

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.21.003

文章编号: 1005-8982 (2019) 21-0014-06

抑制 USP22 基因对人结直肠癌细胞增殖的影响

王静¹, 赵成诚², 荣婉²

(1. 武汉生物工程学院 生命科学与技术学院, 湖北 武汉 430415;
2. 武汉华联科生物技术有限公司, 湖北 武汉 430212)

摘要: **目的** 利用 RNA 干扰技术探讨泛素特异性肽酶 22 (USP22) 对人结直肠癌细胞增殖的影响。**方法** 免疫荧光检测结直肠癌组织中 USP22 的表达; Western blotting 检测体外培养的 HCT-116、SW480、HC-29 结直肠癌细胞株中 USP22 的表达, 筛选出表达量最高的细胞作为研究细胞。设计、合成针对 USP22 特异性 siRNA, 同时设置阴性对照 siRNA, 利用脂质体转染结直肠癌细胞后, Western blotting 检测 siRNA 抑制效率; 通过 MTT 法检测细胞的增殖能力; 流式细胞术检测细胞的周期及凋亡; Western blotting 检测周期相关蛋白 CyclinB1、p21、p53、CDK2 的表达。**结果** 结直肠癌组织中 USP22 表达量与癌旁组织比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 结直肠癌组织中 USP22 表达量升高。SW480 细胞中 USP22 的表达量最高, 因此作为靶细胞进行后续研究。与对照组比较, USP22 siRNA 能够降低 USP22 的表达 ($P < 0.05$)。USP22 抑制后, 与对照组比较, 能够抑制 SW480 细胞的增殖, 促使 SW480 细胞停滞于 G₀/G₁ 期, 抑制细胞周期进程, 增加细胞凋亡率 ($P < 0.05$), 进而抑制细胞增殖 ($P < 0.05$); 同时, 与对照组比较, CyclinB1、CDK2 的表达量降低 ($P < 0.05$), p53 和 p21 的表达量升高 ($P < 0.05$)。**结论** USP22 抑制后, 能够抑制结直肠癌细胞的增殖, 其机制可能与抑制细胞周期进程、促进细胞凋亡有关。

关键词: 结直肠肿瘤; 泛素特异性肽酶 22; 细胞增殖; 细胞周期

中图分类号: R735.3

文献标识码: A

Effects of USP22 inhibition on proliferation of colorectal cancer cells

Jing Wang¹, Cheng-cheng Zhao², Wan Rong²

(1. School of Life Sciences and Technology, Wuhan University of Bioengineering, Wuhan, Hubei 430415, China; 2. Wuhan Myhalic Biotechnology Co, LTD, Wuhan, Hubei 430212, China)

Abstract: Objective To discuss the effect of ubiquitin specific protease 22 (USP22) on the growth of colorectal cancer cells. **Methods** The expression of USP22 in colorectal cancer tissue was detected by immunofluorescence. The expression of USP22 in the three kinds of colorectal cancer cells (HCT-116, SW480, HT-29) were detected by western blotting analysis to select the highest expressed cell line. The unique siRNA for USP22 gene and the negative control siRNA were designed and produced. After transfection, the efficiency of siRNA was detected by western blotting analysis. The cell proliferation was tested by MTT analysis. The cell cycle and apoptosis were tested by flow cytometry. The altered expressions of cell cycle related genes (CyclinB1, p21, p53, and CDK2) were detected by western blotting. **Results** The results of immunofluorescence showed that the expression of USP22 in cancer tissue was higher than in para-carcinoma tissue ($P < 0.05$). With the highest USP22 expression of SW480 cells selected to further experiment, the western blotting results showed that the expression of USP22 was significantly reduced by siRNA transfection ($P < 0.05$). Silencing USP22 could significantly suppress the proliferation of SW480 cells, and

收稿日期: 2019-05-04

induce them to arrest during the G₀/G₁ in order to increasing apoptosis rate ($P < 0.05$) and inhibiting cell proliferation ($P < 0.05$). Meanwhile, compared to negative control group, the expression of CyclinB1 and CDK2 was significantly decreased ($P < 0.05$), and the expression of p21 and p53 was significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusions** Silencing USP22 could suppress the proliferation of colorectal cancer cells, and the mechanism might relate to cell cycle suppression and cell apoptosis promotion.

