

人脑胶质瘤中 CENP-W/B23 调控 Ras 信号通路的相关性

范阳华, 吴淼经, 吕世刚, 汲乾坤, 柴毅, 徐斌, 叶敏华, 祝新根*
(南昌大学第二附属医院神经外科, 江西 南昌 330006)

摘要:【目的】探讨人不同病理级别脑胶质瘤组织中着丝粒蛋白 W(CENP-W)、核仁磷酸蛋白(B23)、大鼠肉瘤癌基因(RAS)的表达及其相关性。【方法】在高级别胶质瘤组织、低级别胶质瘤及瘤旁正常脑组织中,采用免疫组织化学法分别检测 CENP-W 的表达水平,并统计学分析蛋白表达水平与胶质瘤临床病理特征的关系,采用蛋白质印迹法和实时荧光定量 PCR 法检测 CENP-W、B23、RAS 的表达水平,分析与胶质瘤分级的关系以及表达的相关性。应用特异性 siRNA 干扰 U251 细胞中 CENP-W 表达使其下调后,采用蛋白质印迹法和实时荧光定量 PCR 法检测 RAS 蛋白及 mRNA 表达的变化。【结果】胶质瘤组织 CENP-W、B23、RAS 的表达水平明显高于正常脑组织,并且与胶质瘤的病理级别呈正相关性;CENP-W、B23、RAS 的 mRNA 表达水平之间成正相关性。CENP-W 可以上调 RAS 的表达。【结论】CENP-W、B23、RAS 表达均与胶质瘤的病理级别呈正相关。CENP-W 可以调节 RAS 的表达,预示 CENP-W 可作为胶质瘤治疗新靶点。

关键词:着丝粒蛋白 W;核仁磷酸蛋白;RAS;脑胶质瘤

中图分类号:R739.41 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-3554(2015)05-0663-07

Correlation between CENP-W /B23 and RAS Pathway in Gliomas

FAN Yang-hua, WU Miao-jing, LV Shi-gang, JI Qian-kun, CHAI Yi, XU Bing, YE Min-hua, ZHU Xin-gen*
(Department of Neurosurgery, The Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, China)
Corresponding to: ZHU Xin-gen, E-mail: zxg2008vip@163.com

Abstract:【Objectives】 To explore the expression and correlation of CENP-W, B23 and RAS in different pathologic grade gliomas. 【Methods】 The expression of CENP-W in high grade glioma tissues, low grade glioma tissues and adjacent brain tissues were detected by immunohistochemistry, then the relationship of CENP-W protein expression levels with the clinicopathologic feature of glioma patients were investigated. The expression levels of CENP-W, B23 and RAS were detected by real-time fluorescence quantitative PCR and Western blotting, its correlation to the pathologic grade and the correlation between the expressions of CENP-W, B23 and RAS was analyzed. After transfection with the specific small interference RNA (siRNA) targeting CENP-W gene to repress CENP-W expression in U251 cells, the changes of RAS mRNA and protein levels were detected by real-time fluorescence quantitative PCR and Western blotting. 【Results】 The expression levels of CENP-W, B23 and RAS in glioma tissues were significantly higher than those in normal tissues. There was a positive correlation between the three protein expression levels and the pathological grade of glioma. There was positive correlation between the expression level of CENP-W mRNA, B23 mRNA and RAS mRNA. The expression of RAS was down-regulated when the expression of CENP-W was repressed by CENP-W siRNA in U251 cells. 【Conclusions】 Both of CENP-W, B23 and RAS expressions are positively correlated with the pathological grade of glioma. CENP-W can regulate the expression of RAS. It implicated that CENP-W can be a novel target in gliomas treatment.

Key words: CENP-W; B23; RAS; gliomas

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2015, 36(5):663-669]

收稿日期:2015-01-13

基金项目:江西省自然科学基金(20132BAB205043)、江西省教育厅科学技术研究项目(GJJ14066)

作者简介:范阳华,在读硕士研究生,研究方向:脑胶质瘤的分子机制研究, E-mail: fanyanghua1992@163.com; *通信作者:祝新根,教授,主任医师, E-mail: zxg2008vip@163.com

