

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.02.002

· 研究快报 ·

E2F1 对 *TFDP3* 表达的调控及其对前列腺癌 PC3 细胞凋亡的影响

李蕊, 马越云, 辛艺娟, 刁艳君, 杨静, 岳乔红, 郝晓柯(第四军医大学附属西京医院 全军临床医学检验研究所, 陕西 西安 710032)

[摘要] **目的:** 构建含 *TFDP3* 基因启动子和荧光素酶报告基因的重组载体 pGL3-*TFDP3*-promoter, 观察 E2F1 对 *TFDP3* 转录及表达的调控作用以及 *TFDP3* 对 E2F1 诱导肿瘤细胞凋亡的影响。**方法:** 以人前列腺癌 PC3 细胞系基因组 DNA 为模板, PCR 扩增 *TFDP3* 启动子序列并克隆入荧光素酶报告基因载体, 与 E2F1 表达载体 pCMV-E2F1-HA 瞬时单独或共同转染 PC3 细胞, 测定荧光素酶活性以观察 E2F1 对 *TFDP3* 启动子的调控作用, Western blotting 检测 pCMV-E2F1-HA 转染对 PC3 细胞内 *TFDP3* 表达的影响, 流式细胞术检测 *TFDP3* 与 E2F1 相互作用对前列腺癌细胞凋亡的影响。**结果:** 成功构建 *TFDP3* 基因启动子重组质粒 pGL3-*TFDP3*-promoter, 与 E2F1 表达载体 pCMV-E2F1-HA 共转染 PC3 细胞后, *TFDP3* 启动子诱导的荧光素酶活性较单独转染 pGL3-*TFDP3*-promoter 显著升高 [1.14 ± 0.06] vs [0.61 ± 0.05], $P < 0.05$ 。转染 pCMV-E2F1-HA 的 PC3 细胞的 *TFDP3* 蛋白表达是未转染细胞的 2.7 倍 [0.24 ± 0.03] vs [0.09 ± 0.02], $P < 0.05$ 。pCMV-E2F1-HA 转染后 PC3 细胞凋亡率较未转染组显著上升 [7.10 ± 0.003] % vs [2.66 ± 0.001] %, $P < 0.05$], 而 pCMV-E2F1-HA 与 pcDNA3.1-*TFDP3* 共转染后细胞凋亡率较 pCMV-E2F1-HA 组显著下降 [4.92 ± 0.002] % vs [7.10 ± 0.003] %, $P < 0.05$]。 **结论:** E2F1 可增强 *TFDP3* 启动子的活性, 增加 *TFDP3* 蛋白的表达, 其可能通过此机制抑制 E2F1 诱导的前列腺癌细胞凋亡。

[关键词] E2F1; 转录因子二聚化配体 3; 双荧光素酶报告基因; 启动子; 前列腺癌; PC3 细胞

[中图分类号] R737.25; Q78

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)02-0125-05

Role for E2F1 in the regulation of transcription factor dimerization partner-3 expression and apoptosis in prostate cancer PC3 cells

Li Rui, Ma Yueyun, Xin Yijuan, Diao Yanjun, Yang Jing, Yue Qiaohong, Hao Xiaoke (Institute for Clinical Laboratory Medicine of PLA, Xijing Hospital Affiliated to the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the regulatory effects of E2F1 on transcription factor dimerization partner-3 (*TFDP3*) expression and apoptosis in prostate cancer cells *in vitro*. **Methods:** A luciferase reporter construct driven by the human *TFDP3* gene promoter, pGL3-*TFDP3*-promoter, was made through PCR and subcloning using the total DNA extracted from human prostate cancer PC3 cells. PC3 cells were transfected with pGL3-*TFDP3*-promoter and pCMV-E2F1-HA E2F1 expression vector, either alone or together. *TFDP3* promoter activity and *TFDP3* protein content in the transfectants were determined by dual luciferase assays and Western blotting analysis, respectively, 48 h after transfection, while apoptosis was analyzed by flow cytometry 24 h after transfection. **Results:** The luciferase activity was significantly higher in PC3 cells co-transfected with pGL3-*TFDP3*-promoter and pCMV-E2F1-HA than PC3 cells transfected with pGL3-*TFDP3*-promoter alone (1.14 vs 0.61 , $P < 0.05$). *TFDP3* protein content in PC3 cells transfected with pCMV-E2F1-HA was 2.7 times higher than that in non-transfected cells ($[0.24 \pm 0.03]$ vs [0.089 ± 0.02], $P < 0.05$). The proportion of apoptotic cells PC3 cells transfected with pCMV-E2F1-HA (7.1 ± 0.003) % was significantly higher than that both in non-transfected PC3 cells ($[2.66 \pm 0.001]$ % $P < 0.05$) and in PC3 cells co-transfected with pcDNA3-*TFDP3*-promoter and pCMV-E2F1-HA ($[4.92 \pm 0.002]$ % vs [7.1 ± 0.003] % , $P < 0.05$). **Conclusion:** E2F1 may enhance the *TFDP3* promoter activity and upregulate *TFDP3* expression in prostate cancer cells. This finding suggests that E2F1 and *TFDP3*

