

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.07.005

转录因子 SOX2 对胃癌干细胞自我更新、增殖和迁移的影响 *

雷超 聂爱英 柯丽 张迪 赵晓迪[△] 时永全[△]

(第四军医大学西京消化病医院肿瘤生物学国家重点实验室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:检测 SOX2 在胃癌组织中的表达,探讨 SOX2 对胃癌干细胞自我更新、增殖和转移能力的影响。**方法:**采用免疫组化检测 SOX2 在胃癌及癌旁组织中的表达情况。通过肿瘤球形成实验富集、分离胃癌干细胞。构建 SOX2 过表达慢病毒并感染胃癌干细胞中,通过实时定量 PCR 和 western bolt 检测感染慢病毒后胃癌干细胞中 SOX2 表达情况。分别利用肿瘤球形成实验检测 SOX2 对胃癌肿瘤干细胞自我更新能力的影响,CCK-8 实验检测 SOX2 对胃癌干细胞增殖能力的影响,流式细胞术分析 SOX2 对胃癌干细胞的细胞周期的影响,Transwell 实验检测 SOX2 对胃癌干细胞转移能力的影响。**结果:**SOX2 在胃癌组织中表达显著低于癌旁组织。肿瘤球形成实验能够有效富集胃癌细胞 SGC-7901 和 BGC-823 的干细胞。慢病毒载体感染能够显著增强 SOX2 在胃癌干细胞中的表达。过表达 SOX2 能够抑制胃癌干细胞的自我更新、增殖和侵袭能力。**结论:**SOX2 在胃癌中发挥抑癌基因的功能,其机制可能通过抑制肿瘤干细胞的自我更新、增殖和侵袭转移能力而抑制胃癌的发生发展。

关键词:SOX2;胃癌;增殖;转移;肿瘤干细胞

中图分类号:R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)07-1220-05

Effect of Transcription Factor SOX2 on the Self-renewal, Proliferation and Migration of Gastric Cancer Stem cell*

LEI Chao, NIE Ai-ying, KE Li, ZHANG Di, ZHAO Xiao-Di[△], SHI Yong-quan[△]

(State Key Laboratory of Cancer Biology & Xijing Hospital of Digestive Diseases, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of SOX2 in gastric cancer and the role of SOX2 in the self-renewal, proliferation and migration of gastric cancer stem cell. **Methods:** The expression of SOX2 was detected by immunohistochemical staining in 40 cases of gastric cancer tissues and matched adjacent normal gastric tissues. Tumor sphere formation assay was used to enrich gastric cancer stem cell. Overexpression of SOX2 in gastric cancer stem cell was mediated by lentivirus infection and confirmed by real-time qPCR and Western blot. Tumor sphere formation assay was used to examine self-renewal ability of gastric cancer stem cell. Cell proliferation was detected with cell counting kit-8 assay. Cell cycle was determined with flow cytometry. Cell migration was assessed with Transwell migration assay. **Results:** SOX2 was significantly down-regulated in gastric cancer tissues compared with normal gastric tissues. Gastric cancer stem cells were enriched from SGC-7901 and BGC-823 cell lines through tumor sphere formation assays. Real-time qPCR and Western blot analysis indicated forced expression of SOX2 in gastric cancer stem cells by lentivirus infection. Overexpression of SOX2 significantly suppressed the self-renewal, proliferation and migration of gastric cancer stem cells from both SGC-7901 and BGC-823 cells. **Conclusion:** SOX2 functions as a potential tumor suppressor in gastric cancer and might inhibit gastric carcinogenesis and development through suppressing self-renewal, proliferation and migration ability of gastric cancer stem cells.

