

基础研究

DOI: 10.13406/j.cnki.cyxh.000617

TCF3 对非小细胞肺癌 A549 细胞株生长和迁移的影响

范雨辰, 刘煜亮, 闵利, 陈虹

(重庆医科大学附属第一医院呼吸与危重症学科, 重庆 400016)

【摘要】目的:探讨 T 细胞因子 3(T cell factor 3, TCF3) 基因沉默对非小细胞肺癌 A549 细胞株的 Wnt 通路转录活性及细胞生长和迁移的影响。**方法:**采用 RNAi 技术将 TCF3 基因沉默作为实验组, 同时设立空白对照组和阴性对照组。采用实时荧光定量 PCR 及 Western blot 检测各组细胞中 TCF3 的 mRNA 和蛋白表达水平, 通过 TOPflash/FOPflash 双荧光素酶报告基因检测 Wnt 通路转录活性, CCK-8 检测细胞增殖, Transwell 检测细胞迁移能力。**结果:**与空白对照组和阴性对照组比较, 实验组 TCF3 的 mRNA 和蛋白水平明显下调; TOPflash/FOPflash 报告基因的比值降低 ($P=0.00$, $P=0.00$); Wnt 靶基因 C-myc 的蛋白表达量下降 ($P=0.00$, $P=0.00$); 细胞的增殖活性降低, 细胞凋亡率增加 ($P=0.00$, $P=0.00$), 细胞周期比例发生变化, G0/G1 期细胞增多 ($P=0.01$, $P=0.00$), S 期细胞减少 ($P=0.01$, $P=0.00$); 细胞迁移能力减弱 ($P=0.00$, $P=0.00$)。**结论:**在肺癌细胞中, TCF3 可能作为转录激活因子对细胞的恶性生物学行为起着正向调控作用。

【关键词】T 细胞因子 3; A549; 细胞增殖; 细胞迁移

【中图分类号】R734.2

【文献标志码】A

【收稿日期】2015-01-14

Effects of TCF3 on cell proliferation and migration in non-small cell cancer A549 cells

Fan Yuchen, Liu Yuliang, Min Li, Chen Hong

(Department of Respiratory and Critical Care Medicine,

The First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective: To investigate the effect of T cell factor 3 (TCF3) gene silencing on the Wnt pathway transcriptional activity and cell growth and migration in non-small cell cancer A549 cells. **Methods:** The TCF3 gene was silenced by RNAi technology and used as the experimental group, meanwhile the blank control group and negative control group were set up. The mRNA and protein expression levels were detected by real-time fluorogenic quantitative PCR and Western blot, separately. A TOPflash/FOPflash reporter gene was employed for analysis of the Wnt pathway transcriptional activity. The cell proliferation was detected by CCK-8 assay. The apoptosis and cell cycle were analyzed by flow cytometry. Transwell chamber assay was used to examine the migration potential of A549 cells. **Results:** Compared with those of blank and negative control groups, mRNA and protein levels of TCF3 were lower in the experimental group. The ratio of TOPflash/FOPflash was lower ($P=0.00$, $P=0.00$). The protein expression of Wnt target C-myc was declined ($P=0.00$, $P=0.00$). The cell proliferation was inhibited. The apoptosis was promoted and the percentage of A549 cells in G0/G1 phase was increased ($P=0.01$, $P=0.00$) and that in S phase was decreased ($P=0.01$, $P=0.00$). The cell migration ability was reduced ($P=0.01$, $P=0.01$). **Conclusion:** TCF3 seems to act as a transcriptional activator and promote the malignant biological in lung cancer cells.