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81272619)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No.81272619)

[作者简介] 李蕊(1988-),女,内蒙古赤峰市人,硕士生,主要从事前列腺肿瘤基础及临床研究。E-mail: lirui10305566@126.com

[通信作者] 郝晓柯(HaoXiaoke, corresponding author), E-mail: haoxkg@fmmu.edu.cn

[网络出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20140331.1719.002.html>

may play a role in the survival/apoptosis in prostate cancer cells.

[**Key words**] E2F1; transcription factor dimerization partner 3 (TFDP3); dual-luciferase report gene; promoter; prostate cancer; PC3 cell

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(2): 125-129]

转录因子二聚化配体(transcription factor dimerization partner, TFDP)家族成员是能与转录因子 E2F(E2 factor)结合形成异源二聚体的一类分子,其功能是增加 E2F 结合 DNA 的能力,帮助其激活其下游靶基因的转录,包括 S 期调节蛋白(如 CDC6)、细胞周期蛋白(如 CDC25A、Cyclin E、B-myb)等^[1-2]。TFDP3 是 E2F 结合蛋白之一^[3-4],本课题组研究^[5-7]发现,其在多种癌组织中表达增强,尤其是相对于正常情况下不表达 TFDP3 的肝和前列腺组织中。但是,与 TFDP 家族其他成员 TFDP1 和 TFDP2 的功能相反,TFDP3 表现为抑制 E2F 的转录活性,并可抑制 E2F,诱导的细胞凋亡^[8-10]。目前,对于 TFDP3 作用的研究方兴未艾,而关于 TFDP3 的表达调控机制及其在肿瘤中的作用研究尚未见报道。通过进一步对 *TFDP3* 启动子区转录结合位点的分析,发现 *TFDP3* 启动子含有典型的 E2F 结合位点^[5]。E2F 家族包括 8 个成员(E2F1 ~ E2F8),其中 E2F1 ~ E2F3 是细胞周期的重要正向调控因子,E2F4 与 E2F5 则参与细胞周期负向调控,而 E2F6 ~ E2F8 的功能目前尚不清楚。研究^[11-13]发现,E2F1 在细胞生长和凋亡中具有重要调控作用,在许多肿瘤的发生发展过程中扮演着重要角色,其很可能对 *TFDP3* 的表达也具有调控作用。本实验以高表达 *TFDP3* 的前列腺癌 PC3 细胞作为研究对象,将 *TFDP3* 启动子序列插入载体质粒 pGL3-Basic,利用双荧光素酶报告基因检测前列腺细胞中 *TFDP3* 基因启动子的表达活性,初步探讨 E2F1 对 *TFDP3* 转录及表达的调控机制和效应。

1 材料与方法

1.1 材料

前列腺癌 PC3 细胞株、感受态 *E. coli* DH-5 α 、*E. coli* JM109 细胞均为本实验室保存。质粒 pCMV-E2F1-HA 由北京大学基础医学院张毓博士惠赠。pGL3-Basic、pGL3-promoter、pRL-SV40 荧光素酶报告基因质粒、基因组 DNA 提取试剂盒、双荧光素酶报告基因检测系统试剂盒、TD-20/20 光度计(型号: E5311)均购自美国 Promega 公司,pMD 18-T Vector、

