

- 流[J].中国胸心血管外科临床杂志, 2016, 23(6):577-580.
- [4] 苏丽萍, 吕永祥. 直肠覆膜支架置入治疗直肠癌术后吻合口瘘的临床分析[J]. 实用癌症杂志, 2018, 33(10): 1604-1606.
- [5] 黄勤, 方从诚, 何必立, 等. 预防性覆膜食管支架用于早期食管癌内镜治疗的效果观察[J]. 浙江医学, 2018, 40(9): 990-992.
- [6] 张华玉, 刘将, 刘文平, 等. 覆膜金属支架在食管异物穿孔中的应用[J]. 东南国防医药, 2018, 20(4): 404-405.
- [7] 陈伟克, 肖荣耀, 蔡皎皓, 等. 胃癌根治术后吻合口瘘的危险因素及术前NRS2002评分的预测价值[J]. 浙江医学, 2019, 41(4): 345-347.
- [8] SIERZEGA M, KOLODZIEJCZYK P, KULIG J, et al. Impact of anastomotic leak-age on long-term survival after total gastrectomy for carcinoma of the stomach[J]. Br J Surg, 2010, 97(7): 1035-1042.
- [9] LUO J, LIN HC, HE K, et al. Diabetes and prognosis in older persons with colorectal cancer[J]. Br J Cancer, 2014, 110(7): 1847-1854.
- [10] 乐静, 赵涛, 刘爱林, 等. 恶性肿瘤合并糖尿病的营养状况及危险因素分析[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(19): 2849-2851.
- [11] LI SJ, WANG ZQ, LI YJ, et al. Diabetes mellitus and risk of anastomotic leakage after esophagectomy: a systematic review and meta-analysis[J]. Dis Esophagus, 2017, 30(6): 1-12.
- [12] 刘长浩, 朱佳. 45例食管癌术后吻合口瘘内镜辅助治疗的临床分析[J]. 肿瘤学杂志, 2016, 22(12): 1078-1080.
- [13] 蔡磊, 陈鹏程, 汪亮, 等. 胸腔内食管吻合口瘘治疗进展[J]. 现代医药卫生, 2018, 34(6): 867-870.

(收稿日期: 2019-08-22, 修回日期: 2019-11-13)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.12.039

◇ 临床医学 ◇

## DEAD-box 解螺旋酶 46 基因沉默对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响

张杨蕊

作者单位: 郑州大学第一附属医院病理科, 河南 郑州 450000

**摘要:**目的 分析短发夹RNA(shRNA)介导 DEAD-box 解螺旋酶 46(DDX46)基因沉默对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响。方法 采用实时荧光定量逆转录PCR(RT-qPCR)和蛋白质印迹法(Western Blot)测定人正常乳腺上皮细胞系和乳腺癌细胞系中 DDX46 表达差异。以慢病毒介导的 shRNA 敲低乳腺癌 SK-BR-3 细胞中 DDX46 的表达, 实验分为空白对照组、阴性对照组和 sh-DDX46 组。RT-qPCR 检测各组细胞 DDX46 mRNA 的表达水平, 蛋白质印迹法检测 DDX46 蛋白和凋亡相关蛋白的表达水平, 克隆形成和四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(MTT法)检测细胞生长增殖, 流式细胞仪检测细胞凋亡。结果 DDX46 mRNA 在各乳腺癌细胞系中的表达量均高于正常乳腺上皮细胞( $P < 0.05$ )。sh-DDX46 组细胞 DDX46 mRNA 和蛋白表达水平均明显低于空白对照组和阴性对照组( $P < 0.05$ )。sh-DDX46 组的细胞生长增殖能力明显低于两对照组( $P < 0.05$ )。空白对照组、阴性对照组和 sh-DDX46 组 SK-BR-3 细胞凋亡率分别为  $(4.21 \pm 1.65)\%$ 、 $(5.36 \pm 1.23)\%$  和  $(10.21 \pm 2.39)\%$ , 与空白对照组和阴性对照组相比, sh-DDX46 组 SK-BR-3 细胞凋亡率明显增加( $P = 0.007$ ;  $P = 0.016$ )。沉默 DDX46 后凋亡通路蛋白 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)的表达量明显降低( $P < 0.05$ ), Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)和半胱氨酸蛋白酶-3 剪切体(cleaved Caspase-3)表达明显增高( $P < 0.05$ )。结论 DDX46 在乳腺癌细胞中高表达, 沉默 DDX46 基因能够抑制乳腺癌细胞增殖并促进凋亡, 凋亡信号通路可能是其作用机制之一。

