

# 过表达性别决定区 Y 框蛋白 7 基因对骨肉瘤细胞生长及免疫逃逸相关因子表达的影响

于云祥<sup>1</sup> 龚泰芳<sup>1</sup> 刘小涛<sup>1</sup> 柯文<sup>1</sup> 李彬彬<sup>1</sup> 廉凯<sup>2</sup> 徐进<sup>2△</sup>

**[摘要]** 目的:探讨过表达性别决定区 Y 框蛋白 7(SOX7)基因对骨肉瘤 MG-63 细胞活力、周期、凋亡、Wnt/ $\beta$ -catenin 信号及免疫逃逸相关 VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 表达的影响。方法:将人骨肉瘤 MG-63 细胞分为空白组、pcDNA3.1 组和 pcDNA3.1-SOX7 组,pcDNA3.1 转染参照 Lipofectamine 2000 试剂盒说明书。通过 CCK-8 法检测 pcDNA3.1-SOX7 转染 MG-63 细胞 24~72 h 的细胞活力;流式细胞仪检测 pcDNA3.1-SOX7 转染 MG-63 细胞 48 h 的细胞周期和凋亡率。Western Blot 检测 SOX7、 $\beta$ -catenin、cyclinD1、Survivin、VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 蛋白表达。结果:pcDNA3.1-SOX7 转染 MG-63 细胞后,细胞中 SOX7 蛋白表达明显高于空白组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。与空白组比较,pcDNA3.1-SOX7 组细胞活力明显降低,凋亡率明显升高, $G_0/G_1$  期细胞百分比明显升高, $G_2/M$  期和 S 期百分比明显降低, $\beta$ -catenin、CyclinD1、Survivin、VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 蛋白表达明显降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。结论:过表达 SOX7 基因可抑制骨肉瘤 MG-63 细胞活力,阻碍细胞周期进程,诱导细胞凋亡,抑制免疫逃逸相关 VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 表达,其机制与抑制 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路有关。

**[关键词]** 骨肉瘤;性别决定区 Y 框蛋白 7 基因;凋亡;免疫逃逸

**[中图分类号]** R738.1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2021)11-0013-05

## Mechanism of Overexpression of Sex Determining Region Y-box 7 Gene on the Growth of Osteosarcoma Cells and the Expression of Immune Escape Related Factors

YU Yunxiang<sup>1</sup> GONG Taifang<sup>1</sup> LIU Xiaotao<sup>1</sup> KE Wen<sup>1</sup> LI Binbin<sup>1</sup> LIAN Kai<sup>2</sup> XU Jin<sup>2△</sup>

<sup>1</sup>The First Department of Orthopedics, Taihe Hospital, Shiyan 442000, Hubei China;

<sup>2</sup>Department of Orthopedics, Xiangyang Central Hospital Affiliated to Hubei University of Arts and Sciences, Xiangyang 441021, Hubei China.

**Abstract Objective:** To investigate the effect of SOX7 overexpression on the viability, cycle, apoptosis, Wnt/ $\beta$ -catenin signal and the expression of immune escape-related VEGF and TGF- $\beta$ 1 in osteosarcoma MG-63 cells. **Methods:** Human osteosarcoma MG-63 cells were divided into blank group, pcDNA3.1 group and pcDNA3.1-SOX7 group. The pcDNA3.1 was transfected according to Lipofectamine 2000 kit. The viability of MG-63 cells transfected with pcDNA3.1-SOX7 for 24 to 72 h was detected by CCK-8 method, and the cell cycle and apoptosis rate of MG-63 cells transfected with pcDNA3.1-SOX7 for 48 h were detected by flow cytometry. Western Blot was used to detect the expression of SOX7,  $\beta$ -catenin, cyclinD1, survivin, VEGF and TGF- $\beta$ 1 protein. **Results:** The expression of SOX7 protein in MG-63 cells transfected with pcDNA3.1-SOX7 was significantly higher than that in blank group ( $P<0.05$ ). Compared with the blank group, the cell viability of pcDNA3.1-SOX7 group decreased significantly, the apoptosis rate increased significantly, the percentage of  $G_0/G_1$  phase cells increased significantly, the percentage of  $G_2/M$  phase and S phase cells decreased significantly, and the expression of  $\beta$ -catenin, cyclinD1, survivin, VEGF and TGF- $\beta$ 1 protein decreased significantly ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Overexpression of SOX7 gene can inhibit the viability of osteosarcoma MG-63 cells, block cell cycle progression, induce apop-

