

· 论 著 ·

原癌基因 Wip1 在子宫内膜癌组织中表达水平的研究

顾笑梅, 李娟, 高淑凤, 郑玮, 张浩

(河北省唐山市妇幼保健院, 河北唐山 063000)

摘要:目的 观察子宫内膜癌患者临床分期、预后与 Wip1 表达量的关系。方法 收集唐山市妇幼保健院 2002 年 1 月至 2012 年 1 月手术的 120 例子宫内膜癌患者, 经手术切除子宫内膜癌蜡块标本作为实验组, 标本均被病理证实, 同期活检正常的子宫内膜标本 120 例作为对照组。检测 Wip1 在 2 组中的表达水平。结果 (1) Wip1 免疫组化染色结果: 正常子宫内膜组织细胞中, Wip1 免疫组化染色阴性或微弱。子宫内膜癌组织中 Wip1 染色呈浅黄色至黄褐色不等。Wip1 蛋白在子宫内膜癌组织中的阳性表达率为 77.5% (93/120), 高于正常内膜组织 22.5% (27/120), 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (2) Wip1 蛋白在子宫内膜癌组织、正常内膜组织 Western blot 结果: Wip1 蛋白在子宫内膜癌组织的相对含量为 0.635 ± 0.023 。高于正常内膜组织的 0.325 ± 0.018 , 两组之间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (3) 各样品实时荧光定量 PCR 结果: Wip1 mRNA 表达在子宫内膜癌组织高于正常内膜组织, 基因表达值分别为 0.628 ± 0.053 、 0.191 ± 0.009 , 两组之间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。 (4) Wip1 的表达水平与年龄、雌孕激素状态、HER2、淋巴结状态、TNM 分期均无关 ($P > 0.05$), 与 P53 表达水平存在关联 ($P < 0.05$)。结论 (1) 子宫内膜癌中 Wip1 表达量高, 而正常内膜组织表达量低。 (2) Wip1 的表达水平与年龄、雌孕激素状态、HER2、淋巴结状态、TNM 分期均无关, 与 P53 表达水平存在关联。

关键词: Wip1; 子宫内膜癌; 基因沉默

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.16.013

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)16-2210-04

Study on expression level of proto-oncogene Wip1 in endometrial carcinoma tissue

GU Xiaomei, LI Juan, GAO Shufeng, ZHENG Wei, ZHANG Hao

(Tangshan Municipal Maternal and Child Health Care Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China)

Abstract: Objective To investigate the related factors of clinical stage and prognosis in the patients with endometrial carcinoma and their relation with proto-oncogene Wip1 expression level. Methods The paraffin samples of resected endometrial carcinoma in 120 cases of endometrial carcinoma in our hospital from January 2002 to January 2012 were collected as the experimental group, the samples were verified by pathology. Contemporaneous 120 samples of biopsy normal endometrial tissue served as the control group. The expression level of Wip1 were detected in two groups. Results (1) In the Wip1 immunohistochemical staining results: Wip1 immunohistochemical staining was negative or weak in normal endometrial tissue cells, while showed pale yellow to yellowish-brown in endometrial cancer tissue. The positive expression rate of Wip1 protein in endometrial carcinoma tissue was 77.5% (93/120), which was higher than 22.5% (27/120) in normal endometrial tissue, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). (2) In the Western blot results of Wip1 protein in endometrial cancer tissue and normal endometrial tissue: the relative amount of Wip1 protein in endometrial carcinoma tissue was 0.635 ± 0.023 , which was significantly higher than 0.325 ± 0.018 in normal endometrial tissue, the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). (3) In the real time quantitative qRT-PCR results of various samples: Wip1 mRNA expression level was higher than that in normal endometrial tissue, which were 0.628 ± 0.053 and 0.191 ± 0.009 respectively, the difference between the two groups was statistically significant ($P < 0.05$). (4) The expression level of Wip1 had no correlation with age, estrogen and progesterone status, HER2, lymph node status and TNM stage, but had correlation with P53 expression level. Conclusion (1) The Wip1 expression amount is high in endometrial carcinoma and low in normal endometrial tissue. (2) The Wip1 expression level has no relation with age, estrogen and progesterone status, HER2, lymph node status and TNM stage, while has association with P53 expression level.

