

YB-1基因沉默对肝癌细胞化学治疗敏感性的影响及可能机制

方云¹, 刘波², 芦东徽³, 陈慧慧³, 朱捷³ (1.解放军联勤保障部队第901医院 药剂科, 合肥 230001; 2.解放军联勤保障部队第901医院 医院感染科, 合肥 230001; 3.解放军联勤保障部队第901医院 肿瘤四科, 合肥 230001)

摘要: 目的 探讨沉默YB-1基因对肝癌细胞化学治疗敏感性的影响及可能机制。方法 根据YB-1靶点序列设计YB-1基因siRNA干扰序列, 与EcoR I 和BamH I 双酶切后的线性化pLKD-CMV-G&PR-U6慢病毒载体连接及转化形成重组慢病毒; 参照此方法设计并构建阴性对照重组慢病毒, 并将其转染肝癌细胞SMMC-7721, 分别命名为YB-1-siRNA组和NC-siRNA组, 设置空白对照组(未经任何处理的肝癌细胞SMMC-7721), 分别加入含顺铂(1 μg/ml)和多柔比星(1 μg/ml)的现配培养基。采用实时荧光定量PCR检测各组药物处理后YB-1 mRNA表达水平; 采用MTT法检测药物处理后各组细胞的增殖情况; 采用流式细胞术检测药物处理后各组细胞的凋亡情况, 采用Western blot检测各组药物处理后PI3K、AKT和GSK-3β蛋白的表达。结果 处理前后, YB-1-siRNA组、NC-siRNA组和空白对照组间YB-1 mRNA表达水平及细胞活力差异均有统计学意义($P < 0.05$), 与处理前比较, 处理后YB-1-siRNA组、NC-siRNA组和空白对照组YB-1 mRNA表达水平和细胞活力均显著下降($P < 0.05$)。处理前后, YB-1-siRNA组、NC-siRNA组和空白对照组间细胞凋亡率的差异有统计学意义($P < 0.05$); 与处理前比较, 处理后各组细胞凋亡率均显著升高($P < 0.05$)。经药物处理后, 3组间PI3K、AKT和GSK-3β蛋白表达差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论 靶向敲除YB-1基因联合化学治疗可显著增强抑制肝癌细胞增殖及促进其凋亡的能力, 可能与PI3K/AKT/GSK3β信号转导通路有关。

关键词: 肝肿瘤; YB-1基因; 沉默; 化学治疗敏感性; 机制

Effects and possible mechanism of YB-1 gene silencing on chemosensitivity of hepatocellular carcinoma cells

FANG Yun¹, LIU Bo², LU Dong-hui³, CHEN Hui-hui³, ZHU Jie³ (1.Department of Pharmacy, People's Liberation Army Joint Service Support Unit No. 901 Hospital, Hefei 230001, China; 2.Department of Hospital Infectious, People's Liberation Army Joint Service Support Unit No. 901 Hospital, Hefei 230001, China; 3.Department of No.4 Oncology, People's Liberation Army Joint Service Support Unit No. 901 Hospital, Hefei 230001, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effects and possible mechanism of targeted silencing of YB-1 gene on chemosensitivity of hepatocellular carcinoma cells. **Methods** The siRNA interference sequence of YB-1 gene was designed according to the target sequence of YB-1. The recombinant lentivirus was formed by ligation and transformation of the siRNA interference sequence of YB-1 gene with the lentiviral vector pLKD-CMV-G&PR-U6 after digestion with EcoR I and BamH I double enzymes. According to this method, the negative control recombinant lentivirus was designed and constructed and transfected into hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721, and named YB-1-siRNA group and NC-siRNA group, respectively. The blank control group was also set up (without any treatment of liver cancer cell SMMC-7721). Then the ready mixed medium with cisplatin (1 μg/ml) and doxorubicin (1 μg/ml) were added, respectively. Real-time fluorescent PCR was used to detect the expression of YB-1 mRNA in each group before and after drug treatment. MTT was used to detect the proliferation of cells in each group before and after drug treatment. Flow cytometry was used to detect the apoptosis of cells in each group before and after drug treatment. Western blot was used to detect the expression of PI3K, AKT and GSK-3β protein in each group after drug treatment. **Results** Before

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7380.2019.02.003

基金项目: 安徽省自然科学基金项目(1808085MH239)

