

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.22.007

SOX7 基因启动子甲基化水平对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞株体外迁移和侵袭的影响*

王 昂¹ 王 杰² 鄢 文¹ 关小倩³ 廖 明^{4△}

(1 广东省第二人民医院肿瘤一区 广东 广州 510317; 2 广东省第二人民医院放疗科 广东 广州 510317;

3 南方医科大学第三附属医院肿瘤内科 广东 广州 510000; 4 中国人民解放军南部战区总医院胸外科 广东 广州 510010)

摘要 目的:探讨乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中, Y 性别决定区基因 7(SOX7) 基因启动子甲基化水平对细胞的体外迁移和侵袭的影响。**方法:**脂质体转染 pcDNA3.0-DNA 甲基转移酶 3a(DNMT3a) 质粒至 MDA-MB-231 细胞中, 并于 24h、48h 及 72h 后, 采用蛋白质免疫印迹实验(WB)检测细胞内 DNMT3a 蛋白表达水平; 甲基化特异性定量 PCR(Q-MSP)检测 DNMT3a 处理组、5-aza-C 处理组及对照(Control)组 MDA-MB-231 细胞中的 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平; 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)及 WB 实验检测各组 MDA-MB-231 细胞中的 SOX7 mRNA 和蛋白表达水平; 细胞划痕实验及细胞侵袭实验检测各组 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力。**结果:**pcDNA3.0-DNMT3a 质粒转染 MDA-MB-231 细胞 24h 时, 细胞内的 DNMT3a 蛋白表达水平最高。DNMT3a 能够显著提高 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平, 而 5-aza-C 则抑制了 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平($P<0.05$)。与 Control 组相比, DNMT3a 处理组的 MDA-MB-231 细胞中, SOX7 的 mRNA 及蛋白表达水平均明显下降, 而 5-aza-C 处理组 SOX7 的 mRNA 及蛋白表达水平均明显增加($P<0.05$)。与 Control 组相比, DNMT3a 处理组的 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力均显著增强($P<0.05$), 而 5-aza-C 处理组的 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力变化不大($P>0.05$)。**结论:**在恶性肿瘤中, SOX7 低表达受其基因启动子高甲基化调节, 且乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中低表达的 SOX7 能够影响细胞的外迁移和侵袭能力。

关键词:SOX7; 甲基化水平; MDA-MB-231; 迁移; 侵袭**中图分类号:**R-33; R737.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)22-4238-05

Effect of SOX7 Promoter Methylation Level on Migration and Invasion of Breast Cancer MDA-MB-231 Cells Line in Vitro*

WANG Ang¹, WANG Jie², YAN Wen¹, GUAN Xiao-qian³, LIAO Ming^{4△}

(1 The First Ward of Oncology, Guangdong No.2 Provincial People's Hospital, Guangzhou, Guangdong, 510317, China;

2 Department of Radiotherapy, Guangdong No.2 Provincial People's Hospital, Guangzhou, Guangdong, 510317, China;

3 Department of Oncology, The Third Affiliated Hospital of Southern Medical University, Guangzhou, Guangdong, 510000, China;

4 Department of Thoracic Surgery, General Hospital of Southern War Zone of Chinese People's Liberation Army, Guangzhou, Guangdong, 510010, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of promoter methylation level of sex determining region Y-box 7 (SOX7) gene on cells migration and invasion in vitro in breast cancer MDA-MB-231 cells. **Methods:** Liposome transfection of pcDNA3.0-DNA methylation transferase 3a (DNMT3a) plasmid into MDA-MB-231 cells, after 24h, 48h and 72h, the expression of DNMT3a protein in cells was detected by Western blotting (WB). DNA methylation level of SOX7 gene promoter in MDA-MB-231 cells in DNMT3a treatment group, 5-aza-C treatment group and control groups were detected by quantitative methylation specific PCR (Q-MSP). The expression of SOX7 in MDA-MB-231 cells were detected by real-time quantitative PCR (qRT-PCR) and WB assay. Detection of migration and invasion energy of MDA-MB-231 cells by cell scratch test and cell invasion test in each groups. **Results:** The highest expression level of DNMT3a protein was found in MDA-MB-231 cells transfected with pcDNA3.0-DNMT3a plasmid for 24 hours. DNMT3a significantly increased the DNA methylation level of SOX7 promoter, while 5-aza-C inhibited the DNA methylation level of SOX7 promoter ($P<0.05$). Compared with the control group, the expression of SOX7 in MDA-MB-231 cells treated with DNMT3a decreased significantly, while the expression of SOX7 in 5-aza-C group increased significantly ($P<0.05$). Compared with the control group, the migration and invasion ability of MDA-MB-231 cells treated with DNMT3a were significantly enhanced ($P<0.05$), while the migration and invasion ability of MDA-MB-231 cells treated with 5-aza-C did not change significantly ($P>0.05$). **Conclusion:** In malignant tumors, the low expression of SOX7 is regulated by the hypermethylation of SOX7 promoter, and the silencing of SOX7

