DOI:10.16016/j.1000-5404.201601061

口腔癌过表达蛋白1在结肠癌中的表达及其对细胞增殖、周期、凋亡的影响

冯 吉,刘 琴,刘 磊,赖姝婕,陈东风 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所消化内科)

[摘要] **目的** 研究口腔癌过表达蛋白1(oral cancer overexpressed protein 1,ORAOV1)在人结肠癌组织中的表达变化并探讨其对结肠癌细胞增殖能力、细胞周期及早期凋亡的影响。**方法** 收集人结肠癌及癌旁组织标本,分别以qRT-PCR及Western blot检测ORAOV1在mRNA及蛋白水平的表达变化情况;采用RNAi技术获得ORAOV1低表达的LoVo及SW480细胞株,并使用Western blot对干扰结果进行鉴定;采用CCK-8检测干扰ORAOV1表达后两种结肠癌细胞增殖能力的变化;并采用流式细胞术检测干扰ORAOV1表达对结肠癌细胞周期及早期凋亡的影响。**结果** qRT-PCR及Western blot结果分别显示结肠癌组织中的ORAOV1 mRNA及蛋白水平高于癌旁组织($P<0.05$);Western blot检测证实LoVo及SW480细胞中ORAOV1干扰成功;在这两种结肠癌细胞株中,CCK-8检测结果显示,干扰ORAOV1可抑制细胞增殖能力;流式细胞术结果显示,干扰ORAOV1可使处于S期比例增加($P<0.05$)、早期凋亡比例增加($P<0.05$)。**结论** 结肠癌组织中的ORAOV1表达增加,干扰ORAOV1可降低结肠癌细胞的增殖能力,可能与S期阻滞及细胞早期凋亡增加有关。

[关键词] 结肠癌;口腔癌过表达蛋白1;S期阻滞;凋亡
[中图法分类号] R341;R730.23;R735.35 [文献标志码] A

Expression of ORAOV1 in human colon cancer and its effect on cell proliferation, cell cycle and apoptosis *in vitro*

Feng Ji, Liu Qin, Liu Lei, Lai Shujie, Chen Dongfeng (Department of Gastroenterology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the expression of oral cancer overexpressed protein 1 (ORAOV1) in colon cancer tissue and investigate its effect of ORAOV1 on the proliferation, cell cycle and apoptosis in colon cancer cell lines. **Methods** The mRNA and protein levels of OVAOV1 in 6 tissue samples of human colon cancer and corresponding para-cancer tissues were detected by qRT-PCR and Western blotting. The expression of ORAOV1 in LoVo cells and SW480 cells was down-regulated by RNAi technique, and the interference results were confirmed by Western blotting. The proliferation of 2 colon cancer cell lines with different ORAOV1 expression levels was detected by CCK-8 assay. Cell cycle and apoptosis were analyzed by flow cytometry. **Results** The expression of ORAOV1 at mRNA and protein levels was significantly higher in the colon cancer tissues than the para-cancer tissues ($P<0.05$). Western blotting indicated that the interference to ORAOV1 was successful in LoVo cells and SW480 cells. Compared with the cells with normal ORAOV1 expression, the proliferation of the cells with low ORAOV1 expression was inhibited. ORAOV1 interference increased the percentage of cells at S stage ($P<0.05$) and early apoptotic ratio ($P<0.05$). **Conclusion** Expression of ORAOV1 is increased in colon cancer, and the proliferation of colon cancer cells with ORAOV1 knockdown is inhibited through increasing the S stage arrest and early apoptosis.

[**Key words**] colorectal caner; oral cancer overexpressed protein 1; S stage arrest; apoptosis

Corresponding author: Chen Dongfeng, E-mail: chendf1981@126.com

[通信作者] 陈东风,E-mail:chendf1981@126.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20160309.0941.014.html(2016-03-09)

在世界范围内,结肠癌(colorectal cancer, CRC)的发病率在所有恶性肿瘤中居第3位,每年可新增140余万患者,约70万患者因结肠癌而死亡[1]。结肠癌的高发病率和不良预后给人类健康带来了极大威胁,严重影响了患者健康及生活质量。流行病学调查发现,东亚国家结肠癌的发病与食用腌肉、肥胖、吸烟等因素有关[2];但是,有关结肠癌发生、发展的具体分子机制仍未得到阐明。

