DOI:10.16016/j.1000-5404.201507168

过表达 SARI 通过抑制 AP-1 转录并下调抗凋亡分子 Mcl-1 的表达诱导宫颈癌细胞凋亡

卢星轩[1],张 艳[1],曾益军[1],郑英如[2],刘东擘[1],何凤田[1] (400038 重庆,第三军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室[1];400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所妇产科[2])

[摘要] **目的** 探讨过表达 SARI(suppressor of AP-1 and regulated by IFN)对宫颈癌细胞增殖的影响及可能的分子机制。**方法** 在 HeLa 细胞和 CaSki 细胞转染可表达 SARI 的质粒后,使用 Real-time PCR 和 Western blot 检测细胞中 SARI 表达水平的变化;CCK-8 法检测上述宫颈癌细胞模型的增殖;流式细胞术分析上述细胞模型的周期及凋亡;报告基因检测转录因子 AP-1 的转录活性;Western blot 检测抗凋亡分子 Mcl-1 及 Bcl-2 的表达。**结果** 成功构建过表达 SARI 的细胞模型。SARI 表达水平上调后,细胞增殖受到抑制($P<0.01$);早期凋亡细胞增加但细胞周期无明显变化。转录因子 AP-1 的转录活性及 Mcl-1 的表达明显下调($P<0.05$),但 Bcl-2 的表达无明显变化。**结论** 宫颈癌细胞中过表达 SARI 诱导宫颈癌细胞发生早期凋亡,可能是通过抑制 AP-1 的转录并下调抗凋亡分子 Mcl-1 的表达来实现的。

[关键词] SARI;宫颈癌;细胞增殖,AP-1;Mcl-1

[中图法分类号] R394.3;R730.23;R737.33 [文献标志码] A

Overexpression of SARI induces apoptosis of cervical cancer cells through suppressing transcriptional activity of AP-1 and down-regulating expression of Mcl-1

Lu Xingxuan[1], Zhang Yan[1], Zeng Yijun[1], Zheng Yingru[2], Liu Dongbo[1], He Fengtian[1] ([1]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Department of Obstetrics and Gynecology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of overexpression of suppressor of AP-1 and regulated by IFN (SARI) on the proliferation of cervical cancer cells and explore the underlying molecular mechanism. **Methods** HeLa cells and CaSki cells were transformed with plasmids capable of expressing SARI. The expression of SARI was detected by real-time PCR and Western blotting. Meanwhile, the proliferation of the transformed cancer cells was assessed by CCK-8 assay, and cell cycle and apoptosis were detected by flow cytometry. In addition, the transcriptional activity of AP-1 transcription factor was determined by luciferase reporter assay, and the expression of Mcl-1 and Bcl-2 was analyzed by Western blotting. **Results** A cell model of over-expressing SARI was successfully established ($P<0.01$). After up-regulating SARI, the cell proliferation was inhibited, early apoptotic cells were increased, but no significant change was observed in the cell cycle. Moreover, the transcriptional activity of AP-1 and the expression of Mcl-1 were both significantly suppressed ($P<0.05$), while there was no change in the expression of Bcl-2. **Conclusion** Overexpression of SARI can induce early apoptosis of cervical cancer cells through suppressing the transcriptional activity of AP-1 and down-regulating the expression of Mcl-1.

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81272865);国家自然科学基金青年科学基金(81402268);重庆市自科学基金(CSTC2013jjB10015)

[通信作者] 刘东擘,E-mail:616573102@qq.com;何凤田,E-mail:hefengtian66@aliyun.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151204.1340.023.html(2015-12-04)

[**Key words**] suppressor of AP-1 and regulated by IFN; cervical cancer; cell proliferation; AP-1; Mcl-1

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81272865), the National Natural Science Foundation for Young Scholars of China (81402268) and the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTC2013jjB10015). Corresponding author: Liu Dongbo, E-mail: 616573102@qq.com; He Fengtian, E-mail: hefengtian66@aliyun.com

宫颈癌是危害女性健康的主要恶性肿瘤之一,在我国妇科恶性肿瘤中其发病率居第二位,仅次于乳腺癌。据 WHO 报道,每年我国发病人数 14 万,约占全球发病总人数的 1/3[1]。随着社会生活的改变和人乳头瘤病毒感染率的上升,宫颈癌的发病率有明显的上升趋势,并且宫颈癌患者逐渐趋于年轻化[2]。目前对宫颈癌的重要治疗手段之一是切除病患部位组织,但是对于已发生转移的患者手术切除的效果不理想,并且严重影响患者的后续生活质量。因此,寻找一个强有力的抑癌分子靶标并诱导其高表达或是改进宫颈癌治疗效果的有效策略。

