

DOI:10.3724/SP.J.1008.2011.01258

# 调控 CIAPIN1 基因表达对食管癌细胞生长及侵袭性的影响

## Effects of CIAPIN1 gene expression on growth and invasion behavior of esophageal cancer cells

王 健<sup>1,2</sup>, 赵国强<sup>3</sup>, 韩 娜<sup>2</sup>, 王海莉<sup>2</sup>, 张中冕<sup>2</sup>, 樊青霞<sup>1\*</sup>

1. 郑州大学第一附属医院肿瘤科, 郑州 450052

2. 郑州大学第二附属医院肿瘤科, 郑州 450014

3. 郑州大学基础医学院微生物学与免疫学教研室, 郑州 450001

**[摘要]** **目的** 采用重组慢病毒 CIAPIN1 表达载体和 CIAPIN1 沉默载体感染食管癌 EC9706 细胞, 观察调控 CIAPIN1 基因表达对细胞增殖、细胞周期、细胞凋亡及体外侵袭转移的影响。**方法** 构建 CIAPIN1 表达慢病毒载体和 CIAPIN1 siRNA 慢病毒载体, 包装得到重组慢病毒; 分别感染食管癌 EC9706 细胞, 筛选得到稳定 CIAPIN1 基因高表达和低表达的细胞。实验分为 CIAPIN1 表达组、CIAPIN1 siRNA 组、无关 siRNA 对照组和空白对照组。采用 RT-PCR 和蛋白质印迹法分析 CIAPIN1 基因和蛋白的表达, MTT 实验检测细胞增殖, 流式细胞术 (FCM) 分析细胞周期及细胞凋亡的变化, Boyden 小室检测细胞侵袭转移。**结果** 与空白对照组、无关 siRNA 对照组和 CIAPIN1 siRNA 组比较, CIAPIN1 高表达组细胞生长受到抑制 ( $P < 0.05$ ); S 和 G<sub>2</sub>/M 期细胞比例减少, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例增加 ( $P < 0.05$ ); 平均细胞凋亡率增加 ( $P < 0.05$ ), 穿透 Matrigel 的平均细胞数减少 ( $P < 0.05$ )。**结论** 以慢病毒为载体介导的 CIAPIN1 基因高表达可有效抑制食管癌 EC9706 细胞增殖、促进细胞凋亡和降低细胞侵袭转移能力。

**[关键词]** 细胞因子诱导的凋亡抑制分子 1; 慢病毒; 食管肿瘤; 细胞增殖; 细胞凋亡**[中图分类号]** R 735.1 **[文献标志码]** B **[文章编号]** 0258-879X(2011)11-1258-05

细胞因子诱导的凋亡抑制分子 1 (cytokine-induced apoptosis inhibitor 1, CIAPIN1) 是 2004 年 Shibayama 等<sup>[1]</sup>通过克隆表达的方法鉴定的凋亡抑制分子, 起初命名为 anamorsin, 因其能抑制细胞因子 IL-3 等撤除后的细胞凋亡而最终被命名为 CIAPIN1。研究表明 CIAPIN1 可能为 ras 细胞信号通路重要的效应分子, 在人体内发挥着普遍的、重要的生理功能<sup>[1-2]</sup>。有研究发现, CIAPIN1 表达与食管鳞癌的分化程度、浸润深度和淋巴结转移密切相关, 并且 CIAPIN1 阴性患者的生存率显著低于 CIAPIN1 阳性患者, 提示 CIAPIN1 可能在食管癌的发生过程中起重要作用, 并且是食管癌的一个有价值的预后指标<sup>[3]</sup>。本实验采用重组慢病毒 CIAPIN1 表达载体和 CIAPIN1 沉默载体感染食管癌 EC9706 细胞, 观察调控 CIAPIN1 基因表达对食管癌细胞生物学行为的影响, 为进一步研究 CIAPIN1 基因在食管癌中的作用积累实验依据。

