

• 论 著 •

热疗通过靶向 HOXB1 诱导非小细胞肺癌细胞凋亡的研究

刘 威, 张 帆, 龙永贵[△]

四川省乐山市人民医院胸外科, 四川乐山 614000

摘 要:目的 探讨热疗调控非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞凋亡的潜在机制。方法 在 37、40、43、46 °C 的温度下处理 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299, 并分析热疗对 NSCLC 细胞活力和凋亡水平的影响。将 37、43 °C 处理的 NSCLC 细胞系进行转录组高通量测序并分析 3 种细胞系中同时被调控的基因。通过遗传学筛选鉴定热疗调控 NSCLC 细胞凋亡的关键分子同源盒结构基因 B1 (HOXB1)。siGFP 或 siHOXB1 敲低后检测 NSCLC 细胞系在 43 °C 下的凋亡水平。过表达 Vector 或 HOXB1 后检测 NSCLC 细胞系在 37 °C 下的凋亡水平。siGFP 或 siHOXB1 敲低后采用荧光素酶报告实验检测 NF- κ B 的活性。结果 相比于 37 °C, NSCLC 细胞系在 40、43、46 °C 下的活力均显著降低 ($P < 0.05$), 凋亡水平均显著上升 ($P < 0.05$)。相比于 37、40、46 °C 下, NSCLC 细胞系在 43 °C 的凋亡水平显著上升 ($P < 0.05$)。与 siGFP 组比较, 敲低 HOXB1 后, 43 °C 时 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的凋亡水平下降 ($P < 0.05$)。与 Vector 组比较, 过表达 HOXB1 后, 37 °C 时 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的凋亡水平上升 ($P < 0.05$)。与 siGFP 组比较, 敲低 HOXB1 后, 43 °C 时 NSCLC 细胞系中荧光素酶活性上升 ($P < 0.05$)。43 °C 条件下, 免疫共沉淀通过 HOXB1 抗体能够结合 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的 NF- κ B。结论 热疗处理 NSCLC 细胞后, HOXB1 表达水平上升, HOXB1 可与 NF- κ B 结合并抑制 NF- κ B 的活性, 促进了 NSCLC 细胞凋亡。

关键词: 热疗; HOXB1; 非小细胞肺癌; 凋亡; 核因子- κ B

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2022.24.020

中图法分类号: R734.2

文章编号: 1673-4130(2022)24-3037-06

文献标志码: A

Study on the effect of thermotherapy in inducing cell apoptosis of non-small cell lung cancer cells by targeting HOXB1

LIU Wei, ZHANG Fan, LONG Yonggui[△]

Department of Thoracic Surgery, Leshan Municipal People's Hospital, Leshan, Sichuan 614000, China

Abstract: **Objective** To explore the potential mechanism of thermotherapy in regulating cell apoptosis in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods** NSCLC cell lines A549, HCC827 and NCI-H1299 were treated at 37, 40, 43 and 46 °C, and the effects of thermotherapy on the viability and apoptosis levels of NSCLC cells were analyzed. The NSCLC cell lines treated at 37 and 43 °C conducted the transcriptome high-throughput sequencing and the genes that were simultaneously regulated in the three kinds of cells were analyzed. The key molecular homology cassette structural gene B1 (HOXB1) regulating apoptosis in NSCLC cells by thermotherapy was identified by genetic screening. After siGFP or siHOXB1 knockdown, the apoptosis level of NSCLC cell lines at 43 °C was detected. The apoptosis levels of NSCLC cell lines at 37 °C were measured after overexpression of Vector or HOXB1. After siGFP or siHOXB1 knockdown, the luciferase reporter assay was used to detect NF- κ B activity. **Results** The viability of NSCLC cell lines at 40, 43 and 46 °C were significantly decreased compared with at 37 °C ($P < 0.05$) and the apoptosis levels were significantly increased ($P < 0.05$). Compared with at 37, 40 and 46 °C, the apoptosis level of NSCLC cell lines at 43 °C was significantly increased ($P < 0.05$). Compared with the siGFP group, after knockdown of HOXB1, the apoptosis of A549, HCC827 and NCI-H1299 in NSCLC cell line at 43 °C was decreased ($P < 0.05$). Compared with the Vector group, the apoptosis levels of A549, HCC827 and NCI-H1299 in NSCLC cell lines at 37 °C were increased after overexpression of HOXB1 ($P < 0.05$). Compared with the siGFP group, after knockdown of HOXB1, the luciferase activity in NSCLC cell lines at 43 °C was increased ($P < 0.05$). The immunoprecipitation by HOXB1 antibody was able to bind NF- κ B of A549, HCC827 and NCI-H1299 in NSCLC cell lines. **Conclusion** After treating NSCLC cells by thermotherapy, the expression level of HOXB1 is increased. HOXB1 can bind to NF- κ B and inhibit the activity of NF- κ B, and promote NSCLC cell apoptosis.

