

# *ID4*的结构和功能及其对哺乳动物生殖发育的影响

张莹 武思宇 华进联\*

(西北农林科技大学动物医学院, 陕西省干细胞工程技术研究中心, 杨凌 712100)

**摘要** 分化抑制因子4(inhibitor of differentiation 4, *ID4*), 也被称为DNA结合抑制因子(inhibitor of DNA binding), 是*ID*(inhibitor of DNA binding or inhibitor of differentiation)家族的成员之一, 存在于多种物种中。对该基因早期的研究主要集中在发育和增殖方面。近来, 研究发现, *ID4*在各种肿瘤中具有重要的调控作用, 然而其在生殖调控尤其是在精原干细胞的增殖和分化中究竟发挥着怎样的功能以及如何通过一定的作用方式发挥其功能, 还有待于进一步阐明。该文主要简述了*ID4*的基因结构和功能、相互作用的蛋白质及在哺乳动物生殖细胞发育调控方面的研究进展和存在的问题。

**关键词** *ID4*; 发育; 精原干细胞; 哺乳动物

## The Structure and Function of *ID4* and Its Effects on the Development of Mammalian Germ Cells

Zhang Ying, Wu Siyu, Hua Jinlian\*

(College of Veterinary Medicine, Shaanxi Stem Cell Engineering and Technology Research Center, Northwest A&F University, Yangling 712100, China)

**Abstract** *ID4* (inhibitor of differentiation 4), also known as inhibitor of DNA binding, is a member of the *ID* (inhibitor of DNA binding or inhibitor of differentiation) family, which exists in many species. Early studies on *ID4* are focused mainly on the development and proliferation of cells, especially on various tumors now. However, its function on the reproduction, especially in the proliferation and differentiation of the spermatogonial stem cells still needs a further study. In this review, the gene structure and the function of *ID4*, the interaction of proteins and the problems in the development of mammalian germ cells are discussed.

**Keywords** *ID4*; development; spermatogonial stem cells; mammalian

1994年, Riechmann等<sup>[1]</sup>首次从小鼠中分离鉴定了*ID4*(inhibitor of differentiation 4)基因, 该基因在小鼠胚胎发育的9.5~13.5 d上调表达, 属于*ID*(inhibitor of DNA binding or inhibitor of differentiation)家族。1990年, Benzra等<sup>[2]</sup>首先从红细胞白血病(murine erythroleukemia, MEL)细胞的cDNA文库中克隆出来*ID*蛋白, 属于螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix, HLH)

蛋白质。*ID4*对碱性HLH(bHLH)转录因子的活性起负调节作用, 但是一些不具有bHLH结构的蛋白质, 也能与之相互作用。包含bHLH结构域的转录因子在许多哺乳动物和昆虫体内可以调节组织特异性基因的表达<sup>[3]</sup>。

已克隆的多种*ID*蛋白中, 鼠源性的包括*ID1*、*ID2*、*ID3*、*ID4*四种。这四种*ID*蛋白, 其HLH区高

收稿日期: 2015-11-01 接受日期: 2015-12-22

国家自然科学基金(批准号: 31572399、31272518)和陕西省农业科技创新与攻关项目(批准号: 2015NY157)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 029-87080068, E-mail: jlhua2003@126.com

Received: November 1, 2015 Accepted: December 22, 2015

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31572399, 31272518) and the Agriculture Science and Technology Innovation and Research in Shaanxi Province (Grant No.2015NY157)

\*Corresponding author. Tel: +86-29-87080068, E-mail: jlhua2003@126.com

网络出版时间: 2016-03-15 11:50:52 URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160315.1150.006.html>

