

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.04.011

· 研究快报 ·

GADD45g 基因在急性髓系白血病细胞中的低表达及其抑癌特性

李容容, 赵杨杨, 郭丹, 王楠, 尹静, 任倩, 马小彤(中国医学科学院北京协和医学院血液病医院血液学研究所实验血液学国家重点实验室, 天津 300020)

[摘要] **目的:** 检测生长阻滞和DNA损伤诱导蛋白45g (growth arrest and DNA damage inducible protein 45g, *GADD45g*) 基因在急性髓系白血病(acute myeloid leukemia, AML)患者骨髓标本和细胞系中的表达情况及其表达水平与AML患者预后的关系, 探究过表达*GADD45g*对AML细胞增殖、凋亡、衰老、周期、分化和药物敏感性的影响。**方法:** 选取中国医学科学院血液病医院2013年1月至2016年12月初次诊断为AML患者的骨髓标本共27例, 用Real-time PCR和Western blotting检测AML患者、正常对照骨髓单个核细胞以及AML细胞系中*GADD45g* mRNA和蛋白水平的表达情况。在两个相互独立的数据集GSE10358和GSE425-GPL317中分析*GADD45g*表达与AML患者的总生存率(overall survival, OS)和无事件生存率(event-free survival, EFS)的相关性。构建*GADD45g*过表达慢病毒并感染AML细胞系U937、THP-1和Molm-13, 通过生长曲线、集落形成、 β -半乳糖苷酶染色、流式细胞术分析Annexin V/7AAD染色和PI染色等方法分析*GADD45g*过表达对AML细胞增殖、克隆形成、衰老、凋亡、周期、分化和化疗药物敏感性的影响。**结果:** *GADD45g*在AML患者和AML细胞系中的表达水平显著低于正常对照(均 $P < 0.01$)。低表达*GADD45g*的AML患者的OS($P < 0.05$)和EFS较高表达患者显著缩短(均 $P < 0.05$)。在AML细胞系中过表达*GADD45g*能显著抑制细胞增殖、集落形成, 显著促进细胞的凋亡、衰老、周期阻滞和分化, 增强了细胞对化疗药物敏感性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:** *GADD45g*基因在AML患者骨髓组织和AML细胞系中低表达, 对AML细胞系有显著的全方位的抑制作用, 其表达水平对AML具有预后判断价值。

[关键词] 生长阻滞和DNA损伤诱导蛋白45g; 急性髓系白血病; 抑癌基因; 细胞增殖; 细胞凋亡

[中图分类号] R733.71; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)04-0382-07

Down-regulated expression and antioncogenetic role of *GADD45g* in acute myeloid leukemia

LI Rongrong, ZHAO Yangyang, GUO Dan, WANG Nan, YIN Jing, REN Qian, MA Xiaotong (State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology & Hospital of Blood Diseases, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

[Abstract] **Objective:** To quantify the expression of growth arrest and DNA damage inducible protein 45g (*GADD45g*) gene in the bone marrow samples of patients with AML (acute myeloid leukemia) and in AML cell lines, as well as to study the correlation between the *GADD45g* expression and prognostic outcome in patients with AML and investigate the role of *GADD45g* over-expression in proliferation, apoptosis, senescence, differentiation, cell cycle arrest, and drug sensitivity in AML cell lines. **Methods:** In the study, a total of 27 cases of bone marrow specimens were selected from patients initially diagnosed as AML in Hospital of Blood Diseases affiliated to Chinese Academy of Medical Sciences from January 2013 to December 2016. mRNA and protein expression levels of *GADD45g* in BMMNCs (Bone marrow mononuclear cells) from patients with AML and healthy donors and in AML cell lines were quantified by quantitative real-time PCR and Western blotting. The correlation between *GADD45g* expression and overall survival (OS), coupled with event-free survival (EFS) in patients with AML was analyzed in two gene expression datasets (GSE10358, GSE425-GPL317). Lentiviral vectors over-expressing *GADD45g* were constructed and transfected into AML cell lines (U937, THP-1 and Molm-13 cell lines). The role of *GADD45g* over-expression in cell proliferation, colony formation, senescence, apoptosis, cell cycle arrest, differentiation

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81670158, No.81470278, No.81600138, No.81700106); 天津市应用基础与前沿技术计划资助项目(No. 17JCZDJC35100, No.15JCQNJC10300, No.17JCQNJC10800); Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81670158, No. 81470278, No. 81600138, No. 81700106), and the Application Foundation and Frontier Technology Program of Tianjin City (No.17JCZDJC35100, No.15JCQNJC10300, No.17JCQNJC10800)

