

## 临床研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.003166

## SCR7 对三阴性乳腺癌顺铂化疗的增敏作用研究

祁 冶<sup>1</sup>, 潘海婷<sup>2</sup>, 王秀梅<sup>1</sup>

(1. 内蒙古医科大学附属人民医院肿瘤内科, 呼和浩特 010010;

2. 内蒙古医科大学基础医学院免疫学教研室, 呼和浩特 010050)

**【摘要】目的:**探讨 SCR7 对三阴性乳腺癌顺铂化疗的增敏作用。**方法:**选用三阴乳腺癌 MDA-MB-231 细胞分为空白对照组、10  $\mu\text{mol/L}$  顺铂对照组和联合组 (10  $\mu\text{mol/L}$  顺铂+10、20 和 40  $\mu\text{mol/L}$  SCR7), 采用 CCK-8 法检测细胞活性并计算细胞增殖抑制率; 取对数期 TNBC MDA-MB-231 细胞构建三阴性乳腺癌移植瘤小鼠模型, 建模成功后荷瘤小鼠随机分为对照组、SCR7 组、顺铂组、SCR7+顺铂组; 饲养 24 d 后, 观察比较各组荷瘤小鼠肿瘤质量、瘤体体积的变化, 计算肿瘤抑制率; 苏木精-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察瘤体组织细胞形态学变化; 原位末端标记法 (*in situ* end labeling, TUNEL) 检测乳腺癌肿瘤组织的凋亡; 采用 Western blot 检测 X 射线修复交叉互补蛋白 1 (X-ray repair cross complementing 1, XRCC1)、多聚 (ADP 核糖) 聚合酶 1 [poly (adp ribose) polymerase 1, PARP1] 蛋白表达。**结果:**联合组细胞增殖抑制率均高于对照组 ( $P<0.05$ ), 且随 SCR7 质量浓度增大呈逐渐升高趋势 ( $P<0.05$ )。体内动物实验发现: 相较于对照组, SCR7 组、顺铂组、SCR7+顺铂组中的乳腺癌肿瘤体积、瘤重减小 ( $P<0.05$ ), 其肿瘤抑制率分别是 32%、40%、81%; SCR7+顺铂组较顺铂组减少更明显 ( $P<0.05$ ), 且小鼠体质量与 SCR7 组、顺铂组相比无明显差异 ( $P>0.05$ ); HE 染色观察干预组肿瘤组织均呈现明显形态学改变, 其中 SCR7+顺铂组肿瘤细胞退变变化最明显; TUNEL 染色显示 SCR7+顺铂组肿瘤细胞凋亡最为严重, 可见大量红色细胞凋亡; Western blot 检测发现, SCR7+顺铂组 XRCC1、PARP1 蛋白表达均明显低于其他组, 差异均有统计学意义 ( $P<0.05$ )。**结论:**SCR7 在体内外对三阴乳腺癌顺铂化疗均有增敏作用。

**【关键词】**SCR7; 三阴性乳腺癌; 顺铂; 化疗增敏; X 射线修复交叉互补蛋白 1; 多聚 (ADP 核糖) 聚合酶 1

**【中图分类号】**737.9

**【文献标志码】**A

**【收稿日期】**2022-06-10

Study on the sensitizing effect of SCR7 on cisplatin chemotherapy  
in triple-negative breast cancerQi Ye<sup>1</sup>, Pan Haiting<sup>2</sup>, Wang Xiumei<sup>1</sup>

(1. Department of Internal Oncology, People's Hospital of Inner Mongolia Medical University; 2. Teaching and Research Section of Immunology, School of Basic Medical Sciences, Inner Mongolia Medical University)

**【Abstract】Objective:** To investigate the sensitizing effect of SCR7 on cisplatin chemotherapy in triple-negative breast cancer (TNBC). **Methods:** MDA-MB-231 cells of TNBC were selected and divided into blank control group, 10  $\mu\text{mol/L}$  cisplatin control group and combined group (10  $\mu\text{mol/L}$  cisplatin + 10, 20 and 40  $\mu\text{mol/L}$  SCR7). CCK-8 method was used to detect cell activity and calculate cell proliferation inhibition rate. A TNBC mice model was constructed by using TNBC MDA-MB-231 cells. The nude mice were randomly divided into control group, SCR7 group, cisplatin group and SCR7+cisplatin group. After 24 days of feeding, the changes of mass and tumor volume of tumor-bearing mice in all groups were observed and compared, and the tumor inhibition rate was calculated. Morphological changes of tumor cells were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The apoptosis of tumor cells was detected by *in situ* end labeling (TUNEL) method, and the expressions of X-ray repair cross complementing 1 (XRCC1) and poly (ADP-ribose) polymerase 1 (PARP1) proteins were detected by Western blot. **Results:** The cell proliferation inhibition rate in the combined group was higher than that in the control group ( $P<0.05$ ), and it was gradually increased with the increase of SCR7 concentration ( $P<0.05$ ). Animal experiments *in vivo* found: compared with the control group, the tumor volume and tumor weight of breast cancer in SCR7 group, cisplatin group and SCR7+cisplatin group decreased ( $P<0.05$ ), and the tumor inhibition rates were 32%, 40% and

