

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.10.008

· 基础研究 ·

过表达 *RFX1* 对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响

程凯^a, 张亚萍^b, 曹丽^b, 张晓延^c (山西医科大学汾阳学院 a. 生物化学教研室; b. 科技中心; c. 病原生物学教研室, 山西 汾阳 032200)

[摘要] **目的:**探讨过表达调节因子X1基因(regulatory factor X1, *RFX1*)对神经胶质瘤细胞株F98细胞增殖和侵袭能力的影响及其作用机制。**方法:**用慢病毒转染法将*RFX1*转染到F98细胞,构建过表达*RFX1*的F98细胞株(F98-RFX1组),同时设立空质粒对照组(F98-Vector组)和正常培养组(F98组)。用计数法观察过表达*RFX1*对各组F98细胞增殖的影响,用AnnexinV/PI染色法流式细胞术检测过表达*RFX1*对F98细胞凋亡的影响,用Transwell小室法检测过表达*RFX1*对F98细胞侵袭能力的影响。**结果:**成功建立过表达*RFX1*胶质瘤F98细胞株。过表达*RFX1*组胶质瘤F98细胞的增殖能力显著低于F98组[48 h: $(12.08 \pm 2.17) \times 10^4/\text{ml}$ vs $(23.67 \pm 4.51) \times 10^4/\text{ml}$, $P < 0.05$]和F98-Vector组[96 h: $(8.17 \pm 0.31) \times 10^4/\text{ml}$ vs $(18.58 \pm 1.18) \times 10^4/\text{ml}$; $P < 0.05$];过表达*RFX1*组细胞的凋亡水平明显上升[$(21.89 \pm 2.33)\%$ vs $(3.38 \pm 1.39)\%$ 、 $(10.42 \pm 1.83)\%$, $P < 0.05$];过表达*RFX1*组细胞侵袭能力显著下降[(33.3 ± 7.99) vs (56.5 ± 13.9) 、 (60.6 ± 11.8) 个, $P < 0.01$]。**结论:***RFX1*可以调控增殖和侵袭相关基因的表达,进而抑制胶质瘤细胞的增殖和侵袭能力、促进细胞凋亡。

[关键词] 恶性胶质瘤; F98细胞; 调节因子X1(*RFX1*); 增殖; 侵袭; 凋亡

[中图分类号] R737.25; R730.54 [文献标识码] A [文章编号] 1007-385X(2018)10-1021-05

Effects of *RFX1* over-expression on proliferation and invasion of glioma cells

CHENG Kai^a, ZHANG Yaping^b, CAO Li^b, ZHANG Xiaoyan^c (a. Department of Biochemistry; b. Science and Technology Center; c. Department of Pathogenic Biology, Fenyang College of Shanxi Medical University, Fenyang 032200, Shanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To validate the effect and the possible mechanism of human regulatory factor X1 (*RFX1*) over-expression on the proliferation and invasion of glioma F98 cells. **Methods:** *RFX1*-overexpressed F98 cells (F98-RFX1 group) were constructed by lentivirus transfection, a control group (F98-Vector group) and normal group (F98 group) were established. The effect of *RFX1* over-expression on F98 cell proliferation was observed with counting method, cell apoptosis was determined by AnnexinV-PI staining, and the cell invasion was observed with Transwell method. **Results:** F98 cell line over-expressing *RFX1* was successfully established. The proliferation capacity of F98-RFX1 group was significantly lower than that of F98 group (48 h: $[12.08 \pm 2.17] \times 10^4/\text{ml}$ vs $[23.67 \pm 4.51] \times 10^4/\text{ml}$, $P < 0.05$) and F98-Vector group (96 h: $[8.17 \pm 0.31] \times 10^4/\text{ml}$ vs $[18.58 \pm 1.18] \times 10^4/\text{ml}$, $P < 0.05$); The apoptosis level of cells in F98-RFX1 group was significantly increased ($[21.89 \pm 2.33]\%$ vs $[3.38 \pm 1.39]\%$, $[10.42 \pm 1.83]\%$, $P < 0.05$); The invasiveness of cells in F98-RFX1 group was significantly reduced ($[33.3 \pm 7.99]$ vs $[56.5 \pm 13.9]$, $[60.6 \pm 11.8]$, $P < 0.01$). **Conclusion:** *RFX1* can regulate the expression of genes related with proliferation and invasion, thereby inhibiting the proliferation and invasion ability of glioma cells and promote cell apoptosis.

