

转录因子 Sp3 在肝细胞癌中的表达意义*

莫伟嘉, 李 佳, 陆会平, 冯振博[△]

(广西医科大学第一附属医院病理科, 南宁 530021)

[摘要] **目的** 研究转录因子 Sp3(Sp3)在肝细胞癌(HCC)发生、发展及预后中的作用。**方法** 采用 Western blot 法和 RT-PCR 法检测该院 49 例 HCC 组织及其癌旁肝组织中 Sp3 和 β -Catenin 的表达情况, 分析二者在 HCC 和癌旁肝组织中的表达差异、二者的表达与 HCC 临床病理特征的关系, 以及 Sp3 与预后的关系。**结果** Western blot 和 RT-PCR 法的结果均显示: (1) Sp3 在 HCC 中的表达高于癌旁肝组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); (2) β -Catenin 在 HCC 中的表达高于癌旁肝组织, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); (3) Sp3 和 β -Catenin 在 HCC 中的表达与肿瘤直径和分级相关; (4) Sp3 和 β -Catenin 在 HCC 中的表达呈正相关 (Western blot: $r = 0.681, P = 0.000$; RT-PCR: $r = 0.641, P = 0.000$), 均与肿瘤大小和分化程度有关; (5) Sp3 高表达的病例预后较低表达的病例差 ($P < 0.05$)。**结论** Sp3 在 HCC 发生中起促进作用且与肿瘤恶性程度相关; Wnt 通路可能是其参与 HCC 发生、发展的途径。

[关键词] 癌, 肝细胞; 肝肿瘤; 转录因子 Sp3; β -Catenin

[中图分类号] R735.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)03-0356-05

Expression of transcription factor Sp3 in hepatocellular carcinoma*

Mo Weijia, Li Jia, Lu Huiping, Feng Zhenbo[△]

(Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning,

Guangxi Zhuang Autonomous Region 530021, China)

[Abstract] **Objective** To research the expression of Sp3 and β -Catenin in HCC and study the assessable factors of them for prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. **Methods** Western blot and RT-PCR methods were used to detect the expression of Sp3 and β -Catenin in HCC and the liver tissue beside tumor among 49 cases. We analyzed the difference of these two indexes expressed in HCC and the liver tissue beside tumor. Then we detected the correlation between these two indexes and the character of clinic pathology, and researched the correlation between Sp3 and the prognosis of HCC. **Results** The high expression rate of Sp3 in HCC was higher than that of liver tissue beside tumor ($P < 0.05$) according to Western blot and RT-PCR, the same to β -Catenin ($P < 0.05$). Expression of Sp3 and β -Catenin were both related with size of tumor and degree of differentiation. Positive correlation existed between these two indexes according to Western blot method ($r = 0.681, P = 0.000$) and RT-PCR method ($r = 0.641, P = 0.000$). The prognosis of cases with high expression of Sp3 was poorer than the low expression cases ($P < 0.05$). **Conclusion** Sp3 plays a promoter role in occurrence of HCC, which is correlated with the grade malignancy of HCC. Sp3 might participated in occurrence and development of HCC via the Wnt pathway.

[Key words] carcinoma, hepato cellular; liver neoplasms; transcription factor Sp3; β -Catenin

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是我国, 尤其是广西地区最常见的恶性肿瘤之一, 其发生、发展是一个多因素、多阶段积累的过程, 多种基因参与其中。转录因子 Sp3 (transcription factor Sp3, Sp3) 参与多种基因转录活性的调节, 目前已发现在多种肿瘤中均存在 Sp3 的异常表达^[1], 部分非肿瘤疾病如肾小球硬化也与 Sp3 相关^[2]。对于 Sp3 与肿瘤发生、发展的关系, 已有若干研究成果, 但关于 Sp3 在 HCC 中的作用目前相关的研究尚较少。 β -Catenin 是 Wnt 信号通路中的关键因子, 在通路的关键环节调控 c-myc 和 Cyclin D1 等癌基因的表达。研究显示, Wnt 通路参与 HCC 的发生^[3], β -Catenin 与 HCC 的高度恶性和浸润转移有关。目前, 对于 Sp3 与 β -Catenin 在 HCC 中的关系、Sp3 是否通过 Wnt 通路参与 HCC 发生、发展等问题未见相关报道。本试验对 Sp3 在 HCC 发生、发展中的作用, 及其与 β -Catenin 的关系进行研究, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2009 年 1 月至 2011 年 1 月新鲜冻

