

• 论著 • 基础研究 •

DDX46 基因对裸鼠食管鳞癌移植瘤生长的影响



李斌, 宋铁牛, 蒋鹏, 杨建宝, 朱多杰, 蔺军平, 冯海明, 敬涛

兰州大学第二医院 胸外科 兰州大学第二临床医学院 (兰州 730030)

【摘要】 目的 观察 DDX46 基因沉默后食管鳞癌 Eca-109 细胞裸鼠皮下移植瘤的生长变化, 在活体动物模型中进一步研究 DDX46 在食管鳞癌发生发展中的作用。方法 应用 RNA 干扰技术通过慢病毒载体构建获得 DDX46 基因沉默的慢病毒颗粒 (实验组: DDX46-shRNA-LV) 及空载体慢病毒颗粒 (对照组: Control-LV), 分别感染食管鳞癌 Eca-109 细胞株, 每只 4×10^6 个细胞量注射至 BALB/c 裸鼠右腋下; 以人永生食管鳞状上皮细胞 Het-1A 为空白对照组, 每侧 4×10^6 个细胞量分别注射至 BALB/c 裸鼠双侧腋下。检测各组移植瘤生长情况, 活体成像仪观察各组荧光表达量。Western blotting 检测 DDX46 基因沉默后移植瘤组织凋亡信号通路关键分子表达的变化。结果 与对照组相比, 沉默 DDX46 基因使裸鼠移植瘤体积减小、重量减轻, 生长减缓 ($P < 0.001$); 小动物活体成像显示 DDX46-shRNA-LV 组荧光区总荧光表达量和平均荧光表达量均明显低于 Control-LV 组 ($P < 0.001$); Het-1A 细胞接种裸鼠不成瘤。Western blotting 检测显示, 与对照组比较, 沉默 DDX46 基因使移植瘤 DDX46 蛋白表达水平显著下降 ($P < 0.01$), 而 cleaved Caspase-3 和 cleaved PARP-1 蛋白表达水平显著上升 ($P < 0.01$)。结论 沉默 DDX46 基因可显著抑制裸鼠移植瘤的生长, 其机制可能是通过激活细胞凋亡信号通路而发挥抑瘤作用。

【关键词】 食管鳞癌; DDX46; 移植瘤; 凋亡; 活体成像

Effect of DDX46 gene on the growth of xenografted tumor of esophageal squamous cell carcinoma in nude mice

LI Bin, SONG Tie-niu, JIANG Peng, YANG Jian-bao, ZHU Duo-jie, Lin Jun-ping, Feng Hai-ming, JING Tao
Thoracic Surgery Department, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou University Second Clinical Medical College, Lanzhou, 730030, P.R.China

Corresponding author: LI Bin, Email: dr.leebin@outlook.com

【Abstract】 Objective To observe the growth of xenografted tumor in nude mice after DDX46 expression was decreased, and to further study the role of DDX46 in the development and progression of esophageal squamous cell carcinoma. **Methods** DDX46-shRNA mediated RNAi was applied to silencing DDX46 in Eca-109 cells. Twenty-five female BALB/c nude mice were divided into 3 groups: DDX46-shRNA-LV, Control-LV, and Het-1A. The prepared Eca-109 cells of DDX46-shRNA-LV and Control-LV were subcutaneously injected into the right armpit of mice (4×10^6 cells per mouse), while Het-1A cells were subcutaneously injected into the bilateral armpits of mice (4×10^6 cells per side). Tumor growth was monitored twice a week on the 14th day after injection. Tumor volume was measured with calipers, in vivo imager to observe the fluorescence of each group. Further, Western blotting analysis was used to detect the changes of apoptosis signaling molecules in xenografted tumor after DDX46 silence. **Results** The growth of xenografted tumor in nude mice was significantly slower in DDX46-shRNA-LV group than Control-LV group throughout the study period ($P < 0.001$). Western blotting analysis showed that silencing DDX46 effectively suppressed the expression of DDX46, and upregulated the expression of cleaved Caspase-3 and cleaved PARP-1 in xenografted tumor ($P < 0.01$). **Conclusions** DDX46 is involved in the development and progression of esophageal squamous cell carcinoma, and the silence of DDX46

DOI: 10.7507/1007-4848.201807008

基金项目: 甘肃省卫生行业科研计划项目 (GSWSKY2017-04); 兰州大学第二医院“萃英科技创新”计划项目 (CY2017-MS02); 甘肃省自然科学基金项目 (1606RJZA040); 兰州大学第二医院配套经费项目资金

通信作者: 李斌, Email: dr.leebin@outlook.com

expression can inhibit the growth of esophageal squamous cell carcinoma, which probably by positive regulation of apoptosis signaling pathway.

