

• 论 著 •

miR-4645-5p 通过靶向 MUC16 调控食管癌细胞的恶性生物学行为^{*}

周 珍, 姜琳娜, 何 鹏, 尹 峰, 魏 婷, 安 欣, 李香红

邯郸市第一医院病理科, 河北邯郸 056002

摘要:目的 探讨微小 RNA(miR)-4645-5p 靶向黏蛋白 16(MUC16)对食管癌细胞增殖、侵袭、上皮间充质转化的影响及其分子机制。方法 通过 TCGA 数据库在线分析 miR-4645-5p 在食管癌组织中的表达。利用实时荧光定量聚合酶链反应(qPCR)分析食管癌细胞系中 miR-4645-5p 的表达水平。通过脂质体转染技术将 miR-4645-5p 模拟物和阴性对照模拟物转染 KYSE-30 细胞,作为 miR-4645-5p 组和对照模拟物组。分别采用 CCK-8 法、划痕实验、Transwell 实验分析转染 KYSE-30 细胞的增殖能力、迁移能力和侵袭能力。通过生物信息学网站预测 miR-4645-5p 的靶基因,双荧光素酶报告基因实验检测 miR-4645-5p 对靶基因的结合。采用 qPCR 检测 MUC16 mRNA 的表达水平,Western blotting 检测 MUC16、转录因子-1(ZEB-1)、闭锁小带蛋白-1(ZO-1)、紧密连接蛋白-1(Claudin-1)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)蛋白的表达水平。结果 食管癌组织中 miR-4645-5p 表达水平低于癌旁组织($P<0.01$)。与 HET-1A 比较,食管癌细胞系中 miR-4645-5p 呈低表达($P<0.05$)。miR-4645-5p 过表达后,KYSE-30 细胞增殖能力降低($P<0.05$),迁移能力降低($P<0.01$),侵袭能力明显降低($P<0.01$)。miR-4645-5p 靶向负调控 MUC16 mRNA 的表达($P<0.01$)。miR-4645-5p 过表达后,MUC16、ZEB-1、 α -SMA 蛋白表达均下调,ZO-1、Claudin-1 蛋白表达均上调。结论 miR-4645-5p 通过靶向 MUC16 调控食管癌 KYSE-30 细胞的恶性生物学行为。

关键词:食管癌; 微小 RNA-4645-5p; 上皮间充质转化; 黏蛋白 16; 增殖; 侵袭

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.01.011

中图法分类号:R735.1

文章编号:1673-4130(2024)01-0054-06

文献标志码:A

miR-4645-5p regulates malignant biological behavior of esophageal cancer cells by targeting MUC16^{*}

ZHOU Zhen, JIANG Linna, HE Peng, YIN Feng, WEI Ping, AN Xin, LI Xianghong

Department of Pathology, Handan First Hospital, Handan, Hebei 056002, China

Abstract: Objective To investigate the effect of microRNA(miR)-4645-5p on the proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition of esophageal cancer cells by targeting mucin 16 (MUC16) and its molecular mechanism. **Methods** The expression of miR-4645-5p in esophageal cancer tissues was analyzed online by TCGA database. The expression level of miR-4645-5p in esophageal cancer cell lines was analyzed by fluorescent real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qPCR). KYSE-30 cells were transfected with miR-4645-5p mimic and negative control mimic by lipofection technology, and were divided into miR-4645-5p group and control mimic group. The proliferation ability, migration ability and invasion ability of transfected KYSE-30 cells were analyzed by CCK-8 method, scratch test and Transwell test respectively. The target gene of miR-4645-5p was predicted by the bioinformatics website, and the binding of miR-4645-5p to the target gene was detected by the dual-luciferase reporter gene assay. The expression level of MUC16 mRNA was detected by qPCR, and the protein expression levels of MUC16, transcription factor-1(ZEB-1), zonal atresia protein(ZO-1), tight junction protein-1(Claudin-1) and α -smooth muscle actin(α -SMA) were detected by Western blotting. **Results** The expression level of miR-4645-5p in esophageal cancer tissues was significantly lower than that in adjacent tissues ($P<0.01$). Compared with HET-1A, the expression of miR-4645-5p was lower in esophageal cancer cell lines ($P<0.05$). After overexpression of miR-4645-5p, the proliferation a-

* 基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20231903)。

作者简介:周珍,女,主治医师,主要从事食管癌发生和发展的机制研究。

bility of KYSE-30 cells was significantly reduced ($P < 0.05$), the migration ability was significantly reduced ($P < 0.01$) and the invasion ability was significantly reduced ($P < 0.01$). miR-4645-5p targeted and negatively regulated the expression of MUC16 mRNA ($P < 0.01$). After overexpression of miR-4645-5p, the protein expression levels of MUC16, ZEB-1 and α -SMA were all down-regulated, and the protein expression levels of ZO-1 and Claudin-1 were up-regulated. **Conclusion** miR-4645-5p regulates the malignant biological behavior of esophageal cancer KYSE-30 cells by targeting MUC16.

