

文章编号: 1004-0374(2009)03-0383-05

## Klf4 的功能研究进展

孙雪萍, 曹鸿国, 张运海, 刘亚\*

(安徽农业大学动物科技学院, 合肥 230036)

**摘要:** Klf4 作为真核生物转录因子, 参与调控细胞增殖、分化、胚胎发育等重要生命过程, 是体细胞重编程为诱导多能干细胞(iPS 细胞)的重要诱导因子之一。本文综述了 Klf4 在细胞增殖、分化、肿瘤发生、皮肤屏障、热休克及 iPS 细胞诱导等方面的研究进展, 为深入研究 Klf4 在重编程中的作用机制和功能提供参考。

**关键词:** Klf4; 基因结构; iPS 细胞; 功能

**中图分类号:** Q78; Q813 **文献标识码:** A

## Research progress of Klf4 function

SUN Xue-ping, CAO Hong-guo, ZHANG Yun-hai, LIU Ya\*

(College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

**Abstract:** Klf4, as an eukaryotic transcription factor, plays an important role in the regulation of cell proliferation, differentiation, embryonic development and some other important physiological or pathological processes, and can take part in the reprogramming from somatic cells to induced pluripotent stem cells. Here the latest research progresses of Klf4 functions in cell proliferation, differentiation, cancer genesis, skin barrier, heat shock and induction of pluripotent stem cells were summarized for further study.

**Key words:** Klf4; gene structure; iPS cell; function

近年来, 人们利用体细胞诱导分化出类似胚胎干细胞(ES细胞)的诱导多能干细胞(induced pluripotent stem cell, iPS细胞), 这一重大突破成功避开了ES细胞研究中长期争论的伦理问题和胚胎来源缺乏的困境, 为获得具备患者自身遗传特性的ES细胞开辟了新途径, 也为临床疾病治疗提供了新的基因治疗方法。iPS细胞所具有的潜在应用价值使得世界各国科研人员争相将研究方向转移到此技术上。2006年, Kazutoshi等<sup>[1]</sup>首次证实, Klf4、Sox2、Oct4和c-Myc转录因子能够将小鼠成纤维细胞诱导成iPS细胞, 因此, 这4种转录因子在体细胞重编程中的作用机制和功能研究已成为相关领域的热点。

### 1 Klf4 的结构特点

人的*Klf4*基因定位于染色体9q31, 覆盖6.3kb的基因段, 有5个外显子。其cDNA编码区长度为1413bp, 编码一个由470个氨基酸残基组成的多肽

(图1)<sup>[2,3]</sup>; 而小鼠的*kIf4*定位于染色体4B3, 小鼠Klf4蛋白全长包含483个氨基酸残基, 与人Klf4蛋白氨基酸序列的同源性为91%, 在羧基端有103个氨基酸残基完全一致<sup>[2]</sup>。通过RNA转移吸印技术分析显示, 人和鼠的Klf4转录物长度均为3.5kb, 相对分子质量为53k, 但在小鼠组织中表达水平更高<sup>[3]</sup>。猪的*Klf4*基因位于染色体1q28-29处, 编码序列全长为1533bp<sup>[4]</sup>。

Klf4曾被命名为胃肠富集Kruppel样因子<sup>[5]</sup>或表皮锌指因子<sup>[2]</sup>, 主要在消化道和上皮细胞中表达, 在口腔、食管上皮、皮肤表皮、胸腺上皮及血管内皮等处也有广泛表达<sup>[6]</sup>。Klf4是一种具有结合位

收稿日期: 2009-01-05; 修回日期: 2009-02-02

基金项目: 国家重大科技支撑计划“iPS细胞发生期间的体细胞重编程规律与分子机制”(2009CB941004)

\*通讯作者 E-mail: liuya@mail.ustc.edu.cn

点特异性真核生物锌指蛋白转录因子，属于Klf蛋白家族一员，具备Klf蛋白家族的结构特性。Klf4主要特征是包含3个结构域：DNA结合结构域、转录调节结构域和核定位序列。高度保守的DNA结合结构域位于羧基端，一般用来调节DNA结合的特异性；而高变性的转录调节结构域位于氨基端，主要发挥转录激活和抑制作用<sup>[7,8]</sup>。