存的肝细胞癌及其癌旁肝组织标本 49 例 (梁索型 20 例, 透明细胞型 9 例, 混合细胞型 13 例, 腺样型 7 例); 患者年龄 25~73 岁, 中位年龄 45 岁; 男 43 例, 女 6 例; 按分化程度分高分化 (1~2 级) 和低分化 (3~4 级) 两组 (分级标准参照 2010 版《WHO 肿瘤分类与诊断标准》)。并收集肿瘤体积、甲胎蛋白及乙型肝炎表面抗原检测情况、TNM 分期、随访情况等资料。所有患者均未进行放疗及化疗, 以确保结果无其他影响因素。

1.2 方法

1.2.1 试验试剂 Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司; cDNA 逆转录试剂盒、Mixer、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 蛋白上样缓冲液购自美国 Thermo 公司; 兔抗人 Sp3 多克隆抗体购自美国 Bio-Legend 公司; 兔抗人 β -Catenin 抗体购自美国 Cell Signal Technology 公司; 羊抗兔 IgG (H+L) HRP 连接二抗购自美国 Santa cruz 公司; Western-Blot GAPDH 内参购自上海康成公司; RIPA 裂解液 (强)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒工作盒、发光剂、苯甲基磺酰氟 (PMSF)

等购自北京碧云天生物技术研究。引物由上海捷瑞公司设计及合成目的基因 Sp3:上游 5'-GCT TGC ACC TGT CCC AAC TGT A-3',下游 5'-CTC CAG AAT GCC AAC GCA GA-3';目的基因 β -Catenin:上游 5'-GAG TGC TGA AGG TGC TAT CTG TC-3',下游 5'-CTG AAC AAG AGT CCC AAG GAG A-3';内参基因 β -actin:上游 5'-GCA CCA CAC CTT CTA CAA TGA GC-3';下游 5'-GGA TAG CAC AGC CTG GAT AGC AAC-3'。

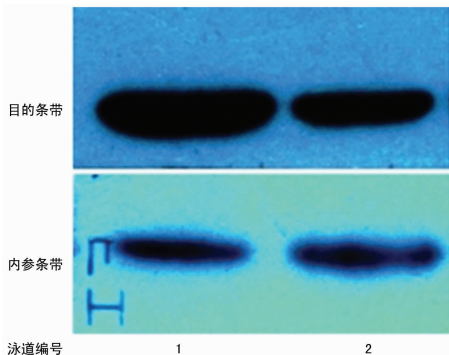
1.2.2 Western blot 法 提取总蛋白、加入上样缓冲液煮沸 5 min 变性后上样电泳,100 mA 恒流条件下转膜(Sp3 90 min、 β -Catenin 120 min、内参 60 min),5%脱脂牛奶室温封闭 1 h,4℃孵育一抗(Sp3 工作浓度为 1.33 μ L/mL、 β -Catenin 工作浓度为 1 μ L/mL)12 h,TBST 洗膜 5 min \times 2 次,室温孵育二抗(二抗工作浓度 0.1 μ L/mL)1 h,TBST 洗膜 5 min \times 2 次,滴加发光剂,柯达胶片曝光显影,胶片拍照后用 Quantity one 软件分析图像及数据。

1.2.3 RT-PCR 法 Trizol 提取总 RNA 后逆转录得到 cDNA,以 β -actin 为内参按以下程序进行 PCR 反应:95℃预变性 5 min。以 95℃变性 1 min、退火(Sp3 和内参 54℃、 β -Catenin 56℃)30 s、72℃延伸 1 min 为一个循环,Sp3 和 β -Catenin 分别 35、37 个循环;内参 25 个循环。之后均 72℃再延伸 10 min、4℃暂保存。所得产物以 18 g/L 琼脂糖凝胶电泳、核酸染料染色,应用 Bio-Rad 凝胶成像系统采图后用 Quantity one 软件分析图像及数据。

1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件处理,对 Sp3、 β -Catenin 在 HCC 及其癌旁肝组织中表达的差异性、二者表达与 HCC 临床病理特征的关系用 χ^2 检验或 Fisher's 确切概率法分析;对 Sp3 和 β -Catenin 在 HCC 中表达相关性用 Spearman 等级相关分析;对 Sp3 与 HCC 预后的关系用 Log-Rank 法分析。检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

