

MicroRNA-34a 调控 KLF4 转录因子在结直肠癌 5-Fu 耐药中的作用

李娜^{1,2}, 李赞², 万小亚³, 巩平², 李勇¹

(1. 遂宁市中心医院, 四川 遂宁 629000; 2. 石河子大学医学院第一附属医院, 新疆 石河子 832000; 3. 岳池县人民医院, 四川 岳池 638300)

摘要: [目的] 研究 microRNA-34a(miR-34a) 与其靶基因 *KLF4* 转录因子在结直肠癌发生化疗耐药中的作用。[方法] 利用 miRDB 和 microRNA 公共数据库筛选出 miR-34a 的直接作用靶点 *KLF4* 3'-UTR 区。运用 real-time PCR 方法检测人 5-氟尿嘧啶(5-Fu)耐药和敏感的结直肠癌组织及癌旁组织中 *miR-34a* 与 *KLF4* 的表达水平; 建立 5-Fu 抵抗性结直肠癌细胞系, 运用 real-time PCR 方法检测耐药细胞中 *KLF4* 的表达; 上调 5-Fu 耐药结直肠癌细胞中 *miR-34a* 的表达, 明确在结直肠癌 5-Fu 耐药细胞系中 *miR-34a* 对 *KLF4* 的调控作用。[结果] 在 40 例 5-Fu 耐药的结直肠癌组织中 *miR-34a* 呈低表达, *KLF4* 呈高表达, 且 *miR-34a* 在癌组织及癌旁组织中的表达与 *KLF4* 呈显著负相关($r=-0.678, P<0.001$); 在 5-Fu 耐药结直肠癌细胞系 HCT-8/5-Fu 和 SW-480/5-Fu 中 *KLF4* 呈高表达, 且上调耐药细胞中 *miR-34a* 可抑制耐药细胞中 *KLF4* 的表达。[结论] *KLF4* 转录因子在 5-Fu 化疗耐药的结直肠癌组织中呈低表达, 并与 *miR-34a* 呈负相关, 上调 *miR-34a* 的表达可直接抑制 *KLF4* 的表达, 提示 *miR-34a* 负向调控 *KLF4* 具有逆转结直肠癌化疗耐药的可能。

关键词: 结直肠癌; 5-氟尿嘧啶; 耐药; *miR-34a*; *KLF4*

中图分类号: R735.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-0242(2020)02-0148-06

doi: 10.11735/j.issn.1004-0242.2020.02.A011

KLF4 Transcription Factor Regulated by MicroRNA-34a in 5-Fu Chemotherapy Resistance of Colorectal Cancer

LI Na^{1,2}, LI Yun², WAN Xiao-ya³, GONG Ping², LI Yong¹

(1. Suining Central Hospital, Suining 629000, China; 2. The First Affiliated Hospital of Medical College, Shihezi University, Shihezi 832000, China; 3. The People's Hospital of Yuechi, Yuechi 638300, China)

Abstract: [Purpose] To investigate the role of microRNA-34a(miR-34a) and its target gene Krüppel-like factor 4(*KLF4*) transcription factor in chemotherapy resistance of colorectal cancer. [Methods] *KLF4* 3'-UTR region was screened as the direct target region of miR-34a by using miRDB and microRNA public databases. The expression level of *miR-34a* and *KLF4* in human 5-Fu resistant and sensitive colorectal cancer tissues and adjacent tissues was detected by the real-time PCR. 5-Fu resistant colorectal cancer cell line was established and the expression of *KLF4* in drug resistant colorectal cancer cells was detected by real-time PCR. The expression of *miR-34a* in 5-Fu resistant colorectal cancer cells was up-regulated, and the regulatory effect of *miR-34a* on *KLF4* in 5-Fu resistance colorectal cancer cells was confirmed. [Results] In 40 cases of 5-Fu resistant colorectal cancer, the expression of *miR-34a* was low and the expression of *KLF4* was high, and the expression of *miR-34a* in cancer tissues and adjacent tissues was negatively correlated with *KLF4* ($r=-0.678, P<0.001$). The high expression of *KLF4* was detected in 5-Fu resistant colorectal cancer HCT-8/5-Fu cells and SW-480/5-Fu cells; and the up-regulation of *miR-34a* inhibited the expression of *KLF4* in drug-resistant colorectal cells. [Conclusion] The expression of *KLF4* transcription factor is low in 5-Fu resistant colorectal cancer and it is negatively correlated with *miR-34a*. Up-regulating the expression of *miR-34a* can inhibit the expression of *KLF4*, suggesting that the negative regulation of *KLF4* by *miR-34a* may reverse the chemotherapy resistance of colorectal cancer cells.

