

干细胞相关基因 Sox2 在膀胱癌的表达及对膀胱癌细胞体外增殖影响

卫冰冰¹,徐卓群^{1*},阮 钧^{1*},杨树东²,陈友千¹,诸 明¹,周 游³,金 柯¹

(¹南京医科大学附属无锡人民医院泌尿外科,²病理科,江苏 无锡 214023;³Faculty of Medicine,Minerva Foundation Institute for Medical Research,FI-00290 Helsinki,Finland)

[摘要] 目的:初步研究干细胞相关基因 Sox2 在膀胱癌的表达及其对膀胱癌细胞体外增殖能力的影响。方法:利用免疫组织化学和免疫荧光法检测 Sox2 在膀胱癌组织及膀胱癌细胞株 T24 的表达;将构建成功的 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒转染膀胱癌细胞,采用半定量 RT-PCR 和 Western blot 检测 Sox2 的表达,进一步通过 MTT 实验初步探讨 Sox2 对膀胱癌细胞 T24 体外增殖能力的影响。结果:膀胱癌 Sox2 高表达率为 68.6%;构建的 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 转染膀胱癌细胞 T24 后能够成功表达;MTT 实验显示,Sox2 可促进膀胱癌细胞株 T24 体外增殖($P < 0.05$)。结论:Sox2 在膀胱癌组织及细胞均可检测到表达,并能促进膀胱癌细胞株 T24 的体外增殖。

[关键词] 膀胱癌;Sox2;pcDNA3.1-SOX2-EGFP;T24 细胞

[中图分类号] R737.14

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)03-346-06

doi: 10.7655/NYDXBNS20130312

The expression of Sox2 in bladder cancer and its effect on the proliferation of bladder cancer cell line T24

Wei Bingbing¹,Xu Zhuoqun^{1*},Ruan Jun^{1*},Yang Shudong²,Chen Yougan¹,Zhu Ming¹,Zhou You³,Jin Ke¹

(¹Department of Urology,²Department of Pathology, Affiliated Wuxi People's Hospital of NJMU,Wuxi 214023, China;³Minerva Foundation Institute for Medical Research,FI-00290 Helsinki,Finland)

[Abstract] **Objective:**To investigate the expression of Sox2 in human bladder cancer and evaluate the effect of Sox2 on the proliferation of bladder cancer cell line T24. **Methods:**Immunohistochemical and immunofluorescence staining was used to detect the expression of Sox2 in bladder cancer. The constructed pCDNA3.1-SOX2-EGFP plasmid was transfected into bladder cancer cell line T24. The expression of Sox2 in T24 was analyzed by RT-PCR and Western blot. The function of Sox2 protein in cell proliferation was measured by MTT assay. **Results:**The high expression of Sox2 was detected in 68.6% of bladder cancer specimens. The pCDNA3.1-SOX2-EGFP plasmid was successfully constructed. In addition, MTT assay showed that Sox2 could significantly promote the proliferation in human bladder cancer cell line T24. **Conclusion:**The expression of Sox2 was detected in bladder cancer. Sox2 might promote the growth of human bladder cancer cell line T24.

[Key words] bladder cancer;Sox2;pCDNA3.1-SOX2-EGFP;T24

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(3): 346-351]

膀胱癌是泌尿系统高发的恶性肿瘤。目前,膀胱癌生长、侵袭转移的具体机制仍不清楚,缺乏有

效的早期诊断、预后判断指标及治疗手段。近年来,在包括膀胱癌在内的多种组织肿瘤内发现一个小的细胞亚群,这部分细胞具有自我更新、多向分化等干细胞特性^[1-3],称为肿瘤干细胞。研究显示,肿瘤干细胞在多种组织肿瘤的发生、局部侵袭和远处转移过程中发挥着重要作用,有可能成为有效治疗肿瘤的关键^[1,4-5]。

Sox2 是一个重要的干细胞标志基因,属于 SOX

[基金项目] 无锡市科技发展基金(CSE01N1108);江苏省卫生厅青年基金(Q201207);无锡市医管中心重点项目(YGZ1105);南京医科大学自然科学基金(2011NJMU034)

