

ABCE1基因沉默对人宫颈癌XB1702细胞生物学特性的影响

李萍, 王德华(天津医科大学总医院, 天津市 300052)

文章亮点:

1 设计 ABCE1 基因的小分子干扰 RNA(siRNA)序列, 转染人宫颈癌 XB1702 细胞后能有效抑制细胞靶基因的表达。

2 ABCE1 siRNA 能够抑制人宫颈癌 XB1702 细胞的增殖、迁移、侵袭, 说明 ABCE1 基因沉默可能成为治疗宫颈癌的有效靶点。

关键词:

组织构建; 组织工程; 干细胞; 宫颈癌; ABCE1; siRNA; XB1702; 细胞增殖; 细胞迁移; 细胞周期

主题词:

宫颈肿瘤; RNA, 小分子干扰; 基因沉默; 细胞增殖

摘要

背景: 随着基因工程以及肿瘤生物分子学等新兴学科的发展壮大, 基因治疗肿瘤成为一种新的治疗模式。

目的: 探讨 ABCE1 基因沉默对人宫颈癌 XB1702 细胞的生长、增殖及迁移等方面的影响。

方法: 设计及合成 ABCE1 的 siRNA 序列, Lipofectamine™ 2000 转染 XB1702 细胞。以转染 NC siRNA 载体细胞为对照组, 未转染的宫颈癌 XB1702 细胞为空白组。通过 RT-PCR、Western blot 检测 RNA 干扰后 ABCE1 mRNA 和蛋白的表达, 流式细胞仪检测细胞周期, 并通过 CCK-8 增殖实验、划痕愈合实验、细胞侵袭实验评价沉默 ABCE1 基因对人宫颈癌 XB1702 细胞增殖、迁移以及侵袭能力的影响。

结果与结论: 实验组 ABCE1 mRNA 和蛋白表达明显低于对照组和空白组($P < 0.05$)。实验组细胞的生长速度明显减慢, 细胞被阻滞在 G₀/G₁ 期, S 期细胞数减少。与对照组和空白组相比, 实验组 XB1702 细胞的增殖受到明显抑制、迁移能力和侵袭能力显著下降($P < 0.05$)。结果表明特异性干扰 ABCE1 基因表达可抑制人宫颈癌 XB1702 细胞的迁移能力, 并抑制肿瘤细胞增殖, 因此, ABCE1 的 siRNA 序列可能成为治疗宫颈癌的有效靶点。

李萍, 王德华. ABCE1 基因沉默对人宫颈癌 XB1702 细胞生物学特性的影响[J]. 中国组织工程研究, 2015, 19(37): 5972-5977.

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2015.37.013

ABCE1 gene silencing effect on biological characteristics of human cervical cancer cells XB1702

Li Ping, Wang De-hua (General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China)

Abstract

BACKGROUND: With the development of genetic engineering and tumor molecular biology, gene therapy has acted as a new treatment mode for tumors.

OBJECTIVE: To investigate the impact of gene silencing ABCE1 on growth, proliferation and migration of human cervical cancer cells XB1702.

METHODS: siRNA sequences of ABCE1 were designed and synthesized to transfect XB1702 cells using Lipofectamine™ 2000. Cells transfected with NC siRNA carrier served as controls, and untransfected cells acted as blank group. After RNA interference, the expression of ABCE1 mRNA and protein was detected by western blot assay; cell cycle was detected using flow cytometry; cell counting kit-8 test, scratch healing assay and cell invasion assay were used to evaluate the effects of ABCE1 silence gene on XB1702 cell proliferation, migration and invasion ability.

RESULTS AND CONCLUSION: ABCE1 mRNA and protein expression in the experimental group was significantly lower than that in the control group and blank group ($P < 0.05$). Growth rate in the experimental group was significantly slowed, cells were arrested in G₀/G₁ phase, and the number of S-phase cells was reduced. Compared with the control group and blank group, XB1702 cell proliferation was inhibited significantly in the experimental group, and cell migration and invasion was significantly decreased ($P < 0.05$). These results showed that specific interference with gene expression of ABCE1 can inhibit the migration of human cervical cancer cells XB1702, and restrain tumor cell proliferation; therefore, the siRNA sequence of ABCE1 may be an effective target for treatment of cervical cancer.

Subject headings: Uterine Cervical Neoplasms; RNA, Small Interfering; Gene Silencing; Cell Proliferation

李萍, 女, 1979 年生, 湖北省潜江市人, 汉族, 2001 年武汉大学医学院毕业, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤研究。

通讯作者: 王德华, 博士, 副主任医师, 天津医科大学总医院, 天津市 300052

中图分类号: R318

文献标识码: B

文章编号: 2095-4344

(2015)37-05972-06

稿件接受: 2015-07-06

http://www.crter.org

Li Ping, Attending physician, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Wang De-hua, M.D., Associate chief physician, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Accepted: 2015-07-06

Li P, Wang DH. ABCE1 gene silencing effect on biological characteristics of human cervical cancer cells XB1702. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2015;19(37): 5972-5977.

