

新型肿瘤治疗靶点 Cdc20 的研究进展

乐祥阳, 蒯梦妮, 李乾斌, 陈卓*

(中南大学湘雅药学院, 湖南 长沙 410013)

摘要: 细胞分裂后期促进复合物 (APC) 具有调节细胞周期进展的作用, 经细胞分裂周期蛋白 20 (Cdc20) 或 Cdc20 同系物 1 (Cdh1) 活化后形成两种不同的 E3 泛素连接酶复合物 APC^{Cdc20} 或 APC^{Cdh1}。Cdc20 为促癌因子, Cdh1 为抑癌因子, 在肿瘤的发生及发展中发挥不同的作用。越来越多的研究表明, Cdc20 对肿瘤的发生起促进作用, 很多肿瘤中存在 Cdc20 的高表达。目前 Cdc20 抑制剂除了 apcin 外, 大部分为非特异性抑制剂, 不仅阻断 Cdc20 与 APC 的结合, 也阻断 Cdh1 与 APC 的结合, 选择性差。本文就 Cdc20 在肿瘤发生及发展过程中的作用及其抑制剂进行综述。

关键词: 肿瘤; 细胞分裂周期蛋白 20; E3 泛素连接酶; 抑制剂

中图分类号: R914

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2017) 09-1366-06

Progress in research on the novel cancer therapeutic target Cdc20

LE Xiang-yang, KUAI Meng-ni, LI Qian-bin, CHEN Zhuo*

(XiangYa School of Pharmaceutical Sciences, Central South University, Changsha 410013, China)

Abstract: The anaphase promoting complex (APC) regulates cell cycle progression by forming two functionally distinct E3 ubiquitin ligase complexes, APC^{Cdc20} activated by cell division cycle protein 20 (Cdc20) and APC^{Cdh1} activated by Cdc20 homologue 1 (Cdh1), respectively. Cdc20 and Cdh1 have different functions in the occurrence and development of the tumor. Cdc20 is a cancer promoter while Cdh1 suppresses tumorigenesis. Emerging evidence has begun to reveal that Cdc20 has positive functions in tumorigenesis, the overexpression of Cdc20 has been observed in many cancers. Currently, Cdc20 inhibitors, mostly non-specific inhibitors except apcin, not only block the combination between Cdc20 and APC, also block the combination between Cdh1 and APC, which leads to a poor selectivity. In this paper, the Cdc20 role in the development and process of cancers and its inhibitors are reviewed.

Key words: cancer; cell division cycle protein 20; E3 ubiquitin ligase; inhibitor

泛素化在细胞生长、繁殖、凋亡, DNA 的损伤、迁移、入侵中发挥至关重要的作用。泛素化是由泛素蛋白酶系统 (UPS) 介导的一种翻译后修饰, 它能够调节蛋白降解过程^[1]。多亚基 E3 泛素连接酶参与细胞分裂过程, 其中, 细胞分裂后期促进复合物

(anaphase promoting complex, APC) 是最大的 E3 泛素连接酶, 由至少 14 个亚基和 1 个共活化因子组成, 经细胞分裂周期蛋白 20 (Cdc20) 或 Cdc20 同系物 1 (Cdh1) 活化后形成两种不同的 E3 泛素连接酶复合物 APC^{Cdc20} 或 APC^{Cdh1}, APC^{Cdc20} 在有丝分裂中期至后期的过渡期破坏关键细胞周期调控子来调节细胞周期进程 (图 1)^[2], 而 APC^{Cdh1} 在 M 期和 G₁ 期发挥重要作用^[3]。

Cdc20 通常被认为是致癌因子, 促进肿瘤的发生及发展, 抑制 Cdc20 的活性可调节细胞分裂周期、加

收稿日期: 2017-04-11; 修回日期: 2017-05-03.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81573287); 湖南省自然科学基金资助项目 (2016JJ2162).

