

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.02.007

PTPN9 的表达下调通过抑制 STAT3 活化促进结直肠癌细胞凋亡 *

朱兴业 赵 明[△] 汪大伟 屈春雷 王 伟

(哈尔滨医科大学附属第一医院肛肠外科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:探讨 PTPN9 对结直肠癌细胞生长和存活的影响及其机制。**方法:**建立稳定 PTPN9 高表达的细胞系,使用 Real-time PCR 检测其内源性表达,使用细胞集落实验及 Caspase-3、Caspase-9,检测其细胞活力及凋亡情况。同时我们抑制了细胞中 PTPN9 的表达,使用实时 PCR 来验证敲低效率,应用 100 μM H_2O_2 诱导凋亡模型,利用 CCK-8 测定来确定细胞活力, Caspase-9 和 Caspase-3 测定检测其凋亡情况。最后我们应用 Western blot 技术,检测 PTPN9 抑制 STAT3 通路,来调控细胞凋亡。**结果:**PTPN9 的表达在结直肠癌组织中下调。PTPN9 的高表达减慢细胞生长和集落的形成,从而诱导结直肠癌细胞凋亡。相反,PTPN9 低表达促进细胞生长和存活。此外,PTPN9 负责调控 STAT3 的活化,并在结直肠癌中抑制核易位,并且通过抑制 STAT3 通路,来抑制 PTPN9 低表达对细胞凋亡的影响。**结论:**PTPN9 在结直肠癌组织中通过抑制 STAT3 的活化而抑制细胞生长和存活。

关键词:蛋白酪氨酸磷酸酶;细胞凋亡;结肠直肠癌;STAT3;细胞生长

中图分类号:R-33;R735.3 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2019)02-231-05

PTPN9 induces Apoptosis of Colorectal cancer Cell via Mitigating the Activation of STAT3*

ZHU Xing-ye, ZHAO Ming[△], WANG Da-wei, QU Chun-lei, WANG wei

(Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of Protein tyrosine phosphatase non-receptor type 9 (PTPN9) on the growth and survival of colorectal cancer cells and its mechanism. **Methods:** A stable cell line with high expression of PTPN9 was established, the endogenous expression of PTPN9 was detected by Real-time PCR. Cell colony assay, Caspase-3 and Caspase-9 activity were used to detect cell viability and apoptosis. At the same time, we inhibited the expression of PTPN9 in the cells. Real-time PCR was used to verify knockdown efficiency. 100 μM H_2O_2 -induced apoptosis model, CCK-8 assay was used to determine cell viability, Caspase-9 and Caspase-3 assay to detect the apoptosis. Finally, we applied Western blot technology to detect PTPN9 inhibition of STAT3 pathway to regulate apoptosis. **Results:** The expression of PTPN9 was frequently down-regulated in the tissues of colorectal cancer as compared with their adjacent normal tissues. Overexpression of PTPN9 mitigated cell growth and colony formation and induced cell apoptosis in colorectal cancer. Conversely, PTPN9 knockdown promoted cell growth and survival. Moreover, PTPN9 negatively regulated the activation of STAT3 and depressed its nuclear translocation in colorectal cancer. And the effects of PTPN9 knockdown on cell apoptosis were attenuated by inhibition of the STAT3 pathway. **Conclusions:** PTPN9 inhibited the growth and survival of colorectal cancer cells via repressing the activation of STAT3.

Key words: Protein tyrosine phosphatases; Apoptosis; Colorectal cancer; STAT3; Cell survival

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)02-231-05

前言

结肠直肠癌的发病率随着年龄的增长而增加,是消化系统最常见的恶性肿瘤之一^[1]。手术切除联合化疗为主的综合治疗是结直肠癌的主要和标准疗法。然而,结直肠癌患者的 5 年生存率仍然很低,不到 30%^[2]。迄今为止,结直肠癌的发病机制并未完全明确,目前还没有有效的治疗靶点。癌症的发展很大程度上取决于癌细胞的生长,凋亡是细胞生长的负调节因子。据

报道,癌症组织中细胞凋亡被抑制,导致癌细胞过度生长^[3]。诱导癌细胞凋亡被认为是缓解癌症进展的重要策略。

蛋白酪氨酸磷酸酶(PTPs)是一类通过磷酸化酪氨酸残基催化蛋白去磷酸化的酶类^[4]。以前的研究表明 PTPs 参与调节信号通路的转导,介导一些细胞过程(包括细胞凋亡和增殖),在癌症进展中的作用已被广泛研究^[5,6]。如 PTPN1B 的抑制阻止 ErbB2 诱导的乳腺肿瘤发生和肺转移,并且 PTPN12 在三重阴性乳腺癌中阻止细胞生长和转化^[7,8]。PTPN11 的高表达促进了肝细胞

