

转录因子 Yin Yang 1 (YY1) 在食管癌中的表达及其对食管癌细胞功能的影响

葛欣, 谷庆, 唐益庭, 朱巍, 杨红英, 张舒羽, 曹建平*

(苏州大学医学部放射医学与防护学院, 江苏省放射医学与防护重点实验室, 江苏 苏州 215123)

[摘要] **目的:**探讨转录因子 Yin Yang 1(YY1)在正常食管组织和食管鳞癌组织中的表达及其在食管癌发生发展中的作用。**方法:**免疫组化染色检测 15 例正常食管组织,39 例食管癌旁组织和 88 例食管癌组织样品中 YY1 蛋白表达水平;噻唑蓝(MTT)和克隆实验检测食管鳞癌细胞(TE-1 细胞)增殖和生长变化;蛋白质印迹(Western blot)技术检测转染后转录因子 YY1 和 p21 表达水平;细胞划痕实验和 Transwell 实验检测 TE-1 细胞迁移、侵袭能力的变化。**结果:**与正常食管组织和食管癌旁组织相比,YY1 蛋白在食管鳞癌组织样品中的表达显著提高。此外,转染了 YY1 过表达载体后明显抑制 TE-1 细胞生长,而干扰 YY1 表达则可促进细胞的生长;同时伴随着 YY1 靶基因 p21(也称 p21WAF1/Cip1)的变化。TE-1 细胞转染 YY1 过表达载体后,细胞的侵袭、迁移能力增强。**结论:**食管鳞癌组织中 YY1 表达显著上调,YY1 可调节细胞的生长和转移侵袭能力。因此,YY1 有望成为食管癌诊断和发展的分子标志物,也有可能是食管癌基因治疗的一个潜在靶点。

[关键词] 食管鳞癌;YY1;p21

[中图分类号] R735.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)07-930-07

doi:10.7655/NYDXBNS20140715

The expression of transcription factor Yin Yang 1 (YY1) and its function in esophageal squamous cell carcinoma

Ge Xin, Gu Qing, Tang Yiting, Zhu Wei, Yang Hongying, Zhang Shuyu, Cao Jianping*

(School of Radiation Medicine and Protection, Medical College of Soochow University, Jiangsu Provincial Key Laboratory of Radiation Medicine and Protection, Suzhou 215123, China)

[Abstract] Yin Yang -1 (YY1) is a member of the zinc finger factor GLI-Krüppel family. **Objective:**To investigate the gene expression and the function of YY1 in normal esophageal tissues and esophageal squamous carcinoma. **Methods:**The protein expression of YY1 in 88 esophageal squamous cell carcinomas,39 tumor adjacent tissues and 15 normal esophageal specimens was determined by immunohistochemistry (IHC). Proliferation and growth changes of esophageal squamous carcinoma cells were measured by MTT and colony formation. YY1 and p21 protein expressions were determined by Western blotting assays. TE-1 cell invasion and migration were determined by cell scratch experiment and Transwell invasive assays. **Results:**Compared to normal esophageal and tumor adjacent tissues,the expression of YY1 was significantly higher in esophageal squamous cell carcinomas. Furthermore,TE-1 cells overexpressing of YY1 significantly suppressed cell growth and downregulation of YY1 promoted cell growth. Meanwhile,a change of YY1 target gene p21 (p21WAF1/Cip1) was found. TE-1 cells overexpressing YY1 promoted cell invasion and migration. **Conclusion:**The expression of YY1 was significantly increased and regulated the growth,invasion and migration ability of esophageal squamous cells. Therefore,YY1 is expected to be a molecular marker in the diagnosis and development of esophageal squamous cell carcinoma,and also a potential target for gene therapy of esophagus cancer.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma (ESCC);YY1;p21

[Acta Univ Med Nanjing,2014,34(07):930-936]

[基金项目] 国家自然科学基金(81172597,81102078);江苏省高校重大科研项目(11KJA310001)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:jpciao@suda.edu.cn

食管鳞癌是第六大常见的导致死亡的癌症,发病率高,国内河南省林州市等地也是世界上发病率和病死率较高的地区。临床上由于缺乏敏感、特异的生物防治和早期诊断的指标和方法,所以首次确诊食管癌的患者 80%为中、晚期,其 5 年生存率仅为 10%左右,预后非常差。研究表明,肿瘤细胞的侵袭和转移是食管癌复发并导致患者死亡的主要原因。近年来有研究利用表面增强激光解析离子化-飞行时间-质谱(SELDI-TOF-MS)技术和比较基因组杂交(comparative genomic hybridization,CGH)技术对来自河南省食管癌高发区的食管鳞癌组织进行检测,通过结合分析发现一种叫做 Yin Yang1 的蛋白(即转录因子 YY1)在同一个体及不同个体食管癌筛选的肿瘤相关指标中均有发现,而且 YY1 蛋白表达与食管鳞癌浸润深度相关,提示该蛋白很有可能与食管癌的发生发展有着密切关系。