*通讯作者 Tel / Fax: 86-731-82650370, E-mail: cz_job@csu.edu.cn

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0352

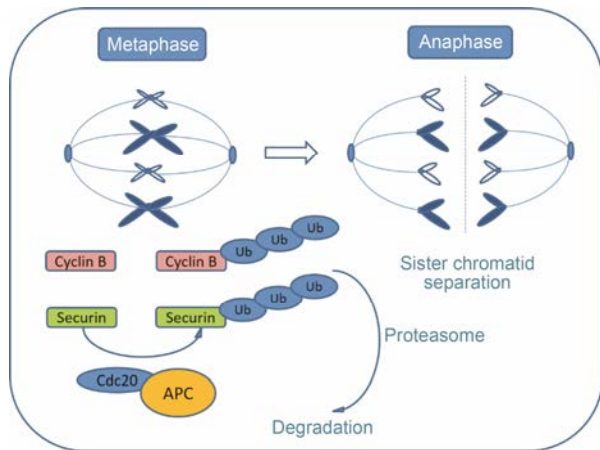


Figure 1 A schematic illustration of cell division cycle protein 20 (Cdc20) participates in the cell division process

速细胞凋亡。同时,在多种肿瘤细胞甚至肿瘤干细胞中都存在 Cdc20 的高表达,为 Cdc20 作为一个新型抗肿瘤药物研发靶点提供了依据。因此,本文总结了 Cdc20 与肿瘤的关系及现有的 Cdc20 抑制剂。

1 Cdc20 与肿瘤

1.1 Cdc20 的生物学功能

Cdc20 的发现早在 40 年前,最初有研究者发现, Cdc20 突变可引起有丝分裂异常停止,使分裂后期染色体分离异常^[4]。随后,有研究表明, Cdc20 能调节蛋白-蛋白相互作用^[5]。目前,研究认为 Cdc20 主要通过活化 APC 形成一种 E3 泛素连接酶复合物 APC^{Cdc20}, 参与其下游底物的降解过程,调节细胞有丝分裂周期进程、促进细胞凋亡等(图 2)。

1.1.1 调节细胞周期 APC 经 Cdc20 活化后形成 APC^{Cdc20} 复合物,破坏其下游细胞周期调控子 securin、cyclin B 的泛素化^[6],在有丝分裂中期至后期的过渡

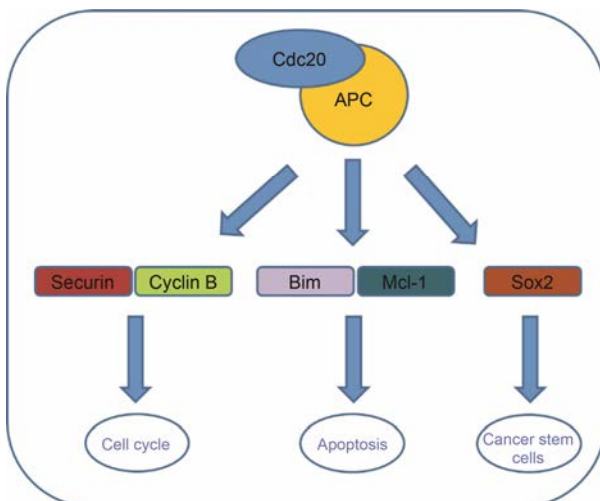


Figure 2 A schematic illustration of the pharmacological functions of Cdc20

期发挥至关重要的作用(图 1)。随着对 Cdc20 的研究不断深入,越来越多的 APC^{Cdc20} 底物被发现(表 1)^[7-17],有些底物直接或间接参与细胞分裂过程, Cdc20 能调节这些底物的泛素化或降解过程,从而调节细胞周期进程。因此,发现更多的 APC^{Cdc20} 底物有助于了解 APC^{Cdc20} 在调节细胞周期进展的分子机制。

Table 1 The functions of the identified substrates for APC^{Cdc20}

Substrate	Function	Reference
Securin	Inhibits separase activity	[7]
Cyclin B	Activates Cdk1 and controls the G ₂ /M transition	[8]
p21	Inhibits cyclin-dependent kinase activity	[9]
Nek2A	Regulates centrosome separation and spindle formation	[10]
Kif18A	Plays a role in chromosome congression	[10]
PHF8	Activates gene transcription by demethylating histon H3 and H4	[11]
Bard1	Controls spindle pole formation	[12]
RAP80	Recruits BRCA1 to DNA damage sites	[13]
TRRAP	Histone acetyltransferase complex component	[14]
Bim	Plays key roles in regulating apoptosis	[15]
Mcl-1	Anti-apoptotic protein	[16]
Sox-2	Drives the invasiveness and self-renewal of glioblastoma stem-like cells	[17]

