

• 论 著 •

环状 RNA circCDYL 对肝细胞癌迁移和侵袭的影响

王海雨, 王 然[△]

南京医科大学附属淮安第一医院医学检验中心, 江苏淮安 223001

摘要:目的 探讨环状 RNA circCDYL 对肝细胞癌(HCC)发生和发展的影响。方法 对 cDNA 芯片(包括 90 对 HCC 组织和癌旁组织)进行实时荧光定量 PCR(qPCR)检测,比较 HCC 组织与癌旁组织中 circCDYL 的表达差异,同时分析 HCC 组织中 circCDYL 表达与患者临床资料和预后的关系。构建敲减 circCDYL 表达的 HCC 细胞株 HepG2,测定其体外细胞学功能。结果 HCC 组织中 circCDYL 相对表达水平高于癌旁组织,差异有统计学意义($P < 0.05$),而且与患者乙型肝炎表面抗原(HBsAg)状态、血管浸润、肝硬化结节个数、淋巴结转移、TNM 分期、复发情况、PD-L1 和 CTLA-4 状态有关联($P < 0.05$),与患者性别、年龄、肿瘤最大径及血清 AFP 水平等均无关联($P > 0.05$)。体外细胞实验敲减 circCDYL 后,HCC 细胞株 HepG2 迁移和侵袭能力均下降,差异有统计学意义($P < 0.05$)。在 TNM I ~ III 期(作为一个整体)及 I、II 期 HCC 患者中,circCDYL 高表达患者总体生存率和无复发生存率均明显低于低表达患者($P < 0.05$)。组织中 circCDYL 的高表达是 HCC 患者不良预后的独立危险因素($HR = 22.712, P < 0.05$)。结论 circCDYL 可能促进了 HCC 细胞的迁移和侵袭,其高表达提示 HCC 患者预后不良。

关键词:肝细胞癌; circCDYL; 淋巴结转移; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.07.013

中图法分类号:R446.8

文章编号:1673-4130(2022)07-0827-05

文献标志码:A

Effect of circular RNA circCDYL on migration and invasion of hepatocellular carcinoma

WANG Haiyu, WANG Ran[△]

Department of Medical Laboratory Center, Huai'an First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Huai'an, Jiangsu 223301, China

Abstract: Objective To explore the influence of circular RNA circCDYL on the occurrence and development of hepatocellular carcinoma(HCC). **Methods** The cDNA chips(including 90 pairs of HCC tissues and adjacent tissues) analysis were performed by using real-time fluorescence quantitative PCR(qPCR). The circCDYL expression levels were compared between HCC tissues and adjacent tissues, and the relationship between circCDYL expression in HCC tissues and clinical data or prognosis were analyzed. Its in vitro cytological functions were determined after circCDYL was knocked down in HCC cell line. **Results** The relative expression of circCDYL in HCC tissues was higher than that in adjacent tissues($P < 0.05$). CircCDYL expression was related to HBsAg status, vascular infiltration, number of cirrhotic nodules, lymph node metastasis, TNM staging, recurrence, PD-L1 and CTLA-4 status($P < 0.05$), but was not related to gender, age, tumor diameter and serum AFP value. After circCDYL was knocked down in HCC cell line HepG2, the migration and invasion ability were decreased in in vitro cell experiments($P < 0.05$), and the overall survival rate and recurrence-free survival rate of the patients in TNM I - III stage(as a whole) or I, II stage with high circCDYL expression were lower than those of patients with low circCDYL expression($P < 0.05$). High expression of circCDYL in HCC tissue was an independent risk factor for poor prognosis($HR = 22.712, P < 0.05$). **Conclusion** circCDYL may promote the migration and invasion of HCC cell and its high expression suggests the poor prognosis of HCC patients.

Key words: hepatocellular carcinoma; circCDYL; lymph node metastasis; prognosis

超过 90% 的人类转录体不具备蛋白质编码能力,但可以转录为非编码 RNA(ncRNA),包括微小 RNA(miRNA),长链非编码 RNA(lncRNA)和环状 RNA(circRNA)^[1]。circRNA 由前体 mRNA 反向剪接而成,具有环形共价闭合结构,对核酸外切酶的耐受性更高,因而具有更高的稳定性^[2]。研究人员已在各种

作者简介:王海雨,男,主管技师,主要从事肝细胞癌机制研究。 [△] 通信作者, E-mail: wangranjyk@163.com。

本文引用格式:王海雨,王然. 环状 RNA circCDYL 对肝细胞癌迁移和侵袭的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2022, 43(7): 827-831.

