

· 基础研究 ·

GATA6在胰岛素瘤中的表达及与胰岛素瘤细胞增殖和凋亡的关系

魏美林, 王倩倩, 李 旭, 韩峻峰, 魏 丽*

(上海交通大学附属第六人民医院内分泌代谢科, 上海市糖尿病临床医学中心, 上海市糖尿病重点实验室, 上海市糖尿病研究所, 上海 200233)

【摘要】目的 探究锌指转录因子GATA6在胰岛素瘤中的表达及与胰岛素瘤细胞增殖和凋亡的关系。**方法** 收集2009年1月至2014年9月于上海交通大学附属第六人民医院确诊的3例胰岛素瘤患者的瘤体及其相应瘤旁组织, 应用蛋白印迹法(Western blotting)检测GATA6在胰岛素瘤瘤体及瘤旁的表达差异。另外收集正常胰腺组织标本2例, 免疫荧光法观察GATA6在胰岛素瘤组织及正常胰腺组织中的表达及定位。培养小鼠胰岛素瘤细胞系MIN6细胞, 小干扰RNA(siRNA)干扰GATA6表达后, 用流式细胞仪观察细胞凋亡及细胞周期的变化。**结果** 胰岛素瘤瘤体组织GATA6表达水平较瘤旁组织异常升高($P < 0.05$); 免疫荧光法显示胰岛素瘤正常胰岛结构丧失, GATA6主要位于胰岛素瘤细胞的细胞核中, 在胰岛素瘤中大量表达, 在正常胰岛 β 细胞中少量表达。沉默GATA6表达后胰岛素瘤细胞凋亡显著增加($P < 0.05$), 且细胞增殖受抑制($P < 0.05$)。**结论** GATA6在胰岛素瘤中异常高表达, 与胰岛素瘤细胞增殖凋亡关系密切, 提示GATA6可能在胰岛素瘤的发病机制中起重要的作用。

【关键词】 GATA6; 胰岛素瘤; 凋亡; 增殖

【中图分类号】 R587.3

【文献标识码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2015.07.123

Expression of GATA6 in insulinoma and its relationship with proliferation and apoptosis of insulinoma cells

WEI Mei-Lin, WANG Qian-Qian, LI Xu, HAN Jun-Feng, WEI Li*

(Department of Endocrinology and Metabolism, Shanghai Clinical Center for Diabetes, Shanghai Key Laboratory of Diabetes, Shanghai Institute of Diabetes, the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China)

【Abstract】 Objective To determine the expression of zinc finger transcription factor GATA6 in insulinoma and its relationship with the proliferation and apoptosis of insulinoma cells. **Methods** Tumor tissue and adjacent normal tissue specimens of 3 cases of insulinoma were collected from Jan. 2009 to Sep. 2014 in the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University. Expression of GATA6 in the insulinoma and para-insulinoma tissue was evaluated by Western blotting. In addition, normal pancreas tissues of 2 cases were collected, and immunofluorescence staining was employed to detect the expression and localization of GATA6 in insulinoma and normal pancreatic tissues. Mouse insulinoma MIN6 cells were transfected by small interference RNA (siRNA) interference against GATA6, and then cell cycle and apoptosis were measured by flow cytometry. **Results** GATA6 was significantly highly expressed in the insulinoma than in para-insulinoma ($P < 0.05$). Immunofluorescence staining showed that normal islet structure had been disrupted in insulinoma tissue, and GATA6 was mainly localized in the nucleus of insulinoma cells and highly and extensively expressed in insulinoma tissue, and mildly in normal pancreatic islet β cells. After siRNA interference against GATA6 expression, there were significantly more apoptotic cells compared with the control group ($P < 0.05$), and cell proliferation was obviously inhibited ($P < 0.05$). **Conclusion** GATA6 is abnormally highly expressed in insulinoma, and closely related with the cell proliferation and apoptosis, indicating that it may play an important role in insulinoma pathogenesis.

【Key words】 GATA6; insulinoma; apoptosis; proliferation

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81370956) and the National Natural Science Foundation for Young Scholar of China (81200564).