1.1.2 促进细胞凋亡 除了调节细胞周期进程, Cdc20 也被发现参与细胞凋亡过程。细胞凋亡过程与抗凋亡因子和促凋亡因子关系密切, Cdc20 通过靶向作用于 Mcl-1 和 Bim 调节细胞凋亡。抗有丝分裂药物可以活化纺锤体组装检查点从而抑制 APC^{Cdc20} 的活性^[18],如 taxol 和 nocodazole 通过 Mad2 依赖的途径抑制 APC^{Cdc20} 的活性,长期使用可促进癌细胞凋亡,这一策略已经应用于肿瘤治疗方面^[19]。也有报道表明, Cdc20 通过抑制细胞凋亡引起癌细胞对化学治疗和放射治疗的抗性^[20]。随着对 Cdc20 的不断研究,其在调节细胞凋亡中的作用将会越来越明确。

1.1.3 Cdc20 与肿瘤干细胞 肿瘤干细胞具有高度增殖和分化能力,具有发展成肿瘤的特性。在越来越多的肿瘤组织中发现了肿瘤干细胞的存在,有研究认为,现有的抗肿瘤药物只针对普通肿瘤细胞,不能杀死肿瘤干细胞,导致肿瘤化疗耐药和肿瘤治疗失败^[21]。因此,肿瘤干细胞靶向药物研究成为热点。有研究者发现, Cdc20 活化 APC 形成 APC^{Cdc20} 复合物后,调节其下游多能性相关转录因子 Sox2 的活性,促进胶质瘤干细胞的侵袭及更新^[17]。

1.2 Cdc20 在肿瘤中表达情况

Cdc20 促进肿瘤的发生及发展,在很多肿瘤中都发现了 Cdc20 高表达的现象(表 2),且 Cdc20 的表达

Table 2 Cdc20 expressions in normal tissues/ tumor tissues from multiple organs. a: The expression levels are shown as number of high expression cases/total number of cases/percentage. ADC: Adenocarcinoma; HCC: Hepatocellular carcinoma; IDC: Invasive duct carcinoma; ILC: Invasive lobular carcinoma; MCADC: Mucinous cystadenocarcinoma; SCADC: Serous cystadenocarcinoma; SCC: Squamous cell carcinoma; TCC: Transitional cell carcinoma

Organ	Normal tissue	Tumor tissue	
	Expression level ^a	Diagnose	Expression level
Bladder	0/15/0	TCC	14/25/56
		SCC	10/15/66.7
Breast	4/15/26.7	IDC	19/30/63.3
		LC	5/10/50
Cervix	0/10/0	SCC	10/25/40
Colon	5/15/33.3	ADC	22/40/55
Endometrium	7/15/46.7	ADC	21/30/70
Head and neck	2/10/20	SCC	11/25/44
Kidney	2/10/20	RCC	14/30/46.7
Liver	0/15/0	HCC	25/40/62.5
Lung	3/10/30	ADC	5/15/33.3
		SCC	9/15/60
Ovary	4/10/40	SCADC	17/25/68
		MCADC	12/15/80
Pancreas	1/5/20	ADC	7/15/46.7
Prostate	4/15/26.7	ADC	21/40/52.5
Stomach	0/10/0	ADC	17/30/56.7
Testis	3/10/30	Seminoma	13/20/65

