

Bmi1 基因沉默对人舌鳞癌细胞生物学功能的影响

汪瀚^{1,2}, 李中武^{1,2}, 朱玉敏^{1,2}, 柯学平², 杨建荣^{2*}

(¹南京医科大学口腔疾病研究江苏省重点实验室, ²南京医科大学口腔医学研究所, 南京医科大学附属口腔医院口腔颌面外科, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的:检测 Bmi1(B lymphoma Mo-MLV insertion region 1)在舌鳞癌细胞与正常舌黏膜中的表达差异,探讨 Bmi1 基因沉默后对口腔舌鳞癌细胞生物学功能的影响。方法:实时定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)和蛋白免疫印迹(Western blot)检测 Bmi1 蛋白和 mRNA 在舌鳞癌细胞系和正常舌黏膜组织中的表达情况;采用免疫荧光染色检测 Bmi1 在舌鳞癌细胞中的分布情况;通过短发夹 shRNA 有效抑制 Bmi1 表达后,MTT 实验检测其对舌鳞癌细胞增殖能力的影响;划痕实验检测其对舌鳞癌细胞迁移能力的影响;Transwell 实验检测其对舌鳞癌细胞侵袭的影响;克隆形成实验检测其对舌鳞癌细胞克隆形成率的影响;构建移植瘤实验观察其对移植瘤生长的影响。结果:Bmi1 在舌鳞癌细胞中高表达,而在正常舌黏膜中低表达($P < 0.05$);Bmi1 基因沉默后显著抑制舌鳞癌细胞的增殖、侵袭、迁移能力以及抑制体内移植瘤的生长($P < 0.05$),这与 Bmi1 对下游靶基因 P16、P14 和 E-cadherin 的调控有关。结论:Bmi1 与舌鳞癌多种恶性生物学功能的调控密切相关,可能是舌鳞癌潜在的治疗靶点。

[关键词] shRNA 干扰;Bmi1 基因;生物学功能

[中图分类号] R739.86

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2016)01-039-07

doi:10.7655/NYDXBNS20160108

Biological roles of Bmi1 in tongue squamous cell carcinoma

Wang Han^{1,2}, Li Zhongwu^{1,2}, Zhu Yumin^{1,2}, Ke Xueping², Yang Jianrong^{2*}

(¹Jiangsu Key Laboratory of Oral Diseases, ²Department of Oral and Maxillofacial Surgery, Affiliated Hospital of Stomatology, NJMU, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate both mRNA and protein levels of B lymphoma Mo-MLV insertion region 1(Bmi1) in a panel of tongue squamous cell carcinoma (TSCC) cell lines as compared with normal tongue mucosa, and then to study biological roles of Bmi1 in tongue tumorigenesis by loss-of-function assays using small interference RNA. **Methods:** RNA and protein expressions of Bmi1 in TSCC cell lines and normal tongue mucosa were detected by qRT-PCR and Western blot. Cellular immunofluorescence was performed to further characterize the subcellular distribution of Bmi1 in tongue cancer cell lines. Cell migration, invasion, proliferation and colony formation were assessed by wound-healing, Transwell, MTT and colony-forming experiments. To further reinforce the notion that Bmi1 is critical for tongue cancer growth in vivo, genetic approach was further utilized to inhibit Bmi1 in a tongue cancer xenograft model. **Results:** Bmi1 mRNA and protein levels in TSCC cell lines were significantly higher than that in normal tongue mucosa as assessed by real-time RT-PCR and Western blot assays ($P < 0.05$). Short-hairpin RNA-mediated Bmi1 knockdown inhibited cell proliferation, migration and invasion, reduced colony formation, presumably by modulation of p16, p14 and E-cadherin. Short-hairpin RNA-mediated Bmi1 knockdown significantly impaired tumor growth in a tongue cancer xenograft model. **Conclusion:** Bmi1 may serve as a key driver with multiple biological functions during tongue cancer progression and a novel therapeutic target against tongue cancers.

[Key words] shRNA interference; Bmi1 gene; biological function

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(01):039-045, 50]

[基金项目] 江苏省自然科学基金(BK20151561)

*通信作者(Corresponding author), E-mail:953212797@qq.com

舌鳞状细胞癌(tongue squamous cell carcinoma, TSCC)是最常见的口腔颌面部恶性肿瘤,其中吸烟、饮酒及人乳头瘤病毒感染是其主要致病因素,局部

侵袭和淋巴转移是导致患者死亡的主要原因^[1-2]。尽管过去几十年对口腔癌的治疗取得了巨大进展,但是患者 5 年生存率仍为 60%左右,并没有得到明显改善^[3]。而舌鳞状细胞癌的发生发展是一个多基因参与的复杂生物学过程。其中,Bmi1 (B lymphoma Mo-MLV insertion region 1) 基因作为多梳基因家族 (polycomb group genes, PcGs) 核心复合体 PRC1 的核心成员,其主要通过染色质结构修饰的改变来介导基因的转录后沉默,并且在多种恶性肿瘤细胞的生物学行为中起关键作用^[4-5]。我们的前期研究结果表明 Bmi1 在舌鳞癌组织中异常高表达,与患者颈淋巴结转移及总体生存率密切相关^[6]。本研究旨在前期研究基础上进一步探讨 Bmi1 对舌鳞癌细胞生物学功能的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