Corresponding author: WEI Li, E-mail: Weili63@hotmail.com

收稿日期: 2015-05-18; 修回日期: 2015-06-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(81370956); 国家自然科学基金青年项目(81200564)

通信作者: 魏 丽, E-mail: weili63@hotmail.com

胰岛素瘤是最常见的胰腺内分泌肿瘤, 占后者总数的70%~80%, 发病率约为4/100万; 其中女性约占60%。绝大多数胰岛素瘤为良性, 恶性比例约占10%^[1-3]; 通常表现为单个散在的肿瘤, 直径常<2cm^[4,5], 病理表现为胰岛β细胞形成的腺瘤或者癌。由于胰岛素不适当的分泌, 临床上常导致患者反复发作低血糖, 对患者的危害极大。手术切除肿瘤是唯一的根治性治疗方法^[6]。目前胰岛素瘤的发病机制尚不清楚, 进一步深入研究胰岛素瘤发生、发展的分子机制具有重要的意义。

GATA6是锌指转录因子家族中的一员, 位于18q11.1→q11.2, 全长33.1kb, 可识别并结合多个基因的启动子区的A/TGATAA/G序列从而发挥调控的作用^[7]。GATA6参与体内多种细胞组织的分化过程, 对心脏、胃肠道及胰腺等组织的发育具有关键的作用^[8,9]。除参与细胞的分化, GATA6与细胞的增殖和凋亡也密切相关。近来有研究表明, GATA6的异常表达参与体内多种肿瘤的发生和发展^[10,11]。然而迄今为止, GATA6与胰岛素瘤的关系未见研究报道, 因此我们设计了本试验, 旨在探讨GATA6在胰岛素瘤发病机制中的作用。

1 材料与方法

1.1 胰岛素瘤及正常胰腺组织标本的来源与制备

收集2009年1月至2014年9月在上海交通大学附属第六人民医院行胰岛素瘤手术切除的3例患者的手术标本及其临床资料, 其中男性1例、女性2例, 年龄分别为32岁、51岁及56岁。手术标本经病理证实为胰岛素瘤, 取肿瘤中间组织为瘤体组织, 术中游离的肿瘤边界组织为瘤旁组织, 采用液氮保存。蛋白印迹法(Western blotting)试验中, 3例胰岛素瘤瘤体组织作为试验组, 自身瘤旁组织作为对照组。另外, 在免疫荧光试验中, 为了与正常胰腺组织内的胰岛β细胞的结构及GATA6的表达定位对比, 收集2例正常胰腺组织, 标本取自因其他原因行胰腺部分切除的非肿瘤患者, 且经术后病理证实。免疫荧光试验中将3例胰岛素瘤标本及2例正常胰腺组织标本置于10%甲醛(福尔马林)溶液固定, 石蜡包埋, 4μm连续切片。标本的收集及使用均通过上海交通大学附属第六人民医院伦理委员会批准且经患者同意使用。

1.2 主要试剂

小鼠胰岛素瘤细胞系MIN6细胞(上海市糖尿病研究所); 针对小鼠GATA6基因干扰的小干扰RNA(siRNA), (Life technologies公司, 美国), GATA6 siRNA正义链:

5'-CAAAAAUACUUCUCCUUCUtt-3', 反义链: 5'-AGAAGGAGAAGUAUUUUUGgt-3'; 阴性siRNA(negative siRNA; Life technologies公司, 美国), 与已知的小鼠基因没有同源性。siRNA转染试剂采用RNAiMax试剂(Invitrogen公司, 美国), GATA6抗体(货号ab22600; Abcam公司, 英国)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体(货号Ap0063; Bioworld公司, 美国); 胰岛素抗体(货号ab7842; Abcam公司, 英国)、高糖DMEM培养液、胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、0.5%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)、0.25%的胰酶、青链霉素双抗(Gibco公司, 美国), 辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗(Promega公司, 美国)。Alexa fluor 488及Alexa fluor 594荧光二抗(Life Technologies公司, 美国), 流式细胞仪(Beckman Coulter公司, 美国), Annexin-PI细胞凋亡检测试剂盒(Life Technologies公司, 美国)。

1.3 试验方法

1.3.1 Western blotting检测GATA6的表达 蛋白裂解液提取组织或者细胞的总蛋白, 离心后取上清, 二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)检测蛋白浓度后上样, 进行SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、5%的脱脂牛奶封闭, 1:1000稀释GATA6的一抗, 1:5000稀释的内参GAPDH一抗, 4℃孵育过夜, 洗膜3次后室温孵育二抗90min。最后用电化学发光显色、曝光, Gel-pro软件分析灰度值, 并计算相对密度。

