

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2014.06.009

转录因子 *SOX7* 基因在贲门腺癌中的异常表达及其甲基化状态

郭艳丽, 邓良勇, 郭炜, 邝钢, 杨植彬, 董稚明(河北医科大学第四医院, 河北省肿瘤研究所病理研究室, 石家庄 050011)

[摘要] **目的:**检测贲门腺癌(gastric cardia adenocarcinoma, GCA)组织及相应癌旁非肿瘤组织中Y性别决定区基因7(sex determining region Y-box 7, *SOX7*)的甲基化状态及其对*SOX7* mRNA表达、Wnt通路中心因子 β -catenin异质表达的影响及与临床病理特征之间的相关性。**方法:**选择河北医科大学第四医院胸外科2006-2012年手术切除的GCA及癌旁组织各130例,应用甲基化特异性PCR(methylation specific PCR, MSP)、RT-PCR分别检测130例GCA及癌旁组织中*SOX7*基因的甲基化状态及其mRNA表达情况,应用免疫组织化学方法检测标本中 β -catenin蛋白的表达。分析*SOX7*的甲基化状态与临床病理特征、*SOX7* mRNA表达、 β -catenin蛋白的异质表达及上消化道肿瘤家族史(upper gastrointestinal cancers, UGIC)的关系。**结果:**GCA组织中*SOX7*的甲基化率显著高于癌旁组织为[57.7%(75/130) vs 30.8%(40/130), $P < 0.01$],其高甲基化仅与肿瘤患者的淋巴结转移情况有关($P < 0.05$),与肿瘤组织的病理分级及临床分期均无关($P > 0.05$)。GCA组织中*SOX7* mRNA的表达量明显低于癌旁非肿瘤组织[(0.414 ± 0.054) vs (0.695 ± 0.034) , $P < 0.01$],其 β -catenin蛋白的异质表达率显著高于癌旁组织(85.4% vs 43.1%, $P < 0.01$);GCA组织中*SOX7*基因mRNA表达情况及 β -catenin蛋白的异质表达率均与该基因的甲基化状态有关($P < 0.05$),并且*SOX7*基因的甲基化状态与贲门癌患者的上消化道家族史密切相关($P < 0.01$)。**结论:**CpG岛甲基化是*SOX7*基因表达下调的机制之一,并可能通过Wnt/ β -catenin信号转导通路的激活在贲门腺癌的发生中扮演着重要的角色。

[关键词] 贲门腺癌;Y性别决定区基因7;甲基化;Wnt信号通路

[中图分类号] R735.2; R730.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2014)06-0652-06

Hypermethylation and aberrant expression of transcription factor *SOX7* gene in gastric cardia adenocarcinoma

Guo Yanli, Deng Liangyong, Guo Wei, Kuang Gang, Yang Zhibin, Dong Zhiming (Pathology Laboratory of Hebei Cancer Institute, the Fourth Hospital Affiliated to Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To determine the methylation status and expression of *SOX7* gene in association with Wnt signaling and clinicopathological characteristics in gastric cardia adenocarcinoma (GCA). **Methods:** Paired specimens of primary tumor and corresponding adjacent tissues were collected from 130 patients who were diagnosed with GCA and underwent surgical ablation in the Thoracic Surgery, Fourth Hospital Affiliated to Hebei Medical University in Shijiazhuang between 2006 and 2012. Methylation of CpG sites within the *SOX7* gene promoter was assessed by methylation specific PCR (MSP), *SOX7* mRNA abundance by RT-PCR, and β -catenin protein by immunohistochemistry, in these specimens. Associations of the methylation status of the *SOX7* gene promoter with *SOX7* mRNA abundance, β -catenin protein contents, clinicopathologic variables and the history of the upper gastrointestinal cancers (UGIC), respectively, were assessed. **Results:** The frequency of *SOX7* gene methylation was significantly higher in GCA tissue (57.7%) than that in the adjacent non-cancerous tissues ($P < 0.01$). The hypermethylation of this gene was correlated with lymph node metastasis ($P < 0.05$) but neither with pathological grade nor clinical stage ($P > 0.05$). *SOX7* mRNA abundance was significantly lower