Klf4蛋白羧基端的DNA结合结构域含有3个连续的C2H2锌指结构，这3个锌指结构均符合锌指转录因子的保守序列：CX<sub>2</sub>CX<sub>3</sub>FX<sub>5</sub>LX<sub>2</sub>HX<sub>3</sub>H（X代表任意氨基酸），两个锌指结构之间是一个由7个氨基酸残基组成的H/C连接序列，该连接序列为TGEKP(Y/F)X<sup>[5,7,8]</sup>。氨基端的转录调节结构域可分为激活结构域和抑制结构域，其中激活结构域位于N末端的第91—117氨基酸残基处，富含脯氨酸和丝氨酸；抑制结构域位于第181—371氨基酸残基处，也含脯氨酸残基，因此Klf4具有激活和抑制双重调节作用<sup>[2,3]</sup>。Klf4调控目的基因的转录是通过与下游启动子区的3种结合元件(GC盒、CACCC盒和基础转录元件)结合来实现其生物学功能<sup>[2,9]</sup>。Klf4蛋白主要集中在细胞核内，它含有两个有效的核定位信号：一个位于锌指结构的氨基端；另一个则存在于第一个锌指结构域的前方，并与之紧密相

邻。这两个核定位信号中的任何一个都能单独有效地将Klf4转移至核内<sup>[3,8]</sup>。Klf蛋白家族成员中Klf4与sp1在基因结构方面有着高度的同源性，因此，两者在组织或细胞中发挥作用时可竞争性结合某些启动子，如竞争性结合*cyclinD1*启动子的同一位点时，细胞中会出现Klf4胞质低表达伴随sp1核高表达的趋势<sup>[3,10]</sup>。

## 2 Klf4的表达与细胞分化和生长

Klf4在细胞增殖、分化及胚胎发育等生命过程中发挥重要作用。外源性Klf4表达可以抑制DNA合成和细胞生长，在皮肤<sup>[2]</sup>、胃肠道、睾丸<sup>[5]</sup>、胸腺<sup>[6]</sup>、血管平滑肌<sup>[11]</sup>、角膜<sup>[12]</sup>等组织中调节细胞增殖和分化。在体内炎性单核细胞及ES细胞研究中也证实，Klf4不同程度地表达对细胞增殖、分化具有促进或抑制作用<sup>[13,14]</sup>。

当DNA受损时，Klf4与p53协同激活*p21*启动子，从而诱导细胞周期停滞在G<sub>1</sub>/S期和G<sub>2</sub>/M期<sup>[15,16]</sup>。Klf4还能通过与细胞周期蛋白*B1*(*cyclinB1*)启动子中的GC元件结合来抑制其转录活性，从而在维持G<sub>2</sub>/M细胞周期检验点的完整性中发挥重要的作用<sup>[15,16]</sup>。Klf4在增殖的B淋巴细胞中强制表达能使细胞周期停滞在G<sub>1</sub>期<sup>[17]</sup>。Klf4还能够协同p300和CBP作用实现生长抑制功能，内源性Klf4也能被