本课题用到的细胞株有(Cal27、HN4、HN6 和 HN12) 来自南京医科大学口腔研究所存种,其中 HN4、HN6 和 HN12 为上海交通大学陈万涛教授馈赠,Cal27 (ATCC 公司,美国);BALB/cASlac-nu 鼠(南京大学动物模式中心);DMEM、DMEM/F12 培养液(Gibco 公司,美国),南美胎牛血清(FBS,Hyclone 公司,美国),0.25%胰酶消化液(Gibco 公司,美国),Lipofectamine 2000(Invitrogen 公司,美国)。蛋白提取及 Western blot 相关试剂(南京凯基公司),蛋白 Marker(Fermentas 公司,美国),兔抗 Bmi1 单克隆抗体(货号 6964,1:1 000 稀释,CST 公司,美国),兔抗 Vimentin (1:2 000 稀释,BD 公司,美国),兔抗 E-cadherin 单克隆抗体(货号 3195,1:1 000 稀释,CST 公司,美国),GAPDH (1:2 000 稀释,Santa Cruz 公司,美国),TRIzol (Invitrogen 公司,美国),Prime Script RTreagent Kit (DRR037A)、SYBR Premix (DRR041A;TaKaRa 公司,大连)。Transwell 小室(Millipore 公司,美国),MTT 试剂,DMSO(Sigma 公司,美国)等。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

人舌鳞癌细胞株 Cal27、HN4、HN6 和 HN12 培养于含 10% FBS、100 U/mL 青霉素和 100 μg/mL 链霉素的 DMEM/F12。所有细胞放在含 5% CO₂ 的 37℃ 细胞培养箱中。

1.2.2 Bmi1 干扰质粒构建及稳定细胞株筛选

从上海吉玛公司构建针对人 Bmi1 基因不同区

域的发夹 RNA 干扰序列质粒(Bmi1-shRNA)^[5]。使用脂质体 Lipofectamine™ 2000 共转染 shBmi1 和 empty 质粒进入 HN4 和 HN12 细胞中,将转染后 48 h 的细胞消化后铺于 10 cm 培养皿中,加入 G418,使其终浓度达到 600 mg/mL,通过选择性压力,维持细胞株生长。G418 筛选 3 周左右,培养皿内会形成多个细胞克隆,继续在 G418 的压力下维持细胞生长。然后行后续鉴定和实验。稳定转染的 Bmi1 基因干扰质粒的细胞称为 HN4-shBmi1 或 HN12-shBmi1 细胞,对照组称为 HN4-NC 或 HN12-NC 细胞。获得稳定转染的细胞经鉴定后行后续体内外实验。

1.2.3 qRT-PCR 实验

分别提取 HN4-NC 细胞、HN12-NC 细胞、HN4-shBmi1、HN12-shBmi1 细胞、正常舌黏膜组织(非肿瘤手术时获取,并通过 HE 染色在显微镜下确定其形态特征为正常舌黏膜)、HN4、HN6、HN12 和 Cal27 细胞 RNA 并逆转录为 cDNA,以 GAPDH 为内参对 Bmi1、P14、P16 进行 qRT-PCR 检测。引物序列如表 1 所示。结果采用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达量。

1.2.4 Western blot 实验

用 RIPA 裂解液裂解细胞,提取总蛋白,BCA 测定蛋白浓度,加入蛋白上样缓冲液 100℃ 水浴煮沸 5~10 min。SDS-PAGE 进行电泳分离后,采用湿转法转至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h,加入一抗 4℃ 孵育过夜,TBST 洗膜后加入二抗孵育 1 h, TBST 洗涤后,加入发光液,凝胶电泳成像系统进行分析,实验重复 3 次。

1.2.5 MTT 实验分析细胞增殖活性

将对数生长期 HN4-NC 和 HN4-shBmi1 组细胞接种于 96 孔板,1×10³ 个/孔,分别在 24、48、72、96 h 时间点加入 20 μL MTT (5 mg/mL) 溶液,每组设置 6 个复孔;孵育箱培养 4 h 后,小心吸去培养液,每孔再加入 150 μL DMSO;酶标仪检测 590 nm 处吸光度值。

表 1 qRT-PCR 引物序列
Table 1 qRT-PCR primer sequences

基因名称	引物序列(5'→3')
Bmi1	F:AAATGCTGGAGAACTGGAAG R:CTGTGGATGAGGAGACTGC
P16	F:TTATTAGAGGGTGGGGTGGATTGT R:CCACCTAAATCAACCTCCAACCA
P14	F:GGTTTTCTGGTTACATCCCCGG R:CAGGAAGCCCTCCCGGGCAGC
GAPDH	F:AAGGTCGGAGTCAACGGATTTC R:CCATGGCTGGAATCATATTGGAA

1.2.6 细胞迁移实验

取对数期生长期的 HN4-NC、HN4-shBmi1 细胞,胰酶消化吹打并充分重悬为单细胞悬液后,细胞计数板计数,将细胞数稀释至 5×10^6 个/mL,接种于 6 孔板中,置于 37°C 、5% CO_2 的细胞培养箱中培养,待细胞长成单层后弃去培养液,用灭菌枪头在 6 孔培养板底部单层细胞的中央划出一划痕,洗去死细胞,无血清培养液培养,分别于 0、24、48 h 拍照计数,实验重复 3 次。