81%, respectively. The SCR7+cisplatin group showed a more significant reduction than SCR7 group and cisplatin group ( $P<0.05$ ), but there was no significant difference in mouse body weight compared to the cisplatin group ( $P>0.05$ ). The tumor tissues in the intervention groups showed obvious morphological changes by HE staining, among which the tumor cells in the SCR7+cisplatin group showed the most obvious degenerative changes. TUNEL staining showed

作者介绍: 祁 冶, Email: qyiscool2021@163.com,

研究方向: 肿瘤学。

通信作者: 王秀梅, Email: wangxiumei75@163.com。

基金项目: 第十一批草原英才团队—三阴性乳腺癌耐药突破资助项目  
(编号: DC2100001472)。

优先出版: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20230218.1850.006.html>  
(2023-02-20)

that the tumor cells in the SCR7+cisplatin group had the most serious apoptosis, and a large number of red apoptotic cells were seen. Western blotting showed that the protein expressions of XRCC1 and PARP1 in SCR7+cisplatin group were significantly lower than those in other groups, and the differences were statistically significant ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** SCR7 has sensitizing effect on cisplatin chemotherapy for TNBC *in vivo* and *in vitro*.

**【Key words】** SCR7; triple-negative breast cancer; cisplatin; chemosensitization; X-ray repair cross complementary 1; poly (ADP ribose) polymerase 1

三阴性乳腺癌 (triple-negative breast cancer, TNBC) 是指癌细胞雌激素受体 (estrogen receptor, ER)、孕激素受体 (progesterone receptor, PR) 和人表皮生长因子受体-2 (human epidermal growth factor receptor-2, HER-2) 均为阴性的一种特殊乳腺癌, 约占所有乳腺癌的 15%<sup>[1]</sup>。相较于其他类型的乳腺癌, TNBC 具有发病早、恶性程度高、侵袭性强、进展快、预后差的特点<sup>[2]</sup>。TNBC 的临床治疗为系统治疗, 随着疾病的进展, 化疗效果不尽如人意。顺铂 (cisplatin, DDP) 是治疗 TNBC 的重要化疗药物。DDP 是一类烷化剂的金属铂类化合物, 通过与细胞的 DNA 结合, 形成链内或链间交联, 导致 DNA 双链断裂损伤, 达到抗肿瘤作用<sup>[3]</sup>。虽然 DDP 对 TNBC 的治疗具有较好的疗效, 但是随着治疗时间延长, 易发生耐药性, 提高机体对 DDP 的化疗敏感性对 TNBC 的临床治疗具有重大意义。

多聚 (ADP 核糖) 聚合酶 1 [poly (ADP-ribose) polymerase 1, PARP1] 是 PARP 家族的主要成员, 广泛表达于真核生物中, 是 DNA 损伤的主要修复酶, 对维持 DNA 双链结构和基因组的稳定性起至关重要的作用<sup>[4]</sup>。X 射线修复交叉互补蛋白 1 (X-ray repair cross complementing 1, XRCC1) 是一种连接蛋白, 可以通过与 PARP1 结合形成聚合体, 参与 DNA 断裂修复和碱基切除修复<sup>[5]</sup>。PARP1 和 XRCC1 是同源末端修复通路上的 2 个关键蛋白, 该通路是非同源末端连接 (non-homologous end joining, NHEJ) 修复通路的备选通路, 两者均是 DNA 损伤修复的必要途径。SCR7 是一种小分子非同源 DNA 末端连接抑制剂, 可以抑制甚至消除 NHEJ 修复通路, 被认为是 NHEJ 途径生化抑制的首选分子<sup>[6]</sup>。

虽有研究发现 SCR7 在肿瘤放化疗增敏方面有着不错的表现<sup>[7]</sup>, 但目前尚无关于 SCR7 联合化疗在三阴性乳腺癌治疗方面的报道。本研究首次探究 SCR7 联合顺铂对三阴性乳腺癌治疗作用, 确定两者是否在抑制肿瘤生长方面具有协同作用, 并探索其联合治疗的疗效, 旨在为治疗三阴性乳腺癌化疗增敏提供新的思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要细胞、动物及试剂

1.1.1 实验样本 人乳腺癌 MDA-MB-231 细胞购于中国科学院细胞库, SPF 级 BALB/c-nu 雌性裸鼠, 5~6 周龄, 体质量 17~20 g, 购于南方模式生物科技有限公司, 许可证号: SCXK (沪) 2019-0002。本研究符合内蒙古医科大学实验动物伦理委员会制定的伦理学标准, 动物实验在内蒙古医科大学 SPF 级实验动物中心完成。

