

SALL4 基因沉默对 MCF-7/A 细胞增殖和化疗敏感性的影响

陈园园^{1,2}, 叶园园^{1,2}, 李志臻^{1,2}, 徐 枫^{1,2}, 牛瑞洁^{1,2}, 刘颖斌^{1,2}, 韩宝三^{1,2}

(1.上海交通大学医学院附属新华医院, 上海 200092;

2.上海交通大学医学院胆道疾病研究所, 上海 200092)

摘要: [目的] 探讨沉默 *SALL4* 基因对乳腺癌耐药细胞 MCF-7/A 的增殖及化疗敏感性的影响。[方法] qRT-PCR 和 Western Blot 实验检测 MCF-7、MCF-7/A 细胞内 *SALL4* 表达水平, 运用慢病毒包装 shRNA 方法沉默 MCF-7/A 细胞的 *SALL4* 基因; 实验组 (Lv-sh*SALL4*)、阴性对照组 (Lv-shNC) 和空白对照组 (CON)。CCK8 法、克隆形成实验检测 *SALL4* 沉默对细胞增殖能力的影响; CCK8 法检测表柔比星处理细胞 24h 和 48h 的半数抑制浓度 (IC₅₀); 流式细胞仪检测细胞凋亡。[结果] *SALL4* 在 MCF-7/A 细胞中的表达水平显著高于 MCF-7 ($P < 0.05$)。MCF-7/A 细胞中 *SALL4* 基因被成功沉默, 病毒感染 MCF-7/A 细胞 72h 后, 细胞感染效率约 95%, 沉默 *SALL4* 基因后 MCF-7/A 细胞内 *SALL4* mRNA 及蛋白表达均明显降低 ($P < 0.05$)。沉默 MCF-7/A 细胞的 *SALL4* 基因, 显著抑制了细胞的增殖能力 ($P < 0.05$), 增强了细胞对表柔比星的敏感性; 表柔比星 24h 和 48h 的 IC₅₀ 均明显降低 ($P < 0.05$), 并且表柔比星诱导的细胞凋亡增加 ($P < 0.05$)。[结论] 沉默 *SALL4* 基因能够抑制乳腺癌耐药细胞 MCF-7/A 的增殖, 增强耐药细胞对表柔比星的敏感性。*SALL4* 基因沉默可能是乳腺癌治疗的新靶点。

关键词: *SALL4* 基因; 乳腺肿瘤; 表柔比星

中图分类号: R737.9 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2016)02-0132-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2016.02.A011

Effect of *SALL4* Gene Silencing on the Proliferation and Drug Sensitivity of Multidrug Resistant Breast Cancer Cell MCF-7/A

CHEN Yuan-yuan, YE Yuan-yuan, LI Zhi-zhen, et al.

(Institute of Biliary Tract Disease, Xinhua Hospital, Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, School of Medicine, Shanghai, 200092, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the effect of *SALL4* gene silencing on the cellular proliferation and sensitivity of human breast cancer cell line MCF-7/A to chemotherapy. [Methods] The mRNA and protein levels of *SALL4* in MCF-7 and MCF-7/A cells were examined by qRT-PCR and Western Blot, respectively. The lentivirus-mediated shRNA approach was applied to silence the *SALL4* gene of MCF-7/A cells. The experiment set up an experimental group (Lv-sh*SALL4*), the negative control group (Lv-shNC) and blank control group (CON). The inhibitory effect on proliferation of MCF-7/A cells were detected by CCK8 assay and colony formation. Groups of CON, Lv-shNC and Lv-sh*SALL4* were cultivated with various concentrations of Epirubicin for 24h and 48h. Then, the IC₅₀ values (the concentration of drug inhibiting 50% of the cells) of MCF-7/A at 24h and 48h were measured by CCK8 reagent kit and the cell apoptosis rate was detected by flow cytometry. [Results] *SALL4* obviously up-regulated in MCF-7/A cells, compared with to MCF-7 cells ($P < 0.05$). *SALL4* gene in MCF-7/A cells was successfully silenced by the lentivirus-mediated shRNA interference approach. After being transfected for 72h, the infection efficiency was about 95%. And both mRNA and protein levels of *SALL4* in Lv-sh*SALL4* group were significantly reduced ($P < 0.05$). CCK8 assay based growth curve and colony formation assay indicated that silencing *SALL4* significantly inhibited the proliferation of MCF-7/A cells ($P < 0.05$). Besides, down-regulation *SALL4* markedly increased the sensitivity of MCF-7/A cells to Epirubicin. IC₅₀ value of Epirubicin in Lv-sh*SALL4* group was significantly lower at 24h and 48h based on CCK8 assay ($P < 0.05$). The cell apoptosis rate was higher in Lv-sh*SALL4* group than that in CON group after cultivating with Epirubicin for 48h ($P < 0.05$). [Conclusion] Silencing the *SALL4* gene in MCF-7/A can inhibit the proliferation and enhance the chemotherapy sensitivity of drug resistant breast cancer cells MCF-7/A.