程度与肿瘤的病理程度相关, Cdc20 表达越高, 肿瘤患者的病理分级越高, 预后越差, 5 年总体生存率越低。

降低 Cdc20 水平是一条潜在的肿瘤治疗策略。

例如, 在胰腺癌患者中, 降低 Cdc20 的表达水平能有效改善射线对胰腺癌细胞的效果^[22, 23]; 在非小细胞肺癌中, 随着 Cdc20 表达水平增高, 癌细胞胸膜浸润越明显^[24], 而下调 Cdc20 表达水平后, 肺癌细胞生长减缓, 肺癌细胞集落的形成速率减慢^[25]。此外, 在乳腺癌^[26]、大肠癌^[27]、肝癌^[28]、前列腺癌^[29]、胶质瘤^[30]、胃癌^[31]、膀胱癌^[32]和宫颈癌^[33]等肿瘤中也存在 Cdc20 的高表达, 且其表达程度与肿瘤患者的病理程度、预后关系密切, Cdc20 表达水平越高, 风险越大。总而言之, Cdc20 的表达水平是一个有效的肿瘤患者预后指标, 并有望成为肿瘤治疗药物研发的新型靶点。

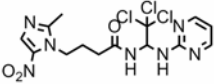
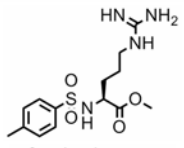
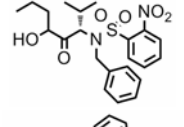
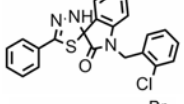
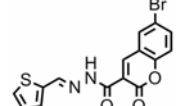
2 Cdc20 抑制剂

Cdc20 促进肿瘤的发生及发展, 在很多肿瘤中都存在 Cdc20 的高表达, 因此, 使用小分子抑制剂降低 Cdc20 水平是治疗肿瘤的一条策略。尽管有些蛋白酶抑制剂可以限制 APC 的活性, 但往往是以一种非特异性的方式, 作用于多种蛋白, 破坏下游许多抑癌因子, 引起发热、贫血、腹泻和恶心等不良反应, 而靶向作用于 Cdc20 的特异性抑制剂可以避免直接抑制 APC 的活性, 从而减轻毒副作用^[34]。遗憾的是, 目前特异性 Cdc20 抑制剂研究非常少。以下将总结一些特异性和非特异性 Cdc20 抑制剂 (表 3)^[35–39], 为特异性 Cdc20 抑制剂的研发提供思路。

2.1 特异性 Cdc20 抑制剂

目前, 特异性 Cdc20 抑制剂的研究尚处于起步阶段。有研究组在蟾蜍卵提取物中构建 APC^{Cdc20}-底物模型来筛选 Cdc20 抑制剂: 依照文献^[40]方法制备

Table 3 The structures and functions of Cdc20 inhibitors

Compound	Structure	Function	Reference
Apcin		Occupies the D-box-binding pocket on the side of the WD40 domain and blocks substrate-induced Cdc20 loading onto the APC.	[35]
TAME		Reduces Cdc20 association with the APC and subsequently inhibits APC activity.	[36]
NAHA		Inhibits the expression of Cdc20 in breast cancer cells, retards cell proliferation and colony formation.	[37]
CFM-4		Down-regulates Cdc20 in breast cancer cells and induces apoptosis.	[38]
BCHHD 7c		Inhibits Cdc20 expression in drug resistant pancreatic cancer cells.	[39]

处于分裂间期的蟾蜍卵提取物 (不加入钙离子载体 A23187 活化), 保存于 -80°C 条件下, 加入难降解性 cyclin 蛋白 (MBP- $\Delta 90$) 诱导处于分裂间期的蟾蜍卵提取物进入有丝分裂分裂期, MBP- $\Delta 90$ 由麦芽糖结合蛋白 MBP 与缺失 N 端 90 位氨基酸的 cyclin 蛋白融合而成。为消除分裂间期残留蛋白的影响, 加入 Cdh1 蛋白和细胞周期依赖性蛋白激酶抑制剂 roscovitine 促进其降解, roscovitine 能减缓 Cdk1 对 Cdh1 蛋白去磷酸化的抑制作用。用待筛选化合物处理蟾蜍卵提取物后加入同位素标记的 cyclin 蛋白 N 端碎片 (cyc B1-NT), 根据 cyc B1-NT 的剩余量可以计算所筛选化合物的活性^[35]。