* 基金项目:广东省自然科学基金项目(2018A0303130050)

作者简介:王昂(1968-),男,本科,副主任医师,研究方向:肿瘤基础与临床,E-mail: vip3dmed@163.com

△ 通讯作者:廖明(1984-),男,本科,主治医师,研究方向:肺癌基础与临床,E-mail: 1803391046@qq.com

(收稿日期:2019-05-01 接受日期:2019-05-24)

significantly influence the migration and invasion of breast cancer MDA-MB-231 cells line in vitro.

Key words: SOX7; Methylation level; MDA-MB-231; Migration; Invasion

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)22-4238-05

前言

乳腺癌是目前女性最普遍存在的恶性肿瘤之一,严重影响了女性的身体健康和生活水平质量,近年来,我国乳腺癌的发病率呈逐年上升的趋势^[1,2]。Y性别决定区基因7(sex determining region Y-box 7, SOX7)是Y性别决定区基因家族F亚家族的成员之一^[3-5],近年来的研究表明,SOX7在多种恶性肿瘤中低表达,如胃癌及急性白血病等,并且与肿瘤的恶性进展有着显著的相关性^[6,7],但是导致SOX7在恶性肿瘤中低表达的机制,尚未完全阐明。表观遗传学的主要调节机制之一就是基因启动子DNA甲基化修饰,并参与了基因的表达及调控。DNA甲基转移酶(DNA methylation transferase, DNMT)在DNA甲基化中起催化作用,其中DNMT3a主要参与催化DNA从头甲基化,且DNA甲基化主要发生于CpG二核苷酸的胞嘧啶残基(CpG岛)^[8,9]。本研究将探讨在乳腺癌MDA-MB-231细胞中,SOX7基因的表达是否受其基因启动子DNA甲基化的调节,进一步验证SOX7在MDA-MB-231细胞中的低表达是否能够促进细胞的体外迁移和侵袭能力,从而参与乳腺癌细胞的恶性进展。

1 材料与方 法

1.1 细胞培养

MDA-MB-231(中国上海科学院细胞库),即乳腺癌细胞,在37℃、5%CO₂条件下的DMEM培养基中(含10×10⁴U/L青

霉素,10% FBS,100 mg/L链霉素)培养,3-4d为一个传代周期,传代比例1:3;提取第4-10代的细胞进行实验。

1.2 构建 DNMT3a 真核表达质粒

从GeneBank中调取DNMT3a基因的编码区碱基序列(NM_001320892.1),PCR扩增,酶切后插入pcDNA3.0真核表达载体,构建pcDNA3.0-DNMT3a真核表达载体(Control组)。采用脂质体Lipofectamine 3000(美国Thermo公司)将pcDNA3.0-DNMT3a质粒转染至乳腺癌MDA-MB-231细胞中,并采用WB检测不同时间点(24h、48h、72h)的转染效率,选择转染效率最高的时间点细胞,进行后续实验(DNMT3a处理组)。5-aza-C是DNMT抑制剂,能够细胞内的DNMT活性,预处理乳腺癌MDA-MB-231细胞24小时后,进行后续实验(5-aza-C处理组)。

1.3 实时荧光定量 PCR(real-time quantitative PCR, qRT-PCR)

