

# 组蛋白去乙酰化酶抑制剂 TSA 抑制结肠癌 HT29 细胞增殖作用的机制研究

孟瑾<sup>1,2</sup>, 刘新利<sup>3</sup>, 车玲<sup>1</sup>, 陈明<sup>1</sup>, 吴漫<sup>1</sup>, 马晨珂<sup>1</sup>, 赵冠人<sup>1</sup>

1.解放军总医院第八医学中心药剂科, 北京 100091;

2.空军军医大学唐都医院肿瘤科, 陕西 西安 710038;

3.西北工业大学生命学院, 陕西 西安 710072

**【摘要】** 目的 探讨组蛋白去乙酰化酶抑制剂 TSA 对结肠癌 HT29 细胞增殖能力的影响及其作用机制。方法 以结肠癌 HT29 细胞为研究对象, 采用浓度梯度 TSA 处理并计算其对上述细胞的 IC50 值, 并采用 MTT 法观察不同浓度 TSA 对结肠癌 HT29 细胞增殖能力的影响; 采用流式细胞术观察不同浓度 TSA 对结肠癌 HT29 细胞周期的影响; Western blot 法观察不同浓度 TSA 对结肠癌 HT29 细胞中 Ku70 蛋白乙酰化水平以及对细胞周期蛋白 CyclinB1、CDC25C 和周期抑制蛋白 P21 及其上游调控蛋白 P53 表达的影响。结果 MTT 法和流式细胞术检测结果表明, TSA 可浓度依赖性抑制结肠癌 HT29 细胞的增殖并促进细胞发生 G2/M 期阻滞; 此外, Western blot 检测结果表明 TSA 可明显上调结肠癌 HT29 细胞中 Ku70 蛋白的乙酰化水平, 同时上调周期抑制蛋白 P21 和 P53 的表达, 并抑制细胞周期相关蛋白 CyclinB1 和 CDC25C 的表达, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论 组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (TSA) 可能通过促进结肠癌 HT29 细胞中 Ku70 蛋白乙酰化, 抑制其与 DNA 结合的亲和力而抑制 DNA 损伤修复, 进而促进结肠癌 HT29 细胞发生周期阻滞而发挥抗结肠癌细胞增殖并促进其周期阻止的作用, 为以细胞周期调控为靶点的肿瘤治疗策略提供理论依据和实验基础。

**【关键词】** 结肠癌; TSA; Ku70 乙酰化; 周期阻止

## Effect and mechanism of histone deacetylase inhibitor TSA on the proliferation of colon cancer HT29 cells

MENG Jin<sup>1,2</sup>, Liu Xin-li<sup>3</sup>, CHE Ling<sup>1</sup>, CHEN Ming<sup>1</sup>, WU Man<sup>1</sup>, Ma Chen-ke<sup>1</sup>, ZHAO Guan-ren<sup>1</sup>

1. Department of Pharmacy, The Eighth Medical Center of PLA, Beijing 100091, China

2. Department of Oncology, Tangdu Hospital, Air Force Military Medical University, Shaanxi, Xi'an 710038, China

3. College of life, Northwestern Polytechnical University, Shaanxi, Xi'an 710072, China

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect and mechanism of histone deacetylase inhibitor TSA on the proliferation of colon cancer HT29 cells. **Methods** Colon cancer HT29 cells were used as the research object. The IC50 values of the cells were calculated by concentration gradient TSA, and the effects of different concentrations of TSA on the proliferation of colon cancer HT29 cells were observed by MTT assay. The effects of different concentrations of TSA on the cell cycle of colon cancer HT29 were observed by flow cytometry. The levels of Ku70 protein acetylation and CyclinB1, CDC25C and cyclin P21 in colon cancer HT29 cells were observed by Western blot. Its upstream regulation of the expression of protein P53. **Results** MTT assay and flow cytometry results showed that TSA could inhibit the proliferation of colon cancer HT29 cells and promote G2/M phase arrest in a concentration-dependent manner. In addition, western blot analysis results showed that TSA could significantly up-regulate the acetylation level of Ku70 protein in colon cancer HT29 cells, and up-regulate the expression of cyclic inhibitory proteins P21 and P53, and inhibit the expression of cell cycle-associated proteins CyclinB1 and CDC25C. The difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Histone deacetylase inhibitor (TSA) may inhibit the DNA damage by promoting the acetylation

基金项目: 解放军总医院第八医学中心课题基金项目 (2016MS-016); 陕西省自然科学基金研究计划项目 (2017JM8034)

作者简介: 孟瑾, 主管药师, E-mail: yzmengjin@163.com

通讯作者: 赵冠人, 副主任药师, E-mail: yanliqun79@163.com

of Ku70 protein, inhibiting its affinity for DNA binding, and then promoting cell cycle arrest of colon cancer HT29 cells. Furthermore, exerting anti-colon cancer cell proliferation and promoting its cycle arrest. Which provides a theoretical basis and experimental basis for tumor therapy strategies targeting at cell cycle regulation.

