

锌指蛋白 403 对卵巢上皮 IOSE80 细胞增殖的影响

赵亚萍¹, 朱瑞², 朱智慧², 赵华军^{2*} (1.浙江中医药大学附属绍兴中医院西药剂科, 浙江 绍兴 312000; 2.浙江中医药大学药学院, 杭州 311402)

摘要: 目的 探讨锌指蛋白 403(zinc finger protein 403, ZFP403)在卵巢上皮细胞中的生物学功能及相关机制。方法 通过构建 ZFP403-shRNA 慢病毒, 转染卵巢上皮细胞 IOSE80, 嘌呤霉素抗性筛选得到稳定沉默 ZFP403 的细胞株; 通过 qRT-PCR 和 Western blotting 评价 ZFP403 沉默效果; 采用平板集落形成试验评价沉默 ZFP403 后细胞生长能力的变化; 采用软琼脂集落形成试验评价沉默 ZFP403 后细胞锚着非依赖性生长能力; 通过流式细胞术评价沉默 ZFP403 后对细胞周期的影响; 通过 Western blotting 试验研究沉默 ZFP403 后影响细胞周期的相关机制。结果 经嘌呤霉素筛选成功构建了 ZFP403 稳定沉默的细胞株(IOSE80-ZFP403-shRNA1, 2)及阴性的对照细胞株(IOSE80-shRNA-NC); 平板集落形成试验结果表明沉默 ZFP403 能明显促进上皮细胞的生长; 软琼脂集落形成试验结果表明沉默 ZFP403 后, 上皮细胞具有锚着非依赖性生长能力; 流式细胞术结果表明沉默 ZFP403 能明显促进细胞周期进程; Western blotting 结果表明 ZFP403 通过影响 p-cdc2, cdc2, cyclinB1, p21 蛋白的表达而影响细胞周期。结论 ZFP403 通过影响卵巢上皮细胞的异常生长而发挥其生物学功能。ZFP403 的表达水平可能影响了卵巢上皮细胞向卵巢癌的转变, 具有作为早期卵巢癌临床诊断标志物的可能性。

关键词: 锌指蛋白 403; 卵巢上皮细胞; 生长; 细胞周期

中图分类号: R965.1 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2022)01-0042-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2022.01.007

引用本文: 赵亚萍, 朱瑞, 朱智慧, 等. 锌指蛋白 403 对卵巢上皮 IOSE80 细胞增殖的影响[J]. 中国现代应用药学, 2022, 39(1): 42-47.

Effects of Zinc Finger Protein 403 on the Proliferation of Ovarian Epithelial IOSE80 Cells

ZHAO Yaping¹, ZHU Rui², ZHU Zhihui², ZHAO Huajun^{2*} (1.Department of Pharmacy, Shaoxing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Zhejiang Chinese Medical University, Shaoxing 312000, China; 2.School of Pharmaceutical Sciences, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 311402, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the biological function and related mechanism of zinc finger protein 403(ZFP403) in ovarian epithelial cell. **METHODS** ZFP403 shRNA lentivirus was constructed and transfected into human ovarian epithelial cell line IOSE80 and screened by puromycin; qRT-PCR and Western blotting were used to detect the silence effect of ZFP403, respectively; the cell growth ability after knockdown of ZFP403 was evaluated by plate colony formation assay; soft agar colony formation assay was used to evaluate the anchorage independent growth ability; the effect of ZFP403 on cell cycle was detected by flow cytometry; Western blotting was used to study the mechanism of ZFP403 on cell cycle related proteins. **RESULTS** ZFP403 stably silenced cell lines(IOSE80-ZFP403-shRNA1, 2) and negative control cell line(IOSE80-shRNA-NC) were successfully constructed after puromycin screening; flow cytometry showed that knockdown of ZFP403 could significantly promote the growth and anchorage independent growth in IOSE80 cells; Western blotting showed that knockdown of ZFP403 could significantly promote cell cycle progression; the expression of p-cdc2, p21 was downregulated and cdc2, cyclinB1 upregulated after ZFP403 knockdown. **CONCLUSION** ZFP403 promotes the abnormal growth of ovarian epithelial cells. The expression level of ZFP403 may affect the transformation of ovarian epithelial cells to ovarian cancer, which may be used as a clinical diagnostic marker for early ovarian cancer.