1.2.7 细胞侵袭实验

采用 DMEM/F12 将 Matrigel 稀释(1:6),加入至 Transwell 小室上室,100 μL /孔,细胞孵育箱放置 2 h,在下室加入 1 mL 含 10% PBS 的 DMEM 培养基,在上室加入对数生长期 HN4-NC 和 HN4-shBmi1 组细胞 1×10^6 个/ml 的细胞悬液 200 μL ,常规培养 24 h 后,取出 Transwell 小室,用棉签轻柔擦去上室的 Matrigel, PBS 小心冲洗,多聚甲醛固定,结晶紫染色,再用 PBS 洗去多余结晶紫液,晾干,光学显微镜下观察并拍照,实验重复 3 次。

1.2.8 平板克隆实验

取对数生长期的 HN4-NC 和 HN4-shBmi1 单层培养细胞,用胰酶消化并吹打成单个细胞,计数,使细胞在含 10% FBS 的 DMEM/F12 培养液中稀释至 1 000 个/mL 并接种于培养皿中,轻轻摇动使细胞均匀,放入孵箱 2~3 周。经常观察,当培养皿中出现镜下可见的 30~50 个细胞的克隆时,终止培养。弃去上清液,用 PBS 小心浸洗 2 次。加 4% 的多聚甲醛固定 15 min。去除固定液,加适量的结晶紫染色 10~30 min,再用流水洗净,空气干燥。显微镜下计数 >30 个细胞的克隆数,计算克隆形成率,克隆形成率(%) = 克隆数/接种细胞数 $\times 100\%$ 。

1.2.9 细胞免疫荧光染色

选择口腔舌鳞状细胞癌 HN6、HN4 细胞进行实验。细胞传代时将细胞接种于放置盖玻片的培养皿中,待细胞接近长成单层后取出盖玻片, PBS 洗 2 次;多聚甲醛固定 15 min 后 PBS 洗涤 5 min $\times 3$; 0.3% Triton X-100 处理 1 min 后 PBS 洗涤 5 min $\times 3$ 。加入封闭液 37°C 孵育 1 h,倒去封闭液加入 actin 和 Bmi1 一抗(1:200), 4°C 过夜。PBS 洗涤 5 min $\times 3$,加入荧光二抗室温孵育 2 h, PBS 洗涤 5 min $\times 3$ 。DAPI (1:1 000) 室温标记 1 min, PBS 洗涤 5 min $\times 3$, 荧光封片剂封片后拍照观察,重复 3 次。

1.2.10 移植瘤模型构建

从南京大学实验动物中心购买 BALB/cASlac-nu

鼠,雄性,6~8 周龄 6 只。在南京医科大学动物中心无特殊病原(SPF)条件下饲养。取 HN4-NC、HN4-shBmi1 对数生长期细胞,胰酶消化,制备单细胞悬液,细胞计数调整细胞密度为 2×10^7 个/mL; 每只裸鼠左右 2 侧分别注射 0.1 mL 密度为 2×10^7 个/mL 单细胞悬液, SPF 条件下饲养,密切观察裸鼠饮食、活动和全身情况;从第 12 天起测量肿瘤的体积,体积 = 长径 \times 短径 $^2 \times 1/2$; 最后处死,并且分别称量肿瘤的重量。

1.2.11 免疫组织化学染色

对移植瘤体组织进行常规石蜡包埋、切片(4 μm)后,常规二甲苯脱蜡,梯度酒精水化,经 3% H_2O_2 封闭 10 min 灭活内源性过氧化物酶后,应用 0.01 mol/L 柠檬酸钠缓冲液行微波修复(pH=6.0, 15 min),经 5% 牛血清白蛋白(BSA)封闭 20 min 后滴加一抗 Bmi1(1:100) 4°C 过夜。次日分别滴加山羊抗兔二抗、SABC 室温 20 min, PBS 洗涤后 DAB 显色。苏木素复染后,脱水透明,封片镜检。

1.3 统计学方法

应用 SPSS19.0 统计软件进行数据的统计学分析,所有实验数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间采用单因素方差分析进行比较,并以 SNK- q 检验进行两两比较, $P \leq 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 qPCR、Western blot 检测 Bmi1 在舌鳞癌细胞系及正常舌黏膜组织中的表达

