

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.22.001

· 基础研究 ·

上皮性卵巢癌中 TFAP2A 对 hTERT 表达的调节及其机制研究 *

沈方倩 隋晓馨 何乐伟 曹莹 席晓薇[△]

(上海交通大学附属第一人民医院妇产科 上海 200000)

摘要 目的: 探讨在上皮性卵巢癌中 TFAP2A 对 hTERT 表达的调节和作用机制。**方法:** 采用免疫组织化学方法检测 TFAP2A 和 hTERT 蛋白在卵巢正常、交界及上皮性卵巢癌组织中的表达, 采用 Western Blot 和 qRT-PCR 技术检测 hTERT 在敲减 TFAP2A 基因的 SKOV3、CAOV3 细胞中的表达水平、检测 hTERT 在过表达 TFAP2A 基因的 HO8910 细胞中的表达水平。在干扰 TFAP2A 的 CAOV3 细胞中或过表达 TFAP2A 的 HO8910 细胞中分别加入 PI3K/AKT 信号通路激动剂 740-YP 或抑制剂 LY294002, 检测相关蛋白表达变化, 探讨 TFAP2A、hTERT 与 PI3K/AKT 信号通路的关系。**结果:** TFAP2A 在 71.88% 的上皮性卵巢癌组织中呈高表达, hTERT 在 78.12% 的上皮性卵巢癌组织中呈高表达; 将 hTERT 和 TFAP2A 的免疫组化评分行 Pearson 相关性分析, 两者间相关系数 $r=0.78, P<0.001$ 。Western Blot 和 qRT-PCR 的结果均显示, 在 SKOV3 和 CAOV3 卵巢癌细胞中, 敲减 TFAP2A 后, hTERT 的表达均明显下降, 而在 HO8910 卵巢癌细胞中, 增强 TFAP2A 基因表达后, hTERT 的表达均明显上升。在 CAOV3 和 HO8910 处理细胞中, 分别使用 PI3K/AKT 信号通路激动剂 740-YP 或阻滞剂 LY294002 处理后, Western Blot 检测 hTERT 和 PI3K/AKT 通路蛋白的表达, 发现激动剂 740-YP 或阻滞剂 LY294002 可以逆转敲减或过表达 TFAP2A 引发的 PI3K/AKT 通路蛋白表达下调或上调, 但不能逆转 hTERT 蛋白表达下调或上调。**结论:** 在卵巢肿瘤组织中, TFAP2A 和 hTERT 在上皮性卵巢癌组织中均呈高表达, 且 hTERT 的表达和 TFAP2A 成正相关, 在上皮性卵巢癌细胞中 TFAP2A 可调节 hTERT 的表达, 且 TFAP2A 对 hTERT 的表达的调节不经由 PI3K/AKT 通路。

关键词: TFAP2A; hTERT; PI3K/AKT; 上皮性卵巢癌**中图分类号:** R-33; R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2020)22-4201-06

TFAP2A Might Active hTERT in EOC Cells without through PI3K/AKT Signaling Pathway in Epithelial Ovarian Cancer*

SHEN Fang-qian, SUI Xiao-xin, HE Le-wei, CAO Ying, XI Xiao-wei[△]

(Department of Obstetrics and Gynecology, Shanghai General Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai, 200000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the regulation and mechanism of TFAP2A on hTERT expression in epithelial ovarian cancer.

Methods: We detected the expression level of TFAP2A and hTERT in normal ovarian epithelial tissues, borderline ovarian tumor tissues as well as epithelial ovarian cancer tissue by an IHC assay. The expression of TFAP2A gene in CAOV3 and SKOV3 cell lines were silenced by using small interfering RNA technique. The expression of TFAP2A in HO8910 cell line were overexpressed by overexpression plasmid. Western Blot and qRT-PCR were used to test the expression of hTERT in TFAP2A-silenced SKOV3 and CAOV3 cells or TFAP2A-overexpressed HO8910 cells. The relationship between TFAP2A, hTERT and PI3K/AKT signaling pathways was explored by using the agonist 740-YP and inhibitor LY294002 of the PI3K/AKT signalling pathway in TFAP2A-silenced CAOV3 cells or in TFAP2A-overexpressed HO8910. **Results:** By immunohistochemistry assays, we found that TFAP2A was highly expressed in 71.88% epithelial ovarian cancer tissues, as well as hTERT was highly expressed in 78.12% of epithelial ovarian cancer tissues. By Pearson correlation analysis, We also found that the expression levels of hTERT were consistent with TFAP2A in different ovarian tissues, and the correlation coefficient was 0.78. Western Blot and qRT-PCR showed that the expression levels of hTERT was significantly decreased in TFAP2A-silenced CAOV3 and SKOV3 cells, while it was increased in TFAP2A-overexpressed HO8910. Western Blot showed that the hTERT would not significantly increased or decreased as the PI3K/Akt proteins after using PI3K/Akt signaling pathway agonist 740-YP or blocker LY294002. **Conclusions:** TFAP2A up-regulates hTERT expression in epithelial ovarian cancer cells do not by way of PI3K/AKT signaling.