通讯作者: 芦东徽 Email: candy2995@163.com

and after treatment, YB-1-siRNA group, NC-siRNA group and blank control group had significant differences in YB-1 expression level and cell viability ($P < 0.05$). Compared with pretreatment, YB-1 expression level and cell viability in YB-1-siRNA group, NC-siRNA group and blank control group decreased significantly after treatment ($P < 0.05$). Before and after treatment, the apoptotic rates of YB-1-siRNA group, NC-siRNA group and blank control group were significantly different ($P < 0.05$). Compared with before treatment, the apoptotic rates of YB-1-siRNA group, NC-siRNA group and blank control group increased significantly after treatment ($P < 0.05$). After drug treatment, there was significant differences in PI3K, AKT and GSK-3 β protein expression among three groups ($P < 0.05$). **Conclusion** YB-1 gene knocked out combined with chemotherapy can significantly enhance the ability of inhibiting proliferation and promoting the apoptosis of hepatocellular carcinoma cells, which may be related to PI3K/AKT/GSK3 β signaling pathway.

Key words: Hepatocellular carcinoma; YB-1 gene; Targeted silencing; Chemosensitivity; Mechanism

肝癌是全球发病率最高的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率在所有恶性肿瘤中分别居第5位和第3位,严重威胁人类健康。肝癌发病率存在明显地域差异,多发于亚非地区,我国发病人数占53%^[1,2]。至今,根治性手术治疗仍是肝癌患者的首选方案。尽管外科治疗手段不断完善,亦无法降低中晚期肝癌患者术后复发率及病死率,故化学治疗是该类患者的重要治疗手段之一。常见的化学治疗药物包括顺铂和多柔比星等,然而耐药性及不良反应是其“永恒”的难点^[3,4]。近年,随着科研技术的不断提高和对肝癌发病机制的不断探究,精准靶向治疗成为肝癌研究的又一热点和突破点^[5,6]。Y-盒结合蛋白1(Y-box binding protein-1, YB-1)基因位于人染色体1p34,是Y-盒蛋白家族重要成员之一,可通过调节基因转录、翻译及DNA修复等参与各项生命活动。越来越多的研究表明,YB-1还可参与肿瘤细胞的增殖、凋亡及侵袭等,与人类恶性肿瘤密切相关^[7,8],但关于YB-1对肝癌细胞及化学治疗的影响尚未明确,具有一定探讨价值^[9,10]。本研究通过构建沉默YB-1基因重组慢病毒并转染肝癌细胞SMMC-7721,探讨YB-1基因对肝癌细胞化学治疗敏感性的影响及可能机制。

1 资料与方法

1.1 主要试剂及仪器 顺铂注射液和多柔比星注射液分别购自江苏豪森药业集团有限公司(规格6 ml/支,生产批号20170522)和海正辉瑞制药有限公司(规格10 mg/瓶,生产批号20171015);10% FBS、DMEM、胰酶和转染试剂盒均购自美国Gibco公司;总RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒和荧光定量PCR试剂盒均购自北京Tiangen公司;MTT试剂盒、总蛋白提取试剂盒和BCA蛋白定量检测试剂盒均购自美国Promega公司;PI3K、AKT和GSK-3 β 蛋白一抗、二抗均购自美国Abcam公司;培养箱购自美国Thermo公司,荧光定量PCR仪购自美

国Bio-Rad公司,酶标仪购自美国GE公司,显微镜购自日本Olympus公司。

1.2 细胞来源及培养 肝癌细胞SMMC-7721购自中国科学院上海细胞研究所,经解冻复苏后接种于含10% FBS的DMEM培养基上,后于含5% CO₂、37℃、饱和湿度培养箱中培养。

1.3 实验方法

1.3.1 构建重组慢病毒 参考Pubmed GeneBank中YB-1基因(NC_000001.11)序列设计YB-1基因siRNA干扰序列,退火形成黏性双链末端,并与EcoR I和BamH I双酶切后线性化pLKD-CMV-G&PR-U6慢病毒载体连接及转化形成YB-1-siRNA重组慢病毒。参照上述方法构建阴性对照序列的NC-siRNA重组慢病毒。经测序确认后包装好以上两种重组慢病毒。