1.1.2 主要试剂 SCR7 购于美国 GLP BIO 公司 (GC14335); 顺铂购于美国 MREDA 公司 (M038061); DMEM 培养基、胎牛血清、胰酶消化液购于美国 Gibco 公司 (11965084、10099141、25300054); 基质胶 Matrigel 购于美国赛默飞公司 (A1413301); PBS 购于北京索莱宝科技有限公司 (P1020); 苏木精染液购于美国 Sigma 公司 (H3136); 伊红染液购于武汉博尔夫生物公司 (B0001); TUNEL 染液购于美国赛默飞公司 (C10625); 抗体 Anti-PARP1 antibody、Anti-XRCC1 antibody 兔二抗 GAPDH 购于英国 Abcam 公司 (ab191217、ab129267、ab8245)。

1.1.3 主要仪器 CO<sub>2</sub> 培养箱 (美国 Thermo 公司); 细胞计数仪、多功能酶标仪 (美国 Thermo 公司); 成像系统 (美国伯乐公司); 超净工作台 (美国 Thermo 公司); 荧光倒置显微镜 (日本奥林巴斯公司); 光学显微镜 (上海炳宇光学仪器有限公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养 采用含有 100 U/mL 青霉素-链霉素和 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基对 TNBC MDA-MB-231 细胞进行培养, 培养条件为 37℃、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养, 传至 3 代左右后, 取处于对数生长期的细胞进行后续试验。

1.2.2 CCK-8 法检测细胞活性 取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞接种于 96 孔板中, 每孔 10 000 个, 每组设 5 个复孔, 培养 24 h。将培养的细胞分为空白对照组、顺铂对照组、联合 1 组、联合 2 组、联合 3 组。顺铂对照组加入 10 μmol/L 顺铂, 同时将 10 μmol/L 顺铂分别与 0、20 和 40 μmol/L SCR7 联合应用, 分为联合 1 组 (10 μmol/L 顺铂+10 μmol/L SCR7)、联合 2 组 (10 μmol/L 顺铂+20 μmol/L SCR7)、联合 3 组 (10 μmol/L 顺铂+40 μmol/L SCR7)。每组分别在培养 24 h、48 h、72 h 时加入 10 μL CCK-8 震荡混匀, 孵育 1 h, 采用酶标仪检测 450 nm 处的光密度 (optical density, OD) 值, 细胞增殖抑制率 = (1 - 实验组 OD 值 / 对照组 OD 值) × 100%。

1.2.3 荷瘤鼠模型的建立 5~6 周龄 SPF 级 BALB/c Nude 裸鼠 24 只,适应性培养 3 d,MDA-MB-231 传至 2 代后,取对数生长期常规消化计数,重悬于 PBS 中,进行细胞计数调整细胞浓度  $1 \times 10^8$  个/mL,按照 1:1 的比例加入基质胶,取 0.2 mL 细胞悬液(活细胞总数约为  $1 \times 10^7$  个)注射至小鼠前肢右腋皮下处,所有操作在无菌条件下进行,移植后在 SPF 环境中继续饲养,2 周后观察成瘤情况。以在接种部位发现肿瘤结节、手触质地较硬为皮下成瘤成功。

1.2.4 分组及给药 将建模成功的荷瘤裸鼠随机分为对照组、SCR7 组、顺铂组、顺铂+SCR7 组,每组 6 只。按试剂说明书配置 SCR7 溶液:将 SCR7 溶于 2% DMSO+30% PEG300+5% Tween 80+ddH<sub>2</sub>O,每 2 d 腹腔注射 1 次,小鼠注射浓度约为 13  $\mu$ mol/L。SCR7 组给予 10 mg/kg SCR7 腹腔注射处理,顺铂组给予 50 mg/kg 顺铂腹腔注射处理,每 2 d 进行 1 次注射<sup>[8]</sup>;顺铂+SCR7 组给予 50 mg/kg 顺铂和 10 mg/kg SCR7。对照组给予等量生理盐水处理。

1.2.5 荷瘤鼠乳腺癌体积、瘤重测定 从注射细胞开始,小鼠约在接种位置第 7 天出现肉眼可见肿瘤,第 14 天肿瘤大小约 100 mm<sup>3</sup>(本实验接瘤成功率为 100%)。每 3 d 称量体质量,成瘤后立即用游标卡尺测量移植瘤长径( $L$ )和短径( $d$ ),计算移植瘤体积  $V(V=L \times d^2/2)$ ,第 1 次给药后每隔 3 d 测 1 次,制作小鼠乳腺癌移植瘤生长曲线。颈椎脱臼处死小鼠,剥离肿瘤组织并称重,根据公式  $(1-\text{药物组平均瘤质量}/\text{模型组平均瘤质量}) \times 100\%$  计算肿瘤抑制率。