Key words: esophageal cancer; microRNA-4645-5p; epithelial-mesenchymal transition; mucin 16; proliferation; invasion

食管癌作为常见的消化系统肿瘤之一,其早期症状并不明显,多数患者临床确诊时已处于中晚期,错过了根治性切除的最佳时间^[1]。大部分患者对化疗和放疗表现出抗性,食管癌患者的整体预后较差^[2]。探索食管癌发病的分子机制,寻找有效的分子治疗靶点,可为开发新的食管癌诊疗手段提供更多方向。微小 RNA(miRNA)通过与 mRNA 或者其他非编码 RNA 结合,在转录后调控下游靶基因的表达,参与调控细胞的糖代谢、纤维化、炎症反应、增殖等过程^[3]。已有研究报道,食管癌组织中存在众多异常表达的 miRNA,其在食管癌的发生、发展中扮演重要角色^[4-6]。miR-4645-5p 基因定位于人染色体 6p25.2,负责编码长度为 19 个核苷酸的短链非编码 RNA,其在肿瘤细胞中的表达和生物学功能并不清楚。本研究旨在分析 miR-4645-5p 在食管癌组织中的表达,探讨 miR-4645-5p 对食管癌 KYSE-30 细胞增殖、迁移、侵袭及上皮间质转化的影响。

1 材料与方法

1.1 标本来源 食管癌细胞系 KYSE-30、Eca109、EC9706、TE-13 与正常食管上皮细胞系 HET-1A 均购于上海富衡生物技术有限公司。RPMI 1640 培养基、Lipofectamine™ 2000 转染试剂购自以色列 Biological Industries 公司。CCK-8 试剂盒、miR-4645-5p 模拟物和阴性对照模拟物购自北京庄盟生物基因有限公司。Transwell 小室和胎牛血清购自美国 Corning 公司。载有 miR-4645-5p 的质粒和阴性对照质粒购自上海吉玛公司。Hiper SYBR Premix EsTaq 试剂盒、基质胶购自北京聚合美生物技术公司。基质胶、BCA 蛋白检测试剂盒购自美国 BD 公司。一抗黏蛋白 16(MUC16)、转录因子-1(ZEB-1)、闭锁小带蛋白-1(ZO-1)、 β -Tubulin、紧密连接蛋白-1(Claudin-1)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)均购自美国 Abcam 公司。荧光报告载体野生型结合位点和突变型结合位点(MUC16-WT 和 MUC16-MUT)、双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 数据库数据获取 通过 TCGA 数据库获得食管癌组织和癌旁组织中 miR-4645-5p 的表达谱。登

录 TargetScan Release 3.1 数据库,获取 miR-4645-5p 与 MUC16 mRNA 互补数据。

1.2.2 细胞培养和转染 KYSE-30、Eca109、HET-1A、EC9706、TE-13 细胞分别培养于含 10%胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,培养参数为 37 °C、5%CO₂。取对数生长期 KYSE-30 细胞,采用脂质体转染技术,通过 Lipofectamine™ 2000 转染试剂将 miR-4645-5p 模拟物和阴性对照模拟物转染至 KYSE-30 细胞,作为 miR-4645-5p 组和对照模拟物组,转染 24 h 后收集各组细胞检测转染效率。

