

· 基础研究 ·

端粒酶抑制因子 PinX1 基因在鼻咽癌细胞中的表达及作用效应分析

赖肖芬, 申聪香, 文忠, 钱宇虹

(南方医科大学附属珠江医院耳鼻咽喉头颈外科, 广东广州 510282)

摘要: **目的** 探讨 PinX1 基因在鼻咽癌细胞中的表达及其作用效应分析。**方法** 构建包含全长人 PinX1 基因序列的质粒载体 pEGFP-C3-PinX1 及 PinX1 的小干扰 RNA, PinX1-FAM-siRNA。脂质体法转染人鼻咽癌 5-8F 细胞, 采用 RT-PCR 检测 PinX1 基因和端粒酶催化亚单位 (hTERT) mRNA 的表达; 分别采用 Stretch PCR、MTT 及流式细胞仪检测肿瘤细胞端粒酶活性、增殖能力及凋亡改变。**结果** 成功构建 PinX1 基因质粒载体及合成其小干扰 RNA。转染鼻咽癌 5-8F 细胞后, PinX1 mRNA 的表达水平显著提高, hTERT mRNA 的表达水平下降了 29.9%, 端粒酶活性显著降低, 肿瘤细胞增殖能力受到抑制, 诱导鼻咽癌细胞凋亡率从未转染的 $19.27\% \pm 0.76\%$ 增加至转染后的 $49.73\% \pm 2.70\%$ ($P < 0.05$); 转染 PinX1 基因的小干扰 RNA (PinX1-FAM-siRNA), 结果显示 PinX1 mRNA 的表达水平下降 70%, 而鼻咽癌 5-8F 细胞的增殖能力、端粒酶活性和 hTERT 的表达以及细胞凋亡率未受到显著影响。**结论** 外源 PinX1 基因可在鼻咽癌细胞中高表达, 显著抑制该肿瘤细胞中端粒酶活性及其 hTERT mRNA 表达, 抑制鼻咽癌细胞增殖并诱导肿瘤细胞凋亡增加。沉默鼻咽癌细胞中 PinX1 基因后, PinX1 基因的抑制性功能相应地受抑制。施加正反调节因素后的结果表明 PinX1 基因是一个潜在的端粒酶活性抑制剂, 可能通过靶向抑制端粒酶途径来影响肿瘤的发生发展, 本研究将为鼻咽癌的靶向基因治疗开辟新领域。

关键词: 鼻咽癌; PinX1 基因; 小干扰 RNA; 端粒酶; 凋亡

中图分类号: R739.63 文献标识码: A 文章编号: 1007-1520(2011)03-0161-06

Expression and effective analysis of telomerase inhibitor PinX1 in nasopharyngeal carcinoma cells

LAI Xiao-fen, SHEN Cong-xiang, WEN-zhong, et al.

(Department of Otolaryngology-Head and Neck Surgery, Pearl River Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong 510282, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of PinX1 gene and its functional effects in human nasopharyngeal carcinoma (NPC) cells. **Methods** Expression vectors of human PinX1 (pEGFP-C3-PinX1) and its small interfering RNA (PinX1-FAM-siRNA) were constructed and transfected into NPC 5-8F cells by lipofectamine TM 2000. First, mRNA level of PinX1 was examined with RT-PCR. And then, its effects on mRNA level of telomerase catalytic subunit (hTERT), telomerase activity, cell proliferation and apoptosis were examined using semi-quantitative RT-PCR, stretch PCR, MTT assay and flow cytometry, respectively. **Results** The analysis of restriction and sequencing showed that the recombinant plasmids were successfully constructed. The results also showed that transfection of pEGFP-C3-PinX1 and PinX1-FAM-siRNA into NPC 5-8F cells

基金项目: 本课题受广东省自然科学基金资助(项目编号 91515051501000061)。
作者简介: 赖肖芬, 女, 硕士研究生。
通讯作者: 文忠, 男, Email: wenzhong60@163.com.

