

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.06.010

· 基础研究 ·

## 顺铂耐药乳腺癌细胞株的建立及 *FANCF* 基因在耐药中的作用

马芸<sup>1,2</sup>, 李姝墨<sup>2</sup>, 蒋爱梅<sup>2</sup>, 董坚<sup>1</sup> (1. 昆明医科大学第三附属医院, 云南昆明 650106; 2. 昆明医科大学第一附属医院 乳腺外科, 云南昆明 650032)

**[摘要]** **目的:** 探讨三阴性乳腺癌顺铂(cisplatin, DDP)耐药细胞和敏感细胞中 FA/BRCA 通路关键基因 *FANCF* 的表达和功能, 以及与 DDP 耐药的相关性。**方法:** DDP 浓度递增法诱导建立乳腺癌细胞 MDA-MB-231 的 DDP 耐药细胞株 MDA-MB-231/DDP; 通过 RNAi 技术敲减 MDA-MB-231 敏感细胞和 DDP 耐药细胞中 *FANCF*, 并在 mRNA 和蛋白水平进行敲减效果验证。CCK-8 法检测 DDP 耐药细胞株增殖活性, Western blotting 法检测该细胞中 *FANCF* 蛋白表达, 流式细胞仪检测 MDA-MB-231 细胞周期和凋亡情况, 实时定量 PCR (RT-qPCR) 法检测 *FANCF* mRNA 的表达。**结果:** MDA-MB-231 细胞 DDP 诱导 3 个月建立的 MDA-MB-231/DDP 细胞株耐药指数为 13.5, 其 G0/G1 期细胞增多、S 期和 G2/M 期细胞减少。MDA-MB-231/DDP 细胞中 *FANCF* mRNA 和蛋白表达水平显著升高(均  $P < 0.01$ )。 *FANCF* 敲低后 MDA-MB-231/DDP 细胞凋亡增加, 细胞对 DDP 的药物敏感性显著升高(均  $P < 0.01$ )。**结论:** *FANCF* 基因通过抗凋亡作用导致 MDA-MB-231 细胞对 DDP 的耐药性, *FANCF* 是乳腺癌治疗的一个潜在靶点。

**[关键词]** 乳腺癌; 顺铂; MDA-MB-231/DDP 细胞; 耐药; *FANCF* 基因

**[中图分类号]** R730.5; R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)06-0607-06

## Establishment of cisplatin-resistant breast cancer cell line and role of *FANCF* gene in cisplatin resistance

MA Yun<sup>1,2</sup>, LI Shumo<sup>2</sup>, JIANG Aimei<sup>2</sup>, DONG Jian<sup>3</sup> (1. The Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650106, Yunnan, China; 2. Department of Breast Surgery, The First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression profile and function of *FANCF* gene (a key gene in FA/BRCA pathway) in both cisplatin (DDP)-resistant and DDP-sensitive human triple-negative breast cancer cell lines and to analyze its correlation with DDP-resistance in breast cancer. **Methods:** The DDP-resistant breast cancer MDA-MB-231 cell line (MDA-MB-231/DDP) was established by induction of gradient DDP. The expression of *FANCF* gene in both sensitive and resistant cell lines was knocked-down by RNAi interference technology and the knockdown efficiency was validated at both RNA and protein level. The cell viability of MDA-MB-231 cells and MDA-MB-231/DDP cells was determined by the CCK8 assay; Flow cytometry was used to examine the cell cycle distribution and apoptosis; the mRNA and protein expressions of *FANCF* gene were examined by using qRT-PCR and western blotting, respectively. **Results:** The resistance index of MDA-MB-231/DDP cells was 13.5 after 3-month induction. The mRNA and protein expressions of *FANCF* were significantly increased in MDA-MB-231/DDP cells (all  $P < 0.01$ ). Cell cycle analysis indicated that the DDP treatment significantly induced G0/G1 arrest and decreased the cell proportion in phase S and G2/M. siRNA-mediated knockdown of *FANCF* could not only be able to increase sensitivity of MDA-MB-231 to DDP but also promote the cell apoptosis (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** *FANCF* attributes to the occurrence of DDP-resistance through anti-apoptosis effect, which might be served as a potential treatment target for drug-resistant human breast cancer.

