消化系统疾病

DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.000931

PIASy在结直肠癌中的异常表达及其对结直肠癌细胞凋亡和周期的影响

左　晨[1],尹一兵[1],许颂霄[2],张雪梅[1],王　虹[1]

(1. 重庆医科大学检验医学院、临床检验诊断学教育部重点实验室,重庆　400016;
2. 浙江大学医学院附属邵逸夫医院病理科,浙江　310016)

【摘　要】**目的**:探讨 PIASy(protein inhibitor of activated STAT4)在人结直肠癌(colorectal cancer,CRC)组织中的表达情况及其对人结直肠癌细胞 SW480 凋亡及细胞周期的影响。**方法**:选取 25 例 CRC 组织及其对应癌旁组织作为研究对象,采用荧光定量 PCR 方法检测 PIASy 在 CRC 及正常癌旁组织中的相对表达水平;运用细胞转染技术使 PIASy 在 SW480 中过表达;通过流式细胞技术检测并对比转染前后细胞凋亡及细胞周期的变化情况。**结果**:在 25 例 CRC 及其相对应的癌旁正常组织中,PIASy 阳性的癌旁组织为 9 例(阳性率 36%),PIASy 阳性的肿瘤组织为 2 例(阳性率 8%),2 组差异具有统计学意义(P=0.041);且癌旁组织中 PIASy 的相对表达量明显高于对应的肿瘤组织(CRC04:P=0.016;CRC18:P=0.001);PIASy 过表达的 SW480 细胞凋亡水平明显升高(早期凋亡:P=0.000;晚期凋亡:P=0.014),且出现 S 期细胞的比例明显升高(P=0.000)。**结论**:PIASy 在 CRC 中存在缺失表达或低表达;外源性 PIASy 的过表达可诱导 SW480 细胞发生凋亡,并促使细胞周期出现 S 期阻滞。PIASy 可能在 CRC 的发生发展中扮演着较为重要的作用。

【关键词】PIASy;结直肠癌;细胞凋亡;S 期阻滞
【中图分类号】R735.3+4　　【文献标志码】A　　【收稿日期】2015-12-03

PIASy expresses abnormally in human colorectal cancer tissues and affects the apoptosis and cycle of colorectal cancer cells

Zuo Chen[1], Yin Yibing[1], Xu Songxiao[2], Zhang Xuemei[1], Wang Hong[1]

(1. Key Laboratory of Laboratory Medical Diagnosis of Education Ministry, Department of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University; 2. Department of Pathology, Sir Run Run Shaw Hospital, School of Medicine, Zhejiang University)

【Abstract】***Objective***: To investigate the expression of PIASy in human colorectal cancer(CRC) tissues and adjacent tissues; to detect the effects of PIASy on colorectal cancer cells apoptosis and cycle. ***Methods***: Totally 25 cases of CRC tissues and corresponding adjacent tissues were selected as research subjects. The relative expression level of PIASy in CRC tissues and adjacent tissues was investigated by Q-PCR; exogenous PIASy was over-expressed by cell transfection with Lipofectamine 2000; the cell apoptosis and cycle of SW480 cell line was detected by flow cytometry. ***Results***: In 25 cases of CRC tissues and adjacent tissues, there were 9 cases(positive rate of 36%) of PIASy positive adjacent tissues, 2 cases(positive rate of 8%) of PIASy positive cancer tissues(P=0.041), and the relative expression level of PIASy in adjacent tissues was significantly higher than that in cancer tissues(CRC04: P=0.016; CRC18: P=0.001); over expression of exogenous PIASy induced SW480 cell early apoptosis(P=0.000), late apoptosis(P=0.014) and prompted the S phase arrest in cell cycle(P=0.000). ***Conclusion***: PIASy is loss of expression or low expression in colorectal CRC; over-expression of exogenous PIASy in SW480 cells can induce cell apoptosis and promote cell cycle S phase arrest, suggesting PIASy may play an important role in the occurrence and development of CRC.