SARI(suppressor of AP-1 and regulated by IFN)又称 BATF2(basic leucine zipper transcription factor, ATF-like 2),属于碱性亮氨酸拉链转录因子 ATF 样蛋白(basic leucine zipper transcription factor ATF-like, BATF)家族[3]。SARI 含有碱性亮氨酸拉链结构,能和 c-Jun 结合起到抑制 AP-1 转录活性的功能[4]。已有研究表明 SARI 在多种正常组织中广泛表达,但在其对应的肿瘤组织中呈低表达并且其表达量与肿瘤的发生发展呈负相关[5-9]。研究报道 IFN-α/β 和地塞米松能有效诱导 SARI 的表达并显著抑制淋巴瘤细胞的增殖[10]。除抑制肿瘤细胞增殖外,SARI 还可以抑制肿瘤的转移及侵袭[7],其表达水平与肿瘤的分期以及患者的预后也有明显相关性[8],亦可作为一个较好的肿瘤诊断因子和预后判断因子,有较好的潜在应用价值。然而 SARI 在宫颈癌中的生物学功能及相关分子机制尚未见报道。

本研究旨在探讨宫颈癌中 SARI 的功能及相关分子机制,为 SARI 可能成为宫颈癌基因靶向治疗的分子靶标提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株与质粒 人宫颈癌细胞系 HeLa 和 CaSki 购自 ATCC,由第三军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室保存并传代。质粒 pSARI:野生型 SARI 构建于 pCMV 表达载体,FLAG 为表达标签。由首都医科大学基础医学院生化与分子生物学系丁卫教授惠赠。以空载体 pCMV 为转染对照。

1.1.2 试剂 胎牛血清、DMEM 低糖培养基(Gibco 公司 C11995500BT)、胰酶(HyClone 公司 SH3004201),CCK-8 试剂盒(日本 Dojindo 公司 CK04-05)、Trizol(北京康为世纪公司 SW0580)、Prime ScriptTM RT Master Mix 反转录试剂盒(大连 TaKaRa 公司 RR036A)、Real-time PCR 检测试剂盒(大连 TaKaRa 公司 RR820A)、Opti-MEM(Inverogen 公司 31985062)、Lipofectamine 2000(Inverogen 公司 11668019)、双荧光素酶报告基因检测试剂盒(Promega 公司 E2920)。蛋白酶抑制剂(美国 Roche 公司 4693159001)、RIPA 裂解液(南京碧云天公司 P0013B)、BCA 检测试剂盒(南京碧云天公司 P0010)、APS(南京碧云天公司 ST005)、PBS 缓冲液(中山金桥 ZLI-9061)、SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 5X(南京碧云天公司 P0015)。封闭蛋白干粉(武汉博士德)、小鼠抗人 β-actin 抗体(美国 Santa Cruz 公司 sc-47778)、兔抗人 SARI 抗体(美国 Santa Cruz 公司 sc-130972)、兔抗人 mcl-1 抗体(美国 Santa Cruz 公司 sc-819)、山羊抗鼠二抗(北京中杉公司)、山羊抗兔二抗(北京中杉公司)、PVDF 膜(Bio-Red 公司 1620177)、ECL 化学发光试剂盒(美国 Bio-Red 公司)。引物使用 NCBI Blast 在线设计,由生工公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞的培养和脂质体转染细胞表达质粒 HeLa 细胞、CaSki 细胞分别于含 10% 胎牛血清的 DMEM 低糖培养基中培养,每 2~3 天换液或传代。脂质体转染细胞表达质粒使用 Invitrogen LipofectamineTM2000 完成,简要过程为:将混有质粒 DNA 和混有转染试剂的培养基 Opti-MEM 在室温下混匀并静置 20 min,然后将其加入培养的细胞中(适宜细胞密度为 80% 左右),继续在 37 ℃、5% CO_2 恒温培养箱中培养。细胞转染处理 24 h 后,进行 CCK-8、PCR、Western blot 检测,流式细胞仪分析细胞周期及凋亡。以转染 pSARI 质粒的处理组作为实验组(pSARI 组);以转染等量 pCMV 载体质粒的处理组作为对照组(NC 组)。