KEYWORDS: zinc finger protein 403; ovarian epithelial cell; growth; cell cycle

锌指蛋白 403(zinc finger protein 403, ZFP403), 定位于人染色体 17q12-q21.1 区域, 从果蝇到人类高度保守, 人与小鼠的核苷酸序列同源性为 87%, 氨基酸序列同源性为 96%^[1]。在人体中, ZFP403 存在 2 种已知的转录本: ①全长转录

本, 编码一个全长由 696 个氨基酸组成的蛋白^[2]。因其可与配子生成素蛋白相互作用, 故也被称为配子生成素结合蛋白 2(GGNBP2), 该蛋白定位于细胞核^[3]。②短转录本, 编码一个由 288 个氨基酸组成的蛋白, 因最初在人喉癌中被鉴定, 故称为喉癌相

基金项目: 浙江省自然科学基金项目(LGF20H280002); 浙江中医药大学校级科研基金资助项目(2021ZZ04)

作者简介: 赵亚萍, 女, 硕士, 主管药师 E-mail: zhaoyaping9109@163.com *通信作者: 赵华军, 男, 博士, 教授 E-mail: zhj@zcmu.edu.cn

关基因 1(*LCRG1*)^[4]。ZFP403 具有多种生物学功能, 其所在区域编码的基因与乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌及喉癌的发生发展密切相关^[5]。有研究表明, 全长的 ZFP403 可作为一种潜在的肿瘤抑制因子, 在多种恶性肿瘤如乳腺癌^[1,6]、卵巢癌^[7-8]、喉癌^[4,9]、脑胶质瘤^[10]中表达下调。此外, ZFP403 参与调节细胞周期 G2/M 的转换^[2,11], 缺失 ZFP403 将促进细胞的生长, 耐药性及肿瘤的发生发展^[12]。课题组前期研究发现, ZFP403 过表达后可抑制卵巢癌和前列腺癌的生长和转移^[8,13], 然而, ZFP403 在卵巢组织和卵巢癌中发挥的生物学功能以及在正常卵巢细胞中 ZFP403 参与的生理过程还未见报道, 缺失 ZFP403 后是否能够影响正常卵巢细胞的存活也未见研究。

根据文献报道和前期基础, 笔者对卵巢上皮细胞 ZFP403 的表达水平及其功能进行了研究, 探讨 ZFP403 在正常细胞中发挥的生物学功能是否与卵巢癌的发生有关。

1 材料

1.1 细胞

人卵巢上皮细胞(IOSE80)购自上海慧颖生物科技有限公司。

1.2 试剂

DMEM/F-12(1 : 1)(Gibco 公司, 批号: 1783094); 0.25% Trypsin-EDTA (GENVIEW 公司, 批号: 49120010100); 胎牛血清(GEMINI 公司, 批号: A97E00G); 青霉素-链霉素(吉诺生物医药技术有限公司, 批号: 12123101); RIPA 裂解液(碧云天生物, 批号: P0013C); BCA 蛋白浓度测定试剂盒(碧云天生物技术有限公司, 批号: P0011); PI 染色液(BD 公司, 批号: 5205995); TRIZOL (Invitrogen 公司, 批号: 15596018); PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit(Takara 公司, 批号: RR047A); SYBR-Green(Bio-Rad 公司, 货号: #1725124)。实验用抗体: ZFP403(GGNBP2, Sigma 公司, 货号: SAB1302973); p21(abcam 公司, 货号: ab18209); cyclin B1(货号: #12231)、cdc-2(货号: #9116)、p-cdc-2(Tyr15)(货号: #4539)、 β -tubulin(货号: #2128)均购自 CST 公司; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗(批号: 350001312)、辣根过氧化物酶标记山羊抗小鼠二抗(批号: 350003248)、ECL 显影液(批号: 102030719)均购自 BIO-RAD 公司; RT-PCR 试验 mRNA 的引物由上海吉凯生物有限公司合成, 编号为 GIDL0122146。