【Key words】Protein inhibitor of activated STAT4; colorectal cancer; cell apoptosis; S phase arrest

作者介绍:左　晨,Email:18635050768@163.com,
研究方向:PIAS 家族对基因表达的调控及其与肿瘤的关系。
通信作者:王　虹,Email:wanghongljf@163.com。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(编号:81273315)。
优先出版:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20160513.0933.008.html
(2016-05-13)

结直肠癌（colorectal cancer，CRC）是一种常见的消化道恶性肿瘤，其发病率位于我国消化道癌的第 2 位，并呈逐年上升趋势[1]。CRC 的发生和发展表现出了多基因的相互作用及协同积累效应，由多条细胞信号通路调控[2]。JAK/STAT 信号通路作为多种癌症发病的重要信号途径之一，也已被证明与 CRC 的发生发展相关[3]。关于 JAK/STAT 途径的最初研究多聚焦于造血系统和免疫系统的正常和病理过程[4]，近来的研究表明在大多数的人类肿瘤中都存在有 STATs 的组成性激活[5]，特别是 STAT1[6-7]、STAT3[8-9] 及 STAT5[9]蛋白。

PIAS（protein inhibitor of activated STATs）家族蛋白是一类能抑制活化的 STATs 转录活性的蛋白，包含 4 个成员：PIAS1、PIASx、PIAS3、和 PIASy，其中 PIASy 可与 PIAS1 协同抑制 STAT1 的活性[10]。同时，PIAS 蛋白还可通过其 SUMO-E3（small ubiquitin like modifier-E3）连接酶活性调控多种原癌蛋白和抑癌蛋白的活性[11]。研究发现 PIAS1 及 PIAS3 在不同的肿瘤中存在异常表达[12-13]，但作为 PIAS 家族新成员的 PIASy 对其与肿瘤相关的研究则较少。

本文通过检测 PIASy 在 CRC 及其对应癌旁组织中的相对表达水平，及 PIASy 过表达后细胞凋亡和周期的情况，初步探讨 PIASy 与 CRC 发生的关系及临床意义，并对 CRC 发生机制的研究提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 临床资料 收集 2015 年 1 至 5 月浙江大学医学院附属邵逸夫医院病理科结直肠腺癌组织及对应癌旁组织手术标本（n=25）。病理诊断依据于 2010 年《消化系统肿瘤 WHO 分类》。病人标本的科研使用已让病人充分知情，所有实验操作经医院伦理委员会讨论，并按伦理委员会医学科学研究的操作规程开展。

1.1.2 试剂 miRNeasy FFPE Kit 购自 QIAGEN 公司；HiScript Q RT 逆转录试剂盒，Qpcr SYBR Green Master Mix 购自 Vazyme 公司；Hot Start Ex *Taq* 酶、限制性内切酶 *Eco*R Ⅰ和 *Bgl* Ⅱ、T4 DNA 连接酶均购自 TaKaRa 公司；RPMI-1640 培养基、胎牛血清购自 Gibco 公司；脂质体 Lipfectamine™ 2000 购自 Invitrogen 公司；PCR 产物纯化试剂盒、RIPA 细胞裂解液（强）、BCA 蛋白浓度测定试剂盒均购自康为世纪生物科技有限公司；Flag 小鼠源多克隆抗体购自 Sigma 公司；GAPDH 小鼠源单克隆抗体购自 Antibody Revolution 公司；HRP 标记山羊抗小鼠二抗购自联科公司；ECL 化学发光液购自 Thermo 公司；Annexin V-Alexa Fluor 488 凋亡检测试剂盒购自 Yeasen 生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 qRT-PCR 利用 miRNeasy FFPE Kit 提取高质量的 mRNA，测定浓度，并将其逆转录以得到 cDNA。采用 SYBR 方法进行 qRT-PCR，20 μl PCR 反应体系为：10 μl PCR SYBR Green Master Mix，正反向引物（10 μmol/L）各 0.8 μl，5 μl cDNA 模板，加入 ddH_2O 至 20 μl，混匀后上机。PCR 反应条件为：95 ℃预变性 5 min；95 ℃ 10 s，60 ℃ 30 s 共 45 个循环。内参采用 HPRT 基因。PIASy 正向引物 PIASy-F：5'-CATCTGTCCGCTGGTGAAG-3'，反向引物 PIASy-R：5'-TAGAAGACGGCGTCGAAGC-3'；HPRT 正向引物 HPRT-F：5'-GAACGTCTTGCTCGAGATGTGA-3'；反向引物 HPRT-R：5'-GAGCACACAGAGGGCTACAATGT-3'。