1.2.3 荧光实时定量聚合酶链反应(qPCR)检测 KYSE-30 细胞中 miR-4645-5p 与 MUC16 mRNA 的表达 提取转染后 KYSE-30 细胞总 RNA,采用 Hiper SYBR Premix EsTaq 试剂盒对逆转录合成的 cDNA 进行检测,上、下游 qPCR 引物序列:GAPDH 上游 5'-CTGGGCTACACTGAGCACC-3',下游 5'-AAGTGGTCGTTGAGGGCAATG-3'; miR-4645-5p 上游 5'-ACAATATTTCTTGCCTGGT-3',下游 5'-CAGTGCGTGTCTGTTGGAGT-3'; U6 上游 5'-CTC GCTTCGGCAGCACA-3',下游 5'-AACGCTTCAC GAATTTGCGT-3'; MUC16 上游 5'-CCAGTCCTA-CATCTTCGGTTGT-3',下游 5'-AGGGTAGTTC-CTAGAGGGAGTT-3'。反应体系为 30 μ L,以 U6 为内参检测 miR-4645-5p 相对表达水平,以 GAPDH 为内参检测 MUC16 mRNA 相对表达水平。

1.2.4 CCK-8 法检测 KYSE-30 细胞增殖能力 取转染后 miR-4645-5p 组和对照模拟物组 KYSE-30 细胞,消化并细胞计数,每孔以 4×10^3 个细胞接种于 96 孔板,培养 12、24、36、48、60 h 时加入 40 μ L CCK-8 溶液和 160 μ L 不含抗菌药物的培养基至各孔,培养 3.5 h,上酶标仪检测各孔在 450 nm 吸光度(A)值,计算评估 KYSE-30 细胞的增殖能力。

1.2.5 Transwell 实验检测 KYSE-30 细胞侵袭能力 预铺基质胶至 Transwell 小室的上室,取转染后 miR-4645-5p 组和对照模拟物组 KYSE-30 细胞,消化并细胞计数,每孔以 4×10^5 个细胞接种至 Transwell 小室的上室,下室加入 700 μ L 含 20%胎牛血清的培养基。培养 30 h。吸去培养基,5%多聚甲醛固定 20

min, 结晶紫染色 20 min。磷酸盐缓冲液清洗, 光学显微镜下($\times 40$)选择 6 个视野拍照、计数穿膜细胞数。

1.2.6 划痕实验检测 KYSE-30 细胞迁移能力 取转染后 miR-4645-5p 组和对照模拟物组 KYSE-30 细胞, 消化并细胞计数, 每孔以 4×10^5 个细胞接种至 24 孔培养板, 待细胞达到 90% 的融合度时, 用灭菌 10 μ L 移液器吸头在 24 孔培养板底部垂直划线, 无血清培养基清洗 2 次。加入含 4% 胎牛血清的培养基, 显微镜下测量划痕宽度。继续培养 26 h, 培养参数为 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 , 显微镜下测量划痕宽度, 计算划痕愈合率。

1.2.7 双荧光素酶报告基因实验验证 miR-4645-5p 与 MUC16 mRNA 的靶向关系 每组 4 个复孔, 将 500 ng 荧光报告载体 MUC16-WT 和 MUC16-MUT 与 40 pmol/L miR-4645-5p 模拟物或阴性对照模拟物共转染至 KYSE-30 细胞, 转染 45 h 后裂解 KYSE-30 细胞, 根据说明书检测每孔荧光素酶和海肾荧光素酶的相对荧光强度, 计算二者之间的比值。

1.2.8 Western blotting 检测 MUC16、ZEB-1、ZO-1、Claudin-1、 α -SMA 蛋白表达 提取 miR-4645-5p 组和对照模拟物组 KYSE-30 细胞蛋白, 利用 BCA 试剂盒分析各组蛋白表达水平。煮沸变性, 按照每孔 20 μ g 进行上样, 15% 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 蛋白质条带进一步转至 PVDF 膜, 加入 8% 脱脂牛奶常温下封闭, 加入一抗 MUC16(1 : 4 000)、ZEB-1(1 : 3 000)、ZO-1(1 : 3 000)、 β -Tubulin(1 : 3 000)、Claudin-1(1 : 3 000)、 α -SMA(1 : 1 000), 6 $^{\circ}$ C 孵育过夜。加入辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠二抗(1 : 9 000), 室温处理 1.5 h, 显影液浸润、曝光、显影。

1.3 统计学处理 以上实验均独立重复 4 次。采用 SPSS21.0 软件统计分析实验数据, 采用 GraphPad Prism 5.0 软件绘图。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用双尾 t 检验或单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

