

· 论 著 ·

JAB1 对缺氧环境肺癌 A549 细胞化疗敏感性调控的研究*

胡明冬¹, 徐剑铖^{1△}, 杨 昱¹, 徐 静¹, 周长喜², 毛 梅³, 王 艺¹

(1. 第三军医大学新桥医院全军呼吸内科研究所, 重庆 400037; 2. 解放军总医院南楼呼吸内科, 北京 100039; 3. 广州军区武汉总医院呼吸内科, 武汉 430061)

摘要:目的 观察导入 pcDNA3.1-HRE-JAB1 真核表达质粒的肺癌 A549 细胞, 在低氧环境下对健择(Gemzar)的化疗敏感性, 以期找到一种提高肺癌化疗敏感性的方法。方法 首先构建缺氧反应元件启动的 pcDNA3.1-HRE-JAB1 真核表达质粒, 鉴定后将该质粒导入肺癌 A549 细胞。在低氧环境培养过程中加入化疗药物 Gemzar, 观察空白组(A549)、空载体组(A549+pcDNA3.1-HRE)和质粒组(A549+pcDNA3.1-HRE-JAB1)肺癌 A549 细胞对 Gemzar 的敏感性。采用 Real-time PCR 和 Western blot 分别检测各组肺癌 A549 细胞中 JAB1 的 mRNA 和蛋白表达水平; 流式细胞术检测各组肺癌 A549 细胞周期分布和凋亡情况。结果 通过双酶切鉴定, 确定构建获得了 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒。在有化疗药物 Gemzar 的情况下, 质粒组分别与空白组或空载体组比较, 质粒组肺癌 A549 细胞中 JAB1 mRNA 和蛋白表达水平明显增加($P < 0.01$), 细胞凋亡率明显增加($P < 0.01$), 而细胞周期被明显阻滞于 G₁ 期($P < 0.01$)。结论 JAB1 在低氧环境下高表达提高了药物 Gemzar 化疗的敏感性, 这将可能成为一种理想的提高肺癌或其他实体恶性肿瘤化疗敏感性的手段。

关键词: A549 细胞; JAB1; 耐药; 健择; 化疗敏感性

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.23.001

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)23-2345-03

Investigation on human lung cancer cell A549 chemotherapeutic sensitivity regulated by JAB1 in anaerobic condition*

Hu Mingdong¹, Xu Jiancheng^{1△}, Yang Yu¹, Xu Jing¹, Zhou Changxi², Mao Mei³, Wang Yi¹

(1. Institute of Respiratory Diseases of PLA, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China;

2. Department of Respiratory Diseases, General Hospital of PLA, Beijing 100039, China;

3. Department of Respiratory Diseases, Wuhan General Hospital of Guangzhou Military Command, Wuhan 430061, China)

Abstract: Objective To find the way of improving the lung cancer chemotherapeutic sensitivity, we investigated whether the lung cancer A549 cells introduced eukaryotic expression plasmid pcDNA3.1-HRE-JAB1 plasmid have the chemotherapeutic sensitivity to Gemzar in anaerobic condition. **Methods** We first constructed an eukaryotic expression plasmid pcDNA3.1-HRE-JAB1 driven by hypoxia response elements promoter. Then, the plasmid was introduced into lung cancer cell line A549. After that, chemotherapeutic drug such as Gemzar was used to treat the A549 cells in anaerobic condition, and investigated that the normal control (A549), the empty vector group (A549+pcDNA3.1-HRE) and the plasmid group (A549+pcDNA3.1-HRE-JAB1) A549 cells had chemotherapeutic sensitivity. qRT-PCR and Western blot was used to assay the mRNA and protein level of JAB1. Cell cycle and apoptosis of A549 cells were also assayed according to flow cytometry. **Results** According to bi-enzyme digestion evaluation, obtained plasmid was pcDNA3.1-HRE-JAB1 plasmid. The results showed that JAB1 in the A549 was overexpressed after the transfection of pcDNA3.1-HRE-JAB1 compared with the normal control and the empty vector ($P < 0.01$). The cell proliferation was arrested at G₁ phase and the cell apoptosis was significantly enhanced after the transfection ($P < 0.01$). **Conclusion** JAB1 overexpression significantly increase sensitivity of lung cancer cells to the chemotherapeutic drug Gemzar in anaerobic condition, which might provide an efficient strategy of improving the chemotherapeutic sensitivity of lung cancer or the other cancers.