人脑胶质瘤是一种源自神经胶质细胞而主要在发生在人大脑中的肿瘤^[1]。在大脑和中枢神经系统,80%的恶性肿瘤是恶性脑胶质瘤^[2],发生率较高,其本质上是一种多基因异常疾病,由于原癌基因的过表达,同时伴随抑癌基因的突变缺失,从而使肿瘤细胞逃避了正常生长的调控机制。传统治疗方法(包括手术、化疗和放疗)并没有完全解决胶质瘤侵袭性生长所导致的高复发率和低治愈率难题。针对与胶质瘤发生、发展相关的基因异常的治疗已成为研究热点^[3]。着丝粒蛋白 W (centromere protein W, CENP-W)是一个新发现的致癌基因,于 2007 年首次被报道^[4],研究表明^[4-5] CENP-W 广泛高表达于卵巢、肝脏、肺、结肠、胃、胰腺等多种癌症组织中,最初因确定为一个假定的致癌基因而被命名为肿瘤上调蛋白-2 (cancer-upregulated gene 2, CUG2)。Ras 信号通路的失调普遍见于胶质瘤,有研究发现 Ras 信号通路激活与胶质瘤的发生密切相关,有研究证明在小鼠的星形细胞核神经前体细胞中,联合激活 K-ras 和 Akt,或激活 K-ras 伴 Ink4a-Arf 位点缺失,均可导致胶质瘤形成,恶性组织学特点与人胶质母细胞瘤相似^[6]。目前研究表明 CENP-W 与 B23 相互作用并且关系密切,并且 CENP-W 能够调控 RAS 信号通路并发挥与肿瘤相关生物学作用,而 B23 与 Ras 的抗凋亡作用密切相关,故本文拟研究验证 CENP-W/B23 与 RAS 通路的相关性,并通过转染小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 至 U251 细胞进一步分析 CENP-W 在脑胶质瘤侵的作用机制,为脑胶质瘤的基因治疗靶点提供新的思路。

1 材料与方 法

1.1 标本来源及临床资料

收集南昌大学第二附属医院神经外科自 2010 年 1 月至 2014 年 8 月手术切除并经病理检测证实的脑胶质瘤标本 53 例,其中男性 29 例,女性 24 例,年龄 21 ~ 69 岁,平均 48.2 岁。按照世界卫生组织(2007 年)神经系统肿瘤分类标准对以上肿瘤组织进行分级:其中 23 例低级别脑胶质瘤:包括 18 例低级别星形细胞瘤(WHO I-II 级)和 5 例少突胶质细胞瘤(WHO II 级);30 例高级别胶质瘤包括 11 例间变性星形细胞瘤(WHO III 级)和 19

例胶质母细胞瘤的(WHO IV 级)。正常对照组:颅脑外伤手术切除的正常脑组织(10 例)。所有患者术前均未经放化疗。本研究获得所有患者的知情同意,并经本院医学伦理委员审核通过。

1.2 标本采集

切取肿瘤组织时避开囊变、坏死部位,所有标本在离体 10 min 内取材,一份装入含 RNA 保存液的无酶 Eppendorf(EP)管中,并立即置于液氮中备用 RT-PCR 检测,另一份 40 g/L 的多聚甲醛溶液固定 48 ~ 72 h,自来水充分冲洗后梯度酒精脱水,二甲苯透明,浸蜡包埋,4 μm 连续切片备用免疫组化染色。

1.3 实验材料及来源

人脑胶质瘤 U251 细胞株由本实验室存储;胎牛血清和 DMEM 培养液均购自美国 HyClone 公司;CENP-W、B23、RAS 及 GAPDH(内参)的 PCR 引物由美国 Invitrogen 公司设计并合成;TRIZOL 总 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒、实时荧光定量 PCR 试剂盒、LipofectAMINE2000 均购自日本 TaKaRa 公司;蛋白抽提试剂盒购自北京普利莱基因技术有限公司;B23、RAS 兔抗人多克隆抗体购自 Anbo 科技生物有限公司,兔抗人 CENP-W 多克隆抗体购自美国 RayBiotech 公司,鼠抗人 β -actin 抗体购自北京长城生物产业责任有限公司,辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG 购自北京中杉金桥生物技术有限公司;免疫组织化学检测试剂盒购自丹麦 DaKo 公司;水合氯化钴、聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜购自北京全式金生物技术有限公司;CENP-W 基因序列的特异性小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 由美国 Invitrogen 公司设计序列并合成。

1.4 免疫组织化学法分析胶质瘤与正常脑组织中 CENP-W 的表达

将存档的石蜡标本制备 4 μm 厚的切片,按照 EnVision 免疫组织化学检测试剂盒说明书提供的方法进行 CENP-W 的免疫组织化学染色。以 PBS 代替一抗作为阴性对照。兔抗 CENP-W 多克隆抗体的稀释比例均为 1:200,辣根过氧化物酶标记的鼠抗兔 IgG 二抗的稀释比例为 1:1000。抗体反应结束后,经 DAB 显色、苏木精对比染色及热水蓝化后,在光学显微镜($\times 200$)下观察染色结果。CENP-W 阳性表达显示为细胞核着棕黄色。