Keywords: colorectal neoplasms; USP22 protein; cell proliferation; cell cycle

结肠直肠癌 (colorectal cancer, CRC) 是全世界常见的胃肠肿瘤类型之一。据估计, 2016 年有 134 490 例新发 CRC 病例和 49 190 例 CRC 相关死亡病例^[1]。手术切除、放化疗仍然是目前 CRC 治疗的主要方式, 化疗药物能够显著抑制 CRC 进展^[2-3]。但化疗药物的反复使用, 易使肿瘤细胞产生耐药性, 致使化疗方案最终失败。为此, 研究 CRC 的发病机制及新的治疗靶点, 对开发新型的 CRC 化疗药物, 提高 CRC 患者的生存率有重要的理论意义。

既往研究发现并确认与肿瘤转移和治疗预后相关的 11 个癌症死亡标签^[4-5], 泛素特异性肽酶 22 (ubiquitin-specific protease 22, USP22) 是其中之一。作为转录调控组蛋白乙酰化复合物 SAGA 的组成部分, USP22 通过调控组蛋白的去泛素化来调节基因转录, 发挥广泛的生物功能, 包括细胞周期进程、胚胎发育及端粒稳态^[6-7]。USP22 在人正常组织中广泛表达, 但在恶性肿瘤如结直肠癌、肝癌、乳腺癌、胃癌、膀胱癌及肺癌中表达量上升, 与肿瘤发生、转移有关^[8-10], 这些研究表明 USP22 在肿瘤发生及发展中具有重要作用。然而, USP22 对结直肠癌具体调控机制不详。本研究采用特异性小干扰 RNA (small interference RNA, siRNA) 沉默结直肠癌细胞中 USP22 基因的表达, 观察结直肠癌细胞的增殖、周期及凋亡的变化, 同时检测相关蛋白的表达情况, 以期初步阐明 USP22 对结直肠癌细胞的生物学影响及可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞及试剂 HCT-116、SW480、HT-29 购自中国科学院细胞库, 结直肠癌组织芯片购自于武汉爱威尔生物科技有限公司, MTT、Annexin V-FITC/PI 试剂盒购自于北京碧云天生物技术研究所, 胎牛血清 (FBS)、IMDM、L15、DMEM 培养基购自美国 Gibco 公司, 硝酸纤维素膜、发光液购自武汉华联科生物技术有限公司, 抗 Cyclin B1 抗体、抗 p21 抗体、抗 CDK2 抗体、抗 USP22 抗体、抗 GAPDH 抗体、抗

p53 抗体购自英国 Abcam 公司, 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔 IgG 购自武汉博士德生物有限公司, 其他常用生化试剂均为国产分析纯。

1.1.2 主要仪器 二氧化碳 CO₂ 培养箱购自美国 Thermo 公司, 流式细胞仪购自美国 BD 公司, 电泳仪、电转移购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫荧光检测 USP22 表达 组织芯片脱蜡后, 高压抗原修复 20 min; 3% H₂O₂ 室温温育 10 min, PBS 漂洗, 滴加 USP22 抗体 (1 : 20), 4℃ 过夜; PBS 冲洗, Alexa Fluor 594 标记山羊抗兔 IgG (1 : 200), 37℃ 孵育 1 h, PBS 冲洗, 滴一滴抗荧光淬灭封片液 (含 DAPI), 约 20 μl; 盖上盖玻片, 荧光显微镜观察。

1.2.2 细胞培养及传代 HCT-116、SW480、HC-29 分别利用 McCoy's 5A、L15、McCoy's 5A 培养基 (含 10% FBS、100 u/ml 青霉素、100 μg/ml 链霉素) 37℃、5% CO₂ 培养。细胞黏合度达到 90% 以上时, 弃去培养液, PBS 冲洗, 0.25% 胰蛋白酶消化, 加培养液吹打均匀成单细胞悬液, 按 1 : 2 的比例传代培养。