Key words: thermotherapy; HOXB1; non-small cell lung cancer cells; cell apoptosis; nuclear factor- κ B

非小细胞肺癌(NSCLC)约占肺癌的 85%, NSCLC 患者总体 5 年生存率为 17.1%^[1]。目前针对肺癌的治疗是手术切除、联合化疗和放疗^[2-3]。尽管一些分子靶向药物[如酪氨酸激酶抑制剂(TKIs)]已应用于治疗表皮生长因子受体(EGFR)突变的 NSCLC 患者,但该疾病患者的总生存率仍然不高^[4]。因此,需要开发新的治疗策略来改善临床结果。近年来,热疗已被公认为某些癌症(例如 NSCLC)的临床治疗方法,可通过射频消融(RFA)等技术诱发^[5]。了解热疗作用背后的分子机制也许在一定程度上可以为临床热疗提供进一步的信息。然而,热疗影响 NSCLC 的确切机制仍未确定。基于此,本研究以 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 为研究对象,旨在探讨热疗调控 NSCLC 细胞凋亡的潜在机制。

1 材料与方法

1.1 材料 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 购自普诺赛生物公司(货号:CL-0016、CL-0094、CL-0165)。MTT 试剂盒购自广州珀西生物科技有限公司(货号:M1020-500T)。Annexin V-FITC Apoptosis Kit 购自深圳市文乐生物科技有限公司(货号:K2003-400)。Cellfectin 购自宝如亿(北京)生物技术有限公司(货号:10362100)。TRIzol 试剂购自杭州新景生物试剂开发有限公司(货号:5301100)。甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)、核因子- κ B(NF- κ B)、同源盒结构基因 B1 (HOXB1)、N- α -乙酰转移酶 25NaB 辅助亚单位蛋白(NAA25)、磷脂转运 ATP 酶 11A (ATP11AUN)、 α -甲基酰基-CoA 消旋酶(AM-ACR)、含 N-乙酰转移酶结构域蛋白 1(NATD1)、含有无菌阿尔法和 TIR 结构域蛋白 1(SARM1)、驱动蛋白家族成员 1C (KIF1C)、高尔基相关的含有 γ 适应素耳的 ARF 结合蛋白 2(GGA2)、激活 T 细胞的核因子 2(NFATC2)的抗体均购自 Abcam 公司(货号:ab9485、ab28849、ab168279、ab79490、ab105351、ab268062、ab109114、ab226930、ab125903、ab185557、ab2722)。C17orf49 的抗体购自赛默飞公司(货号:PA5-55083)。NF- κ B luciferase reporter plasmid 购自 Yeasen 公司(货号:11501ES03)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养与处理 将 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 维持在 RPMI-1640 培养基中,该培养基含有 10%胎牛血清和 100 U/mL 青链霉素。细胞在含有 37 °C、5%CO₂ 的加湿培养箱中培养。本研究所有转染均使用 Cellfectin 进行。使用 siHOXB1 敲低目的基因(序列:正向 5'-GAUCCCCUUCU-UAGAGUACCCACUUUCAAGAGAAGUGGGUACU-CUAAGAAGGUUUUUUA-3',反向 5'-AGCUUAAA-AAACCUUCUAGAGUACCCACUUCUCUUGAAA-GUGGGUACUCUAAGAAGGG-3'),对照为 siGFP (GFP 序列在人基因组中不存在,故作为阴性对照,序列:正向 5'-GCCACAACGUCUAUAUCAUUU-3',反向 3'-UUCGGUGUUGCAGAUUAUAGUA-5')。使用

HOXB1 过表达质粒过表达 HOXB1(克隆于 PCDNA3.1 质粒),对照为 Vector(PCDNA3.1 空载体)。转染前 1 d,将 NSCLC 细胞以 5×10^5 细胞/孔的密度铺板在 6 孔板中,使细胞在转染时生长到 70%~80% 的汇合度。根据制造商的方案,使用 Cellfectin 时用上述 siRNA 或质粒转染细胞。在初始转染后 48~72 h 收获 NSCLC 细胞用于进一步分析。敲低或过表达效果使用免疫印迹检测。

1.2.2 细胞活力的检测 为了分析热疗对 NSCLC 的影响,首先在 37、40、43、46 °C 的温度下处理 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 40 min。随后,将细胞在 37 °C、5%CO₂ 的环境中再培养 24 h,并且使用 MTT 法测定、评估细胞活力。

