

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.34.004

TRIM28shRNA 联合依托泊甙抑制非小细胞肺癌裸鼠肿瘤生长的研究^{*}

刘 镭¹,赵长祺^{2△},王建平¹,赵学荣¹,高亚贤¹,程露阳¹,许 倩³,李庆宝⁴,赵丽岑⁴
(承德医学院基础医学院:1.免疫学教研室;2.病原生物学实验中心;3.基础医学研究所;
4.2016 级麻醉学本科班,河北承德 067000)

[摘要] 目的 构建 TRIM28 短发夹 RNA(shRNA)稳定干扰非小细胞肺癌(NSCLC)PAa 细胞株,并探讨 TRIM28shRNA 联合依托泊甙对裸鼠移植瘤生长的影响和可能的机制。**方法** 通过特异性 shRNA 慢病毒载体在 PAa 细胞中稳定干扰 TRIM28 表达;PAa 细胞皮下注射建立裸鼠移植瘤模型,并应用 TRIM28shRNA 单独或联合依托泊甙进行治疗;应用末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)测定法检测裸鼠移植瘤细胞凋亡情况和免疫组织化学技术检测移植肿瘤中 E2F 转录因子 1(E2F1)的表达。**结果** 成功构建了 TRIM28shRNA 稳定干扰的 PAa 细胞株;证实 TRIM28shRNA 联合依托泊甙能够显著抑制裸鼠肿瘤的生长;TRIM28shRNA 联合依托泊甙明显诱导肿瘤细胞凋亡并诱导肿瘤组织表达 E2F1 蛋白。**结论** TRIM28shRNA 联合化疗药物依托泊甙对抑制 NSCLC 肿瘤生长有明显效果。

[关键词] 癌,非小细胞肺;TRIM28;shRNA;依托泊甙;裸鼠
[中图法分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)34-4335-05

Study on TRIM28shRNA in combination with etoposide inhibits non-small cell lung cancer growth in nude mouse^{*}

LIU Lei¹,ZHAO Changqi^{2△},WANG Jianping¹,ZHAO Xuerong¹,GAO Yaxian¹,
CHENG Luyang¹,XU Qian³,LI Qingbao⁴,ZHAO Licen⁴

(1. Teaching and Researching Section of Immunology;2. Experimental Center of Pathogen Biology;3. Research Institute of Basic Medicine;4. Undergraduate Class of Anesthesiology,Grade 2016,Institute of Basic Medicine,Chengde Medical College,Chengde,Hebei 067000,China)

[Abstract] **Objective** To establish a non-small lung cancer cell line stably interfered by TRIM28 shRNA,and to explore the effect of TRIM28shRNA in combination with etoposide on nude mouse xenografts tumor growth and possible mechanism. **Methods** The expression of TRIM28 was stably interfered by specific shRNA lentiviral vector in PAa cell;the nude mouse model with NSCLC exnografts was established by PAa cell subcutaneous injection and treated by TRIM28 alone or in combination with etoposide;the apoptosis of nude mouse exnografts tumor was detected by TUNEL and the expression of E2F1 in tumor tissue was detected by immunohistochemistry. **Results** A PAa cell line stably interfered by TRIM28 shRNA was established successfully;it was verified that TRIM28shRNA in combination with etoposide could inhibit the nude mouse tumor growth significantly. TRIM28shRNA in combination with etoposide significantly induced tumor cell apoptosis and induced the expression of E2F1 in tumor tissue. **Conclusion** TRIM28shRNA in combination with chemotherapeutic drug etoposide has obvious effect on the growth of NSCLC.

