

· 基础研究 ·

RBM7在乳腺癌细胞BT474中的表达及其与P21的关系

奚佩雯, 胡玥, 张旭, 戴欣媛, 石靓, 丁强*

南京医科大学第一附属医院乳腺病中心, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探索RNA结合蛋白7(RNA binding protein 7, RBM7)在人源性乳腺癌细胞BT474中的过表达及干扰后的表达改变,并研究其与P21之间的关系。方法:在人源性乳腺癌细胞BT474中分别转染RBM7过表达、干扰慢病毒(实验组)和相应对照慢病毒(对照组),从而构建稳定转染的细胞株,用qRT-PCR和Western blot实验分别验证转染后的RBM7的表达情况。用CCK-8实验、流式细胞周期实验分别评估RBM7表达改变后对乳腺癌细胞增殖能力和细胞周期分布的影响。通过qRT-PCR和Western blot实验观察BT474细胞中RBM7表达改变后对P21表达的影响。进一步通过RNA结合蛋白免疫共沉淀(RIP)实验来研究RBM7与P21之间的关系。结果:在乳腺癌细胞BT474中分别转染RBM7过表达、干扰慢病毒48 h后,通过荧光显微镜检测细胞的绿色荧光表达情况;经嘌呤霉素稳定筛选后,获得RBM7过表达及干扰的稳转细胞株。CCK-8和流式细胞周期实验显示,过表达RBM7后可促进乳腺癌细胞的增殖,而干扰RBM7后能抑制乳腺癌细胞的增殖。qRT-PCR和Western blot实验显示,过表达RBM7能下调P21的mRNA($P < 0.05$)及蛋白的表达,干扰RBM7能上调P21的mRNA($P < 0.05$)及蛋白的表达。RNA结合蛋白免疫共沉淀(RIP)实验显示,RBM7能直接结合P21的mRNA从而发挥其对P21的调节作用。结论:RBM7在人乳腺癌细胞BT474中通过结合P21的mRNA从而下调P21的表达。

[关键词] 乳腺癌;RNA结合蛋白7;P21;细胞周期**[中图分类号]** R737.9**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2020)02-160-07**doi:** 10.7655/NYDXBNS20200203

The expression of RBM7 and its relationship with P21 in breast cancer cell BT474

XI Peiwen, HU Yue, ZHANG Xu, DAI Xinyuan, SHI Liang, DING Qiang*

Jiangsu Breast Disease Center, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to investigate the relationship between RNA binding protein 7 (RBM7) and P21 via overexpressing and knocking down RBM7 in human breast cancer cell BT474. **Methods:** BT474 cells were respectively transfected with RBM7 overexpressing, knocking down lentivirus (experimental group) and corresponding control lentivirus (control group). The expression of RBM7 was verified after BT474 stably transfected with RBM7 lentivirus by the qRT-PCR and Western blot assays. The effects of RBM7 overexpression or knock down on breast cancer proliferation were evaluated by using CCK-8 assays. At the same time, the flow cytometry assays were used to detect the cell cycle distribution of RBM7 overexpression or knock down. The qRT-PCR and Western blot assays were used to investigate the expression of P21 following the variation of RBM7. Furthermore, the relationship between RBM7 and P21 was studied by RNA binding protein immunoprecipitation (RIP) assays. **Results:** The green fluorescence was observed by fluorescence microscope when BT474 was transfected with RBM7 overexpression and knock down lentivirus after 48 h. After stably screening, the fluorescence expression of cells was significantly stronger. CCK-8 and the flow cytometry assays showed that overexpressing RBM7 could promote the proliferation of breast cancer cells, while knocking down RBM7 could inhibit the proliferation of breast cancer cells. It was observed that overexpression of RBM7 could downregulate mRNA ($P < 0.05$) and protein expression of P21, and knockdown of RBM7 upregulated mRNA ($P < 0.05$) and protein expression of P21 by qRT-PCR and Western blot. It was revealed that RBM7 could directly bind to mRNA of P21 by RNA-binding protein immunoprecipitation (RIP) assays. **Conclusion:** RBM7 can downregulate the expression of P21 by binding to its transcript in breast cancer cell BT474.