经胰酶消化收集细胞,加入1 mL Trizol(美国Invitrogen公司),按照RNA提取试剂盒(美国Invitrogen公司)的说明书操作,提取细胞总RNA。RNA浓度及纯度使用紫外分光光度计进行检测,其购自美国Thermo公司,逆转录后将cDNA产物置于-20℃保存备用。SOX7及内参β-Actin的qRT-PCR引物序列见表1。定量PCR扩增仪(美国ABI公司,ABI 7500)检测SOX7 mRNA表达水平。qRT-PCR的扩增体系为10 μL,反应条件:50℃,2 min;95℃,10 min;95℃,15s;60℃,1 min,循环35次。SOX7 mRNA的相对表达量采用2^{-ΔΔCt}方法表示。

表1 qRT-PCR及Q-MSP引物序列

Table 1 Primer sequence of qRT-PCR and Q-MSP

Gene		Forward sequence 5'-3'	Reverse sequence 5'-3'
SOX7	qRT-PCR	CAAGATGCTGGGAAAGTC	CCGGTACTTGTAGTTGGGGTAGT
Actin	qRT-PCR	TCATGAAGTGTGACGTGGACAT	CTCAGGAGGAGCAATGATCTTG
SOX7 promoter	Q-MSP	TCGCGGGGTTTCGTTTTTCGC	GACGTTTTTCATTCATACCGC
Actin	Q-MSP	TGGTGATGGAGGAGGTTTAGTAAG	AACCAATAAAACCTACTCCTCCCTTAA

1.4 蛋白质免疫印迹实验(Western blotting, WB)

取2-5×10⁵个细胞加入RIPA蛋白裂解液(上海碧云天生物技术有限公司),提取细胞全蛋白,采用BCA蛋白浓度定量试剂盒(北京天根生化科技有限公司)测定蛋白浓度。将蛋白分离后转移到PVDF膜上,采用5%的脱脂奶粉在37℃条件下震荡封闭1h,去除奶粉,加入稀释后的兔抗人SOX7多克隆抗体(sc-20093,美国Santa公司,1:1000稀释),兔抗人DNMT3a多克隆抗体(1:1000稀释,sc-20703,美国Santa公司),兔抗人β-Actin单克隆抗体(1:3000稀释,北京博奥森生物技术公司),4℃过夜。TBS-T洗膜3次后,加入相应的HRP标记的羊抗兔二抗(1:10000稀释,上海英基生物科技有限公司),37℃孵育1h,滴加ECL发光液进行化学发光显影,观察蛋白

条,获取图像并进行灰度分析(ImageLab软件)。实验反复3次后统计分析。

1.5 甲基化特异性定量 PCR (quantitative methylation specific PCR, Q-MSP)

收集细胞,DNA提取试剂盒(美国AXYGEN公司)提取细胞基因组DNA。采用DNA甲基化试剂盒(德国QIAGEN公司)对提取的基因组DNA进行重硫酸氢盐修饰及纯化。设计SOX7基因启动子DNA的甲基化特异性引物,采用β-Actin基因中不含甲基化位点(CpG岛)的引物校正经重硫酸氢盐修饰的DNA含量,引物序列(南京金斯瑞生物科技公司),见表1,对修饰纯化后的基因组DNA进行Q-MSP实验,反应条件如下:94℃,45s;59℃,30s;72℃,45s;进行35个循环;72℃,5

min。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法表示相对表达量,实验反复 3 次后统计分析。

1.6 细胞划痕实验

取对数生长期的 $5-7 \times 10^5$ 个细胞,接种于 6 孔板中,24h 后,细胞汇合度 >90%,将移液器垂直于 6 孔板底部,均匀地在每个孔中划 3 条平行线,洗涤 3 次后置入 DMEM 培养基,37℃,5%CO₂ 培养箱中进行培养,分别于 0h、16h 时,显微镜(CX31,日本 Olympus 公司)下拍照,并计算细胞间距离。实验反复 3 次后统计分析。

1.7 细胞侵袭实验

在 Transwell 小室的聚碳酸酯膜上加入 4.0 μg/μL Matrigel 基质胶 50 μL,置于 24 孔板中,37℃,5%CO₂ 培养箱中过夜,加入 500 μL 10% FBS 的 DMEM 培养液,Transwell 小室中加入 150 μL 细胞悬液,48h 后进行染色,常温搁置 5 min 后采用显微镜(CX31,日本 Olympus 公司)下观察,每孔随机选取 3 个视野进行拍照,随后用 100 μL 33%醋酸脱色,将结晶紫完全洗脱,洗脱液于酶标仪(美国 BioTek 公司)570 nm 测定吸光度值。实验反复 3 次后统计分析。