[Key words] carcinoma,non-small cell lung;TRIM28;shRNA ;etoposide;nude mouse

大多数非小细胞肺癌(NSCLC)患者往往在诊断时就已经是晚期阶段或者出现远处转移^[1],失去了手术的最佳时期。这时,一般采用先放疗再实施依托泊甙或顺铂化疗的治疗方案。但治疗效果往往不理想,患者 5 年存活率大约是 5%~17%,而中位数生存时间也仅仅为 15 个月左右^[2]。因此,如何延长晚期 NSCLC 患者的生存时间,寻找有效的治疗靶点和策略是目前亟待解决的问题。TRIM28(Tripartite motif containing 28)是 KRAB 型锌指蛋白的重要共抑制因子,可参与调控胚胎的发育过程^[3],重组染色质,红

^{*} 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81703001);河北省自然科学基金资助项目(H2015406014);河北省人才工程培养经费资助科研项目(A2016002085);河北省高等学校科学技术研究青年基金项目(QN2016141);河北省病原生物学重点学科项目。 作者简介:刘镭(1977—),副教授,博士,主要从事肺癌基础和临床研究。 △ 通信作者,E-mail:zcqzyh1124@163.com。

细胞发育和分化^[4]及 DNA 损伤修复^[5-6]。最近有大量文献报道,TRIM28 能够在多种肿瘤的发生、发展及转移中起到重要的作用,如宫颈癌、乳腺癌、直肠癌、胃癌和卡波济肉瘤^[7-9]等。本课题组在前期的研究中也发现,TRIM28 能够促进 NSCLC 细胞的增殖和转移的发生,同时该基因还可用于预测 NSCLC 转移和评估患者预后情况^[10]。另外,有研究发现 TRIM28 能够抑制 E2F 转录因子 1(E2F1)的表达水平,而 E2F1 又可在依托泊甙诱导的凋亡中发挥重要的作用。因此,本研究假设 TRIM28 短发夹 RNA(shRNA)联合依托泊甙能够显著抑制裸鼠体内肿瘤的生长,并促进肿瘤细胞的凋亡。本研究为增加化疗药物依托泊甙敏感性,以及临床治疗 NSCLC 提供了理论依据和新方案。

1 材料与方法

1.1 一般材料 4 周龄雌性 BALB/c 裸鼠 40 只,购自维通利华公司;人肺腺癌细胞系 PAa 和 293T 细胞为本实验室保存;DMEM 培养基和胎牛血清均购自 Gibco 公司(美国);反转录试剂盒、SYBR Green PCR master mix 购自 TaKaRa 公司(日本);抗 GFP 单克隆抗体购自 Abcam 公司(美国);兔抗人 TRIM28 多克隆抗体购自 Proteintech 公司(美国);TUNEL 试剂盒购自碧云天生物试剂公司(中国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 PAa 细胞和 293T 细胞采用 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清)于 37℃、5% CO₂ 培养箱内饱和湿度培养。

1.2.2 TRIM28 稳定干扰 PAa 细胞株建立 针对 TRIM28 的 shRNA 由上海吉玛生物公司合成,TRIM28shRNA 靶向序列为:5'-CAC TGA GGA CTA CAA CCT T-3';5'-GCG ATC TGG TTA TGT GCA A-3'。将 0.5 μg pLVTHM/TRIM28-shRNA 表达载体(或对照载体)和 1.5 μg 混合包装载体质粒混匀于 250 μL OPTIMEM 无血清培养基中,10 μL Lipofectamine 2000 共转染 293T 细胞,24 h 后更换成 DMEM 完全培养液。72 h 后收集细胞上清液,0.45 μm 滤膜过滤分装即为病毒液,-70℃ 保存备用。病毒液感染 PAa 细胞后,应用抗 GFP 单克隆抗体和流式细胞术筛选阳性克隆细胞。

1.2.3 实时荧光定量 PCR 方法 按 Trizol 说明书进行操作,首先抽提细胞总 RNA,取 500 ng RNA 进行反转录反应。以 cDNA 为模板,0.2 μmol/L 上下游引物,并加入 SYBR Green PCR master mix 配制 20 μL PCR 反应体系,其中 TRIM28 上游引物序列:5'-GGA CAG AGA ACA GAG CCA GG-3'、TRIM28 基因下游引物序列:5'-ACG TCT GCC TTG TCC TCA GT-3'。扩增条件为 94℃ 10 min,94℃ 15 s,

