

• 论 著 •

CBX4 和 NET-1 在原发性直肠癌中的表达变化及临床意义*

王 凡¹, 王明辉², 王建勋³, 张四新^{4△}

1. 唐山市协和医院普外科, 河北唐山 063000; 2. 唐山市中医医院普外科, 河北唐山 063000; 3. 安国市医院普外科, 河北安国 071200; 4. 解放军陆军第 82 集团军医院普外科, 河北保定 071000

摘 要:目的 探究染色盒同源物 4(CBX4)和新四极体-1(NET-1)在原发性直肠癌中的表达变化及临床意义,并对二者致癌作用的相关性进行分析。**方法** 选取唐山市协和医院 2013 年 4 月至 2015 年 7 月收治的 50 例原发性直肠癌患者为研究对象,收集其癌组织及癌旁正常直肠组织,采用免疫组织化学法检测 CBX4 和 NET-1 在组织中的表达水平,并分析 CBX4 和 NET-1 阳性表达与患者临床病理特征的关系。采用 Spearman 分析二者在原发性直肠癌组织中表达水平的相关性;采用 Kaplan-Meier 分析二者表达情况与原发性直肠癌患者生存率的关系;采用多因素 Logistic 回归分析影响患者预后的危险因素。**结果** 原发性直肠癌患者癌组织中 CBX4 和 NET-1 阳性表达率分别为 74.00%、68.00%,明显高于癌旁正常组织的 28.00%、24.00%,差异均有统计学意义($P<0.05$)。原发性直肠癌组织中的 CBX4 和 NET-1 表达水平在不同性别、年龄、吸烟、饮酒及肿瘤最大径的患者之间比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),而在不同 TNM 分期、有无淋巴结转移、不同分化程度、有无浆膜浸润患者之间比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。CBX4 和 NET-1 在原发性直肠癌组织中的表达水平呈正相关($r=0.647, P<0.05$)。术后随访发现患者 5 年总生存率为 32.00%(16/50),CBX4 和 NET-1 高表达患者 5 年生存率分别为 21.62%(8/37)、17.65%(6/34),明显低于 CBX4 和 NET-1 低表达患者 5 年生存率 61.54%(8/13)、62.50%(10/16),差异均有统计学意义($P<0.05$)。Logistic 回归分析表明,TNM 分期(Ⅲ~Ⅳ期)、淋巴结转移及 CBX4、NET-1 表达水平都是影响原发性直肠癌患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** CBX4 和 NET-1 在原发性直肠癌组织中阳性表达率明显升高,与患者 TMN 分期、淋巴结转移、分化程度、浆膜浸润相关,且二者在直肠癌组织中的表达水平呈正相关,可能成为评价原发性直肠癌患者预后的临床指标。

关键词:染色盒同源物 4; 新四极体-1; 直肠癌; 免疫组织化学法
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.19.016 **中图法分类号:**R446.8
文章编号:1673-4130(2021)19-2369-06 **文献标志码:**A

Expression and clinical significance of CBX4 and NET-1 in rectal cancer*

WANG Fan¹, WANG Minghui², WANG Jianxun³, ZHANG Sixin^{4△}

1. Department of General Surgery, Tangshan Union Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China; 2. Department of General Surgery, Tangshan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Tangshan, Hebei 063000, China; 3. Department of General Surgery, Anguo Hospital, Anguo, Hebei 071200, China; 4. Department of General Surgery, the 82nd Army Hospital of the PLA, Baoding, Hebei 071000, China

Abstract: Objective To investigate the expression changes and clinical significance of chromobox homolog 4 (CBX4) and new EST tetraspan numbered-1 (NET-1) in primary rectal cancer, and analyze the correlation between their carcinogenic effects. **Methods** From April 2013 to July 2015, a total of 50 patients with primary rectal cancer in Tangshan Union Hospital were selected as the study objects, and their cancer tissues

* 基金项目:河北省医学科学研究课题计划项目(20191663);保定市科技计划项目(1951ZF104)。
作者简介:王凡,男,主治医师,主要从事直肠癌诊治方向的研究。△ 通信作者, E-mail: zhsx0825@163.com。
本文引用格式:王凡,王明辉,王建勋,等. CBX4 和 NET-1 在原发性直肠癌中的表达变化及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42 (19): 2369-2374.