【Key words】 Esophageal squamous cell carcinoma; DDX46; xenografted tumor; apoptosis; *in vivo* fluorescence imaging

目前大多数抗肿瘤药物作用机理是靶向肿瘤细胞的 DNA 或蛋白质,而新近 Lee 等^[1]研究发现: DNA 和蛋白质之间的中介物质 mRNA 可能是全新的靶点。DDX46 是 DDX 蛋白家族 RNA 解旋酶成员,在 mRNA 前体剪接和核糖体组装中发挥核心作用^[2,3]。DDX46 在多种人类恶性肿瘤组织如结肠腺癌^[4]、骨肉瘤^[5]、膀胱癌^[6]等高表达,提示其可能是一个新的癌基因,参与肿瘤的发生和发展。我们前期研究发现 DDX46 在食管鳞癌组织中异常高表达,利用 shRNA 抑制 DDX46 表达能降低食管鳞癌 Eca-109 细胞增殖,并诱导细胞凋亡^[7,8],表明 DDX46 表达上调可能参与食管鳞癌细胞的恶性行为。但目前这些研究均停留在体外细胞水平,DDX46 对活体动物食管鳞癌的作用尚不清楚。本研究利用裸鼠皮下移植瘤动物模型和活体成像技术,观察 DDX46 表达降低后裸鼠移植瘤的生长变化,在活体动物模型中进一步研究 DDX46 在食管鳞癌发生发展中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要实验仪器和试剂 小动物活体成像系统 (Perkin Elmer)。RNAlater (Qiagen)、Trizol 试剂 (Invitrogen)、胎牛血清 (Ausbian)、胰蛋白酶 (上海生工)、M-MLV 逆转录酶 (Promega)、Bulge-Loop™ miRNA qPCR Primer Set (广州锐博)、SYBR premix ex taq (TaKaRa)、PCR 扩增试剂盒 (TaKaRa)、dNTPs (Promega)、EDTA (上海生工)、Primer (广州锐博)、Lipofectamine 2000 转染试剂 (Invitrogen)、RPMI-1640 细胞培养基 (Lonza)、BulletKit 内皮细胞培养基 (Lonza)、DDX46 抗体 (Abcam)、GAPDH 抗体 (Sigma)、Caspase-3 抗体 (Santa Cruz)、PARP-1 抗体 (Santa Cruz)、ECL Western blotting Substrate 试剂盒 (Thermo Fisher Scientific)、戊巴比妥钠 (Sigma)。

1.1.2 细胞培养 人食管鳞癌细胞 Eca-109 购于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库,人永生食管鳞状上皮细胞 Het-1A 购于上海拜力生物科技有限公司。通过慢病毒载体构建获得 DDX46 基因沉默的慢病毒颗粒 (实验组: DDX46-shRNA-LV)

及空载体慢病毒颗粒 (对照组: Control-LV), 分别感染食管鳞癌 Eca-109 细胞株。Eca-109 细胞培养于 RPMI-1640 培养液中, Het-1A (空白对照组) 培养于 BulletKit 内皮细胞培养基中,均置于 37℃、5% CO₂ 培养箱内。取对数生长期细胞接种裸鼠。

1.1.3 实验动物 4 周龄健康雌性 BALB/c 裸鼠 25 只,购自上海灵畅生物科技有限公司 (许可证号: SCXK (沪) 2013-0018), 在 SPF 级环境饲养。

