

WVOX基因转染对胆管癌细胞增殖、凋亡及侵袭的影响

朱凯, 黄强, 邵峰, 任维华

朱凯, 黄强, 邵峰, 安徽医科大学附属医院普外科 安徽省合肥市 230001

任维华, 安徽医科大学附属医院肝胆实验室 安徽省合肥市 230001

朱凯, 住院医师, 主要从事胆道肿瘤的基础性研究和胆胰微创外科临床研究。

作者贡献分布: 朱凯与黄强对本文贡献均等; 课题由朱凯与黄强共同设计; 实验过程及数据分析由朱凯完成; 邵峰与任维华参与论文资料的查询、整理; 本论文写作由朱凯与黄强完成。

通讯作者: 黄强, 教授, 主任医师, 230001, 安徽省合肥市, 安徽医科大学附属医院普外科. zk231500@163.com

收稿日期: 2010-11-03 修回日期: 2010-12-07

接受日期: 2010-12-15 在线出版日期: 2011-01-28

WVOX gene transfection inhibits proliferation, accelerates apoptosis, and reduces invasion in human cholangiocarcinoma cell line QBC939

Kai Zhu, Qiang Huang, Feng Shao, Wei-Hua Ren

Kai Zhu, Qiang Huang, Feng Shao, Department of General Surgery, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Wei-Hua Ren, Laboratory of Hepatobiliary Diseases, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Professor Qiang Huang, Department of General Surgery, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001, Anhui Province, China. zk231500@163.com

Received: 2010-11-03 Revised: 2010-12-07

Accepted: 2010-12-15 Published online: 2011-01-28

Abstract

AIM: To investigate the effect of transfection with the WW domain-containing oxidoreductase (WVOX) gene on cell proliferation, apoptosis and invasion in human cholangiocarcinoma cell line QBC939.

METHODS: A recombinant eukaryotic expression plasmid containing the WVOX gene was introduced into QBC939 cells by liposome-mediated transfection. The mRNA and protein expression of WVOX in QBC939 cells stably transfected with the recombinant plasmid was detected by quantitative RT-PCR and Western blotting, respectively. Cell proliferation was test-

ed by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay. Cell apoptosis was assessed by flow cytometry (FCM). Cell invasion was determined by Transwell chamber assay.

RESULTS: QBC939 cells stably transfected with the recombinant plasmid were successfully generated. The expression of WVOX mRNA and protein was markedly increased in QBC939 cells transfected with the recombinant plasmid when compared with untransfected QBC939 cells and those transfected with control plasmid [$3.71(3.64-3.78)$ vs $1.00(0.98-1.02)$, $1.07(1.02-1.13)$; 0.86 ± 0.03 vs 0.25 ± 0.01 , 0.27 ± 0.02 , all $P < 0.05$]. WVOX gene transfection significantly decreased cell proliferation [0.63 ± 0.04 vs 0.90 ± 0.05 , 0.87 ± 0.04 , both $P < 0.01$] but promoted apoptosis ($21.40\% \pm 2.35\%$ vs $1.24\% \pm 0.35\%$, $1.73\% \pm 0.48\%$, both $P < 0.01$). Transwell chamber assay showed that the number of transfected cells that passed the Transwell membrane was significantly less than those of control cells (70.00 ± 4.58 vs 102.33 ± 8.33 , 107.00 ± 9.00 , both $P < 0.01$).

CONCLUSION: WVOX expression inhibits proliferation, accelerates apoptosis, and reduces invasion in human cholangiocarcinoma cell line QBC939, suggesting that the WVOX gene may be a novel target for gene therapy of cholangiocarcinoma.