and normal rectal tissues beside the cancer were collected, the expression levels of CBX4 and NET-1 were detected by immunohistochemistry, the relationships between the positive expressions of CBX4, NET-1 and the clinicopathological characteristics of the patients were analyzed. Spearman was used to analyze the correlation between the expression level of the two in rectal cancer. Kaplan-Meier was used to analyze the relationships between their expressions and survival rate of patients with primary rectal cancer. Multivariate Logistic regression was used to analyze the risk factors affecting the prognosis of patients. **Results** The positive expression rates of CBX4 and NET-1 were 74.00% and 68.00%, respectively, which were significantly higher than 28.00% and 24.00% of the adjacent tissues ($P < 0.05$). The differences on expression levels of CBX4 and NET-1 in primary rectal cancer were not statistically significant in patients with different gender, age, smoking, drinking and tumor diameter ($P > 0.05$), but were statistically significant in patients with different TNM stage, lymph node metastasis, differentiation degree and serous infiltration ($P < 0.05$). There was a positive correlation between CBX4 and NET-1 in primary rectal cancer tissues ($r = 0.647, P < 0.05$). The 5-year overall survival rate of all patients was 32.00% (16/50), the 5-year survival rates of patients with high expression of CBX4 and NET-1 were 21.62% (8/37) and 17.65% (6/34), which were significantly lower than those of patients with low expression of CBX4 and NET-1, and their 5-year survival rates were 61.54% (8/13) and 62.50% (10/16) respectively ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that TNM stage (III – IV stage), lymph node metastasis and high expressions of CBX4 and NET-1 were independent risk factors for prognosis of primary rectal cancer patients ($P < 0.05$). **Conclusion** The positive expression rates of CBX4 and NET-1 in primary rectal cancer are significantly increased, which are related to TMN stage, lymph node metastasis, differentiation degree and serous infiltration, and the expression levels of CBX4 and NET-1 in rectal cancer tissue are positively correlated, which may become clinical indexes to evaluate the prognosis of rectal cancer patients.

Key words: chromobox homolog 4; new EST tetraspan numbered-1; rectal cancer; immunohistochemistry

直肠癌是临床常见的消化系统恶性肿瘤,发病率和病死率均居中国恶性肿瘤第 5 位。据相关研究统计,中国每年新增结直肠癌病例数约 37 万,其中死亡例数高达 19.1 万,该病严重危害人们的身体健康^[1-2]。因早期直肠癌临床症状不明显,容易导致多数患者未能及时诊治,确诊时往往已发展至中晚期,且易复发,预后差,治疗过程非常痛苦^[3]。流行病学调查显示,中国结直肠癌患者 5 年生存率仅为 32%,远低于美国水平(64%)^[4],因而深入探究与结直肠癌发生、发展相关的分子标志物,对疾病的早期确诊、及时治疗 and 预后改善具有重要价值。染色盒同源物 4 (CBX4)属于 PcG 蛋白家族的成员,最初被证实具有 E3 连接酶活性,参与染色质重组与转录抑制,近来有研究发现,其还与癌症的侵袭与迁移相关^[5],但当前少有研究探讨 CBX4 与肿瘤的关系。新四极体-1 (NET-1)是新发现的一种肿瘤基因,与肿瘤细胞的分裂增殖、浸润迁移有关^[6],而其在直肠癌中的研究很少见。因此,本研究通过测定直肠癌组织中 CBX4 和 NET-1 表达水平,分析其与患者临床病理参数及预后

的关系,并对二者致癌作用的相关性进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取唐山市协和医院在 2013 年 4 月至 2015 年 7 月收治的行手术切除的原发性直肠癌患者 50 例,手术过程中留取所有患者癌组织和癌旁正常直肠组织,其中男 28 例,女 22 例;年龄 37~75 岁,平均(55.22±8.14)岁;37~60 岁有 32 例,>60~75 岁有 18 例;吸烟 27 例,不吸烟 23 例;饮酒 25 例,不饮酒 25 例;TNM 分期^[7]: I + II 期 16 例,III + IV 期 34 例;淋巴结转移 28 例,无淋巴结转移 22 例;分化程度:高、中分化 35 例,低、无分化 15 例;肿瘤最大径:≥5 cm 29 例,<5 cm 21 例;浆膜浸润 36 例,非浆膜浸润 14 例。本研究经唐山市协和医院伦理委员会批准。所有患者及其家属均支持本研究,并签署知情同意书。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)经临床病理学诊断并确诊为原发性直肠癌;(2)临床病理资料完整、详细;(3)行该手术前未接受任何针对性治疗。排除标准:(1)合并有其他恶性肿瘤;(2)合并有其他对患

