

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.21.006

阿奇霉素通过 TRAF6/NF- κ B/VEGF 信号通路抑制哮喘大鼠气道平滑肌细胞增殖

李小莉¹,王 威¹,郭纪元²,郭省香¹

(1. 西安市第三医院儿科 710018; 2. 西安市儿童医院儿科 710002)

[摘要] 目的 探讨阿奇霉素(AZM)抑制哮喘大鼠气道平滑肌细胞(ASMCs)增殖的作用机制。方法 30只SD大鼠分为对照组、哮喘模型组、AZM组。以卵蛋白(OVA)致敏,激发制备哮喘模型,用医学图像分析系统测定各组大鼠肺组织气道相关参数;组织贴块法分离培养原代 ASMCs,并向 AZM 组 ASMCs 中分别转染血管内皮生长因子(VEGF)过表达载体或肿瘤坏死因子受体相关因子 6(TRAF6)过表达载体。蛋白质印迹法测定 VEGF、核因子 κ B(NF- κ B)p65 和 TRAF6 蛋白表达水平;CCK-8 试剂盒检测 ASMCs 的增殖情况。结果 AZM 明显抑制哮喘大鼠总管壁厚度、内壁厚度、平滑肌厚度的增加($P < 0.05$),也明显抑制哮喘模型组 ASMCs 的增殖($P < 0.05$)。AZM 明显抑制哮喘诱导的 NF- κ B p65 和 VEGF 蛋白表达的增加($P < 0.05$);过表达 VEGF 明显减弱 AZM 对 ASMCs 增殖的抑制效应($P < 0.05$)。AZM 明显抑制哮喘诱导的 TRAF6 的高表达($P < 0.05$);过表达 TRAF6 明显减弱 AZM 对 NF- κ B p65 和 VEGF 蛋白表达及 ASMCs 增殖的抑制作用($P < 0.05$)。结论 AZM 能够抑制哮喘大鼠 ASMCs 的增殖,其部分机制可能是通过抑制 TRAF6/NF- κ B/VEGF 信号通路而实现的。

[关键词] 阿奇霉素;哮喘;气道平滑肌细胞;TRAF6;NF- κ B;血管内皮生长因子

[中图分类号] R562.2+5

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)21-2898-04

Azithromycin inhibits proliferation of rat airway smooth muscle cells though TRAF6/NF- κ B/VEGF signaling pathway

Li Xiaoli¹, Wang Wei¹, Guo Jiyuan², Guo Shengxiang¹

(1. Department of Pediatrics, Xi'an Municipal Third Hospital, Xi'an, Shaanxi 710018, China;

2. Department of Pediatrics, Xi'an Municipal Children's Hospital, Xi'an, Shaanxi 710002, China)

[Abstract] **Objective** To explore the mechanism of azithromycin (AZM) for inhibiting the proliferation of rat airway smooth muscle cells (ASMCs). **Methods** Thirty Sprague-Dawley (SD) rats were divided into the control group, asthma model group and AZM group. The rat model of asthma was established by ovalbumin (OVA) sensitization and stimulation in vitro. The airway related parameters of rat lung tissue were determined by using the medical image analysis system. Primary passage ASMCs were isolated and cultured using the tissue-sticking method, and the vascular endothelial growth factor (VEGF) overexpression vector or tumor necrosis factor receptor-associated factor 6 (TRAF6) overexpression vector was transfected into ASMCs in the AZM group. The protein levels of VEGF, NF- κ B p65 and TRAF6 were detected by Western blotting, and the proliferation of ASMCs was evaluated by CCK-8 kit. **Results** AZM significantly inhibited the increase of thickness of total airway wall, thickness of inner airway wall and thickness of airway smooth muscle layer in asthma rats ($P < 0.05$), also significantly inhibited the proliferation of ASMCs in the asthma model group ($P < 0.05$). AZM significantly inhibited the protein expression of VEGF and NF- κ B p65 induced by asthma ($P < 0.05$), and the overexpression of VEGF significantly reduced the inhibiting effects of AZM on proliferation of ASMCs ($P < 0.05$). AZM significantly inhibited the high expression of TRAF6 induced by asthma ($P < 0.05$), and the overexpression of TRAF6 significantly reduced the inhibiting effects of AZM on expression of VEGF and NF- κ B p65 as well as proliferation of ASMCs ($P < 0.05$). **Conclusion** AZM can suppress the proliferation of ASMCs, its partial mechanism may be realized through inhibiting TRAF6/NF- κ B/VEGF signaling pathway.

