

· 论 著 ·

抑癌基因 LKB1 对肺癌细胞血管内皮生长因子的表达调控

臧远胜¹, 夏天保², 李 强^{1*}

(1. 第二军医大学长海医院呼吸内科, 上海 200433; 2. 解放军第 306 医院皮肤科, 北京 100101)

[摘要] **目的:**了解抑癌基因 LKB1 对肺癌细胞 A549 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的调控作用。**方法:**应用巢式 PCR 方法扩增 LKB1 基因编码区, 构建 LKB1 的真核表达载体并以脂质体法转染 A549 细胞, G418 筛选稳定表达细胞株; RT-PCR 及 Western 印迹法检测 LKB1、SP1 和 VEGF 在 A549 细胞中的表达变化; siRNA 技术干扰转录因子 SP1 的表达, RT-PCR 及 Western 印迹法检测 SP1 和 VEGF 的表达变化。**结果:**外源性 LKB1 在 A549 细胞中稳定表达; LKB1 蛋白下调 SP1 和 VEGF 的表达; SP1 可被特异性 siRNA 分子有效抑制, siRNA 介导的 SP1 沉默伴随 VEGF 表达下调。**结论:**LKB1 可能通过负调控转录因子 SP1 的表达从而调控 VEGF 的表达。

[关键词] 肺肿瘤; LKB1; A549 细胞; 血管内皮生长因子类; 转录因子, SP1; RNA, 小分子干扰

[中图分类号] R 734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)06-0624-05

Regulatory effect of LKB1 gene on expression of vascular endothelial growth factor in lung cancer cells

ZANG Yuan-sheng¹, XIA Tian-bao², LI Qiang^{1*} (1. Department of Respiratory Medicine, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China; 2. Department of Dermatology, No. 306 Hospital of PLA, Beijing 100101)

[ABSTRACT] **Objective:** To investigate the regulatory role of LKB1 gene on expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) in lung cancer cell line A549. **Methods:** DNA fragment encoding LKB1 protein was amplified by Nest-PCR from human fetal brain cDNA library and was sub-cloned into the eukaryotic expression vector pcDNA3.1. The recombinant vector was transferred into A549 cells by Lipofectamine and screened by G418. RT-PCR and Western blot were used to study the expression of LKB1, SP1 and VEGF in A549 cells. Transcription factor SP1 was silenced by small interference RNA (siRNA); RT-PCR and Western blot were applied to examine the changes of SP1 and VEGF gene. **Results:** DNA sequencing analysis revealed that the open reading frame of LKB1 gene was successfully cloned into the expression vector. Stable cell line of A549 expressing exogenous LKB1 was constructed. LKB1 remarkably suppressed SP1 and VEGF expression. SiRNA targeting SP1 effectively decreased the expression of SP1 and SP1 silencing caused remarkable down-regulation of VEGF expression. **Conclusion:** LKB1 can negatively regulate the expression of VEGF by negatively regulate the expression of transcription factor SP1.

[KEY WORDS] lung neoplasms; LKB1; A549 cell; vascular endothelial growth factors; transcription factor, SP1; RNA, small interfering

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(6): 624-628]

实体肿瘤的生长与转移有赖于新生血管的形成, 新生血管为肿瘤细胞提供氧气和营养物质, 同时亦为肿瘤的血行转移提供了通道^[1]。肿瘤细胞通过分泌血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等促血管生成因子, 诱导血管生成。在众多的促血管形成因子中, 作用最强且研究最多的是 VEGF^[2]。VEGF 高表达的肺癌患者在肿瘤早期即可出现血行播散, 提示 VEGF 在肺癌的发展过程中发挥着重要作用^[3-4]。

LKB1 是从黑色素斑-胃肠多发性息肉综合征(Peutz-Jeghers syndrome, PJS)患者中鉴定的抑癌基因^[5-6]。动物实验发现 LKB1 基因缺失后, 小鼠胚胎血管发育缺陷, 胚胎成纤维细胞高表达 VEGF, 且 VEGF 的高表达与缺氧诱导因子(HIF)无关, 该研究提示 LKB1 基因可能通过某种机制调控 VEGF