[Key words] breast cancer; RNA binding protein 7; P21; cell cycle

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(02): 160-165, 173]

[基金项目] 国家自然科学基金(81572595)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: dingqiang@njmu.edu.cn

近年来,随着对RNA结合蛋白(RNA binding protein, RBP)的结构和功能的研究逐步深入,人们发现RBP与多种疾病密切相关^[1],并且在癌症的发生发展中扮演着重要的角色^[2]。RBP通过影响不同靶基因mRNA的稳定性,从而在转录后的调节中发挥作用。RBP的表达突变和靶基因中的结合位点改变涉及多种人类疾病。RNA结合蛋白7(RNA binding protein 7, RBM7)基因,是以RNA识别基序(RRM)为主要结构的RBP家族中的重要成员之一^[3-4]。目前,RBM7主要参与人源性三聚体核外靶向复合物(NEXT)的构成;且作为NEXT中的关键组分,与hMTR4和锌指蛋白ZCCHC8两者相互结合,从而发挥其生物学功能^[5-7]。有研究结果显示,RNA结合蛋白38(RNA binding protein 38, RBM38)可以结合P21的3'端非编码区(untranslated regions, UTRs)的富含AU区(AU-rich elements, AREs),从而稳定P21的mRNA,诱导细胞周期停滞在G1期^[8]。

P21,也称CDKN1A,作为细胞周期依赖性蛋白激酶(CDK)的抑制剂,是细胞周期中的重要调控因子;可与CDK1和CDK2相互联系,在细胞周期的G1期中发挥作用^[9-10]。P21的过表达可以抑制哺乳动物细胞的增殖,从而调控肿瘤细胞的生长环节。通常,P21作为癌症相关基因的作用靶点,直接或者间接参与到癌症的复杂过程中。

本研究将外源性RBM7基因稳定转入人源性乳腺癌细胞株BT474中,并构建稳定转染的RBM7过表达及干扰细胞株。通过细胞学功能研究发现RBM7对乳腺细胞周期产生影响,更进一步探索发现,RBM7能够调节细胞周期关键因子P21的表达。深入机制研究发现,RBM7能与P21的转录子直接结合并发挥其生物学作用。

1 材料和方法

1.1 材料

人源性乳腺癌细胞株BT474由本实验室保存。胰酶(上海Beyotime公司);DMEM(上海Wisent公司);胎牛血清(FBS,上海Fcmacs公司);慢病毒转染试剂(上海吉玛公司);RNA TRIzol、PrimeScript RT Reagent试剂盒、SYBR Premix Ex Taq试剂(TaKaRa公司,日本);小鼠抗人 β -actin单克隆抗体(上海Beyotime公司);兔抗人RBM7多克隆抗体(上海Abcam公司);兔抗人P21抗体(Cell Signal Technology公司,美国);辣根过氧化物酶(HRP, Millipore公司,美国);增强型化学发光试剂(ECL)蛋白印迹底物

(上海Thermo公司);青、链霉素(上海HyClone公司)。细胞周期检测试剂盒(上海联科生物公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

BT474细胞株培养于含10%FBS、1%青霉素和链霉素的DMEM培养液中,置于37℃、5%CO₂的培养箱中,胰酶消化传代。

1.2.2 细胞转染

培养BT474细胞株,当细胞生长至对数生长期,融合至70%左右时,用胰酶消化细胞,按30万个/孔的细胞量铺入6孔板中,铺板18h后细胞贴壁,进行转染,参照慢病毒转染试剂说明书分别设过表达RBM7的实验组(RBM7)和对照组(NC),干扰RBM7的实验组(Sh-1和Sh-2)和对照组(SCR)。

1.2.3 筛选稳定细胞株

细胞转染48h后换为含1 μ g/ μ L嘌呤霉素的完全培养基筛选细胞株,嘌呤霉素浓度逐步加至3 μ g/ μ L,2周后选出稳定表达的抗性克隆细胞株保种、传代^[11]。

1.2.4 定量实时聚合酶链锁反应(qRT-PCR)检测RBM7基因的mRNA表达水平

引物由上海Invitrogen公司合成。取对数生长期的细胞,按TRIzol试剂说明书提取总RNA,PrimeScript RT Master Mix Perfect Real time合成cDNA(37℃15min,85℃5s,4℃延伸)。使用SYBR Premix Ex TaqTM试剂,反应体系20.0 μ L,SYBR 10.0 μ L,前后引物10mol各0.8 μ L,cDNA 2.0 μ L,灭菌蒸馏水6.0 μ L,ROX 0.4 μ L。反应条件:预变性95℃30s;变性95℃5s,退火60℃30s,共40个循环(Step One PlusTM Real-time PCR System)。计算 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值为RBM7基因的相对表达量。

PCR反应引物序列如下所示:内参 β -actin:正义5'-TCACCCACACTGTGCCATCTACGA-3';反义5'-CAGCGGAACCGCTCATTGCCAATGG-3'。RBM7:正义5'-GAAGCGGATCGCACTCTCTTT-3';反义5'-CACAAACGCAAACCTGCTTTGG-3'。P21:正义5'-TAAGGACTGAGAAATGAAAGTGGA-3';反义5'-GAGCTTAACTAAATAATAGCCCAATAC-3'。