**关键词:** 乳腺肿瘤; RNA 解螺旋酶类; Bcl-2 相关 X 蛋白质; DDX46; 短发夹 RNA; 细胞凋亡

## Effects of DDX46 gene silencing on proliferation and apoptosis of breast cancer cells

ZHANG Yangrui

Author Affiliation: Department of Pathology, The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450000, China

**Abstract: Objective** To investigate the effects of short hairpin RNA (shRNA) interference targeting RNA helicases DEAD-box 46 (DDX46) gene silencing on the proliferation and apoptosis of breast cancer cells. **Methods** The expressions of DDX46 mRNA in different breast cancer cell lines and normal mammary epithelial cell line were determined by real-time fluorescent quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR) and Western blotting. The breast cancer SK-BR-3 cells were transfected with DDX46 shRNA (sh-DDX46 group) or scrambled sequences (negative control group), with untransfected SK-BR-3 cells as blank control (blank control group). DDX46 mRNA and protein levels of SK-BR-3 cells were detected after transfected respectively by RT-qPCR and

Western blotting. The cell proliferation and apoptosis were measured by colony formation assay, MTT assay and flow cytometry, and the apoptosis-related proteins expression levels were detected by Western blot analysis. **Results** The relative expression levels of DDX46 mRNA in all studied breast cancer cell lines were significantly higher than that in normal mammary epithelial cells ( $P < 0.05$ ). DDX46 mRNA and protein expressions in sh-DDX46 group were significantly lower than those in blank control group and negative control group ( $P < 0.05$ ). Cell growth and proliferation in sh-DDX46 group were significantly lower than those in the other two groups ( $P < 0.05$ ). The apoptosis rates of SK-BR-3 cells in blank control group, negative control group and sh-DDX46 group were  $(4.21 \pm 1.65)\%$ ,  $(5.36 \pm 1.23)\%$  and  $(10.21 \pm 2.39)\%$ , respectively. Compared with blank control group and negative control group, the apoptosis rate of SK-BR-3 cells in sh-DDX46 group was significantly increased ( $P = 0.007$ ;  $P = 0.016$ ). After DDX46 shRNA transfection, the expression levels of B-cell lymphoma/Leukemia-2 (Bcl-2) significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the expression of Bcl-2 associated X protein Bax and cleaved Caspase-3 significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** DDX46 is over-expressed in breast cancer cells. DDX46 gene silencing significantly inhibits the proliferation level and increases the apoptosis level of breast cancer cells and the mechanism may be associated with apoptosis signaling pathway.

**Key words:** Breast neoplasms; RNA helicases; Bcl-2-associated X protein; DDX46; Short hairpin RNA; Apoptosis

2018年中国国家癌症中心研究报告表明乳腺癌已经成为我国女性发病率最高的恶性肿瘤,给社会和家庭造成沉重的经济和心理负担<sup>[1]</sup>。目前的国际公认的乳腺癌标准治疗模式是以手术、放疗及化疗为主的综合治疗,但整体治疗疗效仍有待提高<sup>[2-6]</sup>。寻找与乳腺癌发生发展关系密切的基因和信号通路,对于确定新的乳腺癌治疗靶点具有重要意义。研究表明 DEAD-box (DDX)解螺旋酶与肿瘤细胞的增殖和发生发展密切相关<sup>[7]</sup>,DEAD-box解螺旋酶46,一般简称为DDX46(别名PRPF5或hPrp5),DDX46蛋白属于DDX解螺旋酶家族成员之一,现有研究表明DDX46与结直肠癌<sup>[8]</sup>、慢性淋巴细胞白血病<sup>[9]</sup>、食管鳞癌<sup>[10]</sup>、骨肉瘤<sup>[11]</sup>等多种恶性肿瘤发生发展和治疗预后相关。目前尚未检索到DDX46与乳腺癌的相关报道,DDX46在乳腺癌中的调控作用仍不清楚。本研究于2019年2—6月分析DDX46在人正常乳腺上皮细胞系和乳腺癌细胞系中的表达差异,应用短发夹RNA(shRNA)介导乳腺癌细胞的DDX46基因沉默,观察沉默DDX46基因对乳腺癌细胞生长增殖和凋亡的影响,初步探讨DDX46与乳腺癌的影响及其作用机制。

