

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.06.007

AG490 上调 BATF2 表达抑制淋巴瘤细胞增殖 *

周 杰 周荣斌 吴 双 曾 瑞 李建军 梁后杰[△]

(第三军医大学西南医院肿瘤科 重庆 400038)

摘要 目的:AG490 作为 JAK2/STAT3 通路的抑制剂,在对肿瘤细胞的抑制作用上所展现出的高效低毒性,使其有望成为临床上治疗肿瘤的一种可能的药物。然而,AG490 的抗癌机制尚未明确。因此,本文拟对 AG490 抑制淋巴瘤细胞增殖的效应及其作用机制进行进一步探讨,为 AG490 应用于临床提供实验依据。**方法:**用不同剂量的 AG490 处理淋巴瘤细胞(Namalwa 和 JeKo-1)、Jurkat T 淋巴细胞性白血病细胞和 THP-1 单核细胞性白血病细胞 24 小时,CCK-8 法检测 AG490 (0 μ M、2 μ M、20 μ M、50 μ M、200 μ M)对上述细胞的增殖抑制作用,实时定量 PCR 法检测 BATF2 mRNA 的变化,Western blot 法检测其蛋白水平的变化,细胞转染 siRNA 法抑制 BATF2 表达后 CCK8 法检测 AG490 对 Namalwa 细胞的增殖抑制效应。**结果:**AG490 呈剂量依赖性地抑制 Namalwa、JeKo-1、Jurkat 细胞的增殖($P<0.05$),同时上调其 BATF2 mRNA 水平和蛋白水平的表达($P<0.05$)。对于无显著抑制作用的 THP-1 细胞,BATF2 的表达亦未见升高($P>0.05$)。siRNA 法抑制 BATF2 基因表达后,AG490 对 Namalwa 细胞的增殖抑制效果明显降低($P<0.05$)。**结论:**AG490 杀肿瘤细胞的效率与其诱导的 BATF2 的表达呈正相关,抑制 BATF2 的表达后 AG490 抑制肿瘤细胞增殖的效率明显降低。因此,AG490 可能是通过上调 BATF2 表达的方式抑制淋巴瘤细胞增殖。这意味着 BATF2 是 AG490 杀伤淋巴瘤细胞的作用靶点,可能为新药的开发做出一定的贡献。

关键词:AG490;STAT;淋巴瘤;BATF2

中图分类号:R73-362,R733.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)06-1025-04

AG490 Suppresses Lymphoma Cell Proliferation by up-regulating BATF2 Expression*

ZHOU Jie, ZHOU Rong-bin, WU Shuang, ZENG Rui, LI Jian-jun, LIANG Hou-jie[△]

(Department of oncology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

ABSTRACT Objective: The inhibitory effect of AG490, the JAK2/STAT3 pathway inhibitor, on tumor cells with high efficiency and low toxicity makes it a potential drug that is clinically used to treat tumor. Nevertheless, the mechanism how AG490 suppresses tumor remains not elusive. Therefore, this paper will investigate the effect and the mechanism of AG490 suppressing lymphoma cell proliferation. **Methods:** Lymphoma cells (Namalwa and JeKo-1), T-cell leukemia cells (Jurkat) and monocytic leukemia cells (THP-1) were treated with different doses of AG490 (0 μ M, 20 μ M and 50 μ M) for 24h. Cell viability was measured by CCK-8 assay. The mRNA level of BATF2 was detected by real-time PCR, and the protein level was detected by Western blot. Namalwa cells were transfected with siRNA to inhibit BATF2 expression. **Results:** Namalwa, JeKo-1 and Jurkat cells were dose-dependently suppressed by AG490 ($P<0.05$). Correspondingly, the mRNA and protein expression of BATF2 were significantly up-regulated ($P<0.05$). However, no significant change was shown on cell proliferation suppression or BATF2 expression of THP-1 cells ($P>0.05$). AG490 couldn't inhibit Namalwa cells proliferation when BATF2 was repressed by siRNA. **Conclusion:** The inhibitory effect of AG490 on lymphoma cells was positively correlated with the BATF2 expression induction. Moreover, the inhibitory effect was decreased after BATF2 gene was knocked down. Thus, upregulation of BATF2 may be a possible mechanism, by which AG490 inhibits the proliferation of lymphoma cells. These results imply that BATF2 is the target of AG490 for its anti-lymphoma effect, which might contribute to the development of new drugs.