者生存期有影响的疾病;(3)病理资料缺失;(4)精神障碍,无法完成术后随访。

1.3 仪器与试剂 兔抗人 CBX4 抗体(生产批号:FNab01331)、兔抗人 NET-1 抗体(生产批号:FNab05665)、兔抗人二抗(生产批号:FNab00119)均购自武汉菲恩生物科技有限公司;免疫组织化学染色试剂盒(生产批号:YDJ4123)购自上海羽朵生物科技有限公司。生物显微镜(型号:BS200)购自北京佳源兴业科技有限公司;轮转式切片机(型号:SPCC-315)购自东莞市谱标实验器材科技有限公司。

1.4 直肠癌组织及癌旁正常直肠组织中 CBX4 和 NET-1 水平检测 采用免疫组织化学法测定 CBX4 和 NET-1 在原发性直肠癌组织及癌旁正常组织中表达水平,由同一病理科医生独立完成所有病理标本的检测。常规制作相应石蜡标本,约 4.0 μm 薄片,60℃烘干后依次用二甲苯及梯度乙醇脱蜡,3%过氧化氢灭活后修复组织抗原,滴加 CBX4 或 NET-1 单克隆抗体孵育过夜,滴加二抗,37℃孵育 10 min,滴加链霉素抗生物素蛋白-过氧化物,滴加配制的 DAB 显色剂进行显色后,用苏木素复染,梯度乙醇常规洗脱脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,显微镜下观察拍照。用试剂盒提供的阳性病理切片作为阳性对照,磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。实验结果均由 1 名实验人员和 2 名专业医师根据评分标准^[8]独立判断评定,若结果不同,经讨论后共同决定。着色深度评定:CBX4 和 NET-1 阳性表达为细胞质及细胞膜中出现棕黄色或棕褐色颗粒。阳性表达强度依据阳性着色深度进行评分:样品无染色记为 0 分,浅黄色记为 1 分,棕黄色记为 2 分,棕褐色记为 3 分。随机选取 8 个高倍视野(×400),按照着色细胞相对水平(即所占百分比)评分:<5%记为 0 分,5%~25%记为 1 分,>25%~50%记为 2 分,>50%~75%记为 3 分,>75%记为 4 分。根据二者乘积(着色深度评分×着色细胞相对含量)大小评定结果:0~3 分为阴性(-),>3~12 分为阳性(+)。其中阴性代表低表达,阳性代表高表达。

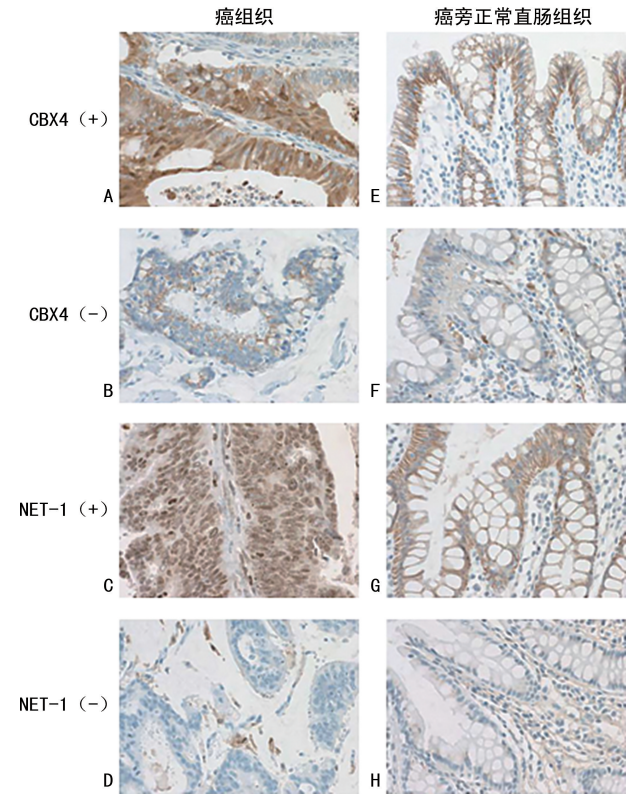
1.5 病例随访 对所有原发性直肠癌患者进行常规随访,随访时间为 0~60 个月,平均(38.96±9.75)个月。随访以电话、复查的形式进行,1 次/月。随访截止时间为 2020 年 7 月 31 日,死亡患者以死亡日期作为随访截止时间,观察并统计随访时间内患者生存情况。本次研究随访率为 100%,所有患者无一缺访。

