

· 论 著 ·

干预 Wip1 基因对人肝癌细胞系 Huh-7 的影响

李哲¹, 刘军², 李晓明¹, 赵丽娟¹, 路健¹, 吴灵潼¹, 李秉寿¹

1. 山东大学附属省立医院普外科, 山东 济南 250021;

2. 山东大学附属省立医院器官移植肝胆外二科, 山东 济南 250021

摘要: **目的** 干预人肝癌细胞系 Huh-7 的野生型 p53 诱导的磷酸酶 1(Wip1) 基因的表达, 并观察其细胞生物学特性的变化。**方法** 采用转染法, 将促进 Wip1 基因表达的质粒和抑制 Wip1 基因表达的小干扰 RNA (siRNA) 分别转染 Huh-7 细胞。质粒转染的 Huh-7 细胞为质粒转染组, 未经质粒转染的为未转染组, siRNA 转染的为 siRNA 干扰组, 用 Negative Control siRNA 转染的为 NC 组。转染后, 行 Western blot、CCK-8、细胞划痕、Transwell 实验, 检测各组细胞生物学特性的变化。**结果** 质粒转染后, Huh-7 细胞 Wip1 蛋白的表达上调, 细胞增殖促进, 增殖率在 107.42% ~ 176.36% 之间。未转染组在 0 ~ 24 h、~ 48 h、~ 72 h 时的迁移距离分别小于质粒转染组: [(34.78 ± 4.77) μm vs (61.60 ± 2.02) μm, (33.98 ± 3.48) μm vs (64.75 ± 4.67) μm, (35.49 ± 0.90) μm vs (67.89 ± 4.23) μm, *P* 均 < 0.01]。未转染组 3 次 Transwell 实验的细胞迁移数均少于质粒转染组: [(90.00 ± 3.00) vs (178.67 ± 5.77), (74.33 ± 26.95) vs (209.00 ± 32.91), (79.33 ± 20.74) vs (208.67 ± 73.24), *P* 均 < 0.01]。siRNA 转染后, Huh-7 细胞 Wip1 蛋白的表达下调; 细胞抑制率在 12.37% ~ 40.81% 之间; NC 组在 0 ~ 24 h、~ 48 h、~ 72 h 时的迁移距离分别大于 siRNA 干扰组: [(31.24 ± 4.42) μm vs (16.04 ± 6.21) μm, (31.33 ± 2.13) μm vs (18.20 ± 5.67) μm, (32.45 ± 3.08) μm vs (18.99 ± 5.32) μm, *P* 均 < 0.01]; NC 组 3 次 Transwell 实验的细胞迁移数均多于 siRNA 干扰组: [(74.00 ± 12.17) vs (33.00 ± 10.44), (77.00 ± 5.00) vs (32.67 ± 2.08), (81.33 ± 17.16) vs (29.30 ± 2.51), *P* 均 < 0.01]。**结论** 促进 Huh-7 细胞 Wip1 基因表达后, 其 Wip1 蛋白的表达上调, 细胞增殖、迁移、侵袭能力增强。抑制 Huh-7 细胞 Wip1 基因表达后, 其 Wip1 蛋白的表达下调, 细胞增殖、迁移、侵袭能力被抑制。

关键词: 肝癌; 磷酸酶 1 基因; 质粒转染; 小干扰核糖核酸; 细胞生物学特性

中图分类号: R 735.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2016)10-1297-06

Influence of intervention of Wip1 gene on biological characteristics of human hepatoma cell line Huh-7

LI Zhe*, LIU Jun, LI Xiao-ming, ZHAO Li-juan, LU Jian, WU Ling-tong, LI Bing-shou

* Department of General Surgery, Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan, Shandong 250021, China