Key words: colorectal cancer; 5-fluorouracil; drug resistance; *miR-34a*; Krüppel-like factor 4(*KLF4*)

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是最常见的

恶性肿瘤之一,也是全球癌症死亡的主要原因之一。

收稿日期: 2019-08-10; 修回日期: 2019-09-29

基金项目: 国家自然科学基金(81660400)

通信作者: 李勇, E-mail: lny2008hy@163.com

晚期结直肠癌目前仍以奥沙利铂、伊立替康及氟尿嘧啶类药物为治疗基石^[1]。目前由于结直肠癌化疗

耐药机制仍不清楚,因此化疗耐药仍是晚期结直肠癌不可避免的治疗瓶颈问题。MicroRNA(miRNA)是一类含量丰富且高度保守的非编码小RNA分子,调控细胞分裂、分化、凋亡等重要生物学过程,并在多种肿瘤的发生、发展及化疗耐药中发挥重要作用^[2-4]。课题组前期研究证实 miR-34a 在结直肠癌组织中呈低表达,同时 miR-34a 的表达与 5-氟尿嘧啶(5-Fu)化疗敏感性相关^[5]。另有研究显示 miR-34a 高表达可逆转结直肠癌细胞化疗耐药^[6]。本文旨在研究 miR-34a 调控 *KLF4*(Krüppel-like factor 4)转录因子在结直肠癌化疗耐药中的作用,为结直肠癌化疗耐药逆转提供新思路。

1 资料与方法

1.1 材料和试剂

收集 82 例于 2016 年 1 月至 2018 年 12 月在石河子大学医学院第一附属医院经病理确诊的术后复发转移的 IV 期结直肠癌患者及其组织标本。入组患者体能状态良好,ECOG 评分(Eastern Cooperative Oncology Group)为 0~1 分,均接受以 5-Fu 为基础的一线化疗。本研究经石河子大学医学院第一附属医院伦理委员会批准,且所有患者均签署知情同意书。其中 42 例患者化疗敏感,40 例患者化疗耐药,两组间年龄、性别、组织分化均无统计学差异,两组间转移部位存在差异,其中化疗敏感组肺转移、肝转移、肝和肺同时转移、腹盆腔转移;化疗耐药组肺转移、肝转移、肝和肺同时转移、腹盆腔转移,差异具有统计学意义($P<0.05$)(Table 1)。

HCT-8/5-Fu 耐药细胞和亲本细胞 HCT-8、SW-480/5-Fu 耐药细胞和亲本细胞 SW-480 均购自上海博谷生物科技有限公司。其中 HCT-8、SW-480/5-Fu 耐药细胞 5-Fu 的浓度分别是 $1.5\times10^4\text{ng/ml}$ 和 $2.0\times10^4\text{ng/ml}$ 。胎牛血清(FBS)购自美国 Invitrogen 公司;1%青霉素/链霉素购自美国 Thermo Fisher 公司;试剂盒购

自 TaKa-Ra;Lipofectamine™ 3000 购自 Invitrogen;miR-34a mimic 购自上海吉凯基因化学技术有限公司;I 抗和 II 抗购自 BD 公司。Real-Time Thermocycler 7500 PCR 仪购自美国应用生物系统公司;酶标仪购自美国 Bio Tek Instruments 公司;光学显微镜购自日本 Olympus 公司。

1.2 筛选靶基因

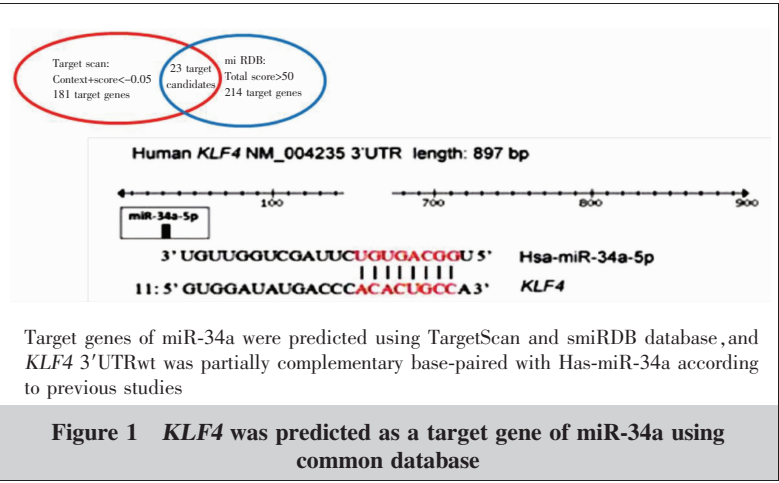
利用 miRDB 和 microRNA 公共数据库,筛选到了 *KLF4* 的 3'-UTR 区为 miR-34a 的直接作用靶点(Figure 1)。