0 引言 Introduction

现阶段宫颈癌已成为第二大威胁女性健康的妇科恶性肿瘤,其发病呈年轻化趋势,具有较高的死亡率,因此治疗宫颈癌的关键是早期诊治^[1-3]。宫颈癌及癌前病变的重要致病因素与人乳头瘤病毒感染密切相关^[4-6],虽然其病理机制已经明确,但影响宫颈癌治疗和预后的重要因素是盆腔淋巴结转移。近年来研究表明,基因调控参与肿瘤的增殖、迁移,因此提出了基因治疗恶性肿瘤的新方法^[7-8]。三磷酸腺苷结合盒转运子E1(ATP-binding cassetteE1, ABCE1)参与多种肿瘤细胞的增殖、迁移,通过抑制细胞内核糖核酸酶L(RNase L)的活性来抑制细胞凋亡,是ATP结合盒转运子基因亚家族之一^[9-10]。本研究设计及合成ABCE1的siRNA序列, Lipofectamine™2000转染人宫颈癌XB1702细胞,评价ABCE1基因沉默对其增殖、迁移生物学能力的影响。

1 材料和方法 Materials and methods

1.1 设计 细胞学体外对比观察实验。

1.2 时间及地点 实验于2014年2月至2015年3月在天津医科大学中心实验室完成。

1.3 材料

ABCE1 基因沉默人宫颈癌 XB1702 细胞生物学特性检测所用主要细胞、试剂:

细胞和试剂	来源
人宫颈癌 XB1702 细胞	中国科学院上海细胞研究所
Opti-MEM、DMEM 培养基、胰蛋白酶、G418	美国 Hyclone 公司
胎牛血清	美国 Gibco 公司
脂质体转染试剂 Lipofectamine™2000	厦门百维信生物科技有限公司
RNA 提取试剂 Trizol、质粒提取试剂盒、DNA 凝胶纯化回收试剂盒	美国 Hyclone 公司
T ₄ DNA、DNA marker 连接酶	日本 TOYOBO 公司
RT-PCR 两步法试剂盒	北京赛百盛基因技术有限公司
cDNA 合成试剂盒	日本 Takara 公司
AMV 反转录试剂盒	北京天根生化有限公司
RNA 干扰序列	大连宝生物公司合成
PCR 引物序列	上海闪晶生物公司设计并合成
CCK-8	北京博奥森公司
兔抗人 ABCE1 多克隆抗体	美国 Thermo 公司
HRP 标记的羊抗鼠 IgG	美国 Abcam 公司
鼠抗 GAPDH 单克隆抗体	北京中山生物技术有限公司
HRP 标记的兔抗羊 IgG	杭州博日科技有限公司
PVDF 膜	上海炎彬化工有限公司
ECL 化学发光试剂盒	美国 Promega 公司
Matrigel	美国 SABC 公司

1.4 实验方法

1.4.1 siRNA设计、合成及转染 靶向人类ABCE1 siRNA序列根据参考文献[6]设计,正义链为 5'-ATC CGC TAC AGC GAG TAC GTT TAC CTG TGA AGC CAC AGA TGG GGT AAA CGT ACT CGC TTA GCT TTT TTG-3';反义链为: 5'-AAT ACA AAA AAG CTA CAG CGA GTA CGT TTA CCC CAT CTG TGG CTT CAC AGG TAA ACG TAC TCG CTG TAG CG-3'。阴性对照siRNA正义链为: 5'-GAT CCG CGA GAC CTC AGT ATG TTA CCT GTG AAG CCA CAG ATG GGG TAA CAT ACT GAG GTC TCG CTT TTT TG-3';反义链为: 5'-AAT TCA AAA AAG CGA GAC CTC AGT ATG TTA CCC ATC TGT GGC TTC ACA GGT AAC ATA CTG AGG TCT CGC G -3'。

宫颈癌细胞株XB1702细胞培养在含体积分数为10%小牛血清的DMEM培养基中,置饱和湿度、体积分数为5%CO₂, 37℃恒温密闭式培养箱中培养,每2 d传代1次,于实验时取第3代对数生长期的细胞,按2×10⁵/孔将宫颈癌细胞株XB1702接种于24孔板中,至融合率达80%时按基因转染试剂盒说明书进行转染,转染时分为3组:转染pGenesil-1-ABCE1-siRNA载体细胞为XB1702/ABCE1-siRNA组(实验组),转染NC siRNA载体细胞为XB1702/control组(对照组),未转染的宫颈癌XB1702细胞为XB1702组(空白组),并于转染48 h后行RNA干扰效应的检测。

