

## TXNDC5 介导缺血清诱导的 HeLa 细胞增殖抑制

张红飞, 张洁雯, 孔丽娟, 王 乐, 朱 宁, 郭思超, 邱 川, 闫雪静, 陈梅红

中国医学科学院基础医学研究所 北京协和医学院基础学院 生物化学与分子生物学系医学分子生物学  
国家重点实验室, 北京 100005

通信作者: 陈梅红 电话: 010-69156410, 电子邮件: chenmhxc@gmail.com

**摘要:** **目的** 研究 TXNDC5 在缺血清诱导的 HeLa 细胞增殖抑制过程中的作用。**方法** 在人 HeLa 细胞中分别过表达 TXNDC5 或用干扰小 RNA (siRNA) 抑制 TXNDC5 的表达后, 对其进行正常或缺血清培养, 采用 Western blot 法检测 TXNDC5 蛋白水平, 荧光实时定量 PCR 检测 TXNDC5 mRNA 水平, 细胞增殖检测试剂盒 (MTS 法) 检测活细胞数, 流式细胞术检测细胞周期和细胞凋亡。**结果** 缺血清诱导 HeLa 细胞增殖抑制时, TXNDC5 mRNA 水平下降 ( $P < 0.05$ ), 蛋白水平显著升高, TXNDC5 mRNA 的稳定性不受影响, 而放线菌酮则可消除缺血清诱导 TXNDC5 蛋白水平升高的作用。在 HeLa 细胞中过表达 TXNDC5 对细胞增殖速度无影响。抑制 TXNDC5 的表达能减弱缺血清诱导的 HeLa 细胞增殖抑制 ( $P < 0.05$ ), 使 S 期细胞比例略有增加 ( $P < 0.05$ ), 但对细胞凋亡没有明显影响。**结论** TXNDC5 介导了缺血清诱导的 HeLa 细胞增殖抑制。

**关键词:** TXNDC5; HeLa 细胞; 缺血清; 细胞增殖

中图分类号: Q751 文献标志码: A 文章编号: 1000-503X(2014)05-0470-07

DOI: 10.3881/j.issn.1000-503X.2014.05.003

## TXNDC5 Mediates Serum Starvation-induced Proliferation Inhibition of HeLa Cell

ZHANG Hong-fei, ZHANG Jie-wen, KONG Li-juan, WANG Le, ZHU Ning,  
GUO Si-chao, QIU Chuan, YAN Xue-jing, CHEN Mei-hong

State Key Laboratory of Medical Molecular Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology,  
Institute of Basic Medical Sciences, CAMS and PUMC, Beijing 100005, China

Corresponding author: CHEN Mei-hong Tel: 010-69156410, E-mail: chenmhxc@gmail.com

**ABSTRACT: Objective** To investigate the role of TXNDC5 in serum starvation-induced proliferation inhibition of HeLa cell. **Methods** TXNDC5 was either over-expressed or knocked down by small interfering RNA (siRNA) in HeLa cells which were then cultured in conventional medium or serum starvation medium. The protein level of TXNDC5 was evaluated by Western blot analysis. The mRNA level of TXNDC5 was measured by quantitative real-time PCR. Cell growth rate was determined by cell proliferation assay kit (MTS method). Cell cycle distribution and apoptosis were detected by flow cytometry. **Results** Serum starvation mildly reduced the mRNA level of TXNDC5 ( $P < 0.05$ ), but dramatically increased the protein level of TXNDC5 in HeLa cells. The stability of TXNDC5 mRNA remained unchanged. Cycloheximide abolished the serum starvation-induced up-regulation of TXNDC5 protein. Over-expression of TXNDC5 had no effect on cell proliferation. However, suppression of TXNDC5 attenuated the proliferation inhibition of HeLa cell induced by serum starvation ( $P < 0.05$ ), increased the proportion of cells in S phase ( $P < 0.05$ ), but had no effect on cell apoptosis. **Conclu-**