1.2 实验方法

1.2.1 DDX46-shRNA 慢病毒载体制备和包装 DDX46 基因 RNAi 靶点序列和 shRNA 慢病毒载体制备和包装由上海吉凯基因化学技术有限公司设计完成, DDX46 基因 shRNA 序列: 5'-AGAAATCACCAGGCTCATA-3', 阴性对照序列应用公认序列: 5'-TTCTCCGAACGTGTACAGT-3'^[9]。

1.2.2 qRT-PCR 检测 Eca-109 细胞 DDX46 基因的敲减效率 感染后 72 h, 荧光显微镜观察报告基因绿色荧光蛋白 (GFP) 的表达情况, 荧光率即为阳性感染率, 细胞感染效率达到 70% 以上者可以继续下游实验。收集目的细胞, 用 2 000 rpm 离心 5 min 后, 弃去上清液, 沉淀的细胞中加入 Trizol 裂解液 1 ml, 充分混匀后静置于室温下 5 min, 然后转移至 1.5 ml EP 管中, 完成细胞样本 Trizol 裂解。依据 Invitrogen 公司 Trizol 操作说明书完成总 RNA 抽提。依据 Promega 公司 M-MLV 操作说明书逆转录 RNA 获得 cDNA。以 GAPDH 基因为内参, 两步法进行 qRT-PCR, 2^{-ΔΔCt} 法计算 DDX46 基因 mRNA 的相对表达量 (ΔCt=目的基因 Ct 值-内参基因 Ct 值; ΔΔCt=实验组 ΔCt 值-对照组 ΔCt 平均值)。实验重复 3 次。

1.2.3 裸鼠皮下移植瘤的建立 慢病毒感染食管鳞癌 Eca-109 细胞 144 h 后进行裸鼠接种, 接种前 1 d 将各实验组成瘤细胞胰蛋白酶消化, 以保证第 2 d 进行接种的细胞处于对数生长期, 完全培养基重悬成细胞悬液。Control-LV 组和 DDX46-shRNA-LV 组各 10 只 BALB/c 裸鼠, 每只 4×10⁶ 个成瘤细胞皮下注射至右前肢腋下; Het-1A 组 5 只, 每只裸鼠每侧 4×10⁶ 个成瘤细胞分别皮下注射至双侧前肢腋下。

1.2.4 检测成瘤情况 接种 14 d 后裸鼠称重, 游标卡尺测量移植瘤大小(长径、短径, 单位: mm), 计算瘤体体积($\pi/6 \times \text{长径} \times \text{短径} \times \text{短径}$)。每周 2 次, 连续 3 周。按 10 $\mu\text{l/g}$ 腹腔注射 0.7% 戊巴比妥钠麻醉动物, 食指轻轻按压动物胸口, 测试心跳以保证动物处在成活状态, 将其放置于活体成像仪下进行成像, 观察荧光, 保存数据。接种 31 d, 腹腔注射麻醉后颈椎脱位处死实验动物, 取出肿瘤, 测量瘤体大小并称重, 液氮冷冻后 -80°C 冰箱保存。

1.2.5 Western blotting 检测 取 20 mg 移植瘤组织, 加入 100 μl 蛋白裂解液, 裂解 30 min, 匀浆后 4°C 、12 000rpm 离心 30 min, 完成细胞总蛋白抽提。取上清 BCA 法测定蛋白浓度。按每孔上样量 20 μg 进行 SDS-PAGE 电泳, 4°C 稳压将蛋白电转移至硝酸纤维素 (PVDF) 膜上, 封闭液室温封闭 PVDF 膜 2 h; 封闭液稀释一抗 (anti-DDX46 稀释度 1 : 200, anti-Caspase-3 稀释度 1 : 1 000, anti-PARP-1 稀释度 1 : 1 000, anti-GAPDH 稀释度 1 : 2 000), 然后稀释的一抗孵育封闭好的 PVDF 膜 4°C 过夜, TBST 液洗膜 3 次, 每次 10min; 封闭液稀释相应的二抗 (稀释度 1 : 2 000), 然后稀释的二抗室温下孵育 PVDF 膜 2 h, TBST 液再洗膜 3 次, 每次 10 min; 按照 ECL Western blotting Substrate 试剂盒说明书完成 X 线显影, 晾干后用凝胶成像处理系统扫描拍照, 进行灰度值分析。