**[Key words]** breast cancer; cisplatin (DDP); MDA-MB-231/DDP cell; drug resistance; *FANCF* gene

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(6): 607-612. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.06.010]

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No.81660472); 云南省卫生系统领军人才培养计划资助项目(No.L-201212); 云南省细胞治疗技术转化医学重点实验室资助项目(No.2015DG034)。Project supported by National Natural Science Foundation of China(No.81660472), Health System Leading Personnel Training Program of Yunnan Province(No.L-201212), and the Key Laboratory of Transformation Medicine of Cell Therapy Technology in Yunnan(No.2015DG034)

**[作者简介]** 马芸(1979-), 女, 博士生, 主治医师, 主要从事乳腺肿瘤诊治的研究, E-mail: magppv@sina.com

**[通信作者]** 董坚(DONG Jian, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事恶性肿瘤诊治的基础与临床研究, E-mail: dongjian18@yahoo.com

乳腺癌是导致妇女死亡的首要原因,2012年全球20个区域内大约有1 410万新发侵袭性乳腺癌病例和820万死亡病例,而2015年美国妇女中有23.184 0万新发病例,其中4.029 0万人死亡<sup>[1]</sup>。乳腺癌是我国30~59岁妇女最常见的恶性肿瘤,是45岁以下妇女肿瘤相关死亡的首要原因<sup>[2]</sup>。有研究<sup>[3]</sup>显示,2011年我国乳腺癌新发病例24.862 0万例(其中城市15.808 7万例、农村9.053 3万例),占有新发恶性肿瘤的17.10%。尽管近年来乳腺癌的诊断和治疗取得了巨大的进步,但乳腺癌的发病率和病死率仍呈上升趋势。化疗是乳腺癌除了外科手术之外行之有效的治疗方法,尽管近年来乳腺癌在早期发现和治疗方面取得了巨大的进步,仍有50%的病例很快对化疗药物产生耐药<sup>[4]</sup>。顺铂(cisplatin, DDP)是一种临床常用的广谱抗肿瘤药,近年来铂类药物在三阴性乳腺癌化疗中的越来越重要<sup>[5]</sup>。作为一种周期非特异性抗肿瘤药物广泛用于治疗进展期乳腺癌和多种实体瘤,但由于肿瘤本身对DDP存在的原发性耐药或用药后快速产生的获得性耐药限制了其在临床的运用。有研究<sup>[6]</sup>证实,FA/BRCA通路不仅参与恶性肿瘤的发生,还参与肿瘤细胞化疗耐药的产生,然而机制目前尚不清楚。本研究旨在通过诱导并建立三阴性乳腺癌MDA-MB-231/DDP细胞株,并在此基础上研究FA/BRCA通路中关键蛋白FANCF在诱导三阴性乳腺癌细胞株MDA-MB-231/DDP耐药过程中的表达变化,从而探讨FANCF基因在乳腺癌DDP耐药发生发展中的作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株、主要试剂及仪器

乳腺癌细胞株MDA-MB-231购自中国科学院昆明动物研究所。胎牛血清(10099-141)和DMEM(Hyclon)购自Gibco公司,TRIzol(TR118)购自MRC公司,DDP(D8810)购自索莱宝公司,cDNA合成试剂盒All-in-One™ First-Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒、实时荧光定量SYBR Green Master with Rox试剂盒购自GeneCopoeia公司,FANCF抗体(35736)购自SAB公司,凋亡检测试剂盒(559763)购自美国BD公司, $\beta$ -Actin(AB6276)购自Abcam公司,Lipofectamine 2000(11668-027)购自Invitrogen公司。流式细胞仪(FACSCantoII)购自美国BD公司。

### 1.2 建立DDP耐药乳腺癌细胞株

6孔板中对数生长期MDA-MB-231细胞长至60%~80%汇合度时,2  $\mu$ g/ml DDP作为起始浓度进行诱导耐药,以药物浓度递增法连续诱导3个月,收集细胞进行实时定量PCR(RT-qPCR)和CCK-8实验。

### 1.3 CCK-8法检测DDP对MDA-MB-231细胞增殖活性的抑制

用CCK-8实验检测DDP对乳腺癌细胞的抑制活性。将 $1 \times 10^4$ 个细胞接种到96孔细胞培养板上,过夜孵育后加入含系列稀释药物的新鲜培养基,每个浓度设3个重复孔,同时设不含药物的细胞对照孔。48 h后用加入CCK-8并测定570/630 nm光密度(D)值,计算IC<sub>50</sub>值(即对50%的细胞产生抑制时的药物浓度)。实验重复3次。