**【Key words】** Colon cancer; TSA; Ku70 acetylation; Cycle arrest

结肠癌的发生发展是一个涉及多基因、多因素、多阶段致癌的复杂过程,其中包括癌基因的激活和抑癌基因的失活等<sup>[1,2]</sup>。临床上多数癌症患者就诊时往往错过了最佳手术期,导致患者预后较差,而放化疗对患者副作用较大且疗效欠佳<sup>[3,4]</sup>。因此,阐明结肠癌的发病机制,并针对其发病机制进行药物干预,是临床上靶向结肠癌治疗取得根本性突破需要迫切解决的难题。Ku70蛋白是广泛存在于真核生物体内的一类核蛋白,其功能和活性受到翻译后修饰的调控<sup>[5]</sup>。Ku70蛋白通过对DNA双链断裂修复、DNA复制、基因转录调控以及端粒结构的维持等在多种细胞活动以及肿瘤发生发展进程中均扮演重要角色,使其在肿瘤的预后、发生发展、诊治中的作用成为近年来研究的热点<sup>[6,7]</sup>。尽管Ku70蛋白在肿瘤中的生物学或许和作用日益突出,但其对结肠癌发生发展的影响及作用机制目前尚未阐明<sup>[8]</sup>。Trichostatin A(TSA)属于广谱HDACs抑制剂,有文献报道其具有较好的抗恶性肿瘤作用,但其作用机制有待进一步阐明<sup>[9,10]</sup>。本课题拟探讨组蛋白去乙酰化酶抑制TSA对结肠癌HT29细胞增殖能力的影响及其作用机制,为以细胞周期调控为靶点的肿瘤治疗策略提供理论依据。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 人结肠癌HT29细胞由德国合作实验室馈赠;TSA购自美国Sigma公司;胎牛血清、胰蛋白酶消化液、青链霉素混合液和高糖DMEM培养基均购自美国Thermo Fisher公司;BCA蛋白定量试剂盒购自美国Pierce公司;SDS-PAGE凝胶试剂盒、MTT试剂、细胞裂解液、4%多聚甲醛溶液均购自西安碧云天科技生物有限公司;DMSO购自上海生物化学试剂公司;蛋白酶抑制剂购自瑞士Roche公司;ECL化学发光试剂盒购自美国Advansta公司;Ku70(ab83501)、acetyl-Ku70(ab190626)、CyclinB1(#4138)、CDC25C(ab226958)、P21(ab109199)和P53(#2524)一抗分别购自英国Abcam公司和美国Cell Signaling Technology公司;兔/鼠二抗购自英国Abcam公司。

**1.2 MTT 筛选最佳给药浓度** 取对数生长期人结肠癌HT29细胞并配置成单细胞悬液,将上述细胞以 $5 \times 10^4/200 \mu\text{L}$ /孔密度接种于96孔板中于 $37^\circ\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养箱中培养24h。次日,细胞换液后并分别给予 $0 \mu\text{M}$ (等体积DMSO)、 $0.1 \mu\text{M}$ 、 $0.5 \mu\text{M}$ 、 $1 \mu\text{M}$ 和 $5 \mu\text{M}$ 的TSA终浓度处理并继续培养24h。培养结束后每孔加入 $20 \mu\text{L}$ 的 $5 \text{ mg/mL}$ 的MTT溶液继续孵育4h,弃上清每孔加入 $150 \mu\text{L}$ 的DMSO充分振荡10min以促进结晶物溶解,酶联免疫检测仪570nm处检测吸光值(OD)并计算TSA的IC50值并选取本研究中TSA的最佳处理浓度。

