



· 论 著 ·

抑制USP9x表达增强食管癌Ec9706-R细胞的放射敏感性

晋 瑞¹, 金迎迎², 王敏聪², 惠文涛³, 李 毅², 李 芳², 贾 辉², 潘继元², 马红兵²

1. 西安交通大学第二附属医院医学影像科, 陕西 西安 710004 ;
2. 西安交通大学第二附属医院肿瘤放疗科, 陕西 西安 710004 ;
3. 西安交通大学第二附属医院肿瘤科, 陕西 西安 710004

[摘要] 背景与目的: 泛素特异性蛋白酶9x (ubiquitin-specific protease 9x, USP9x) 与多种肿瘤的发生、发展以及肿瘤细胞的放射抗拒相关。研究发现, USP9x的表达与食管鳞状细胞癌的浸润深度和淋巴结转移相关, 但其食管癌细胞放射抗拒作用尚未见报道。探究USP9x对放射抗拒食管癌Ec9706-R细胞放射敏感性的作用及其机制。方法: 首先通过实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR) 和蛋白质印迹法 (Western blot) 检测放射线照射后Ec9706-R细胞及其亲本细胞Ec-9706中USP9x和抗髓样细胞白血病-1 (myeloid cell leukemia-1, Mcl-1) mRNA表达和蛋白水平。然后将Ec9706-R细胞随机分成3组: 放射 (irradiation, IR) 组、IR+对照siRNA组 (IR+si-NC组, 转染Control siRNA) 和IR+USP9x siRNA组 (IR+si-USP9x组, 转染USP9x siRNA), 各组细胞均使用一定量的6 MV-X射线照射。噻唑蓝 (methyl thiazolyl tetrazolium, MTT) 比色法检测不同剂量 (0、2、4、6和8 Gy) 6 MV-X射线照射下各组细胞的活力。Transwell、流式细胞术、RTFQ-PCR和Western blot分别检测3组细胞在6 Gy照射下的细胞迁移、凋亡、Mcl-1 mRNA表达和蛋白水平以及增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 和DNA损伤修复相关基因核苷酸切除修复交叉互补基因1 (excision repair cross-complementing gene 1, ERCC1) 蛋白水平。结果: 放射后Ec9706-R和Ec-9706细胞中USP9x和Mcl-1 mRNA表达和蛋白水平均增加, Ec9706-R细胞尤为显著 ($P<0.05$)。与IR组相比, IR+si-USP9x组中细胞活力、迁移细胞数目、PCNA、ERCC1和Mcl-1的表达均降低, 细胞凋亡增加 ($P<0.05$)。但是与IR组相比, IR+si-NC组中上述指标均无显著变化 ($P>0.05$)。结论: 抑制USP9x表达能够增强放射抗拒食管癌Ec9706-R细胞的放射敏感性, 这可能是通过下调Mcl-1的表达发挥作用的。

[关键词] 泛素特异性蛋白酶9x; 放射抗拒食管癌细胞; 放射敏感性; 抗髓样细胞白血病-1

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.07.002

中图分类号: R735.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2019)07-0486-08

Inhibition of USP9x expression enhances the radiosensitivity of esophageal cancer Ec9706-R cells JIN Rui¹, JIN Yingying², WANG Mincong², XI Wentao³, LI Yi², LI Fang², JIA Hui², PAN Jiyuan², MA Hongbing² (1. Department of Medical Imaging, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China; 2. Department of Oncology Radiotherapy, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China; 3. Department of Oncology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China)

Correspondence to: JIN Yingying E-mail: yingyingjin717@sina.com

[Abstract] **Background and purpose:** Ubiquitin-specific protease 9x (USP9x) is related to the development and radioresistance of multiple cancers. Currently, it is reported that the USP9x expression is associated with invasive depth and lymphatic metastasis of esophageal squamous cancer. However, the effect of USP9x on the radioresistance of esophageal cancer remains unknown. This study aimed to investigate the role of USP9x in the radiosensitivity of radioresistant esophageal cancer Ec9706-R cells and its mechanism.

