

USP7 调节 EGR1 的表达对喉癌细胞生物学行为的影响

李娇¹, 刘海²

(1. 遂宁市中心医院耳鼻咽喉头颈外科, 四川 遂宁 629000; 2. 川北医学院附属医院耳鼻咽喉头颈外科, 四川 南充 637000)

摘要: **目的** 本研究主要通过 siRNA 敲低喉癌细胞 USP7 表达后,检测经转录组测序筛选并与喉癌增殖、迁移相关基因早期生长反应基因 1(*EGR1*)的表达,以了解其在喉癌发病机制中的作用。**方法** 设计特异性 siRNA 序列,包装慢病毒并转染喉癌 HEP-2 细胞特异性敲低泛素特异性蛋白酶 7(USP7)表达,再通过 RT-PCR 和 Western blot 方法从基因和蛋白质水平检测 EGR1 的表达。**结果** ①siRNA 敲低喉癌细胞中 USP7 后,敲低组 USP7 mRNA 表达显著降低,同时敲低组 USP7 蛋白也显著下降;②RT-PCR 检测到敲低后的喉癌细胞 EGR1 mRNA 表达上升,Western blot 检测到 EGR1 蛋白质表达也呈上升;③CCK8 实验检测到敲低后的喉癌细胞较阴性对照组和空白组细胞增殖能力明显下降;Transwell 实验检测敲低组喉癌细胞迁移能力较阴性对照组和空白组明显下降。**结论** 在 USP7 敲低后,EGR1 在基因和蛋白水平上升,表明在喉癌的发生过程中 USP7 可能对 EGR1 的表达有抑制作用,因此,USP7 可能通过抑制 EGR1 表达在喉癌发生发展过程中有一定作用,为喉癌的临床研究提供实验依据。

关键词:喉癌;泛素特异性蛋白酶 7;早期生长反应基因 1;立即早期基因
中图分类号:R739. 65

Ubiquitin specific protease 7 affects the biological behavior and mechanism of laryngeal cancer cells by regulating the expression of EGR1

LI Jiao¹, LIU Hai²

(1. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Suining Central Hospital, Suining 629000, China; 2. Department of Otorhinolaryngology Head and Neck Surgery, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, China)

Abstract: **Objective** To detect the expression of the early growth response 1 (*EGR1*) gene after knocked down the expression of ubiquitin specific protease 7 (USP7) of laryngeal cancer cells, so as to understand the pathogenesis of laryngeal carcinoma. **Methods** Specific siRNA sequences were designed with lentivirus and the speciality of laryngeal carcinoma HEP-2 cells was transfected to knock down USP7 expression, and then the expressions of immediate early (*EGR1*) gene from the mRNA and protein levels were detected by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot. **Results** ①The USP7 mRNA and protein expressions significantly decreased in the knockdown group. ② In the knockdown group, RT-PCR revealed increased expression of EGR1 mRNA and Western blot showed elevated expression of EGR1 protein in laryngeal carcinoma cells. ③CCK8 colorimetry revealed that the cell proliferation ability of the knockdown group was significantly lower than those of the negative and blank control groups. Transwell migration assays showed that cell migration ability of the knockdown group was significantly lower than those of the negative and blank control groups. **Conclusion** Increased expressions of EGR1 at the levels of mRNA and protein after knocking down the USP7 indicates that USP7 may inhibit the expression of EGR1 during the development of laryngeal carcinoma. Therefore, USP7 may play a role in the development of laryngeal cancer by inhibiting the expression of EGR1, providing an experimental evidence for clinical research of laryngeal cancer.

Keywords:Laryngeal cancer; Ubiquitin specific protease 7(USP7); Early growth response 1(*EGR1*); Immediate early gene

基金项目:遂宁市中心医院医院专项(YYZX2020095)。
第一作者简介:李娇,女,硕士,住院医师。
通信作者:刘海,Email:liuhai100@sina.com

头颈部肿瘤是世界上发病率排名第五的高发肿瘤,且发病率在逐年增加^[1],而喉癌是耳鼻咽喉头颈外科最常见的一种恶性肿瘤,占头颈部肿瘤的 20%^[2],病理类型以鳞状细胞癌最为多见,少部分为腺癌,其发生率男性高于女性,但每年女性患者的比例在逐年上升,在我国以东北地区发病率最高,目前认为吸烟和饮酒对喉癌的发生均有乘积效应,石棉、多环芳烃、纺织粉尘、胃食管反流病^[3]以及病毒感染等都是喉癌发生的风险因素^[4]。