**1.3 Western blot 检测 Ku70 蛋白乙酰化水平** 收集对数生长期结肠癌HT29细胞后提取总蛋白。采用BCA蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度,沸水浴10min制备蛋白样品并计算 $30 \mu\text{g}$ 蛋白上样体积。采用SDS-PAGE蛋白凝胶试剂盒进行凝胶电泳并转膜;转膜完成将NC膜采用5%丽春红染液染色并裁剪目的条带;随后又将目的蛋白条带与5%脱脂牛奶室温封闭1h;将目的蛋白条带与相应的一抗稀释液Ku70、acetyl-Ku70、CyclinB1、CDC25C、P21和P53蛋白一抗稀释液 $4^\circ\text{C}$ 过夜孵育。次日,采用PBST清洗目的条带后与1:5000稀释山羊抗兔/鼠二抗室温孵育1h。ECL显色后观察蛋白表达。

**1.4 MTT 细胞增殖实验** 收集对数生长期结肠癌HT29细胞并制备单细胞悬液,调整细胞密度为 $3 \times 10^4/200 \mu\text{L}$ /孔接种于96孔培养板于 $37^\circ\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养箱中培养。次日,待细胞铺满孔底,分别给予 $0.1 \mu\text{M}$ 、 $0.5 \mu\text{M}$ 和 $1 \mu\text{M}$ 终浓度TSA处理,每组浓度设置3-5个复孔,继续培养24h-96h,倒置显微镜下观察不同浓度TSA对结肠癌HT29细胞增殖能力的影响。每孔加入 $5 \text{ mg/mL}$ 的MTT溶液 $20 \mu\text{L}$ 继续培养4h后弃上清,加入 $150 \mu\text{L}$ 的DMSO充分振荡10min以促进结晶全部溶解,采用酶联免疫检测仪570nm处检测吸光度。

**1.5 流式细胞术检测周期细胞分布** 收集对数生长期结肠癌HT29细胞并制备单细胞悬液,调整细胞密度为 $3 \times 10^5/200 \mu\text{L}$ /孔接种于6孔培养板于 $37^\circ\text{C}$ 、 $5\%\text{CO}_2$ 培养箱内培养24h使细胞贴壁。设

置空白对照孔(含10%胎牛血清的DMEM高糖培养液)和0.1 $\mu$ M、0.5 $\mu$ M、1 $\mu$ M不同浓度TSA 24 h处理组。收集并重悬细胞,调整细胞密度为3-6 $\times$ 10<sup>6</sup>个/1 mL;采用微量移液器吸取500 $\mu$ L细胞悬液至10 mL离心管内,边振荡边加入5 mL的70%冰乙醇中4 $^{\circ}$ C过夜固定;次日,采用PBS洗涤细胞两次,300 g离心5 min后加入500 $\mu$ L碘化丙啶(PI)染液4 $^{\circ}$ C孵育3 h;400目筛网过滤;流式细胞仪检测细胞周期中G1、S、和G2/M期各时相细胞的分布情况。

**1.6 Western blot 检测周期相关蛋白表达** 收集对数生长期结肠癌 HT29 细胞的空白对照组(DMSO 处理)和0.1 $\mu$ M、0.5 $\mu$ M、1 $\mu$ M不同浓度TSA 24 h处理组细胞并提取总蛋白。采用BCA试剂盒检测蛋白浓度并制备蛋白样品,计算30 $\mu$ g蛋白上样体积。采用SDS-PAGE凝胶试剂盒进行蛋白电泳并转膜,转膜结束后将NC膜浸入5%丽春红染液中染色,随后根据目的蛋白分子量大小裁剪目的蛋白条带,去离子水清洗NC膜至无色,5%脱脂奶粉室温封闭1 h;将目的蛋白条带与适当浓度稀释的CyclinB1、CDC25C、P21和P53抗体4 $^{\circ}$ C孵育过夜;次日,室温清洗NC膜3次;将目的条带与二抗(羊抗兔/鼠1:5000)室温孵育1 h后清洗。ECL显色并检测目的蛋白的表达。

**1.7 统计学方法** 所有数据采用SPSS20.0统计软件进行数据分析,多组间计量资料采用方差分析,方差齐后进一步采用student-t检验,以均( $\bar{x}\pm s$ )表示;计数资料采用 $\chi^2$ 检验,以百分比(%)表示;所有统计检验均为双侧检验, $P<0.05$ 表明差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 TSA对结肠癌HT29细胞的最佳给药浓度确定** 采用MTT法检测TSA对结肠癌HT29细胞的IC<sub>50</sub>值结果见图1。结果表明,TSA可浓度依赖性抑制结肠癌HT29细胞的生长,差异有统计学意义( $*P<0.05$ ),并经计算其IC<sub>50</sub>=1.005 $\mu$ M。因此,为进一步明确TSA对上述结肠癌细胞的抑制作用同时不影响实验结果准确性的前提下,本研究选取4个不同终浓度的TSA(0 $\mu$ M、0.1 $\mu$ M、0.5 $\mu$ M和1 $\mu$ M),观察其对结肠癌细胞增殖及周期的影响。