Key words: SOX2; Gastric cancer; Proliferation; Migration; Stem cell

Chinese Library Classification (CLC): R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)07-1220-05

前言

近年来,虽然胃癌的发病率有下降趋势,但仍然是威胁人类健康的重要疾病。在我国,胃癌发病率和死亡率均居第二位^[1],并且胃癌患者被发现时常常已经处于晚期并通常伴有转移,手

术、放疗、化疗等对中晚期胃癌患者的治疗效果均不理想。因此,对胃癌的发生机制的研究对于早期诊断和防治胃癌具有重要意义。

SOX 基因是一类调控早期胚胎发育、神经分化、性别导向、细胞生长转化等重要生命事件的基因家族,编码了一组进

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81470805);国家自然科学基金青年基金项目(81602641)

作者简介:雷超(1990-),硕士研究生,主要研究方向:胃早癌的防治研究,电话:15129232901,E-mail: leic0829@163.com

△ 通讯作者:时永全,博士生导师,教授,主要研究方向:消化系肿瘤的生物学行为及早癌防治研究,

电话:029-84771515,E-mail: shiyquan@fmmu.edu.cn;

赵晓迪,主治医师、讲师,主要研究方向:消化系肿瘤发生发展的分子机制研究,电话:029-84771522,E-mail: leedyzhao@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2016-11-01 接受日期:2016-11-25)

化上非常保守,结构上与 SRY 高度相关的转录因子,其家族成员广泛存在于动物界中。SOX2(Sex determining region Y-box 2, 性别决定区 Y 框蛋白 2) 属于 SOX 家族中的 B 亚家族中的重要一员。在结构上,SOX2 基因定位于 3 号染色体长臂 36.3-27 结构域内,含有一个外显子,能够编码表达由 317 个氨基酸残基构成的蛋白。在发育过程中,SOX2 主要参与了胚胎期胃肠道发育分化,主要与食管和胃的形成有关^[2]。近年来研究表明 SOX2 是也胚胎干细胞的一个标志物,对维持胚胎干细胞的自我更新与多向分化中起关键作用,常被作为一种多能性细胞谱系的分子^[3]。多项研究显示 SOX2 与实体肿瘤的发生密切相关,如在肺癌、食管癌、结肠癌、乳腺癌等中高表达,发挥促癌作用^[4-8],但其在胃癌的发生发展过程中的具体作用尚具有争议^[9,10]。本实验室前期通过大规模芯片筛选发现 SOX2 在从正常胃粘膜上皮到胃上皮肠化生到原发胃癌再到转移性胃癌的过程中表达逐渐降低,并且在胃癌中 SOX2 的表达情况与预后呈正相关^[11],过表达 SOX2 能够抑制胃癌细胞的体外增殖和转移,提示 SOX2 能够抑制胃癌的发生及抑制其恶性表型,但 SOX2 在胃癌发生过程中的具体作用及其机制仍未完全阐明。由于 SOX2 与干细胞密切相关,对干细胞的自我更新与多向分化等过程起关键作用。因此,我们推测在胃癌中 SOX2 可能通过影响胃癌干细胞进而调控胃癌的发生和转移,本实验拟通过探讨 SOX2 在胃癌干细胞中对胃癌干细胞自我更新、增殖和转移的影响,为进一步探究胃癌发生、发展及转移提供新的理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

胃癌芯片购买于西安艾丽娜生物公司,共 40 例标本,80 个阵列点。免疫组化试剂购自于北京中杉金桥公司。人胃癌细胞系 SGC-7901、BGC-823 均由本实验室保存。DMEM 培养液,0.25% 胰酶 trypsin 购买于 Gibco 公司。胎牛血清购买于 Biological Industries 公司。超低粘附 6 孔板及超低粘附的 25 cm² 培养瓶购自于美国 Corning 公司。生长因子 EGF 和 bFGF 购自于 novoprotein 公司。过表达 SOX2 慢病毒在上海吉凯公司定制。嘌呤霉素购自于 MP 公司。RNA 提取试剂盒、RNA 反转率试剂盒、Real-time qPCR 试剂盒购自于 Takara 公司。抗体 SOX2 购自于 abcam 公司,ACTIN 抗体购自于 sigma 公司,CD44、EPCAM 抗体购自于 CST 公司,CCK-8 试剂盒购自于日本同仁株式会社。8.0 μm 孔径的 transwell 小室购自于 millipore 公司。

