

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.000467

TRIM28 在非小细胞肺癌中的表达及其
对肺腺癌 PAa 细胞生长的影响马春虎¹, 尹长江¹, 刘 镭², 许 倩², 李国伟³, 高 杨², 郑 义⁴, 苏琳琳⁴

(承德医学院 1. 临床技能培训中心; 2. 基础医学院; 3. 第二临床学院; 4. 基础医学院 12 级临床 8 班, 承德 067000)

【摘要】目的:鉴定 TRIM28 基因在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中的表达;探讨 TRIM28 基因对 NSCLC 生长的影响。**方法:**免疫组织化学技术检测 TRIM28 在 NSCLC 组织中的表达。通过 RNA 干扰技术抑制肺腺癌 PAa 细胞系中 TRIM28 基因表达后, 克隆形成实验和 MTT 实验观察细胞的生长和增殖情况;流式细胞仪分析细胞周期改变。**结果:**在 48 例 NSCLC 组织中, 24 例(50.0%)阳性表达 TRIM28, 而在癌旁正常肺组织中均不见 TRIM28 阳性染色($\chi^2=27.034$, $P=0.000$)。TRIM28 基因被干扰后, 肺腺癌 PAa 细胞的活性和生长明显受到了抑制, 并且引起细胞周期 G1/S 期阻滞。**结论:**TRIM28 基因和蛋白在 NSCLC 组织中表达上调;siRNA 阻断 TRIM28 表达后抑制肺腺癌 PAa 细胞生长, 提示 TRIM28 可能作为新的 NSCLC 治疗靶点。

【关键词】非小细胞肺癌; TRIM28; RNA 干扰**【中图分类号】**R734.2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2014-04-18Expression of TRIM28 in non-small cell lung cancer and its effect on the
growth of lung adenocarcinoma PAa cellMa Chunhu¹, Yin Changjiang¹, Liu Lei², Xu Qian², Li Guowei³, Gao Yang², Zheng Yi⁴, Su Linlin⁴(1. Clinical Skill Center; 2. Institute of Basic Medicine; 3. The Second Clinical Hospital;
4. Institute of Basic Medicine, Chengde Medical College)

【Abstract】Objective: To identify the expression of TRIM28 in non-small cell lung cancer(NSCLC), to study the effect of TRIM28 gene on the growth of non-small cell lung cancer. **Methods:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of TRIM28 in clinical tissue of non-small cell lung cancer patients. After TRIM28 gene was inhibited by RNA interference assay, soft agar assay and MTT cell proliferation assay were used to observe the growth and proliferation of lung adenocarcinoma PAa, and flow cytometry was used to analyze the cell cycle. **Results:** TRIM28 positive staining was observed in 24 of 48 (50.0%) non-small cell lung cancer tissue samples, whereas no staining was observed in any of the normal portions of the same tissues($\chi^2=27.034$, $P=0.000$). TRIM28 knockdown resulted in a decrease in cell proliferation and a significant population in G1/S fraction. **Conclusion:** TRIM28 expresses highly in non-small cell lung cancer tissues. The growth of lung adenocarcinoma PAa transfected with TRIM28 siRNA is inhibited suggesting that TRIM28 may be new therapy target for NSCLC.

【Key words】non-small cell lung cancer; TRIM28; RNA interference

肺癌是全世界范围内发病率最高的恶性肿瘤疾病, 5 年存活率仅为 15%^[1], 其中 80% 以上属于非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)^[2]。NSCLC 早期侵犯血管, 易发生远处转移, 且大多数

对放化疗不敏感, 寻找新的治疗策略成为迫在眉睫的要求。随着分子生物学技术的发展, 近年来研究发现癌基因、抑癌基因等的异常表达或突变在肿瘤血管形成、浸润与转移机制中有重要作用^[3]。

最新研究提示 TRIM(tripartite motif)蛋白家族中的一些成员是肿瘤发生中关键的调节因子^[4]。TRIM28(又名 KAP1), 作为核共抑制因子, 由环指、B 盒、亮氨酸拉链 α 螺旋区和溴基区组成。研究证明, TRIM28 可以通过抑制 P53 活性而增强细胞对 DNA 损伤敏感; 另外, 当异常表达 TRIM28 时, 可以抑

