

·论著·

B 细胞易位基因 2 的表达水平对肿瘤细胞放射敏感性的影响

李敏 孟庆慧 胡旭东 焦旸 徐加英 樊赛军

【摘要】目的 研究 B 细胞易位基因 2(BTG2)表达水平的改变对肿瘤细胞放射敏感性的影响。**方法** 通过 pcDNA3-BTG2 脂质体转染的方法提高细胞的 BTG2 的表达水平,利用噻唑蓝和细胞克隆形成实验研究细胞放射敏感性的改变,应用 Western blot 方法研究蛋白表达水平的变化。**结果** 噻唑蓝和细胞克隆形成实验结果显示,在不同剂量的 γ 射线照射后,提高 BTG2 的表达水平可明显提高乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的放射敏感性。免疫共沉淀-Western blot 实验结果显示 BTG2 蛋白与 DNA 损伤修复和抗氧化蛋白乳腺癌易感基因 1(BRCA1)相互作用,形成复合物。高表达的 BRCA1 明显地抑制了 BTG2 高表达对乳腺癌细胞放射敏感性的调节作用,而降低 BRCA1 的表达水平则提高了 BTG2 对乳腺癌细胞放射敏感性的调节作用。另外,肺癌细胞放射敏感性与其所含的 BRCA1 的表达水平成反比,而与 BTG2 的表达水平成正比。**结论** BTG2 的高表达明显提高了肿瘤细胞的放射敏感性,其机制可能与其同 BRCA1 形成复合物有关。

【关键词】 肿瘤;辐射耐受性;B 细胞易位基因 2;基因, BRCA1

Effect of B-cell translocation gene 2 alteration on radiosensitivity of cancer cells Li Ming*, MENG Qing-hui, HU Xu-dong, JIAO Yang, XU Jia-ying, FAN Sai-jun. *Laboratory of Tumor Radiobiology, School of Radiation and Public Health, Medical College of Soochow University, Jiangsu 215123, China
Corresponding author: FAN Sai-jun, Email: fansaijun@irm-cams.ac.cn

【Abstract】Objective To investigate the effects of B-cell translocation gene 2 (BTG2) over-expression on the radiosensitivity of cancer cells. **Methods** Cancer cells with overexpression of BTG2 were established via stable transfection of full-length human BTG2 cDNA which was inserted into a mammalian expression plasmid pcDNA3 (pcDNA3-BTG2). Cell survival was determined by thiazolyl blue tetrazolium bromide (MTT) and clonogenic survival assays. Protein-protein interaction was performed by immune precipitation (IP)-Western blot assay. Protein expression was assayed by Western blot assay. **Results** As demonstrated in MTT assay and clonogenic survival assay, enforced expression of BTG2 significantly enhanced radiosensitivity of human breast cancer MCF-7 and MDA-MB-231 cells. The BTG2 protein was able to be determined in the breast cancer susceptibility gene1 (BRCA1) IP. Silence of BRCA1 enhanced the increased radiosensitivity by BTG2, however, co-over-expression of BRCA1 reduced the BTG2-mediated radiosensitivity. Finally, the radiosensitivity of lung cancer cell lines tested exhibited a positive relationship with the levels of BTG2 protein expression and a negative correlation with the levels of BRCA1 protein expression. **Conclusion** The present study further demonstrates that there is a significant relationship of radiosensitivity with BTG2 and BRCA1 expression, suggesting that BTG2 may be a new and important target in cancer radiotherapy via its binding to BRCA1.

【Key words】 Neoplasms; Radiation tolerance; B-cell translocation gene 2; Gene, BRCA1

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4114.2013.03.001

基金项目: 国家自然科学基金(81172127, 81071906)

作者单位: 215123, 苏州大学医学部放射医学与公共卫生学院肿瘤放射生物学实验室(李敏, 孟庆慧, 胡旭东, 焦旸, 徐加英, 樊赛军); 250117 济南, 山东省肿瘤医院放疗科(胡旭东); 300192 天津, 中国医学科学院放射医学研究所, 天津市分子核医学重点实验室(樊赛军)

通信作者: 樊赛军(Email: fansaijun@irm-cams.ac.cn)

