

研究论文

组蛋白去乙酰化酶抑制剂SAHA影响U251 细胞中p21稳定性的机制

龚爱华^{1,2*} 熊二梦¹ 张 严¹ 杜凤移¹ 彭琬昕¹ 邵根宝¹ 金 洁¹ 程建军¹⁽¹⁾江苏大学基础医学与医学技术学院, 镇江 212013; ⁽²⁾癌基因及相关基因国家重点实验室, 上海 200032)

摘要 目前已开发的组蛋白去乙酰化酶抑制剂如SAHA表现出了广泛的临床应用前景。然而, 其作用机制有待进一步阐明。该研究旨在探明SAHA对p21蛋白稳定性的影响。运用Real-time PCR、免疫共沉淀、泛素化降解实验、免疫印迹和流式细胞技术分析了SAHA对p21 mRNA和蛋白水平、稳定性和泛素化水平的影响; 并分析了SAHA通过调节GSK-3 β 的活性影响p21蛋白稳定性及细胞周期的进程。结果发现, SAHA不但可以上调p21 mRNA水平, 还可以稳定其蛋白水平; 而且SAHA通过影响GSK-3 β 的活性降低p21蛋白泛素化水平, 从而抑制其降解, 并因此改变细胞周期进程, 这表明SAHA可以通过抑制GSK-3 β 的活性增加p21蛋白的稳定性, 维持其蛋白水平从而发挥SAHA的生物学效应。该研究结果将为脑胶质瘤的临床研究提供实验依据。

关键词 SAHA; 胶质瘤细胞; p21; GSK-3 β

The Effect of HDACs Inhibitor SAHA on p21 Protein Stability in U251 Cells

Gong Aihua^{1,2*}, Xiong Ermeng¹, Zhang Yan¹, Du Fengyi¹, Peng Wanxin¹, Shao Genbao¹, Jin Jie¹, Cheng Jianjun¹⁽¹⁾School of Medical Science and Laboratory Science, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China;⁽²⁾State Key Laboratory for Oncogenes and Related Genes, Shanghai 200032, China)

Abstract Previous studies suggest that HDACs inhibitors including SAHA are promising drugs against tumors in clinical trials. However, the mechanism of SAHA against tumor cells still remains to be clarified. In this study, we investigated the effects of SAHA on the expression of p21 mRNA and protein in tumor cells using Real-time PCR and Western blot, and the stability and ubiquitination of p21 protein mediated by GSK-3 β in U251MG cells through Western blot and Co-IP assay. Subsequently, cell cycle progress was determined using FACS in U251MG cells treated with SAHA and transfected with vector, GSK-3 β KD or GSK-3 β CA. We found that SAHA upregulated both p21 mRNA and protein levels, and decreased ubiquitination levels of p21 protein and thus enhanced its stability, and arrested cell cycle progress at G₁ phase. Our finding confirmed that SAHA enhanced the stability of p21 protein via inhibition of GSK-3 β activity, and thus played roles in blocking cell cycle progress, which might provide the evidence for further clinical research against glioma cells.

Key words SAHA; glioma cells; p21; GSK-3 β

收稿日期: 2013-05-12 接受日期: 2013-07-29

江苏省高校自然科学基金(批准号: N07KJB310018)、癌基因及相关基因国家重点实验室开放课题(批准号: 90-13-05)和国家自然科学基金(批准号: 31100964、81372718)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0511-80538449, E-mail: ahg5@mail.uj.s.edu.cn

Received: May 12, 2013 Accepted: July 29, 2013

This work was supported in part by the Natural Science Fund for Colleges and Universities in Jiangsu Province (Grant No.N07KJB310018), the Grants from the State Key Laboratory of Oncogenes and Related Genes (Grant No.90-13-05) and the National Science Foundation of China (Grant No.31100964, 81372718)

*Corresponding author. Tel: +86-511-85038449, E-mail: ahg5@mail.uj.s.edu.cn

网络出版时间: 2013-10-17 15:48

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20131017.1548.001.html>

恶性多形性胶质母细胞瘤(glioblastomamultiforme, GBM)是最恶性脑肿瘤,其预后较差,患者平均存活期不到12个月^[1]。个体化、分子靶向治疗是肿瘤治疗的发展方向,有望提高患者的预后和生存质量^[2]。近来研究发现,表观遗传调控在肿瘤包括GBM中发挥了重要作用,其中组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs)异常激活或高表达与肿瘤的恶性增殖、血管形成和转移等恶性行为密切相关^[3]。