1.2.3 细胞凋亡水平的检测 为了确定用热疗处理的 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 是否发生凋亡,热疗处理细胞 24 h 后用 Annexin V-FITC 和 PI 对细胞进行染色,通过流式细胞术评估 NSCLC 细胞的凋亡水平。细胞凋亡定义为 Annexin V 阳性和 PI 阳性。

1.2.4 高通量测序 RNA-seq 由睿博公司进行。用 TRIzol 试剂提取 37 °C 和 43 °C 处理的 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的总 RNA。根据制造商的说明,使用 TruSeq Small RNA Library Prep 试剂盒构建 RNA 测序文库。RNA 在 Illumina HiSeq™ 2500 测序仪上进行单端测序。使用 R 软件中的“edgeR”包分析 RNA-seq 数据。使用 $|\log_2(\text{倍数变化})| \geq 1$ 的阈值过滤差异表达谱,且 $P < 0.05$ 。

1.2.5 NF- κ B 活性的检测 NF- κ B luciferase reporter plasmid 中插入了多个 NF- κ B 的结合位点,激活的 NF- κ B 可以结合质粒上的元件进行荧光素酶的转录、翻译,因此可以通过荧光素酶活性检测 NF- κ B 的活性。将 NF- κ B luciferase reporter plasmid 转染 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 后,在 43 °C 时裂解细胞并检测 luciferase 活性。

1.2.6 免疫共沉淀与免疫印迹 使用免疫共沉淀试剂盒检测 HOXB1 与 NF- κ B 之间的相互作用。用 RIPA 裂解缓冲液收集 43 °C 时 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 中的蛋白质,并补充有苯甲基磺酰氟(PMSF)蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂。用二辛可宁酸(BCA)法测定上清液中的总蛋白含量,适当质量蛋白的变性蛋白样品进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),然后电转移到 PVDF 膜,使用抗 GAPDH 的抗体、抗 NF- κ B 的抗体和抗 HOXB1 的抗体在 4 °C 下过夜。通过增强化学发光(ECL)试剂盒观察蛋白质条带。

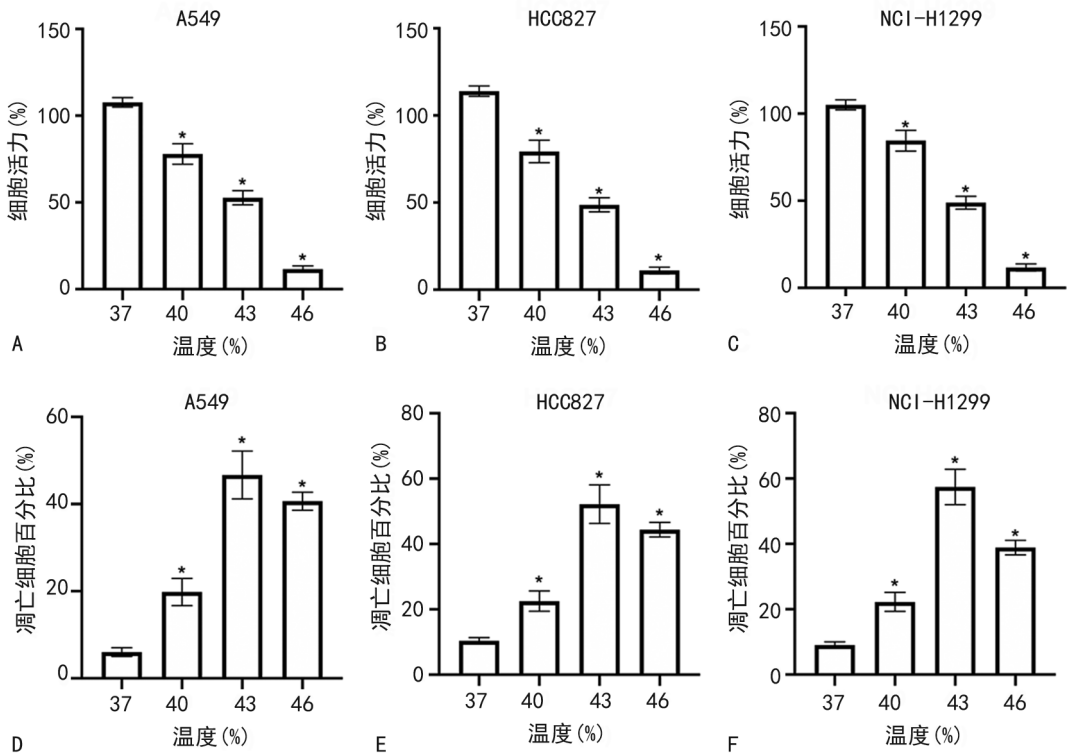
1.3 统计学处理 使用 SPSS 19.0 和 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 在 37、40、43、46 °C 条件下 NSCLC 细胞的活力

