

SENEX 基因通过活化 Rb/E2F 通路促进弥漫大 B 细胞淋巴瘤增殖与复发

完颜智翔, 王极宇, 潘莹, 朱凤凤, 易浏颖, 翟志敏

摘要 目的 探讨 SENEX 基因在弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (DLBCL) 中的表达及其对 DLBCL 复发的影响与可能的作用机制。方法 分别应用 qRT-PCR 和 Western blot 法检测 3 例初诊 DLBCL 患者 (初诊组)、3 例复发 DLBCL 患者 (复发组) 和 3 例完全缓解 DLBCL 患者 (完全缓解组) 的 SENEX 基因和蛋白的表达情况; 应用 siRNA 转染技术沉默 DLBCL 细胞株 OCI-LY8 中的 SENEX 基因; Western blot 和 qRT-PCR 法验证其转染效率; CCK-8 检测转染后细胞增殖情况; ELISA 法检测细胞上清液中游离与腺病毒 E2 启动子结合的转录因子 (E2F) 水平; Western blot 检测细胞中 p16 和视网膜母细胞瘤蛋白 (Rb) / 磷酸化视网膜母细胞瘤蛋白 (pRb) 表达水平。结果 复发 DLBCL 患者中 SENEX 基因和蛋白水平均增高; 沉默 DLBCL 细胞中 SENEX 基因表达抑制了 DLBCL 细胞增殖, 并抑制 E2F 活化和 Rb 活化。结论 SENEX 基因通过活化 Rb/E2F1 通路促进 DLBCL 增殖与复发。

关键词 SENEX; Rb/E2F; 弥漫大 B 细胞淋巴瘤; 增殖; 复发
中图分类号 R 559

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)03-0432-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.03.021

弥漫大 B 细胞淋巴瘤 (diffuse large B cell lymphoma, DLBCL) 是成人淋巴瘤最常见的一种类型, 是一组在临床表现和预后等方面具有高度异质性的淋巴造血系统恶性肿瘤^[1]。自由环磷酰胺、阿霉素、长春新碱和强的松组成的标准化疗方案被用于治疗 DLBCL 以来, 完全缓解率达 60% ~ 70%^[2]。联合利妥昔单抗进一步提高了疗效, 但仍有 30% ~ 40% 左右的患者复发并最终死亡^[3]。SENEX 最早在 2004 年被认定克隆成功, 是一个与细胞衰老密切相关的新型基因^[4], 主要控制细胞的生长周期、衰老和凋亡^[5-6]。最早在 2010 年, 有学者^[4]首次报道了关于 SENEX 基因通过调控内皮细胞中 p16INK4a

途径诱导细胞应力性早衰形成的研究。但其在 DLBCL 中的表达及作用目前尚未见相关报道。该研究拟探讨 SENEX 基因在 DLBCL 中的表达及其对 DLBCL 复发的影响及其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料 人 DLBCL 细胞株 (LY8) 购自上海细胞所; RPMI-1640 培养基购自美国 Hyclone 公司; 胎牛血清购自美国 Gibco 公司; SENEX-siRNA 及其阴性对照 (negative control, NC) 购自上海生工公司; 人外周血淋巴细胞分离液购自天津灏洋华科生物科技公司; 细胞裂解液购自上海碧云天公司; PVDF 膜购自美国 millipore 公司; High-sig ECL Western Blotting Substrate 试剂盒购自上海天能公司; 人与腺病毒 E2 启动子结合的转录因子 (transcription factor binding to the adenovirus E2 promoter, E2F) 1 转录因子 ELISA 试剂盒购自美国 OmnimAbs 公司; Cell Counting Kit-8 购自日本 Dojindo 公司; TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司; 逆转录试剂盒购自美国 ThermoFisher 公司; TB Green PCR 试剂盒购自日本 Takara 公司。Western blot 抗体购自美国 Cell Signaling technology 公司, 见表 1。PCR 引物均由上海生工生物有限公司合成, 见表 2。

