

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000588

蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子表达对喉癌细胞株 Hep-2 增殖的影响及相关机制研究

何晓丽, 谭 健, 莫海兰, 汪永宽, 李 兵

(重庆医科大学附属第一医院耳鼻喉科, 重庆 400016)

【摘要】目的:研究蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子(cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A)表达对喉癌细胞株 Hep-2 增殖的影响及相关分子机制。**方法:**以特异性 siRNA 和阴性对照序列转染喉癌 Hep-2 细胞, 实验分为 CIP2A siRNA 组与 Control siRNA 组。平板克隆形成实验检测 CIP2A 在喉癌细胞增殖中的作用; MTT 法检测 CIP2A 对细胞生长曲线及顺铂敏感性影响; 流式细胞术检测细胞周期分布和凋亡率的变化。real-time PCR 检测 CIP2A mRNA 表达水平, Western blot 检测 CIP2A 及生长相关蛋白 c-myc、AKT、p-AKT、cyclinD1 的蛋白表达水平。**结果:**沉默 CIP2A 后, CIP2A 在基因及蛋白水平的表达量明显降低, Hep-2 细胞生长减缓, 克隆的形成被抑制, Control siRNA 组为 339.00 ± 34.00 , CIP2A siRNA 组为 126.00 ± 33.00 , 差异有统计学意义 ($t=-7.796, P=0.010$); 沉默 CIP2A 可增加喉癌细胞对顺铂的敏感性, Control siRNA 组 IC50 为 $(6.67 \pm 0.54) \mu\text{g/ml}$, CIP2A siRNA 组为 $(3.53 \pm 0.32) \mu\text{g/ml}$, 差异有统计学意义 ($t=8.598, P=0.001$); 细胞周期阻滞于 G1 期, Control siRNA 组 G1 期细胞比例为 66.860 ± 1.972 , CIP2A siRNA 组为 74.613 ± 3.357 , 差异有统计学意义 ($t=3.449, P=0.026$); S 期细胞比例减少, Control siRNA 组为 23.713 ± 1.564 , CIP2A siRNA 组为 17.747 ± 1.255 , 差异有统计学意义 ($t=-5.153, P=0.007$); 沉默 CIP2A 没有引起细胞凋亡率的变化 ($P=0.216$)。Western blot 结果显示, 沉默 CIP2A 表达可下调 CyclinD1 ($t=-4.531, P=0.011$)、c-myc ($t=-4.522, P=0.011$)、p-AKT ($t=-4.574, P=0.010$) 的表达, 但对总 AKT 蛋白的表达没有影响 ($t=0.051, P=0.962$)。**结论:**沉默 CIP2A 基因可抑制喉癌 Hep-2 细胞生长, 增加喉癌细胞对顺铂的敏感性, 其机制可能与下调 c-myc、p-AKT、cyclinD1 的表达有关。

【关键词】喉肿瘤; 蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子; siRNA; 药物敏感性; 增殖; 凋亡

【中图分类号】R730.23; R739.65

【文献标志码】A

【收稿日期】2014-10-19

Effects of cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A expression on proliferation of laryngeal squamous cell carcinomas cell Hep-2 and its mechanism

He Xiaoli, Tan Jian, Mo Hailan, Wang Yongkuan, Li Bing

(Department of Otolaryngology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effects of cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A (CIP2A) expression on proliferation of laryngeal squamous cell carcinomas cells Hep-2 and its mechanism. **Methods:** siRNA-mediated CIP2A and negative control sequences were performed in Hep-2 cells. The experiment was designed into CIP2A siRNA group and control siRNA group. Colony formation assay was used to examine the role of CIP2A in cell proliferation. The impact of CIP2A on cell growth and cisplatin sensitivity was evaluated using MTT assay. Flow cytometry was used to examine cell cycle distribution and apoptotic rate. Quantitative real-time PCR and Western blot were applied to assess the expression of CIP2A, c-myc, AKT, p-AKT, and cyclinD1. **Results:** CIP2A knockdown in Hep-2 cells markedly decreased both CIP2A mRNA and protein expression, reduced the proliferation speed and colony formation ($P=0.010$) and increased the drug sensitivity of the cells to cisplatin ($P=0.001$). In addition, CIP2A depletion blocked cell cycle at G1 phase ($P=0.026$) and decreased the percentage of S stage cells ($P=0.007$), and did not significantly alter cell apoptosis rate ($P=0.216$). Western blot showed that CIP2A depletion downregulated CyclinD1, c-myc, p-AKT expression ($P=0.011, P=0.011, P=0.010$), but had