和凋亡水平 相比于 37 ℃, NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 在 40、43、46 ℃ 下的活力均显著降低($P<0.05$), 凋亡水平均显著上升($P<0.05$)。

相比于 37、40、46 ℃, NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 在 43 ℃ 的凋亡水平显著上升($P<0.05$)。见表 1、表 2、图 1。



注:A 表示在 37、40、43、46 ℃ 条件下 A549 细胞系的细胞活力;B 表示在 37、40、43、46 ℃ 条件下 HCC827 细胞系的细胞活力;C 表示在 37、40、43、46 ℃ 条件下 NCI-H1299 细胞系的细胞活力;D 表示在 37、40、43、46 ℃ 条件下 A549 细胞系的细胞凋亡水平;E 表示在 37、40、43、46 ℃ 条件下 HCC827 细胞系的细胞凋亡水平;F 表示在 37、40、43、46 ℃ 条件下 NCI-H1299 细胞系的细胞凋亡水平;与 37 ℃ 比较, * $P<0.05$ 。

图 1 在 37、40、43、46 ℃ 条件下 NSCLC 细胞的活力和凋亡水平

表 1 在 37、40、43、46 ℃ 条件下 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的细胞活力($\bar{x}\pm s, \%$)			
温度(℃)	A549	HCC827	NCI-H1299
37	107.73±2.74	113.98±2.99	105.05±2.92
40	77.92±5.87*	79.37±6.43*	84.53±5.93*
43	52.71±4.09*	48.73±4.07*	48.90±3.70*
46	11.59±1.90*	11.01±1.96*	11.72±2.00*

注:与 37 ℃ 比较, * $P<0.05$ 。

表 2 在 37、40、43、46 ℃ 条件下 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的细胞凋亡水平($\bar{x}\pm s, \%$)			
温度(℃)	A549	HCC827	NCI-H1299
37	6.01±1.01	10.34±0.99	9.04±1.00
40	19.81±3.12*#	22.53±3.09*#	22.24±2.91*#
43	46.7±5.50*	52.18±5.89*	57.45±5.39*
46	40.65±2.1*#	44.38±2.23*#	38.87±2.26*#

注:与 37 ℃ 比较, * $P<0.05$;与 43 ℃ 比较, # $P<0.05$ 。

2.2 43 ℃ 条件下诱导 HOXB1 表达对 NSCLC 细胞凋亡的影响 将 37 ℃ 和 43 ℃ 处理的 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 进行转录组高通量测序, 发现有 10 个基因在这 3 个细胞系中均受到调控, 分别是 NAA25、HOXB1、ATP11AUN、AMACR、NATD1、

SARM1、C17orf49、KIF1C、GGA2、NFATC2。使用相应的 siRNA 分别敲低上述基因后, 与 siGFP 组比较, 发现敲低 HOXB1 后, 43 ℃ 时 NSCLC 细胞系 A549 的凋亡水平下降($P<0.05$), 见图 2A。同时, 与 siGFP 组比较, 敲低 HOXB1 后, 43 ℃ 时 NSCLC 细胞系 HCC827、NCI-H1299 的凋亡水平下降($P<0.05$), 见图 2B 和图 2C。与 Vector 组比较, 过表达 HOXB1 后, 37 ℃ 时 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的凋亡水平上升($P<0.05$)。见表 3~5 和图 2D~F。

表 3 siRNA 敲低筛选影响 A549 在 43 ℃ 时凋亡水平的基因

基因	凋亡水平($\bar{x}\pm s, \%$)
siGFP	43.93±4.39
siNAA25	50.00±5.00
siHOXB1	10.75±2.68*
siATP11AUN	49.82±4.98
siAMACR	48.69±4.87
siNATD1	46.05±4.60
siSARM1	43.69±4.37
siC17orf49	42.96±4.30
siKIF1C	48.01±4.80
siGGA2	46.28±4.63
siNFATC2	50.85±5.08

注:与 siGFP 比较, * $P<0.05$ 。

表 4 敲低或不敲低 HOXB1 后 NSCLC 细胞系 HCC827、NCI-H1299 在 43 ℃ 时的凋亡水平 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	HCC827	NCI-H1299
siGFP 组	50.12±5.01	59.69±4.97
siHOXB1 组	13.07±2.31 [*]	10.56±2.56 [*]

