

DOI:10.16781/j.0258-879x.2021.12.1349

· 论 著 ·

ΔNp63上调3-羟-3-甲戊二酸单酰辅酶A还原酶表达促进食管鳞状细胞癌细胞增殖及迁移

王卫星^{1Δ}, 袁扬^{2Δ}, 刘敬禹¹, 江旭¹, 杨朝爱^{1*}

1. 海军军医大学(第二军医大学)长海医院介入治疗科, 上海 200433

2. 海军军医大学(第二军医大学)长海医院心血管外科, 上海 200433

[摘要] **目的** 探讨N端转译活性域缺失的肿瘤蛋白p63(ΔNp63)调控食管鳞状细胞癌细胞增殖及迁移的分子机制。**方法** 以人食管鳞状细胞癌细胞ECA109为模型,通过慢病毒介导的转基因在细胞中过表达ΔNp63。通过定量PCR及蛋白质印迹法检测3-羟-3-甲戊二酸单酰辅酶A还原酶(HMGCR)表达水平,通过染色质免疫沉淀(ChIP)和萤光素酶报告实验检测ΔNp63蛋白与HMGCR基因5'-非翻译区的结合;在细胞中过表达ΔNp63同时利用RNA干扰抑制HMGCR表达后,通过CCK-8检测细胞增殖情况,流式细胞术检测细胞凋亡情况,Transwell实验检测细胞迁移情况。**结果** ECA109细胞中过表达ΔNp63后,HMGCR的mRNA和蛋白质表达水平均提高($P < 0.01$)。ChIP及萤光素酶报告实验结果提示,ΔNp63识别位点位于HMGCR启动子-728~-747 bp区域。过表达ΔNp63同时抑制HMGCR表达组24、48、72 h时细胞增殖能力均低于单纯过表达ΔNp63组($P < 0.05$),细胞凋亡水平高于单纯过表达ΔNp63组[(26.9±1.9)% vs (16.6±1.5)%, $P < 0.01$],细胞的迁移率低于单纯过表达ΔNp63组[(33.4±3.1)% vs (52.2±2.6)%, $P < 0.01$]。**结论** ΔNp63通过上调HMGCR转录表达促进食管鳞状细胞癌细胞的增殖及迁移。

[关键词] 食管肿瘤;鳞状细胞癌;ΔNp63;甲羟戊酸途径;3-羟-3-甲戊二酸单酰辅酶A还原酶

[中图分类号] R 735.1

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2021)12-1349-06

ΔNp63 promotes proliferation and migration of esophageal squamous cell carcinoma cells by up-regulating the expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase

WANG Wei-xing^{1Δ}, YUAN Yang^{2Δ}, LIU Jing-yu¹, JIANG Xu¹, YANG Chao-ai^{1*}

1. Department of Interventional Therapy, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

2. Department of Cardiovascular Surgery, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China

[Abstract] **Objective** To investigate the molecular mechanism of tumor protein 63 with truncated transactivation domain (ΔNp63) in regulating the proliferation and migration of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) cells. **Methods** With ECA109 cells as a model, ΔNp63 was overexpressed in cells by transgene mediated with lentivirus. The expression level of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase (HMGCR) was detected by quantitative polymerase chain reaction and Western blotting, and the binding of ΔNp63 and the 5'-untranslated region (5'-UTR) of HMGCR was detected by chromatin immunoprecipitation (ChIP) and luciferase activity reporter assay. ΔNp63 was overexpressed in cells and the expression of HMGCR was inhibited by RNA interference. Cell proliferation was detected by cell counting kit 8 (CCK-8), apoptosis was detected by flow cytometry, and cell migration was detected by Transwell chamber culture. **Results** The mRNA and protein expression levels of HMGCR were increased after overexpressing ΔNp63 in ECA109 cells (both $P < 0.01$). The results of the ChIP and luciferase activity reporter assay showed that the ΔNp63 recognition site was located in the -728 to -747 bp region of the HMGCR promoter. The cell proliferation ability of the group overexpressing ΔNp63 and inhibiting HMGCR expression was significantly lower than that of the group overexpressing ΔNp63 alone at 24, 48 and 72 h (all $P < 0.05$); the level of apoptosis was (26.9±1.9)%, which was significantly higher than that of the group overexpressing ΔNp63 alone [(16.6±1.5)%, $P < 0.01$]; meanwhile, the cell migration rate was significantly lower than that

[收稿日期] 2021-01-04 **[接受日期]** 2021-07-30

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81572357)。Supported by General Program of National Natural Science Foundation of China (81572357).