B 细胞易位基因 2 (B-cell translocation gene 2, BTG2) 是细胞增殖抑制蛋白家族 TOB/BTG 的成员之一。目前的研究发现, BTG2 参与包括肿瘤细胞在内的细胞分化、发育、凋亡等功能调节^[1-6]。最近研究发现, 人为提高 BTG2 的表达可以提高人乳

腺癌 T-47D 细胞的放射敏感性, 且可能与诱导细胞凋亡有关^[7]。本研究通过提高和降低肿瘤细胞中 BTG2 的表达水平进一步了解 BTG2 在肿瘤细胞放射敏感性调节中的关键作用及其机制, 为 BTG2 临床肿瘤放射治疗增敏性的预测和预后可行性提供实验基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

人乳腺癌细胞系 MCF-7、MDA-MB-231, 人肺癌细胞系 H2170、A549、NIH-H460、SK-MES-1、HTB-58、H23 和 H441 以及正常人上皮细胞系 184A1 购自美国细胞收藏中心, 由苏州大学医学部放射医学与公共卫生学院肿瘤放射生物学实验室培养和保存。乳腺癌和肺癌细胞于含 10% 胎牛血清的 DMEM (Dulbecco's modified eagle medium) 培养液(美国 Gibco 公司)中常规培养, 184A1 细胞于含 10% 胎牛血清以及 10 ng/ml 人上皮细胞生长因子的 MEGM (mammary epithelium basal medium) 培养液(美国 Clonetics 公司)中培养。所有细胞都培养于 37 ℃、5% CO₂ 培养箱内。

1.2 pcDNA3-BTG2 和 pcDNA3-乳腺癌易感基因 1 (breast cancer susceptibility gene 1, BRCA1) 重组质粒的构建和转染

全长 BTG2 cDNA 或全长 BRCA1 cDNA 定向分别装载至真核细胞表达载体 pcDNA3 (美国 Invitrogen 公司)中, 重组质粒由美国 Invitrogen 公司进行核酸序列测定。采用脂质体介导的转染方法, 将构建好的 pcDNA3-BTG2 质粒导入部分乳腺癌细胞中; 同时将 pcDNA3 “空” 质粒导入另外一部分乳腺癌细胞中作为阴性对照。将转染后的细胞在含有 nemycin (G418, 500 g/ml) (美国 Gibco 公司) 的常规培养液中进一步培养, 连续培养 15 d 后, 收集所有存活克隆并汇集在一起成为稳定细胞株, 继续在含 nemycin (G418, 500 g/ml) 的培养液中培养传代。照射前将转染后的细胞在无 nemycin 的培养液中培养 24 h。为研究 pcDNA3-BRCA1 对 BTG2 调节肿瘤细胞放射敏感性的影响, 同时在含 nemycin 的培养液中将 pcDNA3-BRCA1 质粒瞬时转染到已转染了 pcDNA3-BTG2 质粒的 MCF-7 或 MDA-MB-231 稳定细胞株中, 转染后 24 h 进行照射并完成细胞生存实验。

1.3 照射方法

收集指数期生长的细胞, 采用 ¹³⁷Cs γ 射线照射(照射源由美国 Georgetown 大学辐照中心提供), 吸收剂量率为 0.8 Gy/min, 源靶距为 73.5 cm, 照射视野为 30 cm×30 cm。

1.4 siRNA 实验方法

将 1.0×10⁵ 对数期生长的细胞接种于 24 孔培养板, 采用 lipofectamine 2000 (美国 Invitrogen 公司)转染试剂将 siRNA-BRCA1 和 “空” siRNA 转染至细胞中, 转染基本操作则按照说明书进行。转染后于 48 h 时采用胰酶消化收取细胞, 然后照射完成噻唑蓝实验。

1.5 噻唑蓝实验方法

将细胞以每孔 3×10⁵ 个/ml 的细胞接种于 96 孔细胞培养板中, 在 30 ℃、5%CO₂ 细胞培养箱中培养 48 h 后加入 10 μl 噻唑蓝 (10 mg/ml), 继续培养 4 h, 800 g 离心 5 min (1000 r/min, 离心半径为 105 mm), 弃上清, 每孔加入 100 μl 二甲基亚砷 (美国 Sigma 公司), 振荡 10 min, 酶标仪测定 570 nm 处的光密度。根据光密度算出细胞增殖抑制率。增殖抑制率=[1-(实验组光密度-调零孔光密度)/(对照孔光密度-调零孔光密度)]×100%。