注:与 siGFP 组比较, ^{*} $P<0.05$ 。

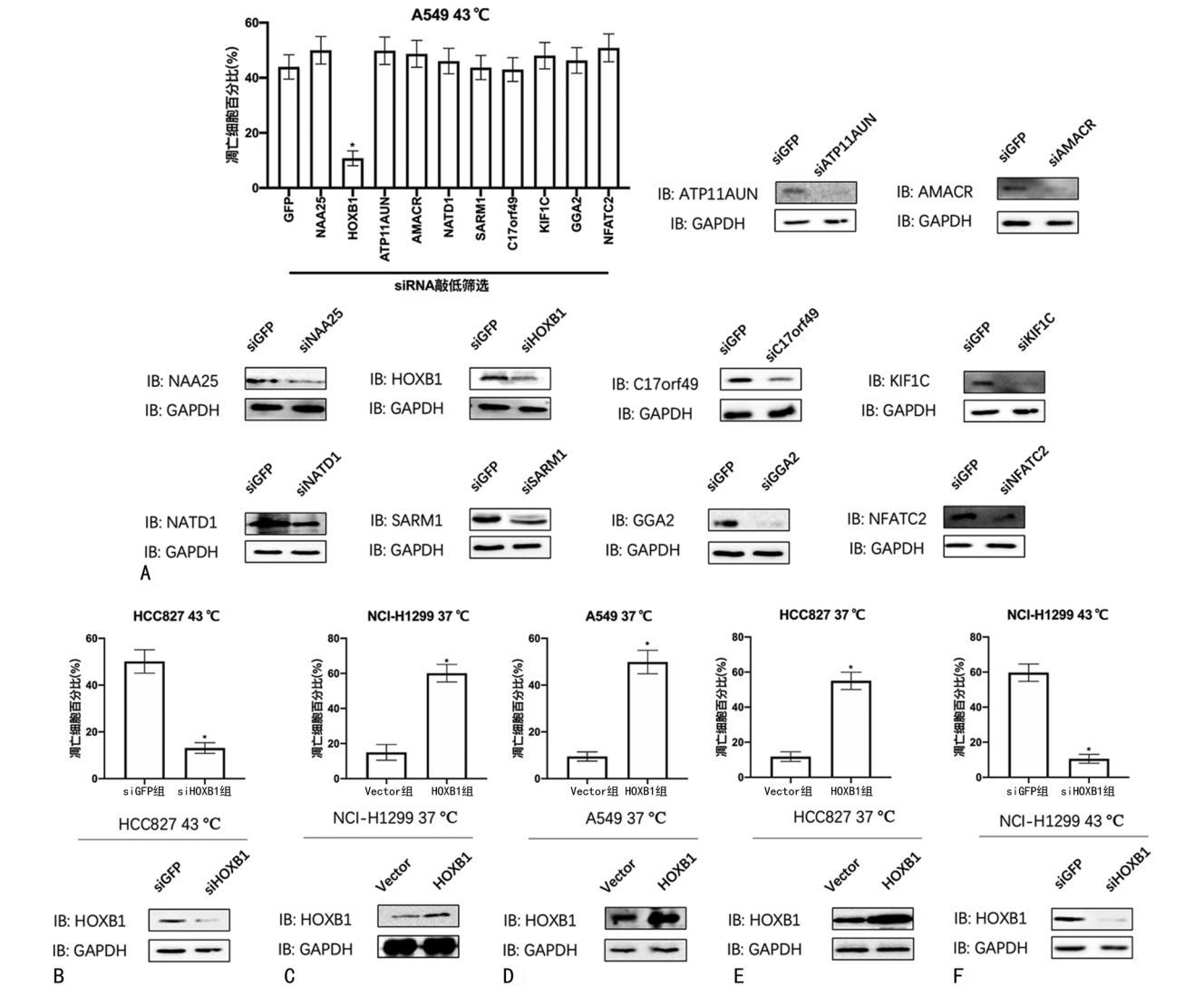
2.3 HOXB1 通过 NF- κ B 对 NSCLC 细胞凋亡的影响 见表 6。与 siGFP 组比较,敲低 HOXB1 后,43 ℃ 时 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 中荧光素酶活性上升,因此敲低 HOXB1 后 NF- κ B 的活

性上升($P<0.05$),见图 3A、图 3B 和图 3C。同时,43 ℃ 条件下,免疫共沉淀通过 HOXB1 抗体能够结合 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的 NF- κ B,见图 3D。