生物体中鉴定出数千种 circRNAs, 它们在许多疾病 (尤其是各类癌症) 中起到了关键作用^[3-6]。circRNA 通过与 miRNA 结合充当“miRNA 海绵”, 通过影响其对目的转录体的降解发挥间接调控的作用。转录组数据分析发现: 环状 Y 样结构域 (circCDYL) 与 RNA 结合蛋白 (RBP) 的相互作用促进膀胱癌细胞的增殖和转移, 且与患者的不良预后相关^[7-8]。目前关于 circCDYL 在肝细胞癌 (HCC) 中的作用尚未完全阐明, 故本研究探讨了 HCC 组织及癌旁组织中 circCDYL 的表达差异, 同时分析了 HCC 组织中 circCDYL 的表达与患者临床资料的关系及对预后的影响, 运用体外细胞实验验证了 circCDYL 对 HCC 迁移和侵袭能力的影响。

1 材料与方法

1.1 标本及细胞系来源 cDNA 芯片 (包括 90 对 HCC 组织和癌旁组织标本提取 RNA 后逆转录为 cDNA) 由芯超生物科技有限公司提供, 包括完整的临床/病理参数及随访资料, 手术时间从 2007 年 6 月至 2008 年 11 月, 随访截至 2012 年 3 月, 随访期间死于 HCC 的患者 32 例, 患者术前均未接受任何治疗。4 株 HCC 细胞 (HepG2、QGY-7703、MHCC97-H、SMMC-7721) 和 1 株正常肝脏上皮细胞 (LO₂) 由中科

院生物化学研究所 (上海) 提供, 细胞在含有 10% 胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 培养基、37℃、5% CO₂ 孵育箱中培养。

1.2 方法

1.2.1 circCDYL 表达水平检测 使用总 RNA 抽提试剂提取 HCC 细胞株及正常肝脏上皮细胞的 RNA, 之后逆转录为 cDNA。使用 qPCR 试剂在伯乐 T100 PCR 仪上检测细胞株和芯片中 circCDYL 表达水平。以甘油醛 3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 作为 circCDYL 的内参, 测得 circCDYL 与 GAPDH 的阈值循环数 (Ct), 运用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 公式计算 circCDYL 的相对表达量。以上检测重复 5 次。将 90 例 HCC 组织按 circCDYL 相对表达水平排序, 低于中位数定义为 circCDYL 低表达组, 高于中位数则定义为 circCDYL 高表达组。

1.2.2 细胞转染 敲减 circCDYL 的 3 条小干扰 RNA (siRNA) 由吉凯基因有限公司 (上海) 提供。将 4×10^5 个细胞均匀铺在 6 孔板中孵育, 当细胞密度达到 60%~70% 时, 转染 siRNA 和阴性对照序列, 孵育 48~72 h 后收集细胞并提取 RNA, 检测 circCDYL 的敲减效率。circCDYL、GAPDH 引物及 siRNA 寡核苷酸序列见表 1。

表 1 实验所用引物及 siRNA 寡核苷酸序列

基因	用途	正义链 (5'-3')	反义链 (5'-3')
circCDYL	引物	ACCCACTAGTGCCTCAGGTG	TGTCGTCCTCGCTGTCATA
	siRNA-1	GUUAACGGGAAAGGUUGAA	UUCAACCUUCCCGUUAACd
	siRNA-2	ACGGGAAAGGUUGAAAGGAUU	AAUCCUUAACCUUUCCTGT
	siRNA-3	GGAAAGACCACGAAUCCAA	UUGGAUUCGUGGUCUUUCC
GAPDH	引物	AGGTGAAGGTCGGAGTCAA	CGCTCCTGGAAGATGGTGA

