



DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.01.002

<http://xbyx.xysm.net/xbwk/fileup/PDF/2013017.pdf>

siRNA 抑制 DJ-1 基因表达对肺鳞癌 SK-MES-1 细胞生物学行为的影响

魏旺丽¹, 汤参城², 詹显全¹, 易红¹, 李萃¹

(中南大学湘雅医院 1. 卫生部肿瘤蛋白质组学重点实验室; 2. 医学科学研究中心, 长沙 410008)

[摘要] 目的: 采用 RNA 干扰技术下调 DJ-1 基因在肺鳞癌细胞 SK-MES-1 中的表达, 探讨 DJ-1 表达下调对 SK-MES-1 细胞生物学行为的影响, 以期探讨 DJ-1 基因的功能。方法: 构建靶向 DJ-1 基因 siRNA 慢病毒载体(重组慢病毒中有绿色荧光蛋白真核表达框), 感染 SK-MES-1 细胞(DJ-1 siRNA 组), 并设立慢病毒载体对照组(Control-siRNA 组)及空白对照组。荧光显微镜下观察并计算感染效率, Western 印迹检测各组细胞中 DJ-1 蛋白表达水平, MTT 法检测细胞增殖能力, 流式细胞术测定细胞周期, Transwell 小室实验检测细胞体外迁移侵袭能力。结果: 与 Control-siRNA 组及空白对照组比较, DJ-1 siRNA 组的 DJ-1 蛋白表达受到抑制、细胞增殖能力明显减弱 ($P < 0.01$)、G₁/G₂ 期细胞数增多和 S 期细胞数减少表明细胞周期受阻、细胞体外迁移和侵袭能力显著减弱 ($P < 0.01$)。结论: DJ-1 基因具有促进肺鳞癌细胞 SK-MES-1 细胞的增殖和体外迁移侵袭的作用。

[关键词] 肺癌; DJ-1; siRNA; 细胞增殖; 细胞周期; 细胞迁移

Effect of DJ-1 siRNA on biological behavior of human lung squamous carcinoma SK-MES-1 cells

WEI Wangli¹, TANG Can'e², ZHAN Xianquan¹, YI Hong¹, LI Cui¹

(1. Key Laboratory of Cancer Proteomics of Chinese Ministry of Health;
2. Center of Medical Science Research, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, China)

ABSTRACT

Objective: RNA interference technology (siRNA) was used to inhibit the expression of DJ-1 gene in lung squamous cell carcinoma SK-MES-1 cells, and the cell biological behaviors were investigated to explore the function of DJ-1 gene.

Methods: A targeted DJ-1 siRNA lentiviral vector with a green fluorescent protein (GFP) as a reporter was constructed. The constructed DJ-1 siRNA and control-siRNA vectors were infected into SK-MES-1 cells as experimental (DJ-1 siRNA) and control (Control siRNA) groups,

收稿日期 (Date of reception): 2012-09-19

作者简介 (Biography): 魏旺丽, 硕士研究生, 主要从事肺癌发病学方面的研究。

通信作者 (Corresponding author): 李萃, Email: licuipwb@126.com

基金项目 (Foundation items): 国家自然科学基金 (30972970); 湖南省卫生厅科研基金 (B2010-005); 中南大学湘雅医院引进人才基金。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (30972970) and Hunan Province Scientific Funds of Department of Health, P. R. China (B2010-005) and Central South University Xiangya Hospital Funds for Talent Introduction.

respectively. The DJ-1 protein expression was determined by Western blot. The cell proliferation capability was measured with methyl thiazolyl tetrazolium (MTT). The cell cycle was analyzed by flow cytometry. The capability of cell migration was determined by Transwell method.

Results: Compared with control-siRNA and blank-control groups, the protein expression of DJ-1 gene was down-regulated, the capability of cell proliferation was obviously inhibited ($P<0.01$), the cell cycle was arrested with increased number of G₁- and G₂-phase cells and reduced number of S-phase cells, and the capability of cell migration was significantly decreased ($P<0.01$) in the DJ-1 siRNA-infected cells.

Conclusion: DJ-1 gene might play a role in promoting cell proliferation and cell migration capability in vitro in lung cancer SK-MES-1 cells.