度相似,而在其他区域只有个别小的区段具有同源性。尽管其在核心的HLH区域只有很小的变化,比如ID4在HLH区域至少有四个氨基酸是独特的,在螺旋区,与ID1、ID2、ID3相比,谷氨酸、半胱氨酸、精氨酸是不同的;在环区,脯氨酸也是不同的。然而,即使在核心区这些微小的变化,也有可能使ID4与ID家族其他成员相比,具有一个相对独特的功能。而在其N-端和C-端的较大差异尚不能定论其是否导致了ID4的独特功能,但至少可以肯定,这与ID4独特的功能也有一定的联系。因此,我们可以认为, ID4和ID家族其他成员的同族关系较远<sup>[4]</sup>。现有的动物模型中的研究也表明, ID1、ID2、ID3所调控的各种表型的差异以及分子通路和ID4相比也是不同的,而ID4独特的分子机制仍然有待于进一步阐明。通常认为, ID1、ID2和ID3具有促进肿瘤形成的作用,而ID4则具有抑制肿瘤形成的作用<sup>[5]</sup>。但是,在某些肿瘤中, ID4又起到了原癌基因的作用,比如卵巢癌、胶质母细胞瘤等<sup>[6-8]</sup>。

## 1 ID4的基因结构及其功能

### 1.1 ID4的基因结构

1995年,人ID4基因被成功定位在染色体6p21.3~p22,增强ID4蛋白的表达可抑制肌酸激酶E-box增强子的活化作用。ID4缺乏一个基本的DNA结合区域,在ID家族中拥有最长的氨基酸序列,其N-末端的多聚丙氨酸在进化中起到比较重要的作用,并且也有可能是一个功能性的结构域, C-末端的脯氨酸可能也是其功能独特的一个因素。ID4基因是典型的二型启动子,由三个外显子构成。-269~+10是ID4基因的核心启动子区<sup>[9]</sup>,糖皮质激素受体元件、cAMP反应元件和雌激素受体元件正好位于活性启动子区,且具有上调ID4基因表达的作用。在5'侧翼区的TATA盒下游,有两个重要的顺式作用元件,一个含有E-box盒,能与上游刺激因子(upstream stimulatory factor, USF)结合,激活ID4;另一个是位于转录起始位点下游的GA结合序列,其突变会使

转录活性增加20倍<sup>[10]</sup>。ID4的5'起始区为AGG CGC GGT TGF,如图1所示。人们对于ID4研究一开始主要集中在发育和增殖方面,之后逐渐转向了其在各种肿瘤中的作用机制的探索。

### 1.2 ID4的表达和功能

最早人们发现,在胚胎发育的过程中, ID蛋白在未分化的、增殖的细胞群体中表达,并且随着终末分化的进行其表达逐渐下调<sup>[11]</sup>。ID4在成骨细胞、脂肪组织、前列腺上皮细胞、神经元、睾丸支持细胞和胶质细胞中均高表达,并起到一个促增殖的作用。ID4在生殖细胞发育的许多阶段也均有表达,在精原干细胞、精母细胞、粗线期精母细胞和精子中均有表达。免疫组化染色结果显示,在初级精母细胞的细胞质中ID4也有表达。

在各种肿瘤(如胆管癌、前列腺癌、食管癌)中,发现了ID4启动子CpG岛存在高度甲基化的情况<sup>[12]</sup>,这可能和肿瘤的预后及早期转移有关。

Yun等<sup>[13]</sup>研究发现, ID4在大脑的正常发育和功能中有着重要的作用,对神经干细胞的增殖和分化均有重要作用。在ID4表达减少的脑室部位,神经干细胞受到了影响。ID4不足可以促进早期神经祖细胞走向S期,表明了ID4在神经干细胞增殖和命运决定方面具有重要的调控作用。

同时,研究发现, miRNA也调控ID4的表达。在乳腺癌中, miR335、miR342抑制ID4的表达。miR9在ID4过表达的细胞中活性降低, miR9可以靶向作用于SOX2(Sry related HMG box)的3'UTR(3' untranslated regions)。某种程度上, ID4通过抑制miR9提高SOX2的表达<sup>[14]</sup>。