1.2.3 细胞迁移及侵袭实验 使用无血清 DMEM 培养基调整细胞密度约 $5 \times 10^5 \sim 6 \times 10^5$ 个/mL, 吸取 300 μ L 悬液加入上层小室中 (侵袭实验在迁移实验基础上多铺一层凝胶), 加入 500 μ L 10% FBS 培养液在下层小室; 孵育 24 h, 将未通过孔筛的细胞拭去, 而将通过孔筛的细胞使用甲醛固定、结晶紫染色, 在普通光学显微镜下计数。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件进行数据处理。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用成组 *t* 检验或配对 *t* 检验。计数资料采用百分率表示, 组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法。采用 Kaplan-Meier 曲线评估 circCDYL 对 HCC 患者总体生存率和无复发生存率的影响, circCDYL 高表达组和低表达组之间生存率的差异比较采用 Log-rank 法分析。采用 Cox 比例风险模型探讨 HCC 患者不良预后的影响因素。 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HCC 组织与癌旁组织中 circCDYL 表达水平的比较 HCC 组织中 circCDYL 相对表达水平 (4.01 ± 1.63) 高于癌旁正常组织 (0.74 ± 0.21), 差异有统计学意义 (*t* = 17.37, *P* < 0.05)。

2.2 HCC 组织中 circCDYL 相对表达水平与患者临床/病理参数的关联性 HCC 组织中 circCDYL 表达与 HBsAg 状态、血管浸润、肝硬化结节个数、淋巴结转移、TNM 分期、复发情况、PD-L1 和 CTLA-4 状态有关联, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.05), 而与患者性别、年龄、肿瘤最大径及血清 AFP 水平等均无关联 (*P* > 0.05), 见表 2。

2.3 circCDYL 对 HCC 细胞系迁移和侵袭能力的影响 对 4 株 HCC 细胞 (HepG2、QGY-7703、MHCC97-H、SMMC-7721) 和 1 株正常肝脏上皮细胞 (LO₂) 中 circCDYL 表达进行检测, 结果发现 4 株 HCC 细胞中 circCDYL 相对表达水平 (4.50 ± 0.30 、

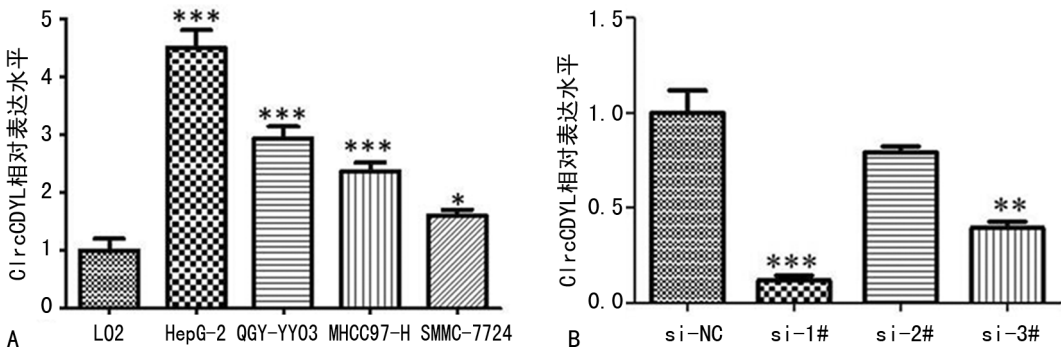
2.93±0.21、2.37±0.15、1.60±0.10)均高于正常肝脏上皮细胞(1.00±0.20),差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 1A。选取 HepG2 转染 3 个 siRNA 用以敲减 circCDYL,其中 siRNA-1 效果最显著($P<0.001$),见图 1B。选择 siRNA-1 转染的细胞进行后续迁移、侵袭实验,敲减 circCDYL 后,HepG2 细胞的迁移和侵袭能力均下降,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 2。

表 2 HCC 组织中 circCDYL 的相对表达水平与患者 临床/病理参数的关联性[n (%)]					
临床/病理参数	n	CircCDYL		χ^2	P
		低表达	高表达		
性别				2.589	0.108
男	79	37(46.8)	42(53.2)		
女	11	8(72.7)	3(27.3)		
年龄(岁)				2.166	0.141
≥60	22	8(36.4)	14(63.6)		
<60	68	37(54.4)	31(46.5)		
HBsAg				5.404	0.020
阴性	19	14(73.7)	5(26.3)		
阳性	71	31(43.7)	40(56.3)		
血管浸润				11.660	0.001
无	38	27(71.1)	11(28.9)		
有	52	18(34.6)	34(65.4)		
肿瘤最大径(cm)				2.933	0.231
≤3	23	15(65.2)	8(34.8)		
3~5	39	18(46.2)	21(53.8)		
≥5	28	12(42.9)	16(57.1)		
肝硬化结节(个)				—	0.030*
0~1	9	8(88.9)	1(11.1)		
2~3	81	37(45.7)	44(54.3)		
淋巴结转移				20.000	<0.001
无	60	40(66.7)	20(33.3)		