1.2.2 CCK-8 实验 取对数生长期的 HeLa 和 CaSki 细胞,0.25 g/L 胰蛋白酶消化,调整细胞数为 5×10^4/mL,接种于 96 孔板,100 μL/孔,放置在 37 ℃,5% CO_2 孵箱中培养,12 h 后吸弃上清;实验组转入 pSARI 质粒,阴性对照组中转入等量的 pCMV 质粒,并设置不含细胞的空白对照,每组 3 个复孔,转染 24 h 后取出。每孔添加 10 μL CCK-8 试剂(注意防止产生

气泡),继续培养 1 h 后,取出放入酶标仪检测波长为 450 nm 时的光密度值。

1.2.3　总 RNA 提取及逆转录　　用 Trizol 法提取转染 24 h 后的细胞总 RNA,具体操作按说明书进行。用核酸检测仪测 RNA 浓度及纯度[1.8 < $D(260)/D(280)$ < 2.0]后,按 TaKaRa 公司的逆转录试剂盒说明书进行逆转录反应得到 cDNA,-20 ℃保存。

1.2.4　Real-time PCR　　取 1.2.3 所得 cDNA,采用 Real-time PCR 试剂盒进行实时定量 PCR,对 SARI mRNA 表达水平进行测定。反应体系:SYBR Premix *Ex Taq*(2×)10 μL,SARI 上下游引物(10 μmol/L)各 1 μL,β-actin 上下游引物(10 μmol/L)各 1 μL,cDNA 1 μL,补超纯水至 20 μL。每个样品设 3 个复孔,置 Real-time PCR 仪扩增,反应条件:95 ℃预变性 1 min;95 ℃10 s,60 ℃ 30 s,扩增 40 个循环;95 ℃ 1 min,55 ℃ 1 min,55 ℃ 10 s 81 个循环(溶解曲线),相对定量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。引物序列如下:β-actin 上游:5′-ATCGTGCGTGACATTAAGGAGAAG-3′,下游:5′-AGGAAGGAAGGCTGGAAGAGTG-3′;SARI 上游:5′-CCATGTACGTTGCTATCCAGG-3′,5′-TCTCCTTAATGTCACGCACGA-3′。

1.2.5　Western blot 实验　　使用含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取转染 24 h 后细胞的总蛋白。用 BCA 法测定蛋白浓度后标化。加入蛋白上样缓冲液后沸水煮 5 min。取等量蛋白,12% 的 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,37 ℃ 5% 脱脂奶粉封闭 1.5 h,按分子大小剪膜,一抗 β-actin 工作浓度为 1∶1 000,SARI 浓度为 1∶500,Mcl-1 浓度为 1∶1 000,Bcl-2 浓度为 1∶1 000,4 ℃封闭 10 ~ 12 h,TBST 洗涤 3 次,10 min/次,相应的二抗工作浓度为 1∶10 000,37 ℃孵育 1 h,TBST 洗涤 3 次,10 min/次,超敏 ECL 化学发光显影。

1.2.6　流式细胞仪分析细胞周期　　HeLa、CaSki 细胞转染 24 h 后,取出培养板,将上清吸入 10 mL EP 管中,PBS 洗 2 遍,0.25 g/L 的胰蛋白酶消化,吸入 EP 管中,1 000 × *g* 离心 5 min,弃上清,用 PBS 洗 2 遍,预冷的 75% 乙醇重悬,4 ℃过夜;1 000 × *g* 离心 5 min,弃去乙醇,PBS 洗 2 遍,加入核糖核酸酶 A(100 ng/L),37 ℃ 水浴锅消化 30 min,加入 PI(500 ng/mL)染液 300 μL,4 ℃避光孵育 1 h,400 目细胞筛选过滤,流式细胞仪检测细胞周期,Mcycle 软件分析各组 G_0、G_1、S、G_2、M 各期细胞百分比。

1.2.7　流失细胞仪分析细胞凋亡　　HeLa、CaSki 细胞转染 24 h 后,取出培养板,将上清吸入 10 mL EP 管中,PBS 洗 2 遍,0.25 g/L 的胰蛋白酶消化,吸入 EP 管中,1 000 × *g* 离心 5 min,弃上清,用 PBS 洗 2 遍,弃上清。加入 100 μL Binding Buffer 和 FITC 标记的 Annexin-V(20 μg/mL)10 μL,室温避光 30 min,再加入 PI(50 μg/mL)5 μL,避光反应 5 min 后,加入 400 μL Binding Buffer,立即用 FAC Scan 进行流式细胞术定量检测。