[作者简介] 李容容(1992-), 女, 硕士, 主要从事白血病发生机制的研究, E-mail: lirongrong1992@aliyun.com

[通信作者] 马小彤(MA Xiaotong, corresponding author), 博士, 教授, 主要从事白血病发生机制的研究, E-mail: ma_xt@aliyun.com

and drug sensitivity of U937, THP-1 and Molm-13 cells were detected by cell counting, colony-forming assay, β -galactosidase staining and flow cytometric analysis of Annexin V/7AAD staining, PI staining and so on, respectively. **Results:** Expression of *GADD45g* was dramatically down-regulated in BMMNCs in AML patients and AML cell lines compared to that from healthy donors (all $P < 0.01$). The OS ($P < 0.05$) and EFS ($P < 0.05$) of AML patients with low *GADD45g* expression were significantly shorter than those of AML patients with higher *GADD45g* level. Enforced expression of *GADD45g* could inhibit cell growth and colony formation, promote senescence and apoptosis, induce cell cycle arrest and differentiation and enhance drug sensitivity in AML cell lines ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** *GADD45g* expression was remarkably silenced in marrow tissues of patients with AML and AML cell lines; it showed remarkable and all-around inhibiting effect on AML cell lines, indicating that *GADD45g* expression has prognostic value in AML.

[Key words] growth arrest and DNA damage inducible protein 45 (*GADD45g*); acute myeloid leukemia; antioncogene; cell proliferation; cell apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(4): 382-388. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2018.04.011]

生长阻滞和DNA损伤诱导蛋白45(growth arrest and DNA damage inducible protein 45, *GADD45*) 基因家族成员 *GADD45g* 编码一个相对分子质量 18 000 的进化保守性蛋白,广泛低表达于各种成体和胎儿组织,通常在多种内源及外源遗传毒性、生理损伤和致癌刺激等的诱导下表达升高^[1-3]。近年研究^[3-12]发现,*GADD45g* 作为抑癌基因在如淋巴瘤和甲状腺癌、鼻咽癌、卵巢癌、食管癌、肺癌和肝细胞癌等实体肿瘤中低表达而有利于肿瘤细胞的增殖存活,与肿瘤的发生、耐药、预后不良有关。在肿瘤细胞中过表达 *GADD45g*,或诱导 *GADD45g* 表达上调可诱导细胞周期阻滞、凋亡、衰老,对细胞生长发挥负性调控作用^[6, 11-12]。但是到目前为止,所有有关 *GADD45g* 与肿瘤关系的研究均局限于实体肿瘤,其在白血病细胞中的表达和对白血病的作用情况尚无报道。本研究检测 AML 临床标本中 *GADD45g* 的表达情况,运用数据集分析 *GADD45g* 对 AML 患者预后的影响;构建 *GADD45g* 过表达载体,感染 AML 细胞系观察其对 AML 细胞增殖、集落形成、凋亡、衰老、周期、分化和药物敏感性的影响,为更深入地了解 *GADD45g* 在 AML 中的作用,同时为 AML 的诊断、预后以及抗白血病新药的研发提供新思路。

1 材料与方法

1.1 临床资料

选取中国医学科学院血液病医院 2013 年 1 月至 2016 年 12 月初次诊断为 AML 患者的骨髓标本共 27 例,所有患者均经 MICM (morphology; immunology; cytogenetics; molecular biology) 分型综合确诊,诊断标准参照《血液病诊断及疗效标准》^[13]。入选患者中男性 12 例、女性 15 例,年龄为 25 至 77 岁,中位年龄 58 岁。对照组为同期骨髓象正常的健康人和血小板减少性紫癜患者骨髓标本共 10 例。本研究取得受试者知情同意,并获得中国医学科学院血液病医院伦理委员会批准。

1.2 主要材料和试剂

急性髓系白血病细胞系 U937、HL60、THP-1、Molm-13、MV4-11、Kasumi、KG1a、NB4、J6-1 以及 293T 细胞系均由本实验室保存。

细胞用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 (HEK 293T 细胞为 DMEM) 培养基培养,放置于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度的细胞培养箱,取对数生长期细胞进行实验。

过表达慢病毒载体 pCDH1-MCS1-EF1-copGFP、包装质粒 psPAX2 和 pMD2G 均购自 SBI 公司。胎牛血清、TRIzol 试剂、RPMI 1640 和 DMEM 培养液均购自美国 Gibco 公司。SYBR green PCR 试剂盒、*Xba* I 和 *EcoR* I 限制性内切酶以及相关缓冲液均购自日本 TaKaRa 公司。兔抗人 *GADD45g* 多克隆抗体和兔抗人 GAPDH 单克隆抗体分别购自英国 Abcam 公司和美国 CST 公司。Annexin V/7AAD 细胞凋亡试剂盒购自美国 BD 公司。细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒购自碧云天公司。碘化丙啶(PI)、化疗药物柔红霉素(daunorubicin, DNR)和依托泊苷(etoposide phosphate, VP-16)购自美国 Sigma-Aldrich 公司。抗人 CD11b-APC、CD14-APC 抗体购自 Biolegend 公司。引物由华大基因公司合成。