Key words: AG490; JAK/STAT; Lymphoma; BATF2

Chinese Library Classification (CLC): R73-362, R733.4 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)06-1025-04

前言

JAK/STAT (Janus kinase/Signal transducers and activators of transcription, JAK 激酶 / 信号传导及转录激活因子) 信号通路

在细胞的增殖、分化、凋亡中扮演重要角色。其中,JAK2/STAT3 通路在大多数人类肿瘤中异常激活,如乳腺癌^[1]、结肠癌^[2]、非小细胞肺癌^[3]和淋巴瘤^[4]等。因此,特异性地阻断该通路成为肿瘤治疗的新靶点。AG490 全称 α - 氰基 -(3,4- 羟基)N- 苄苯乙炔

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81172114)

作者简介:周杰(1987-),女,硕士,研究方向:肿瘤耐药,电话:13637952743,E-mail:zhoujie_fl@163.com

[△]通讯作者:梁后杰,E-mail:lianghoujie@sina.com

(收稿日期:2013-10-24 接受日期:2013-11-24)

胺,是由人工合成的苯亚基丙二腈脂类衍生物,能特异性地阻断 JAK2/STAT3 信号通路^[5]。细胞实验表明,在白血病^[5]、乳腺癌^[6]、前列腺癌^[7]、结肠癌^[8]中,AG490 具有良好的抗癌效应。不仅如此,该化合物还能诱导肿瘤细胞凋亡,而对正常细胞却无杀伤效应^[9]。上述功能使得 AG490 具备临床应用前景,其机制研究也因此成为研究热点。

BATF2(basic leucine zipper transcription factor, ATF-like 2, ATF 样碱性亮氨酸拉链转录因子 2),又名 SARI(suppressor of activator protein 1 regulated by IFN, I 型干扰素诱导的 AP-1 抑制剂),是一种抑癌基因,在多种正常组织中广泛表达,但是在肿瘤组织、细胞中呈低表达^[10-11]。2008 年, Su ZZ 等^[9]首次发现并将 BATF2 过表达的腺病毒及其空载体分别转染细胞,发现 BATF2 具备选择性的肿瘤杀伤能力,即它能够显著地抑制黑色素瘤细胞、胶质瘤细胞、前列腺癌细胞增殖,而对正常的黑色素细胞、胚胎星形胶质细胞、前列腺上皮细胞的增殖却无抑制作用。2011 年, Huang Qing 等^[12]发现 siRNA 法抑制 BATF2 的表达后,抗白血病药物甲磺酸伊马替尼对慢性髓系白血病细胞的促凋亡效应明显减弱。此外, BATF2 低表达与肝癌预后较差^[13]、肺癌转移^[13]相关。虽然 BATF2 的抗癌效应显著,但是迄今为止仍未见研究报道直接或间接调控 BATF2 的基因。

有趣的是,生物信息学研究提示, BATF2 基因启动子区含有 STAT3 的结合位点。因此我们推测可能存在 "STAT3/BATF2" 信号通路。本文用 PCR 和 Western blot 的方法检测 AG490 不同作用剂量下 BATF2 表达,并在敲低 BATF2 后用 CCK8 的方法检测 AG490 对淋巴瘤细胞增殖的抑制效率。旨在初步探讨 BATF2 在 AG490 的抗癌效应及其作用机制中的作用,为 AG490 应用于临床治疗淋巴瘤提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

人 Burkitt 淋巴瘤细胞(Namalwa), T 细胞性白血病细胞(Ju-

rkat), 套细胞淋巴瘤细胞 (JeKo-1) 和单核细胞性白血病细胞 (THP-1)购自美国 ATCC。RPMI1640 培养基(美国 HyClone 公司),胎牛血清(美国 HyClone 公司),胰酶(美国 HyClone 公司)、DMSO (美国 BIOSHARP 公司)。AG490 (美国 Sigma 公司), CCK-8(日本 Dojindo 公司), Trizol(北京康为世纪公司), 逆转录试剂盒(大连 TaKaRa 公司), SYBGreen(TaKaRa 公司), 引物(上海 Invitrogen 公司), siRNA(上海吉玛公司), Amaxa 电转染试剂盒(瑞士 Lonza 公司)。细胞裂解液(南京碧云天公司), 蛋白酶抑制剂(美国 Roche 公司), BCA 检测试剂盒(南京碧云天公司), 牛血清蛋白 (美国 Sigma 公司), BATF2 抗体、 β -actin 抗体 (美国 Santa Cruz 公司), 羊抗鼠二抗、羊抗兔二抗 (北京中杉公司), PVDF 膜 (美国 Millipore 公司), ECL 化学发光试剂盒 (美国 Pierce 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 含 10 %胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养 Namalwa、JeKo-1、Jurkat、THP-1 细胞, 置于 37℃、5 % CO₂ 孵箱, 每 2-4 天换液传代, 取对数生长期细胞用于实验。