1.2.6 HE 染色观察肿瘤组织的病理学改变 将部分肿瘤组织置于 4% 多聚甲醛溶液中固定 1 d,石蜡包埋、切片,常规 HE 染色,后切片、脱水、透明、封片,光学显微镜观察肿瘤组织细胞形态学变化。

1.2.7 TUNEL 法检测肿瘤细胞凋亡 石蜡切片常规脱蜡,梯度乙醇水合,PBS 洗涤。配试剂工作液:5  $\times$  Equilibration Buffer 按 1:4 比例混合到纯水中,此液为 tunel 平衡液,TdT 酶和 dUTP mix/Cy3 Labeling Mix 以及 5  $\times$  Equilibration Buffer 按比例混合到纯水中,此液为 tunel 工作液;按片子数量和组织大小取适量剂 tunel 平衡液,平衡 10~30 min,然后倒去平衡缓冲液,并加入 tunel 工作液。37℃ 恒温箱孵育 2 h,PBS 洗涤后,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole,DAPI)复染细胞核,室温避光 10 min,冲洗后封片,置于荧光显微镜 400 倍下观察,选择 5 个具有代表性的视野,计算 1 000 个细胞中阳性细胞所占的百分比,即凋亡指数。

1.2.8 Western blot 检测 XRCC1、PARP1 蛋白表达 称取乳腺癌肿瘤组织,按试剂盒说明书加入适量组织蛋白提取裂解液,迅速置冰上研磨、匀浆;在 4℃、12 000 r/min 离心 10 min,提取总蛋白。二喹啉甲酸法测定蛋白浓度,经聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白质,转膜,5% 脱脂牛奶室温封闭 3 h,加入一抗,4℃ 过夜,洗膜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗,室温孵育 2 h,通过凝胶成像分析系统检测蛋白表达,以 GAPDH 为内参,采用 Image J 软件计算每个条带的光密度值。

### 1.3 统计学处理

所有数据使用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料

采用均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,使用独立样本  $t$  检验进行 2 组独立样本的数据比较,3 组间比较采用方差分析,组间采用 LSD- $t$  检验进行两两比较。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 细胞增殖抑制结果

CCK-8 结果显示,顺铂对照组和联合 1 组、联合 2 组、联合 3 组随着孵育时间增长,抑制率升高,并在作用 72 h 时抑制效果最强,抑制率分别为  $(25.44 \pm 3.61)\%$ 、 $(49.40 \pm 2.65)\%$ 、 $(60.5240 \pm 1.68)\%$ 、 $(81.00 \pm 1.09)\%$ ,因此选此时间点做后续研究。方差分析 4 组细胞增殖抑制率的差异具有统计学意义( $F=445.670, P=0.000$ )。两两比较结果显示,联合组细胞增殖抑制率均高于顺铂对照组( $P=0.000$ ),且随 SCR7 质量浓度增大呈逐渐升高趋势( $P=0.000$ )。详见图 1。

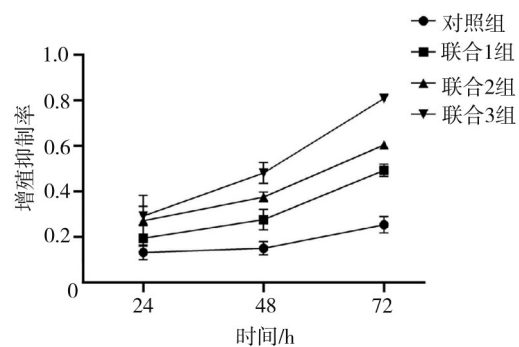


图1 各组细胞增殖抑制率结果

### 2.2 荷瘤鼠质量变化

随着培养时间延长,各组小鼠体质量均有增长,其中对照组体质量最重,SCR7+顺铂组体质量最轻。各组裸鼠肤色正常,饮食可,活动无异常,精神状态良好。在第 24 天,对照组,SCR7 组,顺铂组,SCR7+顺铂组荷瘤鼠体质量分别为  $(17.02 \pm 1.45)$  g、 $(16.45 \pm 1.55)$  g、 $(16.77 \pm 1.55)$  g、 $(16.53 \pm 1.44)$  g 方差分析 4 组中荷瘤鼠体质量差异不具有统计学意义( $F=0.683, P=0.520$ ),由此可见相较于 SCR7 组和顺铂组,SCR7+顺铂并没明显增加对荷瘤鼠的副作用。详见图 2。

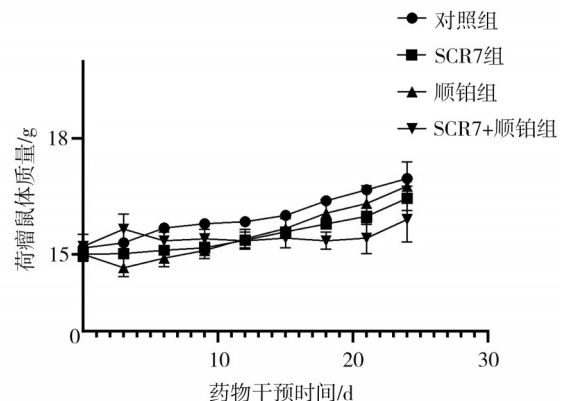


图2 各组小鼠体质量变化



### 2.3 肿瘤体积变化

对荷瘤鼠药物干预 12 d 后, 方差分析 4 组荷瘤鼠肿瘤体积, 差异具有统计学意义 (d12:  $F=27.507$ ,  $P=0.000$ ; d15:  $F=49.209$ ,  $P=0.000$ ; d18:  $F=59.547$ ,  $P=0.000$ ; d21:  $P=40.295$ ,  $P=0.000$ ; d24:  $F=38.855$ ,  $P=0.000$ )。同一时间两两比较显示, 各给药组肿瘤体积均明显小于对照组 (均  $P=0.000$ )。在给药组中, SCR7+顺铂组的肿瘤体积明显小于 SCR7 组和顺铂组 (均  $P=0.000$ ), 见图 3。