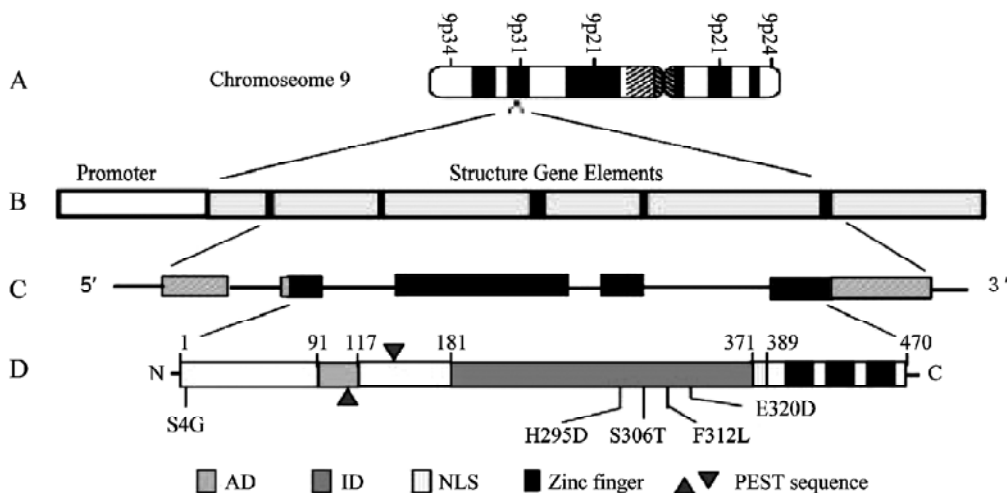


图1 人*Klf4*基因的组织结构和相应的蛋白

(A) *Klf4*基因是位于染色体9q31处，覆盖了一个6.3kb大小的区段；(B)深色条带标记的是*Klf4*基因5个外显子在结构基因元件中的位置；(C)位于基因组图下方的是*Klf4* RNA的转录物，5个盒子代表了相应的外显子，然而全部的深色盒子显示的是包含2 639bp cDNA的*Klf4*开放读码框；(D)*Klf4*开放读码框编码含有几个功能域的由470个氨基酸残基组成的蛋白，包括转录激活域、转录抑制域、锌指DNA结合域、核定位信号和潜在PEST序列<sup>[3]</sup>。

p300 和 CBP 乙酰化<sup>[18]</sup>。Klf4 在细胞增殖、分化过程中除了能调控 *cyclinB<sub>1</sub>*、*p21* 等基因的启动子, 也可激活 *IAP* (intestinal alkaline phosphatase)<sup>[18]</sup>、*IL-10* (interleukin-10)<sup>[19]</sup> 等因子, 抑制 *cyclinD1*、*β-catenin*<sup>[20]</sup>、*LDLR* (low-density lipoprotein receptor)、*StAR*、*P450CYP<sub>17A1</sub>*<sup>[21]</sup> 等。Chen 等<sup>[22]</sup> 利用 cDNA 微阵列分析含 Klf4 的人类细胞株中基因调节情况, 结果发现发生上调和下调的基因中很大一部分是和细胞周期调控有关的基因, 其中促进细胞周期循环的基因普遍下调, 如 *CDK1* (cyclin-dependent kinase1)、*KIA* 及 *MCM2* (minichromosome maintenance complex component 2) 等; 抑制细胞周期循环的基因则上调, 如 *p21*、*p57<sup>Kip</sup>*、*IGFBP6* (insulin-like growth factor binding protein 6) 及 *SFN* (single-frequency network) 等。此外, 还有与细胞分化有关的 9 个角蛋白基因也呈上调趋势。这些蛋白相互之间可能组合成一种调控网络来调节细胞增殖、分化以及死亡之间的动态平衡, 一旦这种平衡被破坏, 就有可能导致肿瘤的发生。

### 3 Klf4 表达与疾病发生

**3.1 Klf4 与肿瘤** Klf4 在细胞增殖和分化中起着重要作用, 但细胞的过度增殖和异常分化则是肿瘤的一个主要生物学特性, 说明 Klf4 可能与肿瘤的发生密切相关, 并在许多试验中得到证实。同其在细胞生长分化中的双重调节功能一样, Klf4 在肿瘤中发挥的作用也是双重的——既是肿瘤抑制基因又是致癌基因。Klf4 的表达具有类型特异性, 这可能与其双重角色有关, Klf4 在肿瘤发生期的胃肠道上皮<sup>[3]</sup>、食管鳞癌<sup>[23]</sup>、胃癌<sup>[24]</sup>、肺癌<sup>[25]</sup>、膀胱癌<sup>[26]</sup>、前列腺癌<sup>[27]</sup>、结肠腺瘤和结肠直肠癌<sup>[28]</sup>中表达下调, 而在乳腺癌<sup>[29]</sup>和口腔鳞癌<sup>[30]</sup>中表达上调。*Klf4* 基因在肿瘤发生过程中的表达可能与 *CDX2* (caudal type homeo box transcription factor 2) 的异常表达和抑癌基因 *APC* (adenomatous polyposis coli) 有关。Klf4 在 *APC*、*CDX2* 联合调节下作用于 *MCM4* 和 *p21*, 抑制 *DNA* 合成并引起细胞周期阻滞, 从而抑制肿瘤发生<sup>[20]</sup>。*Klf4* 作为致癌基因, 可以在子宫内膜中通过下调 *LDLR*、*StAR*、细胞色素 *P450CYP<sub>17A1</sub>* 等启动子的表达使类固醇激素合成及分泌失调, 从而导致子宫内膜癌的发生<sup>[21, 31]</sup>。Klf4 蛋白阳性表达与肿瘤的病理学分级呈负相关, 并可能与肿瘤的发生、发展及预后有关<sup>[29]</sup>。临床病理上可据此通过检测 *Klf4* 基因或蛋白表达情况来诊断腺瘤, 以利于判断肿瘤的分期、分级及癌前状态, 也为临床治疗方案