[作者简介] 王卫星, 博士, 副主任医师. E-mail: wxwang1969@163.com; 袁扬, 助理研究员. E-mail: iamyuanyang@163.com

^Δ共同第一作者(Co-first authors).

*通信作者(Corresponding author). Tel: 021-81867332, E-mail: 13916142949@139.com

of the group overexpressing $\Delta Np63$ alone ($[33.4 \pm 3.1]\%$ vs $[52.2 \pm 2.6]\%$, $P < 0.01$). **Conclusion** $\Delta Np63$ can promote the proliferation and migration of ESCC cells by up-regulating the transcriptional expression of HMGCR.

[**Key words**] esophageal neoplasms; squamous cell carcinoma; $\Delta Np63$; mevalonate pathway; 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2021, 42(12): 1349-1354]

肿瘤蛋白 $p63$ 基因定位于人染色体 3q27~29 区域, 与抑癌基因 $p53$ 属于同一基因家族, 对于肿瘤细胞的增殖、迁移、分化及侵袭等均具有重要的调控作用^[1]。研究显示, $p63$ 基因的蛋白产物主要包括 2 类异构体, 即带有 N 端转录活性域的肿瘤蛋白 $p63$ (tumor protein 63 with transactivation domain, TAp63) 和 N 端转录活性域缺失的肿瘤蛋白 $p63$ (tumor protein 63 with truncated transactivation domain, $\Delta Np63$)^[1]。临床病理分析结果发现, $\Delta Np63$ 在多种不同类型的肿瘤组织中表达异常, 并且与肿瘤的发生、发展相关。在包括食管鳞状细胞癌在内的多种鳞状上皮细胞起源的恶性肿瘤组织中 $\Delta Np63$ 的表达水平高于对应的癌旁组织^[2-3]。Kaymak 等^[4] 研究发现, 野生型 $p53$ 可通过抑制甲羟戊酸途径促进肿瘤凋亡; Freed-Pastor 等^[5] 研究发现, 突变型 $p53$ 可通过上调甲羟戊酸途径的代谢水平促进乳腺癌的发生、发展, 但具体分子机制不明确。3-羟-3-甲戊二酸单酰辅酶 A 还原酶 (3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase, HMGCR) 是细胞内甲羟戊酸途径的关键限速酶^[6], 其转录启动子区域存在 $\Delta Np63$ 的潜在结合位点, 推测 $\Delta Np63$ 可能通过调控 HMGCR 表达的转录途径从而调控食管鳞状细胞癌甲羟戊酸途径的代谢水平。本研究拟揭示 $\Delta Np63$ 调控 HMGCR 表达的分子机制, 分析 $\Delta Np63$ 通过直接调控 HMGCR 表达对食管鳞状细胞癌细胞增殖、迁移及凋亡的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 人食管鳞状细胞癌细胞株 ECA109 购自中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心。DMEM、FBS 试剂及 Lipofectamine 2000 均购自美国 Invitrogen 公司。RNA 抽提、PrimeScript 反转录及 SYBR Premix Ex Taq 定量 PCR 试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司。BCA 蛋白定量试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。LightCycle