1.2.2 P3×Flag-CMV-7.1-PIASy 载体的构建 以 pCDNA3.1-PIASy 载体（Dr.Keiko OZATO 惠赠，National Institutes of Health，USA）为模板，在 PIASy 的两端设计分别含有 *Eco*R Ⅰ和 *Bgl* Ⅱ酶切位点的上下游引物，为正向引物 F：5'-GGAATTCCGAGAACCCACTGCTTACTGGCTTATCG-3'，反向引物 R：5'-GAAGATCTTCACTTAAGCTTGGTACCGAGCTCGGATC-3'。PCR 反应条件为：95 ℃预变性 10 min；95 ℃变性 30 s，56 ℃退火 30 s，72 ℃延伸 2 min，共 35 个循环；最后 72 ℃ 7 min 终止反应。将 PCR 产物及 p3×Flag-CMV-7.1 载体经 *Eco*R Ⅰ和 *Bgl* Ⅱ酶切后纯化，将纯化后载体及目的片段用 T4 连接酶连接后，转化大肠杆菌 DH5α 感受态细胞、挑克隆、质粒小抽后，经公司测序确定 PIASy 已转入质粒载体。

1.2.3 细胞培养与转染 SW480 细胞接种于含 10%胎牛血清的 RPMI1640 培养基中，37 ℃、5% CO_2 条件下培养。当汇合率为 70%~90%时，参照 Lipofectamine™ 2000 脂质体转染试剂说明书，将未含有 PIASy 的空质粒 p3×Flag-CMV-7.1（设为空载组）和含有 PIASy 的质粒 p3×Flag-CMV-7.1-PIASy（设为 PIASy 组）分别转染对数生长期的 SW480 细胞。转染 24~48 h 后，通过 Western blot 验证转染效果。

1.2.4 Western blot 细胞转染 24 h 后，消化收集细胞，以预冷的 1×PBS 洗涤细胞 2 次，然后加入细胞裂解液（含蛋白酶抑制剂）于冰上裂解 30 min，离心收集蛋白上清。使用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒对蛋白定量。取 50 μg 蛋白样品中加入适量 SDS 上样缓冲液，金属浴 100 ℃，5 min 使蛋白变性。样品经 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离，完毕后采用湿转法（300 mA，2.5 h）将凝胶上蛋白转移到 PVDF 膜上。5%脱脂牛奶中封闭 2 h，一抗 4 ℃孵育过夜，1×TBST 洗膜 3 次，每次 10 min。二抗室温孵育 1 h，1×TBST 洗膜 3 次，每次 10 min。运

用 ECL 化学发光法检测目的蛋白条带。以 GAPDH 作为内参。

1.2.5 流式检测细胞凋亡 细胞转染 48 h 后，用不含 EDTA 的胰酶消化细胞，300 g 4 ℃离心 5 min 收集细胞。用 4 ℃预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次，300 g，4 ℃离心 5 min。加入 250 μl 1×Binding Buffer 重悬细胞，将细胞浓度调至 1×10^6 个/ml。取 100 μl 细胞悬液于 5 ml 流式管中，加入 5 μl Annexin V-Alexa Fluor 488 和 10 μl 碘化丙啶（propidium iodide，PI），轻轻混匀，避光、室温反应 15 min。最后加入 400 μl 1×PBS，混匀后上机检测。

1.2.6 流式检测细胞周期 细胞转染培养 48 h 后，用胰酶消化细胞制备单细胞悬液，1 000 r/min，室温离心 5 min 收集细胞。加入 2 ml 4 ℃预冷 1×PBS，洗涤细胞 2 次（离心 1 000 r/min，5 min，去上清），加入 1 ml 70%预冷乙醇中，吹打均匀，4 ℃固定过夜。离心收集细胞，以 1×PBS 洗涤细胞 2 次，加入500 μl 含有 50 μg/ml PI 和 50 μg/ml RnaseA 的PBS 混合液，4 ℃避光孵育 30 min 后上机检测。

1.3 统计与分析

所有数据均采用 SPSS 18.0 统计软件处理。荧光定量 PCR 中 PIASy 表达量采用相对定量法（$2^{-\Delta\Delta C_t}$）进行计算。数据均采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。PIASy 在 CRC 及癌旁组织中的表达阳性率采用配对确切概率法，即 McNemar 法分析；同一病例中 PIASy 的相对表达量采用单因素配对样本 t 检验分析；多组细胞凋亡及周期比例先采用单因素方差分析进行多组比较，组间差异行 LSD-t 两两比较。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 PIASy 在 CRC 及其对应癌旁组织中的表达情况