1.2.2 CCK-8 将处于对数生长期的 Namalwa、JeKo-1、Jurkat、THP-1 细胞分别接种于 96 孔板, 每孔约 5000 个细胞(设置不含细胞的空白对照)。6 h 后分别加入 DMSO (对照组), AG490(2 μ M、20 μ M、50 μ M、200 μ M), 每组设置 3 个复孔。培养 24 h 后小心加入 10 μ L CCK-8 试剂, 继续培养 1 h 后, 用酶标仪检测 OD₄₅₀。OD_{实测值} = OD_{样本} - OD_{对照}。

1.2.3 Real-Time PCR 用 TRIZOL 法提取总 RNA, 按 TaKaRa 试剂盒(货号 047A)说明书进行逆转录。PCR 反应按 TaKaRa 试剂盒(货号 RR820A)进行, 反应体系(20 μ L)为: SYBR Premix Ex Taq (2 $\times$) 10 μ L, 目的基因上下游引物(10 mol/L) 各 1 μ L, cDNA 1 μ L, 补超纯水至 20 μ L, 样品设 3 个复孔, 用 BioRad real-time PCR 仪扩增。反应条件: 95℃ 预变性 2 min; 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 共 40 个循环; 溶解曲线: 95℃ 5 s, 65℃ 5 s, 55℃ 1 min 80 个循环。BATF2 和 β -actin 引物序列^[14]见表 1。

表 1 BATF2、 β -actin 引物序列和产物大小
Table 1 Primer sequence and product length of BATF2 and β -actin

Gene	Primer sequence(5'-3')	Product length(bp)
BATF2	Forward: CCATGTACGTTGCTATCCAGG	227
	Reverse: TCTCCTTAATGTCACGCACGA	
β -actin	Forward: GTGAAGGTGACAGCAGTCGGTT	157
	Reverse: GAAGTGGGGTGGCTTTAGGA	

1.2.4 Western blot 将肿瘤细胞接种于六孔板 6 小时后, 分别用 DMSO、AG490 20 μ M、AG490 50 μ M 处理细胞 24 小时后收集细胞。每孔细胞加入 100 μ L 蛋白裂解液与蛋白酶抑制剂混合物, 置冰上裂解半小时。12000 g, 4℃ 离心 15 分钟, 收集上清。按 BCA 法测定蛋白浓度。15 % SDS-PAGE, 每孔上样 100 μ g。80 V 浓缩胶、120 V 分离胶电泳, 250 mA 转膜 40 分钟。5 % BSA 室温封闭 1 小时。一抗 (BATF2 1:200 稀释, β -actin 1:1000 稀释) 4℃ 过夜。PBST 洗膜, 5 分钟, 4 次。二抗 (BATF2 兔抗 1:5000, β -actin 鼠抗 1:5000) 室温 1 小时。PBST 洗膜, 5 分钟, 4 次。ECL 化学发光显影。

1.2.5 细胞转染 方法如前所述^[15]: 取电转试剂 I (1 ml) 和试剂 II (20 μ L) 混合均匀后置于 37℃ 孵育半小时。取约 2 $\times$ 10⁶ 个对数生长期的 Namalwa 细胞, 1000 rpm 离心 3 min, 弃上清后加入 300 nM siRNA(DEPC 水溶解) 和 100 μ L 电转试剂混合液, 轻轻吹打混匀后加入电转管中。用 Amaxa 电转仪(程序设置为 A-024)电击后, 取 5000 个 / 孔细胞铺 96 孔板准备做 CCK8 实验; 2 $\times$ 10⁵ 个 / 孔细胞铺 6 孔板准备做 real-time PCR 实验。BATF2 的 siRNA 干扰序列^[14]上游: 5'-gggucuuuccuuaagcuccatt-3', 下游: 5'-ugagcuuagaggaagaccctt-3'; 阴性对照序列上游: 5'-uu-cuccgaacgugucacgutt-3', 下游: 5'-acgugacacguccggagaatt-3', 交