Key Words: Cholangiocarcinoma; Gene expression; Transfection; Proliferation; Apoptosis; Invasion; WW domain-containing oxidoreductase gene

Zhu K, Huang Q, Shao F, Ren WH. WVOX gene transfection inhibits proliferation, accelerates apoptosis, and reduces invasion in human cholangiocarcinoma cell line QBC939. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2011; 19(3): 251-256

摘要

目的: 探讨WVOX基因转染胆管癌细胞株QBC939后对其增殖、凋亡与侵袭性的影响。

方法: 用脂质体转染法将WVOX重组真核表达质粒转染QBC939细胞, 建立稳定表达

■背景资料

胆管癌恶性程度高、早期诊断困难、手术切除率低, 对其分子发病机制的研究可以加深对胆管癌的了解。WVOX基因是目前肿瘤研究的新兴领域和热点, 近年来研究发现多种肿瘤组织WVOX蛋白表达降低或丢失, 提示WVOX基因为多种肿瘤的候选抑制基因。

■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院分子医学中心

■ 研究前沿

细胞癌基因的激活和抑癌基因的失活是近年来肿瘤研究中的热点,其中抑癌基因的失活被认为是重要的致癌因素。

WWOX基因的细胞株。将其分为以下3组:QBC939组, QBC939/con组和QBC939/WWOX组。荧光定量RT-PCR和Western blot法检测各组WWOX mRNA和蛋白水平的表达; MTT实验检测转染前后各组细胞增殖活性的变化; FCM法检测各组细胞的凋亡; Transwell小室侵袭实验检测各组肿瘤细胞侵袭力的变化。

结果: 建立了稳定表达WWOX基因的QBC939/WWOX细胞株, WWOX mRNA和蛋白的表达增加[3.71(3.64-3.78) vs 1.00(0.98-1.02), 1.07(1.02-1.13); 0.86 ± 0.03 vs 0.25 ± 0.01 , 0.27 ± 0.02 , 均 $P < 0.05$], 转染后的QBC939细胞MTT吸光度明显下降(0.63 ± 0.04 vs 0.90 ± 0.05 , 0.87 ± 0.04 , 均 $P < 0.01$), FCM显示QBC939/WWOX组的细胞凋亡率明显增高($21.4\% \pm 2.35\%$ vs $1.24\% \pm 0.35\%$, $1.73\% \pm 0.48\%$, 均 $P < 0.01$), 侵袭实验显示转移至下室滤膜的细胞数明显减少(70.00 ± 4.58 vs 102.33 ± 8.33 , 107.00 ± 9.00 , 均 $P < 0.01$)。

结论: WWOX基因能抑制胆管癌细胞株QBC939的增殖, 加速肿瘤细胞凋亡并降低其侵袭力, 可能作为胆管癌基因治疗的一个新靶点。

关键词: 胆管癌; 基因表达; 转染; 增殖; 凋亡; 侵袭; 含有WW结构域的氧化还原酶基因

朱凯, 黄强, 邵峰, 任维华. WWOX基因转染对胆管癌细胞增殖、凋亡及侵袭的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19(3): 251-256
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/19/251.asp>