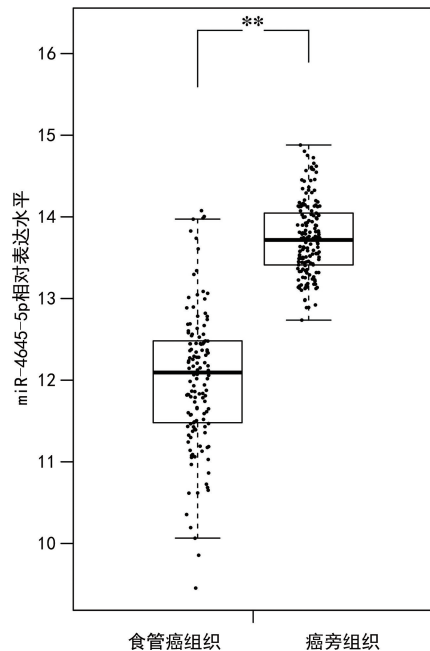
2 结 果

2.1 miR-4645-5p 在食管癌组织中的相对表达水平 从 TCGA 数据库获得 miR-4645-5p 的表达谱, 食管癌组织中 miR-4645-5p 相对表达水平明显低于癌旁组织($P < 0.01$)。见图 1。

2.2 miR-4645-5p 在食管癌细胞系中的相对表达水平 食管癌细胞系 KYSE-30、Eca109、EC9706、TE-13 中 miR-4645-5p 相对表达水平明显低于正常食管上皮细胞系 HET-1A($P < 0.05$), KYSE-30 细胞中 miR-4645-5p 相对表达水平明显低于 Eca109、EC9706、TE-13 细胞($P < 0.01$)。见图 2。

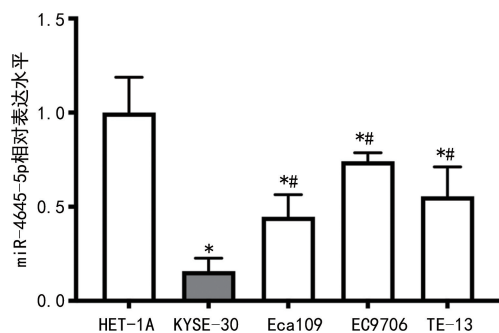
2.3 miR-4645-5p 表达变化对食管癌 KYSE-30 细胞增殖的影响 对照模拟物组和 miR-4645-5p 组

KYSE-30 细胞中 miR-4645-5p 相对表达水平分别为 0.98 ± 0.32 和 15.36 ± 2.15 , miR-4645-5p 组 miR-4645-5p 相对表达水平高于对照模拟物组($P < 0.01$)。接种 24 h, miR-4645-5p 组 KYSE-30 细胞的增殖能力明显弱于对照模拟物组($P < 0.05$)。见图 3。



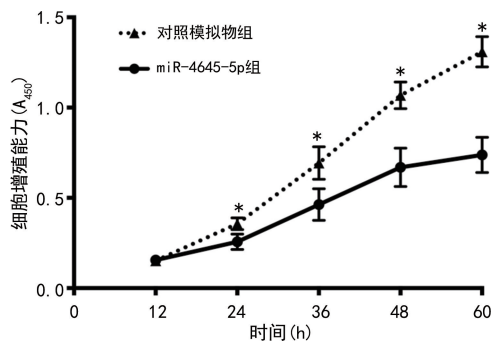
注: ** 表示 $P < 0.01$ 。

图 1 TCGA 数据库中食管癌组织和癌旁组织中 miR-4645-5p 相对表达水平



注: 与 HET-1A 比较, * $P < 0.05$; 与 KYSE-30 比较, # $P < 0.05$ 。

图 2 miR-4645-5p 在食管癌细胞系中的相对表达水平



注: 与 miR-4645-5p 组比较, * $P < 0.05$ 。

图 3 miR-4645-5p 对 KYSE-30 细胞增殖的影响

2.4 miR-4645-5p 表达变化对食管癌 KYSE-30 细胞侵袭的影响 对照模拟物组和 miR-4645-5p 组细胞

侵袭数分别为(57.78±6.13)个和(25.23±4.00)个,对照模拟物组细胞侵袭数高于 miR-4645-5p 组($P<0.01$)。见图 4。

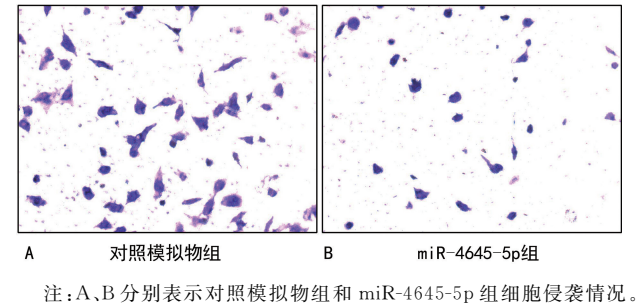


图 4 miR-4645-5p 表达对 KYSE-30 细胞侵袭的影响(×100)

