

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2019.02.027

FEZF1 在结直肠癌组织和癌旁正常组织中的表达及临床意义

李宗鑫, 贺正池, 肖雪薇, 罗 玉, 兰 洋, 吴传芳
(四川大学生命科学学院 功能基因组实验室, 成都 610064)

摘要: 本文旨在探究 FEZF1 蛋白在结直肠癌组织和癌旁组织中的表达和其临床意义. 通过免疫组化实验和 Western Blot 实验以及细胞实验, 发现 FEZF1 在结直肠癌组织中低表达, 并且其表达与肿瘤淋巴结转移(tumor node metastasis, TNM)分期具有显著相关性, 在 FEZF1 低表达时, RKO 细胞增殖和迁移能力提高, FEZF1 高表达时 RKO 细胞增殖能力减弱. 本研究证明了 FEZF1 是结直肠癌中的一个低表达蛋白, 其表达与结直肠组织癌变的发生、发展相关, 并且 FEZF1 会抑制结直肠癌细胞的增殖和迁移.

关键词: Fez 家族锌指蛋白 1; 结直肠癌; 增殖; 迁移

中图分类号: Q71 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2019)02-0338-07

The expression and clinical significance of FEZF1 in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues

LI Zong-Xin, HE Zheng-Chi, XIAO Xue-Wei, LUO Yu, LAN Yang, WU Chuan-Fang
(Department of Functional Genome, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu 610064, China)

Abstract: We explore the expression and clinical significance of FEZF1 protein in colorectal cancer tissues and adjacent tissues. In this paper, immunohistochemistry, Western Blot and cell experiments showed that FEZF1 was down-regulated in colorectal cancer tissues, and its expression was significantly correlated with tumor node metastasis (TNM) stage. When FEZF1 was low expressed, the proliferation and migration ability of RKO cells increased, and the proliferation ability of RKO cells decreased when FEZF1 was highly expressed. This study demonstrates that FEZF1 is a low-expression protein in colorectal cancer, its expression is associated with the occurrence and development of colorectal cancer, and FEZF1 inhibits the proliferation and migration of colorectal cancer cells.

Keywords: FEZF1; Colorectal cancer; Proliferation; Migration

1 引言

结直肠癌(CRC)是全球最流行和最常见的癌症之一,也是最致命的癌症之一,紧随胃癌和肺癌之后^[1]. CRC 是一种诱因多样化疾病,是由环境因

素和遗传因素共同作用引起的^[2,3]. 近年来,特异性 DNA, RNA 和蛋白质作为 CRC 诊断标记物正在被研究^[4,5]. 在 CRC 患者中发现强有力的预测性生物标志物对于推进疾病的治疗和改善患者护理具有非常重要的意义.

收稿日期: 2018-04-09

基金项目: 国家自然科学基金(31300674)

作者简介: 李宗鑫(1989-), 男, 甘肃武威人, 工程硕士, 主要研究与肿瘤相关的 lncRNA 的功能与机制. E-mail: 980799943@qq.com

通讯作者: 吴传芳. E-mail: wuchuanfang@scu.edu.cn

胚胎前脑锌指 (Fez) 家族是一个高度保守的转录因子家族, 在神经发生, 发育模式, 细胞命运和轴突指导等方面发挥着重要作用^[6]. Song I S 等^[7]发现人源的 Fez 家族锌指蛋白 1 (FEZF1) 通过激活 K-ras 基因的转录来促进胃癌细胞的发展, Chen N 等^[8]发现 LncRNA FEZF1-AS1 和 FEZF1 mRNA 表达之间有良好的正相关性, 认为 FEZF1 mRNA 表达受到 FEZF1-AS1 的调控. 但对于 FEZF1 蛋白在结直肠癌组织和结直肠癌旁正常组织中的表达情况及 FEZF1 蛋白在临床中意义的研究极少. 因此, 本文利用结直肠癌临床样本和结直肠癌旁正常组织样本通过免疫印迹和免疫组化以及细胞实验来探究 FEZF1 在结直肠癌中的临床意义及机制, 以期对结直肠癌的诊断和治疗提供新的思路.

2 材料和方法

2.1 材料

2.1.1 组织样本 结直肠癌患者肿瘤组织和癌旁正常组织样本由解放军第 150 中心医院提供, 样本收集时间为 2014 年 1 月~2015 年 12 月, 所有纳入患者均签署知情同意书, 本研究已经伦理委员会审核通过.

