

doi: 10.3872/j.issn.1007-385X.2013.03.008

· 基础研究 ·

siRNA 沉默 *KLF4* 的表达促进食管癌 KYSE140 细胞的增殖及迁移

黄邵洪¹, 胡昆鹏², 严淑红³, 叶升⁴(1. 中山大学附属第三医院 胸心外科, 广东 广州 510630; 2. 中山大学附属第三医院 肝胆外科, 广东 广州 510630; 3. 中山大学附属第六医院 影像检验中心, 广东 广州 510655; 4. 中山大学附属第一医院 肿瘤科, 广东 广州 510080)

[摘要] **目的:**探讨体外沉默 Kruppel 样因子 4 (Kruppel like factor 4, *KLF4*) 基因的表达对食管癌 KYSE140 细胞增殖及迁移的影响。**方法:** Western blotting 法检测人食管癌细胞株 KYSE140、KYSE150、EC109 及 EC9706 及食管永生细胞 NE3 中 *KLF4* 蛋白的表达, 化学合成 2 对靶向 *KLF4* 的 siRNA (KLF4-siRNA1, KLF4-siRNA2), 并设对照 siRNA (Ctrl-siRNA), 分别体外转染至高表达 *KLF4* 的食管癌 KYSE140 细胞中, 形成 KLF4-siRNA1-KYSE140、KLF4-siRNA2-KYSE140 及 Ctrl-siRNA-KYSE140 细胞, 通过 MTT 实验、Transwell 实验分别检测转染后食管癌 KYSE140 细胞的增殖及迁移。**结果:** 食管癌细胞株 KYSE140 中 *KLF4* 蛋白的表达明显高于 KYSE150、EC109 及 EC9706 细胞株 [(5.62 ± 0.02) vs (1.71 ± 0.23), (3.24 ± 0.35), (3.16 ± 0.41)], 均 $P < 0.05$ 。KLF4-siRNA1-KYSE140、KLF4-siRNA2-KYSE140 与 Ctrl-siRNA-KYSE140 细胞相比, *KLF4* 蛋白表达明显降低 [(0.49 ± 0.18), (0.32 ± 0.09) vs (0.98 ± 0.19)], 均 $P < 0.05$], 细胞增殖能力明显增高 [(1.2 ± 0.8), (1.4 ± 0.1) vs (0.6 ± 0.1)], 均 $P < 0.05$], 迁移细胞数量也明显增加 [(780 ± 22), (475 ± 25) vs (83 ± 17) 个, $P < 0.05$]。**结论:** *KLF4* 在人食管癌细胞的增殖和迁移过程中起着负调控作用。

[关键词] Kruppel 样因子 4 基因; 食管癌; KYSE140 细胞; 增殖; 迁移

[中图分类号] R735.1; R730.54

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-385X(2013)03-0301-05

Silencing *KLF4* expression by siRNA promotes proliferation and migration of esophageal cancer KYSE140 cells

Huang Shaohong¹, Hu Kunpeng², Yan Shuhong³, Ye Sheng⁴(1. Department of Thoracocardiac Surgery, Third Hospital Affiliated to Sun Yetsen University, Guangzhou 510630, Guangdong, China; 2. Department of Hepatobiliary Surgery, Sun Yetsen University, Guangzhou 510630, Guangdong, China; 3. Department of Medical Imaging, Sixth Hospital Affiliated to Sun Yetsen University, Guangzhou 510655, Guangdong, China; 4. Department of Medical Oncology, First Hospital Affiliated to Sun Yetsen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of *in vitro* silencing Kruppel like factor 4 (*KLF4*) gene expression on the proliferation and migration of esophageal cancer KYSE140 cells. **Methods:** Western blotting was used to detect the expression of *KLF4* protein in the esophageal cancer cell lines, including KYSE140, KYSE150, EC109 and EC9706, and immortalized esophageal NE3 cells. Two pairs of siRNAs targeting *KLF4* (KLF4-siRNA1, KLF4-siRNA2) and control siRNA (Ctrl-siRNA) were chemically synthesized, and were transfected into KYSE140 cells with a high expression of *KLF4 in vitro* to form KLF4-siRNA1-KYSE140, KLF4-siRNA2-KYSE140 and Ctrl-siRNA-KYSE140 cells. The proliferation and migration of esophageal cancer KYSE140 cells after transfection were detected by MTT assay and Transwell assay, respectively. **Results:** The expression of *KLF4* in KYSE140 cells was higher than that in KYSE150, EC109 and EC9706 cells [(5.62 ± 0.02) vs [1.71 ± 0.23], [3.24 ± 0.35], [3.16 ± 0.41], both $P < 0.05$). Compared with that in Ctrl-siRNA-KYSE140 cells, the expression of *KLF4* protein was significantly decreased in KLF4-siRNA1-KYSE140 and KLF4-siRNA2-KYSE140 cells [(0.49 ± 0.18), [0.32 ± 0.09] vs [0.98 ± 0.19], both $P < 0.05$), the capacities of prolifer-

