

内质网相关降解通路小分子抑制剂与传统抗癌药物联合运用对肿瘤细胞的抑制作用

樊倩倩 李 闯 王 林

摘 要 **目的** 探究内质网相关降解通路 (endoplasmic reticulum - associated degradation, ERAD) 小分子抑制剂 Eeyarestatin I (Eer I) 与传统抗癌药物联合运用对肿瘤细胞的抑制作用。**方法** 不同剂量的 Eer I 处理结肠癌 SW480 和胰腺癌 PANC - 1 细胞, MTS 法检测细胞增殖, 流式细胞仪检测细胞凋亡率; Eer I 单独或与抗癌药物顺铂 (cisplatin, CDDP) 和硼替佐米 (bortezomib, BTZ) 联用处理 SW480 和 PANC - 1 细胞, Western blot 法检测细胞中 Poly ADP - ribose polymerase (PARP) 及其剪切体和糖调节蛋白 (GRP78/BiP) 的蛋白表达。**结果** Eer I 抑制 SW480 和 PANC - 1 细胞增殖, 促进细胞凋亡 ($P < 0.01$), 且呈剂量 - 效应关系; 联合用药的实验结果显示 Eer I 提高了 SW480 和 PANC - 1 细胞对 CDDP 和 BTZ 的敏感度 ($P < 0.01$); Western blot 法检测结果表明, 联合用药促进了 PARP 在 SW480 和 PANC - 1 细胞中的剪切, 同时 BTZ 处理可提高 BiP 蛋白的表达, 提示激活内质网应激 (endoplasmic reticulum stress, ERS) 反应。**结论** ERAD 通路抑制剂 Eer I 可明显增强传统抗癌药物 CDDP 和 BTZ 的抗癌活性, 这为抗癌新药研发及肿瘤耐药性逆转剂的研究提供了新的线索。

关键词 内质网相关蛋白降解通路 ERS 反应 p97 化疗治疗

中图分类号 R3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.05.007

Inhibitor of the Endoplasmic Reticulum - associated Degradation Pathway Combined with Conventional Chemotherapeutic Drugs Synergistically Prohibits Cancer Growth. Fan Qianqian, Li Chuang, Wang Lin. Department of Physiology, Institute of Basic Medical Sciences/Peking Union Medical School, Chinese Academy Medical School, Beijing 100005, China

Abstract **Objective** To characterise the inhibitory effect of Eer I, a small molecule targeting the key protein of the ERAD pathway, p97, alone or in combination with the traditional anticancer drugs on tumor cells. **Methods** The effect of Eer I singularly and combined with cisplatin (CDDP) or bortezomib (BTZ) on tumor cell proliferation and apoptosis was measured through MTS assay and flow cytometry. Western blot was used to detect the cleavage of PARP and GRP78 in SW480 and PANC - 1 cells after treatments. **Results** Eer I significantly inhibited cell proliferation and induced apoptosis of SW480 and PANC - 1 in a dose - dependent manner compared with the control group ($P < 0.01$). MTS assay and flow cytometry assay showed that the combination treatment remarkably enhanced the cytotoxic effects of CDDP and BTZ ($P < 0.01$). Western blot results demonstrated the combination treatment further enhanced the PARP cleavage, which was a marker of cell apoptosis. Interestingly, the expression of BiP, a marker for the unfolded protein response, was elevated after treatment of BTZ. **Conclusion** Eer I combined with other chemotherapeutic drugs significantly inhibits the growth of SW480 and PANC - 1, thus establishes p97 as a novel target in the treatment of colon and pancreatic cancer.

Key words Endoplasmic reticulum - associated degradation; Endoplasmic reticulum stress response; p97; Chemotherapy

内质网是维持细胞分泌通路的蛋白质稳态的主要细胞器, 当过量的未折叠或错误折叠的蛋白质在内质网中聚集时引发 ERS, 也称未折叠蛋白反应 (Unfolded protein response, UPR)^[1]。ERS 反应主要由内质网膜上的 3 个感应分子介导: IRE1 (inositol requiring enzyme 1)、PERK (PKR - like ER kinase 及 ATF6

(activating transcription factor 6, ATF6)。在正常生理状态下, 这 3 种蛋白与分子伴侣糖调节蛋白 78 (glucose - regulated protein 78, GRP78/BiP) 结合。UPR 发生时, BiP 与错误折叠的蛋白结合, 造成与 3 种感应分子的解离, 使 3 种感应分子活化, 并激活下游信号通路^[2]。UPR 主要通过内质网相关蛋白降解通路 (endoplasmic reticulum - associated degradation, ERAD) 来清除错误折叠蛋白^[3]。内质网相关蛋白降解通路将选定的错误折叠蛋白转运到细胞质中, 泛素化后被蛋白酶体识别并降解。ERAD 通路维持内质

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81372201)

作者单位: 100005 北京, 中国医学科学院基础医学研究所生理学系

通讯作者: 李闯, 电子信箱: js485@126.com; 王林, 电子信箱: lin.