1.3.2 细胞分组及给药剂量 将YB-1-siRNA重组慢病毒和NC-siRNA重组慢病毒分别转染肝癌细胞SMMC-7721,分别命名为YB-1-siRNA组和NC-siRNA组,并将未经任何处理的肝癌细胞SMMC-7721设置空白对照组;后分别向其中加入含顺铂(1 μ g/ml)和多柔比星(1 μ g/ml)的现配培养基,继续培养。

1.3.3 实时荧光PCR检测YB-1 mRNA表达水平 收集药物处理前后各组对数期细胞,参考总RNA提取和逆转录试剂盒说明书完成总RNA提取和cDNA制备,以 β -actin作为内参基因,分别配置内参基因和YB-1目的基因PCR体系,采用实时荧光PCR检测仪检测。实时荧光PCR体系(10 μ l):5 μ l SYBR Green,0.2 μ l上、下游引物,3.6 μ l ddH₂O和1 μ l cDNA;反应条件:95℃ 2 min,93℃ 20 s,58℃ 20 s,72℃ 30 s,共36个循环,后于72℃ 5 min完成最后延伸,每个样本设置2个复孔,每个基因设置2个阴性对照,计算基因相对表达水平。

1.3.4 MTT法检测各组细胞的增殖 收集各组药物处理前后对数期细胞,制成单细胞悬液并分别接种于不同96孔板中, 4×10^3 细胞/孔,置于培养箱继续培养3 d,并分别于第24 h、48 h和72 h向每孔中加入20 μ l MTT液(5 mg/ml),常温孵育4 h,弃上清后再向每孔中加入200 μ l DMSO液,震荡20 min使其充分反应,最后使用酶标仪于570 nm处检测A值。以处理前第24 h空白对照组细胞活力为100%,其他各组细胞活力(%) = 各组A值/空白对照组A值 \times 100%。

1.3.5 流式细胞术检测各组细胞凋亡 收集各组药物处理前后对数期细胞制成单细胞悬液,并接种于不同的6孔板上,保证 1×10^4 细胞/孔,后将其置于培养箱继续培养3 d,并分别于第24 h、48 h和72 h加入150 μ l Annexin V-FITC溶液,轻柔混匀后再向其中加入10 μ l PI染色液,轻柔混匀后避光冰浴15 min,上流式细胞仪检测,采用Cell Quest Software软件分析。以空白对照组细胞凋亡率为100%,其他各组细胞凋亡率 = 各组凋亡细胞/空白对照组凋亡细胞 \times 100%。

1.3.6 Western blot检测各组PI3K、AKT和GSK-3 β 蛋白表达 收集药物处理前后各组对数期细胞制成单细胞悬液,参考细胞总蛋白抽提试剂盒和BCA蛋白定量检测试剂盒进行总蛋白提取和蛋白浓度检测;取一定量合格蛋白进行SDS-PAGE电泳,后将其转移至PVDF膜常温封闭1 h,后加目的蛋白或内参蛋白 β -actin一抗(4 $^{\circ}$ C过夜),洗3次后加入二抗,常温孵育1 h;漂洗、曝光显影,最后采用Quantity One软件分析。

1.4 统计学处理 采用SPSS 20.0软件进行统计学分析,正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,三组及以上采用单因素方差分析,

细胞增殖及凋亡采用重复测量方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 药物处理前后细胞 YB-1 mRNA 表达水平 处理前后, YB-1-siRNA 组、NC-siRNA 组和空白对照组间 YB-1 mRNA 表达水平差异均有统计学意义(F 值分别为 60.51、200.43, P 均 < 0.001)。与各组药物处理前比较,处理后 YB-1-siRNA 组、NC-siRNA 组和空白对照组 YB-1 mRNA 表达水平均显著下降,差异均有统计学意义(t 值分别为 6.67、5.46、6.42, P 均 < 0.001)。见图 1。

2.2 药物处理前后细胞增殖情况 药物处理前后, YB-1-siRNA 组、NC-siRNA 组和空白对照组间细胞活力差异均有统计学意义($P < 0.001$);与处理前比较,处理后 YB-1-siRNA 组、NC-siRNA 组和空白对照组细胞活力均有所下降,差异均有统计学意义($P < 0.001$)。见表 2。