0 引言

胆管癌是起源于胆管上皮细胞的恶性肿瘤, 其特点是起病隐匿、恶性程度高、早期诊断困难、手术切除率低, 近年来胆管癌的发病率有增加趋势^[1]。含有WW结构域的氧化还原酶基因(WW domain-containing oxidoreductase, WWOX)是2000年Bednarek等^[2]应用鸟枪法基因测序技术在染色体普通脆性位点(common fragile sites, CFS)区域鉴别出的一个新的抑癌基因。WWOX基因定位于染色体16q23.3-24.1区, 并跨越了整个常见染色体脆性部位FRA16D。近年来的大量研究发现多种肿瘤组织中WWOX蛋白表达降低或丢失, 并发现这与WWOX基因转录及缺失有关, 提示WWOX基因为多种肿瘤的候选抑制基因^[3]。本研究通过基因转染, 有限恢复胆管癌细胞中抑癌基因的表达, 观察WWOX基因对胆管癌细胞增殖、凋亡和侵袭的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 pmCherry-N1-WWOX由我们自行构建, 胆管癌细胞株QBC939购于ScienCell Research Laboratories U.S, TRIzol、Lipofectamine2000(美国Invitrogen公司), RPMI 1640培养液、胎牛血清(美国Hyclon公司), 小剂量质粒提取试剂盒和SYBR Green I 荧光定量RT-PCR试剂盒购自Promega公司, 鼠抗人WWOX抗体, GAPDH抗体(美国Santa Cruz), 辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠抗体(北京中杉金桥生物技术有限公司), 胰蛋白酶、噻唑蓝(MTT)、二甲基亚砷(DMSO)、G418购于美国Sigma公司, Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒购自Roche公司, Transwell小室、Matrigel Matrix、Fibronectin购于美国BD公司, 其他常规试剂均为进口分装或国产分析纯。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染: QBC939细胞在含10%胎牛血清RPMI 1640的培养液中于37℃、饱和湿度及50 mL/L CO₂的培养箱中传代培养。QBC939细胞呈单层贴壁生长。将QBC939细胞接种至6孔板中, 每孔 5×10^5 个细胞, 以完全培养液培养24 h后用不含血清的RPMI 1640培养液洗涤2次, 分别加入含有WWOX基因的pmCherry-N1-WWOX质粒和不含有WWOX基因的pmCherry-N1对照质粒各5 μg, 25 min后再加入脂质体Lipofectamine2000 10 μL/孔。转染6 h后, 更换为完全培养液, 继续培养24 h后加入G418(500 mg/L)进行筛选, 7 d后以200 mg/L维持筛选压力。2 wk后挑取单克隆进行鉴定并扩增培养, 稳定转染WWOX的细胞命名为QBC939/WWOX细胞, 对照质粒转染细胞命名为QBC939/con细胞, 进行后续实验。

1.2.2 WWOX基因表达检测: 采用TRIzol试剂提取3组细胞总RNA, 取定量的RNA 1 μg。转染前后QBC939细胞的WWOX表达情况通过荧光定量RT-PCR进行检测。根据GenBank所查询的序列(NM_016373.1), 使用Primer 5.0软件设计引物: 上游引物F: 5'-GACTGGCGTTTACTGTG-GATGA-3', 下游引物R: 5'-CAAAAGACTTGGC-GGTTTCG-3'; 看家基因选择β-actin, 上游引物F: 5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3', 下游引物R: 5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'。按试剂盒说明书设定荧光定量PCR反应体系及参数, 确定标准曲线后进行荧光定量RT-PCR。反转录反应条件的设置: 25℃ 10 min, 40℃ 60 min, 85℃ 5 min; 扩增条件的设置: 94℃ 4 min; 94℃

表 1 WWOX荧光定量RT-PCR结果

	ΔCt	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$
QBC939	1.341 ± 0.035	0.000 ± 0.035	$1.00(0.98-1.02)$
QBC939/con	1.238 ± 0.069	-0.103 ± 0.069	$1.07(1.02-1.13)$
QBC939/WWOX	-0.549 ± 0.027	-1.890 ± 0.027	$3.71(3.64-3.78)$

20 s、60 °C 30 s、72 °C 30 s, 循环35次; 72 °C 检测信号. 3个实验组各做6次重复实验, 每次目的基因和看家基因的Ct值相减得到 ΔCt , 把自然生长的QBC939细胞作为参照因子(calibrator), 经看家基因均一化处理后, 通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算^[4]. WWOX基因表达差异通过实验组细胞相对于自然生长组细胞的倍数来表示.

1.2.3 Western blot检测WWOX蛋白表达: 取 1×10^6 个细胞, 冷PBS缓冲液洗涤3次后, 再用双去污剂裂解液裂解细胞, 12 000 r/min离心15 min, 取上清液采用BCA法测定蛋白浓度. 蛋白量调整一致后, 加入SDS缓冲液, 100 °C变性5 min. 根据待测目的蛋白分子量配制相应浓度的SDS-PAGE胶. 蛋白样品经电泳分离后, 电转移至硝酸纤维素膜上. 将膜置于含5%脱脂奶粉的TBST中封闭2 h, 随后加入相应一抗反应过夜, 最后与HRP标记的二抗在室温下反应1 h后ECL法显影. 以目的蛋白与GAPDH条带灰度值之比表示目的蛋白的相对表达水平.