1.3.2 组织切片免疫荧光 石蜡防脱片经过二甲苯脱蜡处理, 梯度乙醇复水, 柠檬酸抗原修复液进行抗原修复, 0.3%的聚乙二醇辛基苯基醚(tritonX-100)通透, BSA封闭, 滴加适宜浓度的GATA6及胰岛素一抗混合液, 放置于湿盒中4℃孵育过夜, 一抗孵育完毕后滴加荧光二抗混合液于湿盒中室温避光孵育1~1.5h, 4,6-二脒基-2-苯基吲哚(4,6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染核, 抗荧光淬灭封片剂封片, 荧光显微镜下观察并拍照, 并使用Image J软件进行图片重叠(Merge)观察GATA6在胰岛素瘤及人正常胰腺胰岛中的表达及定位。

1.3.3 MIN6细胞培养及转染 小鼠胰岛素瘤细胞系MIN6细胞培养采用含15% FBS及50μmol/L β巯基乙醇的高糖DMEM培养液, 置于37℃、5%的CO₂培养箱中经行常规培养。MIN6细胞贴壁性好, 6~8h

内即可完全贴壁。细胞接种至12孔板中,待细胞长至70%~80%时,使用RNAiMax试剂转染。将接种细胞分为两组,(1)对照组:转染阴性siRNA;(2)试验组:转染GATA6 siRNA。转染方法参考文献[12],转染48h后进行实时定量聚合酶链反应(real-time quantitative polymerase chain reaction, RTQ-PCR)验证siRNA的干扰效果。

1.3.4 RTQ-PCR检测GATA6的表达 引物设计由上海生工生物工程公司合成;小鼠GATA6及内参 β -actin引物序列分别为GATA6-F: 5'-CAACCTCGGTTATCCCAGAA-3'; GATA6-R: 5'-GACCTCAGATCAGCCACGTT-3'; β -actin-F: 5'-GGCTGTATTCCCCTCCATCG-3'; β -actin-R: 5'-CCAGTTGGTAACAATGCCATGT-3'。MIN6细胞分为两组,对照组转染阴性siRNA,试验组转染GATA6 siRNA,转染48h后,弃去培养液,采用常规方法提取总RNA,使用逆转录试剂盒将RNA合成cDNA,再进行荧光定量PCR检测各组细胞GATA6 mRNA的表达情况。PCR反应条件如下:95℃预变性30s,95℃变性5s,60℃退火20s,循环40次;扩增完毕后进行溶解曲线分析,以确定反应产物的单一性。试验结束时,机器自动给出每个样品的循环阈值(Ct值)。每组样品重复测量3次,各组比较采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算基因的相对表达量, $\Delta\Delta Ct = [(\text{试验组GATA6的Ct值}-\text{试验组}\beta\text{-actin的Ct值}) - (\text{对照组GATA6的Ct值}-\text{对照组}\beta\text{-actin的Ct值})]$ 。

1.3.5 流式细胞仪检测细胞凋亡 培养MIN6细胞分为两组,对照组转染阴性siRNA,试验组转染GATA6 siRNA,转染48h后,0.25%胰酶消化细胞,磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤悬浮并计数,吸取 1×10^5 个细胞使用膜联蛋白(annexin)结合液轻轻重悬细胞,每管加入5 μ l的Annexin V-fluor488及100 μ g/ml的碘化丙啶(propidium iodide, PI)染色液1 μ l,室温避光孵育后流式细胞仪检测。

1.3.6 流式细胞仪检测细胞周期 MIN6细胞分为两组,对照组转染阴性siRNA,试验组转染GATA6 siRNA,转染48h后,使用0.25%的胰酶消化细胞,用提前预冷的70%乙醇固定细胞,RNase-A水浴去除RNA,加入适宜浓度PI染色液避光孵育后流式细胞仪检测细胞周期。

1.4 统计学处理

采用SPSS17.0统计学软件和GraphPad Prism6.0软件进行统计学分析。计量资料数据均以

$\bar{x} \pm s$ 表示;两组间均数比较采用t检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胰岛素瘤瘤体及瘤旁组织GATA6的表达水平比较