sis, and inhibit the expression of immune escape-related VEGF and TGF- $\beta$ 1. The mechanism is related to the inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway.

**Keywords:** osteosarcoma; sex determining region Y-box 7 gene; apoptosis; immune escape

基金项目:湖北省卫生计生委科研项目(JX6B36)

<sup>1</sup> 湖北十堰市太和医院骨一科(湖北 十堰,442000)

<sup>2</sup> 湖北文理学院附属医院(襄阳市中心医院)骨科

<sup>△</sup>通信作者 E-mail:516289565@qq.com

骨肉瘤是常见的原发性恶性骨肿瘤,恶性程度高,预后差,5年生存率低<sup>[1]</sup>。近年分子靶向治疗成为肿瘤治疗研究热点。尽管骨肉瘤治疗方法已不断更新,但是治疗效果却不甚理想,寻找有效的治疗方法具有重要的意义。SOX7是含高迁移率组蛋白(HMG)结构域的SOX基因家族SOXF亚组成员之一,在癌症中低表达,对肿瘤发生发展具有重要作用<sup>[2-4]</sup>。有研究表明miR-664能通过靶向抑制SOX7增强骨肉瘤细胞的侵袭和迁移能力<sup>[5]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路是比较经典的信号转导途径,与肿瘤发展密切相关,如下调RIPK4可通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路抑制骨肉瘤细胞增殖<sup>[6]</sup>。但SOX7与骨肉瘤细胞凋亡、免疫反应及其可能相关的Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的关系还未明确。鉴于此,本研究通过建立重组体pcDNA3.1-SOX7,旨在探讨过表达SOX7对骨肉瘤细胞生长、周期、凋亡、免疫抑制因子VEGF和TGF- $\beta$ 1表达及Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂和仪器

RPMI-1640培养基、CCK-8试剂盒均购自美国Sigma;FBS购自美国Gibco;pcDNA3.1载体及Lipofectamine 2000试剂盒均购自Invitrogen公司;SOX7、 $\beta$ -catenin、cyclinD1、survivin、VEGF和TGF- $\beta$ 1抗体及HRP标记的二抗均购自美国CST;细胞凋亡试剂盒、流式细胞仪均购自美国BD;酶标仪及凝胶成像系统均购自美国Bio-Rad。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** 人骨肉瘤MG-63细胞株购自中国科学院上海细胞库。细胞用RPMI-1640培养基(含100 U/mL青霉素、100 U/mL链霉素及10% FBS),在5%CO<sub>2</sub>、37℃恒温、饱和湿度条件下传代培养。细胞生长状态良好时用于实验。每2~3 d换液1次,依据细胞密度传代。

**1.2.2 细胞转染** 转染前24 h调整MG-63细胞密度,以2 mL/孔( $5 \times 10^5$ /mL)接种于6孔板。分为重组pcDNA3.1-SOX7组、pcDNA3.1组和空白组。无双抗的完全培养基培养MG-63细胞24 h,使转染时细胞达90%~95%的细胞密度。无血清培养基冲洗6孔板内细胞两遍,加2 mL无血清培养基。无血清培养基分别稀释pcDNA3.1-SOX7、pcDNA3.1及Lipofectamine 2000,轻摇混匀。将稀释好的pcDNA3.1-SOX7和pcDNA3.1分别与Lipofectamine 2000混合,室温孵育20 min,加入6孔板相应的孔内,在5%CO<sub>2</sub>、37℃恒温、饱和湿度培养箱中孵育6 h,更换为含血清的完全培养基。48 h后通过Western Blot检测转染效果。