KEY WORDS

lung cancer; DJ-1; siRNA; cell proliferation; cell cycle; cell migration

DJ-1 基因参与多种肿瘤(乳腺癌、视网膜色素层恶性黑色素瘤、卵巢癌、肺癌、喉癌、急性白血病)病理发生过程^[1-5]。本室曾用激光捕获显微切割联合蛋白质组学技术筛选肺鳞癌原发灶组织和淋巴结转移灶组织的差异蛋白质时发现 DJ-1 蛋白为肺鳞癌转移相关蛋白质^[6]。其他研究组也报道 DJ-1 在癌旁组织、无转移的肺鳞癌组织和有转移的肺鳞癌原发灶组织中的表达呈递增趋势^[4], 并且肺鳞癌中的表达显著高于正常支气管上皮细胞, 与肺癌转移、复发、化疗抵抗正相关, 与预后负相关, 可用于诊断和预测癌症病人的预后^[2-5,7], 提示 DJ-1 与肺鳞癌的发生发展密切相关。

RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 是一门新兴的基因阻断技术, 由双链 RNA(dsRNA) 引发的特异性降解相应序列 mRNA 导致靶基因的抑制, 属于转录后水平的基因沉默机制^[8]。RNA 沉默存在两种既有联系又有区别的途径: siRNA (small interference RNA) 途径和 miRNA (microRNA) 途径。miRNA 是单链结构, 内源性的, 主要作用于靶标基因 3'-UTR 区, 在发育过程中调节内源基因表达; siRNA 是双链结构, 人工体外合成的, 可作用于 mRNA 的任何部位, 不参与生物生长, 是 RNAi 的产物, 原始作用是抑制转座子活性和病毒感染。慢病毒感染效率高, 激发免疫反应作用弱, 是携带干扰 RNA 的理想载体。因此, 本研究采用 RNA 干扰技术, 以慢病毒为工具制备 DJ-1 siRNA 重组慢病毒载体, 感染人肺鳞癌细胞株 SK-MES-1, 观察其对入肺鳞癌细胞内源性 DJ-1 基因的干扰效应, 及 DJ-1 表达下调对于 SK-MES-1 细胞生物学行为的影响, 进而阐明 DJ-1 与肺鳞癌发生发展的关系, 以期为 DJ-1 RNA 干扰基因治疗的临床应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

人肺鳞癌细胞 SK-MES-1, DJ-1 基因 siRNA 慢病毒载体、对照 siRNA 购自上海吉凯基因化学技术有限公司。兔抗人 DJ-1 抗体、辣根过氧化物酶标记羊抗兔二抗均购自美国 Sigma 公司; 四甲基偶氮唑盐 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)、MEM 培养基、胎牛血清购自美国 Gibco 公司; Transwell 小室、6 孔细胞培养板购自美国 Corning 公司。

1.2 方法

1.2.1 DJ-1 基因发夹样 siRNA 的设计、合成与重组真核表达质粒的构建

根据 DJ-1 基因序列 (NM 007262, 图 1), 针对编码序列用 Ambion 在线软件 (<http://zh.invitrogen.com/site/cn/zh/home/Products-and-Services/Applications/rnai/Synthetic-RNAi-Analysis.html>) 分别设计并合成 DNA oligo 单链 1, 2 作为 RNAi 靶点, 同时设计 Control siRNA 的 DNA oligo 单链 3, 4 (表 1), 退火形成 DNA oligo 双链, 末端引入 Age I 和 Eco RI 酶切位点, 以慢病毒 PGCSIL-GFP 为载体, 构建带有包含 GFP 蛋白和 DJ-1 RNAi 序列的慢病毒载体及 Control siRNA 慢病毒载体。

1.2.2 细胞培养及 siRNA 病毒感染

SK-MES-1 细胞采用含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基, 置于 37 °C 的 CO₂ 培养箱中常规培养。待细胞融合至 60% 以上时, 加入适量构建好的包含 GFP 表达的上述重组病毒, 感染复数 (multiplicity of infection, MOI)=10 感染细胞 (DJ-1 siRNA 组), 同时设阴性 siRNA 感染组 (Control-siRNA 组) 及未感染组 (空白对照组) 作为对照。细胞感染 48 h 后,

用倒置荧光显微镜 (Leica, DMI3000B, 德国) 观察细胞内 GFP 的表达, 检测感染效率。

1.2.3 Western 印迹检测蛋白表达

将上述 3 组细胞经预冷的 PBS 漂洗 2 遍后, 加入 200 μ L 细胞裂解缓冲液 (50.0 mmol/L Tris pH=7.6, 150.0 mmol/L NaCl, 0.1% SDS, 1.0% NP-40, 蛋白酶抑制剂, 磷酸酶抑制剂), 刮取细胞, 4 $^{\circ}$ C 旋转裂解

30 min, 12000 r/min 离心 30 min, 收集上清液, 经 Bradford 法测定蛋白质浓度后, 取 50 μ g 总蛋白进行 12% 聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE), 按常规方法转移至 PVDF 膜上, 加入 DJ-1 抗体 (1:5000 稀释) 进行蛋白质表达测定。用 Photoshop CS4 (Adobe 公司) 图像分析系统对蛋白质条带进行分析。