目前,以HDACs为药物靶点已开发出了多种小分子抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACIs),如SAHA(suberoylanilidehydroxamic acid)、TSA等,一部分已经被FDA批准为临床用药,一部分处于临床试验阶段^[3-4]。SAHA首先被批准用于皮肤T细胞淋巴瘤的临床治疗,以及用于骨肉瘤治疗的临床研究^[4]。临床前研究还发现,SAHA与一些化疗药物联合使用可以提高抗甲状腺癌、胰腺癌、乳腺癌、脑胶质瘤等的效果^[5-6]。SAHA可以通过上调p21WAF1/CIP1(以下简称p21)引起细胞周期阻滞于G₁期而抑制细胞增殖^[6]。目前报道认为,SAHA上调p21表达的机制主要是通过上调组蛋白H3和H4的乙酰化水平,促进SP1和SP2结合到p21启动子上而提高其转录水平,从而提高其蛋白表达水平^[7-8]。前期的报道都是关注SAHA在转录水平上调p21 mRNA表达,而忽略了p21蛋白水平的调控机制。

众所周知,蛋白表达水平是合成和降解两个途径平衡的结果。我们认为SAHA除了可以通过提高转录水平来上调p21的表达外,还可以通过影响p21的降解途径而维持其蛋白的高水平。本研究旨在通过分析SAHA引起的p21蛋白水平动态变化,以及GSK-3 β 在SAHA上调p21蛋白水平中的作用来阐明SAHA调控p21蛋白稳定性的机制,最后通过分析细胞周期来评价SAHA通过GSK-3 β 介导p21蛋白稳定性的生物学效应。本研究的结果将补充SAHA发挥生物学效应的作用机理。

1 材料与方法

1.1 材料

SAHA、CHX、MG132购自Sigma公司。人脑胶质瘤细胞株U251MG、U87MG,人乳腺癌细胞株MCF-7、MDMB231,人肺癌细胞株SCLC、A549,人肾上皮细胞293T均购自中国科学院上海细胞库。pCMV-Tag 5A、pCMV-Tag、5A-GSK-3 β KD、CMV-

Tag和5A-GSK-3 β CA由MD Anderson Cancer Center Dr. Hung实验室馈赠。

1.2 试剂及仪器

DMEM和胰酶购自Gibco公司,Flag抗体购自Sigma公司,p21、GSK-3 β 、Ubiquitin、 β -actin抗体购自Cell Signaling Technology公司,Protein G琼脂糖珠购自Invitrogen公司。美国Costar公司6孔和24孔细胞培养板,美国Forma Scientific公司CO₂细胞培养箱。

1.3 细胞培养

人脑胶质瘤细胞株U251MG、U87MG,人乳腺癌细胞株MCF-7、MDMB231,人肺癌细胞株SCLC、A549,人肾上皮细胞293T均用含10% FBS的DMEM培养液,并放置于5% CO₂、饱和湿度、37 °C二氧化碳培养箱中培养。细胞每隔三天传代一次,传代时用0.25%胰蛋白酶(用1 mmol/L EDTA配制)消化。

1.4 实时定量PCR

细胞接种于6孔板,密度60%左右,培养48 h后处理细胞。用无血清培养基稀释SAHA(3 μ mol/L),PBS作为control组,将培养板中培养基换成SAHA或PBS的培养基,处理24 h后,收获细胞,提取mRNA备用。按照Invitrogen的逆转录试剂盒说明书操作,合成cDNA。定量PCR检测p21和GSK-3 β 表达,p21引物为:Forward 5'-ACT CTC AGG GTC GAA AAC-3',Reverse 5'-TCT TGG AGA AGA TCA GCC-3';GSK-3 β 引物为:Forward 5'-CCA TCC TTA TTC CTC CTC-3',Reverse 5'-CAC GGT CTC CAG TAT TAG-3';用GAPDH做内参,GAPDH引物为:Forward 5'-CTT TGG TAT CGT GGA AGG-3',Reverse 5'-GGA TGA TGT TCT GGA GAG-3'。按照实时定量PCR试剂盒(伯乐)说明书操作,mRNA表达水平用2^{- $\Delta\Delta C_t$} 计算。