Corresponding author: LI Bing-shou, E-mail: 13969048388@163.com

Abstract: **Objective** To observe the changes of biological characteristics of human hepatoma cell line Huh-7 by intervening the expression of its wild type p53 induced-phosphatases 1 (Wip1) gene. **Methods** Using transfection method, the plasmid promoting Wip1 gene expression and small interfering ribonucleic acid (siRNA) inhibiting Wip1 gene expression were respectively transfected into Huh-7 cells. The Huh-7 cells with plasmid transfection were served as plasmid transfection group; the Huh-7 cells without plasmid transfection were served as non-transfection group; the Huh-7 cells with siRNA transfection were served as siRNA interference group, the Huh-7 cells with negative control siRNA transfection were served as NC group. After transfection, Western blot test, cell counting kit-8 (CCK-8), cell wound scratch assay and Transwell experiment were used to detect the biological characteristics of Huh-7 cells. **Results** After plasmid transfection, the Wip1 protein expression was up-regulated, and the cells proliferation was enhanced (cell proliferation rate was between 107.42% - 176.36%). The cell migration distances at 0 - 24 h, 24 - 48 h, 48 - 72 h after transfection in non-transfection group were less than those in plasmid transfection group, respectively [(34.78 ± 4.77) μm vs (61.60 ± 2.02) μm, (33.98 ± 3.48) μm vs (64.75 ± 4.67) μm, (35.49 ± 0.90) μm vs (67.89 ± 4.23) μm, all *P* < 0.01]. The cell migration numbers in the Tran-

swell experiments of 3 times in non-transfection group were all less than those in plasmid transfection group [(90.00 ± 3.00) vs (178.67 ± 5.77), (74.33 ± 26.95) vs (209.00 ± 32.91), (79.33 ± 20.74) vs (208.67 ± 73.24), all $P < 0.01$]. After siRNA transfection, the Wip1 protein expression was down-regulated, and the cells proliferation was inhibited (inhibition rate of cell proliferation was between 12.37% - 40.81%). The cell migration distances at 0 - 24 h, 24 - 48 h, 48 - 72 h after transfection in NC group were more than those in siRNA interference group, respectively [(31.24 ± 4.42) μm vs (16.04 ± 6.21) μm , (31.33 ± 2.13) μm vs (18.20 ± 5.67) μm , (32.45 ± 3.08) μm vs (18.99 ± 5.32) μm , all $P < 0.01$]. The cell migration numbers in the Transwell experiments of 3 times in NC group were all more than those in siRNA interference group [(74.00 ± 12.17) vs (33.00 ± 10.44), (77.00 ± 5.00) vs (32.67 ± 2.08), (81.33 ± 17.16) vs (29.30 ± 2.51), all $P < 0.01$]. **Conclusion** After promoting the expression of Wip1 gene in Huh-7 cells, its Wip1 protein expression is up-regulated, and the abilities of cell proliferation, migration and invasion are enhanced. After inhibiting the expression of Wip1 gene in Huh-7 cells, its Wip1 protein expression is down-regulated, and the abilities of cell proliferation, migration and invasion are inhibited.

Key words: Liver cancer; Phosphatases 1 gene; Plasmid transfection; Small interfering ribonucleic acid; Cellular biological characteristics

原发性肝癌(primary liver cancer, PLC)是我国最常见的恶性肿瘤之一,据 2004 年的数据显示,PLC 发病率在我国男性恶性肿瘤中排第三位,在女性恶性肿瘤中则居第四位^[1]。除了发病率高以外,PLC 的死亡率也较高。在我国 PLC 的男性死亡率为 36.48/10 万,女性死亡率为 13.39/10 万^[1]。PLC 的死亡率在城市恶性肿瘤死亡率中居第二位;而在农村,其死亡率更是位居首位^[2]。而在全球范围内,在恶性肿瘤所导致的死亡中,PLC 位居死因的第三位^[3]。

野生型 p53 诱导的磷酸酶 1(wild type p53 induced phosphatases, Wip1)是新近发现的一种原癌基因,它在多种肿瘤中存在高表达^[4],能够促进肿瘤生长,并且与患者预后密切相关^[5]。但关于 Wip1 基因在肝癌细胞中表达的研究较少。本研究采用转染方法干预人肝癌细胞系 Huh-7 细胞 Wip1 基因的表达,观察干预后 Huh-7 细胞生物学特性的变化。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞和质粒 细胞:人肝癌细胞系 Huh-7,由山东大学附属省立医院肝病中心提供。质粒:促进 Wip1 基因表达的靶向质粒由中国医学科学院北京协和医学院提供。

1.1.2 主要试剂 高糖型 DMEM(Gibco),胎牛血清(FBS, ExCell),转染试剂(NanoFection Transfection Reagent, ExCell),CCK-8(DOJINDO)。

1.1.3 主要仪器 超净工作台(BCM-1300,苏净安泰),CO₂ 细胞培养箱(HERACELL),荧光显微镜(OLYMPUS),低温高速离心机(Thermo),化学发光成像系统(FCE, Protein Simple),酶标仪(Model 680, BIO-RAD)。