1.8 统计学方法

采用 SPSS23.0 进行数据分析,采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示计量资料,实施 t 检验,多组间对比及不同时间点对比采用单因素方差予以分析,检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 DNMT3a 及 5-aza-C 对 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平影响

在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中,脂质体转染 DNMT3a 真核表达载体 pcDNA3.0-DNMT3a 后,细胞内的 DNMT3a 蛋白表达水平显著升高,其表达量分别为:0h (1.18 ± 0.16),24h (5.33 ± 0.42),48h (3.34 ± 0.18),72h (3.86 ± 0.19),转染后 24h、48h 和 72h 与 0h 比较,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1、图 2。采用 DNMT 抑制剂 5-aza-C 处理 MDA-MB-231 细胞,Q-MSP 方法检测细胞内 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平。实验结果显示,DNMT3a 能够显著提高 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平 [(1.39 ± 0.07) vs (1.00 ± 0.08) , $P < 0.05$],而 5-aza-C 则抑制了 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平 [(0.52 ± 0.16) vs (1.00 ± 0.08) , $P < 0.05$],见图 3。

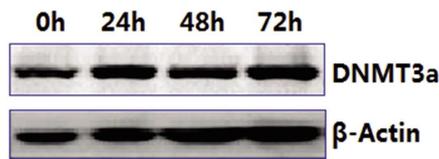


图 1 细胞内 DNMT3a 蛋白条带图

Fig. 1 Protein Band Map of DNMT3a in cells

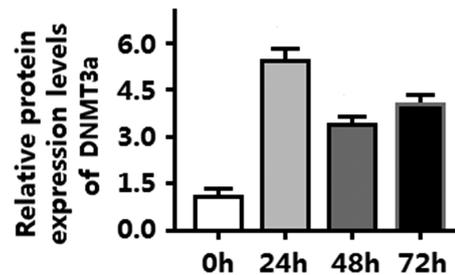


图 2 DNMT3a 蛋白相对表达水平

Fig. 2 Relative expression level of DNMT3a protein

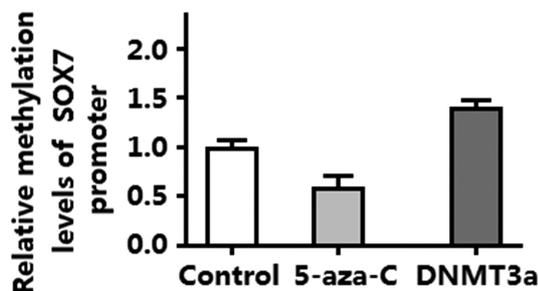


图 3 细胞内 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平

Fig. 3 DNA Methylation Level of SOX7 Gene Promoter in Cells

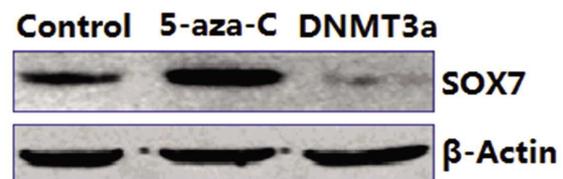


图 4 乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 SOX7 蛋白条带图

Fig. 4 SOX7 protein band map in breast cancer MDA-MB-231 cells

表 2 乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 SOX7 mRNA 及蛋白表达水平

Table 2 SOX7 mRNA and Protein Expression in MDA-MB-231 Cells of Breast Cancer

Groups	n	SOX7 protein	SOX7 mRNA
Control group	6	1.00 ± 0.03	1.02 ± 0.04
5-aza-C group	6	4.21 ± 0.24^a	3.60 ± 0.39^a
DNMT3a group	6	0.28 ± 0.04^{ab}	0.22 ± 0.05^{ab}
F	-	1302.184	355.476
P	-	0.000	0.000

Note: Comparison with control group, ^a $P < 0.05$; Comparison with 5-aza-C group, ^b $P < 0.05$.