的表达^[7]。而另一项研究发现在原发性肺癌的脑转移标本中, 有 58% 的患者出现 LKB1 基因的杂合型缺失^[8]。LKB1 基因缺失与肺癌的血行转移是否有必然的联系, 值得深入研究。我们的前期利用 Northern 杂交检测 LKB1 基因在多种肿瘤细胞株中的表达情况, 发现 LKB1 基因在肺腺癌细胞 A549 和宫颈癌细胞 HeLa 中缺失^[9]。为了解 LKB1 基因对 VEGF 的调控机制, 本研究以肺腺癌细胞 A549 为研究对象, 构建 LKB1 基因的获得性表达模型, 初步探讨其可能的作用机制。

[基金项目] 国家自然科学基金(30270590)。Supported by National Natural Science Foundation of China(30270590)。

[作者简介] 臧远胜, 博士生。E-mail: doctorzangys@163.com

* Corresponding author. E-mail: liqres@sh163.net

1 材料和方法

1.1 材料 羊抗人 LKB1 多克隆抗体(sc-8185)、兔抗人 SP1 特异性抗体(PEP2)、兔抗人 VEGF 多克隆抗体、ECL 试剂盒购自 Santa Cruz 公司;鼠抗人 actin (sc-1616)单克隆抗体、鼠抗羊和兔抗鼠 IgG/HRP 抗体购自北京中杉金桥公司;硝酸纤维素膜购自 Amersham 公司;预染蛋白相对分子质量标准购自 New England Biolabs 公司;含 LKB1 基因开发阅读框编码序列的 pcDNA-LKB1 质粒由本实验室构建保存;蛋白裂解液购自 PIERCE 公司;反转录试剂盒、G418、TRIzol、LipofectAmine 2000 转染试剂购自 Invitrogen 公司;引物合成及序列测定由北京奥科生物公司完成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人肺腺癌细胞 A549 由本实验室保存,采用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液,于 37℃、5% CO₂ 孵箱中培养。

1.2.2 LKB1 基因的克隆 因 LKB1 基因编码起始区序列 GC 含量较高,PCR 不易成功,本实验采用了巢式 PCR 技术,以人胎脑 cDNA 文库为模板,先以初级引物扩增涵盖开放阅读框序列的长片段(1 921 bp),再以此 PCR 产物为模板,以次级引物行第 2 次 PCR,获得 LKB1 基因的编码区序列(1 346 bp)。相应引物序列及 PCR 反应条件为:初级上游引物:5'-TGG AGA AGG GAA GTC GGA ACA-3',初级下游引物:5'-GGG CTG CGA AGT CAA CAA-3',94.0℃变性 5 min 后进入 35 个循环(94.0℃变性 10 s,56.0℃退火 10 s,72.0℃延伸 90 s);72.0℃保温 7 min,4.0℃保存。次级上游引物:5'-ACT CGA GAC CAT GGA GGT GGT GGA CCC GCA G-3'(下划线部位为 *Xho*I 酶切位点),次级下游引物:5'-GCG AAG CTT GGC TGC TGC TTG CAG GCC GAC AG-3'(下划线部位为 *Hind*III 酶切位点),94.0℃变性 5 min 后进入 20 个 PCR 循环(94.0℃ 10 s,60.0℃ 10 s,72.0℃ 90 s);72.0℃ 7 min,4.0℃保存。1.5% 琼脂糖电泳鉴定 PCR 扩增产物。

1.2.3 LKB1 真核表达载体的构建 PCR 产物纯化后用 *Xho*I 和 *Hind*III 限制性内切酶双切,同时双酶切 pcDNA3.1 质粒,酶切产物纯化后行连接反应,转化铺板,菌落 PCR 鉴定阳性克隆后,行 DNA 序列测序验证。DNA 序列测定无误后,将质粒命名为 pcDNA-LKB1。按照质粒纯化试剂盒的说明书纯化 pcDNA-LKB1 和作为对照的空载体质粒,用于