1.2.3 Western blotting 检测结直肠癌细胞中 USP22 表达 弃去培养基, 用预冷 PBS 洗 2 次, 加入 RIPA 冰上裂解 20 min, 收集细胞于离心管中, 4℃ 12 000 r/min 离心 10 min, 收集上清液。将 25 μg 提取的蛋白行 SDS-PAGE 电泳, 半干式电转至硝酸纤维素膜后, 室温封闭 1 h, 兔抗 USP22 抗体 (1 : 1 000) 4℃ 孵育过夜, 加羊抗兔二抗 (1 : 10 000) 37℃ 孵育 1 h。TBST 洗涤 3 次。采用 ECL 发光显影。并用 Quantity One 软件对蛋白条带进行灰度分析。

1.2.4 Western blotting 检测 USP22 siRNA 干扰效率 针对 USP22 (XM_005256575.2) 设计特异性的靶序列 (USP22 siRNA) 5'-GCAGCTCACTATGAAGA AACT-3'; 同时设置阴性对照序列 (NC) 5'-TTCTCC GAACGTGTCACGT-3'。将细胞分为对照组 (未转染组), NC 组 (转染 NC 片段) 和 USP22 siRNA 组 (转染 USP22 siRNA 片段), 利用 Lipofectamine 2000 转染试剂盒转染 SW480 结直肠癌细胞; 24 h 后, 收集细胞,

RIPA 提取蛋白, 通过 Western blotting 检测 USP22 表达情况。

1.2.5 细胞活力检测 将 SW480 细胞分为 3 组, 分组方式同 1.2.4, 分别进行转染后, 传于 96 孔板, 37℃、5% CO₂ 分别培养 12、24、48、72 及 96 h, 每组设置 5 个复孔。利用 MTT 检测试剂盒检测每孔光密度(OD)值。

1.2.6 细胞周期检测 将 SW480 细胞分为 3 组, 分组方式同 1.2.4, 分别进行转染 24 h 后收集细胞悬液, 1 000 r/min 离心 5 min, 吸取上清液。PBS 重悬漂洗细胞, 缓慢加入 700 μl 预冷的乙醇, 使乙醇终浓度为 70%, 4℃固定过夜, 1 000 r/min 离心 5 min, 预冷 PBS 漂洗 2 次。加入 100 μl RNaseA (50 μg/ml), 37℃水浴 30 min, 加入 400 μl PI (50 μg/ml), 4℃避光染色 30 min, 流式细胞仪检测。

1.2.7 细胞凋亡检测 将 SW480 细胞分为 3 组, 分组方式同 1.2.4, 分别转染 24 h 后收集细胞, 加入 Annexin V-FITC 及 PI 染色, 随即进行流式细胞仪检测分析。

1.2.8 Western blotting 检测 将 SW480 细胞分为 3 组, 分组方式同 1.2.4, 分别转染 24 h 后弃上清液, 收集细胞, RIPA 裂解收集蛋白, 以 Cyclin B1 (1 : 1 000)、p21 (1 : 800)、CDK2 (1 : 1 000)、p53 (1 : 1 000) 为一抗, 通过 Western blotting 检测各指标的表达。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 13.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 结直肠癌组织 USP22 高表达