对所筛选化合物构效关系研究 (图 3) 发现, 用吡啶环替换 apcin 中噻啶环时活性降低 (apcin-P); 而用吗啉环替换 (apcin-M) 活性消失; 但用氨基替换 apcin 中的硝基咪唑基团时, 活性影响很小 (apcin-A)^[35]。在实验过程中, 用 apcin 处理的蟾蜍卵提取物实验中 Cdc20 的含量减少, 而加入体外制备的 Cdc20 后, cyclin 蛋白水解受到的抑制作用解除, 这说明 apcin 通过靶向作用于 Cdc20, 从而抑制 cyclin 蛋白水解。随后, Cdc20 的晶体结构也被发现 (图 3), apcin 与 Cdc20 的对接结果显示, apcin 噻啶环中的氮原子、链上的 2 个氮氢与 Cdc20 中的 177 位天冬氨酸有 3 个氢键结合作用, apcin 中的三氯甲基埋入由 200 位缬氨酸、209 位酪氨酸和 467 位亮氨酸组成的疏水口袋中, 而 apcin 中的硝基咪唑基团则暴露在溶剂中。这些研究都表明, apcin 是通过靶向作用于 Cdc20, 阻断 Cdc20 与 APC 之间的连接, 从而调节其下游底物的活性, 进而发挥其生物功能。

目前, 本课题组也在进行 Cdc20 特异性抑制剂的研究。对 Cdc20 晶体结构分析后, 以 apcin 为先导化合物, 保留已有的氢键作用, 对 apcin 中的噻啶环、三氯甲基和甲硝唑基团进行改造, 并使用计算机辅助药物设计进行验证, 以期发现活性更好的 Cdc20 特异性抑制剂。

2.2 非特异性 Cdc20 抑制剂

2.2.1 TAME 和 pro-TAME 研究组^[36]发现另外一个小分子化合物 TAME 也能抑制蟾蜍卵提取物中 cyclin 蛋白水解, 然而, TAME 是通过与 APC 结合, 阻断 Cdc20 或 Cdh1 活化 APC, 从而抑制 APC 的活性。尽管 TAME 可以阻断 Cdc20 活化 APC, 对 APC^{Cdc20} 的底物进行调节, 但它同时也可以阻断 Cdh1 活化 APC, 而 Cdh1 是一个抑癌因子, APC 经 Cdh1 活化后形成 APC^{Cdh1} 复合物, 抑制肿瘤的形成及发展 (图 4)。由于 TAME 的渗透性不佳, Zeng 等^[36]发现 pro-TAME 能水解生成 TAME, pro-TAME 也能阻断 Cdc20 或 Cdh1 与 APC 的结合, 抑制 APC 的活性, 而且 pro-TAME 能诱导细胞凋亡, 与其他抑制剂联合使用时能大大提高细胞死亡率。

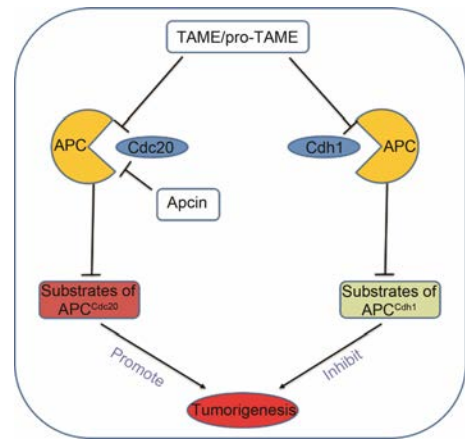


Figure 4 The difference between specific Cdc20 inhibitors and non-specific Cdc20 inhibitors

2.2.2 NAHA、CFM-4 和 BCHHD 在乳腺癌小鼠模型中, NAHA 能减小肿瘤的体积, 减轻肿瘤的重量, 降低 Cdc20 水平, 减缓细胞生长速率, 抑制癌细胞集落的形成。有研究者报道, NAHA 能通过抑制尿激酶型纤溶酶原激活物减缓癌细胞的入侵和迁移^[37]。这些都表明, NAHA 以一种不明机制的方式抑制乳腺癌细胞中 Cdc20 的表达。CARP-1 能把 Cdc20 或 Cdh1