1.4.2 RT-PCR检测ABCE1 mRNA的表达 收集3组生长状态良好的XB1702细胞经4℃离心,弃去上清液后PBS冲洗3次,通过TRIzol法提取总RNA,按cDNA合成试剂盒反转录合成cDNA。

ABCE1基因序列设计特异性引物,ABCE1引物序列:上游: 5'-TTG GTT GTG GGA AGT CGT -3',下游: 5'-GCT TAT GTA GTT AAT GGG AGG T-3',扩增产物为415 bp; GAPDH引物序列: 上游: 5'-GAG TCA ACG GAT TGG TCG T-3',下游: 5'-GAC AAG CTT CCC GTT CTC AG-3',扩增产物为185 bp。

PCR反应条件: 95℃变性5 min, 94℃ 30 s, 55℃ 40 s, 72℃ 30 s, 循环36周期, 72℃延伸7 min。PCR产物于4℃保存,采用2%琼脂糖凝胶电泳(152 V, 90 min),然后将凝胶经溴化乙锭染色,置GDSS000凝胶自动成像仪上拍照,标本扩增带位于阳性扩增带处判定为阳性,用ABCE1/GAPDH代表ABCE1 mRNA的相对表达量。

1.4.3 Western blot检测ABCE1蛋白的表达 收集3组生长状态良好的XB1702细胞1×10⁷个,弃培养液后PBS冲洗3次,提取总蛋白,通过BCA法测定蛋白质浓度,吸取50 μg总蛋白,行10%SDS-PAGE电泳,通过电转移(40 V 150 min

表 1 各组 siRNA 转染后 ABCE1 mRNA 和蛋白的表达 ($\bar{x} \pm s$)
Table 1 ABCE1 mRNA expression in XB1702 cells after siRNA transfection

组别	ABCE1 mRNA(ABCE1/GAPDH)	ABCE1蛋白(ABCE1/GAPDH)
空白组	0.71±0.09	0.98±0.09
对照组	0.72±0.08	0.97±0.07
实验组	0.38±0.07 ^a	0.79±0.06 ^a

表注: 与对照组和空白组比较, ^a $P < 0.05$ 。

表 2 siRNA 抑制 ABCE1 表达对 XB1702 细胞周期的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=3$, %)
Table 2 siRNA inhibits ABCE1 expression to impact XB1702 cell cycle

组别	G ₀ /G ₁ 期	S期	G ₂ /M期
空白组	52.3±3.5	34.1±2.6	8.7±1.1
对照组	52.5±3.3	34.2±2.2	9.0±1.3
实验组	63.6±3.2 ^a	25.2±1.8 ^a	8.1±1.3

表注: 与对照组和空白组比较, ^a $P < 0.05$ 。

的转印条件)印迹到PVDF膜上, 封闭5%脱脂奶粉FIBS液中, 于37℃下孵育2 h。一抗孵育: 加入1:1 000稀释的ABCE1多克隆一抗, 4℃过夜, TBST洗膜5次, 5 min/次, 二抗孵育: 加入1:5 000 HRP标记的二抗和GAPDH, 于37℃孵育2 h, PBS洗涤, 采用ECL法检测。暗室曝光X射线片, 通过GDSS000凝胶自动成像系统摄像, 漂洗并干燥后避光保存。Image-Pro Plus 8.0软件分析条带灰度值, 以ABCE1/GAPDH代表ABCE1蛋白的相对表达量。

1.4.4 流式细胞仪检测细胞周期 收集3组生长状态良好的XB1702细胞, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^6 \text{ L}^{-1}$, 经冷PBS洗涤2次后, 用体积分数为70%的冷乙醇(4℃)将细胞沉淀并混匀备用, 洗涤细胞后用PBS再调整细胞浓度为 $1 \times 10^6 \text{ L}^{-1}$, 与含50 mg/L RNA 酶的Tris-HCl缓冲液(pH7.4)共同孵育30 min, 100 mg/L碘化丙啶进行细胞DNA染色, 放置暗室中1 h, 经流式细胞仪检测细胞的DNA含量分布, 并计算出各周期细胞所占的百分比。

1.4.5 CCK-8法检测细胞增殖能力 收集3组对数生长期的XB1702细胞, 以 1×10^3 密度接种在96孔板中, 加入含体积分数为10%胎牛血清的DMEM培养基200 μL , 每组设6个复孔, 于37℃, 体积分数为5% CO₂细胞培养箱中培养24 h后, 每孔加入CCK-8 20 μL , 于培养箱温育4 h后, 以不加细胞空白孔为空白对照, 酶联免疫检测仪测定各孔490 nm处的吸光度值(A)。以细胞吸光度平均值作为纵坐标, 以培养时间为横坐标绘制生长曲线。