1.2.4 MTT法检测体外细胞增殖情况: 收集培养到对数生长期的QBC939细胞, 调整细胞悬液浓度并计数, 用微量移液器加入96孔板中, 每孔200 μ L, 细胞数为 3×10^3 个, 未使用的边缘孔用无菌PBS填充. 分别培养0、24、48、72和96 h后加入30 μ L MTT(5 g/L), 继续培养4 h, 离心后除去上清液, 加入200 μ L DMSO振荡20 min, 使用酶标仪检测490 nm波长处的吸光度A值, 每组细胞设3个复孔, 取4孔的平均值作为结果.

1.2.5 FCM检测细胞凋亡: 用标记了FITC的Annexin V作为荧光探针, 利用流式细胞仪可检测细胞凋亡的发生, 正常细胞和早期凋亡细胞的细胞膜是完整的. 碘化丙啶(propidium iodide, PI)是一种核酸染料, 他不能透过完整的细胞膜, 但在凋亡中晚期的细胞和死细胞, PI能透过细胞膜与细胞核结合呈现红色. 将Annexin V与PI匹配使用, 可以将凋亡早期的细胞和晚期的细胞以及死细胞区分开来. 离心收集细胞, 用预冷PBS洗涤细胞2次, 用Binding Buffer悬浮细胞后调整细胞浓度为 1×10^6 cells/L. 细胞悬液中加入5 μ L

Annexin V-FITC摇匀避光孵育15 min后加入10 μ L PI染液避光孵育5 min后立即上流式细胞仪分析, 每组实验重复4次.

1.2.6 Transwell小室侵袭实验: 在穿膜小室(transwell chamber)的上、下室之间铺有用基质胶(Matrigel)制备好的膜, 取不含血清的浓度为 2×10^8 cells/L的细胞悬液200 μ L种植于上室, 下室加入含胎牛血清的培养基, 肿瘤细胞会向营养成分高的下室迁移. 37 °C、饱和湿度及50 mL/L CO₂的培养箱中培养24 h, 小心取出上室, 用湿棉签擦去膜上未穿过膜的细胞, 0.1%结晶紫染色, 取左上、左下、右上、右下及中心5个视野, 倒置显微镜下直接计数穿膜细胞数.

统计学处理 计量资料以mean \pm SD表示, 采用方差分析检验, 率的比较采用 χ^2 检验, 所有数据录入SPSS13.0软件进行计算, 以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 WWOX基因mRNA表达的变化 荧光定量RT-PCR显示, QBC939/WWOX实验组在质粒转染后, WWOX的表达量比QBC939/con和QBC939自然生长组有所升高, 表达量是自然生长的QBC939细胞的3.71倍($P < 0.05$), 可见转染后的WWOX基因表达上调(表1).

2.2 WWOX蛋白表达的变化 Western blot检测结果显示, QBC939组、QBC939/con组和QBC939/WWOX组的WWOX/GAPDH的比值分别为 0.25 ± 0.01 , 0.27 ± 0.02 和 0.86 ± 0.03 . 可见WWOX蛋白表达水平在稳定转染的胆管癌细胞中显著升高($P < 0.05$, 图1).

2.3 细胞增殖情况 从每天MTT检测情况结合统计学分析, 实验当天各组A值差别无统计学意义, 各组处于接种时的状态; 随着时间的推移, QBC939/WWOX组的细胞增殖下调明显, 第2天的A值与QBC939自然生长细胞以及QBC939/con细胞比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$). 实验组细胞增殖相对于2个对照组被明显抑制(表2, 图2).

■ 相关报道

顾军等采用RT-PCR及免疫组织化学方法研究发现肝外胆管癌中WWOX低表达且其表达与胆管癌的组织学分级呈负相关. Aqeilan等发现WWOX基因为多种肿瘤的候选抑制基因.