### 1 材料和方法

**1.1 主要试剂和仪器** pENTR/D-TOPO、pLenti6/V5-DEST、pENTR<sup>TM</sup>/U6、pLenti6/BLOCK-iT<sup>TM</sup>-DEST、T<sub>4</sub> DNA 连接酶、LR 克隆重组酶 II、ViraPower<sup>TM</sup> Lentiviral Packaging Mix、Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000、293FT 细胞购自 Invitrogen 公司; 高保真酶 PrimeSTAR<sup>TM</sup> HS DNA Polymer-

ase、DNA 标志物购自宝生物工程(大连)有限公司; 质粒小量抽提试剂盒、凝胶回收试剂盒购自 Qiagen 公司; DMEM 培养液、胎牛血清购自 Gibco 公司; Matrigel 购自美国 BD 公司; 全长 CIAPIN1 cDNA 克隆 pOTB7-CIAPIN1 购自上海英为信生物科技有限公司; 鼠抗人 CIAPIN1 单抗 IgG (sc-271298)、山羊抗鼠 IgG-HRP (sc-2005) 购自 Santa Cruz 公司; CIAPIN1 表达较低的食管癌细胞株 EC9706 由郑州大学基础医学院保存。

**1.2 CIAPIN1 表达慢病毒载体构建** 依据 GenBank 中 CIAPIN1 (NM\_020313) 序列设计 CIAPIN1 基因扩增引物, 为载体构建及其在真核细胞中表达的需要, 在上游引物加上 CACC 序列, 下游引物去除终止子序列, pENTR/D-TOPO Forward 5'-CAC CAT GGC AGA TTT TGG GAT CTC T-3', pENTR/D-TOPO Reverse 5'-GGC ATC ATG AAG ATT GCT ATC-3', 由博尚生物技术有限公司合成。以含有全长 CIAPIN1 cDNA 克隆 pOTB7-CIAPIN1 为模板, pENTR/D-TOPO Forward 和 pENTR/D-TOPO Reverse 为引物, 用高保真酶 PrimeSTAR<sup>TM</sup> HS DNA Polymerase PCR 扩增出 CIAPIN1 基因; 扩增产物纯化后与载体 pENTR/D-TOPO 连接, 常规方法转化入感受态 TOP10 细胞 (Invitrogen 公司) 中, 37℃ 含卡那霉素的 LB 培养 18 h。随机挑取菌落, 增菌培养, 提取质粒, 以通用引物 M13 和扩增引物进行 PCR 扩增

**[收稿日期]** 2011-06-01 **[接受日期]** 2011-11-11**[作者简介]** 王 健, 博士生, 副主任医师. E-mail: wj68happy@yahoo.com.cn

\* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 0371-66295531, E-mail: fqx2243@yahoo.com.cn

初步鉴定,得到 pENTR/D-TOPO-CIAPIN1。pLenti6/V5-DEST 和 pENTR/D-TOPO-CIAPIN1 中加入 LR 克隆重组酶 II, 25℃ 孵育 1 h, 转化入感受态 Stbl3<sup>TM</sup> 细胞 (Invitrogen 公司), 37℃ 含氨苄青霉素的 LB 培养 18 h, 挑取菌落, 培养、提质粒, 进行测序分析, 得到 CIAPIN1 表达慢病毒载体 pLenti6/V5-DEST-CIAPIN1。

1.3 CIAPIN1 siRNA 慢病毒载体构建 按照 siRNA 靶序列设计原则和预实验结果, 确定出针对 CIAPIN1 的 siRNA 的特异性靶序列和无关对照序列, 互补发卡 DNA 单链的 5' 端分别加入 CACC 和 AAAA 以便于克隆入载体, siCIAPIN1 Forward 5'-CAC CGG TCT GGT GGA TAA GCT TCC GAA GAA GCT TAT CCA CCA GAC C-3', siCIAPIN1 Reverse 5'-AAA AGG TCT GGT GGA TAA GCT TCT TCG GAA GCT TAT CCA CCA GAC C-3', siCon Forward 5'-CAC CGT CCA ACA TGA TCG TGC GCC GAA GCG CAC GAT CAT GTT GGA C-3', siCon Reverse 5'-AAA AGT CCA ACA TGA TCG TGC GCT TCG GCG CAC GAT CAT GTT GGA C-3', 发卡 DNA 单链由博尚生物技术有限公司合成。用 T<sub>4</sub>DNA 连接酶, 将 siCIAPIN1 Forward 和 siCIAPIN1 Reverse, siCon Forward 和 siCon Reverse 的退火产物分别与 pENTR<sup>TM</sup>/U6 重组, 转化入 TOP10 细胞, 卡那霉素筛选培养, 得到 pENTR<sup>TM</sup>/U6-siCIAPIN1 和 pENTR<sup>TM</sup>/U6-siCon。分别增菌培养, 提取质粒 pENTR<sup>TM</sup>/U6-siCIAPIN1 和 pENTR<sup>TM</sup>/U6-siCon, 用 LR 克隆重组酶 II 将 siRNA 单元 siCIAPIN1 和 siCon 分别重组入 pLenti6/BLOCK-iT<sup>TM</sup>-DEST, 进行测序分析, 得到 CIAPIN1 siRNA 慢病毒载体和无关对照 siRNA 慢病毒载体, 即 pLenti6/BLOCK-iT<sup>TM</sup>-

