

## ZIC1 基因过表达激活 P53 信号通路抑制胸膜间皮瘤细胞增殖

邓勇军<sup>1)</sup>, 陈倩<sup>2)</sup>, 邹建彬<sup>1)</sup>, 宫政<sup>1)</sup>, 刘焕鹏<sup>1)</sup>  
(1) 云南大学附属医院胸外科, 云南昆明 650021;  
(2) 大理大学公共卫生学院, 云南大理 671000)

**[摘要]** **目的** 探讨小脑锌指结构 1(ZIC1) 基因过表达对胸膜间皮瘤 SMC-1 细胞增殖、凋亡的影响以及相应的机制。**方法** 用携带 ZIC1 基因的慢病毒颗粒转染 SMC-1 细胞作为过表达组, 用空载慢病毒颗粒感染 SMC-1 细胞作为空载体组, 将常规培养未进行转染的 SMC-1 细胞作为空白对照组, 采用 Western blot 在蛋白水平检测 3 组细胞中 ZIC1 蛋白的表达情况; 采用 CCK-8 细胞增殖试验检测各组细胞增殖能力, Hoechst-PI 双染法检测各组细胞凋亡情况; 采用 Western blot 检测 P53 介导的细胞凋亡信号通路的主要基因 P53、P21、MDM2 及 P53 磷酸化位点 Ser392 蛋白表达水平。**结果** 与空载体组和对照组相比, ZIC1 过表达组中 ZIC1 蛋白的表达明显增高, 差异有统计学意义( $F=4.665$ ,  $P=0.036$ ); ZIC1 过表达组中肿瘤细胞的增殖活性明显减弱, 而肿瘤细胞的凋亡明显增加, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); ZIC1 基因过表达组中 P53 信号通路中的主要基因 P53、P21、MDM2 及 P53-Ser392 蛋白表达均明显增加( $P<0.05$ )。**结论** ZIC1 基因过表达可以抑制胸膜间皮瘤 SMC-1 细胞增殖, 促进其凋亡, 其可能的机制为通过上调 P53 基因磷酸化位点的表达激活 P53 基因介导的细胞凋亡信号通路来实现。

**[关键词]** ZIC1; 胸膜间皮瘤细胞; P53 通路; 细胞增殖; 细胞凋亡

**[中图分类号]** R734.3 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)04-0035-06

## Overexpression of ZIC1 Gene Inhibits Proliferation of Pleural Mesothelioma Cells by Activating P53 Signaling Pathway

DENG Yongjun<sup>1)</sup>, CHEN Qian<sup>2)</sup>, ZOU Jianbin<sup>1)</sup>, GONG Zheng<sup>1)</sup>, LIU Huanpeng<sup>1)</sup>  
(1) Dept. of Thoracic Surgery, Affiliated Hospital of Yunnan University, Kunming Yunnan 650021; 2) School of Public Health, Dali University, Dali Yunnan 671000, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of cerebellar zinc finger structure 1 (ZIC1) gene overexpression on the proliferation and apoptosis of pleural mesothelioma cells (SMC-1 cells) and the corresponding molecular mechanism. **Methods** SMC-1 cells were transfected with lentivirus particles carrying ZIC1 gene as the experimental group, infected with empty lentivirus particles as the control group, and conventional cultured untransfected SMC-1 cells as the blank control group. Western blot was used to detect the expression of ZIC1 protein in the three groups. CCK-8 cell proliferation assay was used to detect the proliferation ability of each group, and Hoechst-PI double staining was used to detect the apoptosis of each group. The protein expression levels of P53, P21, MDM2 and P53 phosphorylation site Ser392 in P53-mediated apoptosis signaling pathway were detected by Western blot. **Results** Compared with the empty vector group and the control group, the expression of ZIC1 protein in the ZIC1 overexpression group was significantly increased, with a statistically significant difference ( $F=$

**[收稿日期]** 2023-12-21

**[基金项目]** 云南省科技厅-昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目(202001AY0001-089); 云南省兴滇英才支持计划 2020 年名医专项基金资助项目(YNWR-MY-2020-048)