increased PinX1 mRNA by 1.6-fold and reduced PinX1 mRNA by 70%, respectively. Over-expression of PinX1 decreased hTERT mRNA by 29.9% ($P < 0.05$), significantly reduced telomerase activity ($P < 0.05$), inhibited cell growth, increased cell apoptotic index from 19.27% \pm 0.76% to 49.73% \pm 2.70% ($P < 0.05$). The study further showed that silencing PinX1 did not alter all the characteristics of NPC 5-8F cells, including cell growth, mRNA level of hTERT, telomerase activity and cell apoptotic index ($P > 0.05$). **Conclusion** Transfection of pEGFP-C3-PinX1 into NPC 5-8F cells can inhibit the expression of human telomerase activity and hTERT, decrease cell growth and induce apoptosis. Besides, inhibitory functions can't work by silencing PinX1 with PinX1-FAM-siRNA. Taking together, PinX1 as an endogenous telomerase inhibitor has application potential to tumor-targeted gene therapy.

Key words: Nasopharyngeal carcinoma; PinX1 gene; siRNA; Telomerase; Apoptosis

鼻咽癌是我国南方最常见的恶性肿瘤之一,目前的放化疗治疗手段虽在不断完善,但并未明显提高鼻咽癌的长期生存率及改善生存质量。因此,探索鼻咽癌的发病机制及新的安全有效的治疗方法成为鼻咽癌治疗的关键。

笔者前期研究发现^[1-2],在包括 88% 的鼻咽癌组织及 100% 鼻咽癌 HNE1 细胞株中均有端粒酶活性增高和 hTERT 高表达。以端粒酶为靶点的肿瘤靶向基因治疗成为热点,也为鼻咽癌的治疗提供了新思路。

PinX1 (Pin2/TRF1 interacting protein) 基因作为一个潜在的内源性端粒酶抑制剂被发现。有学者发现,PinX1 基因能够抑制部分肿瘤细胞中的端粒酶活性,诱导该类肿瘤细胞凋亡^[3-6],但在另一些研究中却得出相反的结果。PinX1 基因在不同肿瘤中的作用机制可能不同,对肿瘤细胞端粒酶/端粒的调控作用机制比较复杂。为探讨 PinX1 对鼻咽癌及其端粒酶活性调控中的作用机制,笔者成功构建 PinX1 基因表达载体及小干扰 RNA,对其在鼻咽癌细胞中表达及作用效应进行了探讨,报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

奥地利新生牛血清购自广州威佳公司;脂质体 Lipofectamine 2000 TM 购自美国 Invitrogen 公司;RT-PCR 试剂盒购自大连宝生物工程有 限 公 司;噻唑蓝 (thiazolyl blue, MTT) 购自美国 Sigma 公司,端粒酶活性检测试剂盒购自日本东洋纺公司;引物均由上海英骏公司合成。

1.2 方 法

1.2.1 细胞培养及细胞转染 人鼻咽癌 5-8F 细胞株及人脐静脉内皮细胞 ECV-304 分别在 RPMI1640 及 DMEM 完全培养基(含 10% NCS)中 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养,常规消化传代。采用脂质体转染质粒载体及 siRNA,转染 24~48 h 荧光显微镜下观察细胞荧光。具体步骤参照说明书。

1.2.2 质粒构建及 siRNA 体外化学合成 pEGFP-C3-PinX1、pEGFP-C3 质粒载体由武汉三鹰生物技术有限公司构建,具有卡那霉素抗性。针对 PinX1 基因的 siRNA (PinX1-FAM-siRNA sense: 5'-GUAA AGAU GUGG AAAG UUAT T-3', antisense: 5'-TTCA UUUC UACA CCUU UCAA U-3')由上海吉玛公司合成。

1.2.3 实验分组 A 组:pEGFP-C3-PinX1 组(转染带 PinX1 基因的质粒);B 组:pEGFP-C3 组(转染不带 PinX1 基因的空质粒);C 组:脂质体组(只加脂质体);D 组:空白细胞组(常规培养的 5-8F 细胞,不加任何干扰因素);E 组:PinX1-FAM-siRNA 组(转染针对 PinX1 基因的小干扰 RNA)。

1.2.4 RT-PCR 法测定鼻咽癌细胞中 PinX1 基因及端粒酶催化亚单位(hTERT)的 mRNA 表达水平 转染 48 h 后,Trizol 提取细胞总 RNA,采用 AMV 逆转录合成 cDNA,参照 TAKALA 的 RT-PCR 试剂盒说明书操作,PinX1 mRNA PCR 反应条件:94℃ 预变性 2 min,94℃ 变性 1 min,55℃ 退火 1 min,72℃ 延伸 2 min,扩增 25 个循环,最后 72℃ 再延伸 5 min。hTERT mRNA PCR 反应条件为:94℃ 预变性 4 min,94℃ 变性 30 s,49℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 45 s,扩增 30 个

