

• 论 著 •

微小 RNA-6768-5p 在肺癌组织中的表达及对肺癌细胞恶性生物学行为的影响*

毛万里¹, 胡攀攀^{2△}, 邹纪忠¹, 周耀东³, 刘良文¹

1. 重庆市永川区人民医院肿瘤科, 重庆 402160; 2. 重庆市永川区疾病预防控制中心检验科, 重庆 402160; 3. 上海交通大学附属瑞金医院肿瘤科, 上海 200030

摘要:目的 探讨 miR-6768-5p 在肺癌组织中的表达及通过靶向调控羧肽酶 A4 (CPA4) 对肺癌细胞增殖及侵袭的影响。方法 使用 TCGA 数据库分析肺癌组织和癌旁组织中 miR-6768-5p 的表达, 使用实时定量 PCR (qPCR) 检测人肺癌细胞系 (HCC1588, H1650, H1299, A549, HCC827) 和正常肺泡上皮细胞 (HPAEPiC 细胞) 中 miR-6768-5p 的表达。分别转染 NC mimics、miR-6768-5p mimics 至肺癌细胞, 分别作为 NC 组和 miR-6768-5p 组。使用 MTS 实验、Matrigel 侵袭实验分别检测各组细胞增殖和侵袭能力。使用 RNAhybrid 软件和双荧光素酶报告基因实验验证 miR-6768-5p 和 CPA4 的假定结合位点。qPCR 检测各组细胞中 CPA4 mRNA 的表达。通过 Western blot 分析各组细胞中 AKT/c-MYC 信号通路蛋白的表达情况。结果 与癌旁组织比较, miR-6768-5p 相对表达水平在肺癌组织中明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 HPAEPiC 细胞比较, miR-6768-5p 相对表达水平在肺癌细胞系中明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 NC 组比较, miR-6768-5p 组细胞增殖率明显降低 ($P < 0.05$)。NC 组和 miR-6768-5p 组侵袭细胞数分别为 (131.30 ± 12.55) 个和 (37.45 ± 7.77) 个, miR-6768-5p 组侵袭细胞数明显低于 NC 组 ($P < 0.05$)。miR-6768-5p 组 H1299 细胞内 CPA4 mRNA 相对表达水平明显低于 NC 组 ($t = 4.93, P < 0.05$)。与 NC 组比较, miR-6768-5p 组 AKT/c-MYC 信号通路蛋白 p-AKT、p-mTORC1、XIAP、MDM2、c-MYC 蛋白表达明显降低。结论 肺癌组织中 miR-6768-5p 表达降低, miR-6768-5p 可能通过靶向 CPA4, 抑制 AKT/c-MYC 信号通路激活, 降低肺癌 H1299 细胞的增殖和侵袭能力。

关键词: miR-6768-5p; 肺癌; 羧肽酶 A4; AKT/c-MYC 信号通路

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2024.04.002

中图法分类号: R734.2

文章编号: 1673-4130(2024)04-0392-06

文献标志码: A

Expression of microRNA-6768-5p in lung cancer tissue and its effect on malignant biological behavior of lung cancer cells*

MAO Wanli¹, HU Panpan^{2△}, ZOU Jizhong¹, ZHOU Yaodong³, LIU Liangwen¹

1. Department of Oncology, People's Hospital of Yongchuan District, Chongqing 402160, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Center for Disease Control and Prevention,

Yongchuan District, Chongqing 402160, China; 3. Department of Oncology, Ruijin

Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China

Abstract: **Objective** To investigate the expression of miR-6768-5p in lung cancer tissue and its effect on the proliferation and invasion of lung cancer cells through targeted regulation of carboxypeptidase A4 (CPA4). **Methods** The expression of miR-6768-5p in lung cancer tissues and adjacent tissues was analyzed using the TCGA database. Quantitative real-time PCR (qPCR) was used to detect the expression of miR-6768-5p in human lung cancer cell lines (HCC1588, H1650, H1299, A549, HCC827) and normal alveolar epithelial cells (HPAEPiC cells). Lung cancer cells were transfected with NC mimics and miR-6768-5p mimics, respectively, and divided into NC group and miR-6768-5p group. The MTS assay and Matrigel invasion assay were used to detect the cell proliferation and invasion ability of each group, respectively. The putative binding sites of miR-6768-5p and CPA4 were verified using RNAhybrid software and dual-luciferase reporter gene experiment. The expression of CPA4 mRNA in each group of cells was detected by qPCR. The expression of AKT/