**[作者简介]** 邓勇军(1972~), 男, 湖北天门人, 医学博士, 主任医师, 主要从事胸外科疾病的微创手术治疗、胸部肿瘤基础与临床研究、胸膜间皮瘤表观遗传学研究。

**[通信作者]** 邓勇军, E-mail: thoraces@163.com

4.665,  $P = 0.036$ ). Compared with the control group, the proliferation ability of SMC-1 cells in the ZIC1 overexpression group was significantly reduced, while the apoptosis of tumor cells was significantly increased, with a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ). The main genes P53, P21, MDM2, and P53 Ser392 protein expression in the P53 signaling pathway in the ZIC1 gene overexpression group were significantly increased. **Conclusion** Overexpression of ZIC1 gene can inhibit the proliferation of pleural mesothelioma SMC-1 cells and promote their apoptosis. The possible mechanism is to activate the P53 gene mediated apoptosis signaling pathway by upregulating the expression of P53 gene phosphorylation sites.

[**Key words**] ZIC1; Pleural mesothelioma cells; P53 signal pathway; Proliferation; Apoptosis

恶性胸膜间皮瘤 (malignant pleural mesothelioma, MPM) 是 1 种相对罕见的发生于胸膜间皮细胞的侵袭性恶性肿瘤<sup>[1]</sup>, 虽然 MPM 被归类为 1 种相对罕见的恶性肿瘤, 但它是所有间皮瘤中最常见的 1 种, 是 1 种高度侵袭性和致死性癌症, MPM 的预后通常较差, 据报道, 诊断后的中位总生存期约为 1 a<sup>[2]</sup>, 且尚无明确治愈方法。MPM 的发生与发展是由于 MPM 细胞增殖及侵袭的结果, 而 MPM 细胞的增殖与侵袭受到包括癌基因、抑癌基因和细胞因子等多因素的调节<sup>[3]</sup>。小脑锌指结构 1 (zinc finger of the cerebellum gene1, ZIC1) 在小脑中强烈表达, 因此被命名为小脑锌指结构蛋白, 实际上它是 1 种转录因子, 该因子不仅在脊椎动物的神经嵴和小脑的发育中起着关键作用<sup>[4-5]</sup>, 而且在一些肿瘤的发生发展过程中也起着促癌基因或者抑癌基因的作用, 在胃癌中 ZIC1 的低表达淋巴结转移和胃癌患者的不良预后相关, 并且 ZIC1 能抑制胃癌的转移<sup>[6]</sup>; 在肝癌中 ZIC1 敲低促进肝癌细胞自我更新和增殖, 同时减弱细胞凋亡, 并伴有异种移植肿瘤的加速形成和转移<sup>[7]</sup>。另外 ZIC1 能促进成骨<sup>[8]</sup>, 并且和椎骨转移相关<sup>[9]</sup>。目前, 对 ZIC1 基因在恶性胸膜间皮瘤中的作用的研究相对较少, 那么, 在恶性胸膜间皮瘤的发生、发展过程中, ZIC1 基因究竟扮演着什么角色呢? 为了进一步探讨这一问题, 本研究通过构建慢病毒介导的 ZIC1 表达载体, 并稳定转染至胸膜间皮瘤 SMC-1 细胞中, 观察转染 ZIC1 基因对胸膜间皮瘤细胞增殖、凋亡的影响及可能的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究材料