作者介绍: 马春虎, Email: 30645585@qq.com,

研究方向: 肺癌基础和临床研究。

通信作者: 刘 镭, Email: liuliu_64@163.com。

基金项目: 河北省自然科学基金资助项目(编号: C2010001353); 河北省教育厅资助项目(编号: QN20131010)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150112.1725.032.html>

(2015-01-12)

制 E2F1 的转录及促凋亡功能。虽然已经证实 TRIM28 在肿瘤的发生发展中发挥着非常重要的作用,但有关 TRIM28 基因在肺癌组织中的表达情况,以及该基因在肺癌中的生物学作用都有必要进一步探讨。本研究中首次分析了 TRIM28 在 NSCLC 中的表达情况,并通过 RNA 干扰实验进一步研究了该基因对肺腺癌 PAa 细胞生长的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

人肺腺癌细胞系 PAa 为本实验室保存。DMEM 培养基和胎牛血清均购自 GIBICO 公司。转染试剂 Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司。反转录试剂盒 PrimeScript 1st Strand cDNA Synthesis Kit 和定量 PCR 试剂 SYBR® Premix Ex Taq™ 均购自 TaKaRa 公司。兔抗人 TRIM28 多克隆抗体购自美国 Proteintech 公司。免疫组化 SABC 试剂盒购自博士德生物工程有限公司。

收集 2013 年 2 月至 12 月在承德医学院附属医院肿瘤科手术切除的 NSCLC 组织标本 48 例,其中包括 19 例腺癌,16 例鳞癌和 13 例大细胞癌。每例样品由癌组织和癌旁组织配对组成,所有诊断均经病理切片证实。石蜡包埋备用。

1.2 细胞培养

PAa 细胞采用 DMEM 培养基(含 10%胎牛血清)于 CO₂ 培养箱(37 ℃、5%CO₂)静置培养。当细胞生长状态良好并且融合度达到 80%左右时,用 2.5 g/L 的胰蛋白酶消化进行细胞传代。

1.3 Real-time PCR 方法

按 Trizol 试剂说明书的方法分别提取 NSCLC 组织及相应癌旁组织的总 RNA,利用紫外分光光度仪分析纯度和浓度。依照试剂盒说明书的操作方法进行反转录反应。配制 20 μl PCR 反应体系:0.2 μmol/L 上下游引物(TRIM28 上游引物序列:5'-GGACAGAGAACAGAGCCAGG-3',TRIM28 基因下游引物序列:5'-ACGTCTGCCTTGCTCCTCAGT-3';内参 GAPDH 基因上游引物序列:5'-CTGCAGCATCTTCTCCTTCC-3',GAPDH 基因下游引物序列:5'-CAAAGTTGTCATGGATGACC-3'),SYBR Green PCR master mix。反应条件:94 ℃变性 10 min,然后 94 ℃ 15 s,60 ℃ 25 s,再 72 ℃ 35 s,共 40 个循环扩增。GAPDH 为内参照,每个样品的每个待测项目均测 3 次,取平均值。记录各样品的 Ct 值,并计算各组目的基因的相对表达量。计算公式为: $\Delta Ct_{TRIM28} = Ct_{TRIM28} - Ct_{GAPDH}$; $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{\text{肿瘤}} - \Delta Ct_{\text{癌旁}}$ 平均值;目的基因的相对量 Q 为: $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 。

1.4 免疫组化 SABC 方法

采用 SABC 免疫组化法进行分析,实验所用载玻片均经 Poly Lysine 防脱片剂处理。抗原修复方法为微波炉加热 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液至沸腾,然后放入切片,95 ℃加热 5

min,断电后等缓冲液自然冷却至室温后再取出切片,PBS 液冲洗 3 次,每次 2 min。1:100 稀释度的兔抗人 TRIM28 多克隆抗体作为一抗,生物素化羊抗兔 IgG 作为二抗,稀释度 1:500,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。

判定标准:阳性显色为肿瘤细胞核被染成褐黄色、呈现粗细不等、深浅不一的颗粒状。TRIM28 蛋白阳性细胞分为 3 级:TRIM28(-):癌细胞无着色;TRIM28(+):癌细胞核呈棕色颗粒状,着色癌细胞核所占比例<25%;TRIM28(++):着色癌细胞核呈棕色颗粒状,数量≥25%。

