

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X·2008·06·005

· 基础研究 ·

人 *Id3* 基因在肺腺癌 A549 细胞中的表达及其对细胞生长的抑制

朱传东^{1,2}, 李晓军¹, 汪萍¹, 贾丽¹, 仲爱芳¹, 陈龙邦² (1. 南京大学医学院临床学院, 南京军区南京总医院临床中心实验科, 南京 210002; 2. 南京大学医学院临床学院, 南京军区南京总医院肿瘤内科, 南京 210002)

[摘要] 目的: 研究外源性分化抑制因子 3 (Inhibitor of differentiation 3, *Id3*) 基因表达对人肺腺癌细胞系 A549 细胞生长的抑制作用。方法: 构建 *Id3* 和 *EGFP* 的融合基因表达载体 pEGFP/*Id3*, 采用脂质体转染技术将 pEGFP/*Id3* 导入 A549 细胞。FCM 分析转染细胞 EGFP 表达效率, 荧光显微镜观察 EGFP 表达情况; 半定量 RT-PCR、免疫细胞化学分析转染后 A549 细胞 *Id3* mRNA 和蛋白的表达。MTT 法检测转染后 A549 细胞生长抑制情况, FCM 分析 A549 细胞周期进程, Annexin V/7-AAD 和 Hoechst33258 染色检测转染后细胞的凋亡情况。结果: 成功构建人 *Id3* 与 *EGFP* 融合基因表达载体 pEGFP/*Id3*; 荧光显微镜和 FCM 观察到 EGFP 的有效表达, 转染 48 ~ 72 h 时 EGFP 表达率最高; *Id3* mRNA 及蛋白在转染后的 A549 细胞中能有效表达。转染后 48 h 和 72 h, pEGFP/*Id3* 转染组 A549 细胞生长受到明显抑制 ($P < 0.01$); 细胞周期分析表明, pEGFP/*Id3* 转染组 G_0/G_1 期细胞显著高于对照组 ($P < 0.05$); Annexin V/7-AAD 双染结果显示, pEGFP/*Id3* 转染组细胞的早期凋亡率 [10.67 ± 2.60 %] 显著高于 pEGFP 组 [3.39 ± 2.21 %] 和未转染组 [2.35 ± 0.95 %] ($P < 0.05$); Hoechst33258 染色结果也证实 pEGFP/*Id3* 组 A549 细胞出现明显凋亡形态特征。结论: 外源性 *Id3* 基因在肺腺癌 A549 细胞中的表达能抑制细胞增殖, 并诱导细胞凋亡。

[关键词] 分化抑制因子 3 基因 (*Id3*); 肺癌细胞; 增殖抑制; 凋亡

[中图分类号] R734.2; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2008)06-0527-05

Human *Id3* expression in lung adenocarcinoma cell line A549 and its inhibitory effect on cell growth

ZHU Chuan-dong^{1,2}, LI Xiao-jun^{1,2}, WANG Ping¹, JIA Li¹, ZHONG Ai-fang¹, CHEN Long-bang² (1. Department of Clinical Medicine Laboratory, General Hospital of PLA Nanjing Military Area Command; School of Medicine, Nanjing University, Nanjing 210002, China; 2. Department of Oncology, General Hospital of PLA Nanjing Military Area Command; School of Medicine, Nanjing University, Nanjing 210002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effect of inhibitor of differentiation 3 (*Id3*) on growth of human lung adenocarcinoma cell line A549. **Methods:** Recombinant eukaryotic expression vector pEGFP/*Id3* was constructed and transfected into A549 cells by liposome-mediated method. Expression of pEGFP/*Id3* in A549 cells was analyzed by flow cytometry (FCM), fluorescence microscopy, semi-quantitative RT-PCR and immunocytochemistry. The growth inhibitory rate of A549 cells was examined by MTT assay; cell cycle change was evaluated by PI (propidium iodide) staining method. Cell apoptotic rate and nuclear morphology were detected by Annexin V/7-AAD and Hoechst33258 staining. **Results:** The recombinant eukaryotic expression vector pEGFP/*Id3* was successfully constructed. The expression of EGFP reached the peak 48-72 h after transfection; the expression of pEGFP-transfected group was higher than that of the pEGFP/*Id3* group. RT-PCR and immunocytochemistry staining showed that *Id3* mRNA and protein were effectively expressed in pEGFP/*Id3*-transfected A549 cells. The growth of cells in pEGFP/*Id3* transfected cells was significantly inhibited 48-72 h after transfection ($P < 0.01$). More cells were blocked in G_0/G_1 phase in pEGFP/*Id3*-transfected group compared with pEGFP group ($P < 0.05$). Annexin V/7-AAD showed that the apoptotic rate of pEGFP/*Id3* group [10.67 ± 2.60 %] were significantly higher than those of the control group [2.35 ± 0.95 %] and pEGFP group [3.39 ± 2.21 %] ($P < 0.05$). Hoechst33258 staining also showed that the cells in pEGFP/*Id3* group had typical apoptotic morphology.