1.3 过表达人 *GADD45g* 重组慢病毒载体的设计和构建

根据人 *GADD45g* 基因编码序列,设计 PCR 引物,具体序列见表 1。以正常人骨髓单个核细胞 cDNA 为模板,普通 PCR 扩增人 *GADD45g*,1.0% 琼脂糖凝胶电泳鉴定和回收 PCR 产物。以 *Xba* I 和 *EcoR* I 双酶切 PCR 回收产物和 pCDH1 载体,用 T4 连接酶连接酶切产物,构建 *GADD45g* 重组慢病毒载体 pCDH1-*GADD45g*-GFP。

1.4 *GADD45g* 过表达病毒的制备和感染

将载体质粒与包装质粒通过脂质体法共转染 HEK 293T 细胞,包装慢病毒。48、72 h 后收集病毒上清并浓缩。有限稀释法测定病毒滴度, -80 °C 保存

备用。将 *GADD45g* 过表达病毒(pCDH-*GADD45g*-GFP)感染 U937、THP-1、Molm-13 细胞,同时以空载体病毒(pCDH-vector-GFP)感染相同细胞作为对照。感染 48 h 后流式细胞仪分选 GFP⁺细胞。GFP⁺细胞的比例即为感染效率。

表1 PCR引物的寡核苷酸序列

Tab.1 Oligonucleotide sequence of primer in PCR

Name	Oligonucleotidesequence (5'-3')
<i>GADD45g</i>	F CTAGTCTAGAGCCACCATGACTCTGGA AGAAGTC
	R CCGGAATTCTCACTCGGGGAGGGTGAT
<i>GADD45g</i>	F AACTAGCTGCTGGTTGATCG
	R ACCACGTCGATCAGACCAAG
<i>GAPDH</i>	F AGAGGGAAATCGTGCGTGAC
	R CAATAGTGATGACCTGGCCGT

F: Forward primer; R: Reverse primer; a: Primers for Real-time PCR

1.5 Real-time PCR 检测 *GADD45g* mRNA 在白血病细胞中的表达

收集髓系白血病患者骨髓单个核细胞、AML 细胞系细胞,以正常人骨髓单个核细胞为对照,利用 TRIzol 试剂提取 RNA,测定 RNA 浓度和纯度,逆转录合成 cDNA,以 *GAPDH* 作为内参,Real-time PCR 检测基因的表达(具体序列见表1)。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 *GADD45g* 的 mRNA 相对表达量。

1.6 Western blotting 检测 *GADD45g* 蛋白在白血病细胞中的表达

收集髓系白血病患者骨髓单个核细胞、AML 细胞系,以正常人骨髓单个核细胞为对照,加入 RIPA 裂解液裂解细胞,提取总蛋白,SDS-PAGE 后将蛋白转移到 NC 膜,用脱脂奶粉封闭,一抗(兔抗人 *GADD45g* 多克隆抗体,1:2 000 稀释;兔抗人 *GAPDH* 单克隆抗体,1:3 000 稀释)孵育和二抗(HRP 标记的山羊抗兔 IgG)孵育,HRP-ECL 显影。

1.7 细胞技术和生长曲线测定过表达 *GADD45g* 对 AML 细胞增殖能力的影响

收集 *GADD45g* 过表达和空载体病毒感染的 U937、THP-1、Molm-13 细胞, 1×10^4 /ml (U937 为 1×10^5 /ml) 接种于 96 孔板,每孔 100 μ l,每天计数 3 复孔细胞均数,共计数 7 d,取 3 个孔的均值绘制生长曲线。

1.8 软琼脂集落培养实验检测过表达 *GADD45g* 对 AML 细胞系集落形成能力的影响

收集 *GADD45g* 过表达和空载体病毒感染的 U937、THP-1、Molm-13 细胞,调整细胞浓度, 2×10^2 /ml 细胞悬液加入集落培养体系,接种于平底 96 孔板中培养 14 d。大于 50 个细胞的细胞丛为一集落,显微镜下计数各孔的集落数。

1.9 流式细胞术检测过表达 *GADD45g* 对 AML 细胞凋亡、衰老和周期的影响

收集 *GADD45g* 过表达和空载体病毒感染的 U937、THP-1、Molm-13 细胞。参考 BD 公司 Annexin V-APC/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒、碧云天公司细胞衰老 β -半乳糖苷酶染色试剂盒操作说明书进行,检测细胞的凋亡和衰老比例。 1×10^6 个细胞加入 1 ml 70% 冰乙醇,4 $^{\circ}$ C 固定 24 h,离心弃上清,加 100 μ g/ml RNaseA,室温孵育 15 min 后加 50 μ g/ml PI,避光室温孵育 30 min,流式细胞仪检测细胞周期分布。