no effects on the expression of total AKT protein ($P=0.962$).

Conclusion: CIP2A depletion inhibits cell proliferation and increases the sensitivity to cisplatin, mechanism of which may be related with decreased c-myc, p-AKT, and cyclinD1.

【Key words】 laryngeal squamous cell carcinoma; cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A; siRNA; drug sensitivity; proliferation; apoptosis

作者介绍:何晓丽, Email: 475493595@qq.com,

研究方向: 耳鼻咽喉头颈肿瘤基础研究。

通信作者:李 兵, Email: dclibing@sina.com。

基金项目:重庆市自然科学基金资助项目(编号: csc2013jcyjA10059);

国家临床重点专科建设经费资助项目(卫办医政函[2012] 649号)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150403.0919.009.html>

(2015-04-03)

喉癌是来源于喉部黏膜上皮组织的恶性肿瘤,是耳鼻咽喉科最常见的恶性肿瘤之一,近年来其发病率呈明显上升趋势^[1]。目前喉癌的治疗以手术为主,辅以放疗和化疗的综合治疗。虽然综合治疗喉癌的方面取得很大进展,但 5 年生存率很低,易复发,术后患者的发声功能受到障碍,严重影响患者术后生活质量,同时化疗药物耐药也使喉癌的治疗受限。因此寻找有效的喉癌靶向治疗方法是临床的迫切需求。

蛋白磷酸酶 2A 的癌性抑制因子(cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A, CIP2A)是新发现的一种癌蛋白, CIP2A 通过抑制蛋白磷酸酶 2A (protein phosphatase 2A, PP2A)对 c-myc 基因 S62 位点的去磷酸化作用,进而抑制 c-myc 蛋白水解,稳定 c-myc 蛋白的表达水平,促进细胞增殖^[2]。近来研究发现 CIP2A 在肺癌^[3]、卵巢癌^[4]、肾细胞癌^[5]、骨肉瘤^[6]、胰腺癌^[7]、乳腺癌^[8]、结肠癌^[9]、胃癌^[10]等多种恶性肿瘤中高表达,参与肿瘤的发生发展。前期研究发现 CIP2A 在喉癌组织中高表达^[11],但 CIP2A 在喉癌中的生物学作用及机理尚不清楚。本实验应用 siRNA 技术,沉默喉癌 Hep-2 细胞 CIP2A 基因,检测其对 Hep-2 细胞增殖、顺铂药物敏感性的影响及其可能的分子机制,为进一步探讨 CIP2A 在喉癌发生发展中的作用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

人喉癌 Hep-2 细胞(中国科学院上海细胞库);RPMI1640 培养基、胰酶、MTT(Sigma 公司),胎牛血清(Hyclone 公司);Lipofectamine 2000 试剂(Invitrogen 公司);化学修饰的 CIP2A siRNA、阴性对照 siRNA(上海吉玛制药技术有限公司);RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒、引物(TaKaRa 公司);CIP2A、c-myc、Cyclin D1 抗体(Abcam);AKT 抗体(Cell Signaling Technology 公司);pAKT(Immunoway 公司);GAPDH 抗体(武汉三鹰公司);HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG(Abcam);HRP 标记的山羊抗兔 IgG(北京中杉金桥生物公司);顺铂(山东齐鲁制药公司)。

