

组蛋白乙酰化激活人脑胶质瘤中胶质细胞源性神经 营养因子转录的机制研究*

王建村, 全兴云, 彭定婷, 胡观成[△]

张家界市人民医院 神经外科 (张家界 427000)

【摘要】 目的 研究组蛋白乙酰化对人脑胶质瘤中胶质细胞源性神经营养因子基因(*GDNF*)的表达调控和具体机制。**方法** 取正常人脑组织、低级别胶质瘤脑组织(LG-glioma)、高级别胶质瘤脑组织(HG-glioma)各6例。用组蛋白乙酰化酶抑制剂和组蛋白去乙酰化酶抑制剂处理人脑神经胶质瘤 U251 细胞。实时荧光定量 PCR 检测脑组织及细胞中的 *GDNF* mRNA 水平,染色质免疫共沉淀(ChIP)-PCR 检测 *GDNF* 启动子区转录因子 cAMP 应答元件结合蛋白(CREB)结合位点的 H3K9 乙酰化水平,以及转录因子 CREB 与 *GDNF* 启动子区的结合能力,同时检测组蛋白乙酰化酶和脱乙酰化酶抑制剂对转录因子 CREB 结合能力和 *GDNF* 表达的影响。**结果** 与正常脑组织和低级别脑胶质瘤组织比较,高级别胶质瘤组织的 *GDNF* mRNA 水平高($P<0.01$),*GDNF* 启动子区的 H3K9 乙酰化水平增加($P<0.01$),且 *GDNF* 启动子上 CREB 结合区的乙酰化水平高于非 CREB 结合区的乙酰化水平($P<0.01$)。高级别胶质瘤组织中 CREB 与 *GDNF* 启动子区的结合能力高于正常脑组织和低级别脑胶质瘤组织($P<0.05$)。组蛋白乙酰化酶抑制剂处理 U251 细胞后,*GDNF* 启动子上 CREB 结合区的乙酰化水平下降,CREB 与 *GDNF* 启动子结合活性下调,并下调 *GDNF* mRNA 和蛋白水平,而组蛋白去乙酰化酶抑制剂具有相反作用($P<0.01$)。**结论** 组蛋白乙酰化通过促进转录因子 CREB 与 *GDNF* 基因启动子区的结合,从而促进胶质瘤中 *GDNF* 的高转录。

【关键词】 胶质瘤 GDNF 组蛋白乙酰化 转录因子

The Mechanism Study on Histone Acetylation Activating Glioblastoma-derived Neurotrophic Factor Transcription

WANG Jian-cun, QUAN Xing-yun, PENG Ding-ting, HU Guan-cheng[△]. Department of Neurosurgery, Zhangjiajie City People's Hospital, Zhangjiajie 427000, China

[△] Corresponding author, E-mail: GuanchengHu1@yeah.net

【Abstract】 Objective To study the regulation role and mechanism of protein acetylation on the expression of glioblastoma-derived neurotrophic factor (*GDNF*) in human glioma. **Methods** Six normal brain tissue samples, six low-grade glioma brain tissue (LG-glioma), and six high-grade glioma brain tissue (HG-glioma) were collected for study. Human glioma U251 cells were treated with histone acetylase inhibitor and histone deacetylase inhibition. The mRNA level of *GDNF* in glioma and normal controls was detected by Real-time PCR. H3K9 acetylation level of cAMP-response element binding protein (CREB) binding region on *GDNF* promoter and the ability of CREB combining to *GDNF* promoter were detected by ChIP-PCR. The effects of histone acetylase and deacetylase inhibitors on transcription factor binding ability and *GDNF* expression were detected. **Results** The mRNA level of *GDNF* in HG-glioma was significantly higher than those in normal brain tissue and LG-glioma ($P<0.01$). The H3K9 acetylation level of *GDNF* promoter region in the glioma was increased compared to that in the normal brain tissue ($P<0.01$), and the acetylation level in CREB-binding region on the *GDNF* promoter was higher than that in the non-CREB-binding region ($P<0.01$). The binding activity of CREB and *GDNF* promoter in HG-glioma was higher than those in normal brain tissue and LG-glioma ($P<0.05$). After treatment of U251 cells with histone acetyltransferase inhibition, the level of acetylation in CREB-binding region on *GDNF* promoter, the binding activity of CREB and *GDNF* promoter was decreased, and *GDNF* transcription and expression were down-regulated, while histone deacetylase inhibitors had the opposite effect ($P<0.01$). **Conclusion** Histone acetylation promotes the transcription expression of *GDNF* in glioma by promoting the binding of transcription factor CREB to the promoter region of *GDNF* gene.