1.2 方法

1.2.1 病例资料 选择 2019 年 2 ~ 7 月在安徽医科大学第二附属医院血液科经细胞形态学、分子生物学、免疫学、细胞遗传学确诊的 DLBCL 患者, 其中 DLBCL 初诊患者 3 例, 男 1 例, 女 2 例, 年龄分别为: 51、67、68 岁; 获得细胞形态学缓解的 DLBCL 患者 3 例, 男 2 例, 女 1 例, 年龄分别为: 52、56、70 岁; 缓解后复发的 DLBCL 患者 3 例, 男 2 例, 女 1 例, 年龄分别为: 47、50、65 岁。所有缓解及复发的 DLBCL 患者均为骨髓缓解及复发。

1.2.2 外周血单个核细胞分离 收集患者外周血 5 ml, 经等体积生理盐水稀释后缓慢加入淋巴细胞分离液中, 离心, 收集中间白膜状细胞层, 经生理盐水洗涤后, 离心去除上清液, 留取细胞沉淀, 待用。

2019-12-15 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 81670179); 安徽省学术技术带头人项目

作者单位: 安徽医科大学第二附属医院血液科, 合肥 230601

作者简介: 完颜智翔, 男, 硕士研究生;

翟志敏, 女, 教授, 主任医师, 博士生导师, 责任作者, E-mail: zzzm889@163.com

表1 用于 Western blot 实验的一抗

名称	公司	项目编号	稀释比
Anti-ARHGAP18	Abcam	ab175970	1 : 1 000
Rb(D20) Rabbit mAb	Cell signaling technology	#9313	1 : 1 000
Phospho-Rb(Ser780) (D59B7) Rabbit mAb	Cell signaling technology	#8180	1 : 1 000
Mouse anti-β-actin mAb	ZSGB-BIO	TA-09	1 : 2 000

表2 用于 qRT-PCR 引物和 SiRNA 转染的序列

名称	序列(5'-3')
GAPDH-Forward	GTGAAGGTCGGTGTGAACGG
GAPDH-Reverse	GATGCAGGGATGATGTTCTG
SENX-Forward	TTGCTCTGTTTTCCAGATTGGA
SENX-Reverse	GCCCCACTGCTTGAGGCT
SiRNA-SENX-homo-1189 Sense	GGAGCUGCCAUUAGAAUCATT
SiRNA-SENX-homo-1189 Antisense	UGAUUCUAAUGGCAGCUCCTT
NC Sense	UUCUCCGAACGUGUCACGUTT
NC Antisense	ACCGUACACGUUCGGAGAATT

1.2.3 Western blot检测 使用人外周血淋巴细胞分离液提取患者外周血中的单个核细胞,使用细胞裂解液分别提取外周血单个核细胞和转染后 LY8 细胞中的总蛋白。通过凝胶电泳分离蛋白,后将蛋白转移至 PVDF 膜上。转膜结束后将 PVDF 膜放入溶于 TBST 的 5% 脱脂牛奶中封闭 4 ℃ 条件下相应一抗孵育过夜,二抗(1 : 5 000)室温孵育 1 h 后显影。

1.2.4 qRT-PCR 检测 使用适量 TRIzol 分别提取外周血单个核细胞和转染后 LY8 细胞中的总 RNA,使用逆转录试剂盒逆转录生成 cDNA。通过使用 TB Green PCR 试剂盒在荧光定量 PCR 仪上进行 qPCR 实验。所有引物均由上海生工合成。磷酸甘油醛脱氢酶用作内参基因。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达量。

1.2.5 SiRNA 转染实验 将 LY8 细胞接种至 6 孔板中,并更换为无血清培养基。分别将 opti-MEM 与 SENEX-SiRNA/NC 和 Lipofectamine® 2000 转染试剂混匀后孵育 5 min,再分别将两者混合室温孵育 20 min 后加入 6 孔板中 37 ℃ 培养。4 h 后更换为完全培养基。转染后 48 h 验证其转染效率。

1.2.6 细胞增殖实验 将已成功转染 SENEX-SiRNA/NC 的 LY8 细胞,按 10^5 个细胞/孔的密度接种在 96 孔板中,每孔加入 10 μl CCK-8 溶液 37 ℃ 孵育 2 h 后上机检测 450 nm 各孔的吸光度(optical density, OD)值。同时设置空白孔、对照孔,且每组设立 5 个复孔。

