

滑膜素对乳腺癌细胞迁移和增殖的影响

徐月梅¹, 帅玄钰¹, 李红妍¹, 黄文斌², 苏东明^{1,3*}

(¹南京医科大学病理学系, 江苏 南京 210029; ²南京医科大学附属南京医院病理科, 江苏 南京 210012; ³南京医科大学第二附属医院生物治疗中心, 江苏 南京 210003)

[摘要] 目的:探讨滑膜素(synoviolin)在乳腺癌组织中的表达情况及其对乳腺癌细胞 MCF-7 增殖和迁移能力的影响。方法:通过 Western blot、免疫组织化学染色及免疫组织芯片技术检测乳腺癌组织中滑膜素的表达水平;在乳腺癌细胞 MCF-7 中利用腺病毒过表达滑膜素,并以划痕实验、Transwell 迁移实验、CCK-8 细胞增殖试剂盒等检测其对于乳腺癌细胞 MCF-7 迁移和增殖能力的影响。结果:滑膜素在乳腺癌组织中的表达水平明显低于相应癌旁组织;过表达滑膜素能抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖和迁移能力;过表达滑膜素能抑制乳腺癌细胞 MCF-7 发生上皮-间质转化。结论:滑膜素在乳腺癌组织中低表达,可能与抑制乳腺癌细胞的迁移和增殖能力密切相关。

[关键词] 滑膜素;乳腺癌细胞 MCF-7;增殖和迁移;上皮-间质转化

[中图分类号] R737.9

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2015)04-496-07

doi:10.7655/NYDXBNS20150411

Synoviolin inhibits the migration and proliferation of breast cancer cells

Xu Yue mei¹, Shuai Xuanyu¹, Li Hongyan¹, Huang Wenbin², Su Dongming^{1,3*}

(¹Department of Pathology, NJMU, Nanjing 210029; ²Department of Pathology, Nanjing Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210012; ³Biological Treatment Center, the Second Affiliated Hospital of NJMU, Nanjing 210003, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the synoviolin expression in breast cancer tissues and its effects on the proliferation and migration of breast cancer cell line MCF-7. **Methods:** The expression of synoviolin in breast cancer tissues was detected by Western blotting and immunohistochemical staining. The proliferation and migration of MCF-7 cells were detected by CCK-8 kit assay, wound healing assay, and Transwell migration assay. The overexpression of synoviolin in MCF-7 cells was performed by adenoviral vector transfection. **Results:** The expression of synoviolin in breast cancer tissue was decreased than that of the corresponding peritumoral tissues; Overexpression of synoviolin inhibited the proliferation and migration as well as epithelial-mesenchymal transition (EMT) of the MCF-7 breast cancer cells. **Conclusion:** Down-regulation of synoviolin in patients with breast cancer may play a critical role in the proliferation and migration of breast cancer.

[Key words] synoviolin; MCF-7 breast cancer cells; proliferation and migration; EMT

[Acta Univ Med Nanjing, 2015, 35(04): 496-502]

乳腺癌是威胁女性健康的主要疾病之一,不同患者的生物学行为及对治疗的反应差异很大^[1]。患者多死于癌细胞的广泛转移,控制侵袭转移是治疗乳腺癌的关键。而在肿瘤细胞的侵袭转移过程中,

上皮-间质转化起到了重要的促进作用。E-cadherin 基因(CDH1)编码的 E-钙黏蛋白是一种经典的细胞间黏着蛋白,是上皮细胞的一种标记物。研究表明, E-cadherin 基因的缺失可导致肿瘤细胞转移和侵袭能力增强,可认为, E-cadherin 基因缺失导致的 E-钙黏蛋白表达水平下降是发生上皮-间质转化的主要标志之一^[2]。波形蛋白(vimentin)是一种重要的细胞骨架蛋白,属中间丝纤维蛋白^[3];研究发现, vimentin 可作为一种肿瘤标记物,与肿瘤增殖、侵袭、

[基金项目] 科技部 973 项目(2011CB504000);国家自然科学基金面上项目(81070656, 81171589);江苏省特聘医学专家科研资助专项

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: su_dongming@hotmail.com

转移及预后有关^[4-5]。因此,上皮-间质转化过程的发生可伴随 E-钙黏蛋白表达水平下降而波形蛋白表达水平的增加^[6]。

近年来人们已经发现哺乳动物大约有上千种 E3 泛素连接酶,涉及到与癌症、自身免疫、神经系统以及心血管疾病等有关的重要蛋白质的降解过程^[7]。研究证实,很多 E3 泛素连接酶参与乳腺癌的增殖转移,如泛素连接酶 CHIP 能够抑制乳腺癌干细胞的增殖,抑制乳腺癌的转移和生长进而抑制乳腺癌的恶性转化^[8]。另外,E3 泛素连接酶 TRIM32 能够促进抑癌基因 P53 的泛素化及降解,并且负性调节 P53 的转录活性从而促进乳腺癌的形成^[9];另一种泛素连接酶 Cullin7 也能通过下调 P53 的表达从而抑制乳腺癌细胞的增殖与侵袭^[10];而 TRIM37 作为一种新的 H2A 泛素连接酶,在乳腺癌中呈现高表达并能促进乳腺癌的转化^[11]。

