

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyx.001675

过表达 DEPDC1 对鼻咽癌细胞 CNE-1 增殖影响的研究

朱 玲¹, 刘 通¹, 张春冬², 卜友泉², 朱 江¹

(1. 重庆医科大学附属第一医院耳鼻喉科, 重庆 400016; 2. 重庆医科大学生物化学与分子生物学教研室, 重庆 400016)

【摘要】目的:DEPDC1(DEP domain containing 1)是近年来发现的一个肿瘤相关基因,前期研究结果显示其对鼻咽癌发生发展具有重要作用,本研究旨在进一步探讨过表达 DEPDC1 对鼻咽癌细胞增殖的影响。**方法:**在鼻咽癌细胞系 CNE-1 中,分别转染过表达 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 两种剪接体质粒,瞬时表达 48 h 后综合利用 CCK-8、流式细胞技术及 pHH3 标记法检测细胞增殖情况。**结果:**Western blot 检测显示在 CNE-1 细胞瞬时转染 DEPDC1-V1 和 DEPDC1-V2 质粒可过表达 DEPDC1。CCK-8 实验结果表明,过表达 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 均显著促进 CNE-1 细胞增殖。流式细胞检测结果表明,与对照组相比过表达 DEPDC1-V1 或 DEPDC1-V2 后均导致 G2/M 期细胞增多。pHH3 检测结果显示,过表达 DEPDC1-V1 或 DEPDC1-V2 后有丝分裂活跃,细胞周期进程加快。进一步定量 RT-PCR 检测发现,过表达 DEPDC1-V1 或 DEPDC1-V2 导致细胞周期进程关键调节因子 FoxM1 及其下游靶基因 CCNB2、PLK1 和 MYBL2 表达量上调。**结论:**本研究通过在鼻咽癌 CNE-1 细胞株中过表达两个剪接体 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2,证明 DEPDC1 在鼻咽癌细胞中高表达对促进细胞的增殖具有重要作用。

【关键词】鼻咽癌; DEPDC1; 细胞增殖; 细胞周期**【中图分类号】**R734.2**【文献标志码】**A**【收稿日期】**2017-12-19

Effect of overexpression of DEPDC1 on proliferation of nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-1

Zhu Ling¹, Liu Tong¹, Zhang Chundong², Bu Youquan², Zhu Jiang¹

(1. Department of Otolaryngology, The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University;

2. Teaching and Research Section of Biochemistry and Molecular Biology, Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: DEP domain containing 1 (DEPDC1) is a tumor-related gene found in recent years. Previous studies have shown that DEPDC1 plays an important role in the development and progression of nasopharyngeal carcinoma. In this study, DEPDC1 was used to further investigate the effect of DEPDC1 on the proliferation of NPC cells. **Methods:** In nasopharyngeal carcinoma cell line CNE-1, the two spliceosomes overexpressing DEPDC1-V1 and DEPDC1-V2 were transfected respectively, and transiently expressed for 48 h, then CCK-8, flow cytometry and pHH3 labeling assays were used to detect cell proliferation. **Results:** Western blot showed that transient transfection of DEPDC1-V1 and DEPDC1-V2 in CNE-1 cells could overexpress DEPDC1. CCK-8 experimental results showed that over-expression of DEPDC1-V1 and DEPDC1-V2 significantly promoted CNE-1 cell proliferation. Flow cytometry results showed that compared with the control group, overexpression of DEPDC1-V1 or DEPDC1-V2 resulted in an increase of G2/M phase cells. The result of pHH3 labeling assay showed that mitosis was active after DEPDC1-V1 or DEPDC1-V2 being overexpressed, and the cell cycle progression was accelerated. Further quantitative RT-PCR analysis showed that overexpression of DEPDC1-V1 or DEPDC1-V2 led to the up-regulation of FoxM1 and its downstream target genes CCNB2, PLK1 and MYBL2 in cell cycle progression. **Conclusion:** In this study, overexpression of two spliceosomes, DEPDC1-V1 and DEPDC1-V2, in nasopharyngeal carcinoma CNE-1 cell lines demonstrate that DEPDC1 overexpression in nasopharyngeal carcinoma cells plays an important role in promoting cell proliferation.