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目(No. H2013206315);河北省医学科研重点课题计划项目(No. 20130543)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. H2013206315), and the Focal Point Project of Hebei Medical Research(No. 20130543)

[作者简介] 郭艳丽(1980-),女,河北省邯郸市人,硕士,主要从事肿瘤病因学研究,E-mail: yanli800224@163.com

[通信作者] 董稚明(Dong Zhiming, corresponding author), E-mail: dongzhiming2000@aliyun.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20141209.1515.007.html>

in GCA tissue (0.414 ± 0.054) than that in the corresponding adjacent tissues (0.695 ± 0.034 , $P < 0.01$). The ectopic expression frequency of β -catenin was significantly different between GCA and adjacent tissue specimens ($85.4\% vs 43.1\%$, $P < 0.05$). *SOX7* mRNA and β -catenin protein levels were significantly correlated with the frequency of *SOX7* gene methylation in GCA tissue ($P < 0.05$). In addition, the methylation status of the *SOX7* gene was closely related with the history of UGIC ($P < 0.01$). **Conclusion:** Hypermethylation of CpG sites within the *SOX7* gene promoter and the resultant aberration of canonical Wnt/ β -catenin signaling may play an important role in the pathogenesis of GCA.

[**Key words**] gastric cardia adenocarcinoma; sex determining region Y-box 7 (*SOX7*); methylation; Wnt signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2014, 21(6): 652-657]

Wnt/ β -catenin 信号转导通路的活化与多种肿瘤的发生密切相关^[1-3]。Y 性别决定区基因 7 (sex determining region Y-box 7, *SOX7*) 蛋白是含有 HMG 区域的 SOX 转录因子家族成员。有研究^[3-4]显示, 鼠 *SOX7* 蛋白能够下调 β -catenin 激活的 Wnt 通路报告基因的活性, 从而抑制 Wnt 通路的活化。*SOX7* 基因在多种肿瘤中均表达异常, 但具体机制尚未完全阐明。DNA 甲基化是肿瘤抑制基因在肿瘤中沉默的重要机制, 甲基化主要发生在启动子区域的 CpG 位点。经 UCSC Genome Bioinformatics 序列检索发现 *SOX7* 在横跨启动子及第一外显子的区域内富含 CG 二核苷酸序列, 含多个 CpG 岛, 推测 *SOX7* 在癌组织中的异常表达可能与基因的甲基化状态有关。本研究通过对 130 例贲门腺癌 (gastric cardia adenocarcinoma, GCA) 及相应癌旁正常黏膜组织中 *SOX7* 甲基化状态及 mRNA 表达的检测, 了解 GCA 中该基因的表达状态及引起该基因表达下调的主要机制, 探讨其与 GCA 发生及与 Wnt/ β -catenin 信号通路的关系, 以期从分子水平揭示 GCA 的病因。

1 材料与方法

1.1 研究对象和主要试剂

选择河北医科大学第四医院胸外科 2006 至 2012 年收治的 GCA 患者 130 例, 其中男性 72 例, 女性 58 例, 中位年龄 56 岁 (39 ~ 78 岁), 全部患者术前均未经化疗和放疗。每例患者均取原发灶癌组织及距癌灶缘 2 ~ 5 cm 处的癌旁组织, 手术切除标本一部分保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱用于提取 DNA 及 RNA, 另一部分进行石蜡包埋, 常规 H-E 染色, 证实癌旁组织均为非肿瘤组织, 并确定其组织学类型均为 GCA。患者的临床分期及组织学分级情况见表 1。本研究经医院伦理委员会审查通过, 所有患者签署知情同意书。氢醌和亚硫酸氢钠均购自美国 Sigma 公司, Wizard DNA 纯化试剂盒购自 Promega 公司, 甲基转移酶 (M. SssI) 购自北京美科美生物技术