1.6 统计学处理 采用 SPSS24.0 软件对数据进行处理和分析,计数资料以频数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用

t 检验。采用 Spearman 分析 CBX4 和 NET-1 之间的相关性,采用 Kaplan-Meier 对患者 5 年生存时间绘制生存曲线,采用 Log-rank 检验比较生存差异;对影响原发性直肠癌患者预后的相关危险因素进行 Logistic 回归分析。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CBX4 和 NET-1 在原发性直肠癌患者癌组织及癌旁正常直肠组织中 CBX4 和 NET-1 阳性表达水平比较 原发性直肠癌患者癌组织中 CBX4 阳性表达率为 74.00%,明显高于癌旁组织的 28.00%,差异有统计学意义($P<0.05$);NET-1 阳性表达率为 68.00%,明显高于癌旁正常组织的 24.00%,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 1、表 1。



注:A 为直肠癌组织 CBX4 阳性;B 为直肠癌组织 CBX4 阴性;C 为直肠癌组织 NET-1 阳性;D 为直肠癌组织 NET-1 阴性;E 为癌旁正常直肠组织 CBX4 阳性;F 为癌旁正常直肠组织 CBX4 阴性;G 为癌旁正常直肠组织 NET-1 阳性;H 为癌旁正常直肠组织 NET-1 阴性。

图 1 CBX4、NET-1 在直肠癌及癌旁正常组织中的表达(免疫组织化学染色,×400)

表 1 原发性直肠癌患者癌组织及癌旁正常直肠组织中 CBX4 和 NET-1 阳性率比较[n(%)]			
组别	n	CBX4	NET-1
癌组织	50	37(74.00)	34(68.00)
癌旁正常组织	50	14(28.00)	12(24.00)
χ^2		21.168	19.485
P		<0.001	<0.001

2.2 CBX4 和 NET-1 表达水平与直肠癌患者临床病理特征的关系 原发性直肠癌组织中的 CBX4 和 NET-1 表达水平在不同性别、年龄、吸烟、饮酒及肿瘤最大径的患者之间比较,差异无统计学意义($P >$

0.05);而在不同 TNM 分期、不同淋巴结转移情况、不同分化程度、有无浆膜浸润患者之间比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 CBX4 和 NET-1 表达水平与直肠癌患者临床病理特征的关系[n(%)]

临床病理特征	n	CBX4			NET-1		
		阳性(n=37)	χ^2	P	阳性(n=34)	χ^2	P
性别			0.219	0.640		0.001	0.981
男	28	20(71.43)			19(67.86)		
女	22	17(77.27)			15(68.18)		
年龄(岁)			0.786	0.375		0.613	0.434
37~60	32	25(78.13)			23(71.88)		
>60~75	18	12(66.67)			11(61.11)		
吸烟			0.000	0.990		0.684	0.408
无	23	17(73.91)			17(73.91)		
有	27	20(74.07)			17(62.96)		
饮酒			0.104	0.747		1.471	0.225
无	25	19(76.00)			19(76.00)		
有	25	18(72.00)			15(60.00)		
TNM 分期			16.293	<0.001		10.059	0.002
I+II 期	16	6(37.50)			6(37.50)		
III+IV 期	34	31(91.18)			28(82.35)		
淋巴结转移			16.638	<0.001		18.070	<0.001
无	22	10(45.45)			8(36.36)		
有	28	27(96.43)			26(92.86)		
分化程度			8.321	0.004		11.835	0.001
高、中分化	35	30(85.71)			29(82.86)		
低、无分化	15	7(46.67)			5(33.33)		
肿瘤最大径(cm)			0.124	0.724		1.116	0.291
≥5	29	22(75.86)			18(62.07)		
<5	21	15(71.43)			16(76.19)		
浆膜浸润			14.814	<0.001		13.892	<0.001
无	14	5(35.71)			4(28.57)		
有	36	32(88.89)			30(83.33)		