*通信作者(Corresponding author),E-mail: xuzq@wuxiph.com; rj18@yahoo.cn

(SRY-like HMG box)基因家族成员,包含 DNA 结合区 HMG,位于染色体 3q26,可调控干细胞基因 Oct-3/4、Nanog、Fgf-4、Utl1 及 Lefty1 基因的表达,处于干细胞信号调控网络的中心,在维持干细胞自我更新、多向分化等方面发挥重要作用。流行病学研究发现,Sox2 表达上调与肺癌和食管癌的不良预后相关,可作为独立的预后判断指标^[6-8]。进一步研究还发现,过表达 Sox2 可以促进肺癌细胞的生长和迁移^[9]。Ji 等^[10]证实,Sox2 还可以促进宫颈癌细胞的增殖及致瘤能力。

目前,Sox2 在膀胱癌的表达情况以及对膀胱癌发生发展的影响尚未见文献报道。本研究通过免疫组化和免疫荧光法检测 Sox2 在膀胱癌的表达,并初步探讨 Sox2 对膀胱癌细胞体外增殖的影响。本研究将为进一步研究 Sox2 影响膀胱癌发生发展的分子机制及膀胱癌干细胞奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本

收集入住南京医科大学附属无锡人民医院 35 例膀胱癌患者组织石蜡标本。其中,男 19 例,女 16 例,年龄 43~90 岁(63.00 ± 1.77)岁;G1~G2 级 23 例,G3 级 12 例;所有患者均为 T1 期。膀胱癌分级标准采用 WHO 分级法(WHO 1973);膀胱癌分期采用国际抗癌联盟 2002 年 TNM 分期法。

入组标准如下:①组织病理学证实为膀胱移行细胞癌;②未做相关治疗且初次确诊的膀胱癌;③无其他肿瘤病史。所有患者行经尿道膀胱肿瘤切除术。

1.1.2 细胞与质粒

膀胱癌细胞株 T24 来源于美国模式培养物集存库(American Type Culture Collection, ATCC)。携带 Sox2 基因的质粒由 Dr. Chin Li (Department of Life Science, National Chung Cheng University, 美国)和 Dr. Angie Rizzino (Eppley Institute for Research in Cancer and Allied Diseases, University of Nebraska Medical Center, 美国)馈赠。pcDNA3.1-EGFP(长沙赢润生物公司)。

1.1.3 主要试剂

RPMI-1640 培养基、无支原体胎牛血清和双抗(青霉素-链霉素, Gibco 公司, 美国)。脂质体转染试剂 LipofactimineTM 2000、0.25%胰酶(Trypsin-EDTA)和 TRIzol 试剂(Invitrogen 公司, 美国)。无内毒素质粒小提试剂盒(E.Z.N.A.® Endo-Free Plasmid Mini

Kit II, Omega 公司, 美国)。限制性内切酶 *Hind* III 和 *Eco*R I、T4 DNA Ligase、预染蛋白质分子量标准物(Fermentas 公司, 美国)。核酸标准分子量 Marker(大连 TaKaRa 公司)。反转录试剂盒(Promega 公司, 美国)。兔抗人 Sox2 和 β -Tublin 多克隆抗体(Abcam 公司, 美国)。辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔 IgG 二抗(Bioworld 公司, 美国)。用于 Western blot 检测的化学发光检测试剂及 PVDF 微孔滤膜(Millipore 公司, 美国)。MTT 和 DMSO(Amresco 公司, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化

膀胱癌手术标本经 10%福尔马林固定,常规石蜡包埋,以 4 μ m 厚度切片后进行脱蜡,并以 3%双氧水处理切片以去除内源性过氧化物酶,再以 10 mmol/L 柠檬酸组织抗原修复液进行抗原修复,后经山羊血清封闭 30 min。然后滴加 Sox2 抗体于 4 $^{\circ}$ C 孵育 12~16 h(过夜),滴加增强剂,通用型 IgG 抗体, DAB 显色,苏木素复染等。染色结果由 2 名研究者进行判定。