YY1 基因最早于 1991 年被 Park 和 Shi 等^[1-2]克隆和定义。人转录因子 YY1(又称 NF-E1, δ 因子、UCRBP/CF1)是锌指类转录调节因子 GL1-KrüPPel 蛋白家族中的一员,编码 1 段 414 个氨基酸蛋白,相对分子质量 44 000。根据结合的辅助因子不同,具有转录起始、激活和抑制等作用,参与细胞周期调控、分化、凋亡以及肿瘤形成等多种生物学进程^[3]。在肿瘤发生和癌症发展中 YY1 的功能还有争议,但是,已有文献显示 YY1 与 E1A 和 c-Myc 相互作用、降低肿瘤抑癌基因 p53 的稳定性而激活一系列的原癌基因,表明 YY1 是一原癌基因^[4]。不过最近有文献报道,YY1 在许多肿瘤细胞抑制 p21WAF1/Cip1、cdk4 和 cyclinD4 复合物的形成,从而抑制肿瘤的发生发展^[5]。然而,YY1 在肿瘤中的作用主要依赖于特定的组织类型,并且 YY1 在食管癌中的生物学影响还不被大家所熟悉。

p21(也称 p21WAF1/Cip1)是 YY1 的 1 个靶基因,可以介导 p53 依赖性的 G1 期细胞周期阻滞^[6]。p21WAF1/Cip1 作为一个肿瘤抑制因子,可被 p53 依赖性和 p53 非依赖性两种方式激活,通过抑制 cyclin/CDK 复合物的形成诱导 G1 期细胞周期的阻滞。然而,最近有文献报道,p21 促进异常的有丝分裂和抑制细胞凋亡而引起癌症的发生发展^[7]。食管癌患者 p21WAF1/Cip1 过表达并导致整体存活率明显下降^[8]。YY1 通过阻滞 Sp1 在 p21WAF1/Cip1 启动子的占位、干扰 p21WAF1/Cip1-CDK-cyclinD1 复合物的形成,阻滞 Rb 磷酸化而抑制平滑肌细胞中 p21WAF1/Cip1 的转录活性^[9]。此外,p21 的表达可

以对食管癌患者的预后做出预测^[8]。但是在食管癌中 p21 的表达失调是否是由 YY1 引起的还有一定的争议。

本研究分析了食管鳞癌中 YY1 的表达及其功能。研究显示,与正常食管组织相比,食管鳞癌中 YY1 表达上调。此外,在食管鳞癌 TE-1 细胞中,YY1 通过阻止 p21 的表达抑制细胞的生长,并且增加细胞的侵袭能力。

1 资料和方法

1.1 资料

15 例正常食管组织、39 例食管癌旁组织和 88 例食管鳞癌组织来自 2010~2012 年在东南大学医学院附属江阴人民医院实施手术的患者,用于免疫组织化学检测。所有患者签名同意其组织被用于科学研究。本研究的公众调查资料从东南大学医学院附属江阴人民医院获得。基于病理学和细胞学资料进行诊断,根据国际抗癌联盟(International Union Against Cancer,UICC)的 TNM 分级系统确定临床病理分期。在进行化学疗法和放射疗法之前取得实验组织样本,将样本直接冰冻储存,用于后续实验。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化染色(immunohistochemistry,IHC)

将 2 μ m 厚的石蜡样本脱蜡,加入柠檬酸盐缓冲液,调节 pH6.0,加热 7 min。用 3%的过氧化氢室温处理 7 min,用 4%的脱脂奶粉处理组织非特异性结合位点 30 min。与一抗共同培养 1 h(稀释 1:50),再以 2%的比例与脱脂牛奶混合,以减少非特异性染色。然后加入抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合物,与生物素标记的二抗反应 30 min,3-3-二氨基联苯胺(DAB)染色,苏木紫进行复染色,所有实验操作均在室温下进行。未加第一抗体者为阴性对照。

在放大 200 倍视野下,每张切片观察 5 个视野,根据染色程度和染色细胞百分比进行评分。染色程度分 3 个级别:没有着色或免疫反应模糊为 0,微弱反应为 1,中等亮度或明显着色为 2。YY1 表达显著阳性的判定:在 50%以上的肿瘤细胞中,检测到染色程度为 1;或在 30%以上的肿瘤细胞中,检测到染色程度为 2 或 3。YY1 抗体购自于美国 Abcam 公司。

1.2.2 构建 YY1 过表达和基因沉默载体

将包含人 YY1 编码区的基因片段(GenBank accession no:ENST00000262238)经 PCR 扩增,YY1 上游引物为 5'-AACTCGAGGCCCTCGGGCGACACCCTCTACA-3',下游引物为 5'-CGAAGCTTTAGCAT-