**2.2 TSA可促进结肠癌HT29细胞中Ku70蛋白的乙酰化** Western blot检测TSA对结肠癌HT29

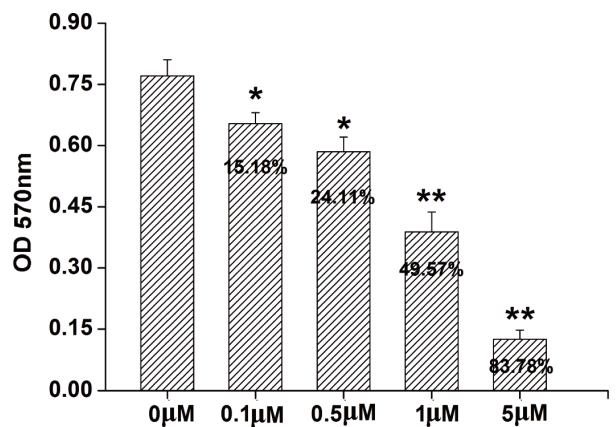


图1 MTT检测结果表明TSA可浓度依赖性抑制抑制结肠癌HT29细胞生长

细胞中Ku70蛋白乙酰化水平的影响见图2。结果表明,与DMSO组相比,TSA可显著上调结肠癌HT29细胞中Ku70的乙酰化水平,而对Ku70总蛋白表达无明显影响,差异有统计学意义( $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ )。

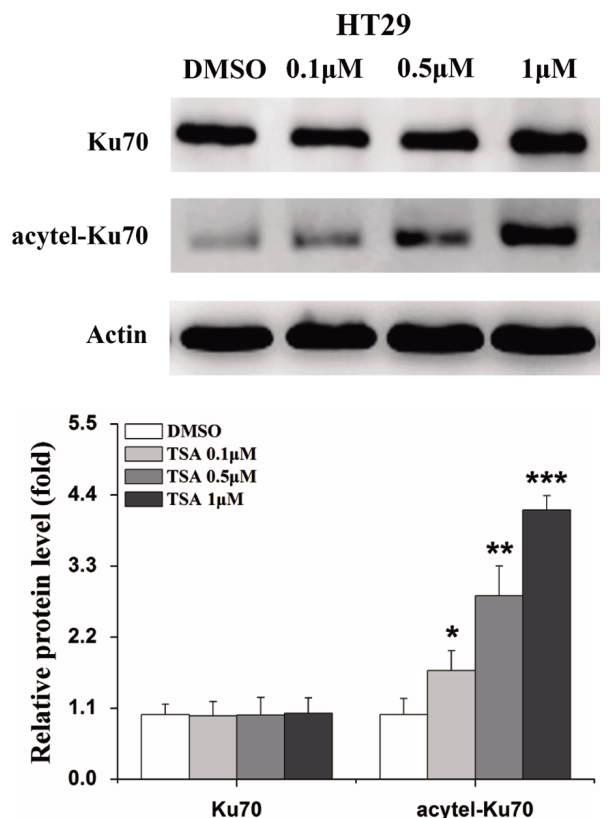


图2 TSA可显著上调结肠癌HT29细胞中Ku70蛋白的乙酰化水平

**2.3 MTT法细胞增殖能力检测** MTT细胞增殖能力检测结果见图3。结果表明与对照组相比,TSA可显著抑制结肠癌HT29细胞增殖,且其抑制

作用呈浓度依赖性,差异有统计学意义(\* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ , \*\*\* $P<0.001$ )。

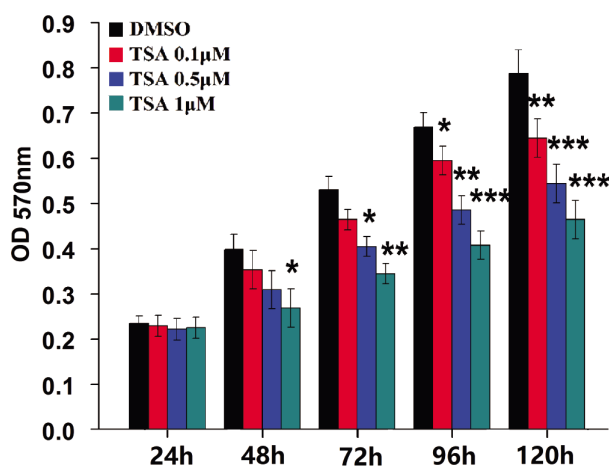


图3 MTT法检测TSA对结肠癌HT29细胞增殖能力影响

2.4 流式细胞仪检测TSA处理后结肠癌细胞的周期分布 细胞流式检测结果见图4。结果表明,TSA可浓度依赖性地诱导结肠癌HT29细胞发生G2/M期阻滞,差异有统计学意义(\* $P<0.05$ )。