### 1.4 FANCF-siRNAs序列的合成与转染

FANCF-siRNAs由广州锐博生物科技有限公司设计合成,序列如下:SiFANCF\_1: 5'-GGTCAACGTTTGC ACTATG-3', SiFANCF\_2: 5'-GTACCTGTCTTAGCATCT-3', SiFANCF\_3: 5'-CTTCGTAGTGGTG CATTTA-3';非特异性序列NControl\_05815(SiN05815122147)为阴性对照。细胞接种于6孔板,汇合度达60%~70%时通过Lipofectamine 2000进行转染。siRNA终浓度为20 nmol/L,设实验组、阴性对照组和空白对照组。转染48 h后收获细胞进行各项指标检测。实验重复3次。

### 1.5 RT-qPCR法检测MDA-MB-231细胞中FANCF mRNA表达

细胞RNA提取采用TRIzol法,按照试剂说明书进行。逆转录用All-in-One™ First-Strand cDNA Synthesis Kit试剂盒进行,随后采用SYBR Green Master with Rox试剂盒在ABI 7900HT仪器上进行定量PCR反应。引物序列如下,FANCF: 5'-CTAACTGCCCTGGAGACCTG-3', 5'-CGCTGAGACCCAAAACCTGT-3', GAPDH: 5'-CGCTGAGTACGTCGTGGAGTC-3', 5'-GCTGATGATCTTGAGGCTGTTGTC-3'。反应条件:95  $^{\circ}$ C 10 min,95  $^{\circ}$ C 15 s,60  $^{\circ}$ C 30 s,40个循环。mRNA表达变化以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行分析。实验重复3次。

### 1.6 Western blotting法检测MDA-MB-231细胞中蛋白表达

收集细胞加入RIPA裂解液,沸水中煮沸5 min,BCA法定量蛋白。40  $\mu$ g蛋白上样,10% SDS-PAGE后,0.45  $\mu$ m PVDF膜转印,5%脱脂奶粉封闭1 h,加入FANCF一抗(SAB35736,1:500稀释)4 $^{\circ}$ C孵育过夜,加入二抗Anti-Rabbit IgG - Peroxidase antibody(SigmaA6154,1:5 000稀释)室温孵育1 h,以 $\beta$ -actin作为内参,ECL化学发光底物进行曝光显色,扫描图像用Image J软件进行灰度分析。实验重复3次。

### 1.7 流式细胞仪检测MDA-MB-231细胞周期

取6孔板中对数生长期MDA-MB-231细胞DDP(2  $\mu$ g/ml)处理2 h后更换新鲜培养基,36 h后采用PI

染色技术(BD-Pharmingen, 550825)检测细胞周期。按照试剂盒说明书进行操作,采用 BD FACSCantoII 流式细胞仪检测。实验重复3次。

### 1.8 流式细胞仪检测MDA-MB-231细胞凋亡情况

对数生长期的细胞6孔板中培养24 h,汇合度达到70%左右后进行 siRNA 转染,分为敲低实验组、阴性对照组和未处理组。48 h后收集细胞进行流式检测。按照凋亡检测试剂盒(BD, 559763)说明书进行操作:加入500  $\mu$ l 的 Binding Buffer 悬浮细胞,加入5  $\mu$ l Annexin V-FITC 和10  $\mu$ l PI 混匀,室温避光孵育15 min,采用流式细胞仪进行检测。实验重复3次。

### 1.9 统计处理

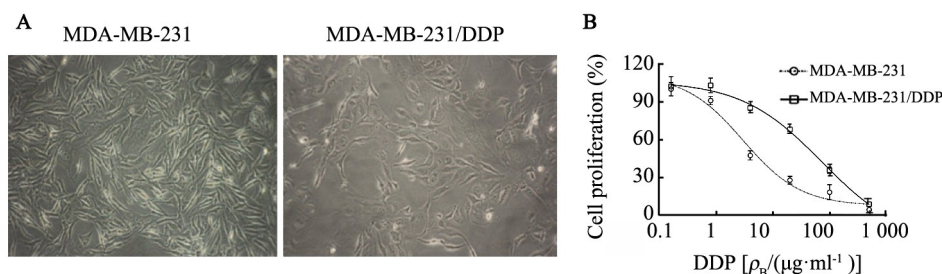
采用 SPSS 19.0 统计学软件,计数资料以百分率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方