* 基金项目:中国国家博士后科学基金项目(2012M520769);国家自然科学基金青年基金项目(81600492)

作者简介:朱兴业(1991-),硕士研究生,电话:8846753808, E-mail: 656940758@qq.com

[△] 通讯作者:赵明,电话:15503274678, E-mail: 656940758@qq.com

(收稿日期:2018-03-27 接受日期:2018-04-23)

癌的生长和转移^[9]。蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 9 型(PTPN9)是细胞质蛋白酪氨酸磷酸酶,据报道在某些类型的人类癌症如乳腺癌和肝细胞癌中失调^[10,11]。然而,PTPN9 在结直肠癌中的作用和相应的分子机制尚不清楚,需要进一步阐明。为了探讨 PTPN9 对结直肠癌细胞生长和存活的影响,我们进行了这项研究,结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

所有细胞系均购自美国典型培养物保藏中心(美国型培养菌种集,罗克维尔市,马里兰,美国)。细胞在 37℃ 下,在含有 95% 空气和 5% CO₂ 的培养箱中,在补充有 10% 胎牛血清,青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 μg/mL)的细胞培养基中常规培养。研究中使用的肿瘤标本是从哈尔滨医科大学第一附属医院接受治愈性切除的患者获得的。哈尔滨医科大学道德委员会获得并批准了道德批准,并从每名患者获得了书面知情同意书。

1.2 检测细胞活力

利用 CCK-8 测定来确定细胞活力。将细胞分成 96 孔板(每孔约 8×10^3 个细胞)持续 24-72 小时。然后,在每个孔中加入 10 μL CCK-8 试剂(CCK-8, Dojindo, Japan),然后将细胞在 37℃ 培养 2 小时。最后,根据制造商的说明使用酶标仪(BIO-TEK, USA)在 450 nm 处读取吸光度。

1.3 细胞集落形成测定

使用平板集落形成实验来检测细胞生长。将细胞以 1×10^3 个细胞/孔接种在 6 孔板中。约 15 天后,用 PBS 洗涤细胞两次,然后用结晶紫溶液(0.5% 结晶紫,20% 甲醇)染色 10 分钟。除去结晶紫溶液后,将板用 PBS 洗涤三次。然后直接观察菌落,并用相机拍照。

1.4 Real-time PCR

使用 TRIzol 试剂(Invitrogen, CA)分离总 RNA,并根据制造商的方案悬浮于 20 μL 不含 RNase 的水中。随后我们通过分光光度计 NanoDrop1000(Thermo, Wilmington, DE)测定 RNA 浓度。使用 SYBR Premix Ex Taq 试剂盒(TaKaRa, Dalian, China)通过 Real-time PCR 系统(7900 HT, ABI, Foster, CA)进行扩增。通用的 2 步 RT-PCR 循环条件:95℃ 30 秒,接着 95℃ 5 秒 40 个循环和 60℃ 30 秒。将 mRNAs 一式三份归一化至内源对照 β-肌动蛋白表达,并通过 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算。

1.5 Western blot

将含有蛋白质(40 μg)的 RIPA 缓冲液中的细胞溶解物加载到 12% 或 15% 的凝胶上进行电泳。将蛋白质转印到硝酸纤维素膜(Whatman Inc., Florham Park, NJ)上,然后将膜与一抗(STAT3, Cell Signaling Technology, 目录号 9139, 1:500; Phospho-STAT3 (Tyr705), Cell Signaling Technology, 目录号 9145, 1:500; Bcl-xL, Cell Signaling Technology, 目录号 2764, 1:500; 细胞色素 C, Cell Signaling Technology, 目录号 4280, 1:200)存放一晚。随后,将印迹与 HRP 二抗(Santa Cruz Biotechnology Inc., CA, USA)培养,然后与增强的化学发光底物(Pierce, Rockford, IL)反应。用成像系统(Bio-Rad, Hercules, CA)记录化学发光的结果。

1.6 Caspase-3 活性测定

使用发光底物 Z-DEVD-氨基荧光素 (Caspase-Glo 3/7 测定; Promega) 测量 Caspase-3 活性。将细胞在试剂盒中提供的 Caspase-glo 试剂中裂解,使用 Victor2 光度计(PerkinElmer)在 0 和 1 小时分别测定三份样品的发光度(PerkinElmer)。蛋白定量使用 Bradford 的方法测定。以每 μg 蛋白质的 Δ 发光单位计算 Caspase 活性。

1.7 Caspase-9 活性测定

使用发光底物 Z-LEHD-氨基荧光素 (Caspase-Glo 9 测定; Promega)测量 Caspase-9 活性。然后,根据制造商的说明进行实验。蛋白定量也由 Bradford 的方法确定。以每 μg 蛋白质的 Δ 发光单位计算 Caspase 活性。

