论著

文章编号:1000-5404(2014)20-2098-05

SIRT2基因沉默后对肝癌细胞增殖的影响

冉龙宽,宋春丽,李宛蔚,任吉华,陈 祥,陶娜娜,陈 娟 (400016 重庆,重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室)

[摘要] **目的** 探讨沉默信息调节因子2相关酶2(silent information regulator 2 related enzyme 2,SIRT2)基因沉默对肝癌细胞增殖的影响及分子机制。**方法** 利用慢病毒介导的shRNA干扰技术,靶向沉默SIRT2基因的表达;Western blot检测SIRT2基因沉默效果及SIRT2沉默后β-catenin蛋白的表达变化;流式细胞计数检测SIRT2基因沉默后肝癌细胞周期的变化,CCK-8法检测SIRT2基因沉默对肝癌细胞增殖的影响,台盼蓝计数检测SIRT2基因沉默及过表达β-catenin后,SIRT2基因沉默对肝癌细胞增殖的影响;BrdU实验检测SIRT2基因沉默对肝癌细胞DNA合成的影响;平板集落实验检测SIRT2沉默对肝癌细胞克隆形成能力的影响。**结果** SIRT2 shRNA靶向沉默显著抑制肝癌细胞SIRT2的表达水平,shRNA沉默组肝癌细胞PLC-5的增殖能力较对照组分别下降48.3%(shSIRT2-1)、55.6%(shSIRT2-2)($P<0.01$);SIRT2基因沉默后,肝癌细胞出现G_1期阻滞,β-catenin蛋白表达水平下降;过表达β-catenin后SIRT2基因沉默组较对照组肝癌细胞增殖分别升高了89%(shSIRT2-1)、75%(shSIRT2-2)($P<0.01$)。**结论** SIRT2沉默可能通过调节β-catenin信号通路来影响肝癌细胞增殖。

[关键词] SIRT2;肝癌;增殖

[中图法分类号] R394.3;R730.23;R735.7 [文献标志码] A

Effect of SIRT2 silencing on proliferation of hepatocellular carcinoma cells

Ran Longkuan, Song Chunli, Li Wanyu, Ren Jihua, Chen Xiang, Tao Nana, Chen Juan (Key Laboratory of Molecular Biology on Infection Diseases of Ministry of Education, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[**Abstract**] **Objective** To illuminate the function of silent information regulator 2 related enzyme 2 (SIRT2) on the proliferation of hepatocellular carcinoma cells (HCCs). **Methods** The expression of SIRT2 was silenced by lentivirus-mediated short hairpin RNA (shRNA) interference. SIRT2 protein level was measured by Western blotting. The protein level of β-catenin was analyzed by Western blotting. Cell cycle was measured by flow cytometry. The effect of SIRT2 silencing on cell proliferation of HCCs was determined by trypan blue exclusion assay and Cell Counting Kit-8 (CCK-8). DNA synthesis was detected by the bromodeoxyuridine (BrdU) assay. The clone formation of HCCs was observed by colony formation assay. **Results** Lentivirus-mediated shRNA significantly down-regulated the SIRT2 expression level in HCCs. Knockdown of SIRT2 in hepatocarcinoma cell line PLC-5 decreased cell proliferation by 48.3% and 55.6% respectively for shSIRT2-1 and shSIRT2-2 ($P<0.01$). Knockdown of SIRT2 induced G_1 phase arrest in PLC-5 cells and decreased the expression of β-catenin. After over-expressing β-catenin, the proliferation of SIRT2-silenced hepatocarcinoma cells increased by 89% and 75% respectively for shSIRT2-1 and shSIRT2-2 ($P<0.01$). **Conclusion** The silencing of SIRT2 may inhibit the proliferation of HCCs by β-catenin signaling pathway.