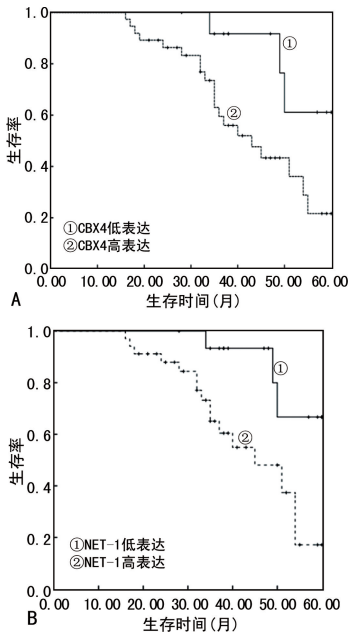
2.3 直肠癌组织中 CBX4 和 NET-1 表达的相关性分析 Spearman 相关性分析结果显示,直肠癌组织中 CBX4 表达水平与 NET-1 表达水平呈正相关($r = 0.647, P < 0.05$)。

2.4 CBX4 和 NET-1 表达情况与原发性直肠癌患者生存率的关系 对 50 例患者进行为期 5 年随访,存活 16 例,死亡 34 例,总生存率 32.00%(16/50)。其中 CBX4 高表达患者 5 年生存率[21.62%(8/37)]明显低于 CBX4 低表达患者 5 年生存率[61.54%

(8/13)],差异有统计学意义($\chi^2 = 7.044, P = 0.008$);NET-1 高表达患者 5 年生存率[17.65%(6/34)]明显低于 NET-1 低表达患者 5 年生存率[62.50%(10/16)],差异有统计学意义($\chi^2 = 10.059, P = 0.002$)。见图 2。

2.5 影响原发性直肠癌患者预后危险因素的 Logistic 回归分析 以原发性直肠癌患者手术后随访 5 年的生存结局为因变量(1=存活,0=死亡),TNM 分期、淋巴结转移、分化程度、浆膜浸润及 CBX4、NET-1 表达水平为自变量,Logistic 分析结果显示,TNM 分

期(Ⅲ+Ⅳ期)、淋巴结转移及 CBX4、NET-1 高表达都是影响原发性直肠癌患者预后的因素($P<0.05$)。见表 3。



注:A 为 CBX4 表达情况与原发性直肠癌患者生存率的关系;B 为 NET-1 表达情况与原发性直肠癌患者生存率的关系。

图 2 CBX4 和 NET-1 表达情况与原发性直肠癌患者生存率的关系

表 3 影响原发性直肠癌患者预后危险因素的 Logistic 回归分析结果						
因素	回归系数	标准误	OR	95%CI	P	Wald
TNM 分期 (Ⅲ+Ⅳ期)	0.682	0.151	1.977	1.314~2.976	<0.001	20.399
淋巴结转移	0.720	0.172	2.055	1.403~3.011	0.001	17.523
分化程度 (高、中分化)	-0.085	0.210	0.919	0.514~1.642	0.357	0.164
浆膜浸润	-0.008	0.132	0.992	0.378~2.603	0.841	0.004
CBX4 高表达	0.710	0.119	2.034	1.274~3.248	<0.001	35.598
NET-1 高表达	0.777	0.214	2.175	1.509~3.134	0.002	13.183

3 讨 论

直肠癌是一种原发于直肠黏膜的恶性肿瘤,属于常见的潜在致死性疾病,该疾病高发人群为 40 岁以上男性,发病早期症状不明显,随着病情发展,临床主要表现为腹痛、腹部肿块、肠梗阻、低热、乏力等,极大降低了患者的生活质量。临床治疗直肠癌常以手术为主,但因其位置深入盆腔、解剖关系较复杂,致使手术难度增大,术后预后差且易复发,生存率低^[9-10]。因此,临床上寻找能有效预测直肠癌患者预后的指标尤为重要,以便对患者提前干预,进而改善预后,降低癌症复发,延长生存期,提高生存率。