1.3 统计学分析

应用 SPSS19.0 统计软件分析数据, 计量资料用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 均数间差异的比较采用 t 检验, 率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 代表差异有显著性。

2 结果

2.1 DDX46-shRNA 慢病毒有效抑制 DDX46 基因

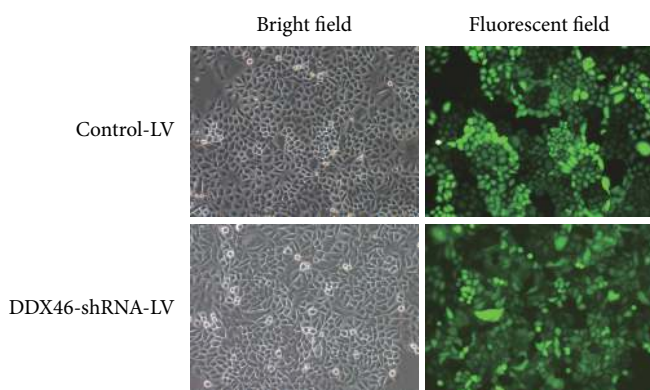


图 1 荧光显微镜观察慢病毒目的细胞感染率 ($\times 100$), qRT-PCR 检测 DDX46 基因敲减效率 (** $P < 0.01$)

的表达

慢病毒感染 72 h 后, 荧光显微镜观察目的细胞 GFP 的表达情况, 100 倍视野计数各组荧光细胞和总细胞数, 荧光细胞占比即为阳性感染率, 本实验细胞感染效率达到 80% 以上。经 DDX46-shRNA 慢病毒感染后, qRT-PCR 检测结果显示, Eca-109 细胞 DDX46 基因 mRNA 的表达受到显著抑制 (图 1, $P < 0.01$), 算得敲减效率达到 90.3%。

2.2 沉默 DDX46 基因抑制裸鼠成瘤 (瘤体测量)

成瘤细胞接种 14 d 后测量移植瘤长径和短径, 计算瘤体体积, 共计 6 个检测时点, 结果显示: Control-LV 组在第 1 检测时点 (接种 14 d) 已有 5 只裸鼠成瘤, 而 DDX46-shRNA-LV 组此时无成瘤裸鼠; Control-LV 组在第 2 检测时点 (接种 17 d) 已全部裸鼠成瘤, 而 DDX46-shRNA-LV 组在此时只有 5 只裸鼠成瘤; DDX46-shRNA-LV 组在第 5 检测时点 (接种 28 d) 仍有 1 只裸鼠未成瘤, 到第 6 检测时点才完成本组全部裸鼠成瘤。绘制各组目的细胞移植瘤体积增长曲线 (图 2)。接种 31 d, 腹腔注射麻醉后颈椎脱位处死裸鼠, 医用剪刀和镊子取出移植瘤称重, DDX46-shRNA-LV 组瘤体重量 ($0.335 \pm 0.186 \text{ g}$) 较 Control-LV 组 ($0.713 \pm 0.198 \text{ g}$) 显著减轻 (图 3)。沉默 DDX46 基因使得裸鼠移植瘤生长明显减缓 ($P < 0.001$)。

2.3 沉默 DDX46 基因抑制裸鼠成瘤 (活体小动物成像)

腹腔注射 0.7% 戊巴比妥钠麻醉各组实验动物, 将其放置于活体成像仪下进行成像, 观察荧光, DDX46-shRNA-LV 组荧光区总荧光表达量和平均荧光表达量均明显低于 Control-LV 组 (图 4, $P < 0.001$), 说明 RNAi 沉默 DDX46 基因显著抑制 Eca-109 细胞裸鼠成瘤。

2.4 接种 Het-1A 细胞无裸鼠成瘤

Het-1A 细胞悬液每侧 4×10^6 个细胞量分别双侧前肢腋下皮下注射接种裸鼠, 观察 31 d, 裸鼠无移植瘤生长 (图 5)。

2.5 Western blotting 检测结果

沉默 DDX46 基因后, Western blotting 检测移植瘤组织 DDX46 蛋白和凋亡信号通路关键分子的表达水平, 结果如图 6, 灰度分析结果显示: DDX46 蛋白表达水平显著下降, 而 cleaved Caspase-3 和 cleaved PARP-1 蛋白表达水平显著上调