【Key words】nasopharyngeal carcinoma; DEP domain containing 1; cell proliferation; cell cycle

作者介绍: 朱 玲, Email: 476130592@qq.com,

研究方向: 肿瘤发生。

通信作者: 朱 江, Email: 13668052903@163.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81501979)。

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1046.R.20180503.1344.024.html>

(2018-05-03)

鼻咽癌(nasopharyngeal carcinoma,NPC)是来源于鼻咽部上皮细胞癌变的肿瘤,在我国南方和亚洲东南部发病率较高^[1]。截至 2010 年,NPC 已经导致全球超过 65 000 人死亡,较 1990 年全球致死人数 45 000 上升 44.4%^[2]。中国 NPC 占全球 NPC 发病人口和死亡人口的 38.29%和 40.14%,且男性高于女性,发病率和死亡率均高于世界平均水平(1.2/10 万,0.7/10 万),位列发病和死亡顺位的第 18 位和 23 位,并以青壮年人口为主。NPC 预后较差,生存率也相对较低^[3]。目前比较有效的治疗手段为放化疗结合治疗,然而五年总生存率仍不足 50%^[4]。因此,就 NPC 发生发展的分子机制展开深入研究,对于 NPC 的预防及治疗均具有重要意义。

人源 DEPDC1(DEP domain containing 1)是近年来新发现的一个致癌基因,编码蛋白包含 2 种剪接形式,分别为 DEPDC1-V1(GeneBank 编码 AB281187)及 DEPDC1-V2(GeneBank 编码 AB281274)^[5]。Kanehira^[5]、Harada^[6]及 Obara^[7]等首先证实其在膀胱癌中高表达并具有促进膀胱癌细胞的增殖迁移等恶性肿瘤表型的作用。随后研究报道显示其在乳腺癌^[8]、肺癌^[9]、胶质母细胞瘤^[10]、肝癌^[11]的发生发展过程中均具有重要作用。本课题组前期研究发现,DEPDC1 在 NPC 组织中同样高水平表达,且其表达水平与预后呈现负相关。并且在 2 个 DEPDC1 高表达 NPC 细胞系 CNE-1 和 HNE-1 中沉默 DEPDC1 表达后,细胞侵袭迁移、增殖能力均明显下降^[1,12-13]。为进一步研究 DEPDC1 高表达对 NPC 细胞的影响,本研究拟通过瞬时转染 DEPDC1 两个剪接体 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 至 NPC 细胞 CNE-1 中,并检测过表达 DEPDC1 后 CNE-1 细胞周期及增殖的变化情况,深入探索 DEPDC1 在 NPC 发生发展过程中的具体分子机制,为后续相关研究提供线索。

1 材料与方法

1.1 材料

人 NPC CNE-1 细胞株、pcDNA3.0 质粒、DEPDC1-V1-flag 质粒(简称 DEPDC1-V1 质粒)以及 DEPDC1-V2-flag 质粒(简称 DEPDC1-V2 质粒)为本实验室保存。胎牛血清、RPMI1640 培养基、OPTI-MEM 培养基、氨苄霉素溶液均购于 Hyclone 公司,转染试剂 Lipofectamine 2000 购于 Invitrogen 公

司,荧光定量 PCR 试剂 SYBR PremixEX Taq 及逆转录试剂盒 PrimeScript RT Master Mix 购于 Takara 公司,总 RNA 提取试剂盒 TRIzol Reagent 购于 ThermoFisher Scientific 公司,质粒提取试剂盒 Plasmid Mini Kit I 购于 Omega Bio-Tek 公司,细胞核染试剂 DAPI 购于 Sigma 公司,DEPDC1 抗体及荧光二抗购于 ThermoFisher Scientific 公司,Flag 抗体购于 Abcam 公司,BRDU 抗体购于 Cell Signaling Technology 公司。

1.2 细胞培养与过表达 DEPDC1 质粒的瞬时转染

人 NPC 细胞 CNE-1 细胞株常规培养于含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基中,培养条件为 37 ℃、5%CO₂,定期观察细胞生长情况,每 2~4 d 用胰酶(0.05%)消化,进行传代培养。取对数生长期的 CNE-1 细胞,以 5×10^4 个细胞铺于 24 孔板, 2×10^5 个细胞铺于 6 孔板,采用 Lipofectamine 2000 试剂,将质粒转染至 CNE-1 细胞,具体方法请参见 Lipofectamine 2000 使用说明书。转染后 48 h 收集细胞,提取细胞总蛋白或总 RNA 等进行后续实验。

1.3 qRT-PCR 检测 DEPDC1 及相关蛋白的 mRNA 表达

总 RNA 提取方法参照 TRIzol Reagent 总 RNA 提取试剂盒说明书,取对照组 CNE-1 细胞与使用 V1、V2 质粒过表达 DEPDC1 后的 CNE-1 细胞分别提取总 RNA,紫外分光光度计定量并计算 $A_{260\text{ nm}}/A_{280\text{ nm}}$ 的比值。再用 0.5 μg 总 RNA 进行反转录,采用 Takara 公司的 PrimeScript RT Master Mix 逆转录试剂盒,具体方法参见其说明书。qRT-PCR 以 GAPDH 为内参对照,分别检测 DEPDC1、FoxM1、CCNB2、PLK1、MYBL2 的相对表达。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析定量 PCR 的结果^[21]。