1.10 流式细胞术检测过表达 *GADD45g* 对 AML 细胞药物致凋亡敏感性的影响

在病毒感染的 U937、THP-1、Molm-13 细胞中加入含有不同浓度 DNR(0、50、100、200 ng/ml)和 VP-16 (0、100、200、400 ng/ml)的新鲜培养基,培养 24 h 后用 BD 公司 Annexin V-APC/7-AAD 细胞凋亡检测试剂盒和流式细胞术测定细胞的凋亡比例。

1.11 流式细胞术和形态学染色检测过表达 *GADD45g* 对 AML 细胞系分化的影响

病毒感染 U937、THP-1、Molm-13 细胞系 48 h 后,收集 1×10^6 个细胞分别加入荧光标记的 CD14 和 CD11b 抗体,进行流式细胞分析;调整细胞浓度至 5×10^5 个/ml,取 50 μ l 加入细胞离涂片机,离心、晾干涂片,滴瑞氏-吉姆萨染液染色 1 min,用蒸馏水冲洗,风干后显微镜下观察细胞形态。

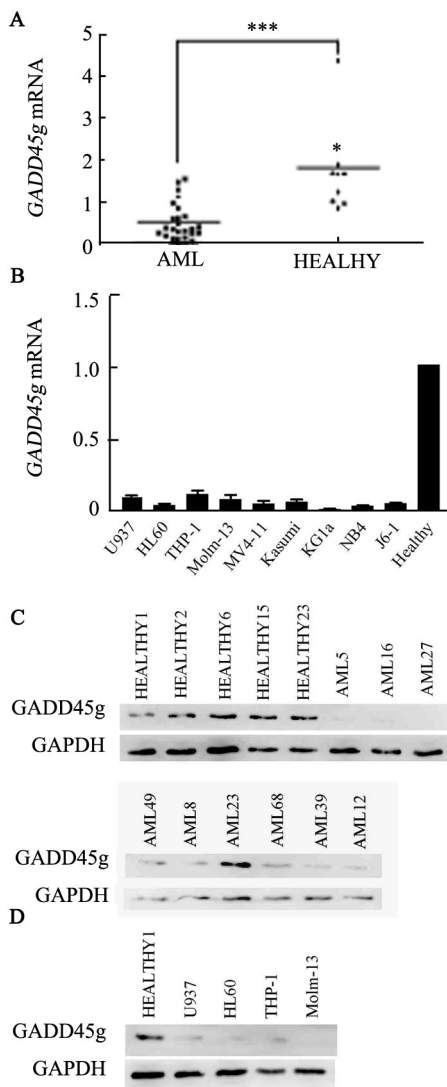
1.12 统计学处理

应用 SPSS 22.0 软件分析数据,正态计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间均数比较采用成组 *t* 检验;非正态分布计量资料以中位数(全距)表示,两组间比较采用两独立样本秩和检验(Mann-Whitney, *U* 检验);生存分析用单因素生存曲线(Kaplan-Meier test)比较。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *GADD45g* 在 AML 患者和细胞系中显著低表达

以正常人骨髓单个核细胞为对照,Real-time PCR 和 Western blotting 检测 AML 患者和 AML 细胞系中 *GADD45g* mRNA 和蛋白水平的相对表达量,结果(图1)显示,与对照相比,在 AML 患者和 AML 细胞系中 *GADD45g* 相对表达量显著降低($P < 0.05$)。



A,B: Quantitative real-time PCR showing the expression level of *GADD45g* mRNA in BMMNCs from patients with AML and in AML cell lines. *GAPDH* was used as an endogenous reference. BMMNCs from healthy donors were used as controls. C, D: Western blotting showing *GADD45g* expression level in BMMNCs from patients with AML and in AML cell lines. *GAPDH* was shown as equal loading. BMMNCs from healthy donors were used as controls
图1 *GADD45g* 在 AML 患者和细胞系中显著低表达
Fig. 1 Expression of *GADD45g* was remarkably silenced in patients with AML and in AML cell lines

2.2 低表达 *GADD45g* 的 AML 患者预后不良

分析从基因表达综合数据库(Gene Expression Omnibus, GEO)获取的两个相互独立的基因表达数据集 GSE10358 和 GSE425-GPL317 发现,低表达 *GADD45g* 的 AML 患者比高表达 *GADD45g* 的 AML 患者的总生存率(overall survival, OS) ($P < 0.05$) 和无事件生存率(event-free survival, EFS) ($P < 0.05$) 显著缩短(图2)。

2.3 过表达 *GADD45g* 对 AML 细胞生物学功能的影响

2.3.1 成功构建过表达 *GADD45g* 的 AML 细胞系
 过表达 *GADD45g* 的慢病毒颗粒对 U937、THP-1 和 Molm-13 细胞的感染效率分别为 U937-*GADD45g*: (85 ± 2.4)%、U937-Vector: (88 ± 4.3)%、THP-1-*GADD45g*: (46 ± 2.8)%、THP-1-Vector (49 ± 2.3)%、Molm-13-*GADD45g*: (42 ± 1.9)%、Molm-13-Vector: (45 ± 3.0)%。Real-time PCR 检测结果显示, U937、THP-1、Molm-13 过表达组的 *GADD45g* mRNA 相对表达量是对照组的 400 倍; Western blotting 结果证实了 Real-time PCR 检测结果: 过表达组 *GADD45g* 的蛋白表达量显著高于对照组。

