

## 参考文献

- [1] 白晨,张翼,黄铮宇,等.香菇中麦角甾醇生成维生素 D<sub>2</sub> 的光化反应实验设计[J].实验室研究与探索,2010,29(2):16-19.
- [2] 郭玮,罗琼,高虹,等.麦角甾醇对 S180 荷瘤小鼠肿瘤血管生成和 Bax、Bcl-2 表达的影响[J].营养学报,2015,37(6):569-573.
- [3] 曹龙辉,李晓娟,赵文红,等.麦角甾醇的研究进展[J].中国酿造,2014,33(4):9-12.
- [4] 王晓琴,赖政炀,黄秀丽,等.麦角甾醇在灵芝孢子油鉴别与质量评价中的应用[J].食品科技,2016,41(9):262-266.
- [5] 南春辉.麦角甾醇的研究进展[J].中国新技术新产品,2009(10):6-7.
- [6] 麻兵继,文春南,吴婷婷,等.麦角甾醇过氧化物的抑菌活性研究[J].食品研究与开发,2012,33(7):42-44.
- [7] 宋志伟,朴惠善.大型药用真菌对心血管作用的研究进展[J].中国现代中药,2006,(10):29-31.
- [8] 李秀芳,代蓉,李国花,等.天麻成分对羟基苯甲醛抗血小板聚集作用及急性毒性研究[J].天然产物研究与开发,2013,25(3):317-320.
- [9] 任佳伟,宋玉.银杏叶有效成分抗血小板聚集和清除 DPPH 自由基的量效关系和协同作用[J].世界科学技术-中医药现代化,2015,17(11):2367-2372.
- [10] 洪远林.中国川芎与日本川芎的生物碱成分和抗血小板聚集作用比较[D].成都:成都中医药大学,2015:51-55.
- [11] 李宝泉,李念光,冯锋,等.阿魏酸酯类衍生物的合成及抗血小板聚集活性[J].中国药科大学学报,2009,40(6):486-490.
- [12] 梁进权,宓穗卿,王宁生.水蛭、虻虫配伍的抗凝血和抗血小板聚集的作用[J].中药材,2009,32(9):1347-1350.
- [13] 丛悦.知母甾体皂苷抗血小板活性作用机制的研究[D].北京:中国人民解放军军事医学科学院,2010:22-26.
- [14] 金云,谭诗云,张家明.质子泵抑制药和 H<sub>2</sub>受体阻断药对氯吡格雷抗血小板作用的影响[J].医药导报,2016,35(5):501-504.
- [15] HOGBERG C, GIDLOF O, DEFLORIAN F, et al. Farnesyl pyrophosphate is an endogenous antagonist to ADP-stimulated P2Y<sub>12</sub> receptor-mediated platelet aggregation[J].Thromb Haemost, 2012,108:119-132.
- [16] 赵诗云,危玮,尹小明,等.喜炎平抗 ADP 诱导的血小板聚集作用的实验研究[J].实用中西医结合临床,2016,16(8):81-82.

## Y-box 结合蛋白 1 与人肝癌耐药细胞 Bel-7402/ADM P 糖蛋白的相关性\*

王姗姗<sup>1</sup>,汪选斌<sup>2</sup>

(湖北医药学院附属人民医院 1.药学部;2.中药药理实验室,十堰 442000)

**摘要** 目的 研究 Y-box 结合蛋白 1(YB-1)与人肝癌耐药细胞 Bel-7402/ADM 中 P 糖蛋白(P-gp)的关系,推测其诱导癌细胞产生耐药性的相关机制。**方法** 以浓度梯度递增联合大剂量间断冲击诱导法建立人肝癌耐药细胞株 Bel-7402/ADM;运用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测 YB-1、P-gp 在人肝癌耐药细胞株 Bel-7402/ADM 和相应敏感株 mRNA 含量;采用 Western blotting 检测 YB-1、P-gp 在两种细胞株的表达量;将 YB-1 siRNA 转染耐药细胞,检测转染前后 YB-1 和 MDR1 在 mRNA 水平和蛋白水平的变化。**结果** 多柔比星对 Bel-7402 和 Bel-7402/ADM 的半数抑制浓度(IC<sub>50</sub>)值分别为(2.23±0.07)和(7.02±0.03) μmol·L<sup>-1</sup>。耐药组 MDR1 mRNA 的表达量高于亲本细胞(P<0.01),YB-1 mRNA 的表达量也显著高于亲本细胞(P<0.01)。耐药组 P-gp 表达量高于亲本细胞(P<0.05),YB-1 表达量也显著高于亲本细胞(P<0.01)。耐药细胞转染 siRNA 后 YB-1 mRNA、MDR1 mRNA 的表达显著降低(P<0.01),YB-1、MDR1 蛋白水平较转染前显著降低(均 P<0.05)。**结论** YB-1 表达与 P-gp 表达密切相关,YB-1 与人肝癌耐药细胞株 Bel-7402/ADM 多药耐药相关。