## 1 材料与方法

**1.1 主要材料** 人正常乳腺上皮细胞系HBL100和乳腺癌细胞系MCF-7、MDA-MB-231和SK-BR-3购于中国科学院细胞库。RPMI1640培养基购于上海经科化学科技有限公司,胎牛血清购于美国HyClon公司。慢病毒质粒Phelper1.0购于上海吉凯基因公司,实时荧光定量逆转录PCR(RT-qPCR)试剂购于赛默飞世尔科技(中国)有限公司,3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐(MTT)活性检测试剂盒购于上海碧云天生物技术公司,细胞凋亡检测试剂盒购于杭州联科生物技术有限公司。GAPDH抗

体、Anti-DDX46抗体、半胱氨酸蛋白酶-3剪切体(cleaved Caspase-3)抗体、B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)抗体和Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体均购于英国Abcam公司。

**1.2 细胞培养** HBL100、MCF-7、MDA-MB-231和SK-BR-3细胞均以含10%胎牛血清的RPMI1640培养基(含1%青霉素和链霉素),并培养于37℃、5%二氧化碳培养箱中,48 h后消化传代,取对数生长期的细胞进行实验。

**1.3 RT-qPCR** Trizol法提取实验各组细胞的总RNA,按照RT-PCR试剂盒标准步骤逆转录为cDNA后进行RT-qPCR实验。DDX46的正向引物序列和反向引物序列分别为5'-AAAATGGCGAGAAGAG-CAACG-3'和5'-CATCATCGTCCTCTAAACTCCAG-3',产物扩增长度为110 bp;内参基因GAPDH正向引物序列和反向引物序列分别为5'-TGACTTCAA-CAGCGACACCCA-3'和5'-CACCCTGTTGCTGTAGCCAAA-3',产物扩增长度为121 bp。将配置好的PCR反应溶液置于RT-qPCR仪上进行PCR扩增反应,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算DDX46 mRNA的相对表达量<sup>[12-13]</sup>。

**1.4 慢病毒感染和细胞筛选** 参照文献<sup>[14]</sup>中的实验方法应用pSIH1慢病毒载体转染shDDX46病毒和shGFP对照病毒,DDX46靶向敲低序列为5'-GATTGTGATTGAAGAAGAA-3'。以shDDX46病毒和shGFP对照病毒感染6孔板中的SK-BR-3细胞,48 h后加入1 mg/L嘌呤霉素进行筛选,直至亲本细胞全部死亡,采用RT-qPCR法检测重组慢病毒感染乳腺癌细胞后DDX46 mRNA的表达水平。根据慢病毒感染情况将SK-BR-3细胞分为空白对照组(未转染组)、阴性对照组(对照序列慢病毒感染组)和sh-DDX46组(DDX46-shRNA慢病毒感染组)。

**1.5 蛋白质印迹法(Western Blot)** 将各组SK-BR-3细胞裂解,提取样品蛋白进行蛋白电泳,上样量为每孔30 μg蛋白,浓缩胶条件为50 min 80 V,分离胶条件为100 min 100 V,常规转膜,封闭,加入DDX46、Bcl-2、Bax和cleaved Caspase-3一抗,一抗浓度为1:200,4℃杂交过夜,二抗(1:1 000)经37℃孵育4 h后,漂洗3次,在ECL发光液下显影,使用ImageJ分析目标蛋白灰度值(取平均值),以目标蛋白灰度值/GAPDH灰度值表示目标蛋白相对表达量。实验重复3次。

**1.6 克隆形成实验** 各组SK-BR-3细胞分别以500个/孔细胞接种于12孔培养板中,置于恒温培养箱(37℃、5%二氧化碳)中培养12~14 d,根据培养基PH值的变化及时更换培养液,待培养孔中出现肉眼可见的细胞菌落时,终止培养。95%乙醇固定15 min,1%结晶紫染色液染色20 min,磷酸缓冲盐溶液冲洗3次,干燥后于显微镜下计算细胞形成克隆数(>50个细胞的细胞集落为1个克隆),实验重复3次。