结果判定:根据细胞核染色强度及染色细胞

百分率进行评分制定免疫组化半定量标准^[7]:0分(细胞无着色),1分(浅黄色),2分(深黄色),3分(褐色);按阳性细胞数占同类细胞数的百分比评分:0分,无阳性细胞;1分,阳性细胞<10%;2分,10%~50%;3分,>50%。取两项评分的乘积作为终评分,0~1分为阴性(-),2~3分为弱阳性(+),4~5分为阳性(++),≥6分为强阳性(+++),(-~+)为低表达,(++~+++)为高表达。

1.5 实时荧光定量 PCR 检测脑胶质瘤组织中 CENP-W、B23、RAS mRNA 的表达

TRIZOL 法 (Invitrogen 公司) 提取总 RNA, ND1000 (NanoDrop Technologies) 测定总 RNA 浓度和纯度,并按反转录试剂盒说明合成 cDNA,反转录条件:37 °C 反应 15 min,85 °C 反应 5 s。采用 SYBR Green 荧光染料掺入法在美国 ABI 7300 扩增仪上进行扩增,扩增反应条件:95 °C 30 s,95 °C 5 s,60 °C 30 s,40 次循环。各基因引物序列如表 1,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算各目的 mRNA 的相对表达水平,其中 Ct 值代表每个 PCR 反应管内荧光信号到达设定域值时所经历的循环数, $\Delta\Delta Ct = \text{目的基因 Ct} - \text{内参基因 Ct}$, $\Delta\Delta Ct = \text{处理组 } \Delta Ct - \text{对照组 } \Delta Ct$ 。因此,处理组的相对表达值= $2^{-\Delta\Delta Ct}$,对照组的相对表达值 = 1。

1.6 蛋白质印迹法检测脑胶质瘤组织中 CENP-W 和 HIF-1 α 蛋白的表达

按照总蛋白提取试剂盒(蛋白抽提-RIPA 裂解液,武汉博士德生物工程公司)说明书提取总蛋白,利用生物分光光度计比色分析总蛋白含量。进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,电泳结束后将蛋白胶条转移至 PVDF 膜, TBST 洗膜后加入膜封闭液,37 °C 封闭 2 h,分别加入 CENP-W、B23、RAS 和 β -actin 内参一抗(工作液稀释比例为 1:1 000),4 °C 过夜。TBST 漂洗后,加入辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗(工作液稀释比例均为 1:5 000),室温孵育 1 h, TBST 洗膜后用化学发光法进行曝光、

定影。采用 Image J2x 软件测定并计算目的蛋白条带灰度值与内参条带灰度值的比值,以此作为目的蛋白的相对表达量。

1.7 细胞培养

将 U251 细胞用含 100 mL/L 胎牛血清的 DMEM 培养液,在 37 °C、CO₂ 体积分数为 5% 的恒温培养箱中培养。取对数期生长期的 U251 细胞进行传代处理。将长满细胞的原来培养瓶中的培养液弃去,用 PBS 溶液冲洗 2 次,加入 0.5 mL 胰酶溶液,于倒置显微镜下观察细胞形态变化,当细胞趋于圆形且部分漂浮时加入 5 mL 培养液终止消化,充分吹打后转移至 15 mL 离心管,低速离心机中离心 5 min 收集细胞,弃上清液,加入适量培养液悬浮细胞。将悬浮细胞接种于直径为 25 cm² 的培养瓶中培养,待细胞大部分贴壁并生长至融合度约 60% 时换液。培养过程中用倒置显微镜观察细胞生长状态,包括细胞形态、细胞融合度和培养液颜色变化等。