收稿日期: 2015-10-10; 修回日期: 2015-11-17

基金项目: 国家自然科学基金 (81172078); 上海交通大学医工交叉基金项目 (YG2013MS16)

通讯作者: 韩宝三, E-mail: hanbaosan@126.com

A, towards Epirubicin. It suggests that SALL4 may be a promising target for the therapy of breast cancer.

Key words: SALL4; breast neoplasms; epirubicin

美国癌症协会发布的肿瘤预估数据显示 2015 年乳腺癌是女性最常见的癌症^[1]。全球肿瘤流行病学统计数据(GLOBOCAN)和中国国家肿瘤登记中心的数据认为乳腺癌是中国女性最常见的癌症, 每年中国乳腺癌新发病例数和死亡病例数分别占全世界的 12.2% 和 9.6%, 并且中国乳腺癌对全球的“贡献率”逐步增加, 严重危害女性的健康^[2,3]。越来越多的临床试验证实, 化学药物治疗是乳腺癌综合治疗中不可或缺的一部分, 但乳腺癌患者对化疗药物普遍存在原发耐药和(或)继发耐药, 耐药是导致乳腺癌化疗失败及转移复发的重要原因。因此, 耐药已成为目前乳腺癌临床治疗亟需解决的问题之一。

转录因子婆罗双树样基因 4(SALL4)是果蝇 *Spalt* 基因的同源异型基因家族中的一员, 在维持胚胎干细胞功能、早期胚胎发育及器官形成等方面发挥重要作用^[4,5]。近来研究发现, SALL4 也是一种癌基因, 在肿瘤的发生、进展、侵袭、转移及化疗耐药等方面发挥重要作用。研究证实, 在体外下调细胞内 SALL4 的表达可抑制多种肿瘤细胞的增殖; 此外, 体外沉默 SALL4 基因还可以增强子宫内膜癌^[6]和肺癌^[7]细胞对卡铂的敏感性。本研究拟通过沉默 SALL4 基因, 探讨其对乳腺癌多药耐药细胞株 MCF-7/A 的增殖及细胞对表柔比星敏感性的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

人乳腺癌多药耐药细胞株 MCF-7/A 由浙江大学肿瘤研究所提供^[8]。表柔比星(批号: H20093251)购于辉瑞(无锡)制药有限公司, 由生理盐水配成 10mmol/L 储存液, 4℃ 储存。DMEM 培养基、胎牛血清、0.25% 胰蛋白酶购于美国 Gibco 公司。实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qRT-PCR) 试剂盒购于美国 Takara 公司, CCK8 购于日本 Dojindo 公司。兔源性抗 SALL4 抗体、抗 GAPDH 抗体及 E-CL 显色液购于美国 Cell Signaling Technology 公司。

凋亡试剂盒、结晶紫、4% 多聚甲醛购于上海碧云天生物技术有限公司, 重组慢病毒包装的 shRNA 由吉满生物科技(上海)有限公司设计合成。SALL4-shRNA 序列为: 5'-GCCTTGAAACAAGCCAAGCTA-3', 阴性对照 shRNA 序列为 5'-TTCTCCGAACGT-GTCACGT-3'。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

乳腺癌细胞 MCF-7 及耐药细胞 MCF-7/A 培养于含 10% FBS 及 1% 青霉素和链霉素的 DMEM 培养基, 培养皿置于 37℃、5% CO₂ 培养箱内。每 2~3 天传代 1 次, 传代时用 0.25% 胰蛋白酶进行消化, 取对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 qRT-PCR 检测细胞内 SALL4 mRNA 相对表达量