根据染色强度和阳性细胞数分别进行评分,综合判断 Sox2 在膀胱癌的表达。染色强度评分:0 分(阴性染色);1 分(弱染色);2 分(中度染色);3 分(强染色)。阳性细胞比例评分:0 分(无阳性细胞);1 分(< 25%);2 分(25%~50%);3 分(50%~75%);4 分(> 75%)。最后,染色强度评分和阳性细胞比例评分综合后得出总评分(0~7 分)。根据总评分,将膀胱癌 Sox2 表达分为低表达(< 4 分)和高表达(4~7 分)。

1.2.2 免疫荧光

石蜡组织:膀胱癌石蜡组织切片经脱蜡后,以 3%双氧水去除内源性过氧化物酶,10 mmol/L 柠檬酸组织抗原修复液进行抗原修复,山羊血清封闭 30 min,滴加 Sox2 抗体 4 $^{\circ}$ C 孵育 12~16 h,再以荧光标记的羊抗兔 IgG 室温避光孵育 1 h, DAPI 染细胞核 1 min,抗荧光淬灭封片液封片,荧光显微镜下观察并摄像。

膀胱癌细胞:制备细胞爬片,4%多聚甲醛室温固定 10 min,0.2% Triton X-100 室温孵育 10 min,山羊血清封闭 30 min,加 Sox2 抗体 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜,滴加荧光标记的羊抗兔 IgG 室温避光孵育 1 h, DAPI 染细胞核 1 min,抗荧光淬灭封片液封片,荧光显微镜观察并摄像。

1.2.3 Sox 基因 PCR 扩增

上游引物:5' -CCCAAGCTTGCCACCATGTA-

CAACATGATGGAGA -3' (下划线部分为 *Hind* III 识别序列,斜体部分为 Kozak 序列)。

下游引物:5'-GGAATTCGCATGTGTGAGAGGG-GCAGTGT-3' (下划线部分为 *Eco*R I 识别序列)。Sox2 基因 PCR 引物由上海 Invitrogen 公司合成; β -actin 基因 PCR 引物由邹健博士馈赠。

以携带 Sox2 基因的质粒为模板,用 Sox2 引物进行 PCR 扩增,反应条件:94℃变性 5 min,然后 94℃ 1 min,58℃ 1 min,72℃ 1 min,扩增 30 个循环,最后 72℃延伸 5 min。产物经 2%琼脂糖凝胶电泳检测,纯化后回收备用。

1.2.4 携带 Sox2 基因重组质粒 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 的构建及鉴定

用限制性内切酶 *Hind* III 和 *Eco*R I 分别双酶切 Sox2 回收片段和质粒 pcDNA3.1-EGFP,两酶切产物纯化后用 T4 连接酶于 37℃条件下连接过夜。取适量连接产物转化 DH5 α 感受态细胞,随机挑选氨苄青霉素抗性菌落,用质粒小量提取试剂盒抽提质粒,经 PCR 和 *Hind* III/*Eco*R I 双酶切鉴定,进一步经基因测序证实克隆的 Sox2 基因序列无碱基突变,该质粒命名为 pcDNA3.1-SOX2-EGFP。

1.2.5 RT-PCR 检测 Sox2 在膀胱癌细胞的 mRNA 表达

将 pcDNA3.1-EGFP 和 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒分别转染膀胱癌细胞株 T24 细胞,用 TRIzol 试剂裂解 T24 细胞,按试剂说明书提取细胞总 RNA,反转录合成 cDNA 第一链。再以 cDNA 为模板,用 Sox2 和 β -actin 引物按下述反应条件同时扩增 Sox2 和 β -actin 基因:94℃变性 5 min,然后 94℃ 1 min、58℃ 1 min、72℃ 1 min,扩增 30 个循环,最后 72℃延伸 5 min。产物经 2%琼脂糖凝胶电泳鉴定。