1.2 细胞培养及转染

人喉癌 Hep-2 细胞置于 37℃、5%CO₂ 条件下,用含 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养基常规培养。应用 Lipofectamine 2000 将 CIP2A siRNA 和 Control siRNA 转染进喉癌细胞株, CIP2A siRNA 序列为 5'-CUGUGGUUGUGUUUGCACUTT-3', Control siRNA 序列为 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3'。转染前 24 h 按 3×10⁵/孔细胞接种于 6 孔板,细胞融合度达到 50%~60%时按照转染试剂 Lipofectamine 2000 操作步骤进行转染, siRNA 的转染终浓度为 50 nmol/L。转染 48 h 后

收集细胞,通过 real-time PCR 和 Western blot 检测沉默效率。

1.3 Real-time PCR 检测转染 Hep-2 细胞 CIP2A mRNA 表达

使用 Trizol 法分别提取总 RNA,测 RNA 纯度和浓度,然后逆转录合成 cDNA。采用 SYBR Green 法,10 μl 反应体系:2 μl cDNA,0.4 μl 上、下游引物,5 μl 混合染料,2.2 μl 双蒸水;反应条件为:95℃预变性 1 min,95℃变性 5 s,60℃退火 15 s,72℃延伸 15 s,循环 40 次。引物序列,CIP2A 上游:5'-GCCACTCTGGGAAGCCATACT-3',下游:5'-GATTGTAGG-CATGCAGAAGGGTC-3',β-actin 上游:5'-CCACGAAACT-ACCTTCAACTCC-3',下游:5'-GTGATCTCCTTCTGCATCCT-GT-3'。目的基因 mRNA 的相对表达水平采用 2^{-ΔΔCt} 计算公式。实验重复 3 次。

1.4 Western blot 检测转染 Hep-2 细胞的 CIP2A、c-myc、CyclinD1、p-AKT、AKT 表达

用蛋白裂解液提取细胞总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。按照总蛋白每孔 50 μg 经过 10%SDS-PAGE 分离胶电泳,将蛋白转印至 PVDF 膜上,用含 5%脱脂牛奶的 TBST 室温封闭 2 h,加入 CIP2A(1:1 000)、c-myc(1:4 000)、CyclinD1(1:1 000)、p-AKT(1:1 000)、AKT(1:1 000)、GAPDH(1:4 000)抗体 4℃孵育过夜。后加二抗(1:5 000)37℃孵育 2 h 后,化学发光法显影,Quantity one 软件进行灰度值分析。实验重复 3 次。

1.5 MTT 法检测细胞的生长曲线

收集转染 24 h 后细胞,以每孔体积 200 μl 含 3 000 个细胞接种于 96 孔板上,分别在转染后 1、2、3、4 d(每个时间点 3 个复孔)每孔加入 20 μl MTT 溶液(5 mg/ml)继续培养 4 h,吸去上清,每孔加入 200 μl DMSO,震荡 10 min,酶标仪检测 570 nm 波长下各孔光吸收值,以不含细胞的等体积培养基作调零孔。吸光度值为纵坐标,时间为横坐标,绘制细胞生长曲线。实验重复 3 次。

1.6 平板克隆形成实验检测转染 Hep-2 细胞的克隆数

收集转染 24 h 后细胞,以每孔 1 000 个细胞接种于 6 孔板中设 3 个平行孔,37℃、5% CO₂ 培养 14 d,PBS 清洗,4% 多聚甲醛固定,0.1%结晶紫染色,显微镜拍摄,计数大于 50 个细胞的克隆数。实验重复 3 次。

1.7 MTT 法检测转染 Hep-2 细胞对顺铂药物敏感性

收集转染 24 h 后细胞,将细胞按每孔 3 000 个接种于 96 孔板,含顺铂终浓度分别为 0、2.5、5、10、20、40 μg/ml,每个浓度设 3 个平行孔。培养 24 h 后,每孔加入 20 μl MTT 溶液(5 mg/ml)继续培养 4 h,吸去上清,每孔加入 200 μl DMSO,震荡 10 min,酶标仪检测 570 nm 波长下各孔光吸收值。细胞抑制率(IR,%)=(1-实验组平均吸光值/对照组平均吸光值)×100%,并绘制曲线,并计算半数抑制浓度(IC₅₀)。实验重复 3 次。