GTGTTAAGATGTGAGATT-3'。扩增的片段插入到 pEGFP-N1 载体的 *Xho* I 和 *Hind* III 之间。将重组质粒按顺序排好,以确定其序列。在 YY1 基因的 mRNA 链一位点设计序列,构建基因沉默 pGPU6/Neo 载体,载体内含有抗 YY1 mRNA 形成的短发卡 RNA (shRNA), shRNA-YY1 序列为 5'-GAACUCAC-CUCCUGAUUAU-3', 作为阴性对照的 shRNA 序列为 5'-GTTCTCCGAACGTGTCACGT-3', 由上海吉玛制药技术有限公司构建。

1.2.3 细胞培养、转染

食管鳞癌 TE-1 细胞购自中国科学院上海细胞库。采用 DMEM 高糖完全培养基,并添加 10% FBS 和抗生素 (100 U/ml 青霉素 G, 100 μ g/ml 硫酸盐处理过的链霉素)。细胞培养于 37 $^{\circ}$ C, CO₂ 浓度维持在 5%。为了获得稳定的 YY1 过表达和基因沉默克隆,细胞在 24 孔培养板中培养到 70%~80% 的融合率,然后采用 Lipofectamine 2000 试剂进行转染。质粒转染 48 h 后,培养基更换为含 600 μ g/ml G418 的 DMEM 培养基。培养 3~4 周后,挑选抗 G418 的稳定株,通过 Western blot 分析 YY1 蛋白表达情况。

1.2.4 细胞存活试验

用 MTT 法检测细胞的活力。将对数生长期 TE-1 细胞用胰酶消化后配制成浓度 1×10^4 个/ml 的细胞悬液,100 μ l/孔接种于 96 孔板,培养 24 h 后,转染 YY1 过表达载体或沉默载体 shRNA-YY1 和对照载体。每组设置平行的 6 个孔。24 h 后,吸掉培养基,每孔加入含 5 mg/ml 新鲜配制的 MTT 溶液的无血清 DMEM 100 μ l,温育 4 h,再次吸去上清液,每孔加二甲基亚砜 (DMSO) 150 μ l,用平板摇床摇匀后,使用酶标仪测定 490 nm 光密度,以溶剂对照处理细胞作为对照。试验重复 3 次。

1.2.5 克隆形成试验

转染载体的 TE-1 细胞株置于平板中低密度培养 10 d,每 60 mm 平板中含有 1 000 个细胞,固定、结晶紫染色。利用显微镜计数多于 50 个细胞的癌灶和集落。

1.2.6 Western blot

转染载体的 TE-1 细胞收集裂解后,冰上放置 1 h,4 $^{\circ}$ C、12 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,加入 5 \times SDS-PAGE,100 $^{\circ}$ C、5 min 蛋白变性,电泳并转移至聚偏二氟乙烯膜 (PVDF 膜,美国 Millipore 公司),由 TBST 配制的 5% 脱脂奶粉室温下封闭 1 h,1:1 000 稀释的 YY1、 β -actin 抗体 (美国 Abcam 公司) 4 $^{\circ}$ C 封闭过夜,二抗室温孵育 1~2 h,一抗、二抗孵育

后 TBST 各洗 4 次/10 min,化学发光仪曝光。

1.2.7 细胞划痕试验

取对数生长期 TE-1 细胞以适当的密度接种于 6 孔板,贴壁后转染 YY1 过表达载体和对照载体,每组设置 2 个平行样,培养至细胞接近饱和后采用无菌 200 μ l 的枪头在每皿中划出等宽的直线划痕,并用无菌 PBS 清洗 3 次,更换成无血清的培养基培养 48 h,至倒置相差显微镜下观察划痕的宽度,分别拍摄划痕后 0、48 h 的图像。

1.2.8 Transwell 细胞侵袭试验

取对数生长期 TE-1 细胞以适当密度接种于 6 孔板,贴壁后转染 YY1 过表达载体和对照载体,24 h 后,细胞无血清培养基饥饿处理 12~24 h,Matrigel 胶与无血清培养基比例为 1:4,每孔加 25~30 μ l 稀释后的胶,置于 37 $^{\circ}$ C、1 h,待胶凝固后,加入 50 μ l 含 0.5% BSA 的无血清培养基水化基底膜,放于 37 $^{\circ}$ C、30 min。胰酶消化细胞,0.5% BSA 重悬细胞密度至 5×10^5 个/ml,每孔加入 100 μ l 细胞,24 孔下层每孔加入 600 μ l 含 5%~10% FBS 的培养基,置于 37 $^{\circ}$ C 48 h 后甲醇固定、Gimesa 染色,显微镜下观察。

1.3 统计学方法

3 个彼此独立实验组的数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。应用 Student's *t* 检验分析实验组与对照组的差异, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 食管鳞癌组织中 YY1 蛋白的表达