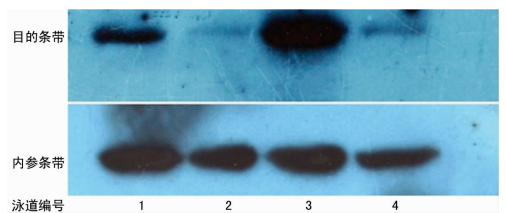
2.1 Sp3 表达结果 经 Western blot 法检测,HCC 组织中 Sp3 的高表达率高于癌旁肝组织[59.18%(29/49)vs.28.57%(14/49)], $\chi^2=4.732,P=0.03$,见图 1。Sp3 在 HCC 中的表达与肿瘤直径和分级相关($P<0.05$),而与年龄、性别、TNM 分期、甲胎蛋白及乙型肝炎表面抗原情况无关($P>0.05$),见表 1、图 2~3。



1:HCC;2:癌旁肝组织。

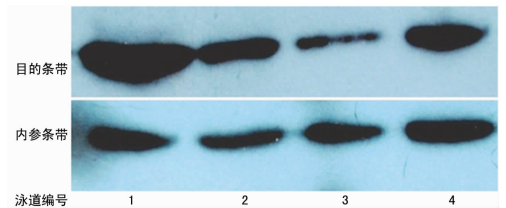
图 1 Sp3 在 HCC 与癌旁肝组织中的表达 (Western blot)

经 RT-PCR 法检测,HCC 组织中 Sp3 的高表达率高于癌旁肝组织[63.27%(31/49)vs.26.53%(13/49)], $\chi^2=13.364,P=0.000$,见图 4。Sp3 在 HCC 中的表达与肿瘤直径和分级相关($P<0.05$),而与年龄、性别、TNM 分期、甲胎蛋白及乙肝表面抗原情况无关($P>0.05$),见表 2、图 5~6。



1:小体积 HCC;2:泳道 1 对应的癌旁肝组织;3:大体积 HCC;4:泳道 3 对应的癌旁肝组织。

图 2 Sp3 在不同体积 HCC 中的表达 (Western blot)



1:低分化 HCC;2:泳道 1 对应的癌旁肝组织;3:泳道 4 对应的癌旁肝组织;4:高分化 HCC。

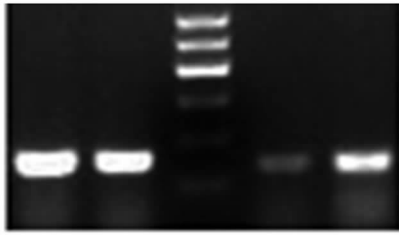
图 3 Sp3 在不同分化 HCC 中的表达 (Western blot)

表 1 Sp3 与 HCC 临床病理特征 (Western blot)

项目	Sp3		χ^2	P
	低表达(n)	高表达(n)		
性别			0.158	0.691
男	18	25		
女	2	4		
年龄(岁)			3.494	0.062
<50	10	22		
≥ 50	10	7		
肿瘤直径(cm)			5.980	0.014
<5	10	5		
≥ 5	10	24		
分级			24.191	0.000
1~2	16	3		
3~4	4	26		
TNM 分期			3.494	0.062
I~II	10	22		
III~IV	10	7		
AFP			1.338	0.247
-	7	15		
+	13	14		
HBsAg			0.021	0.884
-	8	11		
+	12	18		

AFP:甲胎蛋白;HBsAg:乙型肝炎表面抗原。

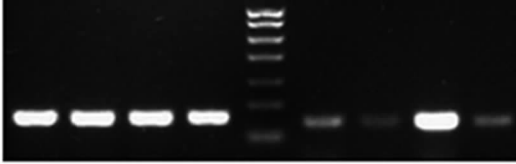
两种方法均显示 Sp3 在有肝硬化的癌旁肝组织中的表达高于无明显病变的癌旁肝组织[Western blot:52.17%(12/23)vs.7.69%(2/26)], $\chi^2=11.832,P=0.001$;RT-PCR:47.83%(11/23)vs.7.69%(2/26)], $\chi^2=10.085,P=0.001$,见图 7~8。



泳道编号 1 2 3 4 5

1,2:泳道 4,5 的内参;3:Marker;4:癌旁肝组织;5:HCC。

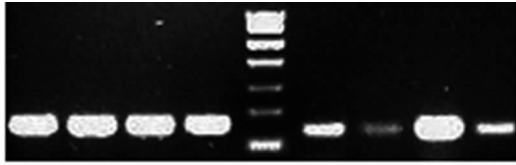
图 4 Sp3 在 HCC 与癌旁肝组织中的表达 (RT-PCR)