DEST-siCIAPIN1 和 pLenti6/BLOCK-iT<sup>TM</sup>-DEST-siCon。

1.4 慢病毒的包装 用 0.25% 胰蛋白酶消化对数生长期的 293FT 细胞, 调整细胞密度为  $6 \times 10^8$  /L, 接种于 10 cm 细胞培养皿, 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养 24 h, 待细胞达 70%~80% 融合时即可用于转染。加 Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000、ViraPower<sup>TM</sup> Lentiviral Packaging Mix 和重组慢病毒载体 (pLenti6/V5-DEST-CIAPIN1、pLenti6/BLOCK-iT<sup>TM</sup>-DEST-siCIAPIN1、pLenti6/BLOCK-iT<sup>TM</sup>-DEST-siCon) DNA 进行转染, 参照 Invitrogen 公司的使用说明书操作。48 h 后收集病毒上清液, 4℃  $4\ 000 \times g$  离心 10 min, 再用 0.45 μm 的滤膜过滤后, 利用逐孔稀释法进行病毒滴度测定, 分装后 -80℃ 保存。

1.5 病毒感染和筛选 将 EC9706 细胞按  $10^5$  个/孔接种于 6 孔培养板, 培养 8 h 后, 慢病毒 (CIAPIN1 表达慢病毒、CIAPIN1 siRNA 慢病毒和无关对照 siRNA 慢病毒) 分别感染 EC9706 细胞, 病毒 MOI 与细胞数比例为 10:1, 同时加入 polybrene 使其终浓度 5 μg/ml。8 h 后更换新鲜培养液, 加入终浓度为 5 μg/ml 的 Blasticidin 筛选培养, 2~3 周后得到稳定转导的细胞。

1.6 RT-PCR 使用 ABI 公司 Primer Express 3.0 分析软件进行设计, 以 GAPDH 基因作为内参照, 引物、探针 (表 1) 由博尚生物技术有限公司合成。CIAPIN1 表达 EC9706 细胞、CIAPIN1 siRNA EC9706 细胞、无关对照 siRNA EC9706 细胞和空白 EC9706 细胞分别使用总 RNA 小量提取试剂盒提取 RNA, 按照 RT-PCR 试剂盒说明书进行操作, 使用 ABI 7500 fast PCR 仪扩增。根据 Ct 值得到对应表达基因的拷贝数, 以样本检测 CIAPIN1 基因拷贝数与内参 GAPDH 拷贝数的比值作为该基因的相对表达量。

表 1 RT-PCR 引物和探针

名称	引物、探针序列
CIAPIN1	Forward 5'-CCA GTG GAG GCT CTG AAA GG-3' Reverse 5'-GAC ACG CGG CCC TCA TT-3' Probe 5'-FAM-ATA AGC TTC AAG CGT TAA C-TAMRA-3'
GAPDH	Forward 5'-GGT GGT CTC CTC TGA CTT CAA CA-3' Reverse 5'-CCA AAT TCG TTG TCA TAC CAG GAA ATG-3' Probe 5'-FAM-CGA CAC CCA CTC CTC CAC CTT TGA CGC-TAMRA-3'

1.7 免疫印迹分析 收集各组细胞, 超声破碎细胞, 测定蛋白的含量, 取适量样品, 进行 SDS-PAGE; 电转到 PVDF 膜上用含 5% 脱脂奶粉 4℃ 封闭 6 h; 加入鼠抗人 CIAPIN1 单抗 IgG, 4℃ 下孵育过夜; 再用 1:2 000 山羊抗鼠 IgG-HRP 二抗孵育 1 h。化学发光法分别检测 PVDF 膜上 CIAPIN1 蛋白的表达量。