**Abstract** TXNDC5 mediates serum starvation-induced proliferation inhibition of HeLa cell.

**Key words:** TXNDC5; HeLa cell; serum starvation; cell proliferation

*Acta Acad Med Sin*, 2014, 36(5): 470-476

TXNDC5 最早被认为是硫氧还蛋白 (thioredoxin, Trx) 家族的一个新成员<sup>[1]</sup>, 绝大多数分布于内质网腔中, 也有少部分定位于细胞膜表面, 由于其包含蛋白质二硫键异构酶 (protein disulfide isomerases, PDI) 家族成员所特有的 Trx 结构域, 因此也被认为是 PDI 家族成员<sup>[2]</sup>。TXNDC5 具有多种生物学功能, 目前认为它可能参与细胞的生长、运动、凋亡、细胞周期调节等多个过程。最新研究发现, TXNDC5 在体内可能起压力生存因子、胰岛素调节因子、硝化反应生存因子等的作用<sup>[2-6]</sup>。TXNDC5 在胃癌、肺癌、肝癌等多种人类肿瘤组织中表达上调并且明显促进肿瘤细胞的生长、增殖及迁徙<sup>[7-9]</sup>。许多研究表明, 缺血清能够减少肿瘤细胞的基本活动, 促使细胞增殖的同步化, 并且缺血清已经成为研究细胞应激反应、凋亡等分子机制的一种常用方法<sup>[10-13]</sup>。本研究观察了 TXNDC5 在缺血清对人宫颈癌 HeLa 细胞系增殖抑制中的作用。

## 材料和方法

**材料** HeLa 细胞购自中国医学科学院基础医学研究所细胞中心, DMEM (high glucose) 培养基、无酚红 DMEM 培养基购自美国 Hyclone (Thermo Scientific) 公司, 胎牛血清购自德国 Biochrom 公司, 0.5% 活性炭吸附胎牛血清购自美国 Nalgene 公司; SuperScript™ III Reverse Transcriptase、TRIzol™、Lipofectamine 2000 Reagent 购自美国 Invitrogen 公司, GoTaq® Probe qPCR Master Mix、CellTiter 96® AQ<sub>ueous</sub> One Solution Cell Proliferation Assay Kit 购自美国 Promega 公司, Pierce® RIPA Buffer、Halt™ Protease Inhibitor Cocktail、Halt™ Phosphatase Inhibitor Cocktail 购自美国 Thermo Scientific 公司, Actinomycin D 和 Cycloheximide 购自美国 Sigma 公司; pCM-H1U6 表达载体实验室自建<sup>[14]</sup>; siTX-1、2、3 pCM-H1U6-siTXNDC5 表达质粒为实验室自建, 其中的 siTXNDC5 序列购自美国 Dharmacon 公司 (siTX-1: 5'-GCAGAGACCTTGACTCGTA-3'; siTX-2: 5'-GGAAT AACCTTCATCAAGA-3'; siTX-3: 5'-GGTGATGAAAGC AGCGTTA-3'); Anti-TXNDC5 Goat polyclonal antibody、Anti-β-actin Mouse monoclonal antibody 购自英国 Abcam 公司, Immobilon™ Western Chemiluminescent HRPSub-

state 购自美国 Millipore 公司, BioRad iQ5 荧光定量 PCR 仪、半干转膜仪购自美国 BIO-RAD 公司。

**细胞培养和缺血清诱导** 人宫颈癌 HeLa 细胞培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基中, 置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养, 隔 2 d 换液 1 次。当将正常培养的 HeLa 细胞换用含 0.5% 活性炭吸附胎牛血清的无酚红 DMEM 培养基进行培养时, 即为进行缺血清诱导培养。

**细胞转染** 转染前 1 d 按细胞数  $1 \times 10^5$  个/孔铺于 24 孔板各孔中, 次日转染时, 细胞汇合度达到 80%~90% 即可转染。采用 Lipofectamine 2000 转染试剂, 分别将各表达质粒转染入 HeLa 细胞中, 具体步骤按说明书操作。在转染后 12 h 吸弃含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基, 改为加入 500 μl 含 0.5% 活性炭吸附胎牛血清的无酚红 DMEM 培养基, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中继续培养, 分别培养 0~4 d 进行缺血清处理。

**放线菌素 D 处理细胞** 在 HeLa 细胞进行正常血清和缺血清诱导培养 2 d 后, 按细胞数  $5 \times 10^5$  个/孔铺板于 6 孔板各孔中, 加入适量的放线菌素 D 使其终浓度为 5 μg/ml。充分混匀后, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中继续培养, 分别培养 0、10、15 h 3 个时间点收集细胞检测。

**放线菌酮处理细胞** HeLa 细胞以  $2 \times 10^5$  个/孔铺板于 6 孔板各孔中, 待细胞贴壁后, 加入放线菌酮使其终浓度为 1 μg/ml。充分混匀后, 于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中培养 1h, 然后在放线菌酮存在条件下对细胞进行缺血清诱导培养, 分别于缺血清培养 0、1、2d 3 个时间点收集细胞, 采用 Western blot 法检测 TXNDC5 蛋白水平。