1.4.6 细胞划痕损伤实验 收集3组XB1702细胞, 用含体积分数为10%胎牛血清的培养基配成单个细胞悬液, 以每孔 5×10^3 个细胞接种到6孔板。待细胞铺满孔底, 用20 μL 的tip头垂直板面划痕, 用无血清的培养基将掉下来的细胞洗去。每孔加入2 mL无血清的培养基继续培养48 h, 在倒

表 3 siRNA 抑制 ABCE1 表达对细胞增殖的影响($\bar{x} \pm s$, $n=5$, A_{490 nm})
Table 3 siRNA inhibits ABCE1 expression to impact XB1702 cell proliferation

组别	48 h	72 h	96 h	120 h
空白组	0.9±0.07	1.9±0.20	2.7±0.22	3.1±0.18
对照组	0.9±0.08	2.0±0.16	2.6±0.20	3.0±0.17
实验组	0.8±0.09	1.6±0.18 ^a	2.0±0.01 ^a	2.4±0.13 ^a

表注: 与对照组和空白组比较, ^a $P < 0.05$ 。

置显微镜下测量划痕的宽度。细胞迁移率=(测量时划痕宽度/初始划痕宽度)×100%, 重复实验3次。

1.4.7 Transwell小室侵袭实验 于Transwell小室聚碳酸酯微孔滤膜上铺Matrigel 50 μg , 加入体积分数为10%胎牛血清于聚合好的小室下室做为条件培养液, 按上述3种细胞浓度为 $3 \times 10^5 \text{ L}^{-1}$ 的XB1702细胞悬液100 μL 加入上室, 放置于培养箱中, 24 h后取出, 以棉签仔细刮除滤膜上室中未穿过的细胞, 以体积分数为95%的乙醇固定5 min, PBS轻轻漂洗3遍, 经苏木精染色10 min, 用PBS冲洗小室, 待自然凉干, 用手术刀片沿边缘小心取下上室的聚碳酸酯滤膜, 以膜内面朝上用树脂胶固定于玻片上, 封固; 干燥后高倍显微镜下计数每膜上、下、左、右、中5个视野的穿膜XB1702细胞数, 并计算其平均值。每组平行设3个滤膜, 重复3次。

1.5 主要观察指标 ①RNA干扰后ABCE1 mRNA和蛋白的表达情况。②人宫颈癌XB1702细胞的细胞周期变化。③人宫颈癌XB1702细胞增殖、迁移以及侵袭能力的变化。

1.6 统计学分析 数据用SPSS 13.0软件包处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间连续变量比较用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析及 q 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果 Results

2.1 siRNA抑制ABCE1 mRNA的表达 与XB1702/control组(对照组)和XB1702组(空白组)比较, XB1702/ABCE1-siRNA组(实验组)ABCE1 mRNA表达明显降低, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图1, 表1。

2.2 siRNA抑制ABCE1蛋白的表达 与XB1702/control组(对照组)和XB1702组(空白组)比较, XB1702/ABCE1-siRNA组(实验组)ABCE1蛋白表达明显降低, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图2, 表1。

2.3 siRNA抑制ABCE1表达对细胞周期的影响 流式细胞仪检测细胞周期结果显示: 与XB1702/control组(对照组)和XB1702组(空白组)比较, XB1702/ABCE1-siRNA组(实验组)的G₀/G₁期细胞比例略有增加, S期细胞略有减少。XB1702/ABCE1-siRNA组(实验组)与XB1702/control组(对照组)和XB1702组(空白组)比较, 差异有显著性意义($P < 0.05$), M期的细胞无明显变化, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 表明S期细胞有明显的阻滞, 见表2。

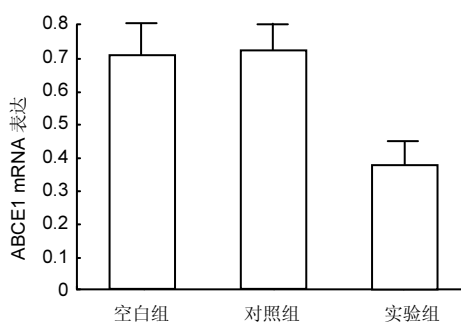
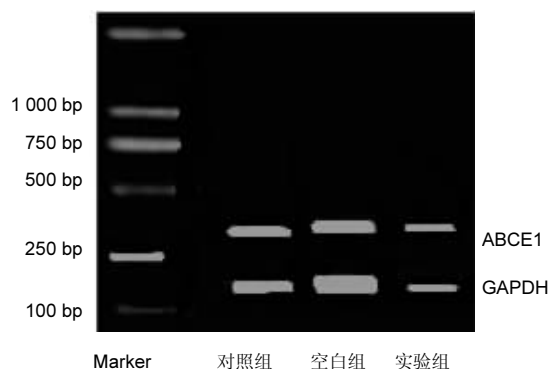


