

文章编号 1006-8147(2022)05-0478-05

论著

组蛋白去乙酰化酶抑制剂 LBH589 抑制基底样乳腺癌生长和转移

庄慧萍

(天津医科大学肿瘤医院肿瘤研究所生物化学与分子生物学研究室; 国家肿瘤临床医学研究中心; 天津市“肿瘤防治”重点实验室; 天津市恶性肿瘤临床医学研究中心; 乳腺癌防治教育部重点实验室, 天津 300060)

摘要 目的:探究组蛋白去乙酰化酶抑制剂 LBH589 对基底样乳腺癌(BLBC)生长和转移的抑制作用。方法:通过 MTT 法和平板克隆实验检测 LBH589 对人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 和小鼠乳腺癌细胞系 4T1 增殖能力的影响;Transwell 实验检测 LBH589 对细胞迁移和侵袭能力的影响;实时荧光定量 PCR 和免疫印迹实验检测 LBH589 对细胞上皮-间质转化的作用;构建 4T1 乳腺癌细胞 Balb/c 小鼠脂肪垫成瘤模型,腹腔注射 LBH589,观察 4T1 细胞成瘤和转移能力。结果:体外实验结果显示,与对照组相比,LBH589 显著抑制 MDA-MB-231 和 4T1 细胞的增殖能力($t=11.37, P<0.05$; $t=18.18, P<0.05$)、克隆形成能力($t=7.76, P<0.05$; $t=15.22, P<0.05$)、迁移($t=8.8, P<0.05$; $t=18.0, P<0.05$)和侵袭能力($t=8.24, P<0.05$; $t=15.99, P<0.05$);与对照组相比, LBH589 上调细胞的上皮标志物 CDH1 的 mRNA($t=7.33, P<0.05$)表达水平,抑制细胞的间充质标志物 VIM 和 FN1 的 mRNA($t=5.57, P<0.05$; $t=6.3, P<0.05$)和蛋白($t=8.37, P<0.05$; $t=11.3, P<0.05$)表达水平;体内实验结果表明,给予 LBH589 治疗显著抑制肿瘤的生长($t=6.3, P<0.05$),并抑制其肺转移($P<0.05$)。结论:LBH589 能够抑制 BLBC 细胞增殖和转移,具有潜在的临床应用价值。

关键词 HDACs; LBH589; 基底样乳腺癌; 增殖; 转移

中图分类号 R737.9

文献标志码 A

Histone deacetylase inhibitor LBH589 inhibits the growth and metastasis of basal-like breast cancer

ZHUANG Hui-ping

(Department of Biochemistry and Molecular Biology, Tianjin Medical University Cancer Institute and Hospital; National Clinical Research Center for Cancer; Key Laboratory of Cancer Prevention and Therapy, Tianjin; Tianjin's Clinical Research Center for Cancer; Key Laboratory of Breast Cancer Prevention and Therapy, Tianjin Medical University, Ministry of Education, Tianjin 300060, China)

Abstract Objective: To investigate the inhibitory effect of histone deacetylase inhibitors LBH589 on the growth and metastasis of basal-like breast cancer. **Methods:** The effects of LBH589 on the proliferation, migration and invasion of human breast cancer cell line MDA-MB-231 and mouse breast cancer cell line 4T1 were determined by MTT assay, colony formation assay and Transwell assay. The effect of LBH589 on epithelial-mesenchymal transformation was detected by RT-qPCR and Western blotting. The abdominal mammary fat pads tumor-forming model of 4T1 breast cancer cells was established in Balb/c mice, and LBH589 was intraperitoneally injected to observe the effect on the tumor-forming ability of 4T1 cells and visceral metastasis. **Results:** Compared with control group, *in vitro* results showed that LBH589 significantly inhibited the proliferation ($t=11.37, P<0.05$; $t=18.18, P<0.05$), colony formation ability ($t=7.76, P<0.05$; $t=15.22, P<0.05$), migration ($t=8.8, P<0.05$; $t=18.0, P<0.05$), and invasive ability ($t=8.24, P<0.05$; $t=15.99, P<0.05$). Compared with control group, LBH589 upregulated the expression level of epithelial marker CDH1 mRNA ($t=7.33, P<0.05$), and inhibited mesenchymal marker VIM, FN1 mRNA ($t=5.57, P<0.05$; $t=6.3, P<0.05$) and protein ($t=8.37, P<0.05$; $t=11.3, P<0.05$). *In vivo* results showed that treatment with LBH589 significantly inhibited tumor growth and lung metastasis. **Conclusion:** LBH589 can inhibit the proliferation and metastasis of basal-like breast cancer, which has potential clinical application value.

