

论 著

(基础研究)

转录因子 RFX1 上调 FZD2 促进乳腺癌增殖、侵袭和转移

地里呼玛尔·吐鲁洪, 王少华

【摘要】 目的 探讨转录调节因子 X1 (RFX1) 在乳腺癌中的表达及功能, 探索其在乳腺癌中的调控机制。方法 通过实时荧光定量 PCR 检测乳腺癌及配对乳腺癌旁组织中 RFX1 的相对表达量; 通过生物信息学、染色质免疫沉淀技术 (ChIP) 和荧光素酶实验验证转录因子 RFX1 的靶基因; 通过 Western blot、CCK8、Transwell 和划痕实验明确 RFX1 对乳腺癌增殖、侵袭、转移和上皮-间质转化 (EMT) 的影响。结果 RFX1 在乳腺癌组织中的表达高于癌旁正常组织 ($P < 0.01$), 其表达水平与乳腺癌分期、类型和淋巴结转移状态有关 ($P < 0.01$)。体外实验结果表明 RFX1 促进乳腺癌细胞的增殖、迁移、转移和 EMT 过程, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。生物信息学方法预测 RFX1 靶向调控 FZD2, 过表达 RFX1 使 FZD2 启动子区转录活性增强 ($P < 0.01$)。挽救实验提示外源性下调 RFX1 后乳腺癌细胞的增殖、侵袭、迁移和上皮-间质转化被 FZD2 逆转, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

结论 RFX1 通过上调 FZD2 促进乳腺癌细胞的增殖、侵袭和转移。这一发现为乳腺癌的治疗提供了新的思路和靶点。

【关键词】 乳腺癌; 转录调节因子 X1; FZD2; 转录因子

【中图分类号】 R737.9

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-271X(2023)03-0230-07

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2023.03.002

RFX1-induced transcriptional activation of FZD2 accelerates the progression of breast cancer

Dilihumaer Tuluhong, WANG Shaohua

(Research Institute of General Surgery, Jingling Hospital, Nanjing University School of Medicine/General Hospital of Eastern Theater Command, PLA, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

【Abstract】 **Objective** To explore the expression and function of RFX1 and investigate its regulatory mechanism in breast cancer. **Methods** Real-time quantitative PCR was used to detect the relative expression level of RFX1 in cancer and adjacent tissues. Bioinformatics, CHIP, and luciferase experiments were performed to validate the target genes of transcription factor RFX1. Western blot, CCK8, Transwell, and wound healing assay were conducted to elucidate the effects of RFX1 on breast cancer proliferation, invasion, metastasis, and epithelial-mesenchymal transition (EMT). **Results** The expression of RFX1 in breast cancer tissues was found to be significantly higher than that in adjacent normal tissues ($P < 0.01$). Furthermore, the expression level of RFX1 exhibited a significant correlation with breast cancer stage, type, and lymph node metastasis status ($P < 0.01$). In vitro experiments revealed that RFX1 played a crucial role in promoting the proliferation, migration, metastasis, and EMT process of breast cancer cells ($P < 0.05$). Moreover, bioinformatics analysis predicted that RFX1 exerted its regulatory effects on the target gene FZD2. Overexpression of RFX1 was observed to enhance the transcriptional activity of the FZD2 promoter region ($P < 0.01$). Subsequent rescue experiments demonstrated that the phenotypic changes associated with breast cancer, including proliferation, invasion, migration, and EMT, induced by RFX1 downregulation, which could be reversed by the involvement of FZD2 ($P < 0.05$). **Conclusion** RFX1 promotes breast cancer cell proliferation, invasion, and metastasis by upregulating FZD2. This finding provides new insights and targets for the treatment of breast cancer.

【Key words】 breast cancer; regulator factor X1; FZD2; transcription factor

基金项目: 南京军区医药卫生科研基金课题 (ZD33)

作者单位: 210002 南京, 南京大学医学院附属金陵医院 (东部战区总医院) 全军普通外科研究所 [地里呼玛尔·吐鲁洪、王少华 (现在南京医科大学附属妇幼保健院普外科工作)]

通信作者: 王少华, E-mail: wangsh_jinling@126.com

0 引 言

乳腺癌严重威胁女性健康。据最新全球癌症报告数据, 乳腺癌已超过肺癌, 成为总人群发病率

最高的恶性肿瘤^[1]。预计 2023 年约有 226 万新发病例, 占所有恶性肿瘤的 11.7%^[2-3]。虽然乳腺癌治疗手段逐年多样化, 但个别乳腺癌患者对治疗依然不敏感, 成为了科学界的难题。因此有必要深入乳腺癌的发生发展机制, 为乳腺癌患者提高生活质量, 延长生存期提供可能。癌症是一个多步骤过程, 其中转录因子 (transcription factor, TF) 可以参与细胞增殖、存活、代谢、侵袭和转移等过程^[4]。转录调节因子 X1 (regulator factor X1, RFX1) 作为 RFX 家族成员之一, 通过称为 X-box 的 DNA 序列基序调节其靶基因。它编码的转录因子包含五个保守域, 通过与靶基因上游的 RFX1 结合序列结合调控基因的表达^[5]。RFX1 是八个家族成员中最早发现的一个, 并且在许多癌症中发挥致癌作用^[6-7]。RFX1 既可以作为分子标志物早期预测癌症的发生, 也可能作为重要的分子靶点成为潜在的靶向治疗的靶标。但是其在乳腺癌中的功能以及调控肿瘤生物学行为的机制仍不明确。本研究通过一系列体外实验检测 RFX1 在乳腺癌细胞系和组织中的表达, 分析其在乳腺癌细胞系中的生物学功能, 并探讨其在肿瘤发生发展过程中的调控机制。本研究以 RFX1 基因为例, 深入探讨 RFX1 在乳腺癌进展中的作用及机制。