β -actin PCR 引物序列:上游引物:5'- CTC-

CATCCTGGCCTCGCTGT-3',下游引物:5'-GCTGT-CACCTTCACCGTTCC-3'

1.2.6 Western blot 检测 Sox2 在膀胱癌细胞的蛋白表达

将 pcDNA3.1-EGFP 和 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒分别转染 T24 细胞,72 h 后收集细胞,提取细胞总蛋白,Western blot 检测 Sox2 蛋白在 T24 的表达。同时以 β -Tublin 作为参照。

1.2.7 MTT 实验初步检测 Sox2 对膀胱癌细胞增殖的影响

将 pcDNA3.1-EGFP 和 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 分别转染 T24 细胞,转染后 72 h,重悬细胞,接种于 96 孔培养板。用 MTT 法检测 24、48 和 72 h 的细胞增殖情况。

1.3 统计学方法

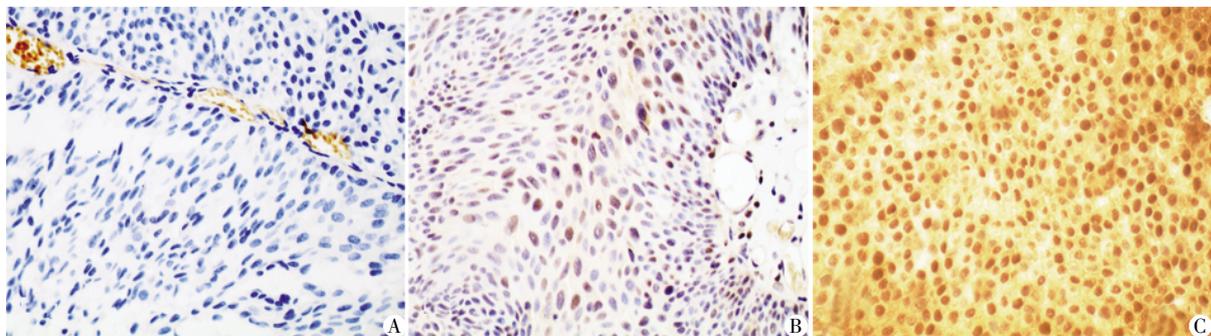
数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,Sox2 高表达组和低表达组膀胱肿瘤大小均数比较采用独立样本 *t* 检验。运用 SPSS16.0 软件对数据进行统计学分析, $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Sox2 在膀胱癌组织的表达

免疫组织化学染色发现,在膀胱癌细胞的细胞核和细胞浆均检测到 Sox2 表达(图 1)。膀胱癌 Sox2 高表达的比例为 68.6% (男/女:18/6),年龄为 (62.33 ± 2.23)岁。另外,低表达组年龄为 (64.45 ± 2.93)岁,与高表达组相比,两组年龄无统计学差异 ($P = 0.59, n = 35$)。进一步发现,高表达组肿瘤大小为 (1.84 ± 0.92)cm,与低表达组 (1.76 ± 1.06)cm 相比两组肿瘤大小无统计学差异 ($P = 0.82, n = 35$)。

免疫荧光实验显示,Sox2 主要定位于膀胱癌组织细胞的细胞浆和细胞核。同时,在膀胱癌细胞株



A: Sox2 阴性表达;B: Sox2 低表达;C: Sox2 高表达。

图 1 免疫组织化学法检测 Sox2 在膀胱癌组织的表达($\times 200$)

Figure 1 Immunohistochemical staining of Sox2 in bladder cancer (magnification, $\times 200$)

T24 的细胞浆和细胞核也同样检测到 Sox2 的表达(图 2)。

2.2 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒的构建和鉴定

Sox2 基因经 PCR 扩增后,插入 pcDNA3.1-EGFP 质粒的多克隆位点(图 3),然后将含 Sox2 重组质粒的感受态细胞 DH5 α 扩增培养并抽提质粒,进行 *Hind* III/*Eco*R I 双酶切。酶切产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳后出现 2 条特异性条带,1 条在 6 000 bp 附近,1 条在 1 000 bp 附近。核酸序列测定结果显示,克隆的外源基因全长 951 bp。Blast 结果进一步表明,该基因序列和 GenBank 中已登记的 Sox2 基因序列 100% 同源,提示 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒构建成功。