图 1 RT-PCR 检测 3 组 XB1702 细胞中 ABCE1 mRNA 的表达
Figure 1 Detection of ABCE1 mRNA expression in XB1702 cells by RT-PCR

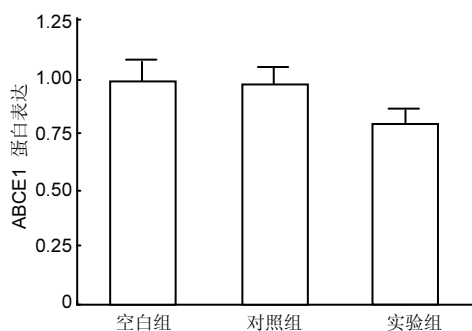
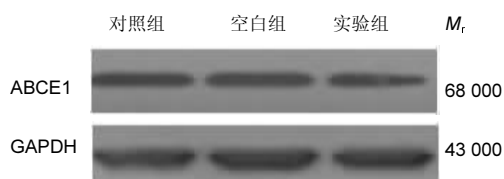


图 2 Western blot 检测 XB1702 细胞中 ABCE1 蛋白的表达
Figure 2 Detection of ABCE1 protein expression in XB1702 cells by western blot assay

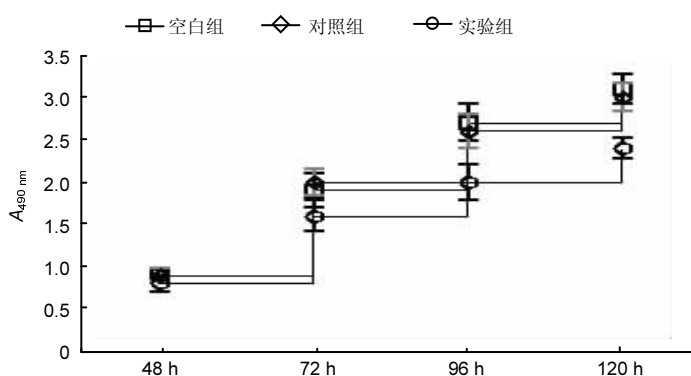


图 3 ABCE1 siRNA 对 XB1702 细胞生长的影响
Figure 3 Growth curve of XB1702 after siRNA transfection

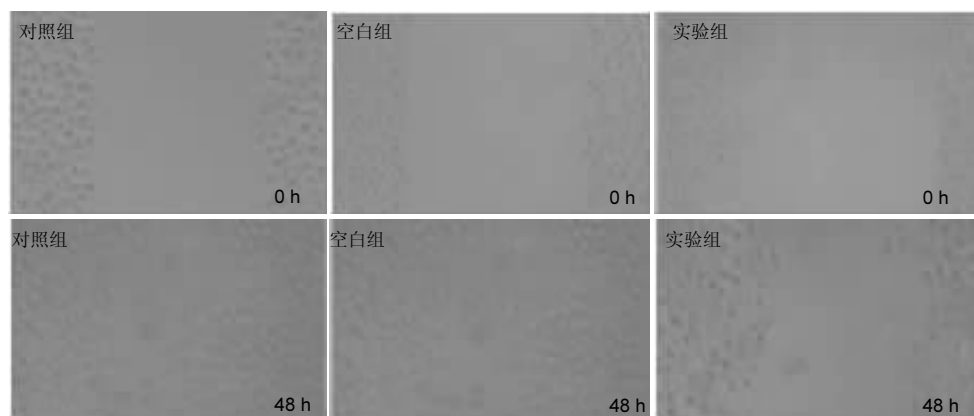


图 4 各组 XB1702 细胞的迁移能力 (×200)
Figure 4 Migration of XB1702 cells in each group (×200)
图注: 培养 48 h 后 XB1702/control 组(对照组)和 XB1702 组(空白组)细胞划痕已基本长满, 而 XB1702/ABCE1-siRNA 组(实验组)细胞划痕愈合却缓慢, 证明实验组迁移能力显著下降。

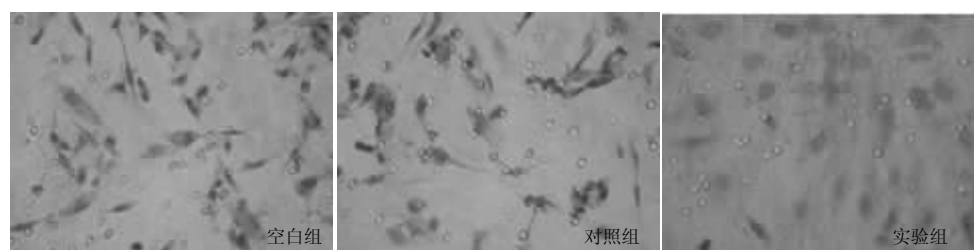


图 5 XB1702 细胞体外侵袭力
Figure 5 Invasiveness of XB1702 cells *in vitro*
图注: 与对照组和空白组比较, 实验组穿过滤膜的细胞数量明显减少。