鉴定喉癌发生过程中涉及的机制不仅可以为喉癌的治疗寻找新的靶标,也可以为诊断和预后提供参考证据。转录因子是在转录调节中起作用的细胞蛋白,都是通过顺式作用元件发挥其抑制或诱导基因表达的功能,主要根据它们与靶启动子序列的相互作用模式分类,早期生长反应基因 1 (early growth response, EGR1) EGR1 是转录调节因子的一种,其能在有丝分裂原刺激后在细胞中表现出 Fos 样诱导动力学,与正常细胞相比,在肿瘤细胞中 EGR1 表达量很低甚至不表达^[5]。前期实验已证明泛素特异性蛋白酶 7 (ubiquitin specific protease 7, USP7) 在喉癌中的表达及临床意义以及脂质体转染 siRNA 敲低 USP7 后对喉癌细胞的增殖、迁移和凋亡的影响^[6]。并将敲低 USP7 后的喉癌细胞通过转录组测序技术筛选出差异性表达基因^[7],但是目前在喉癌中尚未见 USP7 和 EGR1 相关性的报道,本实验拟检测经转录组测序筛选后的与喉癌增殖、迁移相关基因 EGR1 的表达并进一步探讨在喉癌细胞中 USP7 与 EGR1 之间的关系,以寻找在喉癌中存在的可能的分子治疗靶标。

1 材料与方法

1.1 细胞株与主要试剂

HEp-2 细胞购自 Boster 生物工程有限公司, DMEM 培养基,胎牛血清,青霉素-链霉素双抗,胰酶均购自美国 HyClone 公司,病毒载体 USP7 siRNA 片段,病毒载体 Negative siRNA 片段购自上海吉玛生物制药有限公司,兔抗人 USP7 多克隆抗体,山羊抗兔 IgG 二抗购自美国 Proteintech Group 公司,兔抗人 EGR1 多克隆抗体购自美国 CST 公司,USP7 上下游引物, EGR1 上下游引物均购自生工生物工程(上海)股份有限公司,逆转录试剂盒购自赛默飞世尔科技(中国)有限公司, Trizol 试剂购自上海联迈生物工程有限公司, CCK8 试剂盒, ECL 化学发光超敏

试剂盒, RIPA 裂解液均购自中国碧云天生物技术公司, Transwell 小室购自美国 Millipore 生物科技有限公司, 结晶紫购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 仪器

SDS-PAGE 电泳仪, 转膜仪, 成像仪, 酶标仪均购自美国 BIO-RAD 公司, PCR 仪购自瑞士 Roche Diagnostics 公司, 倒置荧光显微镜购自德国 Leica 公司, -80℃ 冰箱购自美国 Thermo 公司。

1.3 细胞培养及转染

HEp-2 细胞用含 10% 胎牛血清, 1% 青霉素-链霉素双抗的 DMEM 培养基于 37℃、5% CO₂ 的孵箱中进行培养, 收集成对数生长期细胞以 2 × 10⁵/孔细胞接种于 6 孔板中, 继续培养 24 h, 当细胞融合度约 20% ~ 30% 时, 加入 siRNA-USP7 慢病毒、阴性对照病毒、空白组不加任何东西, 继续培养 8 h 后更换培养基。72 h 后观察荧光表达量, 转染率大于 90%, 继续培养, 根据后续实验要求提取 RNA 及蛋白质。

1.4 Western blot 检测 USP7 及 EGR1 蛋白的表达

RIPA 细胞裂解液裂解已转染的 HEp-2 细胞, 提取总蛋白, 并用 BSA 检测总蛋白浓度, 取 100 μg 蛋白进行变性, 10% 分离胶进行 SDS-PAGE 电泳, 将目标蛋白转移至 PVDF 膜上。用 TBST 液洗膜 5 min, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 加入 USP7 及 EGR1 抗体(1:1 500), 4℃ 摇床孵育过夜, TBST 洗膜 5 次, 每次 10 min, 加入山羊抗兔 IgG 二抗, 室温摇床上孵育 1 h, TBST 洗膜 5 次, 每次 10 min。显影曝光, 用 Image-Lab 图像分析系统对蛋白条带灰度值进行分析。