wang@ibms.pumc.edu.cn

网的稳态,也是细胞保持正常生理功能的重要途径。越来越多的报道表明 ERAD 通路 & 肿瘤之间存在着密切关联^[4,5]。VCP(valosin-containing protein),在哺乳细胞中也称 p97,一种 AAA-类型的 ATP 酶,是 ERAD 通路中的重要功能分子,p97 在非小细胞肺癌、前列腺癌、胰腺癌、肝癌等肿瘤中高表达,与肿瘤的不良预后有关^[6-10]。因此,本研究探讨 p97 的特异性小分子抑制剂 Eer I 联合传统抗癌药物 CDDP 和 BTZ 对结肠癌 SW480 和胰腺癌 PANC-1 细胞系的抑制作用,为抗癌新药研发及肿瘤耐药性逆转剂的研究提供新的思路^[11-13]。

材料与方法

1. 主要试剂:结肠癌 SW480 细胞和胰腺癌 PANC-1 细胞由中国医学科学院细胞中心提供;DMEM 培养基、胎牛血清和胰酶购自 Hyclone 公司;兔抗人 PARP、兔抗人 PARP 剪切体、兔抗人 GAPDH、兔抗人 BiP、山羊抗鼠 IgG 二抗和山羊抗兔 IgG 二抗购自 CST 公司;鼠抗人 α -tubulin 购自 Santa Cruz 公司;BTZ 购自 Selleck Biochemicals 公司;CD-DP、Eer I 购自 EMDmillipore 公司;二甲基亚砜 DMSO 购自 Ameresco 公司;凋亡检测试剂盒购自 BD 公司;MTS 一步法细胞活力检测试剂盒购自 Promega 公司。

2. 方法:(1) MTS 一步法细胞增殖活性检测:结肠癌 SW480 和胰腺癌 PANC-1 细胞传代培养至第 4 代时,细胞消化后计数,重悬接种于 96 孔板,每孔 100 μ l 高糖培养基/5000 个细胞,置孵箱 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养。24h 后,在 96 孔板对应的孔中依次加入 0、1.25、2.5、5 及 10 μ mol/L 浓度的 Eer I (Eer I 储存液为 10mmol/L),0 μ mol/L 的实验对照组中加入 DMSO,每组设 4 个复孔,每孔 100 μ l DMEM 中含有相应浓度的 Eer I。48h 后,在 96 孔细胞培养板中每孔加入 20 μ l MTS 试剂,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 2h。在酶联免疫检测仪上读取波长为 490nm 处的吸光度值。以不含细胞的 DMEM 为空白对照孔,每一浓度测定所得的 490nm 处的吸光度值的平均值减去空白对照孔 490nm 处的吸光度值的平均值后,每组所得数据均除以 DMSO 组减去空白对照孔所得的数值再乘以 100% 即得到不同浓度的 Eer I 处理后,细胞活度的相对 DMSO 对照组的百分比。对于 Eer I 与顺铂或硼替佐米联合处理细胞的实验,结合已有文献报道,两株细胞所使用顺铂的作用浓度为 40 μ mol/L;而 SW480 细胞硼替佐

米的作用浓度为 40nmol/L, PANC-1 细胞硼替佐米的作用浓度为 600nmol/L。在加入 Eer I、顺铂或硼替佐米后的 0、12、24 及 48h 测定 490nm 处的吸光度值。后续数据处理同 Eer I 单独处理细胞的实验。重复实验至少 3 次,结果取均值。(2) 流式细胞术检测细胞凋亡:两株肿瘤系细胞在相应药物处理 24h 后,收集上清培养基,冷 PBS 洗两次,胰酶消化贴壁细胞,离心,调整细胞浓度为 1 $\times$ 10⁶ 细胞/毫升。后续步骤按照凋亡检测试剂盒说明进行操作。即取 1 $\times$ 10⁶ 细胞用 100 μ l 事先稀释好的 1 $\times$ 抗体结合缓冲液重悬,每 100 μ l 细胞悬液中加入 5 μ l FITC 标记的 Annexin V 抗体及 5 μ l PI,室温暗处孵育 15min,离心弃上清。冷 PBS 洗 3 次后,使用流式细胞仪检测,实验至少重复 3 次,结果取平均值。Eer I 与顺铂或硼替佐米联合处理细胞中,顺铂及硼替佐米的使用浓度同细胞增殖实验。(3) Western blot 法检测蛋白表达:两株肿瘤系细胞在相应药物处理 24h 后,收集细胞,利用 BCA 法定量蛋白浓度,10% SDS-PAGE 电泳,5% 脱脂奶粉室温摇床封闭 1h,兔抗人 PARP (1:1000),兔抗人 GRP78/BiP (1:1000),鼠抗人 α -tubulin (1:2000),兔抗人 GAPDH (1:20000) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;TBST 洗 5 遍后,山羊抗鼠二抗 (1:5000),山羊抗兔二抗 (1:2000) 室温孵育 1h,TBST 洗 5 遍后,暗室显影。Image J 软件分析系统测定各自目的条带的平均灰度值,并以 Cleaved PARP 与 α -tubulin, BiP 与 GAPDH 的灰度比值(相对 A 值)表示目的条带相对强度。