1.3 仪器

3111 型二氧化碳培养箱(美国 Thermo 公司); SW-CJ-1FD 超净工作台(苏州净化设备有限公司); ECLIPSE Ti 型荧光倒置显微镜(日本 Nikon 公司); BSA124S-CW 电子天平(北京赛多利斯电子有限公司); L500 型台式离心机(湖南相仪实验室仪器开发有限公司); HHS-11-1 型恒温水浴箱(上海博迅医疗设备厂); MDF-U3386S 型超低温冰箱(日本 Sanyo 公司); PK-6 型转移脱色摇床(姜堰市普康医疗器械厂); Power Pac™ Basic 电泳仪(美国 BIO-RAD 公司); 3300 Mini 化学发光成像系统(中国 CLIN X 公司); Easy Cyte™ HT 型 Guava 流式细胞仪(美国 Minipore 公司); 移液枪(多规格)(德国 Eppendorf 公司)。

2 方法

2.1 细胞株培养、慢病毒转染及稳定沉默 ZFP403 细胞系的建立

将人卵巢上皮细胞(IOSE80)储存在液氮中, 复苏并培养于含 10%胎牛血清、100 U·mL⁻¹ 青霉素 G、2.5 μ g·mL⁻¹ 两性霉素 B 和 100 μ g·mL⁻¹ 链霉素的 DMEM 培养基中, 将细胞置于 37 °C 和 5% CO₂ 的培养箱中培养。转染前 24 h, 取对数生长期的 IOSE80 细胞, 消化, 离心, 调整细胞密度, 转至 24 孔板中(每孔 5×10⁴ 个细胞)。取慢病毒 NC 和 ZFP403-shRNA1、ZFP403-shRNA2, 根据滴度加入到 IOSE80 细胞中, 过夜。将转染液更换成新鲜完全培养基。转染 72 h 后, 将培养基更换成含有 1 μ g·mL⁻¹ 的嘌呤霉素培养基, 继续培养。获得稳定沉默 ZFP403 的细胞株, 并进行了进一步的研究。

2.2 qRT-PCR 检测细胞 mRNA 的表达水平

采用 TRIZOL 试剂从细胞中提取总 RNA, 根据试剂盒说明书用 PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit 进行逆转录。cDNA 与 SYBR-Green 混合后, 用 CFX96-Touch PCR 检测系统进行实时定量 PCR, 以 GAPDH 为内参。所用引物的核苷酸序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

Tab. 1 Sequences of the primers for qRT-PCR

基因	引物序列(5'-3')
ZFP403	正向 ACAGGGTATTAGCAGATTGGAAC
	反向 TCATTGGTAACAATTACTTCTACAC
GAPDH	正向 AGAAGGCTGGGGCTCATTTG
	反向 AGGGGCCATCCACAGTCTTC

采用 $\Delta\Delta C_q$ 方法计算 ZFP403 与 GAPDH 表达的相对 mRNA 转录丰度。

2.3 Western blotting 检测细胞蛋白的表达水平

取对数期生长的 IOSE80-shRNA-NC 和 IOSE80-ZFP403-shRNA1, IOSE80-ZFP403-shRNA2 细胞以每孔 8×10^5 个传代于直径 6 cm 培养皿中, 培养 24~48 h 后, 各组细胞加入 RIPA 裂解液, 冰上裂解 30 min 后离心($12\ 000\ r \cdot \min^{-1}$)取上清, 采用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度后, 处理蛋白随后上样, 用 SDS-PAGE 分离总蛋白, 随后用湿转法转移至 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 加入 cyclin B1、cdc-2、p-cdc-2、p21 抗体孵育过夜后, 加入相对的二抗(1:3 000 稀释), 室温孵育 2 h, ECL 法显影, 化学发光后拍照。 β -tubulin 用于蛋白的内参。

2.4 平板集落形成试验观察细胞体外增殖情况

将相同数量的 IOSE80-shRNA-NC 和 IOSE80-ZFP403-shRNA1, IOSE80-ZFP403-shRNA2 的细胞接种在 24 孔板(每孔 500 个细胞)中, 培养 14 d。每 3 d 换 1 次含 $1\ \mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 嘌呤霉素的培养基。最后 1 d, 用 4% 多聚甲醛固定细胞, 结晶紫染色 20 min。在显微镜下观察集落的形成。

2.5 软琼脂集落形成试验检测细胞锚着非依赖性增殖能力

用 1.4% 的低熔点琼脂糖与 $2 \times \text{DMEM}/\text{F12}$ 完全培养基 1:1 混合制备成 0.7% 底层琼脂, 置于 24 孔板中。将相同数量的带有对照(IOSE80-shRNA-NC)和稳定沉默 ZFP403(IOSE80-ZFP403-shRNA1,2)的细胞悬液和 0.7% 低熔点琼脂糖 1:1 混合制备成