口腔癌过表达蛋白1(oral cancer overexpressed protein 1, ORAOV1)是编码基因定位于11号染色体的一种蛋白,最初在口腔上皮肿瘤中发现,在体内广泛表达,以肝、胰腺、肾组织中含量相对较高[3]。口腔与结肠均属消化系统中的空腔结构,口腔癌与结肠癌的发病均与饮食密切相关,在发病机制上也有如APC基因失活等一些共性[4-5];且在另一消化系统空腔脏器恶性肿瘤--胃癌中,ORAOV1的蛋白表达水平也同样发生了上调[6]。故我们推测在结肠癌组织中ORAOV1的表达也可能发生变化,并可能参与调控结肠癌细胞的生物学行为。为验证上述假设,本研究拟在结肠癌及癌旁组织中检测ORAOV1的表达变化,并初步探讨其对结肠癌细胞增殖能力的影响及可能原因,以期为结肠癌的发生发展机制及潜在治疗靶点的寻找提供实验依据。

1 资料与方法

1.1 材料

结肠癌及癌旁组织来源于第三军医大学大坪医院野战外科研究所内镜中心2013年10月至2014年3月经病理检查证实为结肠癌的患者,均为男性,平均年龄65岁,均获患者知情同意及伦理委员会批准。结肠癌细胞株LoVo、SW480均购于中科院上海细胞库。干扰ORAOV1所用pGPU6/GFP/Neo-sh-ORAOV1质粒及对照空质粒购于上海吉玛公司。Leibovitz's L-15及Ham's F12K培养基购于Gibco公司,青链霉素、胎牛血清、0.25%胰酶均购于HyClone公司。反转录试剂盒及SYBR Green荧光定量PCR试剂盒购于TaKaRa公司。蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE上样缓冲液及凝胶配制试剂盒购于碧云天公司。兔抗人ORAOV1抗体购于Abcam公司,鼠抗人β-actin抗体、HRP标记的山羊抗鼠及抗兔抗体均购自中杉金桥公司。RIPA裂解液及TRIzol试剂、脂质体Lipofectamine2000购买于Life techologies公司。CCK-8细胞增殖活性检测试剂盒购于Dojindo公司。细胞周期检测试剂盒及细胞凋亡检测试剂盒均购于贝博公司。ECL化学发光试剂盒及PVDF膜购自Millipore公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 LoVo细胞培养于Ham's F12K培养基中,SW480培养于Leibovitz's L-15培养基中,各含1%青链霉素、10%胎牛血清。细胞培养于37 ℃恒温孵箱中,湿度为95%。根据细胞生长情况,培养每3~4天传代1次,取状态良好的对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 质粒转染 本实验所用shRNA序列为:TTCGTTACTCAATGTTCAGCCAGACTTTA。转染操作前,将培养的LoVo细胞及SW480细胞以3×10^4/孔的密度铺于12孔板中,待其生长至汇合度60%左右,按Life techologies公司脂质体Lipofectamine2000说明书进行转染操作,于转染后48 h提取细胞蛋白进行转染效果鉴定。并将转染成功的细胞以G418低浓度持续培养。

1.2.3 总RNA提取、逆转录与荧光定量PCR反应 提取组织总RNA前,先在液氮中取出组织并称质量后,迅速放入预冷研钵中,加入液氮充分研磨,并转移至EP管中;提取培养细胞总RNA前,先弃去培养基,以PBS清洗细胞3次。在准备工作完成后,向已磨碎组织或已清洗细胞中加入TRIzol试剂,随后按照TRIzol试剂说明书进行氯仿抽提、异丙醇沉淀、乙醇洗涤等后续提取步骤。按逆转录试剂盒说明书,以30 μL体系将1 μg RNA逆转录为cDNA。再按照SYBR GREEN定量PCR试剂盒说明书以25 μL体系荧光进行定量PCR反应。反应步骤为:95 ℃ 5 min→40×(95 ℃ 5 s→60 ℃ 30 s)→72 ℃ 2 min。引物序列:ORAOV1正向引物:5′- GTTTGGGTGTGATGGAGGGAAG-3′,反向引物:5′- CCTTCTCAGTGGTGCAACTGTG-3′,产物长度132bp;β-actin正向引物:5′- CACCATTGGCAATGAGCGGTTC-3′,反向引物:5′- AGGTCTTTGCGGATGTCCACGT-3′,产物长度129 bp。定量结果以Ct值表示,以β-actin为内参,每组设置3个复孔,以2-ΔΔCt计算基因相对表达量。

1.2.4 蛋白提取及Western blot检测 组织蛋白提取时,将组织取出并称质量后,迅速置于研钵中并加入液氮充分研磨;细胞蛋白提取时,首先倒去培养基并以PBS清洗。随后向预处理好的组织样本或细胞中加入RIPA裂解液冰上裂解1 h,最后4 ℃高速离心并取上清。测定蛋白浓度后,将蛋白以每孔50 μg的量在SDS-PAGE凝胶中进行电泳,上层胶电压为70V,下层胶电压为120 V。电泳结束后,在冰上以100V的电压转膜1.5 h,封闭后4 ℃一抗孵育过夜(ORAOV1抗体稀释比为1∶1 000,β-actin为1∶400),翌日取出后室温二抗孵育2 h(山羊抗兔及抗鼠抗体稀释比均为1∶10 000),最后以ECL法进行显影,β-actin为内参。