为了明确GATA6在胰岛细胞瘤瘤体及瘤旁表达水平的差异,取3例胰岛素瘤的瘤体及瘤旁组织通过Western blotting进行比较,发现GATA6在胰岛素瘤瘤体组织表达较瘤旁组织显著增高,差异具有统计学意义($P < 0.05$,图1)。

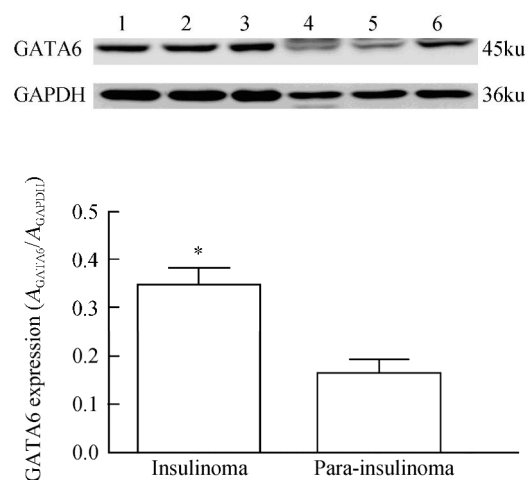


图1 胰岛素瘤瘤体及瘤旁组织GATA6蛋白表达差异
Figure 1 The different expression level of GATA6 protein in insulinoma and para-insulinoma tissue
Samples 1-3: insulinoma tissue; samples 4-6: para-insulinoma tissue. Compared with para-insulinoma, * $P < 0.05$

2.2 胰岛素瘤及正常胰腺组织的GATA6免疫荧光

为了进一步明确GATA6在胰岛素瘤及人正常胰腺胰岛中的表达及定位,通过免疫荧光将胰岛素及GATA6进行免疫荧光双标记。红色标记胰岛素阳性细胞即胰岛 β 细胞,绿色标记GATA6阳性细胞,蓝色DAPI标记细胞核。胰岛素瘤组织切片免疫荧光显示,胰岛素瘤瘤体正常胰岛结构丧失,胰岛素染色呈阳性,三者免疫荧光重叠(Merge)后提示GATA6主要定位于细胞核中,在胰岛素瘤中大量表达,在人正常胰腺切片胰岛 β 细胞中少量表达(图2)。

2.3 siRNA干扰MIN6细胞中GATA6表达的效果验证

MIN6细胞分两组,对照组转染阴性siRNA,试验组转染GATA6 siRNA,转染48h后进行RTQ-PCR验证,结果提示GATA6 siRNA可有效减少GATA6 mRNA表达水平。siRNA可使GATA6 mRNA表达减少85%,干扰效果显著($P < 0.05$;图3)。

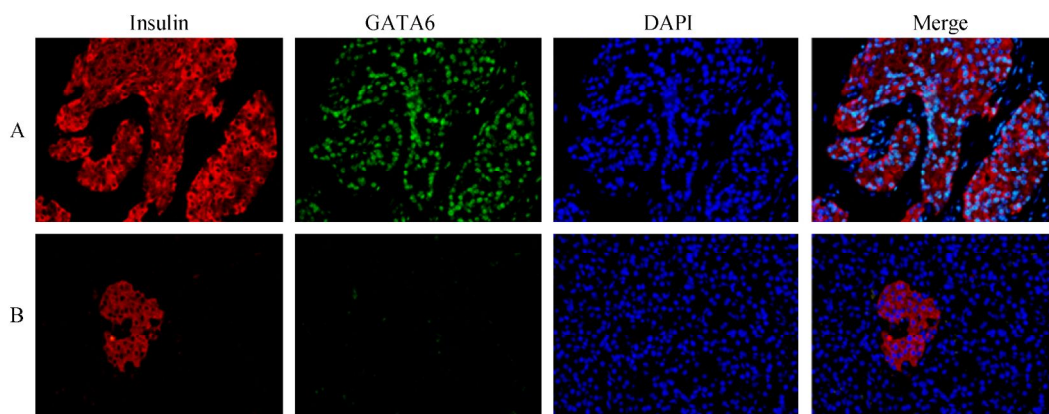


图2 胰岛素瘤及正常人胰岛组织切片免疫荧光

Figure 2 Immunofluorescence analysis of GATA6 and insulin in insulinoma tissue and normal pancreatic tissue slice ($\times 200$)