Trizol 法提取细胞总 RNA, 分光光度计测定 RNA 的纯度和浓度, 取 2μg RNA 逆转录成 cDNA。根据 SYBR Premix Ex Taq™ PCR 试剂盒说明书加入各个反应物, 用 StepOnePlus™ 系统进行扩增反应。内参为 GAPDH。SALL4 引物根据 Genbank 资料, 由生物工程(上海)股份有限公司设计合成。SALL4 基因上游引物序列为 5'-CCAATAGTCAA-GAAAGC-3', 下游引物序列为 5'-ATCGCTCCGAC-CTTCCATC-3'。

1.2.3 Western blot 实验检测细胞内 SALL4 蛋白相对含量

收集细胞, 加入 RIPA 裂解液提取细胞总蛋白, 并用 BCA 法测定蛋白浓度, 进行 SDS-PAGE 电泳。将蛋白转至硝酸纤维素膜上, 5% 脱脂牛奶室温摇床孵育 2 h, TBST 漂洗 3 遍, 加入一抗(抗 SALL4, 1:1000), 4℃ 孵育过夜。次日 TBST 漂洗 3 遍, 加入羊抗兔二抗(1:1000)室温摇床孵育 1 h, ECL 显色。以 GAPDH 作为内参。

1.2.4 MCF-7/A 细胞内 SALL4 基因沉默效率的检测

利用慢病毒包装的“短发夹”RNA 片段干扰 SALL4 的表达, 实验设 Lv-shSALL4 组(由病毒包装的对 SALL4 基因有特异性干扰作用的 shRNA 序列

转染 MCF-7/A)、CON 组(不对 MCF-7/A 细胞进行慢病毒转染)和 Lv-shNC 组(由病毒包装的对 *SALL4* 基因无任何干扰作用的 shRNA 序列转染 MCF-7/A 细胞)。将 MCF-7/A 细胞以 5×10^4 的密度接种于 6 孔板,培养 24h 后,Lv-shNC 组、Lv-sh*SALL4* 组均按照感染复数(MOI)=40 感染 MCF-7/A 细胞,依据吉满公司病毒转染手册进行细胞转染操作。细胞转染 72h 后,通过观察绿色荧光蛋白(green fluorescent protein,GFP)表达量计算细胞转染效率,转染效率计算公式:细胞转染效率(%)=有 GFP 表达的细胞数/相同视野中细胞总数 $\times 100\%$,选取 4 个不同视野计算平均值。转染细胞内的 RNA 和蛋白于病毒感染 72h 后提取。

1.2.5 CCK8 法绘制细胞生长曲线

细胞分组同上,转染 72h 后,收集各组细胞,将细胞以 1000 个/孔的密度接种于 96 孔板,每孔 100 μ l,每组设 3 个复孔。在第 1~5d 每天取样细胞加入 CCK8 溶液,每孔 10 μ l,37 $^{\circ}$ C 继续培养 3h。用酶标仪在波长 450nm 处检测每孔的吸光度值(A_{450})。重复实验 3 次,取平均值。

1.2.6 克隆形成实验

细胞分组同上,转染 72h 后,收集各组细胞,将细胞以 350 个/孔的密度接种于 6 孔板,每组设 3 个复孔;待细胞生长 14d 后,弃去培养基,PBS 漂洗 2 次,4%多聚甲醛固定 15min 后 PBS 洗 1 次,结晶紫染色 20min,再用 PBS 洗 3 次,显微镜下计数细胞形成的克隆数。

1.2.7 CCK8 法检测表柔比星处理 MCF-7/A 细胞的半数抑制浓度(IC_{50})

细胞分组同上,转染 72h 后收集细胞,各组细胞以 5000 个/孔的密度接种于 96 孔板,每孔 100 μ l,每组设 3 个复孔,培养 24h 待细胞贴壁后进行如下处理。CON 组、Lv-shNC 组分别加入浓度为 1、4、16、64、256、562 μ mol/L 的表柔比星,Lv-sh*SALL4* 组分别加入浓度为 1、4、16、64、128、256 μ mol/L 的表柔比星。对照组不加药物,空白组不加药物和细胞。分别放入培养箱培养 24h 和 48h 后,进行 CCK8 实验,操作同 1.2.5,计算抑制率及各组药物的 IC_{50} 值。