1.5 蛋白稳定性实验

U251MG细胞接种于6孔板,密度60%左右,培养48 h后处理细胞。用无血清培养基稀释蛋白质合成抑制剂CHX(50 μ g/mL,抑制蛋白质合成)、蛋白酶体抑制剂MG132(5 μ mol/mL,抑制蛋白质降解)或SAHA(3 μ mol/L),将培养板中培养基换成上述含MG132、CHX和/或SAHA的培养基,处理6 h后,收获细胞提取蛋白备用。免疫印迹检测p21蛋白表达水平。结果用图像分析软件Gel-Pro Analyzer分析p21和内参 β -actin的IOD值,用同一样品的p21 IOD/ β -actin IOD作为p21蛋白的相对表达量,然后比较不同实验组p21蛋白的相对表达量。

1.6 蛋白泛素化实验

U251MG细胞培养至对数生长期, 用裂解液(50 mmol/L Tris-HCl pH7.4, 150 mmol/L NaCl, 1 mmol/L PMSF, 1 mmol/L EDTA, 1% NP-40, 1% sodium deoxycholate)裂解细胞, 离心取上清, p21抗体免疫沉淀, 4 °C旋转过夜, 加protein G琼脂糖Beads, 4 °C旋转4 h, 反复离心, 洗涤三次, 2×上样缓冲液煮Beads 10 min。Western blot检测Ubiquitin表达。

用质粒Flag-p21和HA-Ubiquitin分别与Vector、GSK-3 β KD及GSK-3 β CA共转染293T细胞, 48 h后收集细胞并裂解, 用Flag抗体免疫沉淀, 用HA抗体检测泛素化水平。

1.7 免疫印迹

按照实验设计要求, 收集细胞, 提取总蛋白, SDS-PAGE胶分离, 转膜, 封闭, 用p21(1:1 000)、GSK-3 β (1:1 000)、Ubiquitin(1:1 000)、 β -actin(1:5 000)一抗及相应的二抗检测, 化学发光检测仪(北京赛智)记录结果。结果用图像分析软件Gel-Pro Analyzer检测