**1.1.1 细胞株与质粒** 人间皮瘤细胞 (SMC-1 细胞) 购自中国科学院细胞库, 含 ZIC1 基因的慢病毒质粒及空质粒由吉玛公司构建。

**1.1.2 主要仪器及试剂** CO<sub>2</sub> 恒温培养箱 (Termo Forma 公司, 美国)、Fresco-17 型台式高速低温离心机 (Termo Scientific 公司, 美国)、7900T 实时荧光定量聚合酶链式反应 (RT-qPCR) 仪、Western bolt 装置、RPMI-1640 培养基 (Corning 公司); 胎牛血清 (FBS, 上海康晟生物科技有限公司); 青链霉素混合液 (北京华越洋生物科技有限公司), 磷酸缓冲生理盐水 (PBS)、胰蛋白酶及无血清培养基 (购自康为生物科技有限公司), Trizol 购自 Invitrogen 公司、羊抗人 ZIC1 多克隆抗体购自 Santa Cruz 公司, BCA 蛋白测定试剂盒、RIPA 裂解液 (中) 购自碧云天生物技术研究所。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 胸膜间皮瘤细胞培养** 将胸膜间皮瘤 SMC-1 细胞接种于 T25 培养瓶, 以 1640 完全培养基 (含 10% FBS 和 1% 双抗) 置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养, 每 2 d 换液, 待细胞密度达到 70%~80% 时, 用胰酶消化后传代, 取对数生长期的细胞进行实验。

**1.2.2 慢病毒载体 pLV-ZIC1-PGK-Puro 的构建及细胞转染** 慢病毒载体 pLV-ZIC1-PGK-Puro 的构建参照笔者前期的实验方法<sup>[10]</sup>, 在转染前 22 h 将处于对数生长期的细胞用胰酶消化, 按  $3 \times 10^3$  个细胞/孔浓度接种于 6 孔板内, 37℃ 培养至细胞密度为 70%~80% 时, 加入含 ZIC1 载体的病毒悬液, 构建稳定的 ZIC1 质粒转染细胞株, 操作按试剂说明书进行, 构建成功后继续在培养箱中培养 48 h。

**1.2.3 实验分组** 按实验目的将细胞分为 3 组: (1) Zic1 过表达组: 用上述方法构建的 pcDNA3.1-ZIC1 质粒载体和 pcDNA3.1 转染 SMC-1 细胞; (2) 空载体组: 用 pcDNA3.1 空载质粒转染 SMC-1 细胞; (3) 空白对照组: 常规培养未进行转染的 SMC-1 细胞。

**1.2.4 细胞总蛋白提取** 细胞转染质粒 48 h 后, 六孔板内加入蛋白酶抑制剂和细胞裂解液, 提取

细胞总蛋白, 采用 BCA 测蛋白浓度试剂盒, 按照说明书操作方法测定蛋白浓度, 分装后置于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱备用, 同时提取阴性对照组和空白对照组的细胞总蛋白。

**1.2.5 Western blot 检测各组蛋白表达水平** 配制分离胶及浓缩胶, 并以所提取的各组蛋白作为样品, 放置于  $80\text{ V}$  电泳  $120\text{ min}$ , 用  $20\text{ V}$  电压半干转至 PVDF 膜  $20\text{ min}$ , 快速封闭液封闭  $20\text{ min}$ , TBST 漂洗  $5\text{ min} \times 4$  次, 随后将兔抗人 ZIC1 单克隆抗体 ( $1:2000$ ) 及鼠抗人  $\beta$ -actin 单克隆抗体 ( $1:8000$ ) 用含 PBST 封闭液稀释后分别加入孵育体系,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, TBST 漂洗  $5\text{ min} \times 4$  次后, 加入二抗孵育  $2\text{ h}$ , TBST 漂洗  $5\text{ min} \times 4$  次, 采用化学发光底物进行曝光。

**1.2.6 CCK-8 细胞增殖试验** 采用 CCK-8 (cell counting kit-8) 细胞增殖试验试剂盒对 SMC-1 细胞增殖能力进行检测, 将 3 组肿瘤细胞以  $4 \times 10^3$ /孔的密度, 均匀种于 96 孔板中, 采用 CCK-8 试剂盒检测 3 组 SMC-1 细胞 72 h 内的增殖能力, 每孔加入  $10\text{ }\mu\text{L}$  预先混匀的 CCK-8 试剂以及  $100\text{ }\mu\text{L}$  新鲜 PRIM-1640 培养液,  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  环境下将其孵化  $2\text{ h}$ , 在酶联免疫检测仪上于  $450\text{ nm}$  波长处测量吸光度值 (OD 值)。检测时间为接种细胞后以细胞贴壁时为  $0\text{ h}$ , 贴壁后  $8\text{ h}$ 、 $12\text{ h}$ 、 $24\text{ h}$ 、 $36\text{ h}$ 、 $48\text{ h}$  和  $72\text{ h}$ , 定时检测各孔 OD 值, 设置 3 个平行组, 每次实验重复 3 次。