**RNA 提取和 qRT-PCR** 离心收集细胞后, 用 1 × PBS 重悬细胞清洗 3 次, 弃上清加入 1 ml TRIzol™, 按照厂家说明书严格提取高质量总 RNA。然后, 根据 SuperScript™ III Reverse Transcriptase 反转录步骤将所提取的总 RNA 反转录成 cDNA。采用 Taq-man 探针法, 按照 GoTaq® Probe qPCR Master Mix 说明书配制各反应组分制备成 qRT-PCR 检测体系, 于 BioRad iQ5 荧光定量 PCR 仪中检测。以 β-actin 为内参照基因, 采用相对定量方法分析实验数据。

**MTS 法检测细胞增殖** 按照说明书操作, 具体为: 转染 24 h 后, 各组细胞经细胞计数后分别分到 96 孔板内, 每孔 1500 个细胞重悬于 100  $\mu$ l 的 10% 血清 DMEM 培养基中。选取转染后经缺血处理 0、1、2、3、4 d 这几个时间点的细胞, 每组在每个时间点各计数 3 个复孔分别检测。检测时每孔逐滴加入 20  $\mu$ l 的 CellTiter96<sup>®</sup> AQueous One Solution Reagent 试剂, 其内含 1 个新型四唑化合物 MTS, 充分混合均匀后置于 37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中孵育 3 h, 最后用酶联免疫检测仪在 492 nm 波长处测吸光度 A 值。每组的 3 个复孔 A 值, 以含 10% 血清的 DMEM 培养基为空白对照调零后取均值。

**Western blot 检测** 收集各组细胞并根据细胞的量加入相应量的细胞裂解液和蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂, 重悬混匀后于冰上振荡 15 min, 再 4  $^{\circ}$ C、15 000  $\times$  g 离心 20 min 后取上清, Nanodrop 测定蛋白浓度。以 30  $\mu$ g/孔总蛋白上样, 10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离, 采用半干转膜法将蛋白转移至 PVDF 膜上, 然后 5% BSA 于摇床上室温封闭 2 h。按适宜比例用 5% BSA 稀释配制一抗, 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 漂洗 10 min/次共 3 次, 再用 HRP 标记的二抗于摇床上室温孵育 2 h, TBST 漂洗 10 min/次共 3 次, 最后于暗室内用 ECL 发光试剂盒曝光 X 光片、显影并定影。

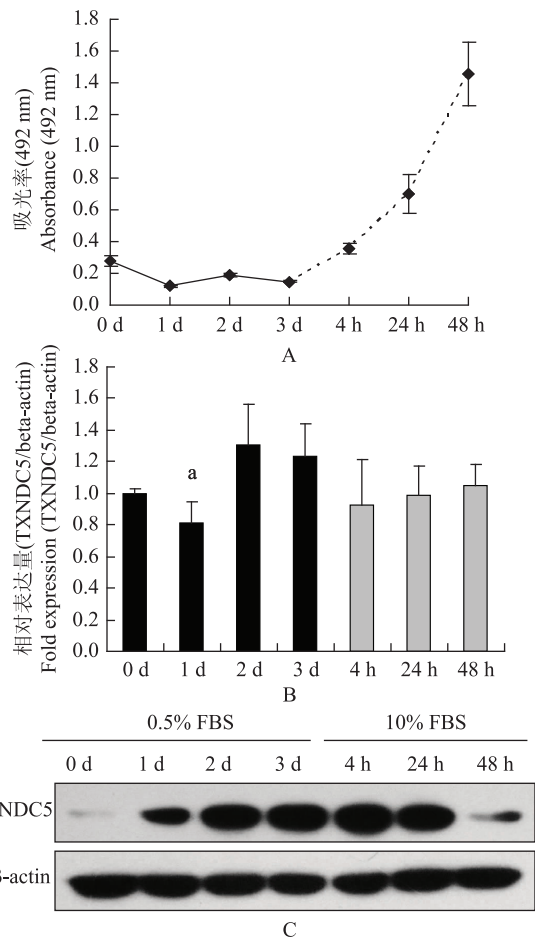
**流式细胞术检测细胞周期** 转染后 48 h 收集各组细胞, PBS 洗 3 遍, 用 -20  $^{\circ}$ C 预冷的 70% 乙醇重悬细胞, 4  $^{\circ}$ C 固定过夜。1000  $\times$  g 离心 5 min, 弃上清, 4  $^{\circ}$ C 预冷的 1  $\times$  PBS 洗 1 次。加入 RNase, 使其终浓度为 100  $\mu$ g/ml, 37  $^{\circ}$ C 细胞培养箱中孵育 30 min。加入 250  $\mu$ l 的 1  $\times$  PBS 稀释过的 PI 染色, 使其终浓度为 50  $\mu$ g/ml, 37  $^{\circ}$ C 孵育 20 min。加 1  $\times$  PBS 使其总体积为 500  $\mu$ l。细胞经过滤网过滤后于流式细胞仪上机检测。