0.35% 的上层琼脂, 细胞密度为每孔 4 000 个, 在 $37\ ^\circ\text{C}$ 培养。每周更换 2 次培养基。17 d 后, 将 $1\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ p-碘甲酰四氮唑紫加入培养皿中 24 d, 然后在显微镜下计数细胞集落数目和大小。

2.6 流式细胞术检测细胞周期分布情况

将 IOSE80-shRNA-NC 和 IOSE80-ZFP403-shRNA1, IOSE80-ZFP403-shRNA2 细胞接种于 6 cm 培养皿中(每皿 8×10^5 个细胞)。贴壁 24 h 后, 消化离心, 用 PBS 洗 1 遍, 在 $-20\ ^\circ\text{C}$ 下用 70% 冰乙醇固定过夜, 然后用 PBS 再次洗细胞, 用 PI/RNase($0.5\ \text{mL}$, 1×10^6 个细胞)染色, 室温下避光染色 15 min, 用流式细胞仪进行检测。采用 ModFit 软件进行数据分析。

2.7 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析, 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。以上所有实验均重复 3 次。

3 结果

3.1 ZFP403 基因在卵巢上皮细胞 IOSE80 中沉默情况

通过 shRNA 慢病毒转染, 构建了 ZFP403 稳定沉默的细胞株 IOSE80-ZFP403-shRNA1, IOSE80-ZFP403-shRNA2 及阴性对照细胞株 IOSE80-shRNA-NC。通过 qRT-PCR 及 Western blotting 试验检测 ZFP403 沉默情况, qRT-PCR 结果显示, 与对照组比较, shRNA-1 和 shRNA-2 组细胞中 ZFP403 表达量明显降低($P < 0.001$), 见图 1A。Western blotting 结果显示, 与对照组比较, shRNA-1

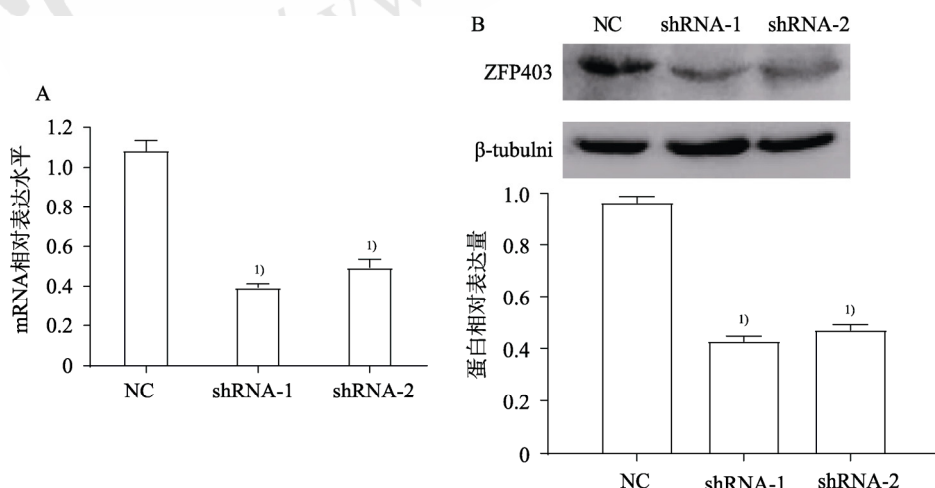


图 1 ZFP403 基因在卵巢上皮细胞 IOSE80 中沉默检测情况($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A—ZFP403 mRNA 表达情况; B—ZFP403 蛋白表达情况; 与对照组(NC)比较, $^{1)}P < 0.001$ 。

Fig. 1 Detection of ZFP403 gene silencing in ovarian epithelial cells IOSE80($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A—expression of ZFP403 mRNA; B—expression of ZFP403 protein; compared with the control group(NC), $^{1)}P < 0.001$.