2.5 miR-4645-5p 表达变化对食管癌 KYSE-30 细胞迁移的影响 对照模拟物组和 miR-4645-5p 组细胞划痕愈合率分别为(40.49±3.55)%和(17.61±1.65)%,对照模拟物组划痕愈合率高于 miR-4645-5p 组($P<0.01$)。见图 5。

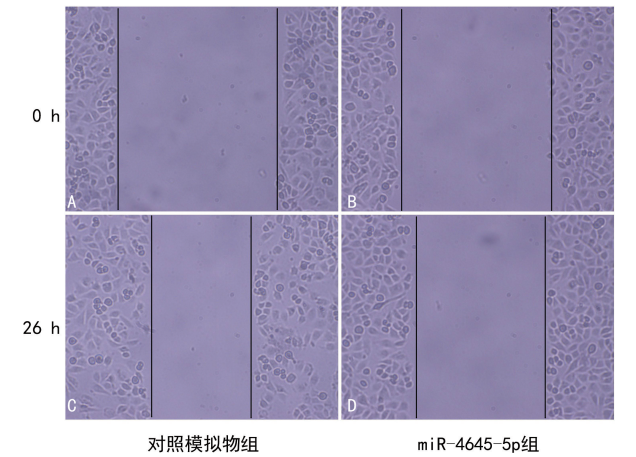


图 5 miR-4645-5p 表达对 KYSE-30 细胞迁移的影响

2.6 miR-4645-5p 靶向结合 MUC16 mRNA miR-4645-5p 与 MUC16 mRNA 之间存在能够互补结合的序列位点,且高度保守。见图 6。与共转染阴性对照模拟物比较,共转染 miR-4645-5p 模拟物和 MUC16-WT 的 KYSE-30 细胞的荧光素酶活性明显下降($P<0.01$),而共转染 miR-4645-5p 模拟物和 MUC16-MUT 的 KYSE-30 细胞的荧光素酶活性比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 7。

2.7 miR-4645-5p 表达变化对 MUC16 mRNA 表达的影响 qPCR 检测结果显示,对照模拟物组和 miR-4645-5p 组 KYSE-30 细胞中 MUC16 mRNA 相对表达水平分别为 7.17 ± 0.61 和 1.02 ± 0.44 ,miR-4645-5p 组 KYSE-30 细胞中 MUC16 mRNA 相对表达水平明显低于对照模拟物组($P<0.01$)。

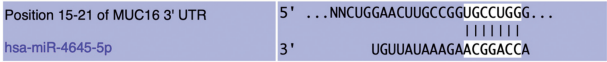


图 6 miR-4645-5p 与 MUC16 的结合位点

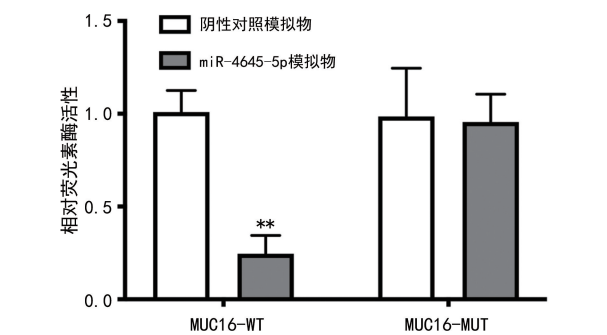


图 7 双荧光素酶报告基因实验

2.8 miR-4645-5p 表达变化对 KYSE-30 细胞上皮间充质转化进程的影响 miR-4645-5p 组 KYSE-30 细胞中 MUC16 蛋白表达水平明显低于对照模拟物组($P<0.05$),上皮标志物 ZO-1、Claudin-1 蛋白表达水平明显高于对照模拟物组($P<0.05$),间充质标志物 ZEB-1、 α -SMA 蛋白表达水平明显低于对照模拟物组($P<0.05$)。见图 8。