差分析;采用 Gaphpad prism 6.0 进行分析与作图。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 DDP 耐药细胞株 MDA-MB-231/DDP 的耐药指数明显提高

DDP 连续诱导培养乳腺癌 MDA-MB-231 细胞3个月后,显微镜下观察耐药细胞与亲本细胞的形态时发现:耐药后细胞的生长速度变慢,形态变圆,细胞聚集成团的特性减弱,更趋向于分散生长(图1A)。通过 CCK-8 抑制活性实验发现诱导3个月后的 MDA-MB-231 细胞对 DDP 的药物敏感性显著降低,  $IC_{50}$  由原来的  $(3.66 \pm 0.16) \mu\text{g/ml}$  上升为  $(49.31 \pm 0.51) \mu\text{g/ml}$ (图1B),其耐药指数达13.5。将耐药细胞命名为 MDA-MB-231/DDP。



A: Breast cancer MDA-MB-231 resistant cells and parental cells ( $\times 100$ );

B: Drug sensitivity of MDA-MB-231 cells and MDA-MB-231/DDP cells

图1 DDP 耐药 MDA-MB-231/DDP 细胞系的建立及其药物敏感性

Fig. 1 Establishment of DDP-resistant MDA-MB-231 cell line (MDA-MB-231/DDP) and its drug sensitivity

### 2.2 DDP 耐药细胞 MDA-MB-231/DDP 阻滞于 G0/G1 周期

流式细胞仪检测细胞周期结果(图2)发现,MDA-

MB-231/DDP 与敏感细胞(MDA-MB-231)相比,G0/G1 期细胞数量增加,G2/M 期细胞减少,表明 MDA-MB-231/DDP 耐药细胞生长较敏感细胞缓慢。

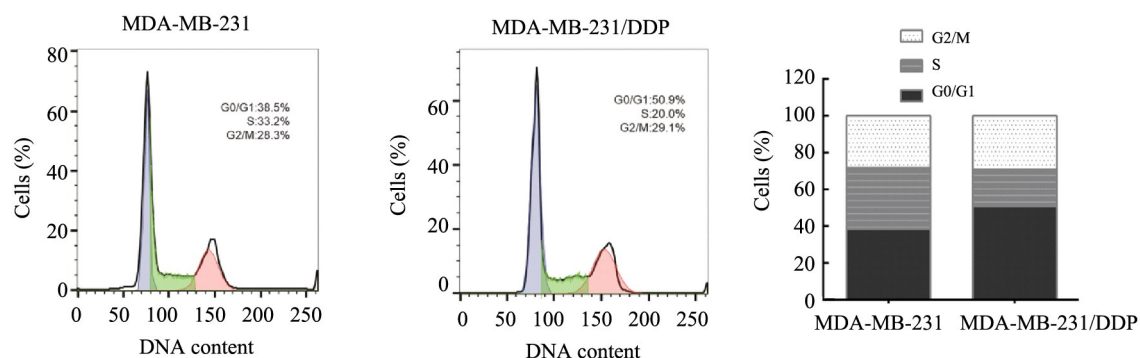


图2 DDP 耐药对 MDA-MB-231 细胞周期的影响

Fig. 2 Effect of DDP resistance on the cell cycle of MDA-MB-231 cells

### 2.3 *FANCF* 在 MDA-MB-231/DDP 细胞中表达显著升高

RT-qPCR 和 Western blotting 检测结果(图3)显

示,MDA-MB-231/DDP 细胞中 *FANCF* mRNA 的表达量较诱导前提高45倍,*FANCF* 的蛋白表达水平也显著提高( $P < 0.01$ )。

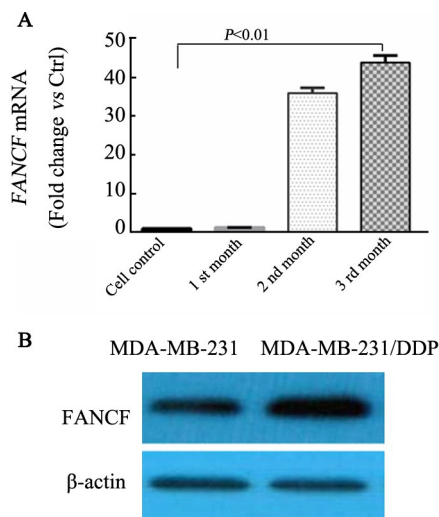


图3 MDA-MB-231和MDA-MB-231/DDP细胞中FANCF mRNA(A)和蛋白(B)表达水平

Fig. 3 Expression of FANCF mRNA (A) and protein (B) in MDA-MB-231 and MDA-MB-231/DDP cells