的制定提供有利依据。

**3.2 Klf4 与皮肤屏障的形成** 皮肤作为机体和外界环境的屏障, 具有防止体液丢失和外界毒素入侵的作用。Klf4 不仅在肠的不同组织中表达, 而且在表皮中也有高水平表达, 并在皮肤表皮细胞分化晚期起重要作用。Segre 等<sup>[32]</sup> 构建皮肤 *Klf4* 基因靶向敲除的缺陷鼠, 发现新生小鼠出生后不久因皮肤屏障功能不健全而很快死亡, 证明 Klf4 在皮肤屏障防御功能的构建方面起着关键作用。Klf4 可以参与表皮中多种角蛋白基因的转录, 并促进表皮细胞的终末分化和角质层的生成; Klf4 的异位表达可以加速表皮渗透性屏障的形成<sup>[33]</sup>。*Klf4* 基因能增强表皮的防御功能, 并对多个表皮屏障功能分子的转录有促进作用, 从而有利于人银屑病皮损处表皮屏障的修复和重建<sup>[34]</sup>。

**3.3 Klf4 与热休克** 在对过表达 *HSF1* (heat-shock factor 1) 基因的细胞株及 *HSF1* 基因敲除小鼠的研究中发现, *HSF1* 可与 *Klf4* 基因启动子区的 *HSE* 结合促进 *Klf4* 的转录, 为应答热休克而提高 Klf4 在肾、脑、肺、骨骼肌、血管平滑肌、心肌等组织中的表达<sup>[35]</sup>。反之, Klf4 也可以调节热休克因子的表达, 如 Klf4 的过表达可导致 RAW264.7 巨噬细胞和 C2C12 (mouse myoblast cell line) 细胞中 *HSF73* 组成型表达的上调<sup>[36]</sup>。Klf4 还可促进另外一些热休克蛋白的表达, 如 HSP25 (heat-shock protein 25)、HSP70、αβ 晶状体蛋白等, 但对 HSPs 的诱导型表达影响并不显著。在 RAW264.7 细胞中 Klf4 过表达能增强 *IL-10* 的表达, 也可显著增加热应激所致的 RAW264.7 细胞凋亡<sup>[19, 37]</sup>。Klf4 的过表达能降低正常状态下的 C2C12 细胞的存活率, 并通过增加体温来诱导 C2C12 细胞编程性死亡率, 因此, 推断在热应激反应中 Klf4, 作为一种早期反应基因具有促进细胞损伤、生长抑制和编程性细胞死亡的有害作用<sup>[36]</sup>。

### 4 Klf4 与 iPS 细胞

为避开干细胞研究中长期争论的伦理和胚胎来源缺乏的问题, 2007 年, 美国和日本学者分别成功地将人体皮肤成纤维细胞改造成 iPS 细胞。iPS 细胞在表观遗传状态和细胞形态等方面都与 ES 细胞相似, 也和 ES 细胞一样具有强大的增殖能力和多向分化潜能<sup>[38]</sup>。iPS 细胞为获得具备患者自身遗传特性的 ES 细胞开辟了新途径, 也为临床疾病的治疗提供了新方法。