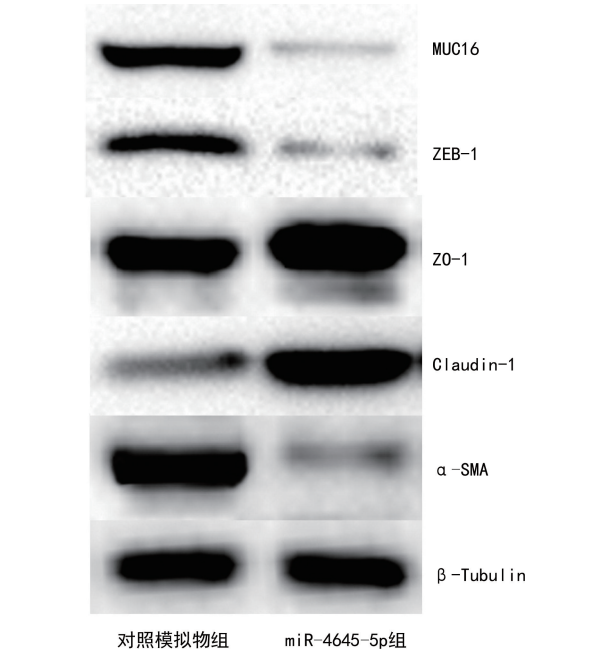


图 8 miR-4645-5p 对 KYSE-30 细胞上皮间充质转化进程的影响

3 讨 论

食管癌的侵袭性和增殖性均较强,导致食管癌恶性程度很高、进展迅速,患者的预后往往较差^[7-8]。寻找诊断和治疗食管癌的特异性标志物和新靶点是食管癌防治研究的新方向。miRNA 作为一种非编码短链 RNA 分子,其与淋巴瘤、骨肉瘤、胶质瘤、食管癌等肿瘤的发病密切相关,可能为肿瘤的早期诊断和治疗提供新的依据^[9-10]。miRNA 在食管癌发生、发展中的

作用受到广泛关注。食管癌相关成纤维细胞分泌的外泌体 miR-3656 相对表达水平明显高于癌旁组织正常成纤维细胞分泌的外泌体,过表达 miR-3656 通过促进 PI3K/AKT 和 β -catenin 信号通路的激活,明显提高食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力^[11]。临床食管癌组织样本、血清样本及食管癌细胞系中 miR-33a-5p 表达水平均降低,miR-33a-5p 表达的下调与高 TNM 分期、肿瘤分化差、患者预后差有关,其通过 Wnt/ β -catenin 途径影响食管癌细胞的生物学行为。miR-498 在食管癌组织中表达下调,并与患者无病生存期和总生存期相关,上调 miR-498 表达可抑制食管癌中巨噬细胞的自噬和 M2 极化,进而抑制食管癌的发生^[12]。miR-4645-5p 是 miR-4645 家族的一员,miR-4645 能够代谢为两种成熟的 miRNA,包括 miR-4645-3p 和 miR-4645-5p,二者还有不同的种子序列。miR-4645-5p 在细胞的生理和病理过程中的作用尚未明确。

本研究结果显示,与癌旁组织相比,食管癌组织中 miR-4645-5p 表达下调;与正常食管上皮细胞系相比,食管癌细胞系中 miR-4645-5p 表达下调,表明 miR-4645-5p 与食管癌的发病可能有关。在食管癌 KYSE-30 细胞中过表达 miR-4645-5p 后,KYSE-30 细胞的增殖、迁移和侵袭能力被明显抑制。食管癌细胞迁移和侵袭的关键因素是细胞失去了上皮表型及获得了间充质表型,从而完成上皮到间充质的转化^[13-14]。食管癌细胞的上皮间质转化能够增强其转移,表现为上皮标志物 ZO-1、Claudin-1 缺失和间质标志物 ZEB-1、 α -SMA 表达上调^[15-16]。本研究结果显示,过表达 miR-4645-5p 后,KYSE-30 细胞上皮标志物 ZO-1、Claudin-1 蛋白表达水平增加,间质标志物 ZEB-1、 α -SMA 蛋白表达水平下降,食管癌细胞的上皮间质进程被抑制。miRNA 在细胞中发挥功能的方式是互补结合靶基因 mRNA 的 UTR 区域,加速 mRNA 的分解或者阻碍其蛋白质的翻译,从而实现调控靶基因表达水平^[17-20]。如 miR-196b 通过靶向食管癌相关基因 4 促进胃癌的进展^[21]。生物信息学网站预测显示,MUC16 可能是 miR-4645-5p 的靶基因,双荧光素酶报告基因实验结果证实 MUC16 是 miR-4645-5p 的直接靶点。MUC16 蛋白是一种高度糖基化的跨膜蛋白,其编码基因位于 19p13.2 区域^[22]。MUC16 在多种肿瘤如胰腺癌、卵巢癌、宫颈癌中表达上调,其通过调节各种肿瘤相关的分子信号通路,促进肿瘤细胞的发生、发展^[23-24]。同时,MUC16 蛋白能够识别多种免疫信号,有效促进肿瘤细胞的免疫逃逸。在肿瘤细胞中敲减 MUC16 基因后,肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移能力明显降低^[25]。本研究结果显示,过表达 miR-4645-5p 后,KYSE-30 细胞中 MUC16