**1.7 四甲基偶氮唑盐微量酶反应比色法(MTT法)检测细胞增殖活力** 各组实验细胞以5 000个/孔细胞密度接种于96孔细胞培养板中,每组设3个复孔,分别于接种后培养0 h、24 h、48 h、72 h检测点进行MTT实验。每孔加入5 g/L MTT溶液20 μL,培养箱中37℃孵育4 h后弃上清。每孔加入二甲基亚砷200 μL,在摇床上震荡10 min充分溶解。在多功能酶标仪上测定490 nm波长处的吸光度值。实验重复3次。

**1.8 流式细胞仪检测细胞凋亡** 收取各组细胞培养液上清和经胰酶消化的贴壁细胞,800 r/min离心5 min,弃上清。加入PBS缓冲液,细胞的浓度调整为 $1 \times 10^6$ /mL;取100 μL细胞悬液,加入膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)进行双荧光标记,室温下避光孵育,30 min内于流式细胞仪检测凋亡细胞所占的比例。

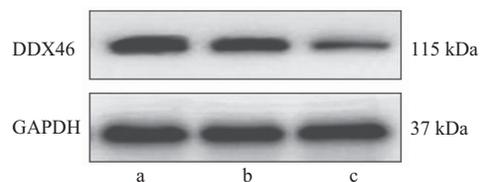
**1.9 统计学方法** 应用SPSS 21.0和GraphPad 8.0统计软件进行实验数据的分析和图片处理。实验中计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析各组样本均数之间的差异,多组间的两两比较采用Dunnett-*t*检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 乳腺癌细胞中DDX46 mRNA表达高于正常乳腺细胞** RT-qPCR结果表明,DDX46 mRNA在乳腺癌细胞系MCF-7、MDA-MB-231、SK-BR-3和正常人乳腺上皮细胞系HBL-100中的相对表达量分别

为 $(3.12 \pm 0.18)$ 、 $(2.86 \pm 0.22)$ 、 $(5.02 \pm 0.28)$ 和 $(1.02 \pm 0.06)$ ,DDX46 mRNA在各乳腺癌细胞中的表达均明显高于正常乳腺上皮细胞( $P < 0.001$ ),其中DDX46 mRNA在SK-BR-3细胞系中表达水平最高,故选择SK-BR-3细胞进行后续实验。

**2.2 shDDX46病毒感染可明显降低SK-BR-3细胞中DDX46表达** 实时荧光定量PCR检测结果表明,转染48 h后,空白对照组、阴性对照组和sh-DDX46组的DDX46 mRNA相对表达量分别为 $(1.08 \pm 0.09)$ 、 $(0.96 \pm 0.08)$ 和 $(0.29 \pm 0.06)$ ,sh-DDX46组与空白对照组和阴性对照组的差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),空白对照组与阴性对照组的差异无统计学意义( $P = 0.221$ )。蛋白质印迹法检测结果(图1)表明,转染48 h后,空白对照组、阴性对照组和sh-DDX46组的DDX46蛋白相对表达量分别为 $(0.75 \pm 0.05)$ 、 $(0.72 \pm 0.07)$ 和 $(0.21 \pm 0.03)$ ,sh-DDX46组的DDX46蛋白表达水平明显低于空白对照组和阴性对照组( $P < 0.001$ ),而空白对照组与阴性对照组的DDX46蛋白表达水平差异无统计学意义( $P = 0.541$ )。



注:a为空白对照组,b为阴性对照组,c为sh-DDX46组

图1 蛋白质印迹法检测DEAD-box解螺旋酶46(DDX46)蛋白的表达水平

**2.3 沉默DDX46表达抑制乳腺癌细胞的生长增殖** 克隆形成实验结果(图2A)表明,空白对照组、阴性对照组和sh-DDX46组SK-BR-3细胞克隆形成数分别为 $(159 \pm 29.35)$ 、 $(148 \pm 19.68)$ 和 $(82 \pm 16.98)$ ,与空白对照组和阴性对照组相比,sh-DDX46组SK-BR-3细胞克隆形成数显著减少( $P = 0.013$ ;  $P = 0.027$ ),空白对照组和阴性对照组相比差异无统计学意义( $P = 0.827$ )。MTT结果表明:24 h时空白对照组、阴性对照组和sh-DDX46组的吸光度值分别为 $(0.41 \pm 0.042)$ 、 $(0.37 \pm 0.032)$ 和 $(0.26 \pm 0.034)$ ,48 h时空白对照组、阴性对照组和sh-DDX46组的吸光度值分别为 $(0.68 \pm 0.062)$ 、 $(0.65 \pm 0.035)$ 和 $(0.36 \pm 0.043)$ ,72 h时空白对照组、阴性对照组和sh-DDX46组的吸光度值分别为 $(1.29 \pm 0.058)$ 、 $(1.22 \pm 0.071)$ 和 $(0.73 \pm 0.056)$ ,24 h、48 h和72 h各个时间点sh-DDX46组细胞的吸光度值均明显低于空白对照组和阴性对照组( $P < 0.05$ ),而空白对照组和阴性对