循环,72℃再延伸5min。均采用GAPDH作为内参照。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳鉴定,UVI凝胶成像系统摄像。Quantity one软

件分析条带灰度值,用PinX1/GAPDH和hTERT/GAPDH分别代表PinX1 mRNA及hTERT mRNA的相对表达量。引物序列见表1。

表1 PinX1、hTERT、GAPDH的RT-PCR引物序列

| 基因 | 正义引物5'-3' | 反义引物5'-3' | 产物大小(bp) |
|-------|---------------------------------|-----------------------------|----------|
| PinX1 | TTTTCTCGAGATGTCATATGCTGGCTGAACG | TTTGAATCTCATTTGGAATCTTTCTTC | 987 |
| hTERT | CCGAGTGACCGTGGTTTCTGTG | GGAAGCGGCGTTCGTTGTG | 670 |
| GAPDH | GGAAGATGGTGATGGGATT | GGATTGCTCGTATTGGG | 205 |

1.2.5 MTT法检测鼻咽癌细胞增殖能力
鼻咽癌细胞5-8F接种于96孔板,转染,分别在0、24、48、72h四个时间点采用MTT比色法检测细胞增殖状态,以490nm波长的吸光度值OD490量化活细胞数。绘制生长曲线,并计算各组的生长抑制率。细胞生长抑制率(IR) = (对照组OD490 - 干扰组OD490) / 对照组OD490 × 100%。

1.2.6 Stretch PCR法检测细胞端粒酶活性
鼻咽癌细胞5-8F接种于96孔板,转染,48h后采用Stretch PCR法检测细胞端粒酶活性,具体方法参照TeloChaser试剂盒说明书操作。

1.2.7 细胞凋亡分析
鼻咽癌细胞5-8F接种于96孔板,转染,48h后收集细胞,用预冷的PBS洗涤,结合缓冲液重新悬浮细胞,使其浓度为1 × 10⁶/ml,采用Annexin V/PI(碘化丙锭溶液)染色,流式细胞仪分析细胞凋亡情况,凋亡指数(AI) = (凋亡细胞数/癌细胞总数) × 100%。

1.3 统计学分析

采用SPSS13.0软件进行数据分析,除细胞增殖实验(MTT)用两因素析因设计的方差分析外,其余均用One-Way ANOVA方差分析,P < 0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-PCR检测细胞PinX1 mRNA的表达

结果显示各组均能扩增出987bp的PinX1基因片段。pEGFP-C3-PinX1能使5-8F细胞PinX1 mRNA的表达水平显著上调1.6倍(P < 0.05); PinX1-FAM-siRNA

转染后,PinX1 mRNA的表达水平下降了70%,有效地沉默了PinX1基因的表达;pEGFP-C3组、脂质体组及空白细胞组之间PinX1 mRNA的表达无统计学意义(P > 0.05)。见图1和表2。

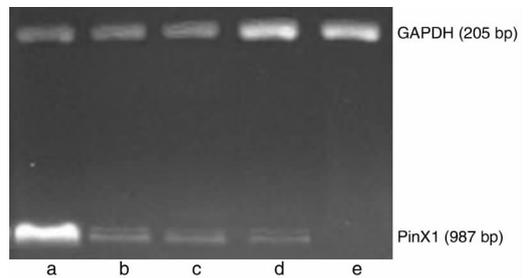


图1 RT-PCR法检测细胞PinX1基因mRNA表达
a: pEGFP-C3-PinX1组; b: pEGFP-C3组; c: 脂质体组; d: 空白细胞组; e: PinX1-FAM-siRNA

表2 PinX1 mRNA表达水平检测($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 实验分组 | mRNA |
|------------------|------------------|
| pEGFP-C3-PinX1组 | 1.599 ± 0.102 * |
| pEGFP-C3组 | 1.103 ± 0.160 |
| 脂质体组 | 1.041 ± 0.129 |
| 空白细胞组 | 1.000 ± 0.160 |
| PinX1-FAM-siRNA组 | 0.303 ± 0.048 ** |