60℃ 25 s,72℃ 35 s,共 40 个循环。选取 GAPDH 作为内参,每样本设 3 个复孔。按下列公式计算各组目的基因的相对表达量。计算公式为:ΔCt_{TRIM28} = Ct_{TRIM28} - Ct_{GAPDH};ΔΔCt = ΔCt_{实验组} - ΔCt_{对照组};目的基因的相对量为:Q = 2^{-ΔΔCt}。

1.2.4 Western blot 检查 收集各组标本蛋白,BCA 法测蛋白浓度。等量蛋白首先经过 15% SDS-PAGE 电泳分离后,再转移到 PVDF 膜。5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,加兔抗人 TRIM28 多克隆抗体(1:500)孵育 4℃ 过夜,经 TBST 洗涤后,加 HRP 标记的二抗(1:2 000),室温孵育 2 h,TBST 洗涤后,ECL 发光液显色曝光,扫描胶片,并在 Quantity One 分析软件上测定条带灰度值,计算蛋白相对含量。

1.2.5 裸鼠成瘤实验 40 只裸鼠随机分为 4 组,每组 10 只。第 1 和第 2 组小鼠分别于腋下皮下注射 PAa/ControlshRNA 和 PAa/TRIM28shRNA 细胞;第 3 组小鼠皮下注射 PAa/ControlshRNA 后,使用 27 号针头和带剂量注射器,尾静脉注射依托泊甙溶液,按 80 mg/kg,0.05 mL/s 的速度,5 次/周;第 4 组小鼠皮下注射 PAa/TRIM28-siRNA 细胞后,再接受依托泊甙溶液静脉注射。每天观察小鼠的生存状况、一般健康和行为的变化。在同一天不同时间由两名有经验的实验室工作人员观察肿瘤发生和心跳。每星期测定 1 次小鼠体质量和肿瘤大小,肿瘤体积按公式如下计算:肿瘤体积(mm³)=[长(mm)×宽(mm)²]×0.52。注射 4 周后处死动物,切除肿瘤并称量肿瘤质量。本实验在承德医学院伦理委员会批准和监督下进行。

1.2.6 dUTP 缺口末端标记(TUNEL)测定法 将小鼠移植瘤石蜡切片脱蜡、水合,PBS 漂洗后用枸橼酸钠和 Triton X-100 处理,按 TUNEL 试剂盒操作步骤,配置反应混合液,并加入到样品上,避光放置 2 h 后,荧光显微镜下观察,每张片上随机选取 5 个视野,按如下公式计算凋亡指数(apoptosis index, AI):AI=具有凋亡核的细胞数/计数的细胞总数×100。

1.2.7 免疫组织化学链霉亲和素-生物素复合物(SABC)方法 采用 SABC 免疫组化法进行分析,试验所用载玻片均经 Poly Lysine 防脱片剂处理。抗原修复方法为微波炉加热 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液至沸腾,然后放入切片,95℃ 加热 5 min,断电后等缓冲液自然冷却至室温后再取出切片,PBS 液冲洗 3 次,每次 2 min。1:100 稀释度的兔抗人 E2F1 多克隆抗体作为一抗,生物素化羊抗兔 IgG 作为二抗,稀释度 1:500,以 PBS 代替一抗作为阴性对照。判定标准:阳性显色为肿瘤细胞核被染成褐黄色、呈现粗细不等、深浅不一的颗粒状。E2F1 蛋白阳性细胞分为 3 级:E2F1(-):癌细胞无着色;E2F1(+):癌细胞

核呈棕色颗粒状,着色癌细胞核所占比例小于 25%;E2F1(++):着色细胞核呈棕色颗粒状,数量大于或等于 25%。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 进行统计处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示。两组间比较采用 t 检验;多均数比较采用方差分析,计数资料用率表示,组间两两比较采用 q 检验;多样本率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