照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),提示 DDX46 降表达可抑制乳腺癌 SK-BR-3 细胞的增殖活力,详见图 2B。

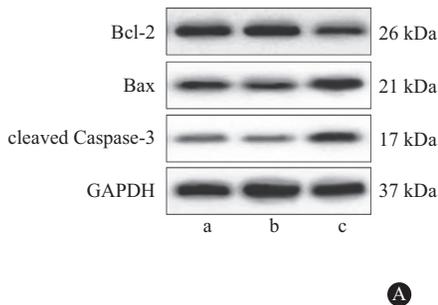
**2.4 沉默 DDX46 表达促进乳腺癌细胞凋亡** 流式细胞学实验结果(图 3)表明,空白对照组、阴性对照组和 sh-DDX46 组 SK-BR-3 细胞凋亡率分别为  $(4.21 \pm 1.65)\%$ 、 $(5.36 \pm 1.23)\%$  和  $(10.21 \pm 2.39)\%$ ,与空白对照组和阴性对照组相比,sh-DDX46 组 SK-BR-3 细胞凋亡率明显增加( $P = 0.007$ ;  $P = 0.016$ ),空白对照组和阴性对照组相比差异无统计学意义( $P = 0.723$ )。

**2.5 沉默 DDX46 表达对凋亡相关蛋白的影响** 应用蛋白质印迹法检测凋亡通路相关蛋白 Bcl-2、Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达水平结果(图 4、表 1)表明 sh-DDX46 组 SK-BR-3 细胞 Bcl-2 的相对表达量明显低于空白对照组和阴性对照组( $P < 0.05$ ),Bax 和 cleaved Caspase-3 表达明显高于空白对照组和阴性对照组( $P < 0.05$ ),空白对照组和阴性对照组 cleaved Caspase-3、Bcl-2 和 Bax 蛋白相对表达量均差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 1 各组细胞 B 细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)和半胱氨酸蛋白酶-3 剪切体(cleaved Caspase-3)蛋白的相对表达量  $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	Bcl-2	Bax	cleaved Caspase-3
空白对照组	3	0.91±0.08 <sup>a</sup>	0.31±0.05 <sup>a</sup>	0.14±0.03 <sup>a</sup>
阴性对照组	3	0.87±0.09 <sup>a</sup>	0.28±0.02 <sup>a</sup>	0.16±0.04 <sup>a</sup>
sh-DDX46 组	3	0.31±0.04	0.81±0.06	0.47±0.06
F 值		62.914	122.723	50.517
P 值		< 0.001	< 0.001	< 0.001

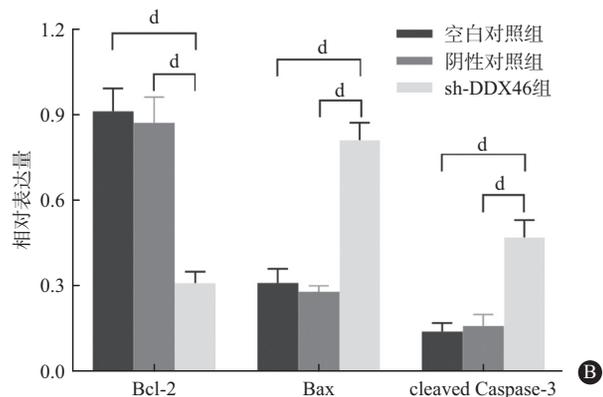
注:DDX46 为 DEAD-box 解螺旋酶 46。与 sh-DDX46 组比较,\* $P < 0.001$