1.2 方法

1.2.1 免疫组化 免疫组化采用 SP 免疫染色法。一抗 SOX2 抗体工作浓度 1:100。免疫组化结果统计采用半定量积分法计算免疫组化染色积分^[12]。即分别对每张切片的阳性细胞及阳性细胞着色强度进行分级记分,每个样本所见的阳性细胞分为 0~4 级,0 分为阴性,1 分阳性细胞占 1%~25%,2 分阳性细胞占 26%~50%,3 分阳性细胞占 51%~75%,4 分阳性细胞占 76%~100%;染色强度依照:未着色、浅黄色、棕黄色、棕褐色分别得 0 分、1 分、2 分、3 分;两项得分相乘得到该视野的最终得分,选取 5 个视野得分的平均值为最后得分。最后该切片

按照得分分为以下四个等级:0-1 分为 (-),2-4 分为 (+),5-7 分为 (++) ,≥ 8 分为 (+++)。(-)~(+) 为阴性表达,(++)~(+++) 为阳性表达。

1.2.2 细胞培养 人胃癌细胞系 SGC-7901、BGC-823 均生长于含 10% 胎牛血清 +50 U/mL 青霉素 +50 U/mL 链霉素的杜氏改良伊格格培养基中。细胞培养箱的培养条件为 37℃、体积分数为 5% 的 CO₂ 的饱和湿度。

1.2.3 肿瘤球形成实验 (Tumor sphere assay) 干细胞培养参考 Takaishi 及 Wu Q 的筛选胃癌干细胞的实验方法^[13,14],在超低粘附的 25 cm² 培养瓶中加入无血清的 DMEM 培养液,并加入 20 ng/mL EGF 和 10 ng/mL bFGF 生长因子培养,细胞重悬后每孔加入 1×10⁴ 个细胞。37℃ 细胞培养箱培养连续培养 7 天。倒置显微镜下观察肿瘤球形成数量及大小。

1.2.4 细胞感染 慢病毒构建及包装由吉凯公司完成。病毒感染前一天在 6 孔板铺细胞 20 万个/孔。感染 MOI 值为 20:1。病毒感染 12 小时后弃掉含病毒培养液,改换普通培养液。72 小时后荧光显微镜下观察荧光强度,并使用嘌呤霉素进一步筛选阳性细胞。筛选时间持续 7 天。

1.2.5 实时定量 PCR 检测 SOX2 的 mRNA 表达水平 RNA 提取使用 Takara 总 RNA 提取试剂盒按照说明书步骤提取总 RNA。使用 Takara 公司反转录试剂盒进行反转录。Real-time qPCR 使用 Takara 公司的 SYBRGreen I 嵌合荧光法进行 real-time qPCR 进行定量检测 mRNA。SOX2 PCR 引物序列:SOX2 上游为 5'-TACAGCATGTCTACTCGCAG-3',下游为 5'-GAGGAAGAGGTAACCACAGGG-3'。内参 ACTIN PCR 引物序列:上游为 5'-TGGCACCCAGCACAAATGAA-3',下游为 5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3'。Real-time qPCR 仪器使用 ROCH LightCycler480 System。反应条件为反应条件:95℃ 30s;95℃ 5 S,60℃ 30s,共 40 个循环。

1.2.6 Western bolt 检测蛋白 常规方法提取细胞总蛋白,加入蛋白上样缓冲液变性,变性后使用聚丙烯酰胺凝胶 (SDS-PAGE)电泳分离,转膜,封闭一抗,二抗,Bio-Rad 凝胶成像系统显影。

1.2.7 细胞体外增殖实验 将胃癌细胞球消化、重悬,制成单细胞悬液,每孔 3×10³/100 μL 细胞种植于 96 孔板内,每种细胞设 5 个复孔,37℃ 细胞培养箱培养过夜。第 2 天开始每天同一时间每孔加入 10 μL CCK-8 试剂,37℃ 孵育后 3 h 后在酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(A)值,连续测量 5 天。并使用 graph prism 5.0 作图软件绘制生长曲线。

1.2.8 流式检测细胞周期 送检的细胞球消化,PBS 重悬洗细胞 1 遍,取 1×10⁶ 个细胞,1 mL PBS 和 2 mL 无水乙醇固定,送流式检测仪检测细胞周期。