注:单因素方差分析显示组间差异F = 39.626, P = 0.000。进一步两两比较,*表示与空白细胞组比较,P = 0.000;**表示与空白细胞组比较,P = 0.000;不带*表示与空白细胞组比较无统计学意义

2.2 细胞增殖实验结果

采用两因素析因设计方差分析进行5-8F细胞增殖情况的分析。结果发现组间差异有统计学意义(F = 35.870, P =

0.000), 结合 SNK 多重比较结果, pEGFP-C3-PinX1 组的 OD490 值 ($\bar{x} \pm s = 2.15 \pm 0.27$) 显著低于空白细胞组 ($\bar{x} \pm s = 2.52 \pm 0.50$), 两者相比有统计学意义 ($P = 0.038$), 提示 pEGFP-C3-PinX1 显著抑制细胞的增殖。pEGFP-C3 组、脂质体组、PinX1-FAM-siRNA 组与空白细胞组比较无统计学意义 ($P > 0.05$), 表明此 3 种处理对细胞的增殖能力无显著影响; 不同时间点也有统计学意义 ($F = 437.621, P = 0.000$), 结合 SNK 多重比较结果, 0、24、48、72、96 h 不同时间点的 OD490 值随时间增加而增大; 时间与组别间存在交互效应 ($F = 4.592, P = 0.000$), 说明两组间的差异随时间变化而变化。以细胞在不同时间点的 OD490 值绘制细胞生长曲线, 并计算出细胞生长抑制率 (图 2), MTT 增殖实验显示 pEGFP-C3-PinX1 对 5-8F 细胞增殖呈显著的抑制作用, PinX1-FAM-siRNA 对 5-8F 细胞增殖无显著影响

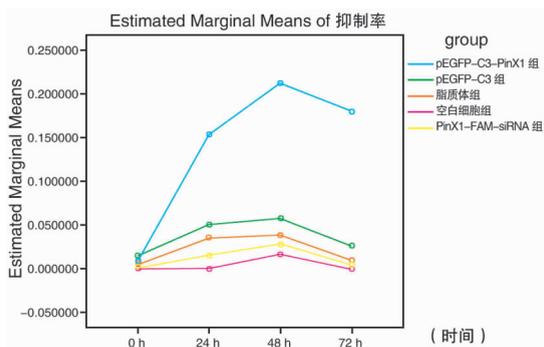


图 2 细胞生长抑制率

2.3 hTERT mRNA 的表达水平和端粒酶活性检测结果

2.3.1 hTERT mRNA 的表达 结果显示转染 pEGFP-C3-PinX1 可使 hTERT mRNA 表达水平下降达 29.9%, 而转染 PinX1-FAM-siRNA 沉默 PinX1 的表达与空白细胞组的 hTERT mRNA 表达水平差异无统计学意义 ($P = 0.757$)。见表 3 和图 3。

2.3.2 端粒酶活性检测 结果显示鼻咽癌 5-8F 细胞端粒酶活性呈强阳性, 对照细胞 ECV-304 端粒酶活性呈弱阳性。pEGFP-C3-PinX1 转染后能使鼻咽癌细胞端粒酶活

性降低, 而 PinX1-FAM-siRNA 对 5-8F 细胞端粒酶活性无显著影响。组间差异有统计学意义 ($F = 59.436, P = 0.000$)。见图 4。

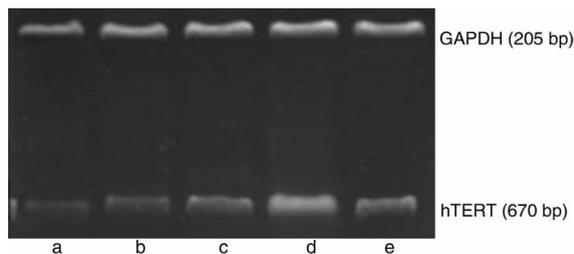


图 3 hTERT mRNA 的表达水平

a: pEGFP-C3-PinX1 组; b: pEGFP-C3 组; c: 脂质体组; d: 空白细胞组; e: PinX1-FAM-siRNA 组

表 3 hTERT mRNA 表达检测 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 实验分组 | hTERT mRNA |
|-------------------|------------------|
| pEGFP-C3-PinX1 组 | 0.701 ± 0.088 * |
| pEGFP-C3 组 | 0.928 ± 0.110 |
| 脂质体组 | 0.974 ± 0.048 |
| 空白细胞组 | 1.000 ± 0.088 |
| PinX1-FAM-siRNA 组 | 1.024 ± 0.145 ** |