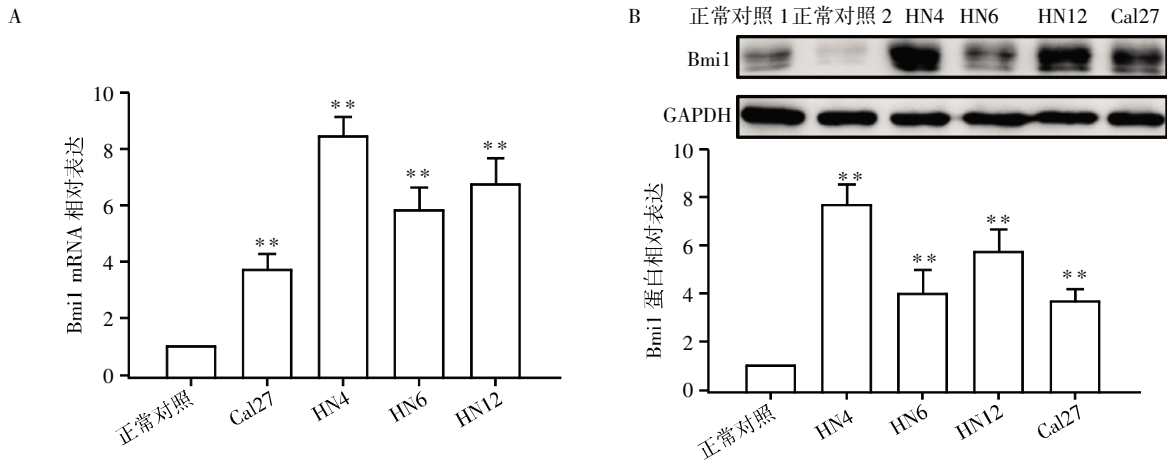
为了探讨 Bmi1 在 TSCC 细胞系中的表达情况,我们首先比较了 Bmi1 在 TSCC 与正常舌黏膜组织之间的表达差异。qPCR 结果显示,与正常舌黏膜相比, Bmi1 的 mRNA 表达水平在 Cal27、HN4、HN6、HN12 细胞中分别提高大约 3.45、8.42、5.82 和 6.21 倍($P < 0.01$, 图 1A)。Western blot 免疫印迹结果显示:与正常舌黏膜相比, Bmi1 在 TSCC 细胞系中呈高表达(图 1B)。这与 Bmi1 的 mRNA 表达水平一致。

2.2 免疫荧光检测 Bmi1 在细胞中的表达定位

免疫荧光染色结果表明 Bmi1 主要表达于细胞的胞核当中,少量分布于胞质中,这与 Bmi1 的表观遗传修饰功能相一致(图 2)。

2.3 qPCR、Western blot 检测 Bmi1 及其下游靶基因在转染 empty 空载组、Bmi1-shRNA 干扰组中的表达

首先选择 Bmi1 表达较高的 HN4、HN12 细胞分别转染空载(NC)和 Bmi1-shRNA 干扰质粒(shBmi1)。结果表明干扰组 Bmi1 蛋白和 mRNA 水平与 NC 组相比明显下调(图 3A、B)。同时 qPCR 结果表



A: Bmi1 mRNA 相对表达水平; B: Bmi1 蛋白相对表达水平; 与正常对照组比较, ** $P < 0.01$ ($n=3$)。

图 1 Bmi1 在舌鳞癌细胞系及正常舌黏膜中的表达水平

Figure 1 Expression levels of Bmi1 in TSCC cell lines and tongue normal mucosa tissues

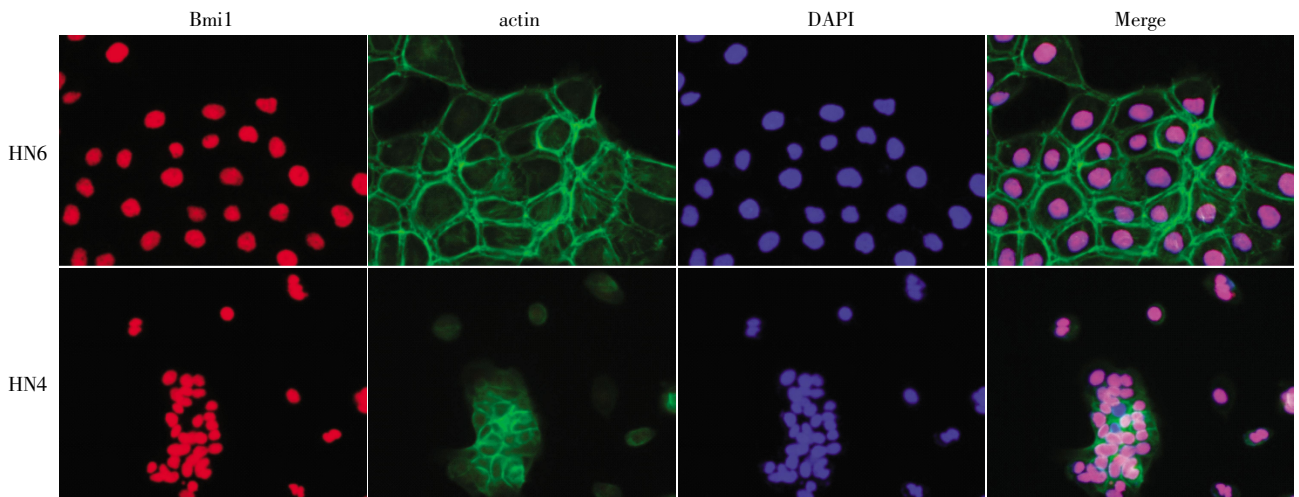


图 2 Bmi1 在舌鳞癌细胞中的分布情况

Figure 2 Localization of Bmi1 was identified by immunofluorescence staining in TSCC cell lines