Takahashi 和 Yamanaka<sup>[1]</sup> 已证实 Klf4 能与 Sox2、

Oct4、c-Myc 一起通过逆转录病毒转导到小鼠成纤维细胞基因组中, 经过 Fbx15、Oct4 或 Nanog 等的筛选, 将小鼠成纤维细胞诱导成 iPS 细胞<sup>[38]</sup>。此法也可以将人体皮肤成纤维细胞诱导成 iPS 细胞<sup>[39]</sup>。用小鼠的肝和胃细胞也能诱导出 iPS 细胞<sup>[40]</sup>。目前推测 Klf4 在 iPS 细胞中参与维持细胞多潜能性的机制有以下几方面: 首先, Klf4 能和 c-Myc 一起改变染色质的结构, 从而使决定细胞多潜能性的 *Oct4* 和 *Sox2* 两种基因能结合到它们的靶部位, 以便提高细胞诱导的效率<sup>[39]</sup>; 其次, 是 Klf4 在细胞生长、增殖、分化及胚胎发育中都发挥着重要作用, Klf4 既可作为原癌基因又可作为肿瘤抑制蛋白, 过量表达抑制 ES 细胞分化, 但能促进自我更新<sup>[41]</sup>; 再次, Klf4 在诱导多能性干细胞过程中可以与 p300 组蛋白乙酰转移酶相互作用调节基因转录<sup>[18]</sup>。研究发现在稳定传代的 iPS 细胞中出现转基因沉默, 由此推测外源性 Klf4、*Sox2*、Oct4、c-Myc 仅参与启动体细胞重编程过程, 而非维持细胞多能性, 细胞多能性的维持主要是由外源 Klf4 激活的内源 Klf4 参与调节<sup>[42]</sup>。至于 Klf4 在诱导 iPS 细胞中发挥的其他功能及具体的作用机制还有待进一步研究。

在这四种转录因子中, Klf4 的表达模式与 Oct4 相近, 当 Klf4 过表达时能维持 Oct4 的表达<sup>[1]</sup>。Klf4 通过直接抑制 p53 的表达来抑制 c-Myc 诱导编程性细胞死亡, 同样 c-Myc 也反过来抑制 Klf4 的抗增殖能力<sup>[43]</sup>。Klf4 与 c-Myc 这种动态平衡在诱导 iPS 细胞的过程中发挥着重要作用, 但 Klf4 和 c-Myc 这两个基因既是多潜能相关的转录因子, 也是潜在的致癌基因, 这使人们担心 iPS 细胞的应用可能会诱导癌症的发生<sup>[7, 43]</sup>。在临床应用中为了寻找一种更简单、更安全, 并能减少所需转基因数量和避免对原癌基因 *c-Myc* 需要的程序, Kim 等<sup>[44]</sup>报道仅需 Oct4 与 Klf4 或 c-Myc 两种转录因子中的一种组合就能从成年小鼠神经干细胞中获得 iPS 细胞, 因为内源性 *Sox2* 和 c-Myc 在神经细胞中的表达水平远高于 ES 细胞。另有研究者试图使用小分子化合物来替代潜在致癌转录因子进行 iPS 细胞的诱导, 或通过替换病毒载体来诱导 iPS 细胞。Shi 等<sup>[45]</sup>用 BIX-01294 和 BayK8644 两种小分子混合物处理转染 *Oct4/Klf4* 的小鼠胎儿成纤维细胞, 也成功产生 iPS 细胞。Okita 等<sup>[46]</sup>使用两个质粒取代病毒载体, 一个质粒运载 *c-Myc* 基因, 另一个质粒运载 *Oct4*、*Klf4* 和 *Sox2* 基因; 然后把两个质粒同时导入小鼠胎儿成纤维细胞, 成

功培育出 iPS 细胞。这些研究成果为我们提供了一种获得 iPS 细胞更简便, 相对较安全的新思路。

总的说来, 现有对 Klf4 的研究大多局限于观察其在组织或细胞中的表达, 至于 Klf4 在肿瘤、皮肤屏障、热休克和 iPS 细胞中的具体作用机制, 尚有待进一步的深入研究; 对 Klf4 功能和作用机制的充分研究, 有助于临床医学上基因治疗技术的应用。