■创新盘点

本研究证实了WWOX基因在胆管癌细胞系中低表达,恢复其表达后可以有效逆转胆管癌细胞的恶性生物学行为,证明该基因可能作为胆管癌基因治疗以及预测肿瘤复发的一个新靶点。

表 2 MTT检测 A_{490} 值

分组	第0天	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
QBC939组	0.19 ± 0.01	0.33 ± 0.02	0.45 ± 0.03	0.62 ± 0.02	0.75 ± 0.05	0.87 ± 0.04
QBC939/con组	0.19 ± 0.01	0.31 ± 0.01	0.42 ± 0.02	0.58 ± 0.03	0.73 ± 0.03	0.90 ± 0.05
QBC939/WWOX组	0.19 ± 0.01	0.26 ± 0.02	0.33 ± 0.02	0.45 ± 0.04	0.54 ± 0.03	0.63 ± 0.04
F值	0.263	19.866	25.466	24.517	38.708	51.357
P值	0.774	<0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

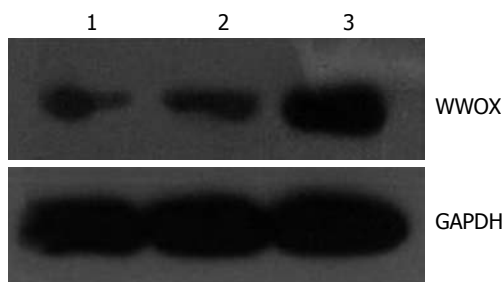


图 1 Western blot检测WWOX表达。1: QBC939组; 2: QBC939/con组; 3: QBC939/WWOX组。

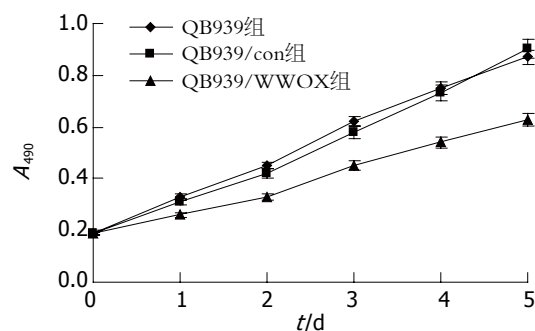


图 2 MTT观察细胞增殖。

2.4 FCM法检测WWOX转染对QBC939细胞凋亡的影响 WinMDI 2.9软件分析发现, QBC939/con和QBC939组、QBC939/WWOX组细胞凋亡率分别为 $1.24\% \pm 0.35\%$ 、 $1.73\% \pm 0.48\%$ 和 $21.4\% \pm 2.35\%$, 实验组与2个对照组间的差异均有统计学意义($P < 0.01$)。实验组细胞的凋亡率要明显高于2个对照组(图3)。

2.5 转染WWOX基因后QBC939细胞侵袭能力的变化 结果显示QBC939/WWOX组与QBC939/con和QBC939组间的差异有统计学意义(70 ± 4.58 vs 102.33 ± 8.33 , 107 ± 9.00 , $P < 0.01$)。2个对照组间的细胞侵袭力差异无统计学意义, 说明QBC939/WWOX细胞组侵袭力减弱。

3 讨论

肝外胆管癌占肝胆系统恶性肿瘤的10%-15%, 早在1990年中华医学会的调查就发现胆管癌的发病率以每年5%的速度上升^[5]。胆管癌的生长以浸润性生长为特征, 其浸润和转移导致手术切除范围不能达到根治的目的, 是术后复发的主要原因。对胆管癌组织的相关研究发现, WWOX基因和蛋白表达在胆管癌中高频缺失, 且缺失发生与组织分级呈负相关^[6], 因此推测该基因与胆管癌的发生、发展关系密切。