[基金项目] 江苏省六大人才高峰基金资助项目 (No. 050203D)。Supported by the Talent Peak Foundation of Jiangsu province (No. 050203D)

[作者简介] 朱传东 (1983-), 男, 安徽省颍上县人, 硕士研究生, 主要从事肿瘤分子生物学的研究

* Corresponding author. E-mail: lixiaojun62@yahoo.com.cn

Conclusion: Exogenous *Id3* gene expression in A549 cells can induce cell growth inhibition and apoptosis of A549 cells.

[**Key words**] Inhibitor of differentiation 3(*Id3*) gene; lung neoplasms cell; proliferation repression; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2008, 15(6): 527-531]

分化抑制因子又称 DNA 结合抑制因子(inhibitor of differentiation/ DNA binding, Id), 属于螺旋-环-螺旋(HLH)转录因子家族成员之一, 主要通过与其 A 类碱性 HLH(bHLH)蛋白(如 E 蛋白)结合而发挥作用; 因其本身缺乏 DNA 结合必需的碱性氨基酸序列, Id 蛋白和 E 蛋白结合形成异二聚体后能够阻止 E 蛋白和其他 bHLH 蛋白结合, 对 bHLH 转录因子活性起负调节作用^[14]。哺乳动物细胞含 4 种 Id 因子(Id1 ~ Id4), 编码基因分别定位于不同的染色体上。Id 基因在不同来源及不同发育阶段的细胞中有不同表达模式, 同种细胞内不同的 Id 蛋白作为 E 蛋白的负调控因子, 在细胞发育的多个阶段发挥着各自不同的功能。因此 Id 蛋白对细胞功能的调控具有细胞种类和阶段特异性^[5-8]。

Id3 作为血清诱导的立即早期基因在小鼠成纤维细胞系中首次被发现^[9]。Id3 参与多种细胞生物学过程, 包括细胞凋亡、T 细胞和 B 细胞发育、骨骼肌分化、胚胎神经形成、肿瘤诱导的血管发生等^[10-13]。Id3 蛋白的表达涉及许多复杂的调控过程, 与 Id 家族其他成员相比, 有关 *Id3* 基因功能研究尚有待深入。

为进一步阐明 *Id3* 基因的功能, 本实验在构建融合基因真核表达载体 pEGFP/ *Id3* 的基础上, 通过外源性 *Id3* 基因转染 A549 细胞, 首次发现 Id3 在人肺腺癌细胞系 A549 细胞中的表达能抑制细胞生长并诱导细胞凋亡, 该发现为进一步研究 *Id3* 基因干预细胞凋亡过程及其相关凋亡通路奠定了基础。

1 材料与与方法

1.1 主要实验材料

真核表达载体 pEGFP-N1 购自 ClonTech, 大肠杆菌感受态 DH5 α 为本实验室制作保存, 人前列腺癌细胞株 PC-3M 由第二军医大学附属长海医院孙颖浩教授惠赠, 人肺腺癌细胞系 A549 由本室保存。RT-PCR 试剂盒购自 Promega 公司, TaqDNA 聚合酶、dNTPs、T4 DNA 连接酶、DNA Marker DL2000 购自 Takara 公司, 质粒抽提纯化试剂盒、DNA 胶回收试剂盒购自上海华舜生物工程公司, RPMI 1640、MEM、OPTI MEM 培养液为美国 Gibco 产品, 胎牛血清购自上海四季青公司, TRIzol 试剂、LipofectamineTM2000 购自 Invitrogen 公司, 碘化丙锭(propidium

iodide, PI) 购自 Sigma 公司。小鼠抗人 Id3 McAb (Abcam)、辣根过氧化物酶(HRP) 标记的羊抗鼠 IgG(博士德)、AnnexinV/7AAD 购自 BD 公司, Hoechst33258 购自碧云天公司。