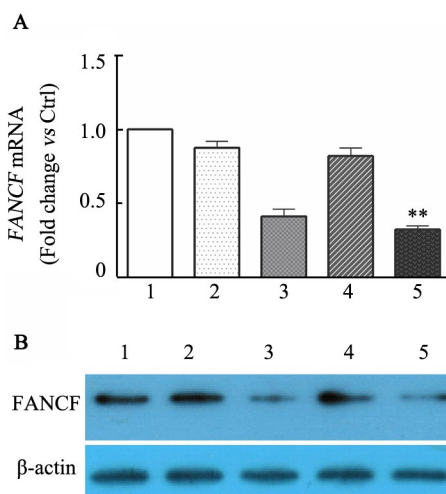
2.4 FANCF敲低后MDA-MB-231细胞中mRNA和蛋白表达水平显著降低

检测结果(图4)显示,FANCF敲低后,siFANCF-3组的MDA-MB-231细胞中mRNA(图4A)和蛋白(图4B)表达量较阴性和空白对照组均显著降低( $0.32 \pm 0.01$  vs  $0.88 \pm 0.05$ ,  $0.41 \pm 0.09$  vs  $1.03 \pm 0.21$ , 均  $P < 0.01$ ),表示siFANCF-3干扰组效果最好。

2.5 FANCF敲低后乳腺癌MDA-MB-231细胞对DDP的药物敏感性显著提高

FANCF敲低后CCK-8法检测MDA-MB-231细胞的增殖活性结果(图5)显示,转染后48 h,siFANCF实

验组中DDP对MDA-MB-231细胞的 $IC_{50}$ 明显低于对照组[( $0.85 \pm 0.19$ ) vs ( $3.64 \pm 0.11$ )  $\mu\text{g/ml}$ ,  $P < 0.01$ ]。同样,在DDP耐药细胞组中,siFANCF实验组中DDP对MDA-MB-231/DDP细胞的生长抑制率 $IC_{50}$ 明显低于对照组[( $7.55 \pm 0.13$ ) vs ( $38.3 \pm 0.28$ )  $\mu\text{g/ml}$ ,  $P < 0.01$ ],表明FANCF敲低后乳腺癌细胞对DDP的药物敏感性显著提高。



1: Cell control; 2: NC; 3: siFANF-1; 4: siFANCF-2; 5: siFANCF-3

\*\* $P < 0.01$  vs Cell control or NC group

图4 FANCF敲低明显降低MDA-MB-231细胞中mRNA(A)和蛋白(B)表达水平

Fig. 4 FANCF knockdown significantly reduced the expression of mRNA(A) and protein (B) in MDA-MB-231 cells