基因转染。

1.2.4 LKB1 基因转染 A549 细胞 按照 LipofectAmine 2000 说明书进行:生长良好的 A549 细胞在转染前 1 d 接种于培养瓶中,使其密度在转染时达 90%~95%;无血清、无抗生素 DMEM 分别稀释质粒和 LipofectAmine 2000;放置 5 min 后将 LipofectAmine 2000 与质粒稀释液轻柔混合,放置 20 min;将混合物分别加入 A549 细胞中,37℃孵育 12 h,更换完全 DMEM 培养基继续培养,24 h 后以 1:5 的比例传代,用含 1.5 mg/ml 的 G418 DMEM 培养基培养,3 周后抗性克隆形成,挑取单克隆,扩大培养,分别提取总蛋白和 RNA,验证 LKB1 基因在 A549 细胞中的表达。

1.2.5 细胞 RNA 的提取和 RT-PCR 采用 TRIzol 一步法提取细胞的总 RNA,逆转录参阅试剂盒说明书进行。利用半定量 PCR 方法检测 LKB1 基因对 VEGF 和 SP1 基因的影响。VEGF 蛋白有 VEGF¹²¹、VEGF¹⁶⁵、VEGF¹⁸⁹ 和 VEGF²⁰⁶ 4 种剪接形式,多数组织以 VEGF¹²¹ 和 VEGF¹⁶⁵ 表达为主。本研究的引物可同时检测 VEGF¹⁶⁵ 和 VEGF¹²¹ 两个转录本的变化^[10]。我们优化了各基因的 PCR 循环参数,在此条件下,各基因产物均未到平台期,能反映基因模板的最初含量。以持家基因 β -actin 为内参照。相应引物序列及 PCR 反应条件为:SP1 上游引物:5'-AAC CCA CAA GCC CAA ACA ATC ACC-3', SP1 下游引物:5'-CCC CGA GCC CCT TCC TTC ACT-3', 94.0℃变性 5 min 后进入 28 个循环(94.0℃变性 10 s,60.0℃退火 10 s,72.0℃延伸 30 s),产物长度 428 bp;VEGF 上游引物:5'-TGG ATC CAT GAA CTT TCT GCT GTC-3', VEGF 下游引物:5'-TCA CCG CCT TGG CTT GTC ACA T-3',94.0℃变性 5 min 后进入 30 个循环(94.0℃变性 10 s,56.0℃退火 10 s,72.0℃延伸 30 s),产物长度 542 bp、528 bp; β -actin 上游引物:5'-GCC AGG TCC AGA CGC AGG AT-3', β -actin 下游引物:5'-CGG TCC AGG TCT GTG TCC TA-3', 94.0℃变性 5 min 后进入 24 个循环(94.0℃变性 5 s,57.0℃退火 10 s,72.0℃延伸 10 s),产物长度 127 bp。1.5% 琼脂糖电泳鉴定 PCR 扩增产物,每组标本电泳 3 次,以 Bio-Rad Molecular Analysis 图像分析仪测灰度值进行分析,PCR 产物半定量=目的 PCR 产物光密度/内对照 PCR 产物光密度。

1.2.6 Western 印迹杂交 待细胞生长至 70% 接触密度时,胰酶消化收集细胞;加入 300 μ l 蛋白裂解液,室温作用 10 min 后 14 000 $\times g$ 离心 10 min,吸

取上清,以 BCA 法行蛋白定量。12% SDS-PAGE 分离蛋白样品,80 V 电转移 2 h 至硝酸纤维素膜,预染蛋白质分子量标准标识蛋白位置。5%脱脂奶粉室温封闭 1 h;TBST 分别稀释一抗 LKB1(1 : 500)、SP1(1 : 500)和 VEGF(1 : 400),4℃过夜,TBST 洗膜 4 次,每次 10 min,TBST 稀释鼠抗羊二抗(1 : 4 000)室温 50 min,洗膜 4 次,ECL 显色。硝酸纤维素膜用剥离液(50 mmol/L Tris-HCl,pH 7.5,1% β-巯基乙醇,2% SDS)于 50℃作用 30 min,剥离一抗与抗原的结合。弃剥离液,TBST 洗膜 4 次。重复 Western 杂交,一抗为鼠抗人 actin 抗体。