### 3 讨论

DDX 解螺旋酶参与许多涉及 RNA 二级结构改变的细胞过程,如翻译起始、核和线粒体剪接、核糖体和剪接体组装,参与胚胎发育、精子形成、细胞生长和分裂。DDX46 的编码基因位于染色体 5q31.1, DDX46 蛋白是 17S U2 snRNP 复合体的组成部分,在 mRNA 剪接过程中起着非常重要的作用,DDX46 与细胞增殖、分化、器官发育和调节机体免疫系统密切相关,并参与调节多种恶性肿瘤发生发展<sup>[15-16]</sup>。本研究结果显示,DDX46 mRNA 在 3 种乳腺癌细胞系 MCF-7、MDA-MB-231 和 SK-BR-3 中的表达均明显高于正常乳腺癌上皮细胞,其中 SK-BR-3 细胞系表达水平最高,有类似的研究也发现在结直肠癌细胞<sup>[8,17]</sup>、食管鳞癌细胞<sup>[10]</sup>和骨肉瘤细胞<sup>[11]</sup>中 DDX46 mRNA 均呈高表达,另外, Lee 等<sup>[9]</sup>的研究发现在 DDX46 在慢性淋巴细胞白血病组织中高表达, DDX46 高表达与慢性淋巴细胞性白血病病人生存期不良有关,以上研究结论提示 DDX46 在多种癌和正常组织细胞中存在表达差异。

DDX46 与结直肠癌、食管癌、骨肉瘤等恶性肿瘤细胞的增殖和凋亡相关。Li Ming 等<sup>[8]</sup>的研究表明 87% 的结直肠癌病人核 DDX46 染色水平较高,与癌旁组织相比,结直肠癌组织中 DDX46 蛋白表达明显增加。用 DDX46 RNAi 慢病毒沉默人结肠癌细胞中 DDX46 的表达后,MTT 及克隆形成实验检测细胞生长增殖明显减少,DDX46 沉默通过增加 cleaved Caspase-3 和 cleaved PARP 的表达导致凋亡诱导,DDX46 对结直肠癌细胞增殖至关重要,是结直肠癌治疗的潜在治疗靶点。Li Bin 等<sup>[10]</sup>、李斌等<sup>[18]</sup>通过 shRNA 干扰技术靶向沉默食管癌 TE-1 细胞 DDX46 表达,沉默 DDX46 可通过下调 Akt/NF- $\kappa$ B



注:Bcl-2 为 B 细胞淋巴瘤/白血病-2,Bax 为 Bcl-2 相关 X 蛋白,cleaved Caspase-3 为半胱氨酸蛋白酶-3 剪切体。a 为空白对照组,b 为阴性对照组,c 为 sh-DDX46 组。\* $P < 0.001$

图 4 沉默 DEAD-box 解螺旋酶 46(DDX46)表达对凋亡信号通路相关蛋白的影响:A 为各组应用蛋白质印迹法检测细胞凋亡蛋白结果; B 为各组细胞凋亡蛋白相对表达水平柱状图

信号转导通路抑制肿瘤细胞增殖,诱导细胞凋亡。另有研究报道 DDX46 可通过调节的骨肉瘤 SaOS2 细胞中 PI3K 和 Akt 的磷酸化水平,影响骨肉瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和体内肿瘤的生长<sup>[11]</sup>。

与上述研究类似,本研究参考张淑芳等<sup>[14]</sup>的实验方法,通过慢病毒 shRNA 转染乳腺癌 SK-BR-3 细胞,建立稳定细胞系,细胞克隆形成实验和 MTT 实验检测表明沉默 DDX46 表达可显著抑制乳腺癌细胞的增殖和生长,流式细胞术检测发现 DDX46 基因沉默后乳腺癌细胞凋亡率明显增加。凋亡是细胞维持内环境稳定的重要方式,也是肿瘤细胞死亡的主要方式<sup>[19-20]</sup>。本研究应用蛋白质印迹法对凋亡通路蛋白进行检测发现,沉默 DDX46 后可诱导凋亡通路中的抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达下调,促凋亡蛋白 Bax 表达增强,同时凋亡关键蛋白 Cleaved Caspase-3 表达上调,提示沉默 DDX46 可能通过调节凋亡通路蛋白的表达诱导乳腺癌细胞凋亡。

综上所述,本研究结果表明 DDX46 在乳腺癌细胞系中高表达,沉默 DDX46 表达可抑制乳腺癌细胞的增殖,并通过调节凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达促进细胞凋亡,凋亡信号通路可能是其作用机制之一。本研究不足之处在于只选用一种人乳腺癌细胞系,且只在细胞层面初步探讨了 DDX46 的作用,在今后的研究中我们会对上述问题进行进一步研究,增加动物实验及临床预后分析,并对其相关作用机制进行深入探讨。