和 shRNA-2 组细胞中 ZFP403 表达量明显降低($P<0.001$), 见图 1B, 与 qRT-PCR 结果相一致, 以上结果表明 ZFP403 稳定沉默的细胞株构建成功。

3.2 沉默 ZFP403 后对卵巢上皮细胞 IOSE80 的增殖的影响

通过平板集落形成试验评价 ZFP403 对 IOSE80 细胞生长的作用。结果显示 ZFP403 沉默后 IOSE80 细胞的集落大小和数量明显增多($P<0.001$), 结果见图 2A。结果表明 ZFP403 沉默后明显增强了 IOSE80 细胞的增殖能力。软琼脂集落形成试验通常评价细胞在体外的致瘤能力, 即锚着非依赖性增长。软琼脂集落形成试验结果显示, 对于正常生长状态的 IOSE80 在软琼脂基质中基本不具有形成集落的能力, 而沉默 ZFP403 后, 一定程度上出现大小不均一的细胞集落($P<0.001$), 结果见图 2B, 表明 ZFP403 一定程度上可能导致 IOSE80 由正常向肿瘤的转变。

3.3 沉默 ZFP403 后对卵巢上皮细胞 IOSE80 细胞周期分布的影响

通过流式细胞术检测了 ZFP403 沉默后细胞周期的变化。结果显示, ZFP403 沉默后细胞周期由 S 期向 G2/M 期转变的细胞数量显著增加($P<0.01$ 或 $P<0.001$), 结果见图 3A, 提示细胞周期进程在一定程度上可能加快。在此基础上, 对其机制进行研究。通过 Western blotting 检测细胞周期 G2/M 期相关蛋白发现, ZFP403 沉默后, 与对照组相比, cyclinB1, cdc2 的表达显著上升, 而 p-cdc2 和 p21 的表达显著降低, 均具有统计学差异($P<0.001$), 结果见图 3B。结果表明, ZFP403 的沉默

通过促进细胞周期发生进程从而增强了卵巢正常上皮细胞的增殖能力。

4 讨论

17q12 基因缺失与许多疾病有关, 如年轻 5 型糖尿病、囊性肾病、认知障碍和癫痫。17q12 基因重复是一种新的遗传综合征, 与学习障碍、癫痫发作和行为问题有关^[14]。更重要的是, 人类染色体区域 17q12-q23 经常在家族性乳腺癌和卵巢癌患者中发生等位基因缺失^[15-16]。该区域是最常见的杂合性缺失区域之一, 涉及多种易感癌基因, 如 TP53(17q13.1)、ERBB2(17q12)、BRCA1(17q21), 并与乳腺癌、前列腺癌和喉癌等癌症相关^[5,17-18]。乳腺卵巢癌与基因的联系被命名为“BRCA1”^[19-20], BRCA1 基因是一种抗肿瘤基因, 在细胞应激反应中通过 DNA 的损伤修复发挥着重要作用, 调节细胞的生长周期^[21]。在对 693 个编码于人类染色体 17q12-q23 区域的基因进行电子分析时, 发现了 BRCA1 上游的一个基因, 名为 ZFP403, 这表明 ZFP403 可能是肿瘤的易感基因。ZFP403 是经典的 Cys2His2(C2H2)样锌指蛋白, 这类蛋白由 2% 的人类基因编码^[22], 构成了最大的序列特异性 DNA 结合蛋白家族^[23]。大量的研究表明^[24-25], C2H2 样锌指蛋白通过调节参与细胞生长和运动的下游基因转录而在肿瘤中发挥作用; 同时, 其还可以作为染色质修饰剂的招募者或调节癌细胞迁移及侵袭的结构蛋白发挥作用。

ZFP403 最早在精子发生过程中被发现, 并在雄性生殖细胞中检测到 ZFP403 的表达, 参与精母细胞减数分裂 DNA 双链断裂修复过程^[3,11,26-27]。