细胞癌基因的激活和抑癌基因的失活是近年来肿瘤研究中的热点, 其中抑癌基因的失活被认为是重要的致癌因素。一些研究认为, DNA

损伤是恶性肿瘤发生、发展的重要机制, 染色体脆性位点抑癌基因对DNA损伤高度敏感, 而这些常见脆性位点往往对应着一些新的抑癌基因^[7,8]。

WWOX长约1.1 Mb, 其开放读码框长约1 245 bp, 编码414个氨基酸组成的蛋白。WWOX蛋白通过WW结构域与富含比咯氨酸的配基结合介导蛋白-蛋白间的相互作用, 而此过程受到酪氨酸磷酸化的调控^[9]。WWOX蛋白是一种促凋亡蛋白, 参与多种信号转导途径^[10-12]: 增强肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)介导的细胞毒性, 与TNF凋亡途径中的TRADD和TRAF2作用; 与 $\kappa B\alpha$ /P53凋亡途径中的P53作用; 与细胞应激途径中的JNK1作用。WWOX转录产物异常及WWOX蛋白表达缺失或减少, 已在多种原发肿瘤及肿瘤细胞株中得到证实, 尤其在与环境致癌因素密切相关的肿瘤如胃癌、肺癌、乳腺癌、食管癌、肝癌、结肠癌、造血系统恶性肿瘤等^[13-19]更是如此。Fabbri等^[20]通过对不同肿瘤中该基因的研究证明, WWOX基因是一个常见的基因组不稳定者也是一个潜在的肿瘤生长的抑制者。

胆管癌发病隐匿、缺乏理想的早期诊断标志物、对常规放疗化疗缺乏敏感性, 这些原因造成胆管癌患者的预后极差。加强胆管癌分子生物学特性的研究是改善胆管癌诊疗现状的最重要的途径之一^[21]。本研究通过构建了

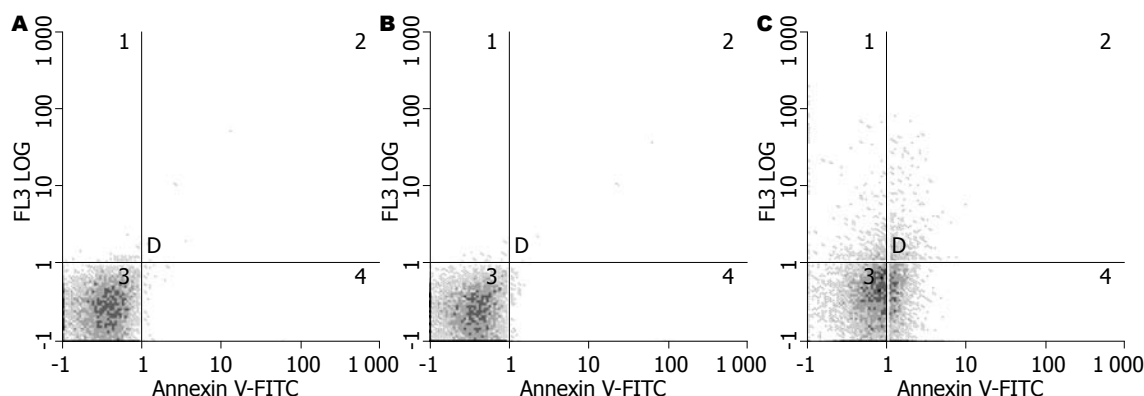


图3 流式细胞仪分析3组细胞凋亡率的变化. A: QBC939组; B: QBC939/con组; C: QBC939/WWOX组.

■应用要点

本研究证实过表达WWOX基因能抑制胆管癌细胞的增殖,加速肿瘤细胞凋亡并降低其侵袭力,临床研究也发现该基因与性激素相关肿瘤的预后显著相关,这些都为进一步探索胆管癌的发病机制及基因治疗提供了新的思路.