### [参 考 文 献]

- [1] Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, 2006, 126(4): 663-76
- [2] Yet SF, McA'Nulty MM, Folta SC, et al. Human EZF, a Kruppel-like zinc finger protein is expressed in vascular endothelial cells and contains transcriptional activation and repression domains. *J Biol Chem*, 1998, 273(2): 1026-31
- [3] Wei D, Kanai M, Huang S, et al. Emerging role of KLF4 in human gastrointestinal cancer. *Carcinogenesis*, 2006, 27(1): 23-31
- [4] Yang HW, Xia T, Chen ZL, et al. Cloning chromosomal localization and expression patterns of porcine Kruppel-like factors 4, -5, -7 and the early growth response factor 2. *Biotechnol Lett*, 2007, 29(1): 157-63
- [5] Shields JM, Christy RJ, Yang VW. Identification and characterization of a gene encoding a gut-enriched Kruppel-like factor expressed during growth arrest. *J Biol Chem*, 1996, 271(33): 20009-17
- [6] Garrett-Sinha LA, Eberspaecher H, Seldin MF, et al. A gene for a novel zinc-finger protein expressed in differentiated epithelial cells and transiently in certain mesenchymal cells. *J Biol Chem*, 1996, 271(49): 31384-90
- [7] Song A, Patel A, Thamatrakoln K, et al. Functional domains and DNA-binding sequences of RFLAT-1/KLF13, a Kruppel-like transcription factor of activated T lymphocytes. *J Biol Chem*, 2002, 277(33): 30055-65
- [8] Shields JM, Yang VW. Two potent nuclear localization signals in the gut-enriched Kruppel-like factor define a subfamily of closely related Kruppel proteins. *J Biol Chem*, 1997, 272(29): 18504-7
- [9] Shields JM, Yang VW. Identification of the DNA sequence that interacts with the gut-enriched Kruppel-like factor. *Nucleic Acids Res*, 1998, 26(3): 796-802
- [10] Shie JL, Chen ZY, Fu M, et al. Gut-enriched Kruppel-like factor represses cyclin D1 promoter activity through Spl motif. *Nucleic Acids Res*, 2000, 28(15): 2969-76
- [11] Wassmann S, Wassmann K, Jung A, et al. Induction of p53 by GKLf is essential for inhibition of proliferation of vascular smooth muscle cells. *Mol Cell Cardiol*, 2007, 43(3): 301-7
- [12] Swamynathan SK, Davis J, Piatigorsky J. Identification of candidate Klf4 target genes reveals the molecular basis of the diverse regulatory roles of Klf4 in the mouse cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2008, 49(8): 3360-70
- [13] Alder JK, Georgantas RW, Hildreth RL, et al. Kruppel-like