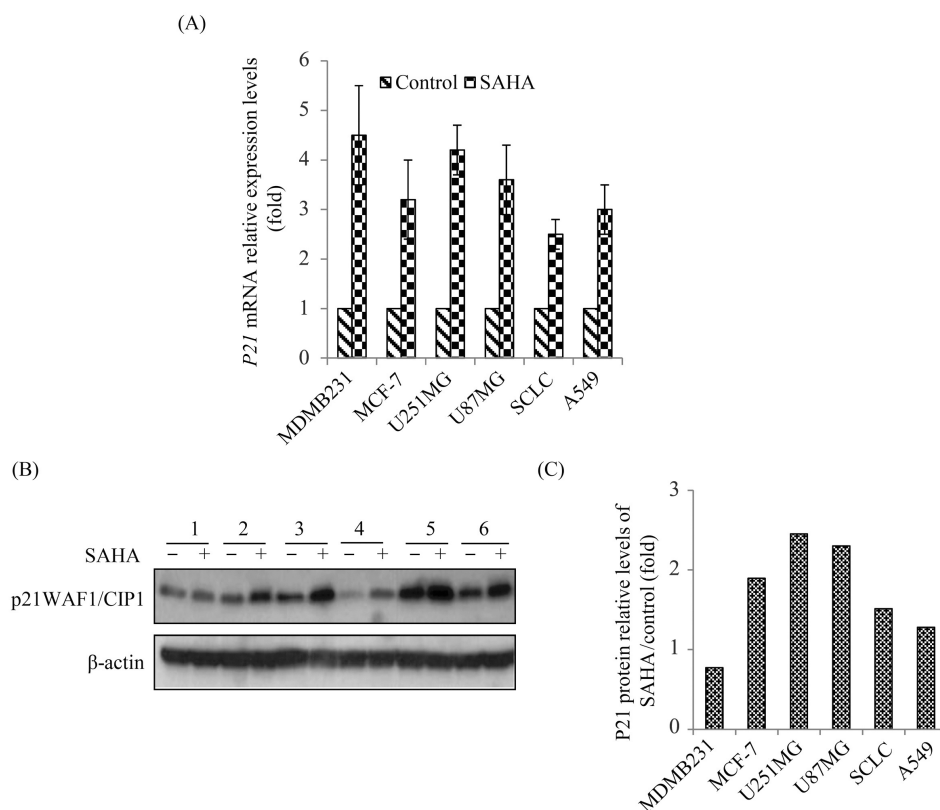
IOD值, 并分析结果。

1.8 细胞周期同步化

细胞按照30%的密度接种在6孔板, 立即加入2 mmol/L胸苷(Sigma公司)继续培养14 h。细胞去除培养液, 并用PBS洗三遍后, 用正常的培养液继续培养11 h, 接着第二轮用2 mmol/L胸苷培养15 h。去除培养液, 用PBS洗三遍, 加入正常的培养液。这个时间点被认为是G₁/S转换点, 并记为0 h。分别于16 h收获细胞, PBS洗涤2次, 75%冷乙醇重悬固定, 4 °C保存过夜。次日用PBS洗涤2次, 0.5 mL PBS重悬, 加800 μ g/mL RNA酶12.5 μ L后于37 °C水浴30 min, 加1 mg/mL的碘化丙啶10 μ L混匀, 4 °C避光反应40 min后, 400目尼龙膜过滤, 然后进行流式细胞仪检测(FACS)。根据流式细胞仪数据, 分析subG₁、G₁/S(G₁+S)和G₂/M(G₂+M)期的细胞比例。

1.9 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件进行方差分析, $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。



A: SAHA对不同肿瘤细胞中p21 mRNA转录水平的影响; B: SAHA对不同肿瘤细胞中p21蛋白水平的影响; C: SAHA处理组与对照组中p21蛋白水平相对定量比较。1: MDMB231, 2: MCF-7, 3: U251MG, 4: U87MG, 5: SCLC, 6: A549。

A: effects of SAHA on p21 mRNA levels in different tumor cells; B: effects of SAHA on p21 protein levels in different tumor cells; C: the ratio of relative quantity of p21 protein of SAHA treatment group to control group in different tumor cells. 1: MDMB231, 2: MCF-7, 3: U251MG, 4: U87MG, 5: SCLC, 6: A549.

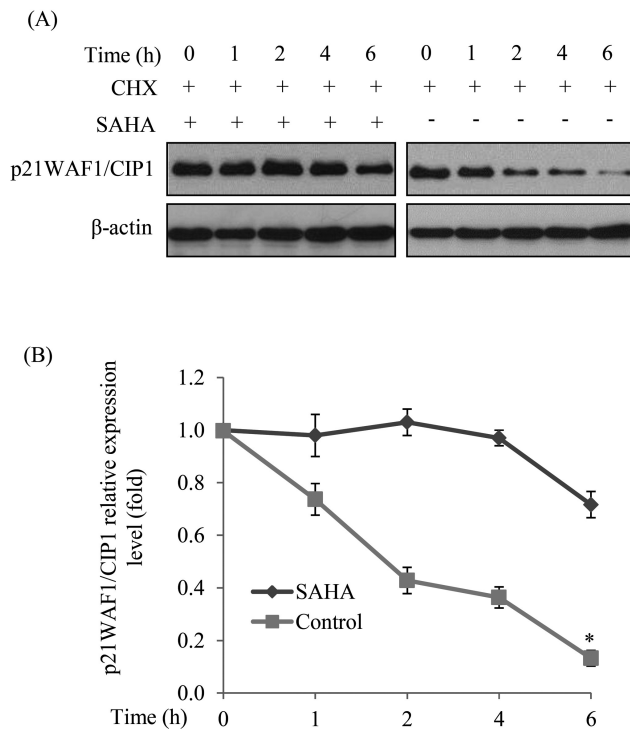
图1 SAHA对不同肿瘤细胞中p21 mRNA和蛋白水平的影响

Fig.1 Effects of SAHA on p21 mRNA and protein levels in different tumor cells

2 结果

2.1 SAHA诱导了不同肿瘤细胞中p21的表达

前期研究发现, SAHA能选择性地诱导肿瘤细胞中p21 mRNA和蛋白的表达。为了选择一个对SAHA较为敏感的细胞, 我们选择了几种细胞株进行筛选。首先用Real-time PCR检测了SAHA处理组和PBS处理组(control)细胞的p21 mRNA水平, 结果发现SAHA能上调所选细胞中p21的mRNA水平, 上调范围在2.5~5倍间, 其中乳腺癌细胞MDMB231最高, 脑胶质瘤细胞U251MG和U87MG次之, 肺癌细胞相对较低(图1A)。为了观察蛋白水平上的变化, 我们进一步用免疫印迹技术检测了p21蛋白水平的变化。结果表明, SAHA能不同程度上调p21的蛋白表达(图1B), 相对定量结果显示在图1C, U251MG和U87MG蛋白变化达到SAHA处理前的2.5倍左右, 以上结果进一步证实了其他研究组关于SAHA诱导p21表达的报道。接下来我们选用U251MG进行下列研究。