1.4 免疫印迹检测 DEPDC1 及相关蛋白表达

取同样细胞个数的转染空载体 pcDNA3.0 质粒的对照组和转染 V1-flag 质粒及转染 DEPDC1-V2 质粒 48 h 后的实验组细胞加入细胞裂解液 RIPA 以及蛋白酶抑制剂 PMSF,以 100:1 的比例配制,置于冰上 30 min,在此期间使用超声细胞破碎仪破碎细胞 3 次,每次 5 min。之后 12 000 g,4 ℃离心 10 min,取上清液为蛋白样品,采用 BCA Protein Assay Kit 测量细胞总蛋白浓度。使用 SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液(5 $\times$)配制蛋白质样品,再置于 90 ℃以上加热 5 min,使蛋白质样品充分变性。采用 8%的 SDS-PAGE 分离胶分离蛋白质样品,随后进行转膜(230 mA,恒流湿转),封闭(5%脱脂奶粉,常温,2 h),一抗孵育(4 ℃过夜),TBST 洗膜,二抗孵育(37 ℃,1 h),TBST 洗膜等步骤。使用 Bio-Rad 公司化学发光试剂盒显影。所用一抗稀释比例为:GAPDH(1:2 000)、DEPDC1(1:1 000)、flag(1:2 000)。

1.5 CCK-8 检测过表达 DEPDC1 后 CNE-1 的增殖能力

取转染空载体 pcDNA3.0 质粒的对照组和转染 DEPDC1-V1 质粒及转染 DEPDC1-V2 质粒 48 h 后的实验组细胞,按照 1 000 个细胞/孔的密度接种于 96 孔板中。每组设有 3 个复孔以及 3 个空白孔,每孔加入 100 μL RPMI1640 培养

基。待细胞贴壁后在 0、24、48 及 72 h 每孔加入 10 mL CCK-8 试剂,在 37 ℃、5%CO₂ 的细胞培养箱内孵育 1 h,利用酶标仪检测 450 nm 处的吸光度值(A_{450 nm}),取 3 个复孔的平均值,绘制细胞生长曲线。

1.6 流式细胞术检测过表达 DEPDC1 后的 CNE-1 细胞周期

取转染空载体 pcDNA3.0 质粒的对照组和转染 DEPDC1-V1 质粒及转染 DEPDC1-V2 质粒 48 h 后的实验组细胞,经胰酶消化后收集细胞,-20 ℃预冷的 70%乙醇 4 ℃固定过夜。经 PI 染色后在 CytoFLEX 仪器上进行流式细胞分析。

1.7 免疫荧光检测质粒转染效率以及细胞增殖情况

CNE-1 细胞转染 48 h 后用 PBS 清洗 2 次,常温下,4%多聚甲醛固定细胞 20 min,0.4%Triton X-100(PBST 配置)通透 20 min,37 ℃封闭 1 h(封闭液采用 5%BSA+10%山羊血清+PBST 配置),4 ℃孵育一抗过夜(所用一抗稀释比例为:DEPDC1:1:500,FLAG:1:500,pHH3:1:40);次日 37 ℃荧光二抗孵育 1 h(二抗稀释比例:羊抗兔 594 及 488,羊抗鼠 594 及 488 均为 1:500),加 DAPI 染核,孵育 5 min,最后使用 80%甘油封片,荧光显微镜下观察拍照。

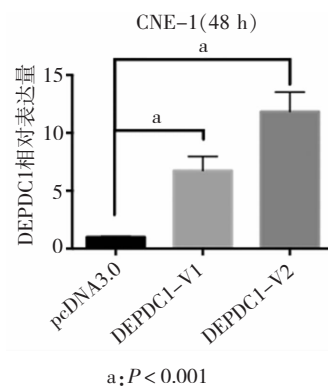
1.8 统计学分析

利用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析。实验组与对照组的比较采用两独立样本 *t* 检验。双侧检验水准 $\alpha=0.05$ 。