1.2.5 CCK-8法检测细胞增殖 将细胞以2×10^3/孔的密度接种在96孔板上,每孔含100 μL全培养基,并设置细胞空白孔及试剂空白孔,每组设置3个复孔。

孵箱培养 24 h 后各孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液,混匀并除去气泡;37 ℃孵育 2 h 后使用酶标仪测定 450 nm 处的光密度,用标准曲线及细胞空白孔、试剂空白孔读数标化所测定的光密度[$D(450)$]。

1.2.6　流式细胞术检测细胞周期　　首先以 1×10^6/孔的量在 6 孔板上铺入细胞,24 h 后收集贴壁细胞,并以 75% 乙醇 4 ℃固定过夜。第 2 天去除固定液后,加入 RNA 酶以除去 RNA 对结果的干扰,并加入 PI 染液、上机检测。实验设 3 次重复。

1.2.7　流式细胞术检测细胞凋亡　　将各组细胞以的数量铺于 6 孔板,待细胞贴壁后,收集孔中所有细胞,加入 400 μL Annexin V 后再加入 5 μL Annexin V-FITC 染液,避光孵育 15 min,最后再加入 10 μL PI 染液、上机检测。实验设 3 次重复。

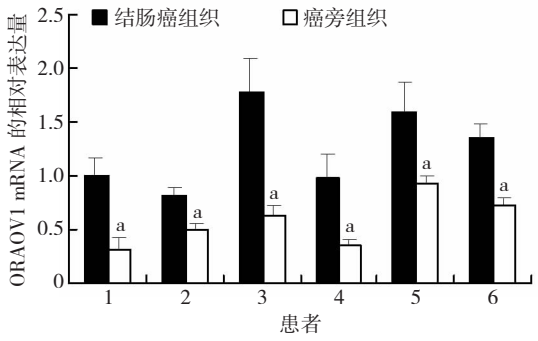
1.3　统计学处理

使用 SPSS 18.0 统计软件对数据进行处理和分析,结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用单因素方差分析进行多组计量资料间均数的比较,采用 χ^2 检验对计数资料(率)进行比较。

2　结果

2.1　ORAOV1 在结肠癌组织及癌旁组织中的 mRNA 表达变化

为分析 ORAOV1 的 mRNA 水平,我们对 6 例患者的结肠癌及癌旁组织标本进行了实时荧光定量 PCR 检测。结果显示:结肠癌组织中 ORAOV1 的 mRNA 水平较癌旁组织明显升高($P<0.05$),差异有统计学意义(图1)。

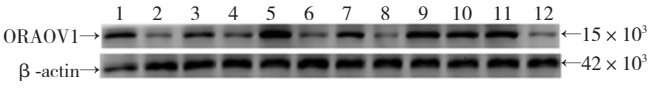


1-6:分别代表 6 例结肠癌与相对应的癌旁组织　a:$P<0.05$,与结肠癌组织比较

图 1　ORAOV1 在结肠癌组织及癌旁组织中的 mRNA 表达变化

2.2　ORAOV1 在结肠癌组织及癌旁组织中的蛋白表达变化

为进一步了解 ORAOV1 在结肠癌及癌旁组织的蛋白表达情况,我们分别提取了 6 例患者的结肠癌及癌旁组织标本的总蛋白进行 Western blot 检测。结果显示:在 6 例患者中,相比于癌旁组织,同一患者的结肠癌组织中 ORAOV1 的蛋白表达含量明显增加(图2)。



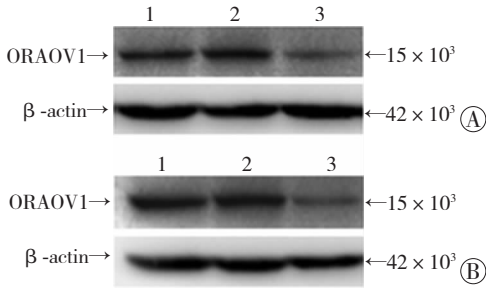
1、3、5、7、9、11:结肠癌组织;2、4、6、8、10、12:癌旁组织;1 与2、3 与 4、5 与 6、7 与 8、9 与 10、11 与 12 分属 6 例患者