A: SAHA对p21蛋白稳定性的影响; B: SAHA处理组或control组p21蛋白的降解曲线。

A: effects of SAHA on the stability of p21 protein; B: the curve of degradation of p21 protein in SAHA treatment group and control group.

图2 SAHA对U251MG细胞中p21蛋白稳定性的影响

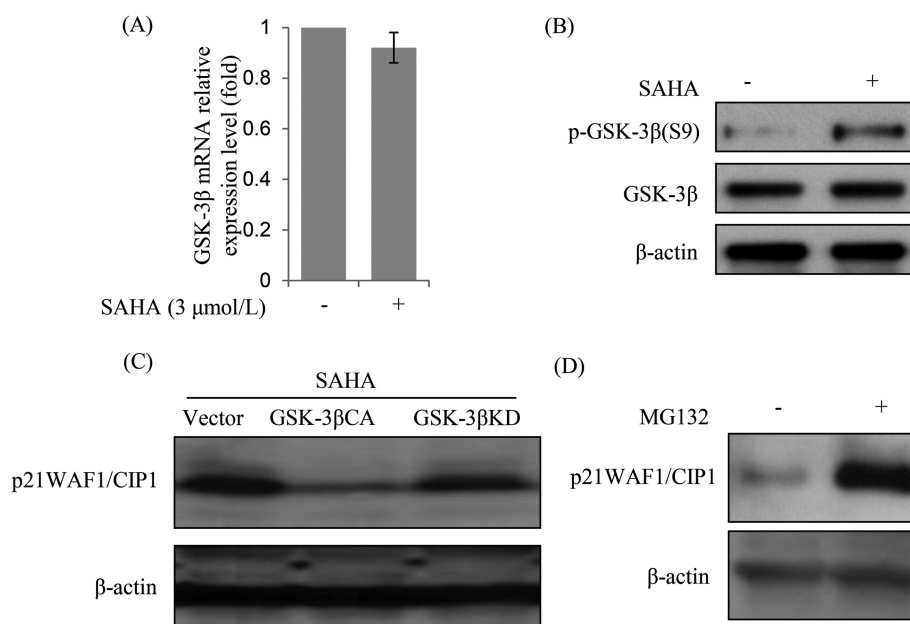
Fig.2 Effects of SAHA on the stability of p21 protein in U251MG cells

2.2 SAHA影响了U251MG细胞内p21蛋白的稳定性

前期研究证实SAHA在转录水平上调了p21的表达^[7-8], 而SAHA是否影响p21的稳定性尚不清楚, 我们推测SAHA有可能调控了p21蛋白的稳定性。我们首先用SAHA诱导U251MG细胞表达p21, 然后用CHX抑制蛋白的合成。实验分成SAHA处理和PBS处理(control)两组, 比较两组U251MG细胞中p21蛋白的稳定性变化。结果发现, SAHA处理组p21蛋白水平相对稳定, 而PBS处理组(control)以时间依赖的方式快速降解(图2A)。相对定量分析结果如图2B所示, SAHA处理6 h后, p21蛋白水平维持在70%左右, 而PBS处理组(control) 1 h就降至70%左右, 6 h降至10%, 这表明SAHA可以明显抑制p21蛋白的降解。