Key words: A549 cell; JAB1; drug resistance; Gemzar; chemotherapeutic sensitivity

在肿瘤中肺癌的发病率最高, 尽管采用了许多方法进行治疗, 患者的 5 年生存率仍只有 14% 左右^[1]。通常情况下, 肺癌细胞受到化疗药物作用后, 绝大部分细胞死亡或凋亡, 而小部分细胞由于缺氧, 无法启动细胞内部正常的凋亡程序, 仅出现亚致死损伤或潜在致死性损伤, 最终导致化疗不彻底并出现对化疗药物的抗性^[2], 所以, 采用各种方法促使这部分缺氧肺癌细胞的死亡是克服化疗耐药甚至彻底治愈肿瘤的重要策略。近年来, 随着对肿瘤乏氧区细胞特性的深入研究, 为改善乏氧细胞的耐药提供了可能的途径。在诸多方法中, 促凋亡基因的应用对促进肿瘤细胞的凋亡是一个极有前景的方法^[3]。因此, 本实验拟在低氧环境下培养肺癌 A549 细胞(模拟乏氧区癌细

胞), 导入含 JAB1 凋亡基因的质粒, 观察在化疗药物作用下化疗敏感性的变化, 以找到更好的治疗肺癌甚至其他肿瘤的方法。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞株 肺腺癌细胞株 A549, 由本实验室保存。

1.1.2 主要试剂 Taq 酶、DNaseI (RNase free, TaKaRa 公司); PCR 引物(上海英骏生物技术公司合成); 胎牛血清、胰蛋白酶、RNA 提取试剂 Tripure reagent (Roche 公司, 美国); M-MLV Reverse Transcriptase (Promega 公司); Gemzar (F. H. Faulding 公司, 澳大利亚); 阳离子脂质体 Lipofectamine™

2000(上海英骏生物技术公司)。

1.1.3 主要仪器 Bio-Rad 核酸蛋白测定仪;192 型 Sub-Cell 电泳槽和全自动凝胶成像系统(Bio-Rad 公司,美国);2720 型 PCR 仪(ABI 公司,美国);FACScan 型流式细胞仪(Becton Dickinson 公司,美国)。

1.2 实验方法

1.2.1 构建人 pcDNA3.1-HRE-JAB1 真核表达质粒 从基因库获得人 JAB1 基因序列,利用生物软件 Premier5.0 设计引物,通过 RT-PCR 获得人完整 JAB1 基因片断,利用酶切方法合成真核表达质粒 pcDNA3.1-JAB1,并经过测序鉴定,人工合成缺氧反应元件启动子(HIF-1/HRE)串联重复序列,利用酶切方法将串联重复系列插入到 pcDNA3.0 质粒 CMV 启动子上端,获得重组质粒 pcDNA3.1-HRE-JAB1,通过双酶切法进行鉴定。