滑膜素(synoviolin)是一个定位于内质网膜上的 ring-finger 结构域家族 E3 泛素连接酶^[12]。研究发现滑膜素与很多疾病的发病机制密切相关。如在阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)中,滑膜素通过促进细胞内 tau 蛋白的降解,减轻 tau 蛋白的毒性以保护神经细胞^[13];在类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)的滑膜组织中,高表达的滑膜素通过促进凋亡诱导因子肌醇需求酶(inositol-requiring enzyme 1, IRE1)的降解,从而刺激滑膜细胞增生而形成关节炎^[14]。但是滑膜素在乳腺癌中的作用及相关机制鲜有报道。因此,本课题主要研究滑膜素在乳腺癌组织中的表达以及其对乳腺癌细胞 MCF-7 增殖、迁移和发生上皮-间质转化过程的影响,以期为临床治疗乳腺癌找到新的治疗靶点。

1 材料和方法

1.1 材料

MCF-7 乳腺癌细胞系(美国模式培养物集存中心, ATCC)。人新鲜乳腺癌组织(170 例)及相应癌旁组织(90 例)来自大连医科大学附属第一医院。乳腺癌石蜡切片来自南京医科大学附属南京医院病理科。兔抗 synoviolin 多克隆抗体购自苏州百奇生物科技公司;兔抗 E-cadherin、兔抗 N-cadherin、兔抗 GAPDH 等抗体购自美国巴傲德生物科技公司;鼠抗 vimentin 抗体(Santa Cruz 生物公司,美国),鼠抗 actin、HRP 标记的抗兔、抗小鼠 IgG 等(Sigma 公司,美国);免疫组化所用二抗为 DAKO 通用型(北京中杉金桥生物技术公司)。Ad-synoviolin 由上海吉凯基因化学

技术有限公司构建;DMEM 高糖培养基(HyClone 公司,美国);胎牛血清(BI 公司,以色列)。RIPA(强)蛋白裂解液(大连碧云天生物技术公司);结晶紫染料粉末(Sigma 公司,美国);Transwell 小室购自美国默克密理博有限公司;TGF- β 1 蛋白(派普泰克公司,美国);ECL 发光试剂盒(杭州联科生物公司);化学发光凝胶成像系统及电泳仪等(Bio-Rad 公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

MCF-7 乳腺癌细胞使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基,置于含 5%CO₂、饱和湿度的 37℃ 细胞培养箱中培养。

1.2.2 蛋白提取

从-80℃ 冰箱取出乳腺癌及相应癌旁新鲜组织,称取适量组织;按相应比例(200 μ g:100 μ l)加入含有 PMSF(1 mmol/L)的 RIPA(强)蛋白裂解液,经组织匀浆机匀浆后离心去上清,BCA 比色法测定蛋白浓度;乳腺癌细胞 MCF-7 裂解前用适量磷酸盐缓冲液清洗 2~3 遍,然后同法加入相应 RIPA 蛋白裂解液,超声裂解后离心提取细胞总蛋白,BCA 比色法测定蛋白浓度。

1.2.3 Western blot 实验

取相同量总蛋白进行 SDS-PAGE 电泳;80 V 30 min 后,120 V 电泳 90 min;采用甘氨酸转膜液转膜,95 V 冰上湿转印 90 min,将蛋白转印到甲醇激活的 PVDF 膜上,然后用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1.5 h。根据实验需要,加入抗 synoviolin 抗体(1:500)、抗 GAPDH 抗体(1:5 000)、抗 actin 抗体(1:5 000),4℃ 摇床孵育过夜;次日取出膜用 TBST 洗 3 次,每次 5 min;然后根据一抗再加入相应的兔二抗(1:8 000)或鼠二抗(1:8 000)室温摇床孵育 1 h;TBST 洗膜 3 次,每次 10 min;加入适量 ECL 发光液(A、B 液等比混合),利用化学发光凝胶成像系统进行曝光读片分析。

1.2.4 免疫组织化学染色

此过程均在南京医科大学附属南京医院病理科完成。所有标本均用 10% 中性福尔马林液固定,常规石蜡包埋,4 μ m 厚连续切片 3~4 张,分别行 HE 染色和免疫组化染色。免疫组化采用 Envision 法,梯度酒精脱水,丙酮固定,抗原修复采用 0.1 mmol/L 枸橼酸盐缓冲液(pH6.0)高压锅修复;加入适量 synoviolin 抗体(1:500),4℃ 过夜;次日常 PBST 冲洗切片 3 次,每次 5 min,然后加入通用型二抗,室温 30 min, PBST 冲洗 3 次,每次 5 min;苏木素复染,氨水返蓝,中性树胶封片,镜下观察。以 PBS 代替一抗作为