血小板源性生长因子(platelet derived growth factor, PDGF)通过增加ID4的表达,从而抑制miR129的活性,进而促进Jagged1信号。这个信号轴促进肿瘤生长,其由Notch抑制剂抑制。在早期的神经胶质瘤细胞中, ID4的表达水平可能和发状分裂相关增强子1(hairy and enhancer of split 1, Hes1)、Hey1(hairy/enhancer-of-split related with YRPW motif 1)正相关,

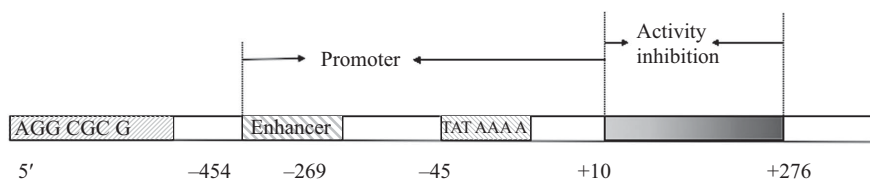


图1 ID4 5'区的下游结构(根据参考文献[10]修改)

Fig.1 5' region downstream of ID4 (modified from reference [10])

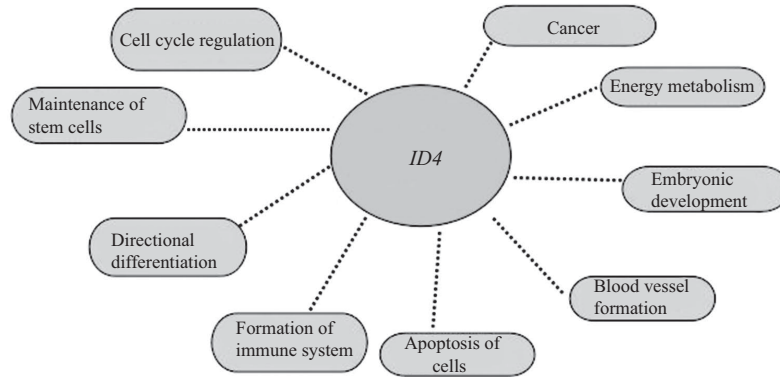


图2 ID4的功能(根据参考文献[18]修改)

Fig.2 The functional of ID4 (modified from reference [18])

而与miR129负相关。因此, PDGF-NOS-ID4-miR129轴和Notch活性的血管周围的微环境或许可以作为治疗胶质母细胞瘤的切入点<sup>[15]</sup>。

ID4通过从Hes1-Hey2复合物释放Hes1, 从而促进成骨细胞分化。Hes1可以增加Runx2(runt-related transcription factor 2)的稳定性和转录活性, Runx2是成骨细胞分化的重要因子, 可以促进成骨细胞特异性基因的表达<sup>[16]</sup>。诸如此类, ID4在生命活动中发挥着多种多样的功能, 如图2所示。

## 2 ID4相互作用的蛋白质

ID家族理论上均可以和bHLH家族结合, 甚至ID4可以和ID1、ID2、ID3分别结合并且抑制它们的表达<sup>[17]</sup>。但是, 一些非bHLH家族的蛋白质也可以和ID4结合。从人类蛋白参考数据库(human protein reference database, HPRD)中获得的ID蛋白互作数据表明, ID4与Hes1、T细胞因子-4(T cell factor-4, TCF-4)、ID3、成肌分化抗原(myogenic differentiation antigen, MyoD)均可能有相互作用。除此之外, 已经报道的文献中, ID4与HeLa细胞系

E-box结合蛋白(HeLa E-box binding protein, HEB)、Twist1(twist family bHLH transcription factor 1)、少突胶质细胞转录因子(oligodendrocyte transcription factor 1/2, Olig1/Olig2)、MyoD1、E2A、CBP/P300(CREB-binding protein)等多种蛋白均有相互作用, 并且所有的ID家族的蛋白均可以和TCF-3相结合<sup>[18]</sup>。近期有研究表明, ID4可能和雄激素受体(androgen receptor, AR)、FK506结合蛋白4(FK506 binding protein 4, FKBP52)、热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)等均有相互作用<sup>[19]</sup>。已经证实的可以和ID4相互作用的蛋白质见表1。