1.6 克隆形成实验方法

将需要照射的各组细胞按不同照射剂量接种不同细胞数接种到 60 mm 培养皿中, 培养 3 周, 用甲醇固定, 加姬姆萨应用液(美国 Sigma 公司)染色 30 min, 流水洗净, 计数细胞数≥50 的克隆个数。克隆形成率=(对照组克隆数/实验组细胞数)×100%, 存活分数=克隆数/[实验组细胞数×(观察的克隆数/接种的细胞数)]。

1.7 Western blot 方法

将收集的细胞样品加裂解液于冰上裂解细胞, 离心 10 min (10 000 r/min, 离心半径为 105 mm), 取上清液, 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法蛋白定量试剂盒 (美国 Invitrogen 公司)调整蛋白至相同浓度。样品加入等体积 2×十二烷基硫酸钠凝胶加样缓冲液, 沸水中煮沸 5 min, 经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳后转膜; 封闭液封闭 2 h; 加用封闭液稀释的 BTG2 (sc-30342, 1:250 稀释)、抗 BRCA1 (sc-642, 1:500 稀释) 和抗 α-Actin (sc-32252, 1:2000 稀释) 抗体(美国 Santa Cruz 生物技术公司), 4℃孵育过夜; 用 tris-buffered saline and

tween 20 缓冲液(简称 TBST 缓冲液)冲洗3次,每次15 min;加封闭液稀释相应的山羊抗鼠(sc-2060, 1:2000 稀释)或山羊抗兔(sc-2004, 1:2000 稀释)的二抗(美国 Santa Cruz 生物技术公司),室温孵育1 h, TBST 缓冲液冲洗3次,每次15 min;用增强化学发光法检测蛋白表达状况。

1.8 免疫共沉淀(immune precipitation, IP)方法

指数期生长的 184A1 细胞分别在含有和不含 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 3,3-二吲哚甲烷(3,3-diindolyl-methane, DIM)培养液中培养24 h,然后用冰冷的生理盐水洗涤贴壁生长的 184A1 细胞两次,加入0.5 ml 细胞裂解液,并收集细胞,离心5 min(1000 r/min, 离心半径105 mm),转移上清至新离心管中,加蛋白 A 珠子(美国 Sigma 公司)并在4 $^{\circ}\text{C}$ 下放置10 min,测定蛋白浓度。加入250 μl 的免疫球蛋白 G 抗体(美国 Santa Cruz 生物技术公司)或 BRCA1 抗体(美国 Santa Cruz 生物技术公司)至500 μl 的细胞裂解液中,并孵育4 h。离心1 min(4000 r/min, 离心半径105 mm)收集珠子,弃掉上清,并用细胞缓冲液冲洗3次。将珠子重新悬于60 ml 2 \times 蛋白上样缓冲液中,离心1 min(4000 r/min, 离心半径105 mm),弃掉珠子。行 Western blot 检测上清中 BRCA1 和 BTG2 蛋白的表达水平。

1.9 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计学软件对数据进行统计学分析,计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Western blot 实验、噻唑蓝实验和细胞克隆形成实验结果

Western blot 实验结果显示,在 BTG2 蛋白表达水平相对较低的人乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中,转染了“空” pcDNA3 质粒的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的 BTG2 蛋白水平并未见任何改变;转染了 pcDNA3-BTG2 质粒的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的 BTG2 蛋白表达水平明显提高;无论是在转染了 pcDNA3 的质粒细胞中还是在转染了 pcDNA3-BTG2 的质粒细胞中,作为内参的 α -actin 蛋白表达水平均无明显改变,表明各组细胞总蛋白上样量基本一致(图 1a、图 2a)。这些实验结果表明,在 pcDNA3-BTG2 转染的细胞中

