: 5'-GAGCTACGAGCTGCCTGACG-3'; RV: 5'-CCTAGAAGCATTGCGGTGG-3') 均由上海捷瑞生物工程公司合成.

### 1.2.3 蛋白免疫印迹(Western blot)分析

收集不同条件下处理的细胞,用预冷的 1×PBS 洗 2 次,加入含 1 mmol/L PMSF(Phenylmethylsulfonyl fluoride,索莱宝生物公司)和蛋白酶抑制剂(Roche Applied Science)的 RIPA 裂解液,悬浮细胞,冰上放置 30 min,每 10 min 涡旋震荡一次,于 4 °C、12 000 rpm/min,离心 10 min,取上清液进行蛋白定量<sup>[9]</sup>. 制备样品后,95 °C 孵育 5 min,8% SDS-聚丙烯酰胺凝胶、稳压 80 V 条件下电泳;然后,采用聚偏二氟乙烯(PVDF)膜,稳压 30 V,过夜转膜. 再分别孵育一抗和二抗,添加 ECL 化学发光试剂(上海天能科技),利用化学发光成像系统(上海天能科技)检测目的蛋白条带.

### 1.2.4 Smad3 启动子区域 Stat1 结合位点软件分析

通过参考文献确定了 Smad3 核心启动子在 -1 879~+13 区域<sup>[10]</sup>,然后将 Smad3 启动子序列引入 JAS-PAR 数据库(Copenhagen, Denmark)分析潜在的 Smad3 启动子区域转录因子的结合位点,分析调控 Smad3 表达的重要转录因子.

### 1.2.5 免疫共沉淀(Co-Immunoprecipitation, Co-IP)检测

临用前,按比例混合温和 RIPA 裂解液和 PMSF(RIPA:PMSF=9:1),冰上收集细胞、静置. 离心取上清液,用 1×PBS 稀释,取出少量作为阳性对照组,剩余分成两等份,分别加入 1  $\mu$ g 的目的抗体和作为阴性对照的 IgG,4 °C 翻转孵育过夜. 再分别加入 15  $\mu$ L 琼脂糖珠,4 °C 孵育 2 h~4 h,多次清洗,添加上样缓冲液,95 °C 变性,取上清进行 Western Blot.

### 1.2.6 数据处理

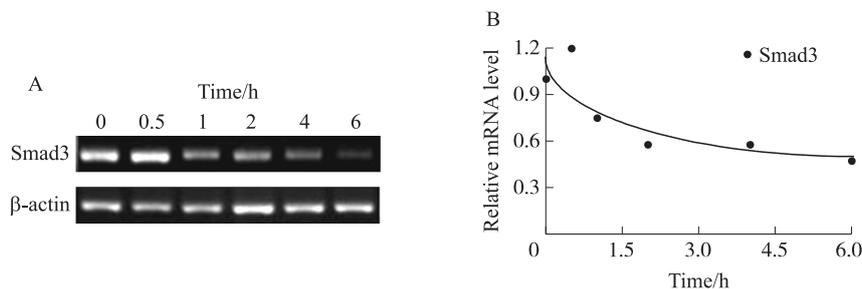
每个实验至少重复 3 次以上,显示具代表性的实验结果. 采用 BandsScan 5.0 软件对 RT-PCR 凝胶电泳和 Western blot 条带进行灰度值分析. 目的基因 mRNA 和蛋白表达水平是分别用  $\beta$ -actin 作为内参,计算比值,并经对照组结果校正后表示.

## 2 结果

### 2.1 多烯紫杉醇下调前列腺癌 PC-3 细胞中 Smad3 表达水平

#### 2.1.1 多烯紫杉醇抑制前列腺癌 PC-3 细胞中 Smad3 mRNA 表达水平

利用 10 nmol/L DOC 刺激雄激素非依赖性前列腺癌 PC-3 细胞,在不同时间点收集细胞总 RNA,以 RT-PCR 检测 Smad3 mRNA 水平的变化,结果如图 1A 所示. 通过半定量分析(图 1B)可知,DOC 处理 0.5 h,Smad3 mRNA 水平未出现明显变化;但 1 h 后,Smad3 mRNA 水平显著下降至未加药物处理组的 75%左右;处理 6 h,则降低至约 47%. 由此可见,一定浓度 DOC 处理前列腺癌 PC-3 细胞时,Smad3 mRNA 表达量会随时间延长而降低.