**关键词** 多药耐药;P 糖蛋白;Y-box 结合蛋白 1

中图分类号 R969.2

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)10-1119-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.10.008

### Correlation Between Y-box Binding Protein-1 Expression and P-Glycoprotein in Drug-resistant Hepatocellular Carcinoma Bel-7402/ADM Cells

WANG Shanshan<sup>1</sup>, WANG Xuanbin<sup>2</sup> (1. Department of Pharmacy; 2. Laboratory of Chinese Herbal Pharmacology, Renmin Hospital Affiliated with Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, China)

**ABSTRACT Objective** To explore the correlation between Y-box binding protein-1 (YB-1) and P-glycoprotein (P-gp) in drug-resistant hepatocellular carcinoma (HCC) Bel-7402/ADM cells, and speculate the related mechanism of drug resistance.

**Methods** Bel-7402/ADM cells were developed by concentration gradient escalation and intermittent administration of large dose. The levels of YB-1 mRNA and MDR1 mRNA were detected by means of RT-PCR. Western blotting was used to detect the protein expression of YB-1 and P-gp in the Bel-7402 cells and doxorubicin resistant Bel-7402 (Bel-7402/ADM) cells. Bel-7402/ADM cells were transfected with small interfering RNA (siRNA) targeting human YB-1. Expression levels of YB-1 and MDR1 mRNA and protein were detected by means of RT-PCR and Western blotting. **Results**  $IC_{50}$  values of ADM on hepatoma carcinoma cells Bel-7402 and Bel-7402/ADM were  $(2.23 \pm 0.07)$  and  $(7.02 \pm 0.03) \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ . The mRNA expression levels of MDR1 and YB-1 were all significantly higher in Bel-7402/ADM cells than in Bel-7402 ( $P < 0.01$ ). The mRNA expression levels of MDR1 and YB-1 in Bel-7402/ADM cells transfected with YB-1 siRNA were reduced significantly ( $P < 0.01$ ). The protein levels of YB-1 and MDR1 in Bel-7402/ADM cells transfected with YB-1 siRNA were reduced significantly ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** These results suggest that the high expression level of YB-1 is probably correlated with multidrug resistance in HCC Bel-7402/ADM cells.

**KEY WORDS** Multidrug resistance; P-glycoprotein; Y-box binding protein-1

肿瘤多药耐药 (multidrug resistance, MDR) 是指一种药物作用于肿瘤使之产生耐药性后, 该肿瘤对未接触过、结构无关、机制各异的多种抗肿瘤药也具有交叉耐药的现象, 是肿瘤耐药的主要原因。其机制与拓扑异构酶 (TOPO II)、P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gp)、谷胱甘肽 S 转移酶 (GST- $\alpha$ ) 等的表达、凋亡相关通路改变等因素有关<sup>[1]</sup>。ABC (ATP-binding cassette) 超家族转运体蛋白能够将药物分子排移至胞外, 减弱其对细胞的毒性, 导致肿瘤细胞耐药性的产生。此类蛋白包括 P-gp、MRP、BCRP/ABCG2 等, 其中 P-gp 是最重要的耐药相关蛋白, 由 MDR1 (即 ATP-binding cassette sub-family B member 1, ABCB1) 基因编码。Y-box 结合蛋白是一类特异性结合目的基因启动子和增强子内部 Y-box 序列 (CTGATTGGCCAA) 的转录因子, 广泛存在于从细菌到人类的许多物种中<sup>[2-3]</sup>, 发挥多种重要生物学功能。Y-box 结合蛋白 1 (Y-box binding protein-1, YB-1) 是 Y-box 结合蛋白家族的成员之一, 现已有大量证据表明, YB-1 与肿瘤的发生和维持存在广泛密切的联系<sup>[4-5]</sup>。YB-1 在肿瘤的发生中发挥多种重要作用, 不仅促进癌细胞过度增殖和抗凋亡, 还协助肿瘤扩散和转移, 并直接参与染色体异常和癌组织耐药性的产生。诸多学者研究提示 YB-1 与人乳腺癌、肺癌、结直肠癌等的 MDR 密切相关<sup>[6-8]</sup>, 但 YB-1 的表达与人肝癌耐药细胞株 Bel-7402/ADM (多柔比星) 多药耐药的关系尚未检索到有关报道。笔者在本研究比较 YB-1