**1.2.7 Hoechst-PI 双染色法检测细胞凋亡** 按照细胞密度为  $2.5 \times 10^5$  个/孔分别将 3 组细胞接种于 6 孔板中培养  $72\text{ h}$ , 中间  $24\text{ h}$  时更换 1 次新鲜培

养基, 弃原有培养液, 每孔加入  $1\text{ mL}$  PBS 洗涤, 随后加入  $5\text{ }\mu\text{L}$  Hoechst 染色液和  $5\text{ }\mu\text{L}$  PI 染色液, 混匀, 室温下避光孵育  $20\text{ min}$ 。用 PBS 洗去多余染色液, 并在各孔内加  $100\text{ }\mu\text{L}$  PBS 洗涤, 用荧光显微镜观察细胞染色情况。结果判断: 经 Hoechst 染色后可见细胞亮蓝色亮点为细胞早期凋亡的表现, 而 PI 染色的细胞可见呈红色亮点, 为细胞晚期凋亡现象, 将二者结合起来, 可以很好地鉴定凋亡细胞。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 软件与 GraphPad Prism5.0 软件进行统计分析, 计量资料用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用  $t$  检验、单因素方差分析或重复测量的方差分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 胸膜间皮瘤细胞中 ZIC1 蛋白的表达

Western blot 检测结果显示, 3 组细胞中 ZIC1 的相对蛋白表达量分别为: ZIC1 蛋白过表达组 ( $0.785 \pm 0.021$ )、空载体组 ( $0.373 \pm 0.019$ )、空白组 ( $0.358 \pm 0.022$ ), 见表 1。统计学分析表明, ZIC1 过表达组的蛋白表达量明显高于空白组及空载体组的蛋白含量, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 而空白组与空载体组相比较, 两者无明显差异 ( $F = 2.356$ ,  $P = 0.886$ )。表明 ZIC1 基因已经成功转染至胸膜间皮瘤 SMC-1 细胞中, 并且将会在一定时间内持续高表达, 而在阴性对照组及空白对照组中则不表达或者低表达, 见图 1。

表 1 ZIC1 在各组细胞中的蛋白表达

Tab. 1 The ZIC1 protein expression in tumor cells of each group

组别	ZIC1 过表达组	空载体组	空白组	$F$	$P$
相对表达量	$0.785 \pm 0.021$	$0.373 \pm 0.019$	$0.358 \pm 0.022$	4.665	0.036*

\* $P < 0.05$ 。

### 2.2 各组细胞的增殖活性的比较

CCK-8 细胞增殖试验所测得的各组 OD 值, 见表 2。以测定时间为横坐标, OD 值为纵坐标, 绘制肿瘤细胞生长曲线图, 见图 2。统计学分析表明, 在  $48\text{ h}$  之前, 3 组细胞的 OD 值两两比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。而在  $48\text{ h}$  之后, ZIC1 过表达组的细胞增殖活性明显低于空白组及空载体组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。而空载体组与空白组的细胞增殖能力比较, 两者差异无

统计学意义 ( $P > 0.05$ )。可见 ZIC1 过表达组的间皮瘤细胞的增殖活性明显受到抑制, 提示恶性胸膜间皮瘤细胞中 ZIC1 基因的过表达能够抑制肿瘤细胞的增殖。

### 2.3 ZIC1 过表达对胸膜间皮瘤细胞凋亡的影响

过表达 ZIC1 蛋白组的肿瘤细胞凋亡明显增加, 见图 3。在双变量流式细胞仪的散点图上, 这 3 群细胞表现分别为: 正常细胞为低蓝色/低红色 (Hoechst 33342+/PI+), 凋亡细胞为高蓝色/低红色