2.1.2 主要试剂 Anti-FEZF1 抗体和 Anti-GAPDH 抗体购自 Abcam 公司, 蛋白酶抑制剂 PIC (Complete Protease Inhibitor Cocktail Tablets) 购自 Roche 公司, 山羊抗兔的二抗购买自 Proteintech 公司, BCA 蛋白定量试剂盒购自 Thermo Fisher 公司, 免疫组化检测试剂盒购自中杉金桥生物有限公司, 其他化学试剂除文中注明外, 均来自国药公司生产且为分析纯. TRIzol 试剂和 Lipofectamine™ 2000 购自 Invitrogen 公司.

2.2 方法

2.2.1 免疫组化实验 对 Alves V A 等^[9]描述的免疫组化方法进行优化. 采用二步法免疫组化检测方法, 样本切片二甲苯脱蜡, 乙醇复水, 高压锅修复抗原, 3% H₂O₂ 封闭内源性过氧化氢酶, 孵育 FEZF1 一抗 5 μg/mL, 4 °C 过夜, 孵育山羊抗兔的

二抗, DAB 显色, 苏木素复染, 显微镜观察及时终止, 1% 盐酸的 75% 乙醇返蓝, 乙醇脱水, 烤箱干燥, 中性树脂封片.

2.2.2 蛋白免疫印迹实验 (Western Blot) 蛋白免疫印迹的方法依据 Anderson D 等^[10]描述的方法, 并对其改进. 蛋白质样品在 8% 的 SDS-PAGE 胶中分离, 蛋白通过湿转印到 PVDF 膜, PVDF 膜用含 5% (w/v) 的脱脂奶粉的 PBST 封闭, 用 GAPDH (偶联 HRP 的鼠抗人的抗体) 和 FEZF1 (兔抗人抗体) 的一抗孵育过夜, 二抗是偶联 HRP 的山羊抗兔的抗体, 稀释比例为 (1:2000), 室温下孵育 1 h, 最后用 ECL 化学发光法进行显色.

2.2.3 细胞培养和细胞转染 细胞均按照 American Type Culture Collection (ATCC) 细胞培养方法在 10 cm 板中进行培养. RKO 细胞按照 Lipofectamine™ 2000 说明书进行转染, 然后用 puromycin 筛选稳定细胞系.

2.2.4 总 RNA 提取和 cDNA 合成 选择密度在 80% 左右的细胞, 加入试剂裂解细胞, 按照 TRIzol 说明书总 RNA. 紫外分光光度仪测定浓度, 用琼脂糖凝胶检测纯度. 用 DNase I 处理 1 μg RNA, 去除基因组, 用随机引物进行逆转录反应合成 cDNA.

2.2.5 实时荧光定量 PCR iCycler iQ Real-Time PCR 检测系统进行 PCR 检测. FEZF1 在细胞中的表达水平以 GAPDH 为内参基因进行均一化. 检测引物序列如下: FEZF1 引物为 5'-TT-GCGAAGTGTGTGGAAAGGTCT-3' (正向) 和 5'-ACTGGCATGTGACGGGTTAAGTT-3' (反向), GAPDH 引物为 5'-CTATAAATTGAGC-CCGACGCC-3' (正向) 和 5'-CGCCCAAT-ACGACCAAATCC-3' (反向).

2.2.6 统计分析 应用 SPSS 统计软件进行数据分析, 肿瘤组织和癌旁正常组织样本中 FEZF1 蛋白表达水平分别采用平均值 ± SD 表示, 配对 t 检验, 95% 置信区间, P < 0.05 为差异有统计学意义.

表 1 a-b 病人结直肠组织信息

Tab. 1 Colorectal tissue information in a-b patients

编号	住院号	病理号	分期	stage	组织部位	切片部位	肿瘤大小
a	427607	1602231	pT4aN1c	III	结肠	A/C	3×3×1
b	426783	1602044	pT3N0	II	结肠	A/C	5×4×2

3 结果

3.1 FEZF1 在结直肠癌临床样本中低表达

在结直肠癌旁组织(A)和结直肠癌组织(C)中通过免疫组化实验检测了 FEZF1 蛋白的表达,结果显示 FEZF1 蛋白在结直肠癌组织中的表达水平低于结直肠癌旁组织如图 1.