1.2.5 Western blot检测蛋白表达

按照蛋白提取试剂盒说明书要求提取待测细胞的总蛋白。蛋白样品加至SDS-PAGE凝胶电泳2h后转至硝酸纤维素膜(PVDF)上,5%脱脂奶粉溶液室温封闭2h,分别与一抗RBM7(1:500稀释)、P21(1:1000稀释)和 β -actin(1:1000稀释)在4℃摇床内孵育过夜,TBST漂洗3次,每次10min,二抗

(1:1 000 稀释)室温孵育 2 h, TBST 漂洗 3 次, 每次 10 min。β-actin 作为内参对照。Western blot 结果用凝胶成像仪扫描, 用 Image-ProPlus 6.0 软件分析, 实验重复 3 次。

1.2.6 流式细胞周期实验

胰酶消化收集细胞, 预冷 PBS 洗 3 遍, 75%乙醇固定, 4 °C 冰箱过夜, 避光加入 400 μL DNA staining solution 后涡旋振荡 5~10 s 混匀。室温避光孵育 30 min, 使用流式细胞计数器分析其细胞周期分布情况^[12]。

1.2.7 CCK-8 实验

细胞以 2 000 个/孔的密度接种在 96 孔板中, 设置只含有培养液的空白对照孔。细胞使用完全培养基连续培养 6 d, 选取固定的时间点每天进行检测。检测前吸尽孔中的旧培养液, 以 100 μL/孔的量加入 CCK-8 混合液, 继续在培养箱中孵育。2 h 后使用酶标检测仪在 450 nm 的波长下测量吸光度, 获得吸光度值。

1.2.8 RNA 结合蛋白免疫共沉淀(RIP)

将人乳腺癌细胞 BT474 (2×10⁷ 个) 用 RNA 免疫沉淀裂解缓冲液 (Millipore 公司, 美国) 裂解, 离心取上清, 在 4 °C 下分别与 5 μg 抗兔 RBM7 抗体和抗兔非特异性 IgG 摇床孵育过夜。待抗体与 RNA 以及磁珠结合后沉淀为复合物, 并对沉淀下来的复合物进行 RNA 纯化。之后, 将纯化的 RNA 进行 qRT-PCR、RT-PCR 及琼脂糖电泳实验^[13]。用于检测 P21

和 β-actin 的引物序列同前。

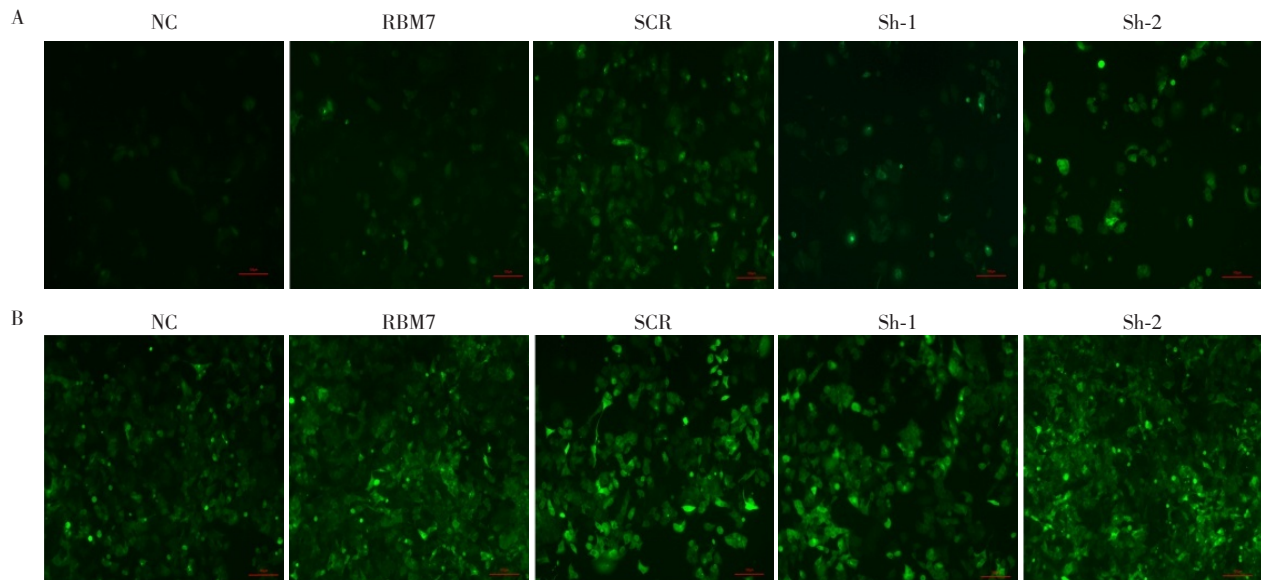
1.3 统计学方法

应用 SPSS22.0 统计软件分析, 结果以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。使用 *t* 检验比较两组独立样本; 使用方差分析比较组间差异。实验均进行 3 次重复, *P* < 0.05 为差别有统计学意义。