泳道编号 1 2 3 4 5 6 7 8 9

1~4:泳道 6~9 的内参;5:Marker;6:小体积 HCC;7:泳道 6 对应的癌旁肝组织;8:大体积 HCC;9:泳道 8 对应的癌旁肝组织。

图 5 Sp3 在不同体积 HCC 中的表达 (RT-PCR)



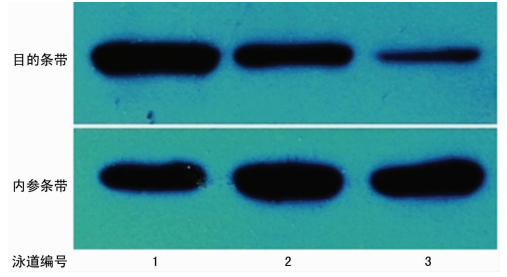
泳道编号 1 2 3 4 5 6 7 8 9

1~4:泳道 6~9 的内参;5:Marker;6:高分化 HCC;7:泳道 6 对应的癌旁肝组织;8:低分化 HCC;9:泳道 8 对应的癌旁肝组织。

图 6 Sp3 在不同分化 HCC 中的表达 (RT-PCR)

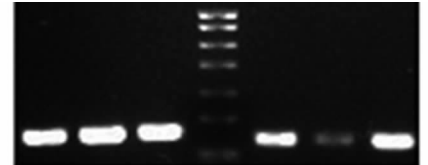
表 2 Sp3 与 HCC 临床病理特征 (RT-PCR)

项目	Sp3		χ^2	P
	低表达(n)	高表达(n)		
性别			0.034	0.854
男	16	27		
女	2	4		
年龄(岁)			2.942	0.086
<50	9	23		
≥50	9	8		
肿瘤直径(cm)			5.035	0.025
<5	9	6		
≥5	9	25		
分级			18.231	0.000
1~2	14	5		
3~4	4	26		
TNM 分期			2.942	0.086
I~II	9	23		
III~IV	9	8		
AFP			1.538	0.215
-	6	16		
+	12	15		
HBsAg			0.000	0.990
-	7	12		
+	11	19		



泳道编号 1 2 3

1:HCC;2:硬化癌旁肝组织;3:无硬化癌旁肝组织中的表达 (Western blot)



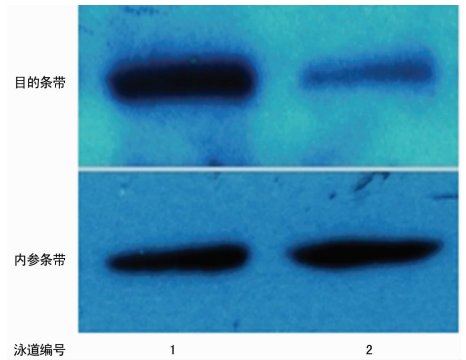
泳道编号 1 2 3 4 5 6 7

1~3:泳道 5~7 内参;4:Marker;5:硬化癌旁肝组织;6:无硬化癌旁肝组织;7:HCC 组织。

图 8 Sp3 在无硬化癌旁肝组织与硬化癌旁肝组织中的表达 (RT-PCR)

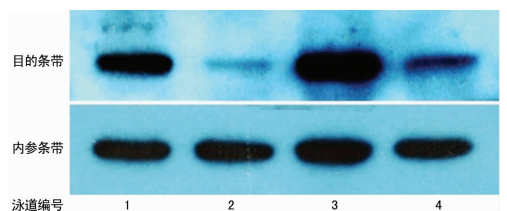
2.2 两种方法检测 Sp3 结果的一致性 经 Spearman 等级相关分析两种方法检测 Sp3 结果的一致性显示:两种方法的检测结果呈正相关($r=0.789, P<0.01$)。

2.3 β -Catenin 表达 经 Western blot 法检测,HCC 组织中 β -Catenin 的高表达率高于癌旁肝组织 [51.02% (25/49) vs. 24.49% (12/49), $\chi^2=7.338, P=0.007$],见图 9。 β -Catenin 在 HCC 组织中的表达与肿瘤直径和分级相关($P<0.05$),而与年龄、性别、TNM 分期、甲胎蛋白及乙肝表面抗原情况无关($P>0.05$),见表 3、图 10~11。