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (81902310)。

作者简介: 毛万里, 男, 副主任医师, 主要从事肿瘤研究。△ 通信作者, E-mail: pdqzmwl@163.com。

c-MYC signaling pathway proteins in the cells of each group was analyzed by Western blot. **Results** Compared with the adjacent tissues, the relative expression level of miR-6768-5p in lung cancer tissues was significantly decreased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with HPAEpiC cells, the relative expression level of miR-6768-5p was significantly decreased in lung cancer cell lines, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). Compared with the NC group, the cell proliferation rate of miR-6768-5p group was significantly decreased ($P < 0.05$). The number of invasive cells in NC group and miR-6768-5p group was (131.30 ± 12.55) and (37.45 ± 7.77) , respectively, and the number of invasive cells in miR-6768-5p group was significantly lower than that in NC group ($P < 0.05$). The relative expression level of CPA4 mRNA in H1299 cells of miR-6768-5p group was significantly lower than that in NC group ($t = 4.93$, $P < 0.05$). Compared with the NC group, the expressions of AKT/c-myc signaling pathway proteins p-AKT, p-mTORC1, XIAP, MDM2 and C-myc proteins in miR-6768-5p group were significantly decreased. **Conclusion** The expression of miR-6768-5p is decreased in lung cancer tissues, and miR-6768-5p may inhibit the activation of AKT/c-MYC signaling pathway by targeting CPA4, and reduce the proliferation and invasion ability of lung cancer H1299 cells.

Key words: miR-6768-5p; lung cancer; carboxypeptidase A4; AKT/c-MYC signaling pathway

肺癌是一种由多个基因异常表达诱发的肺部恶性肿瘤,肺癌细胞具有较强的增殖活力和侵袭特性^[1]。肺癌患者的预后往往较差,患者 5 年生存率较低^[2-3]。因此,在基因水平上探究新的分子治疗靶点是肺癌防治研究的重点。微小 RNA(miRNA)是一类小非编码 RNA,能够降解靶基因转录本或者干扰靶基因 mRNA 的翻译,从而负调控靶基因在细胞中的表达^[4]。越来越多的 miRNA 被证明在喉癌、胆管癌、胸腺瘤等肿瘤组织中表达上调或下调,是调节肿瘤细胞分化、增殖、死亡等生物学行为的重要遗传分子^[5-7]。miR-6768-5p 是 miRNA 家族的一员,由 23 个核苷酸组成,仅有研究表明 miR-6768-5p 能够影响胎盘滋养层细胞的转移相关^[8]。miR-6768-5p 在肿瘤细胞中的功能和确切调控机制并不明确。本研究分析了 miR-6768-5p 在肺癌组织和肺癌细胞系中的表达,观察 miR-6768-5p 对肺癌细胞增殖和侵袭的作用,探讨其对靶基因的调控作用,以期对肺癌治疗提供有效的靶点。

1 材料与方法

1.1 标本来源 肺癌细胞系(HCC1588、H1650、H1299、A549、HCC827)和正常肺泡上皮细胞(HPA-EpiC 细胞)购自复旦大学细胞培养中心;Matrigel 基质胶、NC mimics、miR-6768-5p mimics 购自美国 Promega 公司;RPMI-1640 培养基和 DMEM 培养基购自美国 Abcam 公司;CPA4 野生型载体、CPA4 突变型载体购自山东致圣生物科技有限公司;胎牛血清、MTS 检测试剂盒购自美国 Cell Signaling Technology 公司;实时定量 PCR(qPCR)试剂盒及其引物购自上海碧云天生物科技有限公司;Transwell 小室购自南京诺唯赞生物科技有限公司;一抗 p-AKT、p-mTORC1、XIAP、 α -tubulin、MDM2、c-MYC 购自美