96 定量 PCR 仪购自美国 Roche 公司。分别表达 $\Delta Np63$ (LV. $\Delta Np63$) 及特异性针对 HMGCR 的短发夹 RNA (short hairpin RNA, shRNA) 片段 (LV.HMGCR^{shRNA}) 的慢病毒载体由和元生物技术 (上海) 股份有限公司构建。特异针对 HMGCR 的定量 PCR 引物 (上游引物序列 5'-TGA-TTGACCTTCCAGAGCAAG-3', 下游引物序列 5'-CTAAAATTGCCATTCCACGAGC-3'), 检测免疫共沉淀后 DNA 片段含量的 PCR 引物 (HMGCR 启动子-1~-324 bp 片段上游引物序列 5'-TTCACATAATGAGCATTTC-3', 下游引物序列 5'-GGACAGGAATTGTATTTTCAC-3'; HMGCR 启动子-259~-597 bp 片段上游引物序列 5'-GTGTTT-TCTTCGTAATGTG-3', 下游引物序列 5'-CTGTGC-GAACCTTACAGTTC-3'; HMGCR 启动子-562~-891 bp 片段上游引物序列 5'-CCAGTTACTCCTG-GCTGAAC-3', 下游引物序列 5'-TGAAATGTGCCT-CTCCTGCG-3'; HMGCR 启动子-848~-1 172 bp 片段上游引物序列 5'-AGAGCAGAAGGAAGAAGC-GCACAG-3', 下游引物序列 5'-GTGATAGGAAGC-ATCGG-3'; HMGCR 启动子-1 118~-1 438 bp 片段上游引物序列 5'-AGTCATCGACCTGACCC-TGC-3', 下游引物序列 5'-CTACGTCACGAACG-GTCGC-3'), 以及野生型及突变型 HMGCR 启动子序列均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成。萤光素酶报告检测载体 pGL4.2 及内参载体 pRL-CMV 均购自美国 Promega 公司。小鼠抗人 HMGCR 单克隆抗体及 HRP 标记的山羊抗小鼠二抗均购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 细胞培养及慢病毒感染 ECA109 细胞使用 DMEM (含 10% FBS) 于 5% CO₂、37 °C 条件下培养至对数生长期用于细胞转染实验。96 孔培养板中 ECA109 细胞培养至约 80% 融合时, 按感染复数为 100 加入重组慢病毒感染细胞。细胞感染 LV. $\Delta Np63$ 或共感染 LV. $\Delta Np63$ +LV.HMGCR^{shRNA} 为实验组, 感染空病毒 LV.Null 作为对照。病毒感染

24 h 可进行下一步实验。

1.3 定量PCR检测 *HMGCR* mRNA 表达 采用 TRIzol 试剂抽提各组细胞总 RNA, 取 1 μ g 总 RNA 进行反转录。使用定量 PCR 试剂盒定量检测细胞内 *HMGCR* mRNA 的表达水平。定量 PCR 反应体系: SYBR Premix Ex Taq 试剂 10 μ L, Rox Reference Dye 0.4 μ L, 10 μ mol/L 上下游引物各 0.4 μ L, 反转录产物 0.5 μ L, 补充去离子水 8.3 μ L 至 20 μ L。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 变性 60 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 20 s, 共 40 个循环。以 18S rRNA 反转录获得的 cDNA 作为内参, 通过 $\Delta\Delta$ Ct 法分析目的基因的相对表达量。

1.4 蛋白质印迹法检测 *HMGCR* 蛋白表达 采用常规胰酶消化法收集各组细胞, 加入自制细胞裂解液 (50 mmol/L pH 8.0 Tris, 5 mmol/L EDTA, 150 mmol/L NaCl, 0.5% 非离子去污剂 NP-40, 10 mmol/L PMSF, 1 mmol/L 二硫苏糖醇, 1 mg/mL 抑肽酶), 提取细胞总蛋白质, 采用 BCA 法检测总蛋白质浓度。各样本取 20 μ g 总蛋白质进行 12% SDS-PAGE, 采用半干法将凝胶中蛋白质转印至 PVDF 膜, 再以 5% 脱脂牛奶常温封闭 2 h, 加入 TBST 稀释相应 *HMGCR* 抗体 4 $^{\circ}$ C 过夜。取出后用 TBST 洗膜 3 次, 加入二抗室温孵育 2 h, 然后用 TBST 洗膜 3 次, 使用增强型化学发光液显影。采用图像分析软件 ImageJ 1.52a 进行条带光密度扫描分析, 以 β 肌动蛋白为内参, 计算 *HMGCR* 的相对表达量。

1.5 染色质免疫沉淀 (chromatin immunoprecipitation, ChIP) 检测 Δ Np63 结合 *HMGCR* 启动子位置 采用常规胰酶消化法收集 1×10^7 个 ECA109 细胞, 用 1% 甲醛交联细胞内的 DNA 结合蛋白与 DNA, 于 4 $^{\circ}$ C 进行超声裂解, 获得大小为 200~1 000 bp 的 DNA 片段。用特异性针对 Δ Np63 的 ChIP 级抗体结合蛋白-DNA 复合物, 通过免疫沉淀法分离出复合物并纯化获得 DNA。采用 PCR 检测捕获的 DNA 中 *HMGCR* 启动子序列不同区域片段的丰度。