1.5 Q-PCR 检测 USP7 及 EGR1 mRNA 的表达

Trizol 试剂裂解已转染的 HEp-2 细胞, 提取总 RNA, 用琼脂糖凝胶电泳实验检测 RNA 质量, 用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA, 根据 PCR 反应体系进行配制预混液, LightCycler PCR 仪上设置 PCR 反应条件: 预变性, 变性, 退火, 延伸, 熔解, 降温, 分析 Real Time PCR 的扩增曲线和溶解曲线, 采用 2^{-ΔΔCT} 法进行相对定量分析, 观察 USP7、EGR1 的表达情况。

1.6 CCK8 实验检测细胞增殖

设置实验组(USP7 阻低组)、阴性对照组、空白组, 96 孔板中进行细胞培养及转染, 每组设置 5 个复孔。分别于转染后 24、48、72 h 每孔加入 CCK8 试剂 10 μL, 避免产生气泡, 然后将细胞放入 CO₂ 培养箱孵育 1.5 h, 酶标仪检测 450 nm 波长的吸光度值, 分析细胞增殖情况。

1.7 Transwell 实验检测细胞迁移

将转染后的 HEp-2 细胞饥饿 12 ~ 24 h, Transwell 小室放入 24 孔板中,将转染后的 HEp-2 细胞以每孔 50 104 个接种到小室,下室加入 600 μL 完全培养基,继续培养 24 h,用 PBS 洗 2 次,甲醛固定 30 min,再用 PBS 洗 2 次,甲醇透明 20 min, PBS 洗 2 次0.1% 结晶紫染色 15 min,棉签轻轻搽去上层未迁移细胞,显微镜下观察计数小室下层细胞。

1.8 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计学分析,计量资料两组间比较先进行方差齐性 Levene 检验,符合正态分布用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间均数比较采用 t 检验,不符合正态分布数据采用秩和检验,检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞转染结果

细胞转染 72 h 后,荧光倒置显微镜下观察同一视野下白光和荧光细胞数目,实验组、阴性对照组转染率均达到 90% 以上,USP7 敲低建模成功后才可进行下一步实验,见图 1。

2.2 Western blot 结果

采用 Image J 软件测量灰度值进行相对定量分

析,USP7 和 EGR1 蛋白的相对表达量见图 2、3。SiRNA-USP7 慢病毒在喉癌 HEp-2 细胞中成功敲低 USP7 的表达后验证到 EGR1 表达上升。

2.3 总 RNA 质量检测

总 RNA 提取后,琼脂糖凝胶电泳结果如图 4 所示,空白组、阴性对照组及实验组 28 s、18 s、5 s RNA 3 条带集中,无拖尾现象等,表示总 RNA 提取的质量合格,可以进入下一步的实验。

2.4 RT-PCR 结果

慢病毒转染后,提取实验组、阴性对照组、空白组细胞的 RNA,通过 RT-PCR 检测 USP7、EGR1mRNA 的表达水平,各组细胞 USP7、EGR1 mRNA 的 PCR 扩增及相对表达量见图 5、6。采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法对各组进行相对定量分析,结果显示在敲低 USP7 表达后的细胞中检测到 EGR1 表达量较空白组及阴性对照组均升高。

2.5 CCK8 实验检测 USP7 敲低后喉癌细胞增殖能力

转染后 24、48、72 h 后各组喉癌细胞增殖情况见图 7,阴性对照组和空白组在 24、48、72 h 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$),实验组和空白组在 24、48、72 h 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.6 Transwell 实验检测敲低 USP7 后喉癌细胞迁移能力

HEp-2细胞穿过Transwell小室膜的细胞见图8、9,

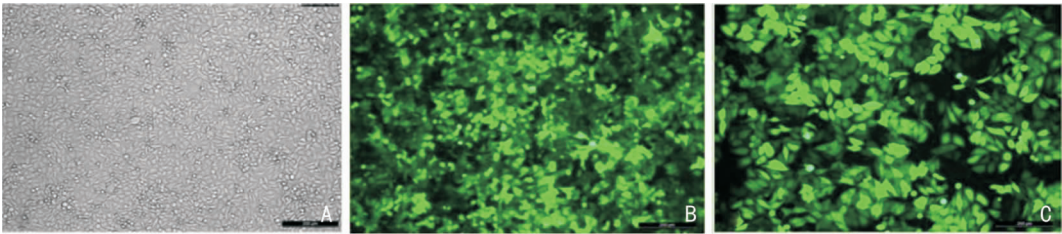


图 1 同一视野下 USP7 实验组、阴性对照组细胞的转染率 (荧光 ×200) A:普通光学显微镜; B:荧光显微镜下实验组细胞; C:荧光显微镜下阴性对照组细胞