【Key words】T cell factor 3; A549; cell proliferation; migration

肺癌在全世界癌症引起的死亡中占主要原因,

作者介绍: 范雨辰, Email: 386716202@qq.com,

研究方向: TCF4 基因剪接异构体在非小细胞肺癌中的表达及功能研究。

通信作者: 陈虹, Email: hopehong@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81201841); 国家临床重点专科建设经费资助项目 (编号: 卫办医政函[2012]649号)。

优先出版: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20150405.2106.016.html>

(2015-04-05)

而非小细胞肺癌占肺癌的 80%~85%^[1]。Wnt/ β -catenin 信号通路对于肺癌细胞的异常增殖起着重要作用^[2]。Wnt 通路异常活化引起 β -catenin 在细胞质内聚集, 并进入细胞核, 与 TCF/LEF 形成转录复合物, 调节 Wnt 靶基因如 C-myc、Cyclin D1、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 以及基质金属酶 7 (matrix metalloproteinase 7, MMP-7) 的转录^[3-4], 这些靶基因的激活对肿瘤细胞的增殖、去分

化、转移起着重要作用。TCF/LEF 家族包括 TCF-1、TCF-3、TCF-4 以及 LEF1^[5-6]。T 细胞因子 3(T cell factor 3, TCF-3) 是经典 WNT 信号通路的最终效应分子之一,其目前在肺癌中尚无研究报道。

本课题前期研究发现 TCF3 在肺癌组织及肺癌细胞系中均有表达,在正常支气管上皮细胞亦有表达,而在癌旁组织中无表达。尚不明确 TCF3 是抑制或促进肺癌发生、发展。本研究采用 RNAi 技术敲低人肺腺癌细胞 A549 中的 TCF3 基因,旨在探讨 TCF3 对肺癌恶性生物学行为的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

A549 细胞由本实验室保存,1640 培养基、胎牛血清购自 Gibco 公司,转染试剂 X-tremeGENE siRNA Transfection Reagent 购自罗氏公司,RNAiso plus、PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser(perfect Real Time)、SYBR Premix EX Taq(Perfect Real time)购自 Takara 公司,引物、SiRNA(序列:5'-GGGACAACUAUGGUAAGAATTUUCUUACCAUAGUUG-UCCCTT-3')由上海生工合成, TOPflash/FOPflash 质粒购自 Millipore 公司, Dual-Luciferase Reporter Assay System 购自 promega 公司, TCF3 一抗兔抗人抗体购自 CST 公司,二抗羊抗兔购自北京鼎国公司, CCK-8 购自日本同仁公司。

1.2 细胞转染和分组

A549 细胞用含 10%FBS 的 1640 培养基在 37℃, 5%CO₂ 细胞培养箱中常规培养传代。转染前 1 d 取对数生长期的 A549 细胞以 3 × 10⁵ 的数目接种于 6 孔板中,待细胞贴壁良好,密度达 70%左右时开始转染,根据说明书操作步骤进行实验。实验分为 3 组:①空白对照组:不转染,细胞正常生长;②阴性对照组:转染非特异性 SiRNA;③实验组:转染 TCF3 特异性 SiRNA。约 48 h 后收集各组细胞进行下一步实验。

1.3 实时荧光定量 PCR 法检测 TCF3 mRNA 表达水平

提取实验组、阴性对照组以及空白对照组 A549 细胞的总 RNA,应用 PrimeScript reagent Kit With gDNA Eraser(Perfect Real Time)将 1 μg 总 RNA 逆转录成 cDNA,以 cDNA 为模板,TCF3 扩增引物序列为:上游 5'-GCGGTCCTCTGAAATG-GTT-3',下游 5'-TCTGGGATTGTGAAGGGATG-3'。按 SYBR Premix EX Taq(Perfect Real time)说明书进行操作。

1.4 Western blot 检测 TCF3 及 C-myc 的蛋白表达情况

分别提取实验组、阴性对照组以及空白对照组 A549 细胞的总蛋白。经 8%SDS-PAGE 电泳,电转至 PVDF 膜封闭,分别用目的基因一抗(1:1 000)孵育目的条带、内参 GAPDH 一抗(1:1 500) 4℃孵育内参条带过夜。二抗(1:4 000)室温

孵育 1 h。加入化学发光剂暗室曝光显影。

1.5 双荧光素酶报告系统检测 Wnt 通路活性

将 A549 以 5 × 10⁴ 个/孔接种于 24 孔板,约 20 h 后将 PRL-Tk 作为内参与 TOPflash/FOPflash、TCF3 SiRNA 共转染实验组细胞,将 PRL-Tk、TOPflash/FOPflash、非特异性 SiRNA 共转染阴性对照组细胞,空白对照组细胞只转染 PRL-Tk、TOPflash/FOPflash。按照 Roche 转染说明书进行操作。转染 48 h 后用 Dual-Luciferase Reporter Assay System 检测各组细胞荧光值。

