

PML通过转录调控CTCF影响C-Myc表达的机制研究

周菁 胡清华 易丽君 付晶晶 李红*

(江西省儿童医院, 南昌 330006)

摘要 该研究探讨了PML(promyelocytic leukemia protein)对多功能转录因子CTCF(CCCTC-binding factor)的转录调控及其下游靶基因C-Myc的功能影响。通过荧光定量PCR方法分析儿童急性淋巴细胞白血病样本中PML和CTCF基因的表达水平,并分析二者之间的相关性。构建了PML与CTCF真核表达载体,在共转染细胞中,利用荧光定量PCR方法和Western blot分析PML对CTCF表达水平的影响。通过双荧光素报告基因系统分析了PML对CTCF启动子区的调控,并研究了其对CTCF下游靶基因C-Myc的表达水平的影响。结果显示,在临床样本中PML与CTCF表达水平存在负相关性,PML通过抑制CTCF的转录降低CTCF的表达水平,干扰CTCF对下游靶基因C-Myc的调控功能。同时,在CTCF的启动子区域可能存在着PML的结合区域,从而导致CTCF的启动子活性被抑制。

关键词 CTCF; PML; 转录因子; 转录调控

PML Represses C-Myc Expression through Transcriptional Regulation of CTCF

Zhou Jing, Hu Qinghua, Yi Lijun, Fu Jingjing, Li Hong*

(Jiangxi Provincial Children's Hospital, Nanchang 330006, China)

Abstract This study investigated the effect of promyelocytic leukemia protein (PML) on transcription regulation of CCCTC-binding factor (CTCF) and its downstream target gene *C-Myc*. The expression levels of PML and CTCF in clinical samples were analyzed by using fluorescence quantitative PCR, and the correlation between them was also analyzed. PML and CTCF eukaryotic expression vectors were constructed, and the effect of PML on CTCF expression level was analyzed by fluorescence quantitative PCR and Western blot in co-transfected cells. The regulation of PML on CTCF promoter region was analyzed through the Dual-Luciferase reporter gene system, and the influence of PML on the expression level of *C-Myc* downstream target gene of CTCF. It showed that there was a negative correlation between the expression of PML and CTCF in children ALL. PML reduced the expression of CTCF by inhibiting the transcription of CTCF and interfered with the regulation of the CTCF downstream target gene *C-Myc*. At the same time, there may be a binding region of PML in the promoter region of CTCF, resulting in inhibition of CTCF promoter activity.

Keywords CTCF; PML; transcription factors; transcriptional regulation

CTCF(CCCTC-binding factor)是广泛存在于真核生物中的多功能转录因子,是一种普遍存在的11-锌指蛋白。CTCF与靶顺序因子的结合可阻断增强

子和启动子的相互作用,从而将增强子的活性限制在一定的功能区域。已有研究表明,CTCF调控大量与肿瘤发生发展相关的基因^[1-2]。CTCF是肿瘤抑

收稿日期: 2018-03-15 接受日期: 2018-09-25

江西省自然科学基金(批准号: 20171BAB205043)、国家自然科学基金青年基金(批准号: 31500653)、江西省科技厅重点项目(批准号: 20133BBG70023)和江西省卫生计生委科技计划(批准号: 20175502)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0791-86805961, E-mail: icemade@hotmail.com

Received: March 15, 2018 Accepted: September 25, 2018

This work was supported by the Science and Technology Foundation of Jiangxi Province (Grant No.20171BAB205043), National Natural Science Foundation of China (Grant No.31500653), Science and Technology Projects of Jiangxi Province (Grant No.20133BBG70023) and Project of Health Department of Jiangxi Province (Grant No.20175502)

