

• 论 著 •

miR-637 在桥本甲状腺炎合并甲状腺乳头状癌患者组织穿刺标本中的水平变化及对甲状腺癌细胞增殖、侵袭的影响^{*}

车勇军¹, 连 蕾^{2△}, 侯 钰¹, 曹海波¹

邯郸市中心医院: 1. 普通外科; 2. 耳鼻咽喉头颈外科, 河北邯郸 056001

摘 要:目的 探讨 miR-637 在桥本甲状腺炎(HT)合并甲状腺乳头状癌(PTC)患者组织穿刺标本中的水平变化, 以及其对甲状腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。方法 收集 2019 年 6 月至 2021 年 6 月于该院治疗的 92 例 HT 患者的组织穿刺标本, 其中单纯 HT 患者 46 例(单纯 HT 组), HT 合并 PTC 患者 46 例(HT 合并 PTC 组), 采用实时定量荧光 PCR(qPCR)对两组患者组织穿刺标本的 miR-637 水平进行检测。细胞学实验: 将人甲状腺癌细胞 TPC-1 分为未转染质粒的对照组、转染阴性对照(NC)质粒的 NC 组和转染 miR-637 质粒的 miR-637 组。采用 CCK8 法检测各组细胞增殖能力, 细胞划痕实验检测各组细胞迁移能力, Transwell 实验检测各组细胞侵袭能力, Western blot 检测迁移侵袭关键蛋白基质金属蛋白酶 2(MMP2)和基质金属蛋白酶 9(MMP9)蛋白的表达水平。结果 与单纯 HT 组比较, HT 合并 PTC 组组织穿刺标本 miR-637 水平降低, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。与对照组相比, miR-637 组细胞增殖能力降低($P < 0.05$), 迁移能力和侵袭能力显著下降($P < 0.05$)。Western blot 显示: miR-637 组 MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$)。结论 miR-637 在 PTC 合并 HT 患者组织穿刺标本中水平降低, miR-637 可以抑制人甲状腺癌细胞增殖能力、迁移能力和侵袭能力, 其机制与抑制 MMP2 及 MMP9 蛋白表达相关。

关键词: miR-637; 桥本甲状腺炎; 甲状腺乳头状癌; 迁移; 侵袭; 基质金属蛋白酶

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.13.012

中图法分类号: R446.8

文章编号: 1673-4130(2022)13-1593-05

文献标志码: A

Changes in the level of miR-637 in tissue biopsy specimens of patients with Hashimoto's thyroiditis complicated with papillary thyroid carcinoma and its effects on the proliferation and invasion of thyroid cancer cells^{*}

CHE Yongjun¹, LIAN Lei^{2△}, HOU Yu¹, CAO Haibo¹

1. General Surgery; 2. Otolaryngology-Head & Neck Surgery, HanDan Central Hospital, Handan, Hebei 056001, China

Abstract: Objective To investigate the level changes of miR-637 in tissue biopsy specimens of patients with Hashimoto's thyroiditis (HT) combined with papillary thyroid carcinoma (PTC), and its effect on the proliferation, migration and invasion of thyroid cancer cells. **Methods** Tissue biopsy specimens of 92 HT patients treated in the hospital from June 2019 to June 2021 were collected, including 46 patients with only HT (simple HT group) and 46 patients with HT complicated with PTC (HT complicated with PTC group). Real-time quantitative PCR (qPCR) was used to detect the level of miR-637 in tissue biopsy specimens of the two groups of patients. Cytological experiment: human thyroid cancer cells TPC-1 were divided into control group which were without plasmid transfection, NC group transfected with negative control (NC) plasmid and miR-637 group transfected with miR-637 plasmid. The cell proliferation ability of each group was detected by CCK8 method, the migration ability of each group was detected by cell scratch assay, the invasion ability of each group was detected by Transwell assay, and the key proteins of migration and invasion, matrix metalloproteinase 2 (MMP2) and matrix metalloproteinase 9 (MMP2), were detected by Western blot. **Results** Compared with the simple HT group, the level of miR-637 in the tissue biopsy specimens of the HT complicated with PTC group decreased, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). Compared with the control group, the proliferation ability of cells in the miR-637 group was reduced ($P < 0.05$); the migration ability and invasion ability were significantly reduced ($P < 0.05$). Western blot showed that the protein expression levels