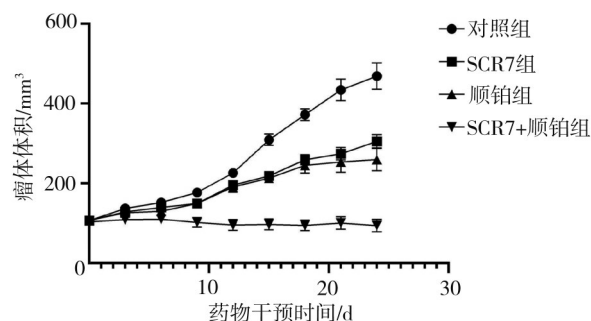


图3 各组小鼠肿瘤体积变化

### 2.4 各组荷瘤鼠肿瘤抑制率比较

由表 1 可知, 对照组、SCR7 组、顺铂组、SCR7+顺铂组质量分别为  $(0.47 \pm 0.08)$  g、 $(0.32 \pm 0.05)$  g、 $(0.28 \pm 0.07)$  g、 $(0.09 \pm 0.04)$  g, 方差分析 4 组质量, 差异具有统计学意义 ( $F=41.820$ ,  $P=0.000$ )。两两比较发现, SCR7 组、顺铂组和 SCR7+顺铂组的平均瘤重均低于对照组 ( $P=0.000$ ,  $P=0.001$ ,  $P=0.000$ ), 肿瘤抑制率分别是 32%、40%、81%。给药组中 SCR7+顺铂组的瘤重明显低于 SCR7 组和顺铂组 (均  $P=0.000$ ), SCR7+顺铂组的肿瘤抑制率高于 SCR7 组和顺铂组, 这一结果与荷瘤鼠肿瘤体积变化差异一致。

表 1 各给药组对乳腺癌移植瘤重量的影响

组别	瘤重/g	肿瘤抑制率/%
对照组	$0.47 \pm 0.08$	0
SCR7 组	$0.32 \pm 0.05^a$	32
顺铂组	$0.28 \pm 0.07^a$	40
SCR7+顺铂组	$0.09 \pm 0.04^{abc}$	81

注: a, 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b, 与 SCR7 组比较,  $P < 0.05$ ; c, 与顺铂组比较,  $P < 0.05$

### 2.5 HE 法检测各组肿瘤组织病理形态

HE 法检测检测结果显示, 对照组中, 肿瘤组织细胞形态各异, 呈现不规则的团块状和条状, 肿瘤细胞异形明显, 细胞核增大, 核异性明显。SCR7 组、顺铂组和 SCR7+顺铂组中肿瘤组织出现不同程度的肿瘤细胞退变, 并可见细胞核碎片, 密度变小。其中 SCR7+顺铂组肿瘤细胞退变最明显。详见图 4。

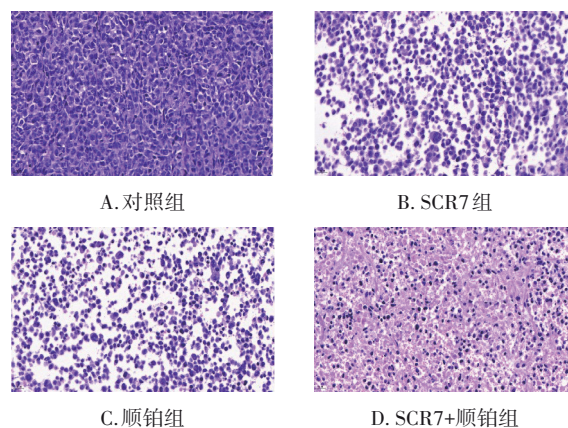
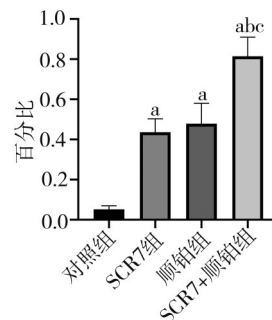
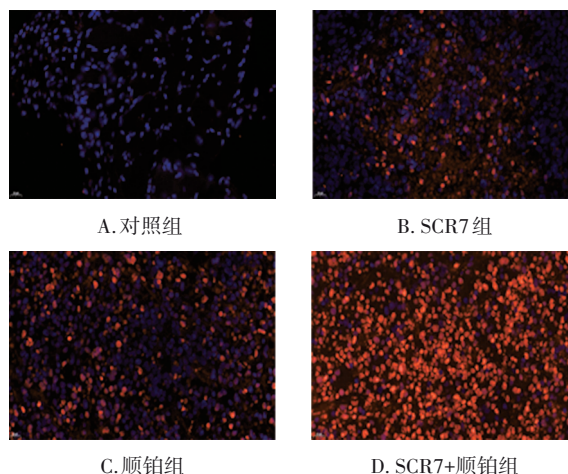