1 材料与方法

1.1 组织标本 选取东部战区总医院普通外科甲状腺乳腺疾病治疗中心 2019-2020 年间 35 对乳腺癌及配对乳腺癌旁组织用于 qRT-PCR 实验。本实验已通过医院伦理委员会批准 (批准号: 2022DZSKT-026)。

1.2 实验细胞系 人乳腺癌细胞 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞购自上海细胞研究所。两种细胞系都在含有 10% 血清的 DMEM 高糖培养基中, 放入 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中进行培养。

1.3 siRNA 构建及细胞转染 特异性抑制卷曲蛋白 2 (Frizzled2, FZD2) 表达的小干扰 RNA 由广州锐博生物科技有限公司合成。利用 lipofectaminc3000 转染小干扰 RNA。通过 Western blot 验证蛋白干扰水平, 通过 qRT-PCR 验证 RNA 干扰水平。siRNA 序列: si-FZD2-1 为 CATCCTATCTCAGCTACAA, si-FZD2-2 为 CCATCATGCCCAACCTTCT。

1.4 细胞 RNA 提取及 qRT-PCR 利用 Trizol 法提取细胞 RNA, RNA 逆转录反应以及实时定量 PCR 根据 TAKARA 试剂盒说明书进行。最后根据扩增曲线得到 Ct 值, 用相对表达量 = $2^{-(\Delta\Delta Ct)}$ 公式计算

RFX1 的相对表达量。

1.5 细胞蛋白提取和蛋白质免疫印迹 (Western blot) RIPA:PMSF:Cocktail=100:1:1 配置裂解液提取细胞蛋白, BCA 试剂盒进行蛋白定量。电泳结束后用转至 PVDF 膜, 并用 5% 的牛奶封闭 2 h。后一抗 4 °C 摇床过夜, 第 2 天洗膜后二抗室温孵育 1 h, 并用 ECL 发光仪进行显影。ImageJ 软件定量分析条带的灰度值之比。

1.6 CCK8 实验 转染质粒的 24 h 后, 将细胞消化后铺至 96 孔板, 并且分别在接种后的 24、48、72、96、120 h 的时间点处加入 10 μL CCK-8 后, 用酶标仪检测每孔在 OD450 nm 处的吸光值。

1.7 Transwell 实验 将转染后的细胞消化后, 并调整细胞密度, 在小室上室加入 200 μL 细胞悬液, 下室加入 750 μL 含 20% FBS 的培养基, 培养 48 h 后甲醇固定, 结晶紫染色并风干后拍照保存。

1.8 细胞划痕实验 质粒转染至细胞后, 待细胞密度达到 90% 时, 用枪头在六孔板中垂直划线。分别在 0 h 和 48 h 后将细胞取出并拍照并保存, Image J 测量细胞迁移距离。

1.9 染色质免疫沉淀技术 (ChIP) 将多聚甲醛用培养基稀释至终浓度为 1%, 加入 125 mM Glycine 中和固定液后, 以 100:1:1 的比例加入 PBS:蛋白酶抑制剂:磷酸酶抑制剂, 将细胞刮下并转移至 EP 管中, 进行细胞交联固定。随后超声断裂染色质, 将超声好的染色质取出目的样品体积的 10% 作为 input, 放于 -80 °C 保存, 待下一步实验; 900 μL Dilution buffer+100 μL 超声后的染色质+5 μg 抗体, 4 °C 旋转孵育过夜; 每份样品中加入 50 μL 磁珠, 旋转孵育 3 h 后取出; 最后解交联以及 DNA 纯化, 并行 qRT-PCR 检测。FZD2 序列如下: FZD2-promoter (forward): GGAATAGGTGGGGTTCGAGG; FZD2-promoter (reverse): CCGGGATTCTCCGGAGTTG。

1.10 双荧光素酶报告实验 HEK293T 细胞 10 000/孔 (96 孔板) 每组 3 个平行铺板培养 12 h 后, 荧光素酶报告质粒 (0.1 μg/孔) 和过表达质粒 (0.1 μg/孔) 与 0.5 μL lipo2000 混匀, 转染, 培养 48 h 后加入 100 μL 溶解的荧光素酶底物, 反应 5 min; 孔板放入酶标仪后 560 nm 处读数。

1.11 生物信息学 LASAGNA 和 HumanTFDB 数据库检索 FZD2 上游潜在的转录因子 RFX1; UALCAN 和 ONCOMINE 数据库检索 RFX1 在人乳腺癌组织中的表达与生存的相关性; GEPIA (<http://gepia.cancer-pku.cn/index.html>) 数据库,