抑制率 = $\{1 - [A(\text{实验组}) - A(\text{空白组})] / [A(\text{对照组}) - A(\text{空白组})]\} \times 100\%$

1.2.8 流式细胞术检测表柔比星诱导的细胞凋亡

细胞分组同上,将细胞以 5×10^4 个/孔铺 6 孔

板,病毒感染 72h 后,弃去培养液,加入 8 μ mol/L 的表柔比星培养 48h 后收集细胞,消化,1500r/min 转速离心 5min,PBS 洗涤 2 次后重悬于 100 μ l 缓冲液内,分别加入 10 μ l 7-AAD 染色和 5 μ l Annexin V-PE,室温避光 15min 后,再于各样品中加入 200 μ l 缓冲液,流式细胞仪检测细胞的凋亡,实验重复 3 次。

1.3 统计学处理

实验所得数据采用 SPSS19.0 软件进行统计学分析。计量资料数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均数比较用两独立样本 *t* 检验,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

2.1 MCF-7、MCF-7/A 细胞中 *SALL4* 基因表达水平的差异

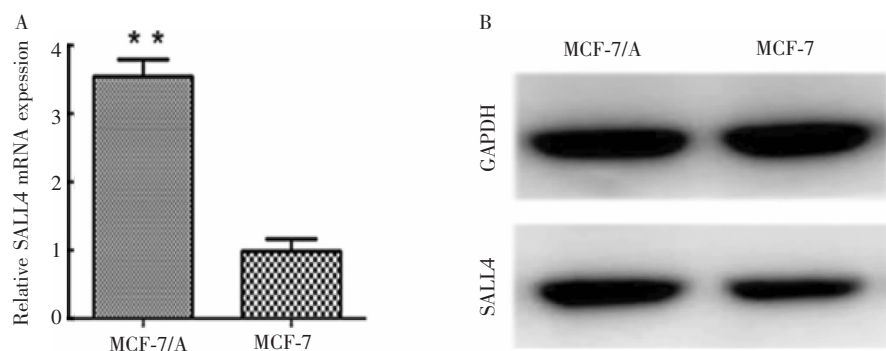
qRT-PCR 检测结果显示,MCF-7/A 细胞中 *SALL4* 基因的 mRNA 表达水平显著高于 MCF-7 细胞,相对倍数达 3.76 倍,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。Western Blot 实验结果显示,这两种细胞中 *SALL4* 蛋白含量与 mRNA 表达一致,即 MCF-7/A 细胞中 *SALL4* 蛋白表达明显高于 MCF-7(Figure 1)。

2.2 MCF-7/A 细胞中 *SALL4* 基因敲减效率检测

病毒感染细胞 72h 后,荧光显微镜下观察,感染组细胞 GFP 表达明显,计数结果显示,细胞转染效率约 95%(Figure 2A)。慢病毒转染 MCF-7/A 细胞 72h 后,Lv-sh*SALL4* 组的 *SALL4* mRNA 含量明显降低($P < 0.01$),CON 组与 Lv-sh*SALL4* 组 *SALL4* mRNA 相对含量分别是 1.02 ± 0.04 和 0.29 ± 0.01 ,Lv-sh*SALL4* 组约降低了 71.57%;Lv-shNC 组与 CON 组间 *SALL4* mRNA 相对含量无明显差异($P > 0.05$),表明病毒对目的基因的表达无明显影响(Figure 2B)。Western Blot 结果与 qRT-PCR 结果一致,即 Lv-sh*SALL4* 组蛋白表达明显低于 CON 组和 Lv-shNC 组(Figure 2C)。这些结果表明慢病毒介导的 shRNA 干扰方法成功沉默了 MCF-7/A 细胞中的 *SALL4* 基因。