A, Smad3 mRNA 水平; B, 灰度分析

A, Smad3 mRNA level; B, Densitometric analysis

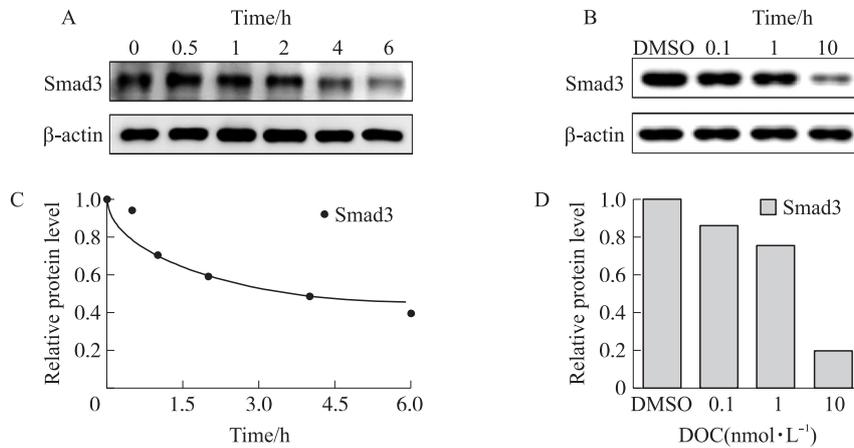
图 1 多烯紫杉醇对前列腺癌 PC-3 细胞中 Smad3 mRNA 表达的影响

Fig.1 The Effect of docetaxel on Smad3 mRNA expression in prostate cancer PC-3 cells

#### 2.1.2 多烯紫杉醇抑制 PC-3 细胞中 Smad3 蛋白表达水平

同样条件下处理 PC-3 细胞,收集细胞全蛋白,采用 Western blot 检测 Smad3 蛋白表达水平的变化,结果如图 2A 所示. 通过半定量分析(图 2B)可知,DOC 处理 0.5 h,Smad3 蛋白水平变化很小;但 1 h 后 Smad3 蛋白量显著减少;处理 6 h,则降低 50%以上. 这些与 2.1.1 中 mRNA 水平检测结果一致,进一步说明 PC-3 细胞中 Smad3 蛋白与 mRNA 水平变化趋势基本一致,均随 DOC 刺激时间延长而减少.

然后,将不同浓度 DOC 刺激 PC-3 细胞 24 h,检测 Smad3 蛋白水平,结果如图 2C 所示.通过半定量分析(图 2D)可知,当 0.1 nmol/L 的 DOC 处理细胞时,与未处理组相比较,Smad3 蛋白水平已减少 14%;当浓度为 1 nmol/L 时,Smad3 蛋白水平则继续下降了 10%左右;而当浓度上升至 10 nmol/L 时,Smad3 蛋白水平已减少约 82%.由此可见,当 DOC 处理前列腺癌 PC-3 细胞时,Smad3 蛋白表达水平也会随药物浓度升高而呈现下降趋势.



A, 时间梯度; B, A 的灰度分析; C, 浓度梯度; D, C 的灰度分析

A, Time course; B, Densitometric analysis for A; C, Dose course; D, Densitometric analysis for C