^{*} 基金项目: 河北省医学科学研究课题计划项目(20211344)。

作者简介: 车勇军, 男, 主治医师, 主要从事甲状腺疾病外科治疗的相关研究。 △ 通信作者, E-mail: xb32220@21cn.com。

of MMP2 and MMP9 in the miR-637 group significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion** The level of miR-637 decreased in tissue biopsy specimens of patients with HT complicated with PTC. MiR-637 could inhibit the proliferation, migration and invasion of human thyroid cancer cells, and its mechanism was related to the inhibition of MMP2 and MMP9 protein expression.

Key words: miR-637; Hashimoto's thyroiditis; papillary thyroid carcinoma; migration; invasion; matrix metalloproteinase

桥本甲状腺炎(HT)是一种自身免疫性甲状腺炎,又称慢性淋巴细胞性甲状腺炎;甲状腺乳头状癌(PTC)是一种恶性程度较低的甲状腺肿瘤,约占甲状腺癌的 85%,其发生会受到激素、遗传、环境等因素的影响^[1]。HT 和 PTC 之间的关系是一个有争议的问题,HT 也可能导致 PTC 的出现,但目前尚无定论,其病理过程和机制尚不清楚,因此探讨其分子机制尤为重要^[2]。微小 RNA(miRNA)是重要的表观遗传学调控分子,长度为 20~24 个核苷酸,其在细胞内具有多种重要的调节作用^[3]。临床上 miRNA 可以作为区分单纯 HT 与 HT 合并 PTC 的独立分子标志物^[4]。有研究表明 miR-637 可能受到 LncRNA HOTTIP 调控,在 PTC 细胞增殖、侵袭和迁移过程中发挥重要作用^[5],也有研究表明 miR-637/HEMGN 轴可以受到 Circ PSD3 调控促进 PTC 的进展^[6]。一项对 107 例 PTC 患者的研究表明,MMP 家族关键蛋白基质金属蛋白酶 2(MMP2)和 Caspase 家族关键蛋白 Caspase-3 表达与预后具有显著的相关性^[7],细胞学研究表明甲状腺癌细胞中 PLGF 的过表达增加了基质金属蛋白酶 9(MMP9)的表达,而抑制 PLGF 的表达降低了 MMP9 的表达,以上均提示出 MMP 家族蛋白是甲状腺癌重要的调控因子,探讨 MMP 家族与 miRNA 的调控关系有助于临床对 HT 和 PTC 机制的认识^[8]。因此,本研究将探讨 HT 合并 PTC 患者穿刺组织标本中 miR-637 的水平相较于单纯 HT 患者是否有差异,通过细胞学实验探讨 miR-637 对甲状腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用,并通过 MMP 家族蛋白检测分析其机制。

1 材料与方法

1.1 材料 收集 2019 年 6 月至 2021 年 6 月于本院治疗的 92 例 HT 患者的甲状腺组织穿刺标本,其中单纯 HT 患者 46 例(单纯 HT 组),HT 合并 PTC 患者 46 例(HT 合并 PTC 组)。两组患者年龄、性别构成比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。纳入标准:(1)患者经病理组织学检查确诊为 HT 或 HT 合并 PTC;(2)无头颈部放射治疗史;(3)癌症无远处转移;(4)临床资料详细完整。排除标准:伴有其他全身性疾病。本研究中所有患者均签署知情同意书并通过本院伦理委员会审核。收集上述患者的甲状腺/甲状腺癌组织穿刺标本用于后续实验。人甲状腺癌细胞株 TPC-1 购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库/中国科学院上海生命科学研究院细胞资源

中心。

1.2 仪器与试剂 高糖培养基 DMEM 购于美国 Corning 公司,胎牛血清和青链霉素购于澳大利亚 Ausbian 公司;10 cm 细胞培养皿、50 mL 离心管、15 mL 离心管购于美国 Corning 公司;miR-637 质粒及阴性对照(NC)质粒等购于广州 Ribobio 公司;引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。CCK8 细胞增殖及毒性检测试剂盒购于北京索莱宝公司;实时荧光定量 PCR(qPCR)仪购于瑞士罗氏公司,Western blot 电泳仪购于美国 Bio-rad 公司。

