

·论 著·

姜黄素阻断ERK1/2 信号通路抑制前列腺癌PC-3细胞增殖的研究

郑小蓉 姜建伟

[摘要] 目的 探讨姜黄素对前列腺癌PC-3细胞株细胞增殖的抑制作用。方法 不同浓度(5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$ 、40 $\mu\text{mol/L}$ 4个浓度及空白对照组)姜黄素作用于PC-3细胞1 d、2 d、4 d、6 d后,采用噻唑蓝(MTT)法检测细胞增殖抑制情况;实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)检测PC-3细胞细胞外信号调节激酶(ERK)1/2 mRNA表达水平;蛋白质印迹法检测磷酸化ERK1/2(p-ERK1/2)蛋白表达水平。结果 MTT法检测:姜黄素明显抑制前列腺癌PC-3细胞的体外增殖,40 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 组在细胞生长1 d、2 d、4 d和6 d后细胞抑制率明显高于对照组,差异均有统计学意义(χ^2 分别=8.36、7.89、5.89、5.35;8.03、7.69、6.17、5.57;8.84、8.53、7.39、6.76;11.58、9.86、8.20、7.26, P 均 <0.05),且不同浓度姜黄素实验组在细胞生长1 d、2 d、4 d和6 d,细胞抑制率随药物浓度的增加而上升(F 分别=5.65、4.63、4.64、5.76, P 均 <0.05)。实时荧光定量PCR检测:姜黄素浓度与ERK1/2 mRNA的表达水平成反比,40 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、5 $\mu\text{mol/L}$ 组在细胞生长2 d、4 d、6 d的ERK1/2 mRNA表达均明显低于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=8.76、8.13、7.69、6.86;8.56、8.16、7.76、6.85;9.03、8.68、8.11、7.27, P 均 <0.05),且随着作用时间的增加,5 $\mu\text{mol/L}$ 、10 $\mu\text{mol/L}$ 、20 $\mu\text{mol/L}$ 、40 $\mu\text{mol/L}$ 浓度条件下的ERK1/2 mRNA水平逐渐降低(F 分别=4.35、4.99、4.05、4.28, P 均 <0.05)。蛋白质印迹法:40 $\mu\text{mol/L}$ 姜黄素抑制ERK1/2的磷酸化呈时间依赖性,即随着时间的延长下调p-ERK1/2表达的活性。结论 姜黄素对人前列腺癌PC-3细胞株增殖具有明显的抑制作用,其机制可能与抑制ERK1/2 mRNA及p-ERK1/2蛋白的表达有关。

[关键词] 前列腺癌; 姜黄素; PC-3; 细胞增殖; ERK1/2 mRNA; p-ERK1/2

Inhibitory effect of curcumin on PC-3 cell proliferation of prostatic carcinoma by blocking ERK1/2 signaling pathway ZHENG Xiaorong, JIANG Jianwei. Department of Pharmacy, Zhejiang Tumor Hospital, Hangzhou 310000, China

[Abstract] Objective To investigate the inhibitory effect of curcumin on PC-3 cell proliferation of prostatic carcinoma.

Methods Different concentrations of curcumin including 5 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, 40 $\mu\text{mol/L}$ and blank acted on PC-3 cells for 1 day, 2 days, 4 days and 6 days. The inhibition of proliferation was detected by MTT assay. The ERK1/2 mRNA expression level in PC-3 cells was detected by real-time quantitative PCR. The phosphorylated p-ERK1/2 protein expression level was detected by Western blot. **Results** MTT assay showed that curcumin significantly inhibited the proliferation of PC-3 cells in vitro, and the inhibitory rates of 40 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$ and 5 $\mu\text{mol/L}$ curcumin groups were significantly higher than that of the blank group on 1st day, 2nd day, 4th day and 6th day (χ^2 = 8.36, 7.89, 5.89, 5.35; 8.03, 7.69, 6.17, 5.57; 8.84, 8.53, 7.39, 6.76; 11.58, 9.86, 8.20, 7.26, $P<0.05$). In the experimental group, with the increasing curcumin concentration, the cell inhibition rate was gradually increased at 1st day, 2nd day, 4th day and 6th day (F = 5.65, 4.63, 4.64, 5.76, $P<0.05$). The PCR indicated that the concentration of curcumin ester was inversely proportional to the expression level of ERK1/2 mRNA. The expressions of ERK1/2 mRNA in 40 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$ and 5 $\mu\text{mol/L}$ curcumin groups were significantly lower than that of the blank group on 1 day, 2 days, 4 days and 6 days (t =8.76, 8.13, 7.69, 6.86; 8.56, 8.16, 7.76, 6.85; 9.03, 8.68, 8.11, 7.27, $P<0.05$). With the action time going, the ERK1/2 mRNA levels of 5 $\mu\text{mol/L}$, 10 $\mu\text{mol/L}$, 20 $\mu\text{mol/L}$, and 40 $\mu\text{mol/L}$ curcumin decreased gradually (F =4.35, 4.99, 4.05, 4.28, $P<0.05$). Western blot showed