临床/病理参数	n	CircCDYL		χ^2	P
		低表达	高表达		
有	30	5(16.7)	25(83.3)		
TNM 分期				32.086	<0.001
I 期	63	43(68.3)	20(31.7)		
II 期	25	2(8.0)	23(92.0)		
III 期	2	0(0.0)	2(100.0)		
AFP($\mu\text{g/L}$)				0.272	0.062
<400	57	27(47.4)	30(52.6)		
≥ 400	33	17(53.1)	15(46.9)		
复发情况				33.537	<0.001
无复发	41	35(83.3)	7(16.7)		
有复发	49	11(22.4)	38(77.6)		
PD-L1				35.000	<0.001
阴性	48	38(79.2)	10(20.8)		
阳性	42	7(16.7)	35(83.3)		
CTLA-4				32.986	<0.001
阴性	51	39(95.1)	12(4.9)		
阳性	39	6(15.4)	33(84.6)		

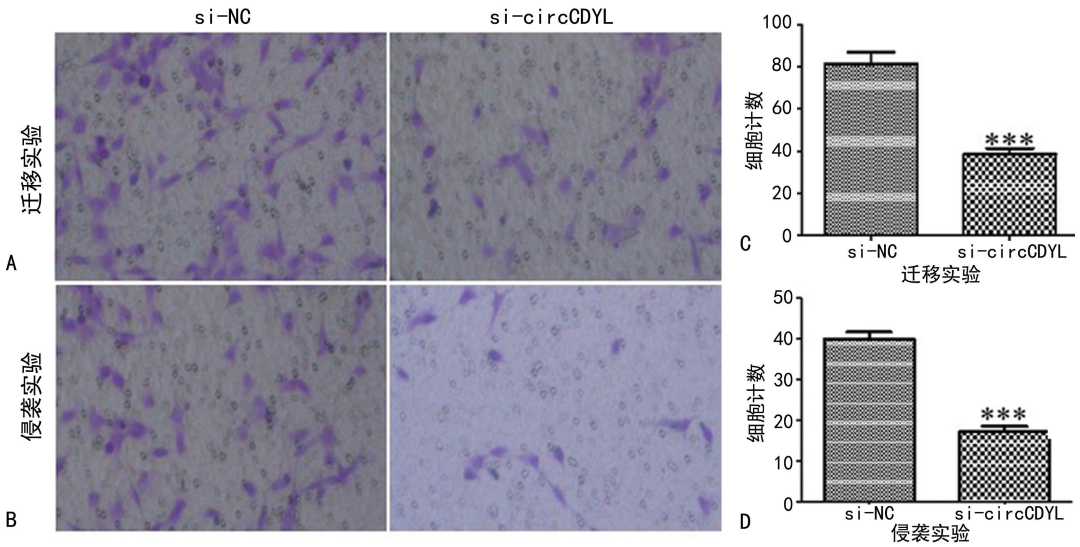
注：* 表示采用 Fisher 确切概率法；—表示该项无数据。

2.4 circCDYL 相对表达水平与 HCC 患者预后之间的关联性 经生存分析,对 TNM I~Ⅲ期(作为整体)、I 期、II 期的 HCC 患者分别进行生存分析,circ-CDYL 高表达患者总体生存率均低于低表达患者,差异具有统计学意义(Log-rank $\chi^2=52.06、30.65、15.49,P<0.05$);circCDYL 高表达患者无复发生存率均低于低表达组,差异有统计学意义(Log-rank $\chi^2=38.24、28.13、7.63,P<0.05$);见图 3。Cox 比例风险模型探讨影响 HCC 患者不良预后的暴露因素,发现 circCDYL 高表达是 HCC 患者不良预后的独立危险因素($HR=22.712,P<0.05$),见表 3。