[基金项目] 广东省自然科学基金资助项目 (No. 10451008901005515, No. 10151008901000177)。Project supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 10451008901005515, No. 10151008901000177)

[作者简介] 黄邵洪 (1976 -), 男, 福建福州人, 博士, 主要从事胸部肿瘤基础及临床方面的研究。E-mail: legendhuang@126.com

[通信作者] 叶升 (Ye Sheng, correspondence author), E-mail: yes20111212@163.com

ation were significantly increased ($[1.2 \pm 0.8]$, $[1.4 \pm 0.1]$ vs $[0.6 \pm 0.1]$, both $P < 0.05$), and the numbers of migration were also significantly increased ($[780 \pm 22]$, $[475 \pm 25]$ vs $[83 \pm 17]$, $P < 0.05$). **Conclusion:** KLF4 functions as a negative regulator in the proliferation and migration of esophageal cancer cells.

[Key words] Kruppel like factor 4 (KLF4) gene; esophageal cancer; KYSE140 cell; proliferation; migration

[Chin J Cancer Biother, 2013, 20(3): 301-305]

食管癌是威胁人类健康的十大恶性肿瘤之一, 发病率占全部恶性肿瘤的 1% ~ 2%, 病死率位居世界癌症死因的第六位^[1-2]。中国是世界上食管癌的发病率和病死率最高的国家, 发病和病死人数分别占全球该病的 53.86% 和 49.26%^[3]。随着诊疗技术的不断改进和提高, 早期食管癌患者的 5 年生存率不断提高, 但总体病死率仍旧居高不下^[4]。由于多数食管癌患者确诊时已为中晚期, 因此早期诊断对提高疗效和改善预后起关键作用。探索导致食管癌发生发展的危险因素, 寻求预防和控制食管癌发生与发展的对策是当前研究的热点。

Kruppel 样因子 4 (Kruppel like factor 4, KLF4) 又称为胃肠富集 Kruppel 样因子 (gut enriched Kruppel like factor, GKLf), 是近年来新发现的一个锌指转录因子。KLF4 是 Kruppel 样转录因子家族的成员之一, 参与调节细胞周期、细胞凋亡和细胞分化。接触抑制、血清饥饿和 DNA 损伤均可刺激 KLF4, 使其表达增加^[5-6]。KLF4 在恶性肿瘤中的作用研究结果不一致, 最初的研究认为 KLF4 是一个癌基因。在乳腺导管癌中, KLF4 的表达升高, 并且与肿瘤的侵袭性和不良预后呈正相关^[7]。在基底角质细胞中过表达 KLF4, 则可导致细胞的增生和发育异常, 并最终形成鳞状细胞癌^[8]。但是, 另外一些研究^[5-6]则表明, KLF4 在某些肿瘤中的表现呈现出抑癌基因的特性。为此, 本研究检测了食管癌细胞株 KYSE140、KYSE150、EC109 及 EC9706、食管永生化细胞 NE3 中 KLF4 的表达, 及其对食管癌细胞增殖、迁移的影响, 以探讨其在食管癌发生发展过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

人食管癌细胞株 KYSE140、KYSE150、EC109、EC9706 及食管永生化细胞 NE3 购自上海中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。M199、RPMI 1640 培养基、胎牛血清、及胰蛋白酶购自 Gibco 公司, KLF4 特异性 siRNA 购自 ABM 公司, 对照 siRNA (Ctrl-siRNA)、兔抗人 KLF4 多克隆抗体均购自 Santa Cruz 公司, 兔抗人多克隆抗 β -actin 抗体购自北