1.5 siRNA 转染 PAa 细胞

针对 TRIM28 序列合成 siRNA(上海吉玛生物试剂公司),序列见表 1。

表 1 TRIM28 siRNA 和对照组序列
Tab.1 Primer sequences for TRIM28 siRNA and controls

序号	序列
si-1	5'-GACCAAACCTGTGCTTATGTT-3'
si-2	5'-GATGATCCCTACTCAAGTGT-3'
si-3	5'-GCCATCTGCTTATGTGCAATT-3'
si-4	5'-AGAATTATTTTCATGCGTGATT-3'
对照组 1 (scrambled)	5'-GTTCTCCGAACGTGTACCGT-3'
对照组 2 (人 GAPDH)	5'-GTATGACAACAGCCTCAAG-3'

培养 PAa 细胞至对数生长期后以 2×10^5 个/孔接种于 96 孔培养板中,并随机分为实验组、阴性对照组、空白对照组,采用 Lipofectamine 2000 脂质体分别转染 TRIM28-siRNA 和对照,siRNA 终浓度为 40 nmol/L,每组设 3 个复孔。转染 6 h 后更换成 DMEM 培养液,继续常规培养,48 h 时收集细胞。

1.6 Western blot

转染 48 h 后,收集全细胞蛋白标本,常规 BCA 方法蛋白定量。制备 15%聚丙烯酰胺凝胶,进行 SDS-PAGE 电泳(2~3 h),转移到 PVDF 膜(50 min),室温 5%BSA 封闭 1 h,加兔抗人 TRIM28 多克隆抗体孵育 4 ℃过夜,TBST 洗膜 3 次,加 HRP 偶联的二抗(1:2 000),孵育 90 min,TBST 洗膜 3 次,ECL 发光液显色曝光。胶片经扫描仪扫描后获得图像,用 Quantity One 分析软件测定条带灰度值,计算 TRIM28 的相对含量,即 TRIM28 条带灰度值/内参照 β -actin 条带灰度值。

1.7 MTT 法

胰酶消化对数生长期细胞,以每孔 1×10^4 个细胞接种于 96 孔板,培养 24 h 后转染 siRNA,使液体终体积 100 μl/孔,每组设 4 个复孔,6 h 后每孔加入含 20%小牛血清、无抗生素 DMEM 细胞培养液 100 μl/孔,孵育 24、48 h 后,弃去培养液,加入 MTT 溶液(20 μl/孔)培养 4 h,吸出孔内培养液后,加入 DMSO 液(150 μl/孔),将培养板置于微孔板振荡 10 min,酶联免疫检测 550 nm 处测量其吸光度值。

1.8 平板克隆形成实验

siRNA 转染细胞 24 h 后,胰酶消化细胞,以 200 个/孔接种于 6 孔板,加全培养基 2 ml/孔继续培养 10 d,常规固定染色,显微镜下计数集落,以≥50 个细胞作为 1 个集落,并计

算克隆形成率。

1.9 流式细胞仪(FCM)分析

定时收集各组细胞,700 ml/L 乙醇 4 ℃固定 3 h,PBS 洗 2 次。加 RNase(终浓度 50 mg/L)37 ℃消化 30 min,碘化丙啶(PI,终浓度 50 mg/L)4 ℃避光染色 30 min,用 FCM 检测。细胞周期分析采用美国 Becton.Dickinson 公司的 cell Quit Plot 分析软件。

1.10 统计学处理

采用 SPSS 16.0 进行统计处理,计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。TRIM28 在癌组织和癌旁组织中的表达比较采用配对 *t* 检验。TRIM28 基因表达水平与临床病理特征相关性两均数的比较用 *t* 检验,多均数比较采用方差分析。肺腺癌 PAa 细胞转染 TRIM28siRNA 为实验组,转染对照 siRNA 为对照组,多组比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 法。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 TRIM28 基因在 NSCLC 组织中的表达

TRIM28 mRNA 在 48 例 NSCLC 临床组织中 ΔCt 值为: -4.55 ± 3.30 ,明显高于癌旁组织(ΔCt 值为 -7.77 ± 1.33 ; $P=0.000$)。根据公式计算,TRIM28 在 NSCLC 中的相对表达量 *Q* 值为 70.00 ± 5.04 。TRIM28 基因表达水平与临床分期和转移有关,而与年龄、性别、病理类型、肿瘤分化程度无相关性(见表 2)。