1.8 统计学分析

数据用平均值 ± SEM 表示。对 Windows 的 GraphPad Prism 版本 5.0(GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA)进行统计分析。使用单因素方差分析(ANOVA),然后使用 Tukey 多重比较检验或不对的 Student t 检验来评估统计学显著性。以 P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

为了确定 PTPN9 是否参与调节结直肠癌的进展,使用公共数据集(GSE44861)来验证结直肠癌中的 PTPN9 表达。如图 1A 和 1B 所示,PTPN9 在癌组织中的表达显著下调(n=47)。此外,我们还检测了 33 例大肠癌组织及其配对的相邻正常组织中 PTPN9 的表达。获得了类似的结果,结直肠癌组织 PTPN9 表达比其相邻的正常组织明显降低(见图 1C 和 1D)。此外,我们还检测了 77 例结直肠癌组织中 PTPN9 的临床意义。如图 1E 所示,PTPN9 低表达患者的总生存率明显低于 PTPN9 高表达患者。这些结果提示 PTPN9 可能作为肿瘤抑制因子参与调控结直肠癌的发展。

2.2 PTPN9 高表达可抑制结肠直肠癌细胞的生长并促进其凋亡

为了验证 PTPN9 在结直肠癌细胞存活的确切作用,我们建立了 PTPN9 稳定高表达的细胞。通过实时 PCR 检测 5 种结肠直肠癌细胞系 PTPN9 的内源性表达(图 2A)。结果显示 HCT116 细胞中 PTPN9 的表达量相对较低,SW480 细胞内源性表达量较高。通过实时 PCR 检测 HCT-116 细胞中高表达效率(图 2B)。如图 2C 所示,细胞生长被 PTPN9 高表达显著降低,且 PTPN9 的高表达减轻了癌细胞的集落形成(图 2D),导致 Caspase-9 的活性增加,并促进 Caspase-3 的活化,加速细胞色素 c 释放到细胞质中(图 2E-2G)。这些结果提示 PTPN9 的高表达可以减慢大肠癌细胞的生长,并诱导细胞凋亡。

2.3 PTPN9 低表达抑制结肠直肠癌细胞凋亡并促进结肠直肠癌细胞存活

我们也抑制了 SW480 细胞中 PTPN9 的表达,使用实时 PCR 来验证敲低效率(图 3A)。应用 100 μM H₂O₂ 诱导凋亡模型^[12],CCK-8 的结果显示 H₂O₂ 引起的细胞凋亡和抑制集落形成被 PTPN9 低表达所抑制(图 3B 和 3C)。此外,由过氧化氢引起的 Caspase-9 和 Caspase-3 的活性增加被 PTPN9 的敲低所逆转(图 3D 和 3E)。并且在过氧化氢处理的条件下,PTPN9 的低表达减慢细胞色素 C 释放到细胞质中(图 3F)。这些结果提示 PTPN9 的低表达在结肠直肠癌中有助于 SW480 细胞生长并抑制其凋亡。

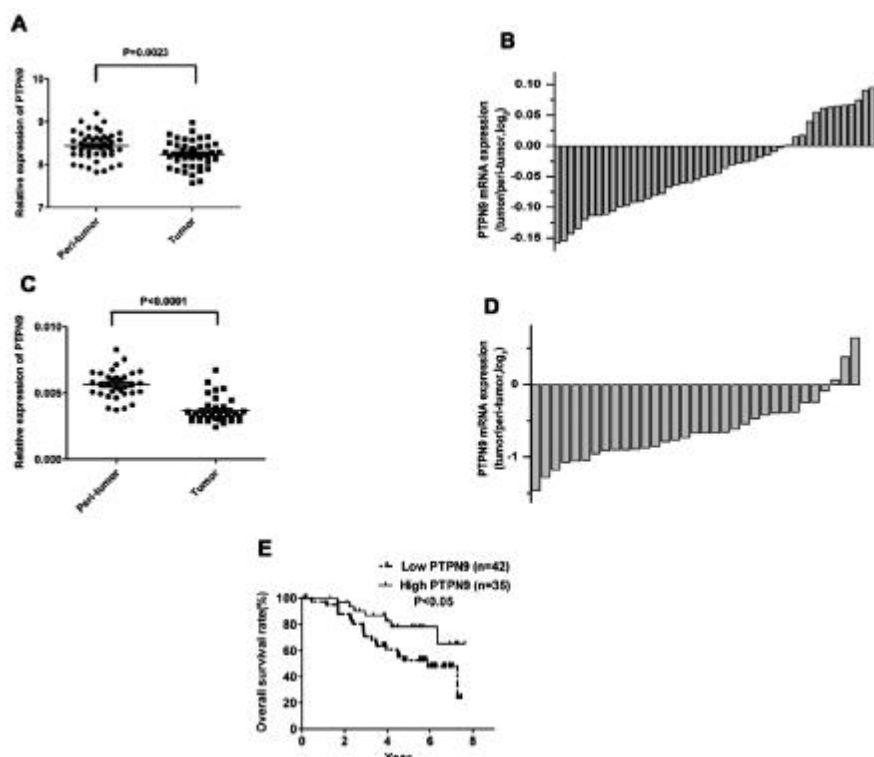


图1 PTPN9 的表达在结直肠癌组织中下调

Fig.1 Expression of PTPN9 is down-regulated in the tissues of colorectal cancer.