1.6 萤光素酶报告实验 采用 PCR 扩增人基因组中 *HMGCR* 第一外显子区域前 1 500 bp 片段启动子 (野生型) 序列, -728~-747 bp 片段区域原始序列为 5'-TGGGAAGTGCATGCGTGTA-3'。人工合成突变启动子序列将 -728~-747 bp 片段区域改为 5'-GTTTCCTGTACGTATGTGCC-3', 其余序列维持不变。将野生型及突变型启动子序列分别

克隆入萤光素酶报告检测载体 pGL4.2。接种感染 LV. Δ Np63 的 ECA109 细胞于 24 孔板, 共转染重组萤光素酶报告检测载体及内参载体 pRL-CMV。转染 48 h 后裂解细胞, 吸取上清 10 μ L 于萤光素酶检测用 96 孔板, 加入 50 μ L 萤火虫/海参萤光素酶缓冲液, 用酶标仪检测发光活性, 根据萤火虫萤光素酶荧光强度/海参萤光素酶荧光强度的比值得到各组细胞裂解液中萤光素酶相对活性。

1.7 CCK-8 实验 采用常规胰酶消化法收集细胞, 在 96 孔板中接种细胞悬液 (100 μ L 每孔, 含 1 000 个细胞) 培养至 24、48、72 h 进行 CCK-8 实验。检测时向每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂, 将培养板在培养箱内孵育 1 h, 用酶标仪测定波长 450 nm 处的光密度 (D) 值。

1.8 细胞凋亡检测实验 按膜联蛋白 V-FITC/PI 染色检测试剂盒说明书操作。采用胰酶消化后收集 ECA109 细胞, PBS 洗涤 3 次, 重悬于 500 μ L 缓冲液 A。加入膜联蛋白 V-FITC 和 PI, 混匀后室温避光放置 15 min, 在反应管中加入 400 缓冲液 A, 行流式细胞术检测。

1.9 Transwell 检测实验 制备待测细胞单细胞悬液, 取 1×10^4 个 ECA109 细胞重悬于 200 μ L 无血清 DMEM, 加入 Transwell 上室, 下室中加入 500 μ L 含 10% FBS 的 DMEM, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 条件下孵育 24 h。取出小室, 用 PBS 清洗 3 次, 加入 4% 多聚甲醛溶液固定 30 min 后, 用棉棒轻柔擦除上室中残留细胞。用 0.1% 结晶紫染液染 15 min, 再用双蒸水漂洗 3 次后室温干燥。于光学显微镜下对下室细胞进行计数及拍照, 并计算细胞迁移率: 细胞迁移率 (%) = (下室细胞数/细胞总数) \times 100%。

1.10 统计学处理 数据采用 SPSS 15.0 软件进行分析。服从正态分布的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 t 检验; 多组间比较采用单因素方差分析, 多重比较采用 Tukey 法。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 ECA109 细胞中 Δ Np63 转录上调 *HMGCR* 表达 定量 PCR 结果显示, LV. Δ Np63 感染后 ECA109 细胞中 *HMGCR* mRNA 相对表达水平 (3.433 ± 0.233) 高于 LV.Null 感染组 (1.006 ± 0.037 , $P < 0.01$)。蛋白质印迹法检测结果显示,

LV.ΔNp63 感染组 ECA109 细胞中 HMGCR 蛋白相对表达水平高于 LV.Null 感染组 (0.29±0.03 vs 0.16±0.02, $P<0.01$, 图 1A)。定量 PCR 检测结果显示, HMGCR 启动子-562~-891 bp 片段经 ChIP 捕获后富集程度高于其他各区域片段 (图 1B), 提示 ΔNp63 蛋白结合于 HMGCR 启动子-562~