[Key words] azithromycin; asthma; airway smooth muscle cell; TRAF6; NF- κ B; vascular endothelial growth factor

哮喘是一种常见的气道慢性炎症性疾病,目前全球约有 3 亿哮喘患者^[1]。气道重塑是哮喘的重要病理特征,其最显著的特点是气道平滑肌细胞(airway smooth muscle cells, ASMCs)增殖。哮喘患者 ASMCs 的大量增殖可促使气道收缩力增加,管壁增厚,导致明显的气道狭窄及气道高反应性^[2]。研究表明,阿奇霉素(Azithromycin, AZM)可抑制 ASMCs 增殖^[3],改善哮喘症状,然而其分子机制尚未完全阐明。血管内皮生长因子(VEGF)在哮喘患者和哮喘模型肺组织和血清中均表达上调^[4],且与 ASMCs 的增殖密切相关^[5]。在过敏性鼻炎的外周血中存在肿瘤坏死因子受体相关因子 6(tumor necrosis receptor-associated factor 6, TRAF6)的高表达^[6],且干扰 TRAF6 的表达能够抑制血管平滑肌细胞的增殖^[7]。生物信息学研究表明,TRAF6 可能与支气管哮喘有关^[8]。TRAF6 过表达可以

诱导核因子 κ B(NF- κ B)信号通路的激活^[9],而 NF- κ B 能诱导 VEGF 的表达^[10],并抑制哮喘模型中 NF- κ B 的激活和 VEGF 的表达,缓解哮喘炎症^[11-12]。既往研究表明,AZM 可以影响 TRAF6、NF- κ B 和 VEGF 的表达^[13-14]。因此,推测 TRAF6、NF- κ B 和 VEGF 有可能参与了 AZM 对 ASMCs 增殖的抑制过程。本研究分析了 AZM 处理后哮喘大鼠模型肺组织及其 ASMCs 中 NF- κ B p65、VEGF 和 TRAF6 的表达变化及其对 ASMCs 增殖的影响,从而探讨 AZM 抑制哮喘 ASMCs 增殖的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及主要试剂 清洁级雄性 SD 大鼠 30 只,4~6 周龄,体质量 100~200 g,购自第四军医大学实验动物中心,所有动物实验遵守《实验动物管理条例》,符合动物伦理学标准;

AZM(西安利君制药有限公司); 鸡卵清蛋白(ovalbumin, OVA)、氢氧化铝粉[Al(OH)₃]和 CCK-8 试剂盒(美国 Sigma 公司); PCR 扩增试剂盒、pcDNA3.1-GFP 载体、Lipofectamine™2000 转染试剂(美国 Invitrogen 公司); DMEM 培养基、胎牛血清(美国 Gibco 公司); RIPA 裂解液、二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒和电化学发光(ECL)试剂(上海碧云天公司); 聚偏氟乙烯(PVDF)膜(美国 Millipore 公司); 兔抗大鼠 NF-κB P65 多克隆抗体、兔抗大鼠 VEGF 多克隆抗体、兔抗大鼠 TRAF6 单克隆抗体、小鼠抗大鼠 β-actin 单克隆抗体、辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔、兔抗小鼠 IgG(英国 Abcam 公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及哮喘模型的建立 将 30 只 SD 大鼠分为 3 组(n=10); 对照组、哮喘模型组和 AZM 组。哮喘模型组和 AZM 组小鼠, 在第 1、8 天腹腔注射 1 mL 含 10 mg OVA 和 100 mg Al(OH)₃ 的生理盐水溶液致敏, 第 15 天开始给予 2% OVA 生理盐水溶液雾化吸入以激发气道, 每次 20 min, 每日 1 次, 共持续 4 周。其中 AZM 组, 从第 15 天开始于雾化激发前 30 min 给予 AZM(50 mg/kg) 腹腔注射。对照组小鼠在致敏与激发时均以生理盐水代替 OVA。各组大鼠均于末次雾化激发 24 h 后处死, 迅速取下肺组织, 部分肺组织以 4% 多聚甲醛固定后制成病理切片, 部分肺组织用于 ASMCs 分离, 剩余肺组织以液氮冻存待检。同时, 分离出哮喘大鼠致敏血清, -20 °C 保存备用。