基金项目: 陕西省重点研发计划 (2017SF-063)。

通信作者: 金迎迎 E-mail: yingyingjin717@sina.com

Methods: The mRNA expression and protein level of USP9x and myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) were detected by real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR) and Western blot in Ec9706-R cells and the parental Ec9706 cells after irradiation. Then, Ec9706-R cells were randomly divided into 3 groups: irradiation (IR) group, IR+control siRNA group (IR+si-NC, transfected with control siRNA), and IR+USP9x siRNA group (IR+si-USP9x, transfected with USP9x siRNA). All cells were exposed to designated dose of 6 MV-X irradiation. MTT analysis was used to determine the viability of cells following 6 MV-X irradiation with different doses (0, 2, 4, 6 and 8 Gy). The migration, apoptosis and expression levels of Mcl-1, proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and excision repair cross-complementing gene 1 (ERCC1) of Ec9706-R cells under 6 Gy irradiation were analyzed using Transwell, flow cytometry, real-time PCR and Western blot, respectively. **Results:** The mRNA expression and protein level of USP9x and Mcl-1 were elevated in both Ec9706-R and Ec9706 cells after irradiation, and their expression levels were more obvious in Ec9706-R cells ($P<0.05$). Compared with the IR group, cell viability, migrated cell numbers and the expression levels of PCNA, Mcl-1 and ERCC1 were decreased, whereas cell apoptosis was increased in the IR+si-USP9x group ($P<0.05$). However, compared with the IR group, these indexes were not changed in the IR+si-NC group ($P>0.05$). **Conclusion:** Inhibition of USP9x enhances the radiosensitivity of esophageal cancer Ec9706-R cells, which may be dependent on the downregulation of Mcl-1.

[Key words] Ubiquitin-specific protease 9x; Radioresistant esophageal cancer cells; Radiosensitivity; Myeloid cell leukemia-1

在我国癌症的发生率和死亡率逐年增加,从2010年开始癌症已成为我国人口死亡的主要原因。食管癌的发生率已跃居我国恶性肿瘤发病的第3位,死亡率位居第4位^[1]。放疗是中晚期食管癌患者最主要的治疗手段,但是放疗抗拒严重影响了食管癌的放疗效果^[2-3]。因此克服食管癌的放疗抗拒仍然是治疗食管癌的一大挑战。泛素化在包括癌症在内的多种生物学过程中具有重要的调节作用。它通过泛素化酶和去泛素化酶的活动调节胞内蛋白可逆的翻译后修饰,从而几乎控制蛋白质功能的所有方面^[4-5]。泛素特异性蛋白酶(ubiquitin-specific proteases, USPs)是去泛素化酶中最大的一个家族。USP9x是USPs家族的一员,它与多种肿瘤的发生、发展以及肿瘤细胞的放射抗拒相关^[6-8]。Peng等^[9]的研究显示,USP9x的表达与食管鳞状细胞癌的浸润深度和淋巴结转移相关,且USP9x高表达与食管鳞状细胞癌患者较差的生存率有密切联系,但目前它对食管癌细胞放射抗拒的作用尚未见报道。本研究利用小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)技术在我们建立的放射抗拒食管癌Ec9706-R细胞中沉默USP9x基因,观察该基因沉默对Ec9706-R细胞放射敏感性的影响,并探讨其可能的作用机制,旨在为临床上降低食管癌的放疗抗拒提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 细胞和试剂

放射抗拒人食管癌Ec9706-R细胞为本实验室构建^[10],其亲本细胞Ec9706为本实验室保存细胞,RPMI-1640培养基、胎牛血清和青霉素-链霉素均购自美国Gibco公司,噻唑蓝(methyl thiazolyl tetrazolium, MTT)购自美国Sigma公司,膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素-碘化丙啶(Annexin V-fluorescein isothiocyanate-propidium iodide, Annexin V-FITC/PI)细胞凋亡检测试剂盒、2,2-联喹啉-4,4-二甲酸二钠(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒和放射免疫沉淀法(radio-immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液均购自上海碧云天生物技术有限公司,LipofectamineTM2000转染试剂、TRIzol试剂盒和反转录-链cDNA合成试剂盒均购自美国Invitrogen公司,SYBR[®] Premix Ex TaqTM II试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司,抗USP9x兔单克隆抗体(1:1 000稀释)、抗髓样细胞白血病-1(myeloid cell leukemia-1, Mcl-1)兔单克隆抗体(1:1 000稀释)、抗增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)兔单克隆抗体(1:800稀释)和抗核苷酸切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementing gene 1, ERCC1)抗体(1:1 000稀释)均购自

美国Cell Signaling Technology公司, 抗 β -actin兔多克隆抗体和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG二抗(1:5 000稀释)购自北京康为世纪生物科技有限公司。

1.2 细胞培养和放射处理

Ec9706-R和Ec9706细胞均用含10%胎牛血清、1%青霉素-链霉素的RPMI-1640培养基培养, 置于37 °C、CO₂体积分数为5%的细胞培养箱。将Ec9706-R细胞随机分成3组: 放射(irradiation, IR)组、IR+对照siRNA组(IR+si-NC组, 转染Control siRNA)和IR+USP9x siRNA组(IR+si-USP9x组, 转染USP9x siRNA), 所有组中的细胞均进行放射处理。