1.8 流式细胞仪测转染 Hep-2 细胞的细胞周期和细胞凋亡率

收集转染 48 h 后细胞,PBS 洗 2 次,加入 1 ml 预冷的 75% 乙醇固定,4℃保存过夜。离心、收集细胞沉淀,PBS 洗涤,依次加入适量 FACS 缓冲液 1×PBS,0.1% BSA,0.01% Na₃N、Rnase(10 mg/ml)、碘化丙啶(1 mg/ml),避光、室温静置 15 min,流式细胞仪分析细胞周期。增殖指数=S+G2/G1+S+G2。

收集转染 48 h 后细胞,重悬于 PBS 中,按照 Annexin V-FITC/PI 双染细胞凋亡检测试剂盒说明方法染色,在流式细胞仪上检测各组细胞凋亡率。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件对所得数据进行处理,实验数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,2 组间的比较采用独立样本均数的 t 检验,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 siRNA 转染 Hep-2 细胞后 CIP2A 的表达情况

real-time PCR 结果显示,CIP2A siRNA 组 CIP2A mRNA 的相对表达量 (0.218 ± 0.506) 比 Control siRNA 组 (1.061 ± 0.502) 明显下降,2 组间差异有统计学意义 ($t=-20.485, P=0.000$)。Western blot 检测结果表明 CIP2A siRNA 组 CIP2A 蛋白相对表达量 (0.342 ± 0.063) 比 Control siRNA 组 (1.038 ± 0.244) 明显降低,差异有统计学意义 ($t=-4.781, P=0.009$),说明 CIP2A siRNA 序列能有效沉默 CIP2A 的表达(图 1)。

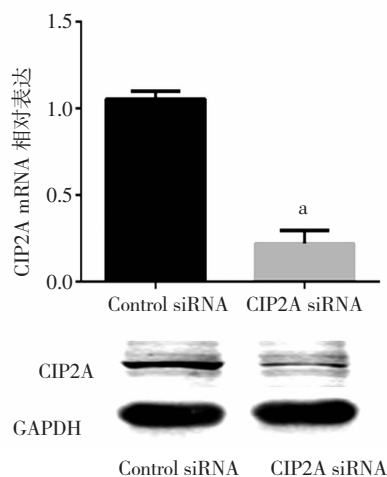
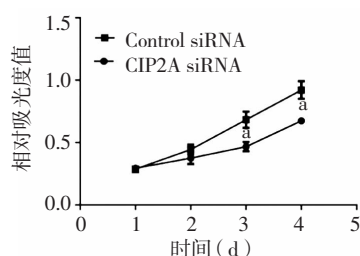


图 1 CIP2A 在 mRNA 和蛋白的表达水平 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

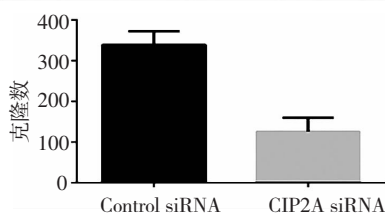
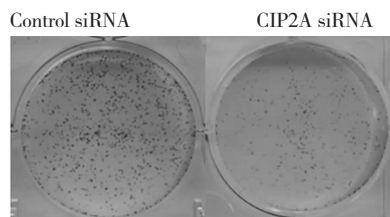
Fig.1 Expression of CIP2A mRNA and protein in Hep-2 and CIP2A knockdown by CIP2A siRNA ($n=3, \bar{x} \pm s$)