**1.2.3 Western Blot 检测** 收集转染pcDNA3.1-SOX7和pcDNA3.1 48 h的MG-63细胞,加入适量RIPA裂解液,在冰上反应30 min,离心,收集上清。BCA试剂盒测定上清蛋白浓度。蛋白与上样缓冲液混匀,煮沸变性5 min。取40  $\mu$ g变性蛋白上样,经SDS-PAGE、半干法转NC膜及5%脱脂奶粉封闭膜后,洗膜,加稀释后的SOX7、 $\beta$ -catenin、CyclinD1、Survivin、VEGF和TGF- $\beta$ 1抗体(稀释比例1:1 000),4℃孵育过夜,洗膜,加1:3 000稀释的HRP标记的羊抗鼠二抗,37℃摇床震荡1 h,洗膜,ECL显色。Quantity One软件进行灰度值分析。蛋白相对表达量=目的蛋白灰度值/内参GAPDH灰度值。实验重复3次。

**1.2.4 CCK-8法检测细胞活力** 取生长至对数期的MG-63细胞,以 $5 \times 10^3$ /孔接种于96孔板,参照前述方法转染pcDNA3.1-SOX7和pcDNA3.1,并设置空白组,在培养的24,48和72 h收集上述3组细胞,在每孔中加入10  $\mu$ L CCK-8试剂,继续孵育4 h,450 nm吸光度酶标仪测定各孔的吸光度值(A)。以A值绘制细胞生长曲线。实验重复3次。

**1.2.5 流式细胞仪检测细胞周期和凋亡率** 按照前述方法转染pcDNA3.1-SOX7后48 h,收集细胞,将细胞制备成单细胞悬液,计数 $1 \times 10^6$ 个细胞,常规固定处理,PI染色,筛网过滤细胞悬液后,使用流式细胞仪检测各组细胞周期分布。同样方法收集细胞,按照Annexin V-FITC/PI双染细胞凋亡试剂盒说明书染色,避光室温放置15 min,流式细胞仪检测各组细胞的凋亡率。实验重复3次。

### 1.3 统计学方法

所有实验数据采用SPSS21.0软件进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组数据采用独立样本 $t$ 检验,多组差异比较采用单因素方差分析,组间 $\times$ 时间交互作用下的过表达SOX7阻滞MG-63细胞周期采用重复测量方差法分析,两两比较采用SNK- $q$ 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 pcDNA3.1-SOX7转染MG-63细胞效率

pcDNA3.1-SOX7转染MG-63细胞48 h,通过Western Blot检测转染效果,结果如图1和表1所示,转染重组体pcDNA3.1-SOX7后,MG-63细胞SOX7表达明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而转染pcDNA3.1空载体组SOX7表达与空白组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

### 2.2 过表达SOX7抑制MG-63细胞活力

如表2所示,pcDNA3.1-SOX7转染MG-63细胞24,48和72 h,细胞活力均明显降低,差异有统计

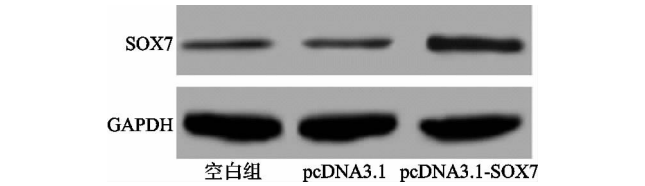


图 1 pcDNA3.1-SOX7 转染 MG-63 细胞后 SOX7 蛋白表达

表 1 pcDNA3.1-SOX7 转染 MG-63 细胞后 SOX7 的蛋白相对表达量( $\bar{x} \pm s$ )

组别	SOX7 蛋白
空白组	0.031±0.006
pcDNA3.1	0.034±0.005
pcDNA3.1-SOX7	0.202±0.018 <sup>1)</sup>

