

本文引用:秦海霞,李少平,朱利红,等.小分子干扰RNA沉默果蝇zeste基因增强子同源物2对宫颈癌Hela细胞顺铂敏感性的影响[J].新乡医学院学报,2019,36(2):116-120. DOI:10.7683/xyxyxb.2019.02.004.

【基础研究】

小分子干扰RNA沉默果蝇zeste基因增强子同源物2对宫颈癌Hela细胞顺铂敏感性的影响

秦海霞, 李少平, 朱利红, 张全华, 王世进
(新乡医学院第一附属医院妇科 河南省神经修复重点实验室,河南 卫辉 453100)

摘要: **目的** 探讨小分子干扰RNA(siRNA)沉默果蝇zeste基因增强子同源物2(EZH2)对宫颈癌Hela细胞顺铂敏感性的影响。**方法** 培养宫颈癌Hela细胞,收集对数生长期Hela细胞继续培养,待贴壁细胞长满底部面积80%~90%时进行转染。将Hela细胞随机分为空白对照组、control siRNA组和EZH2 siRNA组,空白对照组Hela细胞不作处理,control siRNA组Hela细胞转染control siRNA,EZH2 siRNA组Hela细胞转染EZH2 siRNA。收集3组转染后Hela细胞,采用实时荧光定量聚合酶链反应检测Hela细胞中EZH2 mRNA表达,Western blot法检测Hela细胞中EZH2蛋白表达,流式细胞术检测Hela细胞的细胞周期。收集3组转染后Hela细胞,分别加入不同质量浓度(0.0、12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 g·L⁻¹)的顺铂,48 h后采用四甲基偶氮唑蓝法检测Hela细胞在顺铂作用下的体外存活率。**结果** Control siRNA和EZH2 siRNA可高效转染Hela细胞,转染率均达90%以上。空白对照组、control siRNA组和EZH2 siRNA组Hela细胞中EZH2 mRNA相对表达量分别为396.7±88.4、389.2±70.6和98.5±20.3,EZH2 siRNA组Hela细胞中EZH2 mRNA相对表达量显著低于空白对照组和control siRNA组($t=2.057, 2.015, P<0.01$),空白对照组与control siRNA组Hela细胞中EZH2 mRNA相对表达量比较差异无统计学意义($t=1.476, P>0.05$)。空白对照组、control siRNA组和EZH2 siRNA组Hela细胞中EZH2蛋白相对表达量分别为509.4±110.7、497.5±80.4和120.4±31.3,EZH2 siRNA组Hela细胞中EZH2蛋白相对表达量显著低于空白对照组和control siRNA组($t=2.682, 2.597, P<0.01$),空白对照组与control siRNA组Hela细胞中EZH2蛋白相对表达量比较差异无统计学意义($t=1.943, P>0.05$)。EZH2 siRNA组G₀/G₁期细胞比例显著高于空白对照组和control siRNA组($t=2.893, 3.087, P<0.05$),EZH2 siRNA组S期、G₂/M期细胞比例显著低于空白对照组和control siRNA组(EZH2 siRNA组与空白对照组比较: $t=2.526, 5.462, P<0.05$;EZH2 siRNA组与control siRNA组比较: $t=2.498, 5.417, P<0.05$),空白对照组与control siRNA组G₀/G₁期、S期及G₂/M期细胞比例比较差异均无统计学意义($t=0.926, 1.017, 0.947, P>0.05$)。不同质量浓度顺铂作用48 h后,同一质量浓度下EZH2 siRNA组Hela细胞的存活率明显低于空白对照组及control siRNA组($P<0.05$),且随着顺铂浓度的增加,3组Hela细胞的存活率均呈逐渐下降趋势。**结论** 沉默EZH2表达可提高宫颈癌Hela细胞对顺铂的敏感性,而阻滞细胞周期可能是其主要作用机制之一。

关键词: zeste基因增强子同源物2;宫颈癌;小分子干扰RNA;顺铂;药物敏感性
中图分类号: R737.33 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2019)02-0116-05

Effect of small interfering RNA silencing zeste gene enhancer homologue 2 gene on the sensitivity of Hela cells of cervical cancer to cisplatin