2.2 乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 SOX7 mRNA 及蛋白表达水平

与 Control 组相比,DNMT3a 处理组的 MDA-MB-231 细胞中,SOX7 的 mRNA 及蛋白表达水平均明显下降,而 5-aza-C

处理组 SOX7 的 mRNA 及蛋白表达水平均明显增加 ($P < 0.05$),见图 4、表 2。

2.3 SOX7 低表达能够促进 MDA-MB-231 细胞侵袭与转移

与 Control 组相比, DNMT3a 处理组的 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力均显著增强 ($P < 0.05$), 而 5-aza-C 处理组的 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力变化不大 ($P > 0.05$), 见表 3、图 5。

表 3 乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力
Table 3 Migration and invasiveness of breast cancer MDA-MB-231 cells

Groups	n	Cell migration(% of 0h, at 16h)	Cell invasiveness(Absorption/570 nm, at 48h)
Control group	6	42.26± 0.60	0.28± 0.02
5-aza-C group	6	50.02± 1.40	0.26± 0.02
DNMT3a group	6	64.73± 1.70 ^{ab}	0.66± 0.04 ^{ab}
F	-	511.423	381.445
P	-	0.000	0.000

Note: Comparison with control group, ^a $P < 0.05$; Comparison with 5-aza-C group, ^b $P < 0.05$.

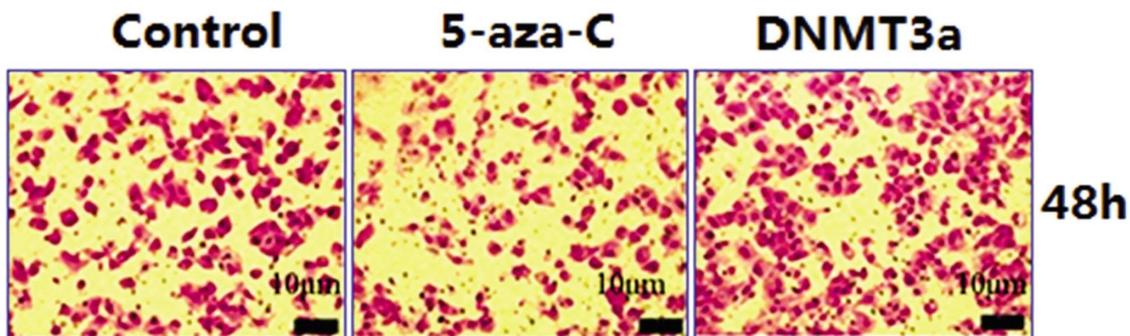


图 5 乳腺癌 MDA-MB-231 细胞电镜图
Fig. 5 Electron microscopy of breast cancer MDA-MB-231 cells

3 讨论

SOX7 基因位于 8p23.1, 蛋白编码产物 SOX7 是一类重要的转录调控因子, 含有 377 个氨基酸, 与 SOX17 和 SOX18 同属于 SOX 基因的 F 亚家族^[10-12], SOX7 能够特异性地识别 DNA 序列上的 AACAAAT, 调节下游靶基因的表达, 如 GATA-4 和 GATA-6 等^[13,14]。相关研究证实, 在多种恶性肿瘤中, SOX7 具有抑癌基因的功能, 并且 SOX7 的低表达往往与肿瘤患者的不良预后相关^[15-18]; 如 Wang C 等^[19]的研究表明, SOX7 在原发性肝癌的肿瘤形成过程中扮演着抑癌基因的角色, SOX7 有望成为原发性肝癌的新治疗靶点, 而在前列腺癌^[20]和肺癌^[21]中, SOX7 可作为独立的评价患者预后的指标之一。近年来, 在乳腺癌及骨髓增生异常综合征中, SOX7 基因启动子甲基化水平变化与患者预后之间的关系, 受到越来越多的关注^[22,23]。DNA 甲基化是在 DNMT 的催化作用下进行的, DNMT 主要有 3 种, 即 DNMT3a、DNMT3b 和 DNMT1, 其中 DNMT3a 和 DNMT3b 在 DNA 甲基化的重头合成过程中发挥作用, DNMT1 则参与了 DNA 甲基化状态的维持^[24-28]。