3. 统计学方法:所有数据用均数 $\pm$ 标准差表示($\bar{x}\pm s$)表示。采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计学分析,两组间均数比较采用独立样本 *t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. p97 小分子抑制剂 Eer I 对结肠癌和胰腺癌细胞的增殖抑制及凋亡诱导作用:已有文献报道 p97 与结肠癌的预后及非小细胞肺癌的进展有关,因此本实验用 p97 的小分子抑制剂 Eer I 处理结肠癌 SW480 和胰腺癌 PANC-1 细胞来验证 Eer I 对肿瘤的抑制作用。MTS 检测显示不同浓度的 Eer I 作用于结肠癌 SW480 细胞和胰腺癌 PANC-1 细胞 48h,便产生显著的增殖抑制作用($P<0.01$,图 1A、B)。同时,凋亡检测实验结果表明,随着 Eer I 浓度的增加,两种癌细胞的凋亡率上升。5 μ mol/L 时,两种癌细胞的凋亡率达 50% 以上($P<0.01$,图 1C、D)。

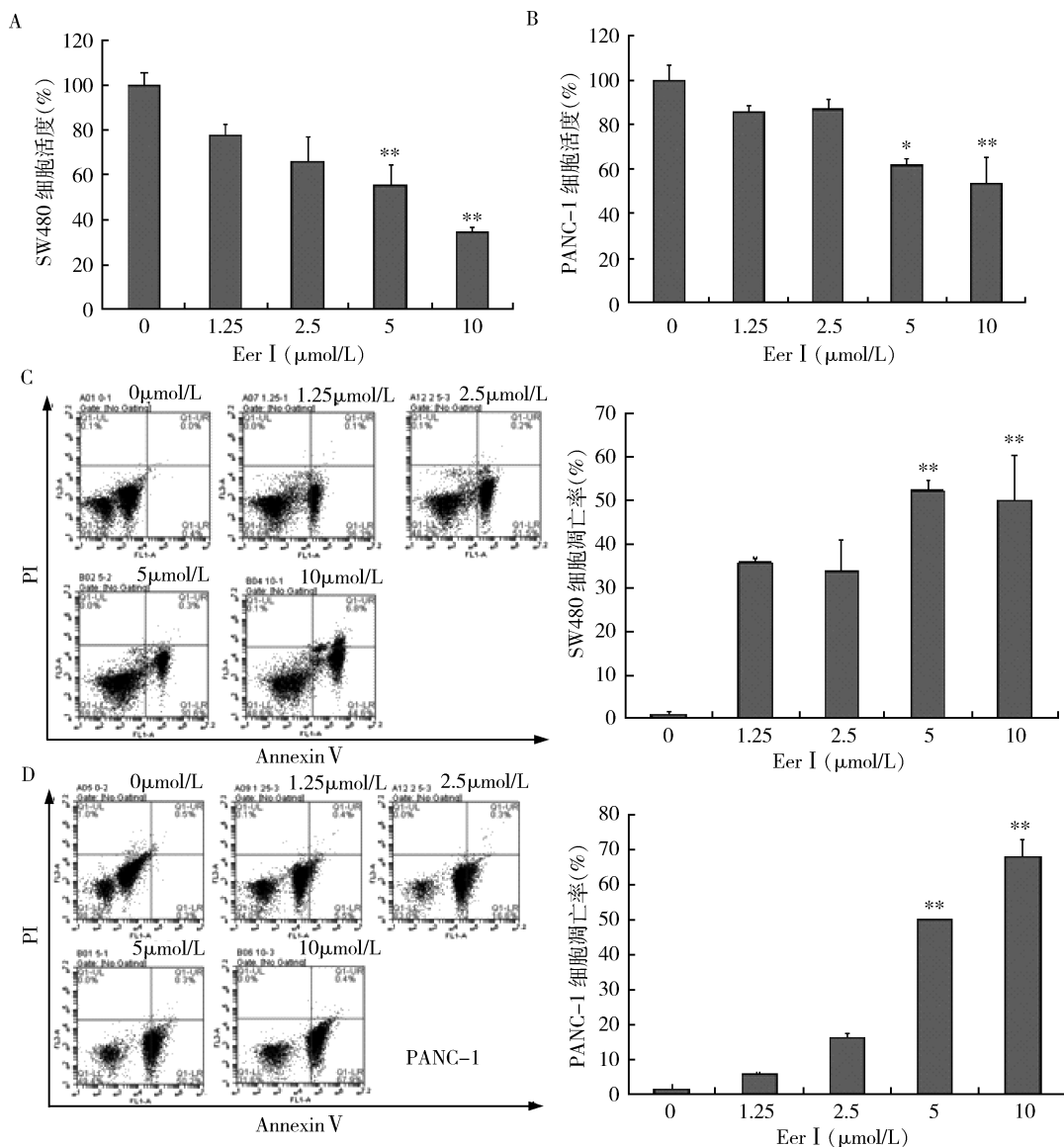


图 1 Eer I 对结肠癌 SW480 及胰腺癌 PANC-1 细胞的增殖抑制作用和凋亡诱导作用

A. Eer I 对 SW480 细胞的增殖抑制作用; B. Eer I 对 PANC-1 细胞的增殖抑制作用; C. Eer I 对 SW480 细胞的凋亡诱导作用;

D. Eer I 对 PANC-1 细胞的凋亡诱导作用; 与 $0\mu\text{mol/L}$ 相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2. Eer I 与顺铂或硼替佐米联合作用对肿瘤细胞的增殖抑制作用: 已有研究表明, 传统临床抗肿瘤化疗药物顺铂及硼替佐米均可以通过诱导癌细胞中 ERS 反应而达到其抗肿瘤的效应。