1.2.2 气道相关参数的测定 取肺组织病理切片, 选取完整不含软骨的支气管横截面, 用医学图像分析软件 Image-Pro Plus 6.0 测定肺组织支气管基底膜周径(basement membrane perimeter, Pbm)、支气管壁总面积(total bronchial wall area, WAt)、气道内壁面积(inner way area, WAI)和平滑肌面积(smooth muscle area, WAm), 并用 Pbm 将测量值标准化, 分别代表总管壁厚度(WAt/Pbm)、内壁厚度(WAI/Pbm)和平滑肌厚度(WAm/Pbm)。

1.2.3 大鼠 ASMCs 的培养及细胞增殖测定 按照文献[15]方法, 无菌条件下迅速分离各组大鼠的气道平滑肌组织, 应用组织贴块法, 于 37 °C、5% CO₂ 环境下培养原代 ASMCs, 胰酶消化传代。取 4~6 代各组 ASMCs, 分别制成浓度为 5 × 10⁴ /mL 的细胞悬液, 按每孔 200 μL 接种于 96 孔板, 37 °C、5% CO₂ 培养 24 h, 换成无血清的 DMEM 培养液继续培养 24 h, 使细胞同步于 G₀ 期, 然后向对照组 ASMCs 中加入含 10% 胎牛血清的培养液, 向哮喘模型组 ASMCs 中加入含致敏大鼠血清的培养液, 向 AZM 组 ASMCs 中同时加入含致敏大鼠血清和不同浓度的 AZM(3 × 10⁻⁶、6 × 10⁻⁶、1 × 10⁻⁵ mol/L) 的培养液, 37 °C、5% CO₂ 培养 48 h 后, 每孔加 10 μL CCK-8 检测液, 继续培养 2 h 后, 酶联免疫检测仪检测 450 nm 处各孔测定吸光度(A)值。

1.2.4 TRAF6 和 VEGF 过表达载体的构建及转染 根据 Gen Bank 中 TRAF6 和 VEGF 基因序列, 采用软件 Oligo 6 设计相应引物, 用 PCR 方法扩增获得目的基因。将测序正确的 TRAF6 或 VEGF 序列克隆到 pcDNA3.1-GFP 载体中, 构建 pcDNA3.1-TRAF6-GFP 或 pcDNA3.1-VEGF-GFP 过表达载体^[16]。采用 lipofectamine™2000 向 AZM 组 ASMCs 中分别转染 pcDNA3.1-TRAF6-GFP 过表达载体 (TRAF6) 或 pcDNA3.1-VEGF-GFP 过表达载体 (VEGF), 以空质粒 pcDNA 3.1-GFP 作为对照 (载体对照组)。转染细胞在 37 °C、5% CO₂ 条件下培养 48 h 后, 蛋白质印迹法(Western blotting)检测蛋白表达情况, CCK-8 试剂盒检测 ASMCs 增殖情况。

1.2.5 Western blotting 检测 用 RIPA 裂解液分别裂解适

量各组大鼠肺组织及 ASMCs, 离心提取总蛋白, BCA 试剂盒测定蛋白水平。取 20 μg 总蛋白行 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 然后分别加入兔抗大鼠 TRAF6 单克隆抗体、兔抗大鼠 NF-κB P65 多克隆抗体、兔抗大鼠 VEGF 多克隆抗体或小鼠抗大鼠 β-actin 单克隆抗体, 4 °C 孵育过夜, 漂洗后分别加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔、兔抗小鼠 IgG, 室温孵育 1 h, 洗膜后加入 ECL 发光试剂显影扫描。以 β-actin 作为内参, 用 Image j 软件对条带进行分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