BTG2 蛋白水平的高表达是由于转染了 BTG2 所致。

噻唑蓝实验和细胞克隆形成实验结果表明,受到不同剂量的 γ 射线照射后,与 MCF-7、MDA-MB-231 母细胞和分别转染了“空” pcDNA3 质粒的 MCF-7、MDA-MB-231 细胞株相比,转染了 pcDNA3-BTG2 质粒的 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞株的存活率明显下降(图 1b、1c、2b、2c)。在 MCF-7 细胞中, IC_{50} (导致 50% 细胞死亡的辐射剂量)在 pcDNA3 转染的细胞和 pcDNA3-BTG2 转染的细胞中分别为 1.2 Gy 以及 0.3 Gy,它们之间的差异有统计学意义($t=3.12$, $P<0.05$)。在 MDA-MB-231 细胞中, IC_{50} 在 pcDNA3 转染的细胞和 pcDNA3-BTG2 转染的细胞中分别为 2.8 Gy 以及 0.8 Gy,它们之间的差异同样有统计学意义($t=3.39$, $P<0.05$)。

采用噻唑蓝比色法检测不同细胞株的生长状况,结果发现,与 MCF-7 和 MDA-MB-231 母细胞相比, BTG2 高表达对 MCF-7 和 MDA-MB-231 肿瘤细胞的生长并不产生明显的抑制作用。例如, pcDNA3 转染的 MCF-7 细胞倍增时间为 20 h, pcDNA3-BTG2 转染的 MCF-7 细胞倍增时间为 19 h; pcDNA3 转染的 MDA-MB-231 细胞倍增时间为 25 h, pcDNA3-BTG2 转染的 MDA-MB-231 细胞倍增时间为 24 h。此结果说明 BTG2 高表达对肿瘤细胞的放射敏感性的影响并不是由于 BTG2 表达改变影响细胞生长所致。

2.2 IP-Western blot 实验结果

为了解 BTG2 调节肿瘤细胞放射敏感性的作用机制,我们前期的研究采用基因芯片法比较了 pcDNA3 转染的 MCF-7 细胞和 pcDNA3-BTG2 转染的 MCF-7 细胞内在基因表达水平,结果发现一种 DNA 损伤修复蛋白 BRCA1 的表达水平有明显改变。此次的 IP-Western blot 实验结果发现, BTG2 与 BRCA1 蛋白之间形成了一个复合体。BTG2 蛋白存在于采用 BRCA1 抗体的 IP 蛋白复合体中,而且 DIM——BRCA1 表达诱导剂明显增加了 BTG2 蛋白与 BRCA1 蛋白的结合量(图 3)。显然,这些实验结果表明 BTG2 蛋白与 BRCA1 蛋白之间可以相互结合。

2.3 BRCA1 表达水平高低对 BTG2 的放射敏感性的影响

在转染了 pcDNA3-BTG2 质粒的细胞中同时转染 pcDNA3-BRCA1 或 siRNA-BRCA1,采用细胞克隆形成法测定其放射敏感性,结果发现,转染了

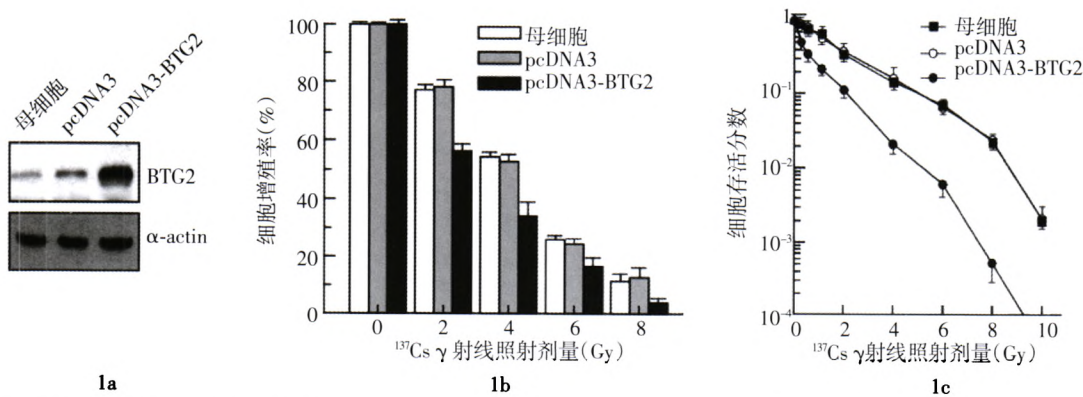


图1 B细胞易位基因2对人乳腺癌MCF-7细胞放射敏感性的影响 图中, BTG2为B细胞易位基因2。1a: Western blot实验结果; 1b: 噻唑蓝实验结果; 1c: 细胞克隆形成实验结果。