2 结果

2.1 在乳腺癌细胞 BT474 中构建稳定的 RBM7 过表达及干扰细胞株

首先构建了 RBM7 过表达及干扰慢病毒, 并分别转染入人乳腺癌细胞 BT474 中。转染 24 h 后, 我们开始用嘌呤霉素筛选细胞, 用量由 1 μg/μL 逐步加至 3 μg/μL, 以获得稳定转染的细胞株。转染 48 h 后, 在荧光显微镜下可观察到细胞带有绿色荧光, 荧光效果较弱 (图 1A)。经过 14 d 的嘌呤霉素抗性筛选, 细胞在嘌呤霉素环境下稳定生长并传代 3 次, 获得稳定表达 RBM7 的带抗性的 BT474 细胞, 在荧光显微镜下可观察到细胞带有绿色荧光, 荧光表达较前明显增强 (图 1B)。然后, 通过 qRT-PCR 和 Western blot 实验发现, 在过表达 RBM7 的实验组 (RBM7) 和对照组 (NC) 之中, 与对照组相比, 实验组 RBM7 的 RNA 和蛋白表达水平明显增高, 差异有统计学意义图 (*P* < 0.05, 图 2A、B); 同时, 在干扰 RBM7 的实验组 (Sh-1 和 Sh-2) 和对照组 (SCR) 中, 实验组 RBM7 的 mRNA 和蛋白表达水平明显下降, 差异



RBM7 实验组 (RBM7) 和对照组 (NC), 干扰 RBM7 实验组 (Sh-1 和 Sh-2) 和对照组 (SCR)。

图 1 使用荧光显微镜分别观察转染 48 h (A) 和稳定转染后 (B) 的人乳腺癌细胞 BT474 中情况表达情况

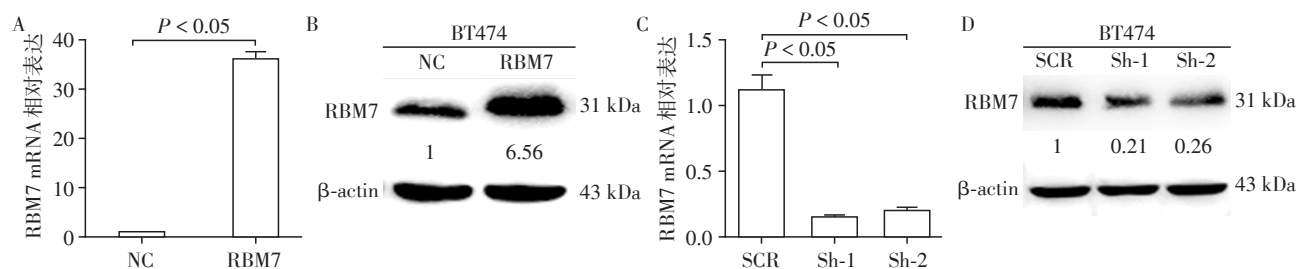
Figure 1 The green fluorescence was observed by fluorescence microscope when BT474 was transfected with lentivirus for 48 h (A) and after stably screening (B)

有统计学意义($P < 0.05$,图2C、D)。

2.2 RBM7表达改变影响乳腺癌细胞的增殖

用上述构建的细胞株进行功能实验,通过CCK-

8实验发现,RBM7过表达组(RBM7)的细胞增殖速度明显快于对照组(NC),而RBM7干扰组(Sh-1和Sh-2)的细胞增殖速度明显慢于对照组(SCR),差异



过表达RBM7实验组(RBM7)和对照组(NC),干扰RBM7实验组(Sh-1和Sh-2)和对照组(SCR)。

图2 qRT-PCR(A、C)和Western blot(B、D)分别检测人乳腺癌细胞BT474中RBM7的mRNA和蛋白表达

Figure 2 The expression of RBM7 was verified after BT474 stably transfected with lentivirus by qRT-PCR(A, C) and Western blot(B, D)

有统计学意义($P < 0.05$,图3A、B)。通过流式细胞周期实验发现,RBM7过表达后的G1期细胞数百分比明显减少,而S期和G2期细胞数百分比显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$,图3C、D);而RBM7干扰组(Sh-1和Sh-2)较对照组(SCR)相比,G1期的细胞数百分比明显增加,而S期和G2期的细胞数百分比有所下降,差异有统计学意义($P < 0.05$,图3E、F)。这说明过表达RBM7可以诱导细胞周期的进程加快,而干扰RBM7则可以抑制细胞周期的进程。