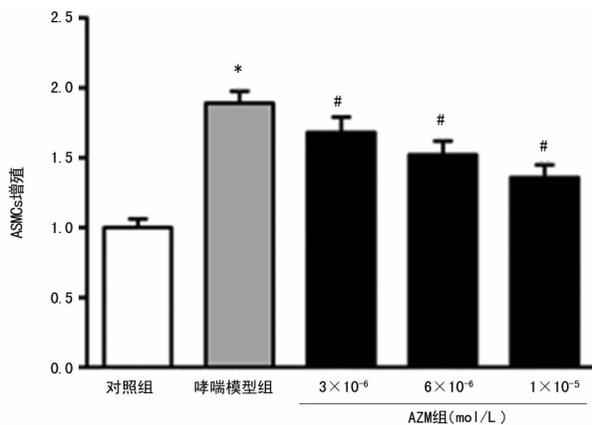
2 结果

2.1 AZM 抑制哮喘大鼠气道重塑及 ASMCs 增殖 大鼠肺组织切片气道参数检测显示, 哮喘模型组气道 WAt/Pbm、WAI/Pbm、WAm/Pbm 均明显高于对照组(P < 0.05); AZM 组气道 WAt/Pbm、WAI/Pbm、WAm/Pbm 均明显低于哮喘模型组(P < 0.05), 见表 1。CCK-8 检测各组大鼠 ASMCs 增殖的变化, 结果显示: 与对照组相比, 哮喘模型组 ASMCs 增殖明显增加(P < 0.05); 与哮喘模型组相比, AZM 组 ASMCs 增殖明显减少(P < 0.05), 且具有一定的剂量依赖性, 见图 1。

表 1 各组大鼠气道 WAt/Pbm、WAI/Pbm 及 WAm/Pbm 比较 (n=10, $\bar{x} \pm s, \mu\text{m}^2/\mu\text{m}$)

组别	WAt/Pbm	WAI/Pbm	WAm/Pbm
对照组	21.592 ± 2.137	16.592 ± 1.733	3.835 ± 1.024
哮喘模型组	38.635 ± 3.526*	30.635 ± 3.088*	9.613 ± 1.116*
AZM 组	29.074 ± 2.509#	22.824 ± 2.146#	6.942 ± 1.063#

*: P < 0.05, 与对照组比较; #: P < 0.05, 与哮喘模型组比较



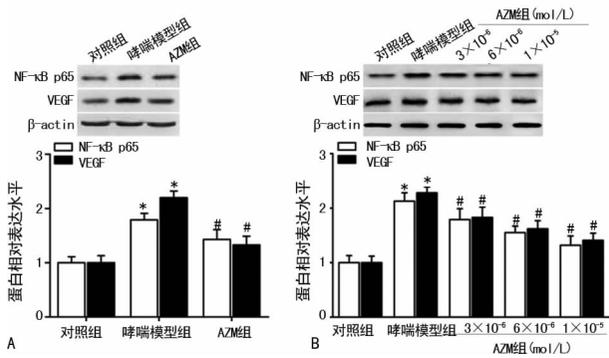
*: P < 0.05, 与对照组比较; #: P < 0.05, 与哮喘模型组比较

图 1 AZM 对大鼠 ASMCs 增殖的影响

2.2 AZM 抑制哮喘大鼠 NF-κB p65 和 VEGF 蛋白的表达 Western blotting 检测显示: 与对照组相比, 哮喘模型组大鼠肺组织及其 ASMCs 中 NF-κB p65 和 VEGF 蛋白表达均明显增加(P < 0.05), 见图 2A、B; 与哮喘模型组相比, AZM 组大鼠肺组织及其 ASMCs 中 NF-κB p65 和 VEGF 蛋白表达均明显减少(P < 0.05), 见图 2A、B。且 NF-κB p65 和 VEGF 蛋白在 ASMCs 中的表达呈 AZM 剂量依赖性, 见图 2B。

2.3 过表达 VEGF 减弱 AZM 对 ASMCs 增殖的抑制作用 Western blotting 检测显示: 与对照组相比, AZM+VEGF 过表达组 VEGF 蛋白水平明显增加(P < 0.05), 见图 3A。CCK-8 检测显示: 与 AZM 组相比, VEGF 过表达后 AZM 对 ASMCs