注:1)与空白组比较, $P<0.05$ 。

表 2 转染 pcDNA3.1-SOX7 的 MG-63 细胞活力( $\bar{x} \pm s$ )

组别	24 h	48 h	72 h
空白组	0.506±0.047	0.774±0.053	0.983±0.073
pcDNA3.1	0.492±0.045	0.759±0.051	0.974±0.070
pcDNA3.1-SOX7	0.377±0.031 <sup>1)</sup>	0.502±0.048 <sup>1)</sup>	0.692±0.056 <sup>1)</sup>

注:1)与空白组比较, $P<0.05$ 。

学意义( $P<0.05$ ),而 pcDNA3.1 组在 3 个时间点的细胞活力与空白组差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

2.3 过表达 SOX7 阻滞 MG-63 细胞周期

如表 3 所示,与空白组比较,pcDNA3.1-SOX7 组  $G_0/G_1$  期细胞百分比升高, $G_2/M$  期和 S 期细胞百分比降低,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),不同组间、

不同时间点间、组间  $\times$  时间交互作用下的过表达 SOX7 阻滞 MG-63 细胞周期差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),说明细胞发生  $G_0/G_1$  期阻滞。

2.4 过表达 SOX7 诱导 MG-63 细胞凋亡

如图 2 和表 4 所示,pcDNA3.1-SOX7 转染 MG-63 细胞 48 h,细胞凋亡率明显高于空白组( $P<0.05$ )。

表 3 过表达 SOX7 对 MG-63 细胞周期的影响( $\bar{x} \pm s, \%$ )

组别	$G_0/G_1$	$G_2/M$	S
空白组	51.32±3.11	21.36±1.02	27.32±1.87
pcDNA3.1	50.59±3.24	22.04±1.21	27.37±1.12
pcDNA3.1-SOX7	71.74±4.83 <sup>1)</sup>	15.58±0.72 <sup>1)</sup>	12.68±0.96 <sup>1)</sup>

注:1)与空白组比较, $P<0.05$ 。

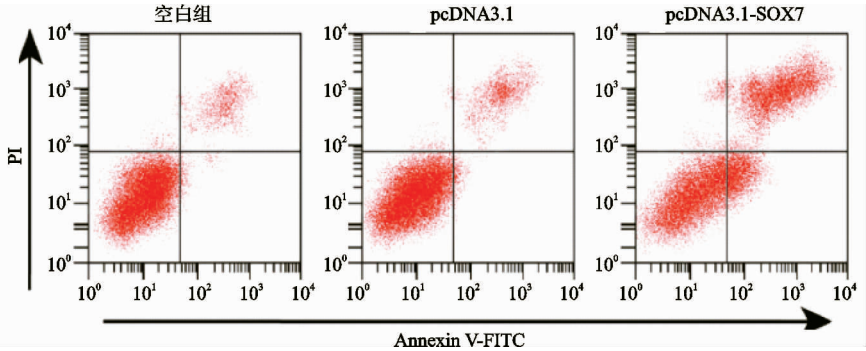


图 2 过表达 SOX7 对 MG-63 细胞凋亡的影响

表 4 过表达 SOX7 后的各组 MG-63 细胞凋亡率( $\bar{x} \pm s$ )

组别	凋亡率/%
空白组	4.37±0.45
pcDNA3.1	4.63±0.52
pcDNA3.1-SOX7	26.34±2.31 <sup>1)</sup>

注:1)与空白组比较, $P<0.05$ 。

2.5 过表达 SOX7 抑制 MG-63 细胞 VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 表达

通过 Western Blot 检测转染 pcDNA3.1-SOX7 的 MG-63 细胞免疫抑制相关因子 VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 表达,结果如图 3 和表 5 所示,pcDNA3.1-SOX7 组 VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 蛋白表达均明显低于空白组( $P<0.05$ )。