## 3 ID4作为Asingle型精原干细胞的标记

精原干细胞(spermatogonial stem cells, SSCs), 在产生后代、维持种族延续的生命活动中具有不可替代的重要作用。雄性生殖干细胞的发生受到了严密而又精确地调控, 以确保它在遗传学和表观遗传学上的生物学特征能够正确、稳定地传递给后代。

成年小鼠睾丸中仅有少量的精原干细胞具有再生能力, 经典的观点认为, 动物睾丸中的精原细胞包

表1 与ID4相互作用的蛋白

Table 1 Proteins interacting with ID4

| 相互作用的蛋白<br>Interacting proteins | 研究方法<br>Research method       | 参考文献<br>Reference |
|---------------------------------|-------------------------------|-------------------|
| Twist 1                         | CoIP                          | [16]              |
| Olig1/olig2                     | Yeast Two-hybrid System, CoIP | [12]              |
| Hes1                            | GST, CoIP                     | [15]              |
| ER $\alpha$                     | CoIP                          | [25]              |
| E47                             | GST, Western blot, CoIP       | [17]              |
| ID1                             | GST, Western blot, CoIP       | [17]              |

CoIP: 免疫共沉淀; GST: 谷胱甘肽S-转移酶。

CoIP: co-immunoprecipitation; GST: glutathione S-transferase.

括两种类型: 分化中的精原细胞和未分化的精原细胞。精原干细胞属于未分化的精原细胞。分化中的精原细胞中有A1~A4型、中间型(In)和B型精原细胞, 未分化精原细胞包括Asingle(As)、Apaired(Apr)、Aaligne(Aal)等三种细胞类型, 一般认为, As细胞是动物睾丸中的精原干细胞<sup>[20]</sup>。A型精原干细胞核内缺少异染色质, 有数目不等的核仁, 而B型SSCs的细胞核中有丰富的异染色质。Asingle精原细胞数在雄性小鼠约35 000个。研究表明, 一些Asingle精原细胞选择性表达ID4。据报道, Gfra1[GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor) family receptor alpha 1]在As、Apr等中限制性地表达<sup>[21]</sup>。Chan等<sup>[22]</sup>利用ID4-GFP小鼠模型研究哺乳动物生殖细胞形成、维持和分化的调控机理。研究发现, PD6(postnatal day 6)、ID4-GFP<sup>+</sup>仅占Gfra1<sup>+</sup>的一部分, 说明Asingle精原细胞的群体是混杂的, 且ID4选择性标记SSCs。ID4<sup>+</sup>精原细胞更多定位于生精小管的一些特定区域。Oatley等<sup>[23]</sup>研究表明, ID4-GFP<sup>+</sup>细胞在生精小管中的定位更靠近间质组织。用GDNF对精原干细胞刺激后, ID4的表达上调; 而在缺乏ID4表达的小鼠中, 生精小管中只剩下了支持细胞, 由于未分化的精原细胞不断地减少, 精子发生这一过程受损。这些现象表明ID4在维持SSCs自我更新方面发挥了重要的作用。而通过对体外长期培养的SSCs进行ID4干扰后, 发现其表达减少, 同时, 干扰细胞的克隆能力明显下调。

直到现在, 人们还未发现仅特异性标记Asingle而不标记Apr和Aal精原干细胞的可靠分子标记<sup>[24]</sup>。我们所知道的, 如早幼粒细胞白血病锌指蛋白(promyelocytic leukaemia zinc finger protein, PLZF)、Gfra1、Lin28(lin28 homolog A)、Nanos2(nanos homolog 2)及Nanos3等没有任何一个是仅在Asingle精原干细胞中表达的。因此, ID4是第一个可以从众多精原干细胞中区分出Asingle型精原干细胞的一个标记。至于ID4是否像小鼠一样, 可以作为其他动物Asingle精原干细胞的标记, 尚需要大量可靠的证据。