增殖的抑制效应明显减少($P < 0.05$),见图 3B。

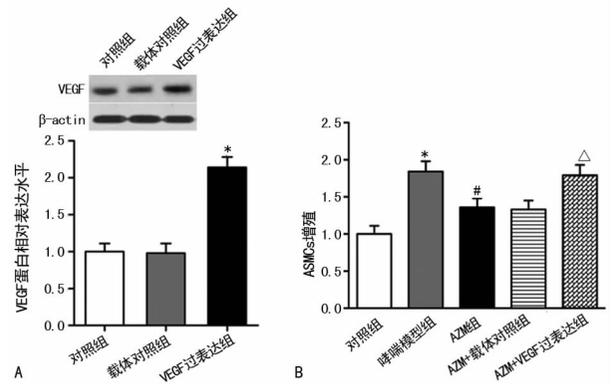


A:肺组织;B:ASMCS;*: $P < 0.05$,与对照组比较;#: $P < 0.05$,与哮喘模型组比较

图2 各组大鼠肺组织及 ASMCS 中 NF-κB p65 和 VEGF 蛋白的表达

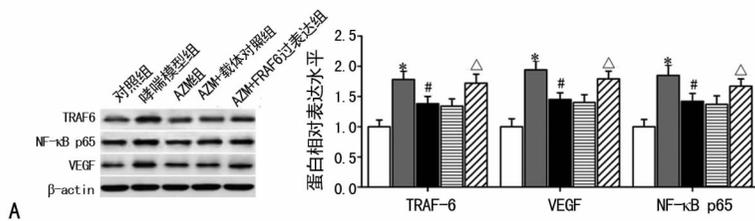
2.4 过表达 TRAF6 减弱 AZM 对 NF-κB p65 和 VEGF 蛋白表达及 ASMCS 增殖的抑制作用 Western blotting 检测显示:与对照组相比,哮喘模型组 ASMCS 中 TRAF6 蛋白表达明显增加($P < 0.05$);与哮喘模型组相比,AZM 组 TRAF6 蛋白表达明显减少($P < 0.05$);与 AZM 组相比,TRAF6 过表达后

AZM 对 TRAF6、VEGF 和 NF-κB p65 蛋白表达的抑制效应明显减少($P < 0.05$),见图 4A。CCK-8 检测显示:与 AZM 组相比,TRAF6 过表达后 AZM 对 ASMCS 增殖的抑制效应明显减少($P < 0.05$),见图 4B。



A:VEGF 蛋白在 AZM 组 ASMCS 中的过表达;B:各组 ASMCS 的增殖;*: $P < 0.05$,与对照组比较;#: $P < 0.05$,与哮喘模型组比较;△: $P < 0.05$,与 AZM 组比较

图3 VEGF 过表达及其对 ASMCS 增殖的影响



A:TRAF6、VEGF 和 NF-κB p65 蛋白在各组 ASMCS 的表达;B:各组 ASMCS 的增殖;*: $P < 0.05$,与对照组比较;#: $P < 0.05$,与哮喘模型组比较;△: $P < 0.05$,与 AZM 组比较

图4 TRAF6 过表达及其对 NF-κB p65 和 VEGF 蛋白表达及 ASMCS 增殖的影响

3 讨论

ASMCS 过度增殖是支气管哮喘气道重塑的一个重要因素,也是许多趋化因子、细胞炎性因子的重要来源。增殖的 ASMCS 能够导致气道管壁增厚、气道狭窄,加重哮喘气道炎症,引起气道高反应性。因此,抑制 ASMCS 的增殖对哮喘及气道重塑的逆转和预防有着重要意义。本研究发现,哮喘模型大鼠气道 WAt/Pbm、WAI/Pbm 和 WAm/Pbm 较正常大鼠均明显增加,哮喘模型组 ASMCS 增殖也明显增加,而 AZM 处理后,气道 WAt/Pbm、WAI/Pbm 和 WAm/Pbm 均明显减少,ASMCS 增殖也明显减少,证实 AZM 能够抑制 ASMCS 增殖,减缓气道重塑,与以往报道一致^[3,17]。

有研究显示,哮喘大鼠 ASMCS 的增殖与 VEGF mRNA 及蛋白表达水平呈正相关^[5];VEGF 的表达也与 NF-κB 信号通路密切相关^[10],且研究表明 NF-κB 活化也参与哮喘 ASMCS 的增殖^[18]。因此,本研究分析了 NF-κB/VEGF 通路在 AZM 抑制哮喘 ASMCS 增殖中的作用,结果表明哮喘大鼠肺组织及 ASMCS 中 NF-κB p65 和 VEGF 蛋白表达水平较正常大鼠均明显增加,证实 NF-κB/VEGF 信号通路参与了哮喘过程。AZM 处理后,NF-κB p65 和 VEGF 蛋白表达水平均明显减少,这与郭彩霞^[19]报道的 AZM 能够抑于预慢性阻塞性肺病中 NF-κB 通路的激活一致。同时,VEGF 的过表达能够显著减弱 AZM 对 ASMCS 增殖的抑制效应,表明 AZM 可能部分通过抑