Homo sapiens parkinson protein 7 (PARK7), transcript variant 1, mRNA

```

                                atggcctt ccaaaagagc
181 tctgggtcctc ctggctaaag gagcagagga aatggagacg gtcacccctg tagatgtcat
241 gaggcgagct gggattaagg tcaccgttgc aggcctggct ggaaaagacc cagtacagtg
301 tagccgtgat gtggtcattt gtctctgatgc cagccttgaa gatgcaaaaa aagagggacc
361 atatgatgtg gtggttctac caggaggtaa tctgggcgca cagaatttat ctgagtctgc
421 tgctgtgaag gagatactga aggagcagga aaaccggaag ggctgatag ccgccatctg
481 tgcaggctct actgctctgt tggctcatga aataggtttt ggaagtaaag ttacaacaca
541 ccctcttgct aaagacaaaa tgatgaatgg aggtcattac acctactctg agaatcgtgt
601 ggaaaaagac ggcctgattc ttacaagccg ggggcctggg accagcttcg agtttgcgct
661 tgcaattgtt gaagccctga atggcaagga gttggcggct caagtgaagg ctccacttgt
721 tcttaaagac tag

```

图 1 DJ-1 基因和用来设计 siRNA 的靶序列 (253~271)。

Figure 1 DJ-1 gene and its target sequence (253-271) that was used to design siRNA.

表 1 引物的核苷酸序列

Table 1 Nucleotide sequences of the primers

DNA oligo 单链	5' \rightarrow 3'
DJ-1 siRNA 1	CCGGGATTAAGGTCACCGTTCATTCGAAGAGATGCAACGGTGACCTTAATCTTTTGG
DJ-1 siRNA 2	AATTCAAAAAGATAAGGTCACCGTTCATCTCTTGAATGCAACGGTGACCTTAATC
Control siRNA 3	CCGGTTCCTCCGAACGTGTCACGTTCAAGAGAACGTGACACGTTCCGAGAAATTTTG
Control siRNA 4	AATTCAAAAATCTCCGAACGTGTCACGTTCTCTTGAAACGTGACACGTTCCGGAGAA

1.2.4 MTT 法检测细胞生长

收集上述 3 组对数生长期细胞以 1×10^3 / 孔的密度接种于 96 孔板, 每孔 200 μ L。然后加入 20 μ L MTT (5 mg/mL), 37 $^{\circ}$ C 孵育 4 h 后去除孔内液体。加 150 μ L DMSO, 酶标仪 (MK3, THERMO, 美国) 上快速振荡 60 s 以充分溶解孔内沉淀后, 于 490 nm 波长处检测各孔吸光度值。

1.2.5 流式细胞术检测细胞周期

收集生长状态良好无血清培养 24 h 后的上述 3 组细胞, PBS 洗涤细胞 1 次, 2000 r/min 离心 5 min, 70% 乙醇重悬, 调整细胞密度为 1×10^6 /mL, 于 4 $^{\circ}$ C 冰箱固定过夜。次日早上用冷 PBS 洗去固定液, 用 100 μ L RNaseA (0.5 mg/mL) 37 $^{\circ}$ C 水浴 30 min, 每管加 400 μ L 碘化丙啶 (propidium

iodide, PI; 10 μ g/mL) 染色液, 4 $^{\circ}$ C 避光 30 min。流式细胞仪 (FACSCanto II, BD Biosciences, 美国) 检测细胞周期分布。

1.2.6 Tanswell 小室实验检测细胞的迁移能力

胰酶消化对数生长期的上述 3 组细胞并制成单细胞悬液, 往 Tanswell 小室的下室内加 600 μ L 含 10% 胎牛血清的 MEM 培养基, 上室内则接种 300 μ L 密度为 $0.5 \sim 1.0 \times 10^6$ /mL 的细胞悬液。37 $^{\circ}$ C, 5% CO₂ 条件下孵育 48 h。PBS 洗涤小室, 棉拭子去除侵袭小室内未穿过基底层膜的细胞, 黏附在小室下层表面的细胞经甲醇固定后, 浸入 Giemsa 染色液染色 20 min。洗去侵袭小室内多余的染料, 空气中干燥。随机取不同视野 ($\times 100$) 计数细胞个数。

1.3 统计学处理

运用 SPSS 15.0 统计软件包进行统计学分析, 每组实验重复 3 次, 结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间比较采用 t 检验, 检验水准为双侧 $\alpha = 0.05$, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DJ-1 siRNA 重组慢病毒载体的感染效率