上海吉玛公司合成。

1.2.6 统计学处理 利用 Graphpad Prism 5 软件对各实验进行分析,其中两组数据间比较用单样本 t 检验,两组以上数据比较用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示结果间的差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AG490 对淋巴瘤细胞的增殖抑制作用

如图 1 所示,AG490(0 μM 、2 μM 、20 μM 、50 μM 、200 μM)呈剂量依赖性地抑制 Namalwa、JeKo-1 淋巴瘤细胞和阳性对照组^[16,17]的 T 淋巴细胞性白血病细胞(Jurkat)增殖($P < 0.05$)。而 AG490 对单核细胞性白血病细胞(THP-1)增殖则无显著抑制作用。

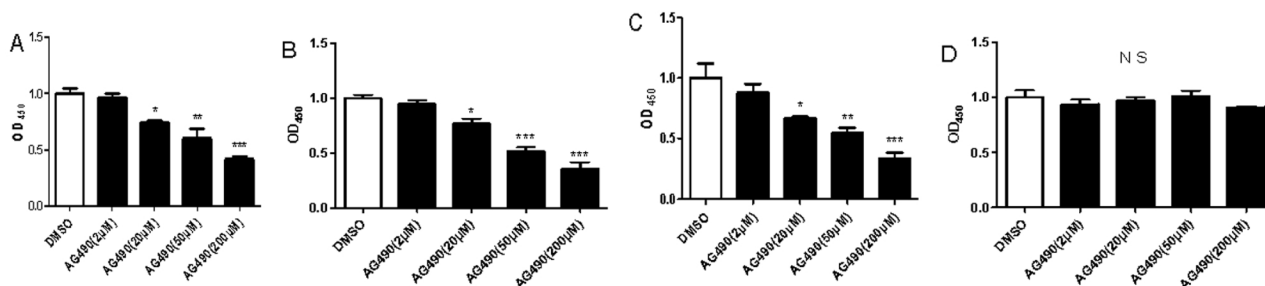


图 1 CCK-8 法检测 AG490 对淋巴瘤、白血病细胞的增殖抑制作用

Fig.1 The proliferation inhibition effects of AG490 on lymphoma and leukemia cells detected by CCK8

A: Namalwa Cells B: Jurkat Cells C: JeKo-1 Cells D: THP-1 Cells * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.2 AG490 对淋巴瘤细胞 BATF2 mRNA 表达水平的影响

用不同剂量 (0 μM 、20 μM 、50 μM) 的 AG490 分别处理 Namalwa、Jurkat、JeKo-1、THP-1 细胞 24 h,发现对 AG490 抗瘤

效应敏感的 Namalwa、Jurkat、JeKo-1 细胞中,BATF2 mRNA 水平显著上调。而对 AG490 的抑制作用不敏感的 THP-1 细胞中,BATF2 mRNA 也未见升高。

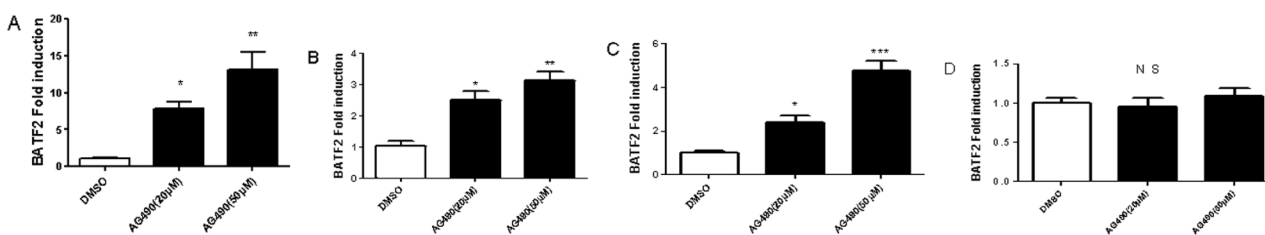


图 2 Real time PCR 法检测 AG490 对 BATF2 mRNA 的调节作用

Fig.2 Regulation of BATF2 mRNA by AG490 using Real time PCR

A: Namalwa Cells B: Jurkat Cells C: JeKo-1 Cells D: THP-1 Cells * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

