

LIN9基因在宫颈癌细胞中表达及其与人乳头瘤病毒16/18 E7表达的相关性

王鲲鹏 袁逸杰 朱嘉琪 张婷婷

【摘要】目的 探讨LIN9基因在人宫颈癌细胞株CasKi和HeLa中的表达及其与人乳头瘤病毒(HPV) E7表达的关系。**方法** 利用qRT-PCR技术检测LIN9基因在宫颈癌细胞株CasKi (HPV16+)和HeLa (HPV18+)中的表达水平;在人永生表皮细胞株HaCaT (HPV-)中过表达HPV16/18E7、在宫颈癌细胞株CasKi和HeLa中沉默HPV16E7/18E7的表达,利用Western blot蛋白质印记法验证转染效果,应用qRT-PCR分别检测过表达及沉默E7表达后HaCaT、CasKi和HeLa三组细胞株中LIN9 mRNA的表达水平。**结果** CasKi和HeLa细胞中LIN9的表达显著高于HaCaT细胞(1 ± 0.22) (CasKi: 2.55 ± 0.25 , $t = 22.63$, $P = 0.026$; HeLa: 2.38 ± 0.17 , $t = 21.21$, $P = 0.031$)。HaCaT细胞过表达HPV16/18E7时, LIN9 mRNA表达水平亦显著高于对照组(1 ± 0.14) (HPV16E7: 1.65 ± 0.16 , $t = 13.12$, $P = 0.036$; HPV18E7: 1.61 ± 0.08 , $t = 11.21$, $P = 0.039$); CasKi和HeLa细胞沉默HPV16E7/18E7表达时, LIN9 mRNA表达水平siRNA-NS组[(1 ± 0.07) 和 (1 ± 0.03)]均显著下降(HPV16E7: 0.50 ± 0.05 , $t = 12.73$, $P = 0.032$; HPV18E7: 0.57 ± 0.11 , $t = 14.30$, $P = 0.035$)。**结论** LIN9在宫颈癌细胞中呈现高表达,且表达水平与E7表达有关。LIN9可能是抑制E7诱发宫颈癌变的重要抑癌因子,有望成为监测宫颈细胞HPV早期感染及宫颈癌治疗效果的重要生物学标志物。

【关键词】 乳头状瘤病毒感染; 宫颈肿瘤; 生物标志物, 肿瘤

Expression of LIN9 gene in cervical cancer cells and its relationship with E7 expression of human papilloma virus 16/18 Wang Kunpeng, Yuan Yijie, Zhu Jiaqi, Zhang Tingting. Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Stomatological Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China
Corresponding author: Zhang Tingting, Email: tzhang@tmu.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the expression of LIN9 gene in human cervical cancer cell lines of CasKi and HeLa and its relationship with E7 expression of HPV. **Methods** The expressions of LIN9 gene in cervical cancer cell lines CasKi (HPV16+) and HeLa (HPV18+) were detected by qRT-PCR method. Using transfection plasmid to overexpress HPV16/18E7 in human immortalized epidermal cell line HaCaT (HPV-), and siRNA to silence HPV16E7/18E7 expression in cell lines of CasKi and HeLa. The transfection effect was verified by Western blot, and LIN9 mRNA expression levels in cell lines of HaCaT, CasKi and HeLa after silent E7 expression were detected by qRT-PCR. **Results** The expressions of LIN9 in CasKi and HeLa cell lines were significantly higher than that in HaCaT cells (1 ± 0.22) (LIN9 in CasKi: 2.55 ± 0.25 ; $t = 22.63$, $P = 0.026$. LIN9 in HeLa: 2.38 ± 0.17 ; $t = 21.21$, $P = 0.031$) and the expression of LIN9 mRNA was increased significantly than that of control group (1 ± 0.14) when overexpressed HPV16/18E7 in HaCaT cells (HPV16E7: 1.65 ± 0.16 ; $t = 13.12$, $P = 0.036$. HPV18E7: 1.61 ± 0.08 , $t = 11.21$, $P = 0.039$), while decreased significantly after silencing HPV16E7/18E7 expression in CasKi and HeLa cells [(1 ± 0.07) and (1 ± 0.03)] (HPV16E7: 0.50 ± 0.05 ; $t = 12.73$, $P = 0.032$. HPV18E7: 0.57 ± 0.11 ; $t = 14.30$, $P = 0.035$). **Conclusions** LIN9 was highly expressed in cervical cancer cells, and the expression level was related to the expression of E7. LIN9 may become an important biological marker for monitoring the early HPV infection of cervical cells and the therapeutic effect of cervical cancer.