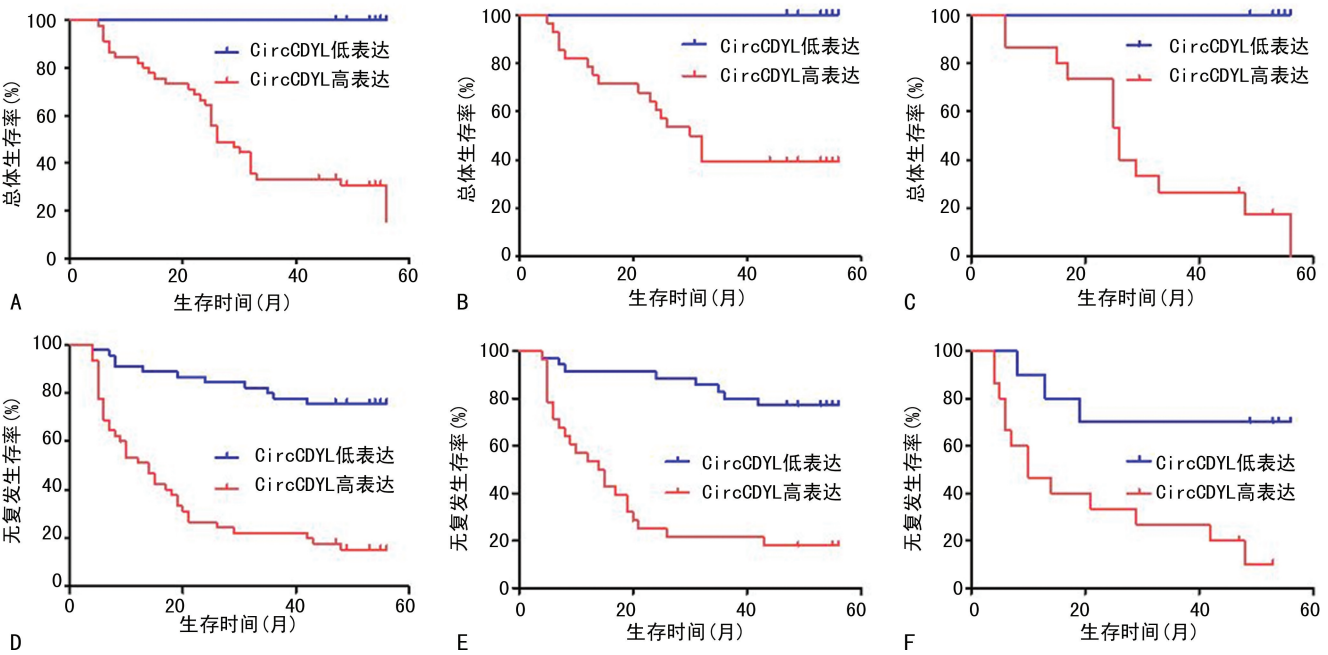
注:A 为 4 种 HCC 细胞与正常肝脏上皮细胞(LO₂)中 circCDYL 相对表达水平比较;B 为 HepG2 细胞系转染 siRNA 后敲减效果的比较;*** 表示 $P<0.001$,** 表示 $P<0.01$,* 表示 $P<0.05$ 。

图 1 HCC 细胞和正常肝脏上皮细胞中 circCDYL 相对表达水平及敲减效果比较



注:A、C 表示 HepG2 细胞转染 siRNA-1 后迁移能力明显下降;B、D 表示 HepG2 细胞转染 siRNA-1 后侵袭能力明显下降;*** 表示 $P < 0.001$;si-NC 为对照;si-circCDYL 为采用 siRNA-1 敲减 circCDYL;放大倍数为 100。

图 2 体外细胞实验敲减 circCDYL 后对 HepG2 细胞迁移和侵袭能力的影响



注:A、D 为对 80 例 TNM I ~ III 期 HCC 患者进行的评估;B、E 为对 39 例 TNM II 期患者进行的评估;E、F 为对 36 例 III 期患者进行的评估。