A: insulinoma tissue; B: normal pancreatic tissue

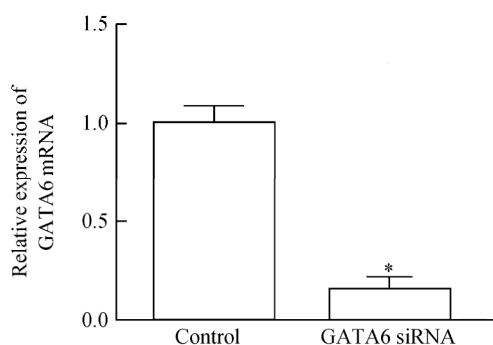


图3 siRNA干扰对GATA6 mRNA表达的影响

Figure 3 Effect of siRNA interference against GATA6 mRNA expression

Control group: negative siRNA transfection; GATA6 siRNA group: GATA6 siRNA transfection. Compared with control group, $P < 0.05$

2.4 siRNA干扰GATA6表达后MIN6细胞凋亡显著增加

为了进一步观察GATA6在胰岛素瘤细胞中的作用,将MIN6细胞分两组,对照组转染阴性siRNA,试验组^[16,17]转染GATA6 siRNA,转染48h后进行AnnexinV-PI标记,上流式细胞仪进行凋亡检测,重复3次。siRNA干扰GATA6表达后,细胞凋亡较对照组显著增加,差异具有统计学意义($P < 0.05$,图4)。

2.5 GATA6对胰岛素瘤细胞增殖的影响

为了证实GATA6对胰岛素瘤细胞增殖的影响,培养MIN6细胞分为两组,分别转染阴性siRNA及GATA6 siRNA,转染48h后对细胞进行固定及PI标记,上流式细胞仪进行细胞周期分析,重复3次。干扰GATA6表达后, G_0/G_1 期细胞较对照组升高,但未出现明显的具有统计学差异的 G_0/G_1 期阻滞($P = 0.13$)。然而,GATA6 siRNA沉默GATA6表达后,处在S期的细胞与对照组比较,差异具有统计学意义($P < 0.05$),提示干扰GATA6表达后对细胞的增殖起一定的抑制作用(图5)。

3 讨论

在哺乳动物中,GATA锌指转录因子家族包含6个成员,分别为GATA1~6,有研究表明GATA1、GATA2及GATA3参与造血干细胞的分化,而GATA4、GATA5及GATA6则控制着中胚层及内胚层来源细胞的分化^[13,14]。GATA4以及GATA6在早期胰腺上皮细胞中重叠表达,但后期分化过程中,GATA4仅存在于胰腺的外分泌细胞中,而GATA6则表达于胰腺的内分泌细胞中^[9]。GATA6在体内广泛表达,可表达于心肌、胃肠道及胰腺等组织中。除胰-十二指肠同源盒1(pancreatic and duodenal homeobox 1, PDX1)和Ptf1a等常见的转录因子可调节胰腺细胞的发育,GATA6还可作用于另外一种胰腺分化过程中必需的转录因子Nkx2.2^[15],从而对胚胎中胰腺细胞的分化起重要的作用。GATA6基因突变可引起心脏先天性畸形、胰腺发育不全、内分泌腺及外分泌腺功能消失^[16,17],杂合的GATA6突变可引起糖尿病的多种异常表型,包括胰腺发育不全,成人起病的糖尿病,伴或者不伴有外分泌功能的缺失^[18],提示GATA6在胰腺中具有重要的作用。除与细胞的分化密切相关外,近来有研究表明GATA6异常表达参与体内一些肿瘤的发生发展,过表达GATA6可促进MKN28胃癌细胞的增殖^[10];亦有研究发现GATA6可通过抑制Wnt信号通路的拮抗剂Dickkopf-1从而激活Wnt信号通路促进胰腺癌细胞的增殖^[19]。我们研究发现GATA6在胰岛素瘤表达水平较瘤旁显著升高,主要定位于细胞核中,沉默GATA6基因表达后细胞凋亡显著增加,并且胰岛素瘤细胞的增殖受抑制,提示GATA6可能在肿瘤的形成中发挥重要的作用。