图4 各组肿瘤组织病理形态 (HE, 400 ×)

### 2.6 TUNEL 法检测细胞凋亡

TUNEL 法检测结果显示, 在荧光显微镜下可见肿瘤组织细胞核被染成红色, 此为凋亡的乳腺癌细胞, 未凋亡细胞则为蓝色。对照组、SCR7 组、顺铂组、SCR7+顺铂组的凋亡指数分别为  $(5.20 \pm 1.79)\%$ 、 $(43.60 \pm 6.7)\%$ 、 $(47.88 \pm 10.18)\%$ 、 $(81.47 \pm 9.49)\%$ , 方差分析 4 组凋亡指数, 差异具有统计学意义 ( $F=96.543$ ,  $P=0.000$ )。两两比较发现, 相较于对照组, SCR7 组、顺铂组和 SCR7+顺铂组的凋亡指数明显升高 (均  $P=0.000$ ), 且联合组凋亡指数高于 SCR7 组和顺铂组 ( $P=0.000$ ,  $P=0.001$ )。结果提示, 相较于单药, SCR7 联合顺铂给药更能诱导肿瘤细胞凋亡。具体见图 5。

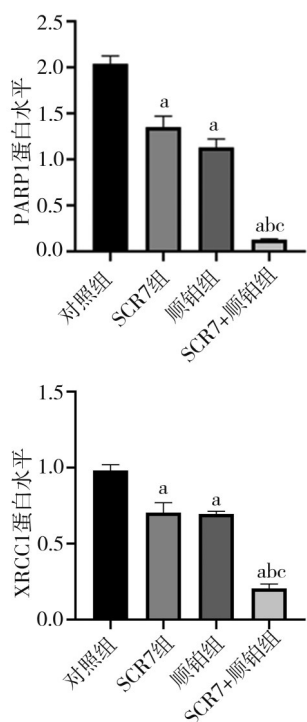


注: a, 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b, 与 SCR7 组比较,  $P < 0.05$ ; c, 与顺铂组比较,  $P < 0.05$

图5 TUNEL 法检测各组细胞凋亡情况 (TUNEL, 400 ×)

## 2.7 Western blot 检测 XRCC1、PARP1 蛋白表达

Western blot 结果显示,对照组、SCR7 组、顺铂组、SCR7+顺铂组的 XRCC1 蛋白表达 OD 值分别为  $0.983 \pm 0.037$ 、 $0.703 \pm 0.065$ 、 $0.696 \pm 0.017$ 、 $0.205 \pm 0.029$ , 方差分析 4 组 OD 值, 差异具有统计学意义 ( $F=372.216, P=0.000$ )。对照组、SCR7 组、顺铂组、SCR7+顺铂组的 PARP1 蛋白表达 OD 值分别为  $2.038 \pm 0.086$ 、 $1.352 \pm 0.119$ 、 $1.130 \pm 0.091$ 、 $0.127 \pm 0.010$ 。方差分析 4 组 OD 值, 差异具有统计学意义 ( $F=503.020, P=0.000$ )。两两比较发现, 与对照组相比, SCR7 组、顺铂组、SCR7+顺铂组的 XRCC1、PARP1 蛋白表达均明显下降 (均  $P=0.000$ )。给药组之间, SCR7+顺铂的 XRCC1、PARP1 蛋白表达量较 SCR7 组和顺铂组明显减少 (均  $P=0.000$ ), 详见图 6。