图 2　ORAOV1 在结肠癌组织及癌旁组织中的蛋白表达变化

2.3　结肠癌细胞株 LoVo 及 SW480 中 ORAOV1 的干扰效果鉴定

在结肠癌组织中,ORAOV1 的 mRNA 及蛋白水平均高于癌旁组织。为研究 ORAOV1 是否参与结肠癌的发生、发展过程、寻找其相应的表型,我们通过质粒转染,在 LoVo 及 SW480 两种结肠癌细胞株中进行了 RNAi 并以 Western blot 进行了干扰效果鉴定。结果显示:在 LoVo 细胞中,相比于未转染的野生型细胞(LoVo-WT 组),转染空质粒时(LoVo-ctrl 组)的 ORAOV1 蛋白表达水平并无明显变化;而转染 sh-ORAOV1 干扰质粒时(LoVo-sh-ORAOV1 组),ORAOV1 的表达水平较 LoVo-WT 组及 LoVo-ctrl 组细胞明显降低(图3A)。

在另一种结肠癌细胞株 SW480 细胞中,SW480-sh-ORAOV1 组细胞的 ORAOV1 蛋白表达同样明显低于 SW480-WT 组及 SW480-ctrl 组(图 3B)。上述结果共同说明质粒转染及 RNAi 成功,所获得的 ORAOV1 低表达 LoVo 及 SW480 结肠癌细胞株可用于后续实验。



A:LoVo 细胞中 ORAOV1 的干扰效果鉴定 1:未转染质粒的野生型细胞(LoVo-WT);2:转染空质粒的对照细胞(LoVo-ctrl);3:转染 sh-ORAOV1 干扰质粒的 LoVo 细胞(LoVo-sh-ORAOV1);B:SW480 细胞中 ORAOV1 的干扰效果鉴定 1:未转染质粒的野生型细胞(SW480-WT);2:转染空质粒的对照细胞(SW480-ctrl);3:转染 sh-ORAOV1 干扰质粒的 SW480 细胞(SW480-sh-ORAOV1)

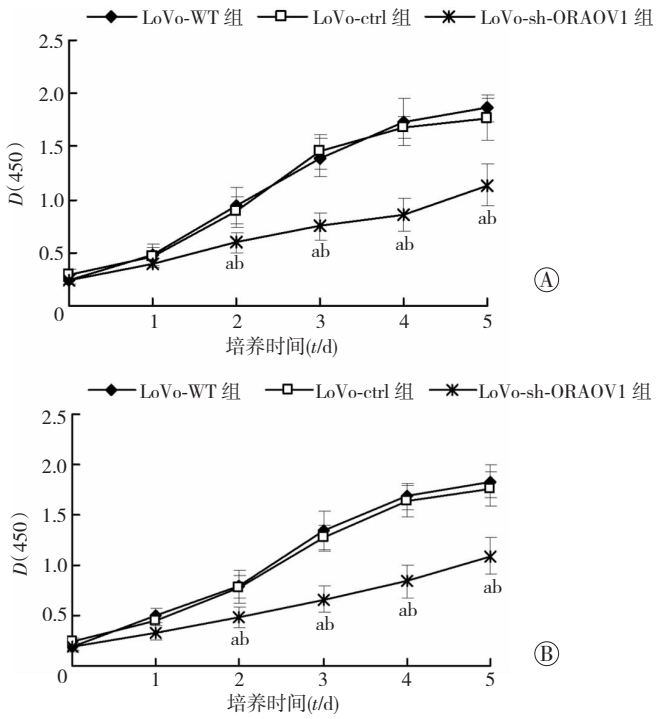
图 3　LoVo 细胞及 SW480 细胞中 ORAOV1 的干扰效果鉴定

2.4　干扰 ORAOV1 对结肠癌细胞 LoVo 及 SW480 增殖能力的影响

为研究 ORAOV1 对结肠癌细胞增殖能力的影响,我们使用 CCK-8 法检测了 ORAOV1 正常表达与低表达时 LoVo 细胞及 SW480 细胞增殖能力的变化。可见在为期 5d 的培养中,LoVo-WT 组与 LoVo-ctrl 组的增殖能力并无明显差别($P>0.05$)。ORAOV1 低表达的

LoVo-sh-ORAOV1 组细胞增殖能力在第 2 天之间与前两组差异无统计学意义($P>0.05$),但在培养第 2 天之后则明显低于另两组,结果差异有统计学意义($P<0.05$,图 4A)。

在对 SW480 细胞的 CCK-8 检测中,同样可见 SW480-sh-ORAOV1 组细胞增殖能力明显低于 SW480-WT 组及 SW480-ctrl 组($P<0.05$,图 4B)。以上结果说明 ORAOV1 的表达受到干扰时,将明显影响结肠癌细胞株 LoVo 及 SW480 的增殖能力。