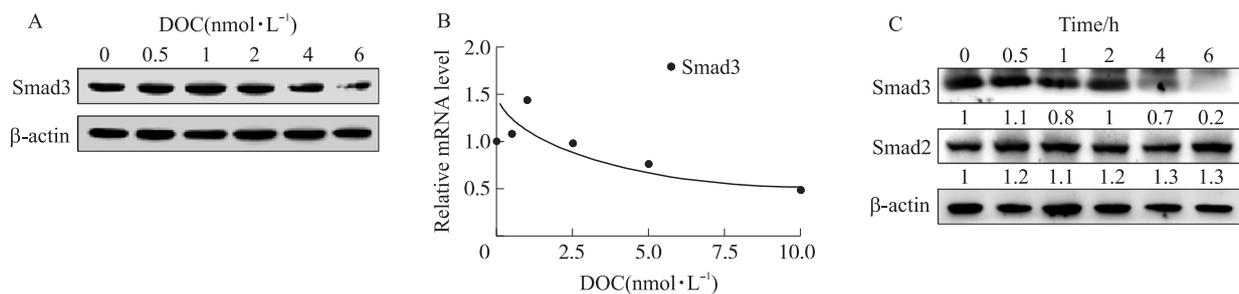
图2 多烯紫杉醇对前列腺癌PC-3细胞中Smad3蛋白表达的影响

Fig.2 The effect of docetaxel on Smad3 protein expression in prostate cancer PC-3 cells

## 2.2 多烯紫杉醇对前列腺癌LNCaP细胞的影响

### 2.2.1 多烯紫杉醇抑制前列腺癌LNCaP细胞中Smad3蛋白水平的表达

不同浓度 DOC 处理 TGF-β RII 缺失的 LNCaP 细胞 24 h, Smad3 蛋白表达水平如图 3A 所示. 通过半定量分析(图 3B)结果可知,当 DOC 小于或等于 2.5 nmol/L 时, Smad3 蛋白表达量几乎没有变化;当 DOC 升高为 5 nmol/L 时, Smad3 水平则明显减少;当达到 10 nmol/L 时, Smad3 蛋白水平已减少至未处理组的 48%. 同时,将 10 nmol/L DOC 处理 LNCaP 细胞不同时间,检测 Smad3 和 Smad2 蛋白表达水平,结果如图 3B 所示,随着 DOC 刺激时间的延长, LNCaP 细胞中 Smad3 蛋白表达水平不断下降;6 h 时,减少了约 80%;但 Smad2 蛋白水平并没有下降.



A, 浓度梯度; B, A 的灰度分析; C, 时间梯度, 条带下的数值为灰度分析相对值

A, Dose course; B, Densitometric analysis for A; C, Time course, the numbers at the bottom of the bands

means the relative levels for densitometry

图3 多烯紫杉醇对LNCaP细胞Smad3蛋白表达的影响

Fig.3 The effect of docetaxel on Smad3 protein expression in LNCaP cells

### 2.2.2 多烯紫杉醇抑制前列腺癌LNCaP细胞生长

使用不同浓度 DOC 处理 LNCaP 细胞 48 h, 结果如图 4 所示, 随 DOC 浓度升高, 细胞生长逐步受到抑制. 其中, 10 nmol/L DOC 时, 细胞生长受抑制最明显.

## 2.3 多烯紫杉醇通过不依赖 TGF-β1 信号通路方式下调 Smad3 表达

分别或同时采用 10 nmol/L 的 DOC 和 10 ng/mL TGF-β1 处理饥饿 12 h 的 PC-3, 检测细胞中 Smad3

蛋白及其磷酸化水平,实验结果如图 5A 所示.仅添加 TGF-β1 时,Smad3 蛋白量显著增加,pSmad3 蛋白水平更增加至对照组的 2 倍以上.但 DOC 和 TGF-β1 同时处理时,与单独 TGF-β1 相比较,Smad3 蛋白表达水平略有下降,TGF-β1 诱导而升高的 Smad3 水平明显减少. DOC 单独处理时,Smad3 和 pSmad3 水平则明显减少,约为对照组 50%.