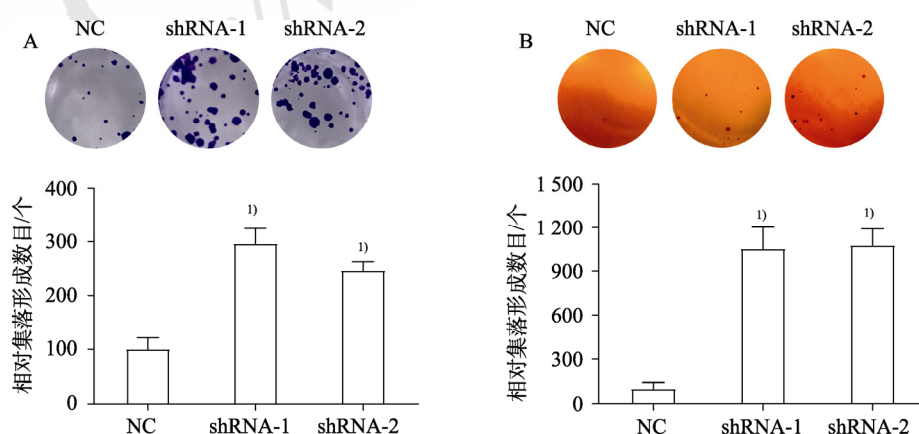


图 2 ZFP403 沉默后促进 IOSE80 细胞生长($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A-平板集落形成试验; B-软琼脂集落形成试验; 与对照组(NC)比较, ¹⁾ $P<0.001$ 。

Fig. 2 ZFP403 knockdown promoted the growth of IOSE80 cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A-plate colony formation assay; B-soft-agar colony formation assay. Compared with the control group(NC), ¹⁾ $P<0.001$.

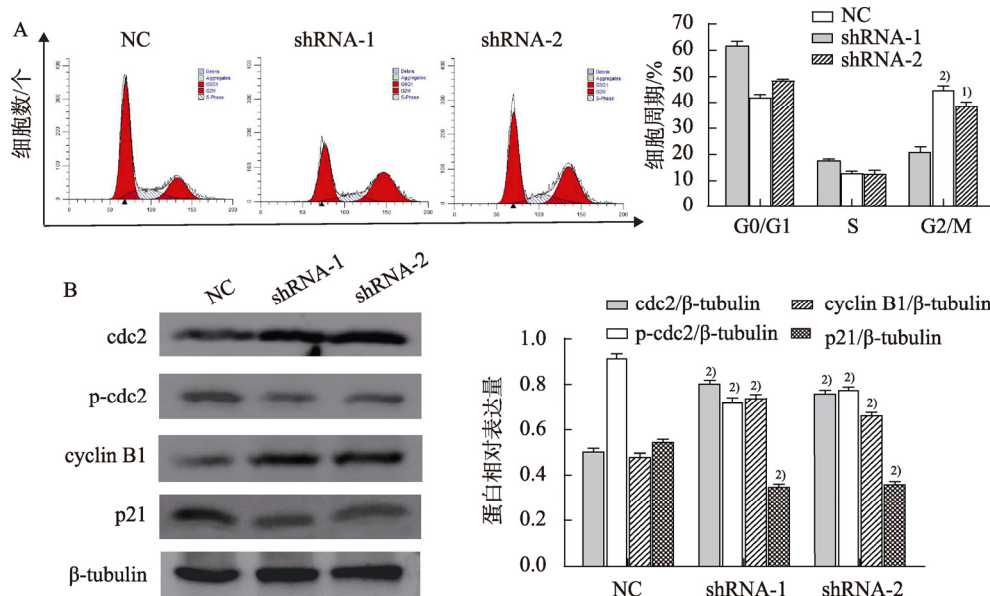


图3 ZFP403 沉默后对 IOSE80 细胞周期分布的影响($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A—流式细胞术检测 ZFP403 对细胞周期的影响; B—Western blotting 检测 ZFP403 对细胞周期蛋白 p-cdc2、cdc2、cyclin B1 和 p21 的影响。与对照组(NC)比较, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.001$ 。

Fig. 3 Effect of ZFP403 knockdown on cell cycle distribution in IOSE80 cells($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

A—effect of ZFP403 on cell cycle detected by flow cytometry; B—effects of ZFP403 on p-cdc2, cdc2, cyclin B1 and p21 detected by Western blotting. Compared with the control group(NC), ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.001$.

后来有研究报道 ZFP403 与肿瘤发生有关,但是 ZFP403 属于抑肿瘤基因还是肿瘤基因仍有争论。仅有少数文献报道,ZFP403 也能促进 LC 的进展^[2],然而,越来越多的证据表明 ZFP403 是一种抑制肿瘤生长和转移的肿瘤抑制因子,提供了 ZFP403 作为一种潜在的生物标记物来预测癌症患者的预后和治疗靶点的可能性,提示可能是治疗的重要靶点^[1,6,8,10,13]。在肿瘤细胞中,正常的基因转录和切割过程会被破坏。研究表明,ZFP403 通过促进细胞周期检查点功能障碍,抑制肿瘤的增殖和进展以及与生存相关的生物学行为^[8]。然而到目前为止,对于 ZFP403 是癌基因还是抑癌基因还未达成共识,并且只有少数研究探讨了 ZFP403 对肿瘤发展的影响,ZFP403 在卵巢癌中更深入的生物学功能尚不清楚。课题组前期研究发现,ZFP403 在卵巢癌中作为抑癌基因具有抑制卵巢癌的生长和转移的作用^[8],但是在正常卵巢细胞中缺失 ZFP403 后,是否能够影响正常细胞的存活还未见研究。