【Key words】 Papillomavirus infection; Uterine cervical neoplasms; Biomarkers, tumor

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2021.03.009

基金项目: 天津市教委科研计划项目 (No. 2018KJ053); 全国医学专业学位研究生教育指导委员会研究课题 (No. B2-YX20190302-11)

作者单位: 300070 天津, 天津医科大学口腔医院口腔颌面外科

通信作者: 张婷婷, Email: tzhang@tmu.edu.cn

宫颈癌为全球女性第4大恶性肿瘤,每年新发病例约50万,死亡30万,约九成死亡病例集中在中低收入国家^[1]。在缺乏有效干预措施的情况下,未来五十年内(2020至2069年)全球预计新增病例4440万^[2]。几乎所有宫颈癌均由高危型人乳头瘤病毒(human papilloma virus, HPV)感染诱发,且多数与HPV16/18感染相关^[1,3]。近年来我国宫颈癌的发病率和病死率亦呈现上升趋势,宫颈鳞癌中高危型HPV检出率高达97.6%、腺癌中高达74.5%,同样以HPV16/18为优势型^[4-6]。

早期蛋白E7是HPV特异性的肿瘤原性蛋白之一,能够在癌前及癌变过程中呈现持续稳定的表达,并与视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma, RB)家族以及MuvB复合物相互作用,干扰细胞周期静止期调节物DREAM复合物(dimerization partner, RB-like, E2F and multi-vulval class B complex, DREAM)的表达及细胞黏附、细胞凋亡、细胞周期、转录翻译等多种信号转导通路,使细胞持续增殖,并扰乱DNA的损伤修复机制,最终诱发癌症^[7-10]。LIN9(lin-9 DREAM MuvB core complex component, lin-9 DREAM MuvB核心复合体)基因位于chr1:226231149-226310099,共78 951个碱基,编码542个氨基酸,不仅可参与MuvB复合物在细胞周期中的合成,还可调控细胞周期,抑制非分裂细胞中细胞周期依赖性基因的表达^[11]。然而LIN9与HPV E7在人宫颈癌中的关系目前未见报道。本研究通过检测LIN9在宫颈癌细胞株CasKi(HPV16阳性)和HeLa(HPV18阳性)中的表达以及沉默E7表达后LIN9表达的变化,探讨LIN9与HPV E7致癌的关系,为进一步研究LIN9在HPV E7诱导癌变过程中的作用及分子机制提供依据,现报道如下。

材料与方法

一、标本来源

人宫颈癌细胞株(HeLa和CasKi)及人永生化表皮细胞株HaCaT由辽宁省农业科学院大连生物技术研究提供。将细胞从-196℃液氮中取出,以常规法复苏,在含100 mg/L胎牛血清、100 mg/L青霉素和100 mg/L链霉素的DMEM培养液(pH 7.2~7.4)中培养,置于37℃、5% CO₂培养箱中,每3~4 d应用胰酶消化传代。所有培养基均购自美国Gibco公司。

二、方法

1. 实时荧光定量PCR(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)技术检测各细胞系LIN9 mRNA表达:在不同的细胞中收集细胞沉淀,加1 ml Trizol试剂(Invitrogen, 15596026),使用苯酚氯仿抽提提取总RNA, Nanodrop仪器测定RNA浓度及纯度。使用逆转录酶M-MLV(TaKaRa, K4707)逆转录mRNA成cDNA(互补DNA, complementary DNA),置于-20℃待用。应用美国ABI公司HT 7500型实时荧光定量PCR系统和SYBR Green试剂盒进行PCR扩增,引物序列:LIN9上游为5'-GGAACGAAAGTTACAGCACGA-3',下游为5'-CAAGCCCTGTCTATCAAAAGT-3'^[12]。以GAPDH作为内参,其上游序列为5'→3',下游为5'→3'。PCR反应体系:qPCR Mix 5.0 μl,正反向引物各0.25 μl, cDNA 2.0 μl, DEPC水2.5 μl。反应程序:50℃、2 min, 95℃、10 min; 95℃、15 s, 60℃、1 min, 循环40次。采用2^{-ΔΔCt}法(ΔCt = Ct目的基因 - Ct内参基因, ΔΔCt = ΔCt待测样本 - ΔCt校准样本)计算。