DJ-1 siRNA 重组慢病毒载体感染 SK-MES-1 细胞 12 h 后, 在倒置荧光显微镜下可见细胞内出现绿色荧光, 随着转染时间的延长, 绿色荧光逐渐

增多增强。随机选择同一视野荧光 (69 个) 和白光 (75 个) 下对比观察细胞中 GFP 表达细胞数并计算其比值作为感染效率, 其 48 h 慢病毒载体的感染效率约为 92% (图 2)。

2.2 DJ-1 siRNA 抑制 SK-MES-1 细胞 DJ-1 的表达

Western 印迹结果显示: DJ-1 siRNA 干扰组中 DJ-1 的蛋白质表达明显低于 Control-siRNA 组和空白对照组, DJ-1 siRNA 能特异性地抑制 SK-MES-1 细胞中 DJ-1 的表达, 而 Control-siRNA 对 DJ-1 的表达没有影响 (图 3)。

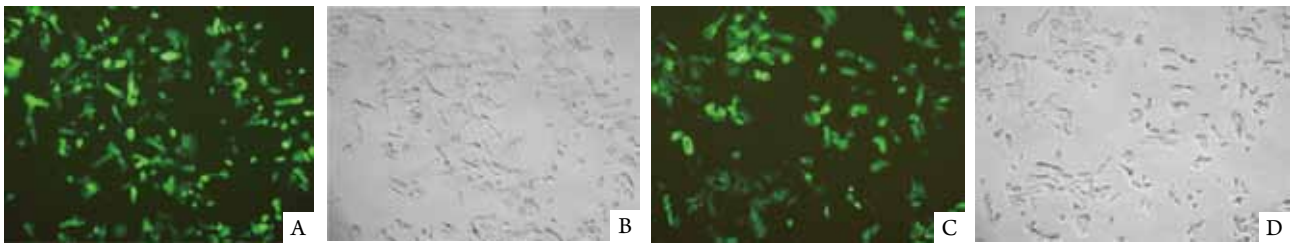


图 2 DJ-1 siRNA 与 Control-siRNA 重组慢病毒载体感染 SK-MES-1 细胞 48 h 后显微镜下所见 (100 \times)。A, B: 依次分别为 DJ-1 siRNA 慢病毒载体感染 SK-MES-1 细胞荧光和白光图; C, D: 依次分别为 Control-siRNA 慢病毒载体感染 SK-MES-1 细胞荧光和白光图。

Figure 2 Morphology of SK-MES-1 cells after infection with recombinant lentiviral vector for 48 h under microscope (100 \times). A, B: White and fluorescent photo of DJ-1 siRNA lentiviral vector infected SK-MES-1 cells, respectively; C, D: White and fluorescent photo of control-siRNA lentiviral vector infected SK-MES-1.

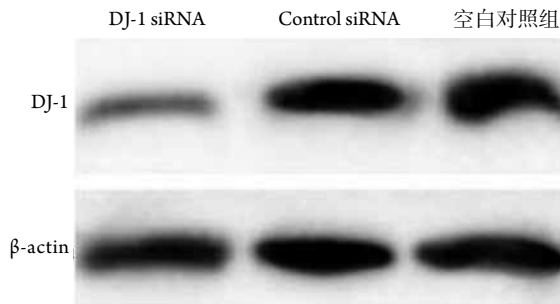


图 3 Western 印迹检测 DJ-1 siRNA 对 SK-MES-1 细胞中 DJ-1 蛋白表达水平的影响。

Figure 3 Effect of DJ-1 siRNA on DJ-1 expression in SK-MES-1 cells measured by Western blot.

2.3 MTT 法检测 DJ-1 对细胞增殖的影响

DJ-1 siRNA 组、Control-siRNA 组和空白对照组细胞在 24, 48, 72, 96 h 的吸光度值见表 2。DJ-1 siRNA 组相对于 Control-siRNA 组的增殖抑制率在时点 48, 72 和 96 h 分别是 24.3%, 36.8% 和 29.8%。DJ-1 siRNA 组的细胞在 48, 72, 96 h 增殖速度明显低于对应的 Control siRNA 组和空白对照组 ($P < 0.01$, 表 2), 这表明抑制 DJ-1 表达具有抑制细胞增殖的能力。

表 2 MTT 法检测 DJ-1 siRNA 对 SK-MES-1 细胞增殖活力的影响 ($n=20$, $\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of DJ-1 down-regulation on the cell growth proliferation ability of SK-MES-1 cells determined by MTT assay ($n=20$, $\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h	96 h
DJ-1 siRNA 组	0.307 \pm 0.065	0.370 \pm 0.057**	0.572 \pm 0.060**	0.674 \pm 0.063**
Control siRNA 组	0.305 \pm 0.054	0.462 \pm 0.053	0.784 \pm 0.044	0.871 \pm 0.057
空白对照组	0.268 \pm 0.048	0.479 \pm 0.044	0.796 \pm 0.049	0.896 \pm 0.056