在 25 例病人标本中，PIASy 在癌旁组织的阳性率为 36%（9/25），而在肿瘤组织中 PIASy 的阳性率只有 8%（2/25），二者差异具有统计学意义（P=0.020）（表 1，图 1A）。在 2 例 PIASy 阳性的肿瘤组织病例中（CRC04、CRC18），其相应的癌旁组织中 PIASy 也为阳性，且癌旁组织中 PIASy 的相对表达量明显高于 PIASy 在其肿瘤组织中的表达（表 1，图 1B）。

表 1 PIASy 在肿瘤组织及对应癌旁组织中的阳性表达率（%，n=50）及相对表达量（n=3，$\bar{x}\pm s$）

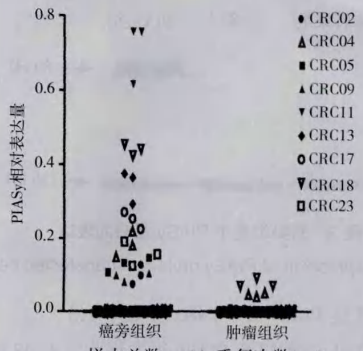
Tab.1 Positive rate（%，n=50）and relative expression level（n=3，$\bar{x}\pm s$）of PIASy in CRC and adjacent tissues

类型	PIASy阳性率	PIASy相对表达量	
		CRC04	CRC18
癌旁组织	36%（9/25）	0.18±0.04	0.44±0.02
肿瘤组织	8%（2/25）	0.05±0.01	0.08±0.01
t 值	-	7.865	33.818
P 值	0.020	0.016	0.001

注：-，Fisher 确切概率法

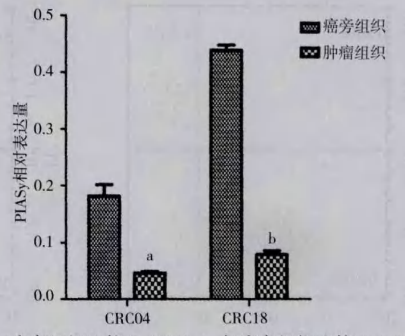
2.2 真核表达载体 p3×Flag-CMV-7.1-PIASy 的构建

以 pCDNA3.1-PIASy 载体为模板，通过 PCR 技术扩增 PIASy 全长。PCR 产物及 p3×Flag-CMV-7.1 空载体经 *Eco*R Ⅰ和 *Bgl* Ⅱ双酶切，纯化后连接，得到重组质粒 p3×Flag-CMV-7.1-PIASy（图 2）。



样本总数 n=50，重复次数 n=3

A. PIASy 在癌旁和肿瘤组织中的表达情况

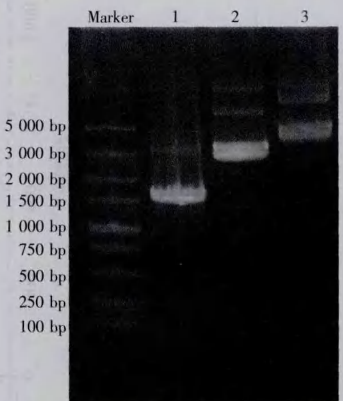


a，与癌旁组织比较 P=0.016；b，与癌旁组织比较 P=0.001

B. PIASy 在癌旁和肿瘤组织中均阳性病例中的相对表达水平（n=3，$\bar{x}\pm s$）

图 1 PIASy 在癌旁组织和肿瘤组织中的差异表达

Fig.1 Expression of PIASy in adjacent and tumor tissues



1. PIASy 扩增产物；2. p3×Flag-CMV-7.1 空载体；3. p3×Flag-CMV-7.1-PIASy 载体

图 2 p3×Flag-CMV-7.1-PIASy 的构建

Fig.2 Vector construction of p3×Flag-CMV-7.1-PIASy

2.3　外源性 Piasy 质粒转染至 SW480 细胞后 PIASy 蛋白的表达

通过细胞转染技术使 PIASy 蛋白在结直肠癌细胞 SW480 外源性表达，并通过 Western blot 检测其表达水平。由图 3 可知，外源 PIASy 在 SW480 细胞中成功过表达。