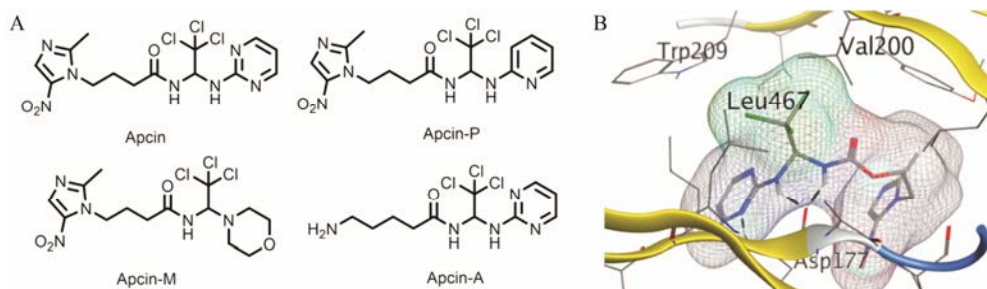


Figure 3 The structures of apcin derivatives (A) and crystal structure of the apcin Cdc20 complex (B)

与 APC2 结合起来, 调节细胞的生长和凋亡, 而化合物 CFM-4 能阻断这种结合, 延长细胞周期并诱导凋亡^[38]。Nasr 等^[39]发现在产生耐药性的胰腺癌细胞中, 化合物 BCHHD 7c 能抑制 Cdc20 的表达。

2.2.3 天然产物成分 金雀异黄素是一种异黄酮类植物雌激素, 对恶性肿瘤具有多效作用, 它能抑制酪氨酸激酶活性, 作用于多种信号通路抑制细胞生长、迁移和入侵, 诱导凋亡。在胶质瘤、横纹肌肉瘤、肝癌和乳腺癌等肿瘤细胞中, 金雀异黄素能下调包括 Cdc20 在内的很多关键调控因子的表达, 表现出抗肿瘤性^[41]。从药用真菌中提取的一种灵芝醇 ganodermanontriol (GDNT), 能下调 Cdc20 水平, 抑制乳腺癌细胞的生长及癌细胞集落形成^[42]。从茄科植物中提取出的 withaferin A 对胰腺癌、乳腺癌和大肠癌等多种肿瘤细胞都有抗肿瘤活性, 而近期有研究者发现 withaferin A 是通过促进 Cdc20 和 Mad2 的降解和抑制纺锤体组装检查点功能来发挥抗肿瘤活性^[43]。

3 结语

越来越多的研究表明, Cdc20 作为一个促癌因子, 参与很多肿瘤的发生和发展过程, Cdc20 抑制剂是肿瘤治疗的一种新策略。Apcin 是一种特异性 Cdc20 抑制剂, 与 Cdc20 靶向结合, 抑制 APC 的活性, 而其他抑制剂为非特异性抑制剂, 选择性较低。金雀异黄素、GDNT 和 withaferin A 等植物成分具有无毒的特点, 是一种安全的肿瘤治疗途径。对 Cdc20 在肿瘤中作用的不断研究, 将为特异性 Cdc20 抑制剂的研发提供新的思路, 一方面, 研究者要不断发现 APC^{Cdc20} 的下游蛋白, 更深入、全面地了解 Cdc20 在肿瘤中的作用; 另一方面, 也要探索 Cdc20 在肿瘤的发生及发展中除了调节细胞周期和细胞凋亡以外的药理作用。为满足进一步的研发及临床需要, 应致力于特异性更高、活性更好的 Cdc20 抑制剂研究。