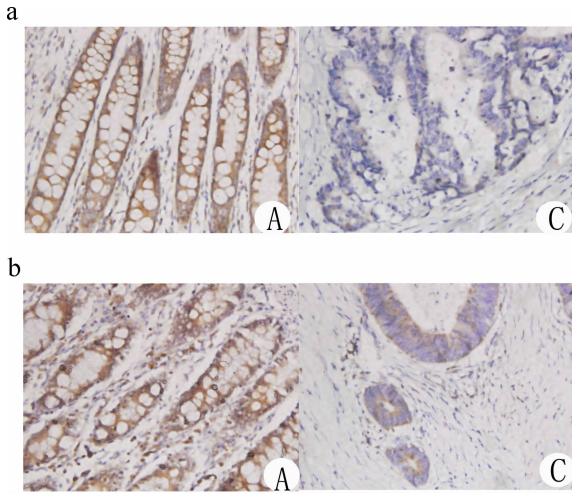


图 1 免疫组化检测 FEZF1 蛋白的表达

a. 在 1602231 号病人结肠癌旁样本(A)和结肠癌组织样本(C)中用免疫组化检测 FEZF1 蛋白的表达,箭头所指为 FEZF1 蛋白信号; b. 在 1602044 号病人结肠癌旁样本(A)和结肠癌组织样本(C)中用免疫组化检测 FEZF1 蛋白的表达,箭头所指为 FEZF1 蛋白信号

Fig. 1 The expression of FEZF1 protein was detected by immunohistochemistry

3.2 FEZF1 的结直肠癌临床样本中的低表达与结直肠癌 TNM 分期密切相关

免疫组化实验发现 FEZF1 在结直肠癌组织中低表达,因此我们用 Western Blot 再次验证这个结论,同时进一步探究 FEZF1 的表达与结直肠癌临床组织的肿瘤淋巴结转移(tumor node metastasis, TNM)分期是否有相关性.我们选择了 30 对结直肠癌临床组织(C)和结直肠癌旁正常组织(A),其中处于 TNM I 期、II 期及 III 期的样本各 10 对,Western Blot 实验检测了 FEZF1 蛋白的表达如图 2,通过对 FEZF1 信号的灰度分析及 SPSS 软件的数据处理如图 3,发现 FEZF1 蛋白在 TNM I 期、II 期及 III 期的样本中都是在癌组织中极显著低表达.接下来我们进一步探究这种在癌组织中 FEZF1 蛋白水平低表达是否与肿瘤的发展有关,即结直肠癌从肿瘤淋巴结转移分期(TNM)的 I 期

到 III 期的过程中 FEZF1 蛋白在癌组织中的低表达是否有变化上的趋势,因此我们通过 SPSS 软件分析发现 FEZF1 蛋白在结直肠癌组织从 TNM 分期的 I 期到 II 期的过程中显著降低,但从 II 期到 III 期的过程中并没有显著性的增高,如图 4.

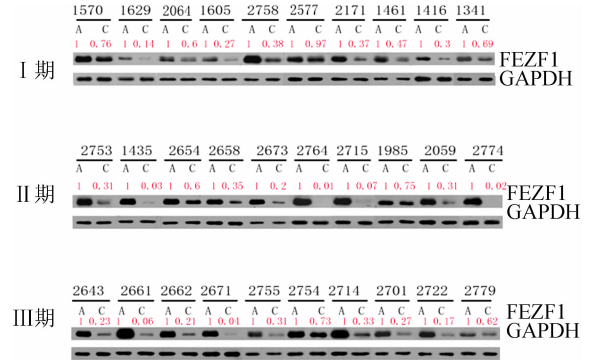


图 2 Western blot 检测 FEZF1 蛋白表达

Western blot 实验检测 TNM 分期为 I 期到 III 期的 30 个病人样本,4 位数字串代表病人编号,A 和 C 为结直肠癌旁正常组织(A)和结直肠癌组织(C),结果表示为 3 次独立实验的平均数

Fig. 2 The expression of FEZF1 protein was detected by Western blot

Western blot 实验检测 TNM 分期为 I 期到 III 期的 30 个病人样本,黑色数字串代表病人编号,A 和 C 为结直肠癌旁正常组织(A)和结直肠癌组织(C),红色数字代表 FEZF1 蛋白表达信号的灰度分析值,其中结直肠癌旁正常组织(A)和结直肠癌组织(C)中 FEZF1 蛋白信号灰度值等比例换算,将 FEZF1 在结直肠癌旁正常组织中的信号灰度值表述为 1,结果表示为 3 次独立实验的平均数.