2.3 药物处理前后细胞凋亡情况 药物处理前后, 3 组间细胞凋亡率差异均有统计学意义($F = 289.46$ 、 346.52 , P 均 < 0.001);与处理前比较,药物处理后 YB-1-siRNA 组、NC-siRNA 组和空白对照组 YB-1 mRNA 表达水平均有所升高,差异均有统计学意义($t = 16.25$ 、 20.61 、 18.34 , P 均 < 0.001)。见图 3。

2.4 药物处理后细胞 PI3K、AKT 和 GSK-3 β 蛋白表达 经药物处理后, 3 组细胞间 PI3K、AKT 和 GSK-3 β 蛋白表达差异均有统计学意义(F 值分别为 16.371、21.625、26.486, $P < 0.001$), NC-siRNA 组和空白对照组差异无统计学意义($P < 0.05$), YB-1-siRNA 组 PI3K、AKT 和 GSK-3 β 蛋白表达显著低于 NC-siRNA 组和空白对照组,差异均有统计学意义($P < 0.001$),见图 4、图 5。

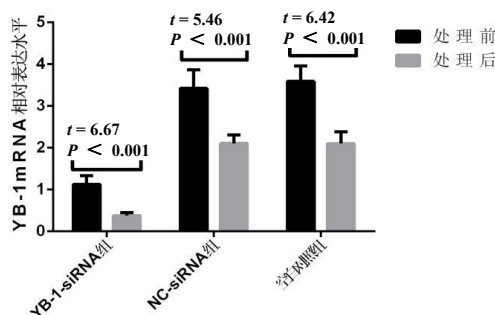


图1 各组药物处理前后 YB-1 mRNA 相对表达水平

注: 药物处理前, 3 组间比较 $F = 60.51$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与 NC-siRNA 组比较 $t = 8.15$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 8.79$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.337$, $P = 0.882$; 药物处理后, 3 组间比较 $F = 200.43$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与 NC-siRNA 组比较 $t = 7.16$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 8.04$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.295$, $P = 0.931$

表2 药物处理前后细胞活力(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	24 h				48 h			
	处理前	处理后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	处理前	处理后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
YB-1-siRNA组	82.46 ± 3.45	70.25 ± 3.71	24.101	< 0.001	60.38 ± 2.49	50.35 ± 2.64	27.638	< 0.001
NC-siRNA组	96.58 ± 2.18	92.15 ± 2.46	13.478	< 0.001	81.17 ± 3.11	80.16 ± 3.32	2.220	0.028
空白对照组	100.00 ± 0.00	90.86 ± 2.18	41.927	< 0.001	82.46 ± 2.83	78.25 ± 3.07	10.083	< 0.001
<i>F</i> 值	45.291	53.618	-	-	59.016	48.625	-	-
<i>P</i> 值	< 0.001	< 0.001	-	-	< 0.001	< 0.001	-	-

组别	72 h			
	处理前	处理后	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
YB-1-siRNA组	39.48 ± 1.82	30.18 ± 2.07	33.741	< 0.001
NC-siRNA组	71.26 ± 2.37	45.56 ± 2.24	78.809	< 0.001
空白对照组	72.68 ± 3.72	47.29 ± 2.08	57.573	< 0.001
<i>F</i> 值	71.262	28.924	-	-
<i>P</i> 值	< 0.001	< 0.001	-	-

注: 24 h: 处理前, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 34.599$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 50.841$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 1.032$, $P = 0.154$, 处理后, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 49.197$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 47.896$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.891$, $P = 0.238$; 48 h: 处理前, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 52.184$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 58.576$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 1.358$, $P = 0.113$, 处理后, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 70.278$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 68.906$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.565$, $P = 0.432$; 72 h: 处理前, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 106.352$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 80.167$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.462$, $P = 0.575$, 处理后, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 50.426$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 58.306$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.714$, $P = 0.513$; “-”为无相关数据