that 40 $\mu\text{mol/L}$ curcumin could down regulated the activity of p-ERK1/2 expression, and displayed the time dependent. **Conclusion** Curcumin has a

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2018.04.006

作者单位: 310000 浙江杭州, 浙江省肿瘤医院药剂科

significant inhibitory effect on the proliferation of human prostate cancer PC-3 cell line, which maybe related to the inhibition of ERK1/2 mRNA and p-ERK1/2 proteins expression.

[Key words] prostatic carcinoma; curcumin; PC-3; cell proliferation; ERK1/2 mRNA; P-ERK1/2

前列腺癌是导致男性患者死亡的主要恶性肿瘤之一,其发病率近年来明显上升,目前临床主要采用雄激素阻断法进行治疗,但治疗过程中肿瘤通过选择机制和细胞自身的变化,可使癌细胞获得更高的增殖活性,最终导致雄激素阻断治疗的失败^[1]。因而,寻求有效治疗前列腺癌的药物具有现实意义。姜黄素是从多年草本植物姜黄中提取的一种酚类色素。现代药理学研究表明,姜黄素可通过阻断细胞外信号调节激酶(extracellular signal regulated kinase 1/2, ERK1/2)活性诱导肿瘤细胞凋亡,从而发挥抗肿瘤作用^[2]。本次研究从姜黄中提取姜黄素,探讨不同浓度姜黄素对前列腺癌PC-3细胞株增殖的影响。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本次研究于2015年6月至2016年6月间在浙江省肿瘤医院进行。选取的人前列腺癌细胞株PC-3由北京中国科学院生化与细胞所提供。姜黄素为从姜黄中提取而得,提取采用匀浆法进行提取,经高效液相色谱法测定有效成分含量为99.9%。姜黄素用DMSO稀释成50 μmol/L,过滤、除菌后,放置到-20℃冰箱中保存备用,临用前进行解冻。RPMI 1640培养基、胎牛血清由美国研必德公司生产;噻唑蓝(methylthiazolyldiphenyl-tetrazolium bromide, MTT)由美国Amresco公司生产;胰蛋白酶和二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)由美国Omega生物技术公司生产;Cell Counting Ki-8(CCK-8)试剂及Hoechst 双染色试剂盒由上海博麦德生物技术有限公司生产。Trizol RNA提取试剂盒由Invitrogen公司生产,定量聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)试剂盒由Applied Biosystem公司生产,逆转录试剂盒购由Toyobo公司生产;一抗磷酸化ERK1/2(phosphorylation ERK1/2, p-ERK1/2)由Cell Signal公司生产,β-actin、二抗HRP标记的IgG抗体由Santa Cruz公司生产。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 将人前列腺癌PC-3细胞株置于RPMI 1640完全培养液中,置5%CO₂的37℃培养箱内培养。待细胞潜伏期结束后,更换培养液,每2~3天传代1次。

1.2.2 MTT检测细胞抑制率 将潜伏期结束的PC-3细胞以 5×10^4 个/孔密度接种于96孔板,每个孔200 μl。随后将培养板移入培养箱中,继续培养24 h,细胞贴壁后分别加入5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L姜黄素溶液,以未加姜黄素的培养细胞作为空白对照组,每组各设6个复孔。分别于第2天、第4天、第6天后终止培养,每孔加MTT(5 mg/ml)20 μl,在37℃温度下孵育4 h,弃去上清液,每孔加入DMSO 150 μl,摇晃混匀,于室温暗处下放置至蓝紫色结晶物完全溶解。采用酶标仪测570 nm处吸光度值计算细胞抑制率,每组均取6个复孔的平均值。

细胞抑制率=(1-实验组吸光度值/对照组吸光度值)×100%^[4]