Key words HDACs; LBH589; basal-like breast cancer; proliferation; metastasis

基底样乳腺癌(basal-like breast cancer, BLBC)是恶性程度较高的乳腺癌亚型,易发生远处转移,死亡率较高^[1]。BLBC 由于雌激素受体、孕激素受体及表皮生长因子受体 2 表达缺失,在临床中缺乏有效的靶向治疗和内分泌治疗方法,因此寻找新的治疗

作者简介 庄慧萍(1994-),女,硕士在读,研究方向:肿瘤与分子生物学, E-mail: zhuanghuiping 1111@163.com。

靶点是迫切需要解决的问题^[2]。BLBC 通过上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的发生获得较强的迁移、侵袭能力。肿瘤的发生、发展是复杂的生物学过程,受多重因素的影响,其中表观遗传调控起着重要作用^[3]。组蛋白乙酰化水平是由组蛋白乙酰化酶和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)共同调节,其中 HDACs 的过

度表达会导致去乙酰化作用增强,使松弛的核小体变得紧密,影响基因转录,抑制多种肿瘤抑制基因的表达,促进肿瘤的发展^[4-5]。研究发现多种 HDACs 如 HDAC4、HDAC6、HDAC8 等在 BLBC 中表达上调^[6-7]。

HDAC 抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACIs)通过抑制肿瘤细胞中的 HDACs,提高细胞的乙酰化水平,激活肿瘤抑制基因的表达^[8],在多种癌症中发挥抗肿瘤作用^[9-12]。HDACs 属于去乙酰化酶超家族,根据结构同源性分析,共有 I、II、III、IV 4 型^[13]。根据 HDACs 的化学结构和作用靶点,HDACIs 主要包括羟肟酸类、环四肽类、短链脂肪酸和苯酰胺类,其中前三类化合物为广谱性抑制剂,抑制 I、II 型家族所有 HDACs 亚型,苯酰胺类主要抑制 I 型 HDACs 中 HDAC1、HDAC2、HDAC3 和部分 II 型 HDACs,属于选择性抑制剂^[14]。广谱性抑制剂 LBH589 属于羟肟酸类,研究显示它在急性髓系白血病^[15]、胶质瘤^[16]、肺癌^[17]和乳腺癌^[18]中都有良好的抗肿瘤活性,2015 年经 FDA 批准临床应用于治疗多发性骨髓瘤^[19]。目前, LBH589 在 BLBC 治疗中的研究较少,本研究通过体内外实验探讨 LBH589 对 BLBC 生长和转移的作用,以期对 BLBC 的临床治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 人乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 购于美国模式培养物集存库(American type culture collection, ATCC),小鼠乳腺癌细胞系 4T1 购于中国科学院上海细胞库;RPMI-1640 培养基、胎牛血清和青霉素/链霉素购于美国 Gibco 公司;LBH589 购于美国 Selleckchem 公司;Transwell 小室和 Matrigel 基质胶购于 Corning 公司;吉姆萨染液购于上海生工生物工程股份有限公司; β -Actin 抗体购于英国 Abcam 公司;CDH1 抗体、VIM 抗体购于美国 CST 公司;FN1 抗体购于美国 BD 公司;山羊抗鼠二抗购于美国 CST 公司;无特定病原体(specific pathogen free, SPF)级雌性 Balb/c 小鼠,购于江苏集萃药康生物科技公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及处理 MDA-MB-231 和 4T1 细胞培养于含有 10%胎牛血清和 100 μ g/mL 青霉素/链霉素的 RPMI-1640 培养基。细胞置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的环境下培养。实验所用细胞均为对数生长期细胞。LBH589 溶于二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO),以 0.1 μ mol/L 的终浓度处理细胞 24 h。