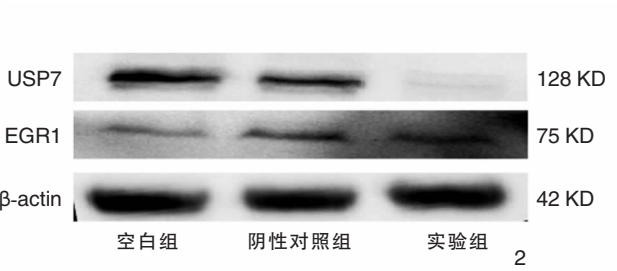


图 2 Western blot 检测 USP7、EGE1 蛋白表达量; 3B:各组中 EGR1 蛋白相对表达量

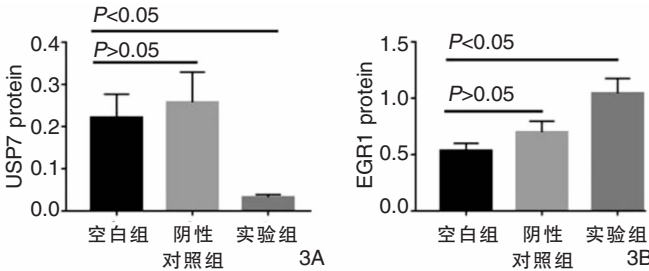


图 3 USP7、EGE1 蛋白表达水平柱状图 3A:各组中 USP7 蛋白相对表达

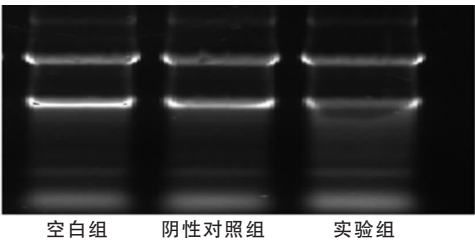


图 4 总 RNA 琼脂糖凝胶电泳结果

先于 10 倍镜下观察视野中细胞数量,20 倍镜下随机选取 5 个视野计算平均值即为迁移细胞个数,数据显示空白组、阴性对照组、实验组细胞数分别为 142 ± 2.82 、 124.6 ± 8.96 、 32.4 ± 9.70 。阴性对照组和空白组之间差异无统计学意义($P > 0.05$),实验组和空白组间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