-891 bp 区域。萤光素酶报告实验结果显示携带-728~-747 bp 区域突变的 HMGCR 启动子相对活性较携带野生型启动子下降 [(19.9±2.1)% vs (104.6±3.2)%], $P<0.01$ 。上述结果提示, ECA109 细胞中 ΔNp63 可促进 HMGCR 基因转录和 HMGCR 蛋白表达。

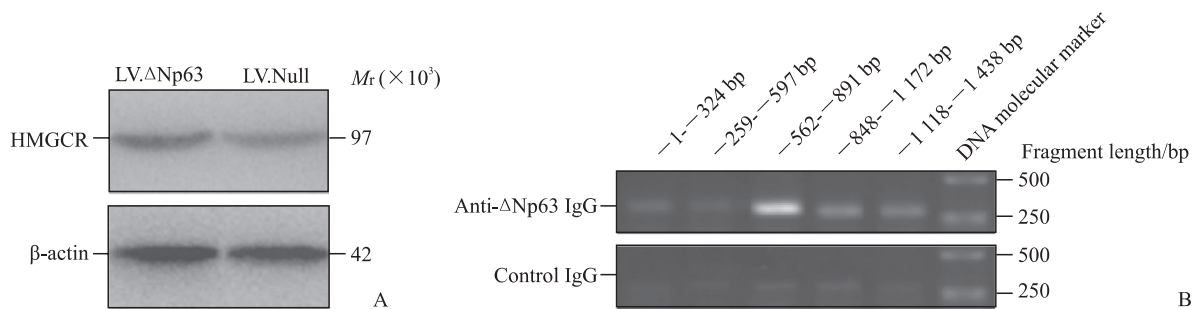


图 1 ECA109 细胞中 ΔNp63 对 HMGCR 表达的影响及转录调控位点分析

Fig 1 Effect of ΔNp63 on expression of HMGCR and the transcriptional regulation site analysis in ECA109 cells

A: The protein expression of HMGCR detected by Western blotting in ECA109 cells infected with LV.ΔNp63 or LV.Null; B: The abundance of DNA fragment in HMGCR gene 5'-flanking region recognized by ΔNp63 after chromatin immunoprecipitation. ΔNp63: Tumor protein 63 with truncated transactivation domain; HMGCR: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase; LV.ΔNp63: ΔNp63 overexpression lentivirus; LV.Null: Empty lentivirus; IgG: Immunoglobulin G.

2.2 过表达 ΔNp63 同时抑制 HMGCR 表达能够下调 ECA109 细胞增殖 CCK-8 检测结果 (图 2) 显示, LV.ΔNp63 感染组 ECA109 细胞的增殖活性高于 LV.Null 感染组 ($P<0.05$), 而 LV.ΔNp63+LV.HMGCR^{shRNA} 共感染组 ECA109 细胞的增殖活性较 LV.Null 感染组下降 ($P<0.05$), 提示抑制 HMGCR 表达能逆转 ΔNp63 对 ECA109 细胞增殖的促进作用。

组则低于 LV.Null 感染组 [(33.4±3.1)% vs (40.9±3.0)%], $P<0.01$, 提示抑制 HMGCR 表达能逆转 ΔNp63 对 ECA109 细胞迁移的促进作用。

2.3 过表达 ΔNp63 同时抑制 HMGCR 表达能够上调 ECA109 细胞凋亡率 流式细胞术检测结果 (图 3) 显示, LV.ΔNp63+LV.HMGCR^{shRNA} 共感染组、LV.ΔNp63 感染组及 LV.Null 感染组的细胞凋亡率分别为 (26.9±1.9)%、(16.6±1.5)% 及 (19.8±1.6)%, LV.ΔNp63+LV.HMGCR^{shRNA} 共感染组高于 LV.Null 感染组, 而 LV.ΔNp63 感染组低于 LV.Null 感染组 (P 均 <0.01), 提示抑制 HMGCR 表达能逆转 ΔNp63 对 ECA109 细胞凋亡的抑制作用。

2.4 过表达 ΔNp63 同时抑制 HMGCR 表达能够抑制 ECA109 细胞迁移率 Transwell 实验检测结果 (图 4) 显示, LV.ΔNp63 感染组细胞迁移率高于 LV.Null 感染组 [(52.2±2.6)% vs (40.9±3.0)%], $P<0.01$, 而 LV.ΔNp63+LV.HMGCR^{shRNA} 共感染