用于免疫组化 (IHC) 分析的正常食管组织 15 例、食管癌旁组织 39 例和 88 例食管癌组织样本病理学特征如表 1 所示。YY1 在食管组织样品中存在异质性表达,食管鳞癌组织中 YY1 核染色强反应 (图 1)。IHC YY1 染色评分显示,YY1 表达在正常食管组织和癌旁组织无明显区别,而食管癌与正常食管组织及癌旁组织间有较大差异 ($P < 0.01$,图 2)。

2.2 YY1 抑制食管鳞癌细胞的生长

食管鳞癌 TE-1 细胞转染 YY1 过表达载体 (pcDNA3.1-YY1) 或对照空白载体 (pcDNA3.1) 后,利用 Western blot 验证 (图 3A),YY1 表达水平明显升高;MTT 实验 (图 4A) 所示细胞转染后 24 h,与 pcDNA3.1 细胞组 (0.325 ± 0.076) 相比,转染 pcDNA3.1-YY1 细胞组 (0.257 ± 0.028) 存活率下降 ($P < 0.05$);癌灶形成分析实验,细胞转染过表达载体后培养 14 d,如图 5 所示克隆团,增加 YY1 的表达明显抑制 TE-1 细胞癌灶的形成 ($P < 0.01$)。

表 1 用于免疫组化(IHC)分析的样本病理学特征

Table 1 Immunohistochemistry (IHC) analysis of patient pathological features

指标	正常 (n=15)	癌旁 (n=39)	I 级 (n=9)	II 级 (n=46)	III 级 (n=33)
年龄(岁)	59.00	57.26	62.87	59.19	59.24
年龄范围(岁)	32~72	32~72	55~69	33~76	32~75
性别(男/女)	10/5	27/12	5/4	34/12	23/10

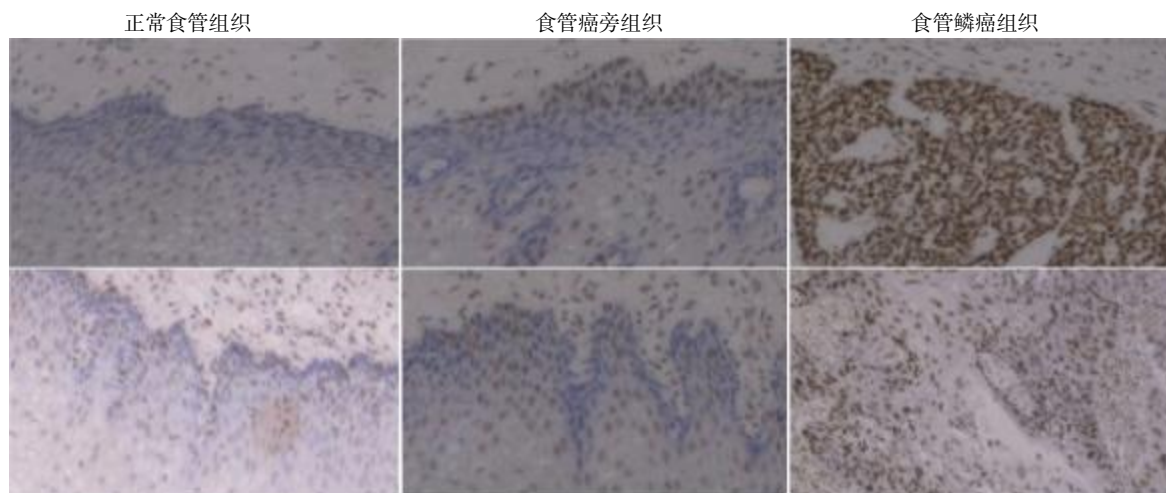


图 1 免疫组化染色(IHC)分析在正常食管组织、食管癌旁组织、食管鳞癌组织中 YY1 的表达变化(x100)

Figure 1 Representative immunohistochemistry (IHC) analysis of YY1 expression in normal esophageal tissues, tumor adjacent tissues and esophageal squamous cell carcinomas tissues (x100)

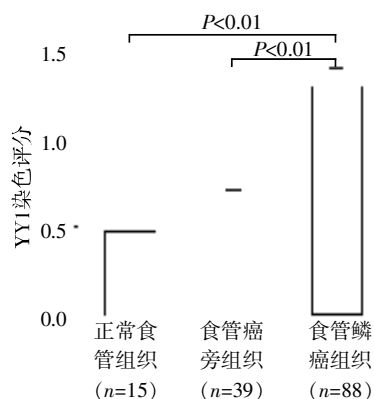


图 2 正常食管组织、食管癌旁组织、食管鳞癌组织中 YY1 免疫组化(IHC)染色评分

Figure 2 The range of YY1 IHC staining score in normal esophageal tissues, tumor adjacent tissues and esophageal squamous cell carcinomas tissues