阴性对照。

1.2.5 免疫组织芯片

由上海芯超生物科技有限公司与本实验室共同完成。一共包含乳腺癌组织 170 个芯,相应的乳腺癌旁组织 90 个芯。抗 synoviolin 抗体的浓度为 1:3 000。

1.2.6 Ad-synoviolin 感染

将乳腺癌细胞以 4×10^5 个/孔的密度接种至 6 孔板中,置于 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 细胞培养箱中培养。待其生长至密度融合约 80%时,将添加 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基更换为含有 Ad-synoviolin(MOI=100) 的无血清 DMEM 高糖培养基,置于 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 细胞培养箱中培养 2 h 后给细胞补液,4~6 h 后换新鲜不含胎牛血清的 DMEM 培养基;继续培养 48 h 提取细胞总蛋白。

1.2.7 划痕实验

分别将已感染 Ad-EGFP 及 Ad-synoviolin 的 MCF-7 乳腺癌细胞以 4×10^5 个/孔的密度接种至 6 孔板中,常规培养至形成完全融合的单层细胞。无血清 DMEM 高糖培养基饥饿过夜,10 μl 移液枪头沿培养板底部做 2~5 条“一”字形划痕。倒置显微镜下拍照确定划痕边缘,置于 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 细胞培养箱中培养,分别培养 0、12、24 h 后,再用倒置显微镜观察拍照并确定划痕边缘,从而计算出两组细胞处理前后划痕边缘相对距离的差值,以确定细胞迁移的距离,从而判断 synoviolin 对于乳腺癌细胞 MCF-7 迁移能力的影响。

1.2.8 CCK-8 实验

分别将已感染 Ad-EGFP 及 Ad-synoviolin 的乳腺癌细胞 MCF-7 以 1×10^3 个/孔的密度接种于 96 孔板中,置于 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 细胞培养箱中常规培养至密度融合约 30%时,换入新鲜含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基后,按照 CCK-8 试剂盒说明书加入相应比例的 CCK-8 试剂(100 μl 培养基加 10 μl CCK-8),放回 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 细胞培养箱中孵育 1 h 后,用酶标仪测细胞 450 nm 波长处的吸光度(OD)值,以此判断 Ad-EGFP 与 Ad-synoviolin 组细胞增殖能力的差异。

1.2.9 Transwell 实验

分别将已感染 Ad-EGFP 及 Ad-synoviolin 的乳腺癌细胞 MCF-7 用胰酶消化后,制成不含血清的细胞悬液,细胞以 1×10^5 个/孔(300 μl) 加入 24 孔板中 Transwell 小室上层,小室下层加入 700 μl 含 10 ng/ml TGF- β 1 的 DMEM 高糖培养基, 37°C 、 $5\%\text{CO}_2$ 细胞培

养箱中孵育 24 h;然后将 Transwell 小室从 24 孔板中取出,4%多聚甲醛固定细胞 20 min 后,用棉签轻轻擦去上室未迁移的细胞,用磷酸盐缓冲液冲洗 3 次晾干后用 0.1%结晶紫染液染色约 5 min,清水漂洗 3 次后,晾干,倒置显微镜下观察并拍照;随后每孔用 500 μl 的 33%稀醋酸溶液将每个小室的结晶紫染液洗脱后,测波长 560 nm 处吸光度,以此比较各组细胞迁移率。

1.2.10 TGF- β 1 诱导上皮-间质转化

将经过特定处理的乳腺癌细胞分为 3 组:control 组、Ad-EGFP 组及 Ad-synoviolin 组(分别利用相关腺病毒感染乳腺癌细胞 MCF-7 48 h 后),经胰酶消化后制成不含血清的细胞悬液,以 4×10^5 个/孔的密度接种至 6 孔板中,待细胞达 30%融合时,分别在每组细胞中加或不加 10 ng/ml 的 TGF- β 1 刺激 48 h 后提取各组细胞总蛋白,进行 Western blot 检测 EMT 相关标记物的表达情况。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件及 Graph Pad Prism 5 软件进行统计学分析。多组比较采用方差分析,两两比较采用 q 检验, P 值 ≤ 0.05 表示有统计学差异。每组实验均独立重复至少 3 次。