泳道编号 1 2

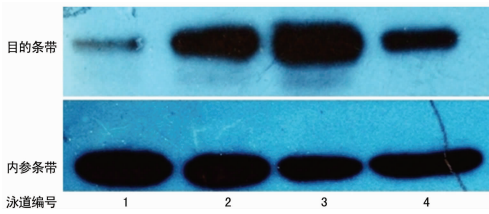
1:HCC;2:癌旁肝组织。图 9 β -Catenin 在 HCC 与癌旁肝组织中的表达 (Western blot)



泳道编号 1 2 3 4

1:小体积 HCC;2:泳道 1 对应的癌旁肝组织;3:大体积 HCC;4:泳道 3 对应的癌旁肝组织。

图 10 β -Catenin 在不同体积 HCC 中的表达 (Western blot)

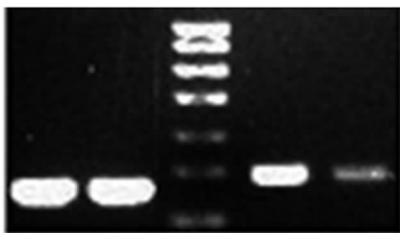


1:泳道 2 对应的癌旁肝组织;2:高分化 HCC;3:低分化 HCC;4:泳道 3 对应的癌旁肝组织。

图 11 β -Catenin 在不同分化 HCC 中的表达 (Western blot)

表 3 β -Catenin 与临床病理特征 (Western blot)

分组	β -Catenin		χ^2	P
	低表达(n)	高表达(n)		
性别			0.670	0.413
男	22	21		
女	2	4		
年龄(岁)			1.951	0.162
<50	18	14		
≥ 50	6	11		
肿瘤直径(cm)			5.131	0.024
<5	11	4		
≥ 5	13	21		
分级			7.579	0.006
1~2	14	5		
3~4	10	20		
TNM 分期			1.009	0.315
I~II	14	18		
III~IV	10	7		
AFP			0.199	0.656
-	10	12		
+	14	13		
HBsAg			0.987	0.320
-	11	8		
+	13	17		

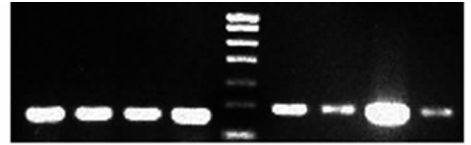


1~2:泳道 4~5 的内参;3:Marker;4:HCC;5:癌旁肝组织。

图 12 β -Catenin 在 HCC 与癌旁肝组织中的表达 (RT-PCR)

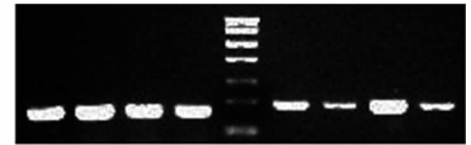
经 RT-PCR 法检测, HCC 组织中 β -Catenin 的高表达率高于癌旁肝组织 [53.06% (26/49) vs. 14.29% (7/49), $\chi^2 = 16.493, P = 0.000$], 见图 12。 β -Catenin 在 HCC 组织中的表

达与肿瘤直径和分级相关 ($P < 0.05$), 而与年龄、性别、TNM 分期、甲胎蛋白及乙肝表面抗原情况无关 ($P > 0.05$), 见表 4、图 13~14。



1~4:泳道 6~9 的内参;5:Marker;6:小体积 HCC;7:泳道 6 对应的癌旁肝组织;8:大体积 HCC;9:泳道 8 对应的癌旁肝组织。

图 13 β -Catenin 在不同体积 HCC 中的表达 (RT-PCR)



1~4:泳道 6~9 的内参;5:Marker;6:高分化 HCC;7:泳道 6 对应的癌旁肝组织;8:低分化 HCC;9:泳道 8 对应的癌旁肝组织。

图 14 β -Catenin 在不同分化 HCC 中的表达 (RT-PCR)

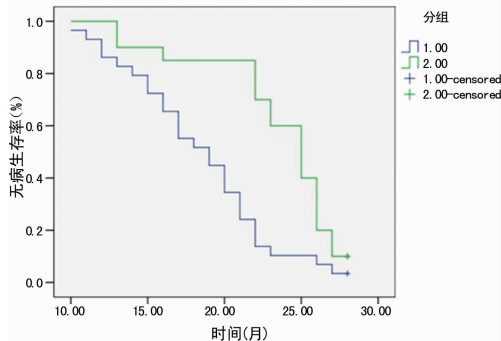
表 4 β -Catenin 与临床病理特征 (n)

