

# 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'-ACTGGCTGTGCCCCAACTCTTCC-3') 和  $\beta$ -actin 引物(FW: 5'-GAGCTACGAGCTGCCTGACG-3'; RV: 5'-CCTAGAAGCATTTGCGGTGG-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 ℃、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 ℃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 ℃翻转孵育过夜.再分别加入 15  $\mu$ L 琼脂糖珠,4 ℃孵育 2 h~4 h,多次清洗,添加上样缓冲液,95 ℃变性,取上清进行 Western Blot.

### 1.2.6 数据处理

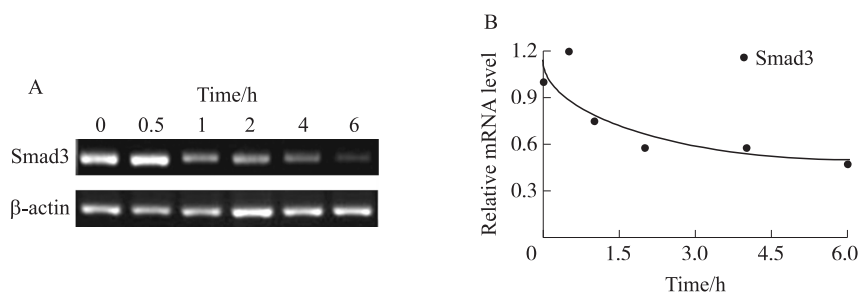
每个实验至少重复 3 次以上,显示具代表性的实验结果.采用 Bandscan 5.0 软件对 RT-PCR 凝胶电泳和 Western blot 条带进行灰度值分析.目的基因 mRNA 和蛋白表达水平是分别用  $\beta$ -actin 作为内参,计算比值,并经对照组结果校正后表示.

## 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

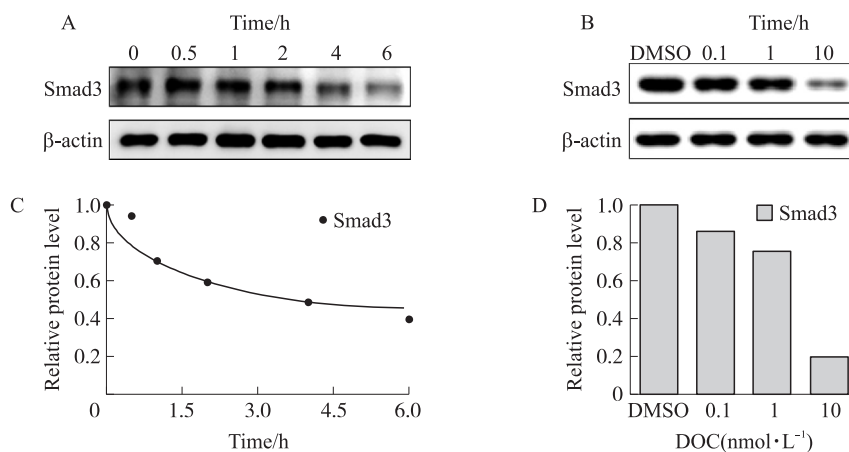
图 1 多烯紫杉醇对前列腺癌 PC-3 细胞中 Smad3 mRNA 表达的影响