我们对ID4在奶山羊睾丸中表达的检测表明, 随着出生后时间的延长, ID4在睾丸细胞中的含量呈下降的趋势。这与精原干细胞分化形成各级生精细胞, 其数量及所占比例都会越来越少的理论基本一致。蛋白质水平检测发现, ID4不仅在睾丸生精管

的基底膜处存在, 该处是精原细胞定位的地方, 同时在睾丸间质中也存在。我们实验初步证实了ID4在奶山羊睾丸中是表达的, 且主要也定位于生精小管基底膜, 并且随着年龄的增长, ID4在睾丸中的含量逐渐降低, 至于ID4在奶山羊睾丸中是否也可以作为Asingle的标记还有待于进一步阐明。这为进一步深入揭示ID4对动物精原干细胞的发育分化奠定了一定的基础。

#### 4 哺乳动物乳腺和卵巢中ID4对雌激素信号通路的双重作用

雌激素受体1(estrogen receptor 1, ER1)、孕激素受体(progesterone receptor, PR)和FoxA1(forkhead box A1)是一些癌症发生发展过程中的先锋因子, 这三者在缺乏ID4的哺乳动物乳腺的管腔内和细胞基底膜均有明显的增高。在ER1和FoxA1的启动子区, ID4的染色质免疫共沉淀结果发现, ID4对雌激素受体亚型ER $\alpha$ 信号轴起负调控的作用。对卵巢的检测发现, 次级卵泡和有腔卵泡的数量增加, 在颗粒细胞中ID4的表达减少。酶促反应对雌激素的合成是非常关键的, 在缺乏ID4表达的雌性哺乳动物中发现子宫重量减轻, 表明雌激素的产生受到了影响。总的来说, ID4在哺乳动物的乳腺中限制了ER $\alpha$ 的表达, 并且在卵巢中调控雌激素的合成<sup>[25]</sup>。一直以来, 我们都知道转录因子在哺乳动物的乳腺发育方面起一定的调控作用。但是, 在细胞层面进一步的深入研究一直都不是非常清楚。之后又有研究发现, ID4对乳腺癌易感基因中的乳腺癌1号基因(breast cancer 1, *Brcal*)有负调控的作用<sup>[26]</sup>, *Brcal*基因为抑癌基因, 对肿瘤生长起负性调节作用, 它在DNA损伤修复、转录活化与抑制、细胞周期的调节等方面起着极其重要的作用。最初发现, ID4可以下调*Brcal*的表达, 而*Brcal*同样也调节ID4的表达。因此, 研究认为存在*Brcal*-ID4调节环。研究发现, *ID4*基因启动子区高度甲基化使ID4表达沉默, 易导致乳腺癌的发生, *ID4*基因的沉默是乳腺癌不利的预后因素, 且容易导致肿瘤转移。

#### 5 小结

ID蛋白作为研究细胞生命过程以及探寻治疗疾病的药物的一类分子, 其家族成员主要有ID1、ID2、ID3、ID4。其中, ID4又是相对独特的一个因

子, 目前国内的研究主要集中在肿瘤方面, 在脑肿瘤、乳腺癌、胚胎及甲状腺滤泡瘤胆管癌、前列腺癌、食管癌方面的研究较多, 且多数涉及表观遗传调控。ID4在肿瘤中尤其是在血液肿瘤以及胶质母细胞瘤中所发挥的作用提示了其有可能作为治疗这些疾病的新切入点。国外有研究表明, ID4在小鼠和人的前列腺中均高表达<sup>[27]</sup>。在前列腺的正常发育中, ID4是一个重要的调控因子, 敲除ID4后发现前列腺变小, 缺乏ID4的表达可能也是前列腺癌发生的一个起始事件<sup>[28]</sup>。这些研究对我们进一步揭示ID4在生殖调控方面的作用奠定了一定的基础。