明干扰组中 Bmi1 下游靶基因 P14、P16 的 mRNA 水平明显上调(图 4)。说明了 Bmi1 基因沉默的有效性和特异性。

2.4 Bmi1 表达下调抑制舌鳞癌细胞 HN4 细胞的侵袭和迁移能力

首先通过划痕实验检测 Bmi1 表达下调对 HN4 细胞迁移能力的影响。结果表明 NC 组细胞划痕愈合明显快于 shBmi1 组细胞,在 24 h 和 48 h 迁移细胞数差异有统计学意义(图 5)。由于采用无血清培养进行划痕实验且在细胞的增殖周期内,所以可以排除细胞增殖的影响。接着通过 Transwell 实验检测细胞侵袭能力的影响。在结晶紫染色后正置显微镜下计数穿膜细胞数,发现 NC 组穿膜细胞数为(60 ± 8)个,shBmi1 组穿膜细胞数(10 ± 3)个。与 NC 组相比,shBmi1 组 Bmi1 表达下调后细胞侵袭能力显著减弱并伴随上皮标志物 E-cadherin 表达上调而间充

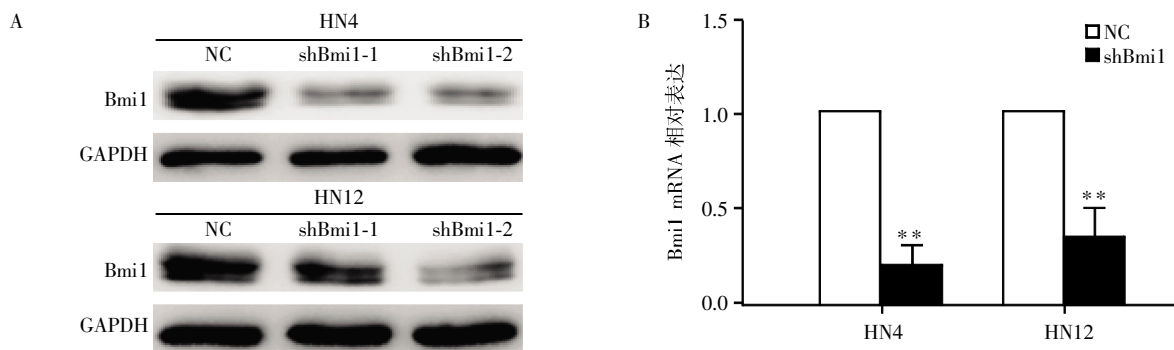
质标志物 Vimentin 表达下调(图 6)。

2.5 Bmi1 的表达下调抑制舌鳞癌细胞 HN4 的增殖和克隆形成率

研究表明 Bmi1 在正常干细胞和恶性肿瘤干细胞自我更新中扮演着重要角色,后者与肿瘤发生发展、治疗耐受以及肿瘤复发密切相关^[4,7-8]。平板克隆形成实验表明:与 NC 组相比,shBmi1 组细胞的克隆形成率明显下调(图 7A)。MTT 结果表明 72、96 h shBmi1 组细胞增殖能力显著下降,差异有统计学意义(图 7B)。提示 Bmi1 表达下调抑制舌鳞癌细胞的克隆形成并降低细胞的增殖活性。

2.6 Bmi1 的表达下调抑制体内移植瘤的生长

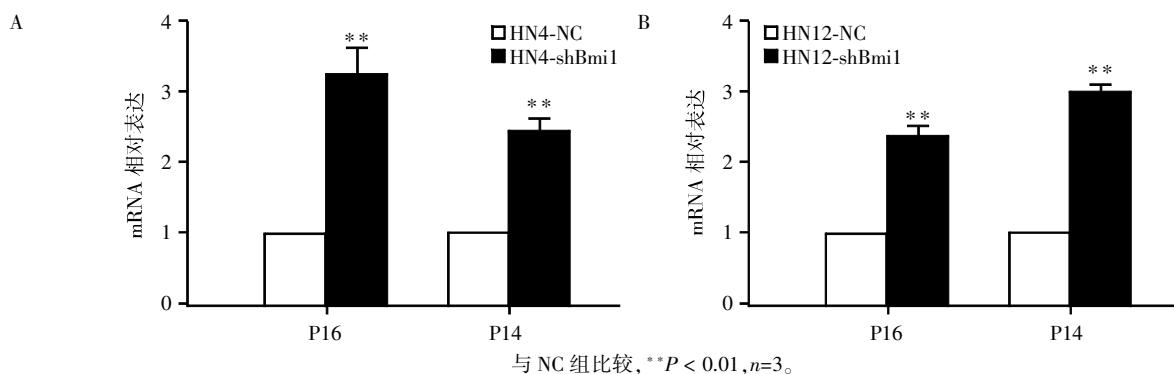
为了进一步探讨 Bmi1 在舌鳞癌发生发展过程中的生物学功能,通过构建移植瘤模型观察 Bmi1 表达下调对体内移植瘤生长的影响。结果表明 NC 组移植瘤生长明显快于 shBmi1 组,其最终重量明显



A: 细胞转染 Bmi1-shRNA 后显著抑制 Bmi1 蛋白表达; B: 转染 Bmi1-shRNA 后显著抑制 Bmi1 mRNA 的表达 (与 NC 组比较, $**P < 0.01, n=3$)。