QIN Hai-xia, LI Shao-ping, ZHU Li-hong, ZHANG Quan-hua, WANG Shi-jin
(Department of Gynecology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Henan Key Laboratory of Neural Rehabilitation, Weihui 453100, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of small interference RNA (siRNA) silencing enhancer of zeste homolog 2 (EZH2) on the sensitivity of Hela cells of cervical cancer to cisplatin. **Methods** The Hela cells of cervical cancer were cultured. The Hela cells in logarithmic growth phase were collected for further culture and transfection when the adherent cells reached 80%–90% of the basal area. The Hela cells were randomly divided into blank control group, control siRNA group and EZH2 siRNA group. The Hela cells in the blank control group were cultured normally with out treatment. The control siRNA and EZH2 siRNA were transfected into the Hela cells of the control siRNA group and the EZH2 siRNA group respectively. The Hela cells in the three groups were collected after transfection. The expression of EZH2 mRNA was detected

by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, the expression of EZH2 protein was detected by Western blot, and the cell cycle of Hela cells was detected by flow cytometry. The transfected Hela cells in the three groups were collected and added with cisplatin of different mass concentration ($0.0, 12.5, 25.0, 50.0, 100.0, 200.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$). The survival rate of Hela cells was measured by thiazolyl blue method at 48 hours after treated with cisplatin. **Results** The control siRNA and EZH2 siRNA could efficiently transfect the Hela cells, and the transfection rate was more than 90%. The relative expression level of EZH2 mRNA in Hela cells of the blank control group, control siRNA group and EZH2 siRNA group was 396.7 ± 88.4 , 389.2 ± 70.6 and 98.5 ± 20.3 , respectively. The relative expression level of EZH2 mRNA in Hela cells of EZH2 siRNA group was significantly lower than that in the blank control group and control siRNA group ($t = 2.057, 2.015; P < 0.01$). However, there was no significant difference in the relative expression level of EZH2 mRNA in Hela cells between the blank control group and control siRNA group ($t = 1.476, P > 0.05$). The relative expression level of EZH2 protein in Hela cells of the blank control group, control siRNA group and EZH2 siRNA group was 509.4 ± 110.7 , 497.5 ± 80.4 and 120.4 ± 31.3 , respectively. The relative expression level of EZH2 protein in Hela cells of the EZH2 siRNA group was significantly lower than that in the blank control group and control siRNA group ($t = 2.682, 2.597; P < 0.01$). There was no significant difference in the relative expression level of EZH2 protein in Hela cells between the blank control group and the control siRNA group ($t = 1.943, P > 0.05$). The proportion of the cells in G_0/G_1 phase in the EZH2 siRNA group was significantly higher than that in the blank control group and control siRNA group ($t = 2.893, 3.087; P < 0.05$). The proportion of the cells in S phase and G_2/M phase in the EZH2 siRNA group was significantly lower than that in the blank control group and control siRNA group (EZH2 siRNA group compared with blank control group: $t = 2.526, 5.462; P < 0.05$. EZH2 siRNA group compared with control siRNA group: $t = 2.498, 5.417; P < 0.05$). There was no significant difference in the proportions of the cells in G_0/G_1 , S and G_2/M phases between the blank control group and the control siRNA group ($t = 0.926, 1.017, 0.947; P > 0.05$). After 48 hours of cisplatin treatment with different mass concentration, the survival rate of Hela cells in the EZH2 siRNA group was significantly lower than that in the blank control group and control siRNA group at the same mass concentration ($P < 0.05$). With the increase of cisplatin mass concentration, the survival rate of Hela cells in the three groups decreased gradually. **Conclusion** Silencing EZH2 expression can improve the sensitivity of Hela cells of cervical cancer to cisplatin, and blocking cell cycle may be the main mechanism.