2.3 SAHA通过影响GSK-3β/UPS途径抑制p21的降解

前期研究表明, GSK-3β可以通过磷酸化p21促进其经由泛素-蛋白酶体途径降解(ubiquitin-proteasome system, UPS)^[9-10], 而HDACs抑制剂SAHA和TSA处理24 h以上可以提高PKC和AKT的磷酸化水平, 从而提高GSK-3βS9的磷酸化, 进而抑制GSK-3β的活性^[11], 因此, 我们推测SAHA也可能通过抑制GSK-3β的活性而增强p21蛋白的稳定性。我们首先检测了SAHA对GSK-3β mRNA和蛋白表达的影响, 以及GSK-3βS9磷酸化水平的变化。结果表明, SAHA处理24 h并没有影响GSK-3β mRNA和蛋白表达(图3A和3B), 但提高了GSK-3βS9磷酸化水平, 这与前期几个研究组的报道一致。为了进一步证明GSK-3β的活性影响了p21蛋白的稳定性, 我们首先在U251MG细胞内过表达无活性的GSK-3βKD或持续活性的GSK-3βCA, 以空Vector为对照, 分别转染U251MG细胞24 h。用SAHA再处理24 h后, 发现Vector组、GSK-3βKD组p21蛋白水平较高, 而GSK-3βCA组蛋白水平明显较低(图3C), 由于GSK-3βCA是结构性活化突变体, 药物一般不能影响其活性, 所以上述实验结果表明, SAHA可以通过影响内源性的GSK-3β活性而抑制p21蛋白的降解。为了进一步证实p21蛋白可以通过泛素-蛋白酶体途径降解, 我们用蛋白酶体抑制剂MG132处理细胞, 结果发现, MG132确实能够上调p21的蛋白水平, 表明p21确实通过泛素-蛋白酶体途径降解(图3D)。



A: SAHA对U251MG细胞内GSK-3 β mRNA表达水平的影响; B: SAHA对U251MG细胞内GSK-3 β 蛋白水平和活性的影响; C: SAHA调节GSK-3 β 的活性影响p21蛋白的降解; D: MG132抑制了p21蛋白的降解。

A: the effect of SAHA on GSK-3 β mRNA expression in U251MG cells; B: the effect of SAHA on protein level and activity of GSK-3 β in U251MG cells; C: SAHA inhibition of p21 protein degradation via regulation of GSK-3 β activity; D: MG132 inhibition of p21 protein degradation.

图3 SAHA通过影响GSK-3 β /UPS途径抑制p21蛋白的降解

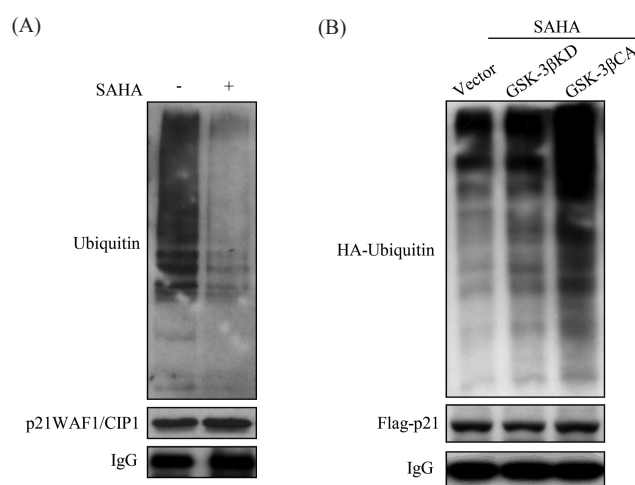
Fig.3 SAHA inhibition of p21 protein degradation via GSK-3 β /UPS pathway

2.4 SAHA调控了p21的泛素化水平

上述实验结果表明, SAHA可以通过UPS途径抑制p21的降解, 那么极有可能影响其泛素化水平。因此, 我们在用SAHA处理U251MG细胞24 h后, 分成两组, 一组继续用无血清培养+SAHA处理, 一组用无血清培养+DMSO处理, 6 h后用p21抗体作免疫沉淀, 发现DMSO组p21泛素化水平很高, 而SAHA组p21几乎没有泛素化(图4A)。为了进一步证明上述内源性结果, 我们又将Flag-p21和HA-Ubiquitin分别与Vector、GSK-3 β KD、GSK-3 β CA共转染293T细胞24 h, 用SAHA处理24 h后, 发现SAHA能明显抑制Vector、GSK-3 β KD组的p21泛素化水平, 但不能抑制GSK-3 β CA的p21泛素化水平(图4B), 这与上述实验结果一致。

2.5 p21蛋白的稳定性对细胞周期的影响

由于p21是细胞周期调控蛋白, 其表达上调会引起细胞周期阻滞于G₁期^[12]。接下来我们分析了p21的稳定性对细胞周期的影响。分别转染Vector、GSK-3 β KD、GSK-3 β CA, 同时将U251MG细胞同步化, SAHA处理24 h后释放, 16 h后进行细胞周期分析。结果如图5所示, Vector、GSK-



A: SAHA对U251MG细胞中内源性p21泛素化水平的影响; B: SAHA和GSK-3 β 活性对外源性p21泛素化水平的影响。

A: the effects of SAHA on ubiquitination of endogenous p21 protein in U251MG cells; B: the effects of SAHA and activity of GSK-3 β on exogenous p21 protein in 293T cells.