1.2.9 细胞体外迁移试验 将细胞球消化、重悬,制成单细胞悬液。将 5×10⁴ 个上述细胞重悬于 200 μL 无血清 DMEM 培养液中,种植于 Transwell 小室内,再将小室置于含 20% 胎牛血清 DMEM 培养基的 24 孔板内,孵育后 24 h 后取出小室,95% 甲醛固定 10 min,0.5% 结晶紫染色 1 min,流水冲洗。在光学显微镜下随机选取 5 个视野拍照,计算平均细胞数并做统计分析。

1.3 统计学分析

绘图及统计分析采用 GraphPad Prism5.0 软件分析, 组间分析采用独立样本 t 检验。计数资料以比率或比表示, 采用卡方检验进行比较, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 SOX2 在胃癌及其癌旁组织中表达

免疫组化结果显示: SOX2 在正常胃粘膜中表达呈强阳性, 而在胃癌组织中表达显著降低(图 1); SOX2 在胃癌组织中阳性率为 32.5%, 而在癌旁组织中 SOX2 阳性率为 77.5%, 显著高于胃癌组织, 差异具有统计学意义(表 1)。

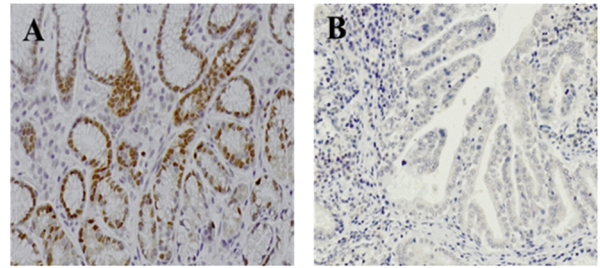


图 1 SOX2 在胃癌及癌旁组织中表达情况 $\times 100$
Fig.1 SOX2 expression in gastric cancer and match normal tissue $\times 100$
Note: A: normal tissue B: cancer tissue.

表 1 SOX2 在胃癌及其匹配癌旁组织中表达情况

Table 1 SOX2 expression in gastric cancer tissues and match normal tissues

Groups	Total number	positive(++~+++)	Negative(--+)	Percentage of positive	P value
Normal tissue	40	31	9	77.5%	$P < 0.001$
Cancer tissue	40	13	27	32.5%	

2.2 胃癌干细胞富集和鉴定

我们采用肿瘤球形成实验成功富集到能够形成肿瘤球的胃癌干细胞(图 2A,B), 并且通过 western bolt 实验验证在形成

肿瘤球样的胃癌细胞中, 胃癌干细胞表面标志物 CD44、EPCAM 表达显著升高(图 2C)。

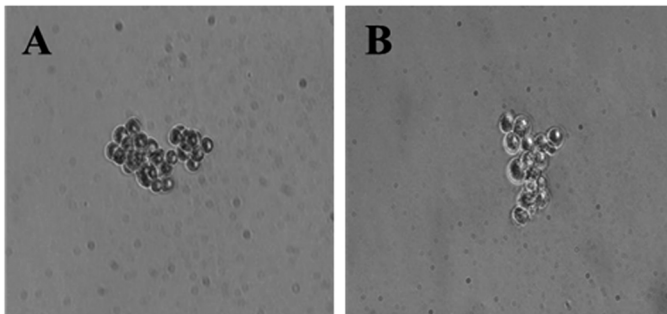
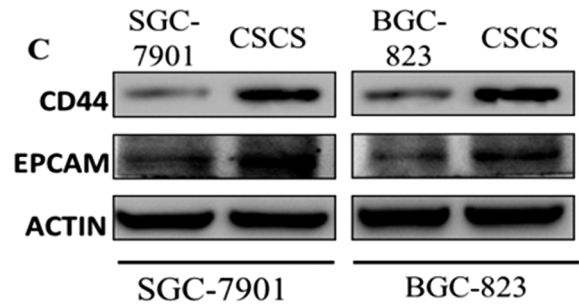


图 2 胃癌干细胞形成的肿瘤球的形态及干细胞表面标志物表达

Fig.2 Morphology of tumor sphere from gastric cancer stem cells, and expression of cancer stem cell marker in gastric cancer stem cell compare with gastric cancer cell

Note: A: tumor sphere from SGC-7901 B: tumor sphere from BGC-823.