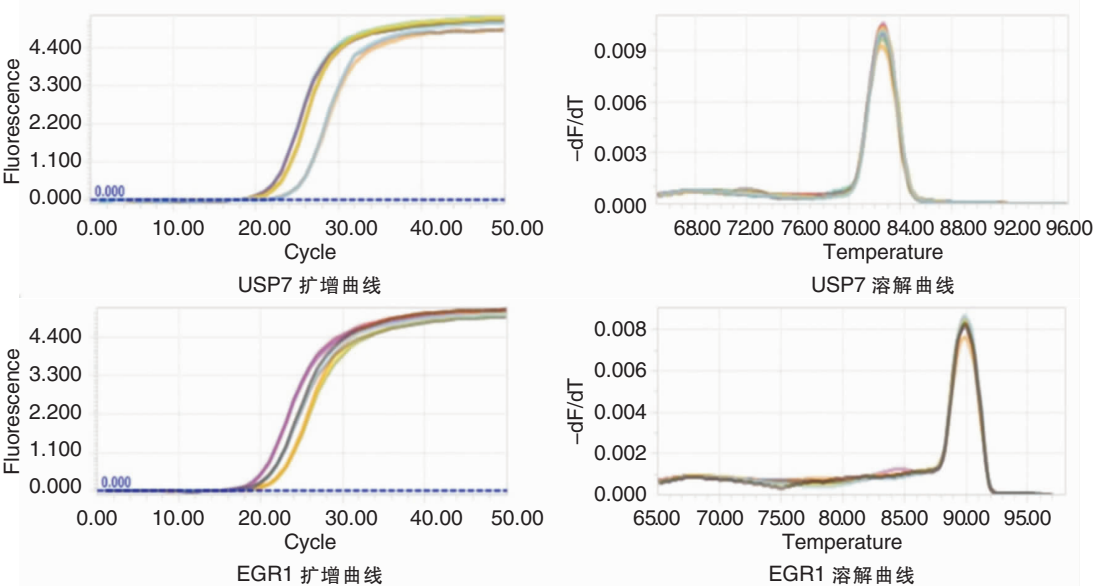


图 5 USP7 与 EGR1 的扩增曲线和溶解曲线

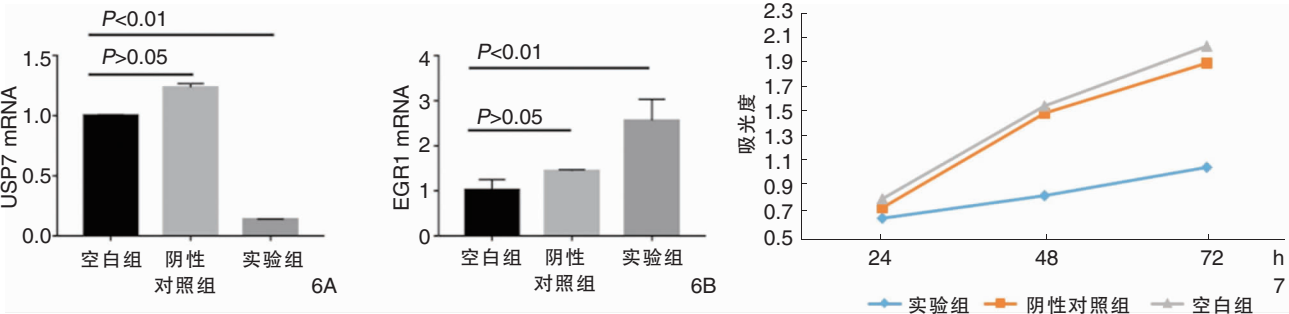


图 6 USP7 及 EGR1 mRNA 表达水平 6A:为各组中 USP7 mRNA 相对表达量; 6B:为各组中 EGR1mRNA 相对表达量
图 7 CCK8 实验检测不同时段 USP7 敲低后喉癌细胞增殖情况

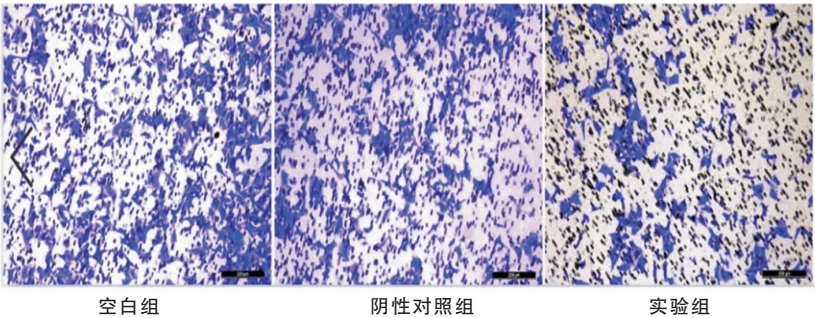


图 8 Transwell 检测喉癌细胞的迁移能力 (结晶紫 $\times 200$)

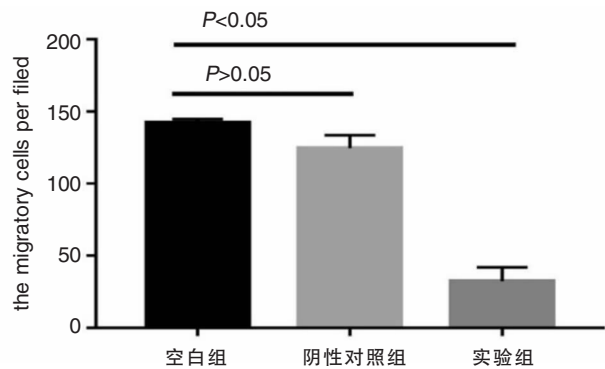


图 9 喉癌细胞的迁移能力柱状图

3 讨论

目前喉癌的诊断方式有电子纤维喉镜检查、颈部 CT 扫描以及金标准组织病理检查共同诊断。治疗目标是治疗癌症、保留喉功能、最大限度的提高患者生活质量^[8]。但约 60% 确诊喉癌时已是Ⅲ期或Ⅳ期^[4]。此时癌细胞已发生深部侵袭、远处转移或淋巴结转移,目前治疗方案有喉切除,单纯同步放化疗,全喉切除+颈淋巴结清扫+放化疗,TPF 诱导化疗+同步放疗联合,靶向治疗+同步放化疗联合,微波热疗+放疗,基因治疗等治疗手段^[9],但总体疗效仍较差,其 5 年生存率约为 60.7%^[8],患者生存质量差,对患者的生理、心理以及经济等方面^[10]均造成很大影响。由于喉部在发声、吞咽功能以及生活质量方面有重要作用,因此对喉癌的研究具有重要的社会意义^[8]。