2 结果

2.1 滑膜素在乳腺癌组织中的表达水平显著低于相应癌旁组织

为了检测滑膜素在乳腺癌组织及相应癌旁组织中的表达,分别取 16 例新鲜乳腺相关组织及石蜡切片进行相关实验。Western blot(图 1,部分结果展示)和免疫组织化学染色(图 2)结果均表明,滑膜素在乳腺癌组织中的表达水平明显低于相应癌旁组织。进一步的免疫组织芯片结果(图 3)与免疫组织化学及 Western blot 结果一致。这提示,滑膜素可能抑制乳腺癌的发生发展。

2.2 过表达滑膜素能抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖

为了明确滑膜素在乳腺癌发生发展中的作用,选取乳腺癌细胞 MCF-7 进行相关实验以检测滑膜素对于乳腺癌细胞 MCF-7 增殖能力的影响。在乳腺癌细胞 MCF-7 中分别转染 Ad-synoviolin 及 Ad-EGFP 36 h 后,经胰酶消化,然后根据 CCK-8 试剂盒说明书进行细胞增殖能力的检测。结果表明,过表达滑膜素能明显抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖(图 4)。

2.3 过表达滑膜素能抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的迁移

为了进一步确定滑膜素对乳腺癌发生发展的

影响,接着在 MCF-7 细胞中分别转染 Ad-synoviolin 及 Ad-EGFP 后,分别利用划痕实验(图 5)及 Transwell 实验(图 6)检测过表达滑膜素组的乳腺癌细胞 MCF-7 与对照组细胞迁移能力的差异。结果表明,过表达滑膜素后,乳腺癌细胞 MCF-7 的迁移能

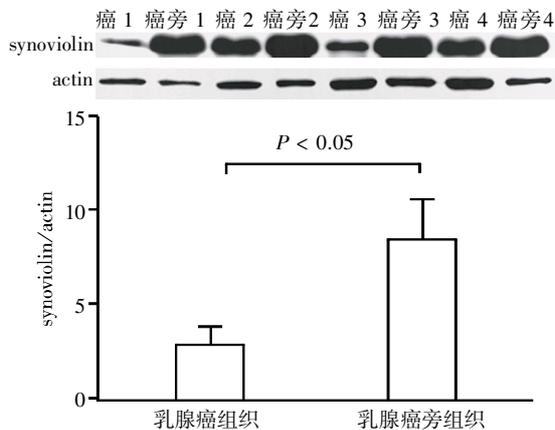


图 1 Western blot 结果表明滑膜素在乳腺癌组织中的表达水平低于相应癌旁组织

Figure 1 Western blot shows that the expression of synoviolin in breast cancer tissue is decreased than that of the corresponding peritumoral tissues

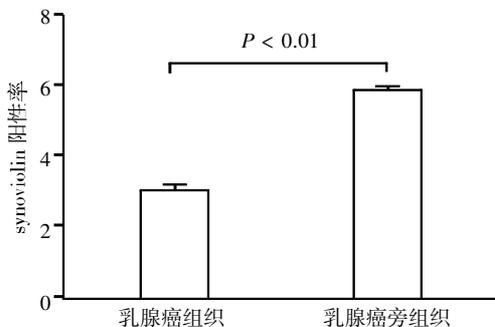
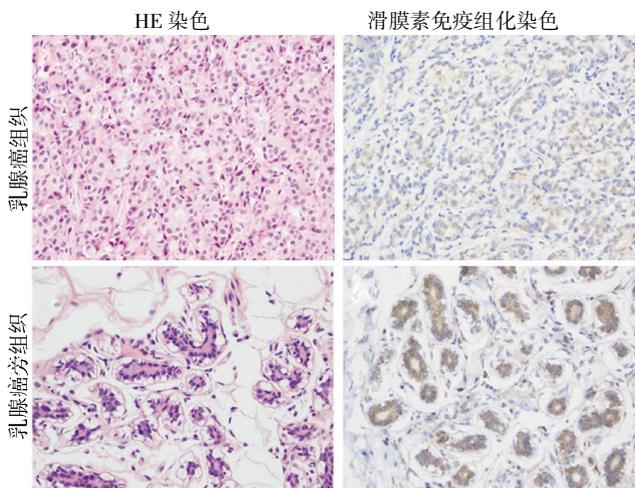


图 2 免疫组织化学染色表明滑膜素在乳腺癌组织的表达水平低于相应的癌旁组织($\times 400$)

Figure 2 Immunohistochemistry shows that the expression of synoviolin in breast cancer tissue is decreased than that of the corresponding peritumoral tissues($\times 400$)

力明显下降。

2.4 过表达滑膜素能显著抑制乳腺癌细胞 MCF-7 发生上皮-间质转化

在对照组及 Ad-EGFP 组细胞中,加入 TGF- β 1 刺激后,上皮标记物 E-钙黏蛋白表达水平明显下降而间质标记物波形蛋白、N-钙黏蛋白表达水平明显增加;而在 Ad-synoviolin 组中,加入 TGF- β 1 刺激后,上皮标记物 E-钙黏蛋白的表达下降程度及间质