1.2.3 PC-3细胞ERK1/2 mRNA表达 首先进行细胞总RNA提取,将不同浓度姜黄素培养的细胞(5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L)去除培养液后加冰冷磷酸盐缓冲液3 ml,冲洗3次。加Trizol 5 ml,充分混匀,过夜。而后加三氯甲烷400 μl,涡流震荡1 min,12 000 r/min离心15 min,分离上清液。加异丙醇500 μl混合均匀,置于37℃恒温箱2 h后离心,真空干燥箱干燥后,加入20 μl DEPC处理的水溶解,离心,从而获取总RNA。RNA获取成功后,使用PrimeScript™ RT-PCR Kit(由日本TAKARA生产)反转录为cDNA,使用ABI-7500荧光定量PCR仪检测(由美国CA生产)。扩增引物设计,PCR引物根据Genebank中人mRNA序列(采用Premier3软件设计,由上海生工公司合成)设计;最后将生成的cDNA稀释10倍后取10 μl作为模板进行PCR扩增,根据参考文献[3]配制50 μl反应体系。ERK1/2 荧光定量PCR引物:正向引物为5'-TACAC-CAACCTCTCGTACATCG-3',反向引物为5'-CAT-GTCTGAAGCGCAGTAAGATT-3'。PCR总反应体系为50 μl,包括2×SYBR Green mix 25 μl,10 pmol/L上下游引物各2 μl,cDNA样本2 μl,剩余由双蒸水补足至50 μl。荧光定量PCR反应条件分4步:分别为95℃预变形5 min;95℃预变形15 s、60℃预变形15 s、72℃预变形30 s,共40个循环。熔解曲线的反应条件:95℃ 15 s,60℃ 1 min,95℃ 15 s。通过相对定量

公式计算目的基因表达水平:目的基因表达水平=目的基因拷贝数/U6拷贝数。所有实验均独立重复3次。

1.2.4 PCR产物鉴定 纯化及测序分析,取约10 μl PCR扩增产物2 g L⁻¹琼脂糖凝胶电泳,以GAPDH mRNA作分子量参照。

1.2.5 Western blot 法测 p-ERK1/2 蛋白表达 收获PC-3细胞,用预冷的磷酸盐缓冲液冲洗3次,并在冰上用细胞刮将细胞刮下,4℃ 12 000 r/min离心收集细胞。每5×10⁶个细胞加100 μl含有蛋白酶抑制剂的细胞裂解液,蛋白酶抑制剂在使用前加入。在冰上反应0.5 h后离心,收集上清液。取样品总蛋白40 μg,加入等体积的2×十二烷基硫酸钠缓冲液,100℃变性5 min,用移液枪取上清加入上样孔,10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶

电泳,并将蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜膜上,加50 g/L脱脂奶粉于室温封闭1 h,磷酸盐吐温缓冲液洗膜,加入一抗p-ERK1/2及β-actin于4℃孵育过夜,磷酸盐吐温缓冲液洗涤3次,加入辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育1 h,再用TBST洗涤3次,ECL反应液A和B混合后加至膜上1 min,最后X片显影。

1.3 统计学方法 采用SPSS 16.0分析软件。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。计数资料采用 χ^2 检验,计量资料采用重复测量资料方差分析和 t 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度姜黄素对PC-3肿瘤细胞抑制率分析见表1

表1 姜黄素对人前列腺癌PC-3细胞抑制率/%

组别	1 d	2 d	4 d	6 d
5 μmol/L组	20.95 ± 1.57*	21.26 ± 1.73*	31.59 ± 2.43*	36.82 ± 3.13*
10 μmol/L组	28.03 ± 2.12*	27.05 ± 2.36*	34.92 ± 2.67*	42.47 ± 3.89*
20 μmol/L组	32.97 ± 2.74*	33.49 ± 3.04*	40.93 ± 3.38*	50.04 ± 4.14*
40 μmol/L组	36.72 ± 2.94*	36.26 ± 3.03*	42.73 ± 3.51*	54.62 ± 4.03*
对照组	15.33 ± 1.02	14.62 ± 1.12	20.58 ± 1.69	22.41 ± 1.74

注:*,与对照组比较, $P < 0.05$ 。

由表1可见,40 μmol/L、20 μmol/L、10 μmol/L、5 μmol/L组在细胞生长1 d、2 d、4 d和6 d后细胞抑制率明显高于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=8.36、7.89、5.89、5.35;8.03、7.69、6.17、5.57;8.84、8.53、7.39、6.76;11.58、9.86、8.20、7.26, P 均 < 0.05)。在细胞生长第1天、2天、4天和6天,细胞抑制率随姜黄素浓度的增加而上升(F 分别=5.65、4.63、4.64、5.76, P 均 < 0.05)。