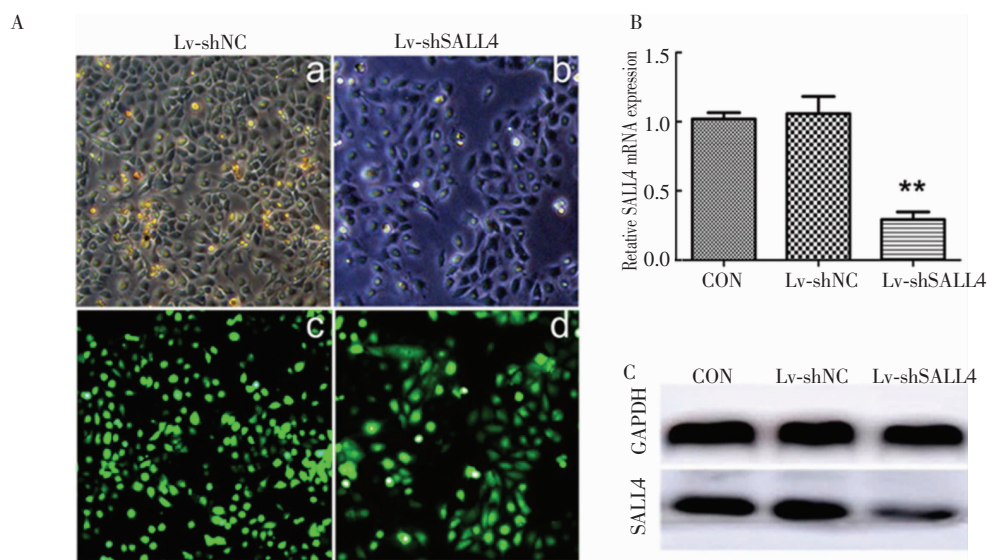
2.3 沉默 *SALL4* 基因对 MCF-7/A 细胞生长的影响

与 CON 组比较,自第 3d 起 Lv-sh*SALL4* 组细胞的生长状态受到明显抑制($P < 0.05$),且第 4、5d 细胞的生长状态被抑制的更加明显($P < 0.01$);而 Lv-shNC 组细胞生长状态与 CON 组比较,无明显改变($P > 0.05$)(Figure 3A)。克隆形成实验结果显示,Lv-sh*SALL4* 组细胞形成克隆的数目明显少于 CON 组



Note: A: The relative mRNA levels of *SALL4* were detected in the indicated cell lines. $**P < 0.01$, when compared to MCF-7 cells. B: The relative protein levels of *SALL4* were evaluated in the indicated cell lines.

Figure 1 The expression of *SALL4* in MCF-7 and MCF-7/A cell lines



Note: A: The detection of the infection efficiency of MCF-7/A cells ($\times 40$). a, c: MCF-7/A cells were transfected by Lv-shNC. b, d: MCF-7/A cells were transfected by Lv-SALL4-shRNA. a, b: The photos of cells under normal vision. c, d: The fluorescence photos of the cells under the corresponding vision. B: mRNA levels of *SALL4* were assessed in the indicated groups. C: Protein levels of *SALL4* were assessed in the indicated groups. $**P < 0.01$, when compared to the CON group.

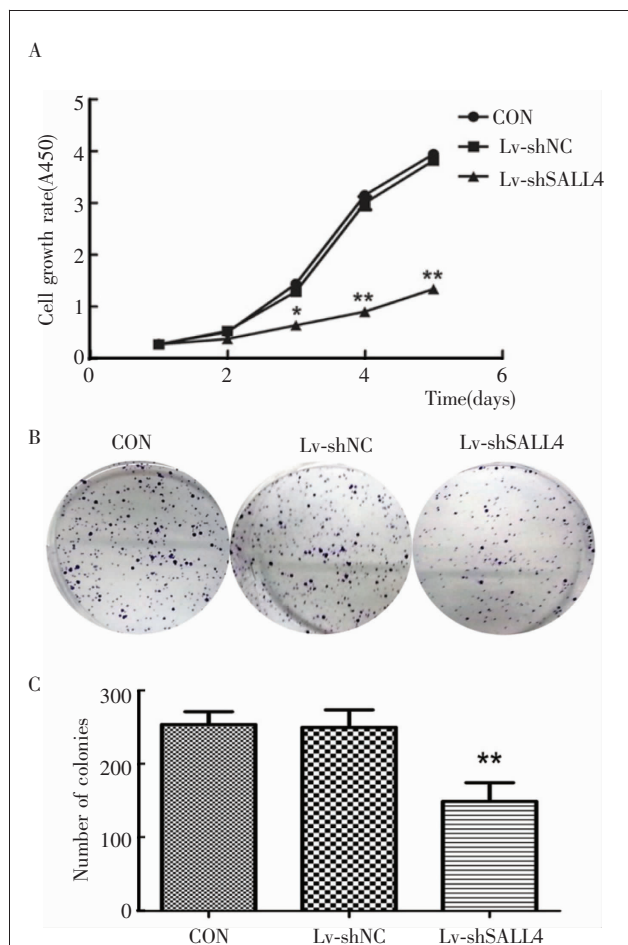
Figure 2 The infection efficiency of MCF-7/A cells transfected by lentivirus and the alteration of *SALL4* expression in the gene silenced cells