Key words: TFAP2A; hTERT; PI3K/AKT; Epithelial ovarian cancer**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R737.31 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2020)22-4201-06

* 基金项目: 上海市科委重点研究项目(No.2013ZYJB9201)

作者简介: 沈方倩, 硕士研究生, 电话: 15800537332, E-mail: shenfangqian@126.com

[△] 通讯作者: 席晓薇, 硕士生导师, 主任医师, 主要研究方向: 妇科肿瘤, E-mail: xixiaowei1966@126.com

(收稿日期: 2020-05-23 接受日期: 2020-06-17)

前言

转录因子增强子结合蛋白-2 α (Transcription factor activating enhancer binding protein 2 alpha, TFAP2a), 也称 AP-2a (activating enhancer binding protein 2 alpha, AP-2a), 与 AP-2b, g, δ 和 ϵ 同为 AP-2 家族的成员^[1]。AP-2 家族成员具有多种生物学功能, 参与细胞信号转导, 胚胎发育、细胞增殖以及细胞凋亡过程^[2,3]。TFAP2A 通过 COOH- 末端内的 DNA 结合域与富含 CG 的序列结合, 调控下游基因的转录^[3]。TFAP2A 主要参与胚胎发育和某些特定组织中细胞增殖以及细胞凋亡和干细胞分化的调节^[4-6], TFAP2A 还与多种肿瘤相关, 在脑胶质瘤、胃癌、胆管癌、乳腺癌、结直肠癌等多种肿瘤细胞中高表达, 调控肿瘤的增殖与凋亡^[7-10]。

端粒是线性染色体上的特殊末端结构, 由美国遗传学家 Hermann J. Muller 于 1938 年首次从果蝇细胞中发现^[11,12]; 端粒由重复性的 DNA 序列和特殊的端粒结合蛋白所组成, 是存在于线性染色体末端的保护性“帽子”, 能够加强染色体的稳定性^[13]。端粒的长度随细胞的多次分裂而逐渐缩短, 与细胞的增殖衰老息息相关。端粒的长短受到端粒酶逆转录酶的调节。端粒酶逆转录酶 (Telomerase reverse transcriptase, hTERT) 是一种核糖核蛋白聚合酶, 通过添加端粒重复 TTAGGG 来维持端粒末端的长度^[14]。端粒酶逆转录酶由具有逆转录酶活性的该基因编码的蛋白质组分和作为端粒重复模板的 RNA 组分组成。端粒酶的表达在细胞增殖衰老的调控中起关键作用。hTERT 在正常成体细胞中表达受到抑制, 而在多种肿瘤组织及细胞中高表达^[13-15]。在体细胞中 hTERT 表达的失调很可能参与了肿瘤发生和发展。

既往研究表明在多种肿瘤细胞中, hTERT 的转录受到 TFAP2A 及其同家族蛋白 TFAP2B 的调节^[16]。因此我们推测, 在上皮性卵巢癌中, TFAP2A 能够调节 hTERT, 进而影响端粒酶逆转录酶的功能。本次实验中, 我们使用免疫组化技术检验 TFAP2A 和 hTERT 在卵巢癌组织中的表达情况, 使用 Western Blot 和 qRT-PCR 检验 hTERT 在敲减或过表达 TFAP2A 的上皮性卵巢癌细胞中的表达水平, 由此进一步探究 TFAP2A 与 hTERT 的关系。在干扰 TFAP2A 的 CAOV3 细胞中或过表达 TFAP2A 的 HO8910 细胞中分别加入 PI3K/AKT 信号通路激动剂 740-YP 或抑制剂 LY294002, 在培养 24h 后提取蛋白, 检测 TFAP2A、PI3K/AKT 信号通路相关蛋白 (PI3K、P-PI3K 和 AKT) 与 hTERT 蛋白的表达水平, 由此进一步探究 TFAP2A、hTERT 与 PI3K/AKT 信号通路的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

卵巢癌细胞株 SKOV3、CAOV3 和 HO8910 为上海市第一人民医院妇产科实验室保存, 引进于 ATCC 细胞库。胎牛血清 (GIBCO 公司)、DMEM/F12 培养基 (GIBCO 公司)、青霉素链霉素溶液 (100 $\times$, GIBCO 公司); 0.25% 胰蛋白酶 + 0.02% 乙二胺四乙酸 (EDTA) (GIBCO 公司); SDS-PAGE 凝胶配制试剂