蛋白相对表达水平明显降低。以上结果表明 miR-4645-5p 通过调节 MUC16 基因表达参与抑制食管癌的发生和发展。

综上所述,在食管癌组织和细胞系中 miR-4645-5p 呈低表达,过表达 miR-4645-5p 可通过靶向负调控 MUC16 基因抑制食管癌 KYSE-30 细胞的增殖、迁移、侵袭能力和上皮间质转化过程,miR-4645-5p 可能在食管癌的分子诊断和靶向治疗研究中具有重要价值。

参考文献

- [1] BRANCATO V,GARBINO N,MANNELLI L,et al. Impact of radiogenomics in esophageal cancer on clinical outcomes:a pilot study[J]. World J Gastroenterol,2021,27(36):6110-6127.
- [2] CHEN P,LI S,ZHANG K,et al. N(6)-methyladenosine demethylase ALKBH5 suppresses malignancy of esophageal cancer by regulating microRNA biogenesis and RAI1 expression[J]. Oncogene,2021,40(37):5600-5612.
- [3] WANG L,JI X B,WANG L H,et al. MiRNA-30e down-regulation increases cancer cell proliferation,invasion and tumor growth through targeting RPS6KB1 [J]. Aging (Albany NY),2021,13(21):24037-24049.
- [4] WANG J,CHEN Y,WU R,et al. Circular RNA hsa_circ_0000554 promotes progression and elevates radioresistance through the miR-485-5p/fermitin family members 1 axis in esophageal cancer[J]. Anticancer Drugs,2021,32(4):405-416.
- [5] SYLLAIOS A,SAKELLARIOU S,GARMPIS N,et al. The role of miR-101 in esophageal and gastric cancer[J]. Per Med,2021,18(5):491-499.
- [6] YAO W,JIA X,XU L,et al. MicroRNA-2053 involves in the progression of esophageal cancer by targeting KIF3C [J]. Cell Cycle,2021,20(12):1163-1172.
- [7] ZANG H L,JI F J,JU H Y,et al. Circular RNA AKT3 governs malignant behaviors of esophageal cancer cells by sponging miR-17-5p[J]. World J Gastroenterol,2021,27(3):240-254.
- [8] WEN J,WANG G,XIE X,et al. Prognostic value of a four-miRNA signature in patients with lymph node positive locoregional esophageal squamous cell carcinoma undergoing complete surgical resection[J]. Ann Surg,2021,273(3):523-531.
- [9] ZHAO Y,XU L,WANG X,et al. A novel prognostic mRNA/miRNA signature for esophageal cancer and its immune landscape in cancer progression[J]. Mol Oncol,2021,15(4):1088-1109.
- [10] PHATAK P,NOE M,ASRANI K,et al. MicroRNA-141-3p regulates cellular proliferation,migration,and invasion in esophageal cancer by targeting tuberous sclerosis com-

plex 1[J]. *Mol Carcinog*, 2021, 60(2):125-137.

[11] JIN Y, MENG Q, ZHANG B, et al. Cancer-associated fibroblasts-derived exosomal miR-3656 promotes the development and progression of esophageal squamous cell carcinoma via the ACAP2/PI3K-AKT signaling pathway [J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(14):3689-3701.

[12] LI D, YAN M, SUN F, et al. miR-498 inhibits autophagy and M2-like polarization of tumor-associated macrophages in esophageal cancer via MDM2/ATF3 [J]. *Epigenomics*, 2021, 13(13):1013-1030.

[13] FU G, PEI Z, SONG N. Oncogenic microRNA-301b regulates tumor repressor dystrobrevin alpha to facilitate cell growth, invasion and migration in esophageal cancer [J]. *Esophagus*, 2021, 18(2):315-325.