1.3 方法

1.3.1 qPCR 检测组织穿刺标本中的 miR-637 水平 将组织穿刺标本在液氮中进行研磨,采用 miRNA cDNA Synthesis Kit 进行反转录,合成 cDNA,采用 SYBR Green PCR Master Mix Kit 进行 miR-637 的 qPCR 检测,所有操作在冰上进行并避免 RNA 酶污染。使用 7500 Fast 系统进行实时荧光定量 PCR,检测条件设置:预变性 95 °C 10 min,变性 95 °C 10 s,退火 60 °C 30 s,延伸 72 °C 20 s,40 个循环。miR-637 正向引物为 5'-ACTGGGGGCTTTCGGGCTCT-GCGT-3',U6 正向引物为 5'-CTCGCTTCGGCAG-CACATATA-3',反向引物均为通用引物,使用 U6 作为内参,以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算 miR-637 相对表达水平。

1.3.2 细胞培养及转染 TPC-1 培养:DMEM 培养液(内含 10%胎牛血清、青霉素 100 μg/mL、链霉素 100 μg/mL),置 CO₂ 培养箱内,5%CO₂,37 °C 静置培养。细胞转染:用胰酶消化细胞后重选,严格按照转染试剂盒 Lipo3000(Invitrogen 公司)说明将 NC 质粒和 miR-637 质粒进行转染,8 h 后,更换为完全培养基,置于 5%CO₂ 培养箱中 37 °C 培养,48 h 后分别作为 NC 组和 miR-637 组用于后续实验^[8]。未进行转染的细胞作为对照组。

1.3.3 CCK8 法检测细胞株 TPC-1 的细胞活力 严格按照 CCK8 检测试剂盒(北京索莱宝公司)说明书进行操作;对照组细胞转染 24 h 后,细胞以 2×10^3 的密度接种到 96 孔板中,在 37 °C 下培养 24 h,向每孔加入 10 μL CCK8 溶液,此过程避免孔中生成气泡[气泡会影响吸光度(A)的读数],将培养板在培养箱内孵育 1.5 h,用酶标仪测定在 450 nm 处的 A 值。

1.3.4 细胞划痕实验 将各组状态良好的 TPC-1 细胞进行消化,调整为 1×10^6 个/mL,接种到 6 孔板,24 h 后用 10 μmL 枪头垂直划痕,划痕后用磷酸盐缓冲

液(PBS)轻轻清洗细胞 2~3 次,去除划痕后漂浮的细胞,加入无血清培养基。放入 37 ℃ 5%CO₂ 培养箱培养,24 h 后拍照(放大倍数为 200 倍)。

1.3.5 Transwell 侵袭实验 将各组状态良好的 TPC-1 细胞进行消化,吹打均匀,调节密度 10⁴~10⁵ 个/mL,吸取 0.4 mL 细胞悬液接种于 Transwell 小室,下室培养基 300 μL 含 10%FBS,将 24 孔板置于培养箱中孵育 24 h 后,严格按照 Transwell 试剂盒说明(美国 corning 公司)染色后在显微镜下观察拍照(放大倍数为 200 倍),每组细胞小室中随机选择 3 个区域进行拍照并进行定量分析^[11]。

1.3.6 Western blot 检测蛋白表达 将各组状态良好的 TPC-1 细胞置于 1 mL RIPA 蛋白裂解液冰上提取细胞总蛋白,使用 BCA 法测定蛋白浓度。加入 5×SDS 的蛋白上样缓冲液煮沸后备用。将样品分别加入不同的泳道进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,浓缩胶电压 80 V 10 min,分离胶电压 120 V 1.5 h,后转至 PVDF 膜,用 5%BSA 封闭。加入特异性一抗 MMP2(1:2 000,Abcam),MMP9(1:10 000,Abcam)和 GAPDH(1:10 000,Abcam)于 4 ℃ 冰箱过夜。TBST 洗膜 3 次,每次 5 min,加入特异性的羊抗兔二抗(1:2 000),孵育 1 h。TBST 洗膜 3 次,每次 5 min,采用 ECL 化学发光液曝光显影,使用 Photoshop 图像分析软件系统进行半定量分析。