($P < 0.01$), 提示沉默 DDX46 基因可激活细胞凋亡信号转导通路。

3 讨论

食管癌是极具中国特色的疾病, 世界近 60% 的食管癌发生在中国, 居我国所有恶性肿瘤死亡率第

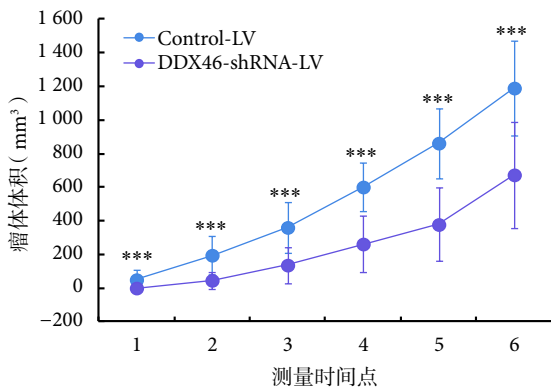


图 2 裸鼠移植瘤体积增长曲线 (*** $P < 0.001$)

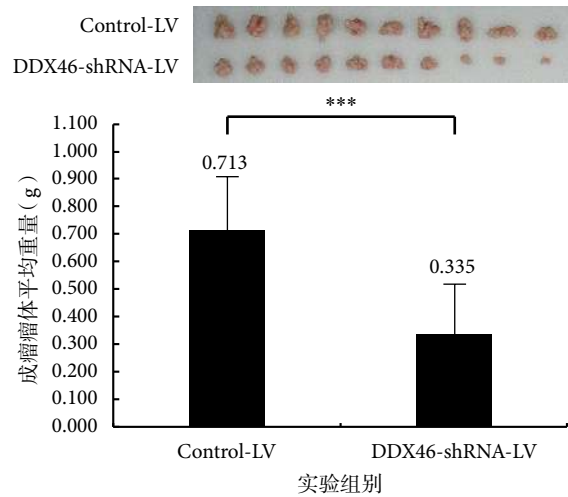


图 3 裸鼠移植瘤平均重量比较 (*** $P < 0.001$)