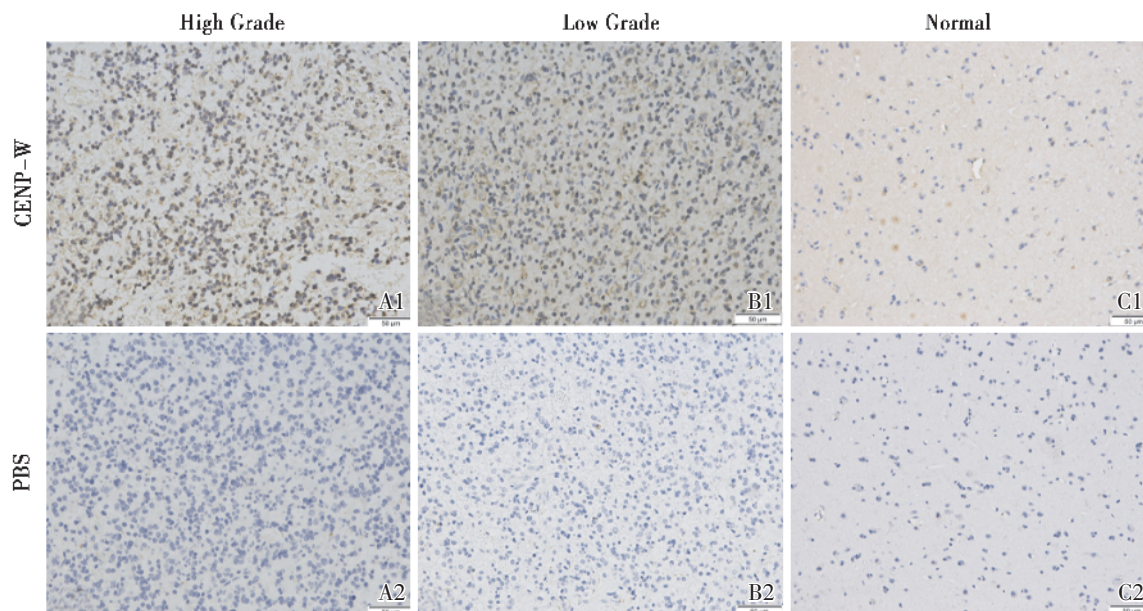
1.8 CENP-W siRNA 转染

细胞按上述条件常规培养,按 2×10^5 个细胞/孔的密度接种胶质瘤细胞于 6 孔板上,待细胞融合度为 50% ~ 80% 时用 LipofectAMINE 2000 转染,方法参照说明书。CENP-W 基因序列的特异性 siRNA 由美国 Invitrogen 公司设计序列并合成。CENP-W siRNA 转染实验分 3 组:未转染对照组、转染阴性对照组和转染 CENP-W siRNA 组。CENP-W siRNA 序列为 5'-GCAGAAGAGTCCAGGACAA-3', CENP-W siRNA 阴性对照序列为 5'-GCATGGAGAGAGCAACCAA-3';转染后 24 ~ 48 h,将细胞置于荧光显微镜下观察,细胞内可见点状荧光,若荧光细胞比例占 50% 以上则判断为转染成功,并于 36 h 后提取细胞总 RNA 用于后续的实时荧光定量 PCR 检测,48 h 后提取细胞总蛋白用于后续行蛋白质印迹法检测(实验技术同 1.5 及 1.6)。

表 1 CENP-W、B23、RAS 的 PCR 引物序列

Table 1 The PCR Primer sequence of CENP-W, B23, RAS, and GAPDH

Name	Sense primer	Antisense primer
CENP-W	5'AGTGGTGACTTATTGGTCCATCTG 3'	5'AAGCGTTTGTCTGGACTCTTC 3'
B23	5'CACCCGATGGAAGATTC 3'	5'GGACAGCCAGATATCAACT 3'
RAS	5'GGGGAGGGCTTTCTTTGTGTA 3'	5'GTCCTGAGCCTGTTTGTGTC 3'
GAPDH	5'GTTGGAGGTCGGAGTCAACGG 3'	5'GAGGGATCTCGCTCTGGAGGA 3'



A: High grade glioma tissues (III-IV); B: Low grade glioma tissues (I-II); C: Normal brain tissues 1; CENP-W; 2: PBS control

图 1 免疫组织化学法检测瘤旁正常组织、低级别(I-II)和高级别(III-IV)胶质瘤组织中 CENP-W 的表达情况($\times 200$)

Fig.1 The expression of centromere protein W (CENP-W) in high grade glioma tissues, low grade glioma tissues and adjacent brain tissues were detected by immunohistochemistry ($\times 200$)

1.9 统计学方法

所有数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行处理,组织中蛋白表达阳性率的比较采用 χ^2 检验;多组均数比较方差齐则采用方差分析(F 值),方差不齐则采用非参数检验 (H 值),其两两比较采用 LSD 法;mRNA 表达之间的相关性分析采用直线相关分析法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化检测胶质瘤组织中 CENP-W 的表达