siRNA 转染耐药细胞前后 YB-1 和 MDR1 在 mRNA 水平和蛋白水平的变化, 探讨 YB-1 与 Bel-7402/ADM 多药耐药的关系, 为改善耐药状况的新型策略提供基础研究支持和参考。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 人肝癌亲本细胞 Bel-7402, 人肝癌耐药细胞株 Bel-7402/ADM; RPMI1640 培养液 (GIBCO 公司); 胎牛血清 (FBS, 杭州四季青生物工程材料有限公司); P-gp 单抗 (Cell Signaling Technology 公司)、YB-1 抗体 (Cell Signaling Technology); SYBR RT-PCR kits (Toyobo Japan), TRIzol (Invitrogen); 注射用多柔比星 (ADM, 浙江海正药业股份有限公司, 规格: 每支 10 mg, 批号: 131105); Lipofectamine 2000 Reagent (Invitrogen); 细胞裂解液 (碧云天生物技术研究所); 辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG、辣根过氧化物酶标记羊抗小鼠 IgG (美国 Jackson 免疫研究实验室)。

**1.2 仪器** 二氧化碳 (CO<sub>2</sub>) 培养箱 (Thermo Scientific Forma Series II Water-Jacketed CO<sub>2</sub> Incubators, HEPA filter, USA); BCM-100 生物洁净工作台 (苏州安泰空气技术有限公司); 离心机 (BR4i multifunction centrifuge, Berkman, USA); 冰箱 (海尔公司); MLS-3780 高压灭菌锅 (日本三洋公司); Sunrise Remote F039300 型酶联免疫仪器 (澳大利亚 TECAN 公司); DYY-7 型转移电泳仪 (北京市六一仪器厂); Mx3000P 实时定量荧光 PCR 仪 (Stratagene 公司); FD201 型稳压电泳仪 (上海医用分析仪器厂); 凝胶成像分析系统 (美国 Bio-Rad 公司)。

**1.3 细胞的培养** 人肝癌亲本细胞株 Bel-7402 培养于 10% FBS 的 RPMI1640 培养基中, 置 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中。耐药细胞株 Bel-7402/ADM 经复苏后, 培养于含有 ADM 的 10% FBS RPMI1640 培养基中, ADM 的浓度从 50 nmol · L<sup>-1</sup> 起培养, 逐步增加 ADM 浓度至终浓度 2 000 nmol · L<sup>-1</sup>。