2.2 CIP2A siRNA 转染 Hep-2 细胞对生长增殖水平的影响

MTT 检测转染后细胞的生长增殖能力情况,结果显示,与阴性对照组相比,CIP2A siRNA 组细胞的生长速度明显减慢,CIP2A siRNA 组吸光度值在转染后第 3 天为 (0.467 ± 0.037),对照组为 (0.683 ± 0.065),差异有统计学意义 ($t=-4.989, P=0.008$);转染后第 4 天 CIP2A siRNA 组为 (0.674 ± 0.0239),阴性对照组为 (0.921 ± 0.071),差异有统计学意义 ($t=-5.717, P=0.005$) (图 2)。与前面 MTT 结果相同,克隆形成实验结果显示:转染 CIP2A siRNA 组的克隆数为 (126.00 ± 33.00),阴性对照组为 (339.00 ± 34.00),差异有统计学意义 ($t=-7.796, P=0.010$),提示沉默 CIP2A 降低细胞克隆形成能力(图 2)。



沉默 CIP2A 降低细胞的增殖速率



沉默 CIP2A 明显降低细胞的克隆形成

图 2 CIP2A 沉默表达对喉癌细胞增殖的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Fig.2 Effects of CIP2A depletion on cell growth in vitro ($n=3, \bar{x} \pm s$)

2.3 CIP2A siRNA 转染 Hep-2 细胞对细胞周期的影响

流式细胞仪检测结果显示,CIP2A siRNA 组 G1 期细胞比例 (74.613 ± 3.357) 高于阴性对照组 (66.860 ± 1.972),差异具有统计学意义 ($t=3.449, P=0.026$);而 CIP2A siRNA 组 S 期的细胞比例 (17.747 ± 1.255) 低于阴性对照组 (23.713 ± 1.564),差异有统计学意义 ($t=-5.153, P=0.007$) (图 3)。阴性对照组和 CIP2A siRNA 组的增殖指数分别为 0.331 ± 0.020 、 0.253 ± 0.033 ,差异有统计学意义 ($t=-3.449, P=0.026$)。

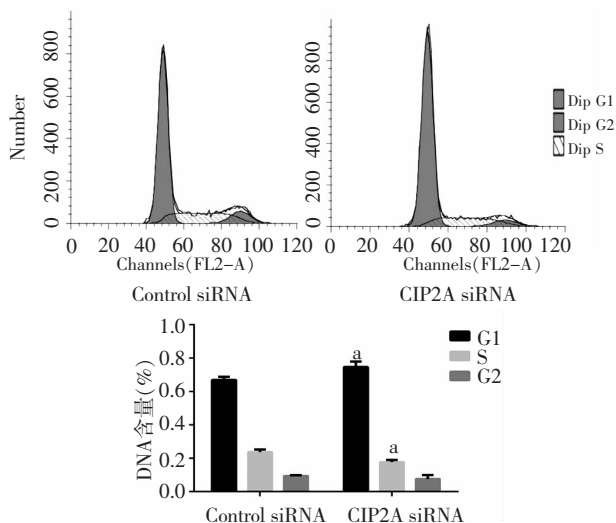


图 3 干扰 CIP2A 对细胞周期的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

Fig.3 Effects of CIP2A depletion on cell cycle in vitro ($n=3, \bar{x} \pm s$)

2.4 CIP2A siRNA 转染 Hep-2 细胞对细胞凋亡率的影响

Annexin V-FITC/PI 双标记法检测结果显示(图 4),沉默 CIP2A 后喉癌 Hep-2 细胞的凋亡率无明显影响,CIP2A siRNA 组为 $(13.186 \pm 6.296)\%$,阴性对照组为 $(7.413 \pm 2.587)\%$,差异无统计学意义($t=1.469, P=0.216$)。