GATA6在胰岛 β 细胞中可能具有重要的作用,Cnop等^[20]研究证实,大鼠原代 β 细胞及人原代 β 细

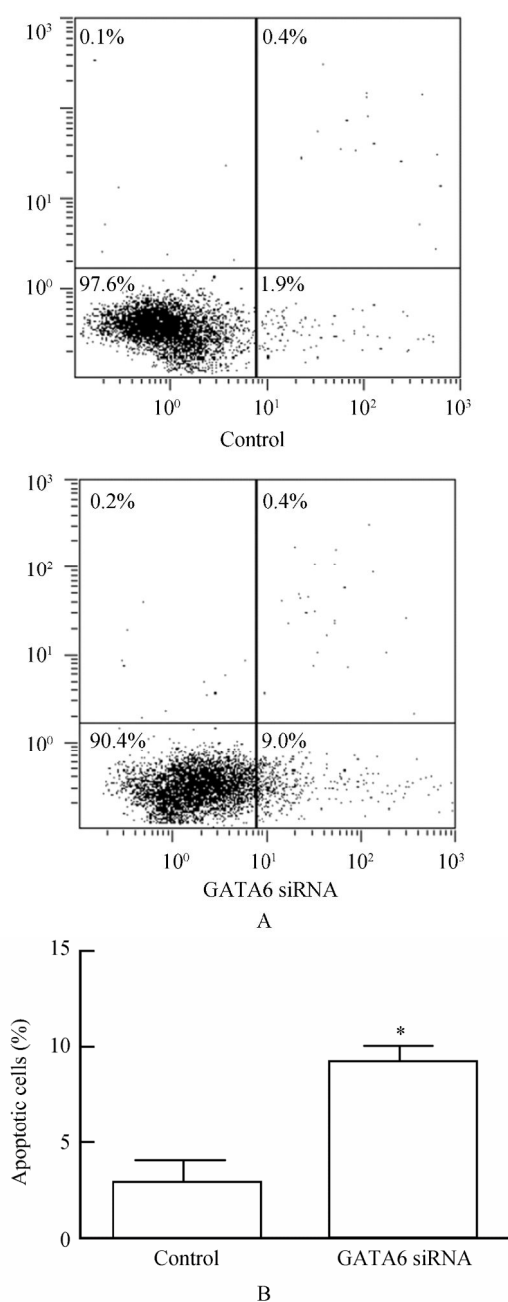


图4 siRNA干扰MIN6细胞GATA6表达对凋亡的影响
Figure 4 Effect of siRNA interference against GATA6 expression on apoptosis of MIN6 cell
A: flow cytometry analysis of apoptosis; B: comparison of apoptosis between two groups. Control group: negative siRNA transfection; GATA6 siRNA group: GATA6 siRNA transfection. Compared with control group, * $P < 0.05$

胞用siRNA沉默GATA6基因的表达后,大鼠原代β细胞及人β细胞较对照组发生显著的凋亡;如应用siRNA沉默GATA6表达后再给予棕榈酸作用,大鼠原代β细胞及人原代β细胞将发生更大程度的凋亡。结果提示GATA6与β细胞的凋亡密切相关,其机制可能与GATA转录因子具有促进胰岛β细胞内质网的完整性及胰岛β细胞的生存有关^[21]。肿瘤细胞的数量不仅取决于肿瘤的增殖速率,也取决于肿瘤细胞的凋亡速率。同样对于胰岛素瘤而言,其数量也