1.1.4 小干扰核糖核酸(siRNA) 根据 NCBI 数据库中 Wip1 基因序列以及 siRNA 设计原则,设计并交由上海吉玛基因(GenePharma)合成。siRNA 序列为,正义链:CCA AUG AAG AUG AGU UAU AdT dT;反义链:UAU AAC UCA UCU UCA UUG GTT。另外设计并合成了阴性对照(Negative Control, NC) siRNA 作为实验的对照。NCsiRNA 序列为,正义链:UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT;反义链为:ACG UGA CAC GUU CGG AGA ATT。

1.1.5 实验分组 促进 Wip1 基因表达的质粒转染的 Huh-7 细胞称质粒转染组,未经质粒转染的称未转染组。siRNA 转染的 Huh-7 细胞称 siRNA 干扰组,用阴性对照 siRNA 转染的称 NC 组。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养 Huh-7 细胞在含 10% FBS 的 DMEM 培养液中,放置于 37 °C、5% CO₂ 细胞培养箱中进行培养,每天使用倒置显微镜进行观察,3 ~ 4 d 传代 1 次,传代比例为 1:3。

1.2.2 质粒转染 取对数生长期的细胞,调整计数,向 6 孔板内加入约 3.5×10^5 个细胞。细胞密度达 80% 左右时,将转染试剂与质粒、siRNA 按 2:1 比例混合转染,并加入无血清 DMEM,2 h 后弃去培养基,加 10% FBS DMEM 继续培养。

1.2.3 Western blot 实验 取对数生长期细胞提取蛋白,并测定蛋白浓度。蛋白变性后上样电泳,条件为 80 V、30 min,30 min 后调整至 120 V、40 min,封闭、洗膜后观察。

1.2.4 CCK-8 实验 取对数生长期细胞,调整计数使细胞密度为 1.0×10^5 个/ml。于 96 孔板内接种,使之成细胞数量梯度,每孔的细胞数量分别为 10 000、5 000、2 500、1 250、625 个,每孔体积为 100 μl

设置两个复孔,重复三次。接种后孵育 24、48、72 h,每孔加 CCK-8 10 μ l,测量 450 nm 处的 OD 值。于 24、48、72 h 检测各孔在 450 nm 处 OD 值,并根据细胞增殖率或抑制率的计算公式,计算各时间段各孔细胞增殖率或抑制率(表 1、2)。计算公式:细胞增殖率 = $[(As - Ab)/(Ac - Ab)] \times 100\%$,细胞抑制率 = $[(Ac - As)/(Ac - Ab)] \times 100\%$ 。As:实验孔,Ac:对照孔,Ab:空白孔。

1.2.5 细胞划痕实验 划线后,取对数生长期细胞,调整计数,使细胞密度约 3.5×10^5 个/ml。6 孔板每孔加 1 ml 细胞悬液,2 ml DMEM,培养 24 h。使用吸嘴沿直尺垂直于板底和标记线划痕,PBS 冲洗 $\times 2$ 次。划痕后即刻、24、48、72 h 进行观察。每次选取 3 个不同的位置测量划痕间距,实验重复 3 次。

1.2.6 Transwell 细胞侵袭实验 将基质胶与无血清 DMEM 按 1:7 比例混合,每个 Transwell 小室的上层加入混合液 100 μ l,孵育 24 h。取处于对数生长期的细胞,调整计数,使细胞浓度约 1.5×10^5 个/ml,向小室上层加 100 μ l 无血清 DMEM、200 μ l 细胞悬液,下层加 750 μ l 含 10% FBS 的 DMEM 培养基,孵育 24 h。Giesma 试剂染色后,将小室置于显微镜下观察,随机选取 3 个位置拍照,记录穿过的细胞数量。实验重复三次。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 18.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两因素重复测量方差分析进行比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

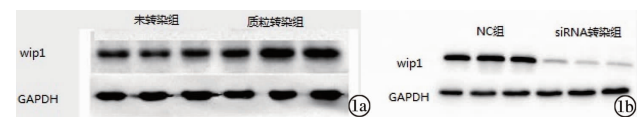
2.1 Western blot 实验结果 转染 48 h 后,行 Western blot 实验,发现未转染组 Wip1 蛋白条带表达比质

粒转染组低(图 1a)。NC 组 Wip1 蛋白条带表达比 siRNA 干扰组高(图 1b)。

2.2 CCK-8 实验结果 质粒转染后,促进 Huh-7 细胞增殖,增殖率在 107.42% ~ 176.36% 之间。见表 1。siRNA 转染后,抑制 Huh-7 细胞增殖,细胞抑制率在 12.37% ~ 40.81% 之间。见表 2。