[Key words] malignant glioma; F98 cell line; regulatory factor X1 (*RFX1*); proliferation; invasion; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(10): 1021-1025. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.10.008]

恶性胶质瘤(malignant glioma)是临床上常见的神经系统肿瘤,因其恶性程度高、侵袭性强,目前已位居神经系统致死性疾病的首位^[1-2]。对于恶性胶质瘤的治疗,常规手段仍然是手术加放疗和化疗,但是对于高级别肿瘤并不能增加患者的生存期,因此寻找到一个治疗靶点实施靶向生物治疗应该成为未来胶质瘤治疗的研究方向。调节因子X(regulatory factor X, RFX)是一类可以结合在顺式作用元件X盒(x-box)、功能上保守的蛋白质家族。RFX1是其中最先

被发现,其一级结构包含76个高度保守的氨基酸,构

[基金项目] 山西医科大学汾阳学院科技发展基金资助项目(No. 2016B05)。Project supported by the Science and Technology Development Foundation of Fenyang College of Shanxi Medical University (No. 2016B05)

[作者简介] 程凯(1977-),男,硕士,讲师,主要从事肿瘤及病毒免疫的研究,E-mail:cckk_2000@163.com

[通信作者] 张晓延(ZHANG Xiaoyan, corresponding author),博士,副教授,硕士生导师,主要从事病毒免疫逃逸及肿瘤生物治疗研究,E-mail:931326464@qq.com

象上呈翼状螺旋(winged helix)^[3]。目前RFX1的功能尚未明了。有研究^[4]证实,RFX1在正常哺乳动物从胚胎期到成年期脑内持续高表达,但是在胶质瘤中低表达。通过化疗药物5-氮杂胞苷和曲古抑菌素A(trichostatinA, TSA)联合治疗后,胶质瘤细胞中RFX1表达水平明显上调。上述现象说明,RFX1的表达下调有可能是恶性胶质瘤发病的重要原因之一。本课题组前期已经成功构建了RFX1慢病毒载体^[5],因此本研究拟通过过表达RFX1来观察对胶质瘤细胞增殖、侵袭能力的影响,旨在探讨RFX1是否可以作为治疗恶性胶质瘤的一个新靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞株、主要试剂及仪器

大鼠胶质瘤细胞株F98和人胚肾细胞株293T购于ATCC公司。DMEM高糖培养基购自Hyclone公司,胎牛血清购自Gibco公司,AnnexinV-FITC试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,Transwell小室购自美国Corning公司,限制性核酸内切酶Bam HI、Not I和T4连接酶购自Thermo公司,Matrigel购自美国BD公司,RFX1抗体购自美国Sigma公司,荧光二抗购自北京中杉金桥公司,慢病毒质粒pITA及包装质粒pSPAX2和pMD2.G由北京大学医学部生化系惠赠。细胞培养箱购自美国Thermo公司,流式细胞仪购自美国BD公司,倒置荧光显微镜和激光共聚焦显微镜购自日本奥林巴斯公司。

1.2 细胞培养

复苏大鼠胶质瘤细胞株F98,用含10%胎牛血清、100 U/ml的青霉素和100 μg/ml链霉素的DMEM高糖培养基培养,每2 d细胞换液一次,长满培养皿后传代,以 1×10^6 细胞/孔密度接种于6孔板,于37℃、5%CO₂、饱和湿度的培养箱中过夜。