References

- [1] Bassermann F, Eichner R, Pagano M. The ubiquitin proteasome system – implications for cell cycle control and the targeted treatment of cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2014, 1843: 150–162.
- [2] Kim S, Yu H. Mutual regulation between the spindle checkpoint and APC/C [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22: 551–558.
- [3] Hu D, Qiao X, Wu G, et al. The emerging role of APC/C^{Cdh1} in development [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2011, 22: 579–585.
- [4] Hartwell LH, Culotti J, Reid B. Genetic control of the cell-division cycle in yeast. I. Detection of mutants [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1970, 66: 352–359.
- [5] Hartwell LH, Mortimer RK, Culotti J, et al. Genetic control of the cell division cycle in yeast: V. Genetic analysis of Cdc mutants [J]. *Genetics*, 1973, 74: 267–286.
- [6] Holland AJ, Cleveland DW. Boveri revisited: chromosomal instability, aneuploidy and tumorigenesis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2009, 10: 478–487.
- [7] Zur A, Brandeis M. Securin degradation is mediated by fzy and fzr, and is required for complete chromatid separation but not for cytokinesis [J]. *EMBO J*, 2001, 20: 792–801.
- [8] Clute P, Pines J. Temporal and spatial control of cyclin B1 destruction in metaphase [J]. *Nat Cell Biol*, 1999, 1: 82–87.
- [9] Amador V, Ge S, Santamaria PG, et al. APC/C^{Cdc20} controls the ubiquitin-mediated degradation of p21 in prometaphase [J]. *Mol Cell*, 2007, 27: 462–473.
- [10] Sedgwick GG, Hayward DG, Di Fiore B, et al. Mechanisms controlling the temporal degradation of Nek2A and Kif18A by the APC/C-Cdc20 complex [J]. *EMBO J*, 2013, 32: 303–314.
- [11] Lim HJ, Dimova NV, Tan MK, et al. The G₂/M regulator histone demethylase PHF8 is targeted for degradation by the anaphase-promoting complex containing CDC20 [J]. *Mol Cell Biol*, 2013, 33: 4166–4180.
- [12] Song L, Rape M. Regulated degradation of spindle assembly factors by the anaphase-promoting complex [J]. *Mol Cell*, 2010, 38: 369–382.
- [13] Cho HJ, Lee EH, Han SH, et al. Degradation of human RAP80 is cell cycle regulated by Cdc20 and Cdh1 ubiquitin ligases [J]. *Mol Cancer Res*, 2012, 10: 615–625.
- [14] Ichim G, Mola M, Finkbeiner MG, et al. The histone acetyltransferase component TRRAP is targeted for destruction during the cell cycle [J]. *Oncogene*, 2014, 33: 181–192.
- [15] Cragg MS, Harris C, Strasser A, et al. Unleashing the power of inhibitors of oncogenic kinases through BH3 mimetics [J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9: 321–326.
- [16] Harley ME, Allan LA, Sanderson HS, et al. Phosphorylation of Mcl-1 by CDK1-cyclin B1 initiates its Cdc20-dependent destruction during mitotic arrest [J]. *EMBO J*, 2010, 29: 2407–2420.
- [17] Mao DD, Gujar AD, Mahlokozera T, et al. A CDC20-APC/SOX2 signaling axis regulates human glioblastoma stem-like cells [J]. *Cell Rep*, 2015, 11: 1809–1821.
- [18] Izawa D, Pines J. The mitotic checkpoint complex binds a second CDC20 to inhibit active APC/C [J]. *Nature*, 2015, 517: 631–634.