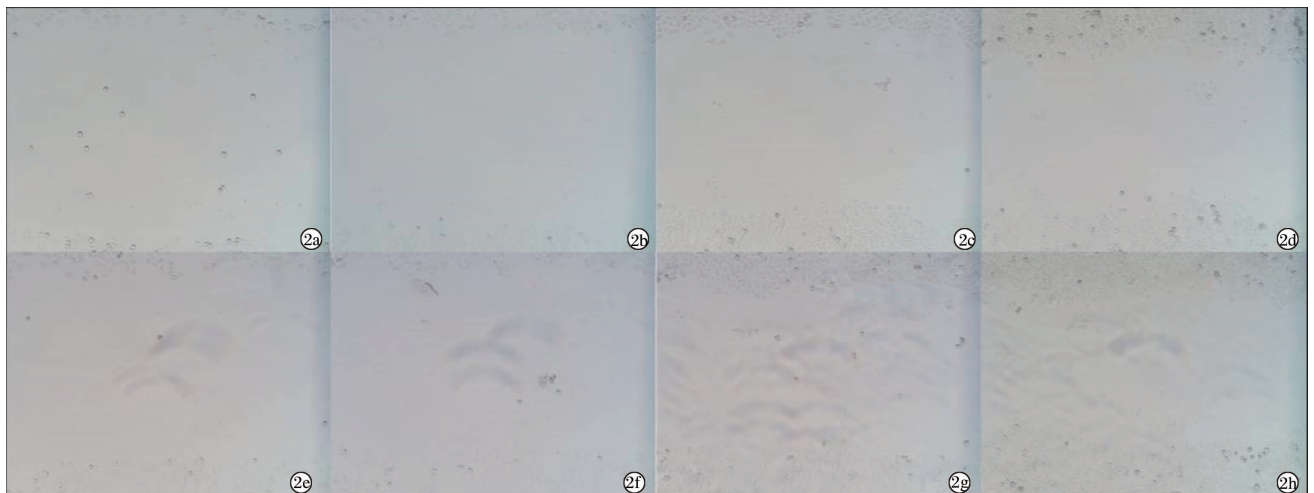
2.3 细胞划痕实验 于 0、24、48、72 h 四个时间点测量划痕间距(图 2、3),计算出每 24 h 的迁移距离(距离单位: μ m)。发现未转染组和质粒转染组各时间点迁移距离无明显变化(P 均 > 0.05),同一时间点未转染组迁移距离小于质粒转染组(P 均 < 0.01)。见表 3。NC 组和 siRNA 干扰组各时间点迁移距离无明显变化(P 均 > 0.05),但 NC 组迁移距离大于 siRNA 干扰组(P 均 < 0.01)。见表 4。

2.4 Transwell 实验 对未转染组与质粒转染组、NC 组与 siRNA 干扰组细胞行 Transwell 实验,实验后 24 h 染色观察(图 4),发现三次实验间未转染组与质粒转染组穿过小室的细胞数目稍有变化(P 均 < 0.05),三次实验未转染组穿过小室的细胞数目均小于质粒转染组(P 均 < 0.01)。见表 5。三次实验间 NC 组与 siRNA 干扰组穿过小室的细胞数目无明显变化(P 均 > 0.05),NC 组穿过小室的细胞数目大于 siRNA 干扰组(P 均 < 0.01)。见表 6。