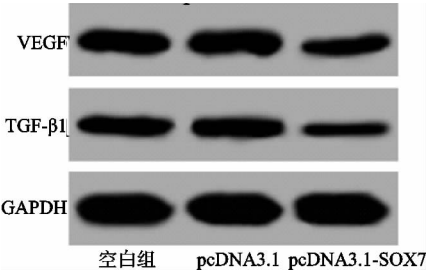


图 3 过表达 SOX7 对 MG-63 细胞 VEGF 和 TGF- $\beta$ 1 表达的影响

2.6 过表达 SOX7 抑制 MG-63 细胞 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路

通过 WesternBlot 检测转染 pcDNA3.1-SOX7 的

表 5 过表达 SOX7 的 MG-63 细胞 VEGF 和 TGF-β1 蛋白相对表达量(±s)

组别	VEGF	TGF-β1
空白组	0.612±0.059	0.357±0.041
pcDNA3.1	0.630±0.062	0.368±0.044
pcDNA3.1-SOX7	0.301±0.032 <sup>1)</sup>	0.111±0.013 <sup>1)</sup>

注:1)与空白组比较, $P<0.05$ 。  
MG-63 细胞 Wnt/β-catenin 信号通路相关蛋白 β-catenin、CyclinD1 和 Survivin 表达,结果如图 4 和表 6 所示, pcDNA3.1-SOX7 组 β-catenin、CyclinD1 和 Survivin 蛋白表达均明显低于空白组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

表 6 过表达 SOX7 的 MG-63 细胞 β-catenin、CyclinD1 和 Survivin 的蛋白相对表达量(±s)

组别	β-catenin	CyclinD1	Survivin
空白组	0.848±0.071	0.546±0.052	0.166±0.020
pcDNA3.1	0.834±0.068	0.531±0.050	0.174±0.021
pcDNA3.1-SOX7	0.501±0.049 <sup>1)</sup>	0.323±0.035 <sup>1)</sup>	0.061±0.008 <sup>1)</sup>

注:1)与空白组比较, $P<0.05$ 。

3 讨论

SOX7 是 SOX 基因家族 SOXF 亚组成员之一,近年来的研究表明 SOX7 在结直肠癌、肺癌、肝癌等多种肿瘤中呈现低表达或不表达,其表达降低可促进肿瘤细胞生长<sup>[7-9]</sup>,这提示在肿瘤发生发展中 SOX7 可能充当抑癌基因样作用。骨肉瘤中关于 SOX7 的研究较少,有研究显示 SOX7 是 miR-664 的一个靶基因,miR-664 可通过靶向抑制 SOX7 增强骨肉瘤细胞的侵袭和迁移能力<sup>[5]</sup>。SOX7 是否可影响骨肉瘤细胞凋亡、周期等生物学特性还未明确。本研究结果显示过表达 SOX7 的人骨肉瘤 MG-63 细胞 SOX7 表达明显升高,细胞活力明显降低,细胞发生 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期阻滞,细胞凋亡率明显升高,提示 SOX7 同样可影响骨肉瘤细胞生长,可能是骨肉瘤诊疗的一个分子标记。

Wnt/β-catenin 信号通路是 Wnt 信号的经典信号途径,人类多种肿瘤可发现 Wnt/β-catenin 信号通路的异常表达,如肝癌、乳腺癌、骨肉瘤等<sup>[10-13]</sup>。多项研究表明 SOX7 可通过调控胶质瘤、子宫内膜癌等肿瘤 Wnt/β-catenin 信号而抑制肿瘤细胞生长<sup>[14-15]</sup>。已有研究证实 SOX7 是 Wnt/β-catenin/TCF 信号的抑制因子,可通过与 TCF 竞争与 β-catenin 结合,从而发挥肿瘤抑制基因功能<sup>[6]</sup>。SOX7 对骨肉瘤细胞生长影响是否与 Wnt/β-catenin 信号通路有关还未明确。本研究将过表达 SOX7 载体转染 MG-63 细胞,通过 Western Blot 检测 Wnt/β-catenin 信号通路关键分子 β-catenin 及下游与肿瘤发生密切相对的靶基因 cyclinD1 和 Survivin 表达,结果显示过表达 SOX7 可明显下调 β-catenin、cyclinD1 和 Survivin 表达,提示 SOX7 对骨肉瘤细胞活力、周期及凋亡影响机制可能与 Wnt/β-catenin 信号通路有关,这也与前人在其他