*Corresponding author. Tel: +86-791-86805961, E-mail: icemade@hotmail.com

网络出版时间: 2018-10-26 11:15:22

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20181026.1115.020.html>

制因子,通过调节下游众多抑癌基因和原癌基因的表达,抑制细胞生长、促进凋亡和分化。*CTCF*和*CBS*(*CTCF* binding site)在肿瘤细胞中也经常会被检测到突变和缺失,推测这些改变可能是影响了*CTCF*蛋白本身与DNA的结合能力,从而导致了肿瘤的发生和进展^[3-5]。*CTCF*功能活性主要受*CTCF*的结合蛋白和翻译后修饰方式的调节。*CTCF*可以与多个蛋白结合,这些结合蛋白决定了*CTCF*执行何种调控功能。不同的修饰方式将决定其是作为转录活化因子、转录抑制因子、绝缘子蛋白抑或是染色体空间构象维系蛋白,对基因的表达水平进行调控,从而影响到细胞的凋亡、增殖和分化^[6-7]。这些因素对*CTCF*功能的调节主要是通过改变其与DNA结合能力来实现的。除此之外,启动子区CpG岛甲基化也能影响*CTCF*与DNA的结合^[8]。*CTCF*在髓系白血病的细胞分化过程中起到一定的调节作用,在红白血病细胞系K562细胞系中,降低*CTCF*的表达会明显抑制其向红细胞方向分化,而过表达*CTCF*会抑制K562细胞的增殖^[9]。进一步研究发现,*CTCF*会与GATA1共同结合在*HPIP*的启动子上,并以此调控PI3K/AKT途径^[10]。有研究显示,*CTCF*在白血病初诊患者中表达水平上升,缓解期下降,复发时表达水平也随之提高,可能与肿瘤的进展有关^[8]。

早幼粒细胞白血病蛋白(promyelocytic leukemia protein, PML)负责组装PML小体,现已发现PML-NB有50多种蛋白,其中包含一些参与乙酰化、甲基化、磷酸化、泛素化和小泛素相关修饰物(small ubiquitin-related modifier, SUMO)修饰的酶,也有一些参与细胞生长调控的转录因子。这些蛋白或暂时或长期停留在PML-NB内,*PML*通过与这些修饰酶和转录因子直接或间接相互作用,形成蛋白复合物,引导转录因子的翻译后修饰,改变转录活性,调节细胞的生长和转化。*PML*是一种肿瘤抑制蛋白,能够与许多蛋白及转录因子结合,影响其功能^[11-13]。已有研究表明,在肿瘤发生过程中,*PML*自身表达水平和蛋白活性降低均对细胞的周期及凋亡有一定的影响,其在乳腺癌^[14]、肺癌^[15]、结肠直肠癌^[16]、前列腺癌^[17]和膀胱癌^[18]等癌症中的肿瘤抑制作用已被证实。*PML*与急性早幼粒细胞性白血病(acute promyelocytic leukemia, APL)的发生和进展密切相关。在98% APL患者体内,*PML*与*RARα*(retinoic acid receptor alpha)基因重组成的原癌

基因*PML-RARα*的出现破坏了PML小体的结构,导致了肿瘤的发生。*PML*在急性淋巴细胞白血病(acute lymphoblastic leukemia, ALL)中的作用尚不明确,还有待进一步的研究。

我们在儿童急性淋巴细胞白血病患者的骨髓样本中观察到了*PML*与*CTCF*存在负调控的关系。进一步的细胞学实验结果发现,*PML*对*CTCF*及其靶向下游基因*C-Myc*的表达存在抑制作用。本研究揭示了*PML*对*CTCF*存在抑制的作用,并可能存在通过调控其启动子的活性对其进行调控的途径。

1 材料与方法

1.1 细胞系与主要试剂

人肾上皮细胞系293T购自中国科学院上海细胞库。Trizol购自Invitrogen公司。反转录试剂、实时荧光定量PCR试剂购自北京全式金生物技术有限公司。细胞培养基DMEM及RPMI1640购自Hyclone公司。胎牛血清购自Gibco公司。GAPDH抗体(Rabbit, 1094-1-AP)购自Proteintech公司。*CTCF*抗体(Rabbit, D31H2)购自Cell Signal Technology公司。*C-Myc*抗体(Rabbit, AB32072)购自Abcam公司。转染试剂lipo2000购自Invitrogen公司。双荧光素报告基因检测试剂盒购自Promega公司。Taq plus PCR MasterMix购自天根生化科技(北京)有限公司。限制性内切酶购自NEB公司。其他试剂均为国产超纯或分析纯试剂。引物合成为金斯瑞生物科技有限公司。实验采用的荧光定量PCR引物为,*PML*上游引物: 5'-GCC GAC TTC TGG TGC TTT G-3'; *PML*下游引物: 5'-TCA CTG TGG CTG CTG TCA AG-3'。*CTCF*上游引物: 5'-ATG GCC TTT GTG ACC AGT GG-3'; *CTCF*下游引物: 5'-CGG ACG CTC TCC AGT ATG AG-3'。*GAPDH*上游引物: 5'-CAA TGA CCC CTT CAT TGA CC-3'; *GAPDH*下游引物: 5'-GAC AAG CTT CCC GTT CTC AG-3'。实验采用的载体构建引物如下,*CTCF*上游引物: 5'-ATG CGA ATT CAT GGA AGG TGA TGC AGT CGA AG-3',引入*EcoR* I酶切位点;*CTCF*下游引物: 5'-ATT TGC GGC CGC TCA CCG GTC CAT CAT GCT GAG GAT CAT C-3',引入*Not* I酶切位点。*PML*上游引物: 5'-CGC GGA TCC ATG GAG CCT GCA CCC GCC CGA TC-3',引入*Bam*H I酶切位点;*PML*下游引物: 5'-ATTT GCG GCC GCT CAG CTC TGC TGG GAG GCC CTC

