

蛋白酶体抑制剂 MG132 对 Raji 细胞凋亡、细胞周期及 UBE1 基因表达的影响

刘 勇¹, 龙 捷^{2*}, 莫祥兰¹, 苏祖兰¹, 邵春奎¹, 谢晓斌²

(1.中山大学附属第三医院病理科,广东 广州 510630; 2.广州医学院病理学教研室,广东 广州 510182)

摘要:【目的】探讨蛋白酶体抑制剂 MG132 对人 Burkitt's 淋巴瘤 Raji 细胞凋亡、细胞周期及泛素活化酶(UBE1)基因表达的影响。【方法】5 $\mu\text{mol/L}$ 的 MG132 处理 Raji 细胞 24 h,形态学观察细胞生长情况;流式细胞术 Annexin V-FITC/PI 双染法分析细胞凋亡、PI 单染法分析细胞周期;荧光定量 RT-PCR 检测 UBE1 基因 mRNA 表达, Western blot 检测 UBE1 蛋白表达。【结果】MG132 处理组细胞生长缓慢,死亡及凋亡多见,细胞凋亡率($26.06 \pm 1.10\%$)较对照组($0.30 \pm 0.26\%$)上升($P < 0.05$),G2/M 期细胞比率($33.2 \pm 1.2\%$)较对照组($12.5 \pm 1.1\%$)升高($P < 0.05$);MG132 处理组 UBE1 mRNA 表达量(0.35 ± 0.05)较对照组(1.00 ± 0.08)下降($P < 0.05$),抑制率为 65%; UBE1 蛋白表达量(0.93 ± 0.07)较对照组(1.62 ± 0.22)下调($P < 0.05$),蛋白表达率为($58 \pm 6\%$)。【结论】蛋白酶体抑制剂 MG132 可诱导 Raji 细胞发生凋亡和 G2/M 期阻滞,同时抑制 UBE1 的 mRNA 和蛋白表达,机制仍待深入研究。

关键词: 泛素-蛋白酶体途径;蛋白酶体抑制剂;淋巴瘤;Raji 细胞

中图分类号:Q28 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2011)03-0321-06

Effects of Proteasome Inhibitor MG132 on Apoptosis, Cell Cycle Distribution, and Expression of Ubiquitin-activating Enzyme 1 (UBE1) in Raji Cells

LIU Yong¹, LONG Jie^{2*}, MO Xiang-lan¹, SU Zu-lan¹, SHAO Chun-kui¹, XIE Xiao-bin²

(1.Department of Pathology, The Third Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China;

2.Department of Pathology, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, China)

Abstract: 【Objective】 To explore the effects of proteasome inhibitor MG132 on apoptosis, cell cycle distribution, and the expression of ubiquitin-activating enzyme 1 (UBE1) in human Burkitt's lymphoma Raji cells. 【Methods】 Raji cells were cultured and treated with 5 $\mu\text{mol/L}$ MG132 for 24 h, morphological changes of cells were observed under inverted microscope. Apoptosis and cell cycle distribution were assessed by flow cytometry. Expression of UBE1 mRNA and protein were determined by real-time RT-PCR and Western blot assay. 【Results】 Raji cells grew slowly after exposure to MG132, dead and apoptotic cells could be seen. The apoptosis rate in MG132 group was much higher than that in control group [$(26.06 \pm 1.10)\%$ vs $(0.30 \pm 0.26)\%$, $P < 0.05$] and the cells in G2/M phases with MG132 treatment were significantly higher than those in control group [$(33.2 \pm 1.2)\%$ vs $(12.5 \pm 1.1)\%$, $P < 0.05$]. The mRNA expression of UBE1 in MG132 group remarkably reduced compared to the control (0.35 ± 0.05 vs 1.00 ± 0.08 , $P < 0.05$) with inhibition ratio of 65% and UBE1 protein was also down-regulated by MG132 (0.93 ± 0.07 vs 1.62 ± 0.22 , $P < 0.05$) with the protein expression ratio of ($58 \pm 6\%$). 【Conclusion】 MG132 can induce apoptosis and G2/M arrest of Raji cells, it can also inhibit the expression of UBE1 mRNA and protein of Raji cells significantly, the mechanisms involved needs further investigation.