注: a, 与对照组比较,  $P < 0.05$ ; b, 与 SCR7 组比较,  $P < 0.05$ ; c, 与顺铂组比较,  $P < 0.05$

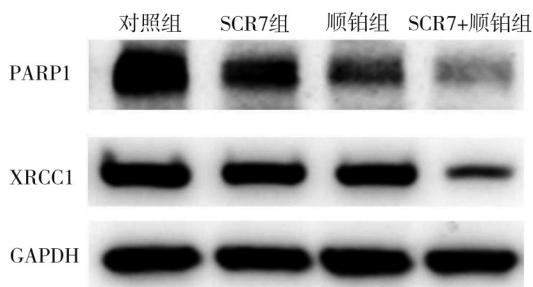


图6 Western blot 检测 XRCC1、PARP1 蛋白表达

## 3 讨论

TNBC 的传统治疗效果欠佳。随着肿瘤进展到晚期,单纯的化疗并不能带来明显的效果改善,并

且常常导致化疗耐药的发生。如果能找到合适的靶点,通过靶向结合,增强顺铂对肿瘤细胞的杀伤作用,将对 TNBC 的临床治疗带来积极意义。

SCR7 是一种非同源 DNA 末端连接抑制剂, SCR7 能够阻断哺乳动物中主要的 DNA 双链断裂修复途径——非同源 DNA 末端连接 (non-homologous DNA terminal junction, NHEJ) 途径<sup>[9]</sup>, 即 SCR7 能够抑制 NHEJ 通路途径。国外研究报道, SCR7 能使癌细胞对化疗药物敏感, Gkotzamanidou M 等<sup>[10]</sup>的研究表明, 在多发性骨髓瘤细胞中, SCR7 联合美法仑相较于单用美法仑, 显示出更好的抑制效果。另一种化疗药物阿霉素与 SCR7 联合使用后, 对宫颈癌细胞产生的细胞毒性比单用阿霉素提高 15%~50%<sup>[11]</sup>。此外, 研究还发现 SCR7 可以抑制结直肠癌细胞系的 NHEJ 通路并一定程度逆转 HSP110 对奥沙利铂的耐药性<sup>[12]</sup>。因此, SCR7 和化疗药物的组合可能会在治疗 TNBC 方面具有极好潜力。Hu Z 等<sup>[13]</sup>在基因组编辑中发现, SCR7 处理能将转染细胞的靶向插入效率提高 3 倍, 进而提高 DNA 双链断裂效率。SCR7 对 DNA 连接酶 IV 具有高度选择性, 并可以与 DNA 连接酶 IV 的 DNA 结合域 (DNA binding domain, DBD) 发生特异性结合, 从而阻止其与断裂的染色质结合。因此, 抑制 DNA 连接酶 IV 依赖的 NHEJ 途径, 可以加强顺铂对 DNA 复制的干扰作用, 减少肿瘤生长<sup>[14]</sup>。

DNA 的修复和遗传密码的保存对正常的细胞功能至关重要。肿瘤细胞可以利用 DNA 修复途径对化疗产生耐药性。当 DNA 发生损伤时, XRCC1 和 PARP1 被激活, 其中 XRCC1 虽然无直接的催化作用, 但可以通过与 DNA 聚合酶  $\beta$ 、DNA 连接酶 III 和 PARP1 发生特异性结合形成复合体, 然后作为支架蛋白通过对碱基切除来修复损伤的 DNA。PARP1 是一种直接的 DNA 损伤修复酶, 被激活的 PARP1 可以直接介导 DNA 断链损伤修复。有研究发现具有 PARP1 基因缺陷的细胞因不能募集 XRCC1, 从而使断裂的 DNA 链无法再结合修复<sup>[15]</sup>。孙建兵<sup>[16]</sup>、刘芃菲<sup>[17]</sup>等报道 TNBC 患者 XRCC1、PARP1 阳性率明显高于非 TNBC 患者。SCR7 虽然不是 XRCC1、PARP1 的直接抑制剂, 但 NHEJ 通路与 XRCC1/PARP1 通路有千丝万缕的联系。Xiong A 等<sup>[18]</sup>在卵巢癌细胞体外培养中发现抑制 NHEJ 通路能提高 PARP 抑制剂的敏感性, Park Y 等<sup>[19]</sup>在对有 NHEJ 基因缺陷的子宫内膜细胞进行电离辐射诱导 DNA 断裂后, 发现其对 PARP 抑制具有高度敏感性, 进而影响 XRCC1 的基因表达, 最终抑制 DNA 损伤修复。

本研究的体外细胞实验结果发现,SCR7 与顺铂联合使用能明显提高顺铂对 MDA-MB-231 细胞的抑制率。进一步用 TNBC 移植瘤小鼠模型来观察 SCR7 和顺铂的联合抗肿瘤作用,发现 SCR7 和顺铂均可明显抑制小鼠肿瘤的生长,但联合组肿瘤体积和质量最小,且小鼠体质量与 SCR7 组、顺铂组相比无明显差异。HE 染色结果证实了这一结果,光镜下观察各组肿瘤组织发现各给药组中肿瘤组织出现了不同程度的肿瘤细胞退变,并可见细胞核碎片,密度变小。其中 SCR7+顺铂组肿瘤细胞退变最明显。TUNEL 检测乳腺癌组织也发现 SCR7+顺铂组中可见大量凋亡细胞。上述结果说明在体内,SCR7 能明显提高顺铂对乳腺癌组织的抑制作用,加强对癌细胞的杀伤作用,这一结果令人鼓舞。本研究还检测了 TNBC 小鼠肿瘤组织中 XRCC1 和 PARP1 的表达,Western blot 结果发现 SCR7 组、顺铂组和 SCR7+顺铂组中 XRCC1、PARP1 蛋白表达明显低于对照组;在给药组的对比中发现,SCR7+顺铂组中 XRCC1、PARP1 蛋白表达明显低于 SCR7 组和顺铂组。这一结果说明 SCR7 联合顺铂在抑制肿瘤生长方面有协同效应,优于单独使用。

综上所述,本实验证实了 SCR7 对 TNBC 铂化疗具有增敏作用,为 TNBC 的化疗增敏提出了新的理论方向。然而 SCR7 联合顺铂作用的具体分子机制,以及相关信号通路等问题,有待进一步研究探讨。