Note: A and B: Expression of PTPN9 was down-regulated in 47 cases of colorectal cancer tissues compared to their paired adjacent normal tissues. C and D: Expression of PTPN9 in the tissues of colorectal cancer was significantly down-regulated as compared with their paired adjacent normal tissues (n=33). E: The overall survival rate of patients with low expression of PTPN9 was significantly lower than that of patients with high expression of PTPN9 in 77 cases of colorectal cancer tissues.

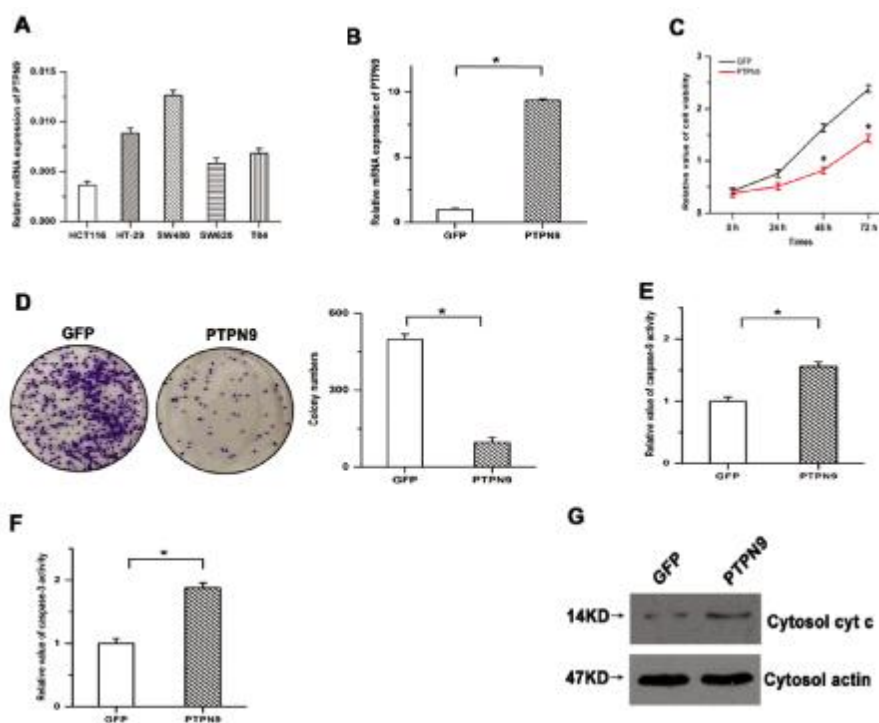


图2 PTPN9 的过表达抑制结肠直肠癌细胞的细胞生长并诱导细胞凋亡

Fig.2 Overexpression of PTPN9 inhibited cell growth and induced cell apoptosis of colorectal cancer cells

Note: A: Endogenous expression of PTPN9 was examined in five colorectal cancer cell lines. B: Real-time PCR was utilized to validate the overexpression efficiency in HCT116. C: Cell viability was repressed by overexpression of PTPN9. D: Overexpression of PTPN9 mitigated the colony formation of colorectal cancer cells. E and F: Activities of caspase-9 and caspase-3 were increased by PTPN9 overexpression. G: Release of cytochrome C into cytoplasm was enhanced by PTPN9 overexpression.