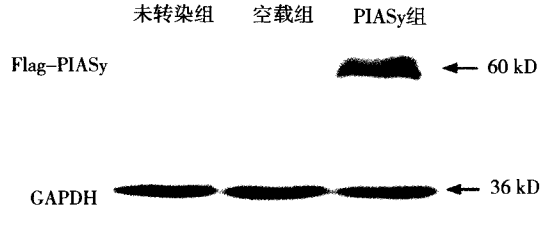


图 3　转染细胞中 PIASy 蛋白的表达

Fig.3　Expression of PIASy protein in transfected cells

2.4　外源过表达 PIASy 的 SW480 细胞凋亡情况

将未转染组，空载组及 PIASy 组的细胞培养 48 h 之后，通过细胞流式技术检测其发生凋亡的情况。通过图 4 及表 2 可知，未转染的细胞（图 4A）与转染 p3×Flag-CMV-7.1 空质粒（图 4B）的细胞相比，两者凋亡率基本一致，无统计学差异。而转染 p3 × Flag-CMV-7.1-PIASy（图 4C）的细胞出现明显的细胞凋亡（早期凋亡：P=0.000；晚期凋亡：P=0.014）。提示 PIASy 蛋白过表达后 SW480 细胞的凋亡增强。

2.5　外源过表达 PIASy 的 SW480 细胞周期情况

将未转染组，空载组及 PIASy 组的细胞培养 48 h 之后，通过细胞流式技术检测其细胞周期的情况，结果显示如图 5 和表 3。转染 p3×Flag-CMV-7.1 空质粒组细胞（图 5B）与未转染组细胞（图 5A）相比，两组各周期细胞比例基本一致，并没有统计学差异。转染 p3×Flag-CMV-7.1-PIASy 细胞（图5C）与未转染组细胞比较，其 G1 期细胞比例明显降低，S 期细胞比例显著增高，差异具有统计学意义（P=0.000），G2 期细胞比例无明显变化（P=0.339）。