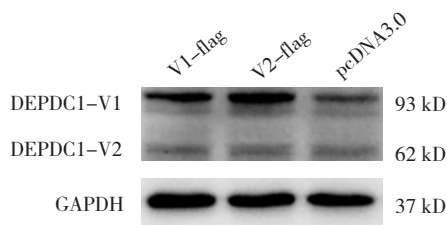
2 结果

2.1 瞬时转染过表达质粒 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 过表达 DEPDC1

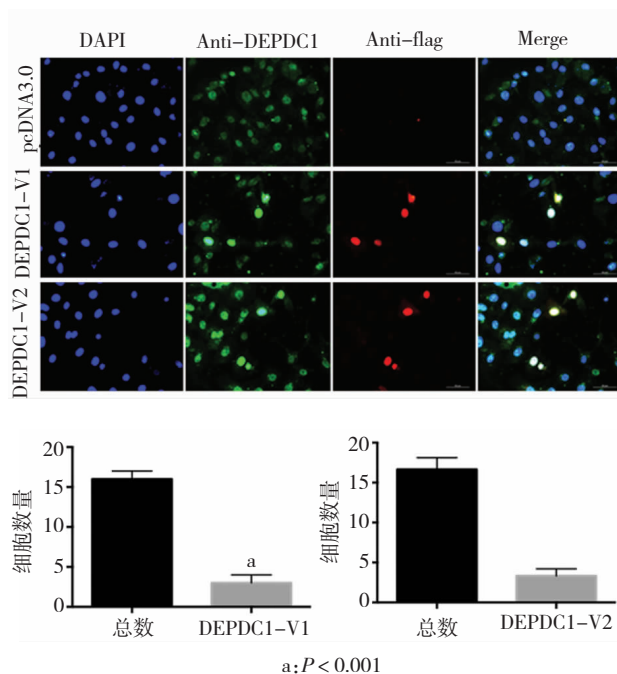
瞬时转染 DEPDC1-V1 或 DEPDC1-V2 两种质粒至 CNE-1 细胞 48 h。qRT-PCR 检测结果显示,与转染 pcDNA3.0 质粒的对照组(1.000 ± 0.047)相比,DEPDC1 过表达的 2 个组中(DEPDC1-V1 组:6.745 ± 1.225, $t=10.515$, $P=0.009$;DEPDC1-V2 组:11.840 ± 1.695, $t=17.021$, $P=0.003$)mRNA 水平表达量明显升高,结果具有统计学意义(图 1A)。通过 Western blot 检测其蛋白质水平表达情况,结果表明与对照组相比,转染 DEPDC1-V1 组中,DEPDC1 的 2 个剪接体条带 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 蛋白含量升高,DEPDC1-V1 条带的蛋白升高程度比 DEPDC1-V2 明显;转染 DEPDC1-V2 组中,DEPDC1 的 2 个剪接体条带 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 蛋白含量升高,DEPDC1-V1 条带的蛋白升高程度仍比 DEPDC1-V2 明显,其机制目前仍不清楚(图 1B)。为了解 2 种质粒经过瞬时转染后在 CNE-1 细胞内的转染效率,利用 DEPDC1 及 Flag 抗体进行免疫荧光染色。随后显微镜拍照结果显示,DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 两种质粒在 CNE-1 细胞内的瞬时转染效率为(18.75 ± 0.02)%、(19.15 ± 0.14)%,且结果具有统计学意义($t_{V1}=49.112$, $P_{V1}=0.000$; $t_{V2}=57.324$, $P_{V2}=0.000$) (图 1C)。



A. 转染质粒后 DEPDC1 的 mRNA 水平明显增加



B. 转染质粒 48 h 后 DEPDC1 蛋白表达情况



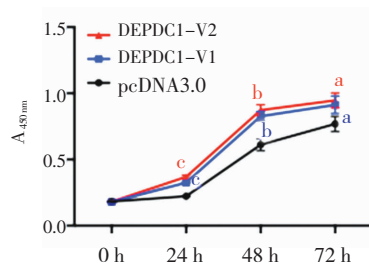
C. DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 两种质粒在 CNE-1 细胞内的瞬时转染效率