- factor 4 is essential for inflammatory monocyte differentiation *in vivo*. *J Immunol*, 2008, 180(8): 5645-52
- [14] Jiang J, Chan YS, Loh YH, et al. A core Klf4 circuitry regulates self-renewal of embryonic stem cells. *Nat Cell Biol*, 2008, 10(3): 353-60
- [15] Innocente SA, Lee JM. p53 is a NF- $\kappa$ B- and p21-independent, Sp1-dependent repressor of cyclin B1 transcription. *FEBS Lett*, 2005, 579(5): 1001-7
- [16] Yoon HS, Chen X, Yang VW. Kruppel-like factor 4 mediates p53-dependent G1/S cell cycle arrest in response to DNA damage. *J Biol Chem*, 2003, 278(4): 2101-5
- [17] Yusuf I, Kharas MG, Chen J, et al. KLF4 is a FOXO target gene that suppresses B cell proliferation. *Int Immunol*, 2008, 20(5): 671-81
- [18] Evans PM, Zhang W, Chen X, et al. Kruppel-like factor 4 is acetylated by p300 and regulates gene transcription via modulation of histone acetylation. *J Biol Chem*, 2007, 282(47): 33994-4002
- [19] Liu JW, Zhang H, Liu Y, et al. KLF4 regulates the expression of interleukin-10 in RAW264.7 macrophages. *Biochem Biophys Res Commun*, 2007, 362(3): 575-81
- [20] Ghaleb AM, McConnell BB, Nandan MO, et al. Haploinsufficiency of Kruppel-like factor 4 promotes adenomatous polyposis coli-dependent intestinal tumorigenesis. *Cancer Res*, 2007, 67(15): 7147-54
- [21] Natesampillai S, Kerkvliet J, Leung PC, et al. Regulation of Kruppel-like factor 4, 9, and 13 genes and the steroidogenic genes LDLR, StAR, and CYP11A in ovarian granulosa cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2008, 294(2): E385-91
- [22] Chen XM, Whitney EM, Gao SY, et al. Transcriptional profiling of Kruppel-like factor 4 reveals a function in cell cycle regulation and epithelial differentiation. *J Mol Biol*, 2003, 326(3): 665-77
- [23] Luo AP, Kong JP, Hu GX, et al. Discovery of Ca<sup>2+</sup>-relevant and differentiation-associated genes downregulated in esophageal squamous cell carcinoma using cDNA microarray. *Oncogene*, 2004, 23(6): 1291-9
- [24] Kim B, Bang S, Lee S, et al. Expression profiling and subtype specific expression of stomach cancer. *Cancer Res*, 2003, 63(23): 8248-55
- [25] Bianchi F, Hu J, Pelosi G, et al. Lung cancers detected by screening with spiral computed tomography have a malignant phenotype when analyzed by cDNA microarray. *Clin Cancer Res*, 2004, 10(18 pt 1): 6023-8
- [26] Ohnishi S, Ohnami S, Laub F, et al. Downregulation and growth inhibitory effect of epithelial-type Kruppel-like transcription factor KLF4, but not KLF5, in bladder cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, 308(2): 251-6
- [27] Luo J, Dunn T, Ewing C, et al. Gene expression signature of benign prostatic hyperplasia revealed by cDNA microarray analysis. *Prostate*, 2002, 51(3): 189-200
- [28] Xu J, Lu BJ, Xu FY, et al. Dynamic down-regulation of Kruppel-like factor 4 in colorectal adenoma-carcinoma sequence. *Cancer Res Clin Oncol*, 2008, 134(8): 891-8
- [29] Foster KW, Frost AR, Mckie-Bell P, et al. Increase of GKLF messenger RNA and protein expression during progression of breast cancer. *Cancer Res*, 2000, 60(22): 6488-95
- [30] Huang CC, Liu Z, Li X, et al. KLF4 and PCNA identify stages of tumor initiation in a conditional model of cutaneous squamous epithelial neoplasia. *Cancer Biol Ther*, 2005, 4(12): 1401-8
- [31] Patel S, Xi ZF, Seo EY, et al. Klf4 and corticosteroids activate an overlapping set of transcriptional targets to accelerate in utero epidermal barrier acquisition. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006, 103(49): 18668-73
- [32] Segre JA, Bauer C, Fuchs E. Klf4 is a transcription factor required for establishing the barrier function of the skin. *Nat Genet*, 1999, 22(4): 356-60
- [33] Jaubert J, Cheng J, Segre JA. Ectopic expression of Kruppel like factor 4 (Klf4) accelerates formation of the epidermal permeability barrier. *Development*, 2003, 130(12): 2767-77
- [34] Segre JA. Epidermal barrier formation and recovery in skin disorders. *J Clin Invest*, 2006, 116(5): 1150-8
- [35] Liu Y, Wang J, Yi YX, et al. Induction of KLF4 in response to heat stress. *Cell Stress Chaperones*, 2006, 11(4): 379-89
- [36] Liu Y, Zhao J, Liu JW, et al. Upregulation of the constitutively expressed HSC70 by KLF4. *Cell Stress Chaperones*, 2008, 13(3): 337-45
- [37] Liu MD, Liu Y, Liu JW, et al. Effect of Kruppel-like factor 4 overexpression on heat stress-induced apoptosis of Raw264.7 macrophages. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao (Yi Xue Ban)*, 2007, 32(6): 1002-6
- [38] Wernig M, Meissner A, Foreman R, et al. *In vitro* reprogramming of fibroblasts into a pluripotent ES-cell-like state. *Nature*, 2007, 448(7151): 318-24
- [39] Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*, 2007, 131(5): 861-72
- [40] Aoi T, Yae K, Nakagawa M, et al. Generation of pluripotent stem cells from adult mouse liver and stomach cells. *Science*, 2008, 321(5889): 699-702
- [41] Li YJ, McClintick J, Zhong L, et al. Murine embryonic stem cell differentiation is promoted by SOCS-3 and inhibited by the zinc finger transcription factor KLF4. *Blood*, 2005, 105(2): 635-7
- [42] Maherali N, Sridharan R, Xie W, et al. Directly reprogrammed fibroblasts show global epigenetic remodeling and widespread tissue contribution. *Cell Stem Cell*, 2007, 1(1): 55-70
- [43] Rowland BD, Peeper DS. KLF4, p21 and context-dependent opposing forces in cancer. *Nat Rev Cancer*, 2006, 6(1): 11-23
- [44] Kim JB, Zaehres H, Wu G, et al. Pluripotent stem cells induced from adult neural stem cells by reprogramming with two factors. *Nature*, 2008, 454(7204): 646-50
- [45] Shi Y, Desponts C, Do JT, et al. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic fibroblasts by Oct4 and Klf4 with small-molecule compounds. *Cell Stem Cell*, 2008, 3(5): 568-74
- [46] Okita K, Nakagawa M, Hyenjong H, et al. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors. *Science*, 2008, 322(5903): 949-53