1.2.2 增殖实验 MDA-MB-231 和 4T1 细胞分别设置对照组(DMSO)和 LBH589 给药组(0.1 μ mol/L),

以 5×10^3 个细胞/孔的密度接种于 96 孔板,每组 6 个复孔,用 3-(4,5 二甲基噻唑溴唑-2-基)-2,5-二苯四化铵[3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide, MTT]法测定并比较细胞的增殖能力。在第 0、1、2、3 和 4 天,分别在每孔加入 10 μ L MTT(0.5 mg/mL)溶液后在 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h。去除培养基后,每孔加入 100 μ L DMSO,酶标仪检测波长 490 nm 处的吸光值,绘制细胞生长曲线。

1.2.3 平板克隆实验 实验分组同 1.2.2。分别取对数生长期的 MDA-MB-231 和 4T1 细胞,用胰酶消化并配制单细胞悬液备用,将细胞悬液作梯度倍数稀释,每组细胞分别以每孔 50、100、200 个细胞的梯度密度分别接种 6 孔板中,使细胞分散均匀,置于细胞培养箱中培养 2~3 周。培养皿中出现肉眼可见的克隆时,终止培养。弃去上清液,用 PBS 小心浸洗 2 次,使用 4%多聚甲醛固定细胞 15 min。然后去固定液,加适量吉姆萨染液染 10~30 min,然后用流水缓慢洗去染色液,空气干燥,拍照并计算克隆形成数。

1.2.4 迁移和侵袭实验 实验分组同 1.2.2。迁移实验:Transwell 小室放入 24 孔板中,下室中加入 750 μ L 含 20%血清的 RPMI-1640 培养基。用胰酶消化细胞,1 000 r/min 离心 5 min,用无血清培养基配制细胞浓度为 5×10^4 个/mL 的单细胞悬液,取 500 μ L 细胞悬液缓慢加入上室并混匀,培养 12 h 后观察细胞的迁移情况。侵袭实验:Transwell 小室预先铺 Matrigel 基质胶,余下步骤同迁移实验。培养 24 h 后观察细胞的侵袭情况。迁移和侵袭实验中 Transwell 小室分别用棉签擦拭去小室上层的细胞,室温下用 4%多聚甲醛固定细胞 30 min,用 Giemsa 染液对细胞进行染色 30 min,室温风干,中性树胶固定封片。显微镜下观察穿过孔的细胞,随机选取 5 个视野拍照并计数。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 实验 实验分组同 1.2.2。MDA-MB-231 和 4T1 细胞分别接种于 6 孔板,使用 LBH589 处理 24 h 后,收取细胞。提取总 RNA 后逆转录合成 cDNA,以此为模板进行 RT-qPCR。引物序列如表 1。

表 1 引物序列

Tab 1 Primer Sequences

Genes	引物序列(5'→3')
GAPDH	上游引物 GAAGGTGAAGCTCGGAGTC
	下游引物 GAAGATGGTGATGGGATTTTC
CDH1	上游引物 AAAGGCCCAATTCCTAAAAACCT
	下游引物 TGCGTTCTCTATCCAGAGGCT
VIM	上游引物 TGAACCTGAGGGAACCTAA
	下游引物 TCAAGGTCATCGTGATGCTG
FN1	上游引物 CCGCCGAATGTAGACCAGA
	下游引物 TGCCAACAGGATGACATGAAA

1.2.6 免疫印迹实验 实验分组同 1.2.2。MDA-MB-231 和 4T1 细胞分别接种于 6 孔板, 使用 LBH589 处理 24 h 后, 收取细胞并提取蛋白, 检测蛋白浓度。配制 SDS-PAGE 凝胶(10%浓缩胶、5%分离胶)、电泳、转膜, 使用 5%脱脂牛奶封闭 1 h 后, 分别加入一抗 CDH1(1:1 000)、VIM(1:1 000)、FN1(1:1 000)和内参 β -Actin(1:8 000), 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜后加入对应的二抗(1:2 000), 室温孵育 1 h 后 TBST 洗膜, 加入 ECL 反应液进行压片、曝光、显影和定影。