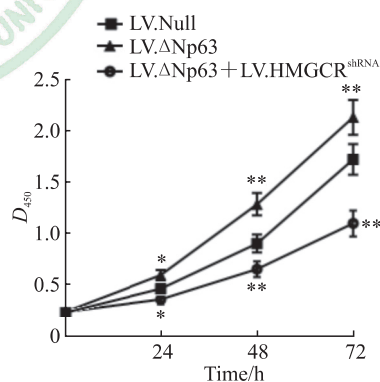


图 2 CCK-8 检测过表达 ΔNp63 同时抑制 HMGCR 表达对 ECA109 细胞增殖的调控作用

Fig 2 Regulatory effect of ΔNp63 overexpression and HMGCR inhibition on proliferation of ECA109 cells detected by CCK-8

* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs LV.Null group. $n=4$, $\bar{x}\pm s$. CCK-8: Cell counting kit 8; ΔNp63: Tumor protein 63 with truncated transactivation domain; HMGCR: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase; LV.Null: Empty lentivirus; LV.ΔNp63: ΔNp63 overexpression lentivirus; shRNA: Short hairpin RNA.

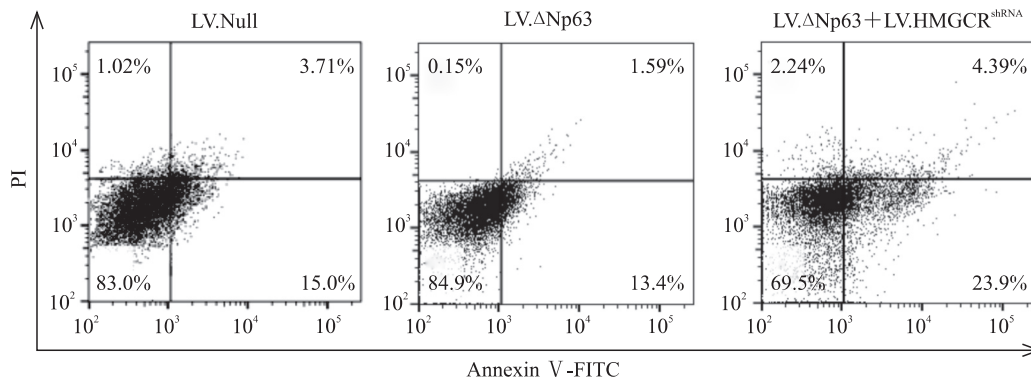


图 3 流式细胞术检测过表达 $\Delta Np63$ 同时抑制 $HMGCR$ 表达对 ECA109 细胞凋亡的影响

Fig 3 Effect of $\Delta Np63$ overexpression and $HMGCR$ inhibition on apoptosis of ECA109 cells detected by flow cytometry
 $\Delta Np63$: Tumor protein 63 with truncated transactivation domain; $HMGCR$: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme of A reductase; LV.Null: Empty lentivirus; LV.ΔNp63: $\Delta Np63$ overexpression lentivirus; shRNA: Short hairpin RNA.

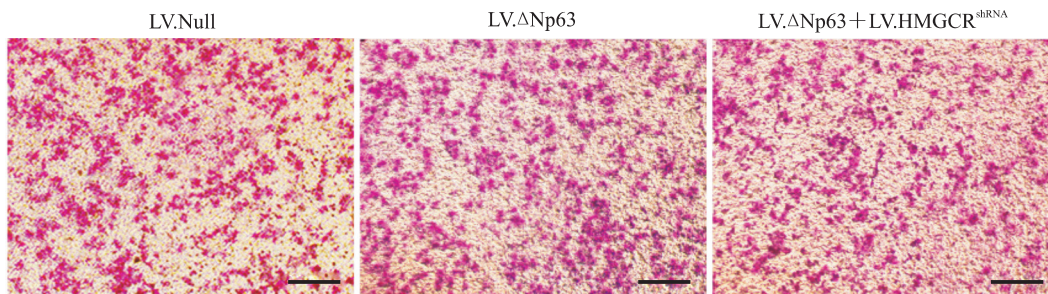


图 4 Transwell 实验检测过表达 $\Delta Np63$ 同时抑制 $HMGCR$ 表达对 ECA109 细胞迁移的影响

Fig 4 Effect of $\Delta Np63$ overexpression and $HMGCR$ inhibition on cell migration of ECA109 cells detected by Transwell assay

Scale bar=100 μm . $\Delta Np63$: Tumor protein 63 with truncated transactivation domain; $HMGCR$: 3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase; LV.Null: Empty lentivirus; LV.ΔNp63: $\Delta Np63$ overexpression lentivirus; shRNA: Short hairpin RNA.