开发有限公司, TRIzol 试剂购自上海捷瑞生物工程有限公司, 逆转录试剂盒 (reverse transcription system A3500) 购自 Promega 北京生物技术有限公司, 免疫组化 SP 法试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 试剂盒购自北京赛驰生物科技有限公司, 鼠抗人单克隆抗体 β -catenin (货号 CAT-5H10, 1:100 稀释) 购自 Zymed Laboratories。本研究所用全部引物均由北京赛百胜基因技术有限公司合成。

1.2 甲基化特异性 PCR (methylation specific polymerase chain reaction, MSP) 检测 GCA 组织中 *SOX7* 甲基化状态

采用酚/氯仿抽提法, 提取组织 DNA, 定量后取适量 DNA 用 2 mol/L 的氢氧化钠做变性处理, 置 10 mmol/L 氢醌和 3 mmol/L 亚硫酸氢钠中 $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应 16 h, 再用 DNA 纯化试剂盒纯化变性的 DNA 标本。经亚硫酸盐处理后, 单链 DNA 的未甲基化胞嘧啶可被亚硫酸氢盐脱去氨基而转变成尿嘧啶, 而甲基化胞嘧啶不能被修饰。根据此原理并结合 Methprimer 软件分别设计该基因的甲基化及非甲基化引物, 分别扩增后进行 MSP 检测。甲基化引物: 上游 5'-GTTTTGGACGTCGAGTTGTC-3', 下游 5'-AACCCA AACCATAAAAACGTT-3' (产物长度 117 bp); 非甲基化引物: 上游 5'-GGTTTTGGATGTTGAGTTGTTG-3', 下游 5'-CTTAACCCAAACCATAAAAACATT-3' (产物长度 121 bp) (图 1 红色部分标出了 MSP 检测所用到的引物在基因序列中的位置)。PCR 反应条件为 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 min 后, $94\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性 45 s, $56\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火 45 s, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 延伸 45 s, 35 个循环后, $72\text{ }^{\circ}\text{C}$ 继续延伸 10 min。用经甲基化酶 (M. SssI) 处理以后的基因组 DNA 作为甲基化的阳性对照, 用无消化系统肿瘤及其他系统肿瘤的正常人外周血 DNA 作为非甲基化的阳性对照, 阴性对照则用灭菌双蒸水取代 DNA 模板进行 PCR。另随机选取 10% 标本进行重复实验以验证结果的可靠性。

SOX7 甲基化状态可分为以下情况:(1)甲基化, 甲基化特异引物(M)扩增出目的条带, 而非甲基化特异引物(U)没扩增出目的条带;(2)非甲基化, 非甲基化特异引物(U)扩增出目的条带, 而甲基化