1.6 CCK-8 检测细胞的增殖

按前述方法分组并转染细胞,每组设置 3 个复孔。分别在转染后第 1、2、3、4 d 对 3 组细胞进行 CCK-8 检测。加入 CCK-8 后细胞继续放入细胞培养箱孵育 2 h,酶标仪测定波长 450 nm 处的光密度值。

1.7 流式细胞仪检测细胞周期

每孔接种 3 × 10⁵ 数目的 A549 细胞于 6 孔板,按前述方法分组并转染细胞,约 48 h 后收集细胞,加入预冷的 75%乙醇 4℃固定过夜。离心收集固定后细胞。PBS 清洗,加 RNaseA, 37℃水浴消化 30 min,尼龙网过滤,流式细胞仪检测,488 nm 激发光激发检测。

1.8 流式细胞仪检测细胞凋亡

按前述方法分组并转染细胞,48 h 后收集细胞,依次加入 5 μl Annexin V-FITC 和 10 μl 20 g/L PI,轻轻混匀后室温避光孵育 10 min。1 h 后进行流式细胞仪检测。

1.9 Transwell 实验检测细胞迁移

按上述方法分组并转染细胞,36 h 后收集细胞,各组细胞以 4 × 10⁴ 孔铺种于 Transwell 小室,上层加入无血清培养基 1640,下层加入 600 μl 含 10%血清的 1640 培养基,放入孵育箱中继续培养 12 h 后取出 Transwell 小室,用 4%多聚甲醛固定 30 min,再用 0.1%结晶紫染色 20 min。倒置显微镜下任选 10 个视野观察照相。

1.10 统计学方法

实验数据采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析。符合计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间差异比较采用单因素方差分析(Anova),多组间两两对比中符合方差齐性的采用 LSD-t、不符合方差齐性的采用 Tamhane's T2 检验;组内多个时间点指标差异比较采用重复测量方差分析;检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 各组 A549 细胞中 TCF3 的 mRNA 及蛋白表达水平

空白对照组、阴性对照组、实验组 A549 细胞分别进行 3 次荧光定量 PCR 实验,每次设 3 个复孔,以 GAPDH 作为内参校正样本的循环阈值 Ct 得到 ΔCt ,以空白对照组作为参

照,目的基因的相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 表示。

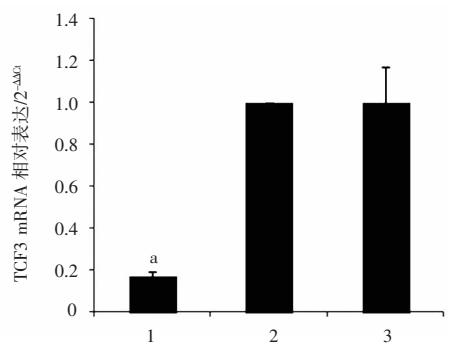
结果显示:TCF3 mRNA 水平在实验组明显低于阴性对照组和空白对照组($P=0.00, P=0.00$),差异有统计学意义,而空白对照组和阴性对照组之间比较差异无统计学意义($P=1.00$),数据见表 1、图 1。

通过 Western blot 检测上述 3 组细胞 TCF3 蛋白表达水平,其中:实验组表达水平低于阴性对照组和空白对照组($P=0.00, P=0.00$),差异有统计学意义,而空白对照组和阴性对照组之间比较差异无统计学意义($P=0.63$),数据见表 1、图 2。

表 1 TCF3 的 mRNA 及蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.1 The mRNA and protein expression levels of TCF3 ($\bar{x} \pm s$)