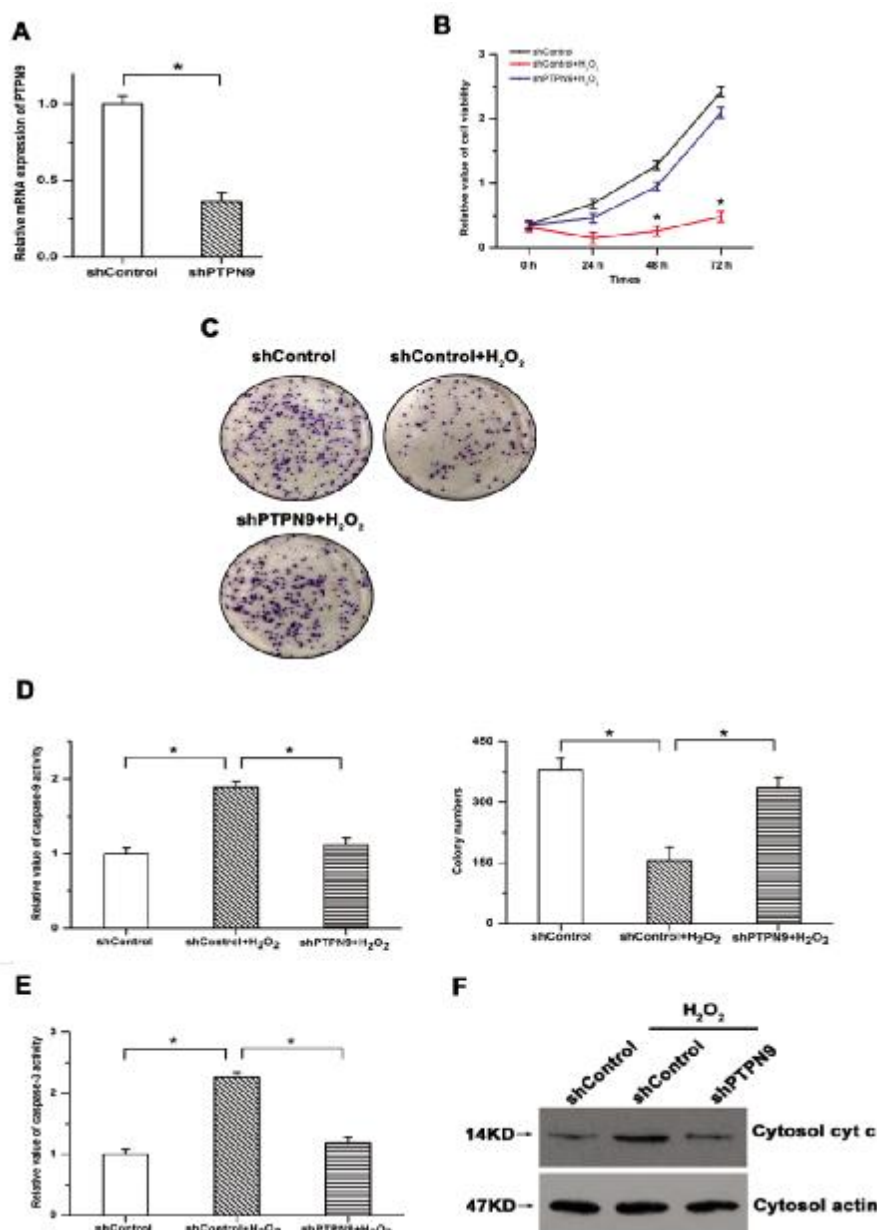


图 3 PTPN9 敲低抑制 SW480 细胞凋亡并促进其存活

Fig.3 PTPN9 knockdown represses SW480 cell apoptosis and promotes the cell survival

Note: A: Expression of PTPN9 was significantly depressed by PTPN9 shRNA in SW480 cells. B: The decreased cell viability induced by H_2O_2 treatment was reversed by PTPN9 shRNA. C: H_2O_2 -caused inhibition of colony formation was attenuated by PTPN9 knockdown. D and E: Treatment with H_2O_2 led to the activation of caspase-9 and caspase-3, which was repressed by knockdown of PTPN9. F: PTPN9 knockdown protected against the release of cytochrome C into the cytoplasm.

2.4 由 PTPN9 负调节结直肠癌细胞中 STAT3 的激活

前期研究表明 STAT3 在调节细胞存活和参与介导结直肠癌发展中起重要作用^[13]。PTPN9 通过靶向 STAT3 调控斑马鱼的红细胞发育^[14]。因此,我们测定 PTPN9 在结直肠癌细胞凋亡中的调控作用是否由 STAT3 介导。我们的结果显示 PTPN9 高表达抑制 STAT3 的磷酸化,但对总 STAT3 的表达没有明显影响(图 4A)。相反,抑制 PTPN9 表达反而增加 STAT3 的磷酸化通(图 4B)。此外,PTPN9 高表达抑制 STAT3 易位到细胞核,而 PTPN9 低表达却有相反的作用(图 4C 和 4D)。

另外,STAT3 的一个熟悉的转录靶点 Bcl-xL 在调节线粒体外膜通道开放和细胞凋亡中起着重要的作用。为了证明 PTPN9 通过影响 STAT3 的转录激活促进细胞凋亡,我们随后

检测了 Bcl-xL 的表达。我们的结果显示 PTPN9 减轻了 Bcl-xL 的蛋白质水平,并且 PTPN9 低表达增强了 Bcl-xL 的表达(图 4E 和 4F)。结果提示 PTPN9 负向调控结直肠癌 STAT3 的核易位和活化。