2.3 RBM7表达改变对P21的mRNA和蛋白表达的影响

qRT-PCR和Western blot结果显示,过表达RBM7后,P21的mRNA和蛋白表达水平明显降低,差别有统计学意义($P < 0.05$,图4A、B);干扰RBM7后,P21的mRNA和蛋白表达水平明显升高,差异有统计学意义($P < 0.05$,图4C、D)。

2.4 RBM7能直接结合P21的转录子

基于上述所描述的RBM7与P21表达的相关性,本研究进一步通过RIP实验研究了RBM7调节P21表达的机制,将RIP实验获得的mRNA进一步进行qRT-PCR实验,结果显示在实验组、空白对照组和阴性对照组之中,实验组(RBM7)的P21的mRNA表达水平较阴性对照组(IgG)的明显增高,差异有统计学意义(图5A)。同时琼脂糖凝胶电泳实验,结果显示加RBM7抗体复合物的实验组中有P21的表达,而加IgG抗体复合物的阴性对照组中无P21的表达。作为阳性对照,RBM7不能与β-actin结合(图5B)。这些研究结果表明RBM7能直接结合P21的

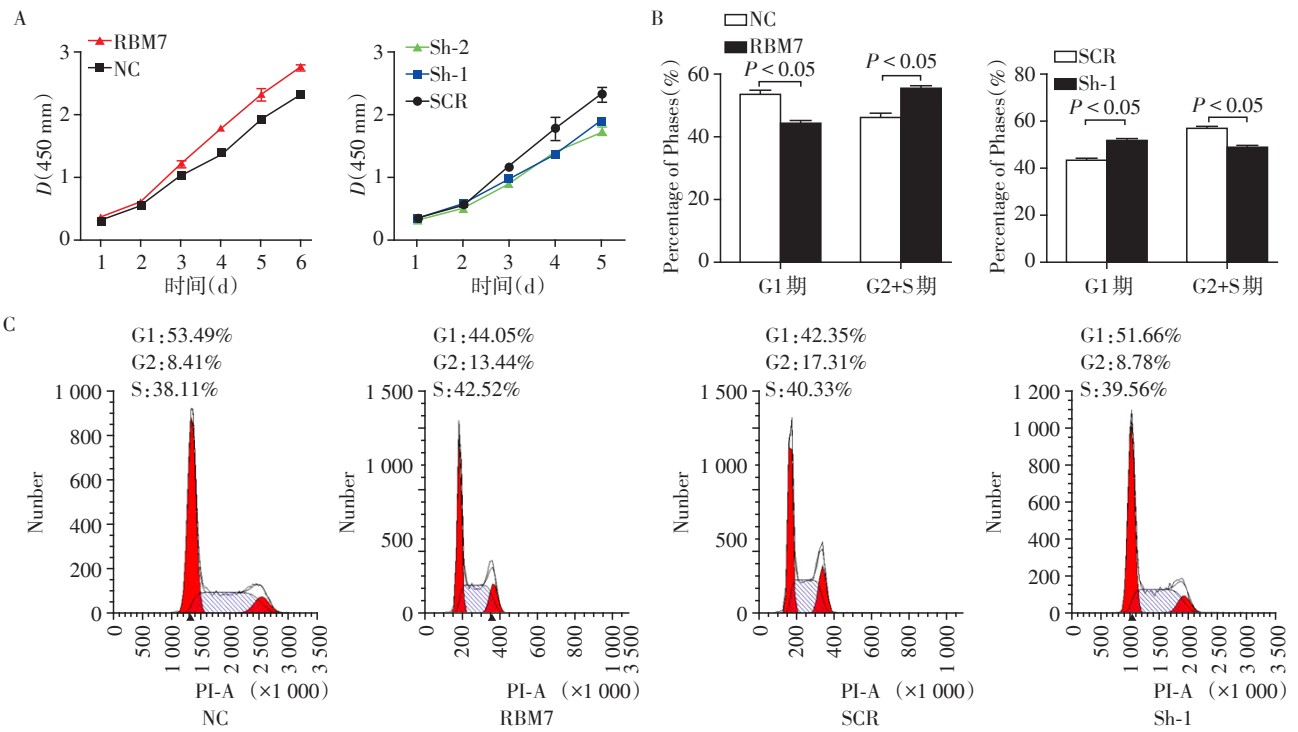
转录子,从而调节P21的表达。

3 讨论

RBP主要在转录后的基因表达调控中发挥作用,对肿瘤的发生发展具有重要意义^[14-15]。具体来说,RBP直接结合RNA的非翻译区(UTR),并涉及RNA加工的各个方面,例如RNA定位、多腺苷酸化、剪接、转运、稳定性和翻译等,从而参与到细胞过程中^[16]。所有的RBP均可与RNA结合生成核糖核蛋白复合物(ribonucleoprotein complexes, RNP),且不同的RBP具有不同的RNA序列特异性、亲和力^[17]。RBP影响着RNA的结构、RNA与RNA之间的相互联系,并且在RNP中发挥着关键作用。几乎所有类型的RBP都直接或间接地参与到蛋白质的翻译过程中^[18]。