【Key words】 Glioma GDNF Histone acetylation Transcriptional factor

* 湖南省自然科学基金(No. C2013-223)资助

[△] 通信作者, E-mail: GuanchengHu1@yeah.net

胶质母细胞瘤(GBMs, 世卫组织Ⅵ级), 是最常见和恶性程度最高的原发性脑瘤之一^[1-4]。胶质细胞源性神经生长因子(GDNF)作为高效的神经生长因子, 已被证明在肿瘤形成、细胞存活、迁移、分化、侵袭、激活等方面发挥重要作用^[5-8]。胶质瘤中高水平 GDNF 促进肿瘤细胞从肿瘤区转移至正常脑组织, 导致大多数胶质瘤治疗失败^[8]。然而, 胶质瘤中调控 GDNF 高表达的具体机制尚不清楚。

转录因子 cAMP 应答元件结合蛋白(CREB)作为一种普遍存在的转录因子, 在神经系统中起着多效性的作用^[9-11], 并能通过未知的机制促进 GDNF 的表达^[12]。研究表明, 人脑胶质瘤中 GDNF 基因启动子 I 区的 H3 组蛋白乙酰化可能会影响到 GDNF 基因的相关表达方式^[13-14]。此外, GDNF 启动子 II 区高乙酰化介导的 Egr-1 结合促进 GDNF 高转录^[15-16]。然而, H3K9 乙酰化是否介导 CREB 与启动子的结合, 影响 GDNF 转录, 尚不清楚。本实验着重研究胶质瘤中 H3K9 乙酰化是否参与 CREB 对 GDNF 的转录调控。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂 Trizol(Invitrogen)、兔源抗乙酰化组蛋白 H3K9 抗体(货号 07-352)和 EZ-ChIP 试剂盒购自 Millipore; 抗 GDNF 抗体(货号 c-13147)购自 Santa Cruz Biotechnology 公司, 抗 CREB 抗体(货号 ab221216)购自 Abcam; BCA 测定试剂盒购自美国 Pierce Biotechnology 公司; Prime ScriptTM II 逆转录试剂盒和 SYBR Premix Ex TaqTM II 试剂盒购自大连 TaKaRa; 组蛋白乙酰化酶抑制剂 Curcumin、组蛋白脱乙酰化酶抑制剂 Trichostatin A(TSA)和二甲基亚砷购自美国 Sigma Aldrich 公司。

1.1.2 组织及细胞来源 选取 18 例人脑组织样本, 其中正常脑组织 6 例, 低级别胶质瘤脑组织(LG-glioma) 6 例, 高级别胶质瘤脑组织(HG-glioma) 6 例。所有样品在手术切除后于液氮中迅速冷冻。本研究获得张家界市人民医院伦理委员会〔[2014]001(02)〕批准。人脑神经胶质瘤 U251 细胞系购自上海博古生物技术有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 实时荧光定量 PCR 检测组织中 GDNF 和 CREB 的表达 用 Trizol 提取总 RNA, DNase 消化后, 使用核酸蛋白测定仪 Bio Photometer plus 型(德国 Eppendorf 公司), 吸光度(A)_{260/280} 值处检测 RNA 质量和纯度。通过变性琼脂糖凝胶电泳, 采用