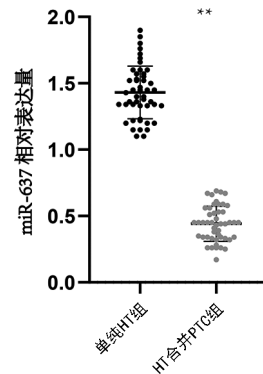
1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-637 在单纯 HT 组与 HT 合并 PTC 组患

者甲状腺/甲状腺癌组织中的表达水平比较 与单纯 HT 组相比,HT 合并 PTC 组 miR-637 表达水平显著降低(*P*<0.01)。见图 1。

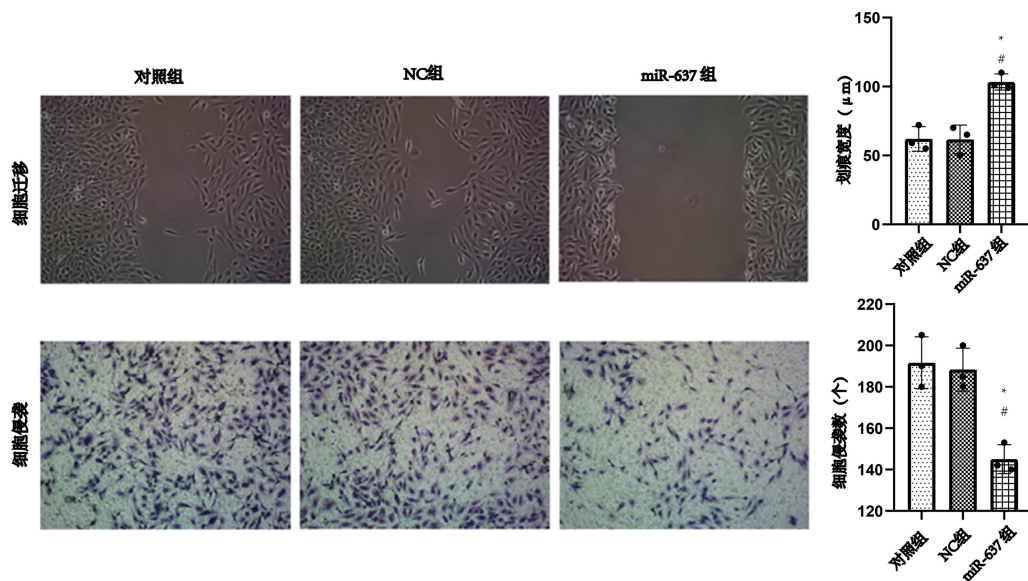
2.2 miR-637 对人甲状腺癌细胞 TPC-1 细胞活力的影响 与对照组相比,miR-637 组细胞增殖能力出现下降,具体表现为 24、48、72 h 的 A 值均低于同一时间对照组的 A 值(*P*<0.05),而 NC 组和对照组比较,差异均无统计学意义(*P*>0.05)。见表 1。



注:与单纯 HT 组比较, ** *P*<0.01。

图 1 单纯 HT 组和 HT 合并 PTC 组 miR-637 表达水平的比较

2.3 miR-637 对人甲状腺癌细胞 TPC-1 迁移和侵袭的影响 通过划痕实验分析各组细胞迁移能力,见图 2。与对照组相比,miR-637 组细胞迁移能力降低,具体表现为 miR-637 组细胞划痕宽度宽于对照组(*P*<0.05),而 NC 组和对照组比较差异无统计学意义(*P*>0.05)。通过 Transwell 实验分析细胞侵袭能力,结果表明与对照组相比,miR-637 组细胞侵袭能力降低,具体表现为 miR-637 组细胞侵袭数少于对照组(*P*<0.05),而 NC 组和对照组比较,差异无统计学意义(*P*>0.05)。