1.2.7 脂质体介导的 siRNA 瞬时转染 SP1 基因的 siRNA 序列源自文献^[10],阴性对照 siRNA 序列与人类基因无同源性,由上海吉凯生物公司合成。相应序列为:SP1 siRNA 上游引物:5'-AUC ACU CCA UGG AUG AAA UGA TT- 3', SP1 siRNA 下游引物:3'-TT UAG UGA GGU ACC UAC UUU ACU-5';阴性对照 siRNA 上游引物:5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG Udttdt- 3', 阴性对照 siRNA 下游引物:3' - dttdtA AGA GGC UUG CAC AGU GCA-5'。按照 LipofectAmine 2000 的说明书进行。A549 细胞转染前 18~24 h 细胞传代于 6 孔板中,使细胞接种密度在转染时达 40%~60%。依次用双无 DMEM 培养基将 SP1 和阴性对照 siRNA (20 mmol/L) 稀释为 150 nmol/L;LipofectAmine 2000 转染试剂 6 μl 稀释于 250 μl 双无 DMEM 培养基,室温放置 5 min 后将 siRNA 工作液与 LipofectAmine 2000 稀释液轻柔混匀,室温反应 20 min;上述混合物分别加入细胞培养液中 6 h 后换成完全培养液,继续培养至 48 h 后提取细胞总 RNA,RT-PCR 检测 siRNA 的抑制效率和对 VEGF 基因的影响,每组标本电泳 3 次,以 Bio-Rad Molecular Analysis 图像分析仪测灰度值进行分析,PCR 产物半定量=目的 PCR 产物光密度/内对照 PCR 产物光密度。另同时提取细胞总蛋白,以 Western 印迹法验证。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行 *t* 检验。

2 结果

2.1 LKB1 基因的扩增 由图 1A 可见,初级 PCR 产物在约 1 900 bp 处有条带,但其下游有杂带。将初级 PCR 产物稀释后行巢式 PCR,图 1B 显示在 1 300 bp 处有明亮条带,无杂带,阴性对照组未见条带,提示采用巢式 PCR 成功扩增 LKB1 基因片段。

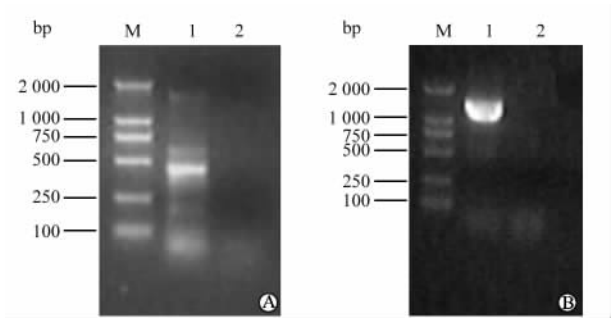


图 1 LKB1 基因 PCR 产物 2%凝胶电泳图
Fig 1 Electrophoresis (2%) of PCR product of LKB1 gene
A: Fundamental PCR for LKB1 gene; B: Nest PCR for LKB1 gene;
M: DL2000 DNA ladder; 1: LKB1 gene PCR product; 2: Negative control

2.2 LKB1 基因稳定转染细胞株的建立 pcDNA-LKB1 和 pcDNA3.1 质粒纯化后,转染 A549 细胞,经 G418 筛选后,获得具有 G418 抗性的单克隆细胞集落 6 个,阴性对照组也获得具有 G418 抗性的单克隆细胞集落,扩大培养后提取细胞总 RNA 和蛋白质。RT-PCR(图 2A)和 Western 印迹杂交(图 2B)显示 3 号克隆高表达外源性 LKB1 基因。

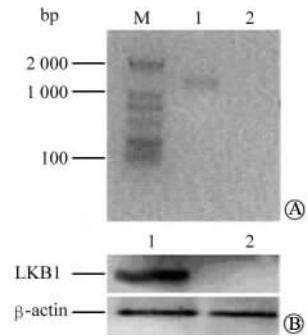


图 2 RT-PCR 和 Western 印迹杂交检测 LKB1 基因的表达
Fig 2 Identification of ectopic LKB1 gene expression in stably transfected A549 cells by 2% electrophoresis
A: Result of RT-PCR. M:DNA Marker DL 2000; 1: pcDNA-LKB1 transfection; 2: pcDNA3.1 transfection. B: Result of Western blot