PcG 蛋白是一类在调节细胞周期、DNA 修复及细胞分化、衰老、死亡中具有重要作用的蛋白,在哺乳动物中主要由 PcG 蛋白复合体 1(PRC1)和 PRC2 组成^[11-13]。CBX4 属于 PRC1 核心成员之一,可通过增强低氧诱导血管内皮生长因子的表达和促进血管的生成,增加原发性肝细胞癌的侵袭和转移^[14]。陈鹏等^[15]在研究 microRNA-195 通过抑制 CBX4 在肝癌中的作用时发现,CBX4 在肝癌中的过度表达可恢复癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力,促进肿瘤的生长。上述结果均提示,CBX4 在原发性肝细胞癌中表达水平升高。宋秀道等^[16]研究发现,CBX4 与肝癌患者组织学分级、肿瘤转移分期、微血管密度、远处转移及血行转移有关,且是影响肝癌患者预后的独立因素,提示 CBX4 有可能成为判断肿瘤患者预后的分子标志物。NET-1 与肿瘤的表达有关,属于四聚体超家族的成员之一,其广泛参与多种恶性肿瘤的发生、发展。有研究表明,NET-1 在多种恶性肿瘤中(如胃癌、肺癌、肝癌、乳腺癌等)表达水平明显升高^[17-19]。杨永江等^[20]探讨了 NET-1 在结肠癌中的表达水平、临床意义和预后分析,结果显示,NET-1 蛋白在结肠癌组织中的阳性表达率明显高于癌旁正常组织,且其与肿瘤的 TNM 分期、脉管浸润、淋巴结转移及肝转移等病理参数密切相关;NET-1 阳性组的中位生存时间明显短于阴性组,并且其表达水平与结肠癌患者的预后相关,以上结果提示 NET-1 的异常表达在结肠癌病变的发生、发展中具有重要作用,并与患者的生存期有关,是结肠癌潜在的生物学指标。

本研究中原发性直肠癌组织中 CBX4 和 NET-1 阳性表达率均明显高于癌旁组织(74.00%、68.00% vs. 28.00%、24.00%),说明在直肠癌组织中 CBX4 和 NET-1 表达上调,同郭飞等^[4]结果显示 NET-1 在直肠癌中呈高表达相一致,提示二者与原发性直肠癌有关。研究进一步分析发现,原发性直肠癌组织中的 CBX4 和 NET-1 表达水平在不同性别、年龄、不同吸烟、饮酒情况及不同肿瘤最大径的患者之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而在不同 TNM 分期、不同淋巴结转移情况、不同分化程度、不同浆膜浸润情况患者之间,差异有统计学意义($P<0.05$)。提示 CBX4 和 NET-1 二者可能通过某种作用机制参与原发性直肠癌的发生、发展进程,但针对其具体机制仍有待后期深入探究,进而为临床诊治予以科学依据支持。相关性分析显示,CBX4 和 NET-1 表达水平在直肠癌组织中呈正相关,也推测二者可能在疾病中具有协同作用,影响淋巴结转移或肿瘤细胞增殖、迁移等,因此也提示临床可将二者联合检测,提高诊治准确

性;另外,术后随访发现,CBX4 和 NET-1 高表达直肠癌患者 5 年生存率均明显低于 CBX4 和 NET-1 低表达患者,提示二者呈高表达患者预后差,2 项指标可能成为评价患者预后的有效指标。Logistic 分析显示,TNM 分期、淋巴结转移及 CBX4、NET-1 高表达都是影响直肠癌患者预后的因素,提示 CBX4 和 NET-1 高表达患者应进行定期检查,及时发现、治疗,降低预后不良的风险。本研究也受随访时间、样本量少等因素限制,选取病例时间较早,结果存在一定不足,仍需大样本、前瞻性研究进一步验证结果。

综上所述,CBX4 和 NET-1 在直肠癌组织中阳性表达率明显升高,与患者 TNM 分期、淋巴结转移、分化程度、浆膜浸润有关,且二者呈正相关,与生存率相关,影响患者预后,可能作为评价直肠癌患者预后的临床指标。

参考文献

[1] 付卫,黄坤蓉,付敏,等. CD73 在结直肠癌组织中的表达及其与临床病理参数的关系[J]. 现代肿瘤医学,2019,27(10):1753-1757.