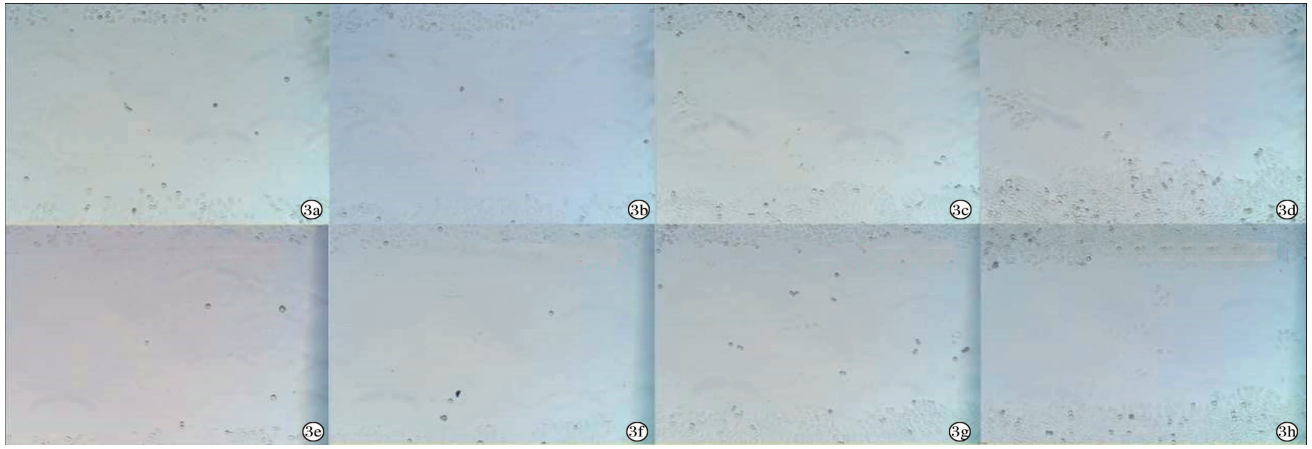
注:1a:质粒转染后未转染组与质粒转染组 Western blot 实验结果;1b:siRNA 转染后 NC 组与 siRNA 干扰组 Western blot 实验结果

图 1 Western blot 实验结果



注:2a:未转染组 0 h;2b:未转染组 24 h;2c:未转染组 48 h;2d:未转染组 72 h;2e:质粒转染组 0 h;2f:质粒转染组 24 h;2g:质粒转染组 48 h;2h:质粒转染组 72 h。

图 2 未转染组与质粒转染组 Huh-7 细胞细胞划痕实验结果



注:3a:NC 组 0 h;3b:NC 组 24 h;3c:NC 组 48 h;3d:NC 组 72 h;3e:siRNA 干扰组 0 h;3f:siRNA 干扰组 24 h;3g:siRNA 干扰组 48 h;3h:siRNA 干扰组 72 h。

图 3 NC 组与 siRNA 干扰组 Huh-7 细胞细胞划痕实验结果

表 1 各时间段各细胞数量梯度下质粒转染组 Huh-7 细胞的增殖率 (%)

时间	10000	5000	2500	1250	625
24 h	107.42	126.11	137.39	143.65	-
48 h	109.75	108.49	124.38	145.59	169.5
72 h	-	113.45	121.22	133.33	176.36

表 2 各时间段各细胞数量梯度下 siRNA 干扰组 Huh-7 细胞的抑制率 (%)

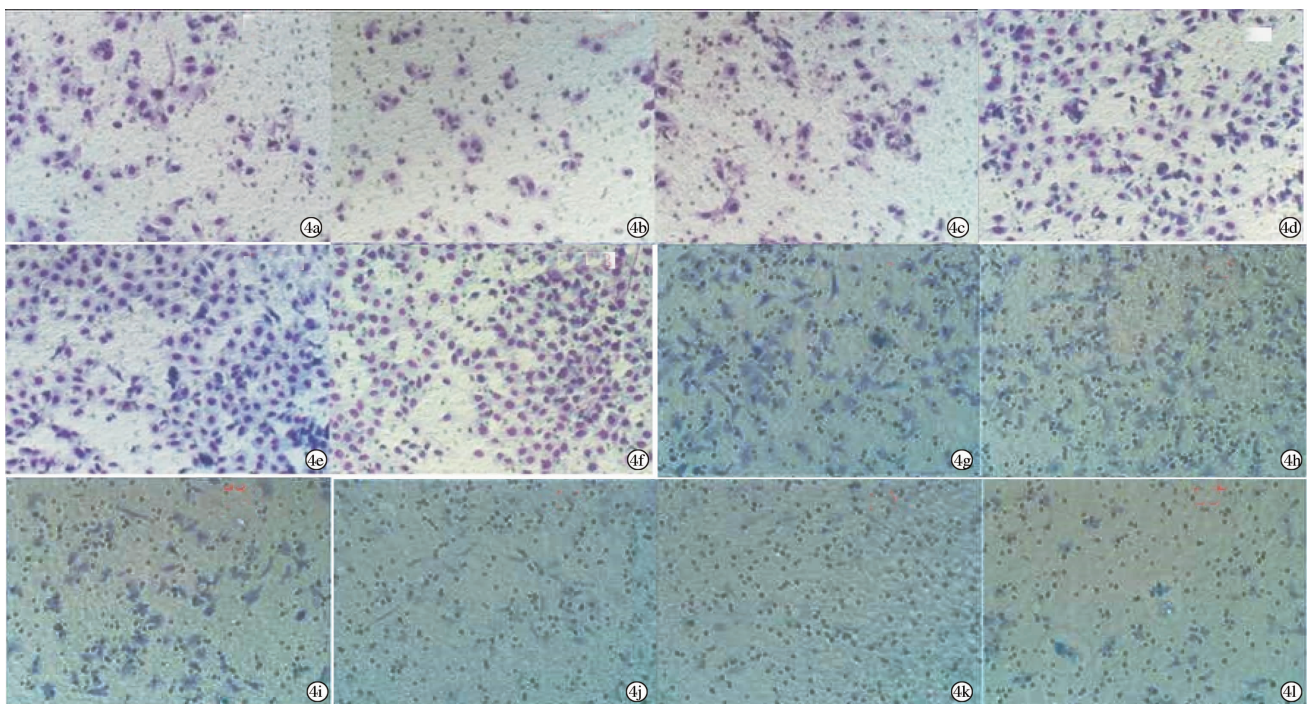
时间	10000	5000	2500	1250	625
24 h	16.75	34.02	33.96	29.32	-
48 h	12.37	17.75	28.97	38.65	40.81
72 h	-	26.05	35.56	33.82	27.31