Taq DNA 聚合酶、T4 DNA 连接酶、限制性内切酶均购自日本 TaKaRa 公司,Lipofectamine™ 2000 购自美国 Invitrogen 公司,质粒抽提纯化试剂盒购自美国 Omega 公司,细胞裂解液及 BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自美国 Thermo 公司, β -actin 抗体、鼠源 Anti-TFDP3 抗体、鼠源 Anti-E2F1 抗体购自美国 Abcam 公司,IRDyes 荧光标记的兔抗小鼠 IgG 二抗购自 Odyssey 公司,培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司。Odyssey® 红外成像系统购自美国 LI-COR 公司。重组载体测序由上海生物工程公司完成。

1.2 pGL3-TFDP3-promoter 重组质粒的构建

从 GenBank 数据库中获取包含编码人的 *TFDP3* 基因序列及其启动子序列,针对转录起始位点上游 1 064 bp 的 DNA 序列,用 primer 5.0 软件设计引物,上游引物为 5'-CTAGCTAGCGTCTATGGT-GTTTTGTTACGG-3'(含 *Nhe* I 酶切位点),下游引物为 5'-CCGCTCGAGTAAATGTTTCACCTTCCAGAGA-3'(含 *Xho* I 酶切位点)。提取 PC3 细胞基因组 DNA 作为模板,PCR 扩增 *TFDP3* 启动子区域。反应条件为 94 °C 预变性 5 min,94 °C 变性 30 s,60 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 2 min,共计 35 个循环。PCR 产物和 pGL3-Basic 载体质粒分别进行 *Nhe* I 和 *Xho* I 双酶切,连接后转化大肠杆菌 DH-5 α 细胞,提取的质粒经酶切、菌液 PCR、测序鉴定。阳性载体命名为 pGL3-TFDP3-promoter。

1.3 重组质粒转染 PC3 细胞

将 2×10^5 个对数生长期 PC3 细胞接种于 24 孔培养板,分为 6 组,每组设置 3 个重复孔,分别转染 pGL3-Basic、pGL3-promoter、pGL3-promoter + pCMV-E2F1-HA、pGL3-TFDP3-promoter、pGL3-TFDP3-promoter + pCMV-E2F1-HA 和 pGL3-TFDP3-promoter + pcDNA3.1。其中 pGL3-Basic 为阴性对照,pGL3-promoter 为阳性对照,pRLSV40 质粒作为内参对照。当细胞达到 80% 汇合后,按萤火虫荧光素酶:海肾荧光素酶为 50:1 的比例,用 Lipofectamine™ 2000 共转染入上述载体和含海肾荧光素酶基因的 pRL-SV40。

1.4 荧光素酶报告基因活性检测

转染 48 h 后,采用双荧光素酶报告基因检测系统检测荧光素酶报告基因活性。细胞先用 $1 \times$ PBS

洗 3 次,每孔加入 100 μ l 被动裂解液,室温裂解 15 min 后,取细胞裂解上清液用光度计避光检测荧光素酶活性。光度计参数设置为:检测时间 10 s,延迟检测时间 2 s。取上清 20 μ l,加入荧光素酶检测试剂 II (LAR II) 100 μ l,吹打混匀,测量萤火虫荧光素酶活性。继续加入 Stop & Glo 试剂 100 μ l 淬灭上述反应,同时激发海肾荧光素酶反应,测量海肾荧光素酶的活性。每组个 2 样本,重复 3 次。

1.5 Western blotting 检测 pCMV-E2F1-HA 转染对 PC3 细胞内 TFDP3 表达的影响

对数生长期 PC3 细胞转染 pCMV-E2F1-HA 48 h 后收集细胞,提取细胞总蛋白并用 BCA 法测定蛋白浓度。取蛋白样品经 8% SDS-PAGE 分离后,转印至 0.45 μ m 的 PVDF 膜上,室温封闭 2 h,加入一抗鼠抗 TFDP3 多克隆抗体(1:1 000),4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;加入 IRDyes 标记的兔抗鼠 IgG(1:2 500),室温孵育 1 h。Odyssey 红外荧光扫描系统扫描成像并测定条带灰度值。