盒 (上海碧云天生物有限公司); anti-TFAP2A、anti-hTERT (美国 ABCAM 公司), anti-P-PI3K、anti-AKT (美国 Proteintech 公司), anti-GAPDH (Proteintech 公司)、二抗 (上海碧云天生物有限公司); RT-PCR 试剂盒 (日本 TaKaRa 公司)。鼠 / 兔通用型免疫组化试剂盒 (基因科技 (上海) 有限公司), TFAP2A、hTERT、GAPDH 引物 (上海 BioTNT 公司)。

临床组织标本来源于我院妇产科, 2014 年 1 月至 2017 年 12 月因卵巢肿瘤手术切除的标本。本次研究共收集了 41 例标本, 其中 6 例良性卵巢肿瘤组织标本, 3 例交界性卵巢肿瘤组织标本, 和 32 例上皮性卵巢恶性肿瘤组织标本。所有卵巢组织取材后脱水、以石蜡包埋保存。上海交通大学附属第一人民医院医学伦理学委员会批准了本实验的进行。所有患者均同意术中取材并签署了知情同意书。

1.2 仪器

石蜡切片机 (FINESSE 325, Thermo Fisher Scientific 公司)、摊片烤片机 (常州雅博电子设备有限公司)、通风橱 (Texlab, 上海天立来实验设备有限公司)、双目倒置显微镜 (Olympus 公司); 细胞二氧化碳细胞培养箱 (MCO-17A1C, 日本 Nikon 公司); 超净工作台 (上海净化设备厂); Western blot 电泳槽、转膜槽 (Tanon 公司); Tanon 5200 化学发光成像系统 (Tanon 公司); Real-time PCR 仪器 (美国 Allied Biosystems 公司)。

1.3 方法

1.3.1 卵巢癌细胞传代培养 卵巢癌细胞 SKOV3、CAOV3 和 HE8910 使用加入 1% 双抗 (100 U/mL 青霉素 / 链霉素) 和 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 完全培养基在 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 恒温培养箱中培养, 肿瘤细胞生长培养皿面积的 75%-85% 时, 以 0.25% 的胰酶 (含有 0.02% EDTA) 消化, 并传代培养。

1.3.2 免疫组化检测检测 TFAP2A 和 hTERT 表达水平 采用免疫组化 SP 法检测 TFAP2A 和 hTERT 蛋白在卵巢正常组织、交界肿瘤和上皮性卵巢癌组织中的表达, 步骤: 将包埋好的组织切片、干燥, 置于 60 $^{\circ}$ C 烘箱 6 h, 于通风橱中将切片依次浸泡于二甲苯脱去蜡质。按顺序放于无水乙醇 10 min, 无水乙醇 10 min, 95% 乙醇 5 min, 80% 乙醇 5 min, 和 70% 乙醇 5 min。自 70% 酒精拿出后 PBS 溶液浸洗 5 min $\times$ 3 次; 切片柠檬酸盐缓冲液于高压锅中加热至沸腾 8 min, 自然冷却至室温修复抗原, 3% 甲醇 -H₂O₂ 溶液清除内生性过氧化物酶, 0.3% Triton 溶液提高细胞核膜通透性, 10% 山羊血清封闭, PBS 溶液 1:40 比例稀释一抗滴加于切片上, 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, 第二天滴加 HRP 标记聚合物 (抗鼠 / 兔), 室温孵育 30 min, DAB 显色, 蒸馏水终止显色反应; 苏木素中复染 4 min, 蒸馏水终止染色; 1% 盐酸酒精分化 2 s, 流水返蓝 15 min; 脱水, 中性树脂封片, 显微镜下观察, 拍照, 统计。

1.3.3 TFAP2A 在 SKOV3、CAOV3 细胞中的敲减, 在 HO8910 中过表达 小干扰 RNA (siRNA) 由广州拓然生物科技有限公司合成, 以 LIPO3000 转染剂进行转染, 在高表达 TFAP2A 的 SKOV3 细胞系和 CAOV3 细胞系中沉默敲减 TFAP2A 的表达。TFAP2A 的过表达重组质粒由上海市吉凯基因有限公司设

计构建,同样以 LIPO3000 转染剂进行转染,在低表达 TFAP2A 的 HO8910 细胞系中过表达 TFAP2A。通过 Western blot 和 RT-PCR 技术分别检测转染后的卵巢癌细胞中的 TFAP2A 和 hTERT 蛋白表达和 mRNA 表达水平。

1.3.4 PI3K/AKT 信号通路激动剂 740-YP 和抑制剂 LY294002 处理细胞 CAOV3 或 HO8910 细胞分别均匀接种于六孔板,分为对照组、干扰组及过表达组和药物处理组,对照组不处理,在干扰组和药物处理组的 CAOV3 用小干扰 RNA 沉默敲减 TFAP2A 的表达,在 HO8910 细胞系中用 TFAP2A 的过表达重组质粒过表达 TFAP2A。转染 24 h 后,处理组 CAOV3 中加入 740-YP,处理组 HO8910 中加入 LY294002,未加入 740-YP 或 LY294002 的对照组、干扰组,分别加入同等剂量的 DMSO 或消毒去离子水,培养 24 h。