**1.4 噻唑蓝 (MTT) 法检测 ADM 对两种细胞株的抑制率** 胰酶消化处理对数生长期细胞, 用含 10% FBS 的

收稿日期 2016-06-08 修回日期 2016-09-23

**基金项目** \* 湖北省教育厅优秀中青年人才科研项目 (Q20112102); 湖北省十堰市科学技术研究与开发项目 (十科发 [2013] 20 号)。

**作者简介** 王姗姗 (1980-), 女, 湖北老河口人, 副主任药师, 硕士, 主要研究方向: 肿瘤药理。电话: 0719-8637253, E-mail: syqhk3@163.com。

**通信作者** 汪选斌 (1971-), 男, 湖北襄阳人, 主任药师, 博士, 主要研究方向: 肿瘤药理。电话: 0719-8843185, E-mail: xuanbin.w@163.com。

RPMI 1640 培养液配成细胞悬液,调整细胞浓度为  $4\times 10^3$ 个,每孔接种 200  $\mu\text{L}$ 。空白对照组没有细胞,只加培养液,阴性对照组不加任何药物,ADM 浓度梯度组 1,2,4,8,10  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。每组 4 个复孔,在培养箱中培养 48 h 后,弃掉培养液,每孔加入 5  $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$  MTT 溶液 20  $\mu\text{L}$ ,含 10% FBS 的 RPMI 1640 新鲜培养液 180  $\mu\text{L}$  置于培养箱中孵育 4 h。弃培养液,每孔加入 DMSO 150  $\mu\text{L}$ ,振荡混匀,待紫色结晶完全溶解后,在酶联免疫仪检测波长为 570 nm 的吸光度值(A)。按下列公式计算细胞生长抑制率、半数抑制浓度( $\text{IC}_{50}$ )值、耐药倍数。生长抑制率( $\%$ )=(1-给药组平均 A 值/对照组平均 A 值) $\times 100\%$ 。 $\lg\text{IC}_{50}=\text{Xm}-\text{I}[\text{P}-(3-\text{Pm}-\text{Pn})/4]^{[9]}$ ,其中 Xm: $\lg$ [最大剂量];I: $\lg$ [最大剂量/相邻剂量];P:阳性反应率之和;Pm:最大阳反应率;Pn:最小阳性反应率。耐药倍数=耐药细胞组  $\text{IC}_{50}$ /亲本细胞组  $\text{IC}_{50}$ 。

**1.5 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time PCR)** 按照说明书用 TRIzol 提取细胞的总 RNA,用逆转录试剂盒将 RNA 逆转录为 cDNA,94  $^{\circ}\text{C}$  5 min 预变性,94  $^{\circ}\text{C}$  10 s,58  $^{\circ}\text{C}$  20 s 和 72  $^{\circ}\text{C}$  15 s,40 个循环,72  $^{\circ}\text{C}$  5 min。所用引物序列见表 1。本实验采用目标基因定量分析比较  $\Delta\text{Ct}$  值,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)为内参, $\Delta\Delta\text{Ct}=\Delta\text{Ct}(\text{target})-\Delta\text{Ct}(\text{GAPDH})$ ,实验结果用  $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$  值表示。

表 1 PCR 扩增所用引物及其序列	
Tab.1 Primer sequence of PCR	
引物	序列
GAPDH	5'-TCATTGACCTCAACTACATGGTTT-3'
	5'-GAAGATGCTGATGGGATTTC-3'
MDR1	5'-AGCTCATCGTTTGTCTACAGTTCG-3'
	5'-TCCACGGACACTCCTACGAGT-3'
YB-1	5'-CAGACTGCCATAAAGAAGAATAACC-3'
	5'-TACTGCCTTGAAGTGAACACC-3'
siYB-1	5'-GGAGGCAGCAAUGUUACATT-3'
	5'-UGUAACAUUUGCUGCCUCCTT-3'

**1.6 Western blotting 检测蛋白表达** 提取两种细胞株的蛋白,BCA 法绘制蛋白浓度标准曲线,测定提取的蛋白浓度。按照每泳道 30  $\mu\text{g}$  蛋白上样,蛋白样品置于 10%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶中电泳,再转到聚偏氟乙烯膜上。转膜成功后,用 5% BSA 室温孵育 2 h。在 4  $^{\circ}\text{C}$  环境中一抗孵育过夜,TBST 漂洗 4 次,每次 5 min。然后用结合有辣根过氧化物的二抗 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育膜 1 h。二抗孵育结束参照说明书用化学发光试

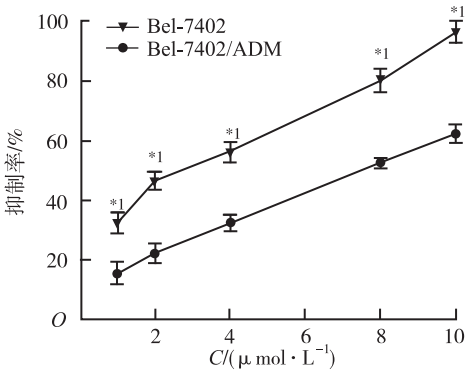
剂盒对膜显色后用 Bio-Rad 成像系统成像。

**1.7 siRNA 转染** 转染前 1 天,将 Bel-7402/ADM 以  $2\times 10^5$  细胞数量接种在 6 孔板中,以转染时细胞汇合度在 30%~50%为宜。在 Opti-DMEM 培养基 250  $\mu\text{L}$  中加入 siRNA100 pmol,轻柔混匀;用 Opti-DMEM 培养基 250  $\mu\text{L}$  稀释 lipofectamin 试剂 5  $\mu\text{L}$ ,轻轻混匀,室温放置 5 min。将稀释好的 siRNA 和 lipofectamin 混合,室温放置 20 min,以便形成 siRNA/lipofectamin 复合物。将转染复合物 500  $\mu\text{L}$  加到含有培养基的 6 孔板中,来回轻柔摇晃细胞培养板。细胞在  $\text{CO}_2$  培养箱中 37  $^{\circ}\text{C}$  温育,6 h 后,更换新鲜 10%FBS1640 培养基。细胞继续培养 48 h 后收集细胞检测 mRNA 和蛋白表达。