1.6 流式细胞仪检测重组质粒转染对 PC3 细胞凋亡的影响

对数生长期 PC3 细胞接种于 24 孔培养板,分为 4 组,分别是未转染组、pCMV-E2F1-HA 组、pcDNA3.1-TFDP3 组、pcDNA3.1-TFDP3 + pCMV-E2F1-HA 组。转染 24 h 后,消化各孔细胞,冷 PBS 洗涤,收集并调整细胞密度至 1×10^5 /ml,加入 10 μ l Annexin V-FITC 和 10 μ l PI,轻轻混匀,避光室温反应 30 min。加入 400 μ l 结合缓冲液,以未转染细胞为空白,流式细胞仪检测细胞凋亡。每组 2 个样本,重复 3 次。

1.7 统计学处理

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.5 统计软件,组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建重组质粒 pGL3-TFDP3-promoter

以 PC3 细胞基因组为模板扩增的 *TFDP3* 启动子区 PCR 产物经 1.0% 琼脂糖电泳后,紫外灯下可见唯一一条带,大小约 1 000 bp,与预期片段大小相一致(图 1)。将 *TFDP3* 启动子区 PCR 产物转化 DH-5 α 后,提取 pGL3-TFDP3-promoter 质粒行 *Nhe* I 和 *Xho* I 双酶切,得到 4.6 kb 的线形 pGL3-Basic 和 1 kb 的目的片段(图 2)。重组质粒 DNA 测序结果采用 NCBI blast 比对,证明与 Genbank 中 *TFDP3* 基因启动子序列完全一致。

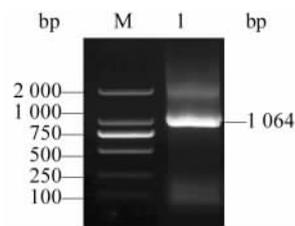


图 1 *TFDP3* 启动子 PCR 扩增产物电泳鉴定
Fig. 1 PCR amplification products of *TFDP3* promoter identified by electrophoresis
M: DNA marker; 1: *TFDP3* gene promoter

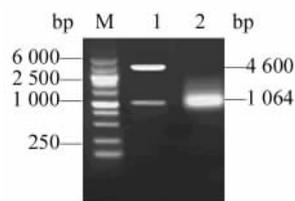


图 2 重组质粒的鉴定
Fig. 2 Identification of recombinant plasmid
M: DNA marker; 1: Plasmid pGL3-TFDP3-promoter digested by *Nhe* I and *Xho* I; 2: PCR result through template of pGL3-TFDP3-promoter

2.2 E2F1 能够提高 *TFDP3* 启动子的转录活性

双荧光素酶报告基因检测系统检测结果(图 3)显示,pGL3-Promoter 组荧光素酶活性明显。pGL3-promoter 与 pCMV-E2F1-HA 共转染细胞后,与 pGL3-promoter 组比较,荧光素酶活性无显著差别 ($P > 0.05$);pGL3-TFDP3-promoter 组荧光酶活性较 pGL3-Promoter 组显著升高[(0.61 ± 0.05) vs (0.32 ± 0.06), $P < 0.05$]。pGL3-TFDP3-promoter 与 pCMV-E2F1-HA 共转染细胞后,荧光酶活性较 pGL3-TFDP3-promoter 组增强了 1.9 倍[(1.14 ± 0.06) vs (0.61 ± 0.05), $P < 0.05$]。空载体 pcDNA3.1 与 pGL3-TFDP3-promoter 共转染细胞后,与 pGL3-TFDP3-promoter 组比较,荧光素酶活性无显著差异 ($P > 0.05$) (图 3)。以上结果说明,克隆的 *TFDP3* 上游片段具有启动子活性,pCMV-E2F1-HA 与 pGL3-TFDP3-promoter 共转染能够上调 *TFDP3* 启动子的活性。