通过对 Western blot 实验中 FEZF1 蛋白信号的灰度分析及 SPSS 软件的数据配对 t 检验分析,发现 FEZF1 蛋白在 TNM I 期、II 期及 III 期的样本中都是在癌组织中显著低表达,如图 3.

接下来我们进一步探究这种在癌组织中 FEZF1 蛋白水平低表达是否与肿瘤的发展有关,即结直肠癌从肿瘤淋巴结转移分期(TNM)的 I 期到 III 期的过程中 FEZF1 蛋白在癌组织中的低表达是否有变化上的趋势,因此我们通过 SPSS 软件配对 t 检验分析以上 Western Blot 实验数据灰度值分析,发现 FEZF1 蛋白在结直肠癌组织从 TNM 分期的 I 期到 II 期的过程中显著降低,但从 II 期到 III 期的过程中并没有显著性的增高,如图 4.

表 2 I 到 III 期病人组织样本信息

Tab. 2 Tissue sample information for stage I to III patients

样本编号	性别	年龄	分期	TNM 分期	大小(cm)	位置	分化水平
1341	男	68	I	pT2N0	4×4×1	乙状结肠	未给出
1416	女	71	I	pT2N0	3.5×3	乙状结肠	中分化
1461	女	70	I	pT2N0	2.5×2.3	结肠	中分化
1570	女	65	I	pT2N0	4.5×4	直肠肛管	中分化
1605	男	61	I	pT2N0	4×4×1	直肠	未给出
1629	男	70	I	pT2N0	7×4	直肠肛管	未给出
2171	男	61	I	pT2N0	3.5×2.8	直肠	中分化
2064	男	64	I	pT2N0	4×3.5×1.5	直肠	未给出
2758	女	75	I	pT2N0	5×2.5×1.2	直肠	中分化
2577	女	63	I	pT1N0	2.5×2.5×0.5	直肠	未给出
2753	女	80	II A	pT3N0	6.5×5×2	结肠	未给出
1435	男	53	II	pT3N0	8×6×2	结肠	未给出
2654	男	42	II	pT4aN0	6×5×1	直肠	中分化
2658	男	75	II	pT3N0	6.5×5×2	直肠	未给出
2673	男	60	II	pT3N0	7×5.5×1.5	直肠	中分化
2764	女	68	II A	pT3N0	4×3.5×1	乙状结肠	中分化
2715	男	64	II A	pT3N0	8×4×1.5	直肠	中分化
1269	男	57	I	pT2N0	8×7	结肠	中分化
2059	女	59	II	pT3N0	4×3	直肠	中分化
2774	男	83	II A	pT3N0	5×3×2	直肠结肠	中分化
2643	女	60	III	pT3N1c	6.5×3×1	直肠	中分化
2661	男	71	III	pT4aN2b	5×5×3	结肠	中分化
2662	女	62	III	pT3N2	3.8×3×1.5	直肠	未给出
2671	男	77	III	pT3N1c	6.5×4×3.5	直肠	低分化
2755	女	49	III B	pT2N2b	2.5×2×1	直肠	未给出
2754	女	59	III B	pT4aN1c	3×2.5×1	直肠	中分化
2714	女	57	III B	pT3N1	4×4×1	直肠	中分化
2701	女	59	III B	pT3N1a	3.5×3.5×1	乙状结肠	未给出
2722	男	69	III B	pT3N1b	6×5.5×2	结肠	未给出
2779	男	67	III B	pT3N1c	4.5×4×1.5	直肠	中分化