[2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 中国结直肠癌诊疗规范(2020 版)[J]. 中华消化外科杂志,2020,19(6):563-588.

[3] NIKOLIC A, WATERS P S, PEACOCK O, et al. Hybrid abdominal robotic approach with conventional transanal total mesorectal excision (TaTME) for rectal cancer: feasibility and outcomes from a single institution[J]. J Robot Surg, 2020, 14(4): 633-641.

[4] 郭飞,林杨,张鹏程,等. 结直肠癌组织中 CEACAM-1、NET-1 的表达变化及其意义[J]. 山东医药,2018,58(23):48-50.

[5] ZHAO J, YANG T, LI L. LncRNA FOXP4-AS1 is involved in cervical cancer progression via regulating miR-136-5p/CBX4 axis[J]. Onco Targets Ther, 2020, 13(1): 2347-2355.

[6] 王少青,张玉萍,许枫,等. HDGF、NET-1、HDAC1 在肺癌患者肺癌组织中的表达及临床意义[J]. 癌症进展,2019,17(7):843-846.

[7] KANARAJAH S K, KIRAN R P, TEKKIS P, et al. Suitability of TNM staging for rectal cancer treated with neoadjuvant radiotherapy and major resection[J]. Int J Surg, 2017, 47(1): S30-S31.

[8] 檀祝利,余海,丁西平. ERp29 在结直肠癌中的表达及其临床意义[J]. 安徽医科大学学报,2018,53(1):123-126.

[9] NITTA T, TANAKA K, KATAOKA J, et al. Ultimate

stomaless technique of Two-Stage operation for lower rectal cancer performed on a patient with a high body mass index: the reborn operation (novel Pull-Through method)[J]. Case Rep Gastroenterol, 2020, 14(1): 248-254.

[10] YANG J, CHEN Q, LI J, et al. Short-term clinical and oncological outcome of prolonging operation interval after neoadjuvant chemoradiotherapy for locally advanced middle and low rectal cancer[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12(1): 2315-2325.

[11] DESAI D, PETHE P. Polycomb repressive complex 1: Regulators of neurogenesis from embryonic to adult stage[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(5): 4031-4045.

[12] ISSHIKI Y, NAKAJIMA-TAKAGI Y, OSHIMA M, et al. KDM2B in polycomb repressive complex 1. 1 functions as a tumor suppressor in the initiation of T-cell leukemogenesis[J]. Blood Adv, 2019, 3(17): 2537-2549.

[13] BU H, LI Y, JIN C, et al. Overexpression of PRC1 indicates a poor prognosis in ovarian cancer[J]. Int J Oncol, 2020, 56(3): 685-696.

[14] TAN C, BEI C, ZHU X, et al. Single nucleotide polymorphisms of CBX4 and CBX7 decrease the risk of hepatocellular carcinoma[J]. Biomed Res Int, 2019, 7(4): 6436825-6436833.

[15] 陈鹏,崔锐,梁鸿飞,等. miR-195 靶向 TLR4 并阻断 NF- κ B 通路抑制肝癌细胞 HepG2 增殖和转移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2019,26(5):550-556.

[16] 宋秀道,马锦. 基于生物信息学分析 miRNA-195-5p 在肝癌中的表达及其临床意义[J]. 生命科学研究,2019,23(2):100-107.

[17] 欧阳德亮,刘龙飞,王丽萍,等. miR-199a-3p 通过上调 NET1 表达促进胃癌细胞增殖[J]. 中国免疫学杂志,2019,35(18):2238-2242.

[18] SUN X, WANG M, ZHANG F, et al. Inhibition of NET-1 suppresses proliferation and promotes apoptosis of hepatocellular carcinoma cells by activating the PI3K/AKT signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2019, 17(3): 2334-2340.

[19] WU B, LIANG X, JING H, et al. Effect of NET-1 siRNA conjugated sub-micron bubble complex combined with low-frequency ultrasound exposure in gene transfection [J]. Oncotarget, 2018, 9(3): 4150-4160.

[20] 杨永江,武雪亮,屈明,等. NET-1 在结肠癌中的表达、临床意义和预后分析[J]. 安徽医科大学学报,2019,54(6): 963-967.