1.3 疗效评估与分组

标准化疗 2 个周期后(或 FOLFOX/FOLFIRI 方案 4 个周期),根据增强 CT 的检查结果进行疗效评估,疗效采用 RECIST1.1 将疗效分为化疗有效组:完全缓解(CR)+部分缓解(PR)+疾病稳定(SD)和化疗

Table 1 The clinicopathological characteristics of 82 CRC patients

Parameter	Total (n=82)	Chemotherapy sensitive group (n=42)	Chemotherapy resistant group (n=40)	P
Age(years)				
<65	35	18	17	0.974
≥65	47	24	23	
Gender				
Male	48	28	20	0.126
Female	34	14	20	
Differentiation				
Well	34	16	18	0.526
Poor	48	26	22	
Metastasis				
Lung	33	12	21	0.019
Liver	29	20	9	
Lung and liver	12	8	4	
Peritoneum/pelvic	8	2	6	



耐药组:疾病进展(PD)^[7]。

1.4 细胞培养

所有细胞培养于混合 10%FBS, 1×10^5 U/L 青霉素和 100mg/L 链霉素的 1640 培养液中, 置于 37℃、5%CO₂ 培养箱中培养, 细胞达到 90%融合状态后传代, 取对数期生长状况良好的细胞进行后续实验。转染实验: 将 2.5×10^5 细胞接种于 6 孔板中培养过夜, 然后将 miR-34a-mimic(类似物)及 miR-NC 50nmol/L, 使用 Lipofectamine™ 3000 进行转染。

1.5 Real-time PCR 检测

(1)总 RNA 提取:根据说明书用 Trizol 试剂(Invitrogen, 美国)从培养的细胞、结直肠癌及癌旁正常组织中提取总 RNA。然后通过 RNeasy Mini Kit RNA 试剂盒(Invitrogen, 美国)分离纯化总 RNA 溶液, 紫外分光光度计(上海光学仪器厂, 755B 型)测量 RNA 的吸光度值, 应用公式计算 RNA 浓度并评估纯度。(2)实时荧光定量聚合酶链反应(real-time PCR)检测 miR-34a 的表达:利用 miRNA 特异性引物(3'-TGGCTCAGTTCAGCAGGAACAG-5')通过 miScript II RT Kit(Qiagen)按逆转录说明书将 1μg RNA 逆转录为 cDNA。使用 SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒(Life Technologies, 美国)进行 real-time PCR 实验(PCR 仪为 ABI 7500 实时定量 PCR 仪 ABI, 美国), PCR 扩增条件为:95℃ 10min (95℃ 15s, 60℃ 1min 共 40 个循环), 每个样品都做 3 个复孔, 选取 U6 为内参, 以 ddH₂O 代替样品 cDNA 做为阴性对照;miR-34a 的上游引物序列为 5'-CTCGCCGCGCTCTACCTACCTA-3', 下游引物序列为 5'-ATGAGCCATTCGCAGTTTCACTGTA-3'。U6 上游引物序列为 5'-GCGCGTCGTGAAGCGTTC-3', 下游引物序列为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'。样品中的荧光信号到达仪器设定的阈值时的循环数即为 Ct 值。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 miR-215 的相对表达量, 其中 Ct 表示循环阈值, $\Delta C_t = (C_{t_{miR-34a}} - C_{t_{U6}})$ 。(3)采用 real-time PCR 检测 KLF4 mRNA 的表达:按上述步骤提取细胞总 RNA, 采用 High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(Thermo Fisher Scientific, 美国)试剂盒, 逆转录合成 cDNA。扩增反应使用 25μl 体系, 包含引物、SYBR Green PCR Master Mix(全式金北京)及 1μl 的 cDNA, PCR 反应条件:95℃预变性 10min(95℃变性 15s, 60℃退火 1min, 40 个循环), 溶