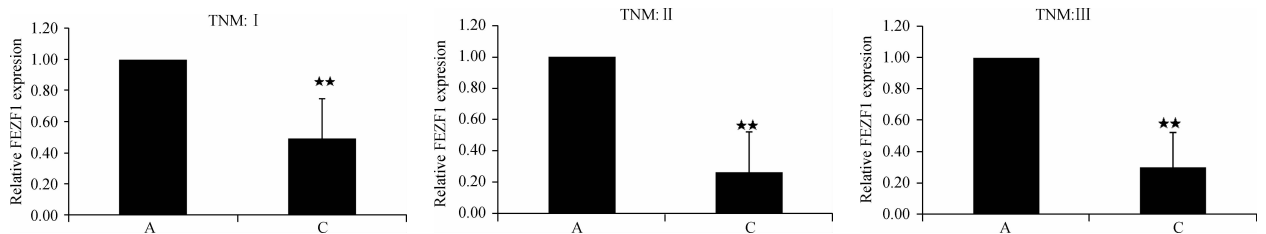


图 3 FEZF1 蛋白表达与 TNM 分期的关系

A: 结直肠癌旁组织, C: 结直肠癌旁组织. FEZF1 蛋白在 I 期、II 期及 III 期的结直肠癌临床样本中的表达显著低于相应的癌旁组织中的表达, 利用 SPSS 软件对 Western Blot 实验数据的灰度值进行分析, 数据是 3 次独立实验的平均值 ± SD. ★★*P* < 0.01

Fig. 3 The relationship between FEZF1 protein expression and TNM stage

3.3 FEZF1 蛋白表达与结直肠癌临床病理参数的关系

FEZF1 蛋白在结直肠癌临床样本中的表达除了与 TNM 分期有关外, 我们探究其是否还与其他临床病理参数有关, 因此我们通过 SPSS 软件分析

了这 30 对临床样本的 6 项病例参数: 性别, 年龄, 肿瘤大小, 病变位置, 组织类型以及浸润深度与 FEZF1 蛋白表达水平之间的关系, 如表 1. 结果显示 FEZF1 蛋白在结直肠癌组织中的表达水平与这些临床病例参数没有明显的相关性.

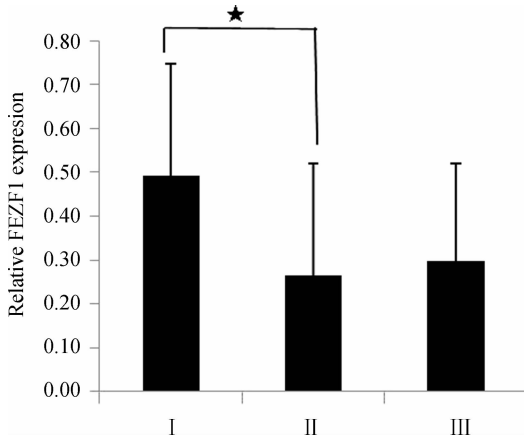


图 4 FEZF1 蛋白表达与 TNM 发展的关系
FEZF1 蛋白在结直肠癌临床样本中的表达从 I 期到 II 期显著降低,但从 II 期到 III 期的过程中没有显著变化,数据是 3 次独立实验平均值± SD. ★ $P < 0.05$.

Fig. 4 The relationship between FEZF1 protein expression and TNM development

表 3 FEZF1 在结直肠腺癌组织中的表达与临床病例参数之间的关系

Tab. 3 The relationship between FEZF1 expression in colorectal adenocarcinoma and clinical case parameters

病例特征	n	p
性别		
男性	15	0.137
女性	15	
年龄(岁)		
<65	16	0.394
≥65	14	
肿瘤大小(cm)		
<1.8	16	0.157
≥1.8	11	
病变位置		
结肠	9	0.324
直肠	18	
组织类型		
乳头状腺癌	6	0.509
管状腺癌	12	
浸润深度		
未侵及浆膜	9	0.374
侵及浆膜	11	

注:样本数据来自 30 个结直肠癌组织样本中 FEZF1 的表达量. 95% CI 为 95% confidence,表示置信区间为 95%

3.4 FEZF1 低表达效率检测

在 RKO 细胞中转染连接有 shFEZF1-1 和 shFEZF1-2 的 pLKO.1 载体,对照组转染连接有 shEGFP pLKO.1 载体,嘌呤霉素筛选,48 小时后 TRIzol 提取细胞 RNA,逆转录成 cDNA,以 GAPDH 为内参基因,Real-time PCR 检测其低表达效率,利用 SPSS 软件对实验数据进行分析配对 t 检验,取 3 次独立实验的平均数± SD 为结果,如