2.3 Sox2 在膀胱癌细胞株 T24 的表达

pcDNA3.1-SOX2-EGFP 和 pcDNA3.1-EGFP 质粒转染 72 h,提取 T24 细胞总 RNA,合成 cDNA,以此为模板 PCR 扩增 Sox2 和 β -actin,产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳在大约 1 000 bp 和 250 bp 位置出现两条带(图 4A),表明 Sox2 在 T24 细胞成功转录,且 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 转染组 Sox2 mRNA 水平显著高于 pcDNA3.1-EGFP 转染组 ($P = 0.001, n = 3$,图 4B)。

同时,转染 72 h,提取 T24 细胞总蛋白进行 Western blot 检测,在约 39 000 处见一特异性条带(图 4C),与预期的 Sox2 蛋白大小一致,表明 Sox2 在膀胱癌细胞成功表达,且 pcDNA3.1-SOX2-EGFP

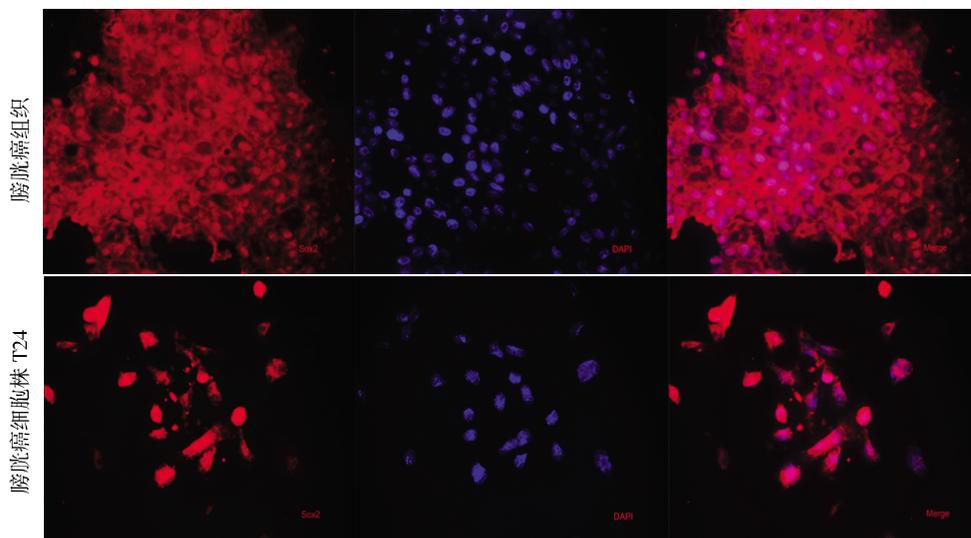


图 2 免疫荧光染色检测 Sox2 在膀胱癌的表达($\times 200$)

Figure 2 Immunofluorescence staining of Sox2 in bladder cancer (magnification, $\times 200$)