2.4 siRNA抑制ABCE1表达对细胞增殖的影响 细胞接种后48, 72, 96, 120 h, 采用CCK-8法检测细胞生长情况, 绘制生长曲线。与XB1702/control组(对照组)和XB1702组(空白组)比较, XB1702/ABCE1-siRNA组(实验组)吸光度值明显降低, 差异有显著性意义($P < 0.05$), 见图3, 表3。

2.5 XB1702细胞划痕损伤实验结果 采用细胞划痕实验检测各组细胞的迁移能力, 细胞划痕后加入无血清培养皿中培养, 排除细胞增殖的影响。培养48 h后, XB1702/control组(对照组)和XB1702组(空白组)细胞划痕均已基本长满, 而XB1702/ABCE1-siRNA组(实验组)细胞划痕愈合却缓慢, 表明实验组在48 h仅有轻微的迁移现象, 见图4。

2.6 XB1702细胞体外侵袭力的变化 XB1702/ABCE1-siRNA组(实验组)穿膜细胞数显著减少(46.42 ± 3.61), XB1702/control组(对照组)和XB1702组(空白组)穿过滤膜的细胞数量较多, 分别为 78.64 ± 4.83 和 77.90 ± 4.38 , 实验组与对照组和空白组比较差异有显著性意义($P < 0.05$)。实验结果说明特异性干扰ABCE1基因表达可能有效降低XB1702细胞的侵袭力, 见图5。

3 讨论 Discussion

宫颈癌的发病与人乳头瘤病毒持续感染密切相关, 该病毒有30余种与生殖道黏膜感染相关, 妇女感染率高, 病因较为明确^[11-13], 但只有少数病毒存在持续感染。近年来, 由于人们健康意识增加, 体检率逐渐提高, 渐渐普及妇科常规检查, 容易早期发现^[14-16]。随着社会的发展, 中青年性观念的改变, 不健康的性生活导致HIV感染率增加、宫颈炎长期刺激、早育和多产、长期吸烟、口服避孕药、酗酒等不良习惯等导致宫颈癌发生率逐年上升, 病情呈年轻化趋势, 死亡率亦较高, 目前已成为第二大威胁女性健康的恶性肿瘤, 也是困扰临床医生的巨大难题^[17-19], 随着人类基因组计划的完成和功能基因科学的进一步发展, 多种基因的功能、结构异常参与宫颈癌细胞的增殖、侵袭及迁移, 研究表明, 基因调控与肿瘤的增殖、侵袭及迁移密切相关^[20-22], 因此明确宫颈癌发病中关键基因的作用对其治疗具有重大的临床意义^[23-25]。

恶性肿瘤增殖、侵袭及迁移的关键是抑制细胞的凋亡^[26-27]。三磷酸腺苷结合盒转运子E1(ATP-binding cassetteE1, ABCE1)属于ATP结合盒转运子基因亚家族的成员, 在人体各组织器官中均持续表达。相关研究表明, 在正常细胞内2-5寡聚核苷酸含量(2-5A/RNase L)的增加激活核糖核酸酶L(RNase L), 特异性抑制68 ku蛋白、降解RNA、抑制蛋白质合成、诱导细胞凋亡、阻止细胞增生失控^[28-30]。理论上如果阻断肿瘤细胞中ABCE1的表达能有抑制肿瘤的发展, 通过抑制细胞内核糖核酸酶L(RNase L)的活性来抑制细胞凋亡, 参与肿瘤细胞增殖分化、侵袭、迁移及蛋白质的合成, 为肿瘤治疗提供了新的有效的方法^[31]。研究表明在肺癌、直肠癌、结肠癌、前列腺癌的细胞中

ABCE1基因存在过度表达, 其沉默后出现肿瘤细胞增殖凋亡变化^[32]。目前国内外关于ABCE1基因对宫颈癌细胞的增殖、侵袭及迁移作用的文献报道少见^[33]。本研究探讨ABCE1基因沉默对人宫颈癌XB1702细胞的生长、细胞周期及细胞迁移等方面的作用。