图 1 瞬时转染 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 质粒后 DEPDC1 显著过表达

2.2 过表达 DEPDC1 对 CNE-1 细胞增殖的影响

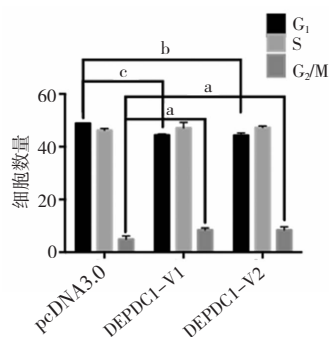
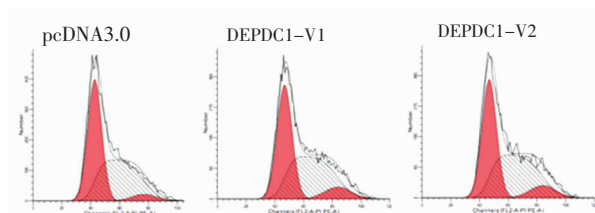
为了检测过表达 DEPDC1 后对 NPC 细胞系 CNE-1 增殖的影响,通过 CCK-8 检测细胞增殖情况。结果显示相对于 pcDNA3.0 组,DEPDC1-V1 和 DEPDC1-V2 组细胞在 24 h: (pcDNA3.0 组:0.223 ± 0.002; DEPDC1-V1 组:0.326 ± 0.003, $t=55.924$, $P=0.000$; DEPDC1-V2 组:0.368 ± 0.012, $t=60.257$, $P=0.000$), 48 h: (pcDNA3.0:0.612 ± 0.045; DEPDC1-V1 组:

$0.827 \pm 0.035, t=17.012, P=0.003$; DEPDC1-V2 组: $0.873 \pm 0.041, t=20.110, P=0.002$ 、72 h: (pcDNA3.0: 0.768 ± 0.057 ; DEPDC1-V1 组: $0.913 \pm 0.066, t=4.550, P=0.045$; DEPDC1-V2 组: $0.947 \pm 0.055, t=7.419, P=0.018$), 增殖速率均升高(图2A)。表明过表达 DEPDC1 后, CNE-1 细胞的增殖能力明显增强。随后, 为了检测过表达 DEPDC1 对 NPC 细胞 CNE-1 细胞周期的影响, 通过流式细胞技术检测转染质粒 48 h 后 2 个过表达 DEPDC1 组 CNE-1 细胞与对照组细胞的周期变化情况。结果显示与对照组细胞相比, 过表达 DEPDC1 后, G1 期细胞减少: 对照组: $(48.88 \pm 0.086)\%$; DEPDC1-V1 组: $(44.430 \pm 0.424)\%$; DEPDC1-V2 组: $(44.310 \pm 0.927)\%$, 且差异具有统计学意义($t_{V1}=57.227, P_{V1}=0.000; t_{V2}=26.733, P_{V2}=0.001$)。S 期细胞无明显变化: 对照组: $(46.210 \pm 0.724)\%$; DEPDC1-V1 组: $(47.130 \pm 2.076)\%$; DEPDC1-V2 组: $(47.250 \pm 0.610)\%$ 。G2/M 期细胞增多: 对照组: $(4.910 \pm 1.250)\%$; DEPDC1-V1 组: $(8.430 \pm 0.813)\%$; DEPDC1-V2 组: $(8.440 \pm 1.210)\%$, 且差异具有统计学意义($t_{V1}=7.987, P_{V1}=0.015; t_{V2}=6.231, P_{V2}=0.025$) (图2B)。



a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.001$

A. CCK-8 检测增殖速率



a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, c: $P < 0.001$

B. 流式细胞术检测对照组与过表达 DEPDC1 组的 CNE-1 细胞周期

图 2 过表达 DEPDC1 导致细胞增殖能力提高并加速细胞周期进程

2.3 过表达 DEPDC1 对 CNE-1 细胞周期的影响

为确定过表达 DEPDC1 对细胞周期进程的影响, CNE-1 细胞瞬时转染质粒 48 h 后进行磷酸化组蛋白 H3 (phospho-histone H3, pHH3) 免疫荧光标记染色, pHH3 是一种现已应用成熟的有丝分裂标记。显微镜拍照结果显示, 与对照组 $[(3.68 \pm 0.88)\%]$ 相比, DEPDC1-V1 组 $[(7.34 \pm 1.55)\%]$ 、DEPDC1-V2 组 $[(8.11 \pm 1.96)\%]$ 内能被 pHH3 标记的细胞均增多, 且差异具有统计学意义($t_{V1}=6.312, P_{V1}=0.024; t_{V2}=6.457, P_{V2}=0.023$) (图 3)。这些结果清楚地表明, 过表达 DEPDC1 导致 CNE-1 细胞有丝分裂活动旺盛, 细胞周期进程加快(图3)。