制 NF-κB/VEGF 信号通路抑制哮喘大鼠 ASMCS 的增殖。

TRAF6 是 NF-κB 信号通路的重要调节因子,且 TRAF6 与 VEGF 的表达存在相关性^[20]。AZM 能够减少破骨细胞中 TRAF6 mRNA 的表达^[13],提示 AZM 可能通过 TRAF6 调控 NF-κB/VEGF 信号通路参与哮喘进程。因此,本研究分析了 TRAF6 在 AZM 抑制哮喘 ASMCS 中的作用,结果显示哮喘模型组 ASMCS 中 TRAF6 蛋白表达较对照组明显增加,这与 Riba 等^[8]报道的 TRAF6 高表达与支气管哮喘发作相关一致^[8]。AZM 处理后,TRAF6 蛋白表达水平明显减少。同时,TRAF6 过表达能减弱 AZM 对 VEGF 和 NF-κB p65 蛋白表达的抑制效应,也能逆转 AZM 对 ASMCS 增殖的抑制效应,表明 AZM 对哮喘大鼠 ASMCS 增殖的抑制作用可能部分是通过阻断 TRAF6/NF-κB/VEGF 信号通路而实现的,这可能也是 AZM 延缓哮喘气道重塑的重要机制之一。

综上所述,AZM 能够抑制哮喘大鼠 ASMCS 的增殖,其部分机制可能是通过抑制 TRAF6/NF-κB/VEGF 信号通路而实现的。

参考文献

- [1] Normansell R, Kew KM, Mansour G. Different oral corticosteroid regimens for acute asthma[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2016(5): CD011801.

- [2] 潘亦林,朱燕亭,李满祥. 支气管哮喘气道重塑的研究进展[J/CD]. 中华肺部疾病杂志(电子版),2015,8(6):97-100.
- [3] 尹娟,戴元荣,徐慧,等. 阿奇霉素对哮喘大鼠气道平滑肌细胞生长的影响[J]. 浙江医学,2010,32(5):685-687.
- [4] Smith R. Is VEGF a potential therapeutic target in asthma? [J]. *Pneumologia*,2014,63(4):194,197-199.
- [5] 邹晖,徐永健,张珍祥. 血管内皮生长因子及其受体 2 与哮喘模型大鼠气道平滑肌细胞增殖关系的研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2010,19(4):321-326.
- [6] Luo X, Hong H, Tang J, et al. Increased expression of miR-146a in children with allergic rhinitis after allergen-specific immunotherapy [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*,2016,8(2):132-140.
- [7] Dong LH, Li L, Song Y, et al. TRAF6-mediated SM22 α K21 ubiquitination promotes G6PD activation and NADPH production, contributing to GSH homeostasis and VSMC survival in vitro and in vivo [J]. *Circ Res*,2015,117(8):684-694.
- [8] Riba M, Garcia Manteiga JM, Bošnjak B, et al. Revealing the acute asthma ignome, characterization and validation of uninvestigated gene networks [J]. *Sci Rep*,2016,6:24647.
- [9] Qiu H, Huang F, Xiao H, et al. TRIM22 inhibits the TRAF6-stimulated NF- κ B pathway by targeting TAB2 for degradation [J]. *Virol Sin*,2013,28(4):209-215.
- [10] Zhu T, Wang DX, Zhang W, et al. Andrographolide protects against LPS-induced acute lung injury by inactivation of NF- κ B [J]. *PLoS One*,2013,8(2):e56407.
- [11] Huang CQ, Li W, Wu B, et al. *Pheretima aspergillum* decoction suppresses inflammation and relieves asthma in a mouse model of bronchial asthma by NF- κ B inhibition [J]. *J Ethnopharmacol*,2016,189:22-30.
- [12] Zha WJ, Su M, Huang M, et al. Administration of pigment epithelium-derived factor inhibits airway inflammation and remodeling in chronic OVA-induced mice via VEGF suppression [J]. *Allergy Asthma Immunol Res*,2016,8(2):161-169.
- [13] Gannon SC, Cantley MD, Haynes DR, et al. Azithromycin suppresses human osteoclast formation and activity in vitro [J]. *J Cell Physiol*,2013,228(5):1098-1107.
- [14] Wan YF, Huang ZH, Jing K, et al. Azithromycin attenuates pulmonary inflammation and emphysema in smoking-induced COPD model in rats [J]. *Respir Care*,2015,60(1):128-134.
- [15] Zhao L, Wu J, Zhang X, et al. The effect of Shenmai injection on the proliferation of rat airway smooth muscle cells in asthma and underlying mechanism [J]. *BMC Complement Altern Med*,2013,13:221.
- [16] 郑湘榕,张珊珊,杨于嘉,等. 内皮细胞特异性表达血管内皮生长因子基因载体的构建及表达特性验证 [J]. 中国现代医学杂志,2010,20(21):3205-3209.
- [17] 郭敏,郭悦鹏. 阿奇霉素对哮喘大鼠气道重塑的影响 [J]. 新乡医学院学报,2013,30(5):364-367.
- [18] 韦江红,莫碧文,黄剑伟. TLR4/NF- κ B 对哮喘大鼠气道平滑肌细胞增殖、凋亡的影响 [J]. 中国现代医学杂志,2011,21(25):3110-3115.
- [19] 郭彩霞. 阿奇霉素经 TLR-4/NF- κ B 信号通路干预 COPD 大鼠炎症的机制研究 [J]. 重庆医学,2016,45(12):1612-1615.
- [20] Bruneau S, Datta D, Flaxenburg JA, et al. TRAF6 inhibits proangiogenic signals in endothelial cells and regulates the expression of vascular endothelial growth factor [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2012,419(1):66-71.