表 5 过表达或不过表达 HOXB1 后,NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 在 37 ℃ 时的凋亡水平 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	A549	HCC827	NCI-H1299
Vector 组	9.47±1.95	11.79±2.78	15.00±4.50
HOXB1 组	49.87±4.99 [*]	55.00±4.90 [*]	60.10±5.01 [*]

注:与 Vector 组比较, ^{*} $P<0.05$ 。



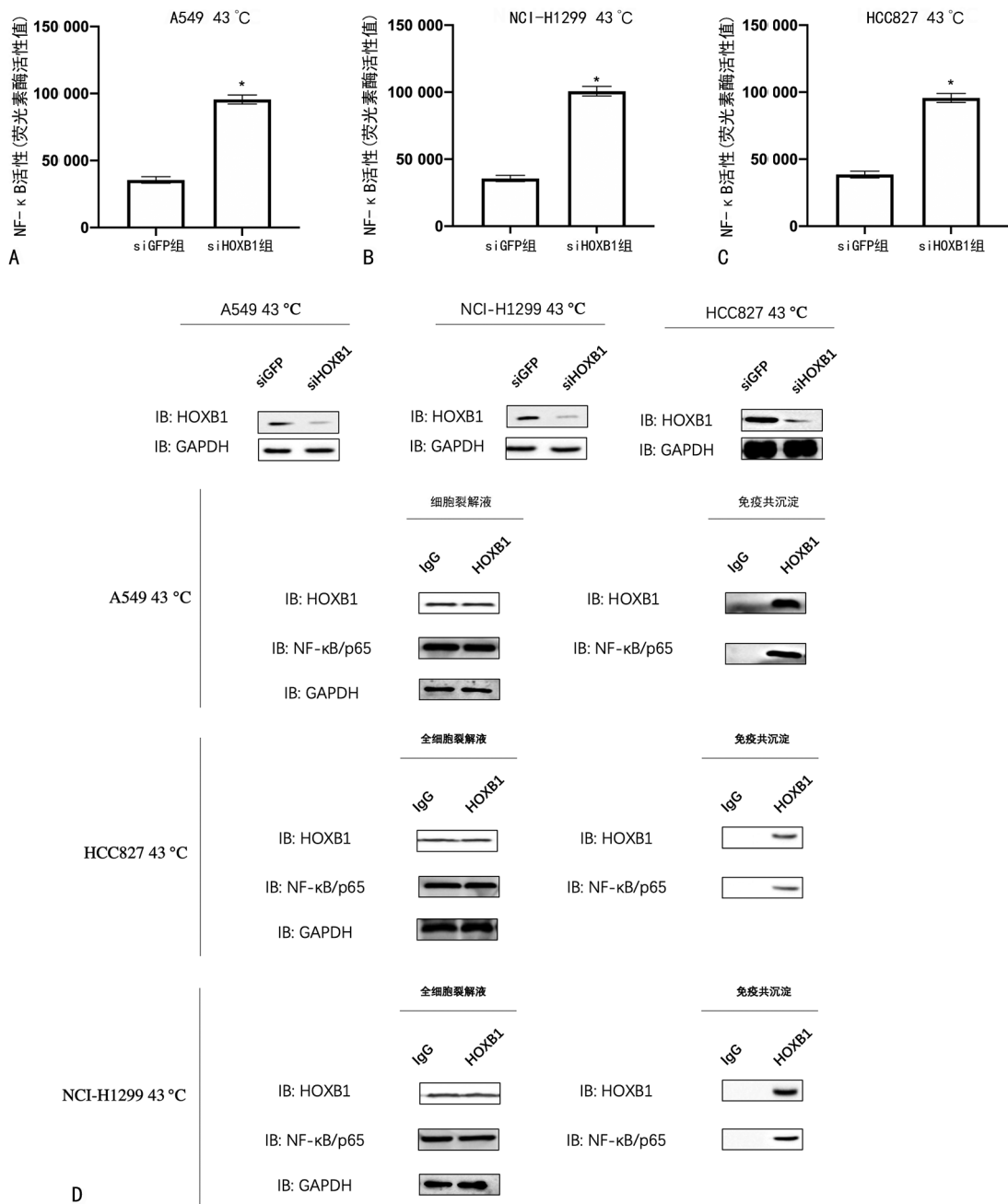
注:A表示 siRNA 敲低筛选影响 43 ℃ 条件下 A549 细胞凋亡水平的基因;B表示敲低 HOXB1 后,43 ℃ 条件下 HCC827 细胞的凋亡水平;C表示敲低 HOXB1 后,37 ℃ 条件下 NCI-H1299 细胞的凋亡水平;D表示过表达 HOXB1 后,37 ℃ 条件下 A549 细胞的凋亡水平;E表示过表达 HOXB1 后,37 ℃ 条件下 HCC827 细胞的凋亡水平;F表示过表达 HOXB1 后,43 ℃ 条件下 NCI-H1299 细胞的凋亡水平;与 siGFP 组或 Vector 组比较, ^{*} $P<0.05$ 。