ID4与bHLH蛋白Olig、Twist、Brcal以及p38蛋白激酶分裂原激活的蛋白激酶(p38 mitogen activated protein kinases, p38MAPK)通路与Notch信号通路的相互作用, 均为进一步探索ID4发挥作用的机制奠定了一定的基础。

在乳腺癌等癌症中, 对ER和AR通路调控ID4的表达的研究有可能成为治疗癌症的新途径。ID4可以促进乳腺导管的发育, 缺乏ID4表达的乳腺导管的生长发育受损, 且雌激素和孕酮共同调节的细胞增殖也会受到影响, ID4对维持正常的乳房细胞、乳房肿瘤细胞的存活也有一定的作用。目前仅初步探索到ID4可以作为A single型精原干细胞的一个标记, 至于ID4是如何特异性地调控精原干细胞的自我更新则是一个值得深入探索的课题。相信随着研究的不断深入, 借助现代组学和表观遗传等方面的研究成果, 我们可以更深入地解析ID4在生殖细胞发育调控方面的精细作用方式, 以提高雄性生殖干细胞的建系效率。

### 参考文献 (References)

- Riechmann V, Van CI, Sablitzky F. The expression pattern of ID4, a novel dominant negative helix-loop-helix protein, is distinct from Id1, Id2 and Id3. *Nucleic Acids Res* 1994; 22(5): 749-55.
- Benezra R, Davis RL, Lockshon D. The protein Id: A negative regulator of helix-loop-helix DNA binding proteins. *Cell* 1990; 61(1): 49-59.
- Pagliuca A, Bartoli PC, Saccone S, Valle GD, Lania L. Molecular cloning of ID4, a novel dominant negative helix-loop-helix human gene on chromosome 6p21.3-p22. *Genomics* 1995; 27(1): 200-3.
- Patel D, Morton DJ, Carey J, Havrda MC, Chaudhary J. Inhibitor of differentiation 4 (ID4): From development to cancer. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* 2015; 1855(1): 92-103.
- Evans AL, Carey JWP, Glymph SE, Chaudhary J. Id4 acts as a tumor suppressor by regulating c-Myc and MDM2 in prostate cancer. *Cancer Res* 2011; 71(8 Suppl): 4026.
- Kim S, Kon M, Delisi C. Pathway-based classification of cancer subtypes. *Biol Direct* 2012; 7(1): 21.
- Ren Y, Cheung HW, von Maltzhan G, Agrawal A, Cowley GS, Weir BA, *et al.* Targeted tumor-penetrating siRNA nanocomplexes for credentialing the ovarian cancer oncogene ID4. *Sci Transl Med* 2012; 4(147): 5695-8.
- Zeng W, Rushing EJ, Hartmann DP, Azumi N. Increased inhibitor of differentiation 4 (Id4) expression in glioblastoma: A tissue microarray study. *J Cancer* 2010; 1(1): 1-5.
- van CI, Cinato E, Fox M, King ER, Newton JS, Riechmann V, *et al.* Structure, chromosomal localisation and expression of the murine dominant negative helix-loop-helix Id4 gene. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1443(1/2): 55-64.
- 冯燕, 李薇, 党艳辉. ID4基因的研究进展. *中国实验诊断学 (Feng Yan, Li Wei, Dang Yanhui. Research progress of ID4 gene. Chinese Laboratory Diagnostics)* 2011; 15(7): 1227-9.
- Forrest S, Mcnamara C. Id family of transcription factors and vascular lesion formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2004; 24(11): 2014-20.
- Sharma P, Chinaranagari S, Patel D, Chaudhary J. Abstract A24: Epigenetic silencing of ID4 (inhibitor of DNA binding 4) is associated with prostate cancer. *Cancer Res* 2012; 72(4 Suppl): A24.
- Kyuson Y, Akio M, Sonia G, John R, Israel MA. ID4 regulates neural progenitor proliferation and differentiation *in vivo*. *Development* 2004; 131(21): 5441-8.
- Jeon HM, Sohn YW, oh SY, Kim SH, Beck S, Kim S, *et al.* ID4 imparts chemoresistance and cancer stemness to glioma cells by derepressing miR-9\* mediated suppression of SOX2. *Cancer Res* 2011; 71(9): 3410-21.
- Jeon HM, Kim SH, Jin X, Park JB, Kim SH, Joshi K, *et al.* Crosstalk between glioma-initiating cells and endothelial cells drives tumor progression. *Cancer Res* 2014; 74(16): 4482-92.
- Tokuzawa Y, Yagi K, Yamashita Y, Nakachi Y, Nikaido I, Bono H, *et al.* Id4, a new candidate gene for senile osteoporosis, acts as a molecular switch promoting osteoblast differentiation. *PLoS Genet* 2010; 6(7): e1001019.
- Sharma P, Chinaranagari S, Chaudhary J. Inhibitor of differentiation 4 (ID4) acts as an inhibitor of ID-1,-2 and-3 and promotes basic helix loop helix (bHLH) E47 DNA binding and transcriptional activity. *Biochimie* 2015; 112: 139-50.
- Patel D, Morton DJ, Carey J, Havrda MC, Chaudhary J. Inhibitor of differentiation 4 (ID4): From development to cancer. *Biochim Biophys Acta* 2015; 1855(1): 92-103.
- Joshi JB. Id4 and FKBP52 interaction regulates androgen receptor activity in normal prostate and prostate cancer. *Cancer Res* 2014; 74(19 Supplement): 3253.
- Oatley JM, Brinster RL. Regulation of spermatogonial stem cell self-renewal in mammals. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2008; 24: 263-86.
- Oatley MJ, Kaucher AV, Racicot KE, Oatley JM. Inhibitor of DNA binding 4 is expressed selectively by single spermatogonia in the male germline and regulates the self-renewal of spermatogonial stem cells in mice. *Biol Reprod* 2011; 85(2): 347-56.