TCT G-3', 引入*Not*I酶切位点。*C-Myc* P2 Promoter 上游引物: 5'-TGC AGG ATA TCG ATC GCG CTG AGT ATA AAA GC-3', 引入*Eco*R V酶切位点; *C-Myc* P2 Promoter 下游引物: 5'-CCC AAG CTT GGA CTT CGG TGC TTA CCT GG-3'引入*Hind* III酶切位点。

1.2 标本来源

60例急性淋巴细胞白血病标本来源于本院血液科收诊的初诊患儿送检的白血病融合基因检测项目。本实验已获本院伦理委员会的批准, 并与家属签订了相应的知情同意书。

1.3 Western blot检测CTCF蛋白的表达

收集转染质粒48 h后的细胞, 用PBS洗涤两次, 加入细胞裂解液, 提取细胞总蛋白, 使用BCA试剂盒测定蛋白浓度后, 100 °C金属浴加热5 min进行变性。每个泳道以30 µg的上样量进行聚丙烯酰胺电泳(SDS-PAGE, 5%浓缩胶, 10%分离胶), 将胶上的蛋白电转至聚偏氟乙烯膜上, 用5%脱脂牛奶(5%脱脂奶粉溶于TBST溶液)封闭1 h, 然后孵育相应的一抗(抗体1:1 000)于4 °C低速摇床过夜。次日, 以TBST溶液洗膜三次, 每次15 min。常温孵育对应的二抗(抗体1:1 000)并孵育3 h, 放射显影。

1.4 实时定量PCR法检测CTCF及PML的mRNA表达量

Trizol-氯仿法提取样品中的总RNA, 临床样本使用的细胞为破红后的骨髓样本, 细胞样本为转染质粒后48 h的细胞。将获得的RNA用反转录试剂盒合成cDNA, 以*GAPDH*为模板, 根据Genebank中*CTCF*、*PML*及*GAPDH*的基因序列, 采用Primer3.0在线引物设计网站(<http://primer3.ut.ee/>)设计荧光定量引物。反应体系参照荧光定量PCR试剂盒的说明书配置, 反应条件为: 95 °C 5 min; 然后, 95 °C 1 min, 60 °C 34 s, 重复40个循环。于60 °C时收集荧光信号。

1.5 质粒构建

Trizol-氯仿法提取临床骨髓样本的RNA并反转录获得cDNA, 以cDNA为模板, 根据GeneBank数据库中*CTCF*、*PML*及*C-Myc*的基因序列及其上游启动子区序列的信息, 设计含对应酶切位点的*PML*和*CTCF*的翻译区全长及*c-Myc*和*CTCF*启动子区域的引物。使用Taq plus PCR MasterMix进行扩增, 反应条件为95 °C 5 min; 95 °C 30 s, 60 °C 30 s, 72 °C 3 min, 循环35次; 72 °C 10 min。将PCR产物于1%的琼脂糖凝胶上进行电泳。电泳后将大小符合预期的DNA

条带切下, 同时, 对载体进行酶切并1%琼脂糖电泳, 从胶上切下酶切好的线性载体。凝胶回收后, 将片段连接至相应的载体上, 并送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序验证, 从而构建完成pCMV-Flag-*CTCF*、pcDNA-*PML*、pGL4.14-*C-Myc*-P2 promoter以及pGL4.14-*CTCF* promoter质粒。