引物(M)没扩增出目的条带;(3)不完全甲基化, 两对引物均有目的条带扩出, 计入非甲基化进行统计分析。

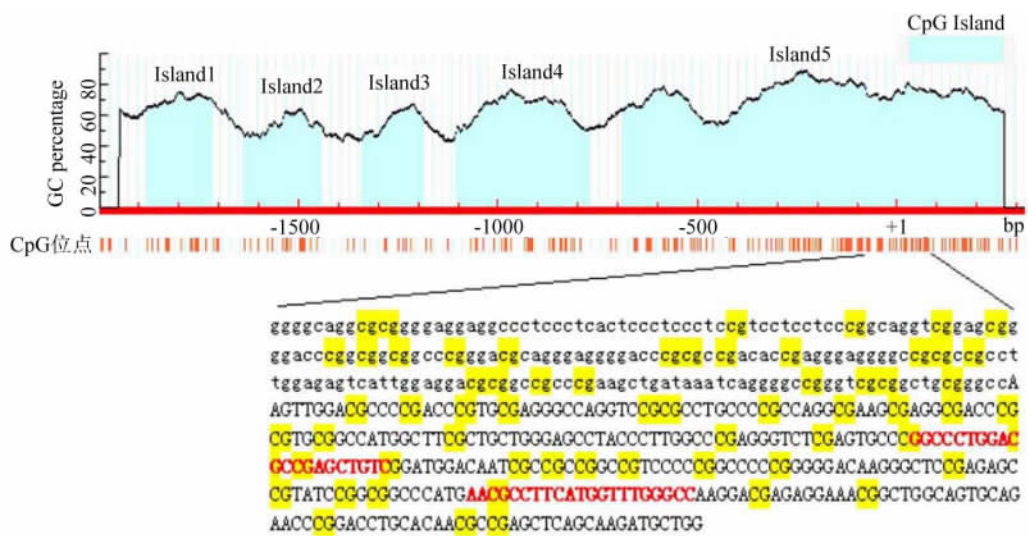


图 1 SOX7 启动子及第一外显子 CpG 岛分布图

Fig.1 Details of the SOX7 promoter and exon 1 region sequence

The MSP primers were highlighted in red. The first exons was showed in upper case, the promoter was showed in lower case. The transcription start point as +1

1.3 RT-PCR 检测 GCA 组织 SOX7 mRNA 的表达

按 TRIzol 试剂说明书提取 GCA 组织及相应癌旁非肿瘤组织中总 RNA, 并参照逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录成 cDNA。用于检测 SOX7 mRNA 的正向引物为 5'-GTCTCCATGATGTCCCTGT-3', 反向引物为 5'-GTGGCCAGGAGTGTCAAAT-3' (产物长度 222 bp)。内参照 GAPDH 的正向引物为 5'-AGGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3', 反向引物为 5'-AGGGGTCATTGATGGCAACA-3' (产物长度 104 bp)。PCR 反应条件为: 95 °C 预变性 3 min 后, 94 °C 变性 45 s, 56 °C 退火 45 s, 72 °C 延伸 45 s, 共 35 个循环, 最后 72 °C 继续延伸 5 min。PCR 产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, GAPDH 作为内参照。

1.4 免疫组织化学检测 GCA 组织中 β-catenin 蛋白的表达

应用常规 S-P 法。石蜡切片常规脱蜡, 梯度酒精水化。3% 甲醇过氧化氢封闭后用 pH 8.5 的 EDTA 高压修复 3 min, 羊血清封闭, 再依次加入鼠抗人单克隆抗体 β-catenin 及相应生物素化二抗和辣根过氧化物酶标记的三抗, DAB 显色, 苏木精复染。以 PBS 代替一抗做空白对照。β-catenin 蛋白免疫组化染色镜下观察为胞膜着色, 将均匀完整的胞膜

着色定义为正常表达, 将胞质/胞核的异常积聚(胞质/胞核内出现棕黄色颗粒)定义为异质表达。

1.5 统计学处理

采用 SPSS 软件包(13.0 版), 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料以百分比表示, GCA 及相应癌旁组织间 mRNA 表达的差异用配对 t 检验, 其余各组间的差异用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 GCA 中 SOX7 甲基化状态及其与临床病理特征的关系

经 UCSC 序列检索并结合 Methprimer CpG 岛预测软件分析发现, SOX7 在横跨启动子及第一外显子的区域内富含 CG 二核苷酸序列, 且密度高达 20% 以上, 共存在 5 个 CpG 岛(图 1 绿色部分), 推测启动子区 CpG 岛的高甲基化可能是 SOX7 表达异常的机制之一。图 1 中标出了 SOX7 转录起始点上游 2 000 bp 及整个第一外显子区 CpG 岛的分布情况及 -205 bp ~ +317 bp 的基因序列。红色字体标示 MSP 检测所用到的引物在基因序列中的位置。