免疫组织化学检测结果如图 1 所示。CENP-W 主要表达于细胞核,有明显的异质性,按低表达及高表达分两组。在低级别(I~II)和高级别(III~IV)胶质瘤标本中其高表达率分别是 26.09%(6/23) 和 86.67%(26/30), 统计学分析显示各组 CENP-W 高表达率之间有明显差异 ($\chi^2 = 19.971$, $P = 0.000$), 另外,CENP-W 在胶质瘤中的表达与患者性别($\chi^2 = 0.779$, $P = 0.378$)、年龄($\chi^2 = 0.065$, $P = 0.779$)无明显的关系(表 2)。

2.2 Western blot 法检测不同病理级别脑胶质瘤组织中 CENP-W、B23、RAS 的蛋白表达及其差异

Western blot 检测正常脑组织,低级别及高级

表 2 胶质瘤组织中 CENP-W 表达水平(免疫组化)与患者临床病理特征的关系

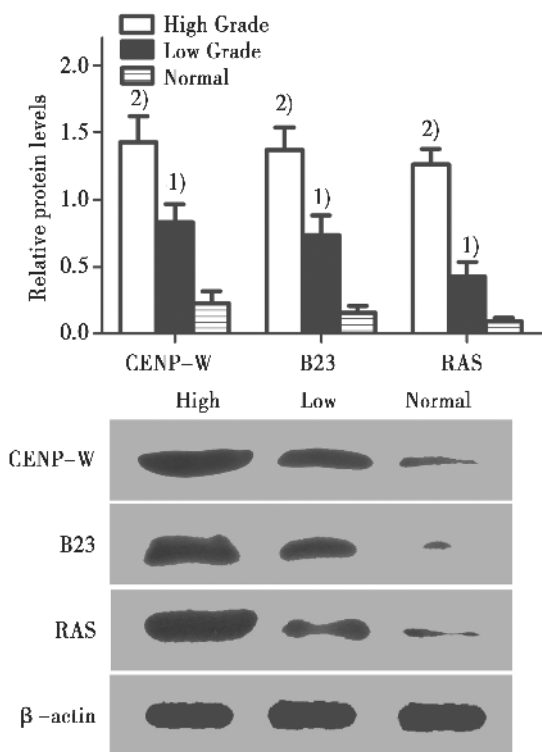
Table 2 The relationship between the expression of CENP-W in glioma tissues

Characteristics	N	CENP-W		χ^2	P
		Low Grade	High Grade		
Gender				0.779	0.378
Male	29	11	18		
Female	24	12	12		
Age/years				0.065	0.779
≤ 50	31	13	18		
> 50	22	10	12		
WHO grade				19.971	<0.001
I/II	23	17	6		
III/IV	30	4	26		

别脑胶质瘤组织中 CENP-W、B23、RAS 的蛋白表达水平,结果示:与正常组及低级别脑胶质瘤相比高级别脑胶质瘤中 CENP-W、B23、RAS 蛋白表达水平均明显增加(图 2、表 3)。

2.3 利用 real-time PCR 法检测不同病理级别脑胶质瘤组织中 CENP-W、B23、RAS 的 mRNA 表达及其差异

Real-time PCR 检测正常脑组织,低级别及高



1) $P < 0.05$ vs adjacent brain tissues; 2) $P < 0.05$ vs low grade glioma tissues and adjacent brain tissues

图 2 Western blot 检测 CENP-W、B23、RAS 蛋白在高、低级别胶质瘤及正常脑组织中的表达情况

Fig.2 The expression of CENP-W, B23, RAS mRNA in high grade glioma tissues, low grade glioma tissues and adjacent brain tissues were detected by Western blot

表 3 CENP-W、B23、RAS 蛋白在高、低级别胶质瘤及正常脑组织中的表达情况

Table 3 Expression of CENP-W, B23, RAS mRNA in gliomas and normal brain tissues

Group	High Grade	Low Grade	Normal tissues	F	P
CENP-W	1.43 ± 0.18	0.83 ± 0.14	0.23 ± 0.09	86.0	0.018
B23	1.36 ± 0.17	0.73 ± 0.15	0.16 ± 0.05	103.3	0.007
RAS	1.26 ± 0.11	0.43 ± 0.10	0.09 ± 0.03	215.4	0.001

级别脑胶质瘤组织的 CENP-W、B23、RAS 的 mRNA 表达水平, 结果示: 与正常组及低级别组相比高级别组中 CENP-W ($F = 376.843, P = 0.000$)、B23 ($F = 93.267, P = 0.000$)、RAS ($F = 71.681, P = 0.000$) 的 mRNA 表达水平均明显增加。