[**Key words**] silent information regulator 2 related enzyme 2; hepatocellular carcinoma; proliferation

Supported by the National Science Foundation of China(81201282), the Specialized Scientific Research Fund for Doctoral Program of Colleges and Universities (20125503120004) and the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2012jjA10047). Corresponding author: Chen Juan, E-mail:yixin_xinyuan@163.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81201282);高等学校博士学科点专项科研基金(20125503120004);重庆市自然科学基金(CSTC2012jjA10047)

[通信作者] 陈 娟, E-mail:yixin_xinyuan@163.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140821.1323.004.html(2014-08-21)

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是全球范围内的多发性肿瘤,在全球恶性肿瘤病死率中居第3位。流行病学证据表明肝细胞肝癌的发生与乙型肝炎病毒或者丙型肝炎病毒感染、酗酒等引起的肝硬化,食入黄曲霉素有关[1]。肝癌具有发现晚,放疗、化疗、手术切除效果差,预后不良等特点[2]。而且,肝癌具有极高的耐药性,目前市面上最有效的化疗药物如多柔比星等,其治疗效果也较差。因此,本课题通过对SIRT2在肝细胞肝癌中的功能研究,将有助于阐明肝细胞肝癌发生、发展的分子机制,进而有助于肝癌的诊断、治疗及预后相关。

沉默信息调节因子2相关酶(silent information regulator 2 related enzyme, SIRT, Sirtuins家族)是近来发现的一类酵母沉默信息调节因子2哺乳动物同源基因,是依赖烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NAD^+)的第Ⅲ类组蛋白去乙酰化酶[3]。人类Sirtuins家族包括7个成员,SIRT 1~7[4]。研究发现SIRT2可作用于SIRT1的某些下游因子,如p65、H4K16、p53[5-6]等。还有研究者发现SIRT2参与细胞周期的有丝分裂[7],去乙酰化有丝分裂后期促进因子CDH1和CDC20维持基因组的稳定,参与肿瘤的发生、发展[8]等。本课题组前期发现SIRT2基因沉默后,可以通过影响肝癌细胞上皮细胞间充质转化从而抑制肝癌细胞的迁移和侵袭能力[9]。

本研究初步探讨SIRT2基因沉默对肝癌细胞增殖的影响及机制,旨在为肝癌的临床治疗以及抑制肝癌的发生、发展提供了一条新的途径。

1 材料与方法

1.1 材料

PLC-5、HepG2和HEK-293FT细胞系购自ATCC(American Type Culture Collection),构建针对SIRT2的shRNA(shSIRT2-1和shSIRT2-2)的慢病毒质粒载体pLK0.1-puro购自Sigma-Aldrich公司,pcDNA3.1-β-catenin质粒购自Addgene(Cambridge, MA)。shSIRT2-1序列:5′-GCCAACCATCTGTCACTACTT-3′,shSIRT2-2序列:5′-GCTAAGCTGGATGAAAGAGAA-3′,shCont序列:5′-GCAACAAGATGAAGAGCACCAA-3′。SIRT2(sc-20966)抗体购自Santa Cruz公司,β-catenin(#8480)抗体购自Cell Signaling Technology公司,activeβ-catenin(clone 8E7, 05-665)抗体购自Millipore公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase,HRP)标记的驴抗兔IgG抗体购自GE Healthcare公司,β-actin抗体(A5316)购自Sigma-Aldrich公司,BCA试剂盒购自碧云天公司,BrdU试剂盒购自Roche公司(11669915001, Cell Proliferation ELISA, BrdU),CCK-8试剂盒(CK04)购自东仁化学科技(上海)公司,β-catenin质粒购自Addgene公司,质粒转染试剂(06366546001)购自罗氏公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 PLC-5细胞系培养于含有10%胎牛血清(Gibco公司)、1%青/链霉素(HyClone公司)的DMEM培养基(Gibco公司)中,HEK-293FT细胞系培养于含有10%胎牛血清的DMEM培养基,HepG2细胞系培养于含有10%胎牛血清、1%青/链霉素的MEM(Corning公司)培养基中,以上细胞均在含5% CO_2、37 ℃的孵箱中培养。

1.2.2 慢病毒包被 通过磷酸钙转染法将SIRT2 shRNA及载体pLK0.1-puro、pLP1、pLP2、pVSVG转染HEK293FT细胞,收集HEK-293FT细胞上清,利用PEG-iT病毒析出液(System Biosciences公司)收集高滴度表达shSIRT2-1和shSIRT2-2的病毒,储存于-80 ℃。