INGENIUS 凝胶成像系统(英国 Syngene 公司)检测 RNA 完整性和纯度。使用逆转录酶反应试剂盒反转录 RNA 样品。荧光定量 PCR 采用 Veriti PCR 仪(美国 ABI 公司)。GDNF 引物为 F 5'-TCGCCAGCATTCCTTGTAGGA-3', R 5'-TGACCACGCATCAACGGAG-3' (扩增产物长度 128 bp)。CREB 引物为 F 5'-TGGACAGCAGATCTTAGTGCC-3', R 5'-CATGTTACCATCTTCAAACCTGACG-3' (扩增产物长度 115 bp)。内参基因 GAPDH 引物为 F 5'-AGAAGGCTGGGGCTCATT-3', R 5'-TGCTAAGCAGTTGGTGGTG-3' (扩增产物长度 158 bp)。PCR 反应条件为 95 °C 10 min、95 °C 10 s、60 °C 60 s、95 °C 15 s 共 40 个循环, 60 °C 延伸和退火。通过 2^{-ΔΔC_t} 法计算相对 mRNA 表达水平。

1.2.2 Western blot 检测组织中 CREB 的表达

采用 RIPA 裂解液提取组织蛋白, 用 BCA 试剂盒定量蛋白质。将各样品中等量蛋白质在 100 g/L SDS-PAGE 凝胶上电泳, 然后转移到 NC 膜。用含有 5% 脱脂牛奶和 0.1% 吐温 20 的 TBST 溶液封闭后, 将膜与 CREB (1 : 1 000) 一抗于 4 °C 孵育 12 h。然后将膜与二抗一起温育 2 h。用 ECL 试剂盒记录信号。通过 Image J 测量光密度值, 以 GAPDH 为内参, 以目的条带与内参条带光密度值的比值, 对 CREB 的表达进行检测。

1.2.3 染色质免疫共沉淀-PCR(ChIP-PCR)检测 GDNF 启动子区 CREB 结合位点处 H3K9 乙酰化水平 在人 GDNF 启动子 II 上, 转录起始位点上游 -304 bp 处, 存在两个连续且保守的 CREB 结合位点(图 1)。我们利用抗乙酰组蛋白 H3 (Lys9) 抗体或正常兔 IgG(阴性对照)进行免疫沉淀。用特异性引物〔P(-347/-233)和 P(-864/-793)〕PCR 检测免疫沉淀和 Input DNA(阳性对照), 从而检测高、低级别胶质瘤组织和正常脑组织中 GDNF 启动子 II 的 CREB 结合位点〔Target(-347/-233)〕和非 CREB 结合区〔Off target(-347/-233)〕的 H3K9 乙酰化情况。引物位置如图 1 所示, 其中 GDNF 启动子 II 区的 CREB 结合位点的引物 P2(-347/-233)序列为 F: 5'-GCGCCCTCATGTCTTCACG-3'; R: 5'-GGGAGCACGAGACTGGTTTG-3'。非 CREB 结合区的引物 P1(-864/-793)序列为 F: 5'-GGCAGCTCCTTTTCTCGC-3'; R: 5'-CTTCCCGCTCGGGTGTCT-3'。具体实验步骤如下: 根据试剂盒说明书, 室温下将组织在甲醛中固定 10 min, 用含有蛋白酶抑制剂混合物的核裂解缓冲液分离细胞核。超声处理染色质 DNA 并剪切成长度为 200~1 000 bp 的片段。用兔源抗乙酰组蛋

白 H3K9 多克隆抗体孵育被剪切的 DNA,并在 4 ℃ 下过夜。正常小鼠 IgG 用作阴性对照。缓冲液洗涤蛋白质 A/G 珠抗体/染色质复合物,去除非特异性结合。蛋白质/DNA 复合物被逆向交联,并且使用离心柱纯化 DNA。用上述引物进行定量 PCR 检测纯化后的 DNA。PCR 扩增条件:95 ℃ 10 min、95 ℃ 10 s、60 ℃ 60 s,共 60 个循环,95 ℃ 15 s 延伸。根据 PCR 结果,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达值,结果显示为 % Input = $2^{(Ct_{Input}-Ct_{ChIP})} \times$ 输入稀释因子 $\times 100\%$ 。%Input 越高,表示乙酰化水平越高。