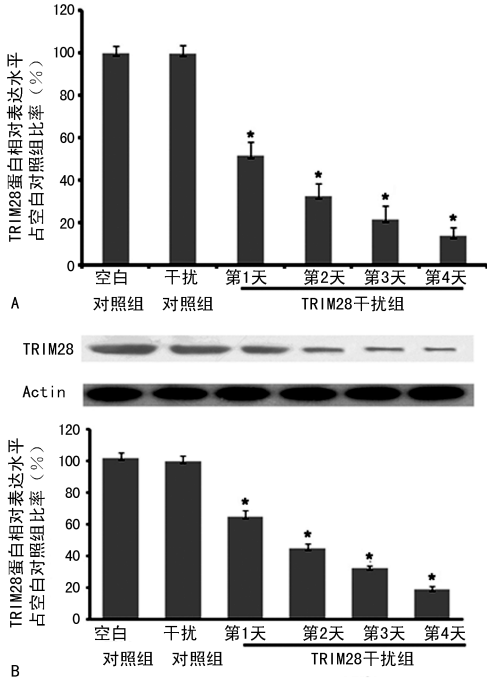
2 结 果

2.1 TRIM28shRNA 稳定干扰 NSCLC 细胞系 PAa
应用实时荧光定量 PCR 技术检测 PAa 细胞中稳定干扰 TRIM28 的效果。空白对照组的相对 TRIM28 mRNA 表达量被认为是 100%,稳定干扰 TRIM28 第 1、2、3、4 天的相对表达量分别为 $(55.56\pm 4.16)\%$ 、 $(33.33\pm 4.58)\%$ 、 $(22.22\pm 4.16)\%$ 和 $(16.67\pm 3.46)\%$,各组间差异有统计学意义($\chi^2=285.178$, $P<0.01$);稳定干扰 TRIM28 第 1 天($\chi^2=56.410$, $P<0.01$)、第 2 天($\chi^2=100.752$, $P<0.01$)、第 3 天($\chi^2=127.869$, $P<0.01$)和第 4 天($\chi^2=141.880$, $P<0.01$)分别与空白对照组比较,均有明显差异,并且 TRIM28mRNA 表达量的减少具有时间依赖性,见图 1A。

Western blot 方法检测 PAa 细胞中 TRIM28 蛋白的表达,如图 1B 所示 TRIM28shRNA 干扰病毒颗粒使 PAa 细胞中内源性 TRIM28 表达显著降低。空白对照组相对 TRIM28 蛋白量为 100%,干扰对照组、稳定干扰 TRIM28 第 1 天、第 2 天、第 3 天和第 4 天的相对蛋白表达量分别为 $(99.00\pm 1.26)\%$ 、 $(64.67\pm 4.16)\%$ 、 $(45.00\pm 3.00)\%$ 、 $(36.67\pm 1.53)\%$ 和 $(19.33\pm 2.08)\%$,各组间差异有统计学意义($\chi^2=234.061$, $P<0.01$);稳定干扰 TRIM28 第 1 天($\chi^2=42.424$, $P<0.01$)、第 2 天($\chi^2=75.862$, $P<0.01$)、第 3 天($\chi^2=91.971$, $P<0.01$)和第 4 天($\chi^2=136.134$, $P<0.01$)的相对蛋白表达量分别与空白对照组比较差异均有统计学意义,并且 TRIM28 蛋白表达量的减少具有时间依赖性;而干扰对照组与空白对照组比较,差异无统计学意义($\chi^2=1.005$, $P=0.316$)。