1.2.7 ELISA 检测 将已成功转染 SENEX-SiRNA/NC 的 LY8 细胞,通过离心除去沉淀留取上清液,将样品储存在 -20 ℃ 避免反复冻融。使用

ELISA 试剂盒测量转录因子 E2F 的浓度。使用原溶液(8 000 pg/ml)配置 2 倍稀释梯度(包括 4 000、2 000、1 000、500、250 pg/ml)。根据标准曲线将所有标准品和样品一式两份加入包被板中,并将空白孔作为零,在添加终止溶液后 15 min 内测量 450 nm 处的 OD 值。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计学分析。符合正态分布的两组间数据比较均采用 *t* 检验方法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SENEX 基因在初诊、复发与缓解 DLBCL 患者中的表达情况 为研究 DLBCL 患者中 SENEX 的表达水平,课题组分别提取了初诊、复发和完全缓解 DLBCL 患者外周血中的单个核细胞,并检测了细胞中 SENEX 基因及其编码蛋白 ARHGAP18 的表达水平,结果如图 1 所示。与初诊组和完全缓解组相比,复发组 ARHGAP18 蛋白表达水平增高($F = 148.0, P < 0.01$) (图 1C),与此结果一致的是,SENEX 基因水平也升高($F = 10.60, P < 0.01$) (图 1A)。此外,外周血磷酸化视网膜母细胞瘤蛋白(phosphorylation retinoblastoma, pRb)水平在复发患者中升高,完全缓解患者中降低,差异有统计学意义($F = 31.21, P < 0.01$),视网膜母细胞瘤蛋白(retinoblastoma, Rb)表达水平则显示出相反的趋势($F = 10.69, P < 0.05$) (图 1B、C)。这些结果表明复发 DLBCL 患者的 SENEX 水平增加并伴随着 Rb 途径的激活。

2.2 LY8 细胞中 SENEX-SiRNA 的转染与验证 为了研究 SENEX 基因在人 DLBCL 细胞株 LY8 中

的功能 将靶向 SENEX 基因的 SiRNA (SENEX-SiRNA) 及其阴性对照 (negative control, NC) 转染至 LY8 细胞中 并从基因水平和蛋白水平验证其转染效率。结果如图 2 所示 与对照组 (未经任何处理的 LY8 细胞) 和 NC 组 (图 2A) 相比 SENEX-SiRNA 组中 SENEX mRNA 的表达降低 ($F = 104.3, P < 0.01$) 并且 SENEX-SiRNA 组中 ARHGAP18 的水平也低于对照组和 NC 组 ($F = 19.06, P < 0.01$) (图 2B)。这些结果表明 转染 SENEX-SiRNA 成功沉默了 DLBCL 细胞中的 SENEX 基因表达。在此基础上 课题组继续研究了干预 SENEX 表达对 DLBCL 细胞功能和相关通路的影响。