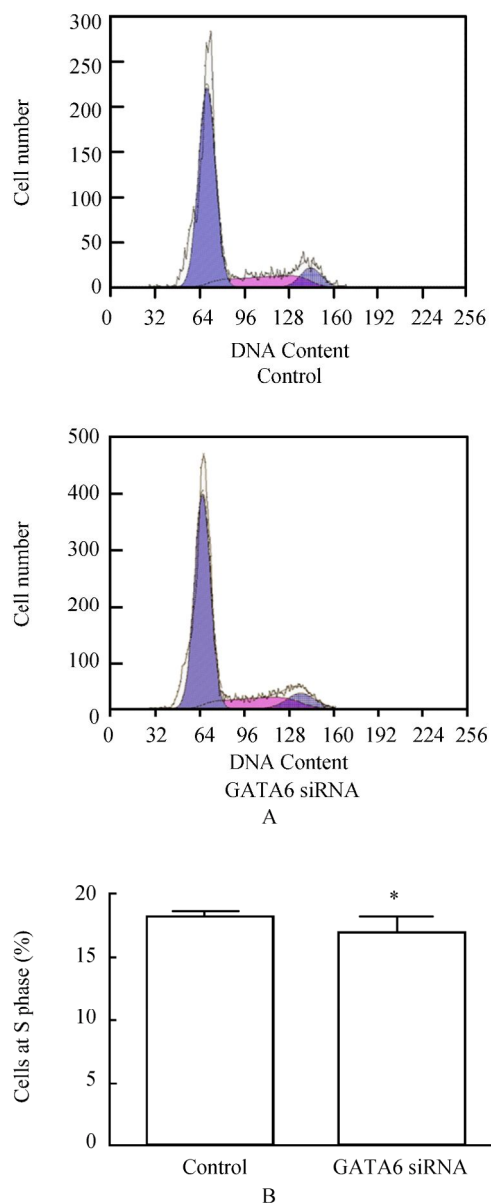


图5 siRNA干扰GATA6表达对MIN6细胞分裂周期的影响
Figure 5 Effect of siRNA interference against GATA6 expression on MIN6 cell cycle
A: flow cytometry analysis of cell cycle; B: comparison of cell cycles between two groups. Control group: negative siRNA transfection, $G_0/G_1=73.1\%$, $S=18.04\%$, $G_2/M=8.86\%$; GATA6 siRNA group: GATA6 siRNA transfection, $G_0/G_1=74.8\%$, $S=16.6\%$, $G_2/M=8.66\%$. Compared with control group, * $P < 0.05$

是由肿瘤细胞新生及凋亡共同决定的,抗凋亡机制的获得可能会改变胰岛素瘤增殖及凋亡的比例,从而参与胰岛素瘤的发生发展。我们的试验证实GATA6在胰岛素瘤中异常高表达,干扰胰岛素瘤细胞GATA6表达后细胞凋亡显著增加,提示GATA6在胰岛素瘤中可能具有抗凋亡作用。有研究表明在一种心肌细胞中过表达GATA6后可抵抗高剂量胰岛素诱导的心肌细胞的凋亡^[22];在另一研究中GATA6在食管腺癌中异常高表达,利用特异性的siRNA沉默GATA6的表达后抗凋亡蛋白Bcl-2表达显著减少,细胞凋亡显著增加^[23]。GATA6不仅参与

细胞的凋亡, 且与肿瘤细胞的增殖有关。Chen等^[24]研究发现在胰腺癌中GATA6的表达异常增加, 在细胞实验中进一步利用胰腺癌细胞系SW1990细胞沉默GATA6的表达后, 癌细胞凋亡增加, 且细胞的增殖显著受抑制。

综上所述, 研究表明, GATA6在胰岛素瘤中异常高表达, 与肿瘤细胞的凋亡及增殖密切相关。GATA6可能在胰岛素瘤的发病机制中发挥重要的作用, 有望成为胰岛素瘤患者新的治疗干预靶点。