1.2.3 慢病毒转染与质粒转染 在6孔板里接种PLC-5或HepG2细胞,每孔接种12×10^4个细胞,置于含5% CO_2、37 ℃湿润培养箱培养24 h后,将8 μg/mL聚凝胺、高滴度病毒及10% FBS加入细胞培养液中,混匀充分后进行细胞感染,感染后进行实验相关分析。质粒转染:接种6孔板24 h后,将2 μg质粒与6 μL转染试剂加入无血清培养基中充分混合后,滴加入无抗生素的DMEM培养基中,24 h后换液,转染相应天数后进行相关实验分析。

1.2.4 Western blot检测 收集经过慢病毒或质粒处理的细胞,加入相应体积的RIPA细胞裂解液,放置冰上脱色摇床裂解15 min,收集裂解液后离心,取上清用BCA法测定蛋白浓度。将30 μg蛋白变性后,经10% SDS-PAGE电泳,进而将蛋白转移至NC(RPN303D,GE公司)膜上,封闭1 h,4 ℃摇床孵育一抗过夜(SIRT2抗体1∶1 000稀释,β-actin抗体1∶2 000稀释),二抗室温孵育1~2 h(二抗为HRP标记的驴抗兔IgG 1∶3 000稀释),显影底物浸泡后显影。β-actin作为内参照。

1.2.5 CCK-8实验 在6孔板里接种PLC-5细胞,每孔接种20×10^4个细胞,置于含5% CO_2、37 ℃湿润培养箱培养24 h后,进行慢病毒感染,24 h后将100 μL细胞悬液加入96孔板中,培养3、4、5 d后,向各孔中加入10 μL的CCK-8溶液,37 ℃下孵育2 h,波长450 nm处读取光密度值[D(450)]。

1.2.6 细胞计数和BrdU标记实验 在6孔板里接种PLC-5细胞,每孔接种10×10^4个细胞,置于含5% CO_2、37 ℃湿润培养箱培养24 h后,进行慢病毒感染,感染后4、5、6 d进行台盼蓝试剂染色计数。BrdU(购买自Roche公司)实验检测肝癌细胞的DNA合成,经过感染的细胞加入BrdU后于450 nm读取D(450)值,并按[处理组D(450)值-空白组D(450)值]/[对照组D(450)值-空白组D(450)值]换算成相对百分比。

1.2.7 流式细胞计数检测细胞周期 表达shSIRT2-1、shSIRT2-2和shCont的慢病毒分别感染PLC-5细胞,4 d后收集细胞。70%乙醇-20 ℃过夜固定细胞。加入500 μL含溴化乙啶(PI)的PBS,4 ℃孵育30 min,洗涤后检测。

1.2.8 克隆形成实验 在6孔板里接种PLC-5细胞,每孔

接种 10×10^4 个细胞，置于含 5% CO_2、37 ℃湿润培养箱培养 24 h 后，进行慢病毒感染，24 h 后将经过感染的细胞转移至含有 3.5 μg/mL 灭瘟素的培养基中培养 14 d，结晶紫染色。

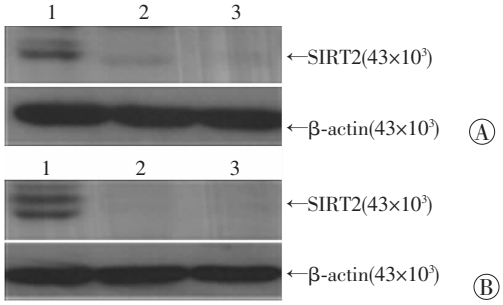
1.3 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用 LSD-t 检验。

2 结果

2.1 Western blot 验证 SIRT2 shRNA 沉默效果

在 PLC-5 及 HepG2 细胞中，感染可表达 shCont、shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 的慢病毒 72 h 后，利用 Western blot 检测慢病毒感染效果。结果显示，与对照 shCont 组相比，慢病毒介导的 SIRT2 靶向 shRNA 成功地沉默了肝癌细胞中 SIRT2 的蛋白表达(图 1)。