138 例 GCA 及相应癌旁非肿瘤组织均成功进

行了 MSP 检测(图 2),GCA 组织中 *SOX7* 甲基化发生频率明显高于癌旁组织[57.7% (75/130) vs 30.8% (40/130), $\chi^2 = 19.100, P = 0.000$]。*SOX7* 甲基化频率仅与肿瘤患者的淋巴结转移情况有关($\chi^2 = 6.462, P = 0.011$),而与肿瘤组织的病理分级及患者的临床分期均无关($P > 0.05$)(表 1)。

表 1 *SOX7* 甲基化状态与各临床病理资料的关系
Tab. 1 Relationship between *SOX7* gene methylation status and clinicopathologic features

Feature	<i>SOX7</i>			χ^2	P
	n	M	U		
Histological grade					
Well	35	19	16	0.228	0.633
Poor	95	56	39		
TNM stage					
I	11	8	3	2.176	0.537
II	14	8	6		
III	58	30	28		
IV	47	29	18		
Lymph node					
+	89	58	31	6.462	0.011
-	41	17	24		

M: Methylated; U: Unmethylated

2.2 GCA 中 *SOX7* 甲基化及其 mRNA 表达的关系

RT-PCR 检测结果(图 2)发现,130 例 GCA 组织中 *SOX7* mRNA 的表达量显著低于癌旁组织[(0.414 ± 0.054) vs (0.695 ± 0.034), $t = -51.412, P = 0.000$]。在 75 例发生甲基化的 GCA 组织标本中,*SOX7* mRNA 的平均表达量显著低于 55 例未发生该基因甲基化的 GCA 组织[(0.294 ± 0.028) vs (0.500 ± 0.036), $t = -53.747, P = 0.000$]。

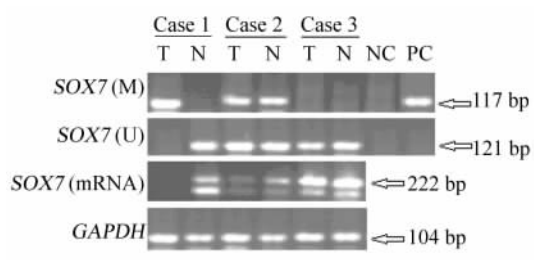


图 2 *SOX7* 的甲基化状态及 mRNA 表达情况分析

Fig. 2 Methylation analysis and mRNA expression of *SOX7*

T: Tumor tissue; N: non-cancerous tissue; M: Methylated genes; U: Unmethylated genes; NC: Negative control; PC: Positive control

Band below the *SOX7* mRNA is the product of non-specific amplification.

2.3 GCA 中 β -catenin 蛋白的异质表达及其与 *SOX7* 甲基化状态的关系

正常生理状态下, β -catenin 的表达定位于细胞膜;当 Wnt 信号通路异常激活时, β -catenin 出现异质表达情况,表达定位于细胞质(图 3)。GCA 组织 β -catenin 蛋白异质表达率明显高于癌旁组织[88.5% (115/130) vs 42.3% (55/130), $\chi^2 = 61.176, P = 0.000$];在 75 例发生 *SOX7* 甲基化的 GCA 组织中,有 73 例 β -catenin 蛋白呈现异质表达的状态,其异质表达率明显高于未发生甲基化的癌旁组织,并且 *SOX7* 启动子区的甲基化状态与 β -catenin 蛋白的异质表达明显有关($\chi^2 = 61.176, P = 0.000$,表 2)。

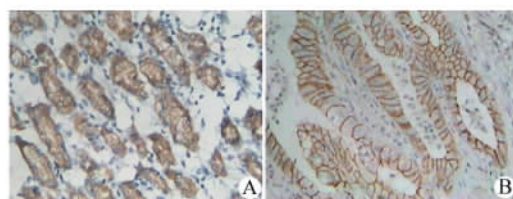


图 3 GCA 中 β -catenin 蛋白的表达情况(×400)

Fig. 3 β -catenin protein expression in GCA(×400)

A: The ectopic expression of β -catenin in GCA;