国 Sigma 公司;双荧光素酶报告基因实验试剂盒、TurboFect 转染试剂购自美国 Thermo Scientific 公司。

1.2 生物信息学技术 使用 TCGA 数据库在线分析 miR-6768-5p 在肺癌组织和癌旁组织中的表达情况,肺癌患者男 109 例,女 47 例,年龄为 45~87 岁。使用 RNAhybrid 软件预测 miR-6768-5p 和 CPA4 的假定结合位点。

1.3 细胞培养和转染 使用含 12% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养人肺癌细胞 HCC1588、H1650、H1299、HCC827,使用含 12% 胎牛血清的高糖 DMEM 培养基培养 A549 和 HPAEpiC 细胞,在 37 °C、5%CO₂ 环境下培养。对肝癌 H1299 细胞进行转染,按照说明书采用 TurboFect 转染试剂将 NC mimics、miR-6768-5p mimics 转染 H1299 细胞,分为 NC 组和 miR-6768-5p 组。

1.4 qPCR 分析 miR-6768-5p 和 CPA4 mRNA 表达 采用 Trizol 试剂裂解提取相应细胞总 RNA,按照说明书使用反转录试剂盒生成 cDNA。采用甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)基因或 U6 为内参基因,使用 qPCR 试剂盒对 miR-6768-5p 和 CPA4 mRNA 表达进行检测。反应条件:94 °C 预变性 8 min,94 °C 变性 40 s,59 °C 退火 26 s,73 °C 延伸 16 s,共 38 个循环。miR-6768-5p 和 CPA4 mRNA 相对表达量以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值表示。引物序列如下,miR-6768-5p 上游引物:5'-ACACTCCAGCTGGGCACACAGGAAAAGC GGGGC-3',下游引物 5'-CTCAACTGGTGTCTGTG-GAGTCGGCAATTCAGTTGAGCAGGGCCCCG-3'; GAPDH 上游引物:5'-CGGAGTCAACGGATTTG GTCTGAT-3',下游引物 5'-AGCCTTCTCCATG-GTGGTGAAGAC-3'; U6 上游引物:5'-CTCGCT-

TCGGCAGCACA-3', 下游引物 5'-AACGCTTCA CGAATTTGCGT-3'; CPA4 上游引物: 5'-AGGTG- GATACTGTTCATTGGGG-3', 下游引物 5'-TTG CTGATCTCGTCTCCATTTC-3'。

1.5 MTS 实验检测细胞的增殖能力 NC 组和 miR-6768-5p 组细胞采用胰蛋白酶消化、重悬后接种在 96 孔板, 每组设 4 个复孔, 细胞密度为 4 000 个/孔, 细胞培养 12、24、36、48、60 h, 根据 MTS 试剂盒说明书, 每孔加 40 μ L 的 MTS 试剂, 培养箱内反应 3.5 h, 采用酶联免疫检测仪对每孔的吸光度值进行检测, 激发波长为 570 nm, 吸光度值代表细胞增殖率。

1.6 Matrigel 侵袭实验检测 H1299 细胞侵袭能力 用不含血清的培养基稀释 Matrigel 基质胶, 均匀加在 Transwell 上室底部, 待胶凝固。NC 组和 miR-6768-5p 组细胞采用胰蛋白酶消化、重悬后接种在小室上层, 小室下层添加 720 μ L 含 15% 胎牛血清的培养基作为诱导, 常规培养 23 h。取 Transwell 滤膜并擦除表面细胞, 2% 多聚甲醛溶液固定, 0.7% 结晶紫染色。倒置显微镜下随机选 7 个视野拍照、记录统计。

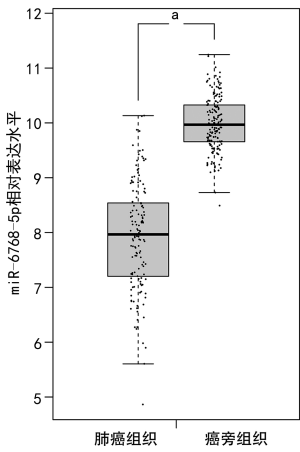
1.7 双荧光素酶报告实验检测 miR-6768-5p 对 CPA4 的靶向性 用 TurboFect 转染试剂将 NC mimics、miR-6768-5p mimics 分别与 CPA4 野生型载体、CPA4 突变型载体共转染 H1299 细胞, 转染 49 h 后, 按照说明书使用双荧光素酶报告基因检测系统裂解各组 H1299 细胞, 检测分析萤火虫荧光素酶活性和海肾荧光素酶活性。