指标	β -Catenin		χ^2	P
	低表达(n)	高表达(n)		
性别			0.508	0.476
男	21	22		
女	2	4		
年龄(岁)			1.476	0.224
<50	13	19		
≥ 50	10	7		
肿瘤直径(cm)			6.047	0.014
<5	11	4		
≥ 5	12	22		
分级			8.913	0.003
1~2	14	5		
3~4	9	21		
TNM 分期			0.377	0.539
I~II	14	18		
III~IV	9	8		
AFP			0.583	0.445
-	9	13		
+	14	13		
HBsAg			1.496	0.221
-	11	8		
+	12	18		

2.4 Sp3 与 β -Catenin 相关性分析 两种方法均显示:多数 Sp3 高表达的病例 β -Catenin 也高表达。经相关性分析,在

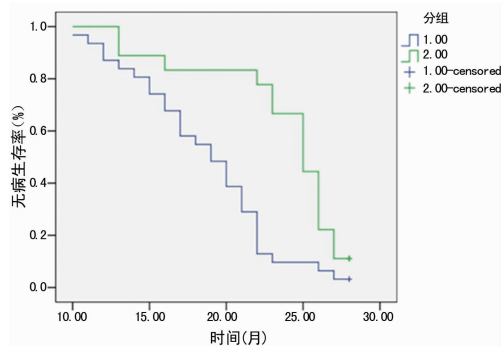
HCC 组织中二者的表达呈正相关 (Western blot; $r=0.681$, $P=0.000$; RT-PCR; $r=0.641$, $P=0.000$)。

2.5 Sp3 与 HCC 预后的关系 随访时间为 28 个月, 死亡及复发均判为终止事件。经 Western blot 法检测, 20 例 Sp3 低表达的病例无病生存时间平均为 23.4 个月, 预后明显好于 Sp3 高表达的病例 (此类病例无病生存时间平均为 18.4 个月)。生存分析显示预后差异有统计学意义 ($P=0.001$), 见图 15。经 RT-PCR 法检测, 18 例 Sp3 低表达的病例无病生存时间平均为 23.6 个月, 预后明显好于 Sp3 高表达的病例 (此类病例无病生存时间平均为 18.6 个月), 生存分析显示预后差异有统计学意义 ($P=0.001$), 见图 16。



1: Sp3 高表达的 HCC 病例; 2: Sp3 低表达的 HCC 病例。

图 15 生存曲线 (Western blot)



1: Sp3 高表达的 HCC 病例; 2: Sp3 低表达的 HCC 病例。

图 16 生存曲线 (RT-PCR)

3 讨论

Sp3 与 Sp1 均为 Sp 家族成员, 并有最为相似的细胞分布和 DNA 识别序列, Sp3 对 Sp1 的结合位点均有较强的结合能力。Sp1 与 HCC 发生、发展的关系已被研究证实^[4-6], 但对其同家族的 Sp3 在 HCC 发生、发展过程中作用的研究则鲜有报道。

本试验研究以 Western blot 及 RT-PCR 两种方法检测 Sp3 在 HCC 及其癌旁肝组织中的表达情况, 发现 Sp3 在 HCC 中的表达高于癌旁肝组织, 提示 Sp3 在 HCC 的发生过程中是一促进因子。此外, 在大体积、低分化的 HCC 组织中, Sp3 的高表达率增加, 因而推测 Sp3 还能反映肿瘤的恶性程度, Sp3 高表达的 HCC 具有较高的恶性程度。这一推论符合生存分析的结果: Sp3 高表达的 HCC 病例, 预后较低表达的病例差, 出现了更短的平均生存时间和更高的病死/复发率。因此, Sp3 高表达或许可作为 HCC 的危险信号, 提示高度恶性、预后不佳。以往有研究报道 Sp3 高表达与头颈部肿瘤预后不良相关^[7], 本研究结果与以往文献报道相符。

HCC 的发生是一个多种基因参与、多阶段、多因素积累的过程, Shiraha 等^[8]的研究表明至少有 4 类基因的变异及其所引起的生物学变化参与了 HCC 的发生, 其中之一是促肿瘤生成通路的激活。在各种促肿瘤形成通路中, Wnt 是最主要的通路, 其在 HCC 发生过程中所起的关键作用已被较多研究证实^[9-10]。β-Catenin 作为 Wnt 通路参与众多基因表达调节的中心环节^[11], 是 Wnt 通路促进 HCC 发生、发展的关键因子^[12]。因此, β-Catenin 及其所在的 Wnt 通路与 HCC 的发生、发展关系密切。本试验研究以 Western blot 和 RT-PCR 两种方法检测 β-Catenin 在 HCC 及其癌旁肝组织中的表达情况, 所得结果相似, 即 β-Catenin 在 HCC 组织中的表达高于癌旁肝组织, 且在大体积、低分化的 HCC 组织中, β-Catenin 表达进一步增强, 再次证实了 β-Catenin 在 HCC 发生中的促进作用, 及其与 HCC 恶性程度相关。