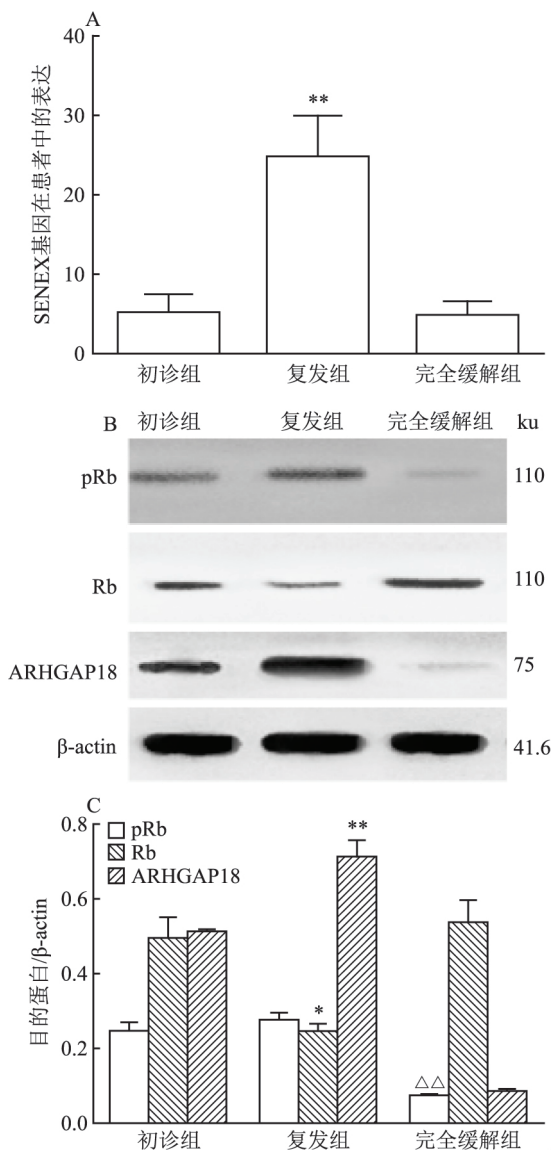


图1 SENEX 基因在初诊、复发与缓解 DLBCL 患者中的表达情况 A: qRT-PCR 方法检测 SENEX 基因表达结果; B: Western blot 检测蛋白表达结果; C: pRb、Rb 和 ARHGAP18 的相对表达量; 与初诊组和完全缓解组比较: ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$; 与初诊组和复发组比较: △△ $P < 0.01$

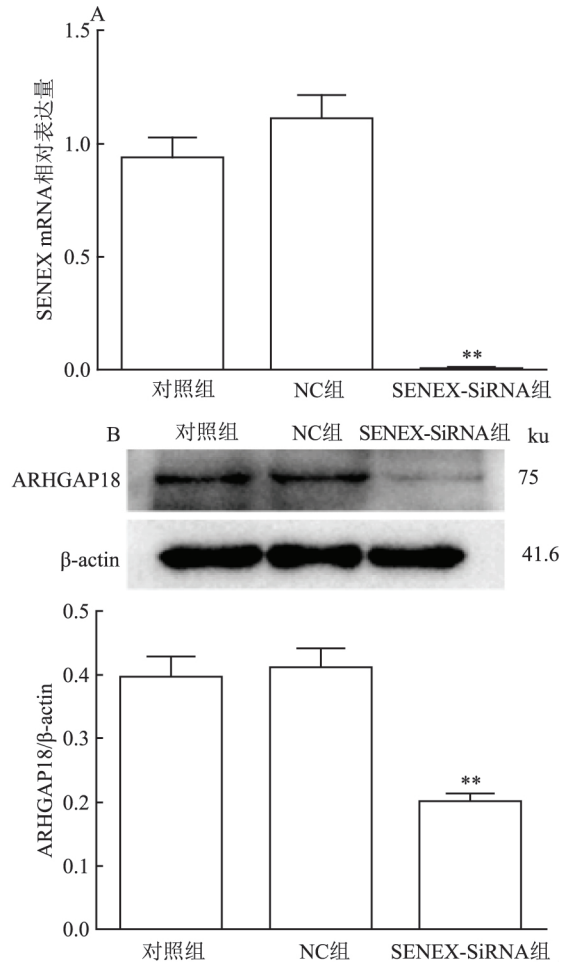


图2 3 组细胞中 SENEX 基因 mRNA 和 ARHGAP18 表达情况 A: SENEX 基因 mRNA 在 3 组细胞中的表达; B: ARHGAP18 在 3 组细胞中的表达; 与对照组和 NC 组比较: ** $P < 0.01$

2.3 干预 SENEX 基因表达对细胞增殖能力的影响 在转染后 12 h 比较各组细胞增殖能力的差异, 结果如图 3 所示。与对照组和转染 NC 组相比, 转染 SENEX-SiRNA 组细胞增殖能力减低 ($F = 16.38, P < 0.01$) (图 3A), 在转染后 24 h, SENEX-SiRNA 组细胞增殖能力继续降低, 与对照组和 NC 组相比, 差异均有统计学意义 ($t = 8.575, P < 0.01; t = 2.705, P < 0.05$) (图 3B)。结果表明, 沉默 DLBCL 细胞中的 SENEX 基因表达将抑制细胞增殖。

2.4 干预 SENEX 基因表达对 Rb/E2F 通路的影响 为了进一步探究 SENEX 基因促进 DLBCL 细胞增殖的分子机制, 课题组分析了细胞中周期相关蛋白和细胞因子, 显示与对照组和 NC 组相比, SENEX-SiRNA 组中 pRb 水平降低 ($F = 53.54, P < 0.01$) (图 4A); 与 NC 组相比, SENEX-SiRNA 组中游离的 E2F1 浓度出现降低 ($t = 4.526, P < 0.05$) (图 4B)。这些结果表明 SENEX 基因能够促进 Rb