2.3 慢病毒感染胃癌干细胞后 SOX2 的 mRNA 和蛋白表达

按照吉凯基因公司的操作步骤感染病毒, 构建过表达 SOX2 慢病毒载体和空白对照慢病毒感染富集的胃癌干细胞, 72 小时后在倒置荧光显微镜下观察感染效率。荧光显微镜观察结果显示, 细胞的病毒感染率约为 90%, real-time qPCR 结果显示感染过表达 SOX2 慢病毒的细胞中 SOX2 的 mRNA 水平与空白对照细胞相比, SOX2 mRNA 表达升高了 1400 倍(图 3A)。western blot 结果显示染过表达 SOX2 慢病毒的细胞中 SOX2 表达显著高于空白对照组(图 3B), 表明包含 SOX2 基因的慢病毒成功感染到胃癌干细胞中。

2.4 SOX2 对胃癌干细胞自我更新的影响

采用成功感染 SOX2 慢病毒的胃癌干细胞进行肿瘤球形成实验^[4]。结果显示: 过表达 SOX2 的胃癌干细胞形成肿瘤球的数量和大小均显著低于 NC 空白对照的胃癌干细胞(图 4), 提示 SOX2 抑制了胃癌干细胞的自我更新。

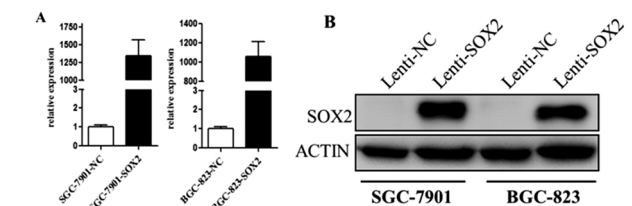


图 3 SOX2 在 SGC-7901 和 BGC-823 胃癌干细胞稳转细胞系中表达情况

Fig.3 SOX2 expression in SGC-7901 and BGC-823 gastric cancer stem cell stable transfected

Note: A: real-time qPCR B: western bolt.

2.5 SOX2 对胃癌干细胞增殖和转移能力的影响

采用成功感染 SOX2 慢病毒的胃癌干细胞进行体外增殖实验和体外迁移实验, CCK-8 实验结果显示与空白对照细胞相比, 过表达 SOX2 的胃癌干细胞的增殖能力被显著抑制(图 5A); 流式检测细胞周期结果显示过表达 SOX2 的细胞 G1 期

的百分比增加(图 5B)。提示过表达 SOX2 能够阻滞胃癌干细胞周期,抑制其自我更新和分化;Transwell 实验结果显示与 NC 对照组的胃癌干细胞相比过表达 SOX2 的胃癌干细胞穿过

transwell 小室的细胞数量明显减少(图 6),差异具有统计学意义。以上结果表明 SOX2 能显著抑制胃癌干细胞在体外的增殖和转移。

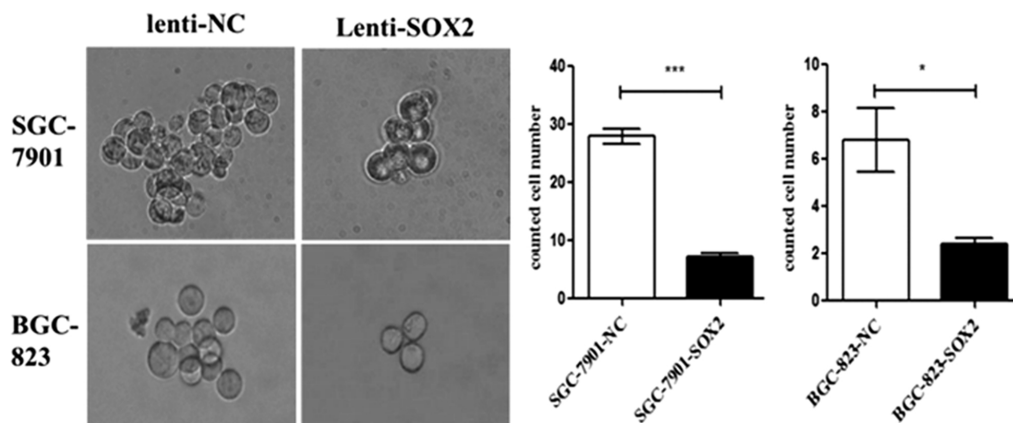


图 4 肿瘤球形成实验检测 SOX2 对胃癌干细胞自我更新的影响

Fig.4 Effects of SOX2 to gastric cancer stem cell self-renewal by tumor sphere assay

Note: *** P<0.001, compared with control group.