2. 质粒构建及转染以便获得HPV16/18E7高表达的HaCaT细胞:人宫颈癌细胞CasKi的cDNA为模板,PCR获得HPV16E7基因片段。E7引物序列上游:5'-CAGAGAATTCCATGCATGGAGATACACCTAC-3'(EcoR I);下游:5'-CAGAGGATCCTTATGGTTTCTGAGAACAG-3'(BamH I)^[13]。人宫颈癌细胞HeLa的cDNA为模板,PCR获得HPV18E7基因片段。E7引物序列上游:5'-CAGAGAATTCCA TGCATGGACCTAAGGCAAC-3'(EcoR I);下游:5'-CAGAGGATCCCTGCTGGGATGCACACCAC-3'(BamH I)。将空载质粒pcDNA3.1(-)和HPV16E7/HPV18E7基因片段在37℃下经EcoR I和BamH I双酶切2 h后,DNA纯化试剂盒纯化酶切产物,T4 DNA连接酶于16℃下作用16 h,得到的重组质粒,命名为pcDNA3.1(-)-HPV16E7和pcDNA3.1(-)-HPV18E7,最后经DNA序列测定确认插入片段的正确性。

HaCaT细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM培养基中。转染前24 h用胰蛋白酶溶液消化细胞并接种于6孔板(4 × 10⁵个细胞/孔)。37℃、5% CO₂条件下培养细胞汇合度至80%~85%时进行转染,转染过程严格按照LipoD293(SL100668, SignaGen Laboratories, US)说明书步骤进行。转染48 h后,

收集样品。为抑制蛋白降解,每次收集样品6 h前,加入MG132,使其终浓度为10 μ mol/L。

3. qRT-PCR 技术检测转染质粒后HaCaT细胞LIN9 mRNA表达,明确E7高表达后对LIN9 mRNA表达的影响:具体步骤见方法1。

4. 小干扰RNA (small interfering RNA, siRNA) 转染CasKi细胞使HPV16E7低表达:依据HPV16E6/E7基因序列设计2个小分子干扰片段, siRNA-HPV16E7序列为5'-UCCAUAUGCUGUAUGUGAUdTdT-3'。对照siRNA (D-001206-08-20) 购于Dharmacon公司。CasKi细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM培养基中。转染前24 h用胰蛋白酶溶液消化细胞并接种于6孔板(4 \times 10⁵个细胞/孔)。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂条件下培养细胞汇合度至约75%。细胞转染按照LipoJet (Sigma Gen Laboratories, US, Cat#SL100468) 说明书进行。siRNA浓度为40 nmol/L。细胞转染24 h后再重复上述步骤转染1次,第2次转染后24 h收集细胞进行基因和蛋白检测。

5. siRNA转染HeLa细胞使HPV18E7低表达:依据HPV18E6/E7基因序列设计2个小分子干扰片段, siRNA-HPV16E7序列为5'-UGGAGUUAUCAUCAACAUDTdT-3'。对照siRNA (D-001206-08-20) 购于Dharmacon公司。HeLa细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM培养基中。转染前24 h用胰蛋白酶溶液消化细胞并接种于6孔板(3 \times 10⁵个细胞/孔)。37 $^{\circ}$ C、5% CO₂条件下培养细胞汇合度至约为75%。细胞转染按照LipoJet (SigmaGen Laboratories, US, Cat#SL100468) 说明书进行。siRNA的浓度为40 nmol/L。细胞转染24 h后收集细胞进行基因和蛋白检测。

6. Western blot蛋白印记分析成视网膜细胞瘤蛋白(retinoblastoma protein, pRb)表达明确E7表达是否变化:6孔板中每孔细胞经磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)漂洗3次,加入300 μ l 2 \times SDS + 5% 2-mercaptoethanol buffer, 15 min后,用细胞刮刀收集细胞碎片及裂解产物,用移液器转移至1.5 ml微量离心管中,沸水浴加热3~5 min。按说明书进行SDS-PAGE电泳。使用电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)试剂盒,在Bio-Rad凝胶成像仪下,对聚偏二氟乙烯膜(polyvinylidene fluoride, PVDF)进行图像采集分析;以 β -tubulin为内参。各抗体具体信息如下:

抗-pRb (G3-245, BD PharMingen) 1:100稀释,抗- β -tubulin (T5201, Sigma) 1:3 000稀释。电泳条带用Alpha Inlagel-2000图像分析系统摄像分析,计算灰度值,然后以pRb和 β -tubulin蛋白条带的相对灰度值(pRb/ β -tubulin灰度值比值)作为其相对表达量记录。所有实验均重复3遍。

7. 逆转录聚合酶链式反应(reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR)技术检测转染siRNAs后各细胞LIN9 mRNA表达,明确E7低表达后对LIN9 mRNA表达的影响,具体步骤见方法1。

三、统计学处理

所有数据采用SPSS 22.0软件包进行统计分析, LIN9 mRNA表达水平和pRb蛋白表达水平均为计量资料且呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用成组设计资料 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、人永生表皮细胞株HaCaT和人宫颈癌细胞株(CasKi和HeLa)中LIN9 mRNA表达差异

提取不同细胞的总RNA,反转录为cDNA,荧光实时定量RT-PCR检测LIN9的表达,发现与HaCaT细胞相比(绝对表达水平: 1 ± 0.22),人宫颈癌细胞CasKi(绝对表达水平: 2.55 ± 0.25)中LIN9表达水平为HaCaT组的2.55倍,HeLa(绝对表达水平: 2.38 ± 0.17)中LIN9表达水平为HaCaT组的2.38倍,差异有统计学意义(CasKi组: $t = 22.63$ 、 $P = 0.026$; HeLa组: $t = 21.21$ 、 $P = 0.031$),见图1。

二、Western blot免疫印迹法检测转染效果

已知E7可通过降解pRb发挥致癌作用,为验证转染效果,采用Western blot蛋白印记分析法检测pcDNA3.1(一)-HPV16E7及pcDNA3.1(一)-HPV18E7转染HaCaT细胞、siRNA-HPV16E7转染CasKi细胞、siRNA-HPV18E7转染HeLa细胞后pRb蛋白的表达,结果显示与pcDNA3.1(一)空载质粒对照组相比,在HaCaT细胞中转染pcDNA3.1(一)-HPV16E7及pcDNA3.1(一)-HPV18E7后,细胞pRb蛋白表达水平显著降低(HPV16E7: $t = 33.94$ 、 $P = 0.026$; HPV18E7: $t = 56.80$ 、 $P = 0.013$) (图2A);与si-NS对照组相比,在CasKi和HeLa细胞中分别转染siRNA-HPV16E7及siRNA-HPV18E7

后, 细胞pRb蛋白表达水平显著增高 (CasKi组: $t = 44.10$ 、 $P = 0.0003$; HeLa组: $t = 42.49$ 、 $P = 0.0009$) (图2B和2C), 提示在3种细胞中过表达或沉默E7取得理想的效果。

三、HaCaT细胞中转染pcDNA3.1 (一)-HPV16E7及pcDNA3.1 (一)-HPV18E7后LIN9的mRNA表达

转染pcDNA3.1 (一)-HPV16E7、pcDNA3.1 (一)-HPV18E7及pcDNA3.1 (一)于HaCaT细胞48 h后分别提取各组细胞总RNA, 反转录为cDNA, 荧光实时定量RT-PCR检测LIN9的表达, 发现与对照组 (绝对表达水平为 1 ± 0.14) 相比, pcDNA3.1 (一)-HPV16E7 (绝对表达水平: 1.65 ± 0.16) 组LIN9表达水平为对照组的1.65倍, pcDNA3.1 (一)-HPV18E7组 (绝对表达水平为 1.61 ± 0.08) LIN9表达水平为对照组的1.61倍。(HPV16E7组: $t = 13.12$ 、 $P = 0.036$; HPV18E7组: $t = 11.21$ 、 $P = 0.039$), 见图3。