的形成($P < 0.05$)。为了研究 YY1 对人食管癌细胞影响的相关分子机制, 采用 Western blot 法检测细胞转染 YY1 过表达载体或沉默载体后相关蛋白的表达水平, 图 3 显示, p21 的表达与 YY1 水平呈负相关。表明在体外实验中, YY1 对 TE-1 细胞的抑制作

与此相反, 利用 shRNA 敲除 YY1 的表达, TE-1 细胞转染 YY1 沉默载体(shRNA-YY1)或对照空白载体(shRNA-NC), 利用 Western blot 检测(图 3B), YY1 表达水平下调; MTT 实验(图 4B)所示, shRNA-YY1 细胞组(0.467 ± 0.028)的存活率高于阴性对照组(0.351 ± 0.035)($P < 0.01$); 癌灶形成实验(图 5)所示, 表达下调的 YY1 促进细胞癌灶

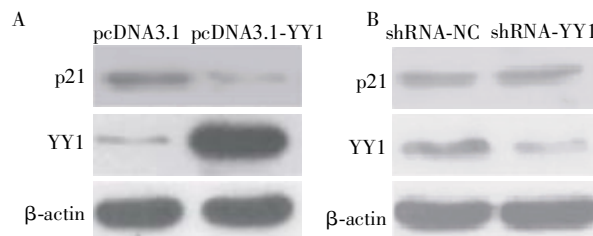


图 3 TE-1 细胞转染 YY1 过表达载体 pcDNA3.1-YY1, pcDNA3.1 或 YY1 沉默表达载体 shRNA-YY1, shRNA-NC, 利用 Western blot 检测 β -actin, p21, YY1 蛋白的表达量

Figure 3 TE-1 cells transfected pcDNA3.1-YY1 and pcDNA3.1 of YY1 overexpression vector, or shRNA-YY1 and shRNA-NC of YY1 silencing vector. Western blot analysis was performed to detect protein expression quantity of β -actin, p21, YY1

用与减少周期相关基因 p21 有关。

2.3 YY1 促进食管癌 TE-1 细胞的侵袭、迁移

采用细胞划痕试验和 Transwell 侵袭试验检测 YY1 过表达载体 (pcDNA3.1-YY1) 或对照载体 (pcDNA3.1) 对 TE-1 细胞迁移和侵袭的影响。细胞划痕试验(图 6)显示, 与 pcDNA3.1 转染细胞组相比, 转染 pcDNA3.1-YY1 细胞组的划痕条带变化明

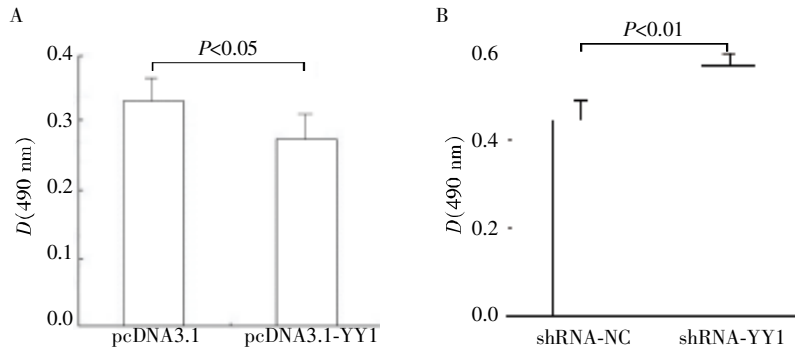
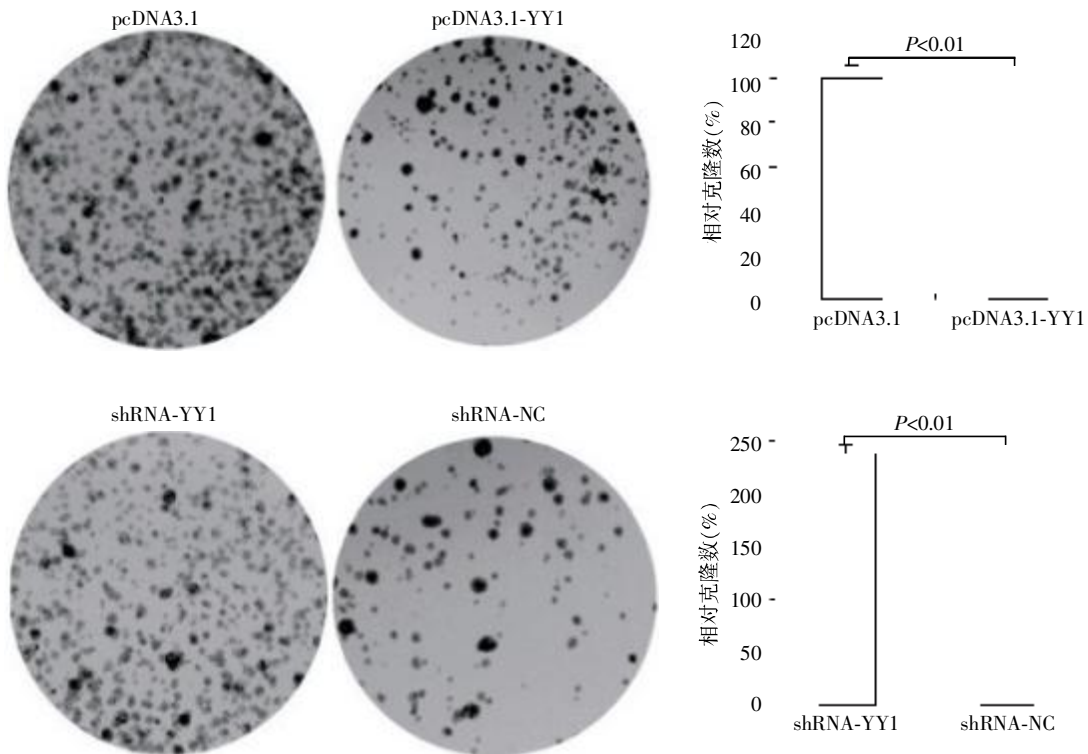