**流式细胞术检测细胞凋亡** 采用 Annexin V FITC/PI 双染法, 收集转染 12 h 后撤血清处理的 1 d 各组细胞, 1  $\times$  PBS 洗 2 遍后用 100  $\mu$ l 的 1  $\times$  Binding Buffer 悬浮细胞, 分别加入 5  $\mu$ l Annexin V-FITC 和 5  $\mu$ l PI (同时做以 FITC 单染及 PI 单染的阴性对照, 未染组做空白对照), 轻轻混匀后置于室温下避光孵育 15 min。加入 400  $\mu$ l 1  $\times$  Binding Buffer, 经过滤网过滤后于流式细胞仪上机检测。

**统计学处理** 采用 SPSS 13.0 统计软件, 数据以平均值  $\pm$  标准差表示, 组间资料比较采用方差分析 LSD 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

**缺血血清上调 TXNDC5 蛋白水平** 正常培养的 HeLa 细胞经缺血血清诱导培养 1~3 d 后, HeLa 细胞增殖受到抑制; 而当缺血血清 3 d 后再加入血清进行正常培养 4 h 后, 细胞逐步恢复正常增殖 (图 1A)。qRT-PCR 结果显示, 在缺血血清后 1 d 时, TXNDC5 mRNA 水平明显下降 ( $P < 0.05$ ) (图 1B)。缺血血清后 TXNDC5 的蛋白水平升高 (图 1C)。



FBS: 胎牛血清; 与 0 d 比较,  $^a P < 0.05$

FBS: fetal bovine serum;  $^a P < 0.05$  compared with 0 d

A. MTS 结果显示缺血血清诱导 HeLa 细胞增殖抑制; B. qRT-PCR 结果显示缺血血清后 1 d 时 TXNDC5 的 mRNA 水平下降; C. Western blot 结果显示缺血血清使 TXNDC5 蛋白水平升高

A. MTS shows serum starvation-induced proliferation inhibition of HeLa cell; B. qRT-PCR shows the decrease of TXNDC5 mRNA one day after serum starvation; C. Western blot shows up-regulation of TXNDC5 protein level by serum starvation

**图 1** 缺血血清对 HeLa 细胞增殖和 TXNDC5 的 mRNA 和蛋白水平的影响

**Fig 1** Effect of serum starvation on HeLa cell proliferation and the mRNA and protein level of TXNDC5

**缺血血清不影响 TXNDC5 mRNA 的半衰期** HeLa 细胞经正常和缺血血清诱导培养 2 d 后, 加入放线菌素 D 处理 0、10、15 h 收细胞总 RNA, qRT-PCR 结果显示, 与正常培养组相比, 缺血血清组细胞中 TXNDC5 mRNA 的稳定性没有变化 (图 2)。

**在放线菌酮存在时缺血血清不能诱导 TXNDC5 蛋白水平的升高** 在放线菌酮存在条件下进行缺血血清诱导培养, 分别于缺血血清培养 0、1、2 d 收集细胞, 提取蛋白进行 Western blot 检测, 结果显示在放线菌酮存在时进行缺血血清培养, TXNDC5 的蛋白水平无变化 (图 3)。

**在血清充足条件下 TXNDC5 的水平对 HeLa 细胞的增殖无明显影响** 正常培养的 HeLa 细胞瞬时转染 pcDNA3.1-TXNDC5 质粒 24 h 后, TXNDC5 的蛋白水平显著升高 (图 4A), 但 TXNDC5 过表达对 HeLa 细胞的增殖没有影响 (图 4B)。当细胞瞬时转染 siTXNDC5-1、siTXNDC5-2 和 siTXNDC5-3 表达质粒 72 h 后, TXNDC5 的蛋白水平明显降低 (图 4C)。与转染空载体对照组相比, 转染 siTXNDC5-1 和 siTXNDC5-3 组细胞在第 3 天时细胞数减少, 转染 siTXNDC5-1 和 siTXNDC5-2 组细胞在第 4 天时细胞数减少 (图 4D), 3 个 siTXNDC5 中仅 siTXNDC5-1 可使细胞增殖速度略有减慢, siTXNDC5-2 和 siTXNDC5-3 仅在 1 个时间点的细胞数有所减少, 其对细胞增殖速度的影响不大。