2.3 AG490 对淋巴瘤细胞 BATF2 蛋白表达水平的影响

用不同剂量(0 μM 、20 μM 、50 μM)的 AG490 处理细胞 24 h 后,对 AG490 敏感的 Namalwa、Jurkat、JeKo-1 细胞中,BATF2 蛋白表达明显上调。而对 AG490 不敏感的 THP-1 细胞中,BATF2 蛋白表达水平亦无显著上调。

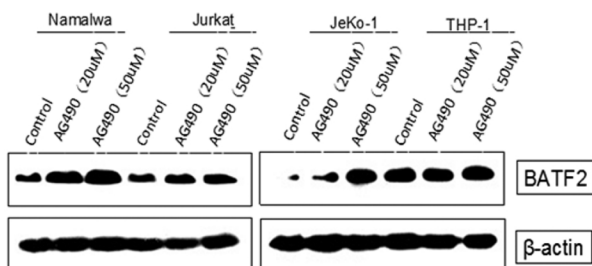


图 3 Western Blot 法检测 AG490 对 BATF2 蛋白表达的影响

Fig.3 Regulation of BATF2 protein expression by AG490 using Western blot method

2.4 AG490 对 Namalwa 淋巴瘤细胞的增殖抑制作用与 BATF2 基因相关

以 Namalwa 淋巴瘤细胞为模型,与对照组 siRNA(si Ctrl)相比,实验组转染 BATF2 的 siRNA(si BATF2)后能显著抑制 BATF2 的表达(图 4A)。AG490(50 μM)能显著抑制 Namalwa 细胞增殖(图 4B 白色、黑色柱子);与未转染组(wild type control, WT Ctrl)和 si Ctrl 组相比,转染 si BATF2 后,AG490(50 μM)对 Namalwa 细胞增殖的抑制效果显著降低 ($P < 0.05$)(图 4B 黑色、灰色柱子)。

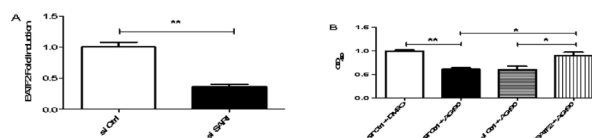


图 4 siRNA 法抑制 BATF2 表达后检测 AG490 对 Namalwa 细胞的增殖抑制作用

Fig.4 Namalwa cells proliferation inhibition by AG490 after BATF2 suppression by siRNA

A: Knockdown of BATF2 gene expression by siRNA technique in Namalwa cells. B: Effect of AG490 (50 μM) on the proliferation of Namalwa cells. WT Ctrl:wild type control,No transfection; si Ctrl: Transfected with control siRNA; si BATF2:Transfected with siRNA of BATF2. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

3 讨论

AG490 能显著地抑制多种肿瘤细胞的增殖^[5,8],并且具有不杀伤正常细胞的特性^[9]。因此,它作为一种具有开发潜力的肿瘤抑制剂而越来越受到研究人员的关注。然而,AG490 抑制肿瘤细胞生长的机制尚未十分明确,现有的研究仅包括:AG490 能特异性地抑制 JAK2/STAT3 通路的激活,可能通过抑制 cyclinD1、CDK6、c-Myc、Bcl-XL 和 VEGF 等下游靶基因^[7,18],进而抑制肿瘤的生长。这成为 AG490 应用于临床还具有较大距离的原因之一。因此,进一步探讨 AG490 抑制肿瘤细胞增殖的机制显得尤为必要。我们研究发现 AG490 能显著抑制 T 淋巴细胞性白血病细胞(Jurkat)增殖,这与前人的研究结果一致^[16,17]。同时,AG490 还能有效地抑制淋巴瘤细胞(Namalwa、JeKo-1)增殖,而且这种抑制效果与 BATF2 基因表达密切相关:AG490 可呈剂量依赖性的上调 BATF2 的表达。