2.5 Western blot检测蛋白表达 Western blot检

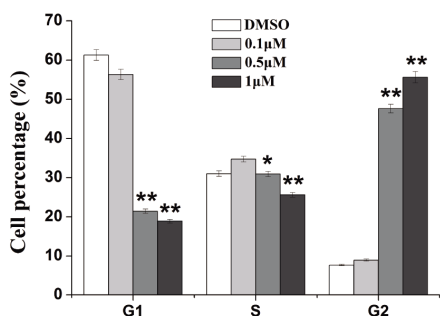
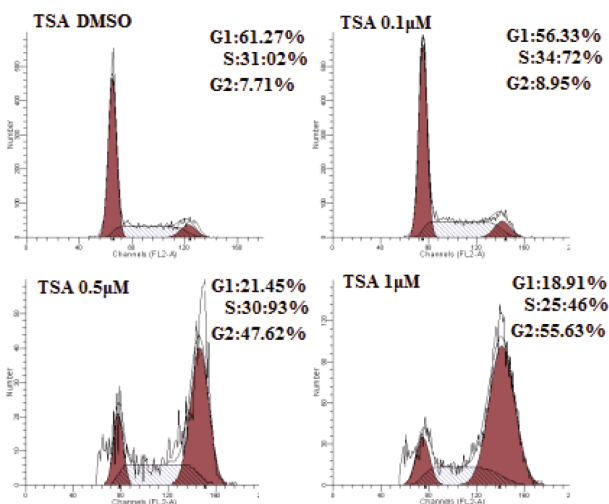


图4 流式细胞仪观察TSA对结肠癌HT29细胞周期中G1、S和G2/M期各时相细胞分布的影响

测结果见图5。结果表明,不同浓度TSA处理能够显著抑制G2/M期蛋白CyclinB1的表达,同时增强G2/M期抑制蛋白P21的表达,差异有统计学意义(\* $P<0.05$ )。

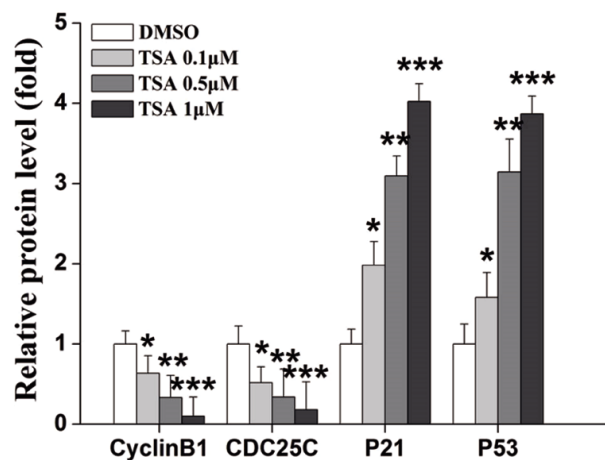
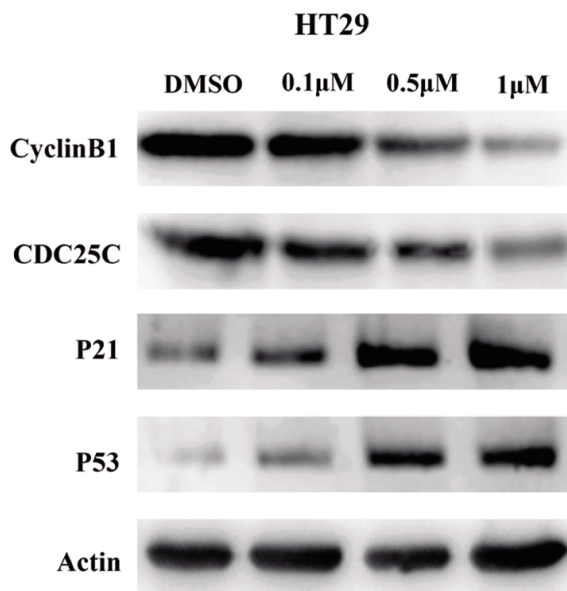