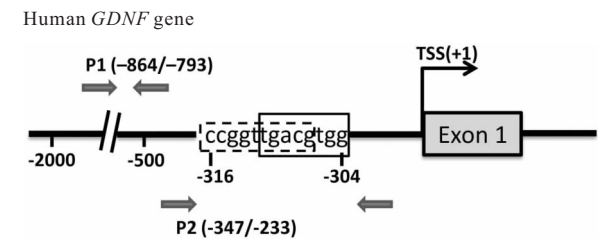


图 1 人 *GDNF* 基因启动子区域中 CREB 结合位点。箭头表示 ChIP-PCR 引物位置。启动子 II 转录起始位点(TSS)产生的转录本为 +1

Fig 1 The graph shows *GDNF* promoter regions and CREB binding sites. The arrows show the location of the ChIP-PCR primers

1.2.4 ChIP-PCR 检测 CREB 结合 *GDNF* 启动子的能力 利用 CREB 抗体或正常兔 IgG(阴性对照)进行免疫共沉淀,采用 *GDNF* 启动子区 CREB 结合位点特异性引物 P(-347/-233)和非结合位点引物 P(-864/-793)进行 PCR 检测沉淀产物,具体实验步骤、引物序列、PCR 扩增条件、结果显示同 1.2.3。%Input 越高表示 CREB 结合 *GDNF* 启动子的能力越强。

1.2.5 对 U251 细胞的干预和检测

1.2.5.1 分组干预 取对数生长期 U251 细胞,置于含 10% 胎牛血清、青霉素(100 U/mL)和链霉素(100 U/mL)的 Dulbecco 改良培养基(DMEM)中,在 37 ℃、体积分数 5%CO₂ 培养箱中培养。分别利用组蛋白乙酰化酶抑制剂 curcumin 和组蛋白脱乙酰化酶抑制剂 TSA 处理 U251 细胞。参考文献^[16]选择 curcumin(50 nmol/L)或 TSA(100 nmol/L)处理 24 h。对照组为未经药物处理的 U251 细胞,在含有相同体积二甲基亚砜的培养基中培养 24 h,用于后续检测。

1.2.5.2 检测 Western blot 检测组织中 *GDNF* 蛋白表达,*GDNF* (1 : 1 000),内参蛋白 GAPDH,方法同前述。实时荧光定量 PCR 检测细胞中 *GDNF* mRNA 水平,方法同前述。

分别用 H3K9 抗体、CREB 抗体和特异性引物 P(-347/-233)行 ChIP-PCR 检测 *GDNF* 启动子区转录因子 CREB 结合位点的 H3K9 乙酰化水平,以及转录因子 CREB 与 *GDNF* 启动子区的结合能力,方法同前述。

1.3 统计学方法

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。使用方差分析比较组间差异,进一步的两两比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *GDNF* 和转录因子 CREB 在高级别胶质瘤组织中的表达

高级别胶质瘤组织中 *GDNF* 的 mRNA 水平及转录因子 CREB 的 mRNA 和蛋白表达高于其他两组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而低级别胶质瘤组和正常脑组织之间上述指标差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2。