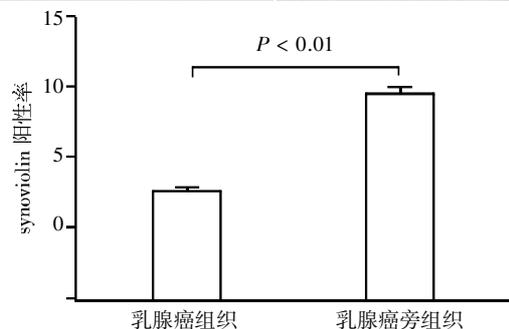
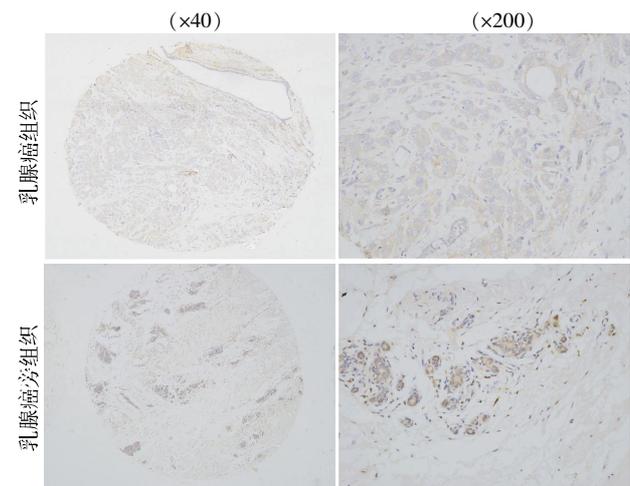


图 3 免疫组织芯片结果表明滑膜素在乳腺癌组织的表达水平低于相应癌旁组织

Figure 3 Immune tissue chip shows that the expression of synoviolin in breast cancer tissue is decreased than that of the corresponding peritumoral tissues

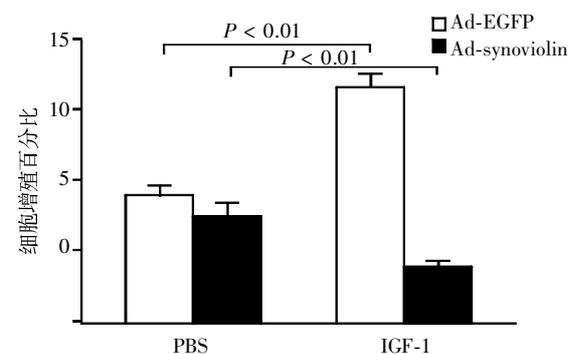
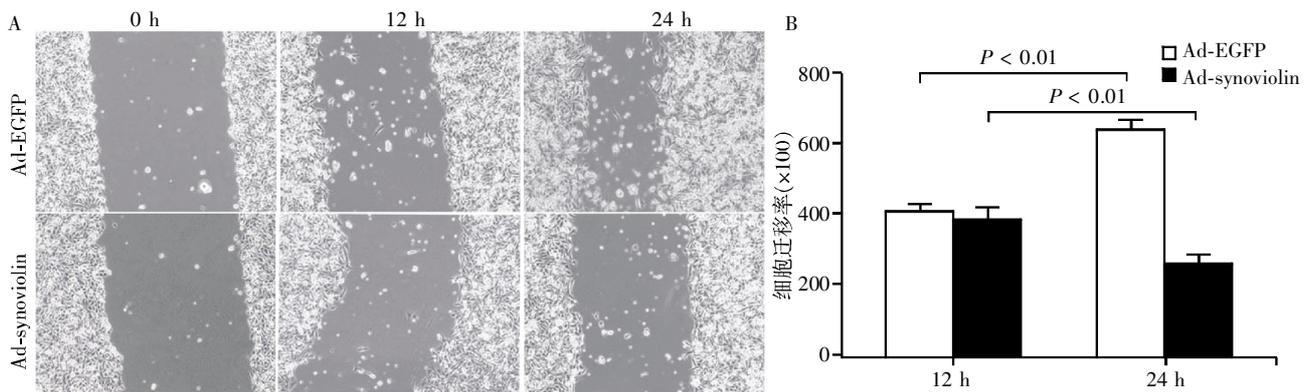