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

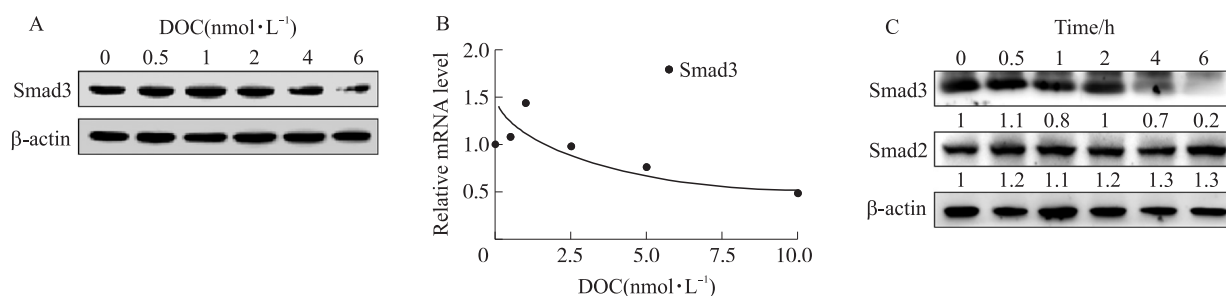
图2 多烯紫杉醇对前列腺癌 PC-3 细胞中 Smad3 蛋白表达的影响

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- $\beta$  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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 同时处理时,与单独 TGF- $\beta$ 1 相比较,Smad3 蛋白表达水平略有下降,TGF- $\beta$ 1 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- $\beta$  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.

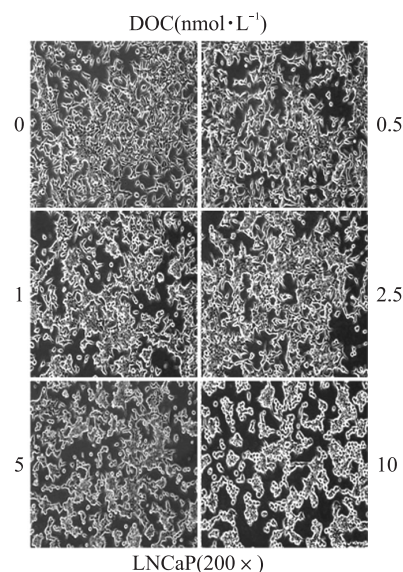


图4 多烯紫杉醇对前列腺癌 LNCaP 细胞生长的影响

Fig.4 The effect of docetaxel on growth of prostate cancer LNCaP cells

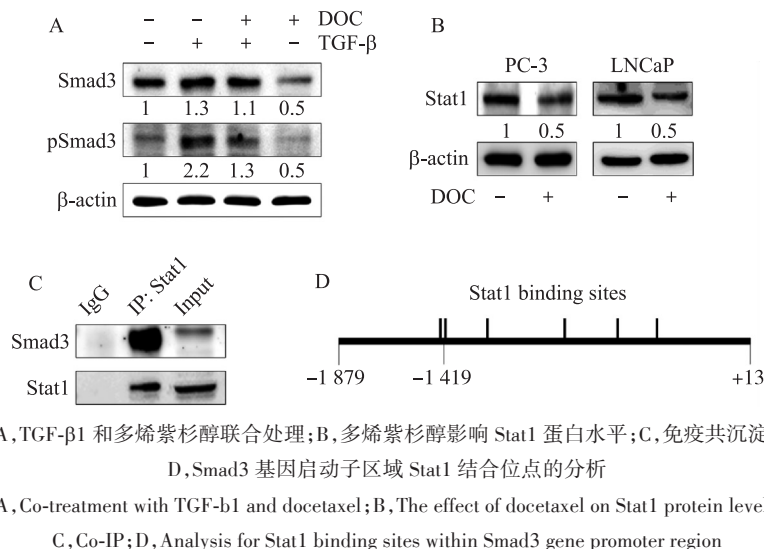


图5 下调 Smad3 表达而不依赖 TGF- $\beta$ 1 的信号途径

Fig.5 TGF- $\beta$ 1-independent signaling pathway exists to affect Smad3 expression

### 3 讨论

#### 3.1 无 TGF- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 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- $\beta$ 1 诱发的 EMT 有关,而且 TGF- $\beta$ 1 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- $\beta$  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- $\beta$ 1 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: 546-553.
- [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): 1167-1174.
- [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): 872-882.
- [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): 1253-1257.
- [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): 1130-1138.
- [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] CENGİZ 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): 1269-1277.
- [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): 3268-3279.
- [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]