随着分子生物学的逐渐成熟,越来越多的研究证实肿瘤的发生发展与许多基因表达异常相关,认为肿瘤细胞生长的调节取决于许多基因家族,如原癌基因、抑癌基因、细胞生长因子、生长因子受体以及立即早期转录因子。USP7 是去泛素化蛋白酶家族一员,已在前期研究中被证明在喉癌的进展中作为癌基因发挥作用。EGR1 是转录调节因子的一种,其结构域由 3 个锌指结构 Cys2His2,经最简单的 ββα 折叠后形成,其能在有丝分裂原刺激后在成纤维母细胞、上皮样细胞和淋巴细胞中表现出 Fos 样诱导动力学,其细胞遗传学位置位于 5q31.2,与正常细胞相比,在肿瘤细胞中 EGR1 表达量很低甚至不表达,已有研究证明外源性 EGR1 在人各种肿瘤细胞中的表达显著降低了肿瘤细胞的生长致癌性,相反,反义 RNA 抑制内源性 EGR1 表达,促进细胞生长和转化。EGR1 基因产物直接调控转化生长因子 β-1 (TGFβ-1) 基因的表达,并在细胞模型中发现

EGR1 通过诱导 TGFβ-1 抑制人类肿瘤生长^[8]。大量研究已证明 EGR1 属于立即早期基因 (IEG) 家族编码转录因子,在目前已报道的研究中既可作为肿瘤抑制因子也可作为致癌因子,但其在喉肿瘤的表达尚未见报道^[11]。

EGR1 是一种多功能转录因子,可以作为一种肿瘤抑制基因,直接调节 p53/TP53, PTEN 和 TGF-β1 表达。在体内和体外模型中,细胞内 Ca²⁺ 增加是导致细胞凋亡的核心过程。p53 对细胞内 Ca²⁺ 的升高具有诱导作用,研究发现 EGR1 通过直接结合并转录激活下游靶基因 p53 启动子,诱导 p53 表达增加从而导致细胞凋亡^[12]。并且,在动物模型的研究中发现原代小鼠胚胎成纤维细胞中 EGR1 经电离辐射后 p53 水平增高导致细胞凋亡增加,EGR1 促凋亡的功能主要体现在 EGR1 靶基因 Rb1 与 MDM2 (鼠双微体蛋白 2) 结合以防止 MDM2 介导的 p53 降解^[13]。同时亦有研究者通过对肝细胞癌基因芯片数据分析得出 EGR1 在肝癌细胞中表达下调,与其预后相关^[14]。TGF-β 是一种能在多种细胞类型中控制细胞增殖、分化以及其他功能的肽类,TGF-β 的活化可导致细胞凋亡,而信号失调则能增加肿瘤细胞转移机率。TGF-β1 通常对上皮来源的细胞有抑制作用,但对某些间叶细胞则有刺激或促进作用。反过来,TGF-β1 的表达受到几种富含 GC 的元件的调节,这表明 EGR1 可能通过刺激 TGF-β1 的分泌发挥抑制生长作用,其反过来充当自分泌或旁分泌剂以抑制增殖。已有研究表明外源性 EGR1 的表达显著降低了人纤维肉瘤 HT-1080 细胞的生长和致瘤性,HT-1080 细胞稳定表达 EGR-1 导致 TGF-β1 分泌增加并且表现出与 EGR1 表达量成比例的生长抑制。相反地通过在 HT-1080 细胞中增加抗 TGF-β1 抗体能完全逆转稳定表达的 EGR1 对细胞的生长抑制作用,这些结果表明 EGR-1 是控制生长调节分子 TGF-β1 的表达的一种潜在调节机制^[8]。EGR1 在食管癌中的高表达则可能对于维持染色质稳定、抑制细胞增殖、促进细胞分化和凋亡有重要作用,并且能通过激活细胞周期蛋白 D1 促进细胞从 G0/G1 期进入 G2/M 期,进而调节细胞生长分化达到抑制食管癌进展的作用^[15]。EGR1 能促进骨髓细胞系分化,EGR1 缺失与急性髓系白血病相关^[16]。

差异性显示是一种筛选差异性表达的新型肿瘤抑制基因的方法,主要用于筛选在正常细胞中表达而在肿瘤细胞中减少或丢失的基因。Sager 等^[17]提出将癌症相关基因细分为突变或缺失的基因 (I 类)