检索 BRCA 中 FZD2 与 RFX1 的相关性,使用 Spearman 秩相关检验进行分析。

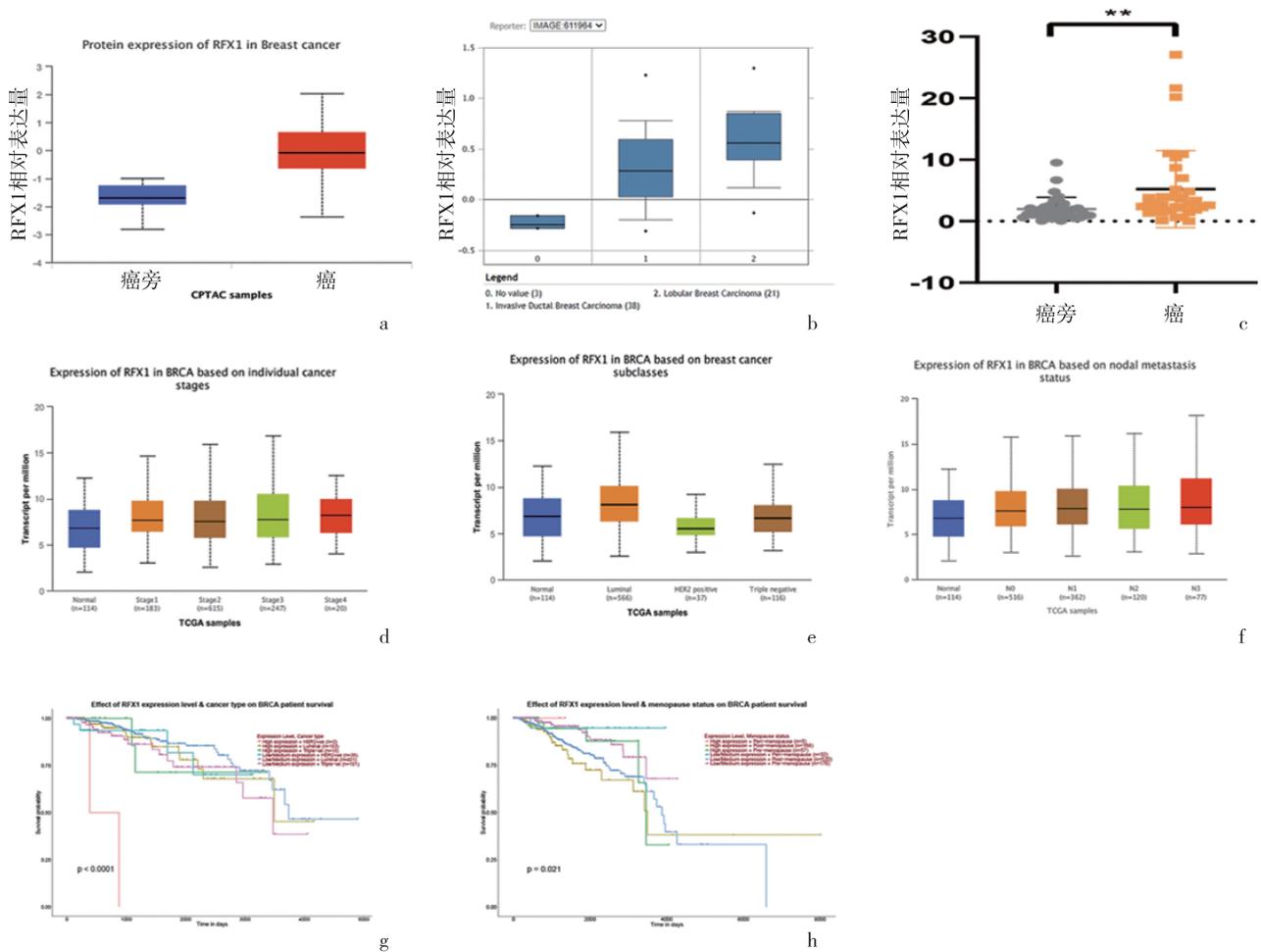
1.12 统计学分析 所有实验为 3 次独立重复实验得出结果。使用 GraphPad Prism 8 软件及 SPSS 25.0 软件统计分析数据,3 次实验结果以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。采用配对 *t* 检验对比两组之间表达量的差异;采用卡方检验分析临床病理资料与高低表达分组之间的相关性。以 $P\leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RFX1 在乳腺癌中高表达,提示预后差

UALCAN 和 ONCOMINE 数据库检测 RFX1 在乳腺癌和

癌旁组织的表达结果提示,相比于癌旁组织,乳腺癌组织中 RFX1 表达增加,见图 1a、b。随后用 qRT-PCR 在 35 对乳腺癌及癌旁组织中测得 RFX1 的表达情况,结果显示,在 RFX1 在乳腺癌组织中高表达,见图 1c。UALCAN 数据库检测 RFX1 在不同亚型乳腺癌中的表达情况,结果提示,相比于正常乳腺组织,RFX1 在不同分期、不同亚型的乳腺癌、不同淋巴结转移中表达明显增加,见图 1d-f。通过在线数据库验证 RFX1 与患者生存的关系结果提示,不同亚型和不同绝经状态的乳腺癌患者中 RFX1 表达与不良预后相关($P<0.01$),见图 1g、h。因此 RFX1 在乳腺癌中高表达并且高表达 RFX1 基因的患者预后较差。