图 4 MTT 法检测 YY1 对 TE-1 细胞增殖能力的影响
Figure 4 TE-1 cell proliferation was measured by MTT



细胞转染 YY1 过表达载体 pcDNA3.1-YY1、pcDNA3.1 或 YY1 沉默表达载体 shRNA-YY1、shRNA-NC 对 TE-1 细胞克隆的影响。细胞团含有 ≥50 个细胞被认为是一个克隆 (×20)。

图 5 细胞转染 YY1 过表达载体或沉默载体对 TE-1 细胞克隆的影响

Figure 5 Effects of transfected YY1 overexpression vector or silencing vector on cell clone of TE-1

显(转染 48 h 与转染 0 h 划痕条带相比)。

Transwell 实验检测 YY1 对 TE-1 细胞侵袭能力的影响, Gimesa 染色显微镜下观察拍摄蓝色梭形细胞(图 7), 转染 pcDNA3.1-YY1 组的细胞穿过 Matrigel 基质胶的细胞数较阴性对照组增加 ($P < 0.05$)。上述结果说明转录因子 YY1 能增加细胞的侵袭迁移能力。

3 讨论

YY1 最初是作为腺病毒相关病毒 P5 启动子的

阻抑因子被发现的, 后发现其抑制作用可被腺病毒 E1A 癌蛋白逆转, 表现为转录激活因子, 因其具有双重的转录活性, 故将此蛋白命名为 YY1^[10]。在基因调控中, YY1 能分别发挥转录起始、激活及抑制等多种功能, 在细胞生物学进程中发挥重要作用^[11]。YY1 调控许多基因, 其中大部分都和肿瘤相关。YY1 C-末端的锌指结构域识别共有序列 CGCCAT-NTT 结合 DNA^[12], 以此序列可在真核细胞启动子数据库中查找, 在 2 540 个脊椎动物启动基因中发现了 1 664 个潜在的 YY1 结合位点^[13], 表明 YY1 能调

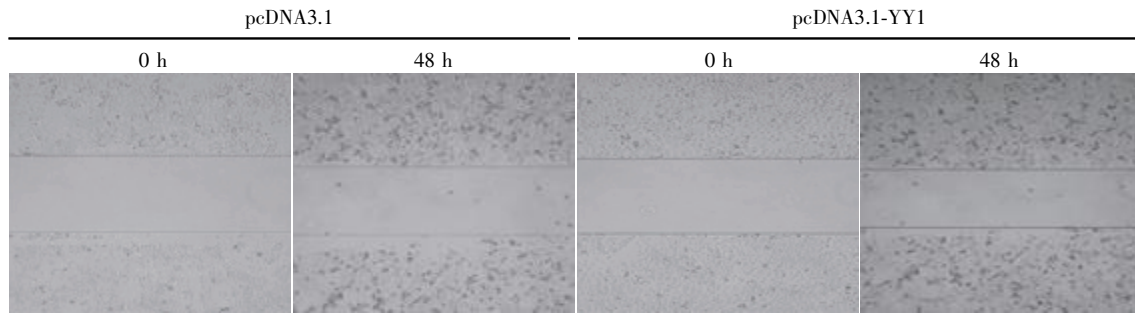


图 6 细胞 TE-1 转染 YY1 过表达载体 pcDNA3.1-Y Y1、pcDNA3.1,细胞划痕实验检测转染 0 h 和 48 h 时细胞条带的变化
Figure 6 TE-1 cells transfected pcDNA3.1-Y Y1,pcDNA3.1 of YY1 overexpression vector. The change of cell stripes between transfection of 0 h and 48 h was assessed by cell wound healing assays