图4 SAHA对p21蛋白泛素化水平的影响

Fig.4 The effects of SAHA on ubiquitination of p21 protein

3 β KD组细胞被阻滞于G₁期, 且只有15%左右的subG₁; 而GSK-3 β CA组细胞G₁/S期比例仅40%左右, G₂/M期明显升高17%左右。更重要的是, 比较三

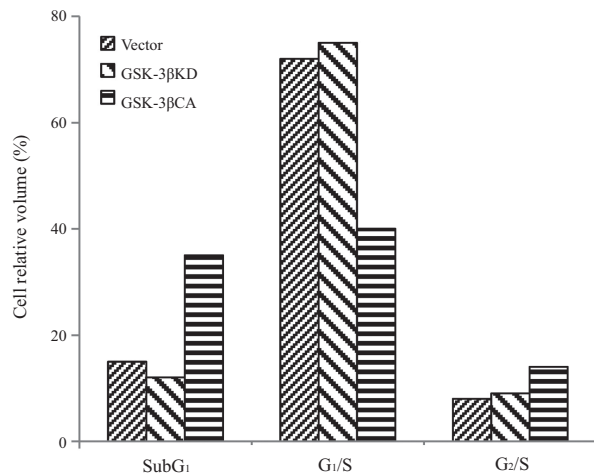


图5 GSK-3 β 所介导的p21稳定性对细胞周期的影响

Fig.5 The effects of p21 stability mediated by GSK-3 β on cell cycle

组subG₁的比例,在SAHA处理的条件下,我们发现GSK-3 β CA组p21稳定性降低可以明显提高细胞凋亡率37%,而其他两组仅15%左右的凋亡。

3 讨论

尽管基因组不稳定性与基因突变是肿瘤发生的重要原因,但研究表观遗传修饰的异常与肿瘤的发生、发展也密切相关^[3]。组蛋白的甲基化、乙酰化是表观遗传修饰的主要途径,目前已经开发出了很多与之对应的小分子抑制剂如SAHA、TSA等,单独使用或联合使用能明显改善肿瘤患者的生存质量和预后,但一些肿瘤临床治疗效果有限且存在一定的副反应^[13-15]。因此,探明这些小分子抑制剂作用的分子机制,将有利于克服肿瘤细胞的药物抵抗并可以提供多种药物联合治疗的策略。前期发现SAHA能选择性地诱导肿瘤细胞p21 mRNA的表达,引起肿瘤细胞周期阻滞、自噬和细胞凋亡等^[6]。本研究又发现SAHA具有双重作用,既在转录水平上可以上调p21 mRNA的表达,又在翻译后调控其降解,维持了p21蛋白的稳定性。

首先,SAHA可以通过影响GSK-3 β 活性而维持p21蛋白的稳定性。在我们的研究体系中,SAHA可以提高多种肿瘤细胞中p21蛋白水平,具有一定的普遍性。有证据表明GSK-3 β 可以介导p21蛋白的降解,目前我们证实SAHA确实可以通过影响GSK-3 β 活性而稳定p21蛋白的水平。但是,

SAHA抑制GSK-3 β 的活性是否影响到其生物学效应尚需进一步研究。其次,SAHA通过调控p21蛋白稳定性而影响细胞周期的进程。大量的研究已证实SAHA上调p21的表达可以引起细胞周期阻滞,然而GSK-3 β 所介导的p21蛋白的降解是否会影响其生物学效应尚不清楚。此外,SAHA处理的条件下,结构性持续活化的GSK-3 β CA明显减少了G₁/S期的比例,提高了G₂/M期和subG₁期的比例。这可能主要是由GSK-3 β CA导致p21蛋白的降解所致,当然也不能排除GSK-3 β CA可能发挥了其他生物学效应。