图 3 Bmi1-shRNA 转染舌鳞癌细胞后 Bmi1 蛋白及 mRNA 表达水平

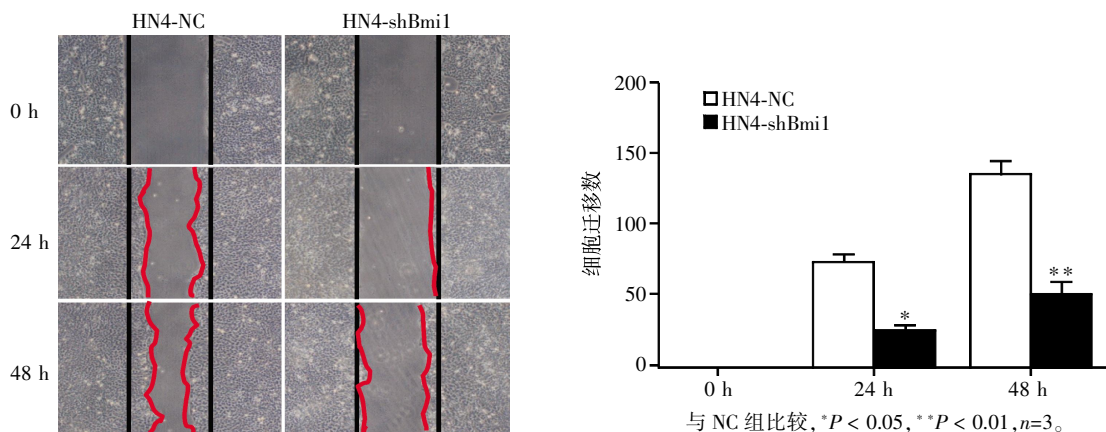
Figure 3 The mRNA and protein levels of Bmi1 were significantly decreased following Bmi1 knockdown



与 NC 组比较, $**P < 0.01, n=3$ 。

图 4 Bmi1 沉默后其下游靶基因 P14、P16 mRNA 的表达情况

Figure 4 The mRNA levels of P14 and P16 were significantly increased following Bmi1 knockdown



与 NC 组比较, $*P < 0.05, **P < 0.01, n=3$ 。

图 5 Bmi1 基因沉默后显著抑制细胞的迁移能力

Figure 5 Bmi1 knockdown inhibited cell migration in TSCC cell lines

高于 shBmi1 组(图 8A), 且 shBmi1 组 Bmi1 表达显著下调(图 8B), 从而提示 Bmi1 在舌鳞癌发生发展过程中扮演着重要角色。

3 讨论

近年来研究发现 PcG 家族介导的染色体重塑、基因表达调控在多种恶性肿瘤发展过程中发挥重要作用^[9]。Bmi1 是 PcG 的重要成员, 主要通过修饰

染色质结构来介导基因的表达, 并涉及包括干细胞的可塑性、细胞分化和增殖在内的多个基本生物学过程^[9-10]。Bmi1 作为原癌基因在白血病、肺癌、结肠癌、乳腺癌和头颈癌等多种恶性肿瘤组织中呈现异常高表达, 与患者的临床病理、恶性程度及预后密切相关^[11-14]。本课题组的前期研究表明: Bmi1 在舌鳞癌组织中呈异常高表达, 与肿瘤的恶性程度及患者预后密切相关。本研究实验结果也进一步表明

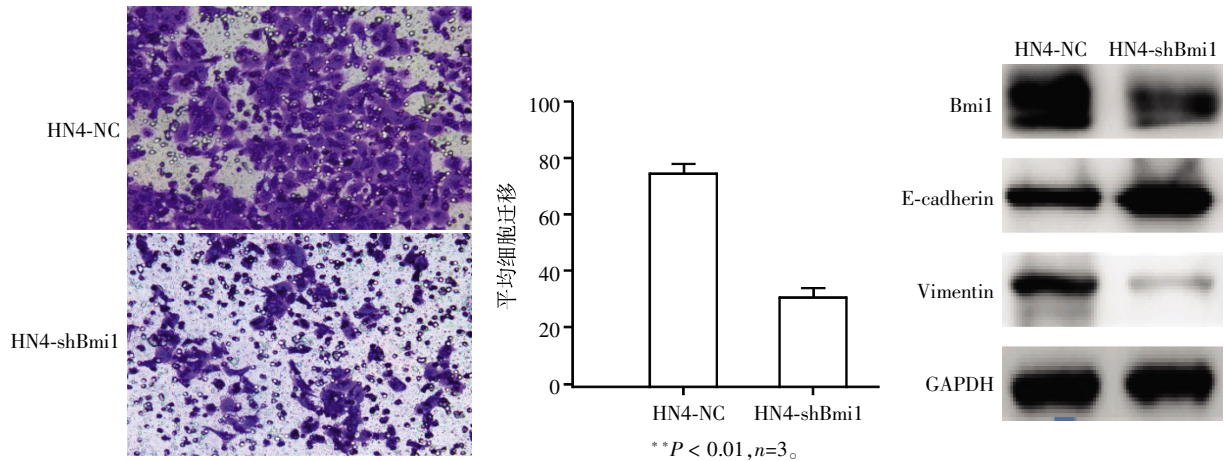
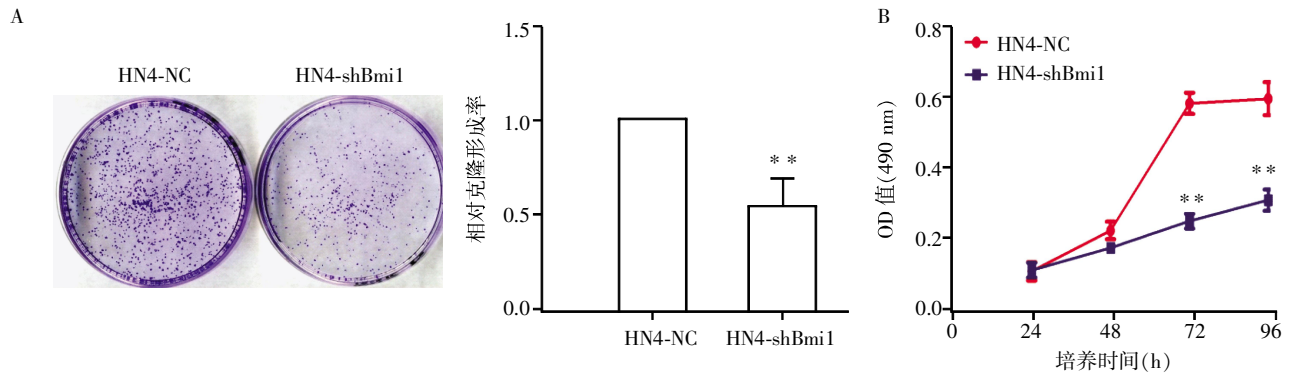