RBP通过多种机制调控翻译,包括与核糖体竞争RNA、直接结合mRNA和诱导核糖体捕获等^[19]。其中,RBP直接结合mRNA较普遍,是将遗传信息从转录组传递到蛋白质组的关键点。RBP覆盖mRNA形成的结合物作为翻译过程中所需的底物^[20-21]。RBP的3'-UTR属于非编码部分,含有序列特异性RBP结合的顺式作用元件。3'-UTR既是mRNA的稳定性、细胞内定位和翻译的调节元件的储存库,又可以像长的非编码或小RNA一样发挥作用^[22]。RBP激活或抑制翻译过程,且大多数已知的实例是RBP通过与靶mRNA的3'-UTR结合来发挥作用的,这有助于实现基因表达调控的局部功能化、区域化以及协调一致性^[23]。

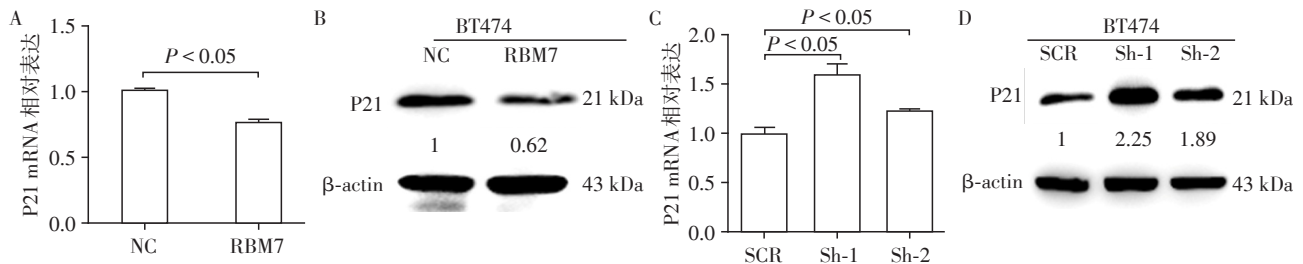
本研究中的RBM7既是RBP的成员之一,又作



过表达RBM7实验组(RBM7)和对照组(NC),干扰RBM7实验组(Sh-1和Sh-2)和对照组(SCR)。

图3 CCK-8实验(A)及流式细胞周期实验(B、C)结果

Figure 3 Results of CCK-8 assays(A) and flow cytometry assays(B、C)



过表达RBM7实验组(RBM7)和对照组(NC),干扰RBM7实验组(Sh-1和Sh-2)和对照组(SCR)。

图4 qRT-PCR(A、C)和Western blot(B、D)实验分别检测人乳腺癌细胞BT474中的P21的mRNA和蛋白表达

Figure 4 The mRNA and protein expression of P21 in BT474 cells detected by qRT-PCR(A、C)and Western blot(B、D)

为人源性三聚体核外靶向复合物(NEXT)的关键组成部分,其主要通过RNA识别基序(RRMs)与mRNAs中富含尿苷的序列特异性结合从而在NEXT中发挥重要作用^[24]。目前,人们主要关注RBM7在NEXT中的结合方式和作用,然而其在肿瘤中的具体作用机制尚未可知。

众所周知,肿瘤的发生发展在一定程度上涉及细胞周期及凋亡等过程的变化^[25]。本研究中CCK-8和流式细胞周期实验结果均表明,人源性乳腺癌细胞BT474中过表达RBM7可促进乳腺癌细胞的增殖,同时加速细胞周期的进程;而干扰RBM7则可抑制乳腺癌细胞的增殖,同时阻碍细胞周期的发展。细胞周期涉及众多因子共同作用,其中P21起主要

抑制作用,通过与细胞周期蛋白依赖性激酶CDK1和CDK2结合,介导多种生物活性,从而诱导细胞周期进程的停滞。P21在许多肿瘤中都低表达,并且P21低表达与较大的肿瘤形成以及较差的生存情况都有一定的关联性。P21可与增殖细胞核抗原(PCNA)结合,进而干扰PCNA依赖性DNA聚合酶活性,抑制DNA复制,调节各种有PCNA依赖性的DNA修复过程^[26-27]。相关研究表明,转录后调控是P21表达调控的重要方式之一,许多RNA结合蛋白都被报道可以调节P21的稳定性。如紫外线暴露后的HUR通过结合P21 mRNA的3'-UTR区来提高其稳定性;RBM38通过结合P21 mRNA的3'-UTR区发挥促癌作用;RBMS2结合P21 mRNA的3'-UTR区,