3 讨论

尽管目前手术和内科治疗已经有了很大的改善,但结直肠癌患者的 5 年生存率仍然较差^[12]。总体死亡率基本保持不变的一个重要原因是大肠癌缺乏有效的治疗靶点。因此,探索调控结直肠癌进展的关键因素,阐明其调控机制,对缓解本病的发展,提高成活率具有重要意义。

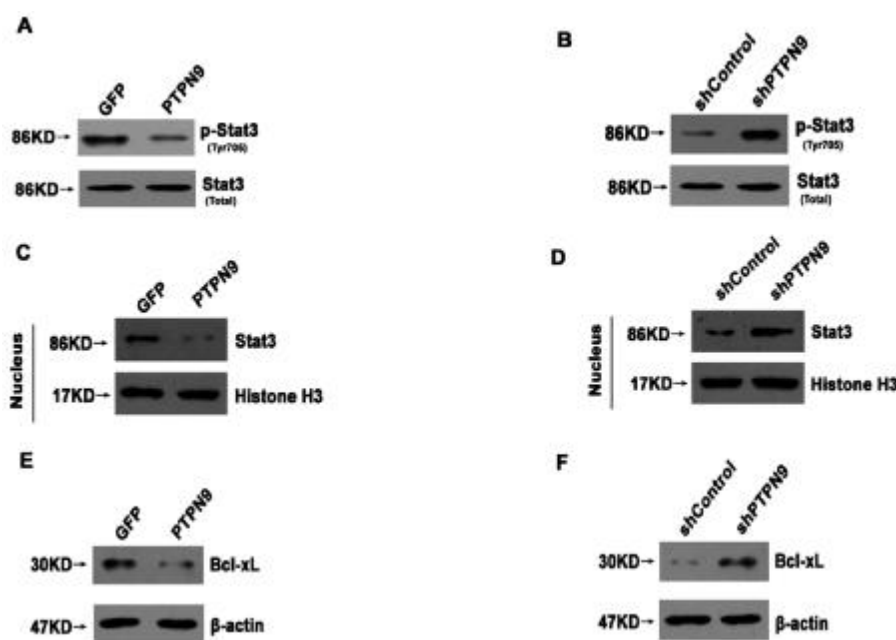


图4 STAT3在结直肠癌中的激活被 PTPN9 负调控

Fig.4 PTPN9 negatively regulated the activation of STAT3 in colorectal cancer

Note: A and B: Overexpression of PTPN9 significantly inhibited the phosphorylation of STAT3 (A), while the phosphorylation of STAT3 was increased by knockdown of PTPN9 (B). C: PTPN9 overexpression depressed nuclear translocation of STAT3. D: Expression of STAT3 in cellular nucleus was significantly enhanced by knockdown of PTPN9. E: PTPN9 mitigated the protein level of Bcl-xL. F: Knockdown of PTPN9 facilitated Bcl-xL expression.

越来越多的证据表明蛋白质酪氨酸磷酸酶以催化磷酸酪氨酸残基上蛋白质的去磷酸化为特征,直接影响信号转导通路的调控,并在调节某些癌症发展中发挥重要作用^[15,16]。以前的研究表明 ErbB2 诱导的乳腺肿瘤发生和肺转移是通过抑制 PTPN1B 来预防的,PTPN12 通过与三重阴性乳腺癌中的多种致癌酪氨酸激酶相互作用来防止细胞生长和转化^[7,8]。肝细胞癌中 PTPN11 表达上调,其高表达可预测肝细胞癌患者预后不良,PTPN11 高表达可促进肝癌细胞的生长和转移^[9]。此外,据报道,在人类某些癌症细胞的细胞质中 PTPN9 在某些中失调,PTPN9 通过抑制 ErbB2 和 EGFR 的磷酸化抑制乳腺癌的发展,并且乳腺癌患者中 PTPN9 的低表达与癌细胞的转移增加有关^[10,11]。在肝细胞癌中,PTPN9 的下调促进细胞生长和肿瘤发展^[17]。然而,PTPN9 在结直肠癌中的作用仍然不确定。在我们的研究中,我们发现 PTPN9 在结直肠癌患者中的表达下调,PTPN9 的高表达导致结直肠癌生长抑制,细胞色素 C 向细胞质的释放增加和 caspase-cascade 激活,而 PTPN9 低表达则具有相反的作用。这些结果表明 PTPN9 抑制结直肠癌中的细胞存活和肿瘤进展。