为探讨潜在的不依赖 TGF-β 信号的作用机制,利用 DOC 刺激 PC-3 和 LNCaP 细胞,收集全蛋白,对 Stat1 蛋白水平进行检测,结果如图 5B 所示,无论是 PC-3 还是 LNCaP 细胞中,DOC 均能使 Stat1 蛋白表达量下降 50%左右.进一步 Co-IP 实验结果显示(图 5C),在总蛋白和 Stat1 抗体孵育后细胞中可以检测到 Smad3 条带,证实 Stat1 和 Smad3 能够互相结合形成复合体.在此基础上,对 Smad3 核心启动子区域蛋白结合位点的分析结果显示(图 5D),Smad3 核心启动子内有多处 Stat1 结合位点,包括-1 430~-1 440;-1 201~-1 211;-811~-821;-549~-559;-357~-367 等<sup>[11-13]</sup>.由此可见,DOC 很可能通过影响 Stat1 在 Smad3 启动子区域的结合来调控 Smad3 转录水平,从而下调 Smad3 蛋白表达水平.

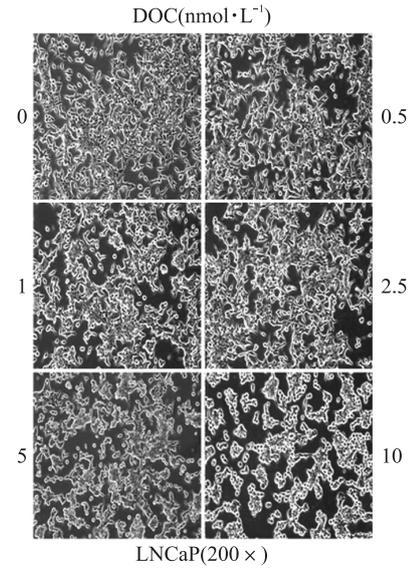
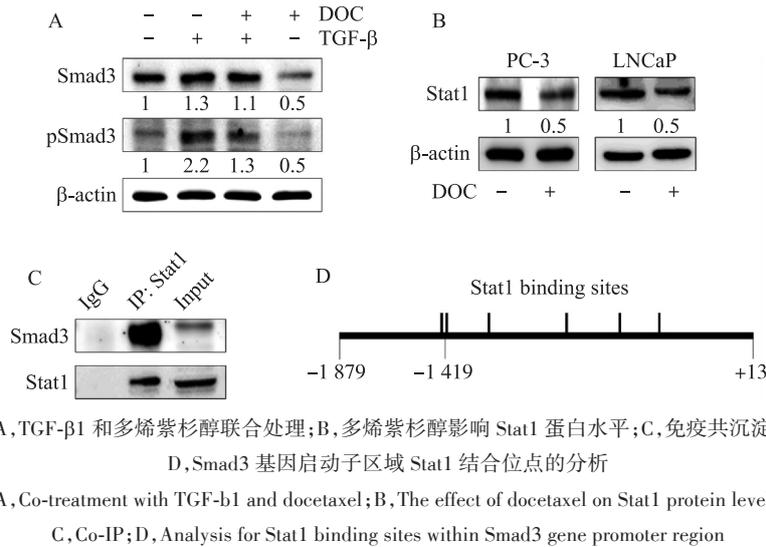


图4 多烯紫杉醇对前列腺癌LNCaP细胞生长的影响  
Fig.4 The effect of docetaxel on growth of prostate cancer LNCaP cells



A, TGF-β1 和多烯紫杉醇联合处理; B, 多烯紫杉醇影响 Stat1 蛋白水平; C, 免疫共沉淀;  
D, Smad3 基因启动子区域 Stat1 结合位点的分析  
A, Co-treatment with TGF-β1 and docetaxel; B, The effect of docetaxel on Stat1 protein level;  
C, Co-IP; D, Analysis for Stat1 binding sites within Smad3 gene promoter region