2.3 LKB1 基因下调肺癌细胞 SP1 及 VEGF 的表达 半定量 RT-PCR 的方法检测 LKB1 基因对 SP1 和 VEGF 的作用,结果见图 3。与 β-actin 内参照条带灰度相比后,LKB1 基因转染 A549 细胞 VEGF 和 SP1 的表达分别为 0.157 ± 0.013 和 0.186 ± 0.015 ,均显著低于空质粒对照组的 0.712 ± 0.050 和 0.515 ± 0.034 ($P < 0.01$),表明 LKB1 基因可显著抑制 VEGF 和 SP1 的表达。Western 印迹结果也证实 LKB1 基因转染 A549 细胞后,可显著抑制 VEGF 和 SP1 的表达(图 4)。

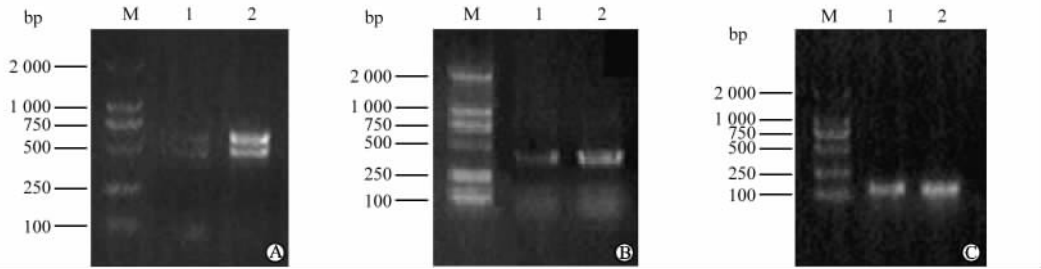


图 3 RT-PCR 检测 VEGF(A)、SP1(B)和内参照 β-actin(C)基因的表达

Fig 3 Electrophoresis(2%) of RT-PCR product of VEGF(A), SP1(B) and β-actin(C) gene

M: DNA marker DL2000; 1: pcDNA-LKB1 transfection; 2: pcDNA3.1 transfection

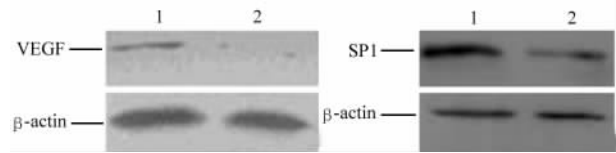


图 4 Western 印迹杂交检测

VEGF 和 SP1 蛋白的表达

Fig 4 Identification of LKB1 gene expression in stably transfected A549 cells by western blotting

1: pcDNA-LKB1 transfection; 2: pcDNA3.1 transfection

2.4 以 siRNA 干扰 SP1 的表达可下调 A549 细胞 VEGF 的表达 本研究利用 siRNA 技术干扰 SP1 的表达,检测 A549 细胞中 SP1 与 VEGF 的关系。图 5A 是 150 μmol/L 的 siRNA 对 SP1 的抑制结果,RT-PCR 显示在 450 bp 左右处,有特异电泳条带。与无义 siRNA 对照组相比,可见 SP1 约 70%抑制。由图 5B 可见 SP1 基因表达下降的同时(0.122±0.008 vs 0.601±0.038, $P<0.01$),VEGF 的表达量也下降(0.202±0.012 vs 0.826±0.056),提示在 A549 细胞中,VEGF 的表达可能受 SP1 调控。Western 印迹结果与之基本一致(图 6)。

3 讨论

LKB1/STK11 (serine/threonine protein kinase 11) 基因是于 1998 年由芬兰学者 Hemminki 等^[9]和德国学者 Jenne 等^[11]几乎同时从 PJS 患者中鉴定的抑癌基因。PJS 是一种常染色体显性遗传病,以口周皮肤、唇颊黏膜、指(趾)端的咖啡色素斑点及多发性消化道息肉为临床特征,约有 93% 的 PJS 患者在 40 岁左右罹患恶性肿瘤。肿瘤的发生部位主要在小肠、胃和胰腺,但也可发生在乳腺、卵巢、睾丸、子宫和肺等脏器^[12]。LKB1 基因定位于人 19 号染色体短臂 13.3 区,编码 433 个氨基酸残基。LKB1 蛋白具有丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶活性,通过磷酸化底物