结合前期实验的结果, 笔者用 Eer I 与顺铂或硼替佐米联合处理 SW480 及 PANC-1 细胞, 在不同的时间点检测其对这两种细胞增殖的影响。结果显示, $3\mu\text{mol/L}$ 的 Eer I 与顺铂或硼替佐米共同处理 SW480 细胞时, 可以显著抑制该肿瘤细胞的增殖 ($P < 0.01$, 图 2A)。而 $5\mu\text{mol/L}$ 的 Eer I 与顺铂共同处理则可以明显减缓 PANC-1 细胞的增殖速度 ($P < 0.01$, 图 2A), 但

该浓度的 Eer I 与硼替佐米共同处理 PANC-1 细胞, 其抑制细胞增殖的效果与单加 Eer I 相比, 并不显著 (图 2B)。相对而言, SW480 细胞对 Eer I 与硼替佐米的联合处理敏感一些, 而 PANC-1 细胞则对 Eer I 与顺铂的共同作用更加敏感。

3. Eer I 与顺铂或硼替佐米联合作用对肿瘤细胞的凋亡诱导作用: 根据上述实验结果, 笔者推测 Eer I 与顺铂或硼替佐米联合作用起到比这两种化疗药物单独作用更好的抗肿瘤效果。与细胞增殖实验的结果类似, 同样浓度的 Eer I 与顺铂或硼替佐米共同处理 SW480 及 PANC-1 细胞, 48h 后能够引起

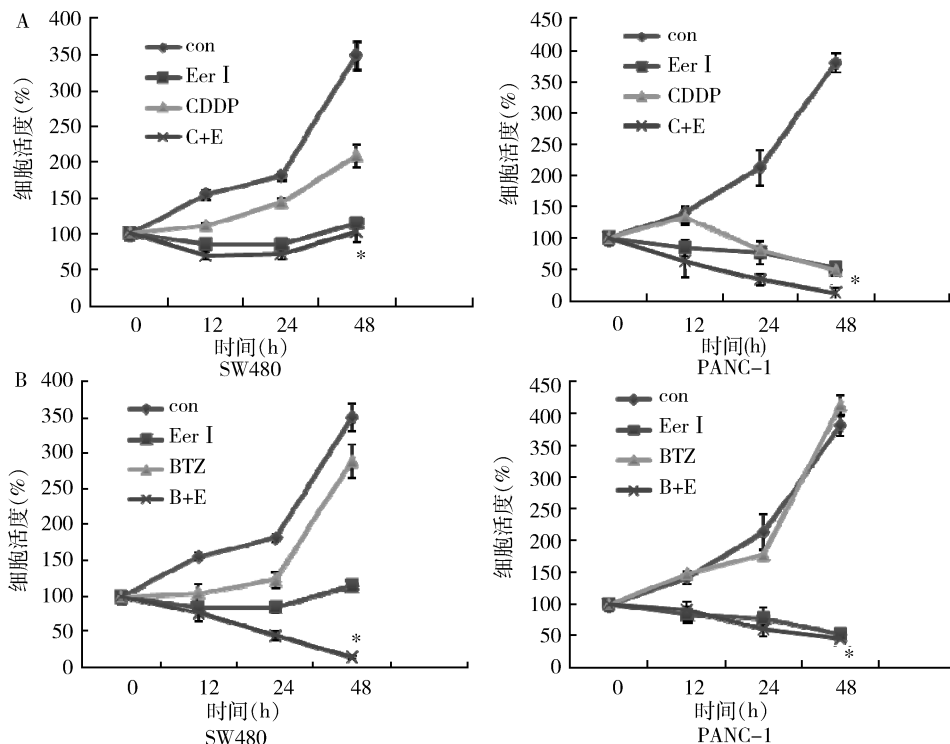


图 2 Eer I 提高顺铂和硼替佐米对肿瘤细胞的增殖抑制作用

A. 小分子抑制剂 Eer I 在不同程度上增强 SW480 及 PANC-1 细胞对顺铂的敏感性; con 代表不加药物处理的细胞, C+E 代表顺铂和 Eer I 联合用药处理细胞; B. 小分子抑制剂 Eer I 在不同程度上增强 SW480 及 PANC-1 细胞对硼替佐米的敏感性, B+E 代表硼替佐米与 Eer I 联合用药处理细胞; 药物联合运用组与对照组相比, * $P < 0.01$