注: 单因素方差分析显示组间差异 $F = 5.608, P = 0.012$ 。进一步两两比较, * 表示与空白细胞组比较, $P = 0.003$; ** 表示与空白细胞组比较, $P = 0.757$; 不带 * 表示与空白细胞组比较无统计学意义

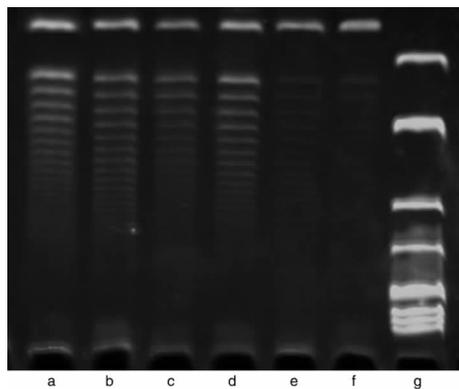


图 4 细胞端粒酶活性

注: 通过 Stretch PCR 法评价 5 组细胞中端粒酶活性的强弱。从图中可见: 人脐静脉内皮细胞 ECV-304 端粒酶呈弱阳性, 正常鼻咽癌细胞 5-8F 端粒酶强阳性, pEGFP-C3-PinX1 质粒明显抑制鼻咽癌细胞端粒酶的活性, 而 PinX1-FAM-siRNA、脂质体、pEGFP-C3 处理均对端粒酶活性无显著影响

2.3.3 细胞凋亡检测 Annexin V (-) / PI (-) 为活细胞 (左下象限), Annexin V (+) /

PI(-)为早期凋亡细胞(右下象限), Annexin V(-)/PI(+)为晚期凋亡细胞(右上象限), 凋亡指数(AI) = 凋亡细胞数/总细胞数 = 早期凋亡指数 + 晚期凋亡指数。结果显示 pEGFP-C3-PinX1 转染后 5-8 F 细胞凋亡指

数($\bar{x} \pm s = 49.73 \pm 2.70\%$)较空白对照细胞组($\bar{x} \pm s = 19.27 \pm 0.76\%$)显著升高($P < 0.05$)。pEGFP-C3 组、脂质体组、PinX1-FAM-siRNA 组与空白对照细胞组细胞凋亡指数无统计学意义($P > 0.05$)。见图 5。

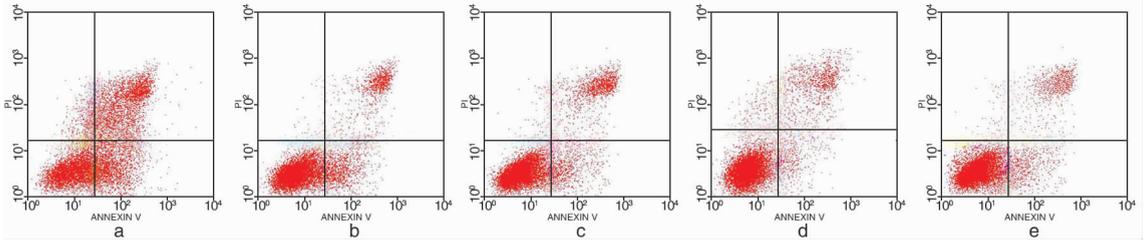


图 5 流式细胞仪测细胞凋亡

a: pEGFP-C3-PinX1 组; b: pEGFP-C3 组; c: 脂质体组; d: 空白细胞 5-8 F 组; e: PinX1-FAM-siRNA 组。(注:右上、右下象限代表凋亡细胞,左下象限代表正常细胞。如图所示, pEGFP-C3-PinX1 组中凋亡细胞明显较其余 4 组多)