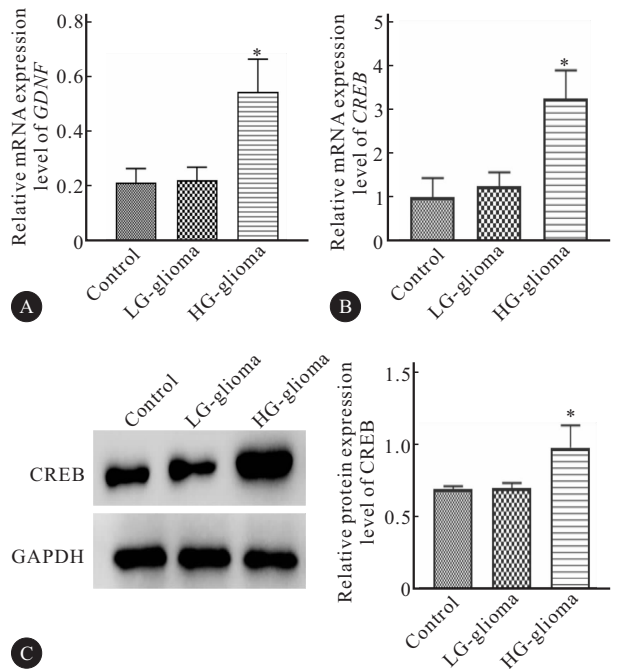


图 2 *GDNF* 及转录因子 CREB 在不同级别胶质瘤组织中的表达

Fig 2 Expressions of *GDNF* and transcription factor CREB in glioma tissues

* $P < 0.05$, vs. other groups; A: *GDNF* mRNA; B: CREB mRNA; C: CREB protein

2.2 脑组织中 *GDNF* 启动子区 CREB 结合位点的 H3K9 乙酰化水平

ChIP-PCR 结果(图 3)示,与正常脑组织和低级

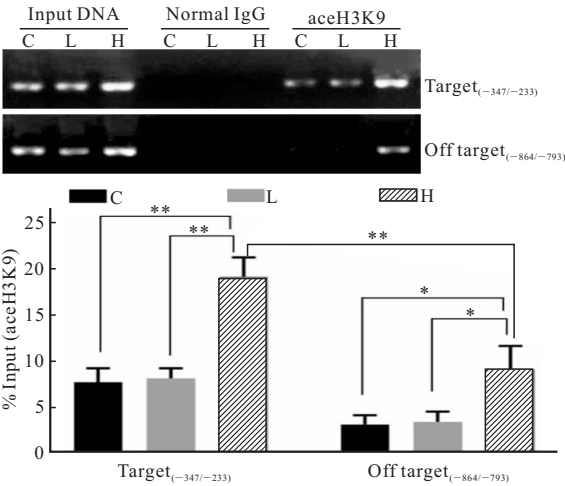


图 3 ChIP-PCR 检测脑组织中 *GDNF* 基因启动子区的 H3K9 乙酰化水平

Fig 3 H3K9 acetylation level of *GDNF* promoter in brain tissues

* $P < 0.05$, * * $P < 0.01$. C: Normal brain tissue (control); L: Low grade glioma tissues; H: High grade glioma tissues

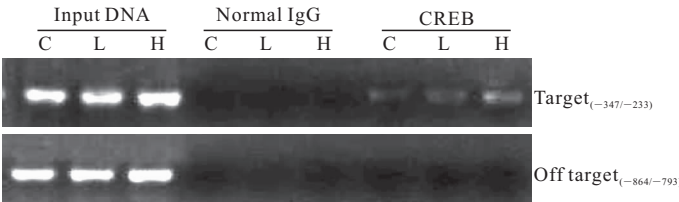


图 4 脑组织中转录因子 CREB 与 *GDNF* 基因启动子 II 区的结合

Fig 4 Binding activity and expression level of CREB in normal brain tissue, LG-glioma and HG-glioma gene promoter region

Left: Immunoprecipitation was performed using anti-CREB antibodies or normal rabbit IgG (negative control). Specific primers [P(-347/-233) and P(-864/-793)] were used for PCR detection of immunoprecipitation and Input DNA (positive control). Right: Standardizing ChIP DNA values using Input DNA. C: Normal brain tissue (control); L: Low grade glioma tissues; H: High grade glioma tissues; * $P < 0.05$

表 1 乙酰化转移酶抑制剂(curcumin)和去乙酰化抑制剂(TSA)作用于 U251 细胞的指标变化

Table 1 The effect of acetyltransferase inhibitor (curcumin) and deacetylase inhibitor (TSA) on the indexes in U251 glioma cells

Index	Control group (n=3)	Curcumin group (n=3)	P	Control group (n=3)	TSA group (n=3)	P
Acetylation level of H3K9	1.00±0.02	0.05±0.04	<0.000 1	1.00±0.30	2.30±0.20	0.003 4
Binding ability of CREB to <i>GDNF</i> promoter	1.00±0.04	0.33±0.02	<0.000 1	1.00±0.20	2.60±0.40	0.003 4
<i>GDNF</i> mRNA expression level	1.00±0.02	0.20±0.04	<0.000 1	1.00±0.20	3.50±0.10	<0.000 1
<i>GDNF</i> protein level	0.82±0.02	0.30±0.01	<0.000 1	0.42±0.10	0.81±0.20	0.038 5