1.8 Western blot 检测两组 H1299 细胞 AKT/c-MYC 信号通路蛋白表达 收集 NC 组和 miR-6768-5p 组细胞样本, 通过蛋白提取试剂盒提取蛋白, 制备变性蛋白样品, 进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜至聚偏二氟乙烯膜。在含有 7% 牛血清白蛋白的封闭液中封闭 1.5 h, 加入不同浓度一抗, 8 $^{\circ}$ C 孵育 9.0 h。加入 TBST 缓冲液洗膜 2 次, 加入适宜浓度二抗, 孵育 2.5 h, 在 Smart View 凝胶成像系统中拍照分析。

1.9 统计学处理 通过 GraphPad Prism 6.0 软件分析数据并作图, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两样本比较采用 *t* 检验, 两个以上样本比较采用单因素方差分析。 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

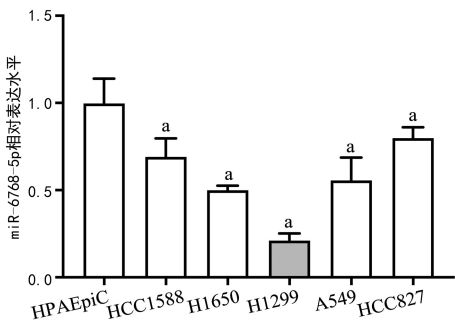
2 结 果

2.1 miR-6768-5p 在肺癌组织和肺癌细胞系中的表达 TCGA 数据库在线分析表明, 与癌旁组织比较, miR-6768-5p 相对表达水平在肺癌组织中明显降低, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见图 1。与 HPAEpiC 细胞比较, miR-6768-5p 相对表达水平在肺癌细胞系中明显降低, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05)。见图 2。



注: 与癌旁组织比较, ^a*P* < 0.05。

图 1 肺癌组织、癌旁组织中 miR-6768-5p 相对表达水平比较

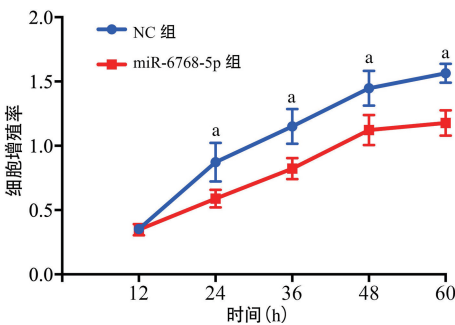


注: 与 HPAEpiC 细胞比较, ^a*P* < 0.05。

图 2 HPAEpiC 细胞和肺癌细胞系中 miR-6768-5p 相对表达水平比较

2.2 H1299 细胞的转染效率 NC 组和 miR-6768-5p 组细胞中 miR-6768-5p 相对表达水平分别为 1.06 ± 0.25 和 12.27 ± 1.89 , miR-6768-5p 组 miR-6768-5p 相对表达水平较 NC 组明显升高, 差异有统计学意义 (*t* = 5.89, *P* < 0.05)。

2.3 miR-6768-5p 对 H1299 细胞增殖的影响 与 NC 组比较, miR-6768-5p 组 H1299 细胞增殖率在 24、36、48、60 h 明显降低 (*t* = 2.97、3.59、3.13、5.42, *P* < 0.05)。见图 3。