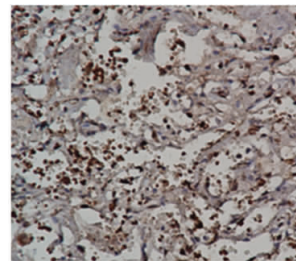
表 2 TRIM28 基因表达水平与临床病理特征的关系

Tab.2 Relationship between TRIM28 gene expression and clinical pathological characteristic

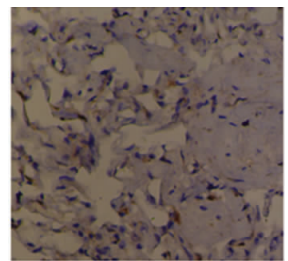
临床病理特征	病例数	ΔCt 值	<i>t/F</i> 值	<i>P</i> 值
年龄(岁)				
> 60	29	-4.01 ± 2.10	2.721	0.352
< 60	19	-4.77 ± 3.00		
性别				
男	40	-4.01 ± 1.70	2.012	0.750
女	8	-4.75 ± 2.50		
病理类型				
鳞癌	18	-3.98 ± 2.04	2.345	0.415
腺癌	20	-4.83 ± 1.50		
大细胞癌	10	-4.55 ± 2.55		
临床分期				
I 和 II 期	31	-6.66 ± 2.10	6.003	0.004
III 和 IV 期	17	-2.45 ± 1.05		
肿瘤分化				
高	11	-4.13 ± 0.90	0.015	0.352
中	23	-4.65 ± 1.70		
低	14	-4.24 ± 2.22		
远处转移				
无	42	-7.04 ± 2.60	8.201	0.000
有	6	-2.16 ± 1.70		

2.2 TRIM28 蛋白在 NSCLC 组织和正常癌旁组织中的表达

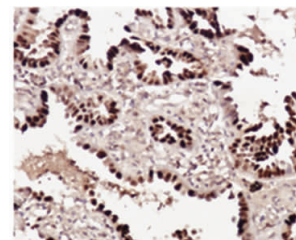
如图 1 所示,TRIM28 阳性染色主要位于细胞核中,呈清晰棕黄色弥漫性分布表达,部分可见明显颗粒状着色。在 48 例 NSCLC 组织中,24 例阳性(50.0%),24 例阴性(阴性率 50.0%)。其中,19 例腺癌中 13 例阳性(68.4%);16 例鳞癌中 9 例阳性(56.3%);13 例大细胞癌中 7 例阳性(53.8%)。而在相应癌旁正常肺组织中均不见 TRIM28 阳性染色。



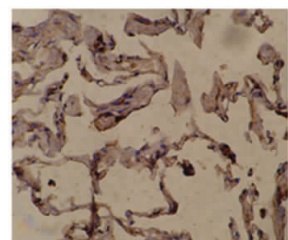
A. TRIM28 蛋白在鳞癌中的阳性染色



B. TRIM28 蛋白在癌旁组织中的阴性表达(A 和 B 取自 1 个患者)



C. TRIM28 蛋白在腺癌中的阳性染色



D. TRIM28 蛋白在癌旁组织中的阴性表达(C 和 D 取自 1 个患者)

图 1 用免疫组化技术检测 TRIM28 在 NSCLC

及癌旁组织中的表达(200 ×)

Fig.1 Expression of TRIM28 in NSCLC and adjacent normal tissues(200 ×)

2.3 TRIM28 基因被 RNA 干扰后,PAa 细胞中 TRIM28 蛋白的表达

与对照组 siRNA 比较,TRIM28 siRNA2 和 TRIM28 siRNA3 均能有效阻断 TRIM28 蛋白的表达,如图 2 所示,TRIM28 siRNA2 的相对含量为 0.26 ± 0.21 ,TRIM28 siRNA3 的相对含量为 0.20 ± 0.11 ,各组间比较差异有统计学意义($F=4.548$, $P=0.029$);组间两两比较,TRIM28 siRNA2 与对照组比较差异有统计学意义($q=5.214$, $P=0.000$),TRIM28 siRNA3 与对照组比较差异有统计学意义($q=5.514$, $P=0.000$)。