Key words: enhancer of zeste homolog 2; cervical cancer; small interfering RNA; cisplatin; drug sensitivity

宫颈癌是女性常见的恶性肿瘤,严重威胁女性生命健康^[1]。顺铂是宫颈癌常用的一线化学治疗药物,但由于患者先天性或后天获得性耐药,使得部分患者无法完全获益^[2],如何增强宫颈癌对顺铂的敏感性是临床亟待解决的热点及难点问题。果蝇 zeste 基因增强子同源物 2 (enhancer of zeste homolog 2, EZH2) 为多梳基因 (polycomb group gene, PcG) 蛋白家族成员,其持续激活可导致细胞异常增殖与恶性转化,被视为癌基因^[3]。研究表明,沉默 EZH2 可提高非小细胞肺癌、卵巢癌对顺铂的敏感性^[4-5]。但沉默 EZH2 对宫颈癌顺铂敏感性的影响尚未可知。本研究利用小分子干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 技术降低宫颈癌 Hela 细胞中 EZH2 表达,观察 EZH2 表达变化对宫颈癌顺铂敏感性的影响,以期对宫颈癌分子靶向治疗及化学治疗的增敏治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞来源、主要试剂与仪器 人宫颈癌细胞系 Hela 细胞购于美国标准菌库;达尔伯克改良伊格尔培养基 (Dulbecco's modified Eagle's medium, DMEM)、磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline,

PBS)、胰蛋白酶、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) 购于美国 Gibco 公司,四甲基偶氮唑蓝 [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide, MTT] 试剂盒、RNA 提取试剂盒购于武汉博士德生物工程有限公司,Lipofectamine 2000 脂质体购于美国 Invitrogen 公司,EZH2 单克隆抗体、 β -actin 单克隆抗体购于大连 TaKaRa 公司,细胞周期检测试剂盒、流式细胞仪购于美国 BD 公司,EZH2 siRNA、control siRNA 由广州锐博科技有限公司构建;全自动酶标仪、超低温冰箱、CL31R 台式冷冻离心机购于美国 Thermo 公司。

1.2 细胞培养及转染 复苏 Hela 细胞,用 DMEM 培养液 (含体积分数 1% 双抗和体积分数 10% FBS) 悬浮细胞,于 37°C 、含体积分数 5% CO_2 的恒温培养箱中培养。收集对数生长期的 Hela 细胞,接种于 6 孔培养板中,然后置于 37°C 、含体积分数 5% CO_2 的恒温培养箱中培养 24 h,待贴壁细胞长满底部面积 80%~90% 时进行转染。将 Hela 细胞随机分为空白对照组、control siRNA 组和 EZH2 siRNA 组,每组 3 个复孔。Control siRNA 组细胞转染 control siRNA, EZH2 siRNA 组细胞转染 EZH2 siRNA,空白对照组细胞不作处理;转染操作严格按照试剂盒说

说明书进行。细胞转染后继续恒温培养 6 h, 更换培养基并继续培养细胞; 转染后 48 h 收集各组细胞进行后续实验。

1.3 实时荧光定量聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 检测 3 组 Hela 细胞中 EZH2 mRNA 表达 收集各组转染后细胞, 采用 TRIzol 试剂盒分别提取各组细胞总 RNA, 反转录总 RNA 至 cDNA, 取 1 μ L 反转录产物进行实时荧光定量 PCR, 以 β -actin 为内参。EZH2 上游引物序列为 5'-TTGTTGGCGGAAGCGTGTAAAATC-3', 下游引物序列为 5'-TCCCTAGTCCCCGCGCAATGAGC-3'; β -actin 上游引物序列为 5'-CATGTCGAGTTAAGGAGAAGC-3', 下游引物序列为 5'-CTTTTACTGGAGTGCCACAGG-3'。实时荧光定量 PCR 反应使用 SYBR® Primix Ex Taq™ 试剂盒, 具体操作按照试剂盒说明书进行。以 β -actin 管家基因作为内参, 在 ABI 7900HT PCR 仪上进行 PCR 反应, 反应采用二步法 PCR 扩增标准程序, 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 预变性 30 s; 95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 31 s, 40 个循环; 95 $^{\circ}$ C 15 s, 60 $^{\circ}$ C 1 min, 95 $^{\circ}$ C 15 s, 4 $^{\circ}$ C 保存。每个反应体系设置 2 个平行, 每次循环的最后一步收集 SYBR Green 荧光, 循环结束时从 60 $^{\circ}$ C 开始做溶解曲线。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法获得 EZH2 mRNA 的相对表达量。