1.2.2 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒转染、A549 细胞的厌氧培养^[4]及其 JAB1 基因 mRNA 表达水平的检测 细胞转染采用阳离子脂质体 Lipofectamine™ 2000。在转染前 1 d,将 A549 细胞置于 6 孔培养板中,当细胞铺满培养板的面积达 70%~80%时,即可进行转染。具体操作过程:首先,将 A549 细胞在含有质粒 pcDNA3.1-HRE-JAB1(1 ng)培养基中培养 10 h(质粒组);然后,将培养基更换为普通培养基培养 48 h。加入 400 μg/mL 遗传霉素 G418(Roche 公司,美国)培养 14 d 筛选阳性细胞。相应地,对照组细胞转染 pcDNA3.1-HRE 空载体(空载体组)。在一个缺氧手套盒(Coyleab, Grass Lake, 美国)中,将 A549 细胞暴露于缺氧环境(0.3% O₂)24 h。同时,采用 15 μg/mL 健择(Gemzar)处理转染的细胞。另外,缺氧暴露后如需要更换培养液,需在用前将其在缺氧环境中平衡 24 h。低氧环境下培养后 A549 细胞中 JAB1 基因 mRNA 表达水平的变化通过 2^{-ΔΔCT} 方法^[5]进行计算。

1.2.3 低氧培养后 A549 细胞 JAB1 蛋白表达水平的检测 收集 A549 细胞,立即加入 150 μL 预冷去污剂裂解液,随后剧烈振荡 15 s,冰浴 10 min。随后以超声破碎细胞,100 W,3 次,每次约 5 s。接着 12 000×g,4 °C 离心 10 min。按 PIERCE 蛋白测定试剂盒说明进行蛋白质定量检测,样本分装于-80 °C 冰箱中保存备用。将提取液的蛋白浓度调整一致,各取 30 μg 蛋白经 12% 十二烷基磺酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳后,干法转膜至 PVDF 膜上,参数为 15 V,20 min。

转膜结束后用含 5% 脱脂奶粉封闭 4 h,TBS 洗膜 3 次,每次 5 min。随后分别加入鼠抗 JAB1,Caspase-3 单克隆抗体(BD Biosciences, 美国)(1:500),4 °C 过夜孵育。随后加入辣根过氧化物(HRP)标记兔抗鼠 IgG(中山金桥生物科技有限公司,北京)(1:3 000),4 °C 孵育 2 h。TBS 洗膜 2 次,每次 5 min。采用 ECL 着色,温育 2 min。进入暗室,将 X 光胶片压在 PVDF 膜上,依照发光的强度选择不同的曝光时间。将胶片放入显影液中,出现条带后,立即放入定影液中,流水冲洗胶片后晾干。对胶片进行扫描,然后用 Bio-Rad 成像系统分析目的条带的灰度值。结果判断,以 JAB1 的灰度值与 β-actin 的灰度值的比值表示 JAB1 蛋白相对表达水平。

1.2.4 A549 细胞周期及凋亡检测 将 1.0×10⁴ 对数生长期细胞接种于 96 孔培养板中(100 μL/well),按以下分组:A549 + Gemzar(空白组),A549 + pcDNA3.1-HRE + Gemzar(空载体组),A549 + pcDNA3.1-HRE-JAB1 + Gemzar(质粒组),每孔中加入浓度为 15 μg/mL 的 Gemzar 进行试验观察。

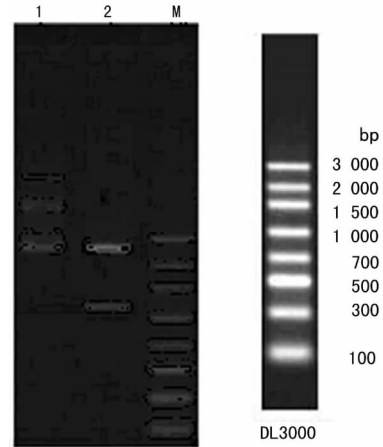
各组厌氧培养 48 h 后去上清液,收集细胞,PBS 洗涤 3

次。采用 70% 乙醇固定,Annexin-V、PI 双着色,用 FACScan 流式细胞仪进行检测。

1.3 统计学处理 所有数据资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用 SPSS11.0 统计软件对数据进行分析,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 pUC57-HRE-JAB1 质粒的构建,双酶切鉴定 见图 1。



M:DL3000;1:pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒;2:pcDNA3.1-HRE-JAB1。