β-Catenin 富含 GC 序列^[13], 而 Sp3 可以特异地识别和调控富含 GC 序列的基因, 故 Sp3 与 β-Catenin 之间极有可能存在调控机制。相关分析发现, 在 HCC 组织中 Sp3 与 β-Catenin 呈正相关, 且二者的表达与 HCC 临床病理特征的关系也一致, 提示 Wnt 通路可能是 Sp3 促进 HCC 发生、发展的机制之一。目前, 有少量关于 Sp 家族蛋白与 Wnt 通路关系的研究, 如 Pathi 等^[14]的研究认为, 在大肠癌中 Sp 家族蛋白 Sp1、Sp3 及 Sp4 对 β-Catenin 有调控作用。而另有研究报道, Sp 家族蛋白在 Wnt/β-Catenin 通路中是一关键作用因子^[15]。本试验所显示出的 Sp3 与 β-Catenin 在 HCC 组织中的相关性, 可作为 Sp3 参与 HCC 发生、发展机制及 Sp3 与 Wnt/β-Catenin 通路关系的初步探讨。

HCC 进展较快, 且起病隐匿难以早期发现, 手术治疗效果普遍不理想^[16]。据文献报道 HCC 根治性切除后 5 年复发率仍高达 70%, 且复发时多数患者已发生远处转移^[16]。因此, 应用更多的早期诊断手段、确立更多的早期诊断指标以尽可能的早诊早治是提高 HCC 疗效的关键。本试验发现, 在存在硬化病变的癌旁肝组织中, Sp3 表达高于无明显病变的癌旁肝组织, 鉴于肝硬化是 HCC 公认的高危因素和癌前病变^[17], 可将 Sp3 视为一个潜在的 HCC 早期诊断指标进行相关研究。

参考文献

- [1] Li L, Davie JR. The role of Sp1 and Sp3 in normal and cancer cell biology[J]. *Ann Anat*, 2010, 192(5): 275-283.
- [2] Xu HG, Ren W, Zou L, et al. Transcriptional control of human CD2AP expression: the role of Sp1 and Sp3[J]. *Mol Biol Rep*, 2012, 39(2): 1479-1486.
- [3] Fatima S, Lee NP, Luk JM. Dickkopfs and Wnt/β-catenin signalling in liver cancer[J]. *World J Clin Oncol*, 2011, 2(8): 311-325.
- [4] Guo D, Wu B, Yan J, et al. A possible gene silencing mechanism: hypermethylation of the Keap1 promoter abrogates binding of the transcription factor Sp1 in lung cancer cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2012, 428(1): 80-85.
- [5] Song IS, Ha GH, Kim JM, et al. Human ZNF312b oncogene is regulated by Sp1 binding to its promoter region through DNA demethylation and histone acetylation in gastric cancer[J]. *Int J Cancer*, 2011, 129(9): 2124-2133.
- [6] Wei M, Liu B, Gu Q, et al. Stat6 cooperates with Sp1 in controlling breast cancer cell proliferation by modulating