($P < 0.01$), 而 Lv-shNC 组形成的克隆数与 CON 组比较, 无显著性差异 ($P > 0.05$) (Figure 3B、3C); 说明沉默 *SALL4* 基因可以抑制 MCF-7/A 细胞的克隆形成能力。以上实验结果表明沉默 *SALL4* 基因可以显著性抑制 MCF-7/A 细胞增殖能力。

2.4 沉默 *SALL4* 基因增强 MCF-7/A 细胞对表柔比星的敏感性

沉默 MCF-7/A 细胞内的 *SALL4* 基因可以显著性降低表柔比星的 IC_{50} 值 ($P < 0.01$) (Table 1)。根据 48h 的 IC_{50} 值将 $8\mu\text{mol/L}$ 的表柔比星作用于各组细

胞 48h 后, 流式细胞仪检测细胞凋亡 (Figure 4), CON 组细胞凋亡率 (早期凋亡和晚期凋亡) 仅为 $(13.3 \pm 2.1)\%$, 而 Lv-shSALL4 组细胞凋亡率为 $(46.6 \pm 2.8)\%$, 凋亡细胞明显增多 ($P < 0.01$); 与 CON 组相比, Lv-shNC 组细胞凋亡率无明显差异 ($P > 0.05$)。这些结果表明沉默 *SALL4* 基因, 能够增加 MCF-7/A 细胞对表柔比星的敏感性, 增强化疗药物的细胞毒性, 使细胞凋亡增多增强表柔比星的细胞毒性, 协同表柔比星诱导细胞凋亡。



Note: A; The growth curves of MCF-7/A cells in each group; B; The photomicrographic differences and; C; influence of colonies on colony formation were shown, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Figure 3 Knockdown of SALL4 inhibits the proliferation of MCF-7/A cells

Table 1 The analysis of IC_{50} values of MCF-7 /A cells towards epirubicin

Intervention time(h)	CON	$IC_{50}(\mu\text{mol/L})$ Lv-shNC	Lv-shSALL4
24	186.63 $\pm$ 4.67	185.9 $\pm$ 4.17	46.04 $\pm$ 3.6**
48	29.57 $\pm$ 2.06	28.98 $\pm$ 2.57	6.34 $\pm$ 0.97**

Note: Lv-shSALL4 group vs CON group, ** $P < 0.01$.

3 讨论

婆罗双树基因 (SAL) 最早克隆于果蝇, 人类 SAL 基因家族有 SALL1~SALL4 四个成员, SALL4 是调控 SAL 家族的主要因子, 其位于染色体 20q13.13-13.2, 含有 4 个外显子, 编码蛋白是含有 8 个锌指基序的转录因子。SALL4 可与转录因子