1.8 MTT 实验检测细胞增殖 取各组对数生长期的细胞, 稀释成  $4 \times 10^4$  /ml 的单细胞悬液, 接种于 96 孔细胞培养板, 每孔 200 μl。5% CO<sub>2</sub>, 37℃ 分别培养 24、48、72、96 h, 加入浓度为 5 mg/ml 的 MTT 20 μl, 继续在孵箱中培养 4 h, 弃上清液, 加入 DMSO 150 μl, 震荡 10 min, 使结晶物充分溶解, 在酶标仪 (iMark, 美国 BIO-RAD 公司) 上测定 490 nm 波长下

的光密度 (D) 值。以时间为横坐标, D 值为纵坐标, 用 Excel 软件绘制细胞生长曲线。

1.9 细胞周期测定 收集各组同步化过的细胞用 PBS 洗 2 次, 加入 4℃ 预冷的 75% 乙醇, 4℃ 固定过夜; 弃乙醇, PBS 洗 1 次, 加入 RNase 100 μg/ml, 加碘化丙啶 (PI) 染色剂, 避光染色 20 min, 用流式细胞仪 (FACS, 美国 BIO-RAD 公司) 检测细胞周期变化。

1.10 细胞凋亡检测 收集各组细胞用 PBS 洗 2 次, 用 250 μl 结合缓冲液重新悬浮细胞, 使其浓度为  $1 \times 10^5$  /ml。取 100 μl 的细胞悬液于 5 ml 流式管中, 每管加入 5 μl Annexin V /FITC 和 5 μl 20 μg/ml 的 PI, 避光混匀, 标记 15 min。对照不加 Annexin V 作校正因子。在反应管中加入 400 μl

PBS。用 FACS 检测,结果用随机软件分析。

1.11 细胞体外侵袭实验 使用 Boyden 小室,将含有 Matrigel 的无血清 RPMI 1640 培养液加到上层小室的滤膜上,37℃ 放置 2 h 使 Matrigel 形成凝胶备用。下室用无血清培养液培养的 NIH3T3 细胞的上清液 200 μl 作为趋化因子。上室中加入密度为 1×10<sup>6</sup>/ml 的细胞 400 μl。37℃、5%CO<sub>2</sub> 条件下培养 24 h。H-E 染色,显微镜下(×100)随机计数 6 个视野滤膜背面的细胞数。每组设 5 个平行实验。

1.12 统计学处理 采用 SPSS 12.0 软件包处理数据,结果用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用单因素方差分析,组间比较使用 LSD 法。检验水平( $\alpha$ )为 0.05。

## 2 结果

2.1 CIAPIN1 表达慢病毒载体构建结果 用 pENTR/D-TOPO Forward 和 pENTR/D-TOPO Reverse 扩增得到 939 bp 的全长 CIAPIN1 OFR cDNA 基因片段;与载体 pENTR/

D-TOPO 连接,卡那霉素平板上长出多个转化菌,随机挑取一个菌落,以上述引物 PCR 扩增鉴定得到 939 bp 基因片段。pENTR/D-TOPO-CIAPIN1 与 pLenti6/V5-DEST 克隆重组后,得到多个转化菌,随机挑取菌落培养、提取质粒,进行测序分析,插入序列与设计的 CIAPIN1(NM\_020313)全长 OFR cDNA 序列完全一致,即得到 CIAPIN1 表达慢病毒载体 pLenti6/V5-DEST-CIAPIN1。

2.2 CIAPIN1 siRNA 慢病毒载体构建结果 针对 CIAPIN1 的 siRNA 的特异性靶序列和无关对照序列的发卡 DNA 单链退火后均得到约 50 bp 的双链 DNA。分别与 pENTR<sup>TM</sup>/U6 重组后提取质粒,经 LR 克隆重组酶 II 分别与 pLenti6/BLOCK-iT<sup>TM</sup>-DEST 重组,转化后均得到多个转化菌,分别进行测序分析,结果见图 1,与设计的针对 CIAPIN1 siRNA 和无关对照序列完全一致,即得到 CIAPIN1 siRNA 慢病毒载体和无关对照 siRNA 慢病毒载体。