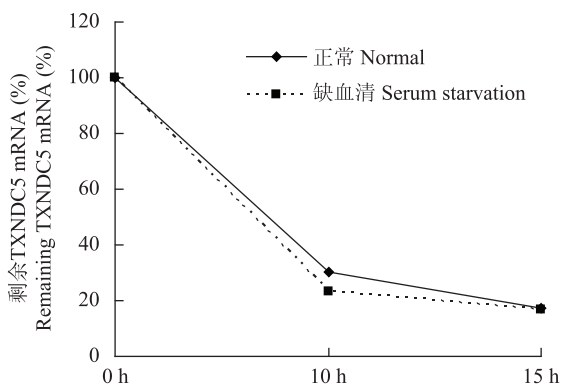


图 2 缺血血清对 TXNDC5 mRNA 稳定性的影响

Fig 2 Effect of serum starvation on the stability of TXNDC5 mRNA

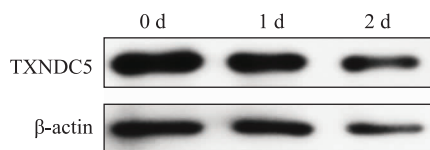
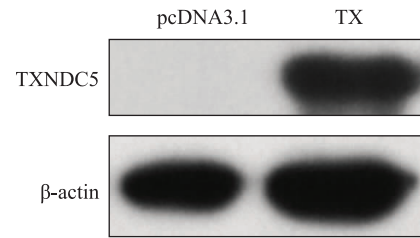
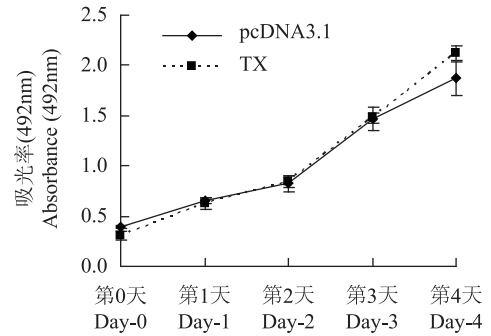


图 3 放线菌酮存在时缺血血清对 TXNDC5 蛋白水平的影响

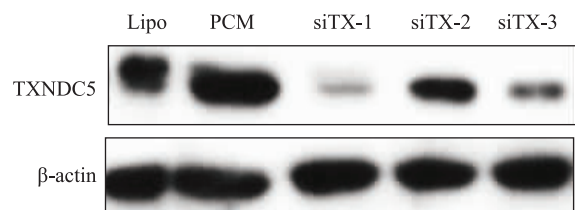
Fig 3 Effect of serum starvation on the expression level of TXNDC5



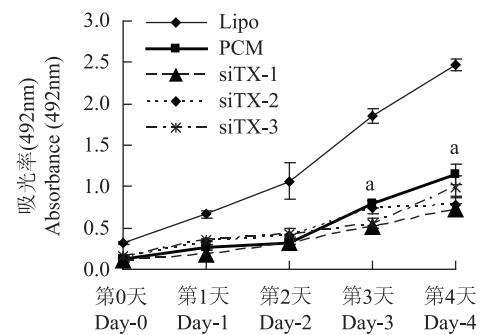
A



B



C



D

与 PCM 组比较,  $^aP < 0.01$

$^aP < 0.01$  compared with PCM group

A. Western blot 检测 TXNDC5 在 HeLa 细胞中的过表达; B. MTS 检测过表达 TXNDC5 对 HeLa 细胞增殖的影响; C. Western blot 检测 siTX-1、2、3 的 pCM-H1U6-siTXNDC5 表达质粒对 TXNDC5 的抑制效率; D. MTS 检测抑制 TXNDC5 的表达对 HeLa 细胞增殖的影响