京中杉金桥生物技术有限公司、羊抗兔和兔抗鼠二抗、脂质体 Lipofectamine™ 2000 购自 Invitrogen 公司。

1.2 细胞培养

KYSE140、KYSE150 细胞在 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 的条件下, 在含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中贴壁生长; EC109 及 EC9706 细胞在 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 的条件下, 在含 10% 胎牛血清的 M199 培养基中贴壁生长; 食管永生化细胞 NE3 在 37 °C、饱和湿度、5% CO₂ 的条件下, 在不含胎牛血清的 K-SFM 培养基中贴壁生长。每 2 d 更换细胞培养基, 待细胞铺满 80% 时, 吸除培养基, PBS 洗去残余血清后, 用含 0.25% 胰蛋白酶和 0.02% EDTA 的消化液进行消化, 37 °C 孵育 2 min 后终止消化, 将细胞悬液离心后弃上清, 收集细胞传代, 收集对数生长期细胞用于后续实验。

1.3 Western blotting 法检测不同食管癌细胞株中 KLF4 蛋白的表达

取对数生长期 KYSE140、KYSE150、EC109、EC9706 及 NE3 细胞, 加入细胞裂解液, 4 °C 下静置 1 h, 800 × g 离心 30 min 后, 提取上清液 (总蛋白)。取 50 μ g 蛋白进行 12% SDS-PAGE 电泳, 转膜、脱脂奶粉封闭后, 与抗 KLF4 (1:400) 和抗 β -actin (1:500) 结合, 4 °C 过夜, 复温后与二抗室温下结合反应 2 h, 化学发光法检测、压片、显影、定影, 自动电泳凝胶图像处理系统扫描分析, 实验重复 3 次。

1.4 靶向 KLF4 的 KLF4-siRNA 的构建

根据 GenBank (Gene ID: 9314) 设计 KLF4 引物, 正向: ATCTCAAGGCACACCTGCG, 反向: CCTGGT-CAGTTCATCTGAGCG。质粒 KLF4-siRNA1 (KLF4-281 siRNA-GFP Lentivector, 目标序列: GAGAGACCGAG-GAGTTCAACGATCT) 和 KLF4-siRNA2 (KLF4-676 siRNA-GFP Lentivector, 目标序列: ATGGGCAAGT-TCGTGCTGAAGCGCTCGCT) 购自 ABM 公司。

1.5 KLF4-siRNA 瞬时转染至人食管癌 KYSE140 细胞

按照脂质体 Lipofectamine™ 2000 说明书操作, 将 KLF4-siRNA1、KLF4-siRNA2 及 Ctrl-siRNA 瞬时转染至 KLF4 阳性表达的人食管癌 KYSE140 细胞, 分别命名为 KLF4-siRNA1-KYSE140、KLF4-siRNA2-

KYSE140 及 Ctrl-siRNA-KYSE140 细胞。通过流式细胞分选获得 GFP 高表达转染细胞并培养富集。

1.6 MTT 法检测人食管癌 KYSE140 细胞的增殖

将 KYSE140 细胞以 1×10^4 个/孔的密度分别接种于 96 孔细胞培养板中,设 5 个平行复孔,在恒温 37°C 、饱和湿度、5% CO_2 的条件下培养,分别于第 1~7 天加入 $100 \mu\text{l}$ 终质量浓度为 5 mg/ml 的 MTT 工作液,培养 4 h 后除去上清,每孔加入 $100 \mu\text{l}$ 二甲基亚砷溶液溶解 MTT 还原物,震荡 15 min,使结晶物充分溶解,用酶联免疫仪检测波长 490 nm 处的光密度(D)值。实验重复 3 次,评估细胞的增殖情况。