解曲线分析, 95℃ 15s, 60℃ 1min, 95℃ 15s, 60℃ 15s, 并采用 GAPDH 扩增作为内参 Ct。使用 Sequence Detector System 软件进行分析, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算基因的相对表达量, $\Delta C_t = (C_{t_{KLF4}} - C_{t_{GAPDH}})$ 。每个样本中 mRNAs 的相对表达水平平均重复检测 3 次。引物序列为 KLF4:上游 5'-AAGAGTTCCCATCTCAAG-CACA-3', 下游 5'-GGGCGAATTTCCATCCACAG-3'。GAPDH:上游 5'-AACGGATTTGGTCTGATTG-3', 下游 5'-GGAAGATGGTGTGGGATT-3'。

1.6 MTT 实验

用 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑溴化铵(MTT)法检测细胞活力。各组细胞以每孔 6×10^4 个接种于 96 孔板, 并且每组细胞设置 3 个复孔, 分别加入含 10μmol/L 奥沙利铂(Oxaliplatin)、20μmol/L 5-Fu、15μmol/L 伊立替康(CPT-11)药物的细胞培养液, 继续培养 12h。弃去原培养液后每孔加入 MTT (5g/L)20μl, 置于 37℃培养 4h。弃去上清, 每孔加入 150 匹二甲基亚砷(DMSO, 振荡 10min 使结晶充分溶解, 使用酶标仪上检测各组细胞 490nm 波长的吸光度(A_{490} 值), 并计算细胞活力, 细胞活力(%)=处理组 A_{490} 值/对照组 A_{490} 值 $\times 100\%$ 。

1.7 Western blot 检测 KLF4 蛋白表达

在各组细胞中加入 0.25%胰蛋白酶消化后, 用 PBS 缓冲液清洗细胞 3 次; 加入 65μl RIPA 细胞蛋白裂解液, SDS-PAGE 分离蛋白; 电泳结束后转膜, 再用 5%脱脂奶粉室温封闭 1h, 加入稀释 1000 倍的鼠抗人 KLF4 和 GAPDH I 抗, 4℃轻摇过夜, 加入稀释 5000 倍的 HRP 标记的羊抗鼠 II 抗, 室温孵育 1h。X 线片曝光分析, 结果用 Image-Pro Plus 处理, 以目的蛋白与内参照价 β -actin 的灰度值比值表示蛋白的相对表达量。

1.8 统计学处理

采用 SPSS20.0 软件, 实验数据采用卡方检验、单因素方差分析、t 检验等进行统计学分析, 计量数据以均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 MiR-34a 和 KLF4 与结直肠癌化疗耐药的相关性

采用 real-time PCR 检测 82 例患者癌旁组织与

癌组织中 *miR-34a* 和 *KLF4* 的表达。相较正常和 5-Fu 化疗敏感组, *KLF4* 转录因子在 5-Fu 抵抗性结肠癌病理组织中异常高表达, 而化疗耐药组中 *miR-34a* 的表达低于正常和 5-Fu 化疗敏感的结肠癌组织。并且在 5-Fu 耐药的结肠癌及癌旁组织中发现, *miR-34a* 表达水平与 *KLF4* mRNA 水平呈显著负相关, 提示两者与结肠癌 5-Fu 耐药性呈负相关 ($r=-0.678, P<0.001$) (Table 2; Figure 2)。

2.2 *miR-34a* 和 *KLF4* 在 5-Fu 耐药细胞中的表达

分别采用 10 μ mol/L 奥沙利铂 (Oxaliplatin)、

20 μ mol/L 5-Fu、15 μ mol/L 伊立替康 (CPT-11) 处理 HCT-8、HCT-8/5-Fu、SW-480 和 SW-480/5-Fu, 通过 MTT 法检测 HCT-8/5-Fu 和 SW-480/5-Fu 的多药耐药性, 结果显示 HCT-8/5-Fu 和 SW-480/5-Fu 较 HCT-8、SW-480 对奥沙利铂、5-Fu、伊立替康具有显著的多药耐药性 ($P<0.01$) (Table 3; Figure 3)。

采用 real-time PCR 检测不同细胞中 *KLF4* 的表达, 结果显示在 5-Fu 耐药结肠癌细胞系 HCT-8/5-Fu 和 SW-480/5-Fu 中, *KLF4* 呈显著高表达 ($P<0.05$, Figure 4)。