与 Control siRNA 组和空白对照组比较, ** $P < 0.01$ 。

2.4 DJ-1 对细胞周期的影响

采用流式细胞术分别检测 DJ-1 siRNA、Control-siRNA 和空白对照组 3 组细胞的周期分布在 G₁ 期分别为 71.8%, 64.4% 和 63.6%; 在 S 期分别为 8.7%, 20.1% 和 19.7%; 在 G₂ 期分别为 19.5%, 15.7% 和 15.7%。与 Control-siRNA 组比较, DJ-1 siRNA 组细胞周期中 G₁ 期和 G₂ 期细胞数比例分别增高 7.4% 和 3.8%, S 期细胞比例减少 11.4% (图 4)。空白对照组与 Control-siRNA 组无明显差异。这提示抑制 DJ-1 表达能使细胞周期阻滞于 G₁ 和 G₂ 期,

严重抑制了 S 期 DNA 的合成。

2.5 DJ-1 对细胞迁移能力的影响

Tanswell 小室迁移实验结果显示: 与 Control-siRNA 组比较, DJ-1 siRNA 组 (61.7±1.5) 的迁移细胞数减少 39.1% ($P<0.01$), 而空白组 (103.7±2.1) 和 Control-siRNA 组细胞数 (101.3±1.2) 比较差异无统计学意义 ($P>0.05$, 图 5)。表明抑制 DJ-1 表达具有降低细胞迁移能力的作用。

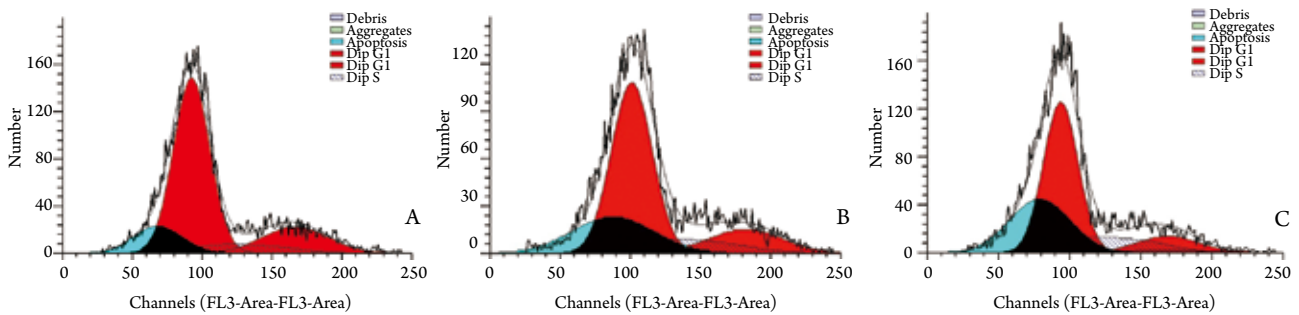


图 4 流式细胞术检测 DJ-1 siRNA 对 SK-MES-1 细胞周期的影响。A: DJ-1 siRNA 组; B: Control-siRNA 组; C: 空白对照组。
Figure 4 Effect of DJ-1 on SK-MES-1 cells cycles measured by flow cytometry. A: DJ-1 siRNA group; B: Control-siRNA group; C: Blank-control group.