Key words: Wip1; endometrial carcinoma; gene silencing

在近 30 年, 子宫内膜癌发病率和病死率逐年升高, 其早期诊断、恶性程度分析及预后判断是当今研究的热点。1997 年, Fiscella 等^[1]通过基因筛选法首先发现了 Wip1, 2002 年 Bulavin 等^[2]报道 Wip1 是一种新的原癌基因。目前, Wip1 基因与子宫内膜癌关系未见报道。本研究使用免疫组化的方法、Western blot 和实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 的手段来进行 Wip1 在女性子宫内膜癌组织及正常内膜组织中的表达情况的研究工作, 以期对女性子宫内膜癌早期发现后的临床治疗及判断预后提供新的依据和线索。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集唐山市妇幼保健院 2002 年 1 月至 2012 年 1 月手术切除的 120 例患者, 分别于癌组织及正常内膜取材, 分别作为实验组及对照组。经手术切除子宫内膜癌蜡块标本作为实验组, 标本均被病理证实, 实验组及对照组各 120 例。所有的患者临床标本都经过唐山市妇幼保健院病理科病理确诊, 全部为散发病例, 无家族病史, 患者平均 (46.6 ± 17.3) 岁, 其中最老者 29 岁, 最大者 73 岁。其中子宫内膜样腺癌 102 例, 透明细胞癌 8 例, 其他类型子宫内膜癌 10 例。I 期子

子宫内膜癌患者 59 例, II 期子宫内膜癌患者 42 例, III 期患者 19 例。

1.2 主要试剂 超纯 RNA 提取试剂盒(CWbio. Co. Ltd), HiFi-MMLV cDNA 第一链合成试剂盒(CWbio. Co. Ltd), RealSuper Mixture(CWbio. Co. Ltd), DNase 1(CWbio. Co. Ltd), WIPI 1 兔抗人多克隆抗体(Epitomics), 蛋白抽提试剂、BCA 蛋白定量试剂盒、2 mg/mL BSA 标准品、5×还原样品缓冲液、10×Tris-Glycine-SDS 电泳缓冲液、考马斯亮蓝染色液(赛诺博), BSA、Acrylamide(Amresco), Trizma base、Glycine、Sodium deoxycholate(Sigma)。

1.3 免疫组化 将 4 μm 的石蜡切片进行脱蜡至水, 用 3% 的过氧化氢在 10 min 阻断内源性过氧化物酶, 胰酶修复需要大约 20 min, 10% 的山羊血清在室温环境下封闭 20 min, Wip1 抗体(1:200)湿盒中 4℃ 冰箱过夜保存, 滴加二抗、三抗室温在湿盒内孵育各 20 min, DAB 显色, 苏木精复染, 常规脱水, 封片。判定结果: 由 2 名病理科的医生在前期并不知道患者具体的临床资料的情况下采用双盲法对其进行计数。细胞计数采用显微镜观察, 每张切片上随机选择 5 个视野, 每个标本计数 3 张切片。Wip1 表达以细胞阳性百分率及细胞染色强度得分之和进行判定。细胞阳性百分率分为 4 个等级: 不大于 5% 计 0 分, >5%~25% 计 1 分, >25%~50% 计 2 分, >50% 计 3 分。细胞染色强度分数标准: 无染色记 0 分, 弱染色(浅黄色)计 1 分, 中等染色(棕黄色)计 2 分, 强染色(黄褐色)计 3 分。两项标准相加: 0 分为阴性(-), 最后结果为 1~2 分为弱阳性(+), 3~4 分为中等阳性(++), 5~6 分为强阳性(+++)。以 PBS 替代一抗作为阴性对照。-~+ 为低表达, ++~+++ 为高表达。