(收稿日期:2017-02-05 修回日期:2017-04-10)

(上接第 2897 页)

物后,RCC 细胞系中 DACT2 基因表达的恢复情况及 RCC 细胞系的变化情况,以期进一步探讨 DACT2 基因与 RCC 发生、发展的关系,为 RCC 的发病机制提供更深入的理论依据。同时,为 RCC 的早期诊断与治疗提供一个可能的生物学标志。

参考文献

- [1] Baylin SB, Ohm JE. Epigenetic gene silencing in cancer - a mechanism for early oncogenic pathway addiction? [J]. *Nat Rev Cancer*,2006,6(2):107-116.
- [2] Jones PA, Baylin SB. The fundamental role of epigenetic events in cancer [J]. *Nat Rev Genet*,2002,3(6):415-428.
- [3] Jones PA, Takai D. The role of DNA methylation in mammalian epigenetics [J]. *Science*,2001,293(5532):1068-1070.
- [4] Cooney CA, Dave AA, Wolff GL. Maternal methyl supplements in mice affect epigenetic variation and DNA methylation of offspring [J]. *J Nutr*,2002,132(8 Suppl):S2393-2400.
- [5] Jia Y, Yang Y, Brock MV, et al. Epigenetic regulation of DACT2, a key component of the Wnt signalling pathway in human lung cancer [J]. *J Pathol*,2013,230(2):194-204.
- [6] Wang S, Dong Y, Zhang Y, et al. DACT2 is a functional tumor suppressor through inhibiting Wnt/ β -catenin pathway and associated with poor survival in colon cancer [J]. *Oncogene*,2015,34(20):2575-2585.
- [7] Zhao Z, Herman JG, Brock MV, et al. Methylation of DACT2 promotes papillary thyroid cancer metastasis by activating Wnt signaling [J]. *PLoS One*,2014,9(11):e112336.
- [8] Yu Y, Yan W, Liu X, et al. DACT2 is frequently methylated in human gastric cancer and methylation of DACT2 activated Wnt signaling [J]. *Am J Cancer Res*,2014,4(6):710-724.
- [9] Hou J, Liao LD, Xie YM, et al. DACT2 is a candidate tumor suppressor and prognostic marker in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer Prev Res (Phila)*,2013,6(8):791-800.

(收稿日期:2017-02-25 修回日期:2017-04-30)