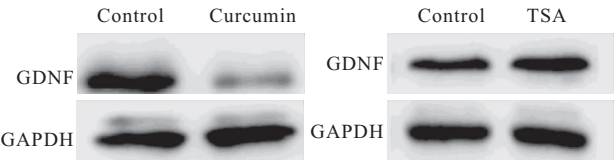


图 5 乙酰化转移酶抑制剂 curcumin 和去乙酰化抑制剂 TSA 处理 U251 胶质瘤细胞后 *GDNF* 的表达水平

Fig 5 The expression level of *GDNF* after being treated with curcumin or TSA

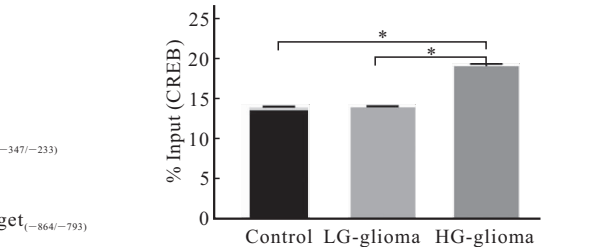
别胶质瘤组织相比,高级别胶质瘤组织中 *GDNF* 启动子 II 区的 CREB 结合和非结合区的 H3K9 乙酰化水平都升高 ($P < 0.01$),而低级别胶质瘤组织与正常脑组织差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。此外,高级别胶质瘤组织中,CREB 结合区的 H3K9 乙酰化水平高于非 CREB 结合区的 H3K9 乙酰化水平 ($P < 0.01$)。

2.3 脑组织中转录因子 CREB 与 *GDNF* 启动子的结合能力

ChIP-PCR 结果显示,CREB 在 3 种脑组织中都可以结合到 *GDNF* 启动子的 -347/-233 区,但不能结合到 -864/-793 区(图 4)。证明 CREB 是 *GDNF* 的转录因子,且结合位点为 *GDNF* 启动子 II 区的结合能力增强 ($P < 0.01$)。

2.4 组蛋白乙酰化酶抑制剂对 U251 细胞的作用

结果如表 1、图 5 所示:U251 细胞中 *GDNF* 启



动子 II 区 CREB 结合位点的 H3K9 乙酰化水平降低 ($P < 0.01$),转录因子 CREB 与 *GDNF* 启动子的结合能力下调 ($P < 0.01$),*GDNF* 的 mRNA 和蛋白表达水平下调 ($P < 0.01$)。

2.5 组蛋白脱乙酰化酶抑制剂对 U251 细胞的作用

见表 1、图 5。TSA 处理后,*GDNF* 启动子 II 区 CREB 结合位点的 H3K9 乙酰化水平升高 ($P <$

0.01), 转录因子 CREB 与 *GDNF* 启动子的结合能力增强($P < 0.01$)。此外, TSA 处理 U251 细胞后, *GDNF* 的 mRNA 和蛋白表达水平上调($P < 0.05$)。

3 讨论

众多研究表明, 相较于普通脑组织和低级别胶质瘤, *GDNF* 在高级别胶质瘤中存在着异常高度转录, 且 *GDNF* 在胶质瘤的转移和侵袭过程中起着重要作用^[17-19]。SONG 等^[20]则在此基础上进一步发现 *GDNF* 可以通过激活 c-Jun 氨基末端激酶 (JNK)、细胞外调节蛋白激酶 (ERKs) 和 丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 通路从而促进胶质瘤细胞的迁移。在表观遗传学方面, 研究表明高级别胶质瘤中 *GDNF* 启动子区组蛋白乙酰化水平高于对照组^[21-22], 这也与本实验结果一致。在这些研究的基础上, 本实验进一步研究了 *GDNF* 启动子 II 区组蛋白 H3K9 的乙酰化与 *GDNF* 转录水平之间的关系。在用组蛋白乙酰转移酶抑制剂 curcumin 抑制 *GDNF* 启动子 II 区组蛋白 H3K9 乙酰化水平后, 我们发现细胞中 *GDNF* 的转录水平下降; 而用脱乙酰化酶抑制剂 TSA 促进了 H3K9 的乙酰化后 *GDNF* 的转录水平上升。实验结果表明, 胶质瘤中 *GDNF* 的高表达可能与其启动子区组蛋白 H3K9 高乙酰化相关。