蛋白或与靶蛋白结合,调控基因表达,参与调控细胞周期、细胞凋亡等生命活动^[13-14]。

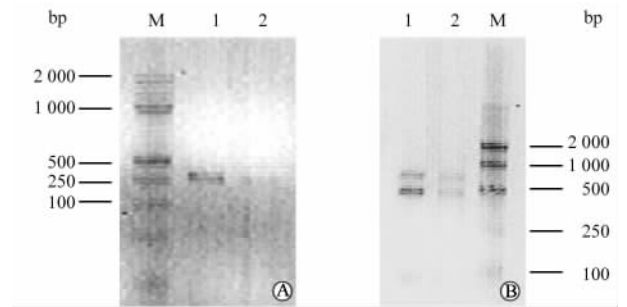


图 5 RT-PCR 检测 SP1 siRNA 对 A549 细胞 SP1(A)和 VEGF(B)表达的影响

Fig 5 Electrophoresis(2%) of RT-PCR product of SP1(A) and VEGF(B) gene

M: DNA marker DL2000; 1: Non-silencing siRNA control; 2: SP1 siRNA group

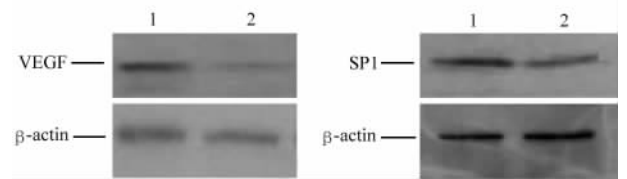


图 6 Western 印迹杂交检测 SP1 siRNA 对 A549 细胞 SP1 和 VEGF 表达的影响

Fig 6 Identification of LKB1 gene expression in stably transfected A549 cells by western blotting

1: Non-silencing siRNA control; 2: SP1 siRNA group

Ylikorkala 等^[7]研究发现 LKB1 基因的失活不仅与多种肿瘤的发生有关,而且影响胚胎血管发育。LKB1 基因敲除小鼠胚胎 (LKB1^{-/-}) 于孕龄第 11 日死亡,病理学检测示胚胎血管发育异常,动脉内径狭窄且不连续,毛细血管数目也较对照组稀少。体外细胞培养实验证实,LKB1^{-/-} 的胚胎纤维母细胞在低氧(1%O₂)条件下,培养上清中 VEGF 蛋白的含量较对照组正常细胞明显增加(165.0±31.9 vs

44.5±6.2 pg/ml),而反映组织缺氧的 HIF-1 在实验组及对照组间表达无差异;在正常供氧条件下,上清中 VEGF 蛋白的含量为正常对照组 6 倍多(80.3±13.9 *vs* 12.3±5.4 pg/ml),提示 VEGF 的分泌上调不是缺氧间接所致,而是 LKB1 基因缺失的直接结果,此推论可部分解释 LKB1 杂合型缺失肺癌易于转移的现象。

本研究将野生型 LKB1 基因转染 A549 细胞,结果发现 LKB1 下调 VEGF 的表达,这一实验结果与 Ylikorkala 等^[7]所观察到的 LKB1 对 VEGF 的负调控作用相吻合。VEGF 基因的核心启动子区富含 GC 序列,其中 CCC GCC 序列是转录因子 SP1 的顺式作用元件,SP1 与之结合后,与 RNA 聚合酶等共同构成转录复合物,促进 VEGF 的转录。VEGF 基因转录受 SP1 转录因子调控在许多细胞系中已有报道^[10,15-17],我们的研究也证实 SP1 被 siRNA 干扰表达时下调 VEGF 的表达,表明 SP1 参与 A549 细胞的 VEGF 基因表达调控。LKB1 对 SP1 是否有影响呢?因 LKB1 具有丝/苏氨酸激酶活性,转录因子 SP1 可能是 LKB1 的磷酸化底物,磷酸化的 SP1 转录活性增强,从而促进 VEGF 转录和表达。LKB1 影响 SP1 的另一方式可能是促进 SP1 转录,在量上增加 SP1 的蛋白含量。因目前尚无磷酸化的 SP1 抗体供应,本研究侧重于 LKB1 对 SP1 转录水平的影响,结果发现野生型 LKB1 抑制 A549 细胞 VEGF 表达水平的同时,伴随转录因子 SP1 的转录水平下降,提示 LKB1 的获得性表达对 VEGF 的抑制作用可能部分通过下调 SP1 表达实现。LKB1 抑制肿瘤细胞 VEGF 的信号转导通路还有待于进一步深入研究。