1.4 Western blot 法检测 3 组 Hela 细胞中 EZH2 蛋白表达 收集各组转染后细胞并提取细胞蛋白, 定量蛋白浓度后行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至硝酸纤维素膜, 将硝酸纤维素膜置于 50 g \cdot L⁻¹ 脱脂奶粉封闭液 4 $^{\circ}$ C 封闭 4 h; 含 Tween-20 的 PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min; 加入 EZH2 单克隆抗体 (1:2 000) 孵育过夜, 含 Tween-20 的 PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min; 滴加二抗 (1:500) 孵育 4 h, 含 Tween-20 的 PBS 洗涤 3 次, 每次 5 min; 按电化学发光试剂盒说明书检测 EZH2 蛋白表达; β -actin 为内参。

1.5 碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 染色法检测 3 组 Hela 细胞的细胞周期 收集各组转染后细胞, 每组 2×10^5 个细胞, PBS 洗涤 2 次, 每次 3 min, 1 mL 体积分数 70% 乙醇固定, 4 $^{\circ}$ C 保存过夜; PBS 洗涤 2 次, 每次 3 min; 加入 500 μ L PI 染色液, 37 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min, 应用流式细胞仪检测细胞周期。

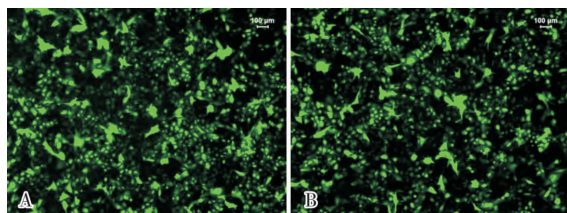
1.6 MTT 法检测 3 组细胞对顺铂的敏感性 收集各组转染后细胞, 将细胞接种至 96 孔板, 每孔 1×10^4 个细胞, 加入 100 μ L 培养液, 将细胞置于 37 $^{\circ}$ C、含体积分数 5% CO₂ 的恒温培养箱中培养 24 h; 第 2 天, 每孔加入顺铂, 顺铂最终质量浓度分别为 0.0、12.5、25.0、50.0、100.0、200.0 g \cdot L⁻¹; 继续培养 48 h 后 1 500 r \cdot min⁻¹ 离心 5 min, 弃上清液; 每孔加入 5 g \cdot L⁻¹ MTT 溶液 20 μ L, 继续于 37 $^{\circ}$ C、含体积分数 5% CO₂ 的恒温培养箱中培养 4 h; 1 500 r \cdot min⁻¹ 离心 5 min, 弃上清液; 每孔加入

100 μ L 二甲基亚砜, 震荡至结晶物充分溶解; 采用全自动酶标仪测波长 450 nm 处吸光度值。计算各组细胞存活率。

1.7 统计学处理 应用 SPSS 20.0 软件进行数据分析, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用最小显著性差异法 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Hela 细胞转染效果 结果见图 1。Control siRNA 和 EZH2 siRNA 可高效转染 Hela 细胞, 转染率均达 90% 以上。



A: control siRNA 组; B: EZH2 siRNA 组。

图 1 Hela 细胞转染效果

Fig. 1 Results of Hela cell transfection

2.2 3 组 Hela 细胞中 EZH2 mRNA 表达比较 空白对照组、control siRNA 组和 EZH2 siRNA 组 Hela 细胞中 EZH2 mRNA 相对表达量分别为 396.7 ± 88.4 、 389.2 ± 70.6 和 98.5 ± 20.3 , EZH2 siRNA 组 Hela 细胞中 EZH2 mRNA 相对表达量显著低于空白对照组和 control siRNA 组, 差异均有统计学意义 ($t = 2.057, 2.015, P < 0.01$); 空白对照组与 control siRNA 组 Hela 细胞中 EZH2 mRNA 相对表达量比较差异无统计学意义 ($t = 1.476, P > 0.05$)。