2.3 转染 pCMV-E2F1-HA 上调 PC3 细胞内 TFDP3 的表达

经 Western blotting 检测结果(图 4)显示,未转染组 PC3 细胞不表达 E2F1,pCMV-E2F1-HA 组 PC3 细胞高表达 E2F1;pCMV-E2F1-HA 组 TFDP3 的相

对表达量是未转染组的 2.7 倍[(0.089 ± 0.02) vs (0.24 ± 0.03), $P < 0.05$]。可见 E2F1 对 TFDP3 的蛋白表达具有明显上调作用。

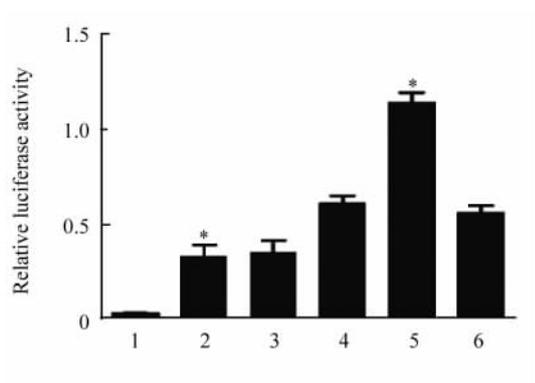


图 3 E2F1 上调 TFDP3 启动子活性

Fig. 3 E2F1 upregulates promoter activity of TFDP3

1: pGL3-Basic + pRL-SV40; 2: pGL3-promoter + pRL-SV40; 3: pCMV-E2F1-HA + pGL3-promoter + pRL-SV40; 4: pGL3-TFDP3- promoter + pRL-SV40; 5: pCMV-E2F1-HA + pGL3-TFDP3-promoter + pRL-SV40; 6: pcDNA3.1 + pGL3-TFDP3-promoter + pRL-SV40
* $P < 0.05$ vs pGL3-TFDP3- promoter + pRL-SV40

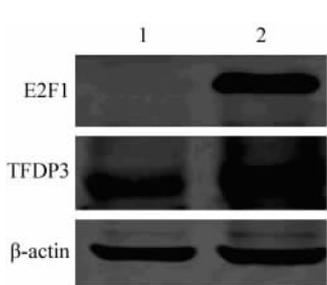


图 4 pCMV-E2F1-HA 转染上调 PC3 细胞内 TFDP3 蛋白的表达

Fig. 4 pCMV-E2F1-HA transfection upregulates the expression of TFDP3 in PC3 cells

1: Control; 2: pCMV-E2F1-HA

2.4 转染 pcDNA3.1-TFDP3 及 pCMV-E2F1-HA 可显著诱导 PC3 细胞的凋亡

pcDNA3.1-TFDP3, pCMV-E2F1-HA, pCMV-E2F1-HA + pcDNA3.1-TFDP3 重组质粒转染 PC3 细胞的流式细胞术检测结果(图 5)显示, pCMV-E2F1-HA 转染后 PC3 细胞凋亡率较未转染组显著上升[(7.1 ± 0.003)% vs (2.66 ± 0.001)% , $P < 0.05$], 而 pCMV-E2F1-HA 与 pcDNA3.1-TFDP3 共转染后细胞凋亡率较 pCMV-E2F1-HA 组显著下降[(4.92 ± 0.002)% vs (7.1 ± 0.003)% , $P < 0.05$]。