- the expression of p21(Cip1/WAF1) and p27 (Kip1)[J]. *Cell Oncol (Dordr)*, 2013, 36(1):79-93.
- [7] Essafi-Benkhadir K, Grosso S, Puissant A, et al. Dual role of Sp3 transcription factor as an inducer of apoptosis and a marker of tumour aggressiveness[J]. *PLoS One*, 2009, 4(2):e4478.
- [8] Shiraha H, Yamamoto K, Namba M. Human hepatocyte carcinogenesis (review) [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(4):1133-1138.
- [9] Koga H, Tsedensodnom O, Tomimaru Y, et al. Loss of the SxxSS motif in a human T-cell factor-4 isoform confers hypoxia resistance to liver cancer; an oncogenic Switch in Wnt signaling[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6):e39981.
- [10] Liu G, Jiang S, Wang C, et al. Zinc finger transcription factor 191, directly binding to β -catenin promoter, promotes cell proliferation of hepatocellular carcinoma[J]. *Hepatology*, 2012, 55(6):1830-1839.
- [11] Li ZQ, Ding W, Sun SJ, et al. Cyr61/CCN1 is regulated by Wnt/ β -catenin signaling and plays an important role in the progression of hepatocellular carcinoma [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4):e35754.
- [12] Guan CN, Chen XM, Lou HQ, et al. Clinical significance of axin and β -catenin protein expression in primary hepatocellular carcinomas[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2012, 13(2):677-681.
- [13] Kojima N, Saito H, Nishikawa M, et al. Lithium induces c-Ret expression in mouse inner medullary collecting duct cells[J]. *Cell Signal*, 2011, 23(2):371-379.
- [14] Pathi S, Jutooru I, Chadalapaka G, et al. Aspirin inhibits colon cancer cell and tumor growth and downregulates specificity protein (Sp) transcription factors [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e48208.
- [15] Dunty WC, Kennedy MW, Chalamalasetty RB, et al. Transcriptional profiling of Wnt3a mutants identifies Sp transcription factors as essential effectors of the Wnt/ β -catenin pathway in neuromesodermal stem cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1):e87018.
- [16] Ho CM, Lee PH, Shau WY, et al. Survival in patients with recurrent hepatocellular carcinoma after primary hepatectomy: comparative effectiveness of treatment modalities [J]. *Surgery*, 2012, 151(5):700-709.
- [17] Jepsen P, Ott P, Andersen PK, et al. Risk for hepatocellular carcinoma in patients with alcoholic cirrhosis: a Danish nationwide cohort study [J]. *Ann Intern Med*, 2012, 156(12):841-847.

(收稿日期:2015-08-08 修回日期:2015-10-16)

(上接第 355 页)

- [4] Stępień E, Stankiewicz E, Zalewski J, et al. Number of microparticles generated during acute myocardial infarction and stable angina correlates with platelet activation [J]. *Arch Med Res*, 2012, 43(1):31-35.
- [5] Tanner RM, Lynch AI, Brophy VH, et al. Pharmacogenetic associations of MMP9 and MMP12 variants with cardiovascular disease in patients with hypertension [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8):e23609.
- [6] Deleon-Pennell KY, De Castro Brás LE, Iyer RP, et al. P. gingivalis lipopolysaccharide intensifies inflammation post-myocardial infarction through matrix metalloproteinase-9 [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 76(18):218-226.
- [7] Springall R, Amezcua-Guerra LM, Gonzalez-Pacheco H, et al. Interferon-gamma increases the ratio of matrix metalloproteinase-9/tissue inhibitor of metalloproteinase-1 in peripheral monocytes from patients with coronary artery disease [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e72291.
- [8] Kulickowski W, Urbaniak J, Hallén J, et al. Matrix metalloproteinases and the activity of their tissue inhibitors in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with primary an-gioplasty [J]. *Kardiol Pol*, 2013, 71(5):453-463.
- [9] Guo JL, Yang YN, Ma YT, et al. Values of matrix metalloproteinase-9 in early diagnosis and short-term prognosis of ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2012, 92(38):2681-2684.
- [10] 梁俊清, 徐海波, 陈小娟, 等. 通心络通过 PI-3K/Akt/HIF 信号通路改善血管内皮细胞缺氧损伤 [J]. *中国病理生理杂志*, 2012, 32(5):846-851.
- [11] 段炼, 杨跃进, 张海涛, 等. 猪急性心肌梗死再灌注后氧化应激损伤及通心络的保护作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2010, 13(3):430-434.
- [12] Wang B, Yang Q, Bai WW, et al. Tongxinluo protects against pressure overload-induced heart failure in mice involving VEGF/Akt/eNOS pathway activation [J]. *PLoS One*, 2014, 9(6):e98047.
- [13] Su W, Sun A, Xu D, et al. Tongxinluo inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced maturation of human dendritic cells via activating peroxisome proliferator-activated receptor gamma pathway [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2010, 56(2):177-183.
- [14] Zhang L, Wu Y, Jia Z, et al. Protective effects of a compound herbal extract (Tong Xin Luo) on free fatty acid induced endothelial injury: implications of antioxidant system [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2008, 8(8):39.
- [15] Bai WW, Xing YF, Wang B, et al. Tongxinluo improves cardiac function and ameliorates ven-tricular remodeling in mice model of myocardial infarction through enhancing angiogenesis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013(2):813247.

(收稿日期:2015-08-08 修回日期:2015-10-26)