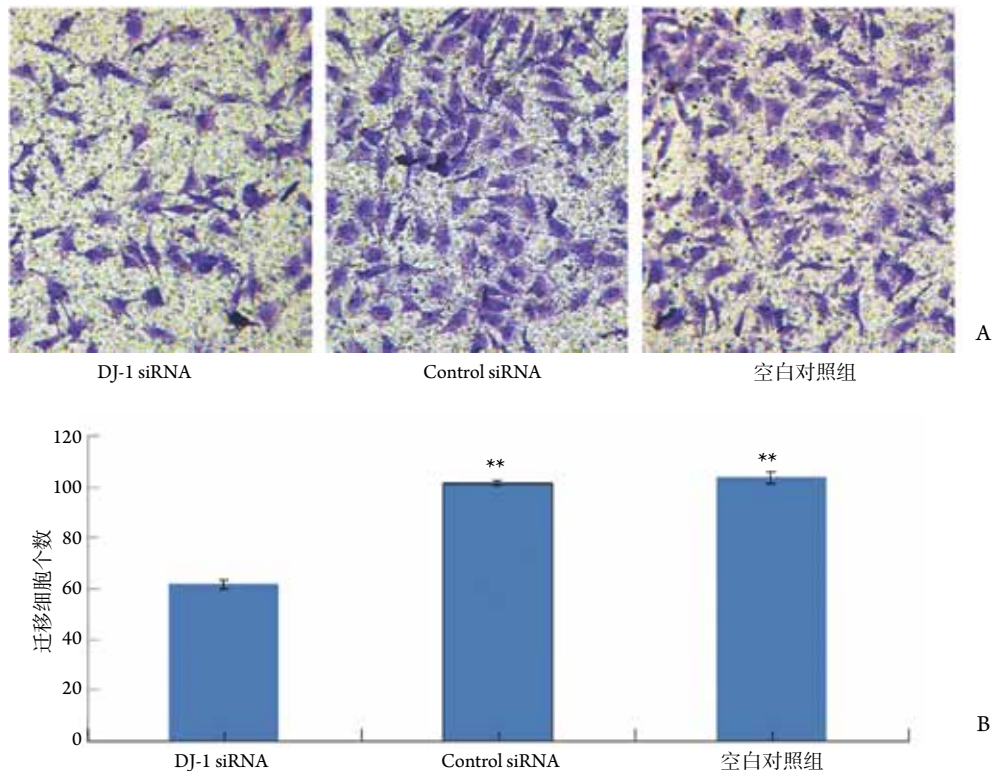


图 5 Transwell 小室检测 DJ-1 siRNA 对 SK-MES-1 细胞迁移能力的影响。A: 穿过基底膜的细胞镜下染色图 (100×); B: 穿过基底膜的平均迁移细胞数目 ($n=3, \bar{x}\pm s$)。与 control siRNA 及空白对照组比较, $**P<0.01$ 。
Figure 5 Effect of DJ-1 siRNA on SK-MES-1 cells migraton by Transwell assay. A: Images of cells crossing the transwell chamber (100×); B: Number of cells crossing the transwell chamber ($n=3, \bar{x}\pm s$). Compared with control siRNA and blank control group, $**P<0.01$.

3 讨论

肺癌是我国常见的恶性肿瘤,其发病率和死亡率已呈逐年增长的趋势。非小细胞肺癌约占肺癌的80%,主要为肺鳞癌与肺腺癌^[9]。肺癌的5年生存率较低,仅为8.9%~15%。肺癌一般起病隐匿,早期症状不明显,大多数患者就诊时已发生淋巴结及远处脏器转移,严重影响治疗效果和预后。肿瘤侵袭和转移是导致患者治疗失败和死亡的主要原因^[9-12]。淋巴结分期、淋巴结受累数目、远处脏器转移数目均是影响肺癌患者预后的因素。因此,发现与肺癌侵袭转移相关的基因和蛋白质,将有助于肺癌侵袭转移机制的研究,对于肺癌的诊断、治疗和预后具有重要意义。

DJ-1(CAP1/RS/PARK7)基因位于人染色体1P36.2-36.3位点,又名PARK7,长24 kb,含有8个外显子;其中外显子1A,1B为非编码区,外显子2~7为含有一个开放读码框编码DJ-1蛋白的编码区,DJ-1基因是在进化上相当保守的一种癌基因,广泛存在于胰腺、肾、肌肉、肝脏、胎盘及脑等多种器官细胞的胞核、胞质中。DJ-1蛋白含有189个氨基酸残基,分子质量20 kD,是一种新的丝裂原依赖性癌基因,属于DJ-1/Thij/PfpI蛋白超家族中的保守成员,二级结构主要是 α 螺旋和 α/β 折叠,以二聚体的形式参与细胞的转录调控、氧化应激、细胞转化等多种生命活动^[13-18]。DJ-1基因与人常隐性遗传病帕金森病相关,早期研究着重于DJ-1对神经细胞死亡的作用,而没有研究除神经系统外DJ-1基因在其他细胞存活中所起的作用。近年研究发现DJ-1与肺鳞癌的发生发展密切相关^[4-7]。

siRNA技术是研究特定基因功能的有效手段^[8]。本研究应用siRNA技术在肺鳞癌细胞系SK-MES-1细胞中成功建立了促癌基因DJ-1被抑制的体外模型,对此模型的生物学行为研究将发现DJ-1癌基因在肺鳞癌变和侵袭转移中的作用。细胞周期和细胞增殖是细胞生物学行为的两个重要方面。细胞周期是指连续分裂的细胞从上一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂完成所经历的全部过程,从 $G_1 \rightarrow S \rightarrow G_2 \rightarrow M \rightarrow G_1$ 。细胞增殖是靠细胞周期来推动的, G_1 期为合成前期,合成RNA和核糖体; S 期为DNA合成期,合成DNA及复制所需的酶和组蛋白; G_2 期为合成后期,是有丝分裂的准备期,合成RNA及蛋白质; M 期是有丝分裂期。该研究用了流式细胞技术来测定细胞周期的变化和MTT法测定细胞增殖能力改变。研究发现抑制DJ-1基因的表达使得肺鳞癌细胞的细胞周期发生改变,使S