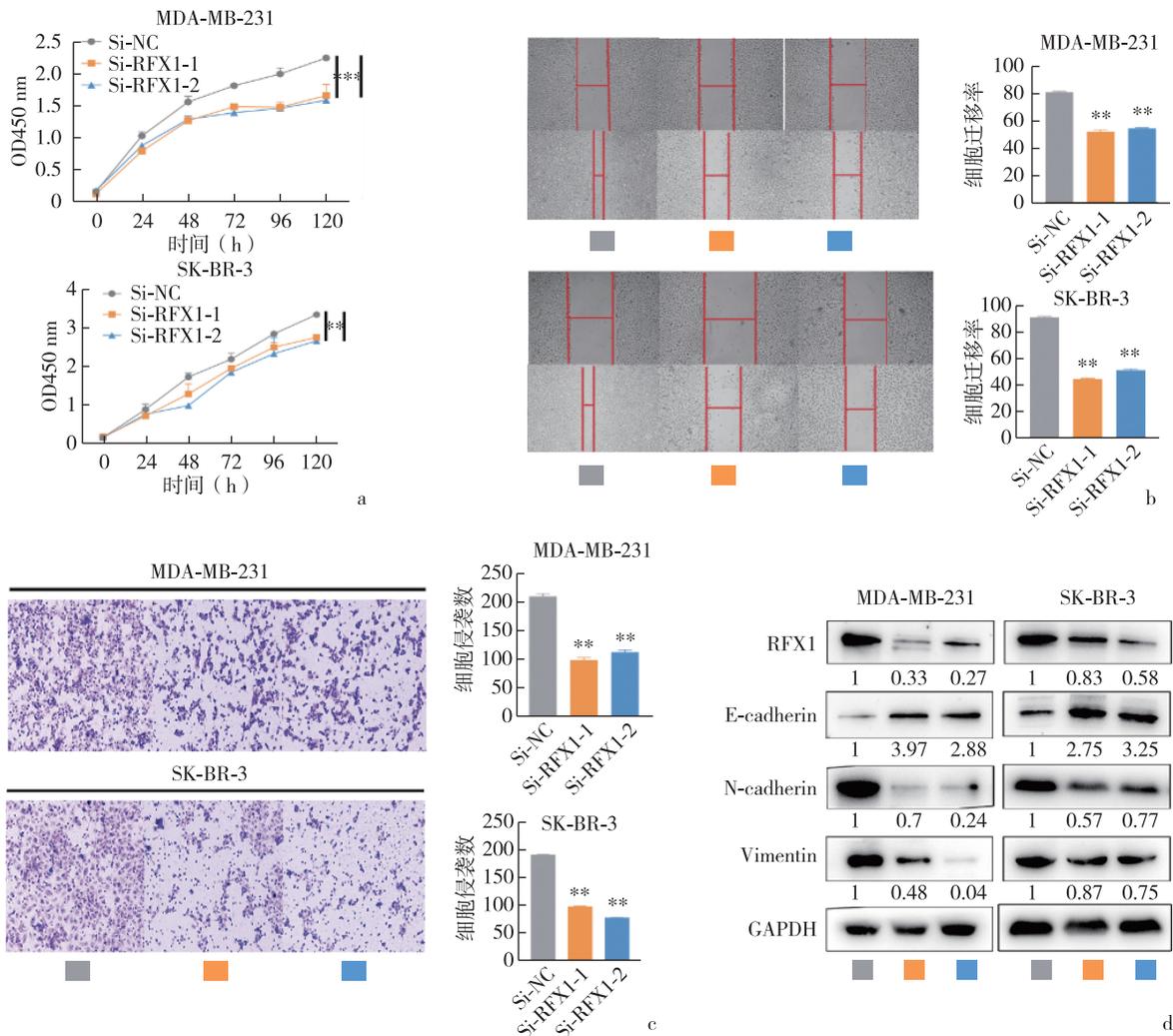


a: UALCAN 数据库检测 RFX1 在乳腺癌组织($n=125$)和癌旁组织($n=18$)的表达;b: ONCOMINE 数据库检测 RFX1 在乳腺癌组织($n=38$)和癌旁组织($n=3$)的表达;c: qRT-PCR 检测在 35 对乳腺癌和癌旁组织中 RFX1 的表达;d: UALCAN 数据库对 I 期($n=183$)、II 期($n=615$)、III 期($n=247$)以及 IV 期($n=20$)乳腺癌与正常乳腺组织($n=114$)中 RFX1 的表达进行比较;e: UALCAN 数据库对 Luminal 型($n=566$)、HER2 型($n=37$)以及三阴性($n=116$)乳腺癌与正常乳腺组织($n=114$)中 RFX1 的表达进行比较;f: UALCAN 数据库对 N0($n=516$)、N1($n=362$)、N2($n=120$)以及 N3($n=77$)中分别与正常乳腺组织($n=114$)中 RFX1 的表达进行比较;g: UALCAN 数据库分析不同亚型乳腺癌患者 RFX1 的表达与预后的相关性;h: UALCAN 数据库分析不同绝经水平乳腺癌患者 RFX1 的表达与预后的相关性
误差线表示标准差,由 3 次重复实验得出, * $P<0.05$ 、* * $P<0.01$