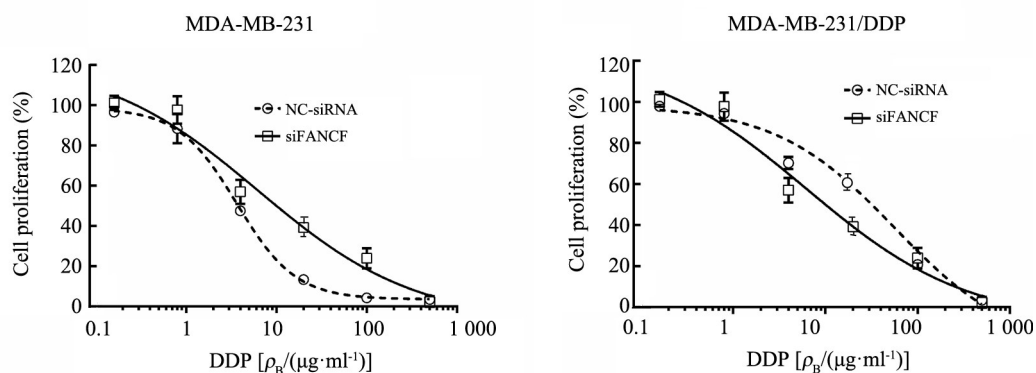


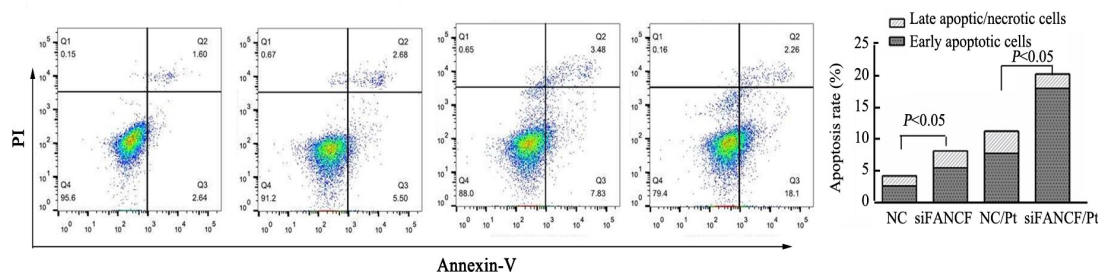
图5 FANCF-siRNA转染抑制MDA-MB-231和MDA-MB-231/DDP细胞增殖

Fig. 5. FANCF-siRNA transfection inhibited the proliferation of MDA-MB-231 and MDA-MB-231/DDP cells

2.6 FANCF敲低后促进MDA-MB-231细胞凋亡

siFANCF转染48 h后,流式细胞仪检测结果(图6)显示,敲低组的MDA-MB-231细胞凋亡率明显高于敲低对照组,同样在耐药MDA-MB-231/DDP细胞

中,敲低组细胞凋亡率显著高于对照组,且MDA-MB-231/DDP耐药细胞的凋亡水平显著高于MDA-MB-231正常细胞(均  $P < 0.05$ )。

图6 *FANCF* 敲低对 MDA-MB-231 和 MDA-MB-231/DDP 细胞凋亡的影响Fig. 6 Effect of *FANCF* knockout on the apoptosis of MDA-MB-231 and MDA-MB-231/DDP cells

### 3 讨论

DDP是第一代铂类药物,在临床上使用超过了30年,能与DNA形成链内交联连接(占85%~90%)和链间交联连接(占1%~3%),通过激活多条DNA修复通路和加强DNA损伤修复对肿瘤细胞起作用,常用于某些恶性肿瘤(如睾丸癌、膀胱癌、肺癌、食道癌、胃癌、卵巢癌、乳腺癌等)的治疗<sup>[7]</sup>。据报道<sup>[8]</sup>,它可以使80%的睾丸胚胎源性的肿瘤达到治愈。尽管DDP是非常有效的化疗药物,但仍有不少患者对DDP产生获得性耐药。有研究<sup>[9]</sup>显示,50%的卵巢癌在使用DDP后短时间内即可产生耐药。对于某种特定的肿瘤,DDP的耐药往往是多因素共同作用的结果,包括影响细胞生存和信号通路的改变、DNA损伤的增加、增加DNA损伤修复、凋亡的抑制、对BRCA1的影响、细胞摄入和外排药物的改变、DNA的甲基化、染色体重塑和miRNA生物源性的干扰等<sup>[10-11]</sup>;而DNA损伤修复是DDP主要的耐药机制之一,导致肿瘤细胞耐药的各原因之间的关系和相互作用仍未能完全清楚。

范可尼贫血(Fanconi anemia, FA)是一种罕见的隐性遗传疾病,有发生恶性肿瘤的倾向,基因的不稳定性被认为是FA患者容易发生恶性肿瘤倾向的原因。尽管FA少见,但FA基因的体细胞突变或表观遗传学沉默在散发性癌(尤其乳腺癌、卵巢癌和胰腺癌)中通常可以见到;FA/BRCA通路中的任何一个基因发生突变或者缺失都可能引起相应的临床疾病谱,包括出生缺陷、认知障碍、骨髓衰竭、癌症和早衰症等<sup>[11]</sup>。目前已知的FA/BRCA通路涉及的基因有19个,主要通过下面3个步骤参与DNA损伤修复:FA核心复合体的形成、FANCD2的单泛素化和FA通路下游的DNA修复。FA核心复合体由8个FA基因组成,单泛素化FANCD2,后者激活FA通路下游的核酸酶参与DNA损伤修复<sup>[12]</sup>。FANCF是FA核心复合体中的关键蛋白,发挥着稳定FA复合体的作用,同时还参与FANCD2泛素化激活过程。FA/BRCA通路通