1.4 Western Blot 总蛋白提取: 将标本从液氮中取出约 100 mg, 加入 1 mL 冰冷蛋白裂解液, 采用玻璃匀浆器进行匀浆, 超声破碎机超声 4 次, 每次 10 s, 间隔 15 s, 所有的操作都是在冰上开展。4℃, 12 000 r/min 离心 20 min, 取上清液, -20℃ 备用。Western blot: BCA 蛋白定量试剂盒对蛋白浓度进行检测, 按每孔上样量 50 μg 进行 SDS-PAGE 电泳, 稳压冰浴电转至硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂牛奶封闭 2 h, 一抗孵育 4℃ 过夜(Wip1 1:5 000, β-actin 1:5 000)加入 HRP 标记的山羊抗小鼠 IgG(1:5 000)室温孵育 1 h, ECL 化学发光, FUJI Mini-4000 扫描图象, 应用 Lab Works 4.5 版本软件对条带进行定量化研究。

1.5 RT-PCR 检测 总 RNA 提取: 从液氮中取出标本, 按 Trizol 试剂说明书的要求, 提取总 RNA。反转录: 取 2 μg 总 RNA, 按 Superscript III 反转录试剂盒说明书的要求进行严格操作, 合成 cDNA, 20 μL 反应体系, 反应条件如下: 变性 95℃ 2 min, 反转录 50℃ 50 min。PCR 扩增 Wip1 基因上游引物为 5'-TTC TCG CTTG TCAC CTTG CC-3', 下游引物为 5'-CC AA ACT ACA CGAT TCAC CCC-3', 扩增片断长度为 318 bp; β-actin 为内参照, 上游引物为 5'-CAC CCG CGA GTA CAA CCT TC-3', 下游引物为 5'-CCC ATA CCC ACC ATCA CACC-3', 扩增片断长度为 207 bp。PCR 反应体系 50 μL 包括: 2 μL 10×PCR buffer, 1 μL 10 mmol dNTP, 0.5 μL Taq DNA 聚合酶, 上下游引物各 1.5 μL, 2 μL 模板 cDNA, 加 ddH₂O 补足至 50 μL。反应条件为: 预变性 95℃ 2 min, 变性 94℃ 30 s, 退火 59℃ 30 s, 延伸 72℃ 45 s, 35 个循环, 置于 4℃ 保存。产物经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳, 结果经凝胶成像系统结合 Multi Gauge V53.1 进行光密度研究。

1.6 统计学处理 应用 SPSS13.0 进行统计分析, 计数资料比较采用 χ² 检验, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较用 *t* 检验。以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

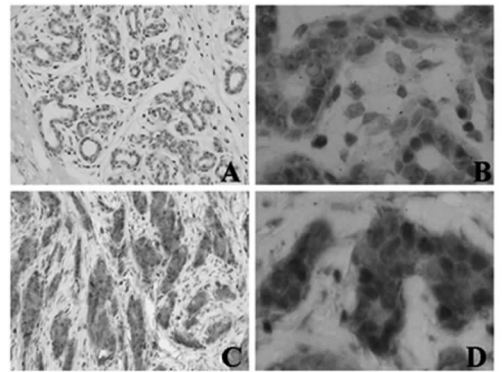
2 结 果

2.1 子宫内膜癌组织、正常内膜组织 Wip1 免疫组化染色结果 正常内膜组织细胞中, Wip1 免疫组化染色阴性或微弱。子宫内膜癌组织中 Wip1 染色呈浅黄色至黄褐色不等。Wip1 蛋白在子宫内膜癌组织的阳性表达率为 77.5% (93/120), 高于正常内膜组织的 22.5% (27/120), 差异具有统计学意义 (*P* < 0.05), 见表 1 及图 1。