1.7 Transwell 实验检测细胞的迁移

Transwell 小室的上室面加入 $50 \mu\text{l}$ 按 1:3 比例混合的 Matrigel 及无血清 RPMI 1640 培养基,置于 37°C 凝固、风干。取对数生长期的细胞消化后计数,加入含 5% FBS 的 RPMI 1640 培养基,制成细胞密度为 $3 \times 10^5/\text{ml}$ 的细胞悬液,每孔上室加入 $100 \mu\text{l}$ 细胞悬液,下室加入 RPMI 1640 培养基(含 10% FBS), 37°C 培养箱中培养 24 h 后,取出小室,用棉签擦去 Matrigel 胶和上室内细胞,95% 甲醇固定 20 min,室温风干,0.25% 结晶紫染色,PBS 冲洗,室温风干后,置于倒置显微镜下计数并拍照。

1.8 统计学处理

应用 SPSS11.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料采用 t 检验比较组间差别, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各种人食管癌细胞中 KLF4 蛋白的表达

Western blotting 结果(图 1)显示,KLF4 在人食管癌细胞 KYSE140 中蛋白表达量显著高于 KYSE150[(5.62 ± 0.02) vs (1.71 ± 0.23), $P < 0.01$]、EC109 及 EC9706 细胞[(5.62 ± 0.02) vs (3.24 ± 0.35),(3.16 ± 0.41), $P < 0.05$],故选取 KYSE140 细胞进行后续 KLF4-siRNA 干扰实验。

2.2 KLF4-siRNA 转染后 KYSE140 细胞中 KLF4 蛋白的表达

人食管癌细胞 KYSE140 转染 KLF4-siRNA1、KLF4-siRNA2 后,KYSE140 细胞中 KLF4 蛋白的表达明显减少,而转染 Ctrl-siRNA 的细胞中 KLF4 表达未见明显变化。KLF4-siRNA1-KYSE140、KLF4-siRNA2-KYSE140 及 Ctrl-siRNA-KYSE140 细胞 KLF4 蛋白表达量相对值分别为(0.49 ± 0.18),(0.32 ± 0.09)及(0.98 ± 0.19),前两者明显低于后

者($P < 0.05$,图 2)。结果提示,KLF4-siRNA 转染能显著降低 KYSE140 细胞中 KLF4 蛋白的表达。

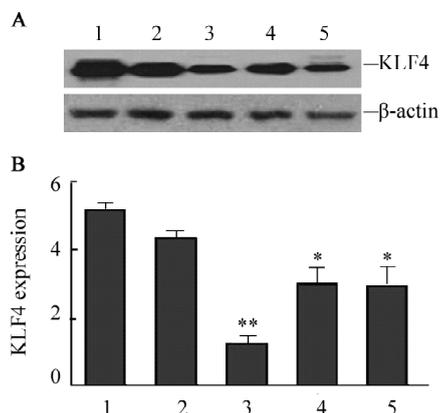


图 1 KLF4 蛋白在食管永生细胞及食管癌细胞中的表达

Fig. 1 Expression of KLF4 protein in the immortalized esophageal cells and esophageal cancer cells

A: Western blotting; B: Relative KLF4 level

1: NE3; 2: KYSE140; 3: KYSE150; 4: EC109; 5: EC9706

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs NE3 or KYSE140 cell line

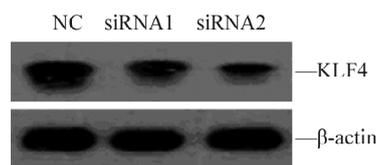


图 2 转染 KLF4-siRNA1 和 KLF4-siRNA2 后 KYSE140 细胞中 KLF4 蛋白的表达

Fig. 2 Expression of KLF4 protein in KYSE140 cells after KLF4-siRNA1 or KLF4-siRNA2 transfection

2.3 KLF4-siRNA 转染促进食管癌 KYSE140 细胞的增殖

MTT 检测结果(图 3)显示,KLF4-siRNA 转染后,KLF4-siRNA1-KYSE140 与 KLF4-siRNA2-KYSE140 细胞较 Ctrl-siRNA-KYSE140 细胞,活性及生长速度明显上升。KLF4-siRNA1-KYSE140 组、KLF4-siRNA2-KYSE140 组与 Ctrl-siRNA-KYSE140 组相比,转染第 7 天的 D 值明显增高[(1.2 ± 0.8),(1.4 ± 0.1) vs (0.6 ± 0.1), $P < 0.05$]。结果提示,KLF4-siRNA 转染能促进食管癌 KYSE140 细胞的增殖。