过参与DNA损伤修复以维持基因的完整性,BRCA1和BRCA2也被认为是FA因子。研究<sup>[13]</sup>发现,FA/BRCA通路的破坏可导致散发性恶性肿瘤的发生率增加。此外,FA/BRCA通路还与肿瘤治疗的反应相关,抑制该通路与对交联药物有较好的敏感性有关,FA通路的过度激活参与肿瘤耐药的发生<sup>[14]</sup>。FANCF是FA/BRCA通路中的关键因子,它参与DNA修复的多个通路蛋白相互作用,包括BACA1、RAD51、ATM和NBS1等<sup>[15]</sup>。研究<sup>[16]</sup>显示,在不同的恶性肿瘤中均出现FANCF的沉默,推测在肿瘤发生的早期,它能导致基因的不稳定和异常突变。此外,还有研究<sup>[17-19]</sup>发现,FANCF与肿瘤耐药的发生也有一定关系,FANCF启动子的甲基化和基因沉默与卵巢癌顺铂的敏感性有关。

本实验采用DDP药物浓度递增法构建了三阴性乳腺癌MDA-MB-231 DDP耐药细胞株MDA-MB-231/DDP。在细胞周期研究中发现DDP处理乳腺癌细胞后MDA-MB-231/DDP与MDA-MB-231细胞相比,G0/G1期细胞数量增加,S期和G2/M期细胞减少。耐药细胞生长较敏感细胞缓慢,表明DDP能够阻滞乳腺癌细胞增殖,这与细胞培养过程中发现耐药细胞的增殖速度减慢相一致。在检测MDA-MB-231细胞及MDA-MB-231/DDP细胞的FANCF基因的表达中发现,MDA-MB-231/DDP细胞中FANCF基因mRNA和蛋白的表达量显著上调。CHEN等<sup>[20]</sup>研究发现,关于多发性骨髓瘤的FANCF在敏感肿瘤细胞中的表达较耐药细胞明显减少,这与本实验结果相一致。

在此基础上,通过RNAi干扰技术对MDA-MB-231/DDP耐药细胞中FANCF的表达进行敲减,并在mRNA和蛋白水平进行了效果验证。结果显示在MDA-MB-231细胞和MDA-MB-231/DDP细胞中FANCF敲低后细胞对DDP的敏感性都显著提高。DAI等<sup>[6]</sup>的研究同样发现,通过RNAi干扰技术沉默FANCF,可以抑制FA/BRCA通路并对DDP起协同作用,以抑制肺癌DDP耐药细胞的增殖。siFANCF转

染 48 h 后细胞凋亡的情况, 检测结果发现敲低组的 MDA-MB-231 细胞和 MDA-MB-231/DDP 细胞的细胞凋亡率显著高于对照组。FANCF 敲低后 MDA-MB-231 细胞凋亡增加, 并且对 DDP 的药物敏感性升高。本实验通过诱导三阴性乳腺癌 MDA-MB-231 细胞对 DDP 产生耐药, 并检测了 FA/BRCA 通路基因的关键因子 FANCF 的表达水平, MDA-MB-231/DDP 细胞较 MDA-MB-231 细胞中 FANCF 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著升高, 采用 RNAi 干扰技术敲低 FANCF 后, 可以使细胞凋亡增加, 同时增加了 DDP 的敏感性。因此, 推测 FANCF 在 DDP 耐药发生过程中具有一定作用, 可能通过抗凋亡作用而降低了细胞对药物的敏感性, 其具体机制尚待进一步研究。

本实验首次报道了 FA/BRCA 通路中关键基因 FANCF 在 DDP 诱导三阴性乳腺癌耐药细胞 MDA-MB-231/DDP 中的表达变化, 并对 FANCF 进行了耐药机制的初步研究和探讨, 最终认为 FANCF 基因通过抗凋亡作用抑制了 MDA-MB-231 细胞对 DDP 的药物敏感性, 导致耐药性的产生, FANCF 是乳腺癌治疗的一个潜在靶点。