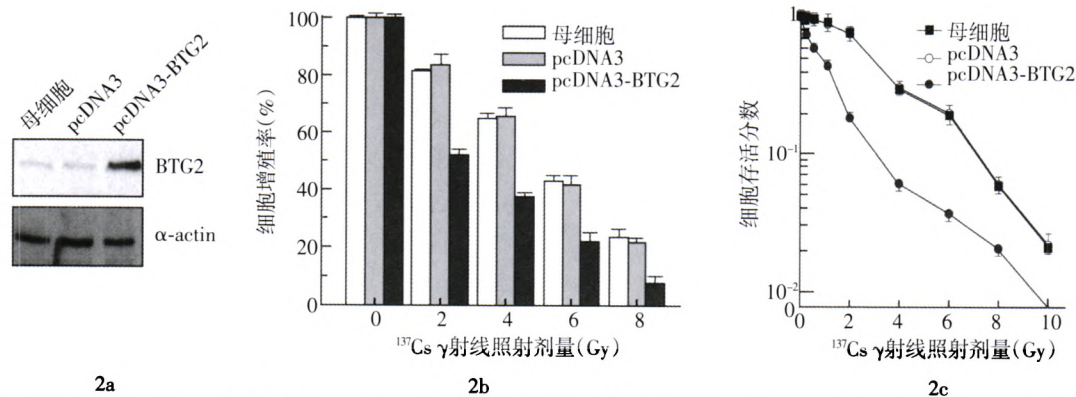


图2 B细胞易位基因2对人乳腺癌MDA-MB-231细胞放射敏感性的影响 图中, BTG2为B细胞易位基因2。2a: Western blot实验结果; 2b: 噻唑蓝实验结果; 2c: 细胞克隆形成实验结果。

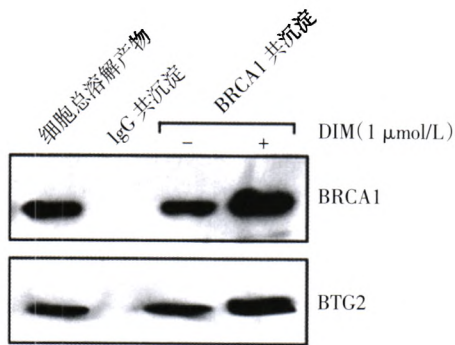


图3 采用3,3-二吡啶甲烷处理184A1细胞24h后免疫共沉淀-Western blot的检测结果 图中, IgG为免疫球蛋白G; DIM为3,3-二吡啶甲烷; BRCA1为乳腺癌易感基因1; BTG2为B细胞易位基因2。

pcDNA3-BRCA1后, 高表达BTG2所导致的细胞放射敏感性提高明显受到抑制(图4)。只转染了pcDNA3-BTG2的MCF-7细胞的 IC_{50} 为0.3 Gy, 而共转染了pcDNA3-BTG2和pcDNA3-BRCA1的MCF-7细胞的 IC_{50} 则为1.0 Gy, 两者之间的差异有统计学意义($t=3.98$, $P<0.05$)。只转染了pcDNA3-BTG2的MDA-MB-231细胞的 IC_{50} 为0.8 Gy, 而共

转染了pcDNA3-BTG2和pcDNA3-BRCA1的MDA-MB-231细胞的 IC_{50} 则为1.9 Gy, 两者之间的差异也有统计学意义($t=2.93$, $P<0.05$)。但是, 共转染siRNA-BRCA1则导致了pcDNA3-BTG2转染细胞的放射敏感性进一步提高(图5)。只转染了pcDNA3-BTG2的MCF-7细胞的 IC_{50} 为0.3 Gy, 而共转染了pcDNA3-BTG2和siRNA-BRCA1的MCF-7细胞的 IC_{50} 则为0.25 Gy($t=2.26$, $P<0.05$)。只转染了pcDNA3-BTG2的MDA-MB-231细胞的 IC_{50} 为0.8 Gy, 而共转染了pcDNA3-BTG2和siRNA-BRCA1的MDA-MB-231细胞的 IC_{50} 则为0.6 Gy($t=1.97$, $P<0.05$)。这些实验结果表明, BRCA1在BTG2调节肿瘤放射敏感性中可能起到了非常重要的作用。