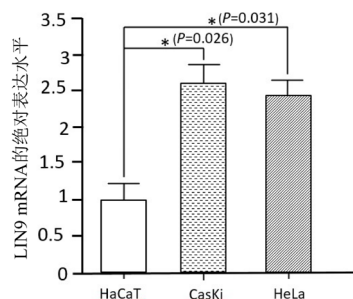


图1 siRNA检测人宫颈癌细胞系中LIN9基因的表达水平

四、CasKi细胞中转染siRNA-HPV16E7后LIN9 mRNA表达

二次转染siRNA-HPV16E7和siRNA-NS于CasKi细胞24 h后, 分别提取各组细胞总RNA, 反转录为cDNA, 荧光实时定量RT-PCR检测LIN9的表达, 发现与siRNA-NS组 (绝对表达水平: 1 ± 0.07) 相比, siRNA-HPV16E7组 (绝对表达水平: 0.50 ± 0.05) LIN9表达降低为0.5倍 ($t = 12.73$ 、 $P = 0.032$, 图4A)。

五、HeLa细胞中转染pcDNA3.1 (一)-HPV18E7和siRNA-HPV18E7后LIN9的mRNA表达

转染siRNA-HPV18E6, siRNA-HPV18E7及siRNA-NS于HeLa细胞24 h后, 分别提取各组细胞总RNA, 反转录为cDNA, 荧光实时定量RT-PCR检测LIN9的表达, 发现与siRNA-NS组 (绝对表达水平: 1 ± 0.03) 相比, siRNA-HPV18E7组 (绝对表达水平: 0.57 ± 0.11) LIN9表达降低为0.57倍 ($t = 14.30$ 、 $P = 0.035$), 图4B。

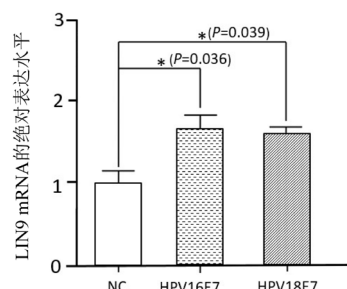
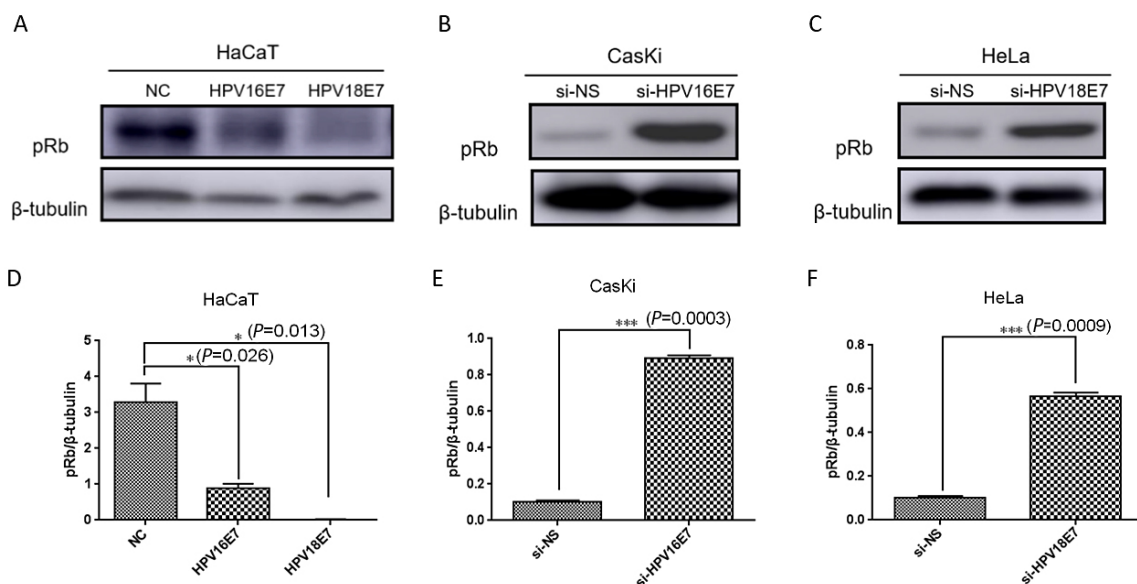
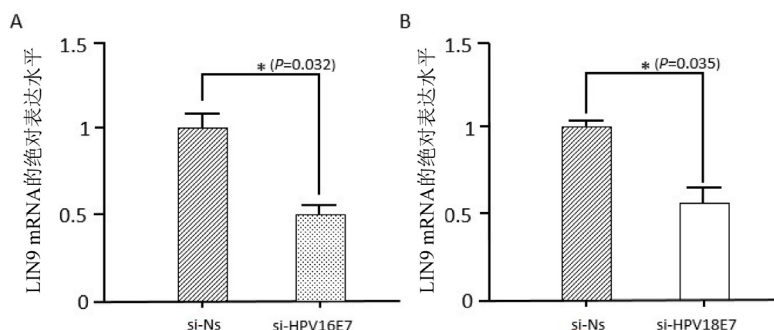