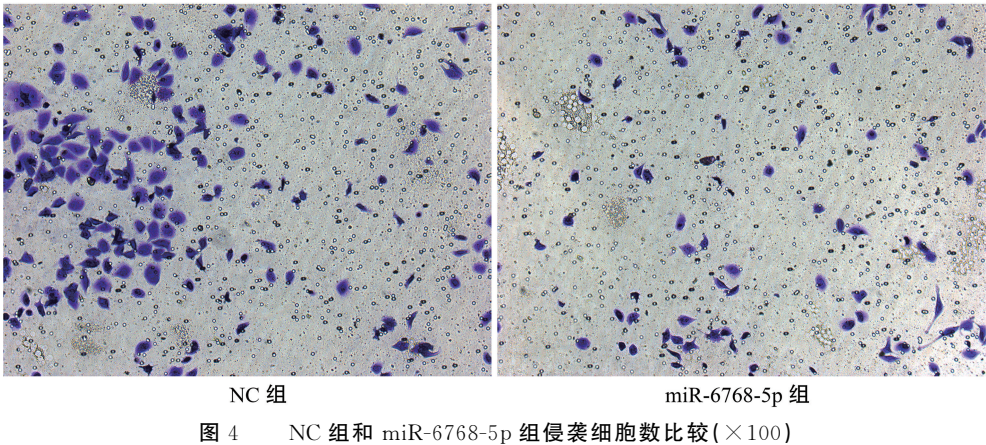


注: 与 NC 组比较, ^a*P* < 0.05。

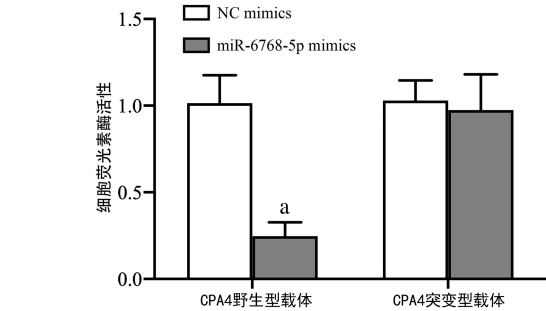
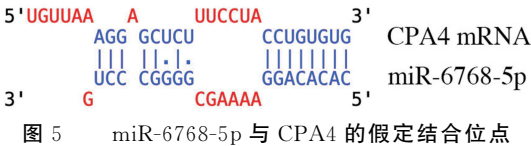
图 3 miR-6768-5p 对 H1299 细胞增殖的影响

2.4 miR-6768-5p 对 H1299 细胞侵袭的影响 NC 组和 miR-6768-5p 组侵袭细胞数分别为 $(109.80 \pm$

14.71)个和(60.42±4.35)个,与 NC 组比较,miR-6768-5p 组侵袭细胞数明显减少($t=3.22,P<0.05$)。见图 4。



2.5 miR-6768-5p 对 CPA4 mRNA 的靶向性 使用 RNAhybrid 软件预测 miR-6768-5p 与 CPA4 的假定结合位点。见图 5。双荧光素酶报告实验结果表明,转染 miR-6768-5p mimics 后,与 NC mimics 比较,转染 CPA4 野生型载体的 H1299 细胞中荧光素酶活性降低($t=8.50,P<0.05$),而 miR-6768-5p 在 CPA4 突变型载体中的作用消失($t=0.46,P>0.05$)。见图 6。



注:与 NC mimics 比较,^a $P<0.05$ 。
图 6 miR-6768-5p 对 CPA4 mRNA 的靶向性

2.6 miR-6768-5p 对 CPA4 mRNA 表达的影响 miR-6768-5p 组和 NC 组 H1299 细胞内 CPA4 mRNA 相对表达水平分别为(5.64±0.92)和(1.04±0.14),miR-6768-5p 组 H1299 细胞内 CPA4 mRNA 相对表达水平明显低于 NC 组($t=4.93,P<0.05$)。

2.7 miR-6768-5p 对 H1299 细胞 AKT/c-MYC 信号通路蛋白表达的影响 与 NC 组比较,miR-6768-5p 组 H1299 细胞中 AKT/c-MYC 信号通路蛋白 p-AKT、p-mTORC1、XIAP、MDM2、c-MYC 表达明显降低。见图 7。