Table 2 Expression of *KLF4* and *miR-34a* in CRC tissues and adjacent tissues

Item	Adjacent tissues (n=82)	5-Fu responsible tissues (n=42)	5-Fu resistant tissues (n=40)	F	P
Expression of <i>KLF4</i>	1.09 $\pm$ 0.40	0.71 $\pm$ 0.53	2.15 $\pm$ 0.95	55.92	<0.01
Expression of <i>miR-34a</i>	2.48 $\pm$ 0.97	1.30 $\pm$ 0.83	0.88 $\pm$ 0.46	58.74	<0.01

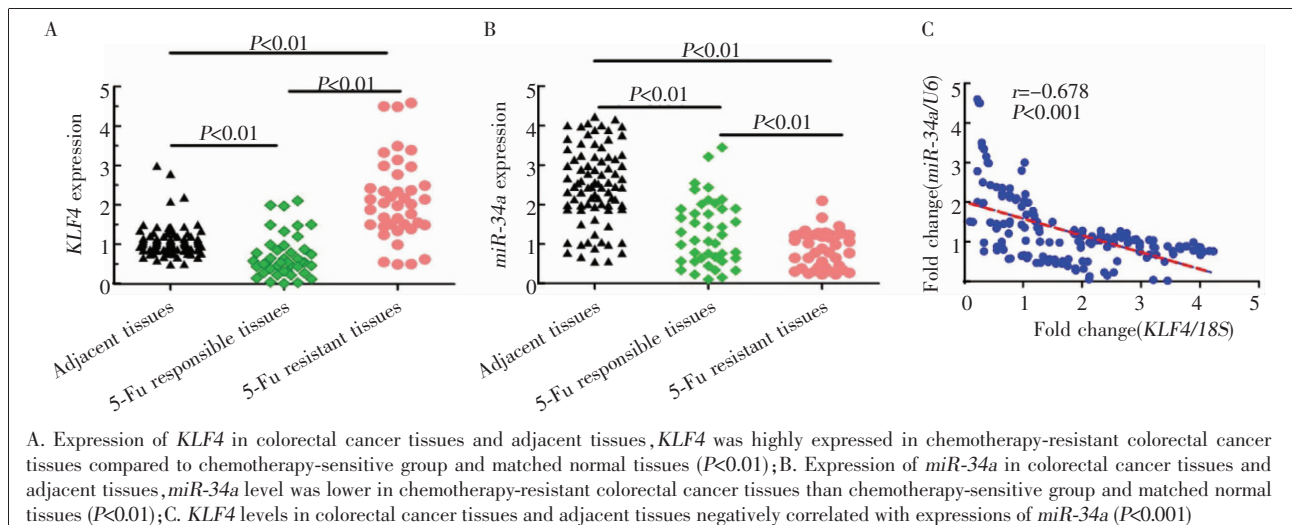


Figure 2 Expressions of *KLF4* and *miR-34a* along with their correlation in colorectal cancer tissues

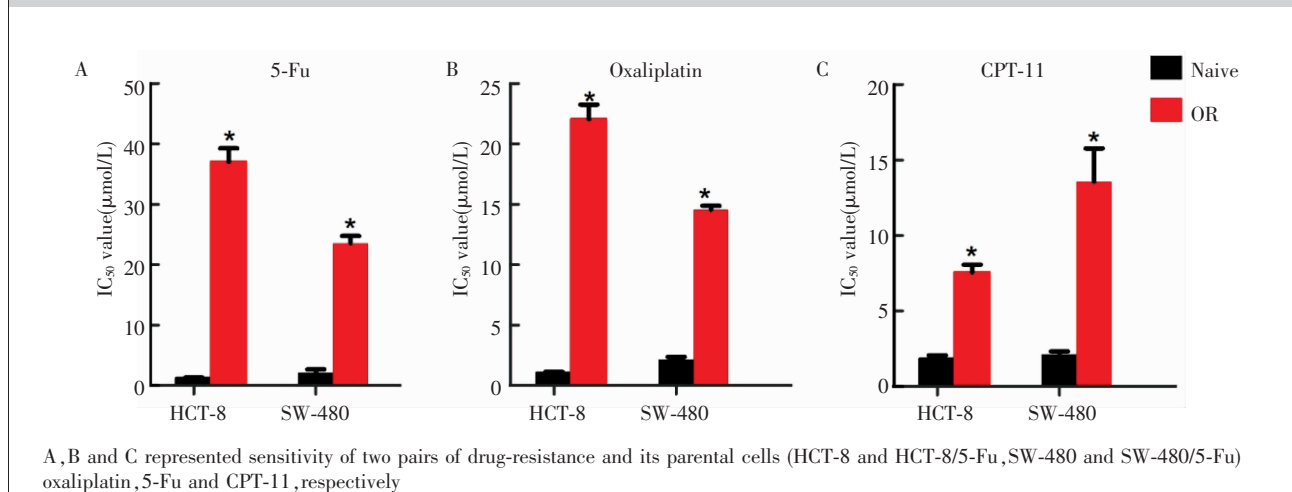
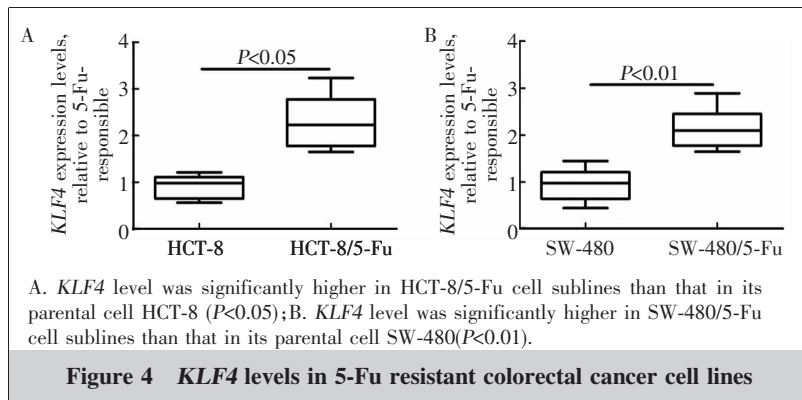