注:和对照组比较,**P*<0.05;和 NC 组比较,#*P*<0.05。

图 2 miR-637 对人甲状腺癌细胞 TPC-1 迁移和侵袭的影响

表 1miR-637 对人甲状腺癌细胞 TPC-1 细胞活力的影响($\bar{x}\pm s$, A 值)

组别	24 h	48 h	72 h
对照组	0.58±0.11	0.76±0.17	1.19±0.14
NC 组	0.57±0.14	0.79±0.12	1.21±0.22
miR-637 组	0.44±0.13* Δ	0.58±0.17* Δ	0.65±0.16* Δ

注:和对照组比较,* $P<0.05$;和 NC 组比较, $\Delta P<0.05$ 。

2.4 miR-637 对人甲状腺癌 TPC-1 细胞 MMP2 和 MMP9 蛋白表达的影响 与对照组相比,miR-637 组 MMP2 和 MMP9 蛋白表达均降低,差异有统计学意义($P<0.01$);NC 组与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 3。

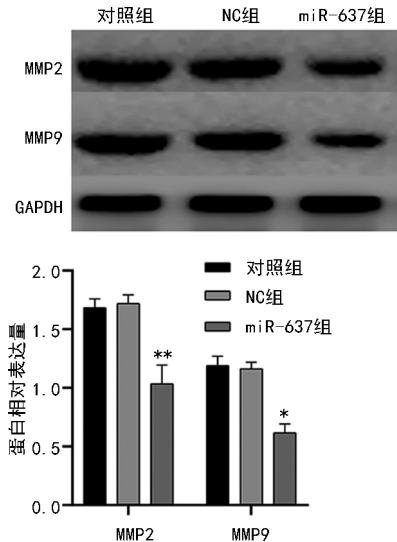


图 3miR-637 对人甲状腺癌细胞 MMP2 和 MMP9 蛋白表达的影响

3 讨 论

HT 以甲状腺特异性自身抗体为特征,是最常见的自身免疫性疾病之一[9]。虽然确切的病因尚未完全阐明,但 HT 与遗传因素、环境因素和表观遗传之间具有相关性[10]。HT 与其他组织细胞恶性转化之间的关系在既往研究中被提出,并涉及免疫系统和激素分泌水平的异常,其可能进一步引发 PTC,但仍存在争议,需要进一步深入研究[11]。PTC 是上皮性恶性肿瘤,表现为滤泡细胞分化和一系列独特的细胞核特征[12],是最常见的甲状腺肿瘤,总体预后较好,少数情况下它可能有囊性特征。大约 10% 的患者在最初表现时可能出现转移性疾病,45 岁以下的患者总体预后良好[13]。有研究发现右侧气管旁淋巴结转移(RPTLNM)、甲状腺外延伸、包膜侵犯和多灶性等因素均是 HT 合并 PTC 的风险因素[14]。本研究纳入了 92 例 HT 患者,并以是否合并 PTC 为分组标准,确认了单纯 HT 患者的组织穿刺标本中 miR-637 水平较高,而 HT 合并 PTC 患者中,miR-637 水平较低,提示 miR-637 可能成为一种鉴别诊断单纯 HT 与 HT