人WWOX基因的真核表达载体pmCherry-N1-WWOX,建立稳定表达WWOX基因QBC939/WWOX细胞株.荧光定量RT-PCR及Western blot检测结果显示WWOX基因在QBC939/WWOX细胞中mRNA及蛋白表达明显增加.采用MTT、流式细胞术和小室侵袭实验等手段观察细胞生物学行为变化.结果表明稳定表达WWOX基因的胆管癌细胞增殖减慢;侵袭能力是衡量肿瘤转移潜能的重要标志之一,研究表明,转染WWOX基因后QBC939细胞的侵袭能力明显下降,说明WWOX基因对肿瘤细胞的运动能力有明显抑制作用;FCM实验表明恢复WWOX基因的表达可以加速胆管癌细胞的凋亡,推测WWOX基因可能是通过加速细胞凋亡而抑制QBC939细胞的增殖.WWOX作为基因治疗的一种候选基因,能有效逆转肿瘤细胞的生物学行为,将在肿瘤的临床治疗中发挥重要的作用.但是WWOX在胆管细胞癌变过程中的具体作用机制目前尚不完全清楚^[22].进一步探WWOX的功能,将对深入了解其在胆管癌发生、发展过程中的作用提供新的线索,为胆管癌的诊断、治疗提供新的靶点和研究方向.

4 参考文献

- Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314
- Bednarek AK, Laflin KJ, Daniel RL, Liao Q, Hawkins KA, Aldaz CM. WWOX, a novel WW domain-containing protein mapping to human chromosome 16q23.3-24.1, a region frequently affected in breast cancer. *Cancer Res* 2000; 60: 2140-2145
- Aqeilan RI, Trapasso F, Hussain S, Costinean S, Marshall D, Pekarsky Y, Hagan JP, Zaneni N, Kaou M, Stein GS, Lian JB, Croce CM. Targeted deletion of Wwox reveals a tumor suppressor function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 3949-3954
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402-408
- 周宁新, 黄志强, 划永雄. 肝外胆道癌全国调查1098例分析. *中华外科杂志* 1990; 28: 516-517
- 顾军, 王梅, 王雅杰, 李咏梅, 袁杨, 薛春燕. 抑癌基因WWOX在肝外胆管癌中的表达. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1302-1305
- Finnis M, Dayan S, Hobson L, Chenevix-Trench G, Friend K, Ried K, Venter D, Woollatt E, Baker E, Richards RI. Common chromosomal fragile site FRA16D mutation in cancer cells. *Hum Mol Genet* 2005; 14: 1341-1349
- Smith DI, McAvoy S, Zhu Y, Perez DS. Large common fragile site genes and cancer. *Semin Cancer Biol* 2007; 17: 31-41
- Ingham RJ, Colwill K, Howard C, Dettwiler S, Lim CS, Yu J, Hersi K, Raaijmakers J, Gish G, Mbamalu G, Taylor L, Yeung B, Vassilovski G, Amin M, Chen F, Matskova L, Winberg G, Ernberg I, Lindberg R, O'donnell P, Starostine A, Keller W, Metalnikov P, Stark C, Pawson T. WW domains provide a platform for the assembly of multiprotein networks. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 7092-7106
- Chang NS, Doherty J, Ensign A, Lewis J, Heath J, Schultz L, Chen ST, Oppermann U. Molecular mechanisms underlying WOX1 activation during apoptotic and stress responses. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1347-1354
- Chang NS, Pratt N, Heath J, Schultz L, Sleva D, Carey GB, Zevotek N. Hyaluronidase induction of a WW domain-containing oxidoreductase that enhances tumor necrosis factor cytotoxicity. *J Biol Chem* 2001; 276: 3361-3370
- Chang NS, Doherty J, Ensign A. JNK1 physically interacts with WW domain-containing oxidoreductase (WOX1) and inhibits WOX1-mediated apoptosis. *J Biol Chem* 2003; 278: 9195-9202
- Aqeilan RI, Kuroki T, Pekarsky Y, Albagha O, Trapasso F, Baffa R, Huebner K, Edmonds P, Croce CM. Loss of WWOX expression in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 3053-3058
- Donati V, Fontanini G, Dell'Omodarme M, Prati MC, Nuti S, Lucchi M, Mussi A, Fabbri M, Basolo F, Croce CM, Aqeilan RI. WWOX expression in different histologic types and subtypes of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 884-891
- Pluciennik E, Kusińska R, Potemski P, Kubiak R, Kordek R, Bednarek AK. WWOX--the FRA16D cancer gene: expression correlation with breast cancer progression and prognosis. *Eur J Surg Oncol* 2006;

■同行评价

本文可读性较好,具有一定的临床参考意义.