[参考文献]

[1] Risau W. Mechanism of angiogenesis[J]. Nature,1997,386: 671-674.

[2] Dy G K, Adjei A A. Angiogenesis inhibitors in lung cancer: a promise fulfilled[J]. Clin Lung Cancer,2006,7 (Suppl 4): S145-S149.

[3] Yano S, Matsumori Y, Ikuta K, et al. Current status and perspective of angiogenesis and antivascular therapeutic strategy: non small cell lung cancer[J]. Int J Clin Oncol,2006, 11:73-81.

[4] Vokes E, Herbst R, Sandler A. Angiogenesis inhibition in the treatment of lung cancer[J]. Clin Adv Hematol Oncol, 2006, 4 (11 Suppl 23): 1-12.

[5] Hemminki A, Markie D, Tomlinson I, et al. A serine/threonine kinase gene defective in Peutz-Jeghers syndrome[J]. Nature, 1998, 391: 184-187.

[6] Mehenni H, Resta N, Park J G, et al. Cancer risks in LKB1 germline mutation carriers[J]. Gut,2006,55:984-990.

[7] Ylikorkala A, Rossi D J, Korsisaari N, et al. Vascular abnormalities and deregulation of VEGF in LKB1-deficient mice[J]. Science,2001, 293:1323-1326.

[8] Sobottka S B, Haase M, Fitze G, et al. Frequent loss of heterozygosity at the 19p13.3 locus without LKB1/STK11 mutations in human carcinoma metastases to the brain[J]. J Neurooncol,2000,49:187-195.

[9] 丁新民,李增鹏,周平坤,等. LKB1 蛋白在肺腺癌组织中的表达及临床意义[J]. 肿瘤防治杂志,2005,12:1281-1284.

[10] Stoner M, Wormke M, Saville B, et al. Estrogen regulation of vascular endothelial growth factor gene expression in ZR-75 breast cancer cells through interaction of estrogen receptor α and SP proteins[J]. Oncogene, 2004, 23:1052-1063.

[11] Jenne D E, Reimann H, Nezu J,et al. Peutz-Jeghers syndrome is caused by mutations in a novel serine threonine kinase[J]. Nat Genet,1998, 18:38-44.

[12] Brosens L A, van Hattem W A, Jansen M, et al. Gastrointestinal polyposis syndrome[J]. Curr Mol Med,2007, 7: 29-46.

[13] Jimenez A I, Fernandez P, Dominguez O, et al. Growth and molecular profile of lung cancer cells expressing ectopic LKB1: down-regulation of the phosphatidylinositol 3'-phosphate kinase/PTEN pathway[J]. Cancer Res,2003,63:1382-1388.

[14] Karuman P, Gozani O, Odze R, et al. The Peutz-Jegher gene product LKB1 is a mediator of p53-dependent cell death[J]. Mol Cell, 2001, 7:1307-1319.

[15] Abdelrahim M, Smith R, Burghardt R, et al. Role of Sp proteins in regulation of vascular endothelial growth factor expression and proliferation of pancreatic cancer cells[J]. Cancer Res, 2004, 64:6740-6749.

[16] Abdelrahim M, Smith R, Burghardt R, et al. Role of Sp proteins in regulation of vascular endothelial growth factor expression and proliferation of pancreatic cancer cells[J]. Cancer Res, 2004, 64:6740-6749.

[17] Safe S, Abdelrahim M. Sp transcription family and its role in cancer[J]. Eur J Cancer, 2005, 41: 2438-2448.

[收稿日期] 2006-10-08 [修回日期] 2007-04-19
[本文编辑] 孙 岩