图 3 评估 HCC 患者 circCDYL 高、低表达患者总体生存率和无复发生存率的 Kaplan-Meier 生存曲线

表 3 Cox 回归分析影响 HCC 患者预后的因素

因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	HR 95%CI	P	HR	HR 95%CI	P
性别	1.562	0.877~2.012	>0.05	—	—	—
年龄	0.404	0.001~1.211	>0.05	—	—	—
肿瘤最大径	1.895	0.567~3.412	>0.05	—	—	—
AFP	1.012	0.677~1.654	>0.05	—	—	—
HBsAg	4.342	2.356~6.987	<0.05	1.321	0.456~2.287	>0.05
血管浸润	3.112	2.177~4.554	<0.05	1.652	0.337~2.881	>0.05
TNM 分期	9.672	5.667~14.521	<0.05	1.764	0.892~2.676	>0.05
肝硬化结节	3.132	0.677~5.776	<0.05	1.878	0.134~3.589	>0.05

续表 3 影响 HCC 患者预后的暴露因素相关 Cox 回归分析

因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	HR 95%CI	P	HR	HR 95%CI	P
淋巴结转移	7. 878	4. 577~9. 978	<0. 05	2. 779	1. 343~4. 899	<0. 05
复发情况	4. 322	2. 998~5. 688	<0. 05	2. 899	2. 002~5. 676	<0. 05
CircCDYL 表达	63. 974	25. 654~88. 236	<0. 05	22. 712	12. 675~31. 564	<0. 05

注：—表示该项无数据。

3 讨 论

本研究发现,HCC 组织中 circCDYL 相对表达水平显著高于癌旁组织,这表明 circCDYL 可能参与了 HCC 的发生,其异常表达可能促进肝脏正常上皮细胞过度增殖,其长期作用会促进肿瘤形成。肿瘤细胞发生转移一般先侵袭上皮细胞基底面的附着层或微血管,再经过淋巴循环或血循环形成远处转移,因此肿瘤细胞亚型是否具有侵袭性、有无局部淋巴结转移或血管浸润对预后判断起到十分关键的作用^[9-12]。进一步分析发现:circCDYL 表达与淋巴结转移和局部血管浸润有关;体外迁移和侵袭实验验证 circCDYL 能促进 HCC 细胞的迁移和侵袭,提示 circCDYL 可能有促进肿瘤细胞发生局部侵袭及远处转移的作用,同时 circCDYL 表达水平与患者 TNM 分期及复发情况也有关。TNM 分期和复发是反映肿瘤进展的重要指标,TNM 分期越高,患者预后往往不佳^[13-14],治疗后肿瘤复发往往会导致患者的生存期大幅缩短,对患者的预后是十分不利的影响^[15-16],以上结果提示 circCDYL 与 HCC 的发展密切相关。circCDYL 的表达与 PD-L1 和 CTLA-4 呈阳性有关,PD-L1 和 CTLA-4 是肿瘤逃脱免疫监视和清除的重要分子,目前新兴肿瘤治疗的靶点多针对 PD-L1 和 CTLA-4^[17-18],提示 circCDYL 可能通过促进 PD-L1 和 CTLA-4 表达促进 HCC 发生、发展,该推论需要进一步的机制研究来验证。既往研究表明,circCDYL 具有促进套细胞淋巴瘤细胞增殖的功能^[19];但本研究发现 circCDYL 表达与肿瘤最大径无关,推测 circCDYL 与 HCC 细胞增殖无关,这种差异可能由于组织特异性造成的。

本研究针对不同 TNM 分期的 HCC 患者进行分析,发现 circCDYL 高表达者的总体生存率和无复发生存率均低于低表达者,同时多因素回归分析发现 HCC 组织中 circCDYL 高表达是促进患者不良预后的独立危险因素。以上结果提示 circCDYL 对 HCC 患者预后判断可能具有一定价值,其高表达提示 HCC 患者预后不良。

综上所述,circCDYL 在 HCC 组织中的表达水平显著高于癌旁组织,其可能促进了 HCC 细胞的迁移和侵袭,后期仍需体内实验的进一步验证。其高表达提示 HCC 患者预后不良,有望成为新的诊断和预后标志物。

参考文献

[1] VERDUCI L,STRANO S,YARDEN Y,et al. The circRNA-miRNA code:emerging implications for cancer diagnosis and treatment[J]. Molecular oncology, 2019, 13 (4):669-680.

[2] KRISTENSEN L S,ANDERSEN M S,STAGSTED L V W,et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs[J]. Nat Rev Genet, 2019, 20 (11): 675-691.