图5 下调 Smad3 表达而不依赖 TGF-β1 的信号途径

Fig.5 TGF-β1-independent signaling pathway exists to affect Smad3 expression

### 3 讨论

#### 3.1 无 TGF-β1 刺激条件下 DOC 仍然下调 Smad3

有文献报道称,胆管癌细胞 CCKS-1 中,PTX 能够抑制 TGF-β1 诱导的 EMT 转变<sup>[4]</sup>;腹膜间皮细胞中,PTX 会通过抑制 Smad2 磷酸化水平而阻碍 TGF-β1 引发 EMT 过程<sup>[5]</sup>.本研究则发现,DOC 以浓度和时间依赖方式抑制前列腺癌细胞 PC-3 中 Smad3 基因的 mRNA 和蛋白水平,也降低了饥饿条件下 PC-3 中 TGF-β1 诱导的 Smad3 及其磷酸化水平.与此相似,在肺泡上皮细胞中,PTX 也下调 TGF-β1 诱导表达的 Smad3/pSmad3<sup>[6]</sup>.因此,可以推测在前列腺癌细胞中,DOC 抑癌作用和阻碍 TGF-β1 诱发的 EMT 有关,而且 TGF-β1 信号通路中的关键介导蛋白 Smad3 至关重要.然后,同样条件下,DOC 处理缺失 TGF-β 信号的前列腺癌细胞 LNCaP 时,选择性地抑制了 Smad3 蛋白表达;PC-3 饥饿状态下,即几乎没有外源 TGF-β1 存在时,Smad3 水平仍然因 DOC 刺激而显著下降;DOC 处理 LNCaP 细胞 24 h,对 Smad3 表达的抑制程度

与 PC-3 细胞中相比未有显著差异。由此可见,前列腺癌细胞中,TGF- $\beta$ 1 信号不存在时,DOC 也能够下调 Smad3,说明 DOC 下调 Smad3 还存在不依赖 TGF- $\beta$ 1 信号途径的调节方式,与 TGF- $\beta$ 1 导致的 EMT 并没有关联,提示 Smad3 在肿瘤进展中可能还有独立于 TGF- $\beta$ 1 信号的其他作用。但值得注意的还有其他研究指出,PTX 在抗药性癌细胞中能够促进 TGF- $\beta$ 1 诱导的 EMT 过程<sup>[14-15]</sup>,这与本研究结果相矛盾,很可能是因为细胞耐药性转变导致的,也可能与药物剂量不同有关。

### 3.2 转录因子 Stat1 可能参与不依赖 TGF- $\beta$ 1 的 DOC 调控 Smad3 的作用

信号转导与转录激活因子(Signal transducers and activators of transcription, Stat1)是最早发现的 Stats 家族成员,能够抑制肿瘤细胞生长、增殖,诱导肿瘤细胞凋亡,在肿瘤血管生成和肿瘤免疫中也起到至关重要的作用,常被看作肿瘤抑制因子<sup>[16-17]</sup>。本研究发现不管 TGF- $\beta$ 1 信号通路条件存在或缺失,DOC 均可以调节 Smad3 表达水平,且 DOC 同样地下调 Stat1 的表达水平;还证实 Stat1 和 Smad 能够互相结合形成复合体;相关分析也显示 Smad3 的核心启动子区域含有多个潜在 Stat1 结合位点。提示 DOC 可能是通过降低 Stat1 蛋白水平,影响 Stat1 在 Smad3 启动子区域的结合来下调 Smad3 的转录水平,从而减少其蛋白水平和磷酸化水平。同样,近年来,在乳腺癌、子宫内膜癌和恶性胸膜间皮瘤中也发现高表达 Stat1 具有致癌作用<sup>[18-20]</sup>。而且,早已证实干扰 Stat1 表达能够一定程度上恢复 DOC 抗性前列腺癌细胞的药物敏感性<sup>[21]</sup>。可见,DOC 调节 Smad3,不仅与非药物抗性前列腺癌进展相关,可能还会与 DOC 药物抗性前列腺癌发展有密切联系。因此,DOC 的抗癌机理以及 Smad3 在药物抗性前列腺癌发展中的作用还值得进一步深入研究。