图 6 Bmi1 基因沉默后显著降低细胞的侵袭能力,并伴随 E-cadherin 表达上调 Vimentin 表达下调

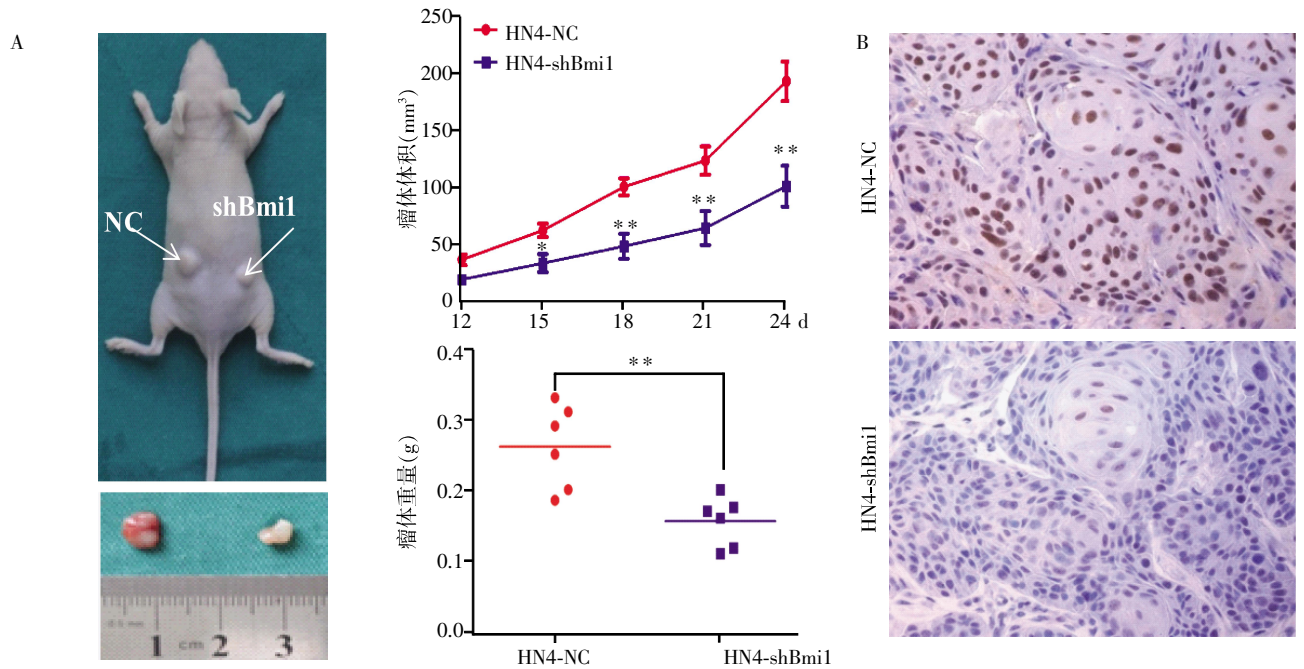
Figure 6 Bmi1 knockdown inhibits cell invasive in TSCC cell lines



A: Bmi1 基因沉默后显著降低细胞的克隆形成; B: Bmi1 基因沉默后显著降低细胞的增殖活性; 与 HN4-NC 组比较, **P < 0.01, n=3。

图 7 Bmi1 基因沉默对细胞克隆形成及增殖活性的影响

Figure 7 Bmi1 knockdown inhibits cell proliferation and colony formation in TSCC cell lines



A: Bmi1 沉默显著抑制移植瘤的生长; B: IHC 结果表明实验组 Bmi1 表达显著下调; 与 HN4-NC 组比较, *P < 0.05, **P < 0.01, n=6。

图 8 Bmi1 沉默对移植瘤生长的影响

Figure 8 Genetic silencing of Bmi1 impairs tumor growth in a TSCC xenograft model

Bmi1 在舌鳞癌细胞中高表达,在正常舌黏膜中低表达。并且与既往研究结果一致,Bmi1 主要位于细胞的胞核中。提示 Bmi1 作为一种癌基因,可能是参与舌鳞癌发生发展过程的重要分子。