图 1 RFX1 在乳腺癌组织中的表达情况与预后相关性

2.2 RFX1 促进乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭 为进一步研究 RFX1 在乳腺癌中的生物学功能,外源性下调 RFX1 表达,并且采用 CCK-8 实验评估 RFX1 表达对乳腺癌细胞活力的影响,结果显示,在 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞中,干扰 RFX1 表达后,si-RFX1-1 和 si-RFX1-2 组的细胞活力均降低,与对照组相比具有显著统计学差异,见图 2a。为进一步探究 RFX1 在乳腺癌中的生物学功能,利用划痕实验检测 RFX1 下调后乳腺癌细胞迁移能力的改变,结果显示,RFX1 下调后,MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞的迁移能力受到抑制,见图 2b。为进一步探究

RFX1 在乳腺癌中的生物学功能,利用 transwell 实验检测 RFX1 下调后乳腺癌细胞侵袭能力的改变,结果显示,RFX1 下调后,MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞的侵袭能力受到抑制,见图 2c。为验证 RFX1 在上皮-间质转化中的作用,在 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞中外源性下调 RFX1 后,利用 Western Blot 测得 EMT 相关蛋白表达情况,结果提示,干扰 RFX1 表达后,E-cadherin 表达水平提高,N-cadherin, Vimentin 表达水平下降,提示 RFX1 在乳腺癌细胞系中促进上皮-间质转化,见图 2d。



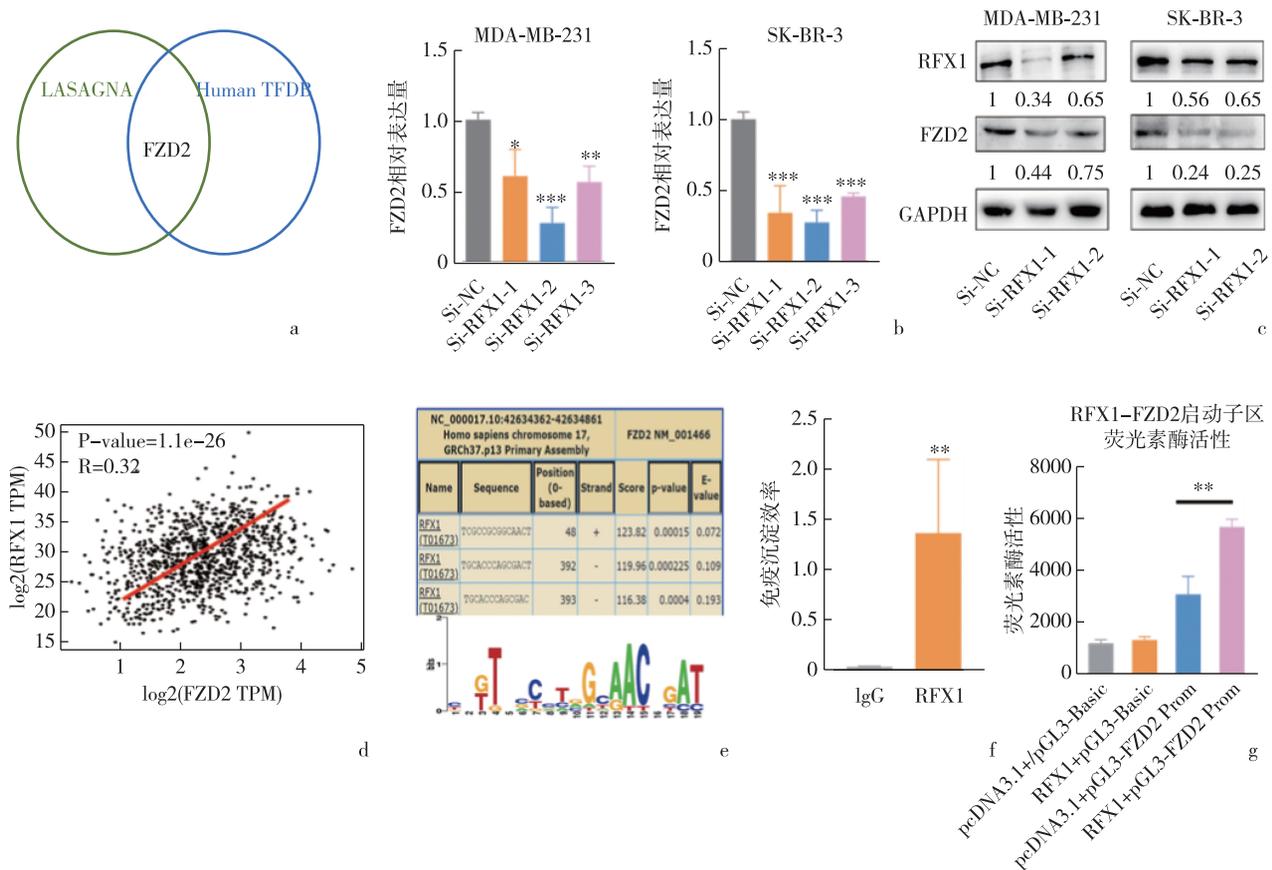
a: 干扰 RFX1 表达抑制 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞活力; b: 干扰 RFX1 表达抑制 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞迁移能力; c: 干扰 RFX1 表达抑制 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞侵袭力; d: 在 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞系中 Western Blot 检测干扰 RFX1 表达后 E-cadherin, N-cadherin, Vimentin 的表达情况