图 4 过表达滑膜素能够抑制 MCF-7 细胞的增殖能力

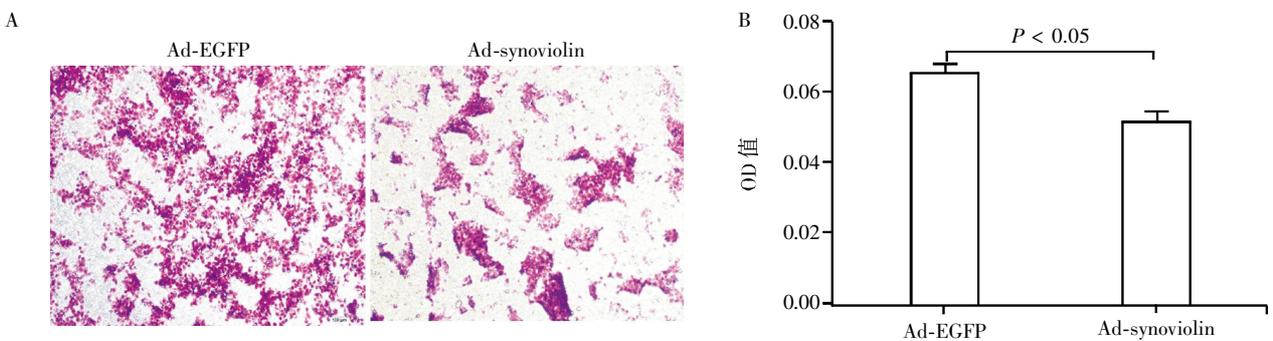
Figure 4 Overexpression of synoviolin can inhibit the proliferation of the MCF-7 cells



A: 过表达滑膜素组的 MCF-7 细胞在 24 h 的迁移数显著少于对照组; B: 过表达滑膜素组的 MCF-7 细胞在 24 h 的迁移百分比显著低于对照组。

图 5 过表达滑膜能够显著抑制 MCF-7 乳腺癌细胞的迁移能力

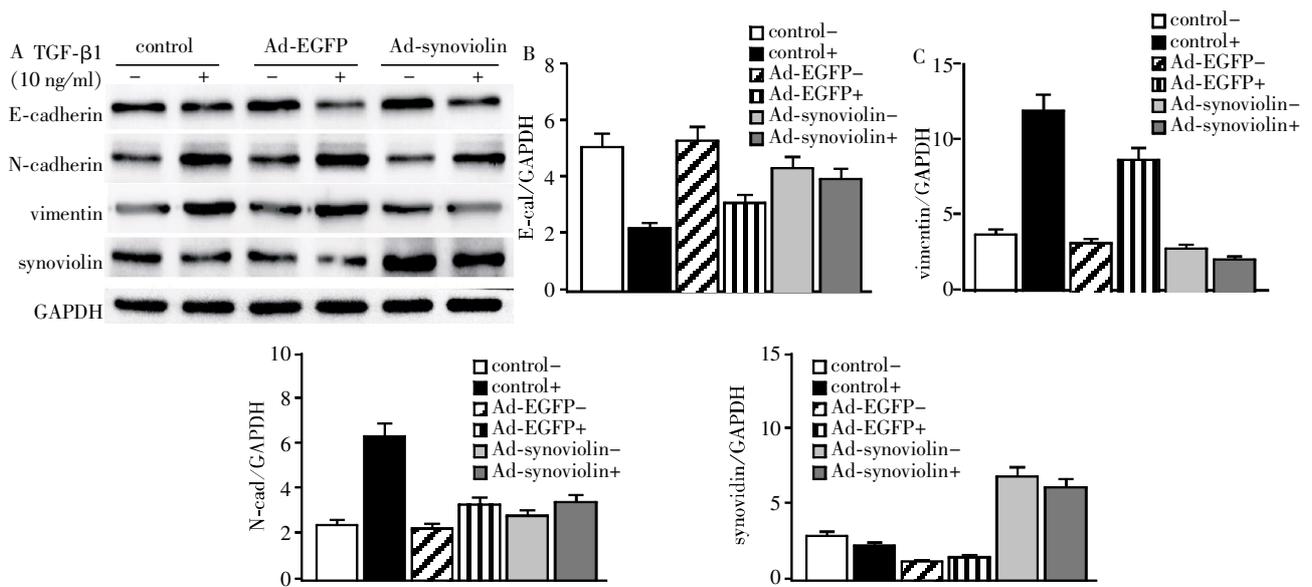
Figure 5 Overexpression of synoviolin can inhibit the migration of the MCF-7 Cells



A: 过表达滑膜素组细胞的迁移数明显少于对照组; B: 过表达滑膜素组迁移细胞结晶紫洗脱液的 OD 值显著低于对照组。

图 6 过表达滑膜素能抑制乳腺癌细胞 MCF7 的迁移能力

Figure 6 Overexpression of synoviolin can inhibit the migration of the MCF-7 cells



A: Western blot 检测 EMT 相关指标; B: TGF-β1 处理后, 过表达滑膜素组细胞的上皮标记物 E-cadherin 蛋白表达水平较对照组高, 而间质标记物 N-cadherin 及 vimentin 蛋白表达水平对照组低; “-”: 未加 TGF-β1, “+”: 加入 TGF-β1。