1.2.7 动物实验 4~6 周龄的 12 只 Balb/c 雌鼠, 按照数字表法随机分为两组, 每组 6 只, 将 1×10^5 个 4T1 细胞接种于小鼠乳腺脂肪垫。当小鼠原位瘤体积生长至 50~100 mm³ 时, 实验组小鼠腹腔注射 LBH589 (10 mg/kg), 对照组给予同等体积的溶剂 (2% DMSO+48% PEG 300+2% Tween 80+ddH₂O), 每周 3 次。每 3 天测量原位瘤最长直径(a)和最短直径(b), 计算移植瘤的体积(V, mm³)=(1/2) \times a \times b²。给药 4 周后处死并解剖小鼠, 取原位瘤组织和肺组织并用甲醛固定, 统计原位瘤体积, 通过肺组织 HE 染色观察其病理学变化。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 7.0 软件进行数据分析和作图。统计软件进行数据分析。数据符合正态分布, 采用单因素方差分析和 *t* 检验进行差异分析, *P*<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LBH589 抑制乳腺癌细胞的增殖能力 通过 MTT 实验和平板克隆实验检测 LBH589 对 MDA-MB-231 和 4T1 细胞增殖作用的影响。实验结果显示, 与对照组相比, LBH589 能够显著抑制 MDA-MB-231 和 4T1 细胞的增殖能力(*t*=11.37, *P*<0.05; *t*=18.18, *P*<0.05)和细胞集落形成能力(*t*=7.76, *P*<0.05; *t*=15.22, *P*<0.05)(图 1)。

2.2 LBH589 抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力 Transwell 方法检测细胞的迁移和侵袭能力。结果显示, 与对照组相比, 经 LBH589 处理的 MDA-MB-231 和 4T1 细胞迁移(*t*=8.8, *P*<0.05; *t*=18.0, *P*<0.05)和侵袭(*t*=8.24, *P*<0.05; *t*=15.99, *P*<0.05)能力降低(图 2)。

2.3 LBH589 抑制乳腺癌细胞的 EMT 为了进一步研究 LBH589 对乳腺癌细胞转移能力的作用, 通过 RT-qPCR 和 Western 印迹实验检测 LBH589 对乳腺癌细胞 EMT 标志物 CDH1、VIM 和 FN1 的影响。结果显示, 与对照组相比, LBH589 显著上调 CDH1 的 mRNA 表达(*t*=7.33, *P*<0.05), 显著抑制 VIM 和 FN1

的 mRNA (*t*=5.57, *P*<0.05; *t*=6.3, *P*<0.05) 和蛋白 (*t*=8.37, *P*<0.05; *t*=11.3, *P*<0.05) 表达水平(图 3)。

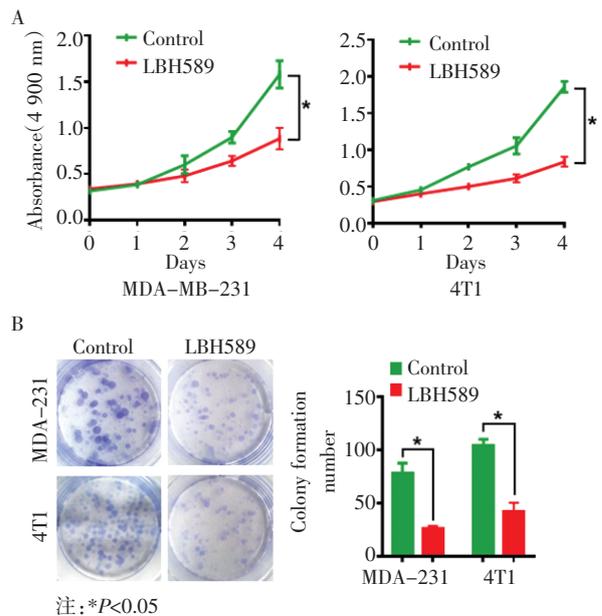


图 1 LBH589 抑制乳腺癌细胞的增殖能力
Fig 1 The proliferation of breast cancer cells inhibited by LBH589