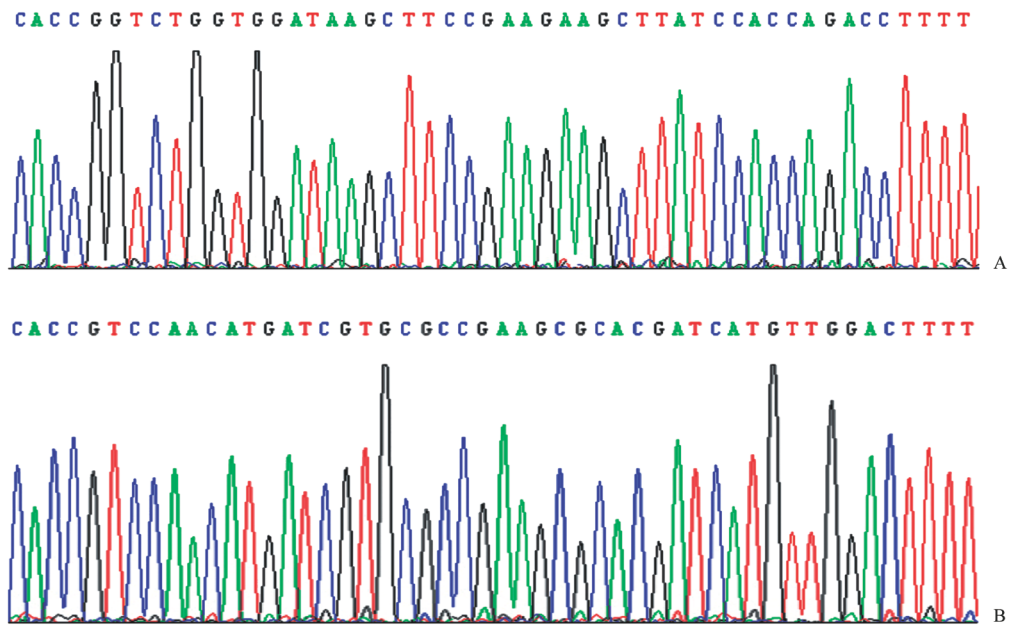


图 1 pLenti6/BLOCK-iT<sup>TM</sup>-DEST 插入序列测序峰图

A: CIAPIN1 siRNA 插入序列测序峰图;B: 无关对照 siRNA 插入序列测序峰图

2.3 RT-PCR 结果 结果见图 2。空白对照组与无关 siRNA 对照组比较,CIAPIN1 mRNA 相对表达量差异无统计学意义( $P > 0.05$ );而 CIAPIN1 表达组 CIAPIN1 mRNA 相对表达量较对照组升高( $P < 0.01$ ),CIAPIN1 siRNA 组 CIAPIN1 mRNA 相对表达量较对照组降低( $P < 0.01$ )。

2.4 免疫印迹结果 结果显示(图 3),在相对分子质量为 39 000 处各组均有印迹条带显现,CIAPIN1 表达组 CIAPIN1 的印迹强于空白对照组和无关 siRNA 对照组,而 CIAPIN1 siRNA 组 CIAPIN1 的印迹弱于空白对照组和无关 siRNA 对照组,表明构建的过表达 CIAPIN1 和抑制 CIAPIN1 表达的食管癌 EC9706 细胞株均获成功。

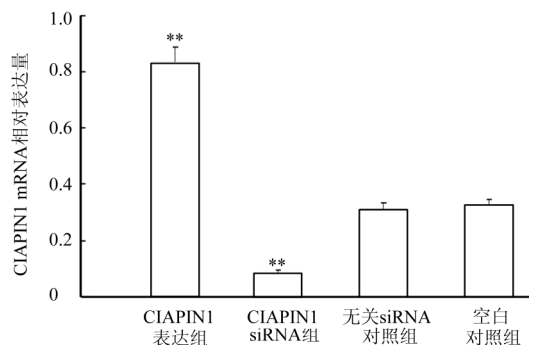


图 2 CIAPIN1 mRNA 的表达

\*\*  $P < 0.01$  与空白对照组和无关 siRNA 对照组比较。n = 5,  $\bar{x} \pm s$

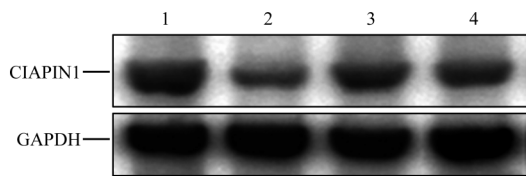


图 3 免疫印迹分析结果

1: CIAPIN1 表达组; 2: CIAPIN1 siRNA 组; 3: 无关 siRNA 对照组; 4: 空白对照组

2.5 MTT 检测结果 空白对照组、无关 siRNA 对照组和 CIAPIN1 siRNA 组细胞在 24、48、72、96 h 生长良好, 而 CIAPIN1 表达组细胞生长受到抑制 ( $P < 0.05$ , 图 4)。同时形态学观察表明, CIAPIN1 表达组细胞 48 h 就出现有细胞变圆, 且随着时间的延长, 圆缩脱落细胞增多。