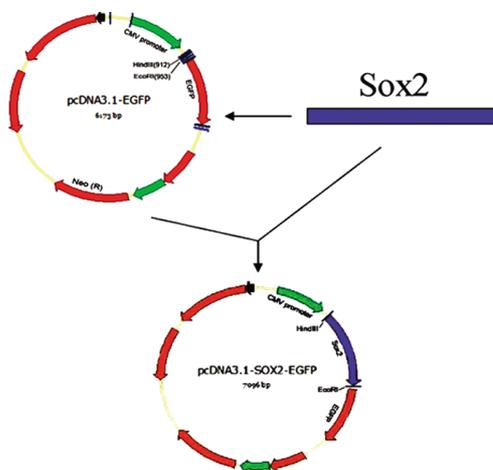


图 3 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒构建

Figure 3 Construction of pcDNA3.1-SOX2-EGFP plasmid

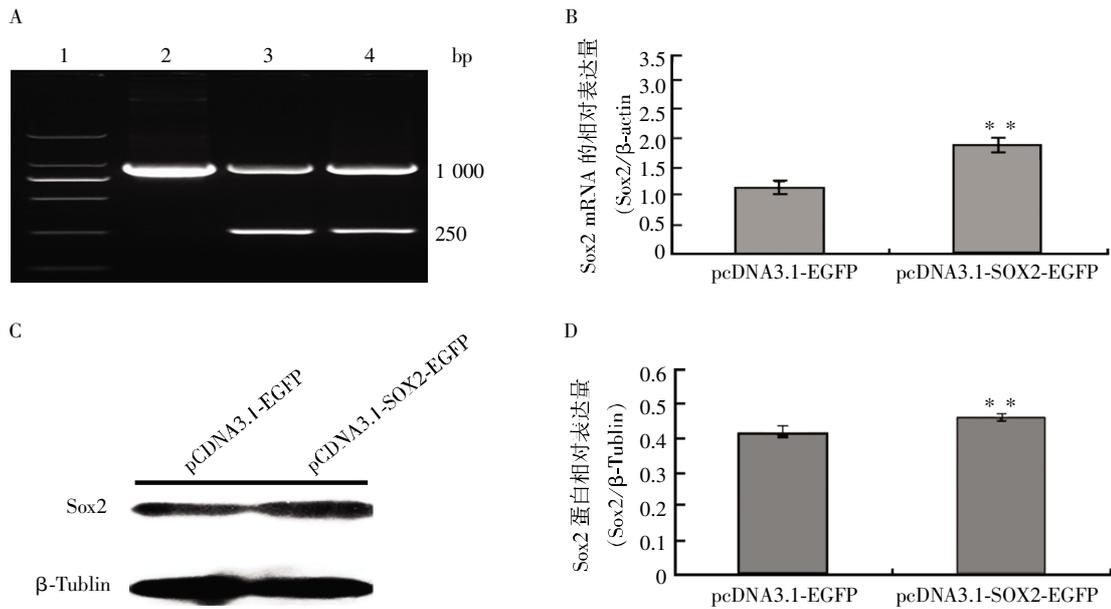
转染组 Sox2 蛋白表达水平显著高于 pcDNA3.1-EGFP 转染组 ($P = 0.002, n = 3$,图 4D)。

2.4 MTT 实验检测 Sox2 对膀胱癌细胞株 T24 增殖的影响

培养膀胱癌细胞株 T24,分别转染 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 和 pcDNA3.1-EGFP 质粒,72 h 后胰酶消化并重悬细胞,接种 96 孔板,分别于 24、48 和 72 h 后酶标仪检测吸光度值。3 次重复实验的结果显示,与 pcDNA3.1-EGFP 转染组相比,pcDNA3.1-SOX2-EGFP 转染组细胞随着时间变化增殖能力显著增强 ($P < 0.05, n = 3$,图 5),提示 Sox2 对膀胱癌细胞株 T24 的生长具有促进作用。

3 讨论

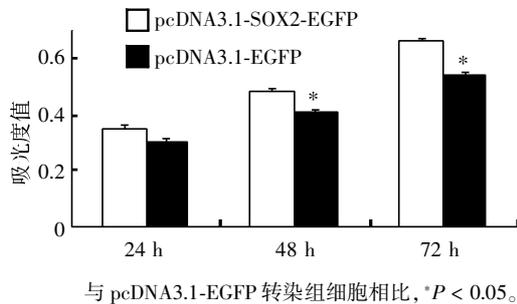
肿瘤干细胞理论认为,肿瘤主要来源于一个小



A:半定量 RT-PCR 检测 Sox2 mRNA 表达 (1:Marker;2:以 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒为模板扩增 Sox2;3:转染 pcDNA3.1-EGFP 质粒组; 4: 转染pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒组);B:Sox2 mRNA 的相对表达;C:Western blot 检测 Sox2 蛋白表达;D:Sox2 蛋白的相对表达。pcDNA3.1-SOX2-EGFP 转染组细胞与 pcDNA3.1-EGFP 转染组细胞相比,* $P < 0.01$ 。