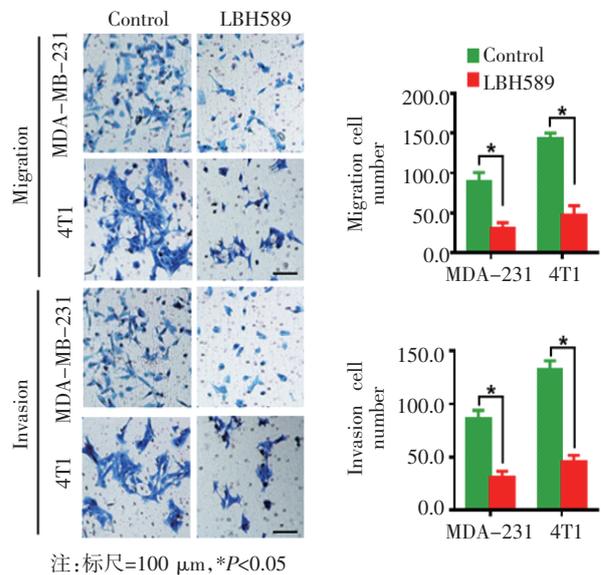


图 2 LBH589 抑制乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力
Fig 2 The migration and invasion of breast cancer cells inhibited by LBH589

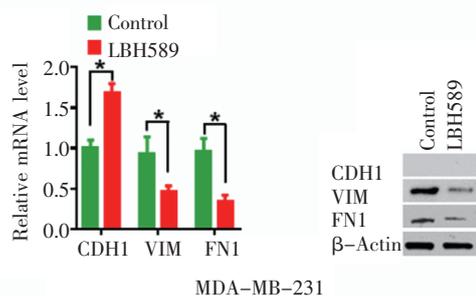
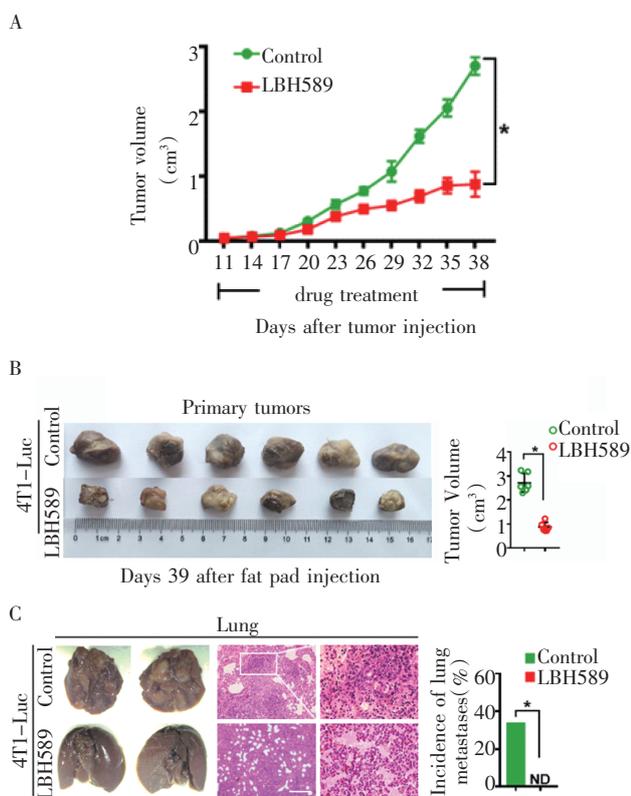


图 3 LBH589 抑制乳腺癌细胞的 EMT
Fig 3 The EMT in breast cancer cells inhibited by LBH589

2.4 LBH589 抑制小鼠乳腺肿瘤生长及肺转移 通过测量肿瘤体积,绘制肿瘤生长曲线(图 4A),结果显示,与对照组相比,LBH589 显著抑制肿瘤生长($P<0.05$);在接种 39 d 时通过解剖获得小鼠原位瘤组织(图 4B),结果显示,与对照组相比,LBH589 给药组肿瘤体积显著减小($t=6.3, P<0.05$);对解剖获得的肺组织进行 HE 染色(图 4C),结果显示,LBH589 显著抑制小鼠肺转移($P<0.05$)。



注:A:原位瘤生长曲线;B:原位瘤体积;C:双侧肺转移结节及 HE 染色的代表性照片;标尺=200 μm , * $P<0.05$

图 4 LBH589 抑制小鼠乳腺肿瘤生长及肺转移

Fig 4 The growth and lung metastasis of breast tumor in mice inhibited by LBH589

3 讨论

临床中多采用化疗方法抑制 BLBC 患者病情发展,但其耐药率较高,不良反应较多,治疗效果较差^[1]。因此,寻找更好的靶向治疗药物是 BLBC 治疗的重点。HDAC 等表观遗传修饰异常存在于肿瘤的发展进程中,由于表观遗传修饰具有可逆性,因此可以通过表观遗传抑制剂控制修饰过程,使某些关键抑癌基因恢复功能,从而起到抗肿瘤作用^[20]。目前认为 HDACs 主要通过抑制肿瘤细胞增殖、促进细胞凋亡和抑制血管生成等途径发挥抗肿瘤作用^[21]。