1.2 pEGFP/Id3 融合基因表达载体的构建^[14]

用 RT-PCR 的方法从人前列腺癌 PC-3M 细胞中扩增人 *Id3* cDNA, 将其导入表达载体 pEGFP-N1, 构建人 *Id3* 与 pEGFP 的融合基因真核表达载体。

1.3 细胞培养与转染

人肺腺癌 A549 细胞培养于含 10% 胎牛血清(FBS) 的 MEM 培养液中, 置 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 0.4% 胰酶/0.02% EDTA 消化传代细胞。转染前取生长旺盛的细胞接种于 12 孔板, 每孔 (1 ~ 2) $\times 10^5$ 个细胞。待细胞生长至 85% ~ 90% 铺满时, 采用脂质体 LipofectamineTM2000 介导的基因转染法, 将 pEGFP/Id3 转染 A549 细胞, 质粒和脂质体的比例为 0.8 μ g: 2 μ l。设 pEGFP/Id3 转染、空白对照、pEGFP 转染 3 个实验组。

1.4 荧光显微术和流式细胞术分析 A549 细胞 EGFP 的表达

取 12 孔板中转染 12、24、48、72、96 h 后的 A549 细胞直接置于荧光显微镜下观察, 拍照。收集转染各个时间点的细胞和对照组细胞分别于 1.5 ml EP 管中, 1 ml PBS 洗涤细胞, 300 $\times g$ 离心 5 min, 弃上清, 重复 3 次, 500 μ l PBS 重悬细胞, 通过流式细胞仪分析细胞中 EGFP 的表达。

1.5 RT-PCR 和免疫细胞化学方法对 Id3 mRNA 和蛋白表达的鉴定

收集转染 48 h 及对照组细胞, 提取细胞总 RNA, 以 GAPDH 为内参, 运用 RT-PCR 技术检测转染细胞 Id3 mRNA 的表达。将细胞接种于铺有盖玻片的 6 孔板中, 转染 48h 后弃去培养液, PBS 洗细胞后丙酮固定, 5% 脱脂奶粉室温下封闭 2 h, 加入小鼠抗人 Id3(1:500) 单克隆抗体 500 μ l, 室温孵育 2 h, PBST 摇洗细胞 5 次, 每次 5 min, 加入 1:800 稀释的 HRP-羊抗鼠 IgG, DAB 显色。

1.6 MTT 法检测 A549 细胞的增殖

取对数生长的 A549 细胞接种于 96 孔板(1 $\times 10^4$ / 孔), 按前法培养及转染细胞, 转染后 48、72 h 时 每孔中加 MTT(5 g/L) 20 μ l 继续培养 4 h, 弃去培养液上清, 加入二甲亚砷 150 μ l, 于 37 °C 震荡至

紫色的结晶完全溶解后,将 96 孔板放入酶标仪,测量 492 nm 处光密度值(D)。细胞生长抑制率(%) = (对照组 D 值-转染组 D 值)/对照组 D 值 \times 100%。

1.7 FCM 分析 A549 细胞周期

分别取转染 48 h A549 细胞制成单细胞悬液,细胞密度为 1×10^6 /ml,PI 避光染色 20 min,流式细胞术检测 3 组细胞各个周期的分布。

1.8 AnnexinV/7-AAD 分析 A549 细胞的早期凋亡

收集瞬时转染 48 h 细胞,加入 1.5 ml EP 管中,1 ml PBS 洗涤细胞,300 \times g 离心 5 min,弃上清,重复 3 次,加 100 μ l 结合缓冲液,每管分别加入 5 μ l Annexin V 和 7-AAD,室温下避光孵育 15 min,每管加 400 μ l 结合缓冲液后上机分析。FCM 分选出 EGFP 阳性的 A549 细胞,被 Annexin V 单染的细胞即为早期凋亡细胞。实验在相同条件下重复 3 次。