A:干扰 ORAOV1 对 LoVo 细胞增殖能力的影响　a:$P<0.05$,与 SW480-WT 组比较;b:$P<0.05$,与 SW480-ctrl 组比较;B:干扰 ORAOV1 对 SW480 细胞增殖能力的影响　a:$P<0.05$,与 LoVo-WT 组比较;b:$P<0.05$,与 LoVo-ctrl 组比较

图 4　CCK-8 法检测各组细胞培养不同时间的增殖变化

2.5　干扰 ORAOV1 对结肠癌细胞株 LoVo 及 SW480 细胞周期的影响

细胞的增殖能力与细胞周期密切相关,为了解 ORAOV1 是否通过影响细胞周期进而改变了结肠癌细胞株 LoVo 及 SW480 的增殖能力,我们利用流式细胞术对细胞周期进行了检测。结果显示:在 LoVo 细胞中,LoVo-sh-ORAOV1 组细胞处于 S 期的比例要明显高于 LoVo-ctrl 组[(45.25±3.17)%,(33.93±2.23)%,$P<0.05$],也高于 LoVo-WT 组[(45.25±3.17)%,(34.56±2.20)%,$P<0.05$],结果具有统计学意义。而 LoVo-ctrl 组与 LoVo-WT 组之间无明显差别[(33.93±2.23)%,(34.56±2.20)%,$P>0.05$,图 5A]。

在 SW480 细胞中,流式细胞术检测的 S 期比例变化趋势与 LoVo 细胞相似,SW480-sh-ORAOV1 组明显高于 SW480-ctrl 组[(54.49±2.57)%,(40.08±2.36)%,$P<0.05$],结果差异有统计学意义(图 5B)。LoVo 及 SW480 中的结果均提示:干扰 ORAOV1 可引起这两种结肠癌细胞发生 S 期阻滞,使增殖能力减弱。

2.6　干扰 ORAOV1 对 LoVo 细胞及 SW480 早期凋亡的影响

细胞的增殖能力也与凋亡关系密切,为研究 ORAOV1 对结肠癌细胞凋亡的影响,进一步解释干扰 OARAOV1 降低结肠癌细胞增殖能力的原因,我们采用流式细胞仪对 LoVo 及 SW480 两种结肠癌细胞株的早期凋亡情况进行了检测。在 LoVo 细胞中,LoVo-sh-ORAOV1 组细胞的早期凋亡比例高于 LoVo-ctrl 组[(9.13±1.39)%,(4.71±0.65)%,$P<0.05$]及 LoVo-WT 组[(9.13±1.39)%,(3.68±0.36)%,$P<0.05$],差异均具有统计学意义;而 LoVo-ctrl 组与 LoVo-WT 组之间的早期凋亡则无明显变化[(4.71±0.65)%,(3.68±0.36)%,$P>0.05$,图 6A]。