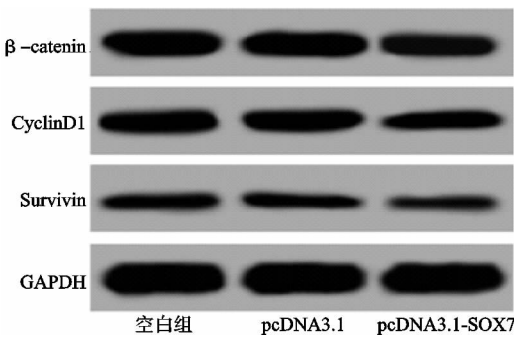


图 4 过表达 SOX7 对 MG-63 细胞 Wnt/β-catenin 信号通路的影响

肿瘤中的研究结果一致。  
转化生长因子 β1(TGF-β1)是一种多功能的蛋白多肽,是目前已发现的肿瘤诱导产生的最强的免疫抑制因子,TGF-β1 过表达的肿瘤细胞侵袭能力更强,且预后不良<sup>[16-17]</sup>。已有研究表明 TGF-β1 可诱导多种肿瘤细胞生长<sup>[18]</sup>,血管内皮生长因子(VEGF)可由大多数肿瘤细胞产生,对肿瘤血管生成有促进作用。多种肿瘤中 VEGF 呈现高表达,其表达与患者预后不良及无瘤生存期密切相关<sup>[19]</sup>。有研究表明抑制 Wnt/β-catenin 信号通路可明显降低 VEGF 表达<sup>[20]</sup>,SOX7 是否可影响 TGF-β1 和 VEGF 表达还未明确。本研究结果显示过表达 SOX7 可明显下调 TGF-β1 和 VEGF 表达,提示 SOX7 抑制骨肉瘤细胞生长机制之一可能是降低免疫逃逸。

综上所述,本研究将过表达 SOX7 的载体转染骨肉瘤 MG-63 细胞,通过 CCK-8 法、流式细胞仪、Western Blot 分别检测过表达 SOX7 后的 MG-63 细胞活力、周期、凋亡及免疫抑制因子 VEGF 和 TGF-β1 表达及 Wnt/β-catenin 信号通路 β-catenin、cyclinD1 和 Survivin 表达,发现过表达 SOX7 可明显抑制 MG-63 细胞活力,阻滞细胞于 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期,并诱导细胞凋亡,下调 TGF-β1 和 VEGF 及 Wnt/β-catenin 信号通路 β-catenin、cyclinD1 和 Survivin 表达,提示 SOX7 可能是骨肉瘤分子诊疗靶点之一,但目前 SOX7 对骨肉瘤的影响及其机制研究较少,还需进一步深入研究。

参考文献

[1] KELLER S, INAI R, SATO S, et al. Thallium-201 uptake of giant cell tumor: one step toward the differential diagnosis to atypically presenting osteosarcoma[J]. American Journal of Roentgenology, 2017, 208(1): 171-179.