免疫荧光检测发现, 在结直肠癌组织中, USP22 异常高表达; 配对的癌旁组织中, USP22 呈阴性。见图 1。

2.2 结直肠癌细胞株 USP22 表达情况

Western blotting 检测发现, 人结直肠癌细胞株 HT-

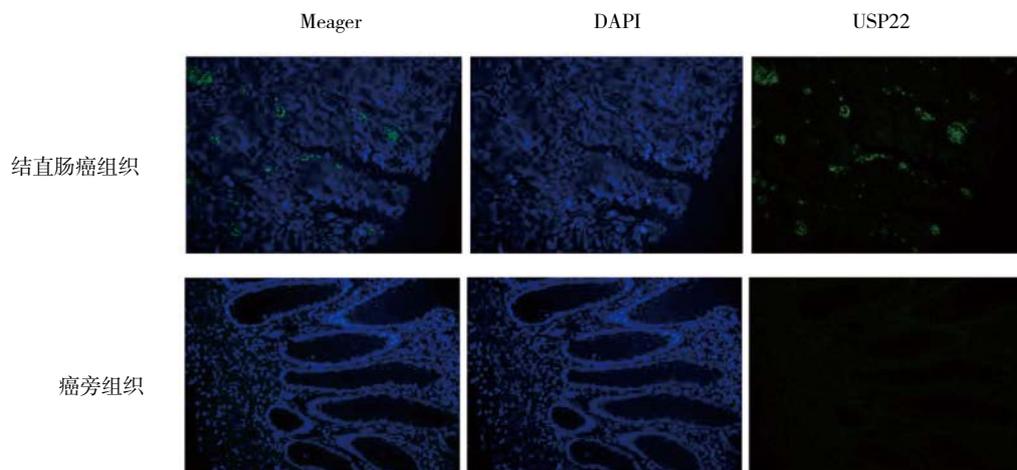


图 1 结直肠癌组织和癌旁组织中 USP22 表达 (×200)

29、SW480、HCT-116 均表达 USP22, HT-29、HCT-116 和 SW480 细胞中 USP22 相对表达量 (相对 GAPDH) 分别为 (0.61 ± 0.03)、(0.73 ± 0.04) 和 (0.85 ± 0.06)。各组细胞 USP22 表达有差异 ($F = 69.130, P = 0.000$); 与 HT-29 细胞、HCT-116 细胞比较, SW480 细胞中 USP22 表达量最高 ($P < 0.05$), 因此选择 SW480 细胞作为后续研究。见图 2。

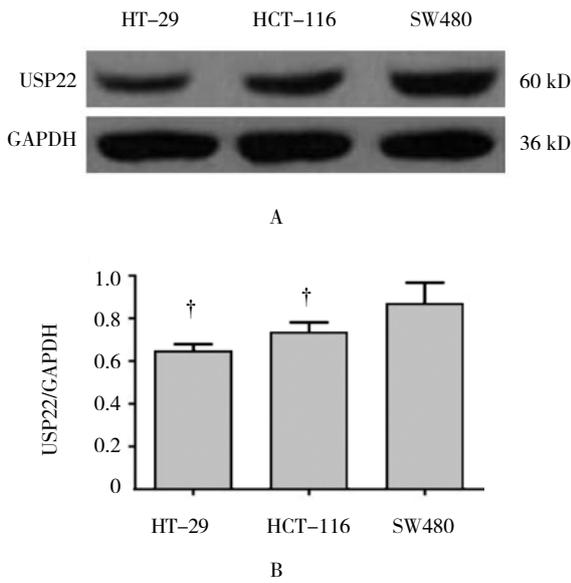
2.3 USP22 siRNA 降低 USP22 的表达

USP22 siRNA 转染 SW480 细胞, 作用 24 h 后检测 USP22 的表达量。对照组、NC 组及 USP22 siRNA

组 USP22 相对表达量 (相对 GAPDH) 分别为 (0.98 ± 0.15)、(0.94 ± 0.22) 和 (0.30 ± 0.02), 差异有统计学意义 ($F = 200.600, P = 0.000$)。USP22 siRNA 组与对照组比较, USP22 siRNA 可降低 USP22 的表达量 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.4 USP22 抑制后细胞增殖能力情况

对照组、NC 组、USP22 siRNA 组在 12、24、48、72 及 96 h 的 OD 值比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的 OD 值有差异 ($F = 315.312, P = 0.000$); ②3 组在相同时间段的 OD 值有差异 ($F =$