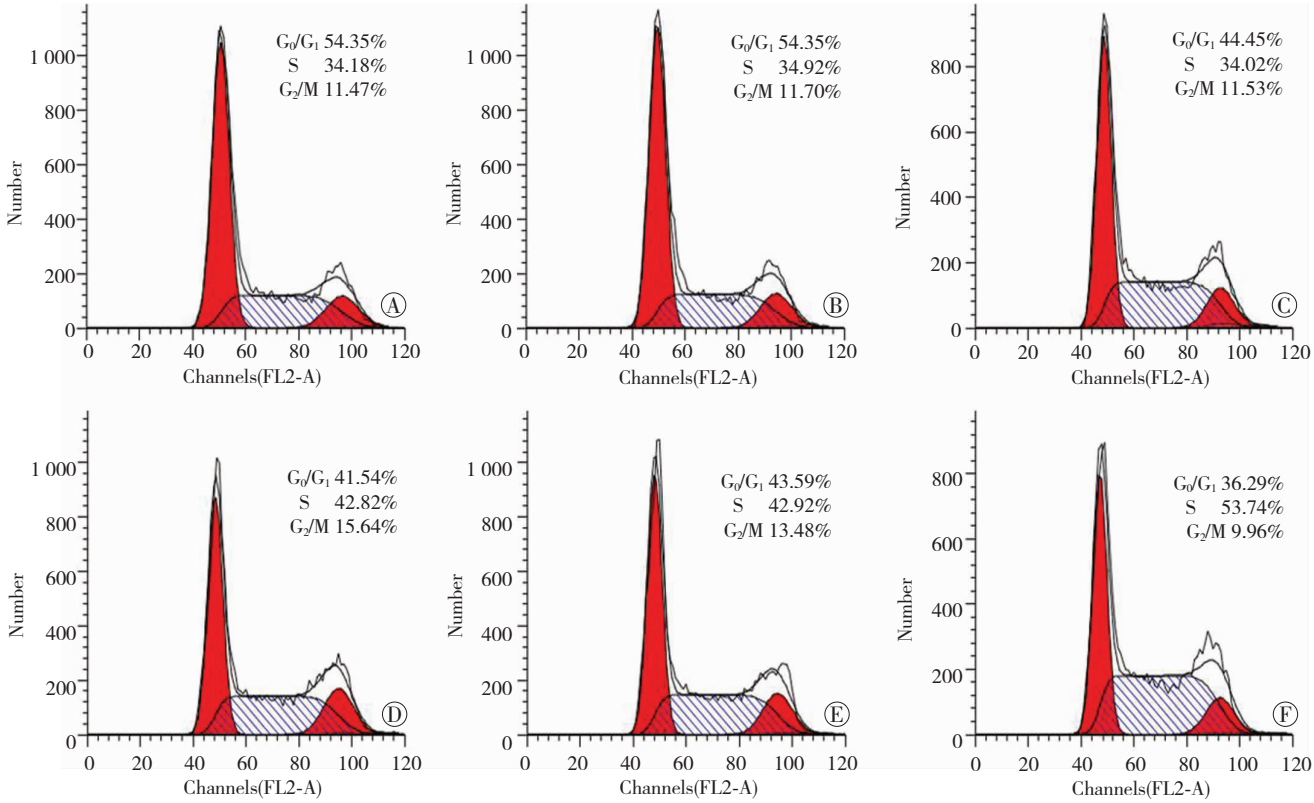
对于 SW480 细胞,同样可观察到与 LoVo 细胞相似的结果。即:SW480-sh-ORAOV1 组的早期凋亡细胞比例高于 SW480-ctrl 组[(15.76±1.76)%,(6.74±0.58)%,$P<0.05$,图 6B],差异均具有统计学意义。以上结果提示:干扰 ORAOV1 可增加结肠癌细胞 LoVo 及 SW480 的早期凋亡,可能是影响结肠癌细胞增殖能力的又一原因。

3　讨论

结肠癌已成为人类面临的第 3 大恶性肿瘤,虽然结肠癌的诊断和治疗水平都取得了较大进步,但整体治疗效果仍不容乐观,发生转移的结肠癌患者 5 年生存率仅有 11.7%[7]。结肠癌的高发病率及低生存率,很大一部分的原因在于其发病机制及发展因素尚未得到充分阐明。因此,探索结肠癌的发生、发展机制,具有较大的理论意义。