2.4 TRIM28 基因被 RNA 干扰后,PAa 细胞活性和增殖明显抑制

MTT 结果表明,PAa 细胞转染 siRNA 48 h 后,与对照组 siRNA 比较,TRIM28 siRNA 能明显抑制 PAa 细胞的活性。TRIM28 siRNA2 的相对吸收率为 0.95 ± 0.46 ,TRIM28 siRNA3 的相对吸收率为 0.81 ± 0.16 ,各组间比较差异有统计学意义($F=5.126$, $P=0.017$);组间两两比较,TRIM28 siRNA2 与对照组比较差异有统计学意义($q=5.346$, $P=0.000$),TRIM28 siRNA3 与对照组比较差异有统计学意义($q=5.021$, $P=0.000$),并具时间依赖性,见图 3A。

平板克隆形成实验结果显示,TRIM28 siRNA2 和 TRIM28 siRNA3 组细胞克隆形成数分别为 (202 ± 12) 个和 (132 ± 12) 个,明显低于对照组 GAPDH 和对照组 scrambled siRNA 的克隆形成 (523 ± 24) 个。各组间比较差异有统计学意义 ($F=4.324, P=0.031$); 组间两两比较, TRIM28siRNA2 与对照组比较差异有统计学意义 ($q=5.821, P=0.000$), TRIM28siRNA3 与对照组比较差异有统计学意义 ($q=6.001, P=0.000$), 见图 3B。

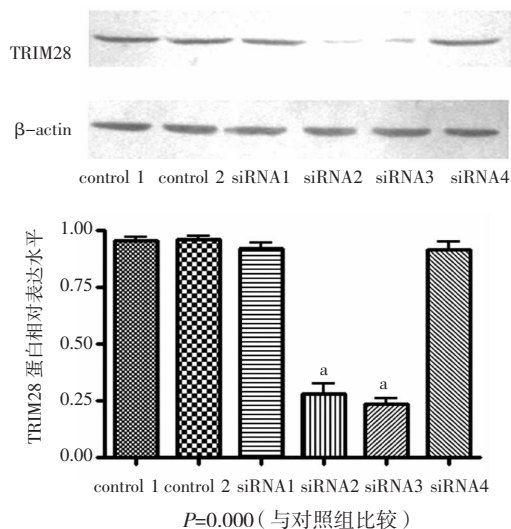
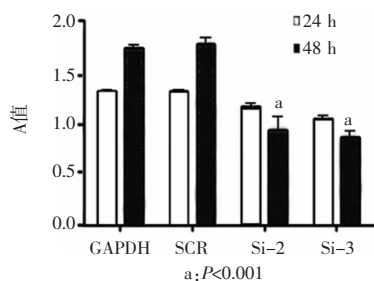
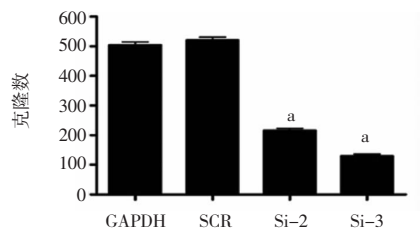


图 2 Western blotting 检测肺腺癌 PAa 细胞转染 TRIM28-siRNA 后 TRIM28 的表达水平

Fig.2 Expression of TRIM28 in lung adenocarcinoma after PAa being transfected by TRIM28-siRNA



A. MTT 法检测, 与转染 control 1 和 control 2 比较转染 siRNA2, siRNA3 后对 PAa 细胞增殖明显抑制



B. PAa 细胞转染 siRNA2, siRNA3 比转染 control 1 和 control 2 克隆形成数目明显减少
a, $P < 0.05$

图 3 转染 TRIM28-siRNA 后, 对 PAa 细胞生长的影响

Fig.3 PAa cell growth after PAa being transfected by TRIM28-siRNA

2.5 TRIM28 基因被 RNA 干扰后对 PAa 细胞周期的阻滞作用

对转染了 TRIM28 siRNA2、TRIM28 siRNA3、对照组 GAPDH 和对照组 scrambled siRNA 的 PAa 细胞进行 FCM 分析。结果发现, 转染 TRIM28 siRNA2、TRIM28 siRNA3 的 PAa 细胞的 G0/G1 期比例为 58.80% 和 60.99%, 明显高于转染了对照组 GAPDH 和对照组 scrambled siRNA 的 PAa 细胞的 G0/G1 期比例 (分别是 49.01% 和 51.50%)。而 S 期和 G2/M 期比例下降。说明 TRIM28 基因被抑制后能引起 G1/S 期阻滞, 抑制人 NSCLC 的增殖。见图 4。