Key words: ubiquitin-proteasome pathway; proteasome inhibitor; lymphoma; Raji cells

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2011, 32(3):321-326]

近年来,我国恶性淋巴瘤(malignant lymphoma, ML)的发病率每年以 5% 的速度攀升,其中非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)的发病

率从上世纪的 2/10 万快速上升至 7/10 万,开发有效且副作用小的肿瘤靶向性药物成为当前 NHL 的研究热点。泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin-

收稿日期:2011-02-12

基金项目:广东高校优秀青年创新人才培养项目(LYM08084),广东省医学科研基金(B2010141)

作者简介:刘勇,硕士,主治医师,研究方向:肿瘤病理, E-mail:lyzssy@126.com; * 通信作者:龙捷,副教授,研究方向:肿瘤病理, E-mail:longjie73@126.com

proteasome pathway, UPP) 是耗能降解细胞生命活动中特定蛋白的重要代谢通路, 蛋白底物先后经多泛肽链和 26S 蛋白酶体被降解, 研究证明该通路异常与肿瘤的发生密切相关^[1]。MG132(carbobenzoxy-L-Leu-L-Leu-L-Leu) 是一种醛肽类特异性蛋白酶体抑制剂, 作用迅速可逆, 适应范围广, 国内外文献显示 MG132 可使食管癌^[2]、骨肉瘤^[3]、结肠癌^[4]等出现细胞周期阻滞并诱导肿瘤细胞凋亡, 是一种潜在的抗肿瘤药物。目前 MG132 对 NHL 的实验性研究较为有限, 其对 UPP 途径中的关键酶是否产生作用则未见报道。我们在前期工作中, 利用自行设计的基因芯片结合免疫组化检测发现 NHL 中 UPP 途径的泛素活化酶 (ubiquitin activating enzyme1, UBE1) 基因和蛋白呈现高表达^[5], 提示 NHL 的发病中 UPP 通路亢进是不可忽视的因素。本研究采用 MG132 特异性阻断细胞内 UPP, 探讨其在体外对人 Burkitt's 淋巴瘤 Raji 细胞凋亡、细胞周期及 UBE1 基因表达的影响, 为 NHL 药物治疗提供新的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

人 Burkitt's 淋巴瘤 Raji 细胞由中山大学病理学教研室提供。主要试剂 MG132(carbobenzoxy-L-Leu-L-Leu-L-Leu) 购自 Calbiochem 公司, RPMI1640 培养基和胎牛血清购自 Gibco 公司; Annexin V/PI 凋亡检测试剂盒购自南京凯基生物公司; RNAiso Reagent、SYBR Green 一步法荧光定量 RT-PCR 试剂盒购自 Takara 公司。GAPDH、UBE1 引物由 Takara 公司合成。UBE1 多克隆抗体购自 Chemicon 公司(MAB3520, 克隆号: 2G2.3), 稀释度为 1:5 000, Western blot 二抗和 ECL 化学发光试剂盒购于 Cell Signaling 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 Raji 细胞用含 150 mL/L 胎牛血清的 RPMI1640 培养基, 37 °C、5% 体积分数 CO₂ 传代培养。MG132(终浓度为 5 μmol/L) 处理的 Raji 细胞为实验组, MG132 未处理 Raji 细胞为对照组。

1.2.2 流式细胞术 (Annexin V-FITC/PI 双染法) 细胞凋亡分析 5 × 10⁵ 个/每孔细胞接种于 6 孔板, 培养 24 h 后收集细胞, 胰酶(不含 EDTA)消

化、1 500 r/min(*r* = 7 cm)离心 10 min, 冰冷 PBS 缓冲液洗涤 2 次(4 °C), 加入 Annexin V-FITC 和 PI, 混匀室温避光孵育 30 min, PBS 缓冲液洗涤 1 次(4 °C), 细胞重悬于 500 mL PBS 缓冲液中置于 4 °C, 采用 Cytomics FC500 流式细胞仪进行分析(Beckman Coulter, USA); 每个样品检测 10 000 个细胞, 凋亡率 (%) = Annexin V 单阳细胞 (早期凋亡) % + Annexin V、PI 双阳细胞 (晚期凋亡) %。

1.2.3 流式细胞术(PI 染色)细胞周期分析 培养 24 h 后收集 1 × 10⁶ 细胞, PBS 洗 2 次, 700 mL/L 冷乙醇 4 °C 过夜固定细胞。离心弃乙醇, PBS 重悬, 加 RNaseA(终浓度为 50 mg/L), 37 °C 水浴 45 min, 加碘化丙啶(PI) 50 μL, 混匀, 4 °C 避光放置 60 min, 尼龙网滤过, 流式细胞仪上样检测。