图 7 过表达滑膜素能抑制乳腺癌细胞 MCF-7 发生上皮-间质转化

Figure 7 Overexpression of synoviolin can inhibit the EMT of the MCF-7 cells

标记物波形蛋白、N-钙黏蛋白的表达增加程度均不明显(图7);提示滑膜素能明显抑制乳腺癌细胞 MCF-7 发生上皮-间质转化。

3 讨论

乳腺癌在女性肿瘤患者的死因中居首位^[15],因此深入认识乳腺癌发生发展的机制是临床医学研究工作的热点之一。滑膜素作为一种 E3 泛素连接酶,是囊性纤维化跨膜传导调节因子(cystic fibrosis transmembrane conductance regulator,CFTR)的内质网相关降解途径(endoplasmic reticulum-associated degradation,ERAD)相关作用酶的组成成分之一^[16]。其存在于类风湿性关节炎成纤维细胞样滑膜细胞及滑膜组织中,可能参与抑制滑膜细胞的增殖与凋亡^[17-18]。有趣的是,外周血中高水平的滑膜素可以降低类风湿关节炎患者对于肿瘤坏死因子封闭治疗的临床效应^[19]。已有研究表明,生物活性重组蛋白 NAPA 敲除后能够干扰滑膜素与内质网相关蛋白降解途径复合物之间的相互作用,进而使得相关癌细胞易于被化疗药物顺铂所杀伤^[20]。

但是关于滑膜素在乳腺癌发生发展中的作用及机制鲜有报道。本课题从乳腺癌发生发展角度,在获得大量临床标本的基础上,选取 16 例新鲜乳腺相关组织及石蜡切片进行相关实验。研究发现,滑膜素在乳腺癌组织中的表达水平明显低于相应的癌旁组织。这提示,滑膜素可能抑制乳腺癌的发生发展。本课题进一步开展了细胞实验,在乳腺癌细胞 MCF-7 中分别转染 Ad-synoviolin 及 Ad-EGFP 36 h 后,经胰酶消化,根据 CCK-8 试剂盒说明书进行细胞增殖能力的检测。结果表明,过表达滑膜素能明显抑制乳腺癌细胞 MCF-7 的增殖。划痕实验及 Transwell 实验结果也都表明,过表达滑膜素后,乳腺癌细胞 MCF-7 的迁移能力明显下降。已有研究发现,在肿瘤发生侵袭转移过程中,上皮-间质转化起到了重要的促进作用^[21-23]。因此,本实验又进一步检测了滑膜素对于乳腺癌细胞 MCF-7 上皮-间质转化过程的影响。运用 TGF- β 1 作为上皮-间质转化的诱导剂^[24-26],结果发现,滑膜素能明显抑制乳腺癌细胞 MCF-7 发生上皮-间质转化。

综上所述,本实验研究发现,滑膜素在乳腺癌组织中的表达水平显著低于相应的癌旁组织;在乳腺癌细胞中过表达滑膜素能明显抑制该细胞增殖、转移及发生上皮-间质转化。这提示滑膜素可能抑

制乳腺癌的发生发展。

另外,质谱分析结果表明,滑膜素的作用底物与 DDX12(Dead/box protein 12)、脂肪酸合成酶(fatty acid synthase,FASN)、胰岛素样生长因子 1 受体(insulin-like growth factor 1 receptor,IGF-1R)、氧化低密度脂蛋白受体 1 (oxidized low-density lipoprotein receptor 1,OLR1)等有关^[27],本课题有望以此为线索进一步深入研究滑膜素在乳腺癌发生发展中的作用机制,以期临床治疗乳腺癌打下坚实的基础。

[参考文献]

- [1] Fagan-Solis KD,Schneider SS,Pentecost BT,et al. The RhoA pathway mediates MMP-2 and MMP-9-independent invasive behavior in a triple-negative breast cancer cell line[J]. J Cell Biochem,2013,114(6):1385-1394
- [2] Ohkubo T,Ozawa M. The transcription factor Snail down-regulates the tight junction components independently of E-cadherin downregulation[J]. J Cell Sci,2004,117(Pt 9): 1675-1685
- [3] Volmer C,Benal Y,Caplier L,et al. Atypical vimentin expression in a feline salivary gland adenocarcinoma with widespread metastases[J]. J Vet Med Sci,2009,71(12): 1681-1684
- [4] Shirahata A,Sakata M,Sakuraba K,et al. Vimentin methylation as a marker for advanced colorectal carcinoma[J]. Anticancer Res,2009,29(1):279-281
- [5] Schopferer M,Bär H,Hochstein B,et al. Desmin and vimentin intermediate filament networks;their viscoelastic properties investigated by mechanical rheometry[J]. J Mol Biol,2009,388(1):133-143
- [6] Paredes J,Figueiredo J,Albergaria A,et al. Epithelial E- and P-cadherins;role and clinical significance in cancer [J]. Biochim Biophys Acta,2012,1826(2):297-311
- [7] Jung T,Catalgol B,Grune T. The proteasomal system[J]. Mol Aspects Med,2009,30(4):191-296
- [8] Tsuchiya M,Nakajima Y,Hirata N,et al. Ubiquitin ligase CHIP suppresses cancer stem cell properties in a population of breast cancer cells[J]. Biochem Biophys Res Commun,2014,452(4):928-932
- [9] Liu J,Zhang C,Wang XL,et al. E3 ubiquitin ligase TRIM32 negatively regulates tumor suppressor p53 to promote tumorigenesis[J]. Cell Death Differ,2014,21(11):1792-1804
- [10] Guo H,Wu F,Wang Y,et al. Overexpressed ubiquitin ligase Cullin7 in breast cancer promotes cell proliferation and invasion via down-regulating p53[J]. Biochem Biophys Res Commun,2014,450(4):1370-1376
- [11] Bhatnagar S,Gazin C,Chamberlain L,et al. TRIM37 is a