图5 Western blot检测不同浓度TSA对结肠癌HT29细胞周期蛋白表达的影响

### 3 讨论

近年来,结/直肠癌在西方国家的发病率与死亡率位居恶性肿瘤的前3位<sup>[11]</sup>。我国结肠癌的死亡率已位于恶性肿瘤死亡率排名第四位,仅次于胃癌、肺癌和食道癌,严重危害人类健康<sup>[12]</sup>。相关资料表明,我国结/直肠癌发病率与死亡率将在今后很长时间内呈快速上升趋势,将成为常见而高发的恶性肿瘤<sup>[13]</sup>。临床上由于患者早期缺乏典型症状和体征,容易被患者忽视,也容易漏诊,

大部分患者已经属于中、晚期,往往错过了最佳手术时机,患者预后较差。因此,阐明结肠癌的发病机制,并针对发病机制进行药物干预,是结肠癌治疗取得根本性突破需要迫切解决的课题。

失控性生长是肿瘤细胞的共同生物学特性,主要分子机制为细胞周期紊乱导致细胞凋亡减少和增殖增加<sup>[14]</sup>。研究表明细胞周期调控异常是肿瘤发生的重要机制<sup>[15]</sup>。Ku70是一种广泛存在于真核生物体内的核蛋白,研究发现Ku70在DNA双链断裂修复、DNA复制、基因转录调控和维持端粒结构等多种细胞进程中均扮演重要角色<sup>[16]</sup>。Ku70通过参与Rad3/Rad26(细胞周期检查点相关蛋白)途径,发挥维持端粒稳定性、防止染色体环状化作用进而维持细胞周期的正常进行<sup>[17]</sup>。此外,研究发现Ku70蛋白活性和功能受翻译后修饰调控,其乙酰化和去乙酰化状态在肿瘤细胞凋亡和修复中发挥重要的作用<sup>[18]</sup>。真核生物细胞周期的正常进行依赖于细胞周期蛋白(cyclins)、细胞周期蛋白依赖性激酶(CDKs)、细胞周期依赖性激酶抑制因子(CKIs)之间的正负调节<sup>[19]</sup>。CKIs是一类小分子蛋白,在G1检查点作用于CDK/cyclin复合物,阻止细胞周期运行和细胞增殖分化,抑制细胞向恶性转化。p21作为抑癌基因是细胞周期重要调控因子,是依赖周期素的蛋白激酶抑制因子(CKIs)中的一员<sup>[20]</sup>。p21的表达减弱或消失可能会造成抑制细胞增殖的作用减弱,或使细胞正常增生转变为增生分化不良,导致肿瘤发生的可能。细胞周期紊乱是导致基因组不稳定的重要环节,增加不稳定细胞的癌变几率从而参与肿瘤的发生发展<sup>[21]</sup>。因此,细胞周期在细胞增殖和凋亡中的调控对于维护基因组的稳定性具有十分重要的意义。

组蛋白乙酰化和去乙酰化影响染色质重塑,在基因表达的表观遗传调控中扮演着十分重要的角色。研究报道组蛋白乙酰化和去乙酰化主要是通过HATs和HDACs来实现的<sup>[22]</sup>。目前有报道HDACs包含多种类型,其中人体已经知道的就有18种,根据其酵母HDACs的同源性,可以将这些酶归为4型,其中I型包括HDAC1、HDAC2、HDAC3和HDAC8<sup>[23]</sup>。近年来大量研究表明,组蛋白和某些非组蛋白异常去乙酰化与结/直肠癌的发生发展有着十分密切的关系,研究证实I型HDACs过表达可促进结/直肠癌细胞得生长,采用基因敲除I型HDACs中的1/2/3能明显有效抑制

结肠癌HCT116细胞、HT29细胞和SW480细胞的生长<sup>[24-26]</sup>。曲古抑菌素A(Trichostatin A, TSA)是一种强效、特异而可逆的第一个能抑制HDAC的天然产物<sup>[27]</sup>。研究证实TSA对多种组织来源的肿瘤细胞均表现出具有抗癌活性<sup>[28,29]</sup>,通过与底物竞争性结合HDAC上的催化位点而发挥作用,其有效抑制剂量可达纳摩尔级浓度,具有很强的抑制组蛋白去乙酰化酶活性。近年来TSA因具有高特异性、高效性、稳定性、低毒性等优点而备受关注。尽管国内外对TSA的抗肿瘤作用已经进行了一系列相关研究,但其具体抗癌作用机制仍有待进一步阐明。