BATF2 基因自从 2008 年首次发现以来,因其强大的抗癌效应和肿瘤靶标特异性而成为研究热点。BATF2 通过以下四点发挥抗癌效应。(1)通过抑制 AP-1(activator protein 1,激活蛋白 1)的活性而抑制肿瘤细胞的增殖^[9];(2)通过抑制 CCN1(富含半胱氨酸 61)的表达而抑制癌细胞生长^[10];(3)抑制 p53 依赖的在肿瘤中异常激活的 NF- κ B 的转录活性而诱导肿瘤细胞凋亡^[9];(4)通过调节 GSK-3 β (Glycogen synthase kinase-3 β ,糖原合成酶激酶-3 β)- β -catenin 信号通路而抑制 EMT(epithelial mesenchymal transitions,上皮间叶转化),进而抑制肿瘤的侵袭和转移^[13]。因此,能上调 BATF2 的因素无疑将有助于肿瘤的治疗。本研究一方面发现 AG490 抑制 Namalwa、JeKo-1、Jurkat 细胞增殖的同时,上调 BATF2 mRNA 和蛋白水平的表达。另一方面,在 AG490 无明显增殖抑制效果的 THP-1 细胞^[20]中,BATF2 的表达亦未见升高。在此基础上,siRNA 法抑制 BATF2 表达后,AG490 对淋巴瘤细胞的杀伤效应明显减弱。这些都提示我们:BATF2 表达的上调,可能是 AG490 抑制淋巴瘤增殖的机制之一,这同时也为淋巴瘤治疗新方案的研发提供一定的理论支持。

此外,前人研究发现用 I 型干扰素能上调 BATF2 的表达进而发挥抗癌效应^[9],而本课题研究使用 AG490 也能上调 BATF2 的表达从而达到抑制肿瘤的作用。我们认为这看似与我们的研究结果有所不同,实质上属于异曲同工。原因在于:STAT 家族包括 STAT1、STAT2、STAT3、STAT4、STAT5a、STAT5b 和 STAT6;其中 I 型干扰素与干扰素受体结合后激活 JAK/STATs 通路,主要通过活化抑癌基因 STAT1 实现抗肿瘤、促凋亡的作用^[14,21];而 AG490 则通过抑制癌基因 STAT3 的活性,起到抑癌作用。因此干扰素和 AG490 能通过不同的途径上调 BATF2 的表达,从而发挥抑癌作用,这更进一步为肿瘤的靶向治疗奠定新的理论基础。

最后,鉴于生物信息学预测到 BATF2 启动子区有 STAT 的结合位点,而 STAT3 作为新近鉴定的促癌基因在多种肿瘤中异常活化,所以笔者推测 STAT3 能通过抑制 BATF2 基因启动子活性而抑制其表达,进而发挥促癌效应。由此我们提出"STAT3/BATF2"信号通路的假说,但更为详尽的分子机制有待更深入的研究探讨。

参考文献(References)