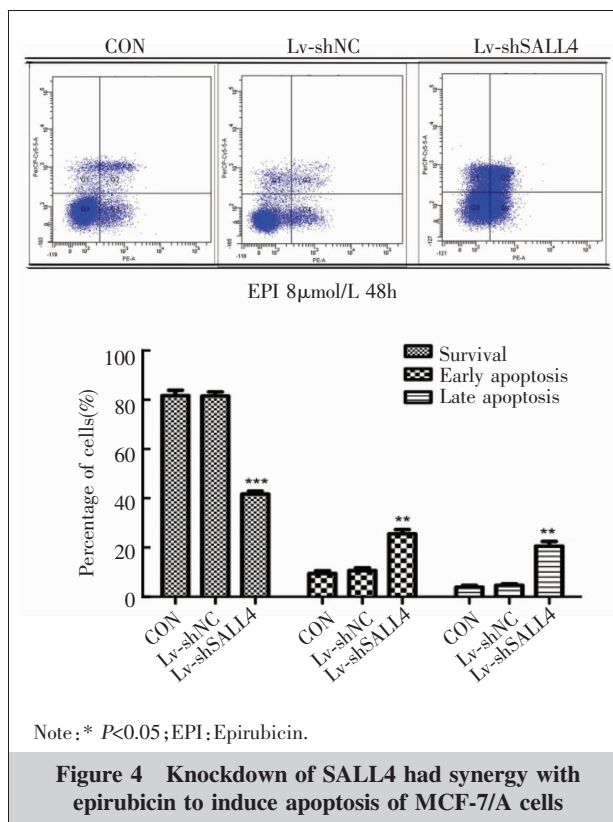


Figure 4 Knockdown of SALL4 had synergy with epirubicin to induce apoptosis of MCF-7/A cells

OCT4 和 SOX2 等相互作用, 共同维持胚胎干细胞的多能性^[4]。同时, SALL4 也是一种癌基因, 促进肿瘤的发生、转移、复发和耐药。Kobayashi 等^[9]、Yue 等^[10]通过对比研究乳腺癌组织和乳腺非癌组织, 发现 SALL4 在癌组织中高表达; 体外下调乳腺癌细胞 MCF-7 内 SALL4 的表达, 可抑制细胞增殖。在子宫内膜癌细胞中, 沉默 SALL4 基因, 不仅可以显著性抑制癌细胞的增殖, 还可以诱导癌细胞的凋亡, 增强癌细胞对铂类药物的敏感性^[6]; 席晓薇等进一步研究发现, SALL4 通过调节下游 *c-myc* 基因调控细胞膜上的跨膜转运蛋白—P-糖蛋白 (P-glycoprotein, P-gP) 的表达诱导子宫内膜癌细胞耐药^[11]。Jeong 等^[12]研究证实 SALL4 在耐药的急性髓性白血病患者中的表达水平显著性高于对化疗敏感的患者, SALL4 在各种白血病细胞株侧群细胞中的表达水平为非侧群细胞的 2~4 倍, SALL4 通过对白血病侧群细胞的维持和与 ABC 转运体 A3 结合, 增加白血病细胞对化疗药物的抵抗。此外, 在急性粒细胞白血病细胞中沉默 SALL4 基因可以协同全反式维甲酸诱导肿瘤细胞分化和死亡, 增强全反式维甲酸的抗癌活性, 其机制可能与 SALL4 通过招募赖氨酸特异性组蛋白脱

甲基化酶-1 调节靶基因和改变组蛋白甲基化状态有关^[13]。Yanagihara 等^[7]通过 siRNA 技术证实体外下调肺癌细胞中 SALL4 的表达,可以明显增强肺癌细胞对顺铂、卡铂、紫杉醇等化疗药物的敏感性。Oikawa 等^[14]运用 shRNA 介导的基因过表达和下调技术证实在肝癌细胞中过表达 SALL4 可上调 ATP 结合盒 G2(ABCG2,其编码蛋白为乳腺癌耐药蛋白)表达,从而增强肿瘤细胞对 5-Fu 的耐受性,反之,沉默 SALL4 基因,则可下调 ABCG2 表达,从而提高肿瘤细胞对 5-Fu 的敏感性。这些研究结果提示 SALL4 基因可能对肿瘤细胞的增殖和耐药性产生促进作用。

化疗被广泛应用于乳腺癌临床治疗,而肿瘤耐药使得化疗效果大大降低,甚至导致化疗失败。表柔比星是乳腺癌经典的化疗药物之一,属周期非特异性药物,对各个周期的肿瘤细胞都有杀灭作用。本研究对比分析了 SALL4 基因在乳腺癌多药耐药细胞株 MCF-7/A 及其亲代 MCF-7 中的表达水平,证实 SALL4 在 MCF-7/A 细胞中过表达;通过慢病毒包装的 shRNA 干扰技术成功沉默了细胞 MCF-7/A 的 SALL4 基因,分析了沉默 SALL4 基因对 MCF-7/A 细胞增殖的影响,结果与以往研究报道一致,即在乳腺癌耐药细胞 MCF-7/A 中靶向沉默 SALL4 基因,亦可抑制细胞生长。另外,在基因沉默的基础上,用表柔比星处理 MCF-7/A 细胞,分析沉默 SALL4 基因对乳腺癌化疗敏感性的影响,结果显示,沉默 SALL4 基因后,表柔比星处理 MCF-7/A 细胞 24h 和 48h 的半数抑制浓度(IC₅₀)均明显降低。在凋亡研究领域,IC₅₀ 值是指某种药物诱导 50% 细胞凋亡(或死亡)时的浓度,其可以用来衡量药物诱导凋亡(或死亡)的能力,亦可反向说明某种细胞对该药物的耐受程度。结合流式细胞仪检测细胞凋亡的结果分析可知,基因沉默组 IC₅₀ 值减低的原因可能是沉默 SALL4 基因使 MCF-7/A 细胞对表柔比星的耐受性降低,敏感性提高,并且协同表柔比星诱导细胞凋亡。综合本研究结果及以往相关的研究报道分析可发现,以 SALL4 为靶点协同表柔比星抗乳腺癌作用,可能成为肿瘤治疗的一个新策略。