本课题通过观察采用不同浓度TSA对结肠癌HT29细胞增殖能力周期进程的影响及其作用机制,采用MTT细胞增殖实验和流式细胞术观察不同浓度TSA对结肠癌HT29细胞增殖能力和周期中G1、S、和G2/M期各时相细胞的分布,结果表明TSA可浓度依赖性抑制结肠癌HT29细胞的增殖,且流式细胞实验结果表明随着TSA给药浓度的升高,处于G2/M期的细胞比例逐渐增加,表明TSA可浓度依赖性诱导细胞发生G2/M期阻滞。为进一步探究TSA对结肠癌HT29细胞增殖抑制的作用机制,采用estern blot检测TSA对结肠癌HT29细胞中Ku70乙酰化水平的影响,结果表明TSA可浓度依赖性显著上调acytel-Ku70蛋白水平。此外,在细胞周期进程中,P21和P53作为周期依赖性蛋白激酶抑制剂是重要细胞周期调控分子。Western blot结果显示,TSA可浓度依赖性地上调结肠癌HT29细胞中P21和P53的蛋白表达水平,同时下调G2/M期蛋白CyclinB1和CDC25C的表达,提示TSA介导的细胞周期阻滞是其抗结肠癌的重要机制。综上所述,组蛋白去乙酰化酶抑制剂(TSA)可能通过促进结肠癌HT29细胞中Ku70蛋白乙酰化,抑制其与DNA结合的亲和力而抑制DNA损伤修复,进而促进结肠癌HT29细胞发生周期阻滞而发挥抗结肠癌细胞增殖并促进其周期阻止的作用,为以细胞周期调控为靶点的肿瘤治疗策略提供理论依据和实验基础。

#### 参考文献

- [1] Tang J, Wang Z, Liu J, et al. Downregulation of 5-hydroxytryptamine receptor 3A expression exerts an anticancer activity against cell growth in colorectal carcinoma cells in vitro [J]. *Oncology Letters*, 2018, 16(5): 6100-6108.