使用6 MV-X 射线对细胞进行单次照射, 剂量率为300 cGy/min, 细胞源距100 cm。使用0、2、4、6或8 Gy的6 MV-X 射线照射各组细胞, 进行后续研究。细胞培养板下方加1 cm的玻璃板, 上方覆盖1.5 cm厚的胶体。

1.3 细胞转染

将对数生长期的Ec9706-R细胞使用胰酶消化后, 接种到6孔板中(每孔 1×10^6 个细胞), 待细胞融合度达到50%左右时, 按照LipofectamineTM2000试剂盒说明书操作, 将USP9x siRNA(si-USP9x)和Control siRNA(si-NC)转染至细胞中, 转染12 h后进行放射处理, 放射结束后, 将细胞放回到细胞培养箱中, 37 °C、CO₂体积分数为5%的条件下继续培养48 h。

1.4 MTT检测

将放射处理过的Ec9706-R细胞用胰酶消化后, 按照 1×10^3 个/孔的密度接种到96孔板中, 在37 °C、CO₂体积分数为5%的细胞培养箱培养48 h后, 每孔加入10 μ L MTT溶液, 培养箱中继续温育4 h, 每孔加入100 μ L DMSO充分溶解甲瓖, 然后用酶标仪在570 nm波长处测定样品的吸光度(D)值。细胞活力= $(D_{\text{实验组}} - D_{\text{空白组}}) / (D_{\text{对照组}} - D_{\text{空白组}}) \times 100\%$ 。

1.5 Transwell检测细胞迁移

将放射处理过的Ec9706-R细胞用胰酶消化后, 加无血清的RPMI-1640培养基制备成细胞悬液(2.5×10^5 个/mL)。取200 μ L细胞悬液加入

到Transwell上室, 下室加入600 μ L含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基, 放入细胞培养箱中培养48 h。取出小室, 用棉签轻轻将上层中未迁移的细胞擦去, 4%多聚甲醛固定后, 结晶紫染色15 min。在显微镜下每个小室随机选择5个视野进行拍照, 这些视野中细胞的平均值为该小室迁移细胞的数目。

1.6 流式细胞术检测细胞凋亡

采用AnnexinV-FITC/PI双染检测细胞凋亡。具体操作如下: Ec9706-R细胞先转染si-NC或si-USP9x 12 h, 使用6 Gy的6 MV-X 射线照射细胞, 然后将细胞重新放回到细胞培养箱中培养48 h。用不含EDTA的胰酶将细胞消化, 预冷的磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS)充分洗涤后加入结合缓冲液重悬细胞制备细胞悬液(密度为 1×10^6 个/mL)。然后加入5 μ L AnnexinV-FITC和10 μ L PI, 避光温育15 min。最后使用流式细胞仪检测各样品中细胞的凋亡率。

1.7 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)

将细胞从培养箱中取出, 弃上清液, 预冷的无菌PBS洗涤2次后, 按照TRIzol说明书操作提取细胞的总RNA。取2 μ g抽提的总RNA用反转录-链cDNA合成试剂盒将其逆转录成cDNA。然后按照SYBR[®] Premix Ex TaqTM II试剂盒操作, 加入各试剂进行RTFQ-PCR反应。USP9x基因上游引物5'-TTGCTCCAGGACCGTGATA-3', 下游引物5'-AGGCGCTTCACCAAACAAAC-3'; Mcl-1上游引物5'-GACTTTTGGCCACCGGC-3', 下游引物5'-CATCCCCAACCCGTCGTAAG-3'; β -actin基因上游引物5'-CTTCGCGGGCGACGAT-3', 下游引物5'-CCACATAGGAATCCTTCTGACC-3'; 以 β -actin为内参, 按照 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 算法计算USP9x和Mcl-1在转录水平的相对含量。

1.8 蛋白质印迹法(Western blot)检测

使用RIPA裂解液提取细胞中的总蛋白, BCA试剂盒测定所提取蛋白的浓度。将蛋白沸水浴变性后, 每孔取等量样本行12%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 半干转法将分

离的蛋白转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜上。5%脱脂奶粉将膜封闭 2 h后, 加入稀释好的一抗, 4 °C摇床过夜温育; Tris盐酸-Tween20缓冲液 (Tris-buffered saline-Tween 20, TBST) 洗膜后用二抗室温温育 1 h; TBST洗膜3次, 加化学发光试剂将膜均匀覆盖, 用GS-800成像系统扫描图像; Image J软件分析条带的灰度值, 以 β -actin为内参评估目的蛋白的水平。

1.9 统计学处理

所有实验均重复3次, 数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 应用SPSS 19.0软件对数据进行统计学分析, 组间差异采用单因素方差分析并进行LSD-*t*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 放射线照射对放射抗拒食管癌Ec9706-R细胞及其亲本细胞Ec9706中USP9x和Mcl-1表达的影响