1.2.4 荧光定量 RT-PCR 检测 UBE1 mRNA 表达 培养 24 h 后收集细胞, RNAiso Reagent 提取细胞总 RNA。以看家基因 3-磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)为内参, UBE1(F): 5'-CTGATCCAAAGC CGGTCTCTAA-3', UBE1(R): 5'-ACTGCCGTTCTT GGCCATTC-3', 产物 160bp; GAPDH(F): 5'-GCA CCGTCAAGGCTGAGAAC-3', GAPDH(R): 5'-TGG TGAAGACGCCAGTGGA-3', 产物 230 bp, 使用美国应用生物系统公司 ABI 7500 即时荧光定量 PCR 仪进行扩增反应。每个样品设复孔 3 个, 实验重复 3 次。读取各样品中 UBE1 和 GAPDH 的 Ct 值, 采用比较阈值法(ΔC_t 法)进行分析: ΔC_t = C_t(UBE1) - C_t(GAPDH), ΔΔC_t = ΔC_t(MG132) - ΔC_t(对照), 实验组 UBE1 表达相对于对照组的变化倍数 = 2^{-ΔΔC_t}, UBE1 mRNA 表达抑制率 = (1 - 2^{-ΔΔC_t}) × 100%。

1.2.5 Western blot 检测 UBE1 蛋白表达 培养 24 h 后收集 1 × 10⁶ 细胞, 100 μL RIPA 裂解液提取总蛋白, 8% 聚丙烯酰胺凝胶电泳后, 转 PVDF 膜, 1:5 000 的 UBE1 抗体在 4 °C 孵育过夜, 1:1 000 稀释的山羊抗鼠 IgG-HRP-二抗室温孵育 2 h, 放射自显影。以 β-actin 为内参, Image-Pro Plus 5.0 软件分析目的蛋白累积光密度值(IOD), UBE1 蛋白表达率 = [(IOD_{实验组 UBE1} × IOD_{对照组 β-actin}) / (IOD_{对照组 UBE1} × IOD_{实验组 β-actin})] × 100%。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件处理数据, 结果以均数 ± 标准差表示, 两组间均数比较用 *t* 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析, *P* < 0.05 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 形态学观察

倒置显微镜下,对照组Raji细胞生长良好,多个细胞围绕成团;而加入MG132后细胞生长缓慢,散在分布,个别成团,可见较多死亡及凋亡细胞(图1)。

2.2 细胞凋亡分析

流式结果显示:5 μmol/L蛋白酶体抑制剂MG132作用于Raji细胞24 h后,实验组凋亡率(26.06 ± 1.10)%较对照组(0.30 ± 0.26)%上升,差异有统计学意义($t = -39.424, P = 0.000$;图2)。

2.3 细胞周期分析

流式结果显示:5 μmol/L蛋白酶体抑制剂MG132处理Raji细胞24 h后,实验组G2/M期细胞比率较对照组升高,而G0/G1期和S期细胞比率较对照组下降(表1,图3)。

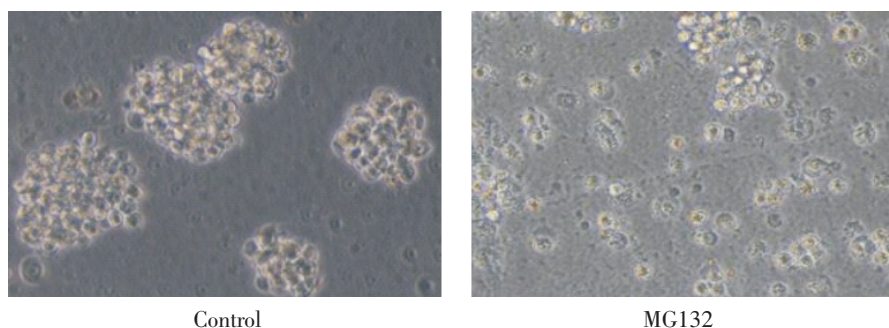


图1 MG132对Raji细胞形态的影响

Fig.1 Morphological changes of Raji cells treated with MG132 (× 200)