3 讨论

p53 家族成员通过调控共有或者独特的靶基因表达, 在肿瘤细胞的增殖、迁移及分化等过程中发挥重要的调节作用^[7-9]。近年来有学者尝试通过调控该家族成员或其下游靶点的表达及活性开展肿瘤生物治疗的探索, 取得了长足的进展^[10]。由于 $\Delta Np63$ 被发现的时间较晚, 在多个方面的研究上处于相对滞后的状态^[1]。

有研究显示, $\Delta Np63$ 在膀胱癌、卵巢癌等癌组织中的表达水平较在相对应的癌旁组织中表达水平降低^[11-12]; 相反, 在多种鳞状上皮细胞起源的恶性肿瘤中 $\Delta Np63$ 的表达水平较相对应的癌旁组织高^[2]。前期结果证实, 在食管鳞状细胞癌细胞中 $\Delta Np63$ 表达升高, 体内外实验证实 $\Delta Np63$ 具有促进食管鳞状细胞癌细胞增殖、成瘤的作用^[13]。鉴于 $\Delta Np63$ 在不同肿瘤组织中表达变化趋势不一

致, 其对肿瘤细胞增殖潜能的调控作用可能是通过不同的信号通路实现的, 因此本实验进一步探索食管鳞状细胞癌细胞中 $\Delta Np63$ 调控细胞生物学活性的可能机制。本研究发现过表达 $\Delta Np63$ 能够上调食管鳞状细胞癌细胞中 $HMGCR$ 的 mRNA 及蛋白质表达, 提示 $\Delta Np63$ 可能在转录水平调控 $HMGCR$ 表达。ChIP 及萤光素酶报告实验进一步明确了 $\Delta Np63$ 在 $HMGCR$ 基因启动子区域的结合位点, 在使 $HMGCR$ 启动子区域 -728~-747 bp 位置序列突变后过表达 $\Delta Np63$ 不能正常转录启动子下游序列, 证实 $\Delta Np63$ 蛋白在食管鳞状细胞癌细胞中具有转录因子活性, 并直接增强了 $HMGCR$ 基因的转录表达。

本实验发现, 抑制 $HMGCR$ 表达能够逆转过表达 $\Delta Np63$ 对食管鳞状细胞癌细胞增殖、迁移的促进作用及对凋亡的抑制作用, 提示 $\Delta Np63$ 通过调控甲羟戊酸途径限速酶 $HMGCR$ 的表达影响甲羟

戊酸代谢,进而影响食管鳞状细胞癌细胞的生物学活性。临床研究结果显示,他汀类药物可能通过抑制甲羟戊酸途径抑制肿瘤的发展进程^[14-16],但是高剂量服用这类药物可能导致横纹肌溶解等不良反应^[17]。探索调控细胞内甲羟戊酸途径的分子机制并获得新的基因干预靶点,有望在提高抑制甲羟戊酸途径效果的同时避免药物带来的不良反应。本研究明确了 $\Delta Np63$ 通过直接转录上调HMGCR表达促进食管鳞状细胞癌细胞增殖、迁移活性的分子机制,为基于甲羟戊酸代谢途径开展的食管鳞状细胞癌基因治疗提供了潜在靶点。

[参考文献]