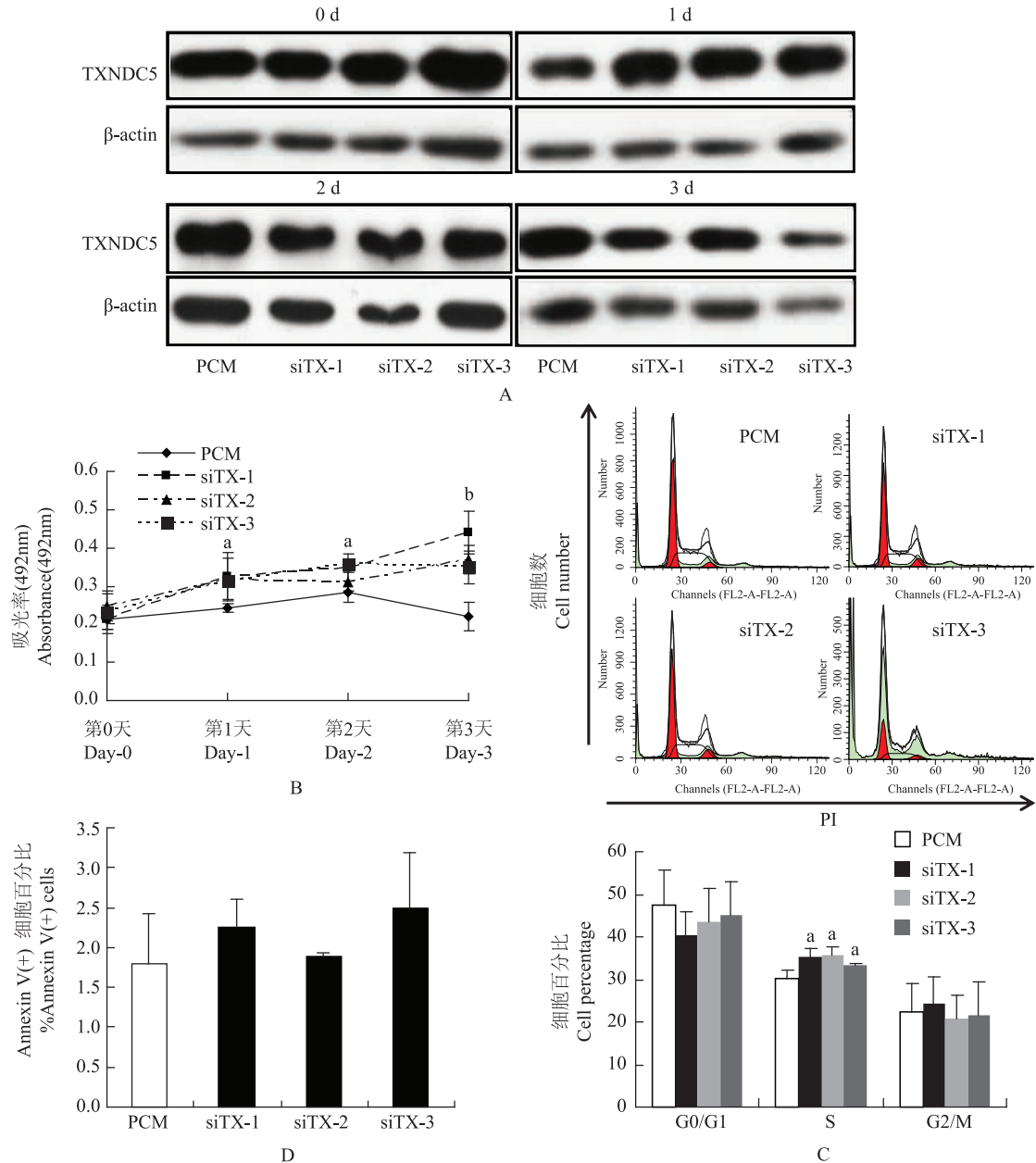
A. Western blot detects the over-expression of TXNDC5 in HeLa cell; B. MTS assay evaluates the effect of over-expressed TXNDC5 on HeLa cell proliferation; C. Western blot detects the inhibition efficiency of siTX-1, 2, 3 expressing pCM-H1U6-siTXNDC5 plasmids for TXNDC5; D. MTS assay evaluates the effect of TXNDC5 knockdown on HeLa cell proliferation

图 4 TXNDC5 的表达水平对 HeLa 细胞增殖的影响

Fig 4 Effect of TXNDC5 expression level on HeLa cell proliferation

**抑制 TXNDC5 的表达减弱缺血清诱导的 HeLa 细胞增殖抑制** 正常培养的 HeLa 细胞瞬时转染 pCM-H1U6-siTXNDC5 质粒 12 h 后, 再缺血清培养 0 ~ 3 d, Western blot 检测结果显示, 缺血清条件下 TXNDC5 的表达逐步被抑制 (图 5A); 与对照组相比, 随着 TX-

NDC5 表达的抑制, 缺血清诱导的细胞增殖抑制也相应减弱 (图 5B); 转染 pCM-H1U6-siTXNDC5 质粒 12 h 后再缺血清诱导 1 d 后, 流式细胞术检测结果表明抑制 TXNDC5 的表达使 S 期细胞比例略有增加 (图 5C), 而对细胞凋亡无明显影响 (图 5D)。



与 PCM 组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  compared with PCM group