图3 qRT-PCR检测HaCaT细胞转染HPV16/18E7过表达质粒后LIN9基因的表达水平



注: A: HaCaT细胞转染HPV16/18E7过表达后; B: CasKi细胞转染siRNA-HPV16E7后; C: HeLa细胞转染siRNA-HPV18E7后; D~F: Western blot条带灰度值

图2 Western blot免疫印迹验证pRb表达



注: A: CasKi细胞转染siRNA-HPV16E7; B: HeLa细胞转染siRNA-HPV18E7

图4 qRT-PCR检测人宫颈癌细胞低表达HPVE7后LIN9基因的表达水平

讨 论

高危型HPV16/18为宫颈癌的主要致病因子,通常HPV与宿主的早期接触会被免疫系统清除,呈无症状的一过性感染;若清除失败,HPV会导致持续感染诱发癌前病变甚至最终整合进入宿主DNA、诱发癌变^[1, 14]。感染过程中病毒蛋白E7可干扰细胞适应性、代谢过程、细胞因子信号转导和有丝分裂活性,对建立和维持促致癌基因表型发挥必要作用。然而E7本身并不具备任何酶学特性,其转化活性均是通过与宿主细胞蛋白的相互作用介导。E7可以同RB家族中的3个成员pRb、p107 (RBL1) 和p130 (RBL2) 发生结合,其最主要的致癌途径为通过CR2区的LxcxE序列与pRb结合并使之降解,从而释放活化的E2F转录因子,诱发细胞从G1期进入S期,激发细胞周期蛋白(Cyclins)、细胞分裂周期蛋白(cell division cycle proteins, CDCs)和微小染色体维持蛋白(minichromosome maintenance proteins, MCMs)等表达,促使p16INK4A表达上调,并且可在无E6蛋白的条件下,阻断p53诱导的DREAM复合物靶基因下调,破坏p53依赖性细胞周期检查点,导致细胞过度增殖^[15-16]。此外, E7可利用其N端的残基促进蛋白酶体介导的p107/p130降解,而p107/p130是细胞分裂静止期关键调控物DREAM复合物的重要组成部分,降解导致DREAM复合物破坏,释放出MuvB复合物及E2F4,加速癌变进程^[8]。

MuvB复合物是DREAM复合物的核心蛋白组分,由LIN9、LIN37、LIN52、LIN54、视网膜母细胞瘤结合蛋白48 (retinoblastoma associated protein 48, RBAP48) 共5种蛋白组成,可在细胞周期的不同阶段通过与不同转录因子的结合,调控E7靶蛋白的表达^[10]。在G0/G1期, MuvB复合物主要与E2F转录因子4 (E2F transcription Factor 4,

E2F4)、DP1及p130/p107结合,构成DREAM复合物,进而抑制基因的转录和表达使细胞周期停滞;进入G1/S转换期后,则在细胞周期蛋白依赖性激酶2 (cyclin-dependent kinase 2, CDK2) 及细胞周期蛋白依赖性激酶4 (cyclin-dependent kinase 4, CDK4) 的磷酸化作用下从DREAM复合物中释放,启动B-Myb和叉头框转录因子M1 (fork-head box transcription factor M1, FoxM1) 等早期细胞周期基因转录;而在S期,与B-Myb结合形成转录激活复合物MMB,启动S期基因的表达;S/G2转换期后,则通过与FoxM1结合进一步推进细胞周期的进行^[17-18]。HPV感染的细胞中, E7不仅可同MuvB竞争与p107/p130的结合,扰乱DREAM复合物的形成,还可与G2及M期关键调控因子B-Myb及FoxM1结合,引发细胞周期后期的基因表达失调,导致癌细胞的异常增殖和预后不良^[8, 10, 19-20]。