2.4 BTG2和BRCA1表达与肺癌细胞放射敏感性之间的关系

我们比较了未作任何处理的指数期生长的7种肺癌细胞系中的BRCA1和BTG2的表达水平, 结果发现, BRCA1蛋白表达水平分别为: H2170细胞最高, 其次为NIH-H460和SK-MES-1细胞,

A549、HTB-58、H23 和 H441 细胞中 BRCA1 蛋白表达水平则非常低;而BTG2 的表达正好相反,在 A549、HTB-58、H23 和 H441 细胞中的表达水平比较高,而在 NIH-H460 和 SK-MES-1 细胞中的表达水平较低,在H2170 细胞中则几乎无法检测到(图6)。

当采用5 Gy 单剂量 γ 射线照射这些肺癌细胞系后 24 h 完成噻唑蓝实验,结果发现这 7 种肺癌细胞系的放射敏感性顺序为 A549>HTB-58>H23>H441>SK-MES-1>NCI-H460>H2170。结合蛋白水平的表达结果可以看出,这些被检测的肺癌细胞的放射敏

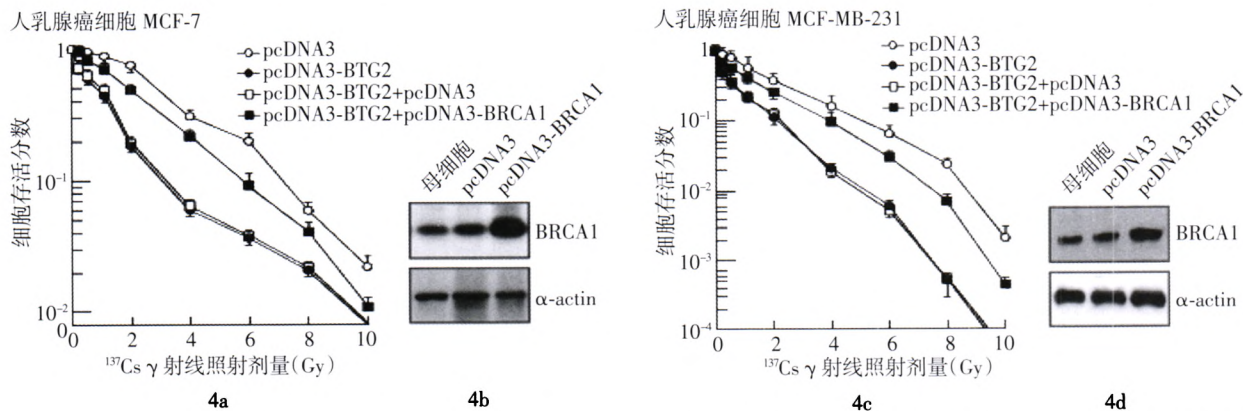


图4 乳腺癌易感基因1 高表达对 B 细胞易位基因2 调节乳腺癌细胞放射敏感性的影响 图中, BRCA1 为乳腺癌易感基因1; BTG2 为 B 细胞易位基因2。4a 与 4c 为生存曲线; 4b 与 4d 为采用 Western blot 方法检测细胞转染 pcDNA3 或 pcDNA3-BRCA1 后 48 h 的细胞乳腺癌易感基因1 蛋白表达水平的改变。

