

DNMT1 在口腔鳞状细胞癌中的表达及作用机制研究

邹浩冬¹, 杨飞¹, 张莞嫣¹, 王拓¹, 邱亚², 吴艳¹

(川北医学院附属医院, 1. 口腔科; 2. 医学研究中心, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 探讨 DNMT1 在口腔鳞癌中的表达情况及其对口腔鳞癌细胞增殖、迁移及侵袭的影响。**方法:** 通过 GEPIA2 数据库分析泛癌中 DNMT1 表达情况; 采用 RT-qPCR、Western blot 检测人口腔上皮角化细胞 HOK 及口腔鳞状细胞癌细胞系 HSC3、SAS 中 DNMT1 的表达水平; 采用 shRNA 慢病毒敲低 HSC3、SAS 细胞中 DNMT1 并用 RT-qPCR、Western blot 检测 sh DNMT1 转染效率; 采用 CCK-8、平板克隆实验检测敲低 DNMT1 对 HSC3、SAS 细胞增殖的影响; 采用细胞划痕、Transwell 实验检测敲低 DNMT1 对 HSC3、SAS 细胞迁移、侵袭的影响。**结果:** 与 HOK 相比, HSC3、SAS 细胞中 DNMT1 的 mRNA 及蛋白表达量均较高 ($P < 0.05$); 敲低 DNMT1 后, HSC3、SAS 细胞的增殖、迁移及侵袭能力均降低 ($P < 0.05$)。**结论:** DNMT1 在口腔鳞状细胞癌细胞中高表达, 且可促进口腔鳞状细胞癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

【关键词】 口腔鳞状细胞癌; DNMT1; 增殖; 迁移; 侵袭

【中图分类号】 R739.8 **【文献标志码】** A

Expression and mechanism of DNMT1 in oral squamous cell carcinoma

ZOU Hao-dong¹, YANG Fei¹, ZHANG Wan-yan¹, WANG Tuo¹, QIU Ya², WU Yan¹

(1. Department of Stomatology; 2. Medical Research Center, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】Objective: To investigate the expression of DNMT1 in oral squamous cell carcinoma, and to explore its effect on cell proliferation, migration, and invasion. **Methods:** The GEPIA2 database was used to analyze the expression of DNMT1 in pan-cancers. RT-qPCR and Western Blot were used to detect the expression of DNMT1 in oral epithelial cell lines HOK, HSC3 and SAS. The shRNA lentivirus was used to knock down DNMT1 in HSC3 and SAS cells, and RT-qPCR and Western Blot were used to detect the knockdown efficiency of sh DNMT1. The effects of DNMT1 knockdown on the proliferation of HSC3 and SAS cells were detected by CCK-8 and plate cloning assay, and the effects of DNMT1 knockdown on the migration and invasion of HSC3 and SAS cells were detected by wound healing and Transwell assay. **Results:** DNMT1 mRNA and protein expressions in HSC3 and SAS cells were higher than in HOK cells ($P < 0.05$). After DNMT1 knockdown, the proliferation, migration and invasion of HSC3 and SAS cells were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion:** DNMT1 is highly expressed in oral squamous cell carcinoma cells and can promote the proliferation, migration and invasion of oral squamous cell carcinoma cells.

【Key words】 Oral squamous cell carcinoma; DNMT1; Proliferation; Migration; Invasion

头颈部鳞状细胞癌 (head and neck squamous cell carcinoma, HNSCC) 是全球第六大常见恶性肿瘤, 口腔鳞状细胞癌 (oral squamous cell carcinoma, OSCC) 是 HNSCC 中最常见的肿瘤类型, 发病率占 HNSCC 发病率的 90%^[1-2], 据 2020 年全球癌症统计^[3], 2020 年全世界新增口腔癌 37.7 万例, 死亡新增 17.7 万例, 近 20 年来口腔鳞癌总体 5 年生存率不足 50%^[4-7]。在过去的几十年中, 虽然国内外学者不断探索口腔鳞癌治疗的新思路和新方法, 但病死率仍居高不下, 且发病率还逐年升高, 因此对口腔