1.6 双荧光素报告基因检测

在24孔板中接种细胞, 各组PGL4.14报告载体与内参Renilla质粒比均为50:1, 各组转染的质粒总量以pcDNA空载质粒补齐至一致, 并设置三个重复孔。以lipo2000作为转染试剂进行转染, 转染的质量体积比(µg/µL)为1:2。使用Promega双荧光报告基因检测试剂盒进行检测, 收集转染质粒后24 h的293T细胞, 每孔用PBS小心清洗两次后吸干, 加入100 µL裂解液裂解20 min后吸取上清细胞裂解液于酶标仪测定荧光强度。数据处理方式为计算相对荧光强度(报告载体荧光强度/内参Renilla荧光强度)。

1.7 细胞转染

Western blot、荧光定量PCR及双荧光素报告基因检测实验中, 均设置对照组和实验组, 其中对照组为转染pcDNA空载质粒, 1:0组为*CTCF*转染量:*PML*转染量=1:0, 以此类推1:0.5组与1:2.5组。细胞接种后24 h以lipo2000为转染试剂进行转染, 转染的质粒体积比(µg/µL)为1:2。

1.8 统计学分析

应用SPSS 15.0统计软件进行统计学分析。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组计量资料比较采用*t*检验。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 儿童急性白血病患者中PML与CTCF的表达情况

Trizol-氯仿法提患儿血样中的RNA, 逆转录后通过荧光定量PCR的方法确定*CTCF*与*PML*的mRNA表达情况。我们分析了60例初诊ALL患者骨髓有核细胞中的*PML*及*CTCF*表达情况, 采用趋势分析的方法对两者表达情况存在的关系进行线性分析。结果表明, *PML*与*CTCF*在患者中的表达呈现负相关的关系(图1)。

2.2 PML对CTCF启动子区域的活性抑制

荧光素酶报告基因(Luciferase)可检测转录因子对启动子是否存在增强或减弱作用。为了解*PML*对

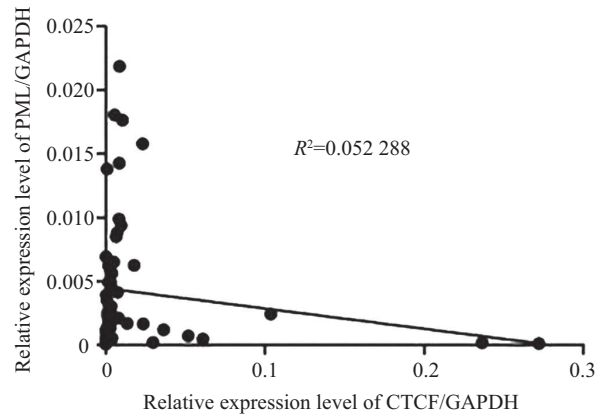


图1 PML与CTCF在患者中的表达呈现负相关

Fig.1 Negative correlation between PML and CTCF expression in patients

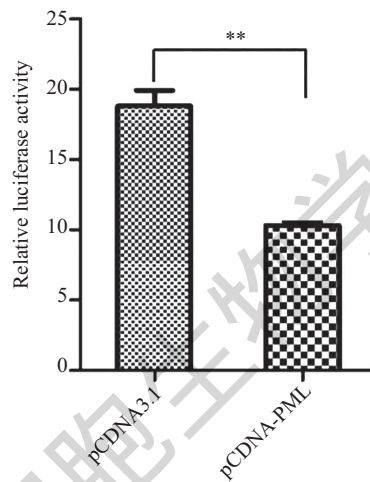


图2 PML抑制CTCF启动子的活性

Fig.2 PML inhibits CTCF promoter activity

** $P < 0.01$.

*CTCF*可能存在的调控方式, 根据Genebank中的序列信息设计引物, PCR反应扩增获得*CTCF*转录起始位点前1 000 bp的启动子区域, 将其构建至报告基因载体。将构建好的荧光报告载体与表达载体共同转染293T细胞后24 h, 收集细胞进行荧光值分析。结果显示, 与转染pcDNA3.1空载的对照组相比, 转染pcDNA-*PML*后, 荧光强度变弱, 说明*CTCF*启动子区的活性降低了, 这表明*PML*会抑制*CTCF*的启动子活性(图2)。

2.3 PML对*CTCF*在mRNA表达水平的影响

由于白血病细胞系难以用常规的脂质体及电转染进行转染, 为探究293T对*PML*与*CTCF*的调控关系, 本实验检测mRNA表达水平、蛋白表达水平以及双荧光素基因的表达情况。鉴于293T细胞自身的*CTCF*表达量很低, 在实验中通过转染*CTCF*表达质粒, 使293T细胞表达外源性*CTCF*, 与此同