- 22 Chan F, Oatley MJ, Kaucher AV, Yang QE, Bieberich CJ, Shashikant CS, *et al.* Functional and molecular features of the Id4 germline stem cell population in mouse testes. *Genes Dev* 2014; 28(12): 1351-62.
- 23 Kubota H, Avarbock MR, Brinster RL. Growth factors essential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101(47): 16489-94.
- 24 Sada A, Suzuki A, Suzuki H, Saga Y. The RNA-binding protein NANOS2 is required to maintain murine spermatogonial stem cells. *Science* 2009; 325(5946): 1394-8.
- 25 Best SA, Hutt KJ, Fu NY, Vaillant F, Liew SH, Hartley L, *et al.* Dual roles for Id4 in the regulation of estrogen signaling in the mammary gland and ovary. *Development* 2014; 141(16): 3159-64.
- 26 Best SA, Fu NY, Vaillant F, Lindeman GJ, Visvader JE. Abstract A035: Role of the transcription factor Id4 in the developing mammary gland. *Mol Cancer Res* 2013; 11(10 Suppl): A035.
- 27 Vinarskaja A, Goering W, Ingenwerth M, Schulz WA. ID4 is frequently downregulated and partially hypermethylated in prostate cancer. *World J Urol* 2012; 30(3): 319-25.
- 28 Patel D, Morton DJ, Korang YM, Gorantla Y, Bhosle S, Nagappan P, *et al.* Inducible overexpression of bHLH transcriptional regulator Id4 abrogates tumorigenicity of prostate cancer xenografts. *Cancer Res* 2015; 75(15 Suppl): 1235.