- [1] Hsieh FC, Cheng G, Lin J. Evaluation of potential Stat3-regulated genes in human breast cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 335(2): 292-301
- [2] Lin Q, Lai R, Chirieac LR, et al. Constitutive activation of JAK3/STAT3 in colon carcinoma tumors and cell lines: inhibition of JAK3/STAT3 signaling induces apoptosis and cell cycle arrest of colon carcinoma cells[J]. *Am J Pathol*, 2005, 167(4): 969-980
- [3] Sanchez-Ceja SG, Reyes-Maldonado E, Vazquez-Manriquez ME, et al. Differential expression of STAT5 and Bcl-xL, and high expression of Neu and STAT3 in non-small-cell lung carcinoma [J]. *Lung Cancer*, 2006, 54(2): 163-171
- [4] Ashizawa T, Miyata H, Ishii H, et al. Antitumor activity of a novel small molecule STAT3 inhibitor against a human lymphoma cell line with high STAT3 activation [J]. *International Journal of Oncology*, 2011, 38(5): 1245-1252
- [5] Caceres-Cortes, J.R. A potent anti-carcinoma and anti-acute myeloblastic leukemia agent, AG490[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2008, 8(7): 717-722
- [6] Burke WM, Jin X, Lin HJ, et al. Inhibition of constitutively active Stat3 suppresses growth of human ovarian and breast cancer cells[J]. *Oncogene*, 2001, 20(55): 7925-7934
- [7] Huang C, Yang G, Jiang T, et al. Effects of IL-6 and AG490 on regulation of Stat3 signaling pathway and invasion of human pancreatic cancer cells in vitro[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2010, 29: 51
- [8] Saito K, Iwashita J, Murata J, et al. The tyrosine kinase inhibitor AG490 inhibits growth of cancer cells and activates ERK in LS174T and HT-29 cells[J]. *Anticancer Research*, 2006, 26(2A): 1085-1090
- [9] Su ZZ, Lee SG, Emdad L, et al. Cloning and characterization of SARI (suppressor of AP-1, regulated by IFN)[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(52): 20906-20911
- [10] Dash R, Su ZZ, Lee SG, et al. Inhibition of AP-1 by SARI negatively regulates transformation progression mediated by CCN1 [J]. *Oncogene*, 2010, 29(31): 4412-4423
- [11] Ma H, Liang X, Chen Y, et al. Decreased expression of BATF2 is associated with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *International Journal of Cancer Journal International Cancer*, 2011, 128(4): 771-778
- [12] Huang Q, Yang Y, Li X, et al. Transcription suppression of SARI (suppressor of AP-1, regulated by IFN) by BCR-ABL in human leukemia cells[J]. *Tumour Biol*, 2011, 32(6): 1191-1198
- [13] Wang C, Su Y, Zhang L, et al. The function of SARI in modulating epithelial-mesenchymal transition and lung adenocarcinoma metastasis[J]. *PloS one*, 2012, 7(9): 38046
- [14] Huang Ying-hui, Zhang Li, Huang Yan, et al. Interferon- α/β inhibits lymphoma cell proliferation by up-regulating SARI expression [J]. *Journal of the third military medical university*, 2012, 34 (24): 2465-2468
- [15] Malyukova A, Brown S, Papa R, et al. FBXW7 regulates glucocorticoid response in T-cell acute lymphoblastic leukaemia by targeting the glucocorticoid receptor for degradation [J]. *Leukemia : official journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U K*, 2013, 27(5): 1053-1062