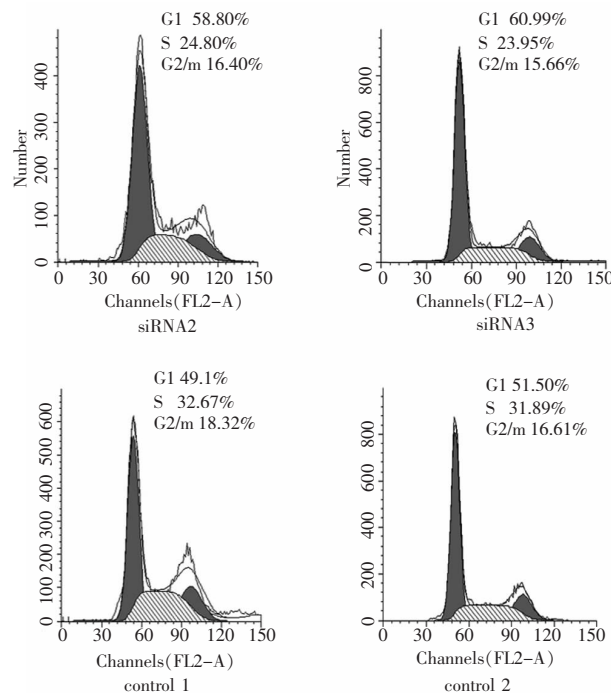


图 4 转染 TRIM28-siRNA PAa 细胞周期阻滞

Fig.4 PAa cell cycle block after PAa being transfected by TRIM28-siRNA

3 讨论

TRIM 蛋白是 RING 型 E3 泛素配体亚家族成员, 在人类和小鼠中有 70 多种, 广泛地参与了各种生物进程, 其中包括转录调节、细胞生长、凋亡、发育和肿瘤形成。目前已经证实, TRIM19、24、22、13、29 以及 TRIM32、8 和 TRIM40 都与特异性肿瘤发生途径相关^[5-7]。TRIM28 (又名 KAP1), 由 Friedman JR 在 1996 年最早鉴定的, 是 PIKK (核磷酯酰肌醇-3 激酶) 家族的新成员。作为核共抑制因子, TRIM28 由环指、B 盒、亮氨酸拉链 α 螺旋区和溴基区组成, 是必需的表观遗传稳定基因^[8]。David 等发现, TRIM28 在 DNA 损伤后迅速被 PIKK 其他家族成员磷酸化, 磷

酸化的 TRIM28 快速定位在核内 DNA 链上,说明其与细胞 DNA 损伤后染色质介导的转录抑制和 DNA 修复具有重要的关联。已经证实 TRIM28 通过 α 螺旋区与 MDM2 的中心酸性结构域结合并协同作用^[9],使 P53 去乙酰化和抑制 P53 活性。实验中通过 RNA 干扰抑制内源性 TRIM28 的表达,能够激活 P53 转录活性,使 P53 对 DNA 损伤敏感并促进细胞凋亡。因此,破坏 P53-MDM2 的相互作用为癌症治疗提供希望,但也有人提出 MDM2 蛋白的功能是使 hnRNP K 发生降解,从而诱导细胞凋亡,而不是阻滞细胞周期^[10]。另外,Chen 等^[11]还发现,TRIM28 能够促进 E2F1-HDAC1 复合物的形成并抑制 E2F1 乙酰化。这种作用与 P53 的调节相似,TRIM28 的螺旋区与 E2F1 发生结合,而且也招募 HDAC 并抑制 E2F1 乙酰化。当异常表达 TRIM28 时,可以抑制 E2F1 的转录及促凋亡功能。以上研究都证实了 TRIM28 在肿瘤的发生发展中发挥着非常重要的作用。