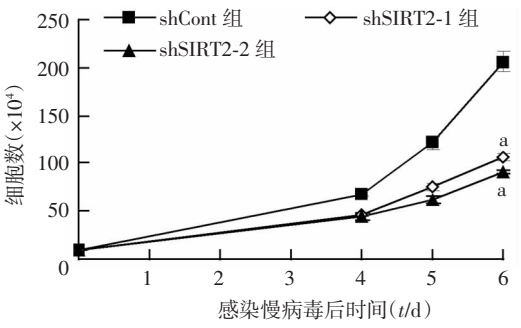
1：shCont 组；2：shSIRT2-1 组；3：shSIRT2-2 组

A：PLC-5；B：HepG2

图 1 Western blot 检测感染表达 shRNA 慢病毒 72 h 后 HepG2、PLC-5 细胞中 SIRT2 的蛋白水平

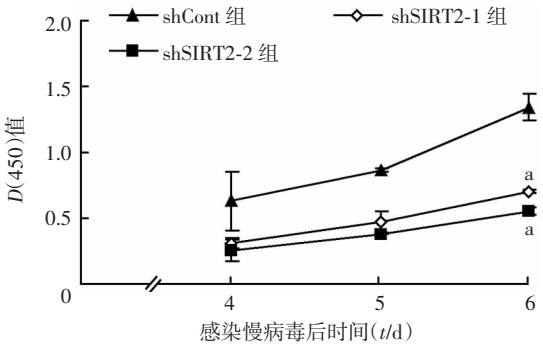
2.2 沉默 SIRT2 影响肝癌细胞的增殖能力

表达 shCont、shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 的慢病毒感染肝癌细胞 PLC-5，感染 4、5、6 d 后分别进行台盼蓝细胞计数，结果显示感染后 6 d shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 同 shCont 相比细胞数分别下降了 48.3%、55.6%，具有统计学差异($P<0.01$，图 2)。同样在感染慢病毒后的 4、5、6 d 后，利用 CCK-8 实验检测，结果显示 shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 同 shCont 相比，细胞活力分别下降 52%、46%、48%，59%、44%、59%，具有统计学差异($P<0.01$，图 3)。说明沉默 SIRT2 抑制肝癌细胞的增殖能力。



a：$P<0.01$，与 shCont 组比较

图 2 台盼蓝细胞计数检测感染慢病毒后 PLC-5 细胞数

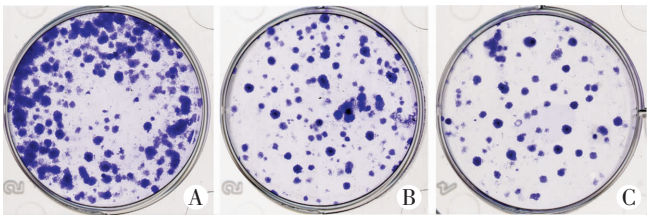


a：$P<0.01$，与 shCont 组比较

图 3 CCK-8 实验检测感染慢病毒后 PLC-5 细胞活力

2.3 SIRT2 沉默影响肝癌细胞的克隆形成能力

平板集落实验显示，在肝癌细胞 PLC-5 中感染可表达 shCont、shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 的慢病毒，在含有灭瘟素(3.5 μg/mL)的环境中培养 14 d，进行结晶紫染色。结果显示 shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 同 shCont 相比克隆数下降了 70%、80%，具有显著性差异($P<0.001$)。说明沉默 SIRT2 抑制了肿瘤细胞的克隆形成能力(图 4)。



A：shCont 组；B：shSIRT2-1 组；C：shSIRT2-2 组

图 4 平板集落实验观测 PLC-5 细胞感染慢病毒后经药物筛选后的集落数

2.4 SIRT2 基因沉默对细胞周期的影响

细胞周期检测结果显示，与 shCont 组相比，shSIRT2-1 组、shSIRT2-2 组的肝癌细胞 G_1 期比例显著升高($P<0.05$，表 1)。提示 SIRT2 基因沉默诱导了肝癌细胞 G_1 周期阻滞。

表 1 流失细胞计数检测感染慢病毒 4 d 后 PLC-5 细胞周期

[$n=3$，($\bar{x}\pm s$)%]