图 2 43 ℃ 条件下诱导 HOXB1 表达对 NSCLC 细胞凋亡的影响

表 6 敲低或不敲低 HOXB1 后,NSCLC 细胞系 HCC827、NCI-H1299 在 43 ℃ 时的 NF- κ B 活性 (荧光素酶活性值, $\bar{x} \pm s$)

组别	A549	HCC827	NCI-H1299
siGFP 组	35 465.42±2 435.58	38 571.21±2 531.25	35 624.56±2 347.85
siHOXB1 组	95 553.84±3 351.18 [*]	95 690.16±3 399.78 [*]	100 699.44±3 551.80 [*]

注:与 siGFP 组比较, ^{*} $P<0.05$ 。



注:A表示敲低 HOXB1 后,43 °C 条件下 A549 细胞中 NF-κB 的活性;B 表示敲低 HOXB1 后,43 °C 条件下 NCI-H1299 细胞中 NF-κB 的活性;C 表示敲低 HOXB1 后,43 °C 条件下 HCC827 细胞中 NF-κB 的活性;D 表示 43 °C 条件下 A549、HCC827、NCI-H1299 细胞中 HOXB1 与 NF-κB 亚基 p65 的相互作用;与 siGFP 组比较,* $P<0.05$ 。

图 3 HOXB1 通过 NF-κB 对 NSCLC 细胞凋亡的影响

3 讨 论

最近,术后热疗已被用作重要的辅助治疗手段,以提高传统化疗和(或)放疗的疗效^[6]。由于过去的技术无法在不损伤周围非肿瘤组织的情况下有效且均匀地向肿瘤部位传递热量,因此现代医学研究中热疗的发展相对过时^[7]。但是,最近直接应用热处理的新技术(如计算机建模和无创测温)使热疗成为新的治疗肿瘤方案^[8]。许多临床数据表明,微波(MW)消融可以改善肝细胞癌、结直肠癌肝转移和复发性结直肠癌肺转移患者的肿瘤学结果^[9]。MW 热疗(温度通常在 42~45 °C)已广泛用于浅表肿瘤的临床试验^[10]。因此,本研究选择在 37、40、43、46 °C 下处理

NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299。相比于 37 °C,NSCLC 细胞系在 40、43、46 °C 下的活力均显著降低($P<0.05$)、凋亡水平均显著上升($P<0.05$)。相比于 37、40、46 °C 条件下,NSCLC 细胞系在 43 °C 的凋亡水平显著上升($P<0.05$)。因此,热疗可以与放疗和化疗有效结合使用,以促进机体免疫反应对抗靶肿瘤。

同源盒(HOX)基因编码一个转录因子家族,这些因子可以与靶基因序列结合以调节靶基因的表达水平^[11]。HOXB1 是 HOX 家族的重要成员,多项研究表明 HOXB1 是包括癌症在内的许多疾病发展的重要调节因子^[11-14]。本研究发现敲低 HOXB1 后,43

℃时 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 的凋亡水平下降($P < 0.05$)。因此,HOXB1 是一个受热疗调控的抑癌因子,有望成为治疗 NSCLC 的新靶标。

有研究报道 HOXB1 能够抑制 NF- κ B 信号通路的活性^[15]。因此,为了检测 HOXB1 的促凋亡作用是否与 NF- κ B 信号通路相关,本研究检测了敲低 HOXB1 后 NF- κ B 的活性。与 siGFP 组比较,敲低 HOXB1 后,43 ℃时 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 中荧光素酶活性上升,因此敲低 HOXB1 后 NF- κ B 的活性上升($P < 0.05$)。因此,HOXB1 能够抑制 NF- κ B 信号通路的活性。同时,43 ℃时 NSCLC 细胞系 A549、HCC827、NCI-H1299 中 NF- κ B 能够与 HOXB1 相互作用。NF- κ B 是一种多功能转录因子,是 NF- κ B/Rel 蛋白家族的成员^[16]。哺乳动物有 5 个亚基,但最常见的形式是 p65/p50 二聚体复合物,它在炎症反应、调节细胞增殖和凋亡中起重要作用^[17]。NF- κ B 能够通过抑制促凋亡因子 Bax 的表达来抑制凋亡^[18]。因此,HOXB1 可能与基因组中 NF- κ B 靶向的元件竞争性地结合 NF- κ B 以抑制 NF- κ B 活性,最后促进了 NSCLC 细胞凋亡。