**1.8 统计学方法** 采用 SPSS 17.0 版统计软件进行分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,组间均数比较采用方差分析,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 MTT 法检测 ADM 对两种细胞株的抑制率** ADM 对两种细胞株的抑制率结果见图 1,Bel-7402 和 Bel-7402/ADM 的  $\text{IC}_{50}$  值分别为( $2.23\pm 0.07$ )和( $7.02\pm 0.03$ )  $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。耐药倍数为 3.15,两者比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。



与 Bel-7402/ADM 比较,  $^{*}P<0.01$

图 1 ADM 对 Bel-7402 和 Bel-7402/ADM 细胞的抑制率( $\bar{x}\pm s,n=3$ )

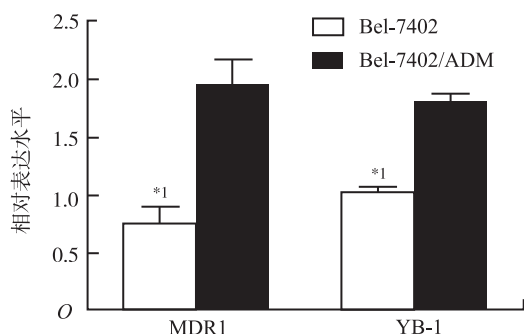
Compared with Bel-7402/ADM,  $^{*}P<0.01$

Fig.1 Inhibition ratio of ADM on Bel-7402 cells and Bel-7402/ADM cells ( $\bar{x}\pm s,n=3$ )

**2.2 YB-1、MDR1 在两种细胞株 mRNA 水平的检测** 结果见图 2。耐药组 MDR1 mRNA 的表达量高于亲本细胞( $P<0.01$ ),YB-1 mRNA 的表达量也显著高于亲本细胞,均差异有统计学意义( $P<0.01$ )。

**2.3 YB-1、MDR1 在两种细胞株蛋白水平的检测** 结果见图 3。耐药组 P-gp 的表达量高于亲本细胞( $P<$

0.05), YB-1 的表达量也显著高于亲本细胞,均差异有统计学意义( $P<0.01$ )。

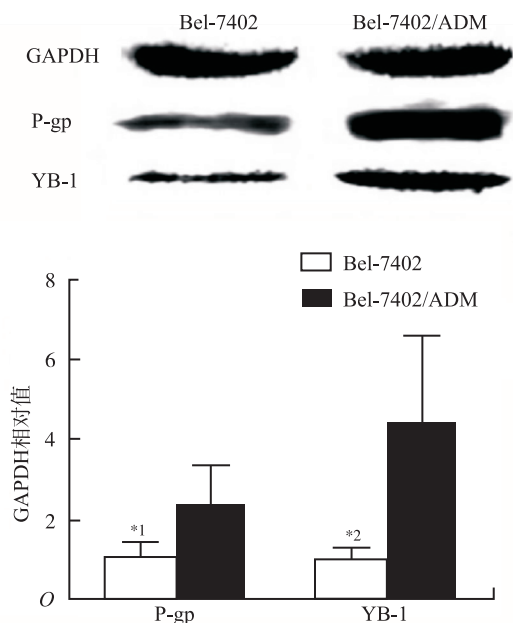


与 Bel-7402/ADM 比较,  $*^1P<0.01$

**图2** MDR1 mRNA 和 YB-1 mRNA 在两种细胞株的表达( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Compared with Bel-7402/ADM,  $*^1P<0.01$