### [参考文献]

- [1] JAIN A, THAKUR K, KUSH P, et al. Docetaxel loaded chitosan nanoparticles: formulation, characterization and cytotoxicity studies[J]. *Int J Biol Macromol*, 2014, 69: 546-53.
- [2] KOPCZYNSKA E. Role of microRNAs in the resistance of prostate cancer to docetaxel and paclitaxel [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2016, 19(6): 423-427.
- [3] HORWITZ S B. Mechanism of action of taxol [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 1992, 13(4): 134-136.
- [4] HIROSE A, TAJIMA H, OHTA T, et al. Low-dose paclitaxel inhibits the induction of epidermal-mesenchymal transition in the human cholangiocarcinoma CCKS-1 cell line [J]. *Oncol Lett*, 2013, 6(4): 915-920.
- [5] TSUKADA T, FUSHIDA S, HARADA S, et al. Low-dose paclitaxel modulates tumour fibrosis in gastric cancer [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(4): 1 167-1 174.
- [6] WANG C, SONG X, LI Y, et al. Low-dose paclitaxel ameliorates pulmonary fibrosis by suppressing TGF- $\beta$ 1/Smad3 pathway via miR-140 upregulation [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70725.
- [7] YAO B, ZHAO J, LI Y, et al. E1f5 inhibits TGF- $\beta$ -driven epithelial-mesenchymal transition in prostate cancer by repressing SMAD3 activation [J]. *Prostate*, 2015, 75(8): 872-82.
- [8] 刁小伟,李园,皮玉瑞,等. 雄激素依赖性前列腺癌细胞中雄激素受体上调 EphA3 表达 [J]. *天津医药*, 2015, 43(11): 1 253-1 257.
- [9] 董源,汤灵玲,林林,等. 蛋白含量检测的抗干扰新方法 [J]. *生物工程学报*, 2012, 28(9): 1 130-1 138.
- [10] AREF-ESHGHI E, LIU M, RAZAVI-LOPEZ S B, et al. SMAD3 is upregulated in human osteoarthritic cartilage independent of the promoter DNA methylation [J]. *J Rheumatol*, 2016, 43(2): 388-394.
- [11] LEE J Y, ELMER H L, ROSS K R, et al. Isoprenoid-mediated control of SMAD3 expression in a cultured model of cystic fibrosis epithelial cells [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2004, 31(2): 234-240.
- [12] CENGIZ E, KARACA B, KUCUKZEYBEK Y, et al. Overcoming drug resistance in hormone- and drug-refractory prostate cancer cell line, PC-3 by docetaxel and gossypol combination [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(3): 1 269-1 277.
- [13] MOHR A, CHATAIN N, DOMOSZLAI T, et al. Dynamics and non-canonical aspects of JAK/STAT signalling [J]. *Eur J Cell Biol*, 2012, 91(6/7): 524-532.
- [14] YANG Q, WANG Y, LU X, et al. MiR-125b regulates epithelial-mesenchymal transition via targeting Sema4C in paclitaxel-resistant breast cancer cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(5): 3 268-3 279.
- [15] ZHANG Y, HUANG S. Up-regulation of miR-125b reverses epithelial-mesenchymal transition in paclitaxel-resistant lung

- cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2015, 15(4):45.
- [16] ADAMKPVA L, SOUCKOVA K, KOVARIK J, et al. Transcription protein STAT1: biology and relation to cancer[J]. *Folia Biol(Praha)*, 2007, 53(1): 1-6.
- [17] RAVEN J F, WILLIAMS V, WANG S, et al. Stat1 is a suppressor of ErbB2/Neu-mediated cellular transformation and mouse mammary gland tumor formation[J]. *Cell cycle*, 2011, 10(5): 794-804.
- [18] KHARMA B, BABA T, MATSUMURA N, et al. STAT1 drives tumor progression in serous papillary endometrial cancer[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(22): 6 519-6 530.
- [19] ARZT L, KOTHMAIER H, HALBWEDL I, et al. Signal transducer and activator of transcription 1 (STAT1) acts like an oncogene in malignant pleural mesothelioma[J]. *Virchows Arch*, 2014, 465(1): 79-88.
- [20] ZHANG M. Novel function of STAT1 in breast cancer[J]. *Oncoimmunology*, 2013, 2(8): e25125.
- [21] PATTERSON S G, WEI S, CHEN X, et al. Novel role of Stat1 in the development of docetaxel resistance in prostate tumor cells[J]. *Oncogene*, 2006, 25(45): 6 113-6 122.

[责任编辑:黄 敏]