表 3 未转染组与质粒转染组 Huh-7 细胞细胞划痕实验结果 ($\mu\text{m}, \bar{x} \pm s$)

组别	迁移距离			P 值
	0~24 h	~48 h	~72 h	
未转染组	34.78 ± 4.77	33.98 ± 3.48	35.49 ± 0.90	>0.05
质粒转染组	61.60 ± 2.02	64.75 ± 4.67	67.89 ± 4.23	>0.05
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	

表 4 NC 组与 siRNA 干扰组 Huh-7 细胞细胞划痕实验结果 ($\mu\text{m}, \bar{x} \pm s$)

组别	迁移距离			P 值
	0~24 h	~48 h	~72 h	
NC 组	31.24 ± 4.42	31.33 ± 2.13	32.45 ± 3.08	>0.05
siRNA 干扰组	16.04 ± 6.21	18.20 ± 5.67	18.99 ± 5.32	>0.05
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	



注:4a:未转染组第一次实验;4b:未转染组第二次实验;4c:未转染组第三次实验;4d:质粒转染组第一次实验;4e:质粒转染组第二次实验;4f:质粒转染组第三次实验;4g:NC 组第一次实验;4h:NC 组第二次实验;4i:NC 组第三次实验;4j:siRNA 干扰组第一次实验;4k:siRNA 干扰组第二次实验;4l:siRNA 干扰组第三次实验。

图 4 未转染组与质粒转染组及 NC 组与 siRNA 干扰组 Huh-7 细胞 Transwell 实验结果

表 5 未转染组与质粒转染组 Huh-7 细胞

Transwell 实验结果 (细胞数, $\bar{x} \pm s$)

实验	未转染组	质粒转染组	P 值
第一次实验	90.00 ± 3.00	178.67 ± 5.77	<0.01
第二次实验	74.33 ± 26.95	209.00 ± 32.91	<0.01
第三次实验	79.33 ± 20.74	208.67 ± 73.24	<0.01
P 值	<0.05	<0.05	

表 6 NC 组与 siRNA 干扰组 Huh-7 细胞

Transwell 实验结果 (细胞数, $\bar{x} \pm s$)

实验	NC 组	siRNA 干扰组	P 值
第一次实验	74.00 ± 12.17	33.00 ± 10.44	<0.01
第二次实验	77.00 ± 5.00	32.67 ± 2.08	<0.01
第三次实验	81.33 ± 17.16	29.30 ± 2.51	<0.01
P 值	>0.05	>0.05	

3 讨论

Wip1 基因由 Fiscella 等^[6]通过基因筛选的方法于 1997 年发现。Wip1 基因经由 PPM1D 基因编码^[7],定位在染色体的 17q22 ~ q23 处。Fiscella 等^[6]早期针对 Wip1 的研究提示 Wip1 基因与野生型 p53 基因有着密切的关系:Wip1 基因的表达依赖于活化的 p53 蛋白,而其表达产物 Wip1 蛋白(属于丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶 PP2C 家族),则能够使 p53 基因发生去磷酸化,活性降低,从而形成负反馈^[8]。