时, 转染梯度浓度的*PML*表达质粒, 转染后48 h抽提RNA逆转录后使用荧光定量PCR的方法检测*CTCF*的表达量。结果发现, *CTCF* mRNA的表达水平随着*PML*表达量的增高而降低, 呈剂量依赖性(图3)。

2.4 PML对*CTCF*在蛋白水平的影响

293T细胞转染*CTCF*过表达质粒及梯度浓度的*PML*质粒48 h后, 抽提细胞蛋白进行Western blot检测*CTCF*的蛋白表达量。结果表明, 随着*PML*表达量的增加, *CTCF*蛋白表达的抑制效果越来越明显, 呈现与mRNA表达情况相似的趋势(图4)。

2.5 PML对*CTCF*转录调控活性的影响

研究表明, *CTCF*可通过结合*C-Myc*的启动子区并促进其表达^[19]。为此, 我们构建了*C-Myc*启动子区域的荧光报告质粒pGL4.14-*C-Myc*-P2 promoter, 通过荧光素报告基因的方式检测*PML*影响*CTCF*对该

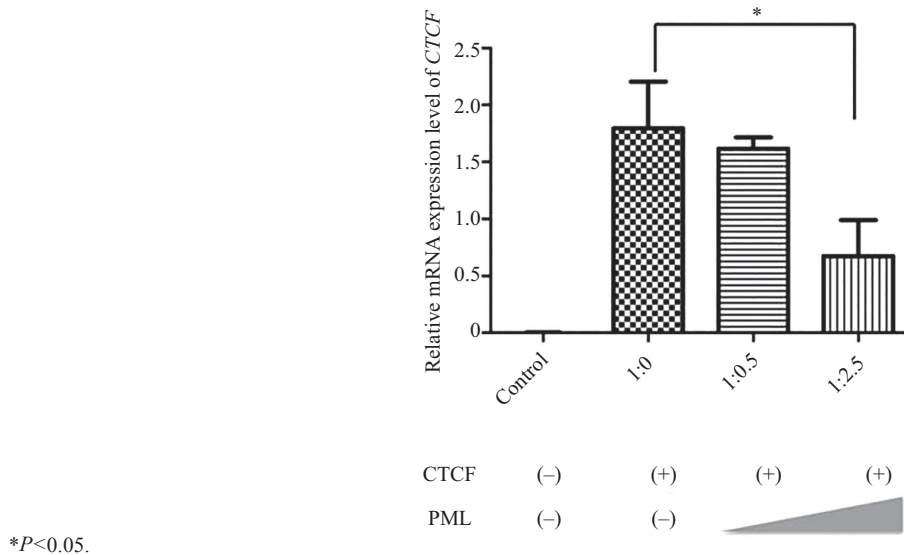
* $P < 0.05$.

图3 PML抑制外源性CTCF的mRNA表达

Fig.3 PML inhibits mRNA expression of exogenous CTCF in a dose dependent manner

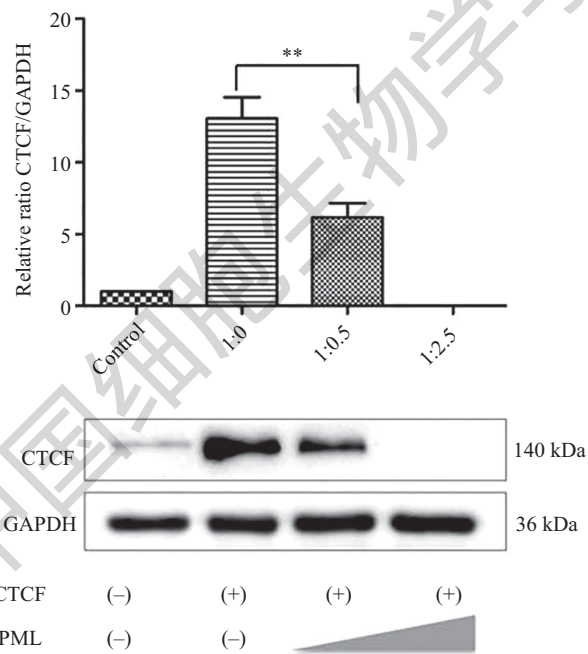
** $P < 0.01$.