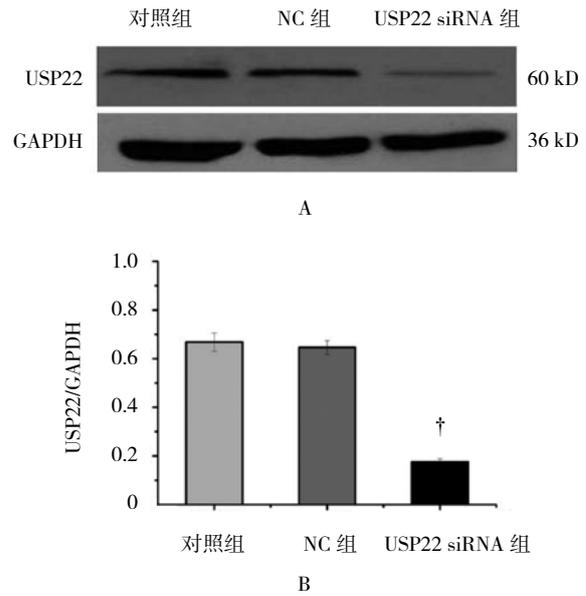
A: USP22 在结肠癌细胞中的表达量; B: USP22 在 3 种细胞中的相对表达水平 (以 GAPDH 为参照)。† 与 SW480 细胞比较, $P < 0.05$ 。

图 2 3 种细胞株中 USP22 蛋白表达情况

716.226, $P = 0.000$); ③ 3 组 OD 值变化趋势有差异 ($F = 37.270$, $P = 0.000$)。见表 1。

2.5 USP22 抑制后细胞周期的变化情况

流式细胞术检测结果显示: 对照组、NC 组及 USP22 siRNA 组 G_0/G_1 期细胞占比分别为 $(43.16 \pm 0.64)\%$ 、 $(45.35 \pm 0.85)\%$ 和 $(67.94 \pm 2.03)\%$, 差异有统计学意义 ($F = 322.800$, $P = 0.000$), USP22 干扰后, G_0/G_1 期细胞占比较对照组升高 ($P < 0.05$); 对



A: USP22 在结肠癌细胞中的表达量; B: 对照组、NC 组及 USP22 siRNA 组 USP22 的相对表达水平 (以 GAPDH 为参照)。† 与对照组比较, $P < 0.05$ 。

图 3 3 组 USP22 的表达情况

照组、NC 组及 USP22 siRNA 组 S 期细胞占比分别为 $(38.54 \pm 1.05)\%$ 、 $(37.23 \pm 1.90)\%$ 和 $(16.36 \pm 0.75)\%$, 差异有统计学意义 ($F = 2628.000$, $P = 0.000$), USP22 干扰后, S 期细胞占比较对照组降低 ($P < 0.05$)。见图 4。

2.6 USP22 抑制后细胞凋亡率的变化情况

细胞凋亡结果显示, 对照组、NC 组和 USP22 siRNA 组早期凋亡细胞率分别为 $(6.59 \pm 0.11)\%$ 、 $(8.73 \pm 0.14)\%$ 和 $(21.18 \pm 0.25)\%$, 3 组凋亡率比较差异有

表 1 各组细胞在不同时间条件下 OD 值的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	12 h	24 h	48 h	72 h	96 h
对照组	0.41 ± 0.02	0.67 ± 0.01 ^②	0.79 ± 0.06 ^②	0.95 ± 0.04 ^②	1.24 ± 0.05 ^②
NC 组	0.41 ± 0.01	0.63 ± 0.03 ^②	0.74 ± 0.06 ^②	0.84 ± 0.02 ^②	1.07 ± 0.07 ^②
USP22 siRNA 组	0.41 ± 0.02	0.43 ± 0.01 ^{①②}	0.48 ± 0.03 ^{①②}	0.56 ± 0.06 ^{①②}	0.65 ± 0.04 ^{①②}