1.9 荧光显微镜观察 Hoechst33258 染色后 A549 细胞凋亡的形态变化

将 3 组细胞按每孔 2×10^5 个细胞接种于铺有盖玻片的 6 孔板中,按前法进行转染细胞,48 h 后弃去培养液,PBS 摇洗,预冷丙酮固定细胞,按照 Hoechst33258 试剂盒每孔加 0.5 ml Hoechst33258,避光孵育 5 min,PBS 摇洗 3 次,载玻片上滴加抗荧光淬灭剂,荧光显微镜下观察细胞凋亡后的形态变化。

1.10 统计学处理

每组数据表示采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS13.0 进行统计,组间差异比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 pEGFP/Id3 对 A549 细胞的转染效率

转染 A549 细胞 12 h 就可在荧光显微镜下观察到 EGFP 的表达。通过 FCM 分析 pEGFP/Id3 和 pEGFP 转染细胞在不同转染时间点(12、24、48、72、96 h)的 EGFP 表达率,转染大约 48 h 的时候可以获最高水平的 EGFP 表达率(图 1)。相同条件下,EGFP 空载体组转染率要高于 pEGFP/Id3 组。空载体组 EGFP 的表达率在转染后有较高水平的表达且持续 1 周之后,而转染 pEGFP/Id3 的细胞,EGFP 表达率在 48 h 达到较高水平,之后急剧下降,96 h 之后几乎检测不到 EGFP 的表达。

2.2 转染细胞 *Id3* mRNA 和蛋白的表达

提取转染后 48 h 的 A549 细胞总 RNA,半定量 RT-PCR 分析转染后细胞 *Id3* mRNA 表达水平变化,GAPDH 作为内参。结果如图 2 显示,*Id3* 在 3 组细胞中均有表达,转染细胞的 *Id3* mRNA 表达水平明

显增高;灰度分析表明,pEGFP/Id3 组 *Id3* mRNA 的表达水平是对照组的 10 倍左右,表明 *Id3* 转入 A549 细胞后,在转录水平有较高的表达。免疫细胞化学法显示,转染后的 A549 细胞 *Id3* 蛋白得到有效表达(图 3)。

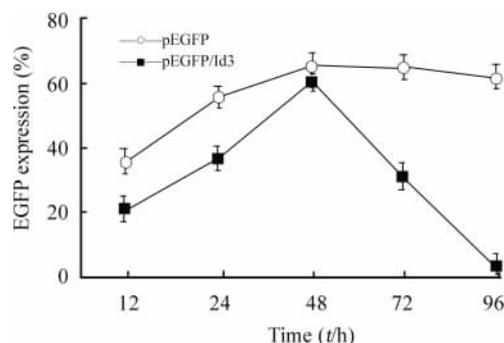


图 1 重组表达载体 pEGFP/Id3 转染 A549 细胞后不同时间点 EGFP 的表达

Fig. 1 EGFP expression in A549 cells transfected with recombinant expression vector at different time points

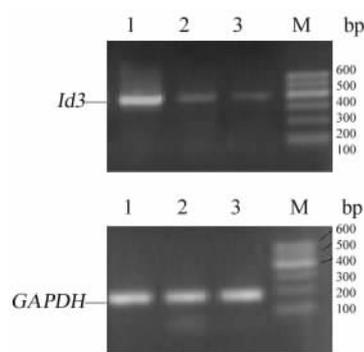


图 2 转染后 A549 细胞中 *Id3* mRNA 的表达

Fig. 2 *Id3* mRNA expression in pEGFP/Id3 transfected A549 cells

M:DNA marker; 1: *Id3*-EGFP-A549 cell;
2:EGFP-A549 cell; 3: A549 cell

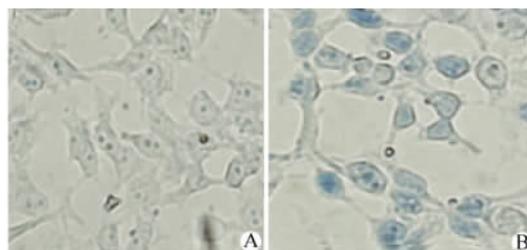


图 3 转染后 A549 细胞中 *Id3* 蛋白的表达

Fig. 3 *Id3* protein expression in pEGFP/Id3 transfected A549 cells($\times 320$)