[3] DING X,YANG L,GENG X,et al. CircRNAs as potential biomarkers for the clinicopathology and prognosis of glioma patients: a meta-analysis[J]. BMC Cancer, 2020, 20 (1):1005.

[4] DING H X,XU Q,WANG B G,et al. MetaDE-based analysis of circRNA expression profiles involved in gastric cancer[J]. Dig Dis Sci, 2020, 65 (10): 2884-2895.

[5] YUAN J,GUO D,LI X,et al. Prognostic and diagnostic value of circRNA expression in colorectal carcinoma: a meta-analysis[J]. BMC Cancer, 2020, 20 (1): 448.

[6] YIN Y, LONG J, HE Q, et al. Emerging roles of circRNA in formation and progression of cancer [J]. J Cancer, 2019, 10 (21): 5015-5021.

[7] SUN J,ZHANG H,TAO D,et al. CircCDYL inhibits the expression of C-MYC to suppress cell growth and migration in bladder cancer[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47 (1): 1349-1356.

[8] OKHOLM T L H,NIELSEN M M,HAMILTON M P, et al. Circular RNA expression is abundant and correlated to aggressiveness in early-stage bladder cancer[J]. NPJ Genom Med, 2017, 2 (3): 36.

[9] JIN M,FRANKEL W L. Lymph node metastasis in colorectal cancer[J]. Surg Oncol Clin N Am, 2018, 27 (2): 401-412.

[10] MAEDA H,OKAMOTO K, OBA K, et al. Lymph node retrieval after dissolution of surrounding adipose tissue for pathological examination of colorectal cancer[J]. Oncol Lett, 2018, 15 (2): 2495-2500.

[11] REN H,WANG C F. The relationship between the index of lymph node metastasis and the prognosis of pancreatic cancer patients after R0 resection[J]. Chin J Oncol, 2020, 42 (6): 474-479.

[12] MOKDAD A A, SINGAL A G, MARRERO J A, et al. Vascular invasion and metastasis is predictive of outcome in barcelona clinic liver cancer stage C hepatocellular carcinoma[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2017, 15 (2): 197-204.

(下转第 836 页)