使用6 Gy的6 MV-X射线对Ec9706-R和Ec9706细胞进行放射处理, 继续培养48 h后, RTFQ-PCR和Western blot检测细胞中USP9x和Mcl-1 mRNA表达和蛋白水平。与不进行放射的对照组细胞相比, 放射组2种食管癌细胞中USP9x和Mcl-1 mRNA表达与蛋白水平均上调, 且Ec9706-R细胞中两者mRNA和蛋白增加的更加明显, 差异有统计学意义 ($P<0.05$, 图1)。

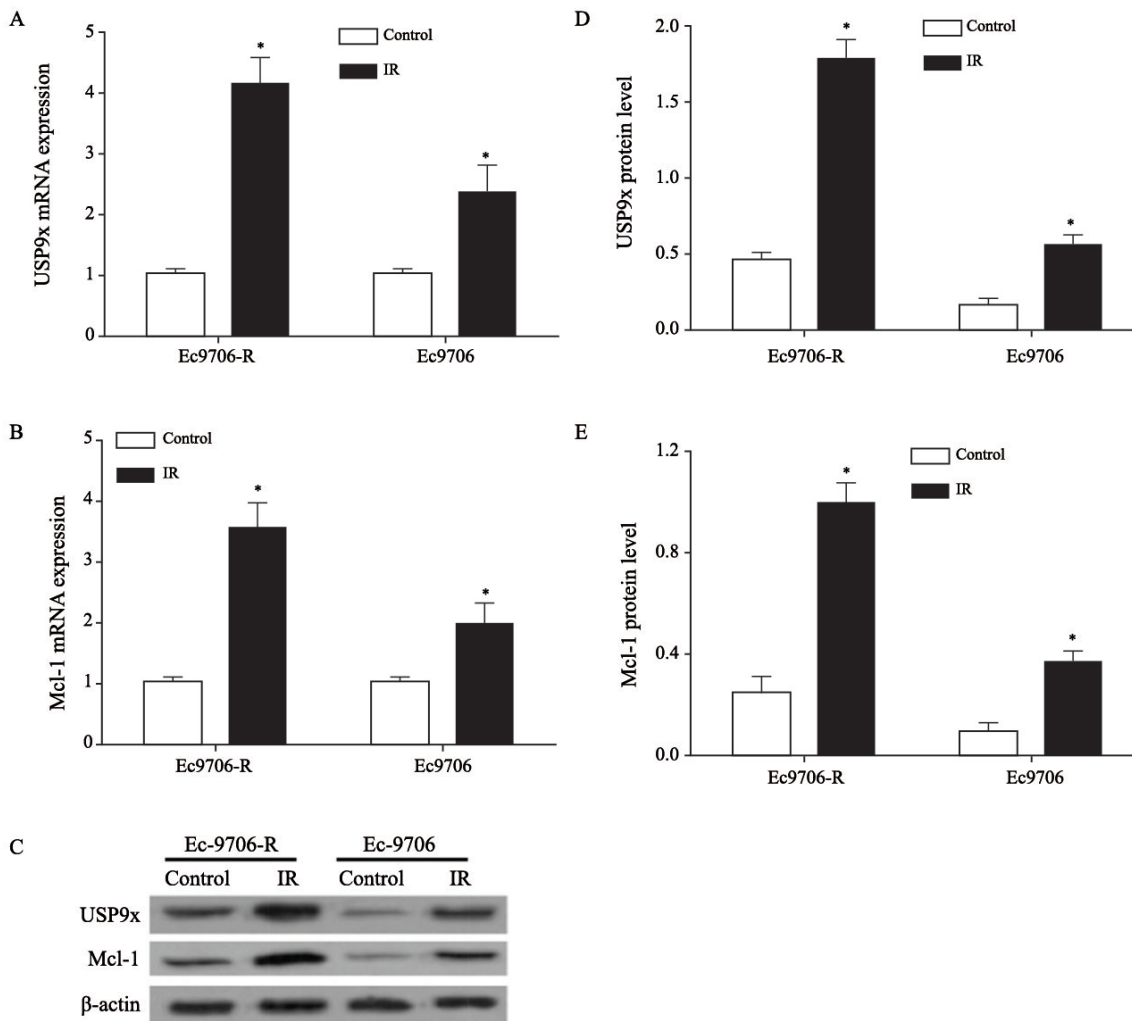


图 1 放射对Ec9706-R和Ec9706细胞中USP9x和Mcl-1表达的影响

Fig. 1 Expression changes of USP9x and Mcl-1 in Ec9706-R and Ec9706 cells treated with or without irradiation

RTFQ-PCR assay for the mRNA expressions of USP9x (A) and Mcl-1 (B); C-E: Western blot was used to determine the protein levels of USP9x and Mcl-1; *: $P<0.05$, compared with control group