A. Western blot 检测缺血清条件下 siTX-1、2、3 对 TXNDC5 的抑制效率; B. MTS 检测抑制 TXNDC5 的表达对缺血清诱导的 HeLa 细胞增殖抑制的影响; C. 流式细胞仪检测缺血清条件下抑制 TXNDC5 的表达对细胞周期的影响; D. 流式细胞术检测缺血清条件下抑制 TXNDC5 的表达对细胞凋亡的影响

A. Western blot detects the inhibition efficiency of siTX-1, 2, 3 for TXNDC5 upon serum starvation; B. MTS assay evaluates the effect of TXNDC5 knockdown on serum starvation-induced HeLa cell proliferation inhibition; C. flow cytometry analyzes the effect of TXNDC5 knockdown on cell cycle upon serum starvation; D. flow cytometry analyzes the effect of TXNDC5 knockdown on cell apoptosis upon serum starvation

图 5 抑制 TXNDC5 的表达对缺血清诱导的 HeLa 细胞增殖抑制的影响

Fig 5 Effect of TXNDC5 knockdown on serum starvation-induced HeLa cell proliferation inhibition

## 讨 论

本研究结果显示,在 HeLa 细胞中,缺血诱导 TXNDC5 的蛋白水平显著升高,而 TXNDC5 的 mRNA 水平却没有明显升高,甚至在缺血的第 1 天还略有降低。缺血并不影响 TXNDC5 mRNA 的稳定性,表明 TXNDC5 蛋白水平的升高并非是由于 mRNA 的转录或稳定性增强所致。在蛋白翻译抑制剂放线菌酮存在的条件下,缺血则不能诱导 TXNDC5 蛋白水平的升高,显示缺血可能主要通过增强 TXNDC5 的翻译而上调其蛋白水平。细胞在缺血时会产生应激反应,使许多基因的表达被抑制,在缺血的第 1 天 TXNDC5 的 mRNA 略有降低,可能就是这种应激反应的表现。而一些在应激中发挥作用的基因,例如凋亡相关基因则在应激时仍能保持高的翻译效率<sup>[15]</sup>。缺血的第 1 天 TXNDC5 的 mRNA 略有降低,而此时 TXNDC5 的蛋白水平却明显升高,提示在缺血的应激反应中, TXNDC5 是细胞活动所必需的基因,可能参与介导细胞的应激反应。

此外本研究还发现, TXNDC5 过表达对缺血抑制 HeLa 细胞增殖的作用无影响,推测原因可能是因为缺血已使细胞中的 TXNDC5 蛋白水平大幅升高,此时外源性表达的 TXNDC5 的作用在大量内源性 TXNDC5 的掩盖下很难表现出来。抑制 TXNDC5 的表达则使缺血抑制 HeLa 细胞增殖的作用减弱,表现为当 TXNDC5 的表达被抑制后,缺血时处于 S 期的细胞比例增加。而在血清充足条件下,过表达 TXNDC5 对 HeLa 细胞的增殖速度无影响,抑制 TXNDC5 也只是轻微减小 HeLa 细胞的增殖速度。Chang 等<sup>[16]</sup>报道抑制 TXNDC5 的表达使 HeLa 细胞增殖速度减慢,减慢的幅度虽然不大但比本研究的结果要显著。推测原因可能是,Chang 等<sup>[16]</sup>使用的是化学合成的 TXNDC5 siRNA,且只有 1 条 siRNA,而本研究采用载体表达的 3 种不同的 TXNDC5 siRNA,这两种方法中阴性对照组和实验组设置的不同。但 Chang 等<sup>[16]</sup>的结果与本研究结果都显示,在血清充足条件下,抑制 TXNDC5 的表达即使能减慢 HeLa 细胞的增殖速度,其作用也是比较微弱的,而这与本研究在缺血条件下,抑制 TXNDC5 的表达能加快 HeLa 细胞增殖速度的结果是相反的,显示 TXNDC5 在血清充足和缺乏条件下发挥了不同的作用。