## 参 考 文 献

- [1] Lee JS, Yost SE, Yuan Y. Neoadjuvant treatment for triple negative breast cancer: recent progresses and challenges[J]. *Cancers*, 2020, 12(6):1404.
- [2] 廖雪莲,曾育,王小毅. PSME3-NF- $\kappa$ B 途径介导三阴性乳腺癌的侵袭与转移[J]. *重庆医科大学学报*, 2019, 44(2):169-176.
- [3] Liao XL, Zeng Y, Wang XY. Invasion and metastasis of triple-negative breast cancer mediated by the PSME3-NF- $\kappa$ B pathway[J]. *J Chongqing Med Univ*, 2019, 44(2):169-176.
- [4] Huang J, Liu C, Duan S, et al. Gigantol inhibits proliferation and enhances DDP-induced apoptosis in breast-cancer cells by downregulating the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Life Sci*, 2021, 274:119354.
- [5] Spiegel JO, Van Houten B, Durrant JD. PARP1: structural insights and pharmacological targets for inhibition[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2021, 103:103125.
- [6] Pan JW, Huang G, Yin ZY, et al. Circular RNA FLNA acts as a sponge of miR-486-3p in promoting lung cancer progression via regulating XRCC1 and CYP1A1[J]. *Cancer Gene Ther*, 2022, 29(1):101-121.
- [7] Ray U, Vartak SV, Raghavan SC. NHEJ inhibitor SCR7 and its different forms: promising CRISPR tools for genome engineering[J]. *Gene*, 2020, 763:144997.
- [8] Manjunath M, Choudhary B, Raghavan SC. SCR7, a potent cancer therapeutic agent and a biochemical inhibitor of nonhomologous DNA end-joining[J]. *Cancer Rep (Hoboken)*, 2021, 4(3):e1341.
- [9] Yang MD, Sun Y, Zhou WJ, et al. Resveratrol enhances inhibition effects of cisplatin on cell migration and invasion and tumor growth in breast cancer MDA-MB-231 cell models *in vivo* and *in vitro*[J]. *Molecules*, 2021, 26(8):2204.
- [10] Wakita M, Takahashi A, Sano O, et al. A BET family protein degrader provokes senolysis by targeting NHEJ and autophagy in senescent cells[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):1935.
- [11] Gkotzamanidou M, Terpos E, Bamia C, et al. DNA repair of myeloma plasma cells correlates with clinical outcome: the effect of the nonhomologous end-joining inhibitor SCR7[J]. *Blood*, 2016, 128(9):1214-1225.
- [12] Kumar A, Bhatkar D, Jahagirdar D, et al. Non-homologous end joining inhibitor SCR-7 to exacerbate low-dose doxorubicin cytotoxicity in HeLa cells[J]. *J Cancer Prev*, 2017, 22(1):47-54.
- [13] Causse SZ, Marcion G, Chanteloup G, et al. HSP110 translocates to the nucleus upon genotoxic chemotherapy and promotes DNA repair in colorectal cancer cells[J]. *Oncogene*, 2019, 38(15):2767-2777.
- [14] Hu Z, Shi ZY, Guo XG, et al. Ligase IV inhibitor SCR7 enhances gene editing directed by CRISPR-Cas9 and ssODN in human cancer cells[J]. *Cell Biosci*, 2018, 8:12.
- [15] Kopa P, Maciej A, Pastwa E, et al. DNA double-strand breaks repair inhibitors potentiates the combined effect of VP-16 and CDDP in human colorectal adenocarcinoma (LoVo) cells[J]. *Mol Biol Rep*, 2021, 48(1):709-720.
- [16] Ghosh R, Roy S, Kamyab J, et al. Common and unique genetic interactions of the poly(ADP-ribose) polymerases PARP1 and PARP2 with DNA double-strand break repair pathways[J]. *DNA Repair*, 2016, 45:56-62.
- [17] 孙建兵,吴海龙,唐璇,等. XRCC1 基因在乳腺癌中表达的临床意义及其细胞与分子机制[J]. *肿瘤*, 2019, 39(1):30-40.
- [18] Sun JB, Wu HL, Tang X, et al. Clinical significance of XRCC1 gene expression in human breast cancer and its cell and molecular mechanisms[J]. *Tumor*, 2019, 39(1):30-40.
- [19] 刘芃菲,卓钟灵,刘畅,等. 乳腺癌多通路基因检测及突变情况分析[J]. *中华检验医学杂志*, 2021, 44(5):394-401.
- [20] Liu PF, Zhuo ZL, Liu C, et al. Detection of multi-pathway genes and analysis of gene mutations in breast cancer[J]. *Chin J Lab Med*, 2021, 44(5):394-401.
- [21] Xiong A, Gokyer D, Shapiro-Franklin N, et al. The role of AKT and NHEJ pathways in the sensitivity of BRCA2-mutated epithelial ovarian cancer to PARP inhibitors[J]. *Gynecol Oncol*, 2020, 159:146.
- [22] Park Y, Chui MH, Suryo Rahmanto Y, et al. Loss of ARID1A in tumor cells renders selective vulnerability to combined ionizing radiation and PARP inhibitor therapy[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(18):5584-5594.

(责任编辑:唐秋姗)