3 讨论

PinX1 基因是近年来发现的一个端粒酶和端粒共调控基因,编码一种 Pin2/TRF1 结合蛋白。Banik 等^[7]分析了 PinX1、hTERT 与 hTR 三者之间的关系,认为 PinX1 可直接结合 hTERT 和 hTR,但 PinX1 与 hTR 的结合取决于 hTERT 的存在,PinX1 抑制端粒酶的活性是通过结合 hTERT-hTR 的复合物而实现的。Chen 等^[8]研究发现,PinX1 使用不同的片段分别与 Pin2/TRF1 和 hTERT 结合,LPTS/PinX1(254-289)与 Pin2/TRF1 结合,而 LPTS/PinX1(290-328)与 hTERT 结合,在体外 LPTS/PinX1(290-328)显示较强的端粒酶活性抑制作用,可导致端粒缩短,引起细胞凋亡。PinX1 蛋白全长 328 aa, N-端(aa1-142)和 C-端(aa254-328)各含一个 hTERT 结合位点,高表达 PinX1 C-端片段能显著抑制细胞端粒酶活性,缩短端粒并抑制端粒酶阳性肿瘤细胞体内外生长,但对端粒酶阴性细胞的端粒长度无影响^[9-10]。因此,PinX1 被认为是端粒酶抑制剂或抑癌基因。在部分肿瘤如胃癌及肝癌^[4,6]中的研究中也证实 PinX1 基因能够抑制肿瘤细胞中的端粒酶活性从而诱导肿瘤细胞凋亡。

然而,有学者持不同的观点,Sun 等^[11]和

孙洁等^[12]在急性早幼粒细胞白血病(AML)的研究中发现,肿瘤的分化过程中,PinX1 mRNA 的表达与端粒酶活性的调控方向一致,认为 PinX1 的表达变化可能为继发于 hTERT 表达变化的一种反应,目的是保持端粒酶活性的稳定。还有一种观点认为,在前列腺癌^[13]、胃肠道癌^[14]及髓母细胞瘤^[15]中 PinX1 基因的表达与端粒酶活性无显著性关联,它并非抑制端粒酶活性的关键因素,可能是基因的多态性现象。最近,关于 PinX1 的动力学研究以及功能性研究也取得了一些新进展。Yuan 等^[16]研究表明,PinX1 在细胞间期定位于核仁和端粒,而在有丝分裂期聚集于染色体周围和动粒外板,用 siRNA 抑制 PinX1 的表达使有丝分裂期的染色体丧失正确分离的能力,表明 PinX1 在染色体有丝分裂期的正确分离中发挥重要作用。Li 等^[17]进一步发现,PinX1 在有丝分裂期是通过核仁素聚集至染色体周围,并促进染色体的中板集合。以上研究结果提示,PinX1 基因在不同的肿瘤中对端粒酶/端粒的调控作用不同,机制不同,目前对 PinX1 的作用缺乏统一认识,其内在的原因与机制需进一步深入探讨。

本研究成功构建了针对 PinX1 基因的表达载体 pEGFP-C3-PinX1 和小干扰 RNA (PinX1-FAM-siRNA),转染鼻咽癌 5-8 F 细

胞后, RT-PCR 法检测发现 pEGFP-C3-PinX1 能使 PinX1 mRNA 表达显著增高 1.6 倍, PinX1-FAM-siRNA 可使 PinX1 mRNA 表达降低 70%, 表明成功构建上调及沉默 PinX1 基因表达水平的肿瘤细胞模型, 这为进一步的研究 PinX1 和鼻咽癌细胞的关系奠定了基础。本实验结果显示, pEGFP-C3-PinX1 转染鼻咽癌细胞后, 肿瘤细胞 hTERT mRNA 的表达和端粒酶活性明显受到抑制(与转染前比较), 鼻咽癌 5-8F 细胞增殖受到抑制, 细胞凋亡率明显增加。PinX1-FAM-siRNA 沉默 PinX1 表达后发现, 肿瘤细胞端粒酶活性、生长增殖及细胞凋亡均未发现显著改变。即 PinX1 基因的抑制性功能相应的不能发挥出来。对其现象的解释可能是: 鼻咽癌细胞内源性 PinX1 的表达量很低甚至缺如, 即使采用 siRNA 沉默, 也对端粒酶活性影响不大。也有可能是实验中 PinX1-FAM-siRNA 作用于细胞中 PinX1 基因的时间较短(48 h), 可能还未观察到肿瘤细胞生物学行为改变的现象。总的来说, 本实验结果提示, 通过向肿瘤细胞中加入外源 PinX1 基因, 能够通过靶向抑制肿瘤细胞端粒酶活性诱导肿瘤细胞凋亡, 证实 PinX1 基因是一个潜在的端粒酶活性抑制剂。这为包括鼻咽癌在内的恶性肿瘤的靶向基因治疗开辟新领域。