组别	G_1 期	S 期	G_2 期
shCont 组	40.29±0.73	43.90±2.00	15.81±1.60
shSIRT2-1 组	65.12±2.12[a]	23.43±0.88[a]	11.45±2.72
shSIRT2-2 组	63.15±2.75[a]	24.51±2.62[a]	12.33±0.87

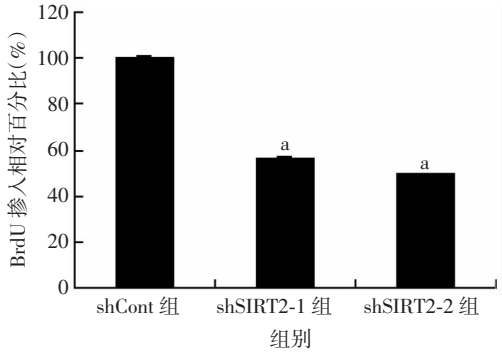
a：$P<0.05$，与 shCont 组比较

2.5 沉默 SIRT2 影响肝癌细胞的 DNA 合成

BrdU 实验显示，在 PLC-5 细胞中感染可表达 shCont、shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 的慢病毒，加入 BrdU 10 μmol/L 孵育 4 h。结果显示，与 shCont 相比，shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 肝癌细胞的 DNA 合成下降了 44.0%、50.7%，差异有统计学意义($P<0.01$，图 5)。说明沉默 SIRT2 抑制了肿瘤细胞的 DNA 合成。

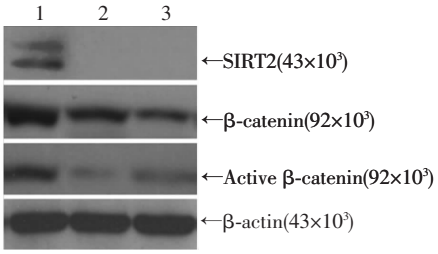
2.6 SIRT2 通过 β-catenin 调节肝癌细胞的增殖

2.6.1 沉默 SIRT2 后 β-catenin 表达下降 从感染了表达 shCont、shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 的慢病毒的 PLC-5 细胞中提取蛋白质，检测 β-catenin 和 Active β-catenin 蛋白，结果显示在 PLC-5 细胞系中沉默组 β-catenin 和 Active β-catenin 蛋白水平均较对照组低，由此可推测 SIRT2 可能通过 β-catenin 发挥调节肝癌细胞增殖的作用(图 6)。



a：$P<0.01$，与 shCont 组比较

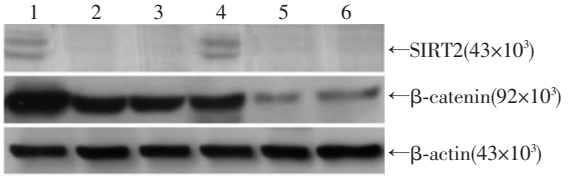
图 5 BrdU 实验检测感染慢病毒后 PLC-5 细胞增殖



1：shCont 组；2：shSIRT2-1 组；3：shSIRT2-2 组

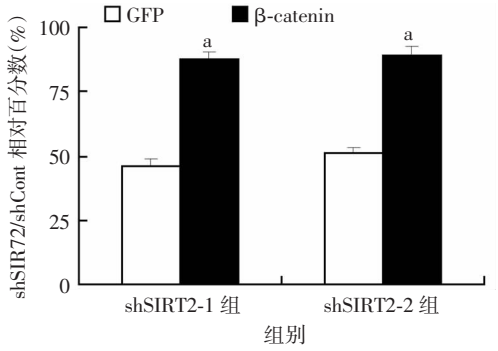
图 6 Western blot 沉默 SIRT2 后 β-catenin 和 Active β-catenin 蛋白的表达