2.2 不同浓度姜黄素处理后PC-3细胞的ERK1/2 mRNA表达结果分析见表2

表2 不同浓度姜黄素处理后PC-3细胞的ERK1/2 mRNA表达量

组别	2 d	4 d	6 d
5 μmol/L组	1.11 ± 0.04*	0.97 ± 0.03*	0.92 ± 0.03*
10 μmol/L组	0.97 ± 0.04*	0.92 ± 0.03	0.85 ± 0.04*
20 μmol/L组	0.90 ± 0.03*	0.84 ± 0.03*	0.75 ± 0.02*
40 μmol/L组	0.85 ± 0.04*	0.79 ± 0.03*	0.70 ± 0.02*
对照组	1.99 ± 0.06	1.81 ± 0.02	1.88 ± 0.03

注:*,与对照组比较, $P < 0.05$ 。

由表2可见,40 μmol/L、20 μmol/L、10 μmol/L、5 μmol/L组在细胞生长2 d、4 d、6 d的ERK1/2 mRNA表达均明显低于对照组,差异均有统计学意义(t 分别=8.76、8.13、7.69、6.86;8.56、8.16、7.76、6.85;9.03、8.68、8.11、7.27, P 均 < 0.05)。且随着作用时间的增加,5 μmol/L、10 μmol/L、20 μmol/L、40 μmol/L浓度条件下的ERK1/2 mRNA水平逐渐降低(F 分别=4.35、4.99、4.05、4.28, P 均 < 0.05)。

2.3 Western blot法检测结果见图1

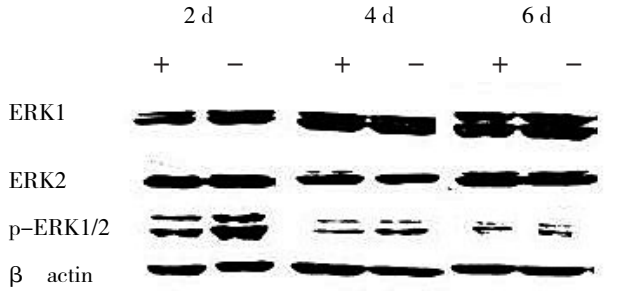


图1 不同时间40 μmol/L姜黄素对抑制ERK1/2的磷酸化的效果

由图1可见,Western blotting检测结果显示,40 μmol/L姜黄素抑制p-ERK1/2的磷酸化呈时间

依赖性,即随作用时间的延长下调pERK1/2表达的活性。

3 讨论

前列腺癌是世界上发病率占第一位的男性恶性肿瘤。据2010年最新调查数据显示,世界每年约有20万例新增前列腺癌患者,占全部恶性肿瘤新发病例的12%^[4]。在2002年以前,我国是前列腺癌发病率较低的国家之一,然而近年来,随着人们生活方式、饮食结构的改变以及老龄化进程的加快,我国前列腺癌的发病形势也不容乐观。2005年调查显示,其发病率正以0.03%速度持续增长,对我国男性的健康构成了严重威胁^[5,6]。目前,临床对于前列腺癌的治疗,尤其是雄激素非依赖性前列腺癌和前列腺癌发生转移患者的治疗尚无统一标准,且治疗效果并不十分理想,因而,国内外临床学者及药物研究发人员致力于开发新药用于治疗前列腺癌^[7]。