作为一种普遍存在的转录因子, CREB 在中枢神经系统中起着多效性作用。在 ser133 磷酸化后, CREB 可以通过多种机制刺激基因表达并以此召集 CREB 结合蛋白来实现其生理学作用^[9-11]。YANG 等^[23]的研究发现, CREB 可以促进 JNK 和 p38 MAPK 信号通路和 MMP-2 的表达。JNK 和 p38 MAPK 信号通路长期以来一直被认为在胶质瘤细胞的迁移中起着一定作用^[20], 而金属基质蛋白 MMP-2 可以促使胶原蛋白分解从而影响细胞外基质, 并因此可能在胶质瘤的迁徙过程中存在着潜在作用^[24]。CREB 长期以来一直被认为在 *GDNF* 的表达中起着未知的调节作用^[12]。本研究发现, 高级别胶质瘤组织中转录因子 CREB 与 *GDNF* 启动子 II 区的结合能力显著高于正常脑组织和低级别胶质瘤组织, 表明 CREB 与启动子区的高结合活性可能促进 *GDNF* 的表达。组蛋白乙酰转移酶抑制剂 curcumin 抑制 CREB 与 *GDNF* 启动子区的结合并下调 *GDNF* 转录, 组蛋白脱乙酰化酶抑制剂 TSA 则起相反作用。表明, 组蛋白乙酰化可能通过调控转录因子 CREB 与 *GDNF* 启动子 II 区的结合活

性, 进而调控 *GDNF* 基因的表达。这与 MAYR 等^[11]的报道相似, 后者认为 *GDNF* 启动子区 H3K9 高乙酰化可以增加转录因子 Egr-1 对 *GDNF* 的结合活性, 促进神经胶质瘤细胞中的基因转录。

我们的研究从表观遗传学的角度探究了高级别胶质瘤的发病机制。结果提示, *GDNF* 基因启动子区组蛋白乙酰化修饰通过促进转录因子 CREB 与 *GDNF* 基因启动子区的结合, 从而导致 *GDNF* 在胶质瘤中高转录。而胶质瘤细胞基因中不同区域组蛋白乙酰化如何影响 *GDNF* 基因表达及影响强度有待进一步研究探索, 以阐述组蛋白乙酰化修饰对 *GDNF* 刺激胶质瘤细胞分化及胶质瘤发展的作用。

参 考 文 献

- [1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al.* Global Cancer Statistics 2018: Globocan estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424.
- [2] TAYLOR L P. Diagnosis, treatment, and prognosis of glioma: five new things. *Neurology*, 2010, 75 (18S1): S28-S32.
- [3] LOUIS D N, PERRY A, REIFENBERGER G, *et al.* The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathol*, 2016, 131(6): 803-820.
- [4] STUPP R, HEGI M E, GORLIA T, *et al.* CENTRIC study team cilengitide combined with standard treatment for patients with newly diagnosed glioblastoma with methylated MGMT promoter (CENTRIC EORTC 26071-22072 study): a multicentre, randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*, 2014, 15(10): 1100-1108.
- [5] BAECKER P A, LEE W H, VERITY A N, *et al.* Characterization of a promoter for the human glial cell line-derived neurotrophic factor gene. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 69(2): 209-222.
- [6] 杜瑞兵, 王桂琴. 低表达 miR-19a 对人脑胶质瘤细胞系 U251 增殖和凋亡影响的体外研究. *肿瘤研究与临床*, 2016, 28(5): 307-310.
- [7] QU D W, LIY Y, WANG L, *et al.* Glial cell line-derived neurotrophic factor promotes proliferation of neuroglioma cells by up-regulation of cyclins PCNA and Ki-67. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(11): 2070-2075.
- [8] KU M C, WOLF S A, RESPONDEK D, *et al.* *GDNF* mediates glioblastoma-induced microglia attraction but not astrogliosis. *Acta Neuropathol*, 2013, 125(4): 609-620.
- [9] SAURA C A, CARDINAUX J R. Emerging roles of CREB-Regulated transcription coactivators in brain physiology and pathology. *Trends Neurosci*, 2017, 40(12): 720-733.
- [10] ALAREJOS J Y, MONTMINY M. CREB and the CRTC coactivators: sensors for hormonal and metabolic signals. *Nat*