而LIN9是组成MuvB复合物的支架蛋白,目前已证实可在癌变过程中发挥3个重要作用:首先参与、调控MuvB及DREAM复合物的合成。其过度消耗不仅可直接减少二者合成,还可导致MuvB复合物中的其他组分LIN37和LIN54表达下调,进一步影响合成,而LIN9自身的表达也受上游启动子及DREAM复合物间相互作用的反馈调节^[21]。其次,作为抑癌基因,不仅可通过与pRb的结合发挥协同作用抑制肿瘤发生及癌变,还可激活p53信号转导通路介导细胞凋亡,抑制肿瘤细胞的快速增殖、防止免疫逃逸^[22]。其抑癌作用不受pRb介导的细胞周期抑制及E2F依赖性反向激活的影响,在pRb发生突变时依然能够保持激活转录、促进分化的能力^[23]。最后,可与B-Myb、FoxM1等E7的反应物发生作用,干预有丝分裂和细胞周期。LIN9不仅能够与B-Myb结合激活G2/M转换期的启动因子、促进有丝分裂基因的转录,还能与FoxM1结合形成有

丝分裂基因表达所需的复合物,在有丝分裂和细胞周期调控中发挥关键作用,敲除LIN9可减少B-Myb的转录,使下游基因表达减少、增殖受损^[21,24]。

以往研究表明LIN9与多种癌症相关,不仅可抑制肺癌、卵巢癌等癌细胞的集落形成能力及肝癌表型的发生,还是乳腺癌预后的基因标志物,但其与E7在宫颈癌中的相互作用关系尚不明确^[11, 13, 25-26]。而本研究结果显示,当HaCaT细胞过表达E7时, LIN9 mRNA表达水平显著升高;当CasKi及HeLa细胞沉默E7表达后,其表达水平又显著下降,表明LIN9在宫颈癌中的表达水平受HPV E7的显著影响。其原因可能是LIN9作为重要的抑癌基因,当HPV在宿主细胞中启动早期蛋白E7表达时,其表达即可敏感地受到激发并迅速发生上调,因此能够在感染初期及时抑制E7的转录,并在短时间内迅速达到平衡,对致癌因子E7的早期清除发挥作用;而当E7转录水平降低时, LIN9的表达水平也相应降低,利于维持免疫微环境的平衡。此时, Western blot分析显示pRb蛋白的表达水平显著降低,进一步印证LIN9的转录激活及抑癌作用可以为非pRb依赖性的,并且当pRb通路受到抑制时,能够发挥重要的候补作用。当CasKi和HeLa细胞内的E7因转染siRNA发生沉默时, LIN9表达也随之下调,提示其抑癌作用可随E7表达量的降低或清除而趋于正常。