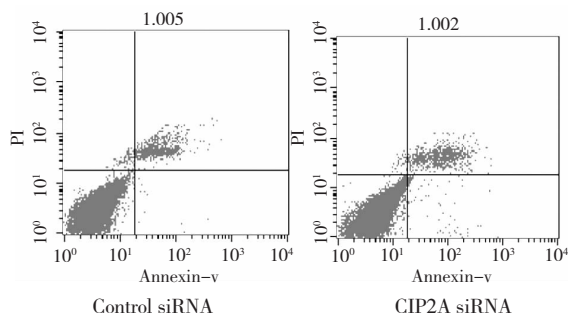
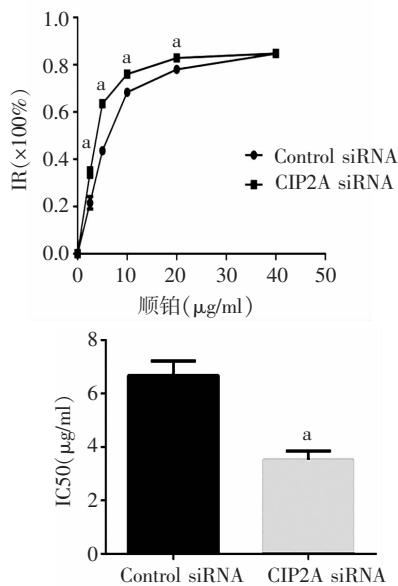


图 4 干扰 CIP2A 对细胞凋亡的影响

Fig.4 Effect of CIP2A depletion on Hep-2 cell apoptosis

2.5 CIP2A siRNA 转染 Hep-2 细胞对顺铂敏感性的影响

与阴性对照组相比,CIP2AsiRNA 组喉癌 Hep-2 细胞对顺铂的敏感性明显增加;CIP2AsiRNA 组顺铂的 IC_{50} 为 $(3.53 \pm 0.32) \mu\text{g/ml}$,阴性对照组为 $(6.67 \pm 0.54) \mu\text{g/ml}$,差异有统计学意义($t=8.598, P=0.001$)(图 5)。

图 5 沉默 CIP2A 的表达对细胞顺铂敏感性的影响 ($n=3, \bar{x} \pm s$)Fig.5 Effect of CIP2A depletion on Hep-2 cells cisplatin sensitivity ($n=3, \bar{x} \pm s$)

2.6 沉默 CIP2A 后相关蛋白分子表达情况

Western blot 结果见图 6,AKT、pAKT、c-myc、CyclinD1 蛋白在 CIP2A siRNA 组与 Control siRNA 组中相对表达量的比较分析结果见表 1。

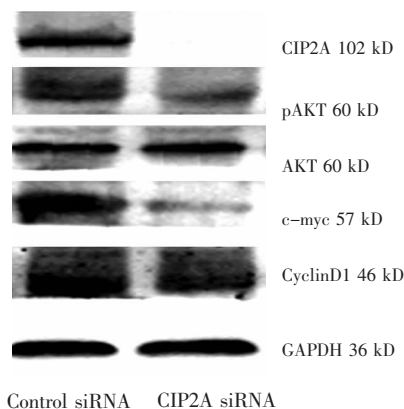


图 6 沉默 CIP2A 后相关蛋白的表达情况

Fig.6 Effect of CIP2A depletion on the expressions of the genes related to cell proliferation

3 讨论

CIP2A 基因位于染色体 3q13.13,其蛋白最先是存在于肝癌患者血清中的一种肿瘤相关的自身抗原^[12]。CIP2A 是一种作用于 PP2A 的内源性蛋白,研究显示 CIP2A 抑制 PP2A 蛋白对 c-myc 的去磷酸化作用,从而稳定 c-myc 的表达,并在细胞的增殖和转化过程起到重要作用^[2]。CIP2A 在多种人类恶性肿瘤中高表达^[3-10,18],促进细胞增殖,且在一些肿瘤中作为独立的预后因素^[3,8]。前期研究初步证实 CIP2A 在喉癌组织中高表达,并且与肿瘤分级分期、淋巴转移、组织分化程度和预后相关^[11]。为了进一步研究 CIP2A 基因在喉癌细胞中的作用及机理,进行了在细胞水平的研究。