[14] PAN G, LIU Y, SHANG L, et al. EMT-associated microRNAs and their roles in cancer stemness and drug resistance [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41(3):199-217.

[15] LIANG X, ZHANG Z, WANG L, et al. Mechanism of methyltransferase like 3 in epithelial-mesenchymal transition process, invasion, and metastasis in esophageal cancer [J]. *Bioengineered*, 2021, 12(2):10023-10036.

[16] PAN J, ZANG Y. LINC00667 promotes progression of esophageal cancer cells by regulating miR-200b-3p/SLC2A3 axis [J]. *Dig Dis Sci*, 2022, 67(7):2936-2947.

[17] BIAN W, LI Y, ZHU H, et al. miR-493 by regulating of c-Jun targets Wnt5a/PD-L1-inducing esophageal cancer cell development [J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(10):1579-1588.

[18] REN S, TAN X, FU M Z, et al. Downregulation of miR-375 contributes to ERBB2-mediated VEGFA overexpression in esophageal cancer [J]. *J Cancer*, 2021, 12(23):7138-7146.

[19] SONG Q, LIU H, LI C, et al. miR-33a-5p inhibits the progression of esophageal cancer through the DKK1-mediated Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(16):20481-20494.

[20] ZHENG Q, JIA J, ZHOU Z, et al. The emerging role of thymopoietin-antisense RNA 1 as long noncoding RNA in the pathogenesis of human cancers [J]. *DNA Cell Biol*, 2021, 40(7):848-857.

[21] CHEN L, TANG H, LIU G, et al. MicroRNA-196b promotes gastric cancer progression by targeting ECRG4 [J]. *Anticancer Drugs*, 2021, 32(2):127-137.

[22] SHARMA S K, MACK K N, PIERSIGILLI A, et al. ImmunoPET of ovarian and pancreatic cancer with AR9. 6, a novel MUC16-targeted therapeutic antibody [J]. *Clin Cancer Res*, 2022, 28(5):948-959.

[23] THOMAS D, SAGAR S, LIU X, et al. Isoforms of MUC16 activate oncogenic signaling through EGF receptors to enhance the progression of pancreatic cancer [J]. *Mol Ther*, 2021, 29(4):1557-1571.

[24] STASENKO M, SMITH E, YEKU O, et al. Targeting galectin-3 with a high-affinity antibody for inhibition of high-grade serous ovarian cancer and other MUC16/CA-125-expressing malignancies [J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):3718.

[25] SHEN H, GUO M, WANG L, et al. MUC16 facilitates cervical cancer progression via JAK2/STAT3 phosphorylation-mediated cyclooxygenase-2 expression [J]. *Genes Genomics*, 2020, 42(2):127-133.

(收稿日期:2023-04-11 修回日期:2023-10-10)

(上接第 53 页)

血栓弹力图对急性冠脉综合征患者主要心血管不良事件的早期预测价值 [J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2022, 40(3):383-389.

[15] HOU X P, ZHANG Y Y, ZHANG H F, et al. Combination of the barthel index at discharge with GRACE leads to improved one-year mortality prediction in older patients with acute myocardial infarction [J]. *Clin Interv Aging*, 2023, 18:1-11.

[16] LIN X L, SUN H X, LI F Q, et al. Admission high-sensitivity C-reactive protein levels improve the Grace risk score prediction on in-hospital outcomes in acute myocardial infarction patients [J]. *Clin Cardiol*, 2022, 45(3):282-290.

[17] 李娜, 杜莉娟, 常亚伟, 等. 老年冠心病患者颈动脉超声特征与斑块稳定性指标、同型半胱氨酸的相关性 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2022, 14(7):882-884.

[18] GEMA M, CAROLINA G, LORENZO F, et al. Homocysteine and long-term recurrent infarction following an acute coronary syndrome [J]. *Cardiol J*, 2021, 28(4):598-606.

[19] 樊丹丹, 姚芳兰, 屈慧, 等. 同型半胱氨酸预测急性心肌梗死冠脉病变的研究 [J]. *临床急诊杂志*, 2021, 22(4):265-270.

[20] 左惠娟, 杨红霞, 南楠, 等. 青年初发急性心肌梗死患者心肌梗死类型及危险因素变化趋势分析 [J]. *中国循环杂志*, 2021, 36(4):329-334.

(收稿日期:2023-02-22 修回日期:2023-08-10)