- Arkh Patol, 2011, 73(6): 33-37
- [2] Liu K, Feng T, Liu J, et al. Silencing of the DEK gene induces apoptosis and senescence in CaSki cervical carcinoma cells via the up-regulation of NF- κ B p65[J]. Biosci Rep, 2012, 32(3): 323-332
 - [3] von Keyserling H, Kühn W, Schneider A. p16INK-a and p14ARF mRNA expression in Pap smears is age-related[J]. Mod Pathol, 2012, 25(3): 465-470
 - [4] Hernandez-Flores G, Ortiz-Lazareno PC, Lerma-Diaz JM, et al. Pentoxifylline sensitizes human cervical tumor cells to cisplatin-induced apoptosis by suppressing NF-kappa B and decreased cell senescence [J]. BMC Cancer, 2011, 11:483
 - [5] Magaldi TG, Almstead LL, Bellone S, et al. Primary human cervical carcinoma cells require human papillomavirus E6 and E7 expression for ongoing proliferation[J]. Virology, 2012, 422(1): 114-124
 - [6] Backsch C, Rudolph B, Steinbach D, et al. An integrative functional genomic and gene expression approach revealed SORBS2 as a putative tumour suppressor gene involved in cervical carcinogenesis[J]. Carcinogenesis, 2011, 32(7): 1100-1106
 - [7] Munagala R, Kausar H, Munjal C, et al. Withaferin A induces p53-dependent apoptosis by repression of HPV oncogenes and upregulation of tumor suppressor proteins in human cervical cancer cells [J]. Carcinogenesis, 2011, 32(11): 1697-1705
 - [8] Wang Z, Huang CM, Deng Q, et al. Effects of the proapoptotic regulator Bcl2/adenovirus E1B 19 kDa-interacting protein 3 on radiosensitivity of cervical cancer [J]. Cancer Biother Radiopharm, 2011, 26(3): 279-286
 - [9] El-Ghobashy AA, Shaaban AM, Innes J, et al. Differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and apoptosis-related proteins in endocervical lesions[J]. Eur J Cancer, 2007, 43(13): 2011-2018
 - [10] Zhang Z, Rosen DG, Yao JL, et al. Expression of p14ARF, p15INK4b, p16INK4a, and DCR2 increases during prostate cancer progression[J]. Mod Pathol, 2006, 19(10): 1339-1343
 - [11] Worsham MJ, Chen KM, Tiwari N, et al. Fine-mapping loss of gene architecture at the CDKN2B (p15INK4b), CDKN2A (p14ARF, p16INK4a), and MTAP genes in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2006, 132(4): 409-415
 - [12] Fukai K, Yokosuka O, Imazeki F, et al. Methylation status of p14ARF, p15INK4b, and p16INK4a genes in human hepatocellular carcinoma[J]. Liver Int, 2005, 25(6): 1209-1216
 - [13] Wang Y, Cheng J, Xu C, et al. Quantitative methylation analysis reveals gender and age differences in p16INK4a hypermethylation in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma[J]. Liver Int, 2012, 32(3): 420-428
 - [14] Xing EP, Nie Y, Song Y, et al. Mechanisms of inactivation of p14ARF, p15INK4b, and p16INK4a genes in human esophageal squamous cell carcinoma [J]. Clin Cancer Res, 1999, 5 (10): 2704-2713
 - [15] Garcia-Tamayo J, Molina J, et al. Importance of immunohistochemical studies in the diagnosis and the prognostic evaluation of cervical intraepithelial neoplasia and invasive squamous cell carcinoma of the uterine cervix[J]. Invest Clin, 2009, 50(2): 241-250
 - [16] El-Ghobashy AA, Shaaban AM, Innes J. Differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors and apoptosis-related proteins in endocervical lesions[J]. Eur J Cancer, 2007, 43(13): 2011-2018
 - [17] Zarka TA, Han AC, Edelson MI, et al. Expression of cadherins, p53, and BCL2 in small cell carcinomas of the cervix: potential tumor suppressor role for N-cadherin [J]. Int J Gynecol Cancer, 2003, 13(2): 240-243
 - [18] Biggers JW, Nguyen T, Di X, et al. Autophagy, cell death and sustained senescence arrest in B16/F10 melanoma cells and HCT-116 colon carcinoma cells in response to the novel microtubule poison, JG-03-14[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2013, 71(2): 441-455
 - [19] Wellenhofer A, Brustmann H. Expression of human telomerase reverse transcriptase in vulvar intraepithelial neoplasia and squamous cell carcinoma: an immunohistochemical study with survivin and p53 [J]. Arch Pathol Lab Med, 2012, 136(11): 1359-1365
 - [20] Salim H, Akbar NS, Zong D, et al. miRNA-214 modulates radiotherapy response of non-small cell lung cancer cells through regulation of p38MAPK, apoptosis and senescence [J]. Br J Cancer, 2012, 107(8): 1361-1373
 - [21] Rudolf E, John S, Cervinka M. Irinotecan induces senescence and apoptosis in colonic cells in vitro[J]. Toxicol Lett, 2012, 214(1): 1-8
 - [22] Quitschke WW. Curcuminoid binding to embryonal carcinoma cells: reductive metabolism, induction of apoptosis, senescence, and inhibition of cell proliferation[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e39568

(上接第 1028 页)

- [16] Liu YC, Lai WC, Chuang KA, et al. Blockade of JAK2 activity suppressed accumulation of beta-catenin in leukemic cells [J]. J Cell Biochem, 2010, 111(2): 402-411
- [17] Mao CQ, Xing FY, Guo ZF, et al. Inhibitor of tyrosine phosphorylation AG490 inhibits the proliferation of Jurkat T cells [J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology 2010. 26(3): 214-221
- [18] Hasegawa K, Wakino S, Kanda T, et al. Pentoxifylline inhibits melanoma tumor growth and angiogenesis by targeting STAT3 signaling pathway [J]. Biomedicine & pharmacotherapy, 2013, 67(5): 399-405
- [19] Lu Zhao, Zheng Shao-peng, Niu Jing, et al. BATF2/SARI induces tumor cell apoptosis by inhibiting p53-dependent NF- κ B activity[J]. Chinese Journal of Biochemistry Molecular Biology, 2005, 27 (6): 524-532
- [20] Hasegawa K, Wakino S, Kanda T, et al. Divergent action of calcium channel blockers on ATP-binding cassette protein expression [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2005, 46(6): 787-793
- [21] Arulampalam V, Kolosenko I, Hjortsberg L, et al. Activation of STAT1 is required for interferon-alpha-mediated cell death [J]. Experimental Cell Research, 2011, 317(1): 9-19