比顺铂或硼替佐米单独作用更强的细胞凋亡 ($P < 0.01$, 图 3)。而且同样是 SW480 细胞对 Eer I 与硼替佐米的联合处理敏感一些, 而 PANC-1 细胞则对 Eer I 与顺铂的共同作用更加敏感。这与细胞增殖实验的结果一致。

4. Eer I 与顺铂或硼替佐米联合作用对肿瘤细胞内 PARP 和 BiP 蛋白水平的影响: 为了分析两株细胞对 Eer I 与顺铂或硼替佐米共同作用敏感度的差异, 笔者检测了 Eer I 与顺铂或硼替佐米共同处理 SW480 及 PANC-1 细胞后, 两种细胞中 PARP 蛋白表达水平。结果显示, 与对照组及 Eer I 或化疗药物单独作用组相比, Eer I 与顺铂或硼替佐米共同处理 24h 后, 两种细胞中酶切形式的 PARP 的水平有所增加, 而且 Eer I 与硼替佐米共同作用的效果要更加明显一些 (图 4A)。另外, 检测顺铂或硼替佐米单独处理 SW480 及 PANC-1 细胞后, 发现硼替佐米作用于两种细胞可以显著上调细胞中 BiP 的蛋白水平 (图 4B), 这或许可以解释 Eer I 与硼替佐米共同作用的效果要强于 Eer I 与顺铂的协同作用。

讨 论

在由肿瘤细胞快速增殖所形成的实体瘤中, 肿瘤组织血管发生不足会实体瘤的核心部分常出现缺氧、能量及营养物质供给不足的情况, 这会导致实体瘤中存在着一度程度的 ERS 状态^[2]。肿瘤细胞会采取多种方式来应对其自身存在的 ERS 状态, 其中肿瘤细胞可以通过锚定在内质网膜上的 E_3 泛素连接酶识别错误的蛋白质转并将其转运至细胞质, 进而通过泛素蛋白酶体途径将这些蛋白质清除即内质网相关蛋白降解途径。p97/VCP 在内质网相关蛋白降解途径中的作用主要是帮助转运到细胞质中, 已发生多聚泛素化的蛋白底物转移至蛋白酶体。鉴于 p97 在内质网相关蛋白降解途径中普遍性的作用, 笔者在本研究中使用 p97 的小分子抑制剂 Eer I 处理两种肿瘤细胞。结果发现, 抑制肿瘤细胞中 p97 的活性后, 由于内质网相关蛋白降解途径受到抑制, 导致大量错误或未折叠的蛋白质聚集在内质网, 最终导致细胞凋亡。进一步的实验结果表明, 低浓度的 Eer I 与相对低浓度的传统肿瘤化疗药物顺铂及硼替佐米联合处理这两种肿瘤细胞, 能达到更好抑制肿瘤细胞增殖及促进肿瘤