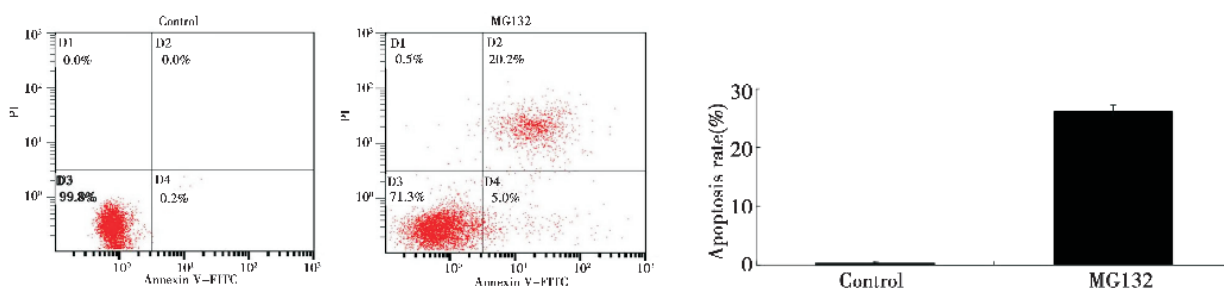


图2 流式细胞术检测MG132对Raji细胞凋亡的影响

Fig.2 Flow cytometry of apoptosis in Raji cells treated with MG132 (Annexin V-FITC/PI staining)

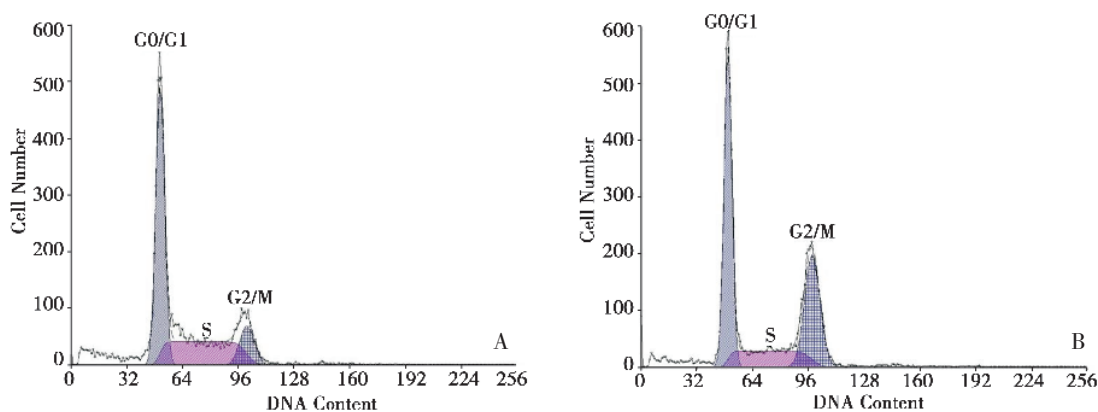


图3 流式细胞术检测MG132对Raji细胞周期的影响

Fig.3 Flow cytometry of cell cycle distribution of Raji cells treated with MG132 (PI staining)

A: Control; B: MG132

表 1 流式细胞术细胞周期检测结果

Table 1 Flow cytometry of cell cycle distribution

(% , $\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Group	Cell cycle distribution		
	G0/G1	S	G2/M
Control	52.3 ± 1.5	34.8 ± 0.7	12.5 ± 1.1
MG132	47.0 ± 1.2 ¹⁾	20.0 ± 0.4 ¹⁾	33.2 ± 1.2 ¹⁾

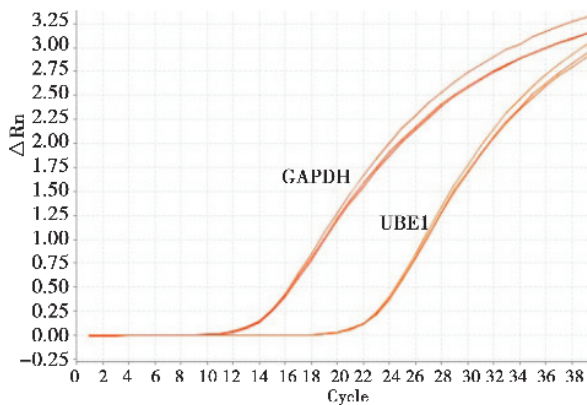
¹⁾compared with control, $P < 0.05$ 

图 4 荧光定量 RT-PCR 扩增曲线

Fig.4 Real-time RT-PCR amplification plot

2.4 MG132 对 UBE1 mRNA 表达的影响

荧光定量 RT-PCR 扩增曲线见所有样品均进入平台期,提示反应条件设定准确(图 4),融解曲线未见杂峰,提示扩增产物单一,无非特异性扩增。MG132 处理组细胞 UBE1 mRNA 的表达量与对照组相比下降了 65%(表 2),差异有统计学意义($t = -11.875, P = 0.000$)。