说明 E2F1 可以显著诱导细胞的凋亡, 而 TFDP3 可以抑制 E2F1 的这种功能。

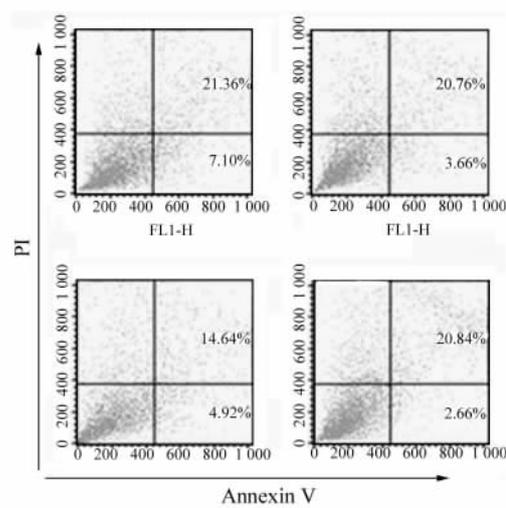


图 5 TFDP3 抑制 E2F1 诱导的细胞凋亡

Fig. 5 TFDP3 inhibits E2F1-induced cell apoptosis

3 讨论

转录因子 TFDP 家族是作为 E2F 的结合蛋白被发现的, 它与 E2F 结合形成 E2F/DP 异二聚体, 对 E2F 的 DNA 结合亲和力和转录激活功能起到增强的作用^[14]。TFDP3 是 2007 年发现的 TFDP 家族新成员, 广泛表达于多种组织和细胞, 在多种癌组织中表达增强, 尤其是相对于正常情况下不表达 TFDP3 的肝和前列腺组织。TFDP3 基因在肝癌和前列腺癌中均呈现阳性表达, 而且在 65% 的前列腺癌组织中均检测到了 TFDP3, 但是对于其是否在肿瘤发生过程中发挥作用尚无定论。

研究^[8]表明, TFDP3 可以有效结合 E2F 蛋白, 但是不能结合 DNA, 这就使得其作用与 TFDP1 和 TFDP2 相反, 表现为对 E2F 分子转录活性的抑制。TFDP3 不仅可以抑制 E2F 的细胞周期和细胞增殖活性, 还可以抑制 E2F1 诱导、并经 P53 介导的细胞凋亡^[8-10]。并且, 本课题组的前期研究^[15]也发现, 外源性 TFDP3 可以通过诱导前列腺癌细胞的自噬作用, 以提高激素依赖的前列腺癌细胞 LNCaP 的生存能力。Li 等^[16]发现, 自噬对于激素非依赖性前列腺癌(androgen-independent prostate cancer, AIPC)的形成具有保护作用。这些结果都提示 TFDP3 的表达改变可能与 AIPC 的发生存在密切关系。

转录因子 E2F1 通常的结合序列为 TTTC/GG/CCGC/G^[17]。本课题组通过对 TFDP3 启动子区转

录结合位点的分析发现,*TFDP3* 启动子含有典型的 E2F1 结合位点^[5]。同时,本课题组调查^[5]显示,在 40 例前列腺癌组织标本中,*TFDP3* 的表达与 E2F1 的表达相平行。而有研究^[18]表明,在 667 份前列腺癌组织标本中,前列腺增生和原位癌的 E2F1 表达水平较低,而淋巴结转移的激素依赖的前列腺癌细胞 E2F1 表达增高,AIPC 细胞则具有更水平的 E2F1 表达。那么,高水平的 E2F1 因何没有造成细胞的凋亡呢?本研究证明,由于 *TFDP3* 上游启动子区存在 E2F1 的结合位点,并且其表达水平随 E2F1 的表达的提高而增强。同时 *TFDP3* 可以结合 E2F1 进而显著抑制 E2F1 诱导的细胞凋亡。这一现象提示,*TFDP3* 可能通过抑制了激素缺失条件下 LNCaP 细胞的凋亡,促进了 LNCaP 的生存。

E2F1 因子转录调控作用广泛而且复杂,具有细胞增殖和诱导凋亡的双重效应^[19-21]。本研究中对于 *TFDP3* 在 E2F1 调控下的表达机制和效应的观察,初步解释了 E2F1 在前列腺癌细胞中促进细胞增殖而不导致细胞凋亡的分子机制。