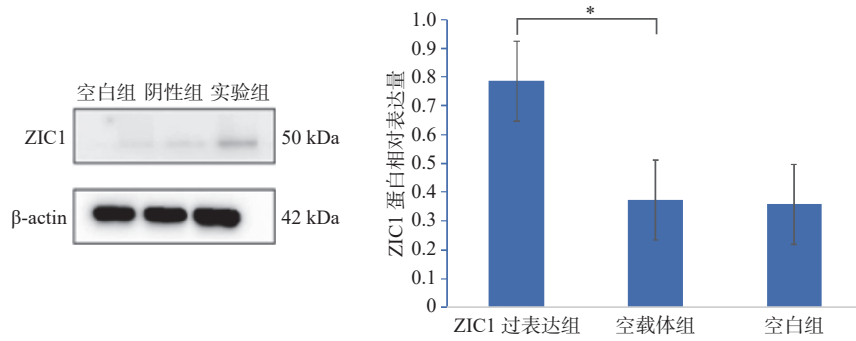


图 1 ZIC1 在各组细胞中的蛋白表达情况

Fig. 1 The ZIC1 protein expression in tumor cells of each group

Mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ , \* $P < 0.05$ 。

表 2 各实验组在不同时间点的 OD 值

Tab. 2 The optical density value of each group cell at different time points

分组	8 h	12 h	24 h	36 h	48 h	72 h
ZIC1过表达组	0.677 $\pm$ 0.016	0.788 $\pm$ 0.018	0.913 $\pm$ 0.021	0.988 $\pm$ 0.017	1.023 $\pm$ 0.022	1.165 $\pm$ 0.020
空载体组	0.798 $\pm$ 0.022	0.878 $\pm$ 0.024	1.233 $\pm$ 0.023	1.355 $\pm$ 0.016	2.238 $\pm$ 0.023	3.266 $\pm$ 0.018
空白组	0.836 $\pm$ 0.023	0.955 $\pm$ 0.027	1.311 $\pm$ 0.026	1.402 $\pm$ 0.022	2.548 $\pm$ 0.028	3.476 $\pm$ 0.023

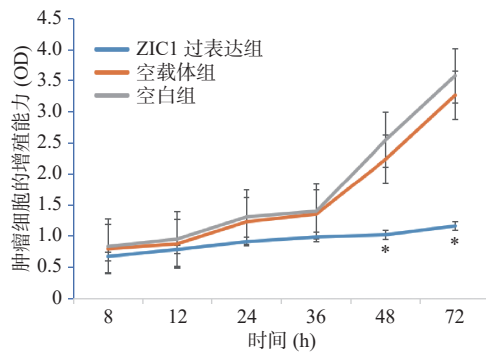
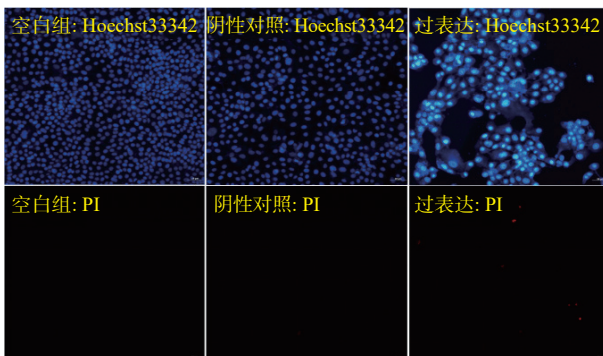


图 2 3 组肿瘤细胞的增殖能力比较

Fig. 2 The ability of cell proliferation of three groups

Mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ , \* $P < 0.05$ 。图 3 3 组胸膜间皮瘤细胞凋亡情况( $\times 200$ )Fig. 3 Apoptosis of pleural mesothelioma cells in the 3 groups ( $\times 200$ )