2.2 Wip1 蛋白在子宫内膜癌组织、正常内膜组织 Western blot 结果 Wip1 蛋白在子宫内膜癌组织的相对含量为 0.635 ± 0.023 高于正常内膜组织的 0.325 ± 0.018, 2 组之间比较差异具备统计学意义 (*P* < 0.05)。

2.3 Wip1 mRNA 在子宫内膜癌组织、正常内膜组织中的 RT-PCR 结果 依照 RT-PCR 原始检测的结果, 按照 2^{-ΔΔCt} 相对定量的计算公式, 计算出各个样品的目的基因的相对定量结果, 即 F = (待测组目的基因平均 CT 值 - 待测组管家基因平均 CT 值) - (对照组目的基因平均 CT 值 - 对照组管家基因平均 CT 值) Wip1 mRNA 表达在子宫内膜癌组织高于正常内膜组织, 基因表达值分别为: 0.726 ± 0.076 和 0.185 ± 0.021, 2 组之间比较差异具备统计学意义 (*P* < 0.05)。

2.4 Wip1 表达与子宫内膜癌临床病理因素的关系 Wip1 的表达水平与年龄、雌孕激素状态、HER2、淋巴结状态、TNM 分期均无关 (*P* > 0.05), 与 P53 表达水平存在关联 (*P* < 0.05), 见表 2。



注: A、B 为正常内膜组织, C、D 为子宫内膜癌组织。
图 1 免疫组化 Wip1 在正常内膜组织及子宫内膜癌组织中的表达 (×200)

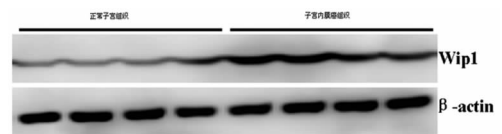


图 2 Wip1 mRNA 在卵巢癌组织、正常卵巢组织实时荧光定量 PCR 结果 (*P* < 0.05)

组别	n	Wip1 蛋白表达水平				Z	P
		-	+	++	+++		
实验组	120	27	19	40	34	-3.242	0.000
对照组	120	93	22	5	0		

表 2 Wip1 表达与子宫内膜癌临床病理因素的关系(n)

项目	n	Wip1 蛋白表达		χ^2	P
		-~+	++~++++		
年龄					
≤50 岁	45	11	34	1.739	0.119
>50 岁	75	28	47		
淋巴结状态					
N+	42	15	27	0.235	0.518
N0	78	28	50		
TNM 分期					
I	75	32	43	0.342	0.728
II~III	45	25	20		
雌激素受体					
-	37	16	21	0.234	0.689
+	83	32	51		
孕激素受体					
-	47	23	46	1.288	0.246
+	73	29	44		
HER2					
+	45	15	30	0.196	0.698
-	75	28	47		
P53					
-	80	57	23	33.835	0.000
+	40	6	34		

3 讨 论

1997 年, Fiscella 等^[1]通过基因筛选法发现了 Wip1, 并证明 Wip1 是由野生型 P53 所诱导产生。Wip1 是 PP2C 家族中的一员, 由 PPM1D (protein phosphatase magnesium-dependent 1 delta) 基因编码, 位于人染色体的 17q22/q23 区域^[2]。Wip1 蛋白相对分子质量约 61×10^3 , 可分为两个功能区^[3]。高度保守的 N 端磷酸酶区位于第 1~375 位氨基酸, 第 376~605 位氨基酸为相对低保守无催化活性的结构域, 是一种原癌基因^[4]。