#### [参考文献]

- [1] CHEN X, LU P, WU Y, et al. MiRNAs-mediated cisplatin resistance in breast cancer[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(10): 12905-12913. DOI: 10.1007/s13277-016-5216-6.
- [2] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132. DOI: 10.3322/caac.21338.
- [3] JIA M, ZHENG R, ZHANG S, et al. Female breast cancer incidence and mortality in 2011, China[J]. *J Thorac Dis*, 2015, 7(7): 1221-1226. DOI:10.3978/j.issn.2072-1439.2015.05.15.
- [4] O'DRISCOLL L, CLYNES M. Biomarkers and multiple drug resistance in breast cancer[J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2006, 6(5): 365-384. DOI:10.2174/156800906777723958.
- [5] WANG S, XIE J, LI J, et al. Cisplatin suppresses the growth and proliferation of breast and cervical cancer cell lines by inhibiting integrin  $\beta 5$ -mediated glycolysis[J]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(5): 1108-1117.
- [6] DAI C H, LI J, CHEN P, et al. RNA interferences targeting the Fanconi anemia/BRCA pathway upstream genes reverse cisplatin resistance in drug-resistant lung cancer cells[J]. *J Bio Med Sci*, 2015, 22(1): 55-58. DOI:10.1186/s12929-015-0185-4.
- [7] YAO C, DU W, CHEN H, et al. Involvement of Fanconi anemia genes FANCD2 and FANCF in the molecular basis of drug resistance in leukemia[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(6): 4605-4610. DOI: 10.3892/mmr.2015.3288.
- [8] AL-BAHLANI S, AL-DHAHLI B, AL-ADAWI K, et al. Platinum-based drugs differentially affect the ultrastructure of breast cancer cell types[J/OL]. *Bio Med Res Int*, 2017, 2017: 3178794[2017-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC/28377926/>. DOI:10.1155/2017/3178794.
- [9] 陈慧雁, 李晓翠, 沈宗姬. 5-Aza-CdR 通过 DNMT1 调控卵巢癌细胞 ERCC1 基因甲基化及其表达[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(6): 627-631. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.06.009.
- [10] LI J, WOOD W H, BECKER K G, et al. Gene expression response to cisplatin treatment in drug-sensitive and drug-resistant ovarian cancer cells[J]. *Oncogene*, 2007, 26(20): 2860-2872. DOI:10.1038/sj.onc.1210086.
- [11] SUMPTER R J R, SIRASANAGANDLA S, FERNÁNDEZ Á F, et al. Fanconi anemia proteins function in mitophagy and immunity[J]. *Cell*, 2016, 165(4): 867-881. DOI:10.1016/j.cell.2016.04.006.
- [12] KOTTEMANN MC, SMOGORZEWSKA A. Fanconi anaemia and the repair of Watson and Crick DNA crosslinks[J]. *Nature*, 2013, 493(7432): 356-363. DOI:10.1038/nature11863.
- [13] STECKLEIN S R, JENSEN R A. Identifying and exploiting defects in the Fanconi anemia/BRCA pathway in oncology[J]. *Transl Res*, 2012, 160(3): 178-197. DOI:10.1016/j.trsl.2012.01.022.
- [14] HAITJEMA A, MOL B M, KOOI I E, et al. Coregulation of FANCA and BRCA1 in human cells[J/OL]. *Springerplus*, 2014, 3: 381 [2017-12-30]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC/25161863/>. DOI:10.1186/2193-1801-3-381.
- [15] OLOPADE O I, WEI M. FANCF methylation contributes to chemoselectivity in ovarian cancer[J]. *Cancer Cell*, 2003, 3(5): 417-420. DOI:10.1016/s1535-6108(03)00111-9.
- [16] BAKKER S T, VAN DE VRUGT H J, VISSER J A, et al. Fancf-deficient mice are prone to develop ovarian tumours[J]. *J Pathol*, 2012, 226(1): 28-39. DOI:10.1002/path.2992.
- [17] D'ANDREA A D. Susceptibility pathways in Fanconi's anemia and breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 362(20): 1909-1919. DOI: 10.1056/NEJMra0809889.
- [18] TANIGUCHI T, TISCHKOWITZ M, AMEZIANE N, et al. Disruption of the Fanconi anemia-BRCA pathway in cisplatin-sensitive ovarian tumors[J]. *Nat Med*, 2003, 9(5): 568-574. DOI: 10.1038/nm852.
- [19] 陈慧雁, 沈宗姬. ERCC1 基因在卵巢癌中作用的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2017, 24(4): 453-457. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.04.020.
- [20] CHEN Q, VAN DER SLUIS P C, BOULWARE D, et al. The FA/BRCA pathway is involved in melphalan-induced DNA interstrand cross-link repair and accounts for melphalan resistance in multiple myeloma cells[J]. *Blood*, 2005, 106(2): 698-705. DOI: 10.1182/blood-2004-11-4286.

[收稿日期] 2018-02-04

[修回日期] 2018-04-12

[本文编辑] 王映红