参考文献:

- [1] Wen Z, Xiao JY, Tang FQ, et al. The expression of telomerase and telomerase RNA in nasopharyngeal carcinoma (NPC) and HNE1 cell lines of NPC[J]. Chinese Medical Journal, 2000, 113(6): 525-8.
- [2] Wen Z, Xiao JY, Tian YQ, et al. Down-regulation of telomerase and its RNA and apoptosis in HNE1 cell lines of nasopharyngeal carcinoma induced by hTR anti-sense oligonucleotide[J]. International Journal of Modern Cancer Therapy, 2000, 3(1): 77-81.
- [3] Kondo T, Oue N, Mitani Y, et al. Loss of heterozygosity and histone hypoacetylation of the PINX1 gene are associated with reduced expression in gastric carcinoma[J]. Oncogene, 2005, 24(1): 157-64.
- [4] Ma Y, Wu L, Liu C, et al. The correlation of genetic instability of PINX1 gene to clinico-pathological features of gastric cancer in the Chinese population[J]. Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 2009, 135(3): 431-437.
- [5] Liao C, Zhao MJ, Zhao J, et al. Over-expression of LPTS-L in hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721 induces crisis[J]. World Journal Gastroenterol, 2002, 8(6): 1050-2.
- [6] Liao C, Zhao M, Song H, et al. Identification of the gene for a novel liver-related putative tumor suppressor at a high-frequency loss of heterozygosity region of chromosome 8p23 in human hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2000, 32(4 Pt 1): 721-7.
- [7] Banik SS, Counter CM. Characterization of interactions between PinX1 and human telomerase subunits hTERT and hTR[J]. J Biol Chem, 2004, 279(50): 51745-8.
- [8] Chen G, Da L, Xu Y, et al. C-terminal amino acids 290-328 of LPTS/PinX1 confer telomerase inhibition[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 398(4): 683-9.
- [9] Guglielmi B, Werner M. The yeast homolog of human PinX1 is involved in rRNA and small nucleolar RNA maturation, not in telomere elongation inhibition[J]. J Biol Chem, 2002, 277(38): 35712-35719.
- [10] Lin J, Blackburn EH. Nucleolar protein PinX1 regulates telomerase by sequestering its protein catalytic subunit in an inactive complex lacking telomerase RNA[J]. Genes Dev, 2004, 18(4): 387-396.
- [11] Sun J, Huang H, Zhu Y, et al. The expression of telomeric proteins and their probable regulation of telomerase during the differentiation of all-trans-retinoic acid-responsive and -resistant acute promyelocytic leukemia cells[J]. Int J Hematol, 2005, 82(3): 215-23.
- [12] 孙洁, 谭亚敏, 黄河, 等. 白血病细胞中端粒酶抑制因子 Pinx1 的表达与端粒酶活性关系的研究[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(9): 1725-1728.
- [13] Hawkins GA, Chang BL, Zheng SL, et al. Mutational analysis of PINX1 in hereditary prostate cancer[J]. Prostate, 2004, 60(4): 298-302.
- [14] Akiyama Y, Maesawa C, Wada K, et al. Human PinX1, a potent telomerase inhibitor, is not involved in human gastrointestinal tract carcinoma[J]. Oncol Rep, 2004, 11(4): 871-4.
- [15] Chang Q, Pang JC, Li J, et al. Molecular analysis of PinX1 in medulloblastomas[J]. Int J Cancer, 2004, 109(2): 309-14.
- [16] Yuan K, Li N, Jiang K, et al. PinX1 is a novel microtubule-binding protein essential for accurate chromosome segregation[J]. J Biol Chem, 2009, 284(34): 23072-82.
- [17] Li N, Yuan K, Yan F, et al. PinX1 is recruited to the mitotic chromosome periphery by Nucleolin and facilitates chromosome congression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2009, 384(1): 76-81.

(修回日期: 2011-05-06)