和调节中改变的基因(Ⅱ类),从癌症治疗角度看,Ⅰ类和Ⅱ类之间的区别有重大意义,纠正Ⅰ类基因突变或丢失的治疗方法是基因置换或填补基因缺陷的方法,即从基因治疗方面入手将新的遗传物质重新载入细胞内,从而达到治疗肿瘤的目的。相反,Ⅱ类基因的治疗方法是再表达,如可以通过合适的代谢物或逆转异常调节的药物进行治疗,而不必替换间接参与的突变基因。Huang 等^[18]在对乳腺癌的研究中提出 *EGR1* 具有肿瘤抑制特性,属于Ⅱ类肿瘤抑制基因的类型。并且发现与正常乳腺细胞相比,乳腺癌细胞中 *EGR1* 表达下降或不表达,并且表达的 *EGR1* 能降低癌细胞的转移和转化能力,通过外源性药物处理后使小鼠乳腺肿瘤中的低表达的 *EGR1* 水平上升,从而得出结论 *EGR1* 表达丧失可能使肿瘤生长的失调并且 *EGR1* 充当肿瘤抑制基因。有学者^[19]在对胶质母细胞瘤细胞系的研究中发现 *EGR1* 基础表达几乎不可检测,其主要是通过 ARF-MDM2-p53 途径发挥抑制作用,*EGR1* 蛋白作为 p53 或 TGF- β 受体,特异性地结合人 TGF- β 1 启动子的 GCE 位点,*EGR1* 的再表达促进 TGF- β 1 表达增加和分泌,并且证明在 U251 细胞系中 *EGR1* 表达致细胞生长速率下降,是胶质瘤进展期间被抑制的目标^[20]。Kim 等^[21]发现在鼻咽癌组织与正常鼻咽组织相比 *EGR1* 表达是下降的,并且揭示了 *EGR1* 在鼻咽癌 PFS(无进展生存期)和 OS(总生存期)中的阳性诊断意义。电离辐射暴露与某些编码转录因子的早期立即基因的激活有关,如 *JUN*、*FOS* 和早期生长反应家族基因。另有学者^[22]发现 *EGR1* 是在辐射诱导传导信号的关键基因,其包含有辐射诱导的 DNA 序列,介导的响应电离辐射的靶基因均为凋亡基因的效应器如:TNF- α 、p53、Rb 和 Bax,从而通过消除诱导的辐射抗性而导致肿瘤细胞生长停滞或凋亡。该研究发现 *EGR1* 敲低抑制了辐射诱导的细胞凋亡,得出在喉癌患者中 *EGR1* 可能与经放疗诱导细胞凋亡后喉功能保存呈正相关,因此,表明 *EGR1* 可作为喉咽部肿瘤接受放、化疗治疗敏感性的有效生物学指标^[23]。本实验经 RT-PCR 和 Western 方法从基因和蛋白水平检测出在阻低 USP7 后的喉癌细胞中 *EGR1* 表达上升,因此我们推测 *EGR1* 在喉癌的发生发展过程中发挥抑癌因子作用。

综上所述,本实验发现,经慢病毒 USP7 敲低后喉癌细胞的增殖和迁移能力较空白组喉癌细胞增殖和迁移能力明显下降,同时敲低后细胞组中 *EGR1* 表达较空白组基因及蛋白量表达上升,因此,我们推

测 *EGR1* 可能作为肿瘤抑制基因在喉癌细胞增殖及迁移方面发挥作用,因此在未来喉癌的治疗中可以从基因治疗方面进一步研究设计提高 *EGR1* 的表达,为喉癌的治疗及改善喉癌预后等方面提供实验依据。

参考文献:

- [1] 吴剑,周晓红. 头颈肿瘤与多学科联合治疗小组会议的发展现状[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2015,50(6):526-528.
- [2] Tang ZX, Gong JL, Wang YH, et al. Efficacy comparison between primary total laryngectomy and nonsurgical organ-preservation strategies in treatment of advanced stage laryngeal cancer: A meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2018,97(21):e10625.
- [3] Galli J, Cammarota G, Volante M, et al. Laryngeal carcinoma and laryngo-pharyngeal reflux disease[J]. Acta Otorhinolaryngol Ital, 2006,26(5):260-263.
- [4] Steuer CE, El-deiry M, Parks JR, et al. An update on larynx cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2017,67(1):31-50.
- [5] Liu C, Adamson E, Mercola D. Transcription factor EGR-1 suppresses the growth and transformation of human HT-1080 fibrosarcoma cells by induction of transforming growth factor beta 1[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1996,93(21):11831-11836.
- [6] 周芃. SiRNA 敲低 USP7 对喉癌细胞生物学特性的影响[D]. 南充:川北医学院, 2015.
- [7] 朱鑫. 泛素特异性蛋白酶 7 阻低后对喉癌 Hep2 细胞的生物学特性影响的机制研究[D]. 南充:川北医学院, 2016.
- [8] Ahn SH, Hong HJ, Kwon SY, et al. Guidelines for the surgical management of laryngeal cancer: Korean Society of Thyroid-Head and Neck Surgery[J]. Clin Exp Otorhinolaryngol, 2017,10(1):1-43.
- [9] 葛文洁,江浩. 同步放化疗在局部晚期喉癌治疗中的研究进展[J]. 安徽医学, 2017,38(4):523-526.
- [10] Pfister DG, Laurie SA, Weinstein GS, et al. American Society of Clinical Oncology clinical practice guideline for the use of larynx-preservation strategies in the treatment of laryngeal cancer[J]. J Clin Oncol, 2006,24(22):3693-3704.
- [11] Wang B, Guo H, Yu H, et al. The role of the transcription factor EGR1 in cancer[J]. Front Oncol, 2021, 11:642547.
- [12] Nair P, Muthukumar S, Sells SF, et al. Early growth response-1-dependent apoptosis is mediated by p53[J]. J Biol Chem, 1997, 272(32):20131-20138.
- [13] Das A, Chendil D, Dey S, et al. Ionizing radiation down-regulates p53 protein in primary Egr-1/- mouse embryonic fibroblast cells causing enhanced resistance to apoptosis[J]. J Biol Chem, 2001, 276(5):3279-3286.
- [14] 周泽文,周先果,刘颖春,等. 肝细胞癌发病关键基因和预后相关基因的生物信息学分析[J]. 中华肝脏病杂志, 2020,28(8):686-691.
- [15] Wu MY, Zhuang CX, Yang HX, et al. Expression of Egr-1, c-fos

and cyclin D1 in esophageal cancer and its precursors: An immunohistochemical and in situ hybridization study[J]. World J Gastroenterol, 2004,10(4):476-480.

[16] Ahmad HM, Muiwo P, Muthuswami R, et al. FosB regulates expression of miR-22 during PMA induced differentiation of K562 cells to megakaryocytes[J]. Biochimie, 2017,133:1-6.

[17] Sager R, Anisowicz A, Neveu M, et al. Identification by differential display of alpha 6 integrin as a candidate tumor suppressor gene[J]. FASEB J, 1993,7(10):964-970.

[18] Huang RP, Fan Y, de Belle I, et al. Decreased Egr-1 expression in human, mouse and rat mammary cells and tissues correlates with tumor formation[J]. Int J Cancer, 1997,72(1):102-109.

[19] Calogero A, Arcella A, De Gregorio G, et al. The early growth response gene EGR-1 behaves as a suppressor gene that is down-regulated independent of ARF/Mdm2 but not p53 alterations in fresh human gliomas[J]. Clin Cancer Res, 2001,7(9):2788-2796.

[20] Liu C, Yao J, Mercola D, et al. The transcription factor EGR-1 directly transactivates the fibronectin gene and enhances attachment of human glioblastoma cell line U251[J]. J Biol Chem, 2000,275(27):20315-20323.

[21] Kim YJ, Go H, Wu HG, et al. Immunohistochemical study identifying prognostic biomolecular markers in nasopharyngeal carcinoma treated by radiotherapy[J]. Head Neck, 2011,33(10):1458-1466.

[22] Ahmed MM. Regulation of radiation-induced apoptosis by early growth response-1 gene in solid tumors[J]. Curr Cancer Drug Targets, 2004,4(1):43-52.

[23] Yoon TM, Kim SA, Lee DH, et al. EGR1 regulates radiation-induced apoptosis in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Oncol Rep, 2015,33(4):1717-1722.

(收稿日期:2021-05-26)

本文引用格式:李娇,刘海. USP7 调节 EGR1 的表达对喉癌细胞生物学行为的影响[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志,2021,27(5):523-529. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202150005

Cite this article as:LI Jiao, LIU Hai. Ubiquitin specific protease 7 affects the biological behavior and mechanism of laryngeal cancer cells by regulating the expression of EGR1[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2021,27(5):523-529. DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202150005