2.3 3 组 Hela 细胞中 EZH2 蛋白表达比较 结果见图 2。空白对照组、control siRNA 组和 EZH2 siRNA 组 Hela 细胞中 EZH2 蛋白相对表达量分别为 509.4 ± 110.7 、 497.5 ± 80.4 和 120.4 ± 31.3 , EZH2 siRNA 组 Hela 细胞中 EZH2 蛋白相对表达量显著低于空白对照组和 control siRNA 组, 差异均有统计学意义 ($t = 2.682, 2.597, P < 0.01$); 空白对照组与 control siRNA 组 Hela 细胞中 EZH2 蛋白相对表达量比较差异无统计学意义 ($t = 1.943, P > 0.05$)。

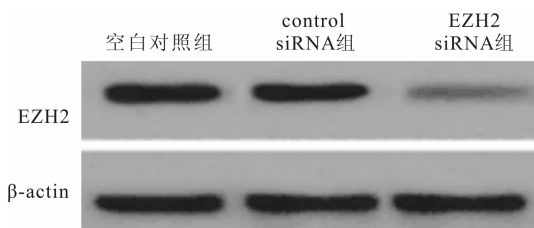
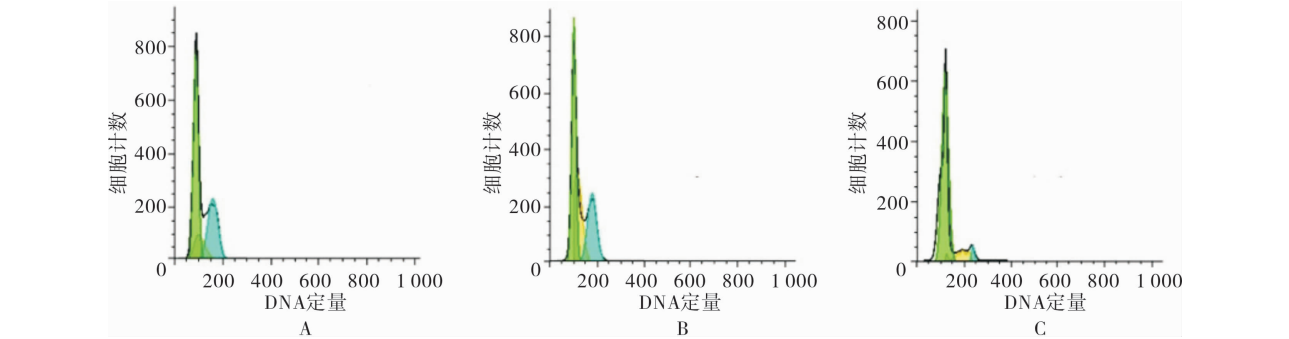


图 2 3 组 Hela 细胞中 EZH2 蛋白表达 (Western blot)

Fig. 2 Expression of EZH2 protein in Hela cells of the three groups (Western blot)

2.4 3 组 Hela 细胞周期比较 结果见图 3 和表 1。EZH2 siRNA 组 G_0/G_1 期细胞比例显著高于空白对照组和 control siRNA 组,差异有统计学意义($t = 2.893$ 、 3.087 , $P < 0.05$);EZH2 siRNA 组 S 期、 G_2/M 期细胞比例显著低于空白对照组和 control siRNA 组,差异有统计学意义(EZH2 siRNA 组与空白对照

组比较: $t = 2.526$ 、 5.462 , $P < 0.05$;EZH2 siRNA 组与 control siRNA 组比较: $t = 2.498$ 、 5.417 , $P < 0.05$)。空白对照组与 control siRNA 组 G_0/G_1 期、S 期及 G_2/M 期细胞比例比较差异均无统计学意义($t = 0.926$ 、 1.017 、 0.947 , $P > 0.05$)。



A:空白对照组;B:control siRNA 组;C:EZH2 siRNA 组。

图 3 流式细胞术检测 3 组 Hela 细胞周期

Fig.3 Hela cell cycle in the three groups detected by flow cytometry

表 1 3 组 Hela 细胞周期比较

组别	细胞周期		
	$G_0/G_1/\%$	S/ $\%$	$G_2/M/\%$
空白对照组	52.6 ± 5.7	14.9 ± 3.2	33.0 ± 5.3
control siRNA 组	51.8 ± 7.4	15.5 ± 4.0	32.5 ± 4.6
EZH2 siRNA 组	82.9 ± 6.3^a	5.5 ± 3.8^a	5.2 ± 2.2^a