- Rev Mol Cell Biol, 2011, 12(3): 141-151.
- [11] MAYR B, MONTMINY M. Transcriptional regulation by the phosphorylation-dependent factor CREB. Nat Rev Mol Cell Biol, 2001, 2(8): 599-609.
- [12] HISAOKA K, MAEDA N, TSUCHIOKA M, *et al.* Antidepressants induce acute CREB phosphorylation and CRE-mediated gene expression in glial cells; a possible contribution to GDNF production. Brain Res, 2008, 1196: 53-58[2019-02-11]. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.12.019>.
- [13] YU Z Q, ZHANG B L, NI H B, *et al.* Hyperacetylation of histone H3K9 involved in the promotion of abnormally high transcription of the *gdnf* gene in glioma cells. Mol Neurobiol, 2014, 50(3): 914-922.
- [14] 刘泽昊, 虞正权, 高殿帅, 等. 人脑胶质瘤 GDNF 基因启动子 I 区 H3 组蛋白乙酰化修饰情况. 现代生物医学进展, 2013, 13(35): 6816-6821.
- [15] ZHANG B L, NI H B, LIU J, *et al.* Egr-1 participates in abnormally high *GDNF* gene transcription mediated by histone hyperacetylation in glioma cells. Biochim Biophys Acta, 2014, 1839(11): 1161-1169.
- [16] 李周儒, 刘捷, 雷宇, 等. 组蛋白高乙酰化介导的 Egr-1 结合促进 *gdnf* 基因高转录. 南方医科大学学报, 2015, 35(5): 697-701.
- [17] AYANLAJA A A, ZHANG B, JI G, *et al.* The reversible effects of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) in the human brain. Semin Cancer Biol, 2018, 53: 212-222 [2019-02-12]. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1044579X18300427>. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2018.07.005>.
- [18] ZHANG B L, DONG F L, GUO T W, *et al.* MiRNAs mediate GDNF-induced proliferation and migration of glioma cells. Cell Physiol Biochem, 2017, 44(5): 1923-1938.
- [19] KU M C, WOLF S A, RESPONDEK D, *et al.* GDNF mediates glioblastoma-induced microglia attraction but not astrogliosis. Acta Neuropathol, 2013, 125(4): 609-620.
- [20] SONG H, MOON A. Glial cell-derived neurotrophic factor (GDNF) promotes low-grade Hs683 glioma cell migration through JNK, ERK-1/2 and p38 MAPK signaling pathways. Neurosci Res, 2006, 56(1): 29-38.
- [21] 倪海波, 张宝乐, 任庆先, 等. 大鼠 C6 胶质瘤细胞中 *gdnf* 基因启动子 I 区组蛋白高乙酰化可能参与了其高转录调控. 现代生物医学进展, 2014, 14(11): 2015-2018.
- [22] 戴燕燕, 陈茂华. 人脑胶质瘤 GDNF 基因启动子 I 区 H3 组蛋白乙酰化修饰情况研究. 中国现代医生, 2015, 53(35): 1-4.
- [23] YANG S F, LEE W J, TAN P, *et al.* Upregulation of miR-328 and inhibition of CREB-DNA-binding activity are critical for resveratrol-mediated suppression of matrix metalloproteinase-2 and subsequent metastatic ability in human osteosarcomas. Oncotarget, 2015, 6(5): 2736-2753.
- [24] AMAR S, SMITH L, FIELDS GB. Matrix metalloproteinase collagenolysis in health and disease. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2017, 1864(11 Pt A): 1940-1951.
- (2019-03-04 收稿, 2019-06-29 修回)
- 编辑 吕 熙