2.5 MG132 对 UBE1 蛋白表达的影响

半定量分析表明 MG132 组 UBE1 蛋白表达量(0.93 ± 0.07)较对照组(1.62 ± 0.22)下调,UBE1 蛋白表达率为(58 ± 6)%(图 5),差异有统计学意义($t = -4.839, P = 0.008$)。

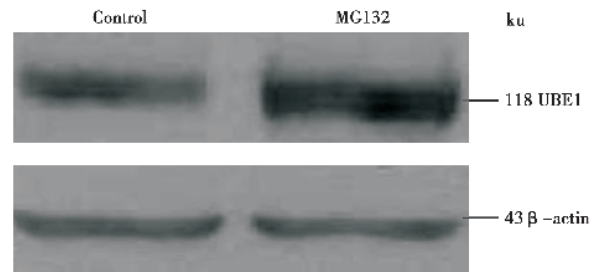


图 5 MG132 组和对照组 UBE1 蛋白表达

Fig.5 Western blot of UBE1 protein

表 2 MG132 组和对照组荧光定量 RT-PCR 结果

Table 2 Real-time RT-PCR results analysis

($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Groups	Fluorescence				
	C_t (UBE1)	C_t (GAPDH)	ΔC_t	$\Delta \Delta C_t$	$2^{-\Delta \Delta C_t}$ /inhibition rate
Control	21.18 ± 0.04	16.72 ± 0.09	4.46 ± 0.12	0 ± 0.12	1.00 ± 0.08
MG132	22.53 ± 0.06	16.53 ± 0.05	6.00 ± 0.10	1.54 ± 0.19	0.35 ± 0.05/0.65 ¹⁾

¹⁾ compared with control, $P < 0.05$

3 讨 论

真核生物细胞蛋白经泛素-蛋白酶体途径(ubiquitin-proteasome pathway, UPP)和溶酶体途径两条通路进行降解^[6-7]。UPP 通过泛素活化酶(E1)、泛素耦联酶(E2)和泛素连接酶(E3)参与的多步酶促反应,为目的蛋白底物加上泛素(泛素化),经 26S 蛋白酶体催化成短肽。因 UPP 途径多靶向短周期蛋白或调节蛋白(如细胞周期蛋白 Bax、P53 和凋亡信号转导蛋白 caspase3)等,故在

细胞周期调控和肿瘤生长中发挥重要作用。该通路的病理状态常表现为酶或底物的改变导致某些蛋白稳定或某些蛋白降解加速,而蛋白酶体抑制剂能直接作用于 26S 蛋白酶体的活性位点,调节特定蛋白的降解,发挥抗炎和抗肿瘤作用^[8]。

本研究显示,蛋白酶体抑制剂 MG132 ($5 \mu\text{mol/L}$)作用 24 h 后,Raji 细胞不仅在形态学上表现出生长缓慢的趋势,同时细胞凋亡率(26.06 ± 1.10)%较对照组(0.30 ± 0.26)%显著上升($P < 0.05$),说明 MG132 可诱导 Raji 细胞出现凋亡。研究显示,在不同肿瘤中 MG132 介导的细胞凋亡机

制有所不同;Emanuele等^[9]发现MG132处理的肝肿瘤细胞(HepG2)出现细胞色素C的释放和Caspases-3的激活;Meli等^[10]研究发现MG132能够在FAS抵抗的T淋巴瘤细胞株中恢复FAS介导的细胞凋亡^[10],说明MG132对Caspases相关的凋亡通路,如线粒体/细胞色素C通路、死亡受体通路都产生影响;然而Fujita^[11]的研究显示MG132可通过剂量依赖性地抑制转录调节因子NF- κ B活性,触发乳腺癌细胞凋亡;另外,Ishizawa等^[12]报道MG132诱导肾肿瘤细胞发生凋亡的同时出现JNK和P38的激活,提出JNK信号通路的激活可能也是MG132诱导细胞凋亡的潜在机制。目前认为蛋白酶体抑制剂可作用于凋亡信号通路中的多个位点,促进细胞凋亡。