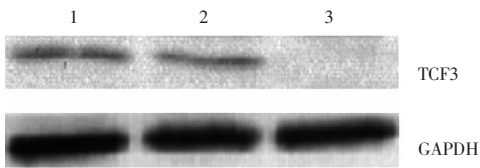
组别	n	TCF3 mRNA 水平	TCF3 蛋白表达水平
空白对照组	3	1.00 ± 0.00	0.15 ± 0.02
阴性对照组	3	1.00 ± 0.17	0.15 ± 0.02
实验组	3	0.17 ± 0.02	0.03 ± 0.01
F 值		70.99	56.48
P 值		0.00	0.00



1. 实验组;2. 空白对照组;3. 阴性对照组
注:a, $P=0.00$,实验组与 2 个对照组比较

图 1 Real-time PCR 检测 mRNA 表达水平

Fig.1 Expression of mRNA detected by real-time PCR



1. 阴性对照组;2. 空白对照组;3. 实验组

图 2 Western blot 检测蛋白表达水平

Fig.2 Expression of protein detected by Western blot

2.2 各组 A549 细胞 Wnt 通路的转录活性及 Wnt 靶基因 C-myc 的蛋白表达水平

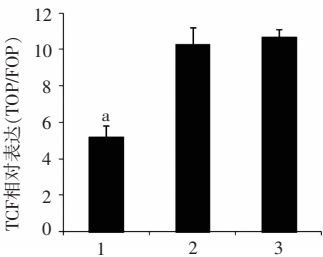
通过 TopFlash/FopFlash 双荧光素酶报告基因检测 3 组细胞的 Wnt 通路转录活性,与空白对照组和阴性对照组比较,实验组细胞的 Wnt 通路转录活性明显降低($P=0.00, P=0.00$),提示 TCF3 可能具有促进转录调节的作用(表 2,图 3)。通

过 Western blot 检测 3 组细胞的 Wnt 通路靶基因 C-myc 的蛋白表达水平,如表 2,图 4 所示:与空白对照组和阴性对照组比较,实验组的 C-myc 蛋白表达水平明显降低,差异具有统计学意义($P=0.00, P=0.00$),空白对照组和阴性对照组之间比较差异无统计学意义($P=0.82$)。

表 2 Wnt 通路的转录活性及 Wnt 靶基因 C-myc 的蛋白表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

Tab.2 The Wnt pathway transcriptional activity and the protein expression of Wnt target C-myc ($\bar{x} \pm s$)

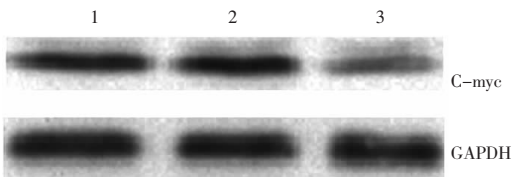
组别	n	TopFlash/FopFlash	C-myc 蛋白表达
空白对照组	3	10.30 ± 0.90	0.75 ± 0.04
阴性对照组	3	10.70 ± 0.40	0.74 ± 0.04
实验组	3	5.20 ± 0.60	0.27 ± 0.02
F 值		63.63	191.19
P 值		0.00	0.00



1. 实验组;2. 空白对照组;3. 阴性对照组
注:a, $P=0.00$,实验组与 2 个对照组比较

图 3 TopFlash/FopFlash 检测 Wnt 通路转录活性

Fig.3 TCF transcriptional activity detected by TopFlash/FopFlash



1. 阴性对照组;2. 空白对照组;3. 实验组

图 4 Western blot 检测蛋白表达水平

Fig.4 Expression of protein detected by Western blot

2.3 各组 A549 细胞增殖活性的检测

通过 CCK-8 法检测 3 组细胞的增殖活性,并绘制生长曲线。如表 3,图 5 所示,实验组 A 值低于空白对照组和阴性对照组($P=0.00, P=0.00$),差异有统计学意义,而空白对照组和阴性对照组间比较差异无统计学意义($P=0.48$)。同时,组内效应检验显示:不同时间点增殖活性存在差异;进一步两两比较显示 4 个时间点相互间检验($P=0.00$),组内不同时间点差异有统计学意义,随时间延长细胞的增殖活性越强。同时时间 × 组间交互效应检验($F=24.42, P=0.00$),说明不同时间和组别存在交互效应。