细胞凋亡是细胞生长的重要负调节因子。STAT3 作为一种重要且众所周知的转录因子调节细胞的各种生理过程,如细胞增殖、凋亡和分化^[18,19]。STAT3 的致癌作用已经在包括结直肠癌在内的各种癌症中得到证实。细胞质中的 STAT3 被磷酸化,然后转位进入细胞核以激活包括 Bcl-xL, cyclin D1 和 c-Myc 在内的一些基因的转录^[20]。在这项研究中,我们发现 PTPN9 的高表达抑制了 STAT3 的磷酸化,并抑制了它的核易位。相反,STAT3 的磷酸化通过抑制 PTPN9 而显著增强,这伴随着细胞核中 STAT3 的积累增加。此外,STAT3 的转录靶点 Bcl-xL 在调控线粒体功能和凋亡中发挥重要作用。抑制 Bcl-xL 的表达

可导致线粒体膜电位降低,线粒体外膜通道开放。然后细胞色素 C 被释放到细胞质中并导致 caspase-9 和 caspase-3 的激活。我们的研究结果显示 PTPN9 高表达抑制 Bcl-xL 的表达,并且 PTPN9 的低表达促进了 Bcl-xL 的表达,表明 PTPN9 诱导细胞凋亡并抑制细胞存活通过调节 STAT3 的激活。

总之,我们的研究结果表明,PTPN9 在结肠直肠癌组织中的表达下调,可抑制结肠直肠癌细胞的生长并诱导细胞凋亡,这可能与抑制 STAT3 的活化有关。这一结果为抑制结肠直肠癌提供了新的潜在治疗靶点。

参考文献(References)

- [1] Emal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. CA Cancer J Clin, 2011, 61(2): 69-90
- [2] Brenner H, Kloor M, Pox CP. Colorectal cancer[J]. Lancet, 2014, 383: 1490-1502
- [3] Ryoo HD, Bergmann A. The role of apoptosis-induced proliferation for regeneration and cancer[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2012, 4: a008797
- [4] Zhao S, Sedwick D, Wang Z. Genetic alterations of protein tyrosine phosphatases in human cancers[J]. Oncogene, 2015, 34: 3885-3894
- [5] Labbé DP, Hardy S, Tremblay ML. Protein tyrosine phosphatases in cancer: friends and foes! [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2012, 106: 253-306
- [6] Zhu Z, Liu Y, Li K, et al. Protein tyrosine phosphatase receptor U (PTPRU) is required for glioma growth and motility [J]. Carcinogenesis, 2014, 35: 1901-1910
- [7] Julien SG, Dubé N, Read M, et al. Protein tyrosine phosphatase 1B deficiency or inhibition delays ErbB2-induced mammary tumorigenesis and protects from lung metastasis[J]. Nat Genet, 2007, 39: 338-346

(下转第 206 页)

- [3] Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro SS, et al. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts [J]. Science, 1998, 282: 1145-1147
- [4] Watabe T, Miyazono K. Roles of TGF- β family signaling in stem cell renewal and differentiation[J]. Cell Research, 2009, 19: 103-115
- [5] Massagué J, and Xi Q. TGF- β Control of stem cell differentiation genes[J]. FEBS Letters, 2012, 586: 1953-1958
- [6] Ulloa L, and Tabibzadeh S. Lefty inhibits receptor-regulated Smad phosphorylation induced by the activated transforming growth factor- β receptors[J]. J Biol Chem, 2001, 276: 21397-21404
- [7] Shiratori H, Hamada H. TGF β signaling in establishing left-right asymmetry[J]. Semin Cell Dev Biol, 2016, 32: 80-84
- [8] Kim DK, Cha Y, Ahn HJ, et al. Lefty1 and lefty2 control the balance between self-renewal and pluripotent differentiation of mouse embryonic stem cells[J]. Stem Cells Dev, 2014, 23: 457-466
- [9] Tabibzadeh S, Hemmati Brivanlou. Lefty at the crossroads of "stemness" and differentiative events[J]. Stem Cells, 2006, 24: 1998-2006
- [10] Tamm C, Galit $\acute{e}$ SP, Anner $\acute{e}$ n C. A comparative study of protocols for mouse embryonic stem cell culturing[J]. PLoS ONE, 2013: 156-181
- [11] Kurosawa H. Methods for inducing embryoid body formation: in vitro differentiation system of embryonic stem cells [J]. J Biosci Bioeng, 2007, 103: 389-398
- [12] Batalov, Feinberg. Differentiation of Cardiomyocytes from Human Pluripotent Stem Cells Using Monolayer Culture [J]. Biomarker Insights, 2015, 10: 71-76
- [13] Barrangou R. Cas9 targeting and the CRISPR revolution[J]. Science, 2014, 344: 707-708
- [14] Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity[J]. Science, 2012, 337: 816-821
- [15] Haifeng Wang, Marie La Russa, Lei S Qi. CRISPR/Cas9 in Genome Editing and Beyond [J]. Annual Review of Biochemistry, 2016, 85: 227-264
- [16] Real-Time PCR Applications Guide. 2006, Bio-Rad Laboratories, Inc
- [17] Xi Q, Wang Z, Massagué J. A poised chromatin platform for TGF- β access to master regulators[J]. Cell, 2011, 147: 1511-1524
- [18] Schmierer B, Tournier AL, Bates PA, et al. Mathematical modeling identifies Smad nucleocytoplasmic shuttling as a dynamic signal-interpreting system[J]. Proc Natl Acad Sci, 2008, 105: 6608-6613
- [19] Itoh F, Tetsure W, Miyazono K. Roles of TGF- β family signals in the fate determination of pluripotent stem cells[J]. Semin Cell Dev Biol, 2014, 32: 98-106
- [20] Massagué J. TGF β signalling in context [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2012, 13: 616-630
- [21] Smith AG. Embryo-derived stem cells: of mice and men [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2001, 17: 435-462
- [22] Massague J. TGF-beta in Cancer[J]. Cell, 2008, 134(2): 215-230
- [23] Doyle JJ, Gerber EE, Dietz HC. Matrix-dependent perturbation of TGF-beta signaling and disease [J]. FEBS Lett, 2012, 586 (14): 2003-2015
- [24] Wu MY, Hill CS. Tgf-beta superfamily signaling in embryonic development and homeostasis[J]. Dev Cell, 2009, 16(3): 329-343
- [25] Kagey MH, Young RA. Mediator and cohesin connect gene expression and chromatin architecture[J]. Nature, 2010, 467: 430-435
- [26] Downen JM, Fan ZP, Young RA, et al. Control of cell identity genes occurs in insulated neighborhoods in mammalian chromosomes [J]. Cell, 2014, 159: 374-387
- [27] Yan J, Enge M, Taipale J, et al. Transcription factor binding in human cells occurs in dense clusters formed around cohesin anchor sites [J]. Cell, 2015, 154: 801-813