(本文图 2,3 见插图 12-5)

### 参考文献

- [1] 王海波,吕志栋.乳腺癌外科治疗研究现状及热点[J].中华实验外科杂志,2019,36(5):793-797.
- [2] 刘铭,张明军,杨育才,等.保乳治疗乳腺癌患者临床病理特征与预后的相关性[J].安徽医学,2019,40(1):9-13.
- [3] LOW SK, ZEMBUTSU H, NAKAMURA Y. Breast cancer: the translation of big genomic data to cancer precision medicine [J]. *Cancer Science*, 2018, 109(3):497-506.
- [4] EMENS LA. Breast cancer immunotherapy: facts and hopes [J]. *Clinical Cancer Research*, 2018, 24(3):511-520.
- [5] HILL DA, FRIEND S, LOMO L, et al. Breast cancer survival, survival disparities, and guideline-based treatment [J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2018, 170(2):405-414.
- [6] PEDROSA R, MUSTAFA DA, SOFFIETTI R, et al. Breast cancer brain metastasis: molecular mechanisms and directions for treatment [J]. *Neuro Oncol*, 2018, 20(11):1439-1449.
- [7] SARKAR M, KHARE V, GHOSH MK. The DEAD box protein p68: a novel coactivator of Stat3 in mediating oncogenesis [J]. *Oncogene*, 2017, 36(22):3080-3093.
- [8] LI M, MA Y, HUANG P, et al. Lentiviral DDX46 knockdown inhibits growth and induces apoptosis in human colorectal cancer cells [J]. *Gene*, 2015, 560(2):237-244.
- [9] ADMONI-ELISHA L, NAKDIMON I, SHTEINFER A, et al. Novel biomarker proteins in chronic lymphocytic leukemia: impact on diagnosis, prognosis and treatment [J/OL]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e148500. DOI: 10.1371/journal.pone.0148500.
- [10] LI B, LI YM, HE WT, et al. Knockdown of DDX46 inhibits proliferation and induces apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(1):223-230.
- [11] JIANG F, ZHANG D, LI G, et al. Knockdown of DDX46 inhibits the invasion and tumorigenesis in osteosarcoma cells [J]. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 2017, 25(3):417-425.
- [12] 杨泳,李杰宝,宋旗,等.短发卡RNA干扰乳脂球表皮生长因子-8基因慢病毒载体构建及其对乳腺癌细胞干扰的影响[J].中华实验外科杂志,2019,36(5):816-819.
- [13] 丁芳,马建林,吴晓巍,等.泛素羧基末端水解酶L5对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J].中华肿瘤杂志,2018,40(12):900-904.
- [14] 张淑芳,刘熹,张冲,等.DDX46基因慢病毒载体的构建及其在人膀胱癌细胞中的表达[J].安徽医学,2018,39(1):1-5.
- [15] ZHENG Q, HOU J, ZHOU Y, et al. The RNA helicase DDX46 inhibits innate immunity by entrapping m6A-demethylated antiviral transcripts in the nucleus [J]. *Nature Immunology*, 2017, 18(10):1094-1103.
- [16] HIRABAYASHI R, HOZUMI S, HIGASHIJIMA S, et al. Ddx46 is required for multi-lineage differentiation of hematopoietic stem cells in zebrafish [J]. *Stem Cells Dev*, 2013, 22(18):2532-2542.
- [17] 黄培,钱红英,孙屏,等.结直肠癌DDX46蛋白表达及其与C-erbB-2、Ki-67、p53和nm23蛋白表达的相关性[J].肿瘤研究与临床,2019,31(2):104-108.
- [18] 李斌,朱多杰,何雯婷,等.靶向沉默DDX46基因对食管鳞癌TE-1细胞增殖及凋亡的影响[J].中国胸心血管外科临床杂志,2017,24(6):463-468.
- [19] 杨忠信,黄志昂,潘丽红,等.TP2对人肺癌细胞增殖、凋亡及cleaved caspase-3表达的影响[J].中华解剖与临床杂志,2018,23(2):155-159.
- [20] DIWANJI N, BERGMANN A. An unexpected friend - ROS in apoptosis-induced compensatory proliferation: implications for regeneration and cancer [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2018, 80:74-82.

(收稿日期:2019-08-21,修回日期:2019-11-14)