图 7 miR-6768-5p 对 H1299 细胞 AKT/c-MYC 信号通路蛋白表达的影响

3 讨 论

肺癌是肺部最常见的恶性肿瘤,其高度的增殖性和侵袭性造成肺癌的临床治疗困难,肺癌患者病死率较高^[9-10]。miRNA 广泛表达于人体组织细胞中,参与细胞的增殖、肌动蛋白骨架的形成^[11]。据研究报道,很多 miRNA 与肺癌的发生、发展有关,与肿瘤级别、血管重建、耐药性等具有相关性^[12]。WANG 等^[13]报道,肺癌患者血清外泌体中 miR-141 表达上调,外泌体 miR-141 不仅能够促进肺癌细胞系 A549 的迁移和侵袭,而且能够加速肺癌细胞的增殖和血管生成。MOHAMMADI 等^[14]报道,肺癌组织低水平表达 miR-330 预示患者预后不良,恢复肺癌细胞中 miR-330 的表达能够降低肺癌细胞活力、增加凋亡细胞比例、导致 G₂/M 细胞周期停滞,并抑制细胞迁移。miR-6768-5p 由 miR-6768 剪切而成,其基因定位在 16 号染色体。有研究报道,miR-6768-5p 在胎儿生长受限胎盘中表达明显上调,能够促进细胞的迁移和侵袭^[8]。miR-6768-5p 在肺癌中的表达和作用尚不清楚。

本研究采用 TCGA 数据库分析肺癌组织中 miR-6768-5p 的表达情况,与癌旁组织比较,miR-6768-5p

相对表达水平在肺癌组织中明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与 HPAEpiC 细胞比较,miR-6768-5p 相对表达水平在肺癌细胞系中明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),提示 miR-6768-5p 在肺癌中可能具有抑癌作用。本研究结果显示,过表达 miR-6768-5p 能够抑制肺癌 H1299 细胞的增殖和侵袭,miR-6768-5p 可能是肺癌的重要治疗靶点。miRNA 通过竞争性结合靶基因 mRNA,在转录后水平发挥 RNA 沉默效应^[15-16]。miRNA 以不完全碱基配对的方式与靶基因 mRNA 结合,负向调控基因的表达,miRNA 和靶基因 mRNA 之间的作用对细胞的生长非常重要^[17-19]。本研究通过 RNAhybrid 软件和双荧光素酶报告基因系统检测证实,miR-6768-5p 和 CPA4 mRNA 存在不完全配对的结合位点,提示 CPA4 可能是 miR-6768-5p 的潜在靶基因。CPA4 蛋白属于羧肽酶家族成员,其编码基因定位在人染色体 7q32,能够水解其他蛋白或多肽^[20]。CPA4 在多种肿瘤中表达显著升高,与肿瘤的恶性程度及患者生存期直接相关,能够调节肿瘤细胞的增殖、上皮间充质转化和干细胞特征^[21-23]。另一项研究表明,CPA4 蛋白在肺癌组织中高表达,表达越高的肺癌患者临床分期越高,且生存时间越短;沉默 CPA4 基因表达可在体外和体内抑制肺癌细胞的生长^[24]。本研究结果发现,过表达 miR-6768-5p 能够显著抑制 CPA4 基因的表达,提示 miR-6768-5p 可能通过抑制 CPA4 来调控肺癌 H1299 细胞的增殖和侵袭。AKT/c-MYC 信号通路在肺癌组织中过度激活,在肺癌的增殖和侵袭过程中发挥关键作用,与肺癌的发生和发展显著相关^[25]。研究报道,CPA4 通过激活 AKT/c-MYC 信号通路,促进肺癌细胞的生长和恶性进展^[24]。本研究发现,过表达 miR-6768-5p 后,肺癌 H1299 细胞中 AKT/c-MYC 信号通路蛋白表达水平显著降低。

综上所述,miR-6768-5p 在肺癌组织中低表达,其可能通过靶向 CPA4 干扰 AKT/c-MYC 信号通路的激活,从而抑制肺癌 H1299 细胞的增殖和侵袭。

参考文献

[1] SUN X, YI J, YANG J, et al. An integrated epigenomic-transcriptomic landscape of lung cancer reveals novel methylation driver genes of diagnostic and therapeutic relevance[J]. *Theranostics*, 2021, 11(11): 5346-5364.

[2] AMIRI A, POURHANIFEH M H, MIRZAEI H R, et al. Exosomes and lung cancer: roles in pathophysiology, diagnosis and therapeutic applications[J]. *Curr Med Chem*, 2021, 28(2): 308-328.

[3] ZHAO M, FENG J, TANG L. Competing endogenous RNAs in lung cancer[J]. *Cancer Biol Med*, 2021, 18(1): 1-20.