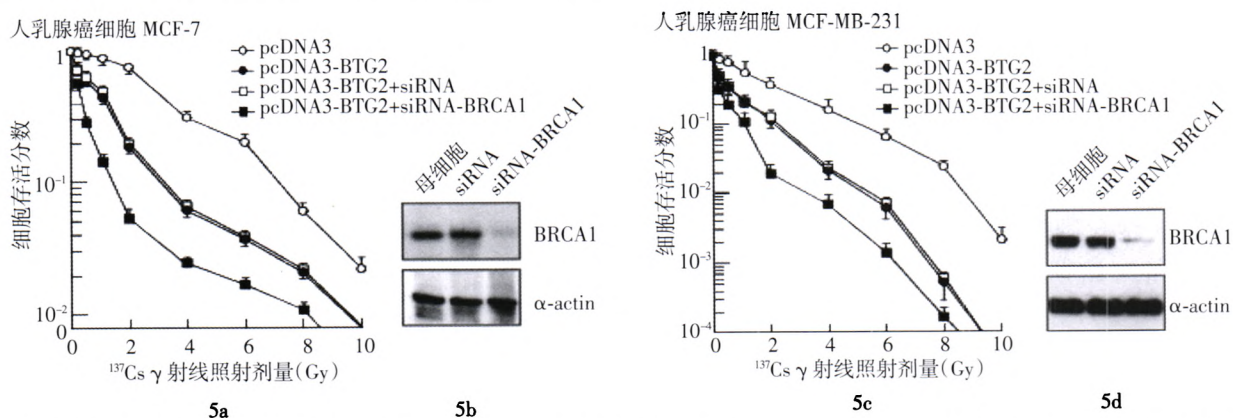


图5 乳腺癌易感基因1 低表达对 B 细胞易位基因2 调节乳腺癌细胞放射敏感性的影响。图中, BTG2 为 B 细胞易位基因2, BRCA1 为乳腺癌易感基因1。5a 与 5c 图为生存曲线; 5b 与 5d 图为采用 Western blot 方法检测细胞转染 siRNA 或 siRNA-BRCA1 后 48 h 的细胞 BRCA1 蛋白表达水平的改变。

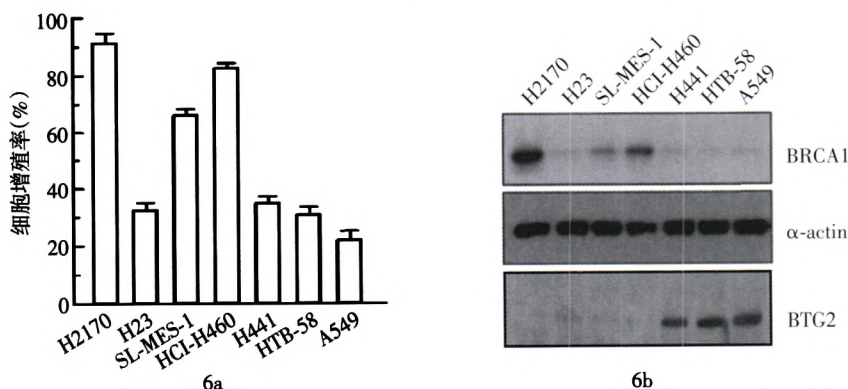


图6 5 Gy 单次 ^{137}Cs γ 射线照射 7 种肺癌细胞 24 h 后的细胞增殖率(6a)和指数生长期的 7 种肺癌细胞中 BTG2 和 BRCA1 蛋白表达水平的 Western blot 检测结果(6b) 图中, BRCA1 为乳腺癌易感基因1; BTG2 为 B 细胞易位基因2。

感性与其 BRCA1 的表达水平成反比,与 BTG2 的表达水平成正比。因此,当细胞含有高 BTG2 表达,低 BRCA1 表达时,其放射敏感性相对比较高。

3 讨论

放射治疗是包括乳腺癌和肺癌在内的不同肿瘤的重要治疗手段之一,了解影响肿瘤的放射敏感性基因的改变,深入并有的放矢地研究从而提高放疗疗效一直是放射治疗基础和临床研究领域的重要课题。