- new histone H2A ubiquitin ligase and breast cancer on coprotein[J]. *Nature*, 2014, 516(7529): 116-120
- [12] Kaneko M, Ishiguro M, Niinuma Y, et al. Human HRD1 protects against ER stress-induced apoptosis through ER-associated degradation[J]. *FEBS Lett*, 2002, 532(1-2): 147-152
- [13] Shen YX, Sun AM, Fang S, et al. Hrd1 facilitates tau degradation and promotes neuron survival[J]. *Curr Mol Med*, 2012, 12(2): 138-152
- [14] Gao B, Lee SM, Chen A, et al. Synoviolin promotes IRE1 ubiquitination and degradation in synovial fibroblasts from mice with collagen-induced arthritis[J]. *EMBO Rep*, 2008, 9(5): 480-485
- [15] Ferlay J, Shin HR, Bray F, et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008[J]. *Int J Cancer*, 2010, 127(12): 2893-2917
- [16] Ballar P, Ors AU, Yang H, et al. Differential regulation of CFTRDeltaF508 degradation by ubiquitin ligases gp78 and Hrd1[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2010, 42(1): 167-173
- [17] Amano T, Yamasaki S, Yagishita N, et al. Synoviolin/Hrd1, an E3 ubiquitin ligase, as a novel pathogenic factor for arthropathy[J]. *Genes Dev*, 2003, 17(19): 2436-2449
- [18] Yamasaki S, Yagishita N, Nishioka K, et al. The roles of synoviolin in crosstalk between endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis and p53 pathway[J]. *Cell Cycle*, 2007, 6(11): 1319-1323
- [19] Toh ML, Marotte H, Blond JL, et al. Overexpression of synoviolin in peripheral blood and synoviocytes from rheumatoid arthritis patients and continued elevation in nonresponders to infliximab treatment[J]. *Arthritis Rheum*, 2006, 54(7): 2109-2118
- [20] Wu ZZ, Sun NK, Chien KY, et al. Silencing of the SNARE protein NAPA sensitizes cancer cells to cisplatin by inducing ERK1/2 signaling, synoviolin ubiquitination and p53 accumulation[J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82(11): 1630-1640
- [21] Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology[J]. *Pathology*, 2007, 39(3): 305-318
- [22] Fan F, Samuel S, Evans KW, et al. Overexpression of snail induces epithelial-mesenchymal transition and a cancer stem cell-like phenotype in human colorectal cancer cells[J]. *Cancer Med*, 2012, 1(1): 5-16
- [23] Pinto CA, Widodo E, Waltham M, et al. Breast cancer stem cells and epithelial mesenchymal plasticity - Implications for chemoresistance[J]. *Cancer Lett*, 2013, 341(1): 56-62
- [24] Li W, Zhang B, Li H, et al. TGF beta1 mediates epithelial mesenchymal transition via beta6 integrin signaling pathway in breast cancer[J]. *Cancer Invest*, 2014, 32(8): 409-415
- [25] Jin L, Chen J, Li L, et al. CRH suppressed TGFbeta1-induced Epithelial-Mesenchymal Transition via induction of E-cadherin in breast cancer cells[J]. *Cell Signal*, 2014, 26(4): 757-765
- [26] Jia Y, Wu D, Yun F, et al. Transforming growth factor-beta1 regulates epithelial-mesenchymal transition in association with cancer stem-like cells in a breast cancer cell line[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(4): 865-872
- [27] Lee KA, Hammerle LP, Andrews PS, et al. Ubiquitin ligase substrate identification through quantitative proteomics at both the protein and peptide levels[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(48): 41530-41538

[收稿日期] 2014-11-28

热烈祝贺《南京医科大学(自然科学版)》编辑部
荣获第四届江苏省科技期刊“金马奖”优秀团队奖!