2.2 USP9x siRNA可下调USP9x的表达

对Ec9706-R细胞转染si-USP9x或si-NC 12 h, 用6 Gy的6 MV-X 射线照射后, 再培养48 h, RTFQ-PCR和Western blot检测细胞中USP9x mRNA表达和蛋白水平。与IR组相比, IR+si-USP9x组中USP9x mRNA表达和蛋白水平均降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 与IR组相比, IR+si-NC组中USP9x mRNA表达和蛋白水平差异均无统计学意义 ($P>0.05$, 图2)。

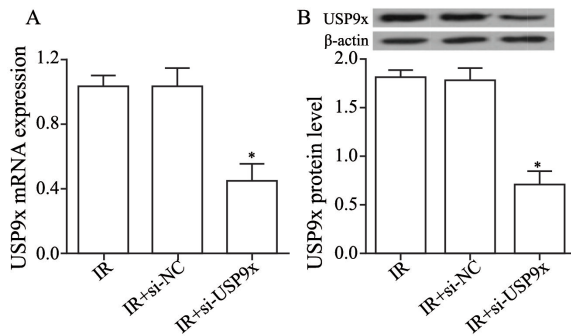


图2 USP9x siRNA对放射后USP9x mRNA和蛋白水平的影响

Fig. 2 The effect of USP9x siRNA on USP9x mRNA expression and protein level

A: Analyzed by RTFQ-PCR under irradiation; B: Analyzed by Western blot under irradiation; *: $P<0.05$, compared with IR group

2.3 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞增殖的影响

MTT检测3组细胞在不同剂量(0、2、4、6和8 Gy) 6 MV-X射线照射后的细胞活力。随着放射剂量的增加, 各组中细胞活力均逐渐降低;

在同等剂量的放射条件下, 与IR组相比, IR+si-USP9x组中细胞活力降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 与IR组相比, IR+si-NC组中细胞活力差异无统计学意义 ($P>0.05$)。另外, 6 Gy照射后48 h检测PCNA水平。与IR组相比, IR+si-USP9x组中PCNA水平降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 与IR组相比, IR+si-NC组中PCNA水平差异无统计学意义 ($P>0.05$, 图3)。

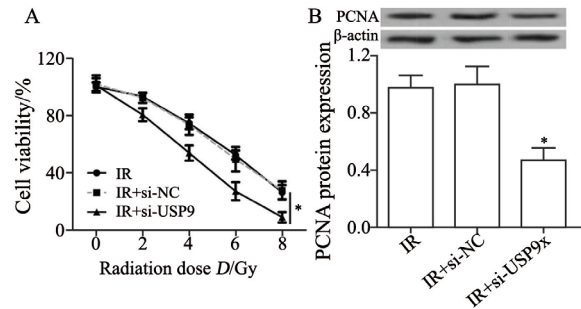


图3 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞增殖的影响

Fig. 3 The effect of USP9x downregulation on the proliferation of Ec9706-R cells under irradiation

A: MTT analysis for cell viability; B: PCNA protein expression was analyzed by Western blot; *: $P<0.05$, compared with IR group

2.4 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞迁移的影响

6 Gy照射Ec9706-R细胞后利用Transwell检测细胞迁移情况。与IR组相比, IR+si-USP9x组迁移细胞数目减少, 差异有统计学意义 ($P<0.05$) ; 与IR组相比, IR+si-NC组中迁移细胞数目差异无统计学意义 ($P>0.05$, 图4)。

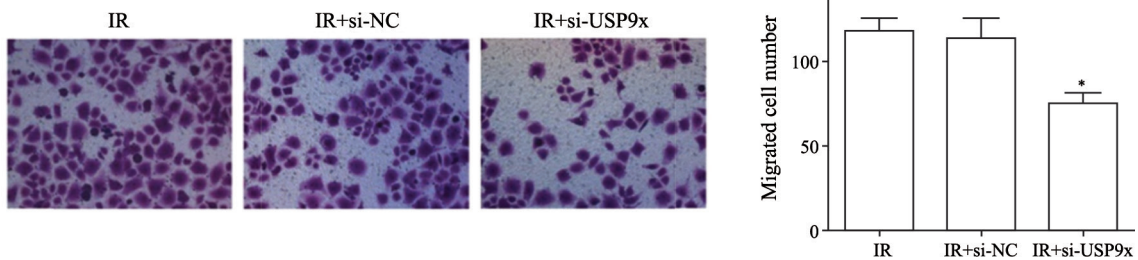


图4 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞迁移的影响

Fig. 4 The effect of USP9x downregulation on the migration of Ec9706-R cells under irradiation