图 1 pUC57-HRE-JAB1 质粒的鉴定

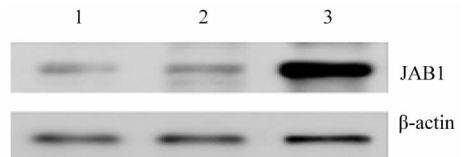
2.2 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒导入对 A549 细胞中 JAB1 mRNA 表达水平的影响 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒导入后,与空白组或空载体组比较,质粒组 JAB1 mRNA 表达水平明显升高($P < 0.01$),见表 1。

表 1 pcDNA3.1-HRE-JAB1 导入对 A549 细胞中 JAB1 mRNA 水平的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	Fold change $2^{-\Delta\Delta CT}$
空白组	1.3±0.3
空载体组	1.5±0.2
质粒组	2.9±0.4*#

*: $P < 0.01$ 与空白组比较;#: $P < 0.01$,与空载体组比较。

2.3 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒导入对 A549 细胞中 JAB1 蛋白水平的影响 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒导入后,与空白组或空载体组比较,质粒组 JAB1 蛋白水平明显升高($P < 0.01$),见表 2、图 2。



1:空白组;2:空载体组;3:质粒组。

图 2 各组 JAB1 蛋白的表达

2.4 pcDNA3.1-HRE-JAB1 导入对 A549 细胞周期与凋亡的影响 流式细胞仪检测结果提示在 Gemzar 存在的情况下,经 pcDNA3.1-HRE-JAB1 转染后,质粒组与空白组和空载体组比较, G_0/G_1 期细胞数量明显增多($P < 0.01$),而 G_2/M 期细胞数量明显减少($P < 0.01$),增殖指数(PI)明显降低($P < 0.01$),见表 3、图 3。

表 2 pcDNA3.1-HRE-JAB1 导入对 A549 细胞中 JAB1 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	JAB1 蛋白水平
空白组	0.6 ± 0.1
空载体组	0.7 ± 0.2
质粒组	2.3 ± 0.4*#

*: $P < 0.01$, 与空白组比较; #: $P < 0.01$ 与空载体组比较。

表 3 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒导入对 A549 细胞周期分布的影响 ($\bar{x} \pm s, \%, n=8$)

组别	G ₀ /G ₁ 期	S 期	G ₂ /M 期	PI 期
空白组	62.3 ± 5.3	35.9 ± 3.4	2.8 ± 0.6	38.7 ± 4.2
空载体组	62.1 ± 5.5	35.7 ± 3.6	3.2 ± 0.7	38.9 ± 4.8
质粒组	72.9 ± 5.6*#	26.0 ± 2.5*#	1.1 ± 0.4*#	27.1 ± 2.4*#