1.2.8　双荧光素酶报告基因检测　　分别将 HeLa、CaSki 细胞接种于 24 孔板中,12 h 后弃上清,将 pAP-1-Luc 报告基因质粒与其他重组质粒进行共转染。转染后细胞放置于 37 ℃培养箱中培养 24 h 后,进行双荧光素酶活性测定,具体操作按 Promega 双荧光素酶报告基因试剂盒说明书进行。启动子活性通常表示为萤火虫荧光素酶活性与海参荧光素酶活性的比值。

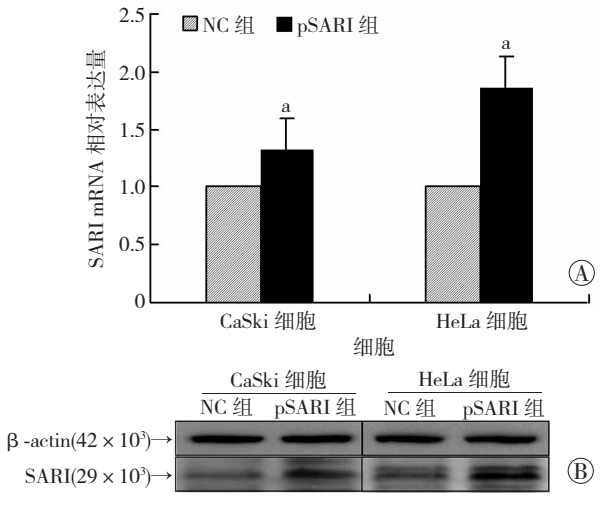
1.3　统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 Graphpad Prism 5 统计软件,各组间均数比较用单因素方差分析。

2　结果

2.1　在宫颈癌细胞中成功构建 SARI 过表达模型

我们利用 pSARI 转染 CaSki 和 HeLa 细胞 24 h 后,分别检测了 SARI 的 mRNA 水平(Real-time PCR,图 1A)和蛋白水平(Western blot,图 1B)。结果显示:无论是 mRNA 水平,还是蛋白水平,实验组(pSARI 组)均较对照组(NC 组)升高($P < 0.05$)。



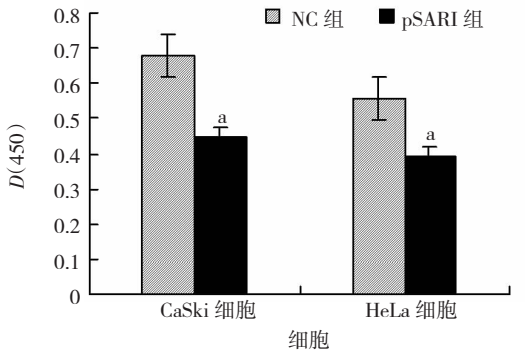
A:Real-time PCR 检测 CaSki 和 HeLa 细胞中 SARI 的 mRNA 水平　a:$P < 0.05$,与对照组比较;B:Western blot 检测 CaSki 和 HeLa 细胞中 SARI 的蛋白水平

图 1　在宫颈癌细胞中成功构建 SARI 过表达模型

2.2　过表达 SARI 对宫颈癌细胞增殖的影响

我们在成功构建 SARI 过表达模型后,使用 CCK-8 试剂盒检测过表达 SARI(转染 pSARI 24 h)对宫颈癌细胞增殖的影响。结果显示:无论是 CaSki 细胞还是 HeLa 细胞,过表达 SARI 均会显著抑制细胞的增殖

($P<0.01$,图 2)。



a:$P<0.01$,与对照组比较

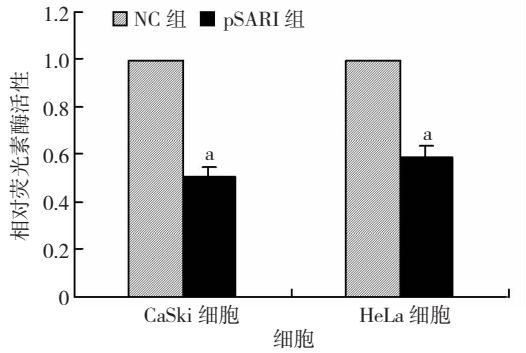
图 2　过表达 SARI 对宫颈癌细胞 CsSki、HeLa 增殖的影响

2.3　过表达 SARI 对宫颈癌细胞凋亡及细胞周期的影响

由于细胞周期和细胞凋亡的变化均会影响细胞增殖能力的改变。因此,我们在证实 SARI 过表达会显著抑制宫颈癌细胞的增殖能力后,进而使用流式细胞术来检测宫颈癌细胞过表达 SARI 对细胞凋亡及细胞周期的影响。结果显示:在 CaSki 和 HeLa 细胞中过表达 SARI 后细胞发生早期凋亡的比例增加(图 3A),但对细胞周期没有明显的影响(图 3B)。