*: $P<0.05$, compared with IR group

2.5 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞凋亡的影响

流式细胞术检测细胞凋亡。与IR组相比，IR+si-USP9x组中细胞凋亡率增加，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；与IR组相比，IR+si-NC组中细胞凋亡率差异无统计学意义 ($P>0.05$ ，图5)。

2.6 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞中DNA修复蛋白表达的影响

Western blot检测DNA修复相关蛋白ERCC1的水平。与IR组相比，IR+si-USP9x组中ERCC1

蛋白水平降低，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；与IR组相比，IR+si-NC组中ERCC1表达差异无统计学意义 ($P>0.05$ ，图6)。

2.7 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞中Mcl-1表达的影响

RTFQ-PCR和Western blot检测Mcl-1 mRNA表达和蛋白水平。与IR组相比，IR+si-USP9x组中Mcl-1 mRNA表达和蛋白水平表达均下调，差异有统计学意义 ($P<0.05$)；与IR组相比，IR+si-NC组中Mcl-1 mRNA表达和蛋白水平表达变化差异均无统计学意义 ($P>0.05$ ，图6)。

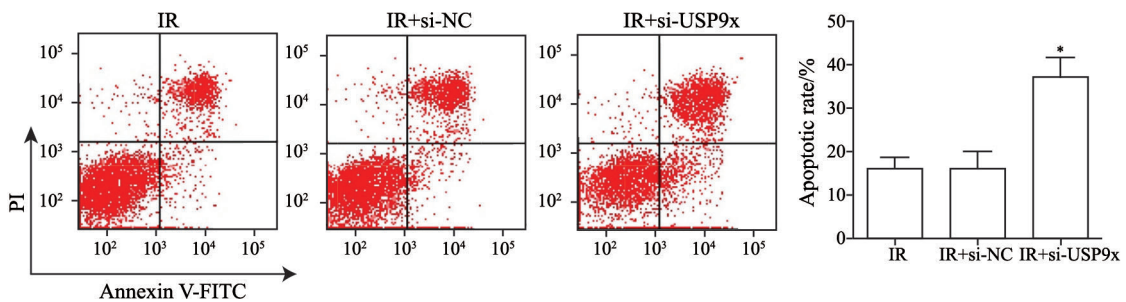


图5 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞凋亡的影响

Fig. 5 The effect of USP9x downregulation on the apoptosis of Ec9706-R cells under irradiation

*: $P<0.05$, compared with IR group

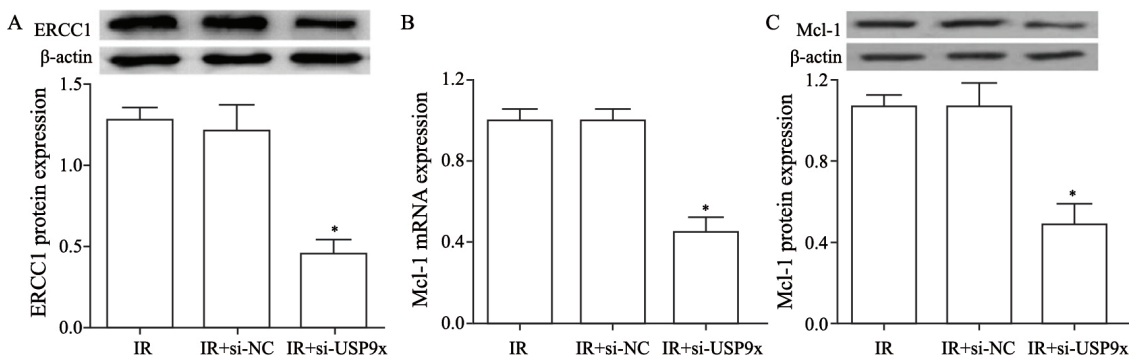


图6 USP9x下调对放射后Ec9706-R细胞中ERCC1和Mcl-1表达的影响

Fig. 6 The effects of USP9x downregulation on the expressions of ERCC1 and Mcl-1 in Ec9706-R cells under irradiation

A: Western blot assay for the protein level of ERCC1; B: RTFQ-PCR was used to detect the mRNA expression of Mcl-1; C: Mcl-1 protein expression was determined by Western blot; *: $P<0.05$, compared with IR group

3 讨论

虽然放疗是治疗食管癌的有效方法之一，但是放疗抗拒会导致较高的复发率和较低的生存率。因此，提高食管癌的放疗敏感性是食管癌治疗的一个重要策略^[11]。USP9x在一些血液恶性