A:Control ,B:A549 transfected with pEGFP/Id3

2.3 转染 pEGFP/Id3 后对 A549 细胞生长的抑制作用

采用 MTT 法检测 A549 细胞增殖能力的大小,以未经任何处理的 A549 细胞增殖活力为 100%。结果显示转染 48 h 后,pEGFP/Id3 组细胞增殖活力下降了 37.2%,为(62.8 ± 0.82)%;转染 72h,pEGFP/Id3 组细胞增殖活力下降了 64.1%,为(35.9 ±

0.59)%;与对照组相比,差别具有统计学意义($P < 0.01$)。

2.4 转染 pEGFP/Id3 对 A549 细胞周期的影响

FCM 分析显示,pEGFP/Id3 组 G_0/G_1 期细胞比例为(60.1 ± 1.24)%与对照组(43.1 ± 2.82)%和 pEGFP 组(44.72 ± 3.4)%两组相比, G_0/G_1 期细胞比例明显升高($P < 0.05$,图 4)。

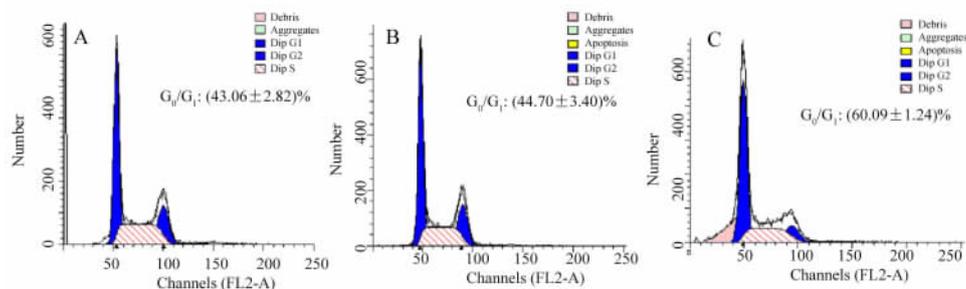


图 4 FCM 分析转染后各组细胞 G_0/G_1 期细胞比例

Fig. 4 Cell cycle distribution of G_0/G_1 in each group as analyzed by FCM

A: Control group; B: pEGFP group; C: pEGFP/Id3 group

2.5 转染 pEGFP/Id3 对 A549 细胞凋亡的影响

FCM 检测结果(图 5)显示,A549 细胞转染 48 h 后,pEGFP/Id3 组细胞早期凋亡率为(10.67 ± 2.60)%,而空载体转染组和空白对照组细胞早期凋亡率则分别为(3.39 ± 2.21)%和(2.35 ± 0.95)%,pEGFP/Id3 组同 A549 细胞空白组和 pEGFP 两组相比,差别具有统计学意义($P < 0.05$)。

Hoechst33258 染色后荧光显微镜下观察也提示(图 6),转染 pEGFP/Id3 组的 A549 细胞出现凋亡现象,凋亡细胞表现为细胞核体积缩小、核碎裂、核固缩,呈致密浓染的荧光;而空白组和转染空载体质粒的 A549 细胞未见明显的凋亡。

得到普遍认可。但与 *Id1* 有所不同,*Id3* 与肿瘤恶性程度的相关性并未得到证实,而且 *Id3* 在不同组织种类的肿瘤中有着截然不同的表达谱。*Id3* 在原发性结直肠癌、星形细胞瘤和鳞状细胞癌中呈高表达,而在甲状腺癌、卵巢癌中表达呈下降趋势^[15],探讨作为细胞调控蛋白的 *Id3* 分子在某些病理生理状态下的生物学功能具有重要意义。

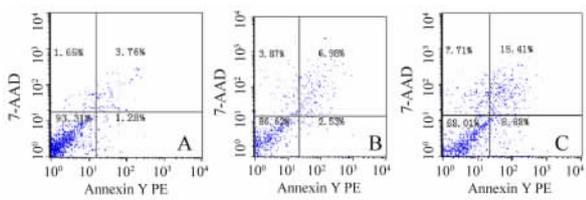


图 5 FCM 分析 3 组细胞的早期凋亡率

Fig. 5 A549 cell apoptosis rate in 3 groups as detected by FCM

A: Control group; B: pEGFP group; C: pEGFP/Id3 group

3 讨论

一般认为,*Id* 基因家族成员的行为与癌基因相似。其中 *Id1* 与肿瘤的发生及其严重程度的关系已

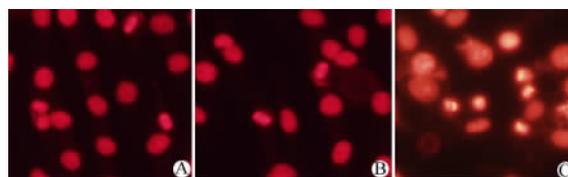


图 6 Hoechst33258 染色检测 A549 细胞的凋亡(×200)