1.3.5 RT-PCR 检测卵巢癌细胞中 hTERT 表达水平 将处理后的 SKOV3、CAOV3 和 HO8910 细胞用 1 mL Trizol 冰上溶解。在冰上依次用氯仿、异丙醇、无水乙醇进行处理提取细胞 RNA,溶解所得的 RNA,分光光度计测定浓度,使用逆转录试剂盒将所得 mRNA 反转录为 cDNA。本实验中用到的引物由上海 BioTNT 公司合成。以所得 cDNA 为模板,检测 TFAP2A 和 hTERT 的 mRNA 水平表达。

1.3.6 Western-blot 检测 待检测的蛋白上样后,经 10%

PAGE 胶电泳,再膜转 1.5 h,以 10%脱脂奶粉封闭抗原 45 min,分别滴加兔源性 TFP2A、hTERT、anti-P-PI3K、anti-AKT、鼠源性 GAPDH 于 4℃摇床孵育过夜,次日 PBS 清洗后与兔或鼠二抗在室温下孵育 1 h,PBS 清洗后显影拍照。

1.4 统计方法

应用 SPSS20.0 对数据进行统计分析,两组间采用 t 检验, $P<0.05$ 时有统计学意义。

2 结果

2.1 hTERT 与 TFAP2A 在上皮性卵巢癌组织中的表达

在正常卵巢组织,卵巢交界性肿瘤及上皮性卵巢癌标本中,使用免疫组化技术检测同标本同区域的 TFA2A 和 hTERT 的蛋白表达情况(表 1,图 1A)。在 6 例卵巢正常组织标本中,TFAP2A 和 hTERT 均为低表达。在 3 例卵巢交界性肿瘤组织标本中,有 1 例 TFAP2A 和 hTERT 均为高表达;在 32 例上皮性卵巢癌组织标本中,TFAP2A 高表达在其中 23 例中高表达,hTERT 在其中 25 例中高表达;TFA2A 和 hTERT 在上皮性卵巢癌中均呈高表达趋势(图 1, $P<0.05$)。以各标本的 hTERT 和 TFAP2A 的免疫组化分值分别为 x,y 值建立散点图并进行 Pearson 相关性分析,hTERT 与 TFAP2A 在卵巢组织中的表达呈正相关($R=0.780,P<0.001$,图 1B)。

表 1 TFAP2A 和 hTERT 在不同卵巢组织中高表达情况
Table 1 TFAP2A and hTERT expression in different ovarian tissues

Tissue Type	Total	TFP2A high level (%)	hTERT high level (%)	P value
Normal6	0		0	
Borderline tumor	3	2(66.67)	2(66.67)	<0.05
Epithelial cancer	32	23 (71.88%)	25 (78.12%)	<0.05

Note: an SI ≥ 8 ware defined as high expression ,and those with an SI < 8 ware define as low expression.

2.2 hTERT 与 TFAP2A 在上皮性卵巢癌细胞中的表达呈正相关

用 Western Blot 和 qRT-PCR 实验检测不同处理组中 TFAP2A 和 hTERT 的表达水平。Western Blot 实验结果显示在 SKOV3 细胞系和 CAOV3 细胞系中应用小干扰 RNA 敲减沉默 TFAP2A 后,与对照组相比 hTERT 的蛋白表达减低;在 HO8910 细胞中过表达 TFAP2A 后,与对照组相比 hTERT 蛋白表达增高(图 2A 所示 GAPDH 为内参)。qRT-PCR 实验结果显示在 SKOV3 细胞系和 CAOV3 细胞系中应用小干扰 RNA 敲减沉默 TFAP2A 后,hTERT 的 mRNA 表达水平分别降低 19.2%和 17.4%(图 2B 所示)。而在 HO8910 细胞中过表达 TFAP2A 后,hTERT 的 mRNA 表达水平随之升高 26.0%(图 2C 所示)。结果表明在上皮性卵巢癌中 TFAP2A 可以调控 hTERT 的表达水平。

2.3 TFAP2A 对 hTERT 蛋白表达量的调节不經由 PI3K/AKT 通路

在敲减干扰 TFAP2A 的 CAOV3 细胞中和过表达 TFAP2A 的 HO8910 细胞中分别加入 PI3K/AKT 信号通路激

动剂 740-YP 和抑制剂 LY294002,培养 24 h 后,应用 Western Blot 实验检测不同处理组中 TFAP2A 和 hTERT 的表达水平,结果显示:在沉默敲减 TFAP2A 的 CAOV3 细胞中,740-YP 可以逆转下调 TFAP2A 引发的 PI3K/AKT 通路蛋白表达下调,但不能逆转 hTERT 蛋白表达下调;而在过表达 TFAP2A 的 HO8910 细胞中,LY294002 可以抑制过表达 TFAP2A 引起的 PI3K/AKT 通路的下游 p-PI3K 和 AKT 蛋白表达上调,不能抑制 hTERT 蛋白表达上调。(如图 2 D 和 E 所示)结果表明 TFAP2A 可以激活 PI3K/AKT 通路,但 TFAP2A 对 hTERT 的调节不經由 PI3K、AKT 信号通路。