图4 PML抑制CTCF的蛋白表达

Fig.4 PML inhibits protein expression of CTCF

启动子区域活性的调控情况。将C-Myc荧光报告质粒与CTCF表达质粒以及梯度浓度的PML表达质粒共同转染至293T中, 24 h后检测荧光值并分析。结果显示, 与对照组pGL4.14-C-Myc-P2 promoter相比, 在转入CTCF表达质粒后荧光强度有所增强。随着PML量的增加, 荧光强度呈现逐渐减弱的趋势。这表明, PML会抑制CTCF对C-Myc表达活性的激活作用(图5)。

2.6 PML影响CTCF下游靶基因C-Myc的表达水平

为了进一步证明PML能否在转录后水平上影响CTCF的下游靶基因C-Myc的表达, 将293T细胞转染CTCF过表达质粒及梯度浓度的PML质粒48 h后, 抽提细胞蛋白, 通过Western blot检测C-Myc的表达情况。结果显示, C-Myc的蛋白表达呈现与图3、图4中CTCF表达情况以及图5中C-Myc启动子区域活性变化相似的趋势, 即随着PML的增加而降低。实

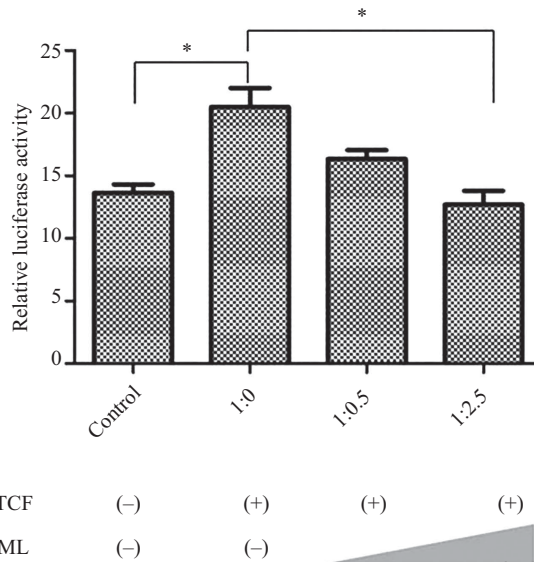
* $P < 0.05$.

图5 *PML*降低*CTCF*对*C-Myc*启动子区域的激活作用
Fig.5 *PML* reduces activation of *C-Myc* promoter region by *CTCF*

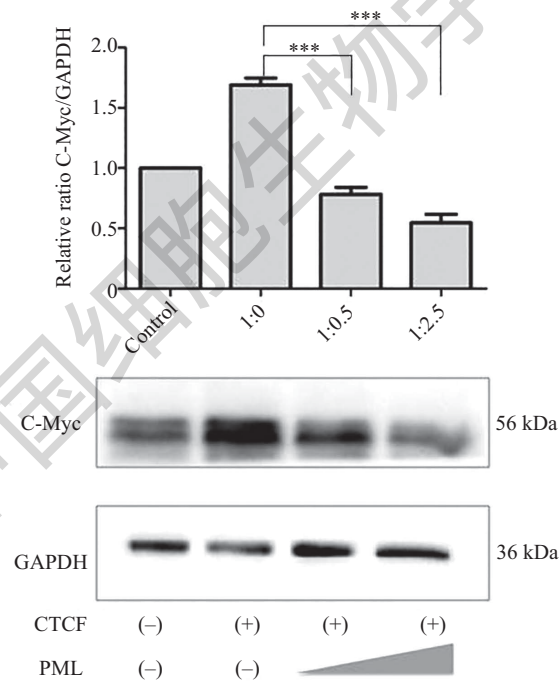
*** $P < 0.001$.