**Fig.2** Expression of MDR1 mRNA and YB-1 mRNA in two cell lines( $\bar{x}\pm s, n=3$ )



与 Bel-7402/ADM 比较,  $*^1P<0.05, *^2P<0.01$

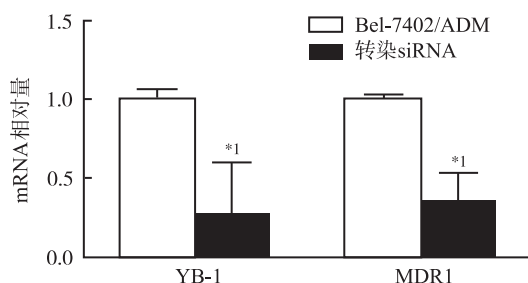
**图3** YB-1、MDR1 在两种细胞株蛋白水平的表达( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Compared with Bel-7402/ADM,  $*^1P<0.05, *^2P<0.01$

**Fig.3** Protein expression of YB-1 and MDR1 in two cell lines( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

**2.4** YB-1、MDR1 在 Bel-7402/ADM 转染 siRNA 后 mRNA 水平的检测 耐药细胞转染 siRNA 后,通过 RT-PCR 验证 YB-1 的表达显著降低,差异有统计学意义

( $P<0.01$ ), MDR1 的表达也较转染之前显著降低,差异有统计学意义( $P<0.01$ )。见图 4。



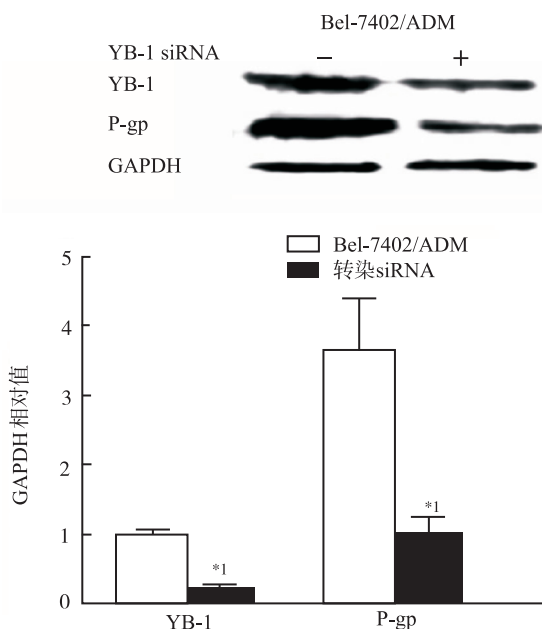
与 Bel-7402/ADM 比较,  $*^1P<0.01$

**图4** MDR1 mRNA 和 YB-1 mRNA 分别在 Bel-7402/ADM 转染 siRNA 前后的水平( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Compared with Bel-7402/ADM,  $*^1P<0.01$

**Fig.4** Expression of MDR1 mRNA and YB-1 mRNA in Bel-7402/ADM cells before or after siRNA transfection( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

**2.5** YB-1、MDR1 在 Bel-7402/ADM 转染 siRNA 蛋白水平的检测 耐药细胞转染 siRNA 后,YB-1、MDR1 蛋白水平较转染前显著降低,均差异有统计学意义(均 $P<0.05$ )。见图 5。



与 Bel-7402/ADM 比较,  $*^1P<0.05$

**图5** MDR1 和 YB-1 在 Bel-7402/ADM 转染 siRNA 前后蛋白水平( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

Compared with Bel-7402/ADM,  $*^1P<0.05$

**Fig.5** Protein expression of YB-1 and MDR1 in Bel-7402/ADM cells before or after siRNA transfection( $\bar{x}\pm s, n=3$ )



### 3 讨论

肝细胞癌是我国常见消化系统恶性肿瘤,该肿瘤生长速度快,恶性程度高,侵袭转移程度高,预后凶险。化疗是治疗肝癌的重要手段。然而,MDR 的产生是降低化疗效果重要原因,且 MDR 的发生机制十分复杂,其具体机制也没有完全明确。因此,进一步研究其发生机制并寻找逆转对策是目前肿瘤研究领域极其关注的热点。

本实验运用肝细胞癌亲本细胞 Bel-7402 和耐药细胞 Bel-7402/ADM 作为体外实验的研究对象,结果显示 YB-1、P-gp 在人肝癌耐药细胞株 Bel-7402/ADM 和相应敏感株中,无论是 RNA 水平,还是蛋白水平的表达量,差异有统计学意义,P-gp 的高表达总是伴随着 YB-1 的高表达。