[4] EL FOUNINI Y, CHAOUI I, DEHBI H, et al. MicroRNAs: key regulators in lung cancer[J]. *Microna*, 2021, 10(2): 109-122.

[5] DAVENPORT M L, ECHOLS J B, SILVA A D, et al. miR-31 displays subtype specificity in lung cancer[J]. *Cancer Res*, 2021, 81(8): 1942-1953.

[6] KANTHAJE S, BAIKUNJE N, KANDAL I, et al. Repertoires of microRNA-30 family as gate-keepers in lung cancer[J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2021, 13(2): 141-156.

[7] ZHANG J, HAN L, YU J, et al. miR-224 aggravates cancer-associated fibroblast-induced progression of non-small cell lung cancer by modulating a positive loop of the SIRT3/AMPK/mTOR/HIF-1 α axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(7): 10431-10449.

[8] WANG H, ZHANG J, XU Z, et al. Circular RNA hsa_circ_0000848 promotes trophoblast cell migration and invasion and inhibits cell apoptosis by sponging hsa-miR-6768-5p[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8(1): 278.

[9] SOOFIYANI S R, HOSSEINI K, SOLEIMANIAN A, et al. An overview on the role of miR-451 in lung cancer: diagnosis, therapy, and prognosis[J]. *Microna*, 2021, 10(3): 181-190.

[10] YU Y, MAO L, CHENG Z, et al. A novel regQTL-SNP and the risk of lung cancer: a multi-dimensional study[J]. *Arch Toxicol*, 2021, 95(12): 3815-3827.

[11] WANG C, FENG Y, LI B, et al. CircRNAs in lung-intestinal axis cancer[J]. *Curr Mol Med*, 2021, 21(4): 291-299.

[12] WANG F, GU T, CHEN Y, et al. Long non-coding RNA SOX21-AS1 modulates lung cancer progress upon microRNA miR-24-3p/PIM2 axis[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 6724-6737.

[13] WANG W, HONG G, WANG S, et al. Tumor-derived exosomal miRNA-141 promote angiogenesis and malignant progression of lung cancer by targeting growth arrest-specific homeobox gene (GAX)[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 821-831.

[14] MOHAMMADI A, MANSOORI B, DUIJF P H G, et al. Restoration of miR-330 expression suppresses lung cancer cell viability, proliferation, and migration[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(1): 273-283.

[15] LIU Q, CAO G, WAN Y, et al. Hsa_circ_0001073 targets miR-626/LIFR axis to inhibit lung cancer progression[J]. *Environ Toxicol*, 2021, 36(6): 1052-1060.

[16] YING X, MA N, ZHANG X, et al. Research progress on the molecular mechanisms of hepatic metastasis in lung cancer: a narrative review[J]. *Ann Palliat Med*, 2021, 10(4): 4806-4822.

[17] TANG J, LI X, CHENG T, et al. miR-21-5p/SMAD7 axis promotes the progress of lung cancer[J]. *Thorac Cancer*, 2021, 12(17): 2307-2313.