本研究中收集了 48 例新鲜 NSCLC 及其癌旁的正常肺组织标本,其中腺癌 19 例、鳞癌 16 例、大细胞肺癌 13 例。通过免疫组化方法检测上述 NSCLC 组织标本发现 TRIM28 基因表达明显上调。在 48 例癌旁正常肺组织中,TRIM28 染色均呈阴性(100%);而在 48 例 NSCLC 组织中,TRIM28 的表达阳性率为 50%。初步揭示 NSCLC 组织中 TRIM28 基因表达上调与肺癌发生密切相关。为了进一步研究该基因与肺恶性肿瘤的关系,本课题设计了 4 段针对该基因的 siRNA 序列,并转染到肺腺癌细胞系 PAa 中,经 Western blot 证实其中 siRNA2 和 siRNA3 能够较好地抑制 TRIM28 的表达。本研究发现将肺腺癌 PAa 细胞中 TRIM28 基因有效抑制后,24、48 h 后细胞增殖明显受到了抑制,细胞克隆生长数目显著明显减少。另外,在本研究中还观察到 TRIM28 基因被抑制后,明显阻滞了细胞周期进展。可能的机制是 TRIM28 基因与 MDM2 相互作用促进 P53 泛素化,或者通过抑制细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 P21 而影响 G1/S 检查点。此外,TRIM28 可起到诱导 EMT 的作用,这被认为参与了迁移、浸润和传播^[12-13]。这些结果都表明,TRIM28 这个通用的核抑制物,可能在肺癌进展中发挥着重要的作用。

综上所述,实验发现并初步证实肿瘤相关基因

TRIM28 表达上调与 NSCLC 发生发展有着密切的联系;并对肿瘤细胞生长有明显的促进作用,其效应环节可能是通过加速肿瘤细胞周期进展来实现的,但是有关 TRIM28 基因促进 NSCLC 的机制还有待深入的探讨。

参 考 文 献

- [1] McCarthy F, Roshani R, Steele J, et al. Current clinical immunotherapy targets in advanced nonsmall cell lung cancer(NSCLC)[J]. *J Leukoc Biol*, 2013, 94(6): 1201-1206.
- [2] Dalton WS, Friend SH. Cancer Biomarkers—an invitation to the table [J]. *Science*, 2006, 312(5777): 1165-1168.
- [3] Lu M, Tian Y, Yue WM, et al. GOLPH3, a good prognostic indicator in early-stage NSCLC related to tumor angiogenesis[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(14): 5793-5798.
- [4] Hatakeyama S. TRIM proteins and cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(11): 792-804.
- [5] Bougrini JE, Dianoux L, Chelbi-Alix MK. PML positively regulates interferon gamma signaling[J]. *Biochimie*, 2011, 93(3): 389-398.
- [6] Tisserand J, Khetchoumian K, Thibault C, et al. Tripartite Motif 24 (Trim24/Tif1 α) tumor suppressor protein is a novel negative regulator of interferon (IFN)/signal transducers and activators of transcription (STAT) signaling pathway acting through retinoic acid receptor α (Rar α) inhibition[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(38): 33369-33379.
- [7] Yuan Z, Villagra A, Peng L, et al. The ATDC (TRIM29) protein binds p53 and antagonizes p53-mediated functions[J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(12): 3004-3015.
- [8] Messerschmidt DM, de Vries W, Ito M, et al. Trim28 is required for epigenetic stability during mouse oocyte to embryo transition[J]. *Science*, 2012, 335(6075): 1499-1502.
- [9] Rayburn ER, Ezell SJ, Zhang R. Recent advances in validating MDM2 as a cancer target[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2009, 9(8): 882-903.
- [10] Eischen CM, Lozano G. p53 and MDM2: antagonists or partners in crime?[J]. *Cancer Cell*, 2009, 15(3): 161-162.
- [11] Chen L, Chen DT, Kurtyka C, et al. Tripartite motif containing 28 (Trim28) can regulate cell proliferation by bridging HDAC1/E2F interactions[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(48): 40106-40118.
- [12] Gilmore-Hebert M, Ramabhadran R, Stern DF. Interactions of ErbB4 and Kap1 connect the growth factor and DNA damage response pathways[J]. *Mol Cancer Res*, 2010, 8(10): 1388-1398.
- [13] Burgess AW. EGFR family: structure physiology signalling and therapeutic targets[J]. *Growth Factors*, 2008, 26(5): 263-274.

(责任编辑:冉明会)