(上接第 235 页)

- [8] Sun T, Aceto N, Meerbrey KL, et al. Activation of multiple proto-oncogenic tyrosine kinases in breast cancer via loss of the PTPN12 phosphatase[J]. Cell, 2011, 144: 703-718
- [9] Han T, Xiang DM, Sun W, et al. PTPN11/Shp2 overexpression enhances liver cancer progression and predicts poor prognosis of patients[J]. J Hepatol, 2015, 63: 651-660
- [10] Yuan T, Wang Y, Zhao ZJ, et al. Protein-tyrosine phosphatase PTPN9 negatively regulates ErbB2 and epidermal growth factor receptor signaling in breast cancer cells [J]. J Biol Chem, 2010, 285: 14861-14870
- [11] Du WW, Fang L, Li M, et al. MicroRNA miR-24 enhances tumor invasion and metastasis by targeting PTPN9 and PTPRF to promote EGF signaling[J]. J Cell Sci, 2013, 126: 1440-1453
- [12] Ahmad KA, Iskandar KB, Hirpara JL, et al. Hydrogen peroxide-mediated cytosolic acidification is a signal for mitochondrial translocation of Bax during drug-induced apoptosis of tumor cells [J]. Cancer Res, 2004, 64: 7867-7878
- [13] Zhao LC, Li J, Liao K, et al. Evodiamine Induces Apoptosis and Inhibits Migration of HCT-116 Human Colorectal Cancer Cells[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16: 27411-27421
- [14] Bu Y, Su F, Wang X, et al. Protein tyrosine phosphatase PTPN9 regulates erythroid cell development through STAT3 dephosphorylation in zebrafish[J]. J Cell Sci, 2014, 127: 2761-2770
- [15] Tonks NK. Protein tyrosine phosphatases: from genes, to function, to disease[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7: 833-846
- [16] Den Hertog J, Ostman A, Böhmer FD. Protein tyrosine phosphatases: regulatory mechanisms[J]. FEBS J, 2008, 275: 831-847
- [17] Hu B, Yan X, Liu F, et al. Downregulated Expression of PTPN9 Contributes to Human Hepatocellular Carcinoma Growth and Progression [J]. Pathol Oncol Res, 2016, 22: 555-565
- [18] Ray S, Zhao Y, Jamaluddin M, et al. Inducible STAT3 NH2 terminal mono-ubiquitination promotes BRD4 complex formation to regulate apoptosis[J]. Cell Signal, 2014, 26: 1445-1455
- [19] Wang P, Xue Y, Han Y, et al. The STAT3-binding long noncoding RNA Inc-DC controls human dendritic cell differentiation[J]. Science, 2014, 344: 310-313
- [20] Inghirami G, Chiarle R, Simmons WJ, et al. New and old functions of STAT3: a pivotal target for individualized treatment of cancer[J]. Cell Cycle, 2005, 4: 1131-1133