与此同时,蛋白酶体抑制剂亦通过干扰细胞周期因子泛素化降解来调节细胞周期进程。细胞周期因子的泛素降解途径分为Ubc3(Cdc34)-SCF(Skp-cullin-F-box protein)和Ubc10(Ubc4)-APC/C(anaphase promoting complex),前者降解cyclinE和p27kip1等因子,调控G1-S期和DNA复制,后者降解cyclinA、B等,调控M期^[13],MG132通过干扰细胞周期相关蛋白的表达,可使细胞周期停滞于G1期或G2期;孙国敬等^[14]发现MG132能够有效地诱导白血病HL-60细胞凋亡前出现G2/M期阻滞,伴P₂₁高表达;张志刚等^[15]发现MG132能够诱导NK/T淋巴瘤Hanks细胞同时出现G1和G2期阻滞,我们的研究显示MG132组G2/M期细胞比率(33.2±1.2)%较对照组(12.5±1.1)%升高,而G0/G1期和S期细胞比率较对照组下降,说明MG132使Raji细胞的细胞周期受阻于G2/M期。

泛素活化酶1(ubiquitin-activating enzyme 1, UBE1)为细胞核内蛋白,单一的UBE1可以活化所有参与结合反应的泛素,并将活化泛素转移到E2酶,UBE1失活是致死性的^[16]。本研究观察MG132对Raji细胞UBE1基因表达的影响,发现MG132处理组细胞UBE1 mRNA的表达量与对照组相比下降了65%($P < 0.05$),同时蛋白表达量仅为较对照组的(58±6)%($P < 0.05$),说明MG132在对UPP途径的抑制机制中,除了可逆性抑制蛋白酶体活性,对关键酶UBE1的表达也有影响。目前国内外

大多数研究集中于UPP系统中种类较多、特异性较强的E2、E3酶,而对于UBE1表达调控未见报道,对其调控机制了解更是非常有限。最新研究显示,UBE1的小分子化学抑制物PYR-41可通过抑制TRAF6(一种E3酶)从而抑制I κ B(I kappa B kinase,促使I κ B发生磷酸化并被蛋白酶体降解的关键酶),最终抑制NF- κ B的活化^[17],而Snyder等^[18]发现MG132正是通过稳定I κ B(inhibitor kappa B)来抑制转录调节因子NF- κ B的活性,由此我们推测:MG132可能经由NF- κ B通路间接参与了UBE1的基因转录及转录后表达调控。另一方面,Mo XL等报道淋巴瘤中p27kip1蛋白异常低表达而mRNA无变化^[19],说明UPP通路的活跃对p27kip1蛋白的过度降解是肿瘤发生发展的重要成因,MG132可通过对蛋白酶体活性的抑制,稳定p27kip1等细胞周期抑制因子,而这些因子的蛋白累积可能对UBE1的表达产生负反馈调节,这种负反馈调节的详细机制究竟怎样,最终也牵涉UBE1的上下游分子调控,值得做深入探讨。

目前对于蛋白酶体抑制剂的研究已取得一定进展,其中Bonzomib(VELCADE, PS-341)已应用于临床多发性骨髓瘤的治疗。与此同时,UPP通路中种类较单一而参与反应广的UBE1近期也成为新药研究的靶点,陆续有其小分子抑制剂的报道(如PYR-41^[17],PYZD-4409^[20])。本研究发现蛋白酶体抑制剂MG132可诱导Raji细胞发生凋亡和G2/M期阻滞,同时对UBE1的mRNA和蛋白表达均产生抑制,这为蛋白酶体通路的研究和肿瘤药物开发提供了新的思路,其中所涉及的分子机制仍有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Mani A, Gelmann EP. The ubiquitin-proteasome pathway and its role in cancer[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(21): 4776-4789.
- [2] Zhang WG, Yu JP, Wu QM, et al. Inhibitory effect of ubiquitin-proteasome pathway on proliferation of esophageal carcinoma cells[J]. World J Gastroenterol, 2004, 10(19): 2779-2784.
- [3] 严晓波,高翔,冯洁,等.蛋白酶体抑制剂MG132诱导caspase-8依赖的骨肉瘤细胞凋亡机制研究[J].中国病理生理杂志, 2008, 24(2): 231-236.