关于 Wip1 基因在恶性肿瘤中的作用,在乳腺癌、神经系统肿瘤中研究较多^[9-10],在 PLC 中则研究较少。Rauta 等^[11]认为在乳腺癌中,Wip1 基因的高表达影响患者的预后,即 Wip1 基因表达量高的患者预后较差。而 Yu 等^[12]则认为 Wip1 基因的表达量与预后无关。据 Goloudina 等^[13]报道,Wip1 基因的过量表达,可以使 p53 基因阴性的肿瘤细胞对抗癌药物的敏感性增加,从而影响患者的预后,使之发生变化。为初步研究 Wip1 基因在 PLC 中的作用,我们进行了该项实验。

图 1a 表明,未转染组 Wip1 蛋白条带在亮度和宽度方面均弱于质粒转染组,提示质粒转染已在翻译水平发挥作用,Wip1 蛋白的表达增强。观察图 1b,NC 组 Wip1 蛋白条带在亮度与宽度方面均强于 siRNA 干扰组,说明 siRNA 抑制了 Wip1 蛋白的表达,在翻译水平发挥了作用,Wip1 蛋白的表达被抑制。经 Western blot 实验验证质粒与 siRNA 的作用后,进行后续实验来检测转染后 Huh-7 细胞生物学特性方面的变化。

由表 1 可知质粒转染后,细胞增殖加快,增殖率在 107.42% ~ 176.36% 之间,大多数集中在 130% 左右,说明 Wip1 基因表达上调以后,对 Huh-7 的增殖

起促进作用。由表 2 可知 siRNA 转染后,细胞增殖受到抑制,抑制率在 12.37% ~ 40.81% 之间,大多集中在 30% 左右,提示 Wip1 基因表达下调后,对 Huh-7 细胞的增殖起抑制作用,且有一定限度。

由表 3 可知,未转染组每 24 小时的迁移距离均在 30 μm 左右,而质粒转染组则为 60 μm 左右,说明 Wip1 基因表达上调后,Huh-7 细胞的迁移能力显著增强。由表 4 可知 NC 组每 24 小时的迁移距离在 30 μm 左右,而 siRNA 干扰组的迁移距离在 17 μm 左右,提示 Wip1 基因表达下调后,Huh-7 细胞的迁移能力明显减弱。

观察表 5,每次实验未转染组穿过的细胞数目都远远少于质粒转染组。提示 Wip1 基因表达上调后,Huh-7 细胞的侵袭能力显著增强。观察表 6,每次试验 NC 组穿过的细胞数目都远远多于 siRNA 干扰组,说明 Wip1 基因表达下调后,Huh-7 细胞的侵袭能力明显减弱。

通过上述实验结果及分析可知,Wip1 基因表达上调可以促进 Huh-7 细胞的增殖,增强其迁移及侵袭能力,推测 Wip1 基因的高表达可能会促进 PLC 的增殖、侵袭及转移,这不是我们所希望见到的结果。而下调 Wip1 基因的表达,则能够抑制 Huh-7 的增殖,抑制其迁移及侵袭能力,推测 Wip1 基因的低表达可能会抑制 PLC 的增殖、侵袭及转移,对 PLC 的治疗能起到一定的作用。当然,这还需要后续的动物实验等进行进一步的验证。

本实验的不足在于没有涉及具体的通路机制研究。我们初步认为,干预 Wip1 基因后,Huh-7 细胞生物学特性发生变化可能与核因子(NF)- κB 相关。NF- κB 家族包含有 5 个亚单位:Rel (cRel)、p65 (RelA, NF- $\kappa\text{B}3$)、RelB、p50 (NF- $\kappa\text{B}1$) 和 p52 (NF- $\kappa\text{B}2$)^[14-15],而其中 p65 亚单位的去磷酸化,主要受 Wip1 蛋白的调控^[16-17]。而 Lowe 等^[18]发现,NF- κB 同样能够促进 Wip1 编码基因的转录,上调 Wip1 蛋白的表达。这些研究提示 Wip1 与 NF- κB 之间的关系密切,Wip1/NF- κB 可能为一固定的信号通路^[19-20]。因此可以推测,在 Wip1 基因受到干预后,Wip1 蛋白的表达受到影响,进一步作用于 NF- κB ,通过 Wip1/NF- κB 这一信号通路调控下游通路或蛋白的表达,从而影响 Huh-7 细胞的生物学特性,使之发生变化。这也需要后续的实验进行验证。