*: $P < 0.01$ 与空白组比较; #: $P < 0.01$ 与空载体组比较。PI = (S + G₂M) / (G₀/G₁ + S + G₂M)。

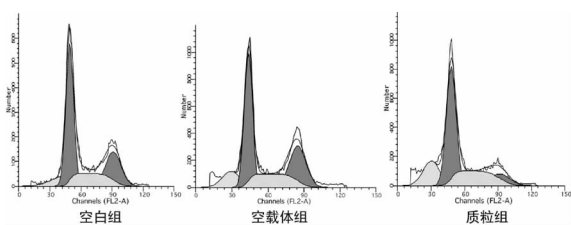


图 3 pcDNA3.1-HRE-JAB1 导入对 A549 细胞周期与凋亡的影响

3 讨论

化疗是肺癌治疗最常采用的一种方法。通常情况下,化疗药物将使大多数肿瘤细胞发生致死性杀伤或凋亡,然而少数仍会存活,研究发现它们主要位于肿瘤缺氧区^[6]。因缺氧导致化疗药物细胞毒所需的氧供不足而导致肿瘤细胞耐药;同时,由于肿瘤细胞增殖活跃,氧供与氧耗的失衡也将导致耐药发生^[7]。有研究者通过转染化疗敏感基因,使其表达增强来降低化疗耐药,实验过程中发现在阳离子脂质体介导的 p16INK4a 和 p14ARF 基因转染导入 A549 细胞后,细胞凋亡和化疗的敏感性有所增加,但未取得预想的效果^[8]。其原因可能是由于它们低的转染效率及靶向特异性差,且它们在细胞周期调控路径中具有双重作用,既诱导细胞凋亡,也可阻滞细胞周期,因此,虽然它们在一定程度上发挥了作用,但难以取得令人满意的效果。

而近年来发现的抑癌基因 JAB1,是目前所发现的惟一专职促进癌细胞凋亡的基因^[9]。一系列的研究发现,将 JAB1 基因导入乳腺癌细胞中可明显降低 p27kip1 的表达水平;同样鼻咽癌组织中 p27kip1 表达与其增殖活性与侵袭能力密切相关^[10];Liu 等^[11]发现 JAB1 与 BclGs(Bcl-Gonad short form)的共表达可协同诱导 HeLa 细胞的凋亡,JAB1 能够与 Bcl-XL/Bcl-2 竞争结合到 BclGs 上,从而促进细胞凋亡。相反,当通过 RNAi 技术沉默 JAB1 基因时,BclGs 的前凋亡效应明显减弱。因此,以上实验均表明,当机体组织中 JAB1 高表达时,癌细胞往往能发生有效的凋亡。

研究发现机体肺癌缺氧区 JAB1 基因表达往往很低,因此,必须找到 JAB1 在低氧条件下高表达的方法。本实验设想如果能构建出在厌氧环境下能高表达 JAB1 的质粒,将其导入

肺癌缺氧区细胞,那么,它们对化疗药物敏感性就可能提高。有研究表明,缺氧诱导因子-1(HIF-1)是哺乳动物中的一种转录因子,于 1993 年在缺氧诱导的细胞中被确认^[12]。在缺氧条件下,HIF-1 的表达受缺氧反应元件启动子(HIF-1/HRE)的调控^[13],而 HIF-1/HRE 可明显促进目的基因在缺氧环境中表达^[5]。因此,本研究首先扩增人类 JAB1 全长片段,随后将其插入 pcDNA3.1 载体构建 pcDNA3.1-HRE-JAB1 真核表达质粒,并将该质粒导入在低氧环境培养下的 A549 细胞中,通过 qRT-PCR 与 Western blot 检测质粒转染后的细胞表达 JAB1 基因情况,与空白组或空载体组比较,质粒组 JAB1 的 mRNA 和蛋白水平均明显升高,表明 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒可在缺氧环境中高表达 JAB1。

本实验证实高表达的 JAB1 基因能在厌氧环境下提高 A549 细胞的化疗敏感性。导入 pcDNA3.1-HRE-JAB1 质粒转染的 A549 细胞在厌氧环境培养下,使用化疗药物 Gemzar 后,发现较空白组和空载体组 G₀/G₁ 期细胞数量明显增多,而 G₂/M 期细胞数量明显减少,增殖指数(PI)明显降低,也就是 A549 细胞周期明显阻滞于 G₁ 期以前,细胞的分裂减少,A549 细胞凋亡增多。与 Tomoda 等^[14]研究结果在某种程度上基本一致,他发现 JAB1-/-小鼠的胚胎细胞增殖缓慢,且细胞周期延迟于 G₀ 和 S 期之间。因此,JAB1 具有通过调节细胞周期信号通路发挥控制细胞周期进程和促进细胞凋亡的作用。

综上所述,本实验发现在 A549 细胞中导入含 JAB1 凋亡基因的质粒能在低氧环境下高表达 JAB1,且比单独使用化疗药 A549 细胞凋亡明显增多,实现了低氧环境下 JAB1 基因增强 A549 细胞对化疗药物的敏感性,因此,可能找到了一种克服肺癌化疗耐药的方法。