2.4　双荧光素酶报告基因检测宫颈癌细胞中过表达 SARI 后其下游靶分子 AP-1 转录活性的变化

我们通过双荧光素酶报告基因实验检测了过表达 SARI 宫颈癌细胞模型中 AP-1 的转录活性。结果显示:在 CaSki 和 HeLa 细胞中过表达 SARI 可以显著抑制 AP-1 的活性($P<0.01$,图 4)。



a:$P<0.01$,与对照组比较

图 4　双荧光素酶报告基因检测宫颈癌细胞中过表达 SARI 后 AP-1 转录活性的变化

2.5　Western blot 检测宫颈癌细胞中过表达 SARI 后 Mcl-1 及 Bcl-2 的表达变化

除了利用流式细胞术检测过表达 SARI 的宫颈癌细胞模型的凋亡情况外,我们还通过 Western blot 检测上述细胞模型中凋亡相关分子 Bcl-2 及 Mcl-1 的蛋白水平。结果发现,在 CaSki 和 HeLa 细胞中过表达 SARI 后,Mcl-1 的蛋白水平显著下调,但是 Bcl-2 没有明显的变化(图 5)。

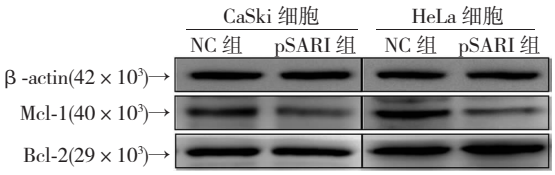
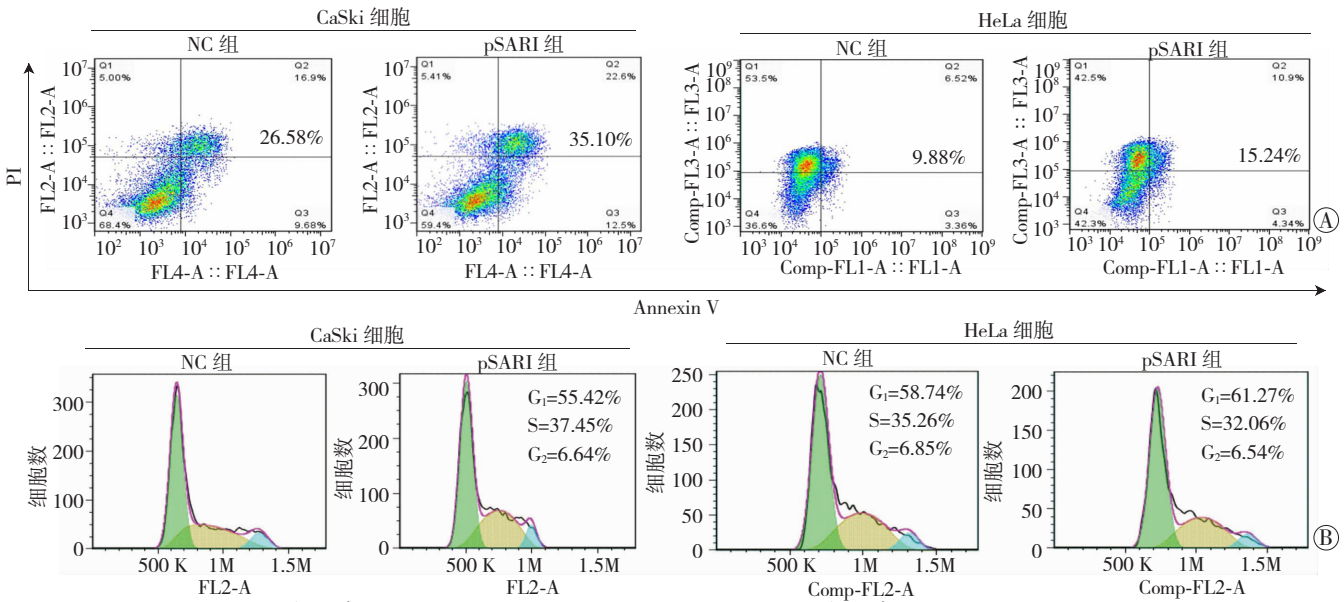