总之,促进 Huh-7 细胞 Wip1 基因的表达后,其 Wip1 蛋白的表达水平上调,增殖能力、迁移能力、侵袭能力增强。抑制 Huh-7 细胞 Wip1 基因的表达后,其 Wip1 蛋白的表达水平下调,增殖能力、迁移能力、

侵袭能力被抑制。

参考文献

- [1] 全国肿瘤防治登记办公室,全国肿瘤登记中心,卫生部疾病预防控制中心. 中国肿瘤登记年报 2004[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2008;31-82.
- [2] 陈竺. 全国第三次死因回顾抽样调查报告[M]. 北京:中国协和医科大学出版社,2008.
- [3] Parkin DM, Bray F, Ferlay J, et al. Global cancer statistics, 2002 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2005, 55(2): 74-108.
- [4] 李莉. Wip1 基因在肿瘤中的研究进展[J]. *医学综述*, 2012, 18(23): 3972-3974.
- [5] 梁朝辉. 以 Wip1 为靶点的抗肿瘤研究进展[J]. *癌变·畸变·突变*, 2011, 23(4): 312-314, 318.
- [6] Fiscella M, Zhang H, Fan S, et al. Wip1, a novel human protein phosphatase that is induced in response to ionizing radiation in a p53-dependent manner[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997, 94(12): 6048-6053.
- [7] Bulavin DV, Phillips C, Nannenga B, et al. Inactivation of the Wip1 phosphatase inhibits mammary tumorigenesis through p38 MARK-mediated activation of the p16(Ink4a)-p19(Arf) pathway[J]. *Nat Genet*, 2004, 36(4): 343-350.
- [8] Moon SH, Nguyen TA, Darlington Y, et al. Dephosphorylation of gamma-H2AX by WIP1; an important homeostatic regulatory event in DNA repair and cell cycle control[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(11): 2092-2096.
- [9] Emelyanov A, Bulavin DV. Wip1 phosphatase in breast cancer[J]. *Oncogene*, 2015, 34(34): 4429-4438.
- [10] Reitman ZJ. Smaller protein larger therapeutic potential: PPM1D as a new therapeutic target in brainstem glioma[J]. *Pharmacogenomics*, 2014, 15(13): 1639-1641.
- [11] Rauta J, Alarmo EL, Kauraniemi P, et al. The serine-threonine protein phosphatase PPM1D is frequently activated through amplification in aggressive primary breast tumours [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2006, 95(3): 257-263.
- [12] Yu E, Ahn YS, Jang SJ, et al. Overexpression of the wip1 gene abrogate the p38 MAPK/p53/Wip1 pathway and silences p16 expression in human breast cancers [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2007, 101(3): 269-278.
- [13] Goloudina AR, Mazur SJ, Appella E, et al. Wip1 sensitizes p53-negative tumors to apoptosis by regulating the Bax/Bcl-xL ratio [J]. *Cell Cycle*, 2012, 11(10): 1883-1887.
- [14] Pejanovic N, Hochrainer K, Liu T, et al. Regulation of nuclear factor κ B (NF- κ B) transcriptional activity via p65 acetylation by the chaperonin containing TCP1 (CCT) [J]. *PLoS One*, 2012, 7(7): e42020.
- [15] Espín-Palazón R, Traver D. The NF- κ B family: Key players during embryonic development and HSC emergence [J]. *Exp Hematol*, 2016, 44(7): 519-527.
- [16] Salminen A, Kaamiranta K. Control of p53 and NF- κ B signaling by WIP1 and MIF; role in cellular senescence and organismal aging [J]. *Cell Signal*, 2011, 23(5): 747-752.
- [17] Chew J, Biswas S, Shreeram S, et al. WIP1 phosphatase is a negative regulator of NF-kappaB signalling [J]. *Nat Cell Biol*, 2009, 11(5): 659-666.
- [18] Lowe JM, Cha H, Yang Q, et al. Nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) is a novel positive transcriptional regulator of the oncogenic Wip1 phosphatase [J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(8): 5249-5257.
- [19] Sun B, Hu X, Liu G, et al. Phosphatase Wip1 negatively regulates neutrophil migration and inflammation [J]. *J Immunol*, 2014, 192(3): 1184-1195.
- [20] Zhang L, Liu L, He Z, et al. Inhibition of wild-type p53-induced phosphatase 1 promotes liver regeneration in mice by direct activation of mammalian target of rapamycin [J]. *Hepatology*, 2015, 61(6): 2030-2041.

收稿日期: 2016-05-22 修回日期: 2016-06-25 编辑: 王海琴