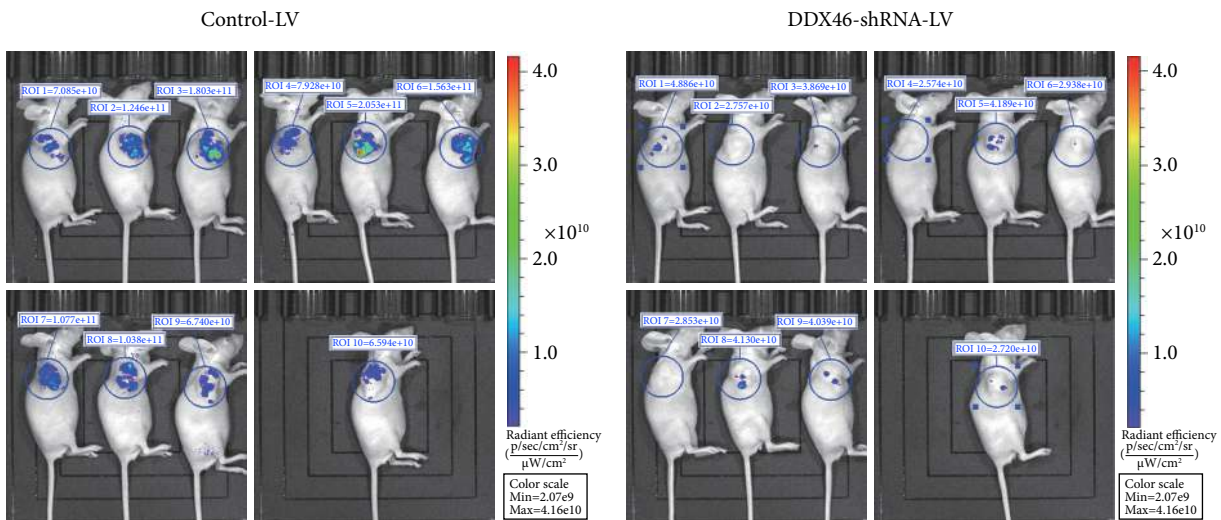


图 4 小动物活体成像图

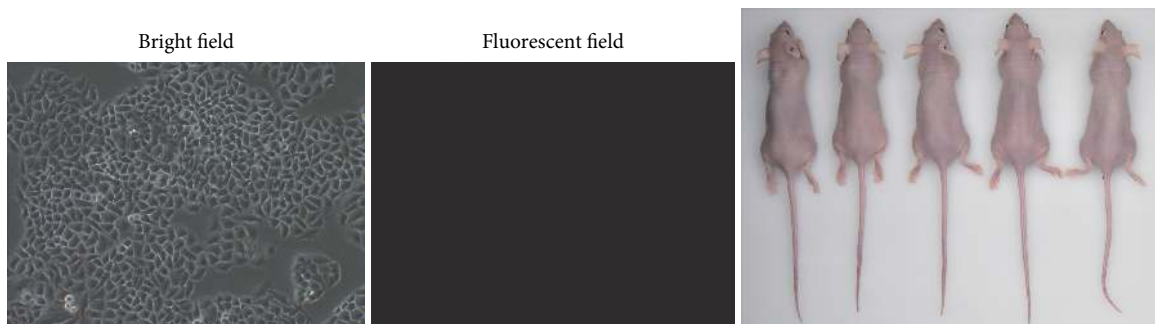


图 5 荧光显微镜观察目的细胞 (×100), 接种 Het-1A 细胞裸鼠不成瘤

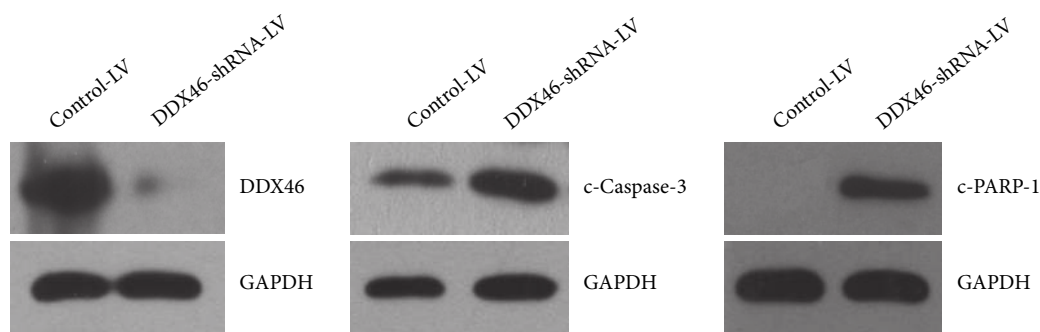


图 6 沉默 DDX46 基因后 Western blotting 检测 DDX46 和细胞凋亡标志蛋白的表达情况

四位^[10]。我国食管癌的组织学类型 90% 以上为鳞癌，对于食管鳞癌的治疗虽有手术、化疗、放疗及其他辅助疗法，但其远期疗效很不理想，严重威胁国人健康^[10-11]。食管鳞癌靶向治疗的相关研究尚处于萌芽阶段，目前许多靶向药物的相关研究多针对胃-食管连接部腺癌开展，这些研究结果对于食管鳞癌是否适合尚不清楚^[12]。