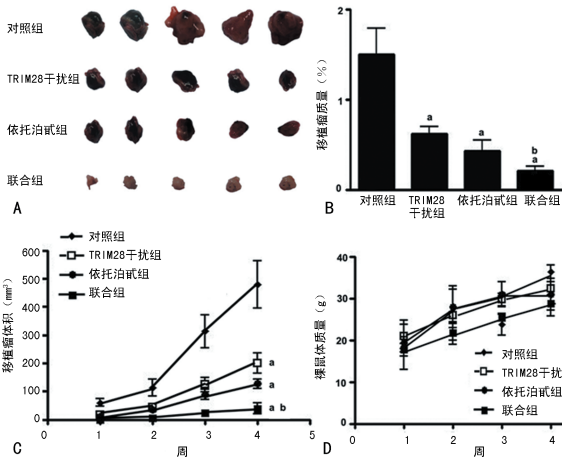
2.2 TRIM28shRNA 联合依托泊甙显著抑制裸鼠肿瘤生长 如图 2A 所示,对照组肿瘤最大;TRIM28 干扰组和依托泊甙组肿瘤比对照组小,而 TRIM28 干扰与依托泊甙联合组的裸鼠移植瘤最小。对照组、TRIM28 干扰组、依托泊甙组和联合组的肿瘤质量分别为 $(1.50\pm 0.50)\text{g}$ 、 $(0.62\pm 0.13)\text{g}$ 、 $(0.43\pm 0.21)\text{g}$ 和 $(0.21\pm 0.08)\text{g}$,各组间差异有统计学意义($F=40.110$, $P<0.01$);组间两两比较,与对照组比较,TRIM28 干扰组、依托泊甙组和联合组差异有统计学

意义($P<0.01$);联合组与 TRIM28 干扰组比较差异有统计学意义($P=0.014$,图 2B)。4 周后,对照组、TRIM28 干扰组、依托泊甙组和联合组裸鼠移植瘤体积分别为 $(470.13\pm 118.30)\text{mm}^3$ 、 $(194.95\pm 29.71)\text{mm}^3$ 、 $(112.73\pm 19.78)\text{mm}^3$ 和 $(59.71\pm 13.37)\text{mm}^3$ 。各组间差异有统计学意义($F=86.259$, $P<0.01$);组间两两比较,与对照组比较,TRIM28 干扰组、依托泊甙组和 $P<0.01$,图 2C)。在整个实验过程中,各组裸鼠体质量变化差异无统计学意义($F=2.826$, $P=0.052$,图 2D)。



A:实时荧光定量 PCR 方法检测 TRIM28 mRNA 表达水平;B:Western blot 方法检测 TRIM28 蛋白表达水平;* : $P<0.01$,与空白对照组比较

图 1 PAa 细胞被 TRIM28shRNA 慢病毒感染后 TRIM28 的表达水平



A:4 组裸鼠的移植瘤图像;B:4 组裸鼠的移植瘤质量;C:4 组裸鼠移植瘤体积变化图;D:4 组裸鼠体质量变化图;a: $P<0.01$,与空白对照组比较;b: $P<0.01$,与 si-TRIM28 组比较

图 2 TRIM28shRNA 联合依托泊甙对裸鼠移植瘤生长的影响

2.3 TRIM28shRNA 联合依托泊甙促进裸鼠移植瘤细胞凋亡 裸鼠抑制瘤切除后,TUNEL 法检测细胞凋亡,结果如图 3 所示,对照组、TRIM28 干扰组、依托泊甙组和联合组 AI 分别为:(8.20±2.11)%、(24.65±4.05)%、(27.8±4.87)% 和 (43.94±3.18)%,各组间差异有统计学意义($\chi^2=33.718,P<0.01$);与对照组比较,TRIM28 干扰组($\chi^2=10.488,P<0.01$)、依托泊甙组($\chi^2=13.550,P<0.01$)和联合组差异有统计学意义($\chi^2=33.680,P<0.01$)。而且,联合组与 TRIM28 干扰组比较差异有统计学意义($\chi^2=7.988,P=0.005$);联合组与依托泊甙组比较差异有统计学意义($\chi^2=5.556,P=0.018$)。