注: ①与对照组比较, $P < 0.05$; ②与 12 h 比较, $P < 0.05$ 。

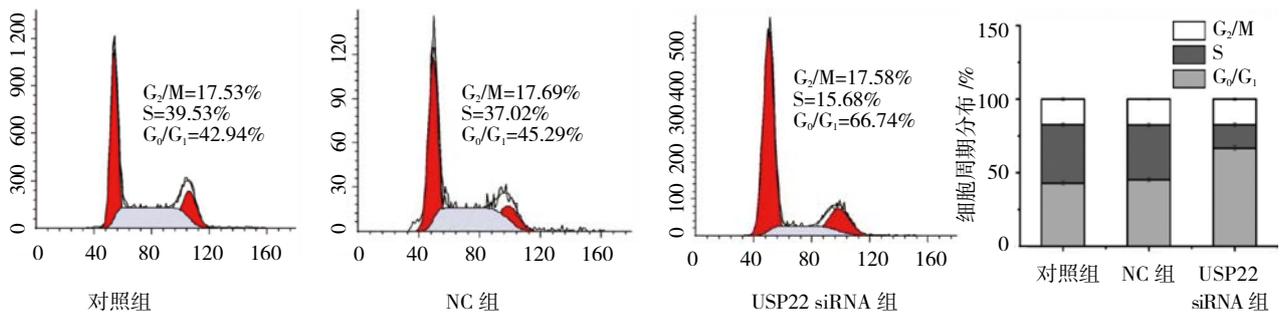


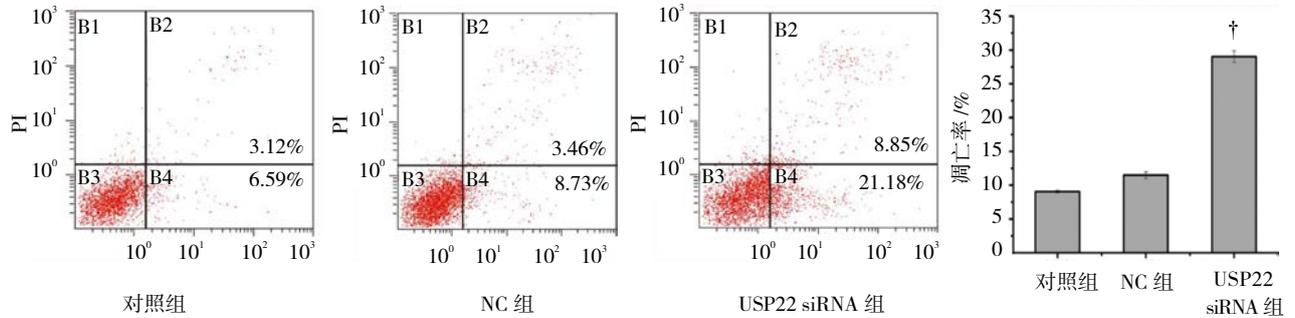
图 4 USP22 抑制后 SW480 细胞周期的变化情况

统计学意义 ($F=492.800, P=0.000$)。与对照组比较, USP22 siRNA 增加细胞早期凋亡率($P<0.05$)。见图 5。

2.7 USP22 抑制后周期相关蛋白的表达情况

对照组、NC 组和 USP22 siRNA 组中周期蛋白 CyclinB1、CDK2 的表达有差异 ($F=377.346$ 和 211.132 ,

$P=0.000$), USP22 siRNA 组中 CyclinB1、CDK2 的表达量较对照组降低 ($P<0.05$); 3 组 p21 和 p53 的表达量有差异 ($F=168.414$ 和 392.018 , 均 $P=0.000$), USP22 siRNA 组中 p21、p53 的表达量较对照组升高 ($P<0.05$)。见表 2 和图 6。



† 与对照组比较, $P<0.05$ 。

图 5 USP22 抑制后 SW480 细胞凋亡率的变化情况

表 2 3 组周期相关蛋白相对表达量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CyclinB1	CDK2	p21	p53
对照组	0.77 ± 0.08	0.86 ± 0.02	0.25 ± 0.01	0.45 ± 0.02
NC 组	0.75 ± 0.08	0.84 ± 0.04	0.26 ± 0.02	0.48 ± 0.03
USP22 siRNA 组	0.30 ± 0.03 [†]	0.43 ± 0.09 [†]	0.62 ± 0.07 [†]	0.91 ± 0.09 [†]
F 值	377.346	211.132	168.414	392.018
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: † 与对照组比较, $P<0.05$ 。