Fig. 6 A549 cell apoptosis detected by Hoechst33258 staining(×200)

A: Control group; B: pEGFP group; C: pEGFP/Id3 group

肺癌是常见恶性肿瘤之一,已成为人类肿瘤致死的主要原因。而肺癌的发生率在原发性肺癌中又排名第一。本实验室前期研究表明,*Id3* 在人肺癌细胞株 A549 中呈低表达水平^[16],为研究 *Id3* 过表达在肺癌细胞 A549 中的作用,在成功构建的融合基因 pEGFP/Id3 的基础上,通过脂质体介导的方法将 pEGFP/Id3 转染至 A549 细胞,RT-PCR 和免疫细胞化学的方法检测出 *Id3* mRNA 和蛋白在

A549 中的表达;通过对 EGFP 表达率的分析发现,转染 *Id3* 基因的细胞 EGFP 表达率在 48 ~ 72 h 可以达到最高,但之后急剧下降,96 h 之后几乎检测不到 EGFP 的表达,而转染空载体细胞的 EGFP 的表达水平可以持续到 5 d 以后;结合显微镜下对细胞形态的观察,推测 *Id3* 过表达对 A549 细胞有促进凋亡的作用。转染后 A549 细胞周期分布及 MTT 法检测细胞增殖活力的方法也表明,*Id3* 的过表达能够使 A549 细胞滞留于 G₀/G₁ 期,抑制细胞增殖;进一步通过 Annexin V/7-AAD 双染法发现转染 *Id3* 基因的细胞早期凋亡率明显高于转染空载体组和空白对照组。同样的结果在 Hoechst33258 亦得到证实。

早在 2001 年, Kee 等人^[10]就发现,病毒介导的 *Id3* 转染 B 淋巴细胞前体(B lymphocyte progenitors)可导致其出现生长停滞以及凋亡。在顺铂诱导肉瘤系 MG63 凋亡的实验中,*Id3* 的过表达导致细胞对顺铂诱导凋亡的敏感性增加。但是具体机制并没有做进一步分析^[17]。本实验室的研究也发现,在顺铂诱导 Burkitt 淋巴瘤 Daudi 细胞凋亡及增殖抑制后,可以引起 *Id3* mRNA 的上调表达,考虑 *Id3* 的上调表达可能参与了顺铂诱导的 Daudi 细胞周期阻滞和诱导细胞凋亡,达到抑制肿瘤细胞生长的目的^[18]。Simbulan-Rosenthal 等^[19]研究了 *Id3* 的异位表达诱导永生化的角质化细胞(immortalized KC)凋亡的现象,他们发现,凋亡通过 *Id3* 的共区域化并激活 bax,进而在线粒体膜形成 Bax 寡聚物。并且, Bcl2 的外源性表达做为凋亡的下游事件阻滞 bax 的定位以及激活。*Id3* 的过表达与 caspases9 和 -3 的激活亦是相关的。研究最终表明 *Id3* 作为上游基因参与线粒体途径诱导的凋亡。但是 Kee^[11]的研究表明 *Id3* 在 B 淋巴细胞前体诱导的凋亡并不能被 *Bcl2* 所抑制,而且 *P53* 也不参与凋亡过程;同时 Kee 还认为 *Id3* 可以激活 caspases-2, -3, and -9,但是只有 Caspase-2 参与 *Id3* 诱导的凋亡^[11]。两者的研究虽然是在不同的细胞中进行的,但这种差别也提示我们需要更深入的研究 *Id3* 促凋亡作用的内在机制。

Id3 基因的外源性表达导致 A549 细胞的增殖抑制和凋亡的结果提示, *Id3* 基因在 A549 细胞中的表现类似于抑癌基因的某些特性。有关 *Id3* 诱导 A549 细胞凋亡的分子机制尚在进一步的研究中。

[参 考 文 献]

[1] Benezra R, Davis RL, Lockshon D, *et al.* The protein Id: a negative regulator of helix-loop-helix DNA binding proteins[J]. Cell, 1990, 61(1): 49-59.