图6 *PML*抑制*CTCF*下游靶基因*C-Myc*的表达
Fig.6 *PML* inhibits the expression of *C-Myc* downstream of *CTCF*

验结果表明, *PML*通过抑制*CTCF*的表达, 影响了其下游靶基因*C-Myc*的表达(图6)。

3 讨论

*PML*作为肿瘤抑制因子, 在p53^[20]及PI3K/AKT^[21]等通路中起到关键作用, 促进肿瘤细胞凋亡。

*PML*在APL中发生基因断裂, 影响了*PML*小体的结构, 使用砷剂治疗能够恢复*PML*小体的结构。*PML*在儿童ALL中的作用尚不明确。我们在分析骨髓样品中基因表达谱时发现, *PML*与*CTCF*表达水平呈现负相关性, 推测*PML*在ALL中的作用可能与*CTCF*有关。*CTCF*与肿瘤的关系比较复杂, 一般认为

CTCF是一种重要的抑癌基因,通过调节*TP53*、*RB*、*C-Myc*、*hTERT*和*CDKN2A*等众多基因的表达来影响细胞生长、分化和衰老的过程^[22]。但是人们发现,CTCF能够抑制乳腺癌和肺癌细胞的凋亡^[23-24]。在乳腺癌细胞中,CTCF能够结合在凋亡蛋白*BAX*基因启动子上,抑制基因的转录,当CTCF表达水平增加时,*BAX*表达受阻,肿瘤细胞增殖加快,细胞呈现抗凋亡现象^[25]。我们在前期研究中发现,CTCF的表达水平随着患者的治疗情况呈现相应的波动:初诊患者CTCF表达水平增加,完全缓解后表达水平下降,复发后表达水平反弹,在白血病细胞中CTCF可能发挥着原癌基因的作用。

CTCF的功能广泛,且作用靶点众多,许多与其能够相互影响结合的蛋白。而同样作为通常认知中的肿瘤抑制因子PML,同样存在未知的作用。本研究通过分析临床样本得出在白血病中PML与CTCF存在负调控的关系,提示两种因子可能存在相互竞争的关系。在细胞学实验中发现,CTCF的启动子区域可能存在PML的结合区域,从而导致CTCF的启动子活性被抑制。PML会抑制CTCF的转录及翻译水平,使CTCF的mRNA及蛋白水平均下降。与此同时,PML可抑制CTCF对下游基因*C-Myc*的调控作用,使CTCF对下游基因的激活作用降低,同时降低了*C-Myc*蛋白的表达量。

由于白血病细胞系存在转染困难的情况,本实验采用工具细胞293T进行相关的机制研究,对PML与CTCF之间的调控关系提供了一些思路。利用基因编辑技术构建PML及CTCF过表达的白血病细胞系的工作正在进行中,在细胞系构建成功之后,将在白血病细胞系中进一步对以上结论进行验证。本研究将为寻找治疗白血病的新的药物靶点及诊断标准提供一种新的思路。

参考文献 (Reference)

- 1 Fiorentino FP, Giordano A. The tumor suppressor role of CTCF. *J Cell Physiol* 2012; 227(2): 479-92.
- 2 Marshall AD, Bailey CG, Rasko JE. CTCF and BORIS in genome regulation and cancer. *Curr Opin Genet Dev* 2014; 24: 8-15.
- 3 Qi CF, Martensson A, Mattioli M, Dalla-Favera R, Lobanenko VV, Morse HC 3rd. CTCF functions as a critical regulator of cell-cycle arrest and death after ligation of the B cell receptor on immature B cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(2): 633-8.
- 4 Kim S, Yu NK, Kaang BK. CTCF as a multifunctional protein in