近年来 RNA 在生命系统中的重要性备受关注，涉及 RNA 的生物进程需要 RNA 解旋酶，RNA 解旋酶利用 ATP 水解产生的能量实现 RNA 解旋或核糖核蛋白结构重组，几乎参与了 RNA 代谢的所有环节^[13-14]。RNA 解旋酶可以通过改变癌基因表达水平、基因突变，或者参入肿瘤启动和进展相关信号转导通路、调控肿瘤耐药基因的表达，参与肿瘤的发生发展^[15]。DDX46 是 DDX 蛋白家族 RNA 解旋酶成员，人类 DDX46 基因位于染色体 5q31.1，有 26 个外显子，编码的 DDX46 蛋白分子量为 131kDa^[16]。我们前期研究发现 DDX46 蛋白表达主要定位于细胞核，食管鳞癌组织中的表达明显高于相对应食管正常组织^[7]，与人正常食管上皮细胞 Het-1A 相比，食管鳞癌细胞 Eca-109 中 DDX46 基因 mRNA 的表达显著上调，抑制 DDX46 表达能降低食管鳞癌 Eca-109 细胞增殖，阻滞细胞周期于 G0/G1 期，并诱导细胞凋亡^[8]。目前尚未见 DDX46 与裸鼠成瘤的相关报道。动物实验更能模拟人类的生理和病理条件，获得的实验数据更具有说服力。本实验在前期研究的基础上，选用 DDX46 高表达的食管鳞癌细胞株 Eca-109，采用 RNAi 技术沉默 Eca-109 细胞中 DDX46 基因的表达，以 BALB/c 裸鼠为移植瘤载体，通过皮下注射肿瘤细胞使其成瘤，观察 DDX46 表达降低对裸鼠移植瘤生长的影响，在体内环境中进一步验证 DDX46 在食管鳞癌发生发展中的作用。结果表明 DDX46 表达降低后移植瘤生长明显减慢，提示降低 DDX46 表达可以抑制食管鳞癌的生长，证实 DDX46 参与食管鳞癌

的发生发展过程。

为阐明其可能的作用机制，本实验应用 Western blotting 检测移植瘤组织中细胞凋亡信号通路关键分子的变化，发现沉默 DDX46 基因后，移植瘤 DDX46 蛋白表达水平明显下调，而 cleaved Caspase-3 和 cleaved PARP-1 蛋白表达水平显著上调。Caspase-3 是参与细胞凋亡的关键执行分子，在凋亡信号转导的许多途径中发挥功能，正常以无活性的酶原形式存在于胞浆中，在凋亡的早期阶段被激活，裂解相应的胞浆胞核底物，最终导致细胞凋亡^[17]。PARP 是存在于多数真核细胞中的一个多功能蛋白质翻译后修饰酶，在 DNA 损伤修复与细胞凋亡中发挥着重要作用。PARP 在体外可以被多种 Caspase 剪切，在体内是 Caspase-3 的主要剪切对象。因此，PARP 剪切被认为是细胞凋亡的一个重要指标，也通常被认为是 Caspase-3 激活的指标^[18]。体内裸鼠成瘤实验证实降低 DDX46 表达可激活细胞凋亡信号通路，抑制食管鳞癌细胞增殖，结果与之前体外细胞实验一致^[8]。

Lee 等^[1]研究发现，mRNA 中有一小部分编码一些与肿瘤有某种联系的蛋白质，并且这些 mRNA 携带独特标记，能结合到 eIF3 开启或者关闭 mRNA 翻译，从而调节核糖体内蛋白质翻译，这使得 mRNA 上的结合位点成为了一种很有前景的药物靶标。RNA 解旋酶 DDX46 在 mRNA 前体剪接和核糖体组装中发挥核心作用^[2-3]，其表达的异常必然影响选择性剪切过程。Zhang 等^[19]研究发现肺腺癌中 SMC4 和 DDX46 的 mRNA 表达水平显著正相关，SMC4 和 DDX46 在细胞周期各个时相均存在共定位，SMC4 可能通过与 DDX46 相互作用影响选择性剪切，进而导致肿瘤的发生。Zheng 等^[20]研究发现，DDX46 能结合到抗病毒效应分子 mRNA 的 CCGGUU 保守基序上，当病毒感染时 DDX46 与 m⁶A 去甲基化酶 ALKBH5 结合增加，使得与 DDX46 结合的抗病毒效应分子 mRNA 发生去甲基