脑胶质瘤组织中 CENP-W mRNA 的表达与 B23 mRNA 的表达呈正相关 ($r = 0.9433, P = 0.000$); 脑胶质瘤组织中 CENP-W mRNA 的表达

与 RAS mRNA 的表达呈正相关 ($r = 0.8532, P = 0.000$); 脑胶质瘤组织中 B23 mRNA 的表达与 RAS mRNA 的表达呈正相关 ($r = 0.8734, P = 0.000$), 如图 3。

2.4 CENP-W siRNA 抑制 CENP-W 表达后 RAS 表达下调

CENP-W siRNA 转染 U251 细胞 36 h 后, 实时荧光定量 PCR 结果显示, 转染 CENP-W siRNA 组 CENP-W 蛋白表达水平较转染阴性对照组 ($P = 0.0001$) 和未转染对照组 ($P = 0.000$) 明显降低, 而 2 个对照组之间差异无统计学意义 ($P = 0.814$); CENP-W siRNA 转染 U251 细胞 48 h 后, 蛋白质印迹法检测结果显示, 转染 CENP-W siRNA 组 RAS 蛋白表达水平较转染阴性对照组 ($P = 0.0003$) 和未转染对照组 ($P = 0.0002$) 明显降低, 而 2 个对照组之间差异无统计学意义 ($P = 0.209$), 图 4。

3 讨论

CENP-W 在染色体上的定位区——人类 6 号染色体长臂的缺失, 在恶性淋巴瘤及卵巢癌等恶性肿瘤中是很常见的染色体改变^[8-9]。同时有研究报道, 将 CENP-W 基因重组到小鼠胚胎成纤维 NIH3T3 细胞中, 使其高表达 CENP-W, 发现 CENP-W-NIH3T3 细胞和空白对照组相比生长明显加快, 有些细胞出现瘤变的表型; 软琼脂克隆实验也发现 CENP-W-NIH3T3 细胞株明显比对照组生长快, 同时 CENP-W-NIH3T3 细胞的一些转移特性 (如细胞的侵袭力和运动能力) 明显增强; 在克隆形成实验中, CENP-W-NIH3T3 细胞在细菌培养皿中的密度极高, 初步猜测 CENP-W 高表达可能使小鼠胚胎成纤维细胞失去了细胞接触抑制; 另外该研究还将高表达 CENP-W 的细胞株行体外成瘤实验, 结果发现 CENP-W 组无论在成瘤速度还是成瘤大小上都比阳性对照组强, 由此推测 CENP-W 与肿瘤的发生、发展、侵袭和转移密切相关^[10-11]。

核仁磷酸蛋白 (NPM, 也被称为 B23) 是一种属于核质蛋白家族的分子伴侣且在体内广泛表达的磷蛋白。大量的文献研究早已表明, 在胃、结肠、子宫、前列腺等癌症中, 均发现 B23 的过度频繁表达、突变^[5,12]。在 Chun 等的研究^[5]中提出, 在细胞