2.4 KLF4-siRNA 转染提高食管癌细胞 KYSE140 的迁移能力

Transwell 实验检测结果(图 4)显示,KLF4-siRNA1-KYSE140、KLF4-siRNA2-KYSE140 细胞与 Ctrl-siRNA-KYSE140 细胞相比,其穿过 Transwell 微

孔膜的细胞数量明显增加[(780 ± 22)、(475 ± 25) vs (83 ± 17)个, $P < 0.05$], 结果提示, KLF4-siRNA 转染后, KYSE140 细胞的体外迁移能力明显提高。

3 讨论

人类 *KLF4* 基因定位于染色体 9q31, 是近年来新发现的 *KLF* 家族转录因子之一, 编码由 470 个氨基酸构成的蛋白质^[9]。*KLF4* 参与调控细胞生命活动的很多重要过程, 如细胞周期、细胞凋亡和细胞分化。接触抑制、血清饥饿和 DNA 损伤均可刺激 *KLF4*, 使其表达增加^[5-6]。与此研究结果一致, *KLF4* 在某些肿瘤中表达下调, 如食管癌、膀胱癌、结直肠癌、胰腺癌等^[10-13]。在这些肿瘤中, *KLF4* 表现出抑癌基因的特性。然而, 最初研究^[14-15]认为 *KLF* 是一个癌基因, *KLF4* 在乳腺癌和舌癌中均呈高表达。

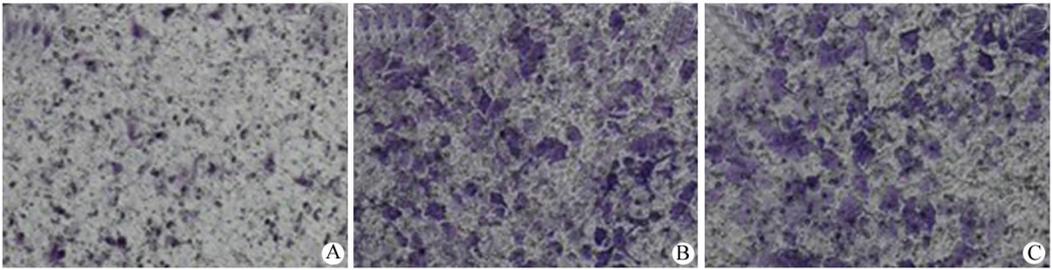


图 4 KLF4-siRNA 转染对 KYSE140 细胞迁移能力的影响(× 200)

Fig. 4 Impact of KLF4-siRNA transfection on migration capacity of KYSE140 cells (× 200)

A: Ctrl-siRNA-KYSE140; B: KLF4-siRNA-KYSE140; C: KLF4-siRNA2-KYSE140

最近的研究^[5-6]发现, *KLF4* 在某些肿瘤细胞中对细胞的侵袭及迁移能力起到负性调节的作用。在乳腺永生细胞株 MCF-10A 中敲除 *KLF4* 的表达, 可引起上皮细胞形态的改变, 并且细胞的迁移能力增加, 在高转移能力的乳腺癌细胞 MDA-MB-231 中, *KLF4* 可以结合 E-cadherin 上游启动子区域的 GC-rich/E-box 位点, 进而上调 E-cadherin 表达。过表达 *KLF4* 后, MDA-MB-231 细胞中 E-cadherin 表达增加, 而该细胞的侵袭、迁移能力均显著下降^[16]。RKO 是低分化的结直肠癌细胞系, RKO 细胞过表达 *KLF4* 后, 实验组细胞多被阻滞于 G₁/S 期^[17]。通过诱导 *KLF4* 的稳定表达, RKO 细胞的侵袭和迁移能力均可受到抑制^[18]。小鼠体内实验^[12]证实, 将过表达 *KLF4* 的胰腺癌细胞注射入小鼠体内, 胰腺癌的转移能力可受到抑制。*KLF4* 在肺癌细胞系中可以通过抑制 SPARC 的表达而使细胞的侵袭能力受到抑制^[19]。逻辑回归分析显示, 在前列腺肿瘤中, *KLF4* 低表达则发生肿瘤转移的风险可提高 15