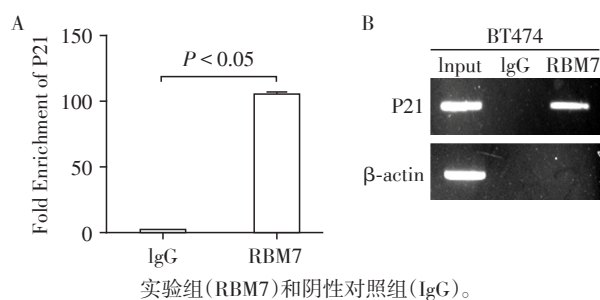


图5 qRT-PCR(A)和琼脂糖凝胶电泳(B)实验检测RBM7与P21的mRNA结合情况

Figure 5 The binding of RBM7 to P21 mRNA detected by qRT-PCR (A) and agarose gel electrophoresis (B)

从而增加了P21的表达并发挥抑癌作用等^[28]。

本研究中探索了人乳腺癌细胞BT474中RBM7的表达改变对P21表达的影响。初步认为,RBM7与P21的表达在人乳腺癌细胞BT474中呈负相关,RBM7过表达可以抑制P21的mRNA和蛋白的表达。通过RIP实验,进一步研究证实了在人乳腺癌细胞BT474中RBM7直接结合P21的mRNA从而发挥其负性调节作用。

综上所述,RBM7在人乳腺癌细胞BT474中可以通过直接结合细胞周期关键因子P21的mRNA从而抑制P21的表达并发挥其对细胞周期的作用,而RBM7在乳腺癌中发挥作用的具体分子机制以及是否涉及调控其他靶基因的表达目前尚不明确,有待后续深入研究。

[参考文献]

[1] LUKONG K E, CHANG K W, KHANDJIAN E W, et al. RNA-binding proteins in human genetic disease [J]. Trends Genet 2008, 24:416-425

[2] 张智婷, 郭心玮, 奚 涛. RNA结合蛋白与肿瘤关系的研究进展[J]. 健康前沿, 2018, 27(5):219

[3] GLISOVIC T, BACHORIK J L, YONG J, et al. RNA-binding proteins and post-transcriptional gene regulation [J]. FEBS Lett, 2008, 582:1977-1986

[4] 唐 蜻. 植物RNA结合蛋白的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(1):38-41

[5] PUNO M R, LIMA C D. Structural basis for MTR4-ZC-CHC8 interactions that stimulate the MTR4 helicase in the nuclear exosome-targeting complex [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2018, 115:5506-5515

[6] HROSSOVA D, SIKORSKY T, POTESIL D, et al. RBM7 subunit of the NEXT complex binds U-rich sequences and targets 3'-end extended forms of snRNAs [J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43:4236-4248

[7] MEOLA N, DOMANSKI M, KARADOULAMA E, et al. Identification of a nuclear exosome decay pathway for processed transcripts [J]. Mol Cell, 2016, 64:520-533

[8] SHU L, YAN W, CHEN X. RNPC1, an RNA-binding protein and a target of the p53 family, is required for maintaining the stability of the basal and stress-induced p21 transcript [J]. Genes, 2006, 20:2961-2972

[9] MALUMBRES M, BARBACID M. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9:153-166

[10] ABBAS T, DUTTA A. p21 in cancer: intricate networks and multiple activities [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9:400-414

[11] XUE J Q, XIA T S, LIANG X Q, et al. RNA-binding protein RNPC1: acting as a tumor suppressor in breast cancer [J]. BMC Cancer, 2014, 14:322

[12] SUN X, HU Y, WU J, et al. RBMS2 inhibits the proliferation by stabilizing P21 mRNA in breast cancer [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37:298

[13] SHI L, XIA T S, WEI X L, et al. Estrogen receptor (ER) was regulated by RNPC1 stabilizing mRNA in ER positive breast cancer [J]. Oncotarget, 2015, 6:12264-12278

[14] VAN EEKELEN C A, VAN VENROOIJ W J. hnRNA and its attachment to a nuclear protein matrix [J]. J Cell Biol, 1981, 88:554-563

[15] 吴 靓, 周旭婕, 李小霞, 等. RNPC1通过抑制Snail表达影响乳腺癌转移[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2017, 37(8):938-942

[16] KAZAN H, RAY D, CHAN E T, et al. RNAcontext: a new method for learning the sequence and structure binding preferences of RNA-binding proteins [J]. PLoS Comput Biol, 2010, 6:e1000832

[17] BURD C G, DREYFUSS G. Conserved structures and diversity of functions of RNA-binding proteins [J]. Science, 1994, 265:615-621

[18] GERSTBERGER S, HAFNER M, TUSCHL T. A census of human RNA-binding proteins [J]. Nature Reviews Genetics, 2014, 15:829-845