BTG2 蛋白是细胞增殖抑制家族 TOB/BTG 的成员之一,其位于人类染色体的 1q32 区, mRNA 的长度为 2717 碱基对,编码一个由 158 个氨基酸组成的蛋白质^[1]。国内外已有研究报道, BTG2 蛋白作为瞬时早期反应蛋白,在包括肿瘤细胞在内的细胞分化、抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡等方面具有重要功能^[2-6]。我们以前的研究发现, BTG2 高表达可以影响乳腺癌 T-47 细胞的放射敏感性^[7]。本研究延伸了这项研究,发现 BTG2 高表达也可以提高乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞的放射敏感性,而且相对于 MCF-7 细胞(p53 基因野生型的细胞)来说, BTG2 对放射治疗不敏感的 MDA-MB-231 细胞(p53 基因畸变型的细胞)的放射敏感性的提高程度更大。这在临床上具有更重要的意义,因为 70% 以上的中晚期乳腺癌患者的肿瘤细胞都发生了 p53 基因畸变,变得对放射治疗不敏感。因此,肿瘤细胞 BTG2 的检测可能对放射治疗的疗效和预后具有一定的意义和临床价值。目前,我们正在进一步研究 BTG2 调节乳腺癌放射治疗的敏感性是否是 p53 依赖性。

通过前期的基因芯片实验研究发现, BTG2 高表达对细胞中 BRCA1 的表达水平有明显的影响。采用 IP-Western blot 方法发现 BTG2 蛋白与 BRCA1 蛋白之间确实存在相互作用,并形成了一个复合体。而且增加 BRCA1 的表达水平明显抑制了 BTG2 对肿瘤细胞放射敏感性的影响,降低 BRCA1 的表达水平明显增加了 BTG2 对肿瘤细胞放射敏感性的影响。更进一步的研究发现, BTG2 与肺癌放射敏感性成正相关,而 BRCA1 表达水平与肺癌放

射敏感性成负相关。肿瘤抑制基因 BRCA1 是 DNA 损伤修复的重要蛋白,同时也是一种抗氧化基因,提高细胞 BRCA1 表达水平可以明显地防护细胞对抗过氧化氢所导致的损伤^[8]。这些结果为深入研究 BTG2 在提高肿瘤放射敏感性机制中的作用提供了重要的方向, BTG2 是否也直接参与 DNA 损伤修复或通过 BRCA1 间接地参与辐射损伤修复有待进一步的研究和探讨。

总之,本研究实验结果表明,提高 BTG2 表达水平可以明显地提高人乳腺癌细胞的放射治疗敏感性,其作用机制可能与 BRCA1 蛋白的直接结合有一定的关系。这些研究也为我们深入了解 BTG2 作为一种新放射增敏蛋白在肿瘤放射治疗中的功能提供了研究基础和理论依据。

参 考 文 献

- [1] Winkler GS. The mammalian anti-proliferative BTG/Tob protein family. *J Cell Physiol*, 2010, 222(1): 66-72.
- [2] Möllerström E, Kovács A, Lövgren K, et al. Up-regulation of cell cycle arrest protein BTG2 correlates with increased overall survival in breast cancer, as detected by immunohistochemistry using tissue microarray. *BMC Cancer*, 2010, 10: 296.
- [3] Cullmann C, Hoppe-Seyler K, Dymalla S, et al. Oncogenic human papillomaviruses block expression of the B-cell translocation gene-2 tumor suppressor gene. *Int J Cancer*, 2009, 125(9): 2014-2020.
- [4] Li F, Liu J, Park ES, et al. The B cell translocation gene (BTG) family in the rat ovary: hormonal induction, regulation, and impact on cell cycle kinetics. *Endocrinology*, 2009, 150(8): 3894-3902.
- [5] Zhang YJ, Wei L, Liu M, et al. BTG2 inhibits the proliferation, invasion, and apoptosis of MDA-MB-231 triple-negative breast cancer cells. *Tumour Biol*, 2013, 34(3): 1605-1613.
- [6] Wagener N, Bulkescher J, Macher-Goeppinger S, et al. Endogenous BTG2 expression stimulates migration of bladder cancer cells and correlates with poor clinical prognosis for bladder cancer patients. *Br J Cancer*, 2013, 108(4): 973-982.
- [7] Hu XD, Meng QH, Xu JY, et al. BTG2 is an LXXLL-dependent co-repressor for androgen receptor transcriptional activity. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 404(4): 903-909.
- [8] Fan S, Meng Q, Saha T, et al. Low concentrations of diindolylmethane, a metabolite of indole-3-carbinol, protect against oxidative stress in a BRCA1-dependent manner. *Cancer Res*, 2009, 69(15): 6083-6091.

(收稿日期: 2013-02-17)