鳞癌发生、发展的潜在机制的探索及对新的诊断方式、治疗靶点的寻找十分重要。表观遗传修饰是调节基因表达而不改变 DNA 序列本身的过程, 越来越多的研究发现其与肿瘤发生和发展息息相关, DNA 甲基化是表观遗传修饰的重要表现形式, DNA 甲基化酶 1 (DNMT1) 是负责 DNA 甲基化模式精确复制和维护的关键酶, 抑癌基因 (tumor suppressor genes, TSG) 的频繁高甲基化促进肿瘤的发展, 目前 DNMT1 已在多种肿瘤中检测到高表达并与肿瘤的发生发展、预后及耐药性都存在密切相关性, 如食管

基金项目: 川北医学院附属医院科研发展计划项目 (2023JC048); 川北医学院国际教育交流学院 2023 年度来华留学生教学工程建设项目 (ISJG2023-14); 川北医学院校级科研发展项目 (CBY22-QNA65)

作者简介: 邹浩冬 (1998-), 女, 住院医师。E-mail: 1357765508@qq.com

通讯作者: 吴艳。E-mail: 530742026@qq.com

癌、下咽癌、胰腺癌、乳腺癌和膀胱癌等^[8-10],因此通过阻断 DNMTs 来去甲基化 DNA 是一种潜在的治疗策略。然而目前关于 DNMT1 在口腔鳞癌中的作用的鲜有报道。本研究旨在探讨 DNMT1 在口腔鳞癌中的表达情况及其对口腔鳞癌细胞增殖、迁移及侵袭的影响。

1 材料与方法

1.1 主要实验材料与试剂

胎牛血清(FBS)、双抗生素(青霉素和链霉素)、胰酶(EDTA)(以色列 BI 公司);DMEM 培养基、MEM 培养基、F-12 培养基(Vivacell 公司);shRNA 干扰 DNMT1 (sh-DNMT1) 和 sh-NC(阴性对照)序列(美国 GeneCopoeia 公司)设计合成;Matrigel 胶、Transwell 小室(美国 Corning 公司);一抗 DNMT1、 β -actin(Affinity 公司);兔二抗(菲恩公司);BCA 蛋白浓度测试试剂盒、嘌呤酶素、RIPA 裂解液、PVDF 膜(索莱宝公司);CCK-8 试剂盒、PCR 逆转录及 qPCR 试剂盒(诺唯赞公司)。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析 GEPIA2 (Gene Expression Profiling Interactive Analysis 2; gepia2.cancer-pku.cn/)是一个能对癌症基因组图谱(The Cancer Genome Atlas, TCGA)和基因型组织表达数据集(The Genotype-tissue Expression, GTEx)来源的共 9 736 个肿瘤和 8 587 个健康样本 RNA 序列进行数据分析的数据库。本研究利用该平台分析 DNMT1 在泛癌及 HNSC 癌组织和正常组织中的表达差异。

1.2.2 细胞培养 分别用 MEM 完全培养基(含 20% FBS 及 1% 双抗)、DMEM 完全培养基(含 10% FBS 及 1% 双抗)、F-12 完全培养基(含 20% FBS 及 1% 双抗)于 37 °C 和 5% CO₂ 培养箱中培养人口腔上皮角化细胞 HOK、口腔鳞癌细胞 HSC3 及口腔鳞癌细胞 SAS。当细胞汇合率达 70% 左右,用 EDTA 消化细胞,离心,弃上清液,收集细胞,清洗,重悬,传代细胞。细胞长至 70% ~ 80% 左右,分组,细胞慢病毒感染,提取总 RNA 或总蛋白。

1.2.3 DNMT1 基因干扰感染、分组及筛选 取对数生长期的 HSC3、SAS 细胞以每孔 4.75×10^5 个接种于 6 孔板,分为 3 组:未经慢病毒感染处理的空白对照组(control 组);感染无序列的慢病毒的阴性对照组(sh-NC 组);感染敲低 DNMT1 慢病毒的敲低组(sh-DNMT1 组)。次日根据分组加入 sh-NC 及 sh-DNMT1 慢病毒,感染 12 ~ 16 h 后吸去含慢病毒的培养液,重新添加含 FBS 的培养基继续培养。2 d 后在倒置荧光显微镜观察荧光,随后用嘌呤酶素筛

选稳定感染株。感染序列:sh-NC: Forward: 5'-TA-ATACGACTCACTATAGGG-3', Reverse: 5'-CTGGAAT-AGCTCAGAGGC-3'; sh-DNMT1: Forward: 5'-TAATAC-GACTCACTATAGGG-3', Reverse: 5'-CTGGAAT-AGCTCAGAGGC-3',以上序列由 GeneCopoeia 公司设计、合成。