图 5　Western blot 检测过表达 SARI 后抗凋亡分子Mcl-1 及 Bcl-2 的变化



A:流式细胞分析过表达 SARI 后宫颈癌细胞的凋亡;B:流式细胞分析过表达 SARI 后宫颈癌细胞的周期

图 3　过表达 SARI 对宫颈癌细胞凋亡及细胞周期的影响

3 讨论

为了研究 SARI 在宫颈癌细胞中的主要功能及其潜在的作用机制,我们成功构建了 HeLa 及 CaSki 细胞的 SARI 过表达模型(图 1)。我们初步证实,在宫颈癌细胞系中过表达 SARI 可以抑制肿瘤细胞的增殖(图 2)。

SARI 抑制细胞增殖可通过诱导细胞凋亡[11],也可通过诱导细胞周期阻滞来实现。例如,SARI 可以通过与 c-Jun 结合抑制 AP-1 的活性,进而下调 AP-1 下游靶基因 cyclinD1、CCN1 等基因,导致细胞周期阻滞从而抑制肿瘤细胞的增殖[12]。为了明确宫颈癌细胞中 SARI 过表达抑制肿瘤细胞增殖的具体作用途径,我们利用流式细胞检测技术检测细胞模型的凋亡及细胞周期(图 3),结果显示:在宫颈癌细胞系中过表达 SARI 后发生早期凋亡的细胞高于对照组,然而 2 组细胞的细胞周期均无明显的差异。路钊等[13]的研究结果也证实在 A549 细胞中过表达 SARI 会诱导细胞凋亡,但不影响细胞周期。这些结果均提示:在不影响细胞周期的前提下,过表达 SARI 通过诱导细胞发生早期凋亡来抑制肿瘤细胞增殖或是存在于多种肿瘤组织中的共性抗癌机制。

目前已报道的 SARI 抗肿瘤功能的机制有以下 4 种:(1)SARI 蛋白通过抑制转录因子 AP-1 的转录活性(在 90% 的肿瘤中转录因子 AP-1 的活性增强),发挥抗肿瘤的作用[3]。(2)SARI 可以通过调节 GSK-3β(glycogen synthase kinase-3β)-β-catenin 信号通路,下调细胞核中的 β-catenin 水平,抑制 EMT 的表达,最终抑制肿瘤的侵袭和转移[7]。(3)SARI 蛋白与 p53 发生协同作用抑制 NF-κB 的转录活性,从而促进 p53 的促凋亡效应[13]。(4)CCN1 基因可以促进肿瘤的发生、发展。SARI 蛋白可以在转录水平抑制 CCN1 基因的表达,从而抑制癌细胞的迁移[14]。这 4 条通路中,SARI 与 c-Jun 结合抑制 AP-1 的转录活性是 SARI 作为抑癌基因发挥功能的主要通路。然而在宫颈癌中这条通路是否存在,在本研究之前尚未见报道。

AP-1(activating protein 1)是由 c-Jun 和 c-Fos 蛋白形成的异源二聚体组成,作为一个转录因子,促进细胞的增殖及恶性转化[12,15,18]。本研究通过双荧光素酶报告基因实验证实在宫颈癌细胞中过表达 SARI 可以抑制 AP-1 的转录活性(图 4),该实验结果也与文献[13]报道相符。此外,有研究报道在肝细胞中促进 AP-1 表达可以抵抗细胞凋亡[17-18],又有研究表明 AP-1 可以通过下调下游靶分子最终影响 Mcl-1 的表达[19-21]。于是我们进一步推测在宫颈癌细胞中 SARI 抑制 AP-1 的活性最终诱导细胞的凋亡可能是通过调节 Bcl-2 家族成员的表达来实现的。