利用化学合成的 siRNA 转染喉癌 Hep-2 细胞,观察了沉默 CIP2A 基因在喉癌细胞中的生物学功能变化。沉默 CIP2A 基因组喉癌细胞生长曲线平坦、克隆的形成能力降低、流式细胞仪显示细胞明显被阻滞在 G1 期、增殖指数降低,这表明沉默 CIP2A

表 1 AKT、pAKT、c-myc、CyclinD1 蛋白相对表达量 ($n=3, \bar{x} \pm s$)Tab.1 Comparison on AKT, pAKT, c-myc and CyclinD1 proteins expression between groups ($n=3, \bar{x} \pm s$)

分组	pAKT	AKT	c-myc	CyclinD1
Control siRNA 组	1.809 ± 0.156	1.301 ± 0.110	1.020 ± 0.158	0.926 ± 0.107
CIP2A siRNA 组	1.159 ± 0.189	1.306 ± 0.111	0.481 ± 1.331	0.570 ± 0.084

注:CIP2A siRNA 组与 Control siRNA 组 c-myc、cyclinD1、p-AKT 蛋白的表达比较 ($t=-4.531, P=0.011; t=-4.522, P=0.011; t=-4.574, P=0.010$); CIP2A siRNA 组与 Control siRNA 组总的 AKT 蛋白水平比较($t=0.051, P=0.962$)

基因可抑制喉癌 Hep-2 细胞生长。流式细胞仪显示干扰 CIP2A 后,喉癌细胞的凋亡率未见明显改变。与研究结果相似,Junttila 等^[2]报道表明干扰 CIP2A 不会导致细胞的程序性死亡。Wei 等^[15]也研究发现下调 CIP2A 对细胞凋亡率的改变没有影响。CyclinD1 是作用于细胞 G1 期的重要周期蛋白,可以促进 G1 向 S 期转换,从而加速细胞周期进程,促进细胞生长^[13]。c-myc 是体内重要的原癌基因,其表达水平与细胞的增殖和分化密切相关^[17]。就细胞周期而言,c-myc 可促进细胞由 G0 期进入 G1 期,c-myc 表达的降低可引起 Cyclin D1-CDK4 和 Cyclin D1-CDK6 复合体的减少。Western blot 结果显示沉默 CIP2A 可下调喉癌细胞中 cyclinD1、c-myc 的表达,该结果提示 CIP2A 可通过调控 c-myc 的表达,影响细胞周期蛋白 D1 的表达,进而影响细胞的增殖。本研究还发现沉默 CIP2A 能明显抑制 p-AKT 蛋白的表达,但对总的 AKT 水平没有影响,提示 CIP2A 也可通过下调 AKT 相关的 PP2A 活性,从而上调 p-AKT,激活 PI3K/AKT 通路,影响细胞的增殖。

本实验还在细胞水平研究了将沉默 CIP2A 与顺铂联合应用对喉癌细胞药物敏感性的影响,结果显示靶向沉默 CIP2A 可提高喉癌细胞对顺铂的敏感性、半效抑制浓度降低。最近 Choi 等^[14]研究发现在乳腺癌细胞中 CIP2A 的高表达与阿霉素的耐药性相关;Wei 等^[15]也发现下调 CIP2A 可增强非小细胞肺癌对顺铂的敏感性,这与本文研究结果一致。Chen 等^[16]研究发现,CIP2A 可降低 AKT 介导的 PP2A 活性,促进 AKT 磷酸化,从而抑制肝癌细胞对硼替佐米的药物敏感性。本实验结果发现 CIP2A 沉默能引起 pAKT 水平明显下调,而总的 AKT 水平没有变化。以上结果提示 CIP2A 可能通过激活 PI3K/AKT 通路影响喉癌细胞对顺铂的敏感性。