2.3.2 过表达 *GADD45g* 抑制 AML 细胞增殖和集落形成, 促进 AML 细胞凋亡、衰老、周期阻滞
 过表达 *GADD45g* 的 U937、THP-1 和 Molm-13 的细胞增殖(图3)和集落形成数目(图4)均较感染空载体的对照组显著降低($P < 0.05$)。检测细胞凋亡和衰老发现 U937-*GADD45g*、THP-1-*GADD45g* 和 Molm-13-*GADD45g* 的细胞凋亡(图5)和衰老(图6)的比例均显著高于感染空载体的对照组($P < 0.01$)。而且, 过表达 *GADD45g* 使 U937、THP-1 和 Molm-13 细胞 sub-G0 期比例显著增加而 S 和 G2/M 期比例明显减少(图7) ($P < 0.05$)。

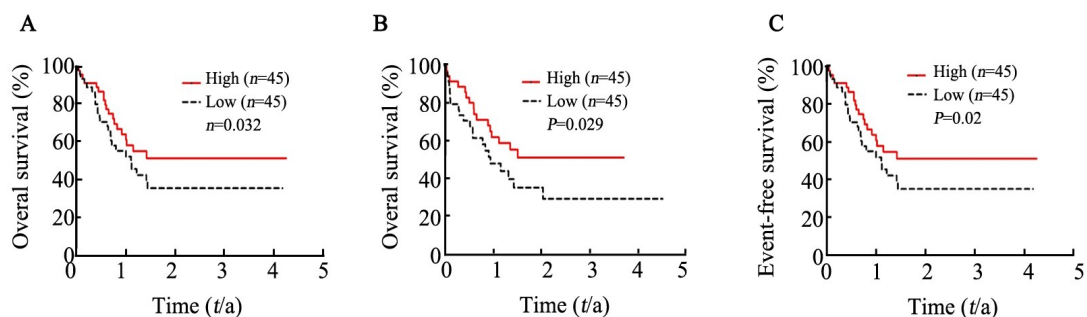
2.3.3 过表达 *GADD45g* 诱导 AML 细胞分化和增强其对化疗药物致凋亡敏感性
 过表达 *GADD45g* 的 U937、THP-1 和 Molm-13 细胞内的颗粒度(side-scatter profile, SSC)和细胞表面分化抗原 CD11b 和 CD14 表达量增加, 显著高于对照组(均 $P < 0.05$); 过表达 *GADD45g* 的 THP-1 细胞较对照组体积变大, 核质比下降, 胞质内颗粒增多, 出现粒细胞形态特征(图8), 表明过表达 *GADD45g* 促进 AML 细胞分化。

检测 AML 细胞对化疗药物的敏感性结果显示, 加入不同浓度梯度的化疗药物 DNR 及 VP-16 使过表达 *GADD45g* 的 U937、THP-1 细胞凋亡比例显著高于感染空载体的对照组 ($P < 0.01$) (图9), 提示过表达 *GADD45g* 使 AML 白血病细胞对化疗药物致凋亡敏感性增强。

3 讨论

AML 是一种异质性的克隆性造血干/祖细胞疾病^[14], 分类多样, 发病机理与多种因素相关, 其中癌基因、抑癌基因的表达异常与白血病发生和演变有着密切关系^[15-17]。AML 严重威胁人类生命健康, 目前治疗选择性有限, 总体预后仍然较差, 对复发性 AML 更缺乏有效的治疗措施^[18]。因此, 更深入地了解 AML 的发病机制, 发现新的 AML 抑癌基因, 将为 AML 的

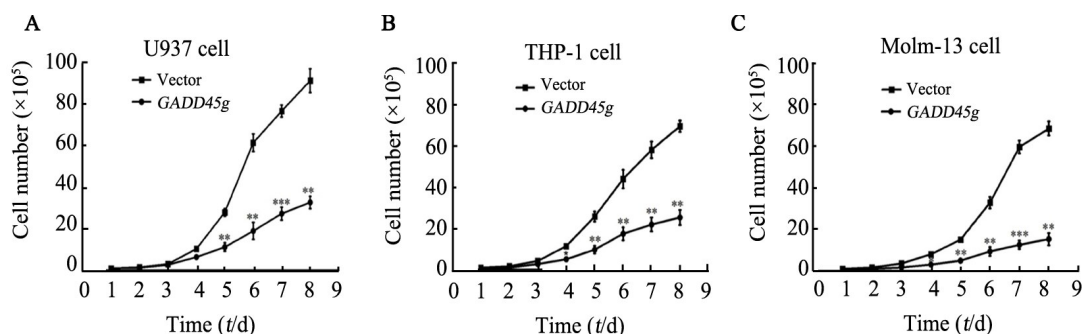
诊断、预后以及新药的研发提供新思路^[18-20]。



Kaplan-Meier plots of OS (A, B) and EFS (C) in patients with AML in two gene expression datasets, GSE10358 and GSE425-GPL317