采用 HO-PI 染色进行检测, 红色荧光细胞为晚期凋亡或死亡细胞, 蓝色荧光较亮的细胞为早期凋亡细胞, 其他蓝色荧光强度较弱的细胞显示为活细胞和自然细胞。

(Hoechst 33342+/PI+), 坏死细胞为低蓝色/高红色(Hoechst 33342+/PI++)。

## 2.4 ZIC1 蛋白过表达对间皮瘤细胞中 P53 信号通路中关键蛋白表达的影响

为了进一步探索 ZIC1 过表达对间皮瘤细胞抑制作用的分子机制, 采用 Western blot 技术检测了细胞内 P53 介导的凋亡信号通路中一些关键蛋白的表达情况, 包括 P53 蛋白、P53 磷酸化位点 Ser392、负反馈调节因子 MDM2 以及细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂 P21, 结果发现 P53 蛋白表达水平明显上升 ( $P < 0.05$ ), P53 磷酸化位点 Ser392 的表达水平也明显上升 ( $P < 0.05$ ), 其下游基因 P21 及 MDM2 的表达水平也明显升高 ( $P < 0.05$ ), 见图 4。这表明 ZIC1 蛋白过表达能够通过激活 P53 介导的凋亡通路来促进细胞的凋亡, 从而抑制胸膜间皮瘤细胞的生长。

## 3 讨论

### 3.1 恶性胸膜间皮瘤中 ZIC1 过表达的意义及其对肿瘤的影响

尽管目前针对信号传导通路的靶向治疗以及免疫治疗在一些恶性肿瘤如肺癌的治疗中获得了巨大的成功, 这些传导途径包括细胞周期调节、细胞凋亡、生长因子途径和血管生成<sup>[11]</sup>。但不幸的是, 针对这些分子过程的临床试验显示, 这些治疗手段借鉴到恶性胸膜间皮瘤上, 对 MPM 的

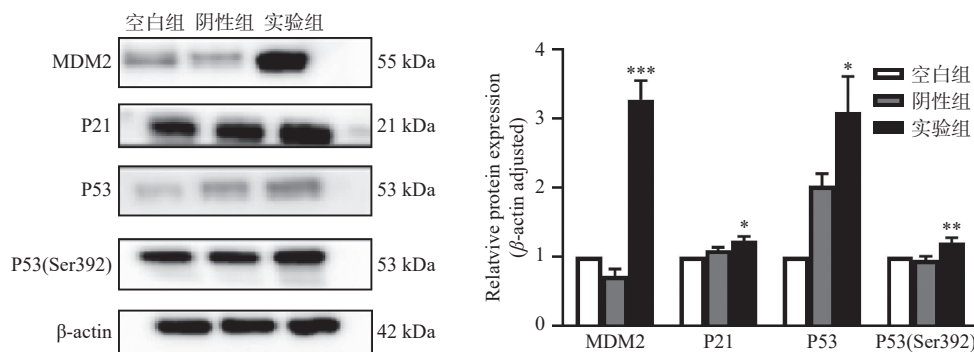


图4 MDM2、P21、P53及P53(Ser392)在各组细胞中的蛋白表达情况

Fig. 4 The proteins expression of MDM2、P21、P53 and P53(Ser392) in each group of cells

Mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ , \* $P < 0.05$ ; \*\* $P < 0.01$ ; \*\*\* $P < 0.001$ .

疗效非常有限,甚至完全无效<sup>[12]</sup>。因此,需要对MPM的驱动基因、信号传导通路进一步研究。

ZIC1基因是1种锌指转录因子,以前的研究发现该基因在神经系统的生长发育、肌肉细胞的产生以及骨骼发育中发挥着重要作用,最近的研究发现该基因在一些肿瘤中被公认为是1种抑癌基因,例如ZIC1在宫颈癌、胃癌、脂肪肉瘤中处于过度表达状态,提示ZIC1在该类肿瘤中发挥着抑癌基因的作用它可以通过激活或者抑制一些信号传到通路来抑制肿瘤细胞生长<sup>[13]</sup>。此外,ZIC1的高表达已成为一些肿瘤预后良好的潜在生物标记物<sup>[14]</sup>。本研究探讨了ZIC1基因过表达对胸膜间皮瘤SMC-1细胞增殖、凋亡的影响以及相应的机制,结果表明其在胸膜间皮瘤中起着抑癌基因的作用,其可能的作用机制为ZIC1基因过表达激活P53介导的细胞凋亡信号通路来实现。