- zing hormone to follicle stimulating hormone ratio in patients with polycystic ovary syndrome[J]. J Ayub Med Coll Abbottabad, 2020, 32(2): 255-258.
- [2] 周晓燕, 汤美玲, 沈澍, 等. 35 岁以下妇女获卵数对外受精-胚胎移植妊娠结局的影响[J]. 蚌埠医学院学报, 2018, 43(11): 1444-1446.
 - [3] 杨静, 王祥珍, 杨建恩. 妊娠期糖尿病患者血清脂联素、趋化素、视黄醇结合蛋白 4 与胰岛素抵抗的关系[J]. 中国计划生育和妇产科, 2018, 10(7): 74-77.
 - [4] LINGAIAH S, MORIN-PAPUNEN L, PILTONEN T, et al. Serum retinol-binding protein 4 levels in polycystic ovary syndrome[J]. Endocr Connect, 2019, 8(6): 709-717.
 - [5] TIONGCO R E, RIVERA N, CLEMENTE B, et al. Serum ferritin as a candidate diagnostic biomarker of polycystic ovarian syndrome: a meta-analysis[J]. Biomarkers, 2019, 24(5): 484-491.
 - [6] Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome[J]. Fertil Steril, 2004, 81(1): 19-25.
 - [7] 李亚, 刘敬, 谢丽娟, 等. 不同扳机方式对多囊卵巢综合征高反应患者体外受精胚胎移植结局的影响[J]. 中国循证医学杂志, 2019, 19(9): 1024-1029.
 - [8] 于晓蕾, 陈新卫, 张贺, 等. 多囊卵巢综合征患者血清基质金属蛋白-9 表达研究[J]. 中国实用内科杂志, 2020, 40(1): 64-67.
 - [9] 黄惠娟, 向伟楚, 王晶, 等. 多囊卵巢综合征患者 GH、IGF-1 水平检测对预测体外受精-胚胎移植结局的价值[J]. 中国优生与遗传杂志, 2019, 27(3): 368-370.
 - [10] WANG H, ZHOU P, ZOU D, et al. The role of retinol-binding protein 4 and its relationship with sex hormones in coronary artery disease[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 506(1): 204-210.
 - [11] WANG Y S, YE J, YANG X, et al. Association of retinol binding protein-4, cystatin C, homocysteine and high-sensitivity C-reactive protein levels in patients with newly diagnosed type 2 diabetes mellitus[J]. Arch Med Sci, 2019, 15(5): 1203-1216.
 - [12] 黄晓燕, 韦柳情. 妊娠期糖尿病患者产后血清视黄醇结合蛋白 4、转化生长因子 $\beta 1$ 水平及临床意义[J]. 广西医学, 2018, 40(11): 1189-1191.
 - [13] 易建, 万幼云, 肖璟, 等. 2 型糖尿病患者血清 β -arrestin2、RBP4、FFA 水平变化及其与胰岛素抵抗的关系[J]. 山东医药, 2018, 58(20): 69-71.
 - [14] 高伟聪, 李丽, 张中华, 等. 多囊卵巢综合征合并糖尿病患者血清视黄醇结合蛋白 4、血管内皮生长因子、糖化血红蛋白水平变化与胰岛素抵抗的相关性分析[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(12): 2692-2694.
 - [15] 奚迪, 郑英霞, 刘斌, 等. 多囊卵巢综合征患者血清和卵泡液中 Adropin 水平对胚胎发育质量的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(16): 1968-1972.
 - [16] WEI J, LUO X, ZHOU S, et al. Associations between iron status and insulin resistance in Chinese children and adolescents: findings from the China Health and Nutrition Survey[J]. Asia Pac J Clin Nutr, 2019, 28(4): 819-825.
 - [17] LIU J R, LIU Y, YIN F Z, et al. Serum ferritin, an early marker of cardiovascular risk: a study in Chinese men of first-degree relatives with family history of type 2 diabetes[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2019, 19(1): 82-89.
 - [18] 冯艳, 宋新娜, 徐晓萌, 等. 妊娠期糖尿病患者铁代谢与部分应激激素及胰岛素抵抗的关系[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2018, 34(7): 563-566.
 - [19] AREGBESOLA A, DE MELLO V D F, LINDSTROM J, et al. Serum adiponectin/Ferritin ratio in relation to the risk of type 2 diabetes and insulin sensitivity[J]. Diabetes Res Clin Pract, 2018, 141(7): 264-274.
 - [20] MA H, LIN H, HU Y, et al. Serum ferritin levels are associated with insulin resistance in Chinese men and postmenopausal women: the Shanghai Changfeng study[J]. Br J Nutr, 2018, 120(8): 863-871.

(收稿日期: 2021-09-12 修回日期: 2021-12-28)

(上接第 831 页)

- [13] WANG B, GU W, WAN F, et al. Prognosis of the 8th TNM staging system for penile cancer and refinement of prognostication by incorporating high risk human papillomavirus status[J]. J Urol, 2020, 203(3): 562-569.
- [14] TANOUE L T. Lung cancer staging[J]. Clin Chest Med, 2020, 41(2): 161-174.
- [15] CISCATO A, ZARE S Y, FADARE O. The significance of recurrence in endometrial polyps: a clinicopathologic analysis[J]. Human pathology, 2020, 100(4): 38-44.
- [16] KURAHARA H, MAEMURA K, MATAKI Y, et al. Lung recurrence and its therapeutic strategy in patients with pancreatic cancer[J]. Pancreatology, 2020, 20(1): 89-94.
- [17] ZHAO Y, LEE C K, LIN C H, et al. PD-L1: CD80 cis-heterodimer triggers the co-stimulatory receptor CD28 while repressing the inhibitory PD-1 and CTLA-4 pathways[J]. Immunity, 2019, 51(6): 1059-1073.
- [18] LEE H T, LEE S H, HEO Y S. Molecular interactions of antibody drugs targeting PD-1, PD-L1, and CTLA-4 in immuno-oncology[J]. Molecules, 2019, 24(6): 1190.
- [19] MEI M, WANG Y, WANG Q, et al. CircCDYL serves as a new biomarker in mantle cell lymphoma and promotes cell proliferation[J]. Cancer Manag Res, 2019, 11(2): 10215-10221.

(收稿日期: 2021-09-12 修回日期: 2022-01-21)