参考文献:

- [1] Toh CK. The changing epidemiology of lung cancer[J]. *Methods Mol Biol*,2009,472(5):397-411.
- [2] Harrison L,Blackwell K. Hypoxia and anemia;factors in decreased sensitivity to radiation therapy and chemotherapy? [J]. *Oncologist*,2004,56(1):31-40.
- [3] Yang QC,Zeng BF,Shi ZM,et al. Inhibition of hypoxia-induced angiogenesis by trichostatin A via suppression of HIF-1a activity in human osteosarcoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*,2006,25(10):593-599.
- [4] Maher JC,Wangpaichitr M,Savaraj N,et al. Hypoxia-inducible factor-1 confers resistance to the glycolytic inhibitor 2-deoxy-D-glucose[J]. *Mol Cancer Ther*,2007,6(12):732-741.
- [5] Semenza GL. HIF-1:mediator of physiological and pathophysiological responses to hypoxia[J]. *J Appl Physiol*,2000,88(10):1474-1480.
- [6] Bell EN,Tse MY,Frederiksen LJ,et al. Atrial natriuretic peptide attenuates hypoxia induced chemoresistance in prostate cancer cells[J]. *J Urol*,2007,177(2):751-756.
- [7] Yasuda H. Solid tumor physiology and hypoxia-induced chemo/radio-resistance;novel strategy for cancer therapy:nitric oxide donor as a therapeutic enhancer[J]. *Nitric Oxide*,2008,19(6):205-216.
- [8] Xie QC,Hu YD,Wang LL,et al. The co-transfection of p16(INK4a) and p14(ARF) genes into(下转第 2351 页)

示率虽然较高,但因颅底磁敏感性效应及部分容积等因素产生较大伪影,神经形态变形失真,严重影响图像效果,有时不能区分嗅球及嗅束;颅底磁敏感性效应不仅对嗅神经也对近颅底的视交叉、视束、动眼神经、舌咽神经、副神经、舌下神经以及海绵窦内神经走行产生伪影,使一段神经形态变形或模糊而显示欠佳。本研究中,舌下神经因形态纤细、颅底磁敏感性伪影的影响,显示效果较差,显示率偏低。在 12 对颅脑神经中,只有滑车神经由于过于纤细、走行迂曲,并且与大脑后动脉、小脑上动脉及其分支共行于环池中,因而难以确认,显示率极差。目前为止尚不能完全肯定此神经是否可在重建平面上显示。

同 3D-TOF-SPGR 序列图像比较,3D-COSMIC 序列有明显高的软组织对比度,更有利于显示神经解剖形态,但 3D-TOF-SPGR 序列在显示细小动脉效果良好,为分析神经与血管的关系时提供重要参考。

总之,3D-COSMIC 序列仍可以清晰地显示除滑车神经以外的 I~XII 对颅神经脑池段,尤其 II、III、V、VI、VII、VIII、X 等 7 对颅神经脑池段有非常高的显示率,组织分辨率较高,图像较清晰,能够很好评估神经与血管的关系,能够对临床常见的面肌抽搐、眼睑下垂及三叉神经痛等相应颅脑神经症状的患者作出准确诊断,从而指导临床诊治;同时仍需在技术上进一步改进,增加信噪比,降低颅底磁敏感伪影。

参考文献:

- [1] Fahlbusch R, Honegger J, Paulus W, et al. Surgical treatment of craniopharyngiomas: experience with 168 patients [J]. *J Neuro Surg*, 1999, 90(2): 237-239.
- [2] 黄权, 江波, 何东升, 等. 核磁共振多平面重建在鞍区肿瘤显微手术入路选择的意义 [J]. *中华显微外科杂志*, 2005, 28(3): 216-218.
- [3] Chavez GD, De Salles AA, Solberg TD, et al. Three-dimensional fast imaging employing steady-state acquisition magnetic resonance imaging for stereotactic radiosurgery

of trigeminal neuralgia [J]. *Neurosurgery*, 2005, 56(3): 628-630.