[19] ADELI K. Translational control mechanisms in metabolic regulation: critical role of RNA binding proteins, microRNAs, and cytoplasmic RNA granules [J]. American Journal Of Physiology Endocrinology and Metabolism, 2011, 301:E1051-1064

[20] MOORE K S, VON LINDERN M. RNA binding proteins and regulation of mRNA translation in erythropoiesis [J]. Frontiers in Physiology, 2018, 9:910

[21] VOGEL C, ABREU RDE S, KO D, et al. Sequence signa-

(下转第173页)

- mice through a chymase/mast cell protease 4-dependent mechanism[J]. *J Immunol*, 2014, 192(4): 1847-1854
- [17] CRUSE G, BRADDING P. Mast cells in airway diseases and interstitial lung disease [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 778:125-138
- [18] KOTTMANN R M, HOGAN C M, PHIPPS R P, et al. Determinants of initiation and progression of idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Respirology*, 2009, 14(7): 917-933
- [19] LI M, LUAN F, ZHAO Y, et al. Epithelial-mesenchymal transition: an emerging target in tissue fibrosis [J]. *Exp Biol Med*(Maywood), 2016, 241(1): 1-13
- [20] LEE C M, PARK J W, CHO W K, et al. Modifiers of TGF-beta1 effector function as novel therapeutic targets of pulmonary fibrosis [J]. *Korean J Intern Med*, 2014, 29(3): 281-290
- [21] KAGE H, BOROK Z. EMT and interstitial lung disease: a mysterious relationship [J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2012, 18(5): 517-523
- [22] GONZALEZ D M, MEDICI D. Signaling mechanisms of the epithelial - mesenchymal transition [J]. *Sci Signal*, 2014, 7(344): re8
- [23] MARMAI C, SUTHERLAND R E, KIM K K, et al. Alveolar epithelial cells express mesenchymal proteins in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2011, 301(1): L71-78
- [24] ZHAO J, SHI W, WANG Y L, et al. Smad3 deficiency attenuates bleomycin - induced pulmonary fibrosis in mice [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2002, 282(3): L585-593
- [25] DIVYA T, VELAVAN B, SUDHANDIRAN G. Regulation of TGF-beta/smad mediated epithelial-mesenchymal transition by celastrol provides protection against bleomycin-induced pulmonary fibrosis [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2018,
- [26] AOYAGI-IKEDA K, MAENO T, MATSUI H, et al. Notch induces myofibroblast differentiation of alveolar epithelial cells via transforming growth factor- β -Smad3 pathway [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2011, 45(1): 136-144
- [27] ZHANG L H, PANG X F, BAI F, et al. Preservation of glucagon-like peptide-1 level attenuates angiotensin II - induced tissue fibrosis by altering AT1/AT2 receptor expression and angiotensin - converting enzyme 2 activity in rat heart [J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2015, 29(3): 243-255
- [28] LI W, CUI M, WEI Y, et al. Inhibition of the expression of TGF-beta1 and CTGF in human mesangial cells by exendin-4, a glucagon-like peptide-1 receptor agonist [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2012, 30(3): 749-757
- [29] SHAIKH D, ZHOU Q, CHEN T, et al. cAMP-dependent protein kinase is essential for hypoxia-mediated epithelial-mesenchymal transition, migration, and invasion in lung cancer cells [J]. *Cell Signal*, 2012, 24(12): 2396-2406
- [收稿日期] 2019-06-17

(上接第165页)

- tures and mRNA concentration can explain two-thirds of protein abundance variation in a human cell line [J]. *Molecular Systems Biology*, 2010, 6: 400
- [22] MAYR C. Regulation by 3'-Untranslated regions [J]. *Annual Review of Genetics*, 2017, 51: 171-194
- [23] GEBAUER F, PREISS T, HENTZE M W. From cis-regulatory elements to complex RNPs and back [J]. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2012, 4: a012245
- [24] FALK S, FINOGENOVA K, MELKO M, et al. Structure of the RBM7-ZCCHC8 core of the NEXT complex reveals connections to splicing factors [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13573
- [25] XIONG Y, HANNON G J, ZHANG H, et al. p21 is a universal inhibitor of cyclin kinases [J]. *Nature*, 1993, 366: 701-704
- [26] WEISS RH. p21Waf1/Cip1 as a therapeutic target in breast and other cancers [J]. *Cancer Cell*, 2003, 4: 425-429
- [27] 孙 卓, 卢今奇, 吴牧雨, 等. 干扰PTEN基因表达对宫颈癌细胞系 HeLa 细胞周期的影响及相关机制研究 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(9): 1175-1180
- [28] WANG W, FURNEAUX H, CHENG H, et al. HuR regulates p21 mRNA stabilization by UV light [J]. *Molecular and Cellular Biology*, 2000, 20: 760-769
- [收稿日期] 2019-06-30