2.6.2 过表达 β-catenin 蛋白拮抗 SIRT2 沉默对肝癌细胞增殖的影响 在感染了表达 shCont、shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 的慢病毒 PLC-5 细胞中，分别过表达 β-catenin 和绿色荧光蛋白(图 7)4 d 后进行细胞计数。在 shSIRT2-1 和 shSIRT2-2 介导的 SIRT2 沉默组肝癌细胞中过表达 β-catenin，肝癌细胞的生长分别升高了 89%、75%，具有统计学差异($P<0.01$，图 8)。台盼蓝计数结果显示 β-catenin 可拮抗 SIRT2 沉默对肝癌细胞增殖的抑制作用。



1：β-catenin + shCont 组；2：β-catenin + shSIRT2-1 组；3：β-catenin + shSIRT2-2 组；4：GFP + shCont 组；5：GFP + shSIRT2-1 组；6：GFP + shSIRT2-2 组

图 7 PLC-5 细胞中感染 shRNA 慢病毒和过表达 β-catenin 质粒后 SIRT2 和 β-catenin 的蛋白水平



a：$P<0.01$，与 GFP 比较

图 8 过表达 β-catenin 拮抗 SIRT2 沉默检测 PLC-5 细胞增殖

3 讨论

Sirtuin 家族参与多个重要的生理学过程，如 DNA 损伤修复、细胞应激、新陈代谢和调节基因的表达等。近年，Sirtuin 家族的功能已逐渐成为研究的热点，但是其如何参与肿瘤发生、发展的机制仍然不清楚[10]。目前 SIRT1 研究最为深入，在 SIRT1 缺失的鼠中，基因组的不稳定性和原发性肿瘤的发生增加[11]，在肝癌细胞中通过维持端粒稳定来促进肝癌细胞的增殖[12-13]，同样在前列腺癌[14]、皮肤癌[15]等中 SIRT1 的表达明显增高。这些信息提示 SIRT1 在不同的细胞中发挥着不同的生理作用。SIRT2 定位于哺乳动物细胞质中，发挥去乙酰化酶和 ADP-核糖基转移酶活性。有研究者发现 SIRT2 参与异倍体和四倍体的形成，其中四倍体较异倍体被认为是肿瘤发生的重要危险因素。Kim 等[16]报道，利用 SIRT2 缺失的老鼠，同样发现 SIRT2 缺失可以导致基因组的不稳定和肿瘤的发生。Li 等[17]在 HeLa 细胞上研究发现，沉默 SIRT2 可通过 p53 信号通路诱导凋亡。因此，我们认为 SIRT2 在肿瘤的发生、发展中起着重要的调节作用。

本结果显示在沉默 SIRT2 基因表达后，肝癌细胞的增殖能力受到明显影响，首先通过台盼蓝细胞计数及 CCK-8 实验发现沉默 SIRT2 后肿瘤细胞生长减缓，平板集落实验发现 SIRT2 沉默影响肝癌细胞的克隆形成能力，在此基础上我们进行流式细胞仪分析发现沉默 SIRT2 后肝癌细胞出现 G_1 期阻滞，BrdU 实验同样证实了沉默 SIRT2 后肝癌细胞的增殖能力受到明显影响。并且我们发现沉默 SIRT2 后 β-catenin 蛋白的表达量下降；而过表达 β-catenin 蛋白时，可拮抗 SIRT2 沉默所诱导的对肝癌细胞增殖的影响。说明沉默 SIRT2 可能通过抑制 β-catenin 的表达来影响肝癌细胞的增殖，而 SIRT2 沉默抑制 β-catenin 蛋白的机制值

得我们深入研究。

β-catenin主要位于细胞膜,β-catenin通过参与调节肝炎、肝硬化、肝细胞增殖等的发生、发展来发挥在肝癌细胞中的作用[16,18],是Wnt信号通路中重要的一环。经典Wnt信号通路中胞质和胞核中的β-catenin升高启动转录活性蛋白cyclin D1和c-myc等,使细胞周期由G_1期进入S期,促进DNA合成和有丝分裂[19]。本课题组将进一步研究SIRT2沉默是否通过经典Wnt信号通路调节肝癌细胞增殖,并探讨SIRT2调节肝癌细胞增殖的其他分子机制,从而为肝癌的基因治疗探索新的分子生物学靶点。

参考文献:

[1] Gaillard M, Tranchart H, Dagher I. Laparoscopic liver resections for hepatocellular carcinoma: Current role and limitations[J]. World J Gastroenterol, 2014, 20(17): 4892-4899.