目前实验室中获得高效率较为理想的转染方法是在高压电场电脉冲的作用下, 外源DNA能通过细胞膜瞬间出现的微小孔洞进入细胞内^[34]。本研究将设计及合成ABCE1的siRNA序列, 转染入宫颈癌XB1702细胞中, 通过RT-PCR、Western blot检测ABCE1在干扰后的mRNA和蛋白的表达情况, 结果显示ABCE1基因沉默转染后人宫颈癌XB1702细胞中ABCE1mRNA和ABCE1蛋白表达显著降低, 表明沉默ABCE1后阻断了肿瘤细胞中ABCE1的表达; 通过流式细胞仪检测细胞周期结果表明, 宫颈癌XB1702细胞周期停滞在G₀/G₁期, 并且S期细胞数减少, 可见沉默ABCE1后细胞的生长速度明显减慢; 通过CCK-8增殖实验显示, ABCE1基因沉默转染后人宫颈癌XB1702细胞的增殖明显受到抑制; 划痕愈合实验结果提示了宫颈癌XB1702细胞的迁移能力有显著下降; 细胞侵袭实验结果表明ABCE1基因沉默转染后人宫颈癌XB1702细胞的侵袭能力显著下降。

综上所述, 特异性干扰ABCE1基因表达可抑制人宫颈癌XB1702细胞的增殖、迁移、侵袭能力, ABCE1的siRNA序列可能成为治疗宫颈癌的有效靶点, 为宫颈癌的基因治疗奠定了实验基础。

致谢: 感谢天津市津南区咸水沽医院妇科王德华老师的帮助和指导。

作者贡献: 实验设计、实施为李萍, 实验评估为李萍、王德华, 资料收集为王德华。

利益冲突: 所有作者共同认可文章无相关利益冲突。

伦理问题: 没有与相关伦理道德冲突的内容。

学术术语: ABCE1 基因的来源与作用? ABCE1 最早由 Bisbal 等于 1995 年在筛选表达 2-5A/Cp 的 cDNA 文库时发现并命名。目前国内外对 ABCE1 的研究主要集中在其编码的蛋白作为 RNase L 的抑制剂, 在干扰素介导的 2-5A/RNase L 细胞抗病毒通路的作用上。近期的研究发现 ABCE1 属于高度保守的序列, 可通过与翻译起始因子 eIF2a 和 eIF5 结合从而在 mRNA 翻译的起始过程中发挥着必不可少的作用。在人类肿瘤细胞株中抑制 ABCE1 的表达, 可阻碍肿瘤细胞的生长。

作者声明: 文章第一作者对研究和撰写的论文中出现的不端行为承担责任。论文中涉及的原始图片、数据(包括计算机数据库)记录及样本已按照有关规定保存、分享和销毁, 可接受核查。

4 参考文献 References

- [1] Zaman ZK, Ung NM, Malik RA, et al. Comparison of planned and measured rectal dose in-vivo during high dose rate Cobalt-60 brachytherapy of cervical cancer. *Phys Med*. 2014; 30(8):980-984.