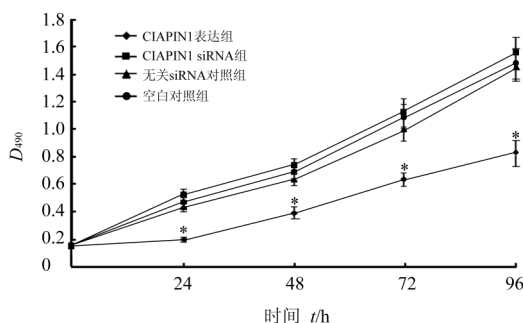


图 4 细胞生长曲线

\*  $P < 0.05$  与空白对照组比较.  $n = 5, \bar{x} \pm s$

2.6 细胞周期检测结果 细胞周期检测结果见图 5 和表 2, 空白对照组、无关 siRNA 对照组和 CIAPIN1 siRNA 组各期细胞比例差异无统计学意义。CIAPIN1 表达组 S 和  $G_2/M$  期细胞比例减少,  $G_0/G_1$  期细胞比例增加, 与 CIAPIN1 siRNA 组、空白对照组和无关 siRNA 对照组比较差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。

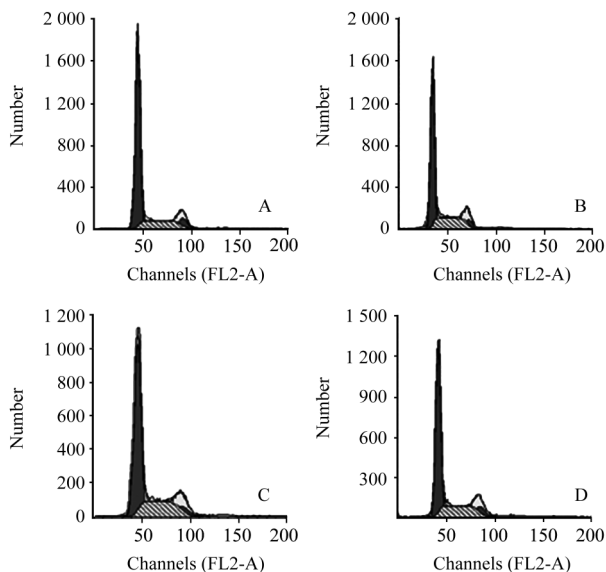


图 5 细胞周期检测

A: CIAPIN1 表达组; B: CIAPIN1 siRNA 组; C: 无关 siRNA 对照组; D: 空白对照组

表 2 细胞周期检测

(% ,  $n = 5, \bar{x} \pm s$ )

分组	$G_0-G_1$	S	$G_2-M$
A	73.17 ± 2.71	21.82 ± 0.42	5.01 ± 0.14
B	61.29 ± 2.12*	29.42 ± 0.52*	9.29 ± 0.32*
C	62.22 ± 1.98*	27.15 ± 0.63*	10.63 ± 0.27*
D	64.69 ± 2.61*	26.43 ± 0.54*	8.88 ± 0.31*

\*  $P < 0.05$  与 A 组比较. A: CIAPIN1 表达组; B: CIAPIN1 siRNA 组; C: 无关 siRNA 对照组; D: 空白对照组

2.7 细胞凋亡和细胞体外侵袭实验结果 结果见表 3。CIAPIN1 表达组的平均细胞凋亡率较无关 siRNA 对照组和空白对照组增加, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); CIAPIN1 表达组穿透 Matrigel 的平均细胞数较无关 siRNA 对照组和空白对照组减少, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。而 CIAPIN1 siRNA 组的平均细胞凋亡率和穿透 Matrigel 的平均细胞数, 与无关 siRNA 对照组和空白对照组比较差异均无统计学意义。

表 3 细胞凋亡和体外侵袭实验结果

( $n = 5, \bar{x} \pm s$ )