图2 *GADD45g*低表达与AML患者预后不良相关

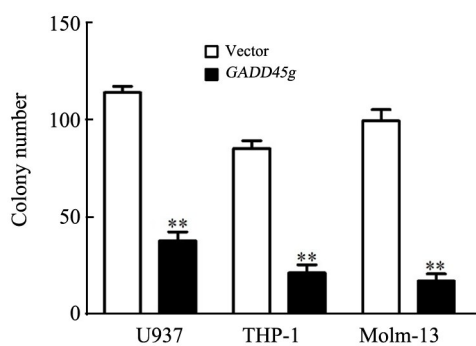
Fig. 2 The down-regulated expression of *GADD45g* correlated with shorter OS and EFS in patients with AML



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Vector group

图3 过表达 *GADD45g* 抑制U937、THP-1及Molm-13细胞增殖

Fig. 3 Overexpression of *GADD45g* inhibited cell proliferation of U937, THP-1 and Molm-13 cells



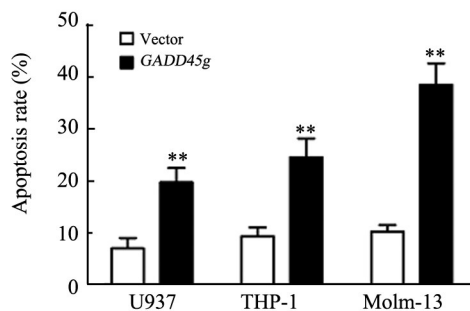
** $P < 0.01$ vs Vector group

图4 过表达 *GADD45g* 抑制U937、THP-1及Molm-13细胞集落形成

Fig. 4 Overexpression of *GADD45g* impaired colony formation of U937, THP-1 and Molm-13 cells

造血干细胞的自我更新能力和分化特性必须严格保持微妙的平衡以维持造血稳态,防止造血衰竭或白血病的发生。有研究^[21]表明,在促进造血分化的细胞因子受体信号的影响下,*GADD45g*能快速的介导和促进造血干细胞分化,相反,在*GADD45g*沉默时,造血干细胞的自我更新能力增强。*GADD45g*

与肿瘤发生发展、耐药和预后不良有关,在淋巴瘤和多种实体瘤中的表达明显下调,发挥抑癌基因作用^[3-12]。然而,到目前为止*GADD45g*在白血病细胞中的表达情况、在白血病中的作用尚无报道。



** $P < 0.01$ vs Vector group

图5 过表达 *GADD45g* 促进U937、THP-1及Molm-13细胞凋亡

Fig. 5 Overexpression of *GADD45g* promoted cell apoptosis in U937, THP-1 and Molm-13 cells

本研究首次发现,与正常人骨髓单个核细胞相

比, *GADD45g* 在 AML 患者骨髓组织和细胞系中均显著低表达。低表达 *GADD45g* 与 AML 患者预后不良有关, 可作为潜在的 AML 预后判断指标。以上结果提示 *GADD45g* 可能在 AML 中起重要作用。在 AML 细胞系 U937、THP-1 和 Molm-13 中异位过表达 *GADD45g* 后, 明显抑制 U937、THP-1 和 Molm-13 细胞增殖、集落形成, 显著诱导 U937、THP-1 和 Molm-13 细胞凋亡、衰老和分化, 增加 AML 细胞对化疗药物致凋亡的敏感性, 诱发细胞周期阻滞, 证实 *GADD45g* 高表达不利于 AML 细胞的增殖、存活, 在 AML 中发挥抑癌基因作用。

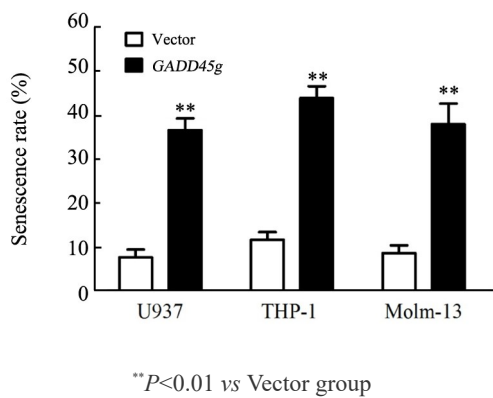


图6 过表达 *GADD45g* 促进 U937、THP-1 及 Molm-13 细胞衰老

Fig. 6 Overexpression of *GADD45g* promoted cell senescence in U937, THP-1 and Molm-13 cells