近几年来,我国中医药事业取得了迅猛发展,许多新的研究发现,部分中药可显著抑制肿瘤细胞增长、繁殖、代谢和转移,从而发挥强效的抗肿瘤作用^[8]。姜黄素是从我国传统中药姜黄的根茎中分离提取出来的酚类色素,该物质为脂溶性物质^[9]。姜黄素抑制肿瘤细胞的研究最早始于1985年,是基于印度学者Kuttan对姜黄素在DUHON淋巴瘤细胞的抑制效果的体外研究,从此姜黄素的抑制肿瘤细胞的效果受到了医药学者的广泛重视^[10]。现代药理学研究以及基础研究显示,姜黄素在体内、体外均可发挥抗多种肿瘤细胞的作用,诱导多种细胞株的凋亡,如人类白血病细胞株HL-6、人类肝癌SMMC-7721细胞,人胃癌AGC细胞等^[11]。同时,姜黄素对前列腺癌的作用效果及作用机制的研究也逐渐深入。报道显示姜黄素能够诱导激素依赖性前列腺癌细胞LNCaP细胞和激素非依赖性前列腺癌细胞PC-3细胞的凋亡,而单去甲氧基姜黄素可以抑制前列腺癌细胞PC-3增殖、侵袭及转移^[12]。临床研究则显示紫杉醇和姜黄素的联合应用比单独应用紫杉醇能更有效治疗前列腺癌,将紫杉醇和姜黄素联合应用于前列腺癌治疗可降低肿瘤细胞增殖和扩散中高度表达的增殖细胞核抗原和基质金属蛋白酶-2,同时激活与肿瘤细胞凋亡密切相关的p21和p53的表达^[13]。报道还显示,姜黄素可能通过抑制多条信号通路及调节相关肿瘤因子在体外抑制激素非依赖性前列腺癌细胞的增殖,并可诱导其凋亡,抑制信号转导通路中某一信号转导分子的表达从而

阻断异常活化的信号转导通路是肿瘤治疗的策略之一^[14]。丝裂原活化蛋白激酶信号转导通路存在于大多数细胞中,可将细胞外刺激信号转导至细胞内,引起细胞增殖、分化、凋亡等一系列重要生化反应。ERK信号通路作为MAPK信号通路的一条,ERK1/2亚功能区中的酪氨酸和苏氨酸残基可发生磷酸化激活,激活的ERK1/2由胞质移位至细胞核后磷酸化一系列转录因子,从而调控细胞的增殖和分化过程,研究表明通过增强ERK磷酸化可抑制ERK-MAPK信号通路活性,最终导致PC-3细胞增殖受到抑制^[15]。

本次研究结果显示,不同浓度的姜黄素作用于雄激素非激素依赖性前列腺癌PC-3细胞株,经MTT法检测结果显示姜黄素能明显抑制PC-3的体外生长,且姜黄素的抑制效果与时间及浓度呈依赖关系(P 均 <0.05),说明姜黄素能明显抑制PC-3细胞生长,随着药物浓度的增加及作用时间的延长,姜黄素对PC-3细胞的生长抑制作用逐渐增大,具有时间及剂量依赖性(P 均 <0.05);Western blotting法检测结果显示,姜黄素抑制ERK1/2的磷酸化呈时间、浓度依耐性,即随作用时间的延长下调p-ERK1/2表达的活性;实时荧光定量PCR检测显示,姜黄素浓度与ERK1/2 mRNA的活性水平成反比,且呈时间依赖性,而前期的研究显示通过抑制ERK磷酸化可抑制PC-3细胞增殖,结合本次研究的结果表明姜黄素抑制PC-3细胞增殖的可能机制与p-ERK1/2蛋白及ERK1/2 mRNA表达被抑制有关。

综上所述,姜黄素对人前列腺癌PC-3细胞株增殖具有显著的抑制作用,其对前列腺癌细胞的抑制可能与抑制p-ERK1/2蛋白及ERK1/2 mRNA表达有关。

参考文献

- 1 Smith J, Bunaciu RP, Reiterer G, et al. Retinoic acid induces nuclear accumulation of Raf1 during differentiation of HL-60 cell[J]. *Exp Cell Res*, 2009, 315 (13): 2241-2248.
- 2 Cheng C, Jiao J, Qian Y, et al. Curcumin induces G2/M arrest and triggers apoptosis via FoxO1 signaling in U87 human glioma cells[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13 (5): 3763-3770.
- 3 高庆贞, 吕家驹, 张辉, 等. 阻断MAPK通路对前列腺癌细胞增殖的影响[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2012, 44(5): 302-303.
- 4 刘双林, 王志华, 胡志全, 等. 抗人转铁蛋白受体单克隆抗