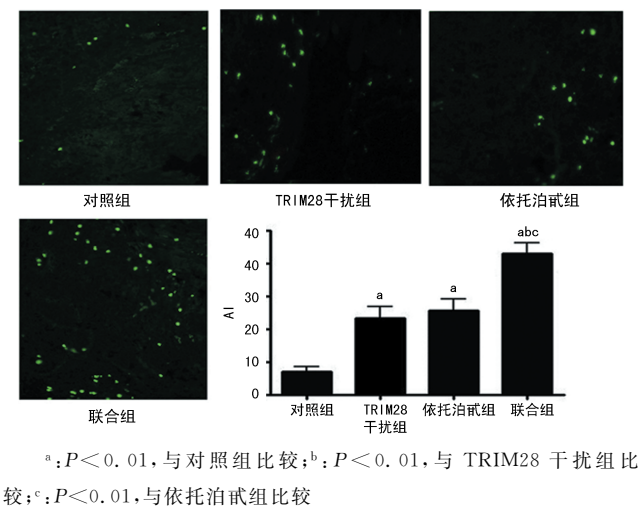


图 3 TUNEL 法检测 4 组裸鼠移植瘤细胞的凋亡程度(×200)

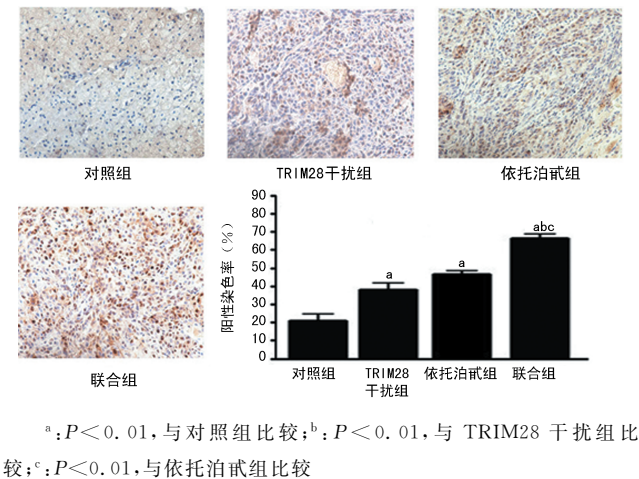


图 4 免疫组织化学技术检测四组裸鼠移植瘤组织中 E2F1 表达(×200)

2.4 TRIM28shRNA 联合依托泊甙上调 E2F1 的表达 裸鼠抑制瘤切除后,免疫组织化学法检测各组细胞 E2F1 表达水平。如图 4 所示,对照组、TRIM28 干扰组、依托泊甙组和联合组 E2F1 阳性染色比率分别为:(21.28±2.89)%、(39.82±2.28)%、(47.71±0.94)%和(66.89±1.29)%,各组间差异有统计学意义

($\chi^2=44.237,P<0.01$);与对照组比较,TRIM28 干扰组($\chi^2=8.515,P<0.01$)、依托泊甙组($\chi^2=16.130,P<0.01$)和联合组差异有统计学意义($\chi^2=42.938,P<0.01$);而且,联合组与 TRIM28 干扰组比较差异有统计学意义($\chi^2=14.652,P<0.01$);联合组与依托泊甙组比较差异有统计学意义($\chi^2=7.386,P=0.007$),结果提示,联合治疗组明显上调 E2F1 的表达。

3 讨 论

研究证实 TRIM28 能够调控多种肿瘤的发生发展过程。当宫颈癌细胞 TRIM28 表达增加时,其在体内、外的迁移和侵袭能力都明显增强。TRIM28 可促进胃癌细胞的增殖和生长,并且是导致胃癌患者发生腹膜转移的独立因素。当在乳腺癌细胞中干扰 TRIM28 表达后,能够明显抑制细胞增殖和生长,以及减少移植瘤转移的发生,同时还导致了多种肿瘤转移相关基因和癌基因表达水平的降低。本课题组前期研究发现,TRIM28 在多种 NSCLC 细胞系和临床组织标本中表达增强,通过沉默 TRIM28 基因能够明显抑制 NSCLC 细胞的增殖、生长和转移。本研究进一步在裸鼠体内说明干扰 TRIM28 表达能够显著抑制肿瘤的生长。