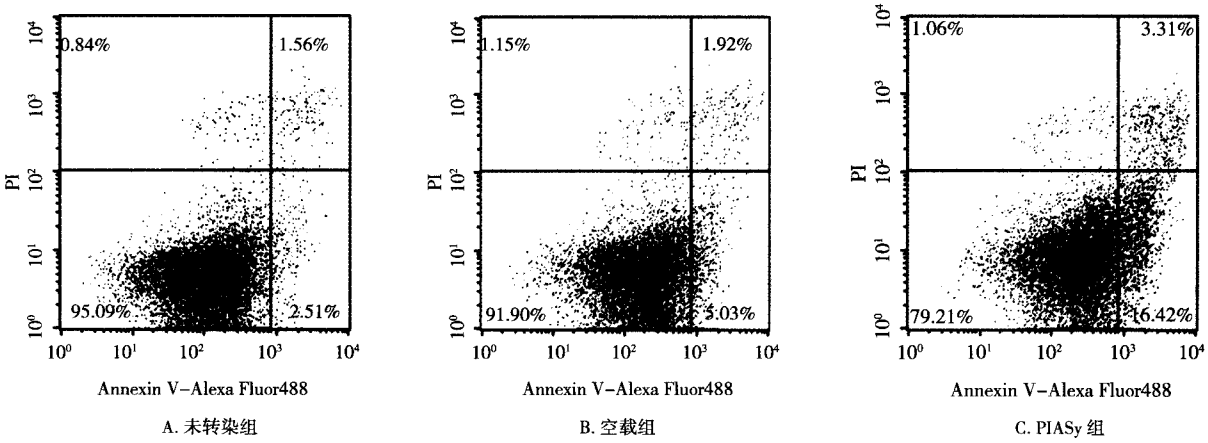


图 4　PIASy 转染对 SW480 细胞凋亡的影响

Fig.4　Effect of PIASy on cell apoptosis of SW480

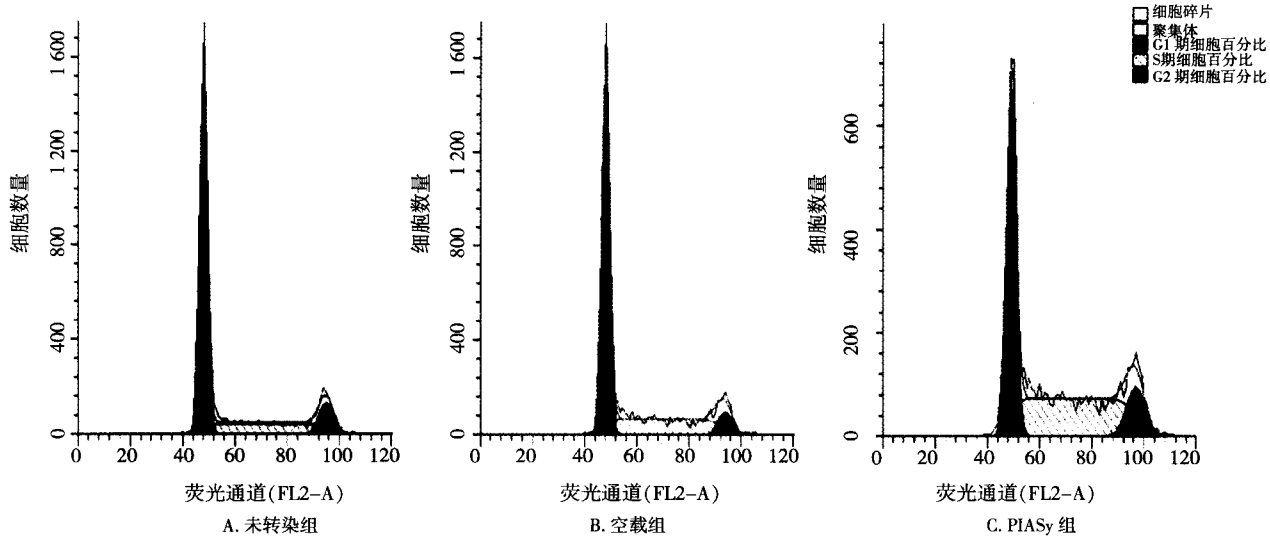


图 5　PIASy 转染对 SW480 细胞周期的影响

Fig.5　Effect of PIASy on cell cycles of SW480

表 2 不同处理组 SW480 细胞凋亡的测定结果（n=3，$\bar{x}\pm s$，%）

Tab.2 Results of SW480 cell apoptosis in different groups（n=3，$\bar{x}\pm s$，%）

组别	损伤细胞	晚期凋亡细胞	正常细胞	早期凋亡细胞
未转染组	0.99 ± 0.13	1.79 ± 0.20	94.31 ± 0.72	2.91 ± 0.43
空载组	1.12 ± 0.03	1.91 ± 0.08	92.43 ± 0.46	4.54 ± 0.42
PIASy组	1.06 ± 0.13	2.77 ± 0.56	79.25 ± 2.40	16.93 ± 2.01
F 值	0.590	7.084	93.618	119.594
P 值	0.584	0.026	0.000	0.000
空载组与未转染组 P 值	0.330	0.686	0.168	0.151
PIASy 组与未转染组 P 值	0.492	0.014	0.000	0.000

表 3 不同处理组 SW480 细胞周期中各期细胞比例的测定结果（n=3，$\bar{x}\pm s$，%）

Tab.3 Results of SW480 cell cycles in different groups（n=3，$\bar{x}\pm s$，%）

组别	G0/G1期	S期	G2/M期
未转染组	67.58 ± 1.68	22.23 ± 1.77	10.19 ± 1.92
空载组	67.05 ± 2.72	22.73 ± 2.54	10.23 ± 2.48
PIASy组	43.04 ± 2.67	44.94 ± 4.72	12.02 ± 2.03
F 值	101.207	47.618	0.705
P 值	0.000	0.000	0.531
空载组与未转染组 P 值	0.796	0.859	0.983
PIASy 组与未转染组 P 值	0.000	0.000	0.339

3 讨 论

CRC是常见的消化道恶性肿瘤，并且随着我国人口老龄化、生活习惯、饮食结构以及环境的改变，其发病率呈逐年上升趋势[1]。CRC 的发生发展是一个极其复杂的过程，是饮食、环境、遗传以及相关慢性疾病等多因素导致的结果，其发病涉及多个原癌基因的激活和抑癌基因的失活[2]。目前研究较为广泛的 Ras、Myc、Myb、C-met 等都是 CRC 常见的原癌基因；而 P53、P16、P21、PTEN 等则都是与 CRC 相关的抑癌基因，这些基因的改变与 CRC 的发生发展密切相关[14]。原癌基因和抑癌基因的表达活性受到多条信号通路的调控，近年来的研究发现 JAK/STAT 信号通路是肿瘤细胞增殖、分化信号转导的重要途径之一。STATs 蛋白不仅参与了多种细胞因子的信号转导，而且其家族成员也很大程度的参与了人类恶性肿瘤的发生和发展过程，大多数的人类肿瘤中都存在有 STATs 的组成性激活[5]。