研究显示 LBH589 可以有效抑制与癌症进展有关的 HDACs,抑制肿瘤细胞的增殖和转移^[22]。Singh 等^[23]发现 LBH589 促进结直肠癌细胞凋亡;Schmitz

等^[24]发现 LBH589 呈剂量依赖性地促进人和鼠神经内分泌肿瘤细胞周期阻滞和凋亡;Qin 等^[25]发现 LBH589 抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭,促进细胞凋亡,通过构建 MDA-MB-231 乳腺癌细胞裸鼠皮下成瘤模型发现 LBH589 抑制乳腺癌的生长和转移。Lee 等^[26]研究发现 LBH589 和 DNA 甲基转移酶抑制剂联合使用可以作为乳腺癌的潜在治疗方法。EMT 是指上皮细胞转化为具有间质表型细胞的生物学过程,有助于胚胎发育和组织纤维化,在肿瘤细胞的起始、干细胞的分化以及肿瘤细胞对治疗的抵抗中起着重要的作用^[27]。EMT 程序的异常激活与肿瘤进展、转移和治疗性耐药的获得有关^[28]。Kai 等^[29]研究证实 LBH589 联合乳腺癌干细胞(breast cancer stem cells, BCSCs)靶向药物通过诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期和调节 EMT 发挥抗肿瘤作用。本研究利用 4T1 乳腺癌细胞 Balb/c 小鼠模型,进一步证实了 LBH589 抑制 BLBC 的生长和转移,同时体外实验证实了 LBH589 抑制 BLBC 细胞的增殖,通过抑制细胞的 EMT 抑制细胞迁移和侵袭,为 BLBC 的临床靶向治疗进一步提供了理论基础。在肿瘤治疗策略中, LBH589 目前已成功应用于多种联合治疗,包括与 DNA 甲基转移酶抑制剂^[26]和免疫检查点抑制剂^[30]等药物联合的应用。随着对 LBH589 在 BLBC 治疗中的作用和机制有更深层次的了解,未来会发现更有效的联合治疗策略,为改进 BLBC 治疗带来新的机会。

参考文献:

- [1] ALEXANDROU S, GEORGE S M, ORMANDY C J, et al. The proliferative and apoptotic landscape of basal-like breast cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(3):667.
- [2] BORRI F, GRANAGLIA A. Pathology of triple negative breast cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2021, 72: 136-145.
- [3] ZUCCHETTI B, SHIMADA A K, KATZ A, et al. The role of histone deacetylase inhibitors in metastatic breast cancer[J]. *Breast*, 2019, 43: 130-134.
- [4] SINGH A K, BISHAYEE A, PANDEY A K. Targeting histone deacetylases with natural and synthetic agents: an emerging anticancer strategy [J]. *Nutrients*, 2018, 10(6):731.
- [5] LEE A, DJAMGOZ M B A. Triple negative breast cancer: emerging therapeutic modalities and novel combination therapies[J]. *Cancer Treat Rev*, 2018, 62: 110-122.
- [6] PARK S Y, JUN J A, JEONG K J, et al. Histone deacetylases 1, 6 and 8 are critical for invasion in breast cancer[J]. *Oncol Rep*, 2011, 25(6): 1677-1681.
- [7] MÜLLER B M, JANA L, KASAJIMA A, et al. Differential expression of histone deacetylases HDAC1, 2 and 3 in human breast cancer—overexpression of HDAC2 and HDAC3 is associated with clinicopathological indicators of disease progression[J]. *BMC Cancer*, 2013,