Figure 3 Assessment of multidrug resistance in 5-Fu resistant colorectal cancer cell lines

Table 3 Multidrug resistance detection of 5-Fu resistant CRC cell lines

Item	HCT-8 cell line			SW-4808 cell line		
	HCT-8	HCT-8-OR	P	SW-480	SW-480-OR	P
Oxaliplatin	1.05±0.10	22.04±1.21	<0.01	2.15±0.23	14.55±0.34	<0.01
5-Fu	1.25±0.10	37.04±2.21	<0.01	2.10±0.53	23.55±1.23	<0.01
CPT-11	1.85±0.23	7.56±0.51	<0.01	2.12±0.23	13.55±2.23	<0.01



为进一步验证 miR-34a 和 KLF4 在结直肠癌耐药细胞中的调控作用,将 HCT-8/5-Fu 和 SW-480/5-Fu 分别瞬时转染进 miR-34a 的化学模拟物 mimics 及阴性对照 mimic-NC,结果显示上调 miR-34a 的表达,KLF4 mRNA、蛋白水平均显著被抑制,揭示 miR-34a 负性调控 KLF4 的表达与结直肠癌 5-Fu 化疗耐药显著相关($P<0.01$)(Figure 5)。

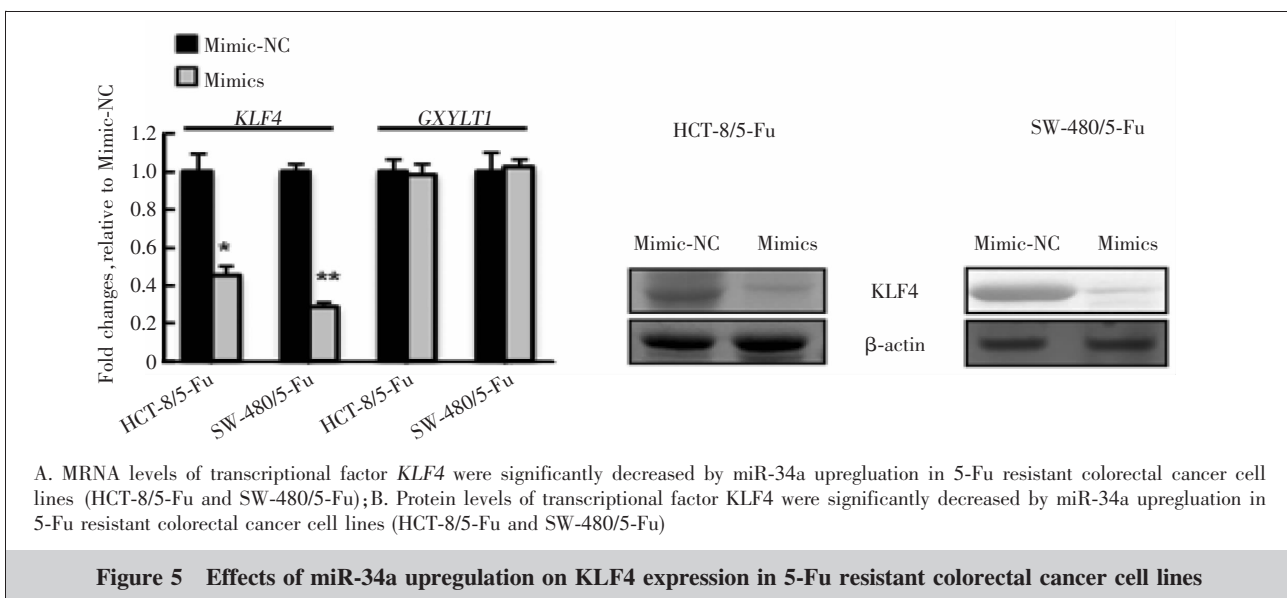
3 讨论

化疗耐药是中晚期结直肠癌治疗失败的主要

原因,miRNA 在结直肠癌化疗耐药的调控中发挥重要作用^[8-9]。MiR-34a 是 miRNA-34 家族中的一员,编码基因位于 1p36,已明确其在多种肿瘤中发挥抑癌作用,而 miR-34a 在结直肠癌的研究更为深入。