- [2] HAN L C, WANG W, DING W, et al. MiR-9 is involved in TGF- $\beta$ 1-induced lung cancer cell invasion and adhesion by targeting SOX7[J]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2017, 21(9):2000-2008.
- [3] OH K, HONG K, HUH Y, et al. Decreased expression of SOX7 induces cell proliferation and invasion and correlates with poor prognosis in oral squamous cell carcinoma [J]. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 2017, 46(9): 752-758.
- [4] BAI Q L, HU C W, WANG X R, et al. MiR-616 promotes proliferation and inhibits apoptosis in glioma cells by suppressing expression of SOX7 via the Wnt signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(24):5630-5637.
- [5] BAO Y Z, CHEN B, WU Q, et al. Overexpression of miR-664 is associated with enhanced osteosarcoma cell migration and invasion ability via targeting SOX7 [J]. *Clinical & Experimental Medicine*, 2017, 17(1):51-58.
- [6] 田夏威夷, 蒋伟龙, 姜金, 等. siRNA 下调 RIPK4 基因表达对人成骨肉瘤 MG-63 细胞增殖的抑制作用[J]. *肿瘤*, 2015, 35(10):1070-1075.
- [7] LU Q, LI Y, LI Z, et al. miR-202 promoted cell proliferation of prostate cancer by targeting SOX7[J]. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2018, 11(2):1324-1330.
- [8] WANG D P, CAO Q F, QU M J, et al. MicroRNA-616 promotes the growth and metastasis of non-small cell lung cancer by targeting SOX7[J]. *Oncology Reports*, 2017, 38(4):2078-2086.
- [9] ZHENG Z Y, LIU J M, YANG Z, et al. MicroRNA-452 promotes stem-like cells of hepatocellular carcinoma by inhibiting Sox7 involving Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(19):28000-28012.
- [10] LI R, QUAN Y Z, XIA W L. SIRT3 inhibits prostate cancer metastasis through regulation of FOXO3A by suppressing Wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J]. *Experimental Cell Research*, 2018, 364(2):143-151.
- [11] 黄茂莘, 陈玲, 韩鹏定, 等. 山柰酚通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路抑制 HBx-HepG2 细胞增殖, 侵袭及迁移[J]. *中国病理生理杂志*, 2017, 33(8):1417-1422.
- [12] HUAN J L, XING L, LIN Q H, et al. Long noncoding RNA CRNDE activates Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway through acting as a molecular sponge of microRNA-136 in human breast cancer[J]. *American Journal of Translational Research*, 2017, 9(4):1977-1989.
- [13] ZHAO S J, JIANG Y Q, XU N W, et al. SPARCL1 suppresses osteosarcoma metastasis and recruits macrophages by activation of canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling through stabilization of the Wnt-receptor complex [J]. *Oncogene*, 2018, 37(8):1049-1061.
- [14] ZHAO T S, YANG H, TIAN Y, et al. SOX7 is associated with the suppression of human glioma by HMG-box dependent regulation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling[J]. *Cancer Letters*, 2016, 375(1):100-107.
- [15] CHAN D W, MAK C S L, LEUNG T H Y, et al. Down-regulation of Sox7 is associated with aberrant activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in endometrial cancer[J]. *Oncotarget*, 2012, 3(12):1546-1556.
- [16] 陈兰, 谈勇, 陈淑萍. 定坤丹对 PCOS 模型大鼠 TGF- $\beta$ 1, CTGF 和 AR 表达的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2018, 34(2):218-222.
- [17] WEI Y, KIM T J, PENG D H, et al. Fibroblast-specific inhibition of TGF- $\beta$ 1 signaling attenuates lung and tumor fibrosis[J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2017, 127(10):3675-3688.
- [18] XU M Y, YIN L Q, CAI Y H, et al. Epigenetic regulation of integrin  $\beta$ 6 transcription induced by TGF- $\beta$ 1 in human oral squamous cell carcinoma cells[J]. *Journal of Cellular Biochemistry*, 2018, 119(5):4193-4204.
- [19] BANYSPALUCHOWSKI M, WITZEL I, RIETHDORF S, et al. The clinical relevance of serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in correlation to circulating tumor cells and other serum biomarkers in patients with metastatic breast cancer[J]. *Breast Cancer Research and Treatment*, 2018, 172(1):93-104.
- [20] BA S, XUAN Y, ONG Z W, et al. MicroRNA-27a promotes the proliferation and invasiveness of colon cancer cells by targeting SFRP1 through the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 42(5):1920-1933.

(收稿日期:2021-04-16)