1.3 慢病毒包装过表达RFX1的胶质瘤细胞株

构建RFX1慢病毒质粒,接种293T细胞,按pITA:pSPAX2:pMD2.G=1:3:2的比例将慢病毒质粒和包装质粒与转染试剂混匀制备工作液,逐滴加入培养皿,培养6~8 h后换液,36和72 h收取病毒上清,以 $1200 \times g$ 离心10 min,过0.45 μm滤器,直接感染F98细胞,每皿细胞感染2次,感染48 h后观察荧光情况,72 h后用嘌呤霉素筛选稳定株,同时感染空质粒(F98-Vector)和正常培养F98细胞作对照。通过荧光显微镜观察转染效率。

1.4 激光共聚焦显微镜检测胶质瘤F98细胞RFX1的表达

取F98-RFX1、F98-Vector和F98三组细胞爬片,用PBS温和洗3次×3 min,4%多聚甲醛固定30 min,

PBS温和洗3次×3 min,0.3% triton破膜20 min,PBS洗3次×3 min,10%脱脂奶粉封闭1 h,RFX1一抗4℃孵育过夜,PBS洗3次×3 min,FITC荧光标记二抗及荧光染料Hoechst33342孵育1 h,PBS洗3次×3 min,石蜡封片,激光共聚焦显微镜下观察并照相。

1.5 计数法观察胶质瘤F98细胞的增殖

将F98-RFX1、F98-Vector和F98三组细胞分别按 1×10^3 个细胞/孔接种于96孔板,于37℃、5%CO₂恒湿培养箱中常规培养。计数前,用无水乙醇擦拭细胞计数板和盖玻片,消化细胞制备单细胞悬液,从边缘缓缓加入,按规则统计0、24、48、72、96、120、144 h不同时间点四角大方格内细胞数,每个时间点做6个复孔,每个时间点取均数做统计分析。

1.6 AnnexinV/PI染色流式细胞术检测胶质瘤F98细胞的凋亡

调整3组细胞密度为 1×10^6 /ml,胰酶消化, $200 \times g$ 离心5 min,195 μl结合缓冲液重悬,加5 μl AnnexinV-FITC液,混匀后加入10 μl PI,混匀、室温下避光15 min,上流式细胞仪检测。实验重复3次。

1.7 Transwell小室法检测胶质瘤F98细胞的迁移

参考文献[6-7]的方法,用Matrigel胶稀释包被Transwell小室底部膜上部,4℃风干,下室铺纤维黏连蛋白(fibronectin, FN),水化基底膜30 min。小室置于24孔板,小室外加400 μl培养基,小室内加100 μl细胞悬液(细胞密度 1×10^5 /小室),每组4个重复,培养48 h后取出,棉签擦去上层细胞,95%乙醇固定,入4 g/L锥虫蓝染色,光镜下(×40)观察、计数,每个样本计数10个视野,统计穿膜细胞数。实验重复3次。

1.8 统计学处理

采用SPSS 22.0软件对数据进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用t检验,多组间比较采用卡方检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

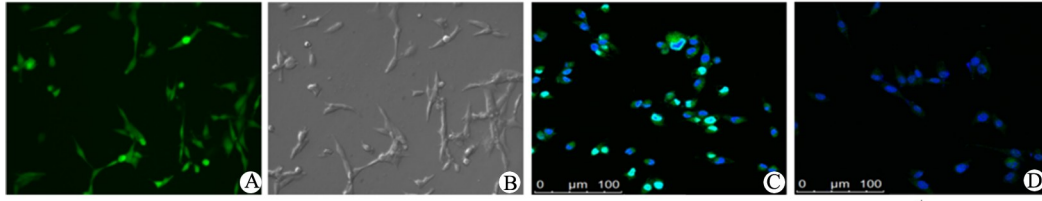
2.1 成功构建过表达RFX1的胶质瘤F98细胞株

课题组前期研究^[5]构建慢病毒载体成功并顺利转染。慢病毒载体可以将RFX1携带进入F98细胞,并在细胞内持续表达,观察到通过载体上携带的绿色荧光蛋白。在荧光倒置显微镜下大部分细胞在都发出绿色荧光(图1A、B)。同时,激光共聚焦显微镜下也可以观察到在F98-RFX1组细胞核内有明显的RFX1表达(图1C),基本上表达在细胞核内,与之相反的F98细胞组没有荧光(图1D)。实验结果表明,成功建立过表达RFX1胶质瘤F98细胞株。