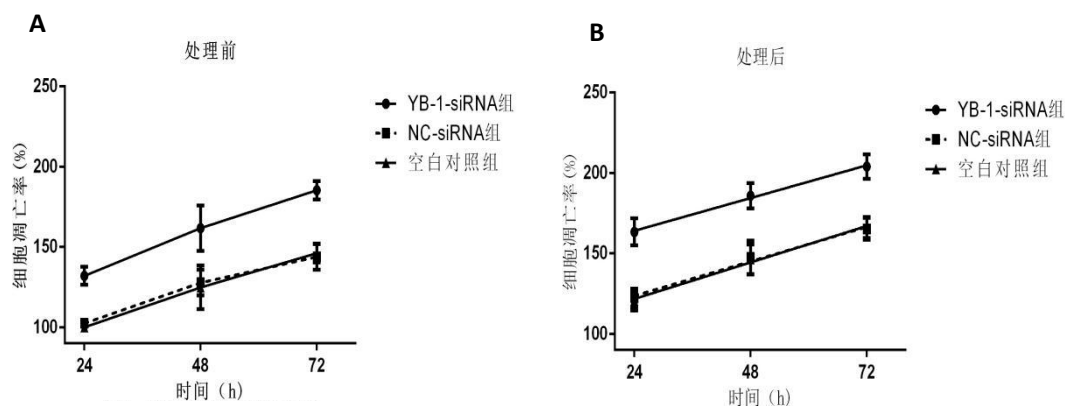


图3 处理前后细胞凋亡率

注: 24 h: 处理前, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 16.482$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 18.056$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.592$, $P = 0.716$, 处理后, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 24.156$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 26.182$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.382$, $P = 0.442$; 48 h: 处理前, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 25.186$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 27.931$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 1.038$, $P = 0.154$, 处理后, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 31.859$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 35.192$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 1.265$, $P = 0.169$; 72 h: 处理前, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 42.162$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 45.263$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 1.032$, $P = 0.227$, 处理后, YB-1-siRNA 组和 NC-siRNA 组比较 $t = 48.165$, $P < 0.001$, YB-1-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 52.648$, $P < 0.001$, NC-siRNA 组与空白对照组比较 $t = 0.516$, $P = 0.623$

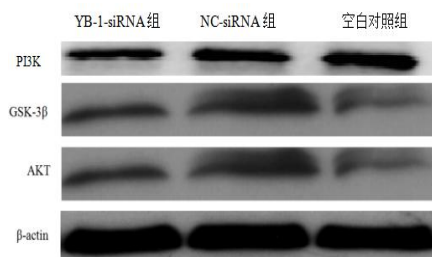


图4 Western blot 检测各组 PI3K、AKT 和 GSK-3β 蛋白表达

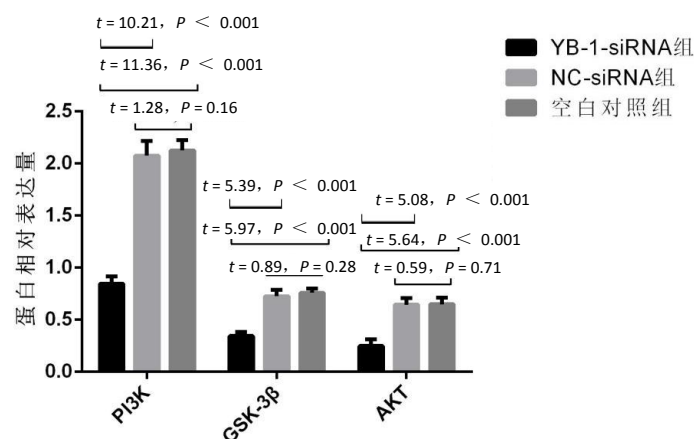


图5 药物处理后细胞 PI3K、AKT 和 GSK-3β 蛋白相对表达量

3 讨论

近年来,随着临床技术和科研手段的不断进步,恶性肿瘤治疗方案越来越多样化,如手术治疗、放射治疗、化学治疗、内分泌治疗及分子靶向治疗等,但大多数恶性肿瘤患者病死率并无显著下降,尤其是肝癌患者^[11,12]。这可能与肝脏肿瘤细胞的高复活、高侵袭及高转移等特点有关,而以上特点均与特定基因相关,因此寻找相关基因并阐释其具体作用机制是降低肝癌病死率和提高患者生活质量的关键^[13,14]。YB-1基因在DNA-binding家族中有重要地位,与肿瘤发生发展密切相关,Yasen等^[15]研究表明YB-1基因在肝癌细胞中高表达,在晚期和或较晚期肝癌中表达更显著,患者预后差。YB-1基因在DNA-binding家族中占有重要地位,Y-Box可存在于细胞周期蛋白、表皮生长因子受体及多药耐药基因等多种基因的启动子上,从而参与细胞周期和肿瘤细胞化学治疗耐药的相关调控,YB-1基因可作为多效调控基因参与肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭转移及耐药等过程^[16-19]。这为其在肝癌研究提供了广阔的思路,全面深入了解YB-1基因在肝癌中的生物学特征及与化学治疗的关系是目前研究重点之一。