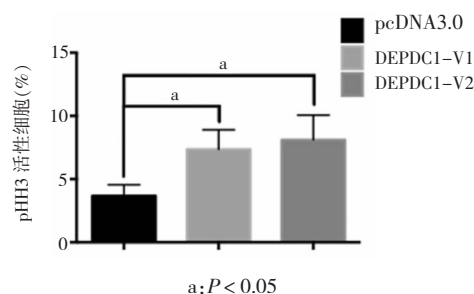
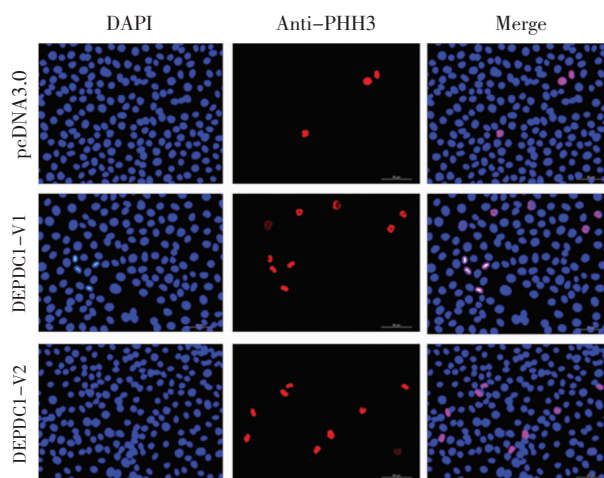


图 3 过表达 DEPDC1 引起 CNE-1 有丝分裂活跃

2.4 过表达 DEPDC1 后导致多种分子调节异常

为了更深入探索过表达 DEPDC1 促进 CNE-1 细胞增殖及加速细胞周期进程的分子机制, 瞬时转染对照组 pcDNA3.0 质粒及 DEPDC1-V1、DEPDC1-V2 质粒 48 h, qRT-PCR 检测多个与细胞周期、细胞有丝分裂及与细胞增殖相关的调节基因。检测结果表明, 利用 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 两种质粒过表达 DEPDC1 后, 导致在细胞周期进程中起关键作用的基因 FoxM1^[14] 表达均上调 (DEPDC1-V1 组: $3.030 \pm 0.069, t=51.122, P=0.000$; DEPDC1-V2 组: $3.592 \pm 0.056, t=47.374, P=0.000$)。且瞬时转染 DEPDC1-V2 质粒后, 受 FoxM1 调控的 G2/M 期特异性基因 CCNB2^[15] 表达上调 ($2.948 \pm 0.550, t=15.992, P=0.004$), 同时导致 G2/M 期转换的早期触发器相关

基因 PLK1^[16]表达上调(1.746 ± 0.025 , $t=55.329$, $P=0.000$)。瞬时转染 DEPDC1-V2 质粒后,参与细胞周期进程的核蛋白基因 MYBL2(B-Myb)也有所上调(1.897 ± 0.046 , $t=52.419$, $P=0.000$)。这些研究结果表明 DEPDC1 可能通过加速细胞 G2/M 期的转换从而加速细胞周期进程、增强有丝分裂活动,调节细胞增殖(图 4)。

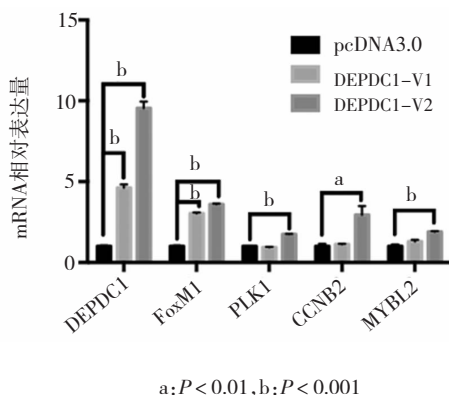


图 4 过表达 DEPDC1 后导致多种细胞周期相关分子调节异常

3 讨论

NPC 具有高度侵袭性和转移性的特点,故外科手术治疗仅用于抢救和清扫复发及残留的病灶^[17]。虽然目前放疗技术不断改进,使 NPC 患者的预后及五年生存率有所提高,但仍有 4%~23% 的患者存在残留、复发以及转移^[19-20]。NPC 的发生发展是一个多种因素相互作用的过程,与癌基因的激活和抑癌基因的失活有着密切的联系^[20-21]。因此,就 NPC 发生发展的分子机制进行深入的研究具有非常重要的意义。

前期已有研究表明,DEPDC1 在多种恶性肿瘤(膀胱癌^[5]、乳腺癌^[6]、肺癌^[9]、胶质母细胞瘤^[11]、肝癌^[14]、胰腺癌^[21]等)中呈现高表达,且与预后呈负相关。课题组前期研究发现,DEPDC1 在 NPC 组织中高表达,且沉默其高表达的 2 个 NPC 细胞系 CNE-1 和 HNE-1 后,导致细胞生长增殖减慢,细胞的侵袭迁移能力减弱,并可能通过 A20/NF- κ B 通路诱导细胞的凋亡^[11,13,22]。