分组	细胞凋亡率 (%)	穿膜细胞数
CIAPIN1 表达组	16.11 ± 1.88	22.6 ± 6.8
CIAPIN1 siRNA 组	4.76 ± 0.49*	72.5 ± 14.2*
无关 siRNA 对照组	7.03 ± 0.81*	62.3 ± 10.7*
空白对照组	6.57 ± 0.94*	68.7 ± 12.1*

\*  $P < 0.05$  与 CIAPIN1 表达组比较

### 3 讨论

CIAPIN1 基因定位于 16 号染色体长臂 (16q1.3-2.1), 相对分子质量为 39 000, 有 8 个外显子和 7 个内含子, mRNA 1.7 kb。Shibayama 等<sup>[1]</sup>最早发现 CIAPIN1 可能是独立于凋亡调节分子 Bcl-2 家族、caspase 家族等之外的 RAS 信号转导通路中的一个新调节分子, 而 Ras 信号途径又是与许多细胞增殖有关的信号转导通路。Hao 等<sup>[4]</sup>研究发现 CIAPIN1 基因广泛分布于胎儿和成人的各种正常组织中。CIAPIN1 主要定位于细胞质和细胞核, 并在核仁有较明显的分布, 对细胞的增殖及分化具有重要的调控作用<sup>[5]</sup>。

Zheng 等<sup>[3]</sup>借助特异性 CIAPIN1 单克隆抗体对外科手术切除的 112 例食管癌组织蜡块标本进行免疫组化染色检测 CIAPIN1 表达, 结果发现, 在食管鳞癌组织中 CIAPIN1 表达水平随着肿瘤浸润深度的增加而降低, 低分化鳞癌中 CIAPIN1 表达水平显著低于高分化鳞癌, 无淋巴结转移者 CIAPIN1 多呈阳性表达, 而有淋巴结转移者常呈阴性表达。同时还发现 CIAPIN1 表达阴性患者术后生存率显著低于表达阳性者。以上结果提示, CIAPIN1 在食管鳞癌组织中的表达下调与食管鳞癌的发生、发展具有较大的相关性。类似的结果在胃癌<sup>[6]</sup>、肾透明细胞癌<sup>[7]</sup>、结直肠癌组织均有所发

现<sup>[8]</sup>。但是该研究并没有明确 CIAPIN1 与食管癌发生之间的因果关系,并不能够证明 CIAPIN1 是否参与了食管癌的发生、发展。为了进一步探讨 CIAPIN1 基因在食管癌发生、发展中的作用,本研究采用重组慢病毒 CIAPIN1 表达载体和 CIAPIN1 沉默载体感染食管癌 EC9706 细胞,观察调控 CIAPIN1 基因表达对食管癌细胞生物学行为的影响。有研究表明,CIAPIN1 基因的低表达促进胃癌的增殖<sup>[9]</sup>,高表达则可以抑制肾癌<sup>[7]</sup>和肺癌<sup>[10-11]</sup>细胞的生长,因此我们推测 CIAPIN1 基因也可能与食管癌细胞的增殖有着密切的关系。本研究结果显示,与对照组相比,CIAPIN1 基因高表达实验组细胞生长受到抑制,表明 CIAPIN1 基因的高表达可以抑制食管癌细胞的增殖。对于胃癌和肺癌的研究表明,CIAPIN1 在胃癌中的表达下调促进细胞周期的运转<sup>[9]</sup>,而在肺癌中的高表达则促使细胞出现 G/S 期阻滞现象进而诱发凋亡<sup>[10-11]</sup>,因此本研究进行了食管癌 EC9706 细胞的凋亡和细胞周期检测。结果表明,CIAPIN1 表达组 S 和 G<sub>2</sub>/M 期细胞比例减少,G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期细胞比例增加,与各对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),细胞凋亡实验显示高表达 CIAPIN1 基因可以增加食管癌 EC9706 细胞的凋亡。形态学研究发现,CIAPIN1 基因高表达组细胞 48 h 就出现有细胞变圆,且随着时间的延长,圆缩脱落细胞增多。以上结果表明,CIAPIN1 的高表达可以促进细胞周期阻滞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期进而诱发细胞凋亡,而这可能是 CIAPIN1 高表达抑制食管癌 EC9706 细胞增殖的机制之一。