合并 PTC 的标志物。miR-637 是多种肿瘤、心血管等疾病的关键调控分子,研究表明 miR-637 通过靶向降解 AKT1 从而抑制肝癌细胞的增殖和侵袭,过表达 miR-637 会导致肝癌细胞增殖受到显著抑制并减弱细胞侵袭,而抑制 miR-637 表达则显示出相反的生物学效应[15];也有研究指出 miR-637 可以抑制胆管癌细胞 QBC939 的增殖,其机制与干扰组织蛋白酶 B(CTSB)表达有关[16];有临床实验通过对 86 例动脉粥样硬化患者和 75 例健康对照者的分析,发现 miR-637 可以作为动脉粥样硬化患者诊断的独立判断指标,在临床诊断及对未来心血管事件的预测中具有重要意义[17]。基于 miR-637 的重要功能及以上重要研究结果,本研究对临床标本中 miR-637 的表达差异进行了机制研究,通过 CCK8、侵袭等细胞学实验探讨了 miR-637 对甲状腺癌细胞肿瘤生物学功能的影响,结果发现 miR-637 可以显著地抑制甲状腺癌细胞的活性,并且降低了其迁移能力和侵袭能力。肿瘤转移的方式有直接蔓延和种植性转移等方式,其过程都需要破坏肿瘤周围的细胞组织,此过程伴随着基质金属蛋白酶家族成员的作用[18]。研究表明 MMP2 1306 C/T 基因多态性可能增加前列腺癌的风险,尤其是在亚洲人群中更加显著[19];而 MMP9 可以切割许多细胞外基质蛋白来调节细胞外基质重塑,可以切割许多血浆表面蛋白质,不仅与肿瘤的侵袭、转移和血管生成相关,还可以作为肿瘤诊断的独立生物标志物[20]。本研究表明 miR-637 转染后可以显著抑制 MMP2 和 MMP9 的表达,从而降低细胞降解胞外基质的能力,抑制细胞的迁移和侵袭,由此推测 miR-637 在单纯 HT 患者穿刺组织标本中的水平高于 HT 合并 PTC 的患者可能与临床表征有一定的相关性,即 miR-637 低表达后,促进了正常的甲状腺细胞的异常增殖、异常迁移与侵袭,甚至导致其具有了癌细胞的典型特征,但这是否为 HT 患者合并 PTC 的原因还有待进一步探讨。

综上所述,本研究证实 miR-637 在 HT 合并 PTC 患者穿刺组织标本中低表达,可能成为临床诊断的生物标志物,并且 miR-637 可以抑制人甲状腺癌细胞活性,降低细胞迁移能力和侵袭能力,其机制与基质金属蛋白酶表达抑制相关。未来的研究可以进一步扩大临床样本量,通过主成分分析和受试者工作特征(ROC)曲线等分析探讨 miR-637 是否可以准确诊断或预测 HT 合并 PTC,以及通过荧光报告实验探讨 miR-637 是否与基质金属蛋白酶有靶向关系,为临床诊断和治疗提供新思路。

参考文献

[1] ZHAO N, LIU X, WU C, et al. Changes in Treg numbers and activity in papillary thyroid carcinoma with and without Hashimoto's thyroiditis[J]. J Int Med Res, 2020, 48 (4):300060520919222.