由于ZIC1基因在多个间皮瘤细胞株中处于沉默表达或者表达下降状态,因此在本研究中,笔者选择采用SMC-1细胞株转染真核表达质粒,结果发现胸膜间皮瘤SMC-1细胞在经过ZIC1过表达质粒成功转染之后,其增殖活力明显下降,而细胞的凋亡明显增加,提示ZIC1蛋白的过表达可以明显抑制胸膜间皮瘤细胞的增殖,并促进肿瘤细胞凋亡,这表明ZIC1基因在胸膜间皮瘤中和在大多数恶性肿瘤中一样,起着抑癌基因的作用。

### 3.2 ZIC1通过激活P53及其下游相关分子对肿瘤产生影响

细胞凋亡是在内在的信号通路调控下发生的1种精确的程序性细胞死亡,已知由P53基因介导的信号传导通路是目前最常见的细胞凋亡调控通路,此外P53介导的肿瘤细胞凋亡对抑制肿瘤细胞的生长也具有重要作用<sup>[15]</sup>。因此,为了探讨ZIC1蛋白过表达对胸膜间皮瘤细胞增殖的抑制作

用及促进其凋亡的作用机制,笔者检测了P53基因介导的肿瘤细胞凋亡信号通路中一些关键蛋白的表达情况,结果发现当过表达质粒ZIC1片段成功转染进入到SMC-1细胞后,P53基因表达上调,其下游的凋亡基因如MDM2和P21的表达也会发生上调,从而促进SMC-1细胞凋亡。由此推断其作用机制为在SMC-1细胞中过表达的ZIC1蛋白通过激活P53信号通路来促进恶性胸膜间皮瘤细胞的凋亡并抑制肿瘤细胞增殖。事实上,在其类似的研究中也发现,在细胞凋亡反应中,P53基因可以通过调控激活多个下游靶基因如MDM2和PUMA等的活性来共同发挥作用<sup>[14]</sup>,被激活的P53基因也可以通过调节P21基因的活性来诱导细胞周期阻滞来促进细胞凋亡<sup>[16]</sup>。

P53基因的修饰方式(即活化方式)主要有磷酸化及乙酰化2种方式,在本研究中,笔者进一步探讨了P53基因的活化机制,发现P53基因的主要磷酸化位点Ser392的表达明显上调,这表明在本实验中P53基因的磷酸化修饰对该基因的激活发挥了重要的作用。到目前为止,已经发现关于P53磷酸化的位点有30个,磷酸化的位点不同,其所起的作用也不同,例如位点Ser6和Ser9的磷酸化可以通过TGF- $\beta$ 通路促进肿瘤发生和癌细胞的转移<sup>[17]</sup>,而位点Ser15和Ser20的磷酸化修饰可以影响细胞的周期阻滞和DNA损伤修复<sup>[18-19]</sup>。而在本研究中笔者发现,当ZIC1过表达质粒转入SMC-1细胞后,P53基因磷酸化的位点为Ser392,其蛋白水平和活性发生改变,P53的稳定性及与反应原件的结合能力发生改变,从而启动细胞周期阻滞、凋亡、衰老和分化等细胞学效应。

综上所述,本研究证实了在胸膜间皮瘤细胞中,ZIC1蛋白过表达可以抑制肿瘤细胞的增殖并

促进肿瘤细胞凋亡, 其可能的作用机制为通过上调磷酸化位点 Ser392 的表达来激活 P53 基因介导的信号通路来实现的, 表明 ZIC1 蛋白在胸膜间皮瘤的发生和发展中起到抑癌基因的作用。