误差线表示标准差,由 3 次重复实验得出, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

图 2 下调 RFX1 后乳腺癌细胞增殖、侵袭和迁移能力的变化

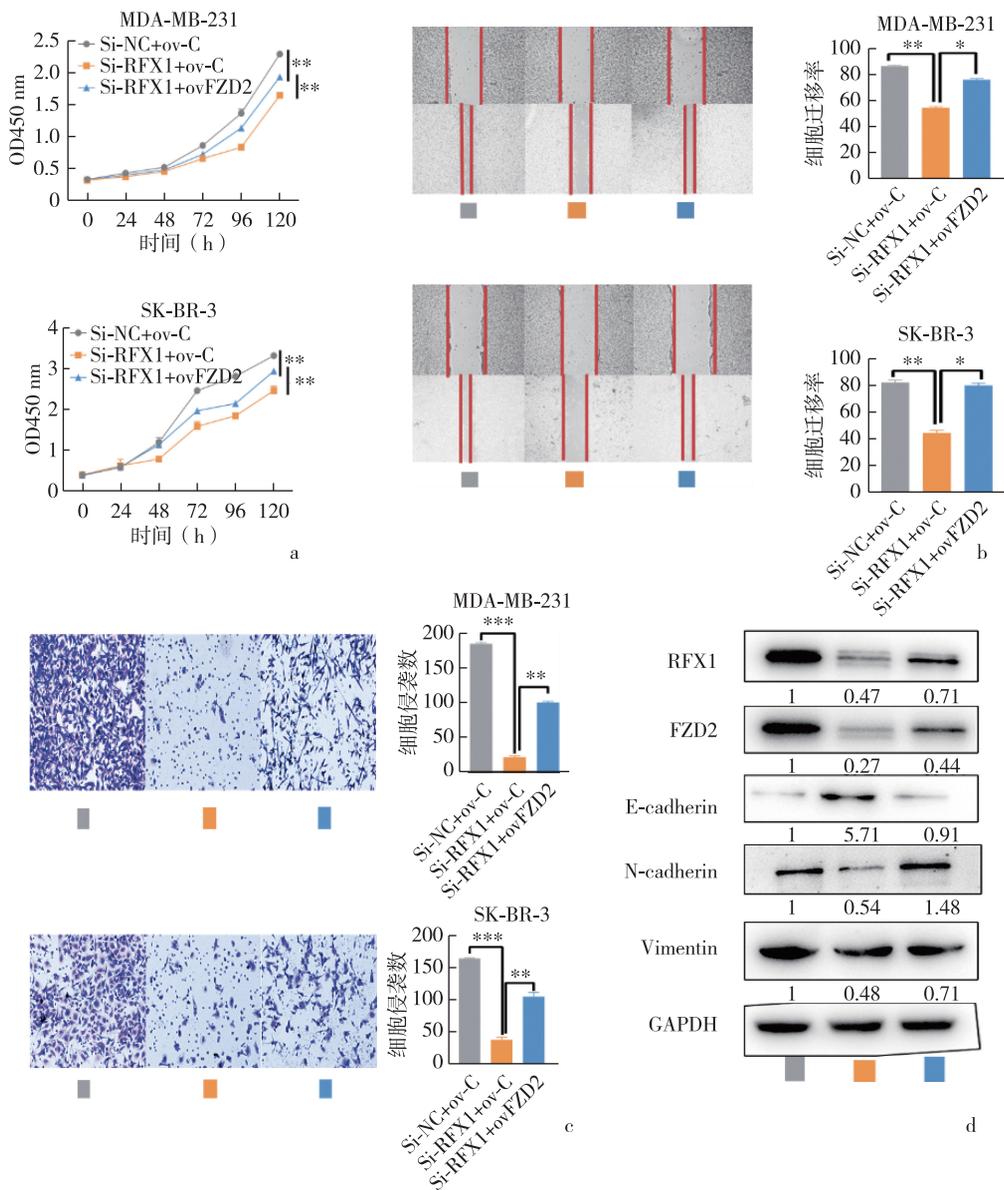
2.3 RFX1 是调控 FZD2 的关键转录因子 LASAGNA 和 HumanTFDB 预测交集得到 RFX1 下游潜在的靶基因,筛选得到 FZD2 可能是 RFX1 转录调控的关键分子,见图 3a。qRT-PCR 实验结果提示在 SK-BR-3 和 MDA-MB-231 乳腺癌细胞系中分别外源性下调 RFX1 后, FZD2 表达水平显著降低,见图 3b。WB 实验检测到下调 RFX1 表达后, FZD2 表达水平明显降低,见图 3c。GEPIA 数据库提示 RFX1 与 FZD2 正相关,见图 3d。LASAGNA 数据库提示 RFX1 在 FZD2 启动子区有潜在的结合位点,见图 3e。ChIP 实验验证 RFX1 对于 FZD2 的转录调控作用,结果提示 RFX1 能够调控 FZD2 启动子的转录,见图 3f。双荧光素酶基因报告实验检测过表达 RFX1 的细胞在转染 FZD2 的野生型和突变型质粒后的改变,结果显示,过表达 RFX1 后对 FZD2 启动子的转录活性增强,见图 3g。因此认为 RFX1 可能是 FZD2 上游调控的潜在转录因子。