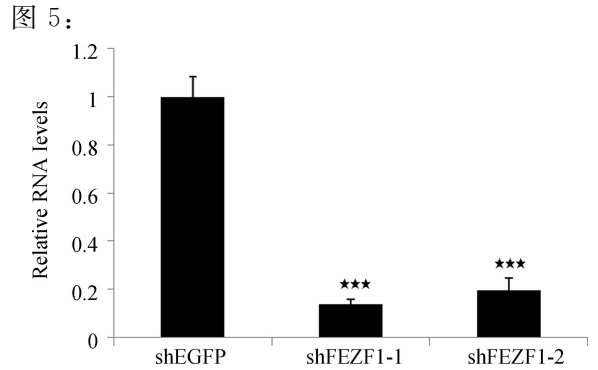


图 5 RNAi 使 FEZF1 低表达
通过 shRNAs 使 FEZF1 mRNA 水平低表达,结果为平均值±标准差,★★★ $P < 0.001$

Fig. 5 Low expression of FEZF1 by RNAi

结果显示,与对照组 shEGFP 中 FEZF1 的表达量相比,转染 shFEZF1-1 和 shFEZF1-2 质粒的细胞中 FEZF1 的表达水平分别降低至 13.8% 和 19.8%,FEZF1 低表达效果显著.

3.5 FEZF1 低表达促进结直肠癌细胞增殖

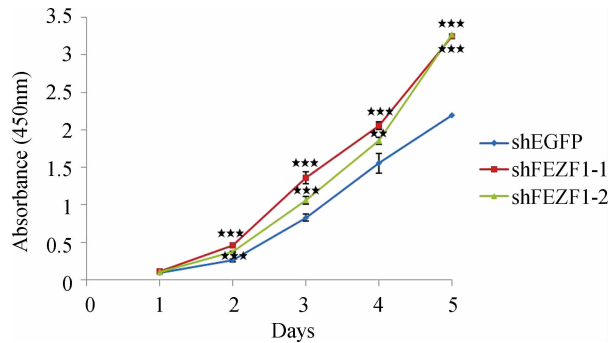


图 6 FEZF1 低表达促进 RKO 细胞增殖
FEZF1 低表达后促进了结直肠癌细胞 RKO 的增殖,结果为平均值±标准差,★★ $P < 0.01$, ★★★ $P < 0.001$

Fig. 6 Induced proliferation of RKO cells by shFEZF1

FEZF1 对结直肠癌细胞的增殖会有何种影响,我们检测了 FEZF1 表达量降低后 RKO 细胞的增殖,在 RKO 细胞中转染连接有 shEGFP、shFEZF1-1、shFEZF1-2 pLKO.1 的载体,用嘌呤霉素筛选,培养,在第 1 d,第 2 d,第 3 d,第 4 d,第 5 d 对细胞进行结晶紫染色,酶标仪检测吸光值,绘制细胞增殖曲线,如图 6:

结果显示,利用 SPSS 软件对 3 次独立实验数据进行分析配对 t 检验,和对照组转染 shEGFP 质粒的 RKO 细胞相比 FEZF1 低表达后的癌细胞增殖水平在第 2 d 到第 5 d 显著增加,说明 FEZF1 可能具有 RKO 细胞增殖抑制的作用.

3.6 FEZF1 低表达促进结直肠癌细胞迁移

为了进一步探究 FEZF1 表达量降低对 RKO

细胞的迁移能力的作用,接着我们做了 Transwell 细胞迁移试验.在结直肠癌 RKO 细胞中分别转染 shEGFP、shFEZF1-1、shFEZF1-2.用含嘌呤霉素

的培养基筛选细胞,结晶紫染色在随机选取多个视野细胞计数,利用 SPSS 软件对 3 次独立实验数据进行分析配对 t 检验,如图 7:

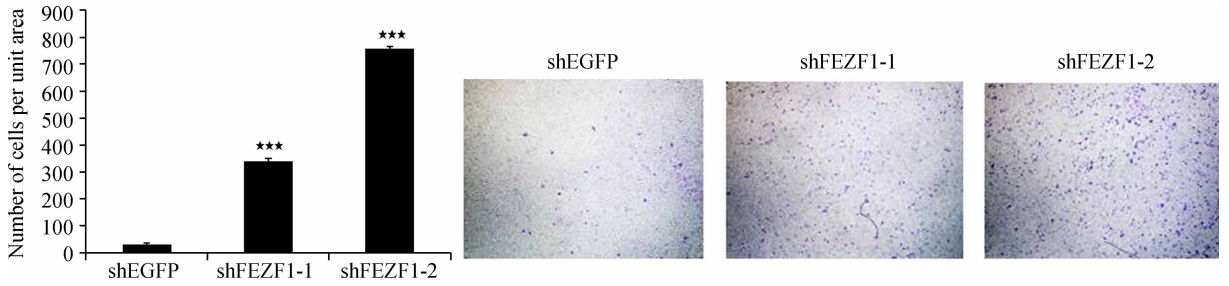


图 7 FEZF1 低表达促进结直肠癌细胞的迁移能力

通过 Transwell 细胞迁移实验发现 FEZF1 低表达促进结直肠癌细胞的细胞迁移能力. 结果为 3 次独立实验的平均值±标准差, ★★★ $P < 0.001$