- [19] Janssen A, Medema RH. Mitosis as an anti-cancer target [J]. *Oncogene*, 2011, 30: 2799–2809.
- [20] Wan L, Tan M, Yang J, et al. APC^{Cdc20} suppresses apoptosis through targeting Bim for ubiquitination and destruction [J]. *Dev Cell*, 2014, 29: 377–391.
- [21] Ma HY, He M, Wei MJ. Research progress on targeting effect and regulating mechanisms of the stemness of cancer stem cells [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 189–196.
- [22] Xu QQ, Zhou ZS, Xiang M. Progress in the study of signal pathways for chronic inflammation-associated pancreatic carcinogenesis [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 174–181.
- [23] Taniguchi K, Momiyama N, Ueda M, et al. Targeting of CDC20 *via* small interfering RNA causes enhancement of the cytotoxicity of chemoradiation [J]. *Anticancer Res*, 2008, 28: 1559–1563.
- [24] Kato T, Daigo Y, Aragaki M, et al. Overexpression of CDC20 predicts poor prognosis in primary non-small cell lung cancer patients [J]. *J Surg Oncol*, 2012, 106: 423–430.
- [25] Kidokoro T, Tanikawa C, Furukawa Y, et al. CDC20, a potential cancer therapeutic target, is negatively regulated by p53 [J]. *Oncogene*, 2008, 27: 1562–1571.
- [26] Yuan B, Xu Y, Woo JH, et al. Increased expression of mitotic checkpoint genes in breast cancer cells with chromosomal instability [J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12: 405–410.
- [27] Wu WJ, Hu KS, Wang DS, et al. CDC20 overexpression predicts a poor prognosis for patients with colorectal cancer [J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 142.
- [28] Li J, Gao J, Du J, et al. Increased CDC20 expression is associated with development and progression of hepatocellular carcinoma [J]. *Int J Oncol*, 2014, 45: 1547–1555.
- [29] Kwan PS, Lau CC, Chiu YT, et al. Daxx regulates mitotic progression and prostate cancer predisposition [J]. *Carcinogenesis*, 2013, 34: 750–759.
- [30] Dai B, Gong A, Jing Z, et al. Forkhead box M1 is regulated by heat shock factor 1 and promotes glioma cells survival under heat shock stress [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288: 1634–1642.
- [31] Ding Z, Wu H, Zhang J, et al. Expression characteristics of CDC20 in gastric cancer and its correlation with poor prognosis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7: 722–727.
- [32] Choi J, Kim Y, Lee J, et al. High expression of spindle assembly checkpoint proteins CDC20 and MAD2 is associated with poor prognosis in urothelial bladder cancer [J]. *Virchows Arch*, 2013, 463: 681–687.
- [33] Kim Y, Choi J, Lee J, et al. MAD2 and CDC20 are upregulated in high-grade squamous intraepithelial lesions and squamous cell carcinomas of the uterine cervix [J]. *Int J Gynecol Pathol*, 2014, 33: 517–523.
- [34] Dou QP, Zonder JA. Overview of proteasome inhibitor-based anti-cancer therapies: perspective on bortezomib and second generation proteasome inhibitors *versus* future generation inhibitors of ubiquitin-proteasome system [J]. *Curr Cancer Drug Targets*, 2014, 14: 517–536.
- [35] Sackton KL, Dimova N, Zeng X, et al. Synergistic blockade of mitotic exit by two chemical inhibitors of the APC/C [J]. *Nature*, 2014, 514: 646.
- [36] Zeng X, Sigoillot F, Gaur S, et al. Pharmacologic inhibition of the anaphase-promoting complex induces a spindle checkpoint-dependent mitotic arrest in the absence of spindle damage [J]. *Cancer Cell*, 2010, 18: 382–395.
- [37] Jiang J, Thyagarajan-Sahu A, Krchnak V, et al. NAHA, a novel hydroxamic acid-derivative, inhibits growth and angiogenesis of breast cancer *in vitro* and *in vivo* [J]. *PLoS One*, 2012, 7: e34283.
- [38] Puliappadamba VT, Wu W, Bevis D, et al. Antagonists of anaphase-promoting complex (APC)-2-cell cycle and apoptosis regulatory protein (CARP)-1 interaction are novel regulators of cell growth and apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286: 38000–38017.
- [39] Nasr T, Bondock S, Youns M. Anticancer activity of new coumarin substituted hydrazide-hydrazone derivatives [J]. *Eur J Med Chem*, 2014, 76: 539–548.
- [40] Murray AW. Cell cycle extracts [J]. *Method Cell Biol*, 1991, 36: 581–605.
- [41] Zhang L, Yang B, Zhou K, et al. Potential therapeutic mechanism of genistein in breast cancer involves inhibition of cell cycle regulation [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11: 1820–1826.
- [42] Jiang J, Jedinak A, Sliva D. Ganodermanontriol (GDNT) exerts its effect on growth and invasiveness of breast cancer cells through the down-regulation of CDC20 and uPA [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 415: 325–329.
- [43] Das T, Roy KS, Chakrabarti T, et al. Withaferin A modulates the spindle assembly checkpoint by degradation of Mad2-Cdc20 complex in colorectal cancer cell lines [J]. *Biochem Pharmacol*, 2014, 91: 31–39.