1.2.4 实时荧光定量 PCR(RT-qPCR) 采用 Trizol 法提取 HOK、HSC3、SAS 细胞的总 RNA 并检测浓度和纯度,按逆转录试剂盒逆转录成 cDNA 后进行 RT-qPCR 反应。同时,采用 RT-qPCR 检测 HSC3 及 SAS sh-NC、sh-DNMT1 组细胞的 DNMT1 mRNA 表达量差异以确定转染效率。每组设置 3 个复孔,并进行了 3 次独立实验。以 β -actin 为内参,检测 DNMT1 基因的表达,由生工生物设计合成。见表 1。

表 1 引物序列

引物	序列(5' to 3')
DNMT1	上游:AGA ACG GTG CTC ATG CTT ACA
	下游:CTC TAC GGG CTT CAC TTC TTG
β -actin	上游:CCT TAC TGG GCA TGG AGT C
	下游:TGA TCT TCA TTG TGC TGG GTG

1.2.5 Western blot(WB) 收集 HOK、HSC3、SAS 细胞后,用 RIPA 裂解法提取总蛋白,BCA 法测蛋白浓度。进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白(75 V 电泳 30 min 后 120 V 电泳 60 min),将蛋白转至 PVDF 膜上(250 mA/120 min),用快速封闭液室温下封闭 20 min,加入一抗 DNMT1(1:1 000)、 β -actin(1:5 000)4 °C 冰箱孵育过夜,1 × TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,加入二抗,室温孵育 1 h,再次洗膜 3 次后用 ECL 超敏显色液显影。同时,提取 HSC3 及 SAS 的 sh-NC、sh-DNMT1 组细胞的总蛋白进行蛋白免疫印迹实验以确定 sh DNMT1 敲低效率。用 Image J 软件计算条带灰度,分析目的蛋白相对表达量。

1.2.6 CCK-8 实验 收集 HSC3、SAS 感染 sh-NC、sh-DNMT1 组细胞,将细胞以 3 000 个/孔接种至 96 孔板中,每孔体积 100 μ L,摇匀后放入细胞培养箱中培养。细胞贴壁后,设置培养时间 0、1、2、3 d 后,在相应时间点向孔内加入 10 μ L CCK8 检测液,培养箱中避光孵育 2 h,用酶标仪在 450 nm 波长下测定每孔吸光度(OD 值)并绘制细胞增殖曲线。

1.2.7 克隆形成实验 收集 HSC3、SAS 感染 sh-NC、sh-DNMT1 组细胞,以每孔 1 000 个细胞的密度接种至 6 孔板中,培养约两周,弃去原培养基,磷酸盐缓冲液(PBS)清洗,用 4% 多聚甲醛固定 30 min,0.1% 结晶紫染色 20 min,PBS 漂洗后晾干,拍照,使用 Image J 软件量化克隆形成数量。

显示:与 control 组相比,sh-NC 组 DNMT1 mRNA 及蛋白表达水平无统计学差异 ($P > 0.05$);与 sh-NC 相比,sh-DNMT1 组 DNMT1 mRNA 及蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$)。因此后期实验只设计 sh-NC 组作为对照。见图 3。

2.4 DNMT1 对 OSCC 细胞增殖的影响

CCK-8 实验结果中,与 sh-NC 组相比,sh-DNMT1 组细胞活力明显降低 ($P < 0.05$)。克隆形成实

验结果显示, DNMT1 敲低后可显著抑制口腔鳞癌细胞克隆数 ($P < 0.05$)。见图 4。

2.5 DNMT1 对 OSCC 细胞迁移、侵袭的影响

细胞划痕实验结果显示, DNMT1 敲低使口腔鳞癌细胞 HSC3 迁移能力降低 ($P < 0.05$); Transwell 迁移和侵袭实验结果显示,在 HSC3、SAS 细胞中,与阴性对照组相比, DNMT1 敲低组细胞迁移能力和细胞侵袭能力均明显降低 ($P < 0.05$)。见图 5。