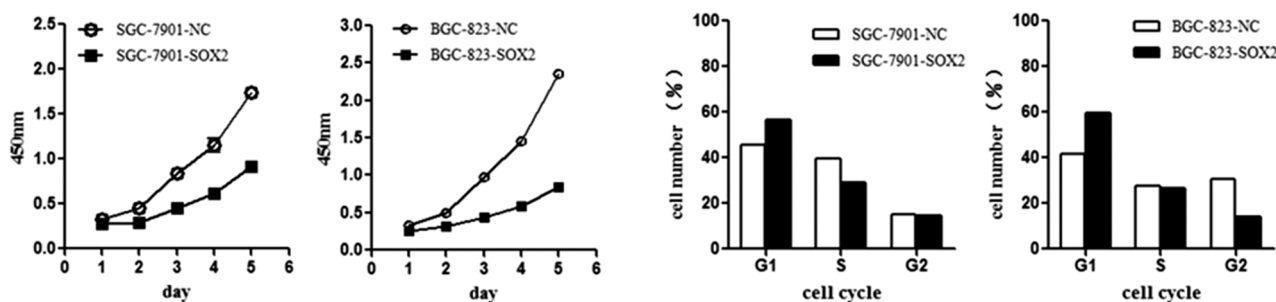


图 5 CCK-8 实验和流式细胞术检测 SOX2 对胃癌干细胞增殖能力的影响

Fig. 5 Effects of SOX2 on cell proliferation by CCK-8 assay and flow cytometry

Note: A: CCK-8 assay B: flow cytometry.

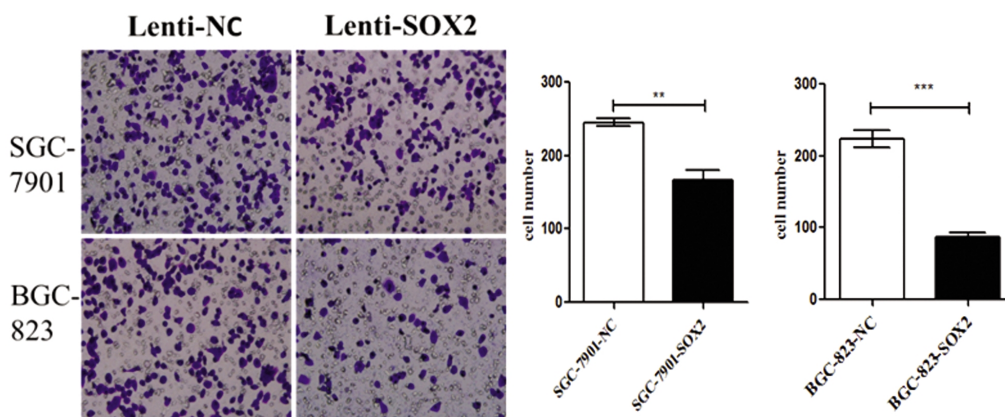


图 6 细胞迁移实验检测 SOX2 对胃癌干细胞转移能力的影响

Fig. 6 Effects of SOX2 on gastric cancer stem cell metastasis by transwell assay

Note: ** P<0.01; *** P<0.001, compared with control group.

3 讨论

肿瘤干细胞是肿瘤细胞中很小一部分能够自我更新和无限增殖和多向分化的细胞,参与了肿瘤的发生、发展、转移、复发等特性。在胃癌中,胃癌干细胞被认为是胃癌的起始来源,参与了胃癌细胞的生长、侵袭、转移和耐药的多种恶性表型^[15]。Wu Q 研究发现 MiR-19b/20a/92a 可以通过抑制 E2F1 和 HIPK1