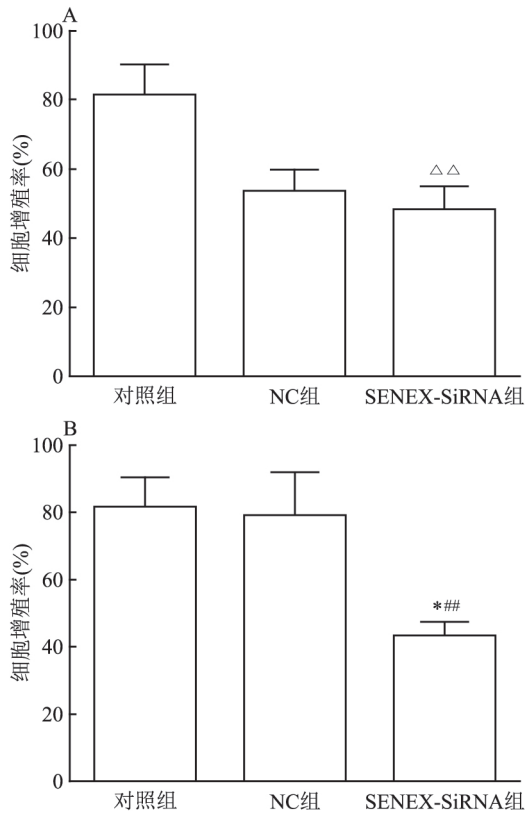


图3 转染后3组细胞的细胞增殖率

A: 转染 12 h 细胞增殖率; B: 转染 24 h 细胞增殖率; 与对照组和 NC 组比较: ΔΔ $P < 0.01$; 与 NC 组比较: * $P < 0.05$; 与对照组比较: ## $P < 0.01$

蛋白和 E2F1 活化, 提示了 SENEX 基因具有活化细胞周期开关—Rb/E2F 转录调控通路的能力。

3 讨论

近年来, 细胞免疫治疗的兴起特别是 CAR-T 技术的应用为血液系统恶性肿瘤的治疗带来了重要突破, 尤其是 CAR-T-CD19 治疗复发难治急性 B 淋巴细胞白血病获得了高达 80% ~ 90% 的完全缓解率, 但是在 DLBCL 等 B 细胞淋巴瘤中 CAR-T 治疗并未获得类似满意疗效, 反应率仅在 50% 左右, 有研究^[7]认为这与淋巴瘤复杂的免疫逃逸机制有关。SENEX 基因是一种与细胞衰老相关的新型基因, 已被证明在心脏、肺、骨骼肌、肾、胰腺、脾脏、脑、睾丸组织和外周血白细胞中都有不同程度表达, 主要控制细胞的生长周期、衰老和凋亡, 也有研究^[4-6, 8]称其参与肿瘤的生长和转移。课题组之前的研究^[9]表明, SENEX 增加会引起促凋亡基因表达减少, 细胞因子合成受到干扰, 导致调节性 T 细胞增殖, 从而促进膀胱癌的发生和转移; 后又在急性髓细胞白