【参考文献】

- [1] Service FJ, McMahon MM, O'Brien PC, *et al.* Functioning insulinoma—incidence, recurrence, and long-term survival of patients: a 60-year study[J]. *Mayo Clin Proc*, 1991, 66(7): 711–719.
- [2] Fendrich V, Waldmann J, Bartsch DK, *et al.* Surgical management of pancreatic endocrine tumors[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2009, 6(7): 419–428.
- [3] Han JF, Zhang F, Bao YQ, *et al.* Diagnostic value of parameters of glucose metabolism as screening tests for insulinoma[J]. *Natl Med J China*, 2010, 90(16): 1093–1096. [韩峻峰, 张 锋, 包玉倩, 等. 糖代谢相关指标对诊断胰岛素瘤的临床价值[J]. *中华医学杂志*, 2010, 90(16): 1093–1096.]
- [4] Grant CS. Insulinoma[J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2005, 19(5): 783–798.
- [5] Abboud B, Boujaoude J. Occult sporadic insulinoma: localization and surgical strategy[J]. *World J Gastroenterol*, 2008, 14(5): 657–665.
- [6] Plöckinger U, Rindi G, Arnold R, *et al.* Guidelines for the diagnosis and treatment of neuroendocrine gastrointestinal tumours. A consensus statement on behalf of the European Neuroendocrine Tumour Society (ENETS)[J]. *Neuroendocrinology*, 2004, 80(6): 394–424.
- [7] Patient RK, McGhee JD. The GATA family (vertebrates and invertebrates)[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2002, 12(4): 416–422.
- [8] Zhao R, Watt AJ, Battle MA, *et al.* Loss of both GATA4 and GATA6 blocks cardiac myocyte differentiation and results in acardia in mice[J]. *Dev Biol*, 2008, 317(2): 614–619.
- [9] Decker K, Goldman DC, Grash CL, *et al.* Gata6 is an important regulator of mouse pancreas development[J]. *Dev Biol*, 2006, 298(2): 415–429.
- [10] Wang H, Liu Z, Li J, *et al.* ΔNp63α mediates proliferation and apoptosis in human gastric cancer cells by the regulation of GATA-6[J]. *Neoplasma*, 2012, 59(4): 416–423.
- [11] Lindholm PM, Soini Y, Myllärmiemi M, *et al.* Expression of GATA-6 transcription factor in pleural malignant mesothelioma and metastatic pulmonary adenocarcinoma[J]. *J Clin Pathol*, 2009, 62(4): 339–344.
- [12] Moore F, Cunha DA, Mulder H, *et al.* Use of RNA interference to investigate cytokine signal transduction in pancreatic beta cells[J]. *Methods Mol Biol*, 2012, 820: 179–194.
- [13] Bresnick EH, Lee HY, Fujiwara T, *et al.* GATA switches as developmental drivers[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(41): 31087–31093.
- [14] Molkenkin JD. The zinc finger-containing transcription factors GATA-4, -5, and -6. Ubiquitously expressed regulators of tissue-specific gene expression[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(50): 38949–38952.
- [15] Sussel L, Kalamaras J, Hartigan-O'Connor DJ, *et al.* Mice lacking the homeodomain transcription factor Nkx2.2 have diabetes due to arrested differentiation of pancreatic beta cells[J]. *Development*, 1998, 125(12): 2213–2221.
- [16] Chao CS, McKnight KD, Cox KL, *et al.* Novel GATA6 mutations in patients with pancreatic agenesis and congenital heart malformations[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0118449.
- [17] Lango Allen H, Flanagan SE, Shaw-Smith C, *et al.* GATA6 haploinsufficiency causes pancreatic agenesis in humans[J]. *Nat Genet*, 2012, 44(1): 20–22.
- [18] De Franco E, Shaw-Smith C, Flanagan SE, *et al.* GATA6 mutations cause a broad phenotypic spectrum of diabetes from pancreatic agenesis to adult-onset diabetes without exocrine insufficiency[J]. *Diabetes*, 2013, 62(3): 993–997.
- [19] Zhong Y, Wang Z, Fu B, *et al.* GATA6 activates Wnt signaling in pancreatic cancer by negatively regulating the Wnt antagonist Dickkopf-1[J]. *PLoS One*, 2011, 6(7): e22129.
- [20] Cnop M, Abdulkarim B, Bottu G, *et al.* RNA sequencing identifies dysregulation of the human pancreatic islet transcriptome by the saturated fatty acid palmitate[J]. *Diabetes*, 2014, 63(6): 1978–1993.
- [21] Sartori DJ, Wilbur CJ, Long SY, *et al.* GATA factors promote ER integrity and beta-cell survival and contribute to type 1 diabetes risk[J]. *Mol Endocrinol*, 2014, 28(1): 28–39.
- [22] Li WY, Song YL, Xiong CJ, *et al.* Insulin induces proliferation and cardiac differentiation of P19CL6 cells in a dose-dependent manner[J]. *Dev Growth Differ*, 2013, 55(7): 676–686.
- [23] Lin L, Bass AJ, Lockwood WW, *et al.* Activation of GATA binding protein 6 (GATA6) sustains oncogenic lineage-survival in esophageal adenocarcinoma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2012, 109(11): 4251–4256.
- [24] Chen WB, Huang FT, Zhuang YY, *et al.* Silencing of GATA6 suppresses SW1990 pancreatic cancer cell growth *in vitro* and up-regulates reactive oxygen species[J]. *Dig Dis Sci*, 2013, 58(9): 2518–2527.

(编辑: 刘子琪)