3 讨论

TFAP2A 是属于 AP-2 家族的一种转录因子,通过结合并增强其下游基因的转录,调控下游基因的转录^[9]。文献报道 TFAP2A 不仅参了胚胎发育^[2]和某些特定组织中细胞增殖,细胞凋亡和干细胞分化的调节^[4,5]。还与多种癌症的发生相关^[17-19],并在鼻咽癌、肺癌和乳腺癌等肿瘤中^[9,20,21]中能够抑制细胞的凋亡。在卵巢癌关于 TFAP2A 的研究尚较为缺少。端粒酶逆转录

酶 hTERT 能够调控细胞染色质末端端粒的长度, 进而影响细胞增殖、凋亡和老化过程, 既往研究指出 hTERT 在多种肿瘤中高表达^[13], 且 hTERT 的激活与活跃和肿瘤细胞的增殖以及抵抗凋亡密切相关^[14,15,22]。

PI3K/AKT 信号通路是胰岛素信号传递的重要信号通路, 也是非常经典的信号通路。PI3K 和 AKT 基因是这条通路的核

心, PI3K 接受来自上游信号通路的刺激激活, 过表达及发生磷酸化激活为磷酸化 PI3K (Phospho-PI3 Kinase, P-PI3k, p85), 而上调 AKT 的表达或活化其为磷酸化 AKT (Phospho-Akt, P-AKT) 参与下游基因的调控, 它与肿瘤细胞的增殖及凋亡抵抗过程有着紧密的联系^[23]。