【参考文献】

- [1] Harbour JW, Dean DC. Rb function in cell-cycle regulation and apoptosis [J]. Nat Cell Biol, 2000, 2(4): E65-E67.
- [2] Biswas AK, Johnson DG. Transcriptional and nontranscriptional functions of E2F1 in response to DNA damage [J]. Cancer Res, 2012, 72(1): 13-17.
- [3] 马越云. 垂体和下丘脑发育过程中基因表达谱的分析 [R]. 上海第二医科大学/国家人类基因组南方研究中心, 2003.
- [4] Ma Y, Qi X, Du J, et al. Identification of candidate genes for human pituitary development by EST analysis [J/OL]. BMC Genomics, 2009, 10: 109-118.
- [5] Ma Y, Xin Y, Li R, et al. *TFDP3* was expressed in coordination with E2F1 to inhibit E2F1-mediated apoptosis in prostate cancer [J]. Gene, 2014, 537(2): 253-259.
- [6] Li W, Ni GX, Zhang P, et al. Characterization of E2F3a function in HepG2 liver cancer cells [J]. J Cell Biochem, 2010, 111(5): 1244-1251.
- [7] Palaiologou M, Koskinas J, Karanikolas M, et al. E2F-1 is over-expressed and pro-apoptotic in human hepatocellular carcinoma [J]. Virchows Arch, 2012, 460(5): 439-446.
- [8] Qiao H, Di Stefano L, Tian C, et al. Human *TFDP3*, a novel DP protein, inhibits DNA binding and transactivation by E2F [J]. J Biol Chem, 2007, 282(1): 454-466.
- [9] Sun HX, Xu Y, Yang XR, et al. Hypoxia inducible factor 2 alpha inhibits hepatocellular carcinoma growth through the transcription factor dimerization partner 3/E2F transcription factor 1-dependent apoptotic pathway [J]. Hepatology, 2013, 57(3): 1088-1097.
- [10] Ingram L, Munro S, Coutts AS, et al. E2F-1 regulation by an unusual DNA damage-responsive DP partner subunit [J]. Cell Death Differ, 2011, 18(1): 122-132.
- [11] Zhan L, Huang C, Meng XM, et al. Promising roles of mammalian E2Fs in hepatocellular carcinoma [J]. Cell Signal, 2014, 26(5): 1075-1081.
- [12] Park C, Lee I, Kang WK. E2F-1 is a critical modulator of cellular senescence in human cancer [J]. Int J Mol Med, 2006, 17(5): 715-720.
- [13] Udayakumar T, Shareef MM, Diaz DA, et al. The E2F1/Rb and p53/MDM2 pathways in DNA repair and apoptosis: Understanding the crosstalk to develop novel strategies for prostate cancer radiotherapy [J]. Semin Radiat Oncol, 2010, 20(4): 258-266.
- [14] Ormondroyd E, de la Luna S, La Thangue NB. A new member of the DP family, DP-3, with distinct protein products suggests a regulatory role for alternative splicing in the cell cycle transcription factor DRTF1/E2F [J]. Oncogene, 1995, 11(8): 1437-1446.
- [15] 任丽芬, 马越云, 岳乔红, 等. *TFDP3* 对前列腺癌 LNCaP 细胞自噬及凋亡调控作用的初步研究 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2012(04): 347-349.
- [16] Li M, Jiang X, Liu D, et al. Autophagy protects LNCaP cells under androgen deprivation conditions [J]. Autophagy, 2008, 4(1): 54-60.
- [17] Campanero MR, Armstrong MI, Flemington EK. CpG methylation as a mechanism for the regulation of E2F activity [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000, 97(12): 6481-6486.
- [18] Davis JN, Wojno KJ, Daignault S, et al. Elevated E2F1 inhibits transcription of the androgen receptor in metastatic hormone-resistant prostate cancer [J]. Cancer Res, 2006, 66(24): 11897-11906.
- [19] Wenzlau JM, Juhl K, Yu L, et al. The cation efflux transporter ZnT8 (Slc30A8) is a major autoantigen in human type 1 diabetes [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2007, 104(43): 17040-17045.
- [20] Johnson DG, Schwarz JK, Cress WD, et al. Expression of transcription factor E2F1 induces quiescent cells to enter S phase [J]. Nature, 1993, 365(6444): 349-352.
- [21] Phillips AC, Vousden KH. E2F-1 induced apoptosis [J]. Apoptosis, 2001, 6(3): 173-182.

[收稿日期] 2013-12-30 [修回日期] 2014-02-25

[本文编辑] 黄静怡

《中国肿瘤生物治疗杂志》欢迎投稿、欢迎订阅