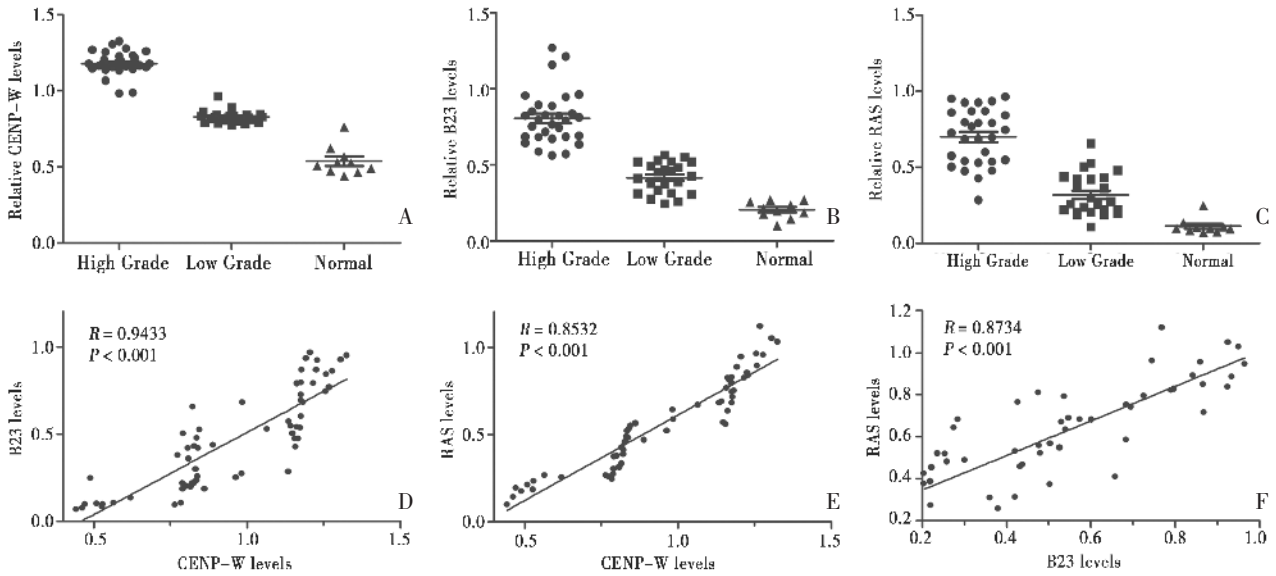
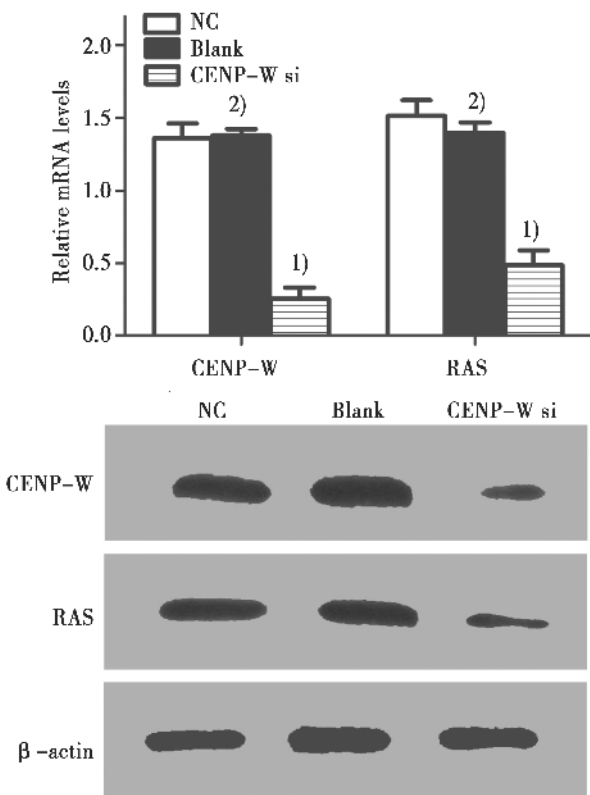


图 3 real-time PCR 检测 CENP-W、B23、RAS mRNA 在高、低级别胶质瘤及正常脑组织中的表达情况及相关性
 Fig.3 The correlation expression of CENP-W, B23, RAS mRNA in gliomas and normal brain tissues



1) $P < 0.05$ vs NC group. 2) $P > 0.05$ vs NC group

图 4 蛋白质印迹法(A)和实时荧光定量 PCR(B)检测 CENP-W siRNA 转染的胶质瘤 U251 细胞中 CENP-W 和 RAS 的表达情况

Fig.4 The expression of CENP-W, RAS in glioma U251 cells transfected by small interference RNA (siRNA) targeting CENP-W gene were detected by Western blotting (A) and real-time PCR (B)

间期中,B23 很可能通过与 CENP-W 的相互作用来影响着丝粒复合物的聚集和装配;并且运用免疫共沉淀的方法证实外源性 CENP-W 与外源性的 B23 能够在 H293 细胞中结合并发挥作用,表明了 CENP-W 与 B23 相互结合并且关系密切。并且有研究发现:B23 具有与癌细胞的成长性和恶性显著相关的表达产物并与 c-Myc-RAS 通路密切相关^[12]。另一篇文献报道^[13], B23 与 Ras 的抗凋亡作用密切相关,敲低 B23 明显使表达 Ras 基因的 NIH3T3 细胞的凋亡增加,B23 与 RAS 存在密切关系。

有研究^[11]发现,在细胞 NIH3T3 中,提高 CENP-W 的表达可解除 NIH3T3 细胞本身对呼吸道肠道病毒增殖的抑制作用,使得病毒可以在细胞中增殖扩增,进而增加细胞对呼吸道肠道病毒的溶解细胞敏感性,并且 CENP-W 是通过激活 Ras 信号通路(MAPK 和 Src)的活性,而增加 NIH3T3 细胞对呼吸道肠道病毒的溶瘤敏感性。