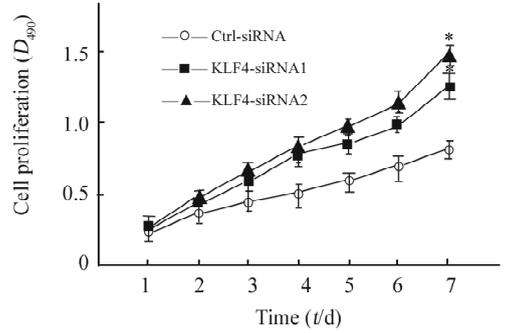


图 3 KLF4-siRNA 转染对 KYSE140 细胞增殖的影响

Fig. 3 Impact of KLF4-siRNA transfection on proliferation of KYSE140 cells

* $P < 0.05$ vs Ctrl-siRNA group

倍^[20]。由此可见, *KLF4* 对多种肿瘤细胞的侵袭和迁移能力起到负性调节的作用。

如前所述, 由于 *KLF4* 基因本身在食管癌细胞中通常为低表达, 通过 siRNA 沉默其表达研究后续效应的设计实现存在一定困难, 国内文献尚未见相关报道。为尽量突出靶基因效应及避免干扰, 本研究首先对常用的食管癌细胞株 KYSE140、KYSE150、EC109、EC9706 进行筛选, 通过 Western blotting 法检测各细胞株及食管永生细胞中 *KLF4* 蛋白表达, 发现 KYSE140 细胞株呈高表达状态(与食管永生细胞水平接近), 这一特性使其成为本研究合适的靶细胞株。本研究通过构建 *KLF4* 特异性 siRNA, 转染 *KLF4* 高表达的 KYSE140 细胞, 使其蛋白表达显著降低, 表明 siRNA 沉默 KYSE140 细胞株 *KLF4* 基因成功。进一步通过 MTT 及 Transwell 试验探讨 *KLF4* 基因对食管癌细胞生物学行为的影响, 结果显示, KLF4-siRNA-KYSE140 细胞与 Ctrl-siRNA-KYSE140 相比增殖速度明显上升、穿越微孔

滤膜细胞数大幅度增加。以上研究提示,在食管癌细胞株 KYSE140 中,*KLF4* 表现为抑癌基因特性,对细胞增殖、迁移能力起负性调控作用。推测,在食管黏膜上皮癌变初始阶段,*KLF4* 基因受抑制可能发挥重要作用,*KLF4* 蛋白表达降低能促进食管癌细胞的增殖及迁移,进而促进食管癌的形成与转移。本研究存在以下不足:仅对 *KLF4* 高表达细胞株进行 siRNA 沉默转化,所得结论是否同样适用于低表达食管癌细胞系尚不得而知。此外,本研究为体外实验,*KLF4* 基因对在体食管癌的作用仍需进一步研究。

综上所述,*KLF4* 的表达缺失可能是食管癌变过程中的早期事件,与食管癌的发生、发展密切相关,可能成为食管癌治疗的潜在靶标。刺激 *KLF4* 在食管癌组织中的表达可能成为控制食管癌发生、发展的新途径。随着对 *KLF4* 功能研究的完善,其必将成为诊断和预测食管癌的生物标志物和抗食管癌侵袭、迁移的生物治疗靶点。

[参 考 文 献]