- [4] He Q, Huang Y, Sheikh MS. Proteasome inhibitor MG132 upregulates death receptor 5 and cooperates with Apo2L/TRAIL to induce apoptosis in Bax-proficient and -deficient cells [J]. *Oncogene*, 2004, 23(14): 2554-2558.
- [5] 龙捷, 刘勇, 苏祖兰, 等. UBE1 表达 SPF 值在非霍奇金淋巴瘤中的临床意义[J]. *中国肿瘤临床*, 2009, 36(5): 262-266.
- [6] Devoy A, Soane T, Welchman R, et al. The ubiquitin-proteasome system and cancer [J]. *Essays Biochem*, 2005, 41(5): 187-203.
- [7] Ciechanover A. Intracellular protein degradation: form a vague idea through the lysosome and the ubiquitin-proteasome system and onto human diseases and drug targeting [J]. *Cell Death and Differentiation*, 2005, 12(9): 1178-1190.
- [8] 易文渊, 徐波, 李敏. 蛋白酶体抑制剂逆转肿瘤多药耐药的研究进展[J]. *国外医学药学分册*, 2007, 34(2): 87-92.
- [9] Emanuele S, Calvaruso G, Lauricella M, et al. Apoptosis induced in hepatoblastoma HepG2 cells by the Proteasome inhibitor MG132 is associated with hydrogen peroxide production, expression of Bcl-XS and activation of caspase 3 [J]. *Int J Oncol*, 2002, 21(4): 857-865.
- [10] Meli M, DAlessandro N, Tolomeo M, et al. NF-KB inhibition restores sensitivity to Fas-mediated apoptosis in lymphoma cell lines[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2003, 10(10): 232-236.
- [11] Fujita T, Washio K, Takabatake D, et al. Proteasome inhibitors can alter the signaling pathways and attenuate the P-glycoprotein mediated multidrug resistance [J]. *Int J Cancer*, 2005, 117(40): 670-682.
- [12] Ishizawa J, Yoshida S, Oya M, et al. Inhibition of the ubiquitin-proteasome pathway activates stress kinases and induces apoptosis in renal cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2004, 25(3): 697-702.
- [13] 刘萱, 曹诚, 刘传暄. 泛素-蛋白酶体途径在细胞周期调控中的作用[J]. *生物技术通讯*, 2004, 15(3): 267-271.
- [14] 孙国敬, 钱俊杰, 孟祥兵, 等. 蛋白酶体抑制剂 MG132 诱导 HL-60 细胞凋亡前 G2/M 期阻滞及机制 [J]. *癌症*, 2004, 23(10): 1144-1148.
- [15] 张志刚, 莫祥兰, 苏祖兰等. 蛋白酶体抑制剂 MG132 对 NK/T 淋巴瘤细胞增殖、凋亡和细胞周期的影响 [J]. *中国病理生理杂志*, 2009, 25(12): 2362-2365.
- [16] Mei Zheng, Jing Liu, Zhenxing Yan, et al. Expression, purification and characterization of human ubiquitin-activating enzyme, UBE1 [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(9): 1413-1419.
- [17] Yang Y, Kitagaki J, Dai RM, et al. Inhibitors of ubiquitin-activating enzyme (E1), a new class of potential cancer therapeutics [J]. *Cancer Res*, 2007, 67(19): 9472-9481.
- [18] Snyder JG, Prewitt R, Campsen J, et al. PDTC and MG132, Inhibitors of NF-kappa B, block endotoxin induced vasodilation of isolated rat skeletal muscle arterioles [J]. *Shock*, 2002, 17(4): 304-307.
- [19] Mo XL, Su ZL, He D, et al. Skp2/p27 expression profile is correlated with Epstein-Barr virus status in extranodal nasal-type natural killer cell lymphoma [J]. *Transpl Res*, 2008, 151(6): 303-308.
- [20] Xu GW, Ali M, Wood TE, et al. The ubiquitin-activating enzyme E1 as a therapeutic target for the treatment of leukemia and multiple myeloma [J]. *Blood*, 2010, 115(11): 2251-2259.

(编辑 孙慧兰)