注:与空白对照组和 control siRNA 组比较^a $P < 0.05$ 。

2.5 3 组 Hela 细胞的顺铂敏感性比较 结果见图 4 和表 2。不同质量浓度顺铂作用 48 h 后,同一质量浓度下 EZH2 siRNA 组 Hela 细胞的存活率明显低于空白对照组及 control siRNA 组($P < 0.05$),且随着顺铂浓度的增加,3 组 Hela 细胞的存活率均呈逐渐下降趋势。

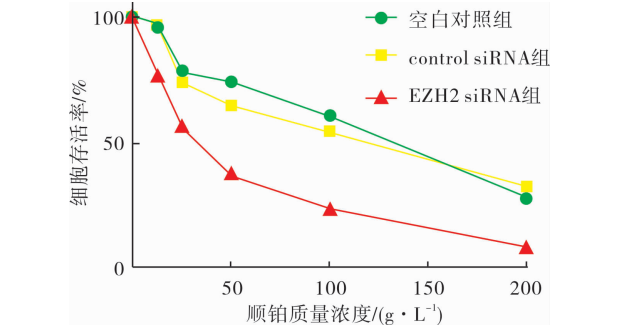


图 4 3 组 Hela 细胞存活率比较

Fig.4 Comparison of the survival rate of Hela cells among the three groups

表 2 不同质量浓度顺铂作用下 3 组 Hela 细胞存活率比较

顺铂	细胞存活率/ $\%$		
	空白对照组	control siRNA 组	EZH2 siRNA 组
$0.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
$12.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	99.6 ± 7.4	98.9 ± 6.2	75.2 ± 5.7^a
$25.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	85.7 ± 6.8	85.0 ± 6.1	59.5 ± 3.6^a
$50.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	82.0 ± 8.5	70.5 ± 5.6	40.6 ± 6.2^a
$100.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	60.7 ± 6.7	58.9 ± 5.0	27.2 ± 5.2^a
$200.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	38.7 ± 5.6	40.0 ± 6.1	10.6 ± 2.0^a

注:与空白对照组和 control siRNA 组比较^a $P < 0.05$ 。

3 讨论

宫颈癌起病隐匿,大多数患者确诊时已为中晚期,失去了手术治疗机会,临床上常使用铂类化学药物治疗,但患者的临床受益率和症状缓解率仍不理想,其原因可能与铂类药物的原发性及继发性耐药有关^[6-7]。因此,探讨宫颈癌对铂类药物耐药的机制是提高宫颈癌化学治疗敏感性和改善临床预后的关键。

表观遗传学改变在恶性肿瘤中很常见,是诱发肿瘤化学治疗耐药的重要基础^[8]。EZH2 是新近发现的表观遗传调控因子,定位于人染色体 7q35,在进化过程中高度保守,其作为 PcG 通路的核心组成部分,可发挥组蛋白甲基转移酶作用,使 PcG 氨基

发生三甲基化,招募多梳抑制复合物至特定基因位点,从而沉默与抑制细胞增殖相关的基因,进而诱导肿瘤的发生与发展^[9-11]。刘跃洋等^[12]研究表明,宫颈癌组织中 EZH2 阳性表达率显著高于宫颈上皮内瘤变组织,且其表达与宫颈癌临床分期、肿瘤分化程度、淋巴结转移及间质浸润深度密切相关,提示 EZH2 参与宫颈癌的发生和发展。目前,EZH2 对宫颈癌铂类药物耐药性的影响及机制尚未明确。

ZHOU 等^[13]研究发现,非小细胞肺癌耐顺铂细胞株 A549/DDP、胃癌耐顺铂细胞株 AGS/DDP 中 EZH2 表达均显著高于非耐药细胞株,将 EZH2 siRNA 转染至上述耐药细胞,可显著抑制细胞中 EZH2 表达,同时提高细胞对顺铂的敏感性,提示沉默 EZH2 表达可逆转非小细胞肺癌及胃癌的顺铂耐药性。本研究结果显示,转染 EZH2 siRNA 可显著降低宫颈癌 Hela 细胞中 EZH2 mRNA 及蛋白表达,并增强顺铂对 Hela 细胞的抑制能力,提示沉默 EZH2 表达可提高宫颈癌细胞对顺铂的敏感性。此外,通过检测细胞周期变化发现,转染 EZH2 siRNA 可提高 G₀/G₁ 期细胞比例,同时降低 S 期、G₂/M 期细胞比例,表明细胞周期发生了 G₁/S 期阻滞。细胞周期阻滞是诱发细胞衰老的重要机制,而抵抗化学治疗药物所诱导的细胞衰老是肿瘤细胞产生多药耐药性的重要因素^[14]。