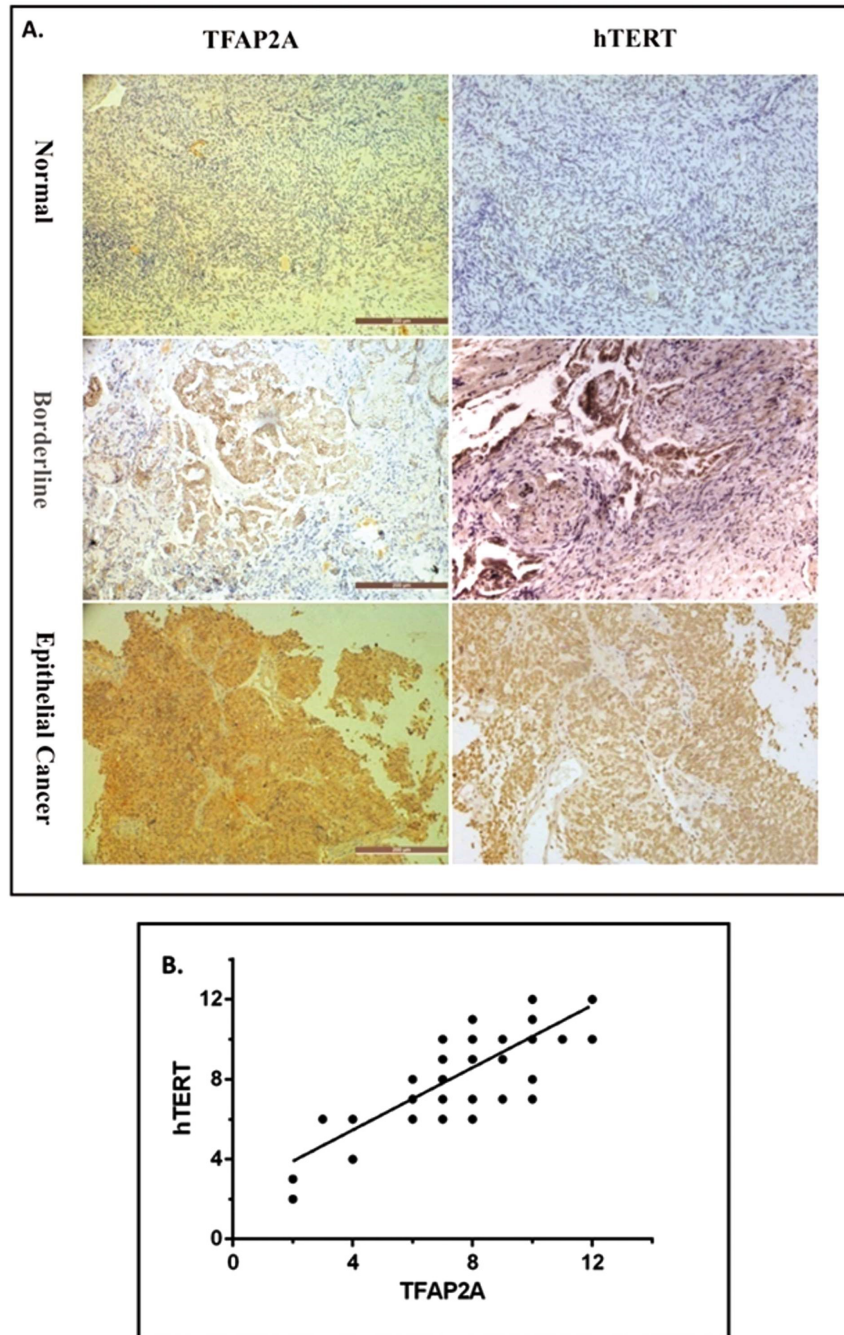


图 1 hTERT 与 TFAP2A 在上皮性卵巢癌组织中的表达

注: (A) 在卵巢良性肿瘤, 卵巢交界性肿瘤, 上皮性卵巢癌临床标本中, 检测同一标本相同区域 TFAP2A 和 hTERT 的表达。hTERT 与 TFAP2A 表达情况大致相同, 比例尺: 200 μ M。放大倍数 200 $\times$ 。(B) 相关分析结果显示卵巢组织中 hTERT 和 TFAP2A 的表达呈正相关 (图 B $r = 0.780$, $P < 0.001$)。

Fig.1 hTERT and TFAP2A were highly expressed in epithelial ovarian cancer, and their expressions were positively correlated. (Fig. A) the expression of TFAP2A and hTERT in the same region of the same specimen was detected in normal ovarian tissue, ovarian borderline tumor and epithelial ovarian cancer. The expressions of hTERT and TFAP2A were similar. The scale: 200 μ M, 200 $\times$. Correlation analysis results showed that the expressions of hTERT and TFAP2A in ovarian tissue were positively correlated. (Fig. B, $r = 0.780$, $P < 0.001$)

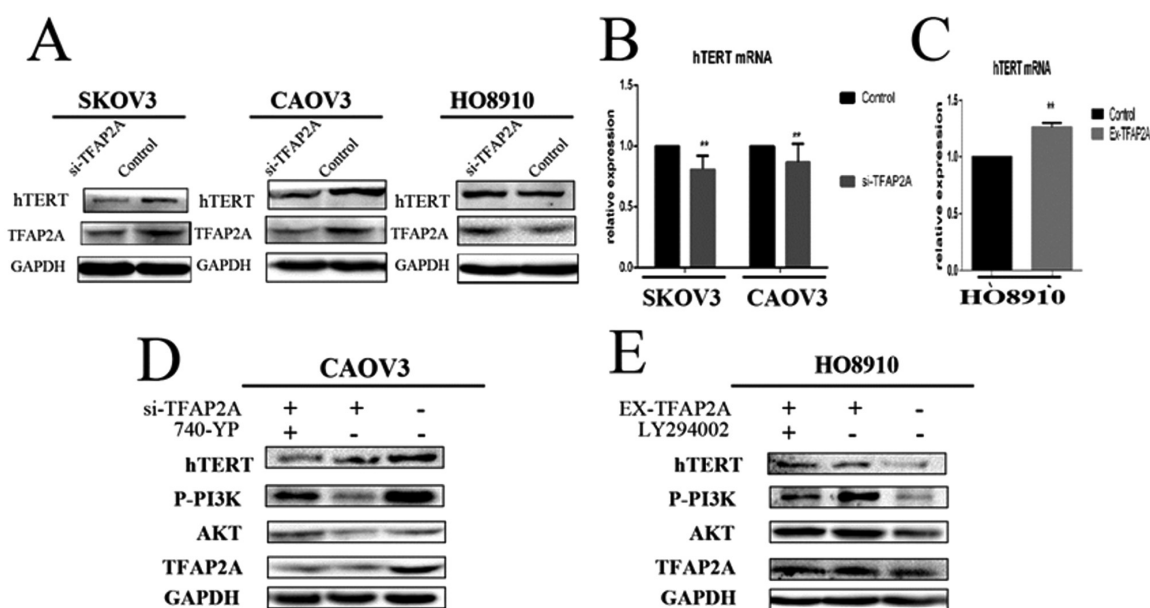


图2 上皮性卵巢癌细胞中 TFAP2A 调控的 hTERT 的表达水平(A、B、C)

注:应用 western-blot 和 RT-PCR 分析不同处理组细胞中 TFAP2A 和 hTERT 的蛋白表达水平(A)和 mRNA 水平(B 和 C), GAPDH 为内参。* 与对照细胞相比, $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, GAPDH 为内参。TFAP2A 对 hTERT 蛋白表达的调节不经 PI3K/AKT 通路(D、E)。通过 western-blot 分析不同处理组细胞中 TFAP2A、hTERT 和 PI3K/AKT 通路蛋白 p-PI3K、AKT 的蛋白质表达水平。以 GAPDH 为内参。