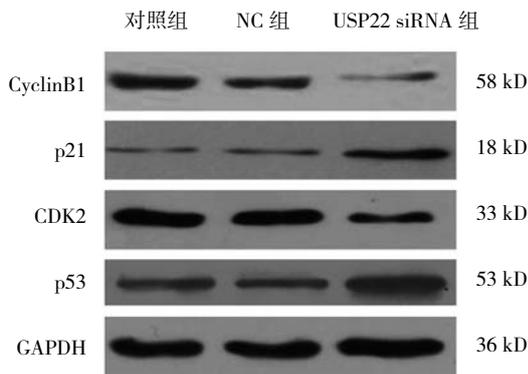


图 6 USP22 抑制后, 周期蛋白表达

3 讨论

2005 年, GLINSKY 等^[11]对各种肿瘤组织的 mRNA 水平进行分析, 发现肿瘤组织中的 11 个过表达的基因可以用作癌症死亡标志基因, 包括 USP22、BUB1、HEC1/KNTC2、CCNB1、Ki67、Gbx2、FGFR2、ANK3、CES、BMI-1 和 RNF2。USP22 过表达可能与肿瘤发生、

转移、复发和耐药性相关。有研究认为, 利用慢病毒载体 sh-USP22 能有效抑制 USP22 基因的表达, 并有效抑制鼻咽癌 CNE-2 细胞的裸鼠成瘤能力^[12]。张琳等^[13]研究认为, 结直肠癌组织中 USP22 的异常高表达可能参与结直肠癌的发生、发展过程。USP22 表达与胰腺癌细胞系对吉西他滨敏感性相关, 抑制 USP22 表达增加胰腺癌细胞对吉西他滨的敏感性, 可有效逆转吉西他滨的耐药^[14]。本研究发现, HT-29、HCT-116、SW480 3 株结直肠癌细胞中均有 USP22 表达, 其中 SW480 的表达量最高。

USP22 在细胞周期调控过程中起到重要作用。hSAGA 是转录辅助因子复合物, 其通过组氨酸尾部的特异性氨基酸共价修饰 (例如乙酰化、甲基化和去泛素化) 将其转录复合物募集到其靶基因的启动子以激活基因转录^[15-16]。USP22 是 hSAGA 的亚单位, 可以引起组蛋白 H2A 和 H2B 的去泛素化和组蛋白 H4 的乙酰化^[17]。本研究使用 RNAi 的方法探索抑制 USP22 对于结直肠癌细胞增殖的影响, 结果发现 USP22 表

达量的减少可以增加 G₀/G₁ 期的细胞比例, 使结直肠癌细胞周期停滞在 G₀/G₁ 期, 从而抑制细胞的周期进程。此外, 促进细胞周期进程^[18] 相关的 CyclinB1、CDK2 蛋白的表达量也降低, 而细胞周期负性调控因子 p21^[19] 的表达量升高。p21 的表达量与细胞凋亡同样密切相关, 本研究也发现 USP22 被抑制后可以增加结直肠癌细胞的凋亡比例, 说明 USP22 可以影响结直肠癌细胞的凋亡。

综上所述, USP22 抑制后, 能够抑制结直肠癌细胞的增殖, 其机制可能与抑制细胞周期进程, 促进细胞凋亡有关。本研究结果可以为筛选 USP22 作为治疗结直肠癌的靶标提供理论依据, 但具体的作用机制以及相关通路需要更进一步的研究。