- [1] FISHER M L, BALINTH S, MILLS A A. p63-related signaling at a glance[J/OL]. *J Cell Sci*, 2020, 133: jcs.228015. DOI:10.1242/jcs.228015.
- [2] HSIEH M H, CHOE J H, GADHVI J, KIM Y J, ARGUEZ M A, PALMER M, et al. p63 and SOX2 dictate glucose reliance and metabolic vulnerabilities in squamous cell carcinomas[J/OL]. *Cell Rep*, 2019, 28: 1860-1878.e9. DOI: 10.1016/j.celrep.2019.07.027.
- [3] ROBINSON D J, PATEL A, PURDIE K J, WANG J, RIZVI H, HUFBAUER M, et al. Epigenetic regulation of iASPP-p63 feedback loop in cutaneous squamous cell carcinoma[J/OL]. *J Invest Dermatol*, 2019, 139: 1658-1671.e8. DOI: 10.1016/j.jid.2019.01.020.
- [4] KAYMAK I, MAIER C R, SCHMITZ W, CAMPBELL A D, DANKWORTH B, ADE C P, et al. Mevalonate pathway provides ubiquinone to maintain pyrimidine synthesis and survival in p53-deficient cancer cells exposed to metabolic stress[J]. *Cancer Res*, 2020, 80: 189-203.
- [5] FREED-PASTOR W A, MIZUNO H, ZHAO X, LANGERØD A, MOON S H, RODRIGUEZ-BARRUECO R, et al. Mutant p53 disrupts mammary tissue architecture via the mevalonate pathway[J]. *Cell*, 2012, 148(1/2): 244-258.
- [6] COATES H W, BROWN A J. A wolf in sheep's clothing: unmasking the lanosterol-induced degradation of HMG-CoA reductase[J]. *J Lipid Res*, 2019, 60: 1643-1645.
- [7] MCDADE S S, PATEL D, MORAN M, CAMPBELL J, FENWICK K, KOZAREWA I, et al. Genome-wide characterization reveals complex interplay between TP53 and TP63 in response to genotoxic stress[J]. *Nucleic Acids Res*, 2014, 42: 6270-6285.
- [8] CHEN Y, PENG Y, FAN S, LI Y, XIAO Z X, LI C. A double dealing tale of p63: an oncogene or a tumor suppressor[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2018, 75: 965-973.
- [9] MOSES M A, GEORGE A L, SAKAKIBARA N, MAHMOOD K, PONNAMPERUMA R M, KING K E, et al. Molecular mechanisms of p63-mediated squamous cancer pathogenesis[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20: 3590. DOI: 10.3390/ijms20143590.
- [10] BYKOV V J N, ERIKSSON S E, BIANCHI J, WIMAN K G. Targeting mutant p53 for efficient cancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18: 89-102.
- [11] HE Y, WU X, TANG W, TIAN D, LUO C, YIN Z, et al. Impaired delta Np63 expression is associated with poor tumor development in transitional cell carcinoma of the bladder[J]. *J Korean Med Sci*, 2008, 23: 825-832.
- [12] CHOW S E, CHANG Y L, CHUANG S F, WANG J S. Wogonin induced apoptosis in human nasopharyngeal carcinoma cells by targeting GSK-3 β and $\Delta Np63$ [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2011, 68: 835-845.
- [13] YUAN Y, ZENG Z Y, LIU X H, GONG D J, TAO J, CHENG H Z, et al. MicroRNA-203 inhibits cell proliferation by repressing $\Delta Np63$ expression in human esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *BMC cancer*, 2011, 11: 57. DOI: 10.1186/1471-2407-11-57.
- [14] MANTHRAVADI S, SHRESTHA A, MADHUSUDHANA S. Impact of statin use on cancer recurrence and mortality in breast cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Int J Cancer*, 2016, 139: 1281-1288.
- [15] NAYAN M, PUNJANI N, JUURLINK D N, FINELLI A, AUSTIN P C, KULKARNI G S, et al. Statin use and kidney cancer survival outcomes: a systematic review and meta-analysis[J]. *Cancer Treat Rev*, 2017, 52: 105-116.
- [16] GACHPAZAN M, KASHANI H, KHAZAEI M, HASSANIAN S M, REZAYI M, ASGHARZADEH F, et al. The impact of statin therapy on the survival of patients with gastrointestinal cancer[J]. *Curr Drug Targets*, 2019, 20: 738-747.
- [17] ITO M K, MAKI K C, BRINTON E A, COHEN J D, JACOBSON T A. Muscle symptoms in statin users, associations with cytochrome P450, and membrane transporter inhibitor use: a subanalysis of the USAGE study[J]. *J Clin Lipidol*, 2014, 8: 69-76.

[本文编辑] 尹 茶