Fig. 7 Induced migration of RKO cells by shFEZF1

结果表示为 3 次独立实验的平均值±SD, 显示转染 shFEZF1-1、shFEZF1-2 的 RKO 细胞与转染 shEGFP 的 RKO 细胞相比细胞迁移能力显著增加,因此 FEZF1 表达量降低促进癌细胞迁移,表明 FEZF1 在 RKO 细胞可以抑制细胞迁移.

3.7 FEZF1 过表达抑制结直肠癌细胞增殖

在 FEZF1 蛋白过表达的情况下,进行了 CCK-8 实验,检测 FEZF1 对 RKO 细胞增殖能力的影响.利用 SPSS 软件对 3 次独立实验数据进行分析,结果如图 8-b,在过表达 FEZF1 后,与对照组相比,RKO 细胞增殖能力减弱.表明 FEZF1 可能抑制 RKO 细胞的增殖.

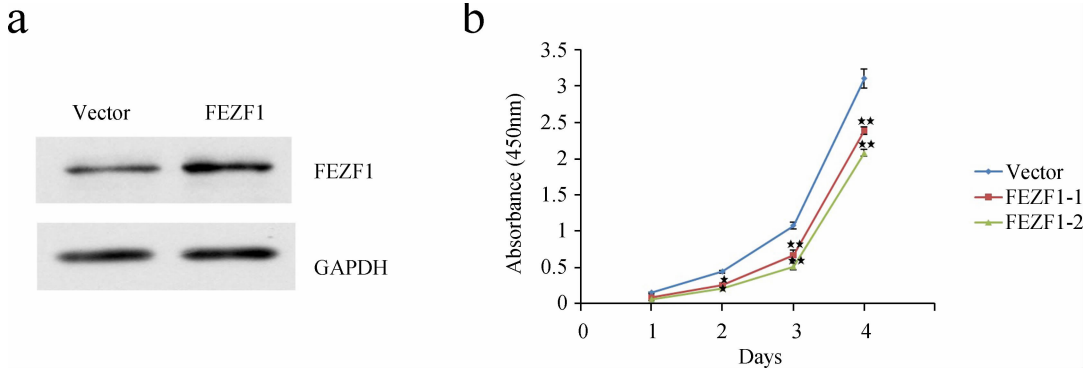


图 8 过表达 FEZF1 促进 RKO 细胞增殖

a. Western blot 检测 FEZF1 蛋白过表达在 RKO 细胞中过表达 FEZF1, b. 用 CCK-8 实验检测 RKO 细胞增殖能力. 结果为 3 次独立实验的平均值±SD, ★ $P < 0.05$, ★★★ $P < 0.01$

Fig. 8 Overexpression of FEZF1 promoted RKO cells proliferation

4 讨论

结直肠癌的发生与 PTEN、hMLH1、PMS2 等多种基因的突变以及 p53、RAS、MAPK、PI3K、Wnt/ β -catenin 等多种信号通路有关^[11]. 来源于 FEZF1 基因反义链的 LncRNA FEZF1-AS1 在结直肠癌细胞中敲低后会显著降低 FEZF1 mRNA 水平和蛋白表达水平. Fez 家族锌指蛋白 1 和 2 (FEZF1 和 FEZF2) 是两个与小鼠早期发育密切相关的转录因子,对于大脑发育和细胞特性具有重要作用. FEZF2 是大脑皮质中第 5 层皮质下投射神

经元正确发育所必需的因子,而 FEZF1 对 OB 和嗅觉上皮(MOE)正确发育至关重要.此外,FEZF1 和 FEZF2 是在前期发育过程中对调节前脑的大小和形态所必需的转录因子^[12]以及 FEZF1 突变导致 Kallmann 综合征^[13].