最后,p21上调可能是引起细胞耐受SAHA的重要原因。本研究中值得注意的是GSK-3 β CA可以降低p21的稳定性而改变细胞周期进程,却又提高细胞凋亡的比例。有文献报道SAHA诱导p21蛋白水平升高是导致生长抑制和细胞凋亡的主要原因,也是其发挥生物学效应的主要机制^[6]。近来的研究发现药物导致p21蛋白上调,并驻留于细胞质中而可能发挥抗凋亡作用,继而引起药物抵抗^[16-17]。最近有文献报道TSA并不能诱导U87MG细胞凋亡,仅引起细胞周期阻滞于G₁/S期,这可能与p21蛋白上调有关^[18]。本研究中我们发现,SAHA诱导U251MG细胞内p21上调可能是引起细胞耐受SAHA的重要原因,如能进一步通过体内实验证实将具有重要的临床应用价值。

参考文献 (References)

- Wang Y, Jiang T. Understanding high grade glioma: Molecular mechanism, therapy and comprehensive management. *Cancer Lett* 2013; 331(2): 139-46.
- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144(5): 646-74.
- Spiegel S, Milstien S, Grant S. Endogenous modulators and pharmacological inhibitors of histone deacetylases in cancer therapy. *Oncogene* 2012; 31(5): 537-51.
- Marks PA, Xu WS. Histone deacetylase inhibitors: Potential in cancer therapy. *J Cell Biochem* 2009; 107(4): 600-8.
- Xu WS, Parmigiani RB, Marks PA. Histone deacetylase inhibitors: Molecular mechanisms of action. *Oncogene* 2007; 26(37): 5541-52.
- Marks PA. Discovery and development of SAHA as an anticancer agent. *Oncogene* 2007; 26(9): 1351-6.
- Richon VM, Sandhoff TW, Rifkind RA, Marks PA. Histone deacetylase inhibitor selectively induces p21WAF1 expression and gene-associated histone acetylation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(18): 10014-9.
- Gui CY, Ngo L, Xu WS, Richon VM, Marks PA. Histone

- deacetylase (HDAC) inhibitor activation of p21WAF1 involves changes in promoter-associated proteins, including HDAC1. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(5): 1241-6.
- 9 Yohn NL, Bingaman CN, DuMont AL, Yoo LI. Phosphatidylinositol 3'-kinase, mTOR, and glycogen synthase kinase-3 β mediated regulation of p21 in human urothelial carcinoma cells. *BMC Urol* 2011; 11: 19.
- 10 Lee JY, Yu SJ, Park YG, Kim J, Sohn J. Glycogen synthase kinase 3 β phosphorylates p21WAF1/CIP1 for proteasomal degradation after UV irradiation. *Mol Cell Biol* 2007; 27(8): 3187-98.
- 11 Alao JP, Stavropoulou AV, Lam EW, Coombes RC. Role of glycogen synthase kinase 3 β (GSK3 β) in mediating the cytotoxic effects of the histone deacetylase inhibitor trichostatin A (TSA) in MCF-7 breast cancer cells. *Mol Cancer* 2006; 5: 40.
- 12 Abbas T, Dutta A. p21 in cancer: Intricate networks and multiple activities. *Nat Rev Cancer* 2009; 9(6): 400-14.
- 13 Wang Y, Shang Y. Epigenetic control of epithelial-to-mesenchymal transition and cancer metastasis. *Exp Cell Res* 2013; 319(2): 160-9.
- 14 Dawson MA, Kouzarides T, Huntly BJ. Targeting epigenetic readers in cancer. *N Engl J Med* 2012; 367(7): 647-57.
- 15 Dawson MA, Kouzarides T. Cancer epigenetics: From mechanism to therapy. *Cell* 2012; 150(1): 12-27.
- 16 Vincent AJ, Ren S, Harris LG, Devine DJ, Samant RS, Fodstad O, *et al.* Cytoplasmic translocation of p21 mediates NUPR1-induced chemoresistance: NUPR1 and p21 in chemoresistance. *FEBS Lett* 2012; 586(19): 3429-34.
- 17 Gareau C, Fournier MJ, Filion C, Coudert L, Martel D, Labelle Y, *et al.* p21 (WAF1/CIP1) upregulation through the stress granule-associated protein CUGBP1 confers resistance to bortezomib-mediated apoptosis. *PLoS One* 2011; 6(5): e20254.
- 18 Bajbouj K, Mawrin C, Hartig R, Schulze-Luehrmann J, Wilisch-Neumann A, *et al.* P53-dependent antiproliferative and pro-apoptotic effects of trichostatin A (TSA) in glioblastoma cells. *J Neurooncol* 2012; 107(3): 503-16.