[2] Nomoto S, Hishida M, Inokawa Y, *et al*. Management of hepatocellular carcinoma should consider both tumor factors and background liver factors[J]. Hepatobiliary Surg Nutr, 2014, 3(2): 82-85.

[3] Imai S, Armstrong C M, Kaeberlein M, *et al*. Transcriptional silencing and longevity protein Sir2 is an NAD-dependent histone deacetylase [J]. Nature, 2000, 403(6771): 795-800.

[4] Pantazi E, Zaouali M A, Bejaoui M, *et al*. Role of sirtuins in ischemia-reperfusion injury [J]. World J Gastroenterol, 2013, 19(43): 7594-7602.

[5] Rothgiesser K M, Erener S, Waibel S, *et al*. SIRT2 regulates NF-κB dependent gene expression through deacetylation of p65 Lys310[J]. J Cell Sci, 2010, 123(Pt 24): 4251-4258.

[6] Bosch-Presegue L, Vaquero A. The dual role of sirtuins in cancer[J]. Genes Cancer, 2011, 2(6): 648-662.

[7] Inoue T, Hiratsuka M, Osaki M, *et al*. SIRT2, a tubulin deacetylase, acts to block the entry to chromosome condensation in response to mitotic stress[J]. Oncogene, 2007, 26(7): 945-957.

[8] Dryden S C, Nahhas F A, Nowak J E, *et al*. Role for human SIRT2 NAD-dependent deacetylase activity in control of mitotic exit in the cell cycle[J]. Mol Cell Biol, 2003, 23(9): 3173-3185.

[9] 宋春丽, 任吉华, 冉龙宽, 等. SIRT2沉默对肝癌细胞的迁移和侵袭能力的影响[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(24): 2634-2638.

[10] Chen Z, Ma T, Huang C, *et al*. MiR-27a modulates the MDR1/P-glycoprotein expression by inhibiting FZD7/β-catenin pathway in hepatocellular carcinoma cells[J]. Cell Signal, 2013, 25(12): 2693-2701.

[11] Carafa V, Nebbioso A, Altucci L. Sirtuins and disease: the road ahead[J]. Front Pharmacol, 2012, 3: 4.

[12] Wang R H, Sengupta K, Li C, *et al*. Impaired DNA damage response, genome instability, and tumorigenesis in SIRT1 mutant mice [J]. Cancer Cell, 2008, 14(4): 312-323.

[13] Chen J, Zhang B, Wong N, *et al*. Sirtuin 1 is upregulated in a subset of hepatocellular carcinomas where it is essential for telomere maintenance and tumor cell growth[J]. Cancer Res, 2011, 71(12): 4138-4149.

[14] Huffman D M, Grizzle W E, Bamman M M, *et al*. SIRT1 is significantly elevated in mouse and human prostate cancer[J]. Cancer Res, 2007, 67(14): 6612-6618.

[15] Hida Y, Kubo Y, Murao K, *et al*. Strong expression of a longevity-related protein, SIRT1, in Bowen's disease[J]. Arch Dermatol Res, 2007, 299(2): 103-106.

[16] Kim H S, Vassilopoulos A, Wang R H, *et al*. SIRT2 maintains genome integrity and suppresses tumorigenesis through regulating APC/C activity[J]. Cancer Cell, 2011, 20(4): 487-499.

[17] Li Y, Matsumori H, Nakayama Y, *et al*. SIRT2 down-regulation in HeLa can induce p53 accumulation via p38 MAPK activation-dependent p300 decrease, eventually leading to apoptosis[J]. Genes Cells, 2011, 16(1): 34-45.

[18] Lee J M, Yang J, Newell P, *et al*. β-Catenin signaling in hepatocellular cancer: Implications in inflammation, fibrosis, and proliferation [J]. Cancer Lett, 2014, 343(1): 90-97.

[19] Kaldis P, Pagano M. Wnt signaling in mitosis[J]. Dev Cell, 2009, 17(6): 749-750.

(**收稿**:2014-04-03;**修回**:2014-05-27)

(编辑　汪勤俭)