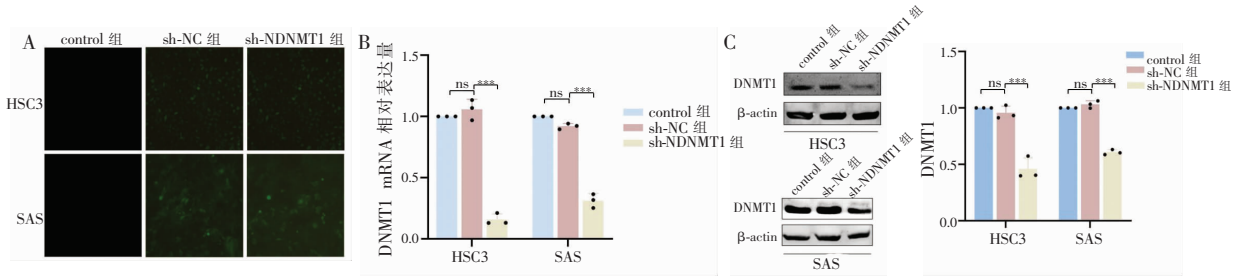


图 3 HSC3、SAS 慢病毒感染效率检测

A. DNMT1 敲低慢病毒感染 HSC3、SAS 细胞系各组荧光强度; B. DNMT1 敲低慢病毒感染 HSC3、SAS 细胞系各组的 mRNA 表达水平; C. DNMT1 敲低慢病毒感染 HSC3、SAS 细胞系各组的蛋白表达水平。ns $P > 0.05$; * $P < 0.05$; *** $P < 0.001$, 与 control 组比较。

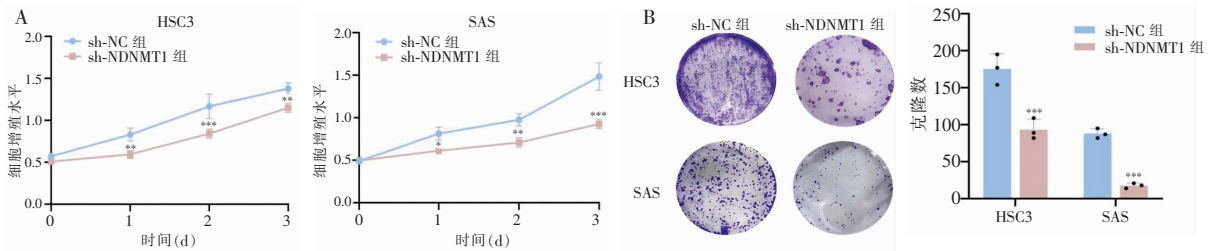


图 4 沉默 DNMT1 对 OSCC 细胞增殖的影响

A. CCK-8 实验检测沉默 DNMT1 对 HSC3、SAS 细胞增殖能力的影响; B. 克隆形成实验检测沉默 DNMT1 对 HSC3、SAS 细胞增殖能力的影响。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$, 与 sh-NC 组比较。