### [参考文献]

- [1] Baas P, Schouwink H, Zoetmulder F A. Malignant pleural mesothelioma[J]. *Ann Oncol*, 1998, 9(2): 139-149.
- [2] Saddoughi S A, Abdelsattar Z M, Blackmon S H. National trends in the epidemiology of malignant pleural mesothelioma: A national cancer data base study[J]. *The Annals of Thoracic Surgery*, 2018, 105(2): 432-437.
- [3] Perera N D, Mansfield A S. The evolving therapeutic landscape for malignant pleural mesothelioma[J]. *Current Oncology Reports*, 2022, 24(11): 1413-1423.
- [4] Han W, Cao F, Gao X J, et al. ZIC1 acts a tumor suppressor in breast cancer by targeting survivin[J]. *International Journal of Oncology*, 2018, 53(3): 937-948.
- [5] Iyer A S, Shaik M R, Raufman J P, et al. The roles of zinc finger proteins in colorectal cancer[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(12): 10249.
- [6] Ge Q, Hu Y, He J, et al. Zic1 suppresses gastric cancer metastasis by regulating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and epithelial-mesenchymal transition[J]. *The FASEB Journal*, 2020, 34(2): 2161-2172.
- [7] Hou Y, Chen K, Liao R, et al. LINC01419-mediated epigenetic silencing of ZIC1 promotes metastasis in hepatocellular carcinoma through the PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Laboratory Investigation*, 2021, 101(5): 570-587.
- [8] Thottappillil N, Gomez-Salazar MA, Xu M, et al. ZIC1 dictates osteogenesis versus adipogenesis in human mesenchymal progenitor cells via a Hedgehog dependent mechanism[J]. *Stem Cells*, 2023, 41(9): 862-76.
- [9] Sun J, Hu L, Bok S, et al. A vertebral skeletal stem cell lineage driving metastasis[J]. *Nature*, 2023, 621(7979): 602-609.
- [10] 莫世贤, 邓勇军, 刘焕鹏, 等. Fibulin-3 表达对恶性胸膜间皮瘤细胞的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2019(3): 448-453.
- [11] Scherpereel A, Wallyn F, Albelda S M, et al. Novel therapies for malignant pleural mesothelioma[J]. *The Lancet Oncology*, 2018, 19(3): e161-e72.
- [12] Bronte G, Incorvaia L, Rizzo S, et al. The resistance related to targeted therapy in malignant pleural mesothelioma: Why has not the target been hit yet?[J]. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 2016, 107: 20-32.
- [13] Liu S, Liu X, Lin X, et al. Zinc finger proteins in the war on gastric cancer: Molecular mechanism and clinical potential[J]. *Cells*, 2023, 12(9): 1314.
- [14] Ma G, Dai W, Sang A, et al. Roles of ZIC family genes in human gastric cancer[J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2016, 38(1): 259-266.
- [15] Hata AN, Rowley S, Archibald H L, et al. Synergistic activity and heterogeneous acquired resistance of combined MDM2 and MEK inhibition in KRAS mutant cancers[J]. *Oncogene*, 2017, 36(47): 6581-6591.
- [16] Shen W, Tong D, Chen J, et al. Silencing oncogene cell division cycle associated 5 induces apoptosis and G1 phase arrest of non-small cell lung cancer cells via P53-p21 signaling pathway[J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2022, 36(5): e24396.
- [17] Lucchesi C A, Zhang J, Ma B, et al. Disruption of the Rbm38-eIF4E complex with a synthetic peptide Pep8 increases P53 expression[J]. *Cancer Research*, 2019, 79(4): 807-818.
- [18] Ma Z, Liu X, Zhang Q, et al. Carvedilol suppresses malignant proliferation of mammary epithelial cells through inhibition of the ROS-mediated PI3K/AKT signaling pathway[J]. *Oncology Reports*, 2019, 41(2): 811-818.
- [19] Nicolaou S T, Kannan S, Warwicker J, et al. Activation of P53: How phosphorylated Ser15 triggers sequential phosphorylation of P53 at Thr18 by CK1  $\delta$  [J]. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, 2022, 90(12): 2009-2022.