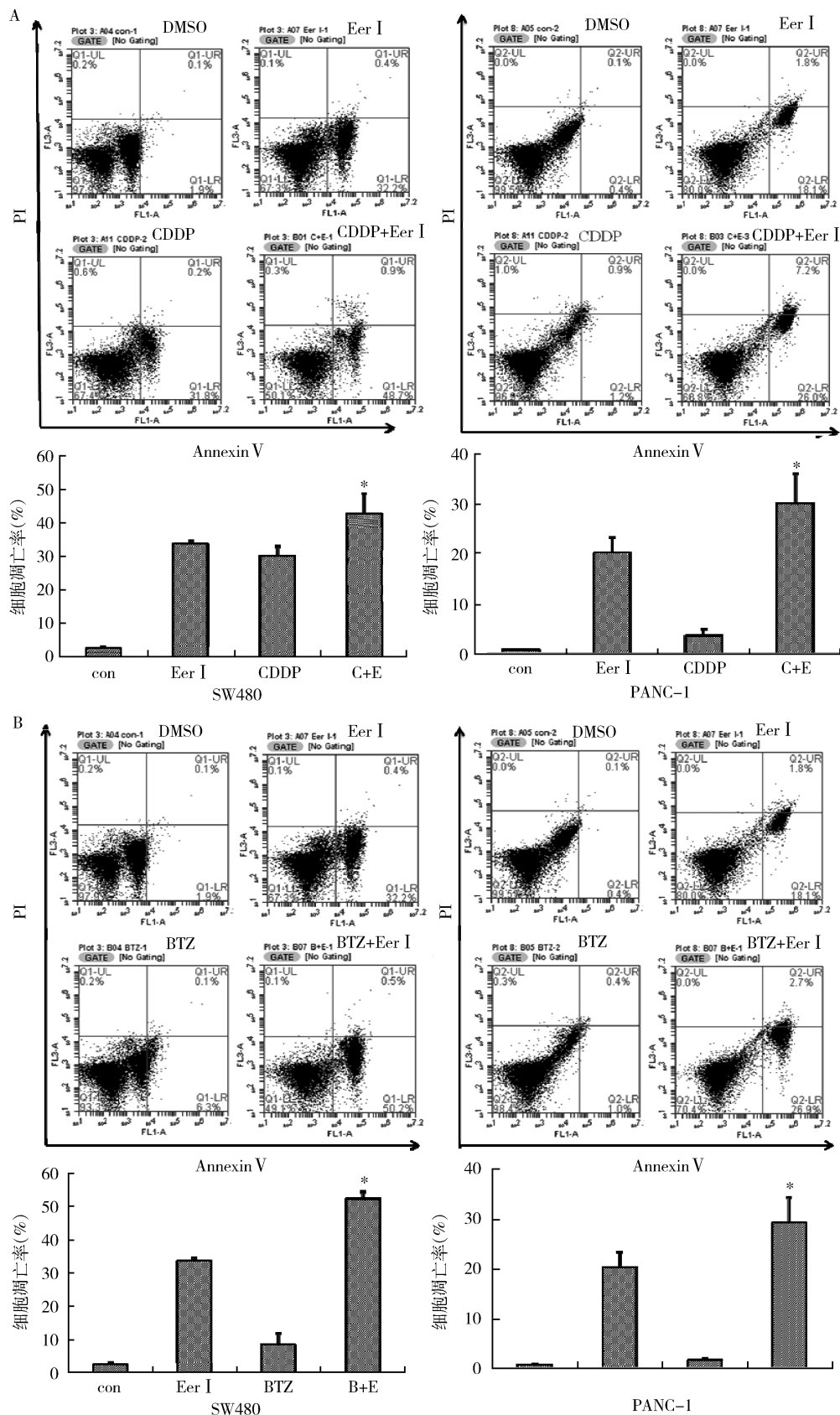


图3 Eer I增强顺铂和硼替佐米对肿瘤细胞的凋亡诱导作用

A. 小分子抑制剂 Eer I 在不同程度上增强顺铂对 SW480 及 PANC-1 细胞的凋亡诱导作用; B. 小分子抑制剂

Eer I 在不同程度上增强硼替佐米对 SW480 及 PANC-1 细胞的凋亡诱导作用;与对照组相比, * $P < 0.01$

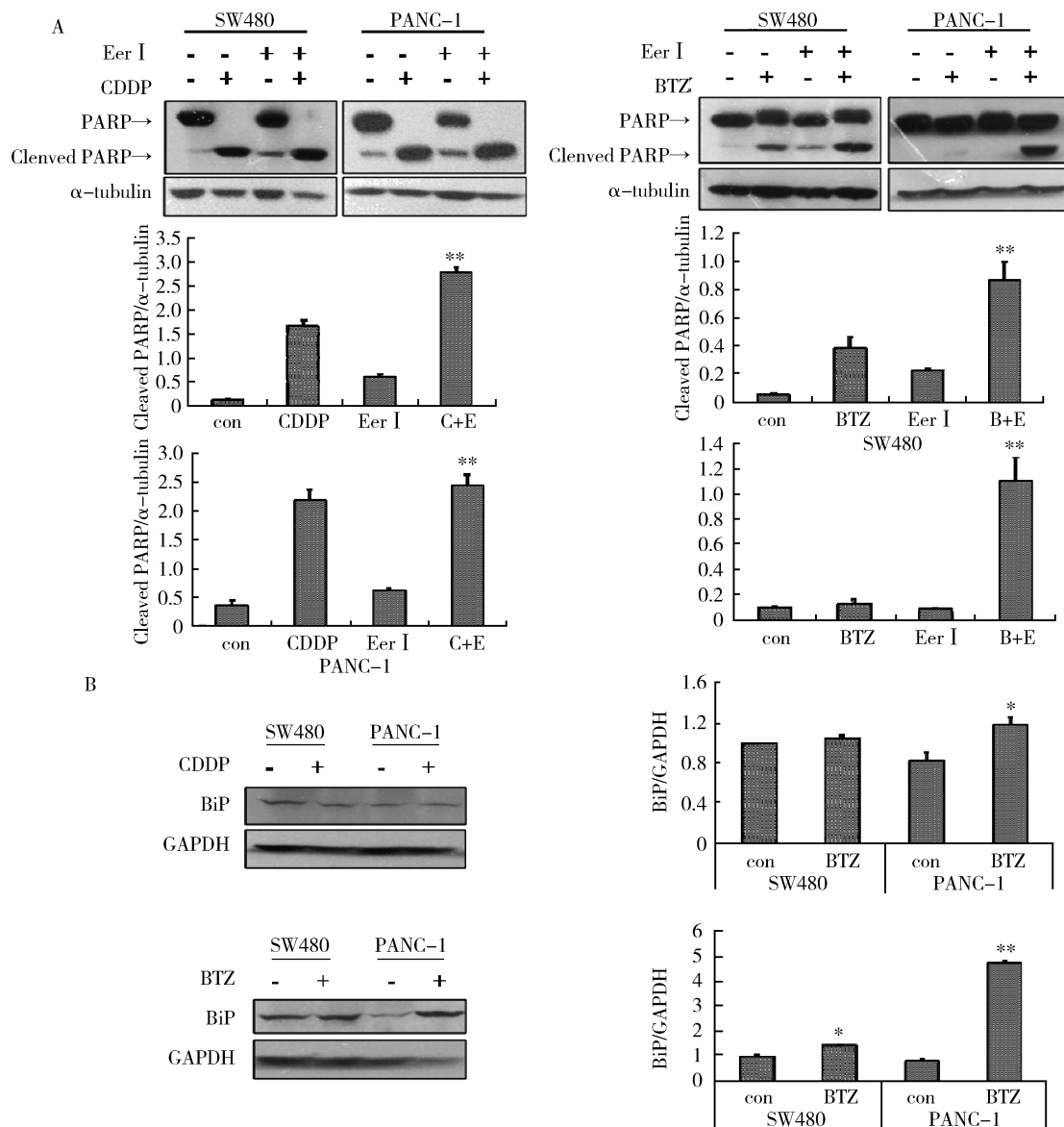


图 4 Eer I 与顺铂或硼替佐米联合作用下肿瘤细胞内 PARP 和 BiP 蛋白的表达

A. Eer I 与顺铂或硼替佐米联合作用增加 SW480 及 PANC-1 细胞内 PARP 蛋白的剪切; B. Eer I 与顺铂或硼替佐米联合处理 SW480 及 PANC-1 细胞, Eer I 和硼替佐米显著上调两株细胞内 BiP 蛋白的表达; 与对照组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

细胞凋亡的效果。

目前有大量文献报道 p97 广泛参与了与泛素有关的多种生物学途径^[14]。p97 可以通过泛素化降解重要的凋亡相关蛋白 Mcl-1 及 DIAP1, 参与对细胞存活与凋亡的调节^[15,16]。因此, 已有多种小分子抑制剂通过特异性的作用于 p97 分子, 诱导了肿瘤细胞的凋亡。Valle 等报道, Eer I 能够显著抑制非小细胞肺癌 H1299 细胞的增殖及迁移。与他们的结果类似, 笔者的研究表明, 随着 Eer I 作用剂量的增加, SW480 及 PANC-1 细胞的增殖同样受到显著抑制 (图 1A、B), 在较高的 Eer I 作用浓度下会引起这两