- 体增强姜黄素对雄激素非依赖性前列腺癌的抑制效应[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2012, 41(3): 284-287.
- 5 叶定伟, 朱耀. 中国前列腺癌的流行病学概述和启示 [J]. 中华外科杂志, 2015, 53(4): 249-252.
 - 6 Balmano K, Cook SJ. Tumour cell survival signalling by the ERK1/2 pathway [J]. Cell Death Differ, 2009, 16(3): 368-377.
 - 7 田瑞华, 殷平, 金光辉, 等. 全反式维甲酸对结肠癌不同增殖潜能细胞株 HIF-1 α 表达的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2010, 26(7): 1425-1427.
 - 8 Mathur A, ABD Elmageed ZY, Liu X, et al. Subverting ER-stress towards apoptosis by nelfinavir and curcumin coexposure augments docetaxel efficacy in castration resistant prostate cancer cells[J]. PLoS One, 2014, 9(8): e103109.
 - 9 余建华, 邓刚. 姜黄素雷公藤内酯醇对前列腺癌细胞 PC3 及血管内皮生长因子影响的比较[J]. 现代泌尿生殖肿瘤杂志, 2010, 6(2): 224-227.
 - 10 李建华, 周洁, 陆素青, 等. 姜黄素对前列腺癌 PC-3 细胞增殖的抑制作用[J]. 中国医药科学, 2012, 2012(15): 29-36.
 - 11 李会宣, 杨虹, 张红兵, 等. 姜黄素通过 MAPK 信号通路诱导人肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡[J]. 天然产物研究与开发, 2014, 26(3): 329-334.
 - 12 钟利春, 李昌平. 姜黄素与 p38MAPK 的研究进展[J]. 西南军医, 2015, 17(1): 47-49.
 - 13 Zhou M, Li Z, Han Z, et al. Paclitaxel-sensitization enhanced by curcumin involves down-regulation of nuclear factor- κ B and Lin28 in Hep3B cells [J]. J Recept Signal Transduct Res, 2015, 35(6): 618-625.
 - 14 Seo JH, Jeong ES, Choi YK. Therapeutic effects of lentivirus-mediated shRNA targeting of cyclin D1 in human gastric cancer [J]. BMC Cancer, 2014, 14(1): 175-180.
 - 15 黄益玲, 胡火军, 尤程程. 天花粉蛋白通过下调 p-ERK 及 Cyclin D1 表达抑制 PC3 细胞增殖[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(15): 4108-4109.

(收稿日期 2017-03-08)

(本文编辑 蔡华波)

(上接第379页)

- 4 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2013年修订版)[S]. 中华结核和呼吸杂志, 2013, 6(4): 67-80.
- 5 Rode L, Bojesen SE, Weischer M, et al. Short telomere length, lung function and chronic obstructive pulmonary disease in 46 396 individuals[J]. Thorax, 2013, 68(5): 429-435.
- 6 Vannier JB, Sarek G, Boulton SJ. RTEL1: functions of a disease-associated helicase[J]. Trends Cell Biol, 2014, 24(7): 416-425.
- 7 Muleris M, Almeida A, Gerbaultseureau M, et al. Identification of amplified DNA sequences in breast cancer and their organization within homogeneously staining regions[J]. Gene Chromosome Canc, 2010, 14(3): 155-163.
- 8 Wu X, Sandhu S, Nabi Z, et al. Generation of a mouse model for studying the role of upregulated RTEL1 activity in tumorigenesis[J]. Transgenic Res, 2012, 21(5): 1109-1115.
- 9 Melin B, Dahlin AM, Andersson U, et al. Known glioma risk loci are associated with glioma with a family history of brain tumours—a case-control gene association study[J]. Int J Cancer, 2013, 132(10): 2464-2468.
- 10 Deng Z, Glousker G, Molczan A, et al. Inherited mutations in the helicase RTEL1 cause telomere dysfunction and Hoyeraal-Hreidarsson syndrome[J]. P Natl Acad Sci USA, 2013, 110(36): E3408-E3416.
- 11 Vannier JB, Sandhu S, Petalcorin MI, et al. RTEL1 is a replisome-associated helicase that promotes telomere and genome-wide replication[J]. Science, 2013, 342(6155): 239-242.
- 12 Wrensch M, Jenkins RB, Chang JS, et al. Variants in the CDKN2B and RTEL1 regions are associated with high grade glioma susceptibility[J]. Nat Genetics, 2009, 41(8): 905-908.
- 13 Adel FM, Lavebratt C, Schüz J, et al. CCDC26, CDKN2BAS, RTEL1 and TERT polymorphisms in pediatric brain tumor susceptibility[J]. Eur J Cancer, 2015, 51(8): S163.
- 14 Ding Y, Xu H, Yao J, et al. Association between RTEL1 gene polymorphisms and COPD susceptibility in a Chinese Han population[J]. Int J Chroni Obstruct Pulmon Dis, 2017, 12(3): 931-936.

(收稿日期 2018-05-02)

(本文编辑 蔡华波)