表 3 细胞增殖活性的检测 ($\bar{x} \pm s$)Tab.2 The detection of cell proliferation ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	总体	A 值			
			第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
空白对照组	3	0.72 ± 0.03	0.22 ± 0.00	0.47 ± 0.03	1.19 ± 0.12	2.24 ± 0.14
阴性对照组	3	1.03 ± 0.03	0.22 ± 0.00	0.48 ± 0.01	1.12 ± 0.12	2.18 ± 0.07
实验组	3	1.00 ± 0.03	0.22 ± 0.00	0.36 ± 0.03	0.70 ± 0.03	1.59 ± 0.09
合计		—	0.22 ± 0.00	0.44 ± 0.01	1.00 ± 0.03	2.00 ± 0.03
F 值		32.39		1 661.07		
P 值		0.00		0.00		

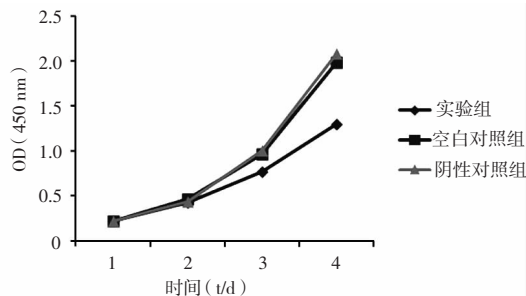


图 5 CCK-8 检测 A549 细胞的生长

Fig.5 Cell proliferation detected by CCK-8

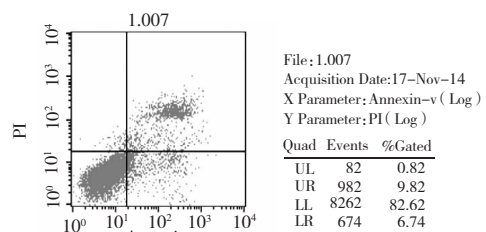
2.4 流式细胞仪检测各组 A549 细胞的凋亡水平及细胞周期

干扰 A549 细胞的 TCF3 表达 48 h 后,通过流式细胞仪检测细胞凋亡水平及细胞周期。细胞凋亡结果显示:实验组凋亡率为高于空白对照组及阴性对照组($P=0.00, P=0.00$)差异有统计学意义,提示干扰 TCF3 表达使 A549 细胞的凋亡率明显增加,而空白对照组和阴性对照组之间比较差异无统计学意义($P=0.64$),数据见表 4,图 6、7。

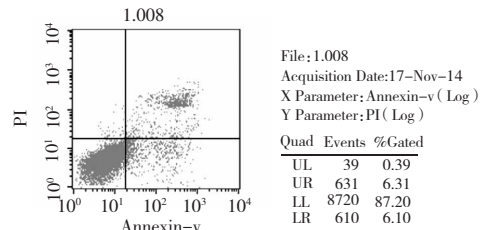
细胞周期结果提示:G1 期实验组细胞比例高于空白对照组及阴性对照组($P=0.00, P=0.00$),差异均有统计学意义,而空白对照组和阴性对照组之间比较差异无统计学意义($P=0.58$);G2 期实验组细胞比例低于空白对照组及阴性对照组($P=0.00, P=0.00$),差异均有统计学意义,而空白对照组和阴性对照组之间比较差异无统计学意义($P=0.13$);S 期实验组细胞比例低于空白对照组及阴性对照组($P=0.01, P=0.00$),差异均有统计学意义,而空白对照组和阴性对照组之间比较差异无统计学意义($P=0.36$)。

表 4 流式细胞仪检测细胞凋亡及细胞周期 ($\bar{x} \pm s$)Tab.4 The apoptosis and cell cycle analyzed by flow cytometry ($\bar{x} \pm s$)

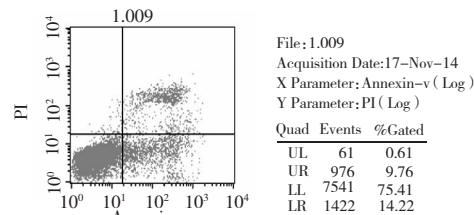
组别	n	早期凋亡+ 晚期凋亡 (%)	细胞周期		
			G1 期(%)	G2 期(%)	S 期(%)
空白对照组	3	14.59 ± 1.99	59.20 ± 2.55	10.05 ± 0.68	30.87 ± 1.80
阴性对照组	3	15.33 ± 1.97	58.06 ± 3.25	9.06 ± 0.84	32.87 ± 3.90
实验组	3	29.77 ± 1.52	71.98 ± 0.51	4.10 ± 0.48	23.91 ± 0.05
F 值		64.99	30.99	65.66	10.80
P 值		0.00	0.00	0.00	0.01