图 4 Sox2 在膀胱癌细胞株 T24 表达检测

Figure 4 Sox2 expression in bladder cancer cell line T24



与 pcDNA3.1-EGFP 转染组细胞相比,* $P < 0.05$ 。

图 5 MTT 检测膀胱癌细胞增殖

Figure 5 MTT assay was used to determine viability of bladder cancer cell line T24

的细胞亚群,这部分细胞具有自我更新、多向分化潜能,被称为肿瘤干细胞^[1-3]。肿瘤干细胞具有耐化放疗等特性。有学者认为,肿瘤干细胞可能是最终有效治疗肿瘤的关键。目前,膀胱癌干细胞的研究尚处于初级阶段,了解肿瘤干细胞相关基因在膀胱癌的表达及作用将有助于了解膀胱癌及膀胱癌干细胞。

研究发现,Sox2 在多种组织肿瘤重新获得表达或表达上调,可能在肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用。研究证实,Sox2 在胚胎癌及早期原位癌均可检测到表达,并可以影响胚胎癌 F9 细胞 FGF-4 启动子活性^[11-12]。另有报道,Sox2 不但可以在鼻咽癌、口咽癌及口腔癌中表达,而且还可以激活鼻咽癌

Sox2 和 OCT4 阳性细胞 Notch1 信号并上调下游分子 Hes1 的表达^[13]。另外,在肺癌、食管癌及胃肠道肿瘤同样检测到 Sox2 的表达。实验研究表明,过表达 Sox2 可以促进肺癌细胞的生长和迁移^[9]。Sox2 还可以影响肺鳞状细胞癌的分化。Sox2 表达上调与肺癌侵袭性转化关系密切^[14-15]。本研究通过免疫组织化学法检测 Sox2 在膀胱癌组织的表达,尚未发现 Sox2 表达与膀胱癌的肿瘤体积、分级等临床病理学参数相关,鉴于本研究纳入组织样本量相对较小,Sox2 表达与膀胱癌分期、分级、肿瘤大小的相关性有待于进一步大样本的研究。本研究还发现,Sox2 在膀胱癌组织及膀胱癌细胞株 T24 均可检测到表达,主要分布于细胞浆和细胞核。以往研究认为,Sox2 是一个转录因子,主要定位于细胞核。而我们的研究发现,Sox2 在膀胱癌细胞的细胞浆和细胞核均有表达,可能在细胞浆同样发挥重要作用。Tung 等^[16]发现,Sox2 可以在细胞浆发挥作用,影响 RNA 的剪切。事实上,Jia 等^[17]在前列腺癌细胞的细胞浆和细胞核已检测到 Sox2 的表达。因此,本文推测 Sox2 不但在细胞核调控其它基因的表达,还可能在细胞浆发挥重要作用,具体有待于下一步研究。

Sox2 是一个重要的干细胞相关基因,在肿瘤干细胞的形成并维持其功能的过程中发挥重要作用。

已有研究发现,Sox2 是一个重要的癌基因,其表达上调可以促进肿瘤细胞的增殖。然而,Otsubo 等^[18]发现 Sox2 过表达后却促进癌细胞凋亡。Sox2 在不同的组织发挥着促增殖或凋亡的不同作用。本研究通过免疫荧光染色证实,在 T24 细胞可以检测到 Sox2 的表达。在此基础上,将携带 Sox2 基因的质粒 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 转染膀胱癌细胞,获得成功表达。通过 MTT 实验初步发现,Sox2 可以促进膀胱癌细胞株 T24 增殖,该结果为下一步研究 Sox2 促进膀胱癌细胞增殖的相关分子机制奠定基础。另外,本研究成功构建的 pcDNA3.1-SOX2-EGFP 质粒携带 GFP 基因,其转染细胞后,表达的绿色荧光可以方便 Sox2 表达检测。同时,该载体携带 Neo 基因,利用 G418 可以方便筛选 Sox2 阳性细胞株,为下一步 Sox2 过表达膀胱癌细胞株 T24 的建立奠定基础。