- Cardiol, 1983, 51(3):606.
 - [7] CUTLIP D E, WINDECKER S, MEHRAN R, et al. Clinical end points in coronary stent trials: A case for standardized definitions[J]. Circulation, 2007, 115(17): 2344-2351.
 - [8] MCKIE P M, BURNETT J C. NT-proBNP: the gold standard biomarker in heart failure[J]. J Am Coll Cardiol, 2016, 68(22): 2437-2439.
 - [9] NISHIKIMI T, NAKAGAWA Y. Potential pitfalls when interpreting plasma BNP levels in heart failure practice[J]. J Cardiol, 2021, 78(4): 269-274.
 - [10] STĂTESCU C, ANGHEL L, TUDURACHI B S, et al. From classic to modern prognostic biomarkers in patients with acute myocardial infarction[J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(16): 9168.
 - [11] MANN D L. Inflammatory mediators and the failing heart: past, present, and the foreseeable future[J]. Circ Res, 2002, 91(11): 988-998.
 - [12] MEZZASOMA L, TALESA V N, ROMANI R, et al. ANP and BNP exert anti-inflammatory action via NPR-1/cGMP axis by interfering with canonical, non-canonical, and alternative routes of inflammasome activation in human THP1 cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 22(1): 24.
 - [13] LIN C W, ZENG X L, JIANG S H, et al. Role of the NT-proBNP level in the diagnosis of pediatric heart failure and investigation of novel combined diagnosis criteria[J]. Exp Ther Med, 2013, 6(4): 995-999.
 - [14] SHEN S, YE J, WU X, et al. Association of N-terminal pro-brain natriuretic peptide level with adverse outcomes in patients with acute myocardial infarction: a meta-analysis[J]. Heart Lung, 2021, 50(6): 863-869.
 - [15] HE W F, JIANG L, CHEN Y Y, et al. The association of baseline N-terminal pro-B-type natriuretic peptide with short and long-term prognosis following percutaneous coronary intervention in non-ST segment elevation acute coronary syndrome with multivessel coronary artery disease: a retrospective cohort study[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2021, 21(1): 202.
 - [16] WANG J L, GUO C Y, LI H W, et al. Prognostic value of NT-proBNP in patients with successful PCI for ACS and normal left ventricular ejection fraction[J]. Am J Med Sci, 2022, 363(4): 333-341.
 - [17] PARK B E, LEE J H, KIM H J, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide and coronary collateral formation in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention[J]. Heart Vessels, 2021, 36(12): 1775-1783.
 - [18] KONTOS M C, LANFEAR D E, GOSCH K, et al. Prognostic value of serial N-Terminal pro-brain natriuretic peptide testing in patients with acute myocardial infarction[J]. Am J Cardiol, 2017, 120(2): 181-185.
 - [19] CHEN S, ZHOU Y, WU X, et al. The value of echocardiography combined with NT-pro BNP level in assessment and prognosis of diastolic heart failure[J]. Comput Math Methods Med, 2022, 2022(1): 2102496.
 - [20] BELTOWSKI J. Short-term follow-up BNP level and risk stratification after myocardial infarction[J]. Int J Cardiol, 2019, 291(1): 173-174.
 - [21] LIU R F, ZHAO H Q, WU S S, et al. Incomplete protective effect of coronary collateral circulation for acute myocardial infarction patients[J]. Medicine, 2020, 99(43): e22750.
- (收稿日期: 2023-06-08 修回日期: 2024-01-09)
-
- (上接第 396 页)
- [18] ZHAO F, ZHAO Z, HAN Y, et al. Baicalin suppresses lung cancer growth phenotypes via miR-340-5p/NET1 axis[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 1699-1707.
 - [19] XUN J, DU L, GAO R, et al. Cancer-derived exosomal miR-138-5p modulates polarization of tumor-associated macrophages through inhibition of KDM6B[J]. Theranostics, 2021, 11(14): 6847-6859.
 - [20] YAN P, LYU X, WANG S, et al. Insufficient ablation promotes the metastasis of residual non-small cell lung cancer (NSCLC) cells via upregulating carboxypeptidase A4[J]. Int J Hyperthermia, 2021, 38(1): 1037-1051.
 - [21] WANG Y, XIE Y, NIU Y, et al. Carboxypeptidase A4 negatively correlates with p53 expression and regulates the stemness of breast cancer cells[J]. Int J Med Sci, 2021, 18(8): 1753-1759.
 - [22] WEI C, ZHOU Y, XIONG Q, et al. Comprehensive analysis of CPA4 as a poor prognostic biomarker correlated with immune cells infiltration in bladder cancer[J]. Biology (Basel), 2021, 10(11): 1143.
 - [23] ZHANG H, HAO C, WANG H, et al. Carboxypeptidase A4 promotes proliferation and stem cell characteristics of hepatocellular carcinoma[J]. Int J Exp Pathol, 2019, 100(2): 133-138.
 - [24] FU Y, SU L, CAI M, et al. Downregulation of CPA4 inhibits non small-cell lung cancer growth by suppressing the AKT/c-MYC pathway[J]. Mol Carcinog, 2019, 58(11): 2026-2039.
 - [25] WEI C, DONG X, LU H, et al. LPCAT1 promotes brain metastasis of lung adenocarcinoma by up-regulating PI3K/AKT/MYC pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 95.
- (收稿日期: 2023-04-21 修回日期: 2024-01-10)