综上所述,沉默 CIP2A 基因可抑制喉癌细胞增殖和增加喉癌细胞对顺铂的敏感性,其作用机制可能与降低 c-myc 和 cyclinD1 的表达、调节 PI3K/AKT 通路有关。这些结果提示 CIP2A 在喉癌细胞中起着重要作用,但是 CIP2A 是否与喉癌顺铂耐药性相关,其具体分子机制及涉及的信号转导通路等都需在肿瘤标本和动物实验中进一步证实和深入探讨。

参 考 文 献

- [1] Ferlay J,Shin HR,Bray F,et al.Estimates of worldwide burden of cancer in 2008:GLOBOCAN 2008[J].Int J Cancer,2010,127(12):2893-2917.
- [2] Junttila MR,Puustinen P,Niemela M,et al.CIP2A inhibits PP2A in human malignancies[J].Cell,2007,130(1):51-62.
- [3] Ma L,Wen ZS,Liu Z,et al.Overexpression and small molecule-triggered downregulation of CIP2A in lung cancer[J].PLoS ONE,2011,6(5):e20159.
- [4] Böckelman C,Lassus H,Hemmes A,et al.Prognostic role of CIP2A expression in serous ovarian cancer[J].Br J Cancer,2011,105(7):989-995.
- [5] Ren J,Li W,Yan L,et al.Expression of CIP2A in renal cell carcinomas correlates with tumour invasion,metastasis and patients' survival[J].Br J Cancer,2011,105(12):1905-1911.
- [6] Zhai M,Cong L,Han Y,et al.CIP2A is overexpressed in osteosarcoma and regulates cell proliferation and invasion[J].Tumour Biol,2014,35(2):1123-1128.
- [7] Wang L,Gu F,Ma N,et al.CIP2A expression is associated with altered expression of epithelial-mesenchymal transition markers and predictive of poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma[J].Tumour Biol,2013,34(4):2309-2313.
- [8] Côme C,Laine A,Chanrion M,et al.CIP2A is associated with human breast cancer aggressivity[J].Clin Canc Res,2009,15(16):5092-5100.
- [9] Teng HW,Yang SH,Lin JK,et al.CIP2A is a predictor of poor prognosis in colon cancer[J].J Gastrointest Surg,2012,16(5):1037-1047.
- [10] Khanna A,Bockelman C,Hemmes A,et al.MYC-dependent regulation and prognostic role of CIP2A in gastric cancer[J].J Natl Cancer Inst,2009,101(11):793-805.
- [11] 莫海兰,李洁,李兵,等.CIP2A 在喉癌组织中的表达及其临床意义[J].第三军医大学学报,2012,16(34):1663-1667.
- [12] Soo Hoo L,Zhang JY,Chan EK,et al.Cloning and characterization of a novel 90 kDa 'companion' auto-antigen of p62 overexpressed in cancer[J].Oncogene,2002,21(32):5006-5015.
- [13] Li Z,Wang C,Prendergast GC,et al.Cyclin D1 functions in cell migration[J].Cell Cycle,2006,5(21):2440-2442.
- [14] Choi YA,Park JS,Park MY,et al.Increase in CIP2A expression is associated with doxorubicin resistance[J].FEBS Lett,2011,585(5):755-760.
- [15] Wei L,Qu W,Sun J,et al.Knockdown of cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A may sensitize NSCLC cells to cisplatin[J].Cancer Gene Ther,2014,21(5):194-199.
- [16] Chen KF,Liu CY,Lin YC,et al.CIP2A mediates effects of bortezomib on phospho-Akt and apoptosis in hepatocellular carcinoma cells[J].Oncogene,2010,29(47):6257-6266.
- [17] 钱安平,辛彦,肖玉平,等.CIP2A 与肿瘤关系的研究进展[J].世界华人消化杂志,2009,17(26):2700-2704.
- [18] Liu J,Wang X,Zhou G,et al.Cancerous inhibitor of protein phosphatase 2A is overexpressed in cervical cancer and upregulated by human papillomavirus 16 E7 oncoprotein[J].Gynecol Oncol,2011,122(2):430-436.

(责任编辑:唐宗顺)