本研究中首先探讨了在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中, SOX7 基因的表达是否受其基因启动子 DNA 甲基化修饰的调控。采用脂质体转染方法, 在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中转染 DNMT3a 真核表达载体 pcDNA3.0-DNMT3a 后, 结果发现在转染 24h 时, 细胞内的 DNMT3a 蛋白表达水平最高, 选择转染后 24h 进行后续实验; 5-aza-C 是 DNMT 抑制剂, 能够抑制细胞内 DNMT 的甲基转移酶活性^[29,30]。通过在 MDA-MB-231 细胞内

增加 DNMT3a 蛋白表达量或者 5-aza-C 预处理(24h)抑制细胞内 DNMT 甲基转移酶活性, 从而改变细胞内基因组 DNA 甲基化水平, Q-MSP 实验结果显示, DNMT3a 能够显著升高 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平, 而 5-aza-C 则明显降低了 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平。各组 MDA-MB-231 细胞中 SOX7 mRNA 及蛋白表达水平结果表明, 在 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平升高时, 细胞内的 SOX7 mRNA 及蛋白表达明显减少, 而在 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平降低时, 细胞内的 SOX7 mRNA 及蛋白表达则显著增加了, 以上实验结果说明, 在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中, SOX7 基因表达是受其基因启动子 DNA 甲基化水平的调控。那么, 在乳腺癌中, SOX7 是否发挥抑癌基因的作用, SOX7 基因的沉默或者表达下降, 是否能够促进乳腺癌的恶性进展, 如细胞迁移和转移能力。在上述实验的基础上, 采用细胞划痕实验及细胞侵袭实验检测各组 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力, 实验结果表明, SOX7 的低表达确实促进了乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的体外迁移和侵袭, SOX7 参与了乳腺癌的恶性进展。

综上所述, 在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中, SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平能够负性调节细胞内的 SOX7 基因的转录表达, 并且通过在 MDA-MB-231 细胞内增加 DNMT3a 蛋白表达, 升高 SOX7 基因启动子 DNA 甲基化水平, 从而降低 SOX7 的转录表达后, MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力明显增强, 说明 SOX7 的低表达参与并且促进了乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的恶性进展。

参考文献(References)