Zheng 等<sup>[3]</sup>的研究还表明,CIAPIN1 的低表达与食管癌是否伴随淋巴转移有相关性,我们推测 CIAPIN1 可能与食管癌细胞的侵袭性密切相关。本研究的细胞体外侵袭实验结果显示,高表达 CIAPIN1 基因降低食管癌 EC9706 细胞侵袭和迁移的能力,证明 CIAPIN1 的表达下调可能是促进食管癌远处转移的重要因素之一。综上所述,本实验初步证实 CIAPIN1 基因参与了食管癌细胞的周期调控,可促进细胞凋亡和降低细胞侵袭迁移能力,有可能成为食管癌基因治疗的潜在靶点。

有趣的是,Li 等<sup>[12]</sup>研究显示,CIAPIN1 在肝癌组织中较正常组织中高表达,下调 CIAPIN1 表达可抑制肝癌细胞增殖,而且 Shibayama 等<sup>[1]</sup>的研究表明 CIAPIN1 是一种凋亡抑制分子。这些研究与包括本研究在内的多项研究并不相符,产生这一现象的原因可能是因为 CIAPIN1 在不同组织类型的肿瘤中作用不同。由此可见,肿瘤的发生、发展和调控是

一个极为复杂的过程,尚需进一步深入研究。

## [参考文献]

- [1] Shibayama H, Takai E, Matsumura I, Kouno M, Morii E, Kitamura Y, et al. Identification of a cytokine-induced antiapoptotic molecule anamorsin essential for definitive hematopoiesis[J]. *J Exp Med*, 2004, 199: 581-592.
- [2] Kanakura Y. Regulation and dysregulation of hematopoiesis by a cytokine-induced antiapoptotic molecule anamorsin[J]. *Hematology*, 2005, 10 (Suppl 1): 73-75.
- [3] Zheng X, Zhao Y, Wang X, Li Y, Wang R, Jiang Y, et al. Decreased expression of CIAPIN1 is correlated with poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Dig Dis Sci*, 2010, 55: 3408-3414.
- [4] Hao Z, Li X, Qiao T, Zhang J, Shao X, Fan D. Distribution of CIAPIN1 in normal fetal and adult human tissues [J]. *J Histochem Cytochem*, 2006, 54: 417-426.
- [5] Hao Z, Li X, Qiao T, Du R, Zhang G, Fan D. Subcellular localization of CIAPIN1[J]. *J Histochem Cytochem*, 2006, 54: 1437-1444.
- [6] Li X, Hao Z, Fan R, Zou X, Jin H, Pan Y, et al. CIAPIN1 inhibits gastric cancer cell proliferation and cell cycle progression by downregulating cyclinD1 and upregulating P27[J]. *Cancer Biol Ther*, 2007, 6: 1539-1545.
- [7] He L, Wang H, Jin H, Guo C, Xie H, Yan K, et al. CIAPIN1 inhibits the growth and proliferation of clear cell renal cell carcinoma. [J]. *Cancer Lett*, 2009, 276: 88-94.
- [8] Shi H, Zhou Y, Liu H, Chen C, Li S, Li N, et al. Expression of CIAPIN1 in human colorectal cancer and its correlation with prognosis[J]. *BMC Cancer*, 2010, 10: 477.
- [9] Hao Z, Li X, Qiao T, Li S, Lv Y, Fan D. Downregulated expression of CIAPIN1 may contribute to gastric carcinogenesis by accelerating cell proliferation and promoting cell cycle progression [J]. *Cancer Biol Ther*, 2009, 8: 1064-1070.
- [10] 王洋, 戚好文, 李晓华, 胡咏武, 陈旭昕, 刘杰. 腺病毒介导的 CIAPIN1 基因对肺癌细胞生长和细胞周期的影响[J]. *国际呼吸杂志*, 2008, 28: 257-260.
- [11] 王洋, 戚好文, 李晓华, 陈旭昕, 刘杰. CIAPIN1 在人肺癌组织中的表达及其对大小细胞肺癌 NCI-H446 细胞生长的影响[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2008, 24: 434-437.
- [12] Li X, Pan Y, Fan R, Jin H, Han S, Liu J, et al. Adenovirus-delivered CIAPIN1 small interfering RNA inhibits HCC growth *in vitro* and *in vivo* [J]. *Carcinogenesis*, 2008, 29: 1587-1593.

[本文编辑] 商素芳, 邓晓群