- 32: 153-157
- 16 Kuroki T, Trapasso F, Shiraishi T, Alder H, Mimori K, Mori M, Croce CM. Genetic alterations of the tumor suppressor gene WWOX in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 2258-2260
- 17 Park SW, Ludes-Meyers J, Zimonjic DB, Durkin ME, Popescu NC, Aldaz CM. Frequent downregulation and loss of WWOX gene expression in human hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2004; 91: 753-759
- 18 许红霞, 周建农, 莫伏根, 侯宁, 胡赛男, 束永前. 抑癌基因WWOX和FHIT在结直肠癌中的表达及其临床意义. *南京医科大学学报(自然科学版)* 2007; 27: 812-815
- 19 Ishii H, Vecchione A, Furukawa Y, Sutheesophon K, Han SY, Druck T, Kuroki T, Trapasso F, Nishimura M, Saito Y, Ozawa K, Croce CM, Huebner K, Furukawa Y. Expression of FRA16D/WWOX and FRA3B/FHIT genes in hematopoietic malignancies. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 940-947
- 20 Fabbri M, Iliopoulos D, Trapasso F, Aqeilan RI, Ciminno A, Zanesi N, Yendamuri S, Han SY, Amadori D, Huebner K, Croce CM. WWOX gene restoration prevents lung cancer growth in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 15611-15616
- 21 Yee K, Sheppard BC, Domreis J, Blanke CD. Cancers of the gallbladder and biliary ducts. *Oncology (Williston Park)* 2002; 16: 939-946, 949; discussion 949-950, 952-953, 956-957
- 22 Chang NS, Hsu LJ, Lin YS, Lai FJ, Sheu HM. WW domain-containing oxidoreductase: a candidate tumor suppressor. *Trends Mol Med* 2007; 13: 12-22

编辑 李薇 电编 何基才

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) CN 14-1260/R 2011年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》修回稿须知

本刊讯 为了保证作者来稿及时发表,同时保护作者与世界华人消化杂志的合法权益,本刊对修回稿要求如下.

1 修回稿信件

来稿包括所有作者签名的作者投稿函.内容包括:(1)保证无重复发表或一稿多投;(2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突;(3)所有作者均审读过该文并同意发表,所有作者均符合作者条件,所有作者均同意该文代表其真实研究成果,保证文责自负;(4)列出通讯作者的姓名、地址、电话、传真和电子邮件;通讯作者应负责与其他作者联系,修改并最终审核复核稿;(5)列出作者贡献分布;(6)来稿应附有作者工作单位的推荐信,保证无泄密,如果是几个单位合作的论文,则需要提供所有参与单位的推荐信;(7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部.

2 稿件修改

来稿经同行专家审查后,认为内容需要修改、补充或删除时,本刊编辑部将把原稿连同审稿意见、编辑意见寄回给作者修改,而作者必须于15 d内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料寄回编辑部,同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统;逾期寄回的,作重新投稿处理.

3 版权

本论文发表后作者享有非专有权,文责由作者自负.作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流,但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年;卷(期);起止页码.如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动,须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意,其编辑版权属本刊所有.编辑部可将文章在《中国学术期刊光盘版》等媒体上长期发布;作者允许该文章被美国《化学文摘》、《荷兰医学文摘库/医学文摘》、俄罗斯《文摘杂志》、《中国生物学文摘》等国内外相关文摘与检索系统收录.