A. 空白对照组



B. 阴性对照组



C. 实验组

图 6 流式细胞仪检测细胞凋亡水平

Fig.6 Cell apoptosis is detected by FCM

2.5 各组 A549 细胞的迁移能力检测

采用 Transwell 实验检测上述 3 组细胞的迁移能力。其中:实验组迁移细胞数低于空白对照组($P=0.00, P=0.00$),差异有统计学意义,提示 TCF3 可能对 A549 细胞的迁移能力有促进作用,而空白对照组和阴性对照组之间比较差异无统计学意义($P=0.75$),数据见表 5、图 8。

表 5 细胞的迁移能力检测 ($\bar{x} \pm s$)Tab.5 The detection of cell migration ability ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	平均每视野下穿膜细胞数(个)
空白对照组	3	68.70 ± 4.20
阴性对照组	3	67.00 ± 8.70
实验组	3	36.00 ± 4.00
F 值		30.99
P 值		0.00

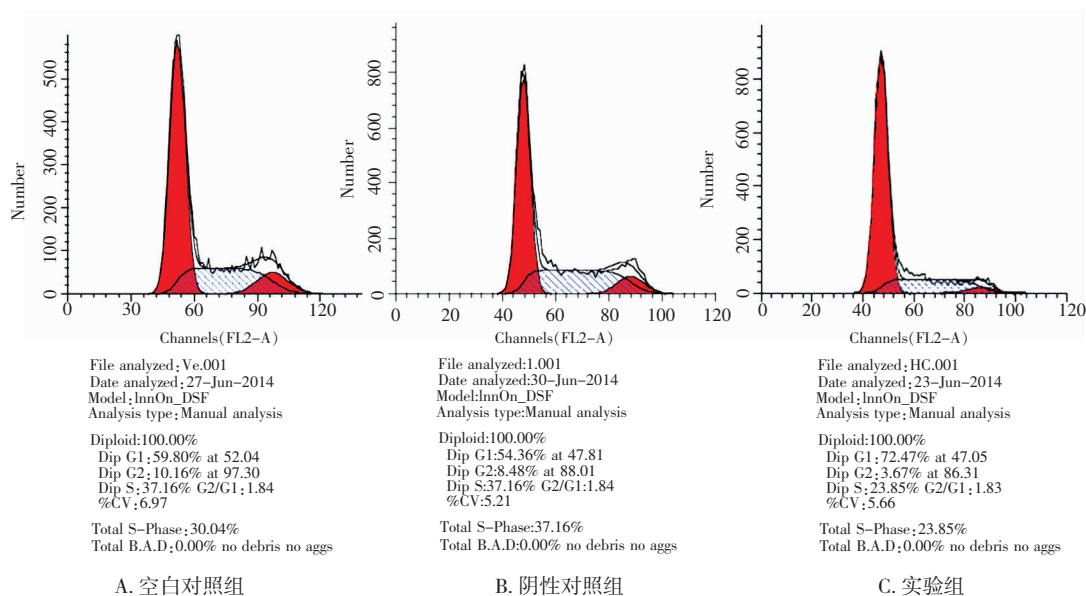


图 7 流式细胞仪检测细胞周期
Fig.7 Cell cycle detected by FCM

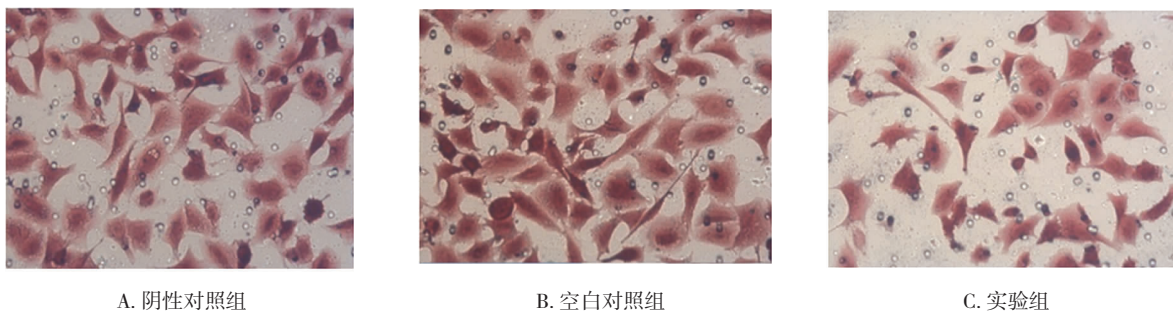


图 8 Transwell 检测 A549 细胞的迁移能力 (200 ×)
Fig.8 Cell migration detected by Transwell (200 ×)

3 讨论

Wnt/ β -catenin 信号通路是哺乳动物细胞内高度保守的关键信号通路,它与肺癌的发生发展密切相关^[7]。作为 TCF/LEF 的成员之一,TCF3 是经典 Wnt/ β -catenin 信号通路的关键效应分子。有证据表明,TCF3 在一些分化程度较低的恶性肿瘤中表达^[8],但目前对 TCF3 在恶性肿瘤中的具体作用及机制研究较少。