株细胞明显的凋亡 (图 1C、D)。此外, 一种更加特异性的 p97 小分子抑制剂 NMS-873, 能够诱导 HCT-116 细胞发生 ERS 反应, 通过促进 CHOP 的表达促进 HCT-116 细胞的凋亡^[17]。这些结果暗示 p97 可能在肿瘤细胞的增殖及凋亡的过程中, 发挥了较为普遍的作用。

化疗药物的耐药性已成为抗肿瘤治疗领域的一个重要问题, 目前已有文献报道 p97 的特异性小分子抑制剂能够克服某些肿瘤的化疗耐药性。Eer I 与以蛋白酶体为特异性靶点的化疗药物硼替佐米联合作用, 与 Eer I 及硼替佐米单独作用相比, 能够显著

抑制子宫颈癌及多发骨髓瘤细胞的增殖,并促进其凋亡^[18,19]。本研究数据进一步验证了 Eer I 与硼替佐米联合作用的抗肿瘤作用(图 2、图 3),由于 p97 与泛素蛋白酶体途径密切相关,因此 Eer I 与蛋白酶体抑制剂的联合作用很可能会进一步加剧细胞中泛素化蛋白的水平,这会导致细胞自身稳态遭到严重破坏,进而引起了细胞凋亡。此外,本实验结果表明,Eer I 能够提高肿瘤细胞对于顺铂的敏感度(图 2、图 3)。顺铂是最早广泛应用于临床肿瘤治疗的化疗药物,其作用机制是通过与肿瘤细胞基因组 DNA 的相互作用导致基因组 DNA 的损伤,引发细胞凋亡。最近,p97 被报道通过其接头蛋白 Ufd1 - Npl4 与 E3 泛素连接酶 Cul4 协同作用,促进 CDT1 及 SET8 的蛋白酶体降解,参与了 DNA 的复制及损伤修复^[20]。笔者推测当 Eer I 与顺铂共同作用于肿瘤细胞时,肿瘤细胞中基因组 DNA 的损伤有可能会进一步加重,以至激活下游的 p53,进而促进了肿瘤细胞的凋亡。