2.2 过表达 *RFX1* 显著降低 F98 细胞的增殖能力

计数法统计结果(图2)显示, F98-*RFX1* 细胞增殖曲线平滑, 从 48 h 开始与 F98 组比较差异有统计学意义 $[(8.17 \pm 0.31) \times 10^4/\text{ml}$ vs $(18.58 \pm 1.18) \times 10^4/\text{ml}$, $t=8.801$, $P<0.05$]; 96 h 时 F98-*RFX1* 增殖速度明显慢

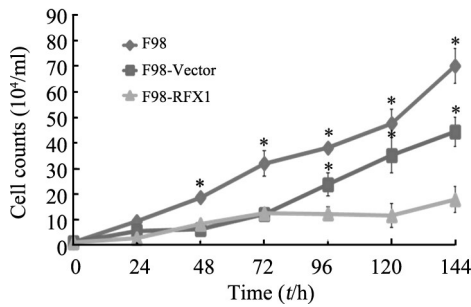
于 F98-Vector 细胞 $[(12.08 \pm 2.17) \times 10^4/\text{ml}$ vs $(23.67 \pm 4.51) \times 10^4/\text{ml}$, $t=14.615$, $P<0.05$]。实验结果表明, 过表达 *RFX1* 可以明显降低胶质瘤 F98 细胞的增殖能力; 在细胞培养过程中也发现, F98-*RFX1* 组细胞的传代时间明显长于另外两组细胞。



A: Expressing of GFP in cells of F98-*RFX1* group; B: Cells in bright field in the same view of F98-*RFX1* group; C, D: Co-localization of *RFX1* (green) and Hoechst33342 (blue) in F98-*RFX1* group (C) and F98 group (D)

图1 荧光显微镜和激光共聚焦显微镜示 F98 细胞过表达 *RFX1* ($\times 200$)

Fig. 1 Over-expression of *RFX1* in F98 cells observed with fluorescence and laser confocal microscopy ($\times 200$)



* $P<0.05$ vs F98 or F98-Vector group

图2 计数法示 3 组胶质瘤细胞的增殖

Fig. 2 Proliferation of glioma cells in three groups by cell counting

2.3 过表达 *RFX1* 促进 F98 细胞的凋亡

流式细胞术检测结果(图3)显示, 胶质瘤 F98-*RFX1* 组细胞的凋亡率明显高于 F98 组和 F98-Vector 组细胞 $[(21.89 \pm 2.33)\%$ vs $(3.38 \pm 1.39)\%$ 、 $(10.42 \pm 1.83)\%$, $\chi^2=16.79$, $P<0.05$]。实验结果说明, *RFX1* 表达水平上调有可能影响胶质瘤细胞凋亡信号通路, 使细胞的凋亡率增加。

2.4 过表达 *RFX1* 降低 F98 细胞的侵袭能力

Transwell 小室法检测结果(图4)表明, 过表达 *RFX1* 后, F98-*RFX1* 组细胞穿膜细胞数明显少于 F98 和 F98-Vector 组 $[(33.3 \pm 7.99)$ vs (56.5 ± 13.9) 、 (60.6 ± 11.8) 个, $t=4.089$, 6.104 ; 均 $P<0.01$]。结果说明, 过表达 *RFX1* 使胶质瘤 F98 细胞的侵袭能力降低。