当 DNA 损伤时,TRIM28 可在胞核的 DNA 链断裂位点上迅速定居并发生磷酸化反应。依赖于 HP1 的 TRIM28 基因还能够调控异染色质中 DNA 修复过程。有文献证实,TRIM28 能够促进 p53 和 HDAC1 形成复合物,并可与 MDM2 结合进而抑制 p53 的乙酰化^[11]。TRIM28 通过结合内源性 STAT1 调控干扰素信号转导通路。桥接分子 FIK 连接了 FOXP3 与 TRIM28 分子,在 Tregs 细胞中通过解离 FOXP3-FIK-TRIM28 复合物,可恢复 FOXP3 表达,抑制调节性 T 细胞活性^[12]。以上的研究结果都提示,TRIM28 在众多肿瘤凋亡相关信号传导通路中都具有重要的作用。本研究发现,TRIM28 沉默能够增加裸鼠移植瘤的细胞凋亡,而且在 TRIM28 敲除的裸鼠抑制瘤中 E2F1 表达明显上调。研究发现,当不依赖 pRb 时,TRIM28 能够明显遏制 E2F1 介导的凋亡发生,同时通过促进 E2F1-HDAC1 复合物形成进而减少 E2F1 的乙酰化。结合本研究结果提示,TRIM28 可能通过与 E2F1 结合,进而抑制 E2F1 的活性,因此 TRIM28 是 E2F1 介导的细胞凋亡信号通路中的重要调控分子。当 TRIM28 表达被沉默后,E2F1 的乙酰化水平升高,E2F1 的转录活性增强,因而细胞凋亡增加。

依托泊甙属拓扑异构酶抑制剂,可使肿瘤细胞 DNA 无法顺利合成,同时也能促进癌细胞的凋亡,是目前临床治疗 NSCLC 的一线化疗药物。有研究证实,依托泊甙在造成 DNA 损伤同时可引起 E2F1 蛋

白表达增加;反之,如果在癌细胞中过表达 E2F1 蛋白,就会增加依托泊甙毒性作用,促进凋亡发生^[13]。有研究发现在髓系细胞中过表达 E2F1 后发现细胞对依托泊甙治疗敏感性增强并且促进了凋亡^[14]。在黑色素瘤细胞的实验中结果发现,过表达 E2F1 联合低浓度依托泊甙组比单独应用依托泊甙组的治疗效果更好,显著促进了肿瘤细胞的凋亡^[15]。另外,依托泊甙还能与 Ad-E2F1 协同发挥作用,可明显抑制裸鼠移植瘤小鼠体内肿瘤的生长。本研究也观察到依托泊甙能够明显地抑制裸鼠移植瘤的生长,促进 NSCLC 细胞的凋亡,并上调 E2F1 的表达。

综上所述,干扰 TRIM28 表达可促进 E2F1 转录活性,而过表达 E2F1 蛋白能够促进细胞凋亡并增加依托泊甙抗肿瘤药物敏感性,因此本研究在裸鼠移植瘤模型中探讨了 TRIM28shRNA 联合依托泊甙的抗肿瘤作用,以验证干扰 TRIM28 表达是否能够增加依托泊甙在 NSCLC 治疗中的敏感性。结果显示,联合处理组显著抑制裸鼠移植瘤的生长,明显增加细胞凋亡数,并促进移植瘤组织中 E2F1 的表达。有研究发现在放线菌素 D 治疗的细胞中沉默 TRIM28 可明显阻滞细胞周期和减少细胞克隆数,诱导 p53 靶基因 p21 蛋白的表达,明显抑制细胞增殖和生长^[16]。以上结果都提示,TRIM28 是共抑制复合物中的一个重要组分,可招募众多参与基因沉默的分子,因此,TRIM28 有望成为与放线菌素 D 或依托泊甙等化疗药物联合应用的靶点,为临床治疗 NSCLC 提供了新的策略。