蛋白途径调控胃癌干细胞的自我更新和增殖,促进胃癌的发生^[14]。Demitrack ES 研究发现 Notch 信号通路可以活化 LGR5+ 的胃癌干细胞的增殖。进而促进胃癌的发生^[16]。Wu K 研究发现 miRNA483-5p 作为一个促癌 microRNA,能够通过活化 Wnt/β-catenin 通路促进胃癌干细胞的自我更新、增殖和侵袭^[17]。研究肿瘤干细胞对肿瘤的恶性表型的影响,需要得到肿瘤干细胞。目前公认得到肿瘤干细胞的方法有以下几种:①肿

瘤球形成实验,即将普通肿瘤细胞放在无血清的培养基中生长,干细胞能够成球样生长,从而得到肿瘤干细胞。②通过流式细胞仪进行干细胞表面标志物筛选得到肿瘤干细胞,如 CD44, CD133, EPCAM 等表面标志物。③根据干细胞能够外排荧光染料能力的特性可以通过流式细胞仪进行侧群细胞筛选法得到肿瘤干细胞。实验中通常以使用以上三种方法中的一种或多种方法来得到肿瘤干细胞。本实验通过肿瘤球富集、分离胃癌干细胞,并通过检测标识分子 CD44 和 EPCAM 表达,最终确认获得了胃癌干细胞,为下一步的实验奠定了基础。

SOX2 是一个高度保守的干细胞转录因子,在早期胚胎发育和器官发生、机体组织稳态维持和再生、成熟细胞增殖和分化等多种重要的生理过程中都发挥着关键作用。在人类消化道,SOX2 特异性高表达于胃上皮细胞,主要位于胃底和幽门粘膜,而在小肠和结肠中则不表达,因而被称为胃特异性转录因子^[8]。多项研究显示 SOX2 在肿瘤发生过程中发挥着重要作用。在 Correa 提出的从正常胃上皮到萎缩性胃炎、肠上皮化生、不典型增生到最终胃癌的公认胃癌发生模式中^[9],SOX2 表达逐渐降低,扮演着抑癌基因的作用。如 sharker 的研究发现 SOX2 能过抑制 Wnt/ β -catenin 的活化,同时 SOX2 能够抑制正常胃上皮细胞向肠型细胞转化来抑制胃癌的发生^[9]。wang 的研究发现 SOX2 的缺失能够通过减弱对 PTEN 的抑制,使 PTEN 的表达显著增加,从而促进胃癌的增殖和转移^[10]。Otsubo T 研究发现 miR-126 在胃癌组织中高表达,能够抑制 SOX2 的表达来促进胃癌的发生^[20],但 SOX2 在胃癌干细胞中对胃癌干细胞的调控作用目前仍不十分清楚。本研究首先在胃癌临床标本中验证 SOX2 的表达情况,发现 SOX2 在胃癌组织中表达显著降低。随后的实验表明增强 SOX2 在胃癌干细胞中的表达,可以显著抑制胃癌干细胞的肿瘤球形成能力,也即自我更新能力。增殖和转移潜能是肿瘤干细胞的重要特性。我们的研究也显示过表达 SOX2 能够抑制胃癌干细胞的增殖和体外侵袭能力,再一次印证了 SOX2 对胃癌干细胞的负向调控。上述研究提示 SOX2 是一个潜在的抑癌基因,可能通过抑制胃癌干细胞的自我更新而阻止胃癌的发生发展。

作为一个转录因子,SOX2 主要通过调控其下游靶基因的表达而发挥作用。既往的研究表明 PTEN 是 SOX2 的下游靶基因之一,SOX2 可能通过促进 PTEN 的表达而抑制 PI3K/AKT 信号通路^[10]。然而,胃癌干细胞的自我更新主要受 Notch、WNT 和 BMP 信号通路调控。PTEN 以及 PI3K/AKT 虽然与上述通路存在一定的联系,但并非主要调控分子。因此,我们推测应当还有其他下游靶分子介导 SOX2 调控胃癌干细胞的作用。此外,SOX2 在胃癌中的表达是如何丢失的,其机制尚未明确。这些问题都有待于进一步的研究阐明。

综上,本研究表明 SOX2 在胃癌中表达下调,SOX2 可能通过抑制胃癌干细胞的自我更新和增殖、转移,进而抑制胃癌的发生发展。作为一个潜在的抑癌基因,SOX2 有望成为胃癌诊断和治疗的一个标志分子,其在胃癌中的表达缺失机制以及调控胃癌干细胞的下游机制值得进一步研究。