本研究利用重组慢病毒靶向、高效及稳定等特点^[20],设计并合成YB-1基因靶向序列siRNA,与慢病毒载体相连后转染肝癌细胞以达到靶向敲除肝癌细胞中YB-1基因的目的。结果表明,YB-1-siRNA组YB-1 mRNA表达水平显著低于NC-siRNA组和空白对照组,说明YB-1-siRNA重组慢病毒构建成功;NC-siRNA组和空白对照组YB-1 mRNA表达水平差异无统计学意义排除了慢病毒和siRNA对肝癌细胞的影响,保证了结果的可靠性,这与国内外大

部分学者研究思路基本一致^[21,22]。MTT法和流式细胞检测发现YB-1-siRNA组细胞增殖能力显著低于NC-siRNA组和空白对照组,而细胞凋亡能力则显著高于NC-siRNA组和空白对照组,提示YB-1基因作为癌基因参与肝癌细胞的增殖与凋亡,这与史静等^[23]和Liu等^[24]部分研究结果基本一致。加入顺铂和多柔比星两种化学治疗药物后,YB-1-siRNA组YB-1 mRNA表达水平和细胞活力仍显著低于NC-siRNA组和空白对照组,而细胞凋亡率则显著升高,说明靶向沉默YB-1可增强顺铂和多柔比星治疗肝癌细胞的疗效,具有一定创新价值,为肝癌患者的治疗拓宽了道路。为探讨其相关作用机制,本研究采用Western blot检测各种药物处理后PI3K、AKT和GSK-3β蛋白表达情况,发现NC-siRNA组和空白对照组AKT和GSK-3β蛋白表达无显著差异,但YB-1-siRNA组PI3K、AKT和GSK-3β蛋白表达水平则显著低于NC-siRNA组和空白对照组,说明靶向敲除YB-1基因可抑制PI3K、AKT和GSK-3β蛋白的表达,而PI3K、AKT和GSK-3β蛋白是PI3K/AKT/GSK3β信号转导通路的关键蛋白,在肿瘤细胞生物学行为中有重要作用^[25,26];提示靶向沉默YB-1增强化学治疗药物疗效可能与PI3K/AKT/GSK3β信号转导通路相关,具体机制有待后续完善。

综上,靶向敲除YB-1基因联合化学治疗可显著增强抑制肝癌细胞增殖及促进其凋亡的能力,可能与PI3K/AKT/GSK3β信号转导通路有关。

参考文献

- [1] Miller KD, Siegel RL, Lin CC, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(4): 271-289.
- [2] 赵荣荣, 邓永东, 袁宏. 236例原发性肝癌患者流行病学及临床特点分析[J]. 临床肝胆病杂志, 2016, 32(8): 1538-1542.