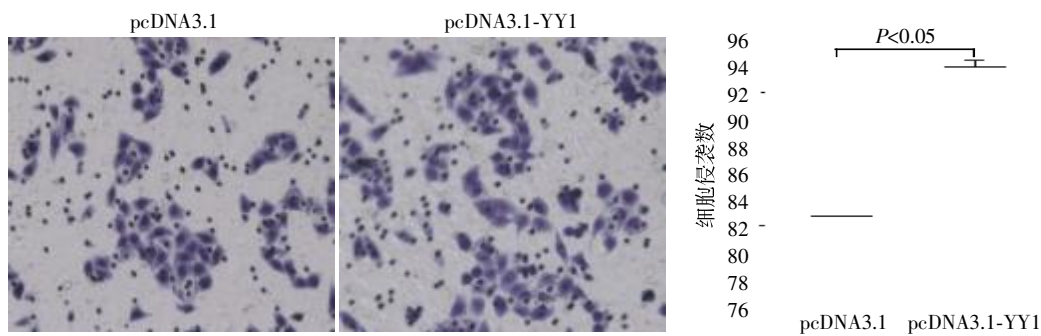


图 7 细胞转染 pcDNA3.1-Y Y1、pcDNA3.1 48 h 后,Transwell 细胞侵袭实验检测 TE-1 细胞穿过 Matrigel 基质胶的细胞数
Figure 7 Cells transfected pcDNA3.1-Y Y1 and pcDNA3.1 of YY1 overexpression vector, TE-1 cells crossed matrigel were calculated by transwell cell invasion experiment

控大量细胞的基因表达。

YY1 基因在多数人类肿瘤中表达异常。Zaravinos 等^[14]运用 36 个公共基因表达数据库(GEO)对多种肿瘤类型中 YY1 的转录水平进行统计分析,并与之前研究结果比较发现,在不同的肿瘤中其表达水平不同^[15]。YY1 在大部分肿瘤中高表达,如人乳腺癌^[6]、前列腺癌^[17]、卵巢癌^[18]、脑肿瘤^[19]、急性骨髓性白血病^[20]、骨肿瘤^[21-22]、结肠癌^[23]、宫颈癌^[24-25]。本研究发现,与正常食管组织和癌旁组织相比,食管鳞癌组织中 YY1 蛋白表达水平明显增高。在食管鳞癌 TE-1 细胞中,我们发现 YY1 基因能抑制细胞的生长,此效应与减少细胞周期调控复合物 p21 的形成有关。TE-1 细胞侵袭、迁移实验显示 YY1 增加细胞的侵袭能力,p21 与肿瘤的浸润有关,并且 YY1 调控 p21 的表达。本研究组的其他研究表明,食管鳞癌 TE-1 细胞给予 X 线照射后,随着时间和辐射剂量的增加,YY1 的表达量逐渐增加,细胞的侵袭能力也相应增加。

p21 基因是 CIP 家族中的一员,是位于 p53 基因下游的细胞周期素依赖性激酶抑制因子。p21 可以和 p53 构成细胞周期 G1 检查站,因 DNA 损伤后

不经过修复则无法通过,减少了受损 DNA 的复制积累,从而发挥抑癌作用。研究表明,p21 与肿瘤的分化、浸润深度、增生和转移有关,具有判断预后的价值。食管癌发生与 p53 基因突变以及 p21CIP/WAF 表达减弱有关。食管癌病变程度加重时,p53 和 BrdU 阳性细胞数均呈上升趋势,而 p21CIP/WAF 的表达则呈下降趋势。

总而言之,食管鳞癌组织中 YY1 的表达量明显上调,在食管癌细胞调节 p21 的表达。YY1 有可能成为一种新的肿瘤标志物,以检测肿瘤恶性转化或判断预后,同时也为指导靶向治疗带来了新的思路、线索和突破。

[参考文献]

- [1] Park K, Atchison ML. Isolation of a candidate repressor/activator, NF-E1 (YY-1, delta), that binds to the immunoglobulin kappa 3' enhancer and the immunoglobulin heavy-chain mu E1 site [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991, 88(21):9804-9808
- [2] Shi Y, Seto E, Chang LS, et al. Transcriptional repression by YY1, a human GLI-Kruppel-related protein, and relief of repression by adenovirus E1A protein [J]. Cell,