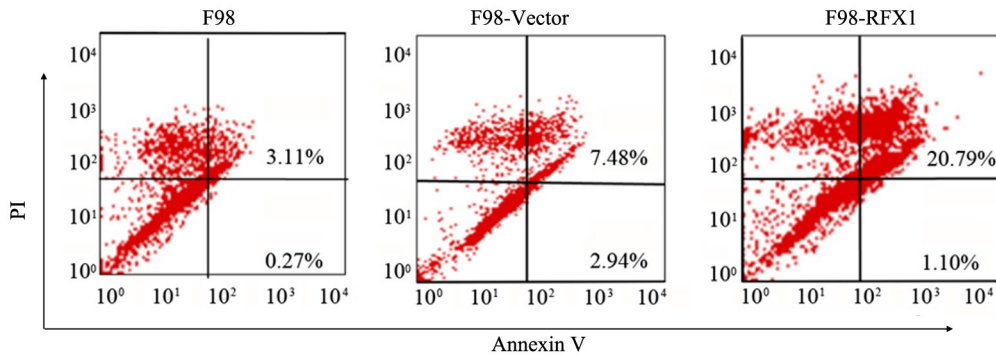


图3 流式细胞术示 3 组胶质瘤细胞的凋亡

Fig. 3 Apoptosis of glioma cells in three groups by flow cytometry

3 讨论

恶性胶质瘤是最常见的神经系统恶性肿瘤, 其

致死率居神经系统首位^[1,8]。根据 WHO 的建议, 胶质瘤一般分为 4 型, 其中 I ~ II 型预后较好, 但是 III 型以上经手术和放化疗等联合治疗后病死率仍然很高,

患者半年生存率不足 1/3^[2]。能否找到一种靶向性好、创伤性小的生物治疗手段已经成为神经外科和

肿瘤科医生及科研工作者的研究重点。

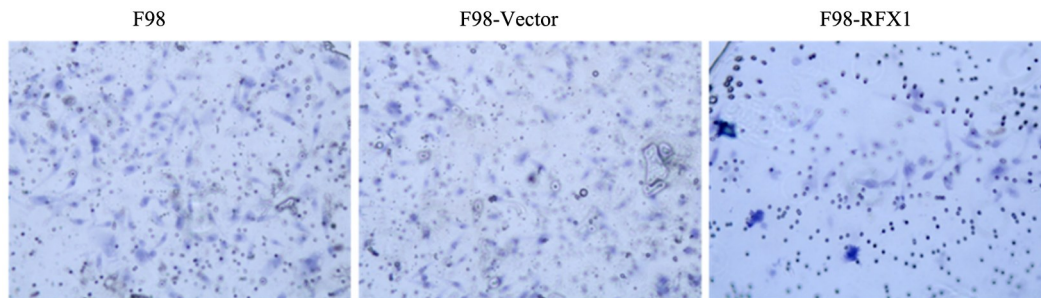


图 4 3组胶质瘤细胞侵袭能力的比较(锥虫蓝染色, ×40)

Fig. 4 Comparison of invasiveness of glioma cells in three groups(Trypan blue staining, ×40)

RFX 是广泛存在于生物体内的一大类保守的蛋白质^[9], 目前已经发现有 7 种, 分别命名 RFX1~7, 它们共同特征是结构包含 76 个高度保守的氨基酸, 构象上呈翼状螺旋, 可以结合在 DNA 上的 X-box, 调控某些基因的表达^[10-12]。RFX1 是其中最早发现的, 功能尚不明确。但是有研究表明, RFX1 在秀丽隐杆线虫 (*C. Elegans*) 胚胎神经系统发育中起着重要的作用, 敲除 RFX1 后可以引起神经系统发育障碍和感觉缺失^[13]。而果蝇的 RFX 基因与感觉神经元的分化密切相关^[14]。RFX1 在人脑胶质细胞中持续表达, 而且表达量从胚胎到成年期均非常高。RFX1 主要在脑的浦肯野细胞和脑皮质中表达^[3], 也在小胶质细胞中表达^[14]。以上研究表明, RFX1 在从线虫、果蝇到人的神经系统发育和成熟过程中都起着非常重要的作用。综上所述, RFX1 在脑内高表达, 而且胶质细胞表达量也很高。