INK4a/ARF/Rb 基因是机体调控细胞衰老的重要信号通路,PcG 对 INK4a/ARF 基因的沉默已被证实具有抑制细胞衰老及分化的作用^[15-16]。鉴于 EZH2 在 PcG 通路的核心调控地位,故推测 EZH2 可抑制宫颈癌细胞衰老,而沉默 EZH2 表达可通过诱导细胞周期阻滞,进而诱导细胞衰老,这可能是沉默 EZH2 表达后提高宫颈癌细胞顺铂敏感性的重要作用机制。

综上所述,沉默 EZH2 表达可提高宫颈癌 Hela 细胞对顺铂的敏感性,而阻滞细胞周期可能是其主要作用机制。

参考文献:

[1] AZIZMOHAMMADI S,SAFARI A,KAQHAZIAN M,*et al.* High-level expression of RIPK4 and EZH2 contributes to lymph node metastasis and predicts favorable prognosis in patients with cervical cancer[J]. *Oncol Res*,2017,25(4):495-501.

[2] LI R,LIU G Z,LUO S Y,*et al.* Cyclin I promotes cisplatin resistance via Cdk5 activation in cervical cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2015,19(23):4533-4541.

[3] JIN M,YANG Z,YE W,*et al.* Prognostic significance of histone methyltransferase enhancer of zeste homolog 2 in patients with cervical squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Lett*,2015,10(2):857-862.

[4] 饶进军,何关生,毛楠,等. 沉默 EZH2 表达逆转人非小细胞肺癌顺铂耐药性[J]. 中国药理学通报,2014,30(8):1084-1090.

[5] 胡沙,王静,李智敏,等. EZH2 基因在人卵巢癌顺铂耐药株中的表达及其对细胞耐药性的影响[J]. 肿瘤,2010,30(9):748-752.

[7] WANG Y,GAO Y,CHENG H,*et al.* Stanniocalcin 2 promotes cell proliferation and cisplatin resistance in cervical cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2015,466(3):362-368.

[8] 余俊,刘彤鸥,李晓兰. 小分子干扰 RNA 沉默黏着斑激酶基因对人宫颈癌 Hela 细胞生物学特征的影响[J]. 新乡医学院学报,2018,35(4):266-271.

[9] YAMAGUCHI H,HUNG M C. Regulation and role of EZH2 in cancer[J]. *Cancer Res Treat*,2014,46(3):209-222.

[10] KONDO Y. Targeting histone methyltransferase EZH2 as cancer treatment[J]. *J Biochem*,2014,156(5):249-257.

[11] MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ M,RUBIO C,SEGOVIA C,*et al.* EZH2 in bladder cancer, a promising therapeutic target [J]. *Int J Mol Sci*,2015,16(11):27107-27132.

[12] 刘跃洋,刘婷,包香香,等. EZH2 在宫颈癌中的表达及意义[J]. 现代妇产科进展,2013,2(2):126-130.

[13] ZHOU W,WANG J,MAN W Y,*et al.* siRNA silencing EZH2 reverses cisplatin-resistance of human non-small cell lung and gastric cancer cells[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*,2015,16(6):2425-2430.

[14] 赵小琴,符立梧. 肿瘤干细胞耐药机制研究进展[J]. 中国药理学通报,2012,28(12):1637-1642.

[15] KIM W Y,SHARPLESS N E. The regulation of INK4/ARF in cancer and aging[J]. *Cell*,2006,127(2):265-275.

[16] BAKER D J,CHILDS B G,DURIK M,*et al.* Naturally occurring p16^{Ink4a}-positive cells shorten healthy lifespan[J]. *Nature*,2016,530(7589):184-189.

(本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超)