B: The normal expression of β -catenin in GCA

2.4 *SOX7* 甲基化状态与 GCA 患者上消化道肿瘤家族史的相关性

家族中有 1 名以上一级亲属和/或 2 名以上二级亲属患食管癌/GCA/胃癌者被定义为上消化道肿瘤(upper gastrointestinal cancers, UGIC)家族史阳性。130 例 GCA 患者中,有 23 例患者有上消化道肿瘤家族史,其中有 14 例 *SOX7* 呈高甲基化状态,有 9 例未发生甲基化,经统计学分析发现,*SOX7* 的甲基化状态与 GCA 患者的上消化道家族史无关($\chi^2 = 0.116, P = 0.734$,表 2)。

3 讨论

GCA 即食管-胃交界腺癌,过去在肿瘤登记中经常被当做食管癌,20 世纪 80 年代中后期又将其归入了胃癌统计。研究^[5-7]发现,GCA 的发病机制和临床特征均与胃体肿瘤不同,而与食管癌较为相似,并且与食管癌的地域性分布比较一致。近些年由于内镜筛查和病理诊断技术的进步,GCA 已经被独立出来。流行病学调查^[5]表明,多数地区的食管癌和胃癌发病率及病死率呈下降趋势,而 GCA 的发病率

却不断上升。因此,探索 GCA 的发病机制及寻找有效的基因治疗靶点,是降低 GCA 发病率及病死率的重要途径。*SOX7* 位于人类染色体 8p23.1 上,包括 2 个外显子和 1 个内含子,同 *SOX17* 和 *SOX18* 基因一样,都是 SOX 家族 F 亚族的成员之一^[8]。在大部分肿瘤,包括肝癌^[9]、乳腺癌^[10]、结肠癌^[11]、肺癌^[12]及前列腺癌^[13]中 *SOX7* 表达均下调,而在胃癌及其细胞系^[14]中表达上调,提示 *SOX7* 在肿瘤中的表达与肿瘤的类型有关。GCA 作为一种特殊的肿瘤类型,*SOX7* 在其发生、发展过程中所扮演的角色尚未见报道。本研究发现,GCA 组织中 *SOX7* mRNA 的表达明显低于癌旁组织,提示 *SOX7* 与 GCA 的发生有关,并可能起到一定的抑癌作用。为了进一步明确 *SOX7* 在 GCA 中表达下调的具体机制,经 UCSC 序列检索并结合 Methprimer CpG 岛预测软件的分析,发现 *SOX7* 在横跨启动子及第一外显子的区域内富含 CG 二核苷酸序列,且密度高达 20% 以上,共存在 5 个 CpG 岛,故推测启动子区 CpG 岛的高甲基化可能是 *SOX7* 表达异常的机制之一。本研究发现,GCA 癌组织中 *SOX7* 呈高甲基化状态,其甲基化发生频率明显高于癌旁组织,并且与 *SOX7* mRNA 表达的缺失具有相关性,提示基因 CpG 岛的甲基化水平可能引起 *SOX7* 表达下调的机制之一。Stovall 等^[10]研究发现,*SOX7* 的高甲基化引起的表达沉默与乳腺癌的发生有关。Fan 等^[15]对骨髓增生异常综合征的研究中同样发现该基因的高甲基化,与本研究的结果一致。同时发现,在有淋巴结转移组中该基因的甲基化情况明显高于淋巴结未转移组,提示该基因的甲基化可能对肿瘤的转移有一定的促进作用,从而影响预后。

表 2 GCA 中 *SOX7* 甲基化状态与其 mRNA 表达及 β -catenin 异质表达的关系

Tab. 2 Relationship between *SOX7* methylation status and its mRNA and the ectopic expression of β -catenin in GCA

Group	<i>SOX7</i>		χ^2	P
	M	U		
β -catenin				
Normal expression	2	13	61.176	0.000
Ectopic expression	73	42		
UGIC				
Positive	14	9	0.116	0.734
Negative	61	46		