参 考 文 献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66: 7-30.
- [2] PENG S L, THOMAS M, RUSZKIEWICZ A, et al. Conventional adverse features do not predict response to adjuvant chemotherapy in stage II colon cancer[J]. Anz Journal of Surgery, 2014, 84(11): 837-841.
- [3] PRADOS J, MELGUIZO C, ORTIZ R, et al. Colon cancer therapy: recent developments in nanomedicine to improve the efficacy of conventional chemotherapeutic drugs[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2013, 13(8): 1204-1216.
- [4] NING Z, WANG A, LIANG J, et al. USP22 promotes the G1/S phase transition by upregulating FoxM1 expression via β -catenin nuclear localization and is associated with poor prognosis in stage II pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Int J Oncol, 2014, 45(4): 1594-1608.
- [5] LIANG J X, NING Z, GAO W, et al. Ubiquitin-specific protease 22-induced autophagy is correlated with poor prognosis of pancreatic cancer[J]. Oncol Rep, 2014, 32(6): 2726-2734.
- [6] ATANASSOV B S, EVRARD Y A, MULTANI A S, et al. Gcn5 and SAGA regulate shelterin protein turnover and telomere maintenance[J]. Mol Cell, 2009, 35(3): 352.
- [7] ZHANG X Y, VARTHI M, SYKES S M, et al. The putative cancer stem cell marker USP22 is a subunit of the human SAGA complex required for activated transcription and cell-cycle progression[J]. Mol Cell, 2008, 29(1): 102-111.
- [8] LV L, XIAO X Y, GU Z H, et al. Silencing USP22 by asymmetric structure of interfering RNA inhibits proliferation and induces cell cycle arrest in bladder cancer cells[J]. Mol Cell Biochem, 2011, 346(1/2): 11-21.
- [9] NING J, ZHANG J, LIU W, et al. Overexpression of ubiquitin-specific protease 22 predicts poor survival in patients with early-stage non-small cell lung cancer[J]. Eur J Histochem, 2012, 56(4): e46.
- [10] LING S B, SUN D G, TANG B, et al. Knock-down of USP22 by small interfering RNA interference inhibits HepG2 cell proliferation and induces cell cycle arrest[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2012(58 Suppl): 1803-1808.
- [11] GLINSKY G V, BEREZOVSKA O, GLINSKII A B. Microarray analysis identifies a death-from-cancer signature predicting therapy failure in patients with multiple types of cancer[J]. J Clin Invest, 2005, 115(6): 1503-1521.
- [12] 廖志伟, 庄雅靖, 余宏伟, 等. RNA 干扰沉默 USP22 基因对人鼻咽癌裸鼠移植瘤生长的影响 [J]. 中国医药导报, 2015(30): 25-28.
- [13] 张琳, 郭志琴, 袁琳娜, 等. USP22, FoxM1 在结直肠癌中的表达研究 [J]. 浙江医学, 2016, 38(21): 1738-1741.
- [14] 王宛明, 董贾中, 管淑敏. 泛素特异性肽酶 22 诱导胰腺癌细胞对吉西他滨耐药的观察 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(4): 412-417.
- [15] NAGY Z, RISS A, ROMIER C, et al. The human SPT20-containing SAGA complex plays a direct role in the regulation of endoplasmic reticulum stress-induced genes[J]. Molecular & Cellular Biology, 2009, 29(6): 1649.
- [16] PIAO S, MA J, WANG W, et al. Increased expression of USP22 is associated with disease progression and patient prognosis of salivary duct carcinoma[J]. Oral Oncol, 2013, 49(8): 796-801.
- [17] ZHANG X Y, PFEIFFER H K, THORNE A W, et al. USP22, an hSAGA subunit and potential cancer stem cell marker, reverses the polycomb-catalyzed ubiquitylation of histone H2A[J]. Cell Cycle, 2008, 7(11): 1522-1524.
- [18] LI Z H, YU Y, DU C, et al. RNA interference-mediated USP22 gene silencing promotes human brain glioma apoptosis and induces cell cycle arrest[J]. Oncol Lett, 2013, 5(4): 1290-1294.
- [19] WANG B, ZHOU X, WANG Y, et al. Trifluoperazine inhibits mesangial cell proliferation by arresting cell cycle-dependent mechanisms[J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 3461-3469.

(张西倩 编辑)