期细胞数显著减少(减少了56.7%)而阻滞于 G_1/G_2 期(分别增加了11.5%和25%),从而细胞分裂受阻,致使细胞增殖能力减弱(在细胞培养时点48,72和96 h分别减少了24.3%,36.8%和29.8%);同时,抑制DJ-1在癌细胞中的表达使其体外迁移和侵袭能力显著减弱。这充分说明促癌基因DJ-1加速了细胞周期进程,促进了肺鳞癌细胞的分裂增殖和迁移侵袭。

促癌基因DJ-1高表达于肺癌,促进癌细胞分裂增殖和迁移侵袭,很可能涉及到几个相互协调的细胞内分子途径。1)抑制抑癌基因PTEN的活性,激活PI3K/Akt/mTOR通道来促进肺癌细胞的增殖与生长。PTEN抑癌基因与许多细胞表面受体相互作用,对一些受体介导的信号转导途径进行负调节,从而抑制细胞的增殖、迁移和侵袭。研究证实DJ-1蛋白是PTEN抑癌基因的主要负性调控蛋白之一,通过抑制PTEN的活性,刺激PI3K/Akt/mTOR通道促进肿瘤细胞的增殖与生长^[3,19-20]。2)过表达的DJ-1可使细胞中PKB/Akt高度磷酸化,增强NF- κ B的核转移,参与细胞分化过程,使细胞存活率升高,与生存素密切相关^[5],与Cezanne相互作用来调节肿瘤进程^[19,21]。3)调节转录因子Nrf2等信号途径。DJ-1可增强亮氨酸转录因子Nrf2的遍在蛋白化作用,加速p53和pRb的降解^[22],过表达导致Nrf2蛋白表达水平的降低,促使Nrf2转入核内,通过Nrf2蛋白介导的转录诱导增加TRX1表达^[20]。4)保护癌细胞在肿瘤微环境中因缺氧诱导的死亡。DJ-1在癌细胞中起HIF1上游活化剂的功能^[23],可保护细胞因缺氧诱导的死亡,且抵抗UV诱导的细胞凋亡^[24],这很可能通过其相互作用蛋白质BBS1,CLCF1,MTREF及Cezanne/OTUD7B/Za20d1来实现的^[21]。

另外,DJ-1在血清中的阳性检出率与肿瘤的发生阶段有关,上调生存素基因的表达来促进细胞的癌变^[5],降低顺铂对肺癌细胞A549/DDP的增殖抑制作用,与顺铂的化疗抵抗有关^[1]。这些研究表明DJ-1促癌基因可用于诊断和预测肺癌病人的预后^[2,4,5,7,25],并可能成为肺癌的治疗靶点^[1-2],具有潜在的临床应用价值。

参考文献

1. Zeng HZ, Qu YQ, Zhang WJ, et al. Proteomic analysis identified DJ-1 as a cisplatin resistant marker in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2011, 12(6): 3489-3499.
2. Liu H, Wang M, Li M, et al. Expression and role of DJ-1 in leukemia