PIAS 家族蛋白是近年来生物医学领域研究的热点，其首次被发现是作为 JAK/STAT 途径的转录调节子，能够抑制活化 STATs 的转录活性。同时，PIAS 蛋白均具有 SUMO-E3 连接酶活性的 RLD 结构域，可上调或下调 60 多种蛋白的活性，其中包括多种原癌蛋白和抑癌蛋白[11]。此外 PIASy 还可以作为构架蛋白对组蛋白去乙酰化酶进行招募，抑制雄激素受体和 SMAD 蛋白的转录活性[15-16]。目前，关于 PIASy 与 CRC 的研究主要集中在 PIASy 通过其 SUMO-E3 连接酶活性，对肿瘤相关信号通路中的某些转录因子进行 SUMO 化，从而对其蛋白活性或入核等生理活动进行调控[17-18]。而本文将 PIASy 作为 CRC 临床诊断或治疗潜在的靶点因子，分析其在肿瘤组织及癌旁组织的特异性表达，并研究其对结直肠癌细胞凋亡和周期等生物学功能的影响。

本研究中荧光定量 PCR 的结果显示，PIASy 在癌旁组织中的表达阳性率及相对表达水平明显高于肿瘤组织。这一结果与 Lakhter 等人[19]在黑色素瘤的研究相一致，他们发现 PIASy 在黑色素瘤中存在缺失或者低表达的情况。据此可以推断，在 CRC 中存在的 JAK-STAT 通路的过度激活[3]，及某些原癌蛋白的上调和抑癌蛋白的下调[14]，可能是由于 PIASy 的缺失或异常低表达而导致的。

本研究进一步发现，在结直肠癌细胞 SW480 中过表达 PIASy 后，可促使细胞凋亡。Bischof 等人的研究[20]发现 PIASy 可通过自身的 SUMO-E3 连接酶活性使多种肿瘤抑制蛋白和转录因子，如 p53 和 Rb

蛋白发生 SUMO 化，激活这些分子及其下游因子，促使肿瘤细胞衰老及细胞凋亡，同时 PIASy 的过表达还可促进 E2F-1 蛋白以 P53 依赖性方式诱导细胞发生凋亡；也有研究发现，PIASy 可通过调控Tip60 的 SUMO 化，进而影响 P53 蛋白乙酰化修饰及自身活性，从而诱导人非小细胞肺癌细胞 H1299 凋亡[21]。与此一致的是，当抑制黑色素瘤细胞系 MEL501 中的 PIASy-Tip60 信号时，P53 的活性降低且下游因子 P21、PUMA 表达明显下调，从而抑制细胞发生凋亡[19]。

在细胞凋亡的过程中，往往会伴随着某一细胞周期出现阻滞的情况。本研究发现在 SW480 细胞中过表达 PIASy 后，细胞周期出现了显著的 S 期阻滞。有文献报道 PIASy 可与 p73 蛋白结合，且在HEK293 细胞过表达 PIASy 后，导致细胞过快地从 G1 期过渡到 S 期，并发生周期阻滞[22]。同时 PIASy 可以促进激活 E2F-1 蛋白，E2F-1 作为一种细胞周期调节因子可调控 pRb 和多种细胞周期依赖蛋白及激酶的相互作用，导致细胞从 G1 期过快进入到尚未成熟的 S 期并使细胞发生凋亡[18]，这也是在胃癌细胞中过表达 E2F-1 导致细胞凋亡的主要机制[21]。

综上所述，本研究发现 PIASy 在 CRC 中存在缺失或低表达，且外源 PIASy 的过表达可诱导结直肠癌细胞 SW480 发生凋亡，并使细胞周期出现 S 期阻滞。因此可以推测，PIASy 可能通过上述论证的相应机制抑制 CRC 的发生发展。本课题组相信对 PIASy 进一步深入的研究不仅可以为 CRC 的发病机制提供更加全面的理论基础，而且可为 CRC 的临床诊断和基因治疗提供新的思路。

参 考 文 献

[1] 毕大明，董艳玲，吴金朋，等. 大肠癌，大肠腺瘤组织中 Caspase3，P53 及 Ki-67 表达的变化[J]. 世界华人消化杂志，2015，23(3)：510-514.