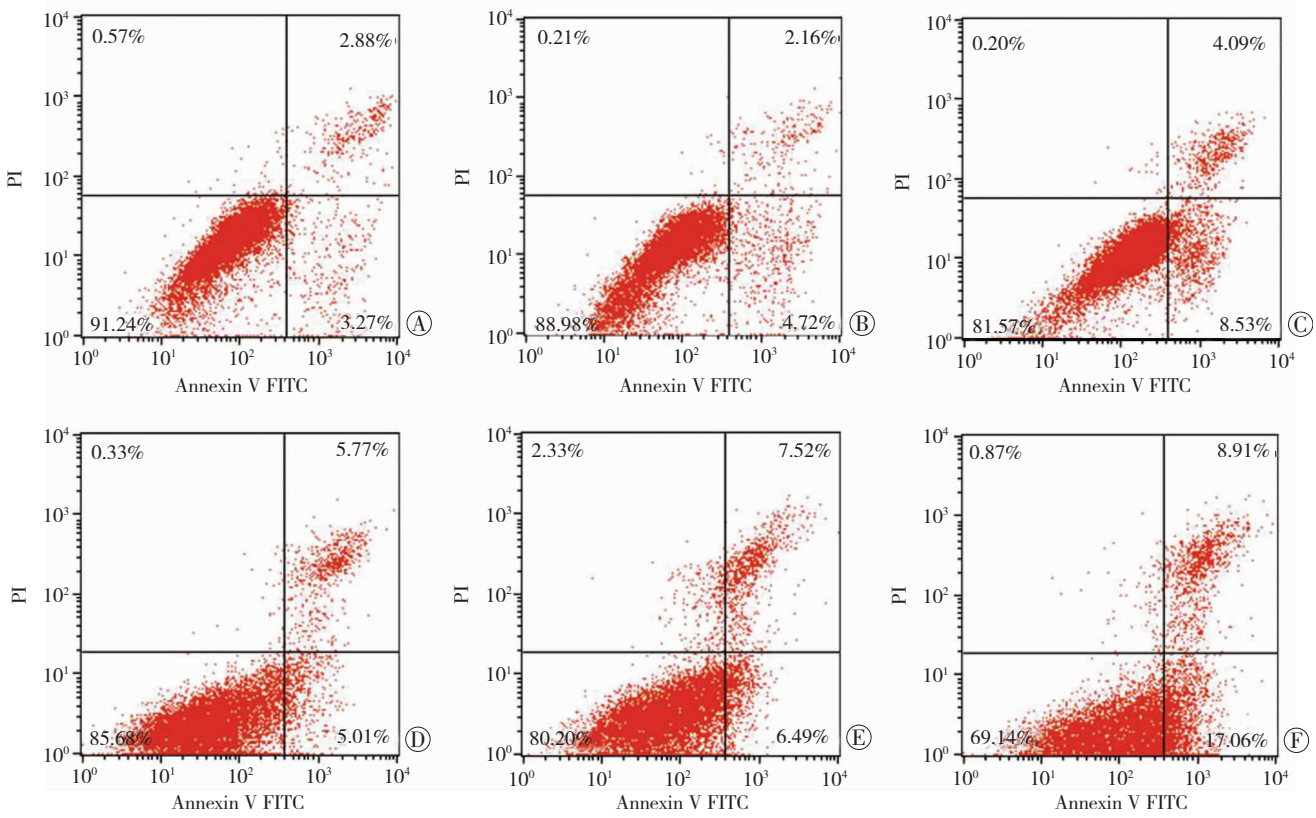
Zhai 等[8]利用人 ORAOV1 在酿酒酵母中的同源蛋白 YNL260c 进行研究,发现 YNL260c 对于酵母核糖体 60S 亚基的成熟至关重要,YNL260c 缺失的酵母核糖体不能形成转录起始复合物,进而生物合成功能丧失。这提示在生物合成旺盛的肿瘤组织中,ORAOV1 也可能通过维持或增加核糖体的功能,促进一系列参与 DNA 复制、能量代谢等重要细胞活动的蛋白合成,最终促进肿瘤的发生、发展。这可能是我们发现 ORAOV1 在结肠癌组织中高表达的原因之一。

本研究还发现,使用 RNAi 技术分别干扰 LoVo、SW480 两种结肠癌细胞株中 ORAOV1 的表达后,可明显抑制结肠癌细胞株的增殖活性,并可引起细胞分裂阻滞于 S 期。细胞的增殖与细胞周期的关系非常紧密,细胞周期则是一个由细胞周期蛋白(Cyclins)-细胞



A:LoVo-WT 组; B:LoVo-ctrl 组;C: LoVo-sh-ORAOV1 组;D:SW480-WT 组;E:SW480-ctrl 组;F:SW480-sh-ORAOV1 组

图 5 流式细胞术检测各组细胞周期的变化



A:LoVo-WT 组; B:LoVo-ctrl 组;C: LoVo-sh-ORAOV1 组;D:SW480-WT 组;E:SW480-ctrl 组;F:SW480-sh-ORAOV1 组

图 6 流式细胞术检测各组细胞的早期凋亡情况

周期蛋白依赖激酶(cyclin-dependent kinases, CDKs)复合物严密调控的过程。在细胞进入周期的每个阶段前,Cyclins-CDKs 复合物可起到"检查点"的作用,从而保证染色体能以高保真度进行复制与子代细胞之间的分配。有研究表明,在 HeLa 细胞及口腔鳞癌细胞中干扰 ORAOV1 可通过降低 Cyclin A、Cyclin B1、Cyclin D1 及 Cdc2 的表达,进而改变 Cyclins-CDKs 复合物的功能,使细胞发生 DNA 合成受抑及 S 期阻滞[9-10],但在结肠癌细胞中是否也存在相同的机制,仍需我们在后续实验中探索。此外,Cyclin D1 是调控细胞周期的重要分子,在多种肿瘤细胞中高表达,也是肿瘤细胞增殖活跃的标志之一[11]。令人感兴趣的是,ORAOV1 与细胞周期蛋白 Cyclin D1 的编码基因序列之间的距离仅为 8kb 左右,提示这两个分子之间可能存在共有的转录调控序列或相互调控机制。本研究发现,干扰 ORAOV1 可造成 S 期阻滞;前人研究发现,干扰 ORAOV1 蛋白的表达时,Cyclin D1 的蛋白表达水平也可出现明显下降[9],两个分子表达水平之间似乎呈正相关的关系。故干扰结肠癌细胞中 ORAOV1 所产生的细胞周期阻滞的改变,不仅可能是 ORAOV1 通过抑制核糖体合成能力造成的非特异性的改变,更有可能是 ORAOV1 通过某种机制调节而 Cyclin D1 表达状态的结果,这也是我们在后续研究中需要继续探索的方向。