本研究通过免疫组化发现 FEZF1 蛋白在结直肠癌组织中的表达量低于结直肠癌旁正常组织中的水平,Western Blot 实验进一步验证了 FEZF1 蛋白在结直肠癌组织比癌旁正常组织中的表达低,并且这种在结直肠癌组织中表达量的降低与肿瘤淋巴结转移(tumor node metastasis, TNM)分期具

有显著的相关性,而与患者性别、年龄、肿瘤大小、部位、组织学类型没有明显的关联.接下来进一步探讨 FEZF1 在结直肠癌组织和癌旁正常组织中的表达和其临床意义,在 FEZF1 mRNA 敲低后,检测了结直肠癌细胞 RKO 的增殖情况,发现 RKO 细胞增殖能力提高,同时,高表达 FEZF1 后 RKO 细胞增殖减弱,说明 FEZF1 可能会抑制结直肠癌细胞的增殖.此外,FEZF1 mRNA 低表达时,RKO 细胞迁移能力增加,说明 FEZF1 可能会抑制结直肠癌细胞的迁移.由于文中免疫组化实验和蛋白免疫印迹实验所用临床样本较少,不能非常有说服力的论证以上结论,接下来扩大临床样本数量进一步验证这一结论,并通过其他实验方法探究 FEZF1 蛋白在结直肠癌中低表达的深层作用机理,期望 FEZF1 的这一特征能为结直肠癌早期诊断筛查的生理学标志物的选择提供新的思路,也希望检测结直肠癌中 FEZF1 的表达,能够对于结直肠癌临床治疗及预后诊断具提供一定的参考.

参考文献:

- [1] Meijer G A. GLOBOCAN 1: Cancer incidence and mortality worldwide [J]. *J Clin Pathol*, 2000, 53: 164.
- [2] Farrington S M, Tenesa A, Barnetson R, *et al.* Germline susceptibility to colorectal cancer due to base-excision repair gene defects [J]. *Am J Hum Genet*, 2005, 77: 112.
- [3] Piñol V, Castells A, Andreu M, *et al.* Accuracy of revised Bethesda guidelines, microsatellite instability, and immunohistochemistry for the identification of patients with hereditary nonpolyposis colorectal cancer [J]. *JAMA*, 2005, 293: 1986.
- [4] Wood L D, Parsons D W, Jones S, *et al.* the genomic landscapes of human breast and colorectal cancers [J]. *Science*, 2007, 318: 1108.
- [5] Notterman D A, Alon U, Sierk E J, *et al.* Transcriptional gene expression profiles of colorectal adenoma, adenocarcinoma, and normal tissue examined by oligonucleotide arrays [J]. *Cancer Res*, 2001, 61: 3124.
- [6] Shimizu T, Hibi M. Formation and patterning of the forebrain and olfactory system by zinc-finger genes *Fezf1* and *Fezf2* [J]. *Dev Growth Differ*, 2009, 51: 221.
- [7] Song I S, Oh N S, Kim H T, *et al.* Human ZNF312b promotes the progression of gastric cancer by transcriptional activation of the K-ras gene [J]. *Cancer Res*, 2009, 69: 3131.
- [8] Chen N, Guo D, Xu Q, *et al.* Long non-coding RNA FEZF1-AS1 facilitates cell proliferation and migration in colorectal carcinoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 11271.
- [9] Alves V A, Pinheiro C, Moraissantos F, *et al.* Characterization of monocarboxylate transporter activity in hepatocellular carcinoma [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20: 11780.
- [10] Anderson D M, Anderson K M, Chang C L, *et al.* A micropeptide encoded by a putative long noncoding RNA regulates muscle performance [J]. *Cell*, 2015, 160: 595.
- [11] 王承恩, 罗玉, 贺正池, 等. 长非编码 RNA LINC00941 在结直肠癌中的表达及对细胞增殖的影响 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2017, 54: 1301.
- [12] Hirata T. Zinc-finger genes *Fez* and *Fez*-like function in the establishment of diencephalon subdivisions [J]. *Development*, 2006, 133: 3993.
- [13] Kotan L D, Hutchins B I, Ozkan Y, *et al.* Mutations in FEZF1 cause kallmann syndrome [J]. *Am J Hum Genet*, 2014, 95: 326.

引用本文格式:

中文: 李宗鑫, 贺正池, 肖雪薇, 等. FEZF1 在结直肠癌组织和癌旁正常组织中的表达及临床意义 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2019, 56: 338.

英文: Li Z X, He Z C, Xiao X W, *et al.* The expression and clinical significance of FEZF1 in colorectal cancer tissues and adjacent normal tissues [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2019, 56: 338.