有研究^[4]发现, RFX1 在恶性胶质瘤几乎不表达, 但是在临床上经 5-氮杂胞苷和 TSA 联合治疗后, 胶质瘤细胞的 RFX1 表达水平明显上调。5-氮杂胞苷是甲基转移酶的抑制剂, TSA 是脱乙酰化的抑制剂, 说明某些位点 DNA 的甲基化和组蛋白的去乙酰化恰恰有可能是 RFX1 不表达的原因之一。过表达 RFX1 可以引起胶质瘤细胞增殖下降, 同时会引起 CD44 下调^[15], 从而影响胶质瘤细胞的侵袭性。RFX1 可以下调胶质瘤中 FGF1 的表达^[16], 对原癌基因 *c-myc* 的表达也有下调作用^[17]。CD44 是重要的细胞黏附分子, 主要参与肿瘤细胞与宿主细胞的黏附, 与肿瘤细胞恶性程度相关。在胶质瘤细胞中, CD44 与肿瘤细胞的侵袭能力密切相关, 过表达 RFX1 可以降低 CD44 分子的表达使胶质瘤细胞恶性程度下降, 侵袭能力丧失^[15,18]。最近研究^[19-20]表明, RFX1 的表达与乳腺癌的预后直接关系同时也与乙肝病毒的激活密切相

关。上述研究充分说明, RFX1 本身就是肿瘤发病和治疗的一个关键靶点, 如果能从此方面着手对胶质瘤进行生物治疗, 有可能收到手术、放疗、化疗都不能比拟的治疗效果。

从本实验结果可以看出, 在过表达 RFX1 后 F98 细胞增殖曲线平缓, 明显区别于正常组和空载体组, 说明 RFX1 可以引起胶质瘤细胞增殖速度变慢, 而 RFX1 作为一个 DNA 结合蛋白, 主要在细胞核内表达, 可能通过与 DNA 的结合作用对胶质瘤细胞的增殖产生明显的抑制作用。这种抑制作用有可能是通过抑制与增殖密切相关相关的蛋白质 *c-myc*^[17]、PCNA^[21]、FGF1 等有关。F98-RFX1 细胞凋亡水平也比正常培养的 F98 细胞高很多, 同时侵袭能力也明显下降, 这些结果表明上调 RFX1 的表达水平能够明显降低胶质瘤细胞的恶性程度, 使肿瘤细胞增殖活力丧失、凋亡增多、侵袭能力下降, 说明 RFX1 有可能是治疗胶质瘤的一个新的靶点。下一步, 课题组将对 RFX1 对胶质瘤细胞作用的分子机制进行深入探讨。

[参考文献]

- [1] INFANGER D W, CHO Y, LOPEZ B S, et al. Glioblastoma stem cells are regulated by interleukin-8 signaling in a tumoral perivascular niche[J/OL]. *Cancer Res*, 2013, 73(23): 7079-7089[2018-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3880850/>. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-13-1355.
- [2] RICHICHI C, BRESCIA P, ALBERIZZI V, et al. Marker-independent method for isolating slow-dividing cancer stem cells in human glioblastoma[J]. *Neoplasia*, 2013, 15(7): 840-847. DOI: 10.1593/neo.13662.
- [3] AFTAB S, SEMENEC L, CHU J S, et al. Identification and characterization of novel human tissue-specific RFX transcription factors[J/OL]. *BMC Evol Biol*, 2008, 8: 226[2018-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2533330/>. DOI: 10.1186/1471-2148-8-226.