Bcl-2(B cell lymphoma/Leukelia-2)家族是一类重要的细胞凋亡调节基因[22]。按其功能可以分为抗凋亡分子和促凋亡分子两类。Mcl-1 及 Bcl-2 是 Bcl-2 家族中的抗凋亡成员,二者在淋巴组织及多种组织中表达和分布不同,在细胞凋亡过程中也发挥着不同的功能[23]。Bcl-2 参与 c-myc 诱导的凋亡,而 Mcl-1 和其他调控凋亡基因协同促进肿瘤细胞的增殖[24-26]。为了探讨在 AP-1 的表达下调之后是否可以影响 Mcl-1 及 Bcl-2 这两个抗凋亡因子的表达,我们提取了过表达 SARI 的 HeLa 及 CaSki 细胞的总蛋白,检测了 Mcl-1 及 Bcl-2 的表达。结果显示在过表达 SARI 下调 AP-1 的活性后,Mcl-1 的表达明显下调而 Bcl-2 的表达却无明显改变(图 5)。这表明 SARI 过表达抑制 AP-1 活性并可能通过引起 Mcl-1 表达下调最终促进细胞凋亡。有文献报道在骨髓瘤中血管内皮生长因子 VEGF 可以促进 Mcl-1 的表达[20]。而 VEGF 基因的启动子区有 AP-1 的结合位点[19]。在乳腺癌 MCF 细胞中已证实 AP-1 可以与 VEGF 的启动子区结合促进 VEGF 转录,进而促进肿瘤的侵袭和转移[21]。因此,我们推测在宫颈癌细胞中亦可能存在相似的分子调控路径:即 SARI 下调 AP-1 活性,VEGF 的转录受到抑制,Mcl-1 的表达进而下调。但这有待进一步验证。

本研究证实了 SARI 的过表达引起宫颈癌细胞的凋亡,并下调 AP-1 活性及 Mcl-1 表达水平,相关实验结果明确。已有研究证实 AP-1 是重要的转录因子,与 Mcl-1(Bcl-2 抗凋亡家族成员)一起在宫颈癌细胞的抗凋亡过程中发挥了重要作用。因此,虽然调控细胞凋亡的通路众多,但由于 SARI 过表达下调宫颈癌中 AP-1 活性及 Mcl-1 表达水平在诱发宫颈癌凋亡过程中或发挥了重要作用,其相关分子机制有待进一步细化。

本研究的一系列结果提示 SARI 可作为治疗宫颈癌的一个潜在分子靶标,我们对该分子相关作用机制的研究亦为全面绘制该分子的抗肿瘤机制图谱提供了理论依据,具体就宫颈癌而言,SARI 的其他抗肿瘤机制(抗侵袭,抗转移等)仍需进一步探索。

志谢 感谢首都医科大学丁卫教授惠赠 pSARI、pAP-1-Luc 质粒;感谢倪振洪、李新哲、李波、吴亚冉等提供的实验技术指导

参考文献:

[1] 马丁, 奚玲. 宫颈癌流行病学及病因学研究进展[J]. 实用妇产科杂志, 2001, 17(2): 61-62. DOI:10.3969/j.issn.1003-6946.2001.02.001