- [2] 朱介宾,肖亦明,孔宪和,等. 肝动脉栓塞术联合艾迪注射液与替比夫定治疗晚期原发性肝癌50例[J]. 医药导报, 2012, 31(1): 25-27.
- [3] Yap ML, Cuartero J, Yan J, et al. The role of elective para-aortic lymph node irradiation in patients with locally advanced cervical cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)*. 2014; 26(12):797-803.
- [4] Wang HC, Chow WC, Tzeng CC. Analysis of promoter methylation of four cancer-related genes in samples of cervical tissue with high-grade squamous intraepithelial lesions, squamous cell carcinoma in situ, and early squamous cell carcinoma. *Tzu Chi Me J*. 2014; 26(4):161-165.
- [5] Tian Y, Han X, Tian DL. The biological regulation of ABCE1. *IUBMB Life*. 2012; 64(10):795-800.
- [6] Terova G, Rimoldi S, Bernardini G, et al. Inhibition of myostatin gene expression in skeletal muscle of fish by in vivo electrically mediated dsRNA and shRNAi delivery. *Mol Biotechnol*. 2013; 54(2):673-684.
- [7] Pisareva VP, Skabkin MA, Hellen CU, et al. Dissociation by Pelota, Hbs1 and ABCE1 of mammalian vacant 80S ribosomes and stalled elongation complexes. *EMBO J*. 2011; 30(9):1804-1817.
- [8] Ren Y, Li Y, Tian D. Role of the ABCE1 gene in human lung adenocarcinoma. *Oncol Rep*. 2012; 27(4):965-970.
- [9] 吴宁,朱博慧,薛英姿,等. 干细胞生长因子反义寡核苷酸对肝癌细胞中原癌基因蛋白质c-kit及碱性成纤维细胞生长因子表达的影响[J]. 中华临床医师杂志:电子版, 2011, 5(12):3449-3454.
- [10] Sims LM, Igarashi RY. Regulation of the ATPase activity of ABCE1 from *Pyrococcus abyssi* by Fe-S cluster status and Mg^{2+} : implication for ribosomal function. *Arch Biochem Biophys*. 2012; 524(2):114-122.
- [11] Preis A, Heuer A, Barrio-Garcia C, et al. Cryoelectron microscopic structures of eukaryotic translation termination complexes containing eRF1-eRF3 or eRF1-ABCE1. *Cell Rep*. 2014; 8(1):59-65.
- [12] Pisarev AV, Skabkin MA, Pisareva VP, et al. The role of ABCE1 in eukaryotic posttermination ribosomal recycling. *Mol Cell*. 2010; 37(2):196-210.
- [13] 陈燕,林莺莺,陈岩松,等. 原发性肝癌早期诊断中甲胎蛋白异质体检测的意义[J]. 福建医药杂志, 2012, 34(1):3-6.
- [14] Menon G, Huang F, Sloboda R, et al. Practically achievable maximum high-risk clinical target volume doses in MRI-guided intracavitary brachytherapy for cervical cancer: a planning study. *Brachytherapy*. 2014; 13(6):572-578.
- [15] 温秋婷,孙玉荣,李春红,等. 成纤维细胞激活蛋白对卵巢癌细胞增殖、迁徙和侵袭的影响[J]. 中国癌症杂志, 2011, 21(6):441-445.
- [16] Campagne S, Saurel O, Gervais V, et al. Structural determinants of specific DNA-recognition by the THAP zinc finger. *Nucleic Acids Res*. 2010; 38(10):3466-3476.
- [17] Sabogal A, Lyubimov AY, Corn JE, et al. THAP proteins target specific DNA sites through bipartite recognition of adjacent major and minor grooves. *Nat Struct Mol Biol*. 2010; 17(1): 117-123.
- [18] 范宇飞,朱严冰,孟继昌,等. Survivin、p53蛋白与细胞周期蛋白D1在乳腺癌中的表达及相关性[J]. 临床误诊误治, 2010, 23(2): 101-103.
- [19] 张红霞,郭佑民. 成纤维细胞活化蛋白(FAP)的研究进展[J]. 现代肿瘤医学, 2010, 18(9): 1866-1869.
- [20] 邵洪江,靳占峰. FAP在胃癌间质中的表达及其与微血管密度的关系[J]. 国际遗传学杂志, 2010, 33(3): 134-137.
- [21] LeBeau AM, Brennen WN, Aggarwal S, et al. Targeting the cancer stroma with a fibroblast activation protein-activated promelittin protoxin. *Mol Cancer Ther*. 2009; 8(5):1378-1386.
- [22] Ospelt C, Mertens JC, Jüngel A, et al. Inhibition of fibroblast activation protein and dipeptidylpeptidase 4 increases cartilage invasion by rheumatoid arthritis synovial fibroblasts. *Arthritis Rheum*. 2010; 62(5):1224-1235.
- [23] Xu J, Chen S, Chen H, et al. STAT5 mediates antiapoptotic effects of methylprednisolone on oligodendrocytes. *J Neurosci*. 2009; 29(7):2022-2026.
- [24] 赵志娟,米小铁,刘树立,等. FAP在乳腺癌间质中的表达及其与微血管密度的关系[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2007, 16(5): 559-563.
- [25] 宋敬,李越. 成纤维细胞激活蛋白P和转化生长因子在子宫内膜癌组织中的表达及其意义[J]. 中国临床保健杂志, 2010, 13(5): 485-487.
- [26] 曾广平. 子宫颈恶性肿瘤介入治疗及护理进展[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2011, 32(9):1454-1456.
- [27] 李海侠. 影响子宫颈癌根治术后并发症的因素分析[J]. 中国中医药咨讯, 2011, 3(13):353.
- [28] 朱素文. 子宫颈病变筛查的研究进展[J]. 医学理论与实践, 2011, 24(7): 774-775.
- [29] 王伟,殷红梅. 宫颈癌组织中Fhit、survivin和Bcl-2的表达变化及意义[J]. 山东医药, 2011, 51(30):42-43.
- [30] 胡慧敏,张广美. FHIT、WWOX蛋白在子宫内膜癌中的表达及临床意义[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2010, 31(17):2693-2694.
- [31] Wu SR, Cheng TS, Chen WC, et al. Matriptase is involved in ErbB-2-induced prostate cancer cell invasion. *Am J Pathol*. 2010; 177(6):3145-3158.
- [32] Willmott LJ, Monk BJ. Cervical cancer therapy: current, future and anti-angiogenesis targeted treatment. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2009; 9(7):895-903.
- [33] Monneret C. Histone deacetylase inhibitors. *Eur J Med Chem*. 2005; 40(1):1-13.
- [34] Chang TH, Szabo E. Enhanced growth inhibition by combination differentiation therapy with ligands of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma and inhibitors of histone deacetylase in adenocarcinoma of the lung. *Clin Cancer Res*. 2002; 8(4):1206-1212.