此外,细胞的增殖速度也与凋亡关系密切。凋亡是真核生物中普遍存在的重要生长调控机制,不仅参与组织、器官的发育过程,也与肿瘤等疾病紧密相关。经典的凋亡途径是一系列酶促反应,P53 在凋亡的调控中发挥重要作用[12]。凋亡的增加,必然导致细胞增殖能力的降低。有学者发现,干扰 ORAOV1 可通过上调 P53、下调 Bcl-2 表达以及激活 Caspase3、8、9 达到增加细胞凋亡的作用[9]。我们在实验中也发现了干扰 ORAOV1 可使结肠癌细胞株 LoVo 及 SW480 的早期凋亡增加;但大部分肿瘤组织,尤其是结肠癌组织中的 P53 往往已发生突变,失去了在正常组织中发挥的促凋亡功能[13]。故我们考虑 P53 可能并不参与干扰 ORAOV1 所致的促凋亡效应,ORAOV1 的这种作用可能与其他机制有关。

综上所述,在本研究中发现,结肠癌组织中的 ORAOV1 mRNA 及蛋白水平均较癌旁组织表达上调;并在两种结肠癌细胞株中发现干扰 ORAOV1 可通过增加细胞周期阻滞及早期凋亡,从而调控结肠癌细胞的增殖能力。我们推测,在结肠癌发生、发展过程中,ORAOV1 表达上调,继而通过减少细胞周期阻滞、减少凋亡等方式促进了肿瘤细胞的增殖能力,参与了结肠癌的发生、发展过程。

参考文献:

[1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, *et al*. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108. DOI:10.3322/caac.21262

[2] Center M M, Jemal A, Smith R A, *et al*. Worldwide variations in colorectal cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2009, 59(6): 366-378. DOI:10.3322/caac.20038

[3] Huang X, Gollin S M, Raja S, *et al*. High-resolution mapping of the 11q13 amplicon and identification of a gene, TAOS1, that is amplified and overexpressed in oral cancer cells[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 99(17): 11369-11374. DOI:10.1073/pnas.172285799

[4] Sikdar N, Paul R R, Panda C K, *et al*. Loss of heterozygosity at APC and MCC genes of oral cancer and leukoplakia tissues from Indian tobacco chewers[J]. J Oral Pathol Med, 2003, 32(8): 450-454.

[5] Dow L E, O'Rourke K P, Simon J, *et al*. Apc Restoration Promotes Cellular Differentiation and Reestablishes Crypt Homeostasis in Colorectal Cancer[J]. Cell, 2015, 161(7): 1539-1552. DOI:10.1016/j.cell.2015.05.033

[6] Kang J U, Koo S H. ORAOV1 is a probable target within the 11q13.3 amplicon in lymph node metastases from gastric adenocarcinoma[J]. Int J Mol Med, 2012, 29(1): 81-87. DOI:10.3892/ijmm.2011.811

[7] Markowitz S D, Bertagnolli M M. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer[J]. N Engl J Med, 2009, 361(25): 2449-2460. DOI: 10.1056/ NEJMra0804588

[8] Zhai C, Li Y, Mascarenhas C, *et al*. The function of ORAOV1/LTO1, a gene that is overexpressed frequently in cancer: essential roles in the function and biogenesis of the ribosome[J]. Oncogene, 2014, 33(4): 484-494. DOI:10.1038/ onc. 2012.604

[9] Jiang L, Zeng X, Wang Z, *et al*. Oral cancer overexpressed 1 (ORAOV1) regulates cell cycle and apoptosis in cervical cancer HeLa cells[J]. Mol Cancer, 2010, 9: 20. DOI: 10.1186/1476-4598-9-20

[10] 任吉华, 冉龙宽, 李宛蔚, 等. 细胞周期蛋白 D2 对 HBV 复制的影响[J]. 第三军医大学学报, 2015, 37(15): 1550-1554. DOI:10.16016/j.1000-5404.201411228

[11] 张翀, 李梦侠, 程燚, 等. APE1 和 p53 蛋白在 A549 细胞和 HeLa 细胞中的结合作用[J]. 第三军医大学学报, 2013, 35(21): 2314-2319.

[12] Prives C, Lowe S W. Cancer: Mutant p53 and chromatin regulation[J]. Nature, 2015, 525(7568): 199-200. DOI:10.1038/ nature15212

(**收稿**:2016-01-11;**修回**:2016-02-18)

(编辑 王 红)