- [3] 黄乾荣, 张玲. 原发性肝癌治疗研究新进展[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(14): 2275-2278.
- [4] Grandhi MS, Kim AK, Ronnekleiv-Kelly SM, et al. Hepatocellular carcinoma: From diagnosis to treatment[J]. Surg Oncol, 2016, 25(2): 74-85.
- [5] 蔡邢峰. 肝细胞肝癌精准治疗的现状和展望[J]. 南通大学学报(医学版), 2017, 37(3): 247-252.
- [6] Rauen T, Frye BC, Wang J, et al. Cold shock protein YB-1 is involved in hypoxia-dependent gene transcription[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 478(2): 982-987.
- [7] Chao HM, Huang HX, Chang PH, et al. Y-box binding protein-1 promotes hepatocellular carcinoma-initiating cell progression and tumorigenesis via Wnt/ β -catenin pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(2): 2604-2616.
- [8] Terashima T, Yamashita T, Arai K, et al. Response to chemotherapy improves hepatic reserve for patients with hepatocellular carcinoma and Child-Pugh B cirrhosis[J]. Cancer Sci, 2016, 107(9): 1263-1269.
- [9] Jiang JF, Lao YC, Yuan BH, et al. Treatment of hepatocellular carcinoma with portal vein tumor thrombus: advances and challenges[J]. Oncotarget, 2017, 8(20): 33911-33921.
- [10] Ikeda M, Morizane C, Ueno M, et al. Chemotherapy for hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives[J]. Jpn J Clin Oncol, 2018, 48(2): 103-114.
- [11] Yhee JY, Son S, Lee H, et al. Nanoparticle-Based Combination Therapy for Cancer Treatment[J]. Curr Pharm Des, 2015, 21(22): 3158-3166.
- [12] Makarova-Rusher OV, Medina-Echeverez J, Duffy AG, et al. The yin and yang of evasion and immune activation in HCC[J]. J Hepatol, 2015, 62(6): 1420-1429.
- [13] Reig M, Mariño Z, Perelló C, et al. Unexpected high rate of early tumor recurrence in patients with HCV-related HCC undergoing interferon-free therapy[J]. J Hepatol, 2016, 65(4): 719-726.
- [14] 张金梁, 翟博, 方泰石, 等. 晚期肝癌和复发性肝癌治疗的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(2): 358-361.
- [15] Yasen M, Kajino K, Kano S, et al. The up-regulation of Y-box binding proteins (DNA binding protein A and Y-box binding protein-1) as prognostic markers of hepatocellular carcinoma[J]. Clin Cancer Res, 2005, 11(20): 7354-7361.
- [16] Mordovkina DA, Kim ER, Buldakov IA, et al. Transportin-1-dependent YB-1 nuclear import[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 480(4): 629-634.
- [17] Lyons SM, Achorn C, Kedersha NL, et al. YB-1 regulates tRNA-induced Stress Granule formation but not translational repression[J]. Nucleic Acids Res, 2016, 44(14): 6949-6960.
- [18] Lyabin DN, Eliseeva IA, Ovchinnikov LP. YB-1 protein: functions and regulation[J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2014, 5(1): 95-110.
- [19] Somasekharan SP, El-Naggar A, Leprivier G, et al. YB-1 regulates stress granule formation and tumor progression by translationally activating G3BP1[J]. J Cell Biol, 2015, 208(7): 913-929.
- [20] 牛坚, 王月, 刘斌, 等. 重组慢病毒CD133-miR30-shRNA的构建及抗肝癌细胞生长的作用[J]. 实用医学杂志, 2016, 32(10): 1571-1574.
- [21] 钱红, 胡柯, 刘理静, 等. miR-7靶向沉默EGFR抑制大鼠星形胶质细胞活化[J]. 中国药理学通报, 2018, 34(3): 376-382.
- [22] Vinciguerra M, Passarello C, Cassarà F, et al. Co-inheritance of silent CAP + 1570 T>C (HBB: c*96T > C) defect and severe β -thal mutation: a cause of mild β -thalassemia intermedia[J]. Int J Lab Hematol, 2016, 38(1): 17-26.
- [23] 史静, 李朴, 邹麟, 等. 胞外Y-盒结合蛋白1通过Notch3受体促进肝癌细胞HepG2的增殖与转移[J]. 中华肝脏病杂志, 2016, 24(3): 202-206.
- [24] Liu Q, Tao T, Liu F, et al. Hyper-O-GlcNAcylation of YB-1 affects Ser102 phosphorylation and promotes cell proliferation in hepatocellular carcinoma[J]. Exp Cell Res, 2016, 349(2): 230-238.
- [25] Zhang J, Tong W, Sun H, et al. Nrf2-mediated neuroprotection by MANF against 6-OHDA-induced cell damage via PI3K/AKT/GSK3 β pathway[J]. Exp Gerontol, 2017, 100: 77-86.
- [26] Dai J, Qian C, Su M, et al. Gastrokin-2 suppresses epithelial mesenchymal transition through PI3K/AKT/GSK3 β signaling in gastric cancer[J]. Tumour Biol, 2016, 37(9): 12403-12410.

收稿日期: 2018-12-07

方云, 刘波, 芦东徽, 等. YB-1基因沉默对肝癌细胞化学治疗敏感性的影响及可能机制[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2019, 11(2): 15-20.