2.4 FZD2 逆转 RFX1 对乳腺癌细胞的恶性生物学行为 功能回复实验结果显示,同时外源性下调 RFX1 和下调后过表达 FZD2, MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞的增殖能力与单纯 RFX1 下调相比,显著增加,见图 4a。采用划痕实验评估 RFX1 对乳腺癌细胞迁移能力的改变是否受 FZD2 的影响。功能回复实验结果显示,外源性下调 RFX1 后过表达 FZD2,挽救了 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞中 RFX1 造成的迁移能力的抑制,见图 4b。采用 Transwell 实验评估 RFX1 对乳腺癌细胞侵袭能力的改变是否受 FZD2 的影响。功能回复实验结果显示,外源性下调 RFX1 后过表达 FZD2,挽救了 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 细胞中 RFX1 造成的侵袭能力的抑制,见图 4c。Western bolt 实验检测转染 RFX1 小干扰 RNA 和 FZD2 过表达载体的 MDA-MB-231 细胞,结果显示外源性下调 RFX1 后乳腺癌细胞上皮-间质转化能力被 FZD2 逆转,见图 4d,说明 RFX1 能靶向调控 FZD2,促进上皮间质转化。



a: LASAGNA 和 HumanTFDB 预测交集得到潜在的 RFX1 靶向基因 FZD2; b: qRT-PCR 检测 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 中外源性下调 RFX1 后 FZD2 的表达; c: Westernblot 检测 MDA-MB-231 和 SK-BR-3 中外源性下调 RFX1 后 FZD2 的表达; d: GEPIA 数据库提示 RFX1 与 FZD2 表达呈正相关; e: LASAGNA 数据库预测 RFX1 与 FZD2 潜在的结合位点; f: ChIP 实验验证 RFX1 通过作用于 FZD2 启动子, 调控 FZD2 的表达; g: 双荧光素酶报告实验中观察过表达 RFX1 对 FZD2 启动子转录活性的影响
误差线表示标准差, 由 3 次重复实验得出, * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001

图 3 RFX1 是 FZD2 上游的转录因子



a: RFX1 通过抑制 FZD2 从而抑制 MAD-MB-231 和 SK-BR-3 细胞增殖; b: FZD2 可逆转 RFX1 对乳腺癌细胞迁移的抑制; c: FZD2 可逆转 RFX1 对乳腺癌细胞侵袭的抑制; d: FZD2 可逆转 RFX1 对乳腺癌细胞的上皮-间质转化能力
误差线表示标准差, 由 3 次重复实验得出, * $P < 0.05$ 、** $P < 0.01$ 、*** $P < 0.001$

图 4 FZD2 逆转 RFX1 诱导的乳腺癌细胞增殖迁移和侵袭和 EMT

3 讨 论

乳腺癌的发展是一个多步骤过程,需要转录因子的表达或激活来维持其生长和存活^[8]。迄今为止报道的许多转录因子对致癌作用至关重要。他们可以调节参与多种致癌事件,包括增殖、存活、代谢、侵袭和转移^[9]。研究发现,RFX1 作为 RFX 家族成员之一,其在细胞周期和 DNA 修复、细胞分化以及与肿瘤的发生、发展等过程中发挥着重要的作用^[10-12]。

RFX1 已被证明能够调控癌基因和抑癌基因^[5]。它能够通过诱导癌症干细胞的分化,使癌细胞

对化疗形成敏感性。有学者发现,RFX1 作为 CD44 表达的负调控因子,在胶质母细胞瘤中发挥重要作用^[13]。最新研究结果显示,RFX1 在肝癌细胞中过表达可以激活蛋白络氨酸磷酸酶(SHP1),而 SHP1 是转录激活因子 STAT3 的关键负调控因子,它可以通过降低 STAT3 的活性来抑制肝癌细胞的生长。另外,凋亡诱导因子 SC2001 可以激活肝癌细胞 RFX1 表达,进而激活 SHP1 转录,激活的 SHP1 导致 p-STAT3 和 Bcl-2 蛋白家族成员 Mcl-1 表达下调,从而诱导肝癌细胞自噬死亡^[14]。本研究发现 RFX1 在乳腺癌中高表达,并且高表达的 RFX1 与患者

不良预后相关。这些结果说明, RFX1 在乳腺癌中作为癌基因发挥作用。

本研究中, 我们首次发现 RFX1 促进乳腺癌细胞增殖、侵袭和转移。Liu 等^[15]发现在肝癌组织中 RFX1 表达下调, 并且促进了肝癌细胞侵袭。RFX1 还通过下调 CD44 表达来阻止多种胶质母细胞瘤细胞系的转移^[16]。虽然在大多数情况下, RFX1 充当转移的负调节因子, 但据报道, 与其亲本细胞系相比, RFX1 在转移性卵巢癌细胞系 HO-8910PM 中的转录活性增加, 表明 RFX1 在癌症转移中的积极作用^[17]。说明 RFX1 在不同肿瘤中发挥不同功能。

本研究结果发现, RFX1 促进乳腺癌细胞的 EMT 过程。一项纳入肝癌患者的队列研究表明, RFX1 低表达的患者会促进 EMT 过程^[15]。另外在头颈部癌细胞系中敲除 RFX1 会导致 HDAC1 和 SUV39H1 在 MCP1 启动子区募集, 使其表达增加, 从而诱导 EMT 和细胞迁移^[18]。在乳腺癌细胞系 MDA-MB-468 和 MCF-7 中, IL-6/STA3 通路通过上调 TGF- β 在 EMT 中发挥关键作用^[19], 这与本研究结果一致。为了进一步探索 RFX1 内在的转录调控机制, 我们通过生物信息学以及荧光素酶报告实验提示 RFX1 的下游靶基因为 FZD2。在前期研究中, 我们发现 FZD2 在乳腺癌中高表达并且与乳腺癌患者不良预后相关^[20]。进一步实验提示, RFX1 是 FZD2 的上游转录因子, 并且乳腺癌细胞中 RFX1 与 FZD2 正相关。