- [2] Ruzinova MB, Benezra R. Id proteins in development, cell cycle and cancer[J]. Trends Cell Biol, 2003, 13(8): 410-418.
- [3] Norton JD. ID helix-loop-helix proteins in cell growth, differentiation and tumorigenesis[J]. J Cell Sci, 2000, 113(Pt22): 3897-3905.
- [4] 朱传东, 李晓军. 分化抑制因子与肿瘤相关性研究进展[J]. 生物化学与生物物理进展, 2008, 35(9): 986-990.
- [5] Li XJ, Hata K, Mizuguchi J. Engagement of membrane immunoglobulin enhances *Id3* promoter activity in WEHI-231 B lymphoma cells[J]. Acta Pharmacol Sin, 2005, 26(4): 486-491.
- [6] Jackson PK. Developmental neurobiology: a destructive switch for neurons[J]. Nature, 2006, 442(7101): 365-366.
- [7] Lasorella A, Stegmüller J, Guardavaccaro D, *et al.* Degradation of *Id2* by the anaphase promoting complex couples cell cycle exit and axonal growth[J]. Nature, 2006, 442(7101): 471-474.
- [8] Peng Y, Kang Q, Luo Q, *et al.* Inhibitor of DNA binding/differentiation helix-loop-helix proteins mediate bone morphogenetic protein-induced osteoblast differentiation of mesenchymal stem cells [J]. J Biol Chem, 2004, 279(31): 32941-32949.
- [9] Christy BA, Sanders LK, Lau LF, *et al.* An *Id*-related helix-loop-helix protein encoded by a growth factor-inducible gene[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(5): 1815-1819.
- [10] Kee BL, Rivera RR, Murre C. *Id3* inhibits B lymphocyte progenitor growth and survival in response to TGF- β [J]. Nat Immunol, 2001, 2(3): 242-247.
- [11] Kee BL. *Id3* induces growth arrest and caspase-2-dependent apoptosis in B lymphocyte progenitors[J]. J Immunol, 2005, 175(7): 4518-4527.
- [12] Lim RW, Wu JM. Molecular mechanisms regulating expression and function of transcription regulator Inhibitor of differentiation 3 (*Id3*) [J]. Acta Pharmacol Sin, 2005, 26(12): 1409-1420.
- [13] Perk J, Iavarone A, Benezra R, *et al.* *Id* family of helix-loop-helix proteins in cancer[J]. Nat Rev Cancer, 2005, 5(8): 603-614.
- [14] 李晓军, 汪萍, 贾丽, 等. *Id3*/EGFP 融合基因表达载体的构建及其在人肺腺癌细胞中的表达[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(12): 1111-1115.
- [15] Arnold JM, Mok SC, Purdie D, *et al.* Decreased expression of the *Id3* gene at 1p36.1 in ovarian adenocarcinomas[J]. Br J Cancer, 2001, 84(3): 352-359.
- [16] 汪萍, 李晓军, 贾丽, 等. 分化抑制因子 *Id2* 和 *Id3* 在肿瘤细胞中的表达[J]. 医学研究生学报, 2007, 1(20): 20-23.
- [17] Koyama T, Suzuki H, Imakiire A. *Id3*-mediated enhancement of cisplatin-induced apoptosis in a sarcoma cell line MG-63[J]. Anticancer Res, 2004, 24(3a): 1519-1524.
- [18] 贾丽, 李晓军, 夏欣一, 等. 顺铂诱导 Daudi 细胞增殖抑制中分化抑制因子 3 的表达分析[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(2): 111-113.
- [19] Simbulan-Rosenthal CM, Daher A, Trabosh V, *et al.* *Id3* induces a caspase-3- and -9-dependent apoptosis and mediates UVB sensitization of HPV16 E6/7 immortalized human keratinocytes[J]. Oncogene, 2006, 25(26): 3649-3660.

[收稿日期] 2008 - 09 - 08

[修回日期] 2008 - 10 - 01

[本文编辑] 王莹