MiR-34a 在 p53 诱导下表达调控众多靶基因 *E2F3*、*CDK4*、*Bcl2*、*MET*、*c-Myc*、*N-Myc*、*SIRT1* 等,并发挥类似 p53 的生物学作用,进而抑制结直肠癌的细胞增殖、侵袭、转移等作用,同时 miR-34a 能够促进结直肠癌化疗敏感性^[10-11]。本课题组在前期研究中检测了 268 例术后结直肠癌患者的病理组织中 miR-34a 的表达水平,结果显示肿瘤组织中 miR-34a 表达水平与术后复发呈负相关,高表达者预后

好,低表达者预后较差,无疾病生存时间短,3 年复发率高,提示 miR-34a 可作为结直肠癌复发的独立预测标志物。亚组分析显示 miR-34a 高表达的患者能够从化疗中获益^[5]。Akao 等^[12]研究发现在 5-Fu 耐药的结直肠癌细胞中上调 miR-34a 的表达,能够抑制耐药细胞的生长,5-Fu 耐药性部分逆转。Li 等^[13]研究结果与之相似,上调 miR-34a 可使其靶基因 *LDHA* 下调抑制糖代谢从而逆转 5-Fu 耐药。

KLF4 是广泛表达于人类组织中的锌指结构转录因子,在正常细胞的生长、分化过程中发挥重要作用,包括细胞周期调控、增殖分化和凋亡等^[14-18]。



KLF4 在肿瘤发生、发展中具有双向调节作用,其中通过抑制 Bax/p53 信号通路发挥促癌作用^[19-21]。有研究发现 KLF4 在肿瘤干细胞中呈高表达^[22-23]。Mao 等^[24]研究发现 KLF4 在结直肠癌细胞中呈高表达,上调 KLF4 的表达能够逆转 miR-375 的抑癌作用,从而促进结直肠癌细胞的增殖。

本研究通过检测 5-Fu 化疗敏感及耐药组织中 *miR-34a* 和 *KLF4* 的表达,证实 *miR-34a* 在 5-Fu 化疗耐药的结直肠癌组织中呈低表达,*KLF4* 转录因子呈高表达,两者呈显著负相关;细胞实验发现,*KLF4* 在结直肠癌耐药细胞中呈高表达,上调 *miR-34a* 的表达可直接抑制 *KLF4* 的表达,从组织及细胞水平均提示 *miR-34a* 负向调控 *KLF4* 具有逆转结直肠癌化疗耐药的可能。

参考文献:

- [1] Gu J, Wang JP, Sun Y, et al. Chinese standard for the diagnosis and treatment of colorectal cancer(2017 edition)[J]. Chinese Journal of Clinicians, 2018, 12(1):3-23. [顾晋, 汪建平, 孙燕, 等. 中国结直肠癌诊疗规范(2017 年版)[J]. 中华临床医师杂志, 2018, 12(1):3-23.]
- [2] Thomas J, Ohtsuka M, Pichler M, et al. MicroRNAs: clinical relevance in colorectal cancer[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16(12):28063-28076.
- [3] Mohammadi A, Mansoori B, Baradaran B. The role of microRNAs in colorectal cancer[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 84:705-713.
- [4] Slabáková E, Culig Z, Remšík J, et al. Alternative mechanisms of miR-34a regulation in cancer[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(10):3100-3112.
- [5] Gao J, Li N, Dong Y, et al. MiR-34a-5p suppresses colorectal cancer metastasis and predicts recurrence in patients with stage II/III colorectal cancer[J]. Oncogene, 2015, 34(31):4142-4152.
- [6] Li Y, Gong P, Hou JX, et al. MiR-34a regulates multidrug resistance via positively modulating OAZ2 signaling in colon cancer cells[J]. J Immunol Res, 2018, 2018:7498514.
- [7] Xu BH, Zhang P, Yang S, et al. Current situation and counter measures of drug resistance of tumor chemotherapy[J]. Chinese Journal of Medicine, 2005, 40(11):12-15. [徐兵河, 张频, 杨晟, 等. 肿瘤化疗药物耐药的现状及对策[J]. 中国医刊, 2005, 40(11):12-15.]
- [8] Wu J, Ding J, Yang J, et al. MicroRNA roles in the nuclear factor Kappa B signaling pathway in cancer [J]. Front Immunol, 2018, 9:546.
- [9] Toden S, Kunitoshi S, Cardenas J, et al. Cancer stem cell-associated miRNAs serve as prognostic biomarkers in colorectal cancer[J]. JCI Insight, 2019, 4(6). pii: 125294.
- [10] Fang C, Qiu S, Sun F, et al. Long non-coding RNA HNF1A-AS1 mediated repression of miR-34a/SIRT1/p53 feedback loop promotes the metastatic progression of colon cancer by functioning as a competing endogenous RNA[J]. Cancer Lett, 2017, 410:50-62.
- [11] Zhang X, Ai F, Li X, et al. MicroRNA-34a suppresses colorectal cancer metastasis by regulating Notch signaling[J]. Oncol Lett, 2017, 14(2):2325-2333.
- [12] Akao Y, Noguchi S, Iio A, et al. Dysregulation of microRNA-34a expression causes drug-resistance to 5-Fu in human colon cancer DLD-1 cells [J]. Cancer Lett, 2011, 300(2):197-204.
- [13] Li X, Zhao H, Zhou X, et al. Inhibition of lactate dehydrogenase A by microRNA-34a resensitizes colon cancer cells to 5-fluorouracil[J]. Mol Med Rep, 2015, 11(1):577-582.
- [14] Zhou H, Liu Y, Zhu R, et al. FBXO32 suppresses breast cancer tumorigenesis through targeting KLF4 to proteasomal degradation[J]. Oncogene, 2017, 36(23):3312-3321.
- [15] Zhu Z, Yu Z, Wang J, et al. Kruppel-like factor 4 inhibits pancreatic cancer epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis by down-regulating Caveolin-1 expression [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(1):238-252.
- [16] Yu T, Chen X, Zhang W, et al. KLF4 regulates adult lung tumor-initiating cells and represses K-Ras-mediated lung cancer[J]. Cell Death Differ, 2016, 23(2):207-215.
- [17] Yang X, Zhang D, Liu S, et al. KLF4 suppresses the migration of hepatocellular carcinoma by transcriptionally upregulating monoglyceride lipase [J]. Am J Cancer Res, 2018, 8(6):1019-1029.
- [18] Ghaleb AM, Yang VW. Kruppel-like factor 4 (KLF4): what we currently know[J]. Gene, 2017, 611:27-37.
- [19] Leng Z, Tao K, Xia Q, et al. Kruppel-like factor 4 acts as an oncogene in colon cancer stem cell-enriched spheroid cells[J]. PLoS One, 2013, 8(2):e56082.
- [20] Clevers H. The cancer stem cell: premises, promises and challenges[J]. Nat Med, 2011, 17(3):313-319.
- [21] Chen Q, Li L, Tu Y, et al. MiR-34a regulates apoptosis in liver cells by targeting the KLF4 gene [J]. Cell Mol Biol Lett, 2014, 19(1):52-64.
- [22] Ding B, Liu P, Liu W, et al. Emerging roles of Kruppel-like factor 4 in cancer and cancer stem cells [J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2015, 16(9):3629-3633.
- [23] Jia Y, Zhang W, Liu H, et al. Inhibition of glutathione synthesis reverses Kruppel-like factor 4-mediated cisplatin resistance[J]. Cancer Chemother Pharmacol, 2012, 69(2):377-385.
- [24] Mao Q, Quan T, Luo B, et al. MiR-375 targets KLF4 and impacts the proliferation of colorectal carcinoma [J]. Tumour Biol, 2016, 37(1):463-471.