为了进一步探讨 DEPDC1 高表达在 NPC 发生发展中的作用,利用瞬时转染方法过表达 DEPDC1 两个剪接体 DEPDC1-V1 及 DEPDC1-V2 后,检测 CNE-1 细胞中过表达 DEPDC1 后增殖能力的变化

情况。结果显示,过表达 DEPDC1 使 CNE-1 细胞的增殖能力显著增强,其过表达可促进细胞进入 G2/M 期。而课题组前期研究结果显示,沉默 DEPDC1 表达导致 2 个 NPC 细胞 CNE-1 和 HNE-1 有丝分裂阻滞,细胞周期 G2/M 期进程异常^[11,13,22]。为进一步阐明过表达 DEPDC1 在 CNE-1 细胞中促进细胞增殖的分子机制,qRT-PCR 检测与细胞周期进程及 G2/M 期转换的相关基因的变化情况。结果显示,DEPDC1-V1 或 DEPDC1-V2 过表达后,细胞周期进程中起关键调控作用的基因 FoxM1 表达显著上调。已有研究显示,FoxM1 参与细胞周期进程调节,且是一个重要的原癌基因^[24],FoxM1 的上调表达与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关,包括肝癌^[25]、乳腺癌^[26]、肺癌^[27]等。同时,受 FoxM1 调节的 G2/M 期特异性基因 CCNB2^[15]在转染 DEPDC1-V2 质粒后表达也升高,且 G2/M 转换的早期触发器相关基因 Plk1^[16],以及参与细胞周期进程的核蛋白基因 MYBL2(B-Myb)表达均有不同程度上调。CCNB2 所编码的细胞周期蛋白 B2 是细胞进入 G2/M 期的关键激酶^[28],且已有研究表明 CCNB2 是 NPC 样本中表达上调的基因^[29]。Plk1 则被认为是通过驱动 G2/早期中心体的功能成熟和双极纺锤体建立来推动细胞周期进程的一个关键原癌基因^[30]。同时,MYBL2 是参与细胞周期进程、细胞存活和细胞分化的生理调节因子,并在许多类型的肿瘤细胞中过表达并与患者预后不良呈正相关^[31]。故本研究推测,在 NPC 发生过程中,DEPDC1 的高表达可能通过促使 G2/M 期转换,加速有丝分裂进程而增强细胞增殖能力。但 DEPDC1 在 NPC 细胞中通过何种途径影响 FoxM1 等基因的表达,并最终导致细胞增殖能力改变的具体分子机制仍待后续更深入的研究。

综上所述,通过质粒瞬时转染的方法在 NPC CNE-1 细胞中过表达 DEPDC1,进一步证明 DEPDC1 在 NPC 细胞中高表达对 NPC 细胞增殖能力具有重要作用,为后续相关研究奠定了坚实的基础。

参 考 文 献

- [1] Feng X,Zhang C,Zhu L,et al. DEPDC1 is required for cell cycle progression and motility in nasopharyngeal carcinoma[J]. Oncotarget, 2017,8(38):63605-63619.
- [2] Lozano R,Naghavi M,Foreman K,et al. Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010:a

- systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010[J]. *Lancet*, 2012, 380(9859):2095–2128.
- [3] 梁 铤, 杨 剑, 高 婷, 等. 中国鼻咽癌流行概况[J]. *中国肿瘤*, 2016, 25(11):835–840.
- [4] 曾 奇, 郭 翔, 李宁炜, 等. 313 例老年鼻咽癌患者临床特征及预后的回顾性研究[J]. *癌症*, 2018, 27(3):289–294.
- [5] Kanehira M, Harada Y, Takata R, et al. Involvement of upregulation of DEPDC1 (DEP domain containing 1) in bladder carcinogenesis[J]. *Oncogene*, 2007, 26(44):6448–6455.
- [6] Harada Y, Kanehira M, Fujisawa Y, et al. Cell-permeable peptide DEPDC1–ZNF224 interferes with transcriptional repression and oncogenicity in bladder cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(14):5829–5839.
- [7] Obara W, Ohsawa R, Kanehira M, et al. Cancer peptide vaccine therapy developed from oncoantigens identified through genome-wide expression profile analysis for bladder cancer[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2012, 42(7):591–600.
- [8] Kretschmer C, Sterner-Kock A, Siedentopf F, et al. Identification of early molecular markers for breast cancer[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10(1):15.
- [9] Okayama H, Kohno T, Ishii Y, et al. Identification of genes upregulated in ALK-positive and EGFR/KRAS/ALK-negative lung adenocarcinomas[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(1):100–111.
- [10] Stangeland B, Mughal AA, Grieg Z, et al. Combined expression analysis, bioinformatics and targeted proteomics identify new potential therapeutic targets in glioblastoma stem cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(28):26192–26215.
- [11] Yuan SG, Liao WJ, Yang JJ, et al. DEP domain containing 1 is a novel diagnostic marker and prognostic predictor for hepatocellular carcinoma[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(24):10917–10922.
- [12] 何龙霞, 糜 燕, 张春冬, 等. 沉默 DEPDC1 基因表达对鼻咽癌细胞系 HNE-1 生长和细胞周期的影响[J]. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36(3):349–355.
- [13] 李红霞, 封雪飞, 卜友泉, 等. 沉默 DEPDC1 抑制鼻咽癌细胞 HNE-1 和 CNE-1 侵袭迁移[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2016, 32(6):665–671.
- [14] Wierstra I, Alves J. FOXM1, a typical proliferation-associated transcription factor[J]. *Biol Chem*, 2007, 388(12):1257–1274.
- [15] Laoukili J, Kooistra MR, Bras A, et al. FoxM1 is required for execution of the mitotic programme and chromosome stability[J]. *Nat Cell Biol*, 2005, 7(2):126–136.
- [16] van de Weerd BC, Medema RH. Polo-like kinases: a team in control of the division[J]. *Cell Cycle*, 2006, 5(8):853–864.
- [17] Vlantis AC, Chan HS, Tong MC, et al. Surgical salvage nasopharyngectomy for recurrent nasopharyngeal carcinoma: a multivariate analysis of prognostic factors[J]. *Head Neck*, 2011, 33(8):1126–1131.
- [18] Wang J, Shi M, Hsia Y, et al. Failure patterns and survival in patients with nasopharyngeal carcinoma treated with intensity modulated radiation in Northwest China: a pilot study[J]. *Radiat Oncol*, 2012, 7:2.
- [19] Yang Y, Liao Q, Wei F, et al. LPLUNC1 inhibits nasopharyngeal carcinoma cell growth via down-regulation of the MAP kinase and cyclin D1/E2F pathways[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5):e62869.
- [20] Zhou Y, Zeng Z, Zhang W, et al. Lactotransferrin: a candidate tumor suppressor—Deficient expression in human nasopharyngeal carcinoma and inhibition of NPC cell proliferation by modulating the mitogen-activated protein kinase pathway[J]. *Int J Cancer*, 2008, 123(9):2065–2072.
- [21] 潘春鹏, 鲍国清, 施敏敏, 等. DEPDC1 基因在胰腺癌的表达及其 siRNA 对胰腺癌细胞的影响[J]. *外科理论与实践*, 2013, 18(3):258–263.
- [22] Bu Y, Suenaga Y, Okoshi R, et al. NFB1/MDC1 participates in the regulation of G2/M transition in mammalian cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 397(2):157–162.
- [23] Myatt SS, Lam EW. The emerging roles of forkhead box (Fox) proteins in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2007, 7(11):847–859.
- [24] Kalinichenko VV, Major ML, Wang X, et al. Foxm1b transcription factor is essential for development of hepatocellular carcinomas and is negatively regulated by the p19ARF tumor suppressor[J]. *Genes Dev*, 2004, 18(7):830–850.
- [25] Wonsey DR, Follett MT. Loss of the forkhead transcription factor FoxM1 causes centrosome amplification and mitotic catastrophe[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(12):5181–5189.
- [26] Kim IM, Ackerson T, Ramakrishna S, et al. The Forkhead Box m1 transcription factor stimulates the proliferation of tumor cells during development of lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(4):2153–2161.
- [27] Fang W, Li X, Jiang Q, et al. Transcriptional patterns, biomarkers and pathways characterizing nasopharyngeal carcinoma of Southern China[J]. *J Transl Med*, 2008, 6:32.
- [28] Liu JH, Wei S, Burnette PK, et al. Functional association of TGF-beta receptor II with cyclin B[J]. *Oncogene*, 1999, 18(1):269–275.
- [29] Chen F, Shen C, Wang X, et al. Identification of genes and pathways in nasopharyngeal carcinoma by bioinformatics analysis[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(38):63738–63749.
- [30] Liu X, Erikson RL. Polo-like kinase (Plk)1 depletion induces apoptosis in cancer cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(10):5789–5794.
- [31] Musa J, Aynaud MM, Mirabeau O, et al. MYBL2 (B-Myb): a central regulator of cell proliferation, cell survival and differentiation involved in tumorigenesis[J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8(6):e2895.

(责任编辑:张辉洁)