综上所述,热疗处理 NSCLC 细胞后,HOXB1 的表达水平上升,HOXB1 可与 NF- κ B 结合并抑制 NF- κ B 的活性,促进了细胞凋亡。

参考文献

- [1] 刘建,崔翰文,张雪梅,等. miR-17-5p 在 NSCLC 患者中的表达及其与临床病理特征的相关性[J]. 中南医学科学杂志,2021,49(5):528-531.
- [2] 曾雪华,吴刚,祁永健. PD-L1 在 NSCLC 组织中的表达及对患者预后影响的多因素分析[J]. 中南医学科学杂志,2021,49(1):31-34.
- [3] BADE B C, CRUZ C S. Lung cancer 2020: epidemiology, etiology, and prevention[J]. Clin Chest Med, 2020, 41(1): 1-24.
- [4] HOWLADER N, FORJAZ G, MOORADIAN M J, et al. The effect of advances in lung-cancer treatment on population mortality[J]. N Engl J Med, 2020, 383(7): 640-649.
- [5] BRERO F, ALBINO M, ANTOCCIA A, et al. Hadron therapy, magnetic nanoparticles and hyperthermia: a promising combined tool for pancreatic cancer treatment [J]. Nanomaterials, 2020, 10(10): 1919.
- [6] JOSE J, KUMAR R, HARILAL S, et al. Magnetic nanoparticles for hyperthermia in cancer treatment: an emerging tool[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2020, 27(16): 19214-19225.
- [7] SALIMI M, SARKAR S, HASHEMI M, et al. Treatment of breast cancer-bearing BALB/c mice with magnetic hyperthermia using dendrimer functionalized iron-oxide nanoparticles[J]. Nanomaterials, 2020, 10(11): 2310.
- [8] ALBARQI H A, DEMESSIE A A, Sabei F Y, et al. Systemically delivered magnetic hyperthermia for prostate cancer treatment[J]. Pharmaceutics, 2020, 12(11): 1020.
- [9] HE T, XU H, ZHANG Y, et al. Glucose oxidase-instructed traceable self-oxygenation/hyperthermia dually enhanced cancer starvation therapy[J]. Theranostics, 2020, 10(4): 1544.
- [10] BALAKRISHNAN P B, SILVESTRI N, FERNANDEZ-CABADA T, et al. Exploiting unique alignment of cobalt ferrite nanoparticles, mild hyperthermia, and controlled intrinsic cobalt toxicity for cancer therapy[J]. Adv Mater, 2020, 32(45): 2003712.
- [11] XIONG J, ZHANG L, TANG R, et al. MicroRNA-301b-3p facilitates cell proliferation and migration in colorectal cancer by targeting HOXB1 [J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 5839-5849.
- [12] TURNER D C, GORSKI P P, MAASAR M F, et al. DNA methylation across the genome in aged human skeletal muscle tissue and muscle-derived cells: the role of HOX genes and physical activity[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 1-19.
- [13] PAZUR K, GIANNIOS I, LESCHE M, et al. HOXB1 regulates distinct signaling pathways in neuromesodermal and hindbrain progenitors to promote cell survival and specification[J]. Stem Cells, 2022, 40(2): 175-189.
- [14] LIU K Y, WANG L T, HSU S H, et al. Homeobox genes and hepatocellular carcinoma[J]. Cancers, 2019, 11(5): 621.
- [15] CUI F, ZHOU Q, XIAO K, et al. The microRNA hsa-let-7g promotes proliferation and inhibits apoptosis in lung cancer by targeting HOXB1 [J]. Yonsei Med J, 2020, 61(3): 210-217.
- [16] ARAB-NOZARI M, MOHAMMADI E, SHOKRZADEH M, et al. Co-exposure to non-toxic levels of cadmium and fluoride induces hepatotoxicity in rats via triggering mitochondrial oxidative damage, apoptosis, and NF- κ B pathways[J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2020, 27(19): 24048-24058.
- [17] ZHANG L, CHINNATHAMBI A, ALHARBI S A, et al. Punicagin promotes the apoptosis in human cervical cancer (ME-180) cells through mitochondrial pathway and by inhibiting the NF- κ B signaling pathway[J]. Saudi J Biol Sci, 2020, 27(4): 1100-1106.
- [18] XIE X K, XU Z K, XU K, et al. DUSP19 mediates spinal cord injury-induced apoptosis and inflammation in mouse primary microglia cells via the NF- κ B signaling pathway [J]. Neurol Res, 2020, 42(1): 31-38.

(收稿日期:2022-03-02 修回日期:2022-10-26)