- [2] GRACEFFA G, PATRONE R, VIENI S, et al. Association between Hashimoto's thyroiditis and papillary thyroid carcinoma; a retrospective analysis of 305 patients [J]. BMC Endocr Disord, 2019, 19(Suppl 1): S26.
- [3] MOHR A M, MOTT J L. Overview of microRNA biology[J]. Semin Liver Dis, 2015, 35(1): 3-11.
- [4] DORRIS E R, SMYTH P, O'LEARY J J, et al. MiR141 expression differentiates hashimoto thyroiditis from PTC and benign thyrocytes in irish archival thyroid tissues[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2012, 3(1): 102.
- [5] YUAN Q, LIU Y, FAN Y, et al. LncRNA HOTTIP promotes papillary thyroid carcinoma cell proliferation, invasion and migration by regulating miR-637[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2018, 98(1): 1-9.
- [6] WANG M, GAO Q, CHEN Y, et al. PAK4, a target of miR-9-5p, promotes cell proliferation and inhibits apoptosis in colorectal cancer[J]. Cell Mol Biol Lett, 2019, 24(1): 58.
- [7] SAFFAR H, SANII S, EMAMI B, et al. Evaluation of MMP2 and Caspase-3 expression in 107 cases of papillary thyroid carcinoma and its association with prognostic factors[J]. Pathol Res Pract, 2013, 209(3): 195-199.
- [8] HE J, SHEN N, HUANG X. Thyroid carcinoma cells produce PLGF to enhance metastasis[J]. Tumour Biol, 2015, 36(11): 8601-8607.
- [9] PENTA L, COFINI M, LANCIOTTI L, et al. Hashimoto's disease and thyroid cancer in children; are they associated[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2018, 9: 565.
- [10] LIONTIRIS M I, MAZOKOPAKIS E E. A concise review of Hashimoto thyroiditis (HT) and the importance of iodine, selenium, vitamin D and gluten on the autoimmunity and dietary management of HT patients. Points that need more investigation[J]. Hell J Nucl Med, 2017, 20(1): 51-56.
- [11] RALLI M, ANGELETTI D, FIORE M, et al. Hashimoto's thyroiditis; an update on pathogenic mechanisms, diagnostic protocols, therapeutic strategies, and potential malignant transformation [J]. Autoimmun Rev, 2020, 19(10): 102649.
- [12] VASILEIADIS I, BOUTZIOS G, KARALAKI M, et al. Papillary thyroid carcinoma of the isthmus; total thyroidectomy or isthmusectomy[J]. Am J Surg, 2018, 216(1): 135-139.
- [13] MICCOLI P, BAKKAR S. Surgical management of papillary thyroid carcinoma; an overview[J]. Updates Surg, 2017, 69(2): 145-150.
- [14] SHAO L, SUN W, ZHANG H, et al. Risk factors for right paraesophageal lymph node metastasis in papillary thyroid carcinoma; a meta-analysis[J]. Surg Oncol, 2020, 32(1): 90-98.
- [15] DU Y, WANG Y. MiR-637 inhibits proliferation and invasion of hepatoma cells by targeted degradation of AKT1[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(2): 567-575.
- [16] LI J, DING X, HAN S, et al. Mir-637 inhibits the proliferation of cholangiocarcinoma cell QBC939 through interfering CTSB expression[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(5): 1265-1276.
- [17] XU Y, ZHAO L, LIU H, et al. Diagnostic value of miR-637 in patients with atherosclerosis and its predictive significance for the future cardiovascular events[J]. Vascular, 2021, 29(5): 704-710.
- [18] WANG H L, ZHOU P Y, ZHANG Y, et al. Relationships between abnormal MMP2 expression and prognosis in gastric cancer; a meta-analysis of cohort studies[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2014, 29(4): 166-172.
- [19] ZHANG K, CHEN X, ZHOU J, et al. Association between MMP2-1306 C/T polymorphism and prostate cancer susceptibility; a meta-analysis based on 3906 subjects[J]. Oncotarget, 2017, 8(27): 45020-45029.
- [20] HUANG H. Matrix Metalloproteinase-9 (MMP-9) as a cancer biomarker and MMP-9 biosensors; recent advances [J]. Sensors (Basel), 2018, 18(10): 3249.

(收稿日期: 2021-11-23 修回日期: 2022-03-16)

(上接第 1592 页)

- [29] SIMPSON-HAIDARIS P J, RYBARCZYK B. Tumors and fibrinogen; the role of fibrinogen as an extracellular matrix protein[J]. Ann N Y Acad Sci, 2001, 936: 406-425.
- [30] ZHENG S, SHEN J, JIAO Y, et al. Platelets and fibrinogen facilitate each other in protecting tumor cells from natural killer cytotoxicity[J]. Cancer Sci, 2009, 100(5): 859-865.
- [31] SUZUKI T, SHIMADA H, NANAMI T, et al. Prognostic significance of hyperfibrinogenemia in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. Int J Clin Oncol, 2017, 22(3): 461-468.
- [32] NIU J Y, TIAN T, ZHU H Y, et al. Hyperfibrinogenemia is a poor prognostic factor in diffuse large B cell lymphoma[J]. Ann Hematol, 2018, 97(10): 1841-1849.
- [33] MANTOVANI A, ALLAVENA P, SICA A, et al. Cancer-related inflammation [J]. Nature, 2008, 454 (7203): 436-444.
- [34] IWAI N, OKUDA T, SAKAGAMI J, et al. Neutrophil to lymphocyte ratio predicts prognosis in unresectable pancreatic cancer[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 18758.
- [35] KUBO H, MURAKAMI T, MATSUYAMA R, et al. Prognostic impact of the neutrophil-to-lymphocyte ratio in borderline resectable pancreatic ductal adenocarcinoma treated with neoadjuvant chemoradiotherapy followed by surgical resection[J]. World J Surg, 2019, 43(12): 3153-3160.

(收稿日期: 2021-10-18 修回日期: 2022-02-22)