Fig.2 TFAP2A enhanced TERT expression in EOC cells

The protein levels (A) and mRNA levels (B and C) of TFAP2A and hTERT in treated cells were evaluated by quantitative real-time PCR and western blot analyses. GAPDH served as a loading control. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with control cells. TFAP2A regulates hTERT expression in epithelial ovarian cancer cells do not by way of PI3K/AKT signaling (D, E). The protein expression levels of protein p-PI3K, AKT of TFAP2A and hTERT were analyzed by western-blot in different treatment groups. GAPDH served as a loading control.

本次实验结果发现:在上皮性卵巢癌组织中, TFAP2A 和 hTERT 均为高表达, 且 hTERT 的表达与 TFAP2A 成正相关, 在上皮性卵巢癌细胞中 TFAP2A 可以调节 hTERT 的基因的表达水平, hTERT 是 TFAP2A 的下游基因。TFAP2A 可能通过对 hTERT 的调节参与了端粒酶活性及端粒长度的调节。我们初步验证了在上皮性卵巢癌细胞中 TFAP2A 可以激活 PI3K/AKT 信号通路, 而 hTERT 的表达量不受 PI3K/AKT 通路的调节, TFAP2A 对 hTERT 基因的表达的调节不经 PI3K/AKT 通路。有文献指出 PI3K/AKT 通路可以活化 hTERT, 增加活化的 p-hTERT, 提高 hTERT 的效力, 且不影响总的 hTERT 表达量^[24]。TFAP2A 在多种肿瘤细胞中直接参与并调节了 hTERT 的转录^[16,24]。有关 TFAP2A 对 hTERT 基因的表达和作用效力的综合影响及其具体作用机制仍需进一步的研究。

综上所述, 本研究首次证明在上皮性卵巢癌组织中, TFAP2A 和 hTERT 均为高表达, 且 hTERT 的表达与 TFAP2A 成正相关, TFAP2A 可以调节 hTERT 的基因的表达水平, 且不经 PI3K/AKT 通路, 从而为将来进一步探讨在上皮性卵巢癌中 TFAP2A 对端粒酶逆转录酶的活性和催化端粒逆转录的影响和机制研究奠定了实验参考依据。

参考文献(References)

- [1] Li X, Glubrecht DD, Godbout R. AP2 transcription factor induces apoptosis in retinoblastoma cells [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2010, 49(9): 819-830
- [2] Brooks KE, Chavez SL, Enard W, et al. GATA2/3-TFAP2A/C transcription factor network couples human pluripotent stem cell differentiation to trophectoderm with repression of pluripotency [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2017, 114(45): E9579-E9588
- [3] Mohibullah N, Donner A, Ippolito JA, et al. SELEX and missing phosphate contact analyses reveal flexibility within the AP-2 [alpha] protein: DNA binding complex [J]. *Nucleic Acids Res*, 1999, 27(13): 2760-2769
- [4] Kousa YA, Zhu H, Fakhouri WD, et al. The TFAP2A-IRF6-GRHL3 genetic pathway is conserved in neurulation [J]. *Hum Mol Genet*, 2019, 28(10): 1726-1737
- [5] Van Otterloo E, Li W, Bonde G, et al. Differentiation of Zebrafish Melanophores Depends on Transcription Factors AP2 Alpha and AP2 Epsilon [J]. *PLoS Genet*, 2010, 6(9): e1001122
- [6] Eric Van Otterloo, Hong Li, Kenneth L Jones, et al. AP-2 α and AP-2 β cooperatively orchestrate homeobox gene expression during branchial arch patterning [J]. *Development*, 2018, 145(2): dev157438
- [7] Hongsheng Tang, Lisi Zeng, Jiahong Wang, et al. Reversal of 5-fluorouracil resistance by EGCG is mediated by inactivation of TFAP2A/VEGF signaling pathway and downregulation of MDR-1 and P-gp expression in gastric cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(47): 82842-82853
- [8] Dawei Zhang, Haiyan Li, Xiaofeng Jiang, et al. Role of AP-2 α and MAPK7 in the regulation of autocrine TGF- β /miR-200b signals to maintain epithelial-mesenchymal transition in cholangiocarcinoma [J]. *Journal of Hematology & Oncology*, 2017, 10(1): 170