Lin 等^[9]证实 TCF3 可能通过下调 Oct4 抑制胚胎癌细胞的增殖和侵袭。Michal 等^[10]在对乳腺癌中的研究发现,TCF3 对乳腺癌组织的形成及维持癌细胞生长起着至关重要的作用,但对乳腺癌细胞的侵袭及迁移能力无明显影响。TCF3 在肺癌中的作

用目前尚不明确。

研究证实,在无 Wnt 信号刺激时,TCF3 与共阻遏因子 Groucho、CtBP 和 HDAC 等结合抑制 Wnt 基因转录^[11-12];在 Wnt 信号刺激下,TCF3 具备双向调节功能,即既可能作为 β -catenin 依赖的转录激活因子促进 Wnt 靶基因的转录,也可能作为转录抑制因子下调 Wnt 靶基因的转录,并且其针对不同的 wnt 靶基因有不同的调控角色^[13]。本研究显示,干扰 A549 细胞中的 TCF3 表达后细胞的 Wnt 通路转录活性明显降低,且 Wnt 下游靶基因 C-myc 的表达明显下调,均提示 TCF3 在肺癌细胞的 Wnt 通路中起着转录激活的作用。可能的机制为:当 Wnt 通路激活时,大量游离的 β -catenin 进入细胞核,通过与 Groucho/TLE 竞争结合 TCF3,将 TCF3 转换为转录激活因子^[14]。

通过 CCK-8 实验明确 TCF3 对肺癌细胞的增殖能力的影响,结果发现,降低 TCF3 的表达使 A549 细胞的增殖能力明显降低。为明确 TCF3 影响 A549 细胞增殖的原因,我们采用流式细胞学技术进行了细胞凋亡以及细胞周期实验,结果显示干扰 TCF3 表达 48h 后,A549 细胞的凋亡率明显增加,G0/G1 期细胞比例增加,G2 期及 S 期细胞比例降低。由此推测 TCF3 可能通过调控 Wnt 通路下游靶基因 C-myc^[15] 等细胞凋亡及细胞周期相关基因而影响肺癌细胞的生长。另外,在细胞迁移实验中,实验组 A549 细胞的穿膜数目较阴性对照组及空白对照组明显减少,提示 TCF3 可能通过调控相关靶基因影响 A549 细胞的迁移能力,其具体机制有待进一步研究。