M: Methylated gene; U: Unmethylated genes

Wnt/ β -catenin 信号转导通路处于正常活化水平时, β -catenin 固定于细胞膜,参与调节细胞的黏附,胞质内 β -catenin 的含量保持在较低水平;但当通路异常活化时, β -catenin 易位于细胞核,与细胞核内的 TCF/LEF 复合体结合,调节下游多种肿瘤相关靶基因的转录^[16-18]。*SOX* 转录因子基因家族的主要特征是具有一个保守基序(HMG-box),可以和 DNA 进行序列特异性的结合^[8,19]。*SOX7* 作为该家族成员之一,有文献^[3-4]报道其可以与 β -catenin 竞争结合 TCF/LEF 复合体,从而阻断 β -catenin 介导的转录,影响下游基因的表达。但由于其作用的复杂性,在 GCA 中 *SOX7* 与 Wnt 信号通路的关系还未完全阐明。本研究发现,GCA 组织中 β -catenin 蛋白的异质表达率明显高于癌旁组织,这种 β -catenin 蛋白胞质内的异常积聚提示 GCA 中 Wnt 通路可能处于异常活化状态;同时发现,在 *SOX7* 发生甲基化的 GCA 组织中, β -catenin 的异质表达率明显高于未发生甲基化的 GCA 组织,提示该基因的高甲基化可能是引起 β -catenin 蛋白异质表达的机制之一,并可能通过 Wnt/ β -catenin 信号转导通路的活化参与了 GCA 的发生。

本研究结果揭示,*SOX7* 似可作为 GCA 的候选抑癌基因,基因启动子区高甲基化是引起其表达沉默的机制之一,并有可能通过 β -catenin 的异质表达活化 Wnt 信号通路,从而参与了 GCA 的发生和发展。总之,*SOX7* 的高甲基化可能是 GCA 发生的分子机制之一,并有望成为 GCA 诊治的分子靶标。

[参考文献]

[1] Koziński K, Dobrzyń A. Wnt signaling pathway--its role in regulation of cell metabolism [J]. Postepy Hig Med Dosw, 2013, 26(67): 1098-1108.

[2] Rosenbluh J, Wang X, Hahn WC. Genomic insights into WNT/ β -catenin signaling [J]. Trends Pharmacol Sci, 2014, 35(2): 103-109.

[3] Kormish JD, Sinner D, Zorn AM. Interactions between SOX factors and Wnt/ β -catenin signaling in development and disease [J]. Dev Dyn. 2010, 239(1), 56-68.

[4] Cui J, Xi H, Cai A, et al. Decreased expression of Sox7 correlates with the upregulation of the Wnt/ β -catenin signaling pathway and the poor survival of gastric cancer patients [J]. Int J Mol Med, 2014, 34(1): 197-204.

[5] 陈志峰, 侯浚, 贺宇彤, 等. 食管胃交界腺癌-肿瘤登记面临的新课题 [J]. 中国肿瘤临床, 2007, 34(24): 1381-1382.

[6] Carr JS, Zafar SF, Saba N, et al. Risk factors for rising incidence of esophageal and gastric cardia adenocarcinoma [J]. J Gastrointest Cancer, 2013, 44(2): 143-151.