基于以上原因,为了进一步了解 ZFP403 在卵巢正常细胞中发挥的功能,因此在本研究选择了卵巢正常上皮细胞 IOSE80 作为研究对象。沉默 ZFP403 后,ZFP403 在 mRNA 和蛋白水平的表达均下降,同时细胞的克隆形成能力增强,ZFP403 表达的下降促进了细胞的生长和存活,且有癌变

的趋势,猜测 ZFP403 在卵巢中可能作为一种抑癌因子发挥作用。此外流式细胞术结果也显示 G2/M 期细胞数量增加。细胞周期进程受周期依赖性激酶的调控,其活性由细胞周期蛋白的严格调节,而细胞周期调节蛋白的异位表达与多种恶性肿瘤的进展相关^[28]。cyclinB1 的表达在 G2/M 期的转化中发挥关键作用。因此,笔者检测了 ZFP403 沉默前后周期相关蛋白的变化,结果显示 cdc2 和 cyclinB1 的表达上调,p-cdc2 和 p21 的表达下调,表明 ZFP403 沉默后通过加快 S 期向 G2/M 期的转变而促进细胞的生长,表明 ZFP403 沉默后通过加快细胞周期进程,增强 IOSE80 细胞的异常生长,一定程度可能促进正常细胞向肿瘤细胞的转变,与课题组之前报道的 ZFP403 在卵巢癌中是一种抑癌基因相一致。在接下来的研究中将进一步探究 ZFP403 在卵巢癌癌变过程中发挥的具体效应途径。由于 ZFP403 与多种肿瘤的发生发展相关,进一步研究其生物学功能,有望使其成为肿瘤诊断的标志物之一。

REFERENCES

- [1] LAN Z J, HU Y H, ZHANG S, et al. GGNBP₂ Acts as a tumor suppressor by inhibiting estrogen receptor α activity in breast cancer cells[J]. Breast Cancer Res Treat, 2016, 158(2): 263-276.
- [2] GUAN R, WEN X Y, WU J, et al. Knockdown of ZNF403