肿瘤和多种实体瘤中的表达上调，如脑瘤、乳腺癌、前列腺癌等^[6]。靶向USP9x在多种肿瘤中具有潜在的治疗效果^[6, 12]。文献也发现USP9x能够介导多种肿瘤的化疗和放疗抗拒，如脑瘤、淋巴瘤、乳腺癌、肾癌、肺癌、膀胱癌和前列腺癌等^[7-8, 13-14]。目前的研究发现USP9x在食管癌中的表达上调^[9]，但是其在食管癌放疗抗拒中

的作用还不清楚。本研究发现放射线照射后放射抗拒食管癌细胞及其亲本细胞中USP9x的表达均上调, 而且放射抗拒细胞中其表达上调的更加明显, 这提示USP9x可能与食管癌的放疗抗拒密切相关。由于亲本细胞Ec9706对放射的敏感性较高^[10], 因此我们只在放射抗拒食管癌细胞Ec9706-R中进一步探究USP9x对食管癌细胞放射敏感性的作用和机制。

我们通过siRNA干扰技术下调USP9x的表达, 来探究USP9x在食管癌细胞放射抗拒中的作用。MTT结果显示, 下调USP9x的表达, 可明显抑制放射线照射后放射抗拒食管癌细胞的活力。PCNA是一个重要的增殖标志物, 通过检测其水平可以反映食管癌细胞的增殖情况^[15]。我们发现下调USP9x表达, 放射线照射后Ec9706-R细胞中PCNA的水平也降低, 表明抑制USP9x表达能够降低放射后食管癌细胞的增殖。Transwell检测细胞迁移发现, 与IR组相比, IR+si-USP9x组中迁移细胞数目降低。流式细胞术检测细胞凋亡发现, 下调USP9x表达后细胞凋亡增加。此外, 下调USP9x表达明显降低了DNA修复相关蛋白ERCC1的表达。这些结果表明抑制USP9x表达能够增加放射抗拒食管癌Ec9706-R细胞的放射敏感性。

Mcl-1是Bcl-2家族抗凋亡蛋白中的一员, 它在肿瘤细胞中的表达上调, 且与放疗和化疗中的抗拒反应有关^[16-17]。Mcl-1在食管癌组织中的表达上调, 并且与浸润深度和淋巴结转移相关, 下调Mcl-1的表达可以增加顺铂诱导的食管癌细胞凋亡^[18]。Sugase等^[19]的研究发现, 放射线照射后食管癌细胞中Mcl-1的表达增加, 抑制Mcl-1信号可以提高食管癌细胞的放射敏感性。本研究结果也显示, 放射线照射后Ec9706-R细胞及其亲本细胞中Mcl-1的表达均上调, 且Ec9706-R细胞较其亲本细胞上调的更加明显。最近的研究发现, USP9x能结合在Mcl-1上, 并停止Lys48连接的多聚泛素化链反应, 从而稳定Mcl-1表达, 促进肿瘤细胞存活^[20]。USP9x介导的放疗抗拒与Mcl-1的稳定性相关^[8, 13]。因此我们进一步探究了在食管癌细胞中USP9x与Mcl-1的关系。

研究结果显示, 下调USP9x的表达明显降低了Ec9706-R细胞中Mcl-1 mRNA表达和蛋白水平。总之, 本研究结果表明, 抑制USP9x的表达能够增加人食管癌Ec9706-R细胞的放射敏感性, 这可能是通过下调Mcl-1的表达而发挥作用的, 但是具体的作用机制还需进一步探究。无论如何, 以USP9x为靶点的研究可望为临床上逆转食管癌放疗抗拒提供新的思路和方向。

[参 考 文 献]

- [1] CHEN W, ZHENG R, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132.
- [2] CHEN G Z, ZHU H C, DAI W S, et al. The mechanisms of radioresistance in esophageal squamous cell carcinoma and current strategies in radiosensitivity [J]. J Thorac Dis, 2017, 9(3): 849-859.
- [3] 余今菁, 贺昱霖, 刘佳琪, 等. 上调人食管癌Eca109细胞 Shh-Gli1信号通路对放射抗拒性及细胞周期的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(5): 799-803.
- [4] KAPURIA V, PETERSON L F, FANG D, et al. Deubiquitinase inhibition by small-molecule WP1130 triggers aggresome formation and tumor cell apoptosis [J]. Cancer Res, 2010, 70(22): 9265-9276.
- [5] KERSCHER O, FELBERBAUM R, HOCHSTRASSER M. Modification of proteins by ubiquitin and ubiquitin-like proteins [J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2006, 22: 159-180.
- [6] PAL A, DZIUBINSKI M, DI MAGLIANO M P, et al. Usp9x promotes survival in human pancreatic cancer and its inhibition suppresses pancreatic ductal adenocarcinoma *in vivo* tumor growth [J]. Neoplasia, 2018, 20(2): 152-164.
- [7] KUSHWAHA D, O'LEARY C, CRON K R, et al. USP9X inhibition promotes radiation-induced apoptosis in non-small cell lung cancer cells expressing mid-to-high MCL1 [J]. Cancer Biol Ther, 2015, 16(3): 392-401.
- [8] WOLFSPERGER F, HOGH-BINDER S A, SCHITTENHELM J, et al. Deubiquitylating enzyme USP9x regulates radiosensitivity in glioblastoma cells by Mcl-1-dependent and -independent mechanisms [J]. Cell Death Dis, 2016, 7: e2039.
- [9] PENG J, HU Q, LIU W, et al. USP9X expression correlates with tumor progression and poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma [J]. Diagn Pathol, 2013, 8: 177.
- [10] JIN Y, XU K, CHEN Q, et al. Simvastatin inhibits the development of radioresistant esophageal cancer cells by increasing the radiosensitivity and reversing EMT process via the PTEN-PI3K/AKT pathway [J]. Exp Cell Res, 2018, 362(2): 362-369.
- [11] ZHU H, SONG H, CHEN G, et al. eEF2K promotes progression and radioresistance of esophageal squamous cell carcinoma [J]. Radiother Oncol, 2017, 124(3): 439-447.
- [12] POTU H, PETERSON L F, KANDARPA M, et al. Usp9x