- [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2008, 375(3): 477-483.
3. Davidson B, Hadar R, Schlossberg A. Expression and clinical role of DJ-1, a negative regulator of PTEN, in ovarian carcinoma[J]. *Human Pathol*, 2008, 39(1): 87-95.
 4. Bai J, Guo C, Sun W, et al. DJ-1 may contribute to metastasis of non-small cell lung cancer[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(3): 2697-2703.
 5. Shen Z, Ren Y, Ye D. Significance and relationship between DJ-1 gene and survivin gene expression in laryngeal squamous cell carcinoma[J]. *Eur J Histochem*, 2011, 55(1): e9.
 6. Li DJ, Deng G, Xiao ZQ, et al. Identificating 14-3-3 sigma as a lymph node metastasis-related protein in human lung squamous carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2009, 279(1): 65-73.
 7. He XY, Liu BY, Yao WY, et al. Serum DJ-1 as a diagnostic marker and prognostic factor for pancreatic cancer[J]. *J Digest Dis*, 2011, 12(2): 131-137.
 8. Hannon GJ. RNA interference [J]. *Nature*, 2002, 418(6894): 244-251.
 9. 陈万青, 张思维, 邹小农. 中国肺癌发病死亡的估计和流行趋势研究[J]. *中国肺癌杂志*, 2010, 5(6): 488-493.
CHEN Wanqing, ZHANG Siwei, ZOU Xiaonong. Estimation and projection of lung cancer incidence and mortality in China[J]. *Chinese Journal of Lung Cancer*, 2010, 13(5): 488-493.
 10. Mayr NA, Small W, Gaffney DK, et al. Cervical Cancer[J]. *Med Radiol*, 2011, 0(VII): 661-701.
 11. Coleman MP, Forman D, Bryant H, et al. Cancer survival in Australia, Canada, Denmark, Norway, Sweden, and the UK, 1995-2007 (the International Cancer Benchmarking Partnership): an analysis of population-based cancer registry data[J]. *Lancet*, 2011, 377(9760): 127-138.
 12. Jemal A, Bray F, Center MM. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
 13. Olzmann JA, Brown K, Wilkinson KD, et al. Familial Parkinson's disease-associated L166P mutation disrupts DJ-1 protein folding and function[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(9): 8506-8515.
 14. Wilson MA, St Amour CV, Collins JL, et al. The 1.8-Å resolution crystal structure of YDR533Cp from *Saccharomyces cerevisiae*: a member of the DJ-1/Thij/PfpI superfamily[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(6): 1531-1536.
 15. Taira T, Saito Y, Niki T, et al. DJ-1 has a role in antioxidative stress to prevent cell death[J]. *EMBO Rep*, 2004, 5(2): 213-218.
 16. Shendelman S, Jonason A, Martinat C, et al. DJ-1 is a redox-dependent molecular chaperone that inhibits alpha-synuclein aggregate formation[J]. *PLoS Biol*, 2004, 2(11): e362.
 17. Tao X, Tong L. Crystal structure of human DJ-1, a protein associated with early onset Parkinson's disease[J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(33): 31372-31379.
 18. Yokota T, Sugawara K, Ito K, et al. Down regulation of DJ-1 enhances cell death by oxidative stress, ER stress, and proteasome inhibition[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 312(4): 1342-1348.
 19. Kim RH, Peters M, Jang Y, et al. DJ-1, a novel regulator of the tumor suppressor PTEN[J]. *Cancer Cell*, 2005, 7(3): 263-273.
 20. Im JY, Lee KW, Woo JM, et al. DJ-1 induces thioredoxin 1 expression through the Nrf2 pathway[J]. *Hum Mol Genet*, 2012, 21(13): 3013-3024.
 21. McNally RS, Davis BK, Clements CM, et al. DJ-1 Enhances Cell Survival through the Binding of Cezanne, a negative regulator of NF-κB[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(6): 4098-4106.
 22. 陈委, 石小峰, 刘运生, 等. DJ-1 和 HSP27 在侵袭性与非侵袭性垂体腺瘤中的差异表达[J]. *中南大学学报: 医学版*, 2012, 37(5): 481-484.
CHEN Wei, SHI Xiaofeng, LIU Yunsheng, et al. Differential expression of DJ-1 and HSP27 in invasive and non-invasive pituitary adenomas[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2012, 37(5): 481-484.
 23. Vasseur S, Afzal S, Tardivel-Lacombe J, et al. DJ-1/PARK7 is an important mediator of hypoxia-induced cellular responses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(4): 1111-1116.
 24. Shibo Y, Niki T, Taira T, et al. Proper SUMO-1 conjugation is essential to DJ-1 to exert its full activities[J]. *Cell Death Differ*, 2006, 13(1): 96-108.
 25. MacKeigan JP, Clements CM, Lich JD, et al. Proteomic profiling drug-induced apoptosis in non-small cell lung carcinoma: identification of RS/DJ-1 and Rho GDI alpha[J]. *Cancer Res*, 2003, 63(20): 6928-6934.

(本文编辑 郭征)

本文引用: 魏旺丽, 汤参娥, 詹显全, 易红, 李萃. siRNA 抑制 DJ-1 基因表达对肺鳞癌 SK-MES-1 细胞生物学行为的影响 [J]. *中南大学学报: 医学版*, 2013, 38(1): 7-13. DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.01.002

Cite this article as: WEI Wangli, TANG Can'e, ZHAN Xianquan, YI Hong, LI Cui. Effect of DJ-1 siRNA on biological behavior of human lung squamous carcinoma SK-MES-1 cells[J]. *Journal of Central South University. Medical Science*, 2013, 38(1): 7-13. DOI:10.3969/j.issn.1672-7347.2013.01.002