[7] Kutup A, Yekebas EF, Izbicki JR. Current diagnosis and future

- impact of micrometastases for therapeutic strategies in adenocarcinoma of the esophagus, gastric cardia, and upper gastric third [J]. *Recent Results Cancer Res*, 2010, 182:115-125.
- [8] Daniel B, Stovall, Paul Cao, et al. SOX7: From a developmental regulator to an emerging tumor suppressor [J]. *Histol Histopathol*, 2014, 29(4): 439-445.
- [9] Wang C, Guo Y, Wang J, et al. The suppressive role of SOX7 in hepatocarcinogenesis [J]. *PLoS ONE*, 2014, 9(5): e97433.
- [10] Stovall DB, Wan M, Miller LD, et al. The regulation of SOX7 and its tumor suppressive role in breast cancer [J]. *Am J Pathol*, 2013, 183(5): 1645-1653.
- [11] Guo L, Zhong D, Lau S, et al. Sox7 Is an independent checkpoint for beta-catenin function in prostate and colon epithelial cells [J]. *Mol Cancer Res*, 2008, 6(9): 1421-1430.
- [12] Hayano T, Garg M, Yin D, et al. SOX7 is down-regulated in lung cancer [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2013, 4(32): 17.
- [13] Zhong WD, Qin GQ, Dai QS, et al. SOXs in human prostate cancer: Implication as progression and prognosis factors [J]. *BMC Cancer*, 2012, 15(12): 248.
- [14] Katoh M. Expression of human SOX7 in normal tissues and tumors [J]. *Int J Mol Med*, 2002, 9(4): 363-368.
- [15] Fan R, Zhang LY, Wang H, et al. Methylation of the CpG island near SOX7 gene promoter is correlated with the poor prognosis of patients with myelodysplastic syndrome [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2012, 227(2): 119-128.
- [16] Yamamoto H. Regulation of Wnt signaling pathway and its relationship with tumorigenesis [J]. *Seikagaku*, 2008, 80(12): 1079-1093.
- [17] Nelson WJ, Nusse R. Convergence of Wnt, beta-catenin, and cadherin pathways [J]. *Science*, 2004, 303(5663): 1483-1487.
- [18] Nojima M, Suzuki H, Toyota M, et al. Frequent epigenetic inactivation of SFRP genes and constitutive activation of Wnt signaling in gastric cancer [J]. *Oncogene*, 2007, 26(32): 4699-4713.
- [19] de la Rocha AM, Sampron N, Alonso MM, et al. Role of SOX family of transcription factors in central nervous system tumors [J]. *Am J Cancer Res*, 2014, 4(4): 312-324.
- [收稿日期] 2014 - 09 - 01 [修回日期] 2014 - 10 - 27
[本文编辑] 黄静怡

· 读者 · 作者 · 编者 ·

常见参考文献著录格式示例

1 专著

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(1 版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] Abrams WB, Beers MH, Berkow R. 默克老年病手册 [M]. 陈灏珠, 王赞舜, 刘厚钰, 等. 译. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996: 22-25.

2 专著析出文献

著录格式: 析出文献主要责任者. 文献题名[文献类型标志]// 专著主要责任者. 专著题名. 版本项. 出版地: 出版者, 出版年: 起页-止页.

- [1] Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms [M]// Soderman WA Jr, Soderman WA. *Pathologic physiology: Mechanisms of disease*. Philadelphia: Saunders, 1974: 457-472.

3 期刊文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页.

- [1] Nobles KN, Guan Z, Xiao K, et al. The active conformation of beta-arrestin 1: Direct evidence for the phosphate sensor in the N-domain and conformational differences in the active states of beta-arrestins 1 and -2 [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(29): 21370-21381.

4 专利文献

著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期.

- [1] 钱其军, 李琳芳, 吴红平, 等. 一种多功能免疫杀伤转基因细胞(PIK)、其制备方法及应用: 中国, 2010101496839 [P]. 2010-10-14.

5 学位论文

著录格式: 责任者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在地: 学位授予单位, 年.

- [1] 曹新广. *Cathepsin L 和 Cystatin B 的表达与大肠癌生物学行为的关系* [D]. 郑州, 郑州大学, 2007.

6 电子文献

著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/ 文献载体标志]. 刊名, 出版年, 卷号(期号): 起页-止页(更新或修改日期) [引用日期]. 获取和访问路径.

- [1] Christine M. *Plant physiology: Plant biology in the genome era* [J/OL]. *Science*, 1998, 281: 331-332 [1998-09-23]. <http://www.sciencemag.org/cgi/collection/anatmorp>.
- [2] Hopkinson A. *UNIMARC and metadata: Dublin core* [EB/OL]. [1999-12-08]. <http://www.ifla.org/IV/ifla64/138-161e.htm>.