- [1] Xu AJ, DeSelm CJ, Ho AY, et al. Overall Survival of Breast Cancer Patients With Locoregional Failures Involving Internal Mammary Nodes[J]. *Adv Radiat Oncol*, 2019, 4(3): 447-452
- [2] 何明艳,朱碧琪,钟媛,等.2005-2013年中国女性乳腺癌发病及死亡趋势分析[J].*中华疾病控制杂志*, 2019, 23(1): 10-14
- [3] Peng W, Guo L, Tang R, et al. Sox7 negatively regulates prostate-specific membrane antigen (PSMA) expression through PSMA-enhancer[J]. *Prostate*, 2019, 79(4): 370-378
- [4] Qin Y, Sun B, Zhang F, et al. Sox7 is involved in antibody-dependent endothelial cell activation and renal allograft injury via the Jagged1-Notch1 pathway[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 375(2): 20-27
- [5] Xu ZJ, Tang CY, Zhou JD, et al. SOX7 methylation is an independent prognostic factor in myelodysplastic syndromes [J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(2): 322-328
- [6] 李爱峰,印海林,蔺梅,等.华蟾素片联合 SOX 方案治疗晚期胃癌的临床研究[J].*现代药物与临床*, 2019, 34(3): 714-718
- [7] 文明.SOX7 与造血系统发育及血液系统恶性肿瘤的关系[J].*中国实验血液学杂志*, 2016, 24(1): 233-236
- [8] Ando M, Saito Y, Xu G, et al. Chromatin dysregulation and DNA methylation at transcription start sites associated with transcriptional repression in cancers[J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 2188
- [9] 李亚林,刘冉录.DNA 甲基转移酶在前列腺癌中的表达及其对体外细胞增殖及侵袭能力的影响 [J]. *基础医学与临床*, 2019, 39(5): 668-672
- [10] 穆寅东,赵天书,谢清.脑胶质瘤 SOX7 基因的甲基化状态及临床意义[J].*中国临床神经外科杂志*, 2019, 24(2): 90-92
- [11] Li X, Giri V, Cui Y, et al. LncRNA FTX inhibits hippocampal neuron apoptosis by regulating miR-21-5p/SOX7 axis in a rat model of temporal lobe epilepsy[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 512(1): 79-86
- [12] Chen D, Li J, Li S, et al. miR-184 promotes cell proliferation in tongue squamous cell carcinoma by targeting SOX7 [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(2): 2221-2228
- [13] Afouda BA, Lynch AT, de Paiva Alves E, et al. Genome-wide transcriptomics analysis identifies sox7 and sox18 as specifically regulated by gata4 in cardiomyogenesis [J]. *Dev Biol*, 2018, 434(1): 108-120
- [14] Gnatenko DA, Kopantzev EP, Sverdllov ED. Variable Effects of Growth Factors on Developmental Gene Expression in Pancreatic Cancer Cells[J]. *Dokl Biochem Biophys*, 2018, 481(1): 217-218
- [15] 寇俊婕,严紫乔,刘惠铭,等.SOX7--一种新型抑癌基因[J].*国际遗传学杂志*, 2015, 38(2): 83-87
- [16] 李元元,朱淑霞.SOX 家族在脑胶质瘤中的表达及作用[J].*国际肿瘤学杂志*, 2017, 44(8): 601-603
- [17] Oh KY, Hong KO, Huh YS, et al. Decreased expression of SOX7 induces cell proliferation and invasion and correlates with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma [J]. *J Oral Pathol Med*, 2017, 46(9): 752-758
- [18] 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
- [19] Wang C, Guo Y, Wang J, et al. The suppressive role of SOX7 in hepatocarcinogenesis[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97433
- [20] 刘涛,张璐,张凡.前列腺癌组织 SOX7、SOX9 表达及其诊断和预后评估价值[J].*解放军医学院学报*, 2018, 39(4): 294-298
- [21] Peng B, Li C, Cai P, et al. Knockdown of miR 935 increases paclitaxel sensitivity via regulation of SOX7 in non-small cell lung cancer[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(3): 3397-3402
- [22] Zeng H, Wang J, Chen T, et al. Downregulation of long non-coding RNA Opa interacting protein 5-antisense RNA 1 inhibits breast cancer progression by targeting sex-determining region Y-box 2 by microRNA-129-5p upregulation[J]. *Cancer Sci*, 2019, 110(1): 289-302
- [23] 李爽,刘林珠,赵晓丽,等.SOX7 基因甲基化在骨髓增生异常综合征患者中的预后价值 [J]. *华南国防医学杂志*, 2013, 27(12):886-890, 893
- [24] 赵琦,相绿竹,彭瑞,等.DNA 及 RNA 甲基化检测在肿瘤诊断中的研究进展[J].*国际检验医学杂志*, 2019, 40(11): 1356-1360
- [25] 华艳珊,奎翔,易晓佳,等.乳腺癌 DNA 甲基化临床研究进展[J].*医学综述*, 2019, 25(4): 671-675
- [26] Magzoub MM, Prunello M, Brennan K, et al.The impact of DNA methylation on the cancer proteome [J]. *PLoS Comput Biol*, 2019, 15(7): e1007245
- [27] Armstrong DA, Chen Y, Dessaint JA, et al. DNA Methylation Changes in Regional Lung Macrophages Are Associated with Metabolic Differences[J]. *Immunohorizons*, 2019, 3(7): 274-281
- [28] 刘洁,彭微,龚宗跃,等.对顺铂耐药胃癌细胞的 DNA 甲基化表型标志物初筛[J].*现代肿瘤医学*, 2019, 27(5): 754-756
- [29] 张博,刘文洲,孙宇,等.甲基化抑制剂 5-Aza-CdR 对肺癌 A549 细胞株 DNMT1 及 c-myc、MKi-67、p53 基因表达的影响 [J].*广东医学*, 2016, 37(2): 194-196
- [30] Rawson JM, Daly MB, Xie J, et al. 5-Azacytidine Enhances the Mutagenesis of HIV-1 by Reduction to 5-Aza-2'-Deoxycytidine [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2016, 60(4): 2318-2325