在 Eer I 与化疗药物联合作用的实验中,笔者发现 Eer I 与硼替佐米联合作用的抗肿瘤效果要强于顺铂与 Eer I 联合用药(图 3、图 4A)。Western blot 法检测结果表明,硼替佐米单独作用可以显著上调 SW480 及 PANC - 1 细胞中 ERS 标志物 BiP 的蛋白水平,而顺铂对于这两株细胞中 BiP 的水平无显著影响(图 4B)。目前文献报道 Eer I 能够在多种细胞中激活 ERS 反应,因此笔者推测 Eer I 促进肿瘤细胞化疗敏感度的主要作用机制可能与 ERS 密切相关^[17~19]。

综上所述,ERAD 通路小分子抑制剂 Eer I 通过抑制 p97 蛋白的活性从而对结肠癌及胰腺癌细胞表现出明显的抑制作用,同时提高了传统化疗药物的抗肿瘤药效,为临床抗肿瘤药物的研发提供了新的思路。

参考文献

- Hetz C, Chevet E, Harding HP. Targeting the unfolded protein response in disease[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2013, 12(9): 703 - 719
- Healy SJ, Gorman AM, Mousavi - Shafaei P, *et al.* Targeting the endoplasmic reticulum - stress response as an anticancer strategy[J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 625(1 - 3): 234 - 246
- Tsai YC, Weissman AM. The Unfolded Protein Response, Degradation from Endoplasmic Reticulum and Cancer[J]. *Genes Cancer*, 2010, 1(7): 764 - 778
- Liu Y, Ye Y. Proteostasis regulation at the endoplasmic reticulum: a new perturbation site for targeted cancer therapy[J]. *Cell Res*, 2011, 21(6): 867 - 883
- Luo B, Lee AS. The critical roles of endoplasmic reticulum chaperones and unfolded protein response in tumorigenesis and anticancer

- therapies[J]. *Oncogene*, 2013, 32(7): 805 - 818
- Chapman E, Fry AN, Kang M. The complexities of p97 function in health and disease[J]. *Mol Biosyst*, 2011, 7(3): 700 - 710
- Valle CW, Min T, Bodas M, *et al.* Critical role of VCP/p97 in the pathogenesis and progression of non - small cell lung carcinoma[J]. *PLoS One*, 2011, 6(12): e29073
- Tsujimoto Y, Tomita Y, Hoshida Y, *et al.* Elevated expression of valosin - containing protein (p97) is associated with poor prognosis of prostate cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(9): 3007 - 3012
- Yamamoto S, Tomita Y, Hoshida Y, *et al.* Increased expression of valosin - containing protein (p97) is associated with lymph node metastasis and prognosis of pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Ann Surg Oncol*, 2004, 11(2): 165 - 172
- Yi P, Higa A, Taouji S, *et al.* Sorafenib - mediated targeting of the AAA(+) ATPase p97/VCP leads to disruption of the secretory pathway, endoplasmic reticulum stress, and hepatocellular cancer cell death[J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(12): 2610 - 2620
- Wang Q, Mora - Jensen H, Weniger MA, *et al.* ERAD inhibitors integrate ER stress with an epigenetic mechanism to activate BH3 - only protein NOXA in cancer cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(7): 2200 - 2205
- Mandic A, Hansson J, Linder S, *et al.* Cisplatin induces endoplasmic reticulum stress and nucleus - independent apoptotic signaling[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(11): 9100 - 9106
- Kretowski R, Borzym - Kluczyk M, Cechowska - Pasko M. Efficient induction of apoptosis by proteasome inhibitor; bortezomib in the human breast cancer cell line MDA - MB - 231[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 389(1 - 2): 177 - 185
- Xu S, Peng G, Wang Y, *et al.* The AAA - ATPase p97 is essential for outer mitochondrial membrane protein turnover[J]. *Mol Biol Cell*, 2011, 22(3): 291 - 300
- Rumpf S, Lee SB, Jan LY, *et al.* Neuronal remodeling and apoptosis require VCP - dependent degradation of the apoptosis inhibitor DIAP1[J]. *Development*, 2011, 138(6): 1153 - 1160
- Raman M, Havens CG, Walter JC, *et al.* A genome - wide screen identifies p97 as an essential regulator of DNA damage - dependent CDT1 destruction[J]. *Mol Cell*, 2011, 44(1): 72 - 84
- Meyer H, Bug M, Bremer S. Emerging functions of the VCP/p97 AAA - ATPase in the ubiquitin system[J]. *Nat Cell Biol*, 2012, 14(2): 117 - 123
- Magnaghi P, D'Alessio R, Valsasina B, *et al.* Covalent and allosteric inhibitors of the ATPase VCP/p97 induce cancer cell death[J]. *Nat Chem Biol*, 2013, 9(9): 548 - 556
- Brem GJ, Mylonas I, Bruning A. Eeyarestatin causes cervical cancer cell sensitization to bortezomib treatment by augmenting ER stress and CHOP expression[J]. *Gynecol Oncol*, 2013, 128(2): 383 - 390
- Auner HW, Moody AM, Ward TH, *et al.* Combined inhibition of p97 and the proteasome causes lethal disruption of the secretory apparatus in multiple myeloma cells[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74415

(收稿日期:2015 - 10 - 21)

(修回日期:2015 - 11 - 10)