- 1991,67(2):377-388
- [3] Chen QR, Yu LR, Tsang P, et al. Systematic proteome analysis identifies transcription factor YY1 as a direct target of miR-34a[J]. *Proteome Res*, 2011, 10(2):479-487
- [4] Affarel B, Gay F, Shi Y, et al. Essential dosage-dependent functions of the transcription factor yin yang 1 in late embryonic development and cell cycle progression [J]. *Mol Cell Biol*, 2006, 26(9):3565-3581
- [5] Ishii H, Hulett MD, Li JM, et al. Yin Yang-1 inhibits tumor cell growth and inhibits p21WAF1/Cip1 complex formation with cdk4 and cyclin D1 [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(5):1575-1580
- [6] Abbas T, Dutta A. p21 in cancer: intricate networks and multiple activities[J]. *Nat Rev Cancer*, 2009, 9(6):400-414
- [7] Roninson IB. Oncogenic functions of tumour suppressor p21 (Waf1/Cip1/Sdi1): association with cell senescence and tumour-promoting activities of stromal fibroblasts[J]. *Cancer Lett*, 2002, 179(1):1-14
- [8] Sarbia M, Stahl M, zur Hausen A, et al. Expression of p21WAF1 predicts outcome of esophageal cancer patients treated by surgery alone or by combined therapy modalities[J]. *Clin Cancer Res*, 1998, 4(11):2615-2623
- [9] Santiago FS, Ishii H, Shafi S, et al. Yin Yang-1 inhibits vascular smooth muscle cell growth and intimal thickening by repressing p21WAF1/Cip1 transcription and p21WAF1/Cip1-Cdk4-cyclin D1 assembly[J]. *Circ Res*, 2007, 101(2):146-155
- [10] 唐云, 李雪丽, 许雪珠. 转录因子 Yin-Yang1 与肿瘤[J]. *国际肿瘤学杂志*, 2012, 39(2):89-92
- [11] Sui G, Affarel B, Shi Y, et al. Yin Yang 1 is a negative regulator of p53[J]. *Cell*, 2004, 117(7):859-872
- [12] Yant SR, Zhu W, Millinoff D, et al. High affinity YY1 binding motifs: identification of two core types (ACAT and CCAT) and distribution of potential binding sites within the human beta globin cluster [J]. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23(21):4353-4362
- [13] Wang CC, Chen JJ, Yang PC. Multifunctional transcription factor YY1: a therapeutic target in human cancer? [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2006, 10(2):253-266
- [14] Zaravinos A, Spandidos DA, et al. Yin yang 1 expression in human tumors[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(3):512-522
- [15] Castellano G, Torrisi E, Ligresti G, et al. The involvement of the transcription factor Yin Yang 1 in cancer development and progression[J]. *Cell Cycle*, 2009, 8(9):1367-1372
- [16] Begon DY, Delacroix L, Vernimmen D, et al. Yin Yang 1 cooperates with activator protein 2 to stimulate ERBB2 gene expression in mammary cancer cells [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(26):24428-24434
- [17] Seligson D, Horvath S, Huerta-Yepez S, et al. Expression of transcription factor Yin Yang 1 in prostate cancer[J]. *Int J Oncol*, 2005, 27(1):131-141
- [18] Berchuck A, Iversen ES, Lancaster JM, et al. Patterns of gene expression that characterize long-term survival in advanced stage serous ovarian cancers [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11(10):3686-3696
- [19] Baritaki S, Chatzinikola AM, Vakis AF, et al. YY1 Overexpression in human brain gliomas and meningiomas correlates with TGF-beta1, IGF-1 and FGF-2 mRNA levels [J]. *Cancer Invest*, 2009, 27(2):184-192
- [20] Erkeland SJ, Valkhof M, Heijmans-Antonissen C, et al. The gene encoding the transcriptional regulator Yin Yang 1 (YY1) is a myeloid transforming gene interfering with neutrophilic differentiation [J]. *Blood*, 2003, 101(3):1111-1117
- [21] de Nigris F, Botti C, de Chiara A, et al. Expression of transcription factor Yin Yang 1 in human osteosarcomas [J]. *Eur J Cancer*, 2006, 42(15):2420-2424
- [22] de Nigris F, Botti C, Rossiello R, et al. Cooperation between Myc and YY1 provides novel silencing transcriptional targets of alpha3beta1-integrin in tumour cells [J]. *Oncogene*, 2007, 26(3):382-394
- [23] Chinnappan D, Xiao D, Ratnasari A, et al. Transcription factor YY1 expression in human gastrointestinal cancer cells [J]. *Int J Oncol*, 2009, 34(5):1417-1423
- [24] He G, Wang Q, Zhou Y, et al. YY1 is a novel potential therapeutic target for the treatment of HPV infection-induced cervical cancer by arsenic trioxide [J]. *Int J Gynecol Cancer*, 2011, 21(6):1097-1104
- [25] Baritaki S, Sifakis S, Huerta-Yepez S, et al. Overexpression of VEGF and TGF-beta1 mRNA in Pap smears correlates with progression of cervical intraepithelial neoplasia to cancer: implication of YY1 in cervical tumorigenesis and HPV infection [J]. *Int J Oncol*, 2007, 31(1):69-79