本研究结果显示,Bmi1 表达下调后显著抑制舌鳞癌细胞的迁移、侵袭并伴随着 E-cadherin 表达上调和 Vimentin 表达下调等。Meng 等^[15]发现 shRNA 介导的 Bmi1 基因沉默后抑制肺癌细胞的侵袭和迁移。研究表明 Bmi1 的致癌作用主要通过调控下游基因(如 P16、P14 和 E-cadherin)的表达,进而调控舌鳞癌的表型变化。例如,Bmi1 基因沉默后可导致 P16 和 P14 的脱抑制,从而抑制肿瘤增殖诱导其衰老,这主要是由于 P16 和 P14 具有参与细胞周期调控和促进衰老的功能^[16-18,23]。研究表明 Bmi1 在包括舌癌在内的多种肿瘤中作为癌基因,并且参与细胞转变、上皮间质转化(EMT)以及肿瘤干细胞的扩散^[5,14,19]。因此,本文认为 Bmi1 与舌鳞癌的侵袭转移等恶性表型密切相关。

另外本研究还发现 Bmi1 下调后明显降低细胞的增殖活性、克隆形成率并抑制体内移植瘤的生长。Lukacs 等^[4]发现 Bmi1 是前列腺干细胞自我更新和恶性转化的关键调节因子;Gargiulo 等^[20]研究发现 Bmi1 是神经组织和恶性胶质瘤干细胞动态平衡的关键调节器。这些研究进一步表明了 Bmi1 在正常和恶性组织干细胞的自我更新和干性维持过程中扮演重要角色。最近,Tanaka 等^[21]研究发现 Bmi1 被证实可作为舌上皮干细胞标志物。Kreso 等^[22]研究也发现结肠直肠癌肿瘤干细胞也高度依赖于 Bmi1,Bmi1 的表达下调显著抑制肿瘤干细胞的自我更新和成瘤能力。本研究发现 Bmi1 下调明显抑制舌鳞癌克隆形成率,降低细胞增殖活性及体内移植瘤的生长与先前的研究结果一致。这些数据有力地表明,Bmi1 与舌癌肿瘤的增殖及干细胞的干性维持有关。然而,Bmi1 在舌鳞癌肿瘤干细胞稳态中的分子作用机制仍需进一步深入研究。

综上所述,本研究结果表明 Bmi1 可调节舌鳞癌细胞的侵袭、迁移和增殖能力等,具有广泛的生物学功能,提示 Bmi1 可作为舌鳞癌潜在的治疗靶点。但是,Bmi1 在舌鳞癌发生发展过程中的作用及分子机制有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Haddad RI,Shin DM. Recent advances in head and neck cancer[J]. N Engl J Med,2008,359(11):1143-1154
[2] 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
[3] Siegel R,Desantis C,Virgo K,et al. Cancer treatment and survivor ship statistics[J]. 2012. CA Cancer J Clin,2012,62(4):220-241
[4] Lukacs RU,Memarzadeh S,Wu H,et al. Bmi-1 is a crucial regulator of prostate stem cell self-renewal and malignant transformation [J]. Cell Stem Cell,2010,7(6):682-693
[5] Yang MH,Hsu DS,Wang HW,et al. Bmi1 is essential in Twist1-induced epithelial-mesenchymal transition [J]. Nat Cell Biol,2010,12(10):982-992
[6] 魏子程,张 玮,陈 胜,等. Bmi-1 在舌鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. 实用口腔医学杂志,2013,29(5):660-663
[7] Smith LL,Yeung J,Zeisig BB,et al. Functional crosstalk between Bmi1 and MLL/Hoxa9 axis in establishment of normal hematopoietic and leukemic stem cells[J]. Cell Stem Cell,2011,8(6):649-662
[8] Chiba T,Miyagi S,Saraya A,et al. The polycomb gene product BMI1 contributes to the maintenance of tumor-initiating side population cells in hepatocellular carcinoma[J].Cancer Res,2008,68(19):7742-7749
[9] Sauvageau M,Sauvageau G. Polycomb group proteins:multi-faceted regulators of somatic stem cells and cancer[J]. Cell Stem Cell,2010,7(3):299-313
[10] Simon JA,Kingston RE. Mechanisms of polycomb gene silencing:knowns and unknowns[J]. Nat Rev Mol Cell Biol,2009,10(10):697-708
[11] Song LB,Zeng MS,Liao WT,et al. Bmi-1 is a novel molecular marker of nasopharyngeal carcinoma progression and immortalizes primary human nasopharyngeal epithelial cells[J].Cancer Res,2006,66(12):6225-6232
[12] Mohty M,Yong AS,Szydlo RM,et al. The polycomb group BMI1 gene is a molecular marker for predicting prognosis of chronic myeloid leukemia [J]. Blood,2007,110(1):380-383
[13] Guo BH,Feng Y,Zhang R,et al. Bmi-1 promotes invasion and metastasis,and its elevated expression is correlated with an advanced stage of breast cancer[J]. Mol Cancer,2011,10(1):10
[14] Dovey JS,Zacharek SJ,Kim CF. Bmi1 is critical for lung tumorigenesis and bronchioalveolar stem cell expansion [J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2008,105(33):11857-11862
[15] Meng X,Wang Y,Zheng X,et al. shRNA-mediated knock-down of Bmi-1 inhibit lung adenocarcinoma cell migration and metastasis[J]. Lung Cancer,2012,77(1):24-30