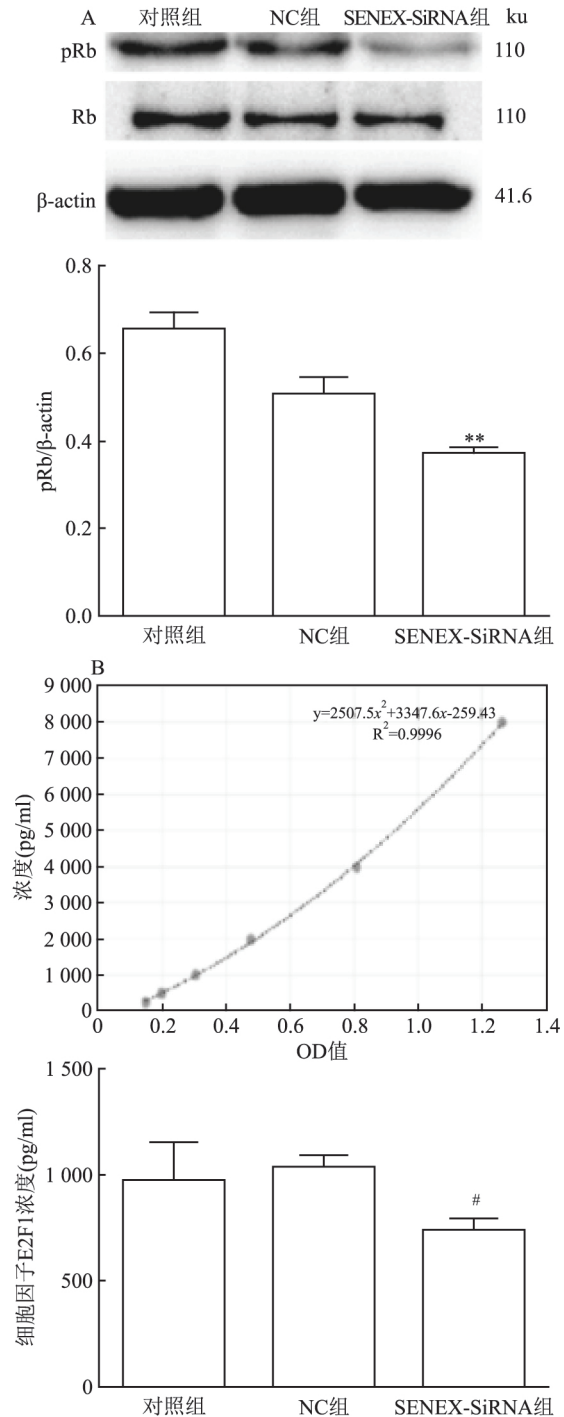


图4 3组细胞中 Rb 的表达和细胞因子 E2F1 的浓度

A: Rb 在 3 组细胞中的表达; B: 细胞因子 E2F1 在 3 组细胞中的浓度; 与对照组和 NC 组比较: ** $P < 0.01$; 与 NC 组比较: # $P < 0.05$

血病患者中发现 SENEX 基因异常表达且与骨髓原始细胞的负荷密切相关^[10]。但是在 DLBCL 中 SENEX 基因的表达及作用目前尚未见相关报道。本研究显示 SENEX 基因 (及其编码蛋白 ARHGAP18) 在复发 DLBCL 患者外周血中表达较初诊组升高, 且当患者达到完全缓解时, SENEX 基因

和蛋白表达水平均降低。这个结果提示 SENEX 基因水平与 DLBCL 复发密切相关。因此 需要在细胞水平进一步探索 SENEX 的功能。当在人 DLBCL 细胞株 LY8 中沉默 SENEX 基因表达后 ,12、24 h 的细胞增殖活性也出现降低。结果提示沉默 SENEX 基因会抑制 DLBCL 细胞增殖。

Rb 基因是最早发现的抑癌基因 被发现于儿童的视网膜母细胞瘤。研究^[11-13] 认为 Rb 在细胞周期调控、细胞衰老、细胞凋亡和生长抑制等方面均具有重要作用。Rb 以其磷酸化和去磷酸化的形式决定着转录因子 E2F 的活性 ,在细胞周期调控中处于中心环节 控制着细胞的生长和分化 ,Rb 蛋白磷酸化(失活)将导致转录因子 E2F 的释放激活细胞周期进入 S 期。磷酸化的 Rb 解离 E2F1 游离的 E2F1 激活细胞周期蛋白 ,并启动 DNA 复制和增殖;而去磷酸化的 Rb 可以通过募集共抑制因子来抑制 E2F 的转录激活结构域等方式导致细胞生长停滞。有研究^[14-15] 显示 通过介导 Rb/E2F 转录调控通路可能调节肿瘤的发生和转移。在课题组的研究中 ,复发 DLBCL 患者的 pRb 水平显著高于初诊组和完全缓解组 ,但是 Rb 表达则呈现相反的趋势。之后研究了 SENEX 基因对 DLBCL 细胞中 pRb/Rb 表达的影响 ,显示 SENEX 沉默引起 pRb 水平降低和游离 E2F1 的显著减少。这些结果表明 ,SENEX 基因诱导的 pRb/E2F 转录调控通路活化可能在 DLBCL 的增殖和复发中起重要作用。