- genome regulation and gene expression. *Exp Mol Med* 2015; 47: e166.
- 5 Qi CF, Kim YS, Xiang S, Abdullaev Z, Torrey TA, Janz S, *et al.* Characterization of ARF-BP1/HUWE1 interactions with CTCF, MYC, ARF and p53 in MYC-driven B cell neoplasms. *Int J Mol Sci* 2012; 13(5): 6204-19.
- 6 Pena-Hernandez R, Marques M, Hilmi K, Zhao T, Saad A, Alaoui-Jamali MA, *et al.* Genome-wide targeting of the epigenetic regulatory protein CTCF to gene promoters by the transcription factor TFII-I. *Proc Natl Acad Sci USA* 2015; 112(7): E677-86.
- 7 Lake RJ, Boetefuer EL, Won KJ, Fan HY. The CSB chromatin remodeler and CTCF architectural protein cooperate in response to oxidative stress. *Nucleic Acids Res* 2016; 44(5): 2125-35.
- 8 Zhang H, Zhu L, He H, Zhu S, Zhang W, Liu X, *et al.* NF-kappa B mediated up-regulation of CCCTC-binding factor in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Mol Cancer* 2014; 13: 5.
- 9 Torrano V, Chernukhin I, Docquier F, D'Arcy V, León J, Klenova E, *et al.* CTCF regulates growth and erythroid differentiation of human myeloid leukemia cells. *J Biol Chem* 2005; 280(30): 28152-61.
- 10 Manavathi B, Lo D, Bugide S, Imren S, Weiss MJ, Humphries RK. Functional regulation of pre-B-cell leukemia homeobox interacting protein 1 (PBXIP1/HPIP) in erythroid differentiation. *J Biol Chem* 2012; 287(8): 5600-14.
- 11 Daniel MT, Koken M, Romagne O, Barbey S, Bazarbachi A, Stadler M, *et al.* PML protein expression in hematopoietic and acute promyelocytic leukemia cells. *Blood* 1993; 82(6): 1858-67.
- 12 Chang HJ, Yoo BC, Kim SW, Lee BL, Kim WH. Significance of PML and p53 protein as molecular prognostic markers of gallbladder carcinomas. *Pathol Oncol Res* 2007; 13(4): 326-35.
- 13 Chen RH, Lee YR, Yuan WC. The role of PML ubiquitination in human malignancies. *J Biomed Sci* 2012; 19: 81.
- 14 Carracedo A, Weiss D, Lelijaert AK, Bhasin M, de Boer VC, Laurent G, *et al.* A metabolic prosurvival role for PML in breast cancer. *J Clin Invest* 2012; 122(9): 3088-100.
- 15 Kuo HY, Huang YS, Tseng CH, Chen YC, Chang YW, Shih HM, *et al.* PML represses lung cancer metastasis by suppressing the nuclear EGFR-mediated transcriptional activation of MMP2. *Cell Cycle* 2014; 13(19): 3132-42.
- 16 Plevova P, Bouchal J, Fiuraskova M, Papezová M, Krepelová A, Curik R, *et al.* PML and TRF2 protein expression in hereditary and sporadic colon cancer. *Neoplasma* 2007; 54(4): 269-77.
- 17 Chatterjee A, Chatterjee U, Ghosh MK. Activation of protein kinase CK2 attenuates FOXO3a functioning in a PML-dependent manner: implications in human prostate cancer. *Cell Death Dis* 2013; 4: e543.
- 18 Xue Y, Li L, Zhang D, Wu K, Guo P, Zeng J, *et al.* Telomerase suppression initiates PML-dependent p53 activation to inhibit bladder cancer cell growth. *Oncol Rep* 2010; 24(6): 1551-9.
- 19 Gombert WM, Krumm A. Targeted deletion of multiple CTCF-binding elements in the human C-MYC gene reveals a requirement for CTCF in C-MYC expression. *PLoS One* 2009; 4(7): e6109.
- 20 Wimmer P, Berscheminski J, Blanchette P, Groitl P, Branton PE, Hay RT, *et al.* PML isoforms IV and V contribute to

- adenovirus-mediated oncogenic transformation by functionally inhibiting the tumor-suppressor p53. *Oncogene* 2016; 35(1): 69-82.
- 21 Ito K, Bernardi R, Pandolfi PP. A novel signaling network as a critical rheostat for the biology and maintenance of the normal stem cell and the cancer-initiating cell. *Curr Opin Genet Dev* 2009; 19(1): 51-9.
- 22 Renaud S, Loukinov D, Alberti L, Vostrov A, Kwon YW, Bosman FT, *et al.* BORIS/CTCF-mediated transcriptional regulation of the hTERT telomerase gene in testicular and ovarian tumor cells. *Nucleic Acids Res* 2011; 39(3): 862-73.
- 23 Fiorentino FP, Macaluso M, Miranda F, Montanari M, Russo A, Bagella L, *et al.* CTCF and BORIS regulate Rb2/p130 gene transcription: a novel mechanism and a new paradigm for understanding the biology of lung cancer. *Mol Cancer Res* 2011; 9(2): 225-33.
- 24 Docquier F, Farrar D, D'Arcy V, Chernukhin I, Robinson AF, Loukinov D, *et al.* Heightened expression of CTCF in breast cancer cells is associated with resistance to apoptosis. *Cancer Res* 2005; 65(12): 5112-22.
- 25 Mendez-Catala CF, Gretton S, Vostrov A, Pugacheva E, Farrar D, Ito Y, *et al.* A novel mechanism for CTCF in the epigenetic regulation of Bax in breast cancer cells. *Neoplasia* 2013; 15(8): 898-912.

中国细胞生物学学报