- [4] OHASHI Y, UEDA M, KAWASE T, et al. Identification of an epigenetically silenced gene, RFX1, in human glioma cells using restriction landmark genomic scanning[J]. *Oncogene*, 2004, 23(47): 7772-7779. DOI: 10.1038/sj.onc.1208058.
- [5] 程凯, 孙浩杰, 张明智, 等. 慢病毒介导的调节因子 X1 过表达及其对胶质瘤细胞增殖的抑制作用[J]. *中南大学学报(医学版)*, 2016, 41(11): 1117-1123. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2016.11.001.
- [6] 赵树鹏, 靳彩玲, 高国军, 等. 槐定碱对神经胶质瘤 U87 细胞增殖、侵袭及相关信号通路的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2016, 23(3): 360-365. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2016.03.011.
- [7] 王维, 张路阳, 张东勇, 等. 锌转运体 1 基因在脑胶质瘤组织中的表达及其对 U87 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(4): 346-350. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.04.005.
- [8] SUGIAMAN-TRAPMAN D, VITEZIC M, JOUHILAHTI E M, et al. Characterization of the human RFX transcription factor family by regulatory and target gene analysis[J/OL]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 181[2018-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5838959/>. DOI: 10.1186/s12864-018-4564-6.
- [9] DIOTALLEVI A, DE SANTI M, BUFFI G, et al. Leishmania infection induces microRNA hsa-miR-346 in human cell line-derived macrophages[J/OL]. *Front Microbiol*, 2018, 9: 1019[2018-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5966562/>. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01019.
- [10] FENG C, XU W, ZUO Z. Knockout of the regulatory factor X1 gene leads to early embryonic lethality[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009, 386(4): 715-717. DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.06.111.
- [11] REITH W, UCLA C, BARRAS E, et al. RFX1, a transactivator of hepatitis B virus enhancer I, belongs to a novel family of homodimeric and heterodimeric DNA-binding proteins[J]. *Mol Cell Biol*, 1994, 14(2): 1230-1244.
- [12] LIU X J, ZHAO Z H, LIU X M. Prediction of regulatory factor X1 binding sites in promoters of RNA-binding proteins genes in mouse brain[J]. *Arch Iran Med*, 2013, 16(7): 390-396. DOI: 013167/AIM.006.
- [13] SWOBODA P, ADLER H T, THOMAS J H. The RFX-type transcription factor DAF-19 regulates sensory neuron cilium formation in *C.elegans*[J]. *Mol Cell*, 2000, 5(3): 411-421.
- [14] FENG C, LI J, ZUO Z. Expression of the transcription factor regulatory factor X1 in the mouse brain[J/OL]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2011, 49(2): 344-351[2018-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3220163/>.
- [15] FENG C, ZHANG Y, YIN J, et al. Regulatory factor X1 is a new tumor suppressive transcription factor that acts via direct downregulation of CD44 in glioblastoma[J/OL]. *Neuro Oncol*, 2014, 16(8): 1078-1085[2018-05-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4096175/>. DOI: 10.1093/neuonc/nou010.
- [16] FENG C, ZUO Z. Regulatory factor X1-induced down-regulation of transforming growth factor beta2 transcription in human neuroblastoma cells[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(27): 22730-22739. DOI: 10.1074/jbc.M111.338590.
- [17] CHEN L, SMITH L, JOHNSON M R, et al. Activation of protein kinase C induces nuclear translocation of RFX1 and down-regulates c-myc via an intron 1 X box in undifferentiated leukemia HL-60 cells[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(41): 32227-32233. DOI: 10.1074/jbc.M002645200.
- [18] SUN H, ZHANG M, CHENG K, et al. Resistance of glioma cells to nutrient-deprived microenvironment can be enhanced by CD133-mediated autophagy[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(46): 76238-76249. DOI: 10.18632/oncotarget.12803.
- [19] SHIBATA M, KANDA M, SHIMIZU D, et al. Expression of regulatory factor X1 can predict the prognosis of breast cancer[J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(6): 4334-43340. DOI: 10.3892/ol.2017.6005.
- [20] WANG J, JIA J, CHEN R, et al. RFX1 participates in doxorubicin-induced hepatitis B virus reactivation [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(5): 2021-2033. DOI: 10.1002/cam4.1468.
- [21] DE CHIARA A, PEDERZOLI-RIBEIL M, MOCEK J, et al. Characterization of cytosolic proliferating cell nuclear antigen (PCNA) in neutrophils: antiapoptotic role of the monomer[J]. *J Leukoc Biol*, 2013, 94(4): 723-731. DOI: 10.1189/jlb.1212637.

[收稿日期] 2018-05-12 [修回日期] 2018-07-24

[本文编辑] 党瑞山