综上所述 ,本研究探讨了 SENEX 基因在 DLBCL 中的表达及其对 DLBCL 复发的影响及其可能的作用机制。结果提示 SENEX 基因通过活化 Rb/E2F1 通路促进 DLBCL 增殖与复发。患者外周血中高水平的 SENEX 表达可能提示 DLBCL 复发可能 ,对于临床预后判断有一定的指导意义。SENEX 基因在 DLBCL 发生发展中的机制研究仍有待深入 ,未来有望成为治疗 DLBCL 患者尤其是复发患者的新靶点。

参考文献

[1] 中华医学会血液学分会 中国抗癌协会淋巴瘤专业委员会. 中国弥漫大 B 细胞淋巴瘤诊断与治疗指南(2013 年版) [J]. 中华血液学杂志 2013 ,34(9) :816 -9.

[2] Fisher R I , Gaynor E R , Dahlberg S , et al. Comparison of a standard regimen(CHOP) with three intensive chemotherapy regi-

mens for advanced non-Hodgkin's lymphoma[J]. *N Engl J Med* , 1993 ,328(14) : 1002 -6.

[3] Coiffier B , Thieblemont C , Van Den Neste E , et al. Long-term outcome of patients in the LNH-98.5 trial , the first randomized study comparing rituximab-CHOP to standard CHOP chemotherapy in DLBCL patients: a study by the Groupe d'Etudes des Lymphomes de l'Adulte[J]. *Blood* , 2010 ,116(12) : 2040 -5.

[4] Coleman P R , Hahn C N , Grimshaw M , et al. Stress-induced premature senescence mediated by a novel gene , SENEX , results in an anti-inflammatory phenotype in endothelial cells [J]. *Blood* , 2010 ,116(19) : 4016 -24.

[5] Li Y , Ji S , Fu L , et al. Over-expression of ARHGAP18 suppressed cell proliferation , migration , invasion , and tumor growth in gastric cancer by restraining over-activation of MAPK signaling pathways [J]. *Onco Targets Ther* , 2018 ,11 : 279 -90.

[6] Sahai E , Marshall C J. RHO-GTPases and cancer [J]. *Nat Rev Cancer* , 2002 ,2(2) : 133 -42.

[7] Batlevi C L , Matsuki E , Brentjens R J , et al. Novel immunotherapies in lymphoid malignancies [J]. *Nat Rev Clin Oncol* , 2016 ,13(1) : 25 -40.

[8] Humphries B , Wang Z , Li Y , et al. ARHGAP18 downregulation by miR-200b suppresses metastasis of triple-negative breast cancer by enhancing activation of RhoA [J]. *Cancer Res* , 2017 ,77(15) : 4051 -64.

[9] Chen T , Wang H , Zhang Z , et al. A novel cellular senescence gene , SENEX , is involved in peripheral regulatory T cells accumulation in aged urinary bladder cancer [J]. *PLoS One* , 2014 ,9(2) : e87774.

[10] 曹艳芸 ,陶千山 ,王会平 ,等. Senex 基因在急性髓系白血病中的表达及意义 [J]. 安徽医科大学学报 , 2017 ,52(3) : 401 -5.

[11] Hutcheson J , Witkiewicz A K , Knudsen E S. The RB tumor suppressor at the intersection of proliferation and immunity: relevance to disease immune evasion and immunotherapy [J]. *Cell Cycle* , 2015 ,14(24) : 3812 -9.

[12] Van Den Heuvel S , Dyson N J. Conserved functions of the pRB and E2F families [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol* , 2008 ,9(9) : 713 -24.

[13] Ferreira-Gonzalez S , Lu W Y , Raven A , et al. Paracrine cellular senescence exacerbates biliary injury and impairs regeneration [J]. *Nat Commun* , 2018 ,9(1) : 1020.

[14] Yang Q E , Nagaoka S I , Gwost I , et al. Inactivation of retinoblastoma protein(Rb1) in the oocyte: evidence that dysregulated follicle growth drives ovarian teratoma formation in mice [J]. *PLoS Genet* , 2015 ,11(7) : e1005355.