参考文献(References)

- [1] Chen W, Zheng R, Baade PD, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66(2): 115-132
- [2] Kelberman D, Rizzoti K, Avilion A, et al. Mutations within Sox2/SOX2 are associated with abnormalities in the hypothalamo-pituitary-gonadal axis in mice and humans [J]. J Clin Invest, 2006, 116(9): 2442-2455
- [3] Driessens G, Blanpain C. Long live sox2: sox2 lasts a lifetime [J]. Cell Stem Cell, 2011, 9(4): 283-284
- [4] Chou YT, Lee CC, Hsiao SH, et al. The emerging role of SOX2 in cell proliferation and survival and its crosstalk with oncogenic signaling in lung cancer[J]. Stem Cells, 2013, 31(12): 2607-2619
- [5] Gen Y, Yasui K, Nishikawa T, et al. SOX2 promotes tumor growth of esophageal squamous cell carcinoma through the AKT/mammalian target of rapamycin complex 1 signaling pathway [J]. Cancer Sci, 2013, 104(7): 810-816
- [6] Li J, Du L, Yang Y, et al. MiR-429 is an independent prognostic factor in colorectal cancer and exerts its anti-apoptotic function by targeting SOX2[J]. Cancer Lett, 2013, 329(1): 84-90
- [7] Leis O, Eguira A, Lopez-Arribillaga E, et al. Sox2 expression in breast tumours and activation in breast cancer stem cells [J]. Oncogene, 2012, 31(11): 1354-1365
- [8] Boumahdi S, Driessens G, Lapouge G, et al. SOX2 controls tumour initiation and cancer stem-cell functions in squamous-cell carcinoma [J]. Nature, 2014, 511(7508): 246-250
- [9] Sarkar A, Huebner AJ, Sulahian R, et al. Sox2 Suppresses Gastric Tumorigenesis in Mice[J]. Cell Rep, 2016, 16(7): 1929-1941
- [10] Tian Y, Jia X, Wang S, et al. SOX2 oncogenes amplified and operate to activate AKT signaling in gastric cancer and predict immunotherapy responsiveness[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2014, 140(7): 1117-1124
- [11] Wang S, Tie J, Wang R, et al. SOX2, a predictor of survival in gastric cancer, inhibits cell proliferation and metastasis by regulating PTEN [J]. Cancer Lett, 2015, 358(2): 210-219
- [12] Tanaka K, Babic I, Nathanson D, et al. Oncogenic EGFR signaling activates an mTORC2-NF- κ B pathway that promotes chemotherapy resistance[J]. Cancer Discov, 2011, 1(6): 524-538
- [13] Takaishi S, Okumura T, Tu S, et al. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44 [J]. Stem Cells, 2009, 27(5): 1006-1020
- [14] Wu Q, Yang Z, Wang F, et al. MiR-19b/20a/92a regulates the self-renewal and proliferation of gastric cancer stem cells [J]. J Cell Sci, 2013, 126(Pt 18): 4220-4229
- [15] Han ME, Oh SO. Gastric stem cells and gastric cancer stem cells[J]. Anat Cell Biol, 2013, 46(1): 08-18
- [16] Kim TH, Shivdasani RA. Notch signaling in stomach epithelial stem cell homeostasis[J]. J Exp Med, 2011, 208(4): 677-688
- [17] Wu K, Ma L, Zhu J. miR-483-5p promotes growth, invasion and self-renewal of gastric cancer stem cells by Wnt/ β catenin signaling[J]. Mol Med Rep, 2016, (14): 3421-3428
- [18] Tsukamoto T, Mizoshita T, Mihara M, et al. Sox2 expression in human stomach adenocarcinomas with gastric and gastric-and-intestinal-mixed phenotypes[J]. Histopathology, 2005, 46(6): 649-658
- [19] Correa P. A human model of gastric carcinogenesis [J]. Cancer Res, 1988, 48(13): 3554-3560
- [20] Otsubo T, Akiyama Y, Hashimoto Y, et al. MicroRNA-126 inhibits SOX2 expression and contributes to gastric carcinogenesis [J]. PLoS One, 2011, 6(1): e16617