Wip1 致癌的机制现在还没有彻底被阐述清楚^[5]。ATM/ATR 启动的修复损伤理论对于阻止癌症肿瘤的形成具有重要的意义^[6]。研究表明 DNA 损伤时, ATM 使 Chk2 磷酸化, 抑制肿瘤产生^[7]。高表达的 Wip1 可能通过抑制人体 DNA 的自我修复功能, 促进人体细胞周期进程最终导致肿瘤形成^[8]。通过内部和外部以及体内研究证实, Chk2 在 Wip 作用下, 去磷酸化而失去活性, 从而导致肿瘤形成^[9]。在机体内, 原来 p38MAPK-p53-Wip1 途径维系的平衡环境被 Wip1 的过度表达所破坏, 下游 wt-p53 蛋白由于 p38MAPK 蛋白去磷酸化而失去活性, 促使 p16 蛋白水平下降, 促进了恶性肿瘤的出现^[10]。据目前研究进展, Wip1 对 p53 细胞的活性抑制至少通过 4 种途径^[11]: (1) Wip1 与 Chk1 相互作用, 使 Chk1 去磷酸化, 导致 p53 蛋白失去活性, 去磷酸化位点在第 Ser20; (2) 由于 p53 蛋白的失活, 导致 p38MAPK-p53-Wip1 去磷酸化, 阻碍 p53 蛋白第 Ser33 和 Ser46 位点的磷酸化, 导致 p53 失活; (3) Wip1 与 p53 直接作用, 使其 N 端第 Ser15 去磷酸化而失活;

(4) Wip1 通过 p38MAPK 去磷酸化途径相互作用, 最终导致 p53 的失活, 中间过程首先进一步制约 p19 ARF 蛋白的表达, 活跃下游 p53 和 MD M2 与 p53 用途, 从而引起 p53 转录失活^[12]。

本实验通过对子宫内膜癌及正常内膜组织中 Wip1 蛋白和 Wip1 mRNA 表达水平的检测发现, 与正常内膜组织相比, 子宫内膜癌组织中 Wip1 的表达明显上调, 两者的表达差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。提示 Wip1 高表达与子宫内膜癌的发生密切相关。临床病理因素分析表明, Wip1 高表达与年龄、肿瘤大小、TNM 分期、腋窝淋巴结转移、雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 表达均无关 ($P > 0.05$)。Wip1 高表达与 p53 表达相关, 可能是因为 Wip1 在抑制 p53 抑癌基因功能的同时制止或消除了其突变, 故两者呈负相关。在子宫内膜癌组织中过表达的 Wip1 通过 Wip1/p38MAPK/p53 信号通路使内环境失调, 从而导致了肿瘤的生成。本研究结果显示, Wip1 在子宫内膜癌中高表达并抑制抑癌基因 p53 的功能从而在子宫内膜癌发生、发展中起重要作用。目前, 在子宫内膜癌的治疗中, 基因治疗发挥了它的价值, 但同时也存在一定的缺陷。例如, 在子宫内膜癌的治疗中, 目标基因太少, 并没有找到发病的具体机理。目前的研究表明, 在子宫内膜癌组织中, Wip1 表达量很高, Wip1 与 p53 的结合, 导致子宫内膜癌的恶性发展。Wip1 同时还抑制其他抑癌基因的活性^[12], 因此在子宫内膜癌细胞的研究中, 以 Wip1 为靶基因, 通过对 Wip1 功能的抑制, 增加抑癌基因的活性, 探讨治疗子宫内膜癌的有限途径。目前有关于 Wip1 活性抑制剂的发展是国外的研究焦点, 可进一步增强抗肿瘤药物的抗增殖功能^[13]。