- 13:215.
- [8] RODRIGUEZPAREDES M, ESTELLER M. Cancer epigenetics reaches mainstream oncology [J]. *Nat Med*, 2011, 17(3):330-339.
- [9] SUN Y, SUN Y, YUE S, et al. Histone deacetylase inhibitors in cancer therapy [J]. *Curr Top Med Chem*, 2018, 18(28):2420-2428.
- [10] PENG J, LI S J, FU X, et al. Chidamide acts on the histone deacetylase-mediated miR-34a/Bcl-2 axis to regulate NB4 cell line proliferation and apoptosis [J]. *Kaohsiung J Med Sci*, 2020, 36(12):1004-1013.
- [11] HEERS H, STANISLAW J, HARRELSON J, et al. Valproic acid as an adjunctive therapeutic agent for the treatment of breast cancer [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 835:61-74.
- [12] LIANG X, LIU H, ZHANG Y. Novel-targeted therapy for hematological malignancies with JAK and HDAC dual inhibitors [J]. *Future Med Chem*, 2019, 11(15):1849-1852.
- [13] GREGORETTI I V, LEE Y M, GOODSON H V. Molecular evolution of the histone deacetylase family: functional implications of phylogenetic analysis [J]. *J Mol Biol*, 2004, 338(1):17-31.
- [14] MARKS P A. The clinical development of histone deacetylase inhibitors as targeted anticancer drugs [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2010, 19(9):1049-1066.
- [15] SAN JOSÉENÉRIZ E, GIMENEZCAMINO N, AGIRRE X, et al. HDAC inhibitors in acute myeloid leukemia [J]. *Cancers (Basel)*, 2019, 11(11):1794.
- [16] WIERZBICKI K, RAVI K, FRANSON A, et al. Targeting and therapeutic monitoring of H3K27M-mutant glioma [J]. *Curr Oncol Rep*, 2020, 22(2):19.
- [17] BAJBOUJ K, ALALI A, RAMAKRISHNAN R K, et al. Histone modification in NSCLC: molecular mechanisms and therapeutic targets [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21):11701.
- [18] FEDELE P, ORLANDO L, CINIERI S. Targeting triple negative breast cancer with histone deacetylase inhibitors [J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2017, 26(11):1199-1206.
- [19] LANDGREN O, ISKANDER K. Modern multiple myeloma therapy: deep, sustained treatment response and good clinical outcomes [J]. *J Intern Med*, 2017, 281(4):365-382.
- [20] HESHAM H M, LASHEEN D S, ABOUZID KAM. Chimeric HDAC inhibitors: comprehensive review on the HDAC-based strategies developed to combat cancer [J]. *Med Res Rev*, 2018, 38(6):2058-2109.
- [21] ZHAO C, DONG H, XU Q, et al. Histone deacetylase (HDAC) inhibitors in cancer: a patent review (2017-present) [J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2020, 30(4):263-274.
- [22] ATADJA P. Development of the pan-DAC inhibitor panobinostat (LBH589): successes and challenges [J]. *Cancer Lett*, 2009, 280(2):233-241.
- [23] SINGH A, PATEL P, JAGESHW A R, et al. The safety, efficacy and therapeutic potential of histone deacetylase inhibitors with special reference to panobinostat in gastrointestinal tumors: a review of pre-clinical and clinical studies [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2018, 18(8):720-736.
- [24] SCHMITZ R L, WEISSBACH J, KLEILEIN J, et al. Targeting HDACs in pancreatic neuroendocrine tumor models [J]. *Cells*, 2021, 10(6):1408.
- [25] QIN G, LI Y, XU X, et al. Panobinostat (LBH589) inhibits Wnt/ β -catenin signaling pathway via upregulating APC expression in breast cancer [J]. *Cell Signal*, 2019, 59:62-75.
- [26] LEE Y J, HO S R, GRAVES J D, et al. CGRRF1, a growth suppressor, regulates EGFR ubiquitination in breast cancer [J]. *Breast Cancer Res*, 2019, 21(1):134.
- [27] LÜÖND F, SUGIYAMA N, BILL R, et al. Distinct contributions of partial and full EMT to breast cancer malignancy [J]. *Dev Cell*, 2021, 56(23):3203-3221.
- [28] THIERY J P, ACLOQUE H, HUANG R Y J, et al. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease [J]. *Cell*, 2009, 139(5):871-890.
- [29] KAI M, KANAYA N, WU S V, et al. Targeting breast cancer stem cells in triple-negative breast cancer using a combination of LBH589 and salinomycin [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 151(2):281-294.
- [30] HOGG S J, BEAVIS P A, DAWSON M A, et al. Targeting the epigenetic regulation of antitumour immunity [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2020, 19(11):776-800.

(2022-02-28 收稿)