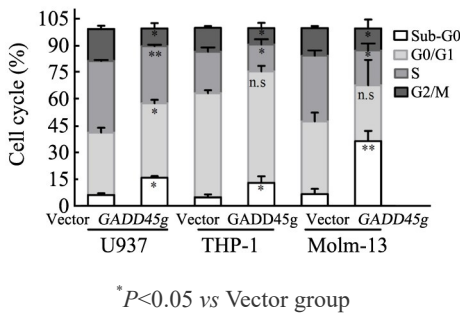


图7 过表达 *GADD45g* 诱导 U937、THP-1 及 Molm-13 细胞周期阻滞

Fig. 7 Overexpression of *GADD45g* induced cell cycle arrest in U937, THP-1 and Molm-13 cells

综上, 本研究证实 *GADD45g* 在 AML 中低表达, 与患者预后不良有关, 上调 *GADD45g* 的表达具有显著的抗 AML 作用, *GADD45g* 是新的 AML 抑癌基因。本研究拟进一步深入探索 *GADD45g* 的作用机制, 以及在 AML 中 *GADD45g* 低表的分子机制, 为深入阐明 AML 的发病机制提供新线索, 为抗白血病新药的研发提供新思路。

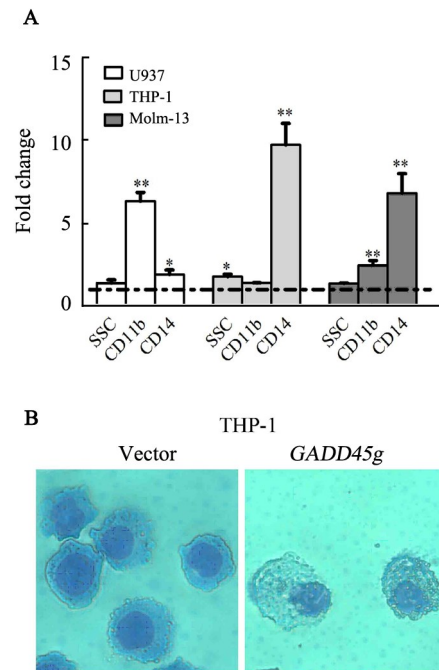


图8 *GADD45g* 过表达诱导 U937、THP-1 及 Molm-13 细胞分化

Fig. 8 *GADD45g* overexpression induced cell differentiation in U937, THP-1 and Molm-13 cells

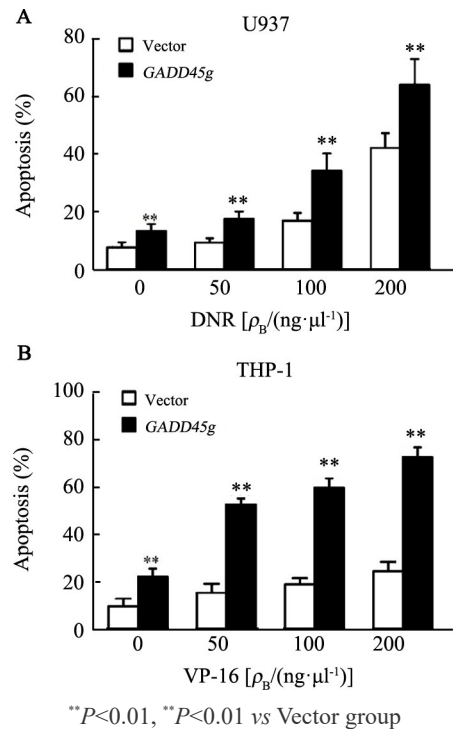


图9 过表达 *GADD45g* 增加 U937 和 THP-1 细胞对化疗药物致凋亡的敏感性

Fig. 9 *GADD45g* over-expression enhanced the apoptosis-inducing sensitivity of U937 and THP-1 cells to chemotherapy drugs

[参 考 文 献]