- [4] Hatipoglu HG, Durakoglugil T, Ciliz D, et al. Comparison of FSET2W and 3D FIESTA sequences in the evaluation of posterior fossa cranial nerves with MR cisternography [J]. *Diagn Interv Radiol*, 2007, 13(2): 56-58.
- [5] 陈建, 刘振生, 罗志刚, 等. 磁共振 3D FIESTA 和 3D FRFSE T2WI 显示颅神经的对比研究 [J]. *临床放射学杂志*, 2008, 27(11): 1449-1451.
- [6] Marks AS. Oculomotor motion disorders: current imaging of cranial nerves 3, 4, and 6 [J]. *Semin Ultrasound CTMR*, 1998, 19: 240-242.
- [7] Janetta PJ. Neurovascular compression in cranial nerve and systemic diseases [J]. *Ann Surg*, 1980, 192: 518-525.
- [8] 张伟国, 陈现红, 赵涛, 等. 后组颅神经及相关结构 MRI 研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2005, 4(9): 918-920.
- [9] 孙文阁, 李延亮, 佟志勇, 等. 三维时间飞跃-扰相梯度回波和三维快速高级自旋回波对颅神经与邻近血管关系的对比研究 [J]. *中华放射学杂志*, 2004, 38(12): 1248-1250.
- [10] 罗志刚, 李澄, 陈建, 等. 3D-FIESTA 序列在内听道及内耳膜迷路 MR 成像中的应用 [J]. *实用临床医药杂志*, 2006, 10(6): 50-52.
- [11] 龚万庆, 陶晓峰, 肖珊, 等. MR 三维稳态进动快速成像序列在内耳扫描中的初步应用研究 [J]. *临床放射学杂志*, 2007, 26(2): 135-137.
- [12] 满凤媛, 王振常, 赵堪兴, 等. 3D-FIESTA 观察活体眼运动神经及初步临床应用 [J]. *临床放射学杂志*, 2007, 26(3): 231-234.
- [13] 杨正汉. 磁共振成像技术指南——检查规范、临床策略及新技术应用 [M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 137-139.

(收稿日期: 2011-10-09 修回日期: 2012-01-06)

(上接第 2347 页)

- human lung cancer cell line A549 and the effects on cell growth and chemosensitivity [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2005, 46(3): 188-196.
- [9] Park CM, Park MJ, Kwak HJ, et al. Induction of p53-mediated apoptosis and recovery of chemosensitivity through p53 transduction in human glioblastoma cells by cisplatin [J]. *Int J Oncol*, 2006, 28(1): 119-125.
 - [10] Kouvaraki MA, Rassidakis GZ, Tian L, et al. Jun activation domain-binding protein 1 expression in breast cancer inversely correlates with the cell cycle inhibitor p27Kip1 [J]. *Cancer Res*, 2003, 63(11): 2977-2981.
 - [11] Liu X, Pan Z, Zhang L, et al. JAB1 accelerates mitochondrial apoptosis by interaction with proapoptotic BclGs

[J]. *Cell Signal*, 2008, 20(3): 230-240.

- [12] Wang GL, Semenza GL. General involvement of hypoxia-inducible factor 1 in transcriptional response to hypoxia [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90(11): 4304-4308.
- [13] Post DE, Van Meir EG. Generation of bidirectional hypoxia/HIF2 responsive expression vectors to target gene expression to hypoxia cells [J]. *Gene Ther*, 2001, 56(8): 1801-1807.
- [14] Tomoda K, Yoneda-Kato N, Fukumoto A, et al. Multiple functions of JAB1 are required for early embryonic development and growth potential in mice [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(8): 43013-43018.

(收稿日期: 2011-10-09 修回日期: 2012-01-06)