本研究有一些不足之处。首先, 样本量相对较小, 因此可能限制了结果的普适性。其次, 本研究主要在乳腺癌细胞系中进行, 未来需要在动物模型中进一步验证。此外, 还需要深入探究 RFX1 在乳腺癌中的其他可能靶基因和其具体的作用机制。

综上所述, 本研究首次发现在乳腺癌细胞系中 RFX1 高表达并结合 FZD2 启动子区调控其转录, 另外 RFX1 通过调控 FZD2 促进乳腺癌细胞的增殖、迁徙、侵袭和 EMT 过程, 因此靶向 RFX1 可能为改善乳腺癌患者预后提供理论依据。

【参考文献】

- [1] Siegel RL, Milier KD, Fuchs HE, *et al.* Cancer statistics, 2022 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [2] Kawiak A. Molecular Research and Treatment of Breast Cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(17).
- [3] 王文艺, 刘佳静, 李晓璐, 等. HMGB3 在乳腺癌中的表达及意义分析 [J]. *医学研究与战创伤救治*, 2023, 36(1): 56-63.
- [4] Castro-mondragon JA, Riudavets-puig R, Rauluseviciute I, *et al.* JASPAR 2022: the 9th release of the open-access database of transcription factor binding profiles [J]. *Nucleic Acids Res*, 2022, 50(D1): D165-D173.
- [5] Issac J, Raveendran PS, Das AV. RFX1: a promising therapeutic arsenal against cancer [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 253.
- [6] Du P, Gao K, Cao Y, *et al.* RFX1 downregulation contributes to TLR4 overexpression in CD14 (+) monocytes via epigenetic mechanisms in coronary artery disease [J]. *Clin Epigenetics*, 2019, 11(1): 44.
- [7] Guo L, Liu D. Identification of RFX5 as prognostic biomarker and associated with immune infiltration in stomach adenocarcinoma [J]. *Eur J Med Res*, 2022, 27(1): 164.
- [8] 林慧, 陈佳菁, 郭志锋, 等. miR-9-5p 在乳腺癌组织中的表达与生物信息学分析 [J]. *东南国防医药*, 2023, 25(1): 23-27.
- [9] Weidemuller P, Kholmatov M, Petsalaki E, *et al.* Transcription factors: Bridge between cell signaling and gene regulation [J]. *Proteomics*, 2021, 21(23-24): e2000034.
- [10] Sahu B, Hartonen T, Pihlajamaa P, *et al.* Sequence determinants of human gene regulatory elements [J]. *Nat Genet*, 2022, 54(3): 283-294.
- [11] Sugieman-trapman D, Vitezic M, Jouhilahti EM, *et al.* Characterization of the human RFX transcription factor family by regulatory and target gene analysis [J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 181.
- [12] Schwab K, Coronel L, Riege K, *et al.* Multi-omics analysis identifies RFX7 targets involved in tumor suppression and neuronal processes [J]. *Cell Death Discov*, 2023, 9(1): 80.
- [13] Si D, Yin F, Peng J, *et al.* High Expression of CD44 Predicts a Poor Prognosis in Glioblastomas [J]. *Cancer Manag Res*, 2020, 12: 769-775.
- [14] Xu J, Zhang J, MaO QF, *et al.* The Interaction Between Autophagy and JAK/STAT3 Signaling Pathway in Tumors [J]. *Front Genet*, 2022, 13: 880359. doi: 10.3389/fgene.2022.880359.
- [15] Liu Y, Jiang P, Wang G, *et al.* Downregulation of RFX1 predicts poor prognosis of patients with small hepatocellular carcinoma [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2018, 44(7): 1087-1093.
- [16] Jia S, Yang S, Du P, *et al.* Regulatory Factor X1 Downregulation Contributes to Monocyte Chemoattractant Protein-1 Overexpression in CD14+ Monocytes via Epigenetic Mechanisms in Coronary Heart Disease [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 1098. doi: 10.3389/fgene.2019.01098.
- [17] Liu G, Ruan G, HUANG M, *et al.* Genome-wide DNA copy number profiling and bioinformatics analysis of ovarian cancer reveals key genes and pathways associated with distinct invasive/migratory capabilities [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(1): 178-192.
- [18] Hamidi AA, Khalili-tanha G, Nasrpour navaei Z, *et al.* Long non-coding RNAs as the critical regulators of epithelial mesenchymal transition in colorectal tumor cells: an overview [J]. *Cancer Cell Int*, 2022, 22(1): 71.
- [19] Chattopadhyay I, Ambati R, Gundamaraju R. Exploring the Crosstalk between Inflammation and Epithelial-Mesenchymal Transition in Cancer [J]. *Mediators Inflamm*, 2021. doi: 10.1155/2021/9918379.
- [20] Tuluhong D, Chen T, Wang J, *et al.* FZD2 promotes TGF-beta-induced epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer via activating notch signaling pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 199.

(收稿日期: 2022-09-27; 修回日期: 2023-02-24)
(责任编辑: 叶华珍; 英文编辑: 朱一超)