- [9] N9icolaus Friedrichs, Richard Jager, Ellen Paggen, et al. Distinct spatial expression patterns of AP-2alpha and AP-2gamma in non-neoplastic human breast and breast cancer [J]. *Modern Pathology*, 2005, 18(3): 431-438
- [10] Maria V. Bogachek, Jung M. Park, James P, et al. Inhibiting the SUMO Pathway Represses the Cancer Stem Cell Population in Breast and Colorectal Carcinomas [J]. *Stem Cell Reports*, 2016, 7 (6): 1140-1151
- [11] Shay JW. Telomeres and aging [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2018, 52(1): 1-7
- [12] Victorelli S, Passos JF. Telomeres and Cell Senescence - Size Matters Not[J]. *BioMedicine*, 2017, 21(3): 14-20
- [13] Jafri MA, Ansari SA, Alqahtani MH, et al. Roles of telomeres and telomerase in cancer, and advances in telomerase-targeted therapies [J]. *Genome Med*, 2016, 8(1): 69
- [14] Schwaederle M, Krishnamurthy N, Daniels GA, et al. Telomerase reverse transcriptase promoter alterations across cancer types as detected by next-generation sequencing: A clinical and molecular analysis of 423 patients[J]. *Cancer*, 2018, 124(6): 1288-1296
- [15] Ren KW, Li YH, Wu G, et al. Quercetin nanoparticles display antitumor activity via proliferation inhibition and apoptosis induction in liver cancer cells[J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(4): 1299-1311
- [16] Fu L, Chen W, Guo W, et al. Berberine Targets AP-2/hTERT, NF-κB/COX-2, HIF-1α/VEGF and Cytochrome-c/Caspase Signaling to Suppress Human Cancer Cell Growth [J]. *PLoS One*, 2018, 8(7): e69240
- [17] Yuanhua L, Pudong Q, Wei Z, et al. TFAP2A Induced KRT16 as an Oncogene in Lung Adenocarcinoma via EMT[J]. *Int J Biol Sci*, 2019, 15(7): 1419-1428
- [18] Xiaofeng Ding, Zijian Yang, Fangliang Zhou, et al. Transcription factor AP-2α regulates acute myeloid leukemia cell proliferation by influencing Hoxa gene expression[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45 (8): 1647-1656
- [19] Xu M1, Chen X, Chen N, et al. Synergistic silencing by promoter methylation and reduced AP-2α transactivation of the proapoptotic HRK gene confers apoptosis resistance and enhanced tumor growth [J]. *Am J Pathol*, 2013, 182(1): 84-95
- [20] Shi D, Xie F, Zhang Y, et al. TFAP2A regulates nasopharyngeal carcinoma growth and survival by targeting HIF-1α signaling pathway [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*, 2014, 7(2): 266-277
- [21] Lu JJ, Fu L, Tang Z, et al. Melatonin inhibits AP-2β/hTERT, NF-κB/COX-2 and Akt/ERK and activates caspase/Cyto C signaling to enhance the antitumor activity of berberine in lung cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(3): 2985-3001
- [22] Deng WG, Jayachandran G, Wu G, et al. Tumor-specific activation of human telomerase reverse transcriptase promoter activity by activating enhancer-binding protein-2beta in human lung cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(36): 26460-70
- [23] Xu H, Zou S23, Xu X. The β-glucan from *Lentinusedodes* suppresses cell proliferation and promotes apoptosis in estrogen receptor positive breast cancers[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(49): 86693-86709
- [24] Wei CW, Lin CC, Yu YL, et al. n-Butylidenephthalide induced apoptosis in the A549 human lung adenocarcinoma cell line by coupled down-regulation of AP-2alpha and telomerase activity [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2009, 30(9): 1297-306

(上接第 4334 页)

- [29] Zhang L, Li S, Chen L, et al. Cerebellar fastigial nucleus electrical stimulation protects against cerebral ischemic damage by upregulating telomerase activity[J]. *Restor Neurol Neurosci*, 2019, 37(2): 131-141
- [30] 高鹤, 张利娟, 李碧青, 等. 脑电仿生治疗仪对脑梗死偏瘫患者的临床疗效观察[J]. *浙江实用医学*, 2016, 21(6): 451-452
- [31] Wang JH. Clinical Observation of JIN's Three-needle Acupuncture plus Modern Nerve Facilitation Technique for Infantile Cerebral Palsy [J]. *Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion*, 2017, 36(2): 126-129
- [32] Hanoglu T, Hanoglu L, Guntekin B, et al. The therapeutic role of repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS) in parkinsonian visual hallucinations: Electrophysiological correlates [J]. *J Clin Neurosci*, 2019, 69: 281-284
- [33] Kim M, Sowndhararajan K, Choi HJ, et al. Olfactory Stimulation Effect of Aldehydes, Nonanal, and Decanal on the Human Electroencephalographic Activity, According to Nostril Variation [J]. *Biomedicine*, 2019, 7(3): 57-68
- [34] Bang YR, Choi HY, Yoon IY. Minimal Effects of Binaural Auditory Beats for Subclinical Insomnia: A Randomized Double-Blind Controlled Study[J]. *J Clin Psychopharmacol*, 2019, 39(5): 499-503