参考文献

- [1] Fiscella M, Zhang H, Fan S, et al. Wip1, a novel human protein phosphatase that is induced in response to ionizing radiation in a p53-dependent manner[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997, 94(12): 6048-6053.
- [2] Bulavin A, Saito-Ohara F, Inoue J, et al. Association of 17q21-q24 gain in ovarian clear cell adenocarcinomas with poor prognosis and identification of PPM1D and APPBP2 as likely amplification targets[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(6): 1995-2004.
- [3] Li J, Yang Y, Peng Y, et al. Oncogenic properties of PPM1D located within a breast cancer amplification epicenter at 17q23 [J]. Nat Genet, 2002, 31(2): 133-134.
- [4] Nannenga B, Lu X, Dumble M, et al. Augmented cancer resistance and DNA damage response phenotypes in PPM1D null mice[J]. Mol Carcinog, 2006, 45(5): 594-604.
- [5] Huang C, Ma WY, Maxiner A, et al. p38 kinase mediates UV-induced phosphorylation of p53 protein at serine 389 [J]. J Biol Chem, 1999, 274(18): 12229-12235.
- [6] Demidov ON, Timofeev O, Lwin HN, et al. Wip1 phosphatase regulates p53-dependent apoptosis of stem cells and tumorigenesis in the mouse intestine[J]. Cell Stem Cell, 2007, 1(2): 180-190.
- [7] Natrajan R, Lambros MB, Rodríguez-Pinilla SM, et al. Tiling path genomic profiling of grade 3 invasive ductal breast cancers[J]. Clin Cancer Res, 2009, 8(15): 2711-2722.

有限。虽然本次研究 WBC、GR 仍为敏感指标,可能和纳入样本量少,且部分患者合并类风湿关节炎以及研究周期较短有关。

CRP、ESR 作为临床上常使用的感染指标,CRP 在组织损伤后 24 h 迅速升高,大约 72 h 后达到峰值,回落正常时间较久。而 ESR 则在术后 5~7 d 达到峰值,恢复正常时间也较久。有研究发现,CRP 显示的是创伤、手术对组织破坏反应所致,多数患者 CRP 水平较低,但在组织损伤、手术和感染刺激下,炎症细胞浸润,白细胞释放内源性递质等刺激肝细胞加速合成 CRP^[7]。故其对炎症反应的敏感度和特异度均较高。ESR 是指红细胞在静止状态下每小时下降速度,全身各种炎症疾病、全身或局部感染、组织坏死或损伤、恶性肿瘤等均会引起该指标升高^[8]。ESR 是一种非特异性指标,不能单独诊断任何疾病,但其半衰期短,相对于 CRP 可早期诊断,故对膝关节感染要同时检查以上两指标以相互补充,增强诊断准确度^[9]。

PCT 是一种相对分子质量很小的糖蛋白质,由 116 个氨基酸残基组成,属于单拷贝基因。该指标无激活活性,在正常情况下由生成激素活性物质降钙素甲状腺的 C 细胞产生和分泌,在正常情况下该指标水平很低,但在感染情况下,其水平显著升高,且在感染 2~4 h 即能检测到 PCT 升高。研究显示,PCT 在感染早期就能升高,且和感染程度正相关,其敏感度为 96.5%,特异度为 94%,准确度在 95% 以上,且该指标在病毒感染时基本无升高^[10],故对膝关节感染早期诊断意义重大,可用于鉴别诊断感染类型。IL-6 是由 184 个氨基酸组成的蛋白质,是机体受到刺激后由单核-巨噬细胞、成纤维细胞、内皮细胞等产生的多效性细胞因子,对急性期 T 细胞激活诱导和调节 B 细胞成熟有重要作用,能激活中性粒细胞,其在感染后能释放入血,IL-6 可作为感染程度指标,用于了解感染状态^[11]。研究显示,相对于 ESR、CRP,IL-6 是一个更加灵敏的预测感染炎症指标,其在术后 24 h 就能达到峰值,若未发生感染,则在高峰后就能迅速恢复正常^[12],故目前有研究者主张用其替代 CRP 用于诊断膝关节感染。而结合本次结果,WBC、CRP、ESR、PCT、IL-6、GR 对于早期诊断和预防感染有一定的价值。但笔者认为,对膝关节感染诊断不能用单一指标进行诊断,要联合以上 6 个指标,结合临床表现进行诊断。

参考文献

[1] Torres X, Claramunt TR, Pelfort Crguicia J, et al. Knee joint infection after ACL Reconstruction: Prevalence, management and functional outcomes [J]. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2013, 21(12): 2844-2849.