[2] Kalmar A，Wichmann B，Galamb O，et al. Gene-expression analysis of a colorectal cancer-specific discriminatory transcript set on formalin-fixed，paraffin-embedded (FFPE) tissue samples[J]. Diagnostic Pathology，2015，10(1)：1-12.

[3] Spano JP，Milano G，Rixe C，et al. JAK/STAT signalling pathway in colorectal cancer：a new biological target with therapeutic implications[J]. European Journal of Cancer，2006，42(16)：2668-2670.

[4] Ivashkiv LB. Jak-STAT signaling pathways in cells of the immune system[J]. Reviews in Immunogenetics，2000，2(2)：220-230.

[5] Bowman T，Garcia R，Turkson J，et al. STATs in oncogenesis[J]. Oncogene，2000，19(21)：2474-2488.

[6] Kharma B，Baba T，Matsumura N，et al. STAT1 drives tumor progression in serous papillary endometrial cancer[J]. Cancer Research，2014，74(22)：6519-6530.

[7] Kovacic B，Stoiber D，Moriggl R，et al. STAT1 acts as a tumor promoter for leukemia development[J]. Cancer Cell，2006，10(1)：77-87.

[8] Gotthardt D，Putz EM，Straka E，et al. Loss of STAT3 in murine NK cells enhances NK cell-dependent tumor surveillance[J]. Blood，2014，124(15)：2370-2379.

[9] Sibbesen NA，Kopp KL，Litvinov IV，et al. Jak3，STAT3，and STAT5 inhibit expression of miR-22，a novel tumor suppressor microRNA，in cutaneous T-cell lymphoma[J]. Oncotarget，2015，6(24)：20555-20569.

[10] Liu B，Gross M，Ten Hoeve J，et al. A transcriptional corepressor of Stat1 with an essential LXXLL signature motif[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences，2001，98(6)：3203-3207.

[11] Schmidt D，Muller S. PIAS/SUMO：new partners in transcriptional regulation[J]. Cellular and Molecular Life Sciences，2003，60(12)：2561-2574.

[12] Hoefer J，Schafer G，Klocker H，et al. PIAS1 is increased in human prostate cancer and enhances proliferation through inhibition of p21[J]. The American Journal of Pathology，2012，180(5)：2097-2107.

[13] Rabellino A，Carter B，Konstantinidou G，et al. The SUMO E3-ligase PIAS1 regulates the tumor suppressor PML and its oncogenic counterpart PML-RARA[J]. Cancer Research，2012，72(9)：2275-2284.

[14] 朱琳琳，罗明惠，孟亚飞. 大肠癌相关基因的研究新进展[J]. 中国医药指南，2013，11(8)：62-65.

[15] Gross M，Yang R，Gasper C，et al. PIASy-mediated repression of the androgen receptor is independent of sumoylation[J]. Oncogene，2004，23(17)：3059-3066.

[16] Long J，Matsuura I，He D，et al. Repression of Smad transcriptional activity by PIASy，an inhibitor of activated STAT[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，2003，100(17)：9791-9796.

[17] Kang X，Li J，Zou Y，et al. PIASy stimulates HIF1alpha SUMOylation and negatively regulates HIF1alpha activity in response to hypoxia[J]. Oncogene，2010，29(41)：5568-5578.

[18] Sachdev S，Bruhn L，Sieber H，et al. PIASy，a nuclear matrix-associated SUMO E3 ligase，represses LEF1 activity by sequestration into nuclear bodies[J]. Genes Dev，2001，15(23)：3088-3103.

[19] Lakhter AJ，Kanginakudru S，Warren S，et al. Impaired PIASy-Tip60 signaling weakens activation of p53 in melanoma [J]. Melanoma Research，2013，23(3)：213-217.

[20] Bischof O，Schwamborn K，Martin N，et al. The E3 SUMO ligase PIASy is a regulator of cellular senescence and apoptosis[J]. Molecular Cell，2006，22(6)：783-794.

[21] Naidu SR，Lakhter AJ，Androphy EJ. PIASy-mediated Tip60 sumoylation regulates p53-induced autophagy[J]. Cell cycle，2012，11(14)：2717-2728.

[22] Zhang C，Yuan X，Yue L，et al. PIASy interacts with p73alpha and regulates cell cycle in HEK293 cells[J]. Cellular Immunology，2010，263(2)：235-240.

（责任编辑：张辉洁）