- inhibits cell proliferation and induces G2/M arrest by modulating cell-cycle mediators[J]. *Mol Cell Biochem*, 2012, 365(1/2): 211-222.
- [3] ZHANG J, WANG Y, ZHOU Y, et al. Yeast two-hybrid screens imply that GGNBP1, GGNBP2 and OAZ3 are potential interaction partners of testicular germ cell-specific protein GGN1[J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(2): 559-566.
 - [4] LI Y, CHEN Z. Molecular cloning and characterization of LCRG1 a novel gene localized to the tumor suppressor locus D17S800-D17S930[J]. *Cancer Lett*, 2004, 209(1): 75-85.
 - [5] PLUMMER S J, PARIS M J, MYLES J, et al. Four regions of allelic imbalance on 17q12-qter associated with high-grade breast tumors[J]. *Genes Chromosom Cancer*, 1997, 20(4): 354-362.
 - [6] LIU J, LIU L, YAGÜE E, et al. GGNBP2 suppresses triple-negative breast cancer aggressiveness through inhibition of IL-6/STAT3 signaling activation[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2019, 174(1): 65-78.
 - [7] YIN F Q, LIU L, LIU X, et al. Downregulation of tumor suppressor gene ribonuclease T2 and gametogenetin binding protein 2 is associated with drug resistance in ovarian cancer[J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(1): 362-372.
 - [8] ZHU Z H, LOU C H, ZHENG Z G, et al. ZFP403, a novel tumor suppressor, inhibits the proliferation and metastasis in ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 2017, 147(2): 418-425.
 - [9] LI Y J, XIE H L, CHEN Z C, et al. Cloning and expression analysis of a laryngeal carcinoma related gene, LCRG1[J]. *Acta Biochim et Biophys Sin*, 2001, 33(3): 315-319.
 - [10] WANG J, HU X, YUAN P, et al. The effect and mechanism of GGNBP2 regulates the proliferation, invasion and migration of human U251 glioma cells[J]. *Chin J Nerv Ment Dis(中国神经精神疾病杂志)*, 2016, 42(12): 710-714.
 - [11] GUO K, HE Y, LIU L, et al. Ablation of Ggnbp2 impairs meiotic DNA double-strand break repair during spermatogenesis in mice[J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(10): 4863-4874.
 - [12] 李春艳. 配子生成素结合蛋白(GGNBP2)在乳腺癌增殖和转移中的调控作用及机制研究[D]. 天津: 天津医科大学, 2016.
 - [13] XU X T, ZHU Z H, XU Y P, et al. Effects of zinc finger protein 403 on the proliferation, migration and invasion abilities of prostate cancer cells[J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(6): 2455-2464.
 - [14] KAMATH A, LINDEN S C, EVANS F M, et al. Chromosome 17q12 duplications: Further delineation of the range of psychiatric and clinical phenotypes[J]. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet*, 2018, 177(5): 520-528.
 - [15] CHAMPEME M H, MAZOYER S, STOPPALYONNET D, et al. Sublocalization of smallest common regions of deletion on chromosome 17q12-q23 in sporadic primary breast-tumors[J]. *Oncol Rep*, 1995, 2(5): 825-831.
 - [16] LENOIR G. Familial breast-ovarian cancer locus on chromosome 17q12-Q23[J]. *Lancet*, 1991, 338(8759): 82-83.
 - [17] GLYNN R W, MILLER N, KERIN M J. 17q12-21 - the pursuit of targeted therapy in breast cancer[J]. *Cancer Treat Rev*, 2010, 36(3): 224-229.
 - [18] LEVIN A M, MACHIELA M J, ZUHLKE K A, et al. Chromosome 17q12 variants contribute to risk of early-onset prostate cancer[J]. *Cancer Res*, 2008, 68(16): 6492-6495.
 - [19] COUCH F J, WANG X S, MCGUFFOG L, et al. Genome-wide association study in BRCA1 mutation carriers identifies novel loci associated with breast and ovarian cancer risk[J]. *PLoS Genet*, 2013, 9(3): e1003212. Doi: 10.1371/journal.pgen.1003212.
 - [20] SOLOMON E, LEDBETTER D H. Report of the committee on the genetic constitution of chromosome 17[J]. *Cytogenet Cell Genet*, 1990, 55(1-4): 198-215.
 - [21] CHEN S R, FANG Q, CHEN X Y. Study on clinical efficacy of two neoadjuvant chemotherapy regimens on operable triple negative operative breast cancer and its correlation with BRCA1 gene[J]. *Chin J Mod Appl Pharm(中国现代应用药理学)*, 2020, 37(24): 3009-3013.
 - [22] LANDER E S, LINTON L M, BIRREN B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome[J]. *Nature*, 2001, 409(6822): 860-921.
 - [23] TUPLER R, PERINI G, GREEN M R. Expressing the human genome[J]. *Nature*, 2001, 409(6822): 832-833.
 - [24] JEN J, WANG Y C. Zinc finger proteins in cancer progression[J]. *J Biomed Sci*, 2016, 23(1): 53. Doi: 10.1186/s12929-016-0269-9.
 - [25] CASSANDRI M, SMIRNOV A, NOVELLI F, et al. Zinc-finger proteins in health and disease[J]. *Cell Death Discov*, 2017(3): 17071. Doi: 10.1038/cddiscovery.2017.71.
 - [26] OHBAYASHI T, OIKAWA K, IWATA R, et al. Dioxin induces a novel nuclear factor, DIF-3, that is implicated in spermatogenesis[J]. *FEBS Lett*, 2001, 508(3): 341-344.
 - [27] COUTURE L A, HARRIS M W, BIRNBAUM L S. Characterization of the peak period of sensitivity for the induction of hydronephrosis in C57BL/6N mice following exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin[J]. *Toxicol Sci*, 1990, 15(1): 142-150.
 - [28] LIU K, ZHENG M Y, LU R, et al. The role of CDC25C in cell cycle regulation and clinical cancer therapy: A systematic review[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20(1): 1-16.

收稿日期: 2021-03-28
(本文责编: 陈怡心)