综上,在后续的临床及科研工作中,可考虑将LIN9作为监测宫颈细胞HPV早期感染及宫颈癌疗效的重要生物学标志物。

参 考 文 献

- [1] Paul AC, Anjua J, Ana O, et al. Cervical Cancer[J]. Lancet, 2019,393(10167):169-182.
- [2] Simms KT, Steinberg J, Caruana M, et al. Impact of scaled up human papillomavirus vaccination and cervical screening and the potential for global elimination of cervical cancer in 181 countries, 2020-99: a modelling study[J]. Lancet Oncol, 2019,20(3):394-407.
- [3] International Agency for Research on Cancer. Human papillomavirus and related diseases in the world[R]. Lyon: IARC, 2019.
- [4] 孙可欣, 郑荣寿, 张思维, 等. 2015年中国分地区恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中国肿瘤, 2019,28(1):1-11.
- [5] Chen W, Molijn A, Enqi W, et al. The variable clinicopathological categories and role of human papillomavirus in cervical adenocarcinoma: a hospital based nation-wide multi-center retrospective study across China[J]. Int J Cancer, 2016,139(12):2687-2697.
- [6] Chen W, Zhang X, Molijn A, et al. Human papillomavirus type-distribution in cervical cancer in China: the importance of HPV 16 and 18[J]. Cancer Cause Control, 2009,20(9):1705-1713.
- [7] Hoppe-Seyler K, Bossler F, Braun JA, et al. The HPV E6/E7 oncogenes: key factors for viral carcinogenesis and therapeutic targets[J]. Trends Microbiol, 2017,26(2):158-168.
- [8] Pang CL, Toh SY, He P, et al. A functional interaction of E7 with B-Myb-MuvB complex promotes acute cooperative transcriptional activation of both S- and M-phase genes[J]. Oncogene, 2014,33(31):4039-4049.
- [9] de Freitas AC, Coimbra EC, Leitao MDCG, et al. Molecular targets of HPV oncoproteins: potential biomarkers for cervical carcinogenesis[J]. Biochim Biophys Acta, 2014,1845(2):91-103.
- [10] DeCaprio JA. Human papillomavirus type 16 E7 perturbs DREAM to promote cellular proliferation and mitotic gene expression[J]. Oncogene, 2014,33(31):4036-4038.
- [11] Esterlechner J, Reichert N, Iltzsche F, et al. LIN9, a subunit of the DREAM complex, regulates mitotic gene expression and proliferation of embryonic stem cells[J]. PLoS One, 2013,8(5):e62882.
- [12] Chen HM, Wang J, Zhang YF, et al. Ovarian cancer proliferation and apoptosis are regulated by human transfer RNA methyltransferase 9-like via LIN9[J]. Oncol Lett, 2017,14(4):4461-4466.
- [13] 熊焱强, 冯晶, 刘朝奇, 等. HPV16E7下调miR-29a促进PC3细胞增殖[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2018,47(2):145-149.
- [14] 中华预防医学会疫苗与免疫分会. 子宫颈癌等人乳头瘤病毒相关疾病免疫预防专家共识[J]. 中华流行病学杂志, 2019,53(8):761-803.
- [15] Gustinucci D, Giorgi RP, Cesarini E, et al. Use of cytology, E6/E7 mRNA, and p16INK4a-Ki-67 to define the management of human papillomavirus (HPV)-positive women in cervical cancer screening[J]. Am J Clin Pathol, 2016,145(1):35-45.
- [16] Fischer M, Uxa S, Stanko C, et al. Human papilloma virus E7 oncoprotein abrogates the p53-p21-DREAM pathway[J]. Sci Rep, 2017,7(1):2603.
- [17] Audra NI, Larisa L. MuvB: A key to cell cycle control in ovarian cancer[J]. Front Oncol, 2018,8:223.
- [18] Muller GA, Stangner K, Schmitt T, et al. Timing of transcription during the cell cycle: protein complexes binding to E2F, E2F/CLE, CDE/CHR, or CHR promoter elements define early and late cell cycle gene expression[J]. Oncotarget, 2016,8(58):97736-97748.
- [19] Nor Rashid N, Yong ZL, Yusof R, et al. HPV 16E7 and 48E7 proteins use different mechanisms to target p130 to overcome cell cycle block[J]. Virol J, 2016,13:2.
- [20] Guiley KZ, Liban TJ, Felthousen JG, et al. Structural Mechanisms of DREAM Complex Assembly and Regulation[J]. Genes Dev, 2015,29(9):961-974.
- [21] Guiley KZ, Iness AN, Saini S, et al. Structural mechanism of Myb-MuvB assembly[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018,115(40):10016-10021.
- [22] Zhou Z, Flesken-Nikitin A, Corney DC, et al. Synergy of p53 and Rb deficiency in a conditional mouse model for metastatic prostate cancer[J]. Cancer Res, 2006,66(16):7889-7898.
- [23] Gargic S, Hauser S, Kolfschoten I, et al. Inhibition of oncogenic transformation by mammalian Lin-9, a pRB-associated protein[J]. EMBO J, 2004,23(23):4627-4638.
- [24] Iness AN, Felthousen J, Ananthapadmanabhan V, et al. The cell cycle regulatory DREAM complex is disrupted by high expression of oncogenic B-Myb[J]. Oncogene, 2019,38(7):1080-1092.
- [25] van 't Veer LJ, Dai H, van de Vijver MJ, et al. Gene expression profiling predicts clinical outcome of breast cancer[J]. Nature, 2002,415(6871):530-536.
- [26] Calvisi DF, Simile MM, Ladu S, Frau M, et al. Activation of v-Myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog-like2 (MYBL2)-LIN9 complex contributes to human hepatocarcinogenesis and identifies a subset of hepatocellular carcinoma with mutant p53[J]. Hepatology, 2011,53(4):1226-1236.

(收稿日期: 2020-06-22)

(本文编辑: 孙荣华)

王鲲鹏, 袁逸杰, 朱嘉琪, 等. LIN9基因在宫颈癌细胞中表达及其与人乳头瘤病毒16/18 E7表达的相关性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2021,15(3):196-201.