- [1] Shin HR, Carlos MC, Varghese C. Cancer control in the Asia pacific region: Current status and concerns [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2012, 42(10): 867-881.
- [2] Enzinger PC, Mayer RJ. Esophageal cancer [J]. *N Engl J Med*, 2003, 349(23): 2241-2252.
- [3] Bellance N, Pabst L, Allen G, et al. Oncosecretomics coupled to bioenergetics identifies alpha-amino adipic acid, isoleucine and GABA as potential biomarkers of cancer: Differential expression of c-Myc, Oct1 and *KLF4* coordinates metabolic changes [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1817(11): 2060-2071.
- [4] Allen KL, Hamik A, Jain MK, et al. Endothelial cell activation by antiphospholipid antibodies is modulated by Kruppel-like transcription factors [J]. *Blood*, 2011, 117(23): 6383-6391.
- [5] An J, Golech S, Klaewsongkram J, et al. Kruppel-like factor 4 (*KLF4*) directly regulates proliferation in thymocyte development and IL-17 expression during Th17 differentiation [J]. *FASEB J*, 2011, 25(10): 3634-3645.
- [6] Davis-Dusenbery BN, Chan MC, Reno KE, et al. Down-regulation of Kruppel-like factor-4 (*KLF4*) by microRNA-143/145 is critical for modulation of vascular smooth muscle cell phenotype by transforming growth factor-beta and bone morphogenetic protein 4 [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(32): 28097-28110.
- [7] Ghaleb AM, McConnell BB, Kaestner KH, et al. Altered intestinal epithelial homeostasis in mice with intestine-specific deletion of the Kruppel-like factor 4 gene [J]. *Dev Biol*, 2011, 349(2): 310-320.
- [8] Hasegawa Y, Takahashi N, Forrest AR, et al. CC chemokine ligand 2 and leukemia inhibitory factor cooperatively promote pluripotency in mouse induced pluripotent cells [J]. *Stem Cells*, 2011, 29(8): 1196-1205.
- [9] Iaconetti C, Polimeni A, Sorrentino S, et al. Inhibition of miR-92a increases endothelial proliferation and migration *in vitro* as well as reduces neointimal proliferation *in vivo* after vascular injury [J]. *Basic Res Cardiol*, 2012, 107(5): 296.
- [10] Kazumori H, Ishihara S, Takahashi Y, et al. Roles of Kruppel-like factor 4 in oesophageal epithelial cells in Barrett's epithelium development [J]. *Gut*, 2011, 60(5): 608-617.
- [11] Ky N, Lim CB, Li J, et al. *KLF4* suppresses HDACi induced caspase activation and the SAPK pathway by targeting p57(*Kip2*) [J]. *Apoptosis*, 2009, 14(9): 1095-1107.
- [12] Li Y, Zhang Q, Yin X, et al. Generation of iPSCs from mouse fibroblasts with a single gene, Oct4, and small molecules [J]. *Cell Res*, 2011, 21(1): 196-204.
- [13] Lin CC, Liu LZ, Addison JB, et al. A *KLF4*-miRNA-206 autoregulatory feedback loop can promote or inhibit protein translation depending upon cell context [J]. *Mol Cell Biol*, 2011, 31(12): 2513-2527.
- [14] Papp B, Plath K. Reprogramming to pluripotency: Stepwise resetting of the epigenetic landscape [J]. *Cell Res*, 2011, 21(3): 486-501.
- [15] Shin SH, Song HY, Kim MY, et al. Oxidized phosphatidylcholine induces migration of bone marrow-derived mesenchymal stem cells through Kruppel-like factor 4-dependent mechanism [J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 352(1/2): 109-115.
- [16] Swildens J, de Vries AA, Li Z, et al. Integrin stimulation favors uptake of macromolecules by cardiomyocytes *in vitro* [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2010, 26(6): 999-1010.
- [17] Tetreault MP, Wang ML, Yang Y, et al. *Klf4* overexpression activates epithelial cytokines and inflammation-mediated esophageal squamous cell cancer in mice [J]. *Gastroenterology*, 2010, 139(6): 2124-2134.
- [18] Wang J, Place RF, Huang V, et al. Prognostic value and function of *KLF4* in prostate cancer: RNA and vector-mediated overexpression identify *KLF4* as an inhibitor of tumor cell growth and migration [J]. *Cancer Res*, 2010, 70(24): 10182-10191.
- [19] Wei Z, Yang Y, Zhang P, et al. *Klf4* interacts directly with Oct4 and Sox2 to promote reprogramming [J]. *Stem Cells*, 2009, 27(12): 2969-2978.
- [20] Yu F, Li J, Chen H, et al. Kruppel-like factor 4 (*KLF4*) is required for maintenance of breast cancer stem cells and for cell migration and invasion [J]. *Oncogene*, 2011, 30(18): 2161-2172.

[收稿日期] 2013 - 01 - 18

[修回日期] 2013 - 03 - 28

[本文编辑] 周玲琳