化修饰而导致其核滞留,阻滯了这些抗病毒效应分子的蛋白表达从而降低干扰素产生,最终抑制了抗病毒天然免疫应答反应。

综上所述,DDX46的表达水平与食管鳞癌的生长密切相关,沉默DDX46基因可显著抑制食管鳞癌细胞裸鼠移植瘤的生长,其机制可能是通过激活细胞凋亡信号通路,进而发挥抑制肿瘤细胞增殖、诱导细胞凋亡的作用。DDX46是否通过细胞核内RNA修饰的方式参与调控食管鳞癌发生发展还有待进一步研究证实。

参考文献

- Lee AS, Kranzusch PJ, Doudna JA, *et al.* eIF3d is an mRNA cap-binding protein that is required for specialized translation initiation. *Nature*, 2016, 536(7614): 96-99.
- Kosowski TR, Keys HR, Quan TK, *et al.* DExD/H-box Prp5 protein is in the spliceosome during most of the splicing cycle. *RNA*, 2009, 15(7): 1345-1362.
- Liang WW, Cheng SC. A novel mechanism for Prp5 function in prespliceosome formation and proofreading the branch site sequence. *Genes Dev*, 2015, 29(1): 81-93.
- Li M, Ma YC, Huang P, *et al.* Lentiviral DDX46 knockdown inhibits growth and induces apoptosis in human colorectal cancer cells. *Gene*, 2015, 560(2): 237-244.
- Jiang F, Zhang D, Li G, *et al.* Knockdown of DDX46 inhibits the invasion and tumorigenesis in osteosarcoma cells. *Oncol Res*, 2017, 25(3): 417-425.
- 刘熹, 张冲, 黄邓高, 等. DDX46 基因慢病毒载体的构建及其在人膀胱癌细胞中的表达. *安徽医学*, 2018, 39(1): 1-5.
- Li B, Li YM, He WT, *et al.* Knockdown of DDX46 inhibits proliferation and induces apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma cells. *Oncol Rep*, 2016, 36(1): 223-230.
- 高华, 宋铁牛, 李斌, 等. 解旋酶 DDX46 基因对食管鳞癌 Eca-109 细胞增殖及凋亡的影响. *癌变·畸变·突变*, 2017, 29(3): 216-221, 229.
- Zielske SP, Stevenson M. Importin 7 may be dispensable for human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus infection of primary macrophages. *J Virol*, 2005, 79(17): 11541-11546.
- Chen W, Sun K, Zheng R, *et al.* Cancer incidence and mortality in China, 2014. *Chin J Cancer Res*, 2018, 30(1): 1-12.
- Allemani C, Matsuda T, Di Carlo V, *et al.* Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14(CONCORD-3): analysis of individual records for 37513025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries. *Lancet*, 2018, 391(10125): 1023-1075.
- Smyth EC, Lagergren J, Fitzgerald RC, *et al.* Oesophageal cancer. *Nat Rev Dis Primers*, 2017, 3: 17048.
- Linder P, Fuller-Pace FV. Looking back on the birth of DEAD-box RNA helicases. *Biochim Biophys Acta*, 2013, 1829(8): 750-755.
- Owtrim GW. RNA helicases: diverse roles in prokaryotic response to abiotic stress. *RNA Biol*, 2013, 10(1): 96-110.
- Heerma van Voss MR, van Diest PJ, Raman V. Targeting RNA helicases in cancer: the translation trap. *Biochim Biophys Acta*, 2017, 1868(2): 510-520.
- Abdelhaleem M, Maltais L, Wain H. The human DDX and DHX gene families of putative RNA helicases. *Genomics*, 2003, 81(6): 618-622.
- Porter AG, Jänicke RU. Emerging roles of caspase-3 in apoptosis. *Cell Death Differ*, 1999, 6(2): 99-104.
- Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *J Clin Invest*, 2005, 115(10): 2665-2672.
- Zhang C, Kuang M, Li M, *et al.* SMC4, which is essentially involved in lung development, is associated with lung adenocarcinoma progression. *Sci Rep*, 2016, 6: 34508.
- Zheng Q, Hou J, Zhou Y, *et al.* The RNA helicase DDX46 inhibits innate immunity by entrapping m⁶A-demethylated antiviral transcripts in the nucleus. *Nat Immunol*, 2017, 18(10): 1094-1103.

收稿日期: 2018-07-03 修回日期: 2018-08-24
 本文编辑: 董敏