结果显示,MDR1 的表达随着 YB-1 的表达下调显著受到抑制。提示 YB-1 的表达与 P-gp 的表达是密切相关的,YB-1 与人肝癌耐药细胞株 Bel-7402/ADM 多药耐药相关。YB-1 在肿瘤的发生中发挥多种重要作用,不仅促进癌细胞过度增殖和抗凋亡,还协助肿瘤扩散和转移,并直接参与染色体异常和癌组织耐药性的产生<sup>[10-15]</sup>。诸多学者研究提示 YB-1 与人乳腺癌、肺癌、结直肠癌等的 MDR 密切相关<sup>[6-8]</sup>。本研究结果显示 YB-1 介导肝癌细胞对 ADM 的耐药,其更深入的机制有待于进一步研究,为今后从基因水平逆转肝癌耐药、开发肝癌耐药逆转剂提供新靶点。

#### 参考文献

- [1] MARTIN F. Mechanisms of cancer; multidrug resistance[J]. *Drug Discov Today*, 2004, 1(2): 229-234.
- [2] MANTWILL K, KOHLER-VARGAS N, BERNSHAUSEN A, et al. A inhibition of the multidrug-resistant phenotype by targeting YB-1 with a conditionally oncolytic adenovirus; implications for combinatorial treatment regimen with chemotherapeutic agents[J]. *Cancer Res*, 2006, 66(14): 7195-7202.
- [3] VAIMAN A V, STROMSKAYA T P, RYBALKINA E Y, et al. Intracellular localization and content of YB-1 protein in multidrug resistant tumor cells [J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2006, 71(2): 146-154.
- [4] BARGOU R C, JURCHOTT K, WAGENER C, et al. Nuclear localization and increased levels of transcription factor YB-1 in primary human breast cancers are associated with intrinsic MDR1 gene expression[J]. *Nat Med*, 1997, 3(4): 447-450.
- [5] PISAREV A V, SKABKIN M A, THOMAS A A, et al. Positive and negative effects of the major mammalian messenger ribonucleoprotein p50 on binding of 40s ribosomal subunits to the initiation codon of beta-globin mRNA[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(18): 15445-15451.
- [6] DE SOUZA-PINTO N C, MASON P A, HASHIGUCHI K, et al. Novel DNA mismatch-repair activity involving YB-1 in human mitochondria [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2009, 8(6): 704-719.
- [7] FUJII T, SEKI N, NAMOTO-MATSUBAYASHI R, et al. YB-1 prevents apoptosis via the mTOR/STAT3 pathway in HER-2-overexpressing breast cancer cells [J]. *Future Oncol*, 2009, 5(2): 153-156.
- [8] OHGA T, KOIKE K, ONO M, et al. Role of the human Y box-binding protein YB-1 in cellular sensitivity to the DNA-damaging agents cisplatin, mitomycin C, and ultraviolet light [J]. *Cancer Res*, 1996, 56(18): 4224-4228.
- [9] 孙瑞元. 定量药理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1987: 155-161.
- [10] EL-NAGGAR A M, VEINOTTE C J, CHENG H, et al. Translational activation of HIF1 alpha by YB-1 promotes sarcoma metastasis [J]. *Cancer Cell*, 2015, 27(5): 682-697.
- [11] HA B, LEE E B, CUI J, et al. YB-1 overexpression promotes a TGF-beta1-induced epithelial-mesenchymal transition via Akt activation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 458(2): 347-351.
- [12] JUNG K, WU F, WANG P, et al. YB-1 regulates Sox2 to coordinately sustain stemness and tumorigenic properties in a phenotypically distinct subset of breast cancer cells [J]. *Bmc Cancer*, 2014, 14(1): 1-13.
- [13] WANG X, GUO X B, SHEN X C, et al. Prognostic role of YB-1 expression in breast cancer: a meta-analysis [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(2): 1780-1791.
- [14] NISHIO S, USHIJIMA K, YAMAGUCHI T, et al. Nuclear Y-box-binding protein-1 is a poor prognostic marker and related to epidermal growth factor receptor in uterine cervical cancer [J]. *Gynecol Oncol*, 2014, 132(3): 703-708.
- [15] GUO T T, YU Y, YIP W C, et al. Y-box binding protein 1 is correlated with lymph node metastasis in intestinal type of gastric cancer [J]. *Histopathology*, 2015, 66(4): 491-499.