[2] Parvizi J, Jacovides C, Adeli B, et al. Coventry award: synovial c-reactive protein: a prospective evaluation of a molecular marker for periprosthetic knee joint infection [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2012, 470(1): 54-60.

[3] 周升新. 血清白介素-6、白介素-10、C-反应蛋白对全关节置换术后早期感染的诊断价值 [J]. *临床骨科杂志*, 2014 (4): 401-404.

[4] Honsawek S, Deepaisarnsakul B, Tanavalee A, et al. Relationship of serum IL-6, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, and knee skin temperature after total knee arthroplasty: a prospective study [J]. *Int Orthop*, 2011, 35(1): 31-35.

[5] 王利, 陆琳松, 殷剑, 等. 联合检测降钙素原、血沉、C-反应蛋白在膝关节置换术后感染的临床意义 [J]. *中华关节外科杂志*, 2014, 5(5): 585-588.

[6] Honsawek S, Deepaisarnsakul B, Tanavalee A, et al. Relationship of serum IL-6, C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, and knee skin temperature after total knee arthroplasty: a prospective study [J]. *Int Orthop*, 2011, 35(1): 31-35.

[7] 刘康妍. 120 例人工膝关节置换术后感染诊断回顾性分析 [J]. *中华关节外科杂志*, 2013, 7(2): 154-157.

[8] 李睿, 李想, 倪明, 等. 对降钙素原诊断关节假体周围感染的评价 [J]. *解放军医学院学报*, 2016, 37(1): 339-342.

[9] 王福科, 郭峰, 李建, 等. 膝关节术后感染 20 例四项感染指标检测结果 [J]. *昆明医科大学学报*, 2016, 37(1): 64-66.

[10] Liu Z, Anas S, Klika K, et al. Serum inflammatory markers for periprosthetic knee infection in obese versus non-obese patients [J]. *J Arthroplasty*, 2014, 29(10): 1880-1883.

[11] 吴文明, 周勇刚. 白细胞介素-6 在初次人工关节置换术后的变化规律及意义 [J]. *中华关节外科杂志*, 2012, 6(5): 710-715.

[12] 赵鹏, 张靖, 李长德. IL-6 在关节置换术后假体周围感染早期诊断中的意义 [J]. *黑龙江医药科学*, 2013, 36(1): 71-72.

(收稿日期: 2017-02-08 修回日期: 2017-04-08)

(上接第 2212 页)

[8] Bulavin DV, Demidov ON, Saito S, et al. Amplification of PPM1D in human tumors abrogates p53 tumor-suppressor activity [J]. *Nat Genet*, 2002, 31(2): 210-215.

[9] Hu W, Feng Z, Modica I, et al. Gene amplifications in Well-Differentiated pancreatic neuroendocrine tumors inactivate the p53 pathway [J]. *Genes Cancer*, 2010, 1(4): 360-368.

[10] Bulavin DV, Phillips C, Nannenga B, et al. Inactivation of the Wip1 phosphatase inhibits mammary tumorigenesis through p38 MAPK-mediated activation of the p16 (Ink4a)-p19 (Arf) pathway [J]. *Nat Genet*, 2004, 36(4): 343-350.

[11] Lu X, Nannenga B, Donehower LA, et al. PPM1D dephosphorylates Chk1 and p53 and abrogates cell cycle checkpoints [J]. *Genes Dev*, 2005, 19(10): 1162-1174.

[12] Shreeram S, Demidov ON, Hee WK, et al. Wip1 phosphatase modulates ATM-dependent signaling pathways [J]. *Mol Cell*, 2006, 23(5): 757-764.

[13] Macurek L, Lindqvist A, Voets O, et al. Wip1 phosphatase is associated with chromatin and dephosphorylates gammaH2AX to promote checkpoint inhibition [J]. *Oncogene*, 2010, 29(15): 2281-2291.

(收稿日期: 2017-02-11 修回日期: 2017-04-11)