- [2] Lv Y, Li B, Han K, et al. The Nedd8-activating enzyme inhibitor MLN4924 suppresses colon cancer cell growth via triggering autophagy [J]. *Korean J Physiol Pha*, 2018, 22(6): 617-625.
- [3] Qin J, Kunda NM, Qiao G, et al. Vaccination With Mitoxantrone-Treated Primary Colon Cancer Cells Enhances Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Clinical Responses in Colorectal Liver Metastases [J]. *J Surg Res*, 2019, 233(16): 57-64.
- [4] 石峰, 崔平. 姜黄素抗肿瘤作用机制研究进展[J]. *肿瘤基础与临床*, 2011, 33(06): 547-549.
- [5] Pucci S, Polidoro C, Joubert A, et al. Ku70, Ku80, and sClusterin: A Cluster of Predicting Factors for Response to Neoadjuvant Chemoradiation Therapy in Patients With Locally Advanced Rectal Cancer. *Int. J. Radiat [J]. Oncol Biol Phys*, 2017, 97(2): 353-359.
- [6] Fantini D, Huang S, Asara JM, et al. Chromatin association of XRCC5/6 in the absence of DNA damage depends on the XPE gene product DDB2[J]. *Mol Bio Cell*, 2017, 28(1): 22-28.
- [7] Hur H, Kim NK, Min BS, et al. Can a biomarker-based scoring system predict pathologic complete response after preoperative chemoradiotherapy for rectal cancer? [J] *Dis. Colon Rectum*, 2014, 57(5): 635-641.
- [8] Renouf B, Soret C, Saandi T, et al. Cdx2 homeoprotein inhibits non-homologous end joining in colon cancer but not in leukemia cells[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(8): 261-267.
- [9] Yang F, Shan P, Zhao N, et al. Development of hydroxamate-based histone deacetylase inhibitors containing 1,2,4-oxadiazole moiety core with antitumor activities [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2018, 10(19): 51-57.
- [10] Lin WC, Hsu FS, Kuo KL, et al. Trichostatin A, a histone deacetylase inhibitor, induces synergistic cytotoxicity with chemotherapy via suppression of Raf/MEK/ERK pathway in urothelial carcinoma[J]. *J Mol (Berl)*, 2018, 96(12): 1307-1318.
- [11] Baker AM, Gabbutt C, Williams MJ, et al. Crypt fusion as a homeostatic mechanism in the human colon [J]. *Gut*, 2019, 25(30): 764-770.
- [12] Tomkovich S, Dejea CM, Winglee K, et al. Human colon mucosal biofilms from healthy or colon cancer hosts are carcinogenic[J]. *J. Clin Invest*, 2019, 130(63): 287-293.
- [13] Cheung KS, Chen L, Chan EW, et al. Statins reduce the progression of non-advanced adenomas to colorectal cancer: a postcolonoscopy study in 187 897 patients [J]. *Gut*, 2019, 26(37):364-371.
- [14] 周昱岐, 叶敏, 张映城. 桑根白皮素调控人结肠癌 HCT116 细胞周期阻滞及其抑制细胞增殖的体外研究 [J]. *中国中医药信息杂志*, 2015, 13(05): 72-75.
- [15] Davis KG, Orangio GR. Basic Science, Epidemiology, and Screening for Anal Intraepithelial Neoplasia and Its Relationship to Anal Squamous Cell Cancer [J]. *Clin Colon Rect Surg*, 2018, 31(6): 368-378.
- [16] Yang G, Qiu J, Wang D, et al. Traditional Chinese Medicine Curcumin Sensitizes Human Colon Cancer to Radiation by Altering the Expression of DNA Repair-related Genes [J]. *Anticancer Res*, 2018, 38(1): 53-59.
- [17] NguyenH, Loustaunau C, Facista A, et al. Deficient Pms2, ERCC1, Ku86, CcOI in field defects during progression to colon cancer[J]. *J Vis Exp*, 2010, 28(41): 355-361.
- [18] Zou H, Volonte D, Galbiati F. Interaction of caveolin-1 with Ku70 inhibits Bax-mediated apoptosis[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7(6): 53-58.
- [19] Suehiro Y, Takemoto Y, Nishimoto A, et al. Dcl1 Inhibition Cancels 5-FU-induced Cell-cycle Arrest and Decreases Cell Survival in Colorectal Cancer [J]. *Anticancer Research*, 2018, 38(11): 6225-6230.
- [20] Galanos P, Pappas G, Polyzos A, et al. Mutational signatures reveal the role of RAD52 in p53-independent p21-driven genomic instability[J]. *Genome Biol*, 2018, 19(1): 252-261.
- [21] Gu C, Nguyen HN, Ganini D, et al. KO of 5-InsP kinase activity transforms the HCT116 colon cancer cell line into a hypermetabolic, growth-inhibited phenotype [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(45): 354-460.
- [22] Choi SA, Lee C, Kwak PA, et al. Histone deacetylase inhibitor panobinostat potentiates the anti-cancer effects of mesenchymal stem cell-based sTRAIL gene therapy against malignant glioma [J]. *Cancer Letters*, 2018, 442(32): 161-169.
- [23] Liu Z, Jing Q, Wang Y, et al. The short-term effect of histone deacetylase inhibitors, chidamide and valproic acid, on the NFkappaB pathway in multiple myeloma cells [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43(1): 285-293.
- [24] Choi KC, Jung MG, Lee YH, et al. Epigallocatechin-3-gallate, a histone acetyltransferase inhibitor, inhibits EBV-induced B lymphocyte transformation via suppression of RelA acetylation [J]. *Cancer Res*, 2009, 69(2): 352-359.
- [25] Sakimura R, Tanaka K, Nakatani F, et al. Antitumor effects of histone deacetylase inhibitor on Ewing's family tumors [J]. *Int. J. Cancer*. 2005, 116(5): 253-260.
- [26] Mai A, Massa S, Rotili D, et al. Histone deacetylation in epigenetics: an attractive target for anticancer therapy [J]. *Med Res Rev*, 2005, 25(3): 362-371.
- [27] Cappellacci L, Perinelli DR, Maggi F, et al. Recent Progress in Histone Deacetylase Inhibitors as Anticancer Agents [J]. *Current Medical Chemistry*, 2018, 11(6): 10-17.
- [28] Fetahu IS, H?baus J, Aggarwal A, et al. Calcium-sensing receptor silencing in colorectal cancer is associated with promoter hypermethylation and loss of acetylation on histone 3 [J]. *Int J Cancer*, 2014, 135(9): 1635-1641.
- [29] Sakai E, Fukuyo M, Ohata K, et al. Genetic and epigenetic aberrations occurring in colorectal tumors associated with serrated pathway[J]. *Int J Cancer*, 2016, 138(7): 354-362.