总之,沉默 SALL4 基因能够抑制乳腺癌耐药细胞 MCF-7/A 的增殖,提高化疗药物的细胞毒性,增强肿瘤细胞对化疗的敏感性;但是肿瘤耐药机制十分复杂,SALL4 基因与乳腺癌耐药的具体作用机制

仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1):5-29.
- [2] Fan L, Strasser-Weippl K, Li JJ, et al. Breast cancer in China [J]. Lancet Oncol, 2014, 15(7):e279-e289.
- [3] Tao Z, Shi A, Lu C, et al. Breast cancer: epidemiology and etiology [J]. Cell Biochem Biophys, 2014. [Epub ahead of print]
- [4] Tanimura N, Saito M, Ebisuya M, et al. Stemness-related factor Sall4 interacts with transcription factors Oct-3/4 and Sox2 and occupies Oct-Sox elements in mouse embryonic stem cells [J]. J Biol Chem, 2013, 288(7):5027-5038.
- [5] Yang J, Gao C, Chai L, et al. A novel SALL4/OCT4 transcriptional feedback network for pluripotency of embryonic stem cells [J]. PloS One, 2010, 5(5):e10766.
- [6] Li A, Jiao Y, Yong KJ, et al. SALL4 is a new target in endometrial cancer [J]. Oncogene, 2015, 34(1):63-72.
- [7] Yanagihara N, Kobayashi D, Kuribayashi K, et al. Significance of SALL4 as a drug-resistant factor in lung cancer [J]. Int J Oncol, 2015, 46(4):1527-1534.
- [8] Hong LQ, Ke WF, Pan F, et al. Establishment of multidrug-resistant breast cancer cell line MCF-7/A [J]. Zhejiang Medicine, 2012, (17):1426-1429. [洪理泉, 柯卫锋, 潘峰, 等. 乳腺癌多药耐药细胞系 MCF-7/A 的建立 [J]. 浙江医学, 2012, (17):1426-1429.]
- [9] Kobayashi D, Kuribayashi K, Tanaka M, et al. SALL4 is essential for cancer cell proliferation and is overexpressed at early clinical stages in breast cancer [J]. Int J Oncol, 2011, 38(4):933-939.
- [10] Yue X, Xiao L, Yang Y, et al. High cytoplasmic expression of SALL4 predicts a malignant phenotype and poor prognosis of breast invasive ductal carcinoma [J]. Neoplasma, 2015, 62(6):980-988.
- [11] Liu L, Zhang J, Yang X, et al. SALL4 as an epithelial-mesenchymal transition and drug resistance inducer through the regulation of c-Myc in endometrial cancer [J]. PloS One, 2015, 10(9):e0138515.
- [12] Jeong HW, Cui W, Yang Y, et al. SALL4, a stem cell factor, affects the side population by regulation of the ATP-binding cassette drug transport genes [J]. PloS One, 2011, 6(4):e18372.
- [13] Liu L, Liu L, Leung LH, et al. Knockdown of SALL4 Protein Enhances All-trans Retinoic Acid-induced Cellular Differentiation in Acute Myeloid Leukemia Cells [J]. J Biol Chem, 2015, 290(17):10599-10609.
- [14] Oikawa T, Kamiya A, Zeniya M, et al. Sal-like protein 4 (SALL4), a stem cell biomarker in liver cancers [J]. Hepatology (Baltimore, Md), 2013, 57(4):1469-1483.