综上所述,本研究初步探索了转录因子 TCF3 在非小细胞肺癌细胞生物学功能上可能发挥的作用。从细胞水平证实了干扰 TCF3 的表达可抑制 A549 细胞的 Wnt 通路转录活性,从而影响其细胞凋亡、细胞周期及迁移能力。值得注意的是,TCF/LEF 家族中的四个基因都可以利用选择性剪切产生结构和功能各异的剪接异构体^[13,16-17]。本研究提示 TCF3 可能对肺癌细胞的恶性生物学行为起着促进作用,而我们前期通过免疫印迹实验发现,TCF3 在正常支气管上皮细胞中的表达量高于肺癌细胞,并且在肺癌和支气管上皮细胞中至少高表达两种分子量不同的 TCF3 蛋白,因此推测在肺癌细胞和支气管上皮细胞中可能存在发挥不同的功能效应的 TCF3 剪接异构体。本研究为进一步理解 TCF3 对肺癌细胞的生物学影响提供了重要的实验依据,但 TCF3 在肺癌细胞中的具体调控机制还有待进一步深入研究。

参 考 文 献

- [1] Jemal A, Bray F, Center MM, et al. Global cancer statistics[J]. *CA Cancer J Clin*, 2011, 61(2): 69-90.
- [2] He B, Barg RN, You L, et al. Wnt signaling in stem cells and non-small-cell lung cancer[J]. *Clin Lung Cancer*, 2005, 7(1): 54-60.
- [3] Ying Y, Tao Q. Epigenetic disruption of the WNT/betacatenin signaling pathway in human cancers[J]. *Epigenetics*, 2009(4): 307-312.
- [4] Lustig B, Behrens J. The Wnt signaling pathway and its role in tumor development[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2003(129): 199-221.
- [5] Travis A, Amsterdam A, Belanger C, et al. LEF-1, a gene encoding a lymphoid-specific protein with an HMG domain, regulates T-cell receptor alpha enhancer function[J]. *Genes Dev*, 1991, 5(5): 880-894.
- [6] van de Wetering M, Oosterwegel M, Dooijes D, et al. Identification and cloning of TCF-1, a T lymphocyte-specific transcription factor containing a sequence-specific HMG box[J]. *EMBO J*, 1991, 10(1): 123-132.
- [7] Uematsu K, He B, You L, et al. Activation of the Wnt pathway in non small cell lung cancer: evidence of disheveled overexpression[J]. *Oncogene*, 2013, 2(46): 7218-7221.
- [8] Ben-Porath I, Thomson MW, Carey VJ, et al. An embryonic stem cell-like gene expression signature in poorly differentiated aggressive human tumors[J]. *Nat Genet*, 2008, 40(5): 499-507.
- [9] Lin G, Zhao L, Yin F, et al. TCF3 inhibits F9 embryonal carcinoma growth by the down-regulation of Oct4[J]. *Oncol Rep*, 2011, 26(4): 893-899.
- [10] Slyper M, Shahar A, Bar-Ziv A, et al. Control of breast cancer growth and initiation by the stem cell-associated transcription factor TCF3[J]. *Cancer Res*, 2012, 72(21): 5613-5624.
- [11] Cavallo RA, Cox RT, Moline MM, et al. Drosophila Tcf and Groucho interact to repress Wingless signalling activity[J]. *Nature*, 1998, 395(6702): 604-608.
- [12] Stamos JL, Weis WI. The β -catenin destruction complex[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(1): a007898.
- [13] Arce L, Yokoyama NN, Waterman ML. Diversity of LEF/TCF action in development and disease[J]. *Oncogene*, 2006, 25(57): 7492-7504.
- [14] Chodaparambil JV, Pate KT, Hepler MR, et al. Molecular functions of the TLE tetramerization domain in Wnt target gene repression[J]. *EMBO J*, 2014, 33(7): 719-731.
- [15] Pajic A, Spitkovsky D, Christoph B, et al. Cell cycle activation by c-myc in a burkitt lymphoma model cell line[J]. *Int J Cancer*, 2000, 87(6): 787-793.
- [16] Cadigan KM, Waterman ML. TCF/LEFs and Wnt signaling in the nucleus[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2012, 4(11). pii: a4007906. doi: 10.1101/cshperspect.a007906.
- [17] Mao CD, Byers SW. Cell-context dependent TCF/LEF expression and function: alternative tales of repression, de-repression and activation potentials[J]. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2011, 21(3): 207-236.

(责任编辑: 冉明会)