综上所述研究表明:CENP-W 与 B23 相互作用并且关系密切,均具有调控 RAS 信号通路并发挥与肿瘤相关生物学作用,但其具体机制及与脑胶质瘤的关系尚不明确。本研究证实:随胶质瘤恶性程度增高,CENP-W、B23 及 RAS mRNA 及蛋白表达水平增高,且 CENP-W、B23 及 RAS 的表达呈明显正相关,进一步的 CENP-W 蛋白分子的干扰实验结果表明,CENP-W 升高可以促进 RAS 的表达。

笔者还猜测, CENP-W/B23 可以通过促进 RAS 的表达, 促进胶质瘤的侵袭性, 与胶质瘤恶性程度正相关。

但是, 本实验还存在许多疑点, 例如本实验仅研究了 CENP-W、B23 及 RAS 之间在胶质瘤组织中表达的浅层关系, 其深层关系有待进一步研究。具体包括 CENP-W 与 B23 的相互关系及具体调控机制, 及 CENP-W 是如何调节 RAS 表达的? 它们之间是直接关系还是间接关系? 因为 CENP-W 可能直接促进下游 RAS 的表达, 也可能是 CENP-W 与 B23 相互作用使 RAS 升高, 从而促进细胞恶性生物学表型的变化。尽管如此, 笔者仍然认为本实验足以证明在脑胶质瘤中 CENP-W、B23 及 RAS 的关系密切, 且与胶质瘤的恶性程度正相关; 但 CENP-W/B23 与 RAS 之间的具体机制还有待进一步研究探讨。

参考文献

- [1] Park JY, Lee JE, Park JB, et al. Roles of long non-coding RNAs on tumorigenesis and glioma development [J]. *Brain Tumor Res Treat*, 2014, 2(1): 1-6.
- [2] Wu L, Yang L, Xiong Y, et al. Annexin A5 promotes invasion and chemoresistance to temozolomide in glioblastoma multiforme cells [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(12): 12327-12337.
- [3] Castro MG, Candolfi M, Kroeger K, et al. Gene therapy and targeted toxins for glioma [J]. *Curr Gene Ther*, 2011, 11(3): 155-180.
- [4] Lee S, Gang J, Jeon SB, et al. Molecular cloning and functional analysis of a novel oncogene, cancer-upregulated gene 2 (CUG2) [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 360(3): 633-639.
- [5] Chun Y, Park B, Koh W, et al. New centromeric component CENP-W is an RNA-associated nuclear matrix protein that interacts with nucleophosmin/B23 protein [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(49): 42758-42769.
- [6] Uhrbom L, Dai C, Celestino JC, et al. Ink4a-Arf loss cooperates with KRas activation in astrocytes and neural progenitors to generate glioblastomas of various morphologies depending on activated Akt [J]. *Cancer Res*, 2002, 62(19): 5551-5558.
- [7] 张艳, 何炜, 解智慧, 等. VEGF 在食管腺癌中的表达及其与临床预后的关系 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2014, 35(1): 104-107.
Zhang Y, He W, Xie ZW, et al. Expression of VEGF in human esophageal adenocarcinoma and its relationship with the clinical prognosis [J]. *J Xi'an Jiaotong Univ: Med Sci*, 2014, 35(1): 104-107.
- [8] Taborelli M, Tibiletti MG, Martin V, et al. Chromosome band 6q deletion pattern in malignant lymphomas [J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2006, 165(2): 106-113.
- [9] Tibiletti MG, Bernasconi B, Furlan D, et al. Chromosome 6 abnormalities in ovarian surface epithelial tumors of borderline malignancy suggest a genetic continuum in the progression model of ovarian neoplasms [J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(11): 3404-3409.
- [10] Kim H, Lee M, Lee S, et al. Cancer-upregulated gene 2 (CUG2), a new component of centromere complex, is required for kinetochore function [J]. *Mol Cells*, 2009, 27(6): 697-701.
- [11] Park EH, Park EH, Cho IR, et al. CUG2, a novel oncogene confers reoviral replication through Ras and p38 signaling pathway [J]. *Cancer Gene Ther*, 2010, 17(5): 307-314.
- [12] Yung BY. Oncogenic role of nucleophosmin/B23 [J]. *Chang Gung Med J*, 2007, 30(4): 285-293.
- [13] Chou CC, Yung BY. Increased stability of nucleophosmin/B23 in anti-apoptotic effect of ras during serum deprivation [J]. *Mol Pharmacol*, 2001, 59(1): 38-45.

(编辑 孙慧兰)