- [1] ZHANG W, BAE I, KRISHNARAJU K, et al. CR6: a third member in the MyD118 and Gadd45 gene family which functions in negative growth control[J]. *Oncogene*, 1999, 18(35): 4899-4907. DOI: 10.1038/sj.onc.1202885.
- [2] LIEBERMANN D A, TRONT J S, SHA X, et al. Gadd45 stress sensors in malignancy and leukemia[J]. *Crit Rev Oncog*, 2011, 16(1/2): 129-140. DOI: 10.1615/critrevoncog.v16.i1-2.120.
- [3] YING J, SRIVASTAVA G, HSIEH W S, et al. The stress-responsive gene GADD45g is a functional tumor suppressor, with its response to environmental stresses frequently disrupted epigenetically in multiple tumors[J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(18): 6442-6449. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0267.
- [4] LIEBERMANN D A, HOFFMAN B. Myeloid differentiation (MyD)/growth arrest DNA damage (GADD) genes in tumor suppression, immunity and inflammation[J]. *Leukemia*, 2002, 16(4): 527-541. DOI: 10.1038/sj.leu.2402477.
- [5] BARIŞ İ C, CANER V, ŞEN TÜRK N, et al. Possible role of GADD45g methylation in diffuse large B-cell lymphoma: does it affect the progression and tissue involvement?[J]. *Turk J Haematol*, 2015, 32(4): 295-303. DOI: 10.4274/tjh.2014.0174.
- [6] HUNG C M, CHANG C C, LIN C W, et al. GADD45g induces G2/M arrest in human pharynx and nasopharyngeal carcinoma cells by cucurbitacin E[J/OL]. *Sci Rep*, 2014, 4: 6454[2017-11-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4171705/>. DOI: 10.1038/srep06454.
- [7] JINAWATH N, VASOONTARA C, YAP K L, et al. NAC-1, a potential stem cell pluripotency factor, contributes to paclitaxel resistance in ovarian cancer through inactivating Gadd45 pathway[J]. *Oncogene*, 2009, 28(18): 1941-1948. DOI: 10.1038/onc.2009.37.
- [8] GUO W, ZHU T, DONG Z, et al. Decreased expression and aberrant methylation of Gadd45G is associated with tumor progression and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Clin Exp Metastasis*, 2013, 30(8): 977-992. DOI: 10.1007/s10585-013-9597-2.
- [9] NA Y K, LEE S M, HONG H S, et al. Hypermethylation of growth arrest DNA-damage-inducible gene 45 in non-small cell lung cancer and its relationship with clinical pathologic features[J]. *Mol Cells*, 2010, 30(1): 89-92. DOI: 10.1007/s10059-010-0092-1.
- [10] OU D L, SHYUE S K, LIN L I, et al. Growth arrest DNA damage-inducible gene 45 gamma expression as a prognostic and predictive biomarker in hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(29): 27953-27965. DOI: 10.18632/oncotarget.4446.
- [11] ZHANG L, YANG Z, MA A, et al. Growth arrest and DNA damage 45G down-regulation contributes to Janus kinase/signal transducer and activator of transcription 3 activation and cellular senescence evasion in hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2014, 59(1): 178-189. DOI: 10.1002/hep.26628.
- [12] TAMURA R E, DE VASCONCELLOS J F, SARKAR D, et al. GADD45g proteins: central players in tumorigenesis[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(5): 634-651. DOI: 10.2174/156652412800619978.
- [13] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 第3版. 北京: 科学出版社. 2007: 103-138.
- [14] DE KOUCHKOVSKY I, ABDUL-HAY M. Acute myeloid leukemia: a comprehensive review and 2016 update[J/OL]. *Blood Cancer J*, 2016, 6(7): e441[2017-11-15]. <https://www.nature.com/articles/bcj201650>. DOI: 10.1038/bcj.2016.50.
- [15] SHLUSH L I, MITCHELL A. AML evolution from preleukemia to leukemia and relapse[J]. *Best Pract Res Clin Haematol*, 2015, 28(2/3): 81-89. DOI: 10.1016/j.beha.2015.10.004.
- [16] PAPAEMMANUIL E, GERSTUNG M, BULLINGER L, et al. Clonal architecture of secondary acute myeloid leukemia[J]. *N Engl J Med*, 2016, 374(23): 2209-2221. DOI: 10.1056/NEJMoa1516192.
- [17] AN M, SNYDER T M, CORCES-ZIMMERMAN M R, et al. Clonal evolution of preleukemic hematopoietic stem cells precedes human acute myeloid leukemia[J]. *Sci Transl Med*, 2012, 4(149): 149ra118. DOI: 10.1126/scitranslmed.3004315.
- [18] AZIZ H, PING CY, ALIAS, et al. Gene mutations as emerging biomarkers and therapeutic targets for relapsed acute myeloid leukemia[J/OL]. *Front Pharmacol*, 2017, 8: 897[2017-11-15]. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2017.00897/full>. DOI: 10.3389/fphar.2017.00897.
- [19] JIA M, ZHU M, ZHOU F, et al. Genetic variants of JNK and p38 α pathways and risk of non-small cell lung cancer in an Eastern Chinese population[J]. *Int J Cancer*, 140(4): 807-817. DOI: 10.1002/ijc.30508.
- [20] XU G, ZHANG L, MA A, et al. SIP1 is a downstream effector of GADD45gG in senescence induction and growth inhibition of liver tumor cells[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(32): 33636-33647. DOI: 10.18632/oncotarget.5602.
- [21] THALHEIMER F B, WINGERT S, DE GIACOMO P, et al. Cytokine-regulated GADD45gG induces differentiation and lineage selection in hematopoietic stem cells[J]. *Stem Cell Reports*, 2014, 3(1): 34-43. DOI: 10.1016/j.stemcr.2014.05.010. eCollection 2014 Jul 8.

[收稿日期] 2017-12-19

[修回日期] 2018-02-24

[本文编辑] 黄静怡