研究显示, TXNDC5 在绝大部分肿瘤中表达上调,

且与肿瘤细胞增殖侵袭迁移和凋亡密切相关<sup>[7-8]</sup>,可能具有癌基因的作用。也有文献报道,缺氧能诱导 TXNDC5 表达升高从而有利于细胞在压力环境下的存活,说明 TXNDC5 在压力条件下发挥作用<sup>[2,17]</sup>。本研究结果发现,缺血诱导人宫颈癌 HeLa 细胞中 TXNDC5 的表达升高, TXNDC5 介导了缺血诱导的 HeLa 细胞增殖抑制作用。可能在血清充足的条件下,肿瘤细胞内表达上调的 TXNDC5 促进细胞增殖和侵袭的恶性表型,而当血清缺乏时,肿瘤细胞内 TXNDC5 的蛋白水平进一步大幅升高,反而使细胞增殖速度降低。肿瘤在体内由于生长迅速,经常会遇到缺氧、缺血等压力环境,在血清充足时肿瘤细胞生长加快,而在压力环境中肿瘤细胞的增殖减慢,等待环境条件好转后恢复增殖,体现出肿瘤细胞具有较强的自我保护和存活能力。本研究结果显示, HeLa 细胞在含 5% 血清的低血清培养基中,增殖速度明显减慢,但不发生凋亡,一旦血清供应恢复, HeLa 细胞重新进入快速增殖状态。TXNDC5 在血清充足条件下促进细胞增殖和在缺血条件下介导细胞增殖抑制的作用提示, TXNDC5 可能在肿瘤细胞自我保护和存活中起重要作用。

## 参 考 文 献

- [1] Knoblach B, Keller BO, Groenendyk J, et al. ERp19 and ERp46, new members of the thioredoxin family of endoplasmic reticulum proteins [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2003, 2(10):1104-1119.
- [2] Sullivan DC, Huminiecki L, Moore JW, et al. EndoPDI, a novel protein-disulfide isomerase-like protein that is preferentially expressed in endothelial cells acts as a stress survival factor [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(47):47079-47088.
- [3] Morand JP, Macri J, Adeli K. Proteomic profiling of hepatic endoplasmic reticulum-associated proteins in an animal model of insulin resistance and metabolic dyslipidemia [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(18):17626-17633.
- [4] Alberti A, Karamessinis P, Peroulis M, et al. ERp46 is reduced by high glucose and regulates insulin content in pancreatic beta-cells [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2009, 297(3):E812-E821.
- [5] Chen DL, Xiang JN, Yang LY. Role of ERp46 in beta-cell lipopoptosis through endoplasmic reticulum stress pathway as well as the protective effect of exendin-4 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 426(3):324-329.
- [6] Komatsubara AT, Asano T, Tsumoto H, et al. Proteomic a-

- analysis of S-nitrosylation induced by 1-methyl-4-phenylpyridinium (MPP+) [J]. *Proteome Sci*, 2012,10(1):74.
- [7] Zhang L, Hou Y, Li N, et al. The influence of TXNDC5 gene on gastric cancer cell [J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(10):1497-1505.
- [8] Vincent EE, Elder DJ, Phillips L, et al. Overexpression of the TXNDC5 protein in non-small cell lung carcinoma [J]. *Anticancer Res*, 2011, 31(5):1577-1582.
- [9] Nissom PM, Lo SL, Lo JC, et al. Hcc-2, a novel mammalian ER thioredoxin that is differentially expressed in hepatocellular carcinoma [J]. *FEBS Lett*, 2006, 580(9):2216-2226.
- [10] Van Rechem C, Boulay G, Pinte S, et al. Differential regulation of HIC1 target genes by CtBP and NuRD, via an acetylation/SUMOylation switch, in quiescent versus proliferating cells [J]. *Mol Cell Biol*, 2010, 30(16):4045-4059.
- [11] Codeluppi S, Gregory EN, Kjell J, et al. Influence of rat substrain and growth conditions on the characteristics of primary cultures of adult rat spinal cord astrocytes [J]. *J Neurosci Methods*, 2011, 197(1):118-127.
- [12] Levin VA, Panchabhai SC, Shen L, et al. Different changes in protein and phosphoprotein levels result from serum starvation of high-grade glioma and adenocarcinoma cell lines [J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(1):179-191.
- [13] Balsalobre A, Damiola F, Schibler U. A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells [J]. *Cell*, 1998, 93(6):929-937.
- [14] Chen M, Zhang L, Zhang HY, et al. A universal plasmid library encoding all permutations of small interfering RNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(7):2356-2361.
- [15] Spriggs KA, Bushell M, Mitchell SA, et al. Internal ribosome entry segment-mediated translation during apoptosis: the role of IRES-trans-acting factors [J]. *Cell Death Differ*, 2005, 12(6):585-591.
- [16] Chang X, Xu B, Wang L, et al. Investigating a pathogenic role for TXNDC5 in tumors [J]. *Int J Oncol*, 2013, 43(6):1871-1884.
- [17] Wang L, Zheng Y, Xu H, et al. Investigate pathogenic mechanism of TXNDC5 in rheumatoid arthritis [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1):e53301.

(收稿日期: 2014-04-04)