[2] 章文华, 李楠, 吴令英. 重视宫颈癌患者年轻化的趋势[J]. 浙江肿瘤, 2000, 6(2): 112-114.
[3] Su Z Z, Lee S G, Emdad L, *et al*. Cloning and characterization of SARI (suppressor of AP-1, regulated by IFN) [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(52): 20906-20911. DOI:10.1073/pnas.0807975106
[4] Dorsey M J, Tae H J, Sollenberger K G, *et al*. B-ATF: a novel human bZIP protein that associates with members of the AP-1 transcription factor family[J]. Oncogene, 1995, 11(11): 2255-2265.
[5] Dash R, Su Z Z, Lee S G, *et al*. Inhibition of AP-1 by SARI negatively regulates transformation progression mediated by CCN1[J]. Oncogene, 2010, 29(31): 4412-4423. DOI: 10.1038/onc.2010.194
[6] Ma H, Liang X, Chen Y, *et al*. Decreased expression of BATF2 is associated with a poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2011, 128(4): 771-777. DOI:10.1002/ijc.25407
[7] Wang C, Su Y, Zhang L, *et al*. The function of SARI in modulating epithelial-mesenchymal transition and lung adenocarcinoma metastasis[J]. PLoS One, 2012, 7(9): e38046. DOI:10.1371/journal.pone.0038046
[8] Wen H, Chen Y, Hu Z, *et al*. Decreased expression of BATF2 is significantly associated with poor prognosis in oral tongue squamous cell carcinoma[J]. Oncol Rep, 2014, 31(1): 169-174. DOI:10.3892/or.2013.2863
[9] 文浩杰, 唐金勇, 刘柏生, 等. BATF2 在舌鳞状细胞癌中的表达及临床意义[J]. 中华口腔医学杂志, 2015, 50(1): 13-17. DOI:10.3760/cma.j.issn.1002-0098.2015.01.004
[10] 黄英辉, 张立, 黄艳, 等. α/β 干扰素通过上调 SARI 表达抑制淋巴瘤细胞的增殖[J]. 第三军医大学学报, 2012, 34(24): 2465-2468.
[11] Liu Z, Wei P, Yang Y, *et al*. BATF2 Deficiency Promotes Progression in Human Colorectal Cancer *via* Activation of HGF/MET Signaling: A Potential Rationale for Combining MET Inhibitors with IFNs[J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(7): 1752-1763. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-14-1564
[12] Meggiato T, Calabrese F, De-Cesare C M, *et al*. C-JUN and CPP32 (CASPASE 3) in human pancreatic cancer: relation to cell proliferation and death[J]. Pancreas, 2003, 26(1): 65-70.
[13] 路钊, 郑少鹏, 牛静, 等. BATF2/SARI 通过抑制 p53 依赖的 NF-κB 转录活性诱导肿瘤细胞凋亡[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2011, 27(6): 524-532.
[14] 刘泽兵, 杨瑜, 叶宣光, 等. SARI 及 CCN1 基因在结直肠癌中的表达及其意义[J]. 中华医学杂志, 2011, 91(34): 2397-2401. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2011.34.006
[15] Echlin D R, Tae H J, Mitin N, *et al*. B-ATF functions as a negative regulator of AP-1 mediated transcription and blocks cellular transformation by Ras and Fos[J]. Oncogene, 2000, 19(14): 1752-1763. DOI: 10.1038/sj.onc.1203491
[16] Yen J H, Kocieda V P, Jing H, *et al*. Prostaglandin E2 induces matrix metalloproteinase 9 expression in dendritic cells through two independent signaling pathways leading to activator protein 1 (AP-1) activation[J]. J Biol Chem, 2011, 286(45): 38913-38923. DOI: 10.1074/jbc.M111.252932
[17] Ahmed-Choudhury J, Russell C L, Randhawa S, *et al*. Differential induction of nuclear factor-kappaB and activator protein-1 activity after CD40 ligation is associated with primary human hepatocyte apoptosis or intrahepatic endothelial cell proliferation[J]. Mol Biol Cell, 2003, 14(4): 1334-1345. DOI:10.1091/mbc.E02-07-0378
[18] Fan M, Goodwin M E, Birrer M J, *et al*. The c-Jun NH(2)-terminal protein kinase/AP-1 pathway is required for efficient apoptosis induced by vinblastine[J]. Cancer Res, 2001, 61(11): 4450-4458.
[19] Josko J, Mazurek M. Transcription factors having impact on vascular endothelial growth factor (VEGF) gene expression in angiogenesis[J]. Med Sci Monit, 2004, 10(4): RA89-RA98.
[20] Le-Gouill S, Podar K, Amiot M, *et al*. VEGF induces Mcl-1 up-regulation and protects multiple myeloma cells against apoptosis[J]. Blood, 2004, 104(9): 2886-2892. DOI:10.1182/blood-2004-05-1760
[21] 殷咏梅, 束永前, 陈晓锋, 等. TNF-α 通过 JNK 和 AP-1 途径调节乳腺癌 MCF-7 细胞 VEGF 的表达[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2009, 16(1): 12-17. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2009.01.004
[22] Gross A, McDonnell J M, Korsmeyer S J. BCL-2 family members and the mitochondria in apoptosis[J]. Genes Dev, 1999, 13(15): 1899-1911.
[23] Schlaifer D, Krajewski S, Galoin S, *et al*. Immunodetection of apoptosis-regulating proteins in lymphomas from patients with and without human immunodeficiency virus infection[J]. Am J Pathol, 1996, 149(1): 177-185.
[24] Craig R W. MCL1 provides a window on the role of the BCL2 family in cell proliferation, differentiation and tumorigenesis[J]. Leukemia, 2002, 16(4): 444-454. DOI: 10.1038/sj.leu.2402416
[25] Michels J, O'Neill J W, Dallman C L, *et al*. Mcl-1 is required for Akata6 B-lymphoma cell survival and is converted to a cell death molecule by efficient caspase-mediated cleavage[J]. Oncogene, 2004, 23(28): 4818-4827. DOI:10.1038/sj.onc.1207648
[26] 张建中, 桂开林, 周金莲, 等. 凋亡调控基因 Mcl-1 和 bcl-2 在反应性及肿瘤性淋巴组织中的表达及其意义[J]. 肿瘤防治杂志, 2002, 9(1): 22-24,29. DOI:10.3969/j.issn.1673-5269.2002.01.007

(**收稿**:2015-07-28;**修回**:2015-10-12)
(编辑 郭建秀)