参考文献

- [1] NANAVATY P, ALVAREZ M S, ALBERTS W M. Lung cancer screening: advantages, controversies, and applications[J]. *Cancer Control*, 2014, 21(1): 9-14.
- [2] SANTANA-DAVILA R, DEVISETTY K, SZABO A, et al. Cisplatin and etoposide versus carboplatin and paclitaxel with concurrent radiotherapy for stage III non-small-cell lung cancer: an analysis of Veterans Health Administration data[J]. *J Clin Oncol*, 2015, 33(6): 567-574.
- [3] MESSERSCHMIDT D M, DE VRIES W, ITO M A, et al. Trim28 is required for epigenetic stability during mouse oocyte to embryo transition[J]. *Science*, 2012, 335(675): 1499-1502.
- [4] BARDE I, RAUWEL B, MARIN-FLOREZ R M, et al. A KRAB/KAP1-miRNA cascade regulates erythropoiesis through Stage-Specific control of mitophagy[J]. *Science*, 2013, 340(6130): 350-353.
- [5] MAGNI M, RUSCICA V, RESTELLI M A, et al. CCAR2/DBC1 is required for Chk2-dependent KAP1 phosphorylation and repair of DNA damage[J]. *Oncotarget*, 2015, 6(19): 17817-17831.
- [6] KALOUSHI A, HOFFBECK A S, SELEMENAKIS P N, et al. The nuclear oncogene SET controls DNA repair by KAP1 and HP1 retention to chromatin[J]. *Cell Rep*, 2015, 11(1): 149-163.
- [7] ADDISON J B, KOONTZ C, FUGETT J H, et al. KAP1 promotes proliferation and metastatic progression of breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(2): 344-355.
- [8] FITZGERALD S, SHEEHAN K M, O'GRADY A, et al. Relationship between epithelial and stromal TRIM28 expression predicts survival in colorectal cancer patients[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2013, 28(6): 967-974.
- [9] ZHANG L M, ZHU C X, GUO Y, et al. Inhibition of KAP1 enhances hypoxia-induced Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus reactivation through RBP-J κ [J]. *J Virol*, 2014, 88(12): 6873-6884.
- [10] LIU L, ZHAO E H, LI C H, et al. TRIM28, a new molecular marker predicting metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer[J]. *Cancer Epidemiol*, 2013, 37(1): 71-78.
- [11] FAN C D, WANG X J. Mdm2 splice isoforms regulate the p53/Mdm2/Mdm4 regulatory circuit via RING domain-mediated ubiquitination of p53 and Mdm4[J]. *Cell Cycle*, 2017, 16(7): 660-664.
- [12] HUANG C J, MARTIN S, PFLEGER C, et al. Cutting edge: a novel, Human-Specific interacting protein couples FOXP3 to a Chromatin-Remodeling complex that contains KAP1/TRIM28[J]. *J Immunol*, 2013, 190(9): 4470-4473.
- [13] MASSIP A, ARCONDÉGUY T, TOURIOL C, et al. E2F1 activates p53 transcription through its distal site and participates in apoptosis induction in HPV-positive cells[J]. *FEBS Lett*, 2013, 587(19): 3188-3194.
- [14] SIMÕES MAGLUTA E P, VASCONCELOS F D, MAIA R C, et al. Insights into apoptosis mechanisms induced by DNA-damaging agents in Burkitt's lymphoma cells[J]. *Cancer Invest*, 2009, 27(8): 830-835.
- [15] XU J, MO Y W, WANG X Y, et al. Conditionally replicative adenovirus-based mda-7/IL-24 expression enhances sensitivity of colon cancer cells to 5-fluorouracil and doxorubicin[J]. *J Gastroenterol*, 2013, 48(2): 203-213.
- [16] LI L J, CUI D, ZHENG S J, et al. Regulation of actinomycin D induced upregulation of Mdm2 in H1299 cells[J]. *DNA Repair (Amst)*, 2012, 11(2): 112-119.

(收稿日期: 2018-06-06 修回日期: 2018-10-21)