[15] Jansma A L , Martinez-Yamout M A , Liao R , et al. The high-risk HPV16 E7 oncoprotein mediates interaction between the transcriptional coactivator CBP and the retinoblastoma protein pRb [J]. *J Mol Biol* , 2014 ,426(24) : 4030 -48.

TRPV1 基因多态性与新疆汉族、哈萨克族 儿童哮喘相关性研究

付朋鸽, 尹晓文

摘要 目的 探讨 TRPV1 基因 rs150846、rs8065080 两位点单核苷酸多态性 (SNPs) 与新疆汉族、哈萨克族儿童哮喘的相关性。方法 选取哮喘儿童 99 例作为病例组, 其中哈萨克族 52 例, 汉族 47 例, 另选取 77 例儿童作为对照组, 其中哈萨克族 39 例, 汉族 38 例。提取静脉血 DNA, 采用 Massarray SNP 分型方法检测 TRPV1 基因的两位点多态性。结果 ① 病例组与对照组在 rs150846 位点的基因型及等位基因频率分布比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 而 rs8065080 位点的基因型及等位基因频率分布比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。② 哈萨克族病例组与对照组在 rs150846 位点的基因型及等位基因频率分布比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); A 等位基因携带者发生哮喘的危险性为 G 等位基因携带者的 1.941 倍 (95% CI: 1.037 ~ 3.636); 在 rs8065080 位点基因型及等位基因频率分布比较,

差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。③ 汉族病例组与对照组在 rs150846、rs8065080 位点的基因型频率分布比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 TRPV1 基因的 rs150846 位点多态性可能与哈萨克族儿童哮喘易感性有关。

关键词 TRPV1; 基因多态性; 汉族; 哈萨克族; 哮喘
中图分类号 R 725.6

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)03-0437-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.03.022

哮喘是一种较常见的呼吸系统疾病, 我国城区 0~14 岁儿童哮喘总患病率为 3.02%^[1], 89.66% 的儿童哮喘第 1 次喘息发生在 7 岁以内^[2]。该疾病易常年反复发作, 严重影响患儿心身健康及生长发育, 也对家庭及社会造成一定的经济负担。

哮喘是感染、环境及遗传等因素共同作用造成。个体呼吸道易感性可能与遗传有关。在以色列国家对 13~14 岁学龄儿童进行全国调查, 发现与阿拉伯儿童相比, 犹太儿童哮喘患病率显著升高^[3], 提示哮喘在不同种族之间可能存在一定差异。瞬时感受

2020-02-05 接收

基金项目: 国家自然科学基金 (编号: 21567024)

作者单位: 石河子大学医学院第一附属医院儿科, 石河子 832002

作者简介: 付朋鸽, 女, 硕士研究生;

尹晓文, 女, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: lujiaying_2009@163.com

The SENEX gene promotes proliferation and recurrence of DLBCL by activating the Rb/E2F1 pathway

Wanyan Zhixiang, Wang Jiyu, Pan Ying, et al

(Dept of Hematology, The Second Affiliated Hospital of Medical University, Hefei 230601)

Abstract Objective To investigate the expression of SENEX in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and its effect on the recurrence of DLBCL and its possible mechanism. **Methods** Western blot and qRT-PCR were used to detect SENEX gene and protein expression in 3 patients with newly diagnosed DLBCL (newly diagnosed group), 3 patients with relapsed DLBCL (recurrent group) and 3 patients with complete remission of DLBCL (complete remission group). SENEX in DLBCL cell OCI-LY8 were silenced with SiRNA transfection technology and the efficiency of transfection was verified by Western blot and qRT-PCR. The cell proliferation was measured by the CCK-8 analysis. The concentration of free transcription factor binding to the adenovirus E2 promoter (E2F) in cell supernatant was measured by ELISA. Western blot was used to detect expression of p16 and retinoblastoma (Rb) /phosphorylation retinoblastoma (pRb). **Results** SENEX and protein levels increased significantly in patients with relapsed DLBCL; SENEX expression in silencing DLBCL cells inhibited the proliferation of DLBCL cells, E2F activation and Rb activation. **Conclusion** The SENEX gene promotes proliferation and recurrence of DLBCL by activating the Rb/E2F1 pathway.

Key words SENEX; Rb/E2F; DLBCL; proliferation; relapse