- regulates Ets-1 ubiquitination and stability to control NRAS expression and tumorigenicity in melanoma [J] . Nat Commun, 2017, 8: 14449.
- [13] TRIVIGNO D, ESSMANN F, HUBER S M, et al. Deubiquitinase USP9x confers radioresistance through stabilization of Mcl-1 [J] . Neoplasia, 2012, 14(10): 893-904.
- [14] ZHANG C, CAITY, ZHU H, et al. Synergistic antitumor activity of gemcitabine and ABT-737 *in vitro* and *in vivo* through disrupting the interaction of USP9X and Mcl-1 [J] . Mol Cancer Ther, 2011, 10(7): 1264-1275.
- [15] YIN X, ZHANG J, LI X, et al. DADS suppresses human esophageal xenograft tumors through RAF/MEK/ERK and mitochondria-dependent pathways [J] . Int J Mol Sci, 2014, 15(7): 12422-12441.
- [16] PALVE V C, TENI T R. Association of anti-apoptotic Mcl-1L isoform expression with radioresistance of oral squamous carcinoma cells [J] . Radiat Oncol, 2012, 7: 135.
- [17] MA J, ZHAO Z, WU K, et al. MCL-1 is the key target of adjuvant chemotherapy to reverse the cisplatin-resistance in NSCLC [J] . Gene, 2016, 587(2): 147-154.
- [18] YU X, LI W, XIA Z, et al. Targeting MCL-1 sensitizes human esophageal squamous cell carcinoma cells to cisplatin-induced apoptosis [J] . BMC Cancer, 2017, 17(1): 449.
- [19] SUGASE T, TAKAHASHI T, SERADA S, et al. SOCS1 gene therapy improves radiosensitivity and enhances irradiation-induced DNA damage in esophageal squamous cell carcinoma [J] . Cancer Res, 2017, 77(24): 6975-6986.
- [20] SCHWICKART M, HUANG X, LILL J R, et al. Deubiquitinase USP9X stabilizes MCL1 and promotes tumour cell survival [J] . Nature, 2010, 463(7277): 103-107.
- (收稿日期: 2018-11-27 修回日期: 2019-02-15)

《中国癌症杂志》2019年征订启事

《中国癌症杂志》是由中华人民共和国教育部主管、复旦大学附属肿瘤医院主办的全国性肿瘤学术期刊,读者对象为从事肿瘤基础、临床防治研究的中高级工作者。主要报道内容:国内外研究前沿的快速报道、专家述评、肿瘤临床研究、基础研究、文献综述、学术讨论、临床病理讨论、病例报道、讲座和简讯等。《中国癌症杂志》已入选中文核心期刊、中国科技核心期刊及全国肿瘤类核心期刊,并为中国科技论文统计源期刊,先后被“中国期刊网”、“万方数据——数字化期刊群”和“解放军医学图书馆数据库(CMCC)”等收录。

《中国癌症杂志》为月刊,大16开,80页铜版纸(随文彩图),每月30日出版,单价15元,全年180元。国际标准连续出版物号1007-3639,国内统一连续出版物号CN 31-1727/R,邮发代号4-575,读者可在当地邮局订阅。

主 编: 沈镇宙

联系地址: 上海市东安路270号复旦大学附属肿瘤医院内

《中国癌症杂志》编辑部

邮 编: 200032

电 话: 021-64188274; 021-64175590-83574

网 址: www.china-oncology.com

电子邮箱: zgazz@163.com

《中国癌症杂志》编辑部