[参考文献]

- [1] Bomken S, Fiser K, Heidenreich O, et al. Understanding the cancer stem cell[J]. *Br J Cancer*, 2010, 103(4): 439-445
- [2] Chan KS, Volkmer JP, Weissman I. Cancer stem cells in bladder cancer: a revisited and evolving concept [J]. *Curr Opin Urol*, 2010, 20(5): 393-397
- [3] Shackleton M, Quintana E, Fearon ER, et al. Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution [J]. *Cell*, 2009, 138(5): 822-829
- [4] Chan KS, Espinosa I, Chao M, et al. Identification, molecular characterization, clinical prognosis, and therapeutic targeting of human bladder tumor-initiating cells[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2009, 106(33): 14016-14021
- [5] Miyoshi N, Ishii H, Sekimoto M, et al. Properties and identification of cancer stem cells: a changing insight into intractable cancer[J]. *Surg Today*, 2010, 40(7): 608-613
- [6] Sholl LM, Barletta JA, Yeap BY, et al. Sox2 protein expression is an independent poor prognostic indicator in stage I lung adenocarcinoma[J]. *Am J Surg Pathol*, 2010, 34(8): 1193-1198
- [7] Gen Y, Yasui K, Zen Y, et al. SOX2 identified as a target gene for the amplification at 3q26 that is frequently detected in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Cancer Genet Cytogenet*, 2010, 202(2): 82-93
- [8] Wang Q, He W, Lu C, et al. Oct3/4 and Sox2 are significantly associated with an unfavorable clinical outcome in human esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Anti-cancer Res*, 2009, 29(4): 1233-1241
- [9] Hussenet T, Dali S, Exinger J, et al. SOX2 is an oncogene activated by recurrent 3q26.3 amplifications in human lung squamous cell carcinomas [J]. *PLoS One*, 2010, 5(1): e8960
- [10] Ji J, Zheng PS. Expression of Sox2 in human cervical carcinogenesis [J]. *Hum Pathol*, 2010, 41(10): 1438-1447
- [11] Sonne SB, Perrett RM, Nielsen JE, et al. Analysis of SOX2 expression in developing human testis and germ cell neoplasia [J]. *Int J Dev Biol*, 2010, 54(4): 755-760
- [12] Phi JH, Kim JH, Eun KM, et al. Upregulation of SOX2, NOTCH1, and ID1 in supratentorial primitive neuroectodermal tumors: a distinct differentiation pattern from that of medulloblastomas [J]. *J Neurosurg Pediatr*, 2010, 5(6): 608-614
- [13] Mao GE, Morris G, Lu QY, et al. Glutathione S-transferase P1 Ile105Val polymorphism, cigarette smoking and prostate cancer [J]. *Cancer Detect Prev*, 2004, 28(5): 368-374
- [14] Hussenet T, du Manoir S. SOX2 in squamous cell carcinoma: Amplifying a pleiotropic oncogene along carcinogenesis [J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(8): 1480-1486
- [15] McCaughan F, Pole JC, Bankier AT, et al. Progressive 3q amplification consistently targets SOX2 in preinvasive squamous lung cancer [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182(1): 83-91
- [16] Tung CL, Hou PH, Kao YL, et al. SOX2 modulates alternative splicing in transitional cell carcinoma [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 393(3): 420-425
- [17] Jia X, Li X, Xu Y, et al. SOX2 promotes tumorigenesis and increases the anti-apoptotic property of human prostate cancer cell [J]. *J Mol Cell Biol*, 2011, 3(4): 230-238
- [18] Otsubo T, Akiyama Y, Yanagihara K, et al. SOX2 is frequently downregulated in gastric cancers and inhibits cell growth through cell-cycle arrest and apoptosis [J]. *Br J Cancer*, 2008, 98(4): 824-831

[收稿日期] 2012-11-13