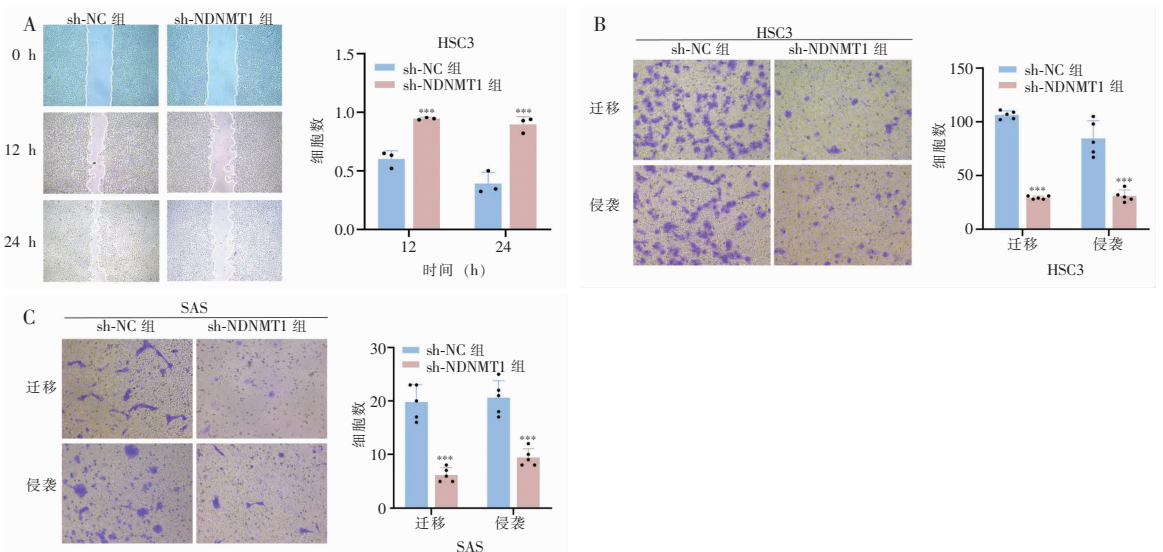


图 5 敲低 DNMT1 对 OSCC 细胞增殖、迁移能力的影响

A. 细胞划痕实验检测敲低 DNMT1 对 HSC3 迁移能力的影响; B. Transwell 实验检测敲低 DNMT1 对 HSC3 迁移、侵袭能力的影响; C. Transwell 实验检测敲低 DNMT1 对 SAS 迁移、侵袭能力的影响。*** $P < 0.001$, 与 sh-NC 组比较。

3 讨论

DNA 甲基化是表观遗传修饰的重要表现形式, DNA 高甲基化可以区分癌细胞和正常细胞, 这导致癌细胞对指示生长抑制的信号不敏感, 并通过抑制肿瘤抑制基因来逃避程序性细胞死亡, 还可能通过调控细胞增殖、侵袭和转移、血管生成及影响抗炎反应等机制调节肿瘤的发生发展及治疗耐药性, 和癌症患者的生存率也显著相关^[11-14]。DNMT1 是 DNA 甲基化的关键酶, 既往研究^[15-16]表明其在多种恶性肿瘤的生长、转移中发挥着调控作用。一项研究^[8]表明, 在胰腺组织中 DNMT1 的表达水平从炎性的正常胰腺管到癌前病变再到胰腺癌呈逐渐升高的趋势, DNMT1 通过抑制胰腺癌细胞分化和促进其增殖、迁移和侵袭能力及诱导胰腺癌癌症干细胞的自我更新能力等机制起致癌作用, 而这些作用是通过 TSG 启动子高甲基化实现的, 包括细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂, 上皮-间充质转化的抑制因子和肿瘤抑制因子 miRNA 等。DNMT1 沉默载体在膀胱癌细胞及食管鳞癌细胞中降低肿瘤生长、减少侵袭迁移、减弱治疗抗性并能抑制肿瘤干细胞的自我更新能力, DNMT1 可能是预测膀胱癌患者肿瘤分期和临床结果的重要指标及治疗的潜在靶点^[17-18]。

口腔癌的发生是一个长期的过程, 是肿瘤相关基因的遗传和表观遗传改变累积的结果, 其中 DNA 的甲基化尤为重要^[19-21]。本研究通过 GEPIA2 数据库发现 DNMT1 在头颈部鳞癌、胰腺癌及甲状腺癌等多种恶性肿瘤中均高表达, 且在头颈部鳞癌中表达差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 随后在蛋白及 mRNA 水平初步探索了 DNMT1 与口腔鳞癌细胞中的表达, 结果发现与 HOK 相比, HSC3、SAS 细胞中 DNMT1 的 mRNA 及蛋白表达量均较高 ($P < 0.05$), 提示 DNMT1 可能参与口腔鳞癌的发生发展。既往研究^[22-23]就 DNMT1 的表达与 OSCC 生存率关系做了探索, Supic 等^[22]的研究首次证明 DNMT1 mRNA 过度表达和遗传变异在调节口腔鳞状细胞癌患者生存率方面发挥重要作用, Yang 等^[23]研究构建了口腔鳞状细胞癌小鼠模型来探索 DNMT1 在癌变中的作用及与肿瘤微环境改变的关系, 结果表明 DNMT1 表达水平与口腔鳞状细胞癌小鼠存活时间负相关。尽管 DNA 甲基化在各种人类肿瘤中的重要性现在变得越来越明显且在 OSCC 中发挥着重要作用, 但在 OSCC 中触发或导致异常 DNA 甲基化的具体机制仍然不清楚。为了进一步探究 DNMT1 在 OSCC 肿瘤生长、转移等方面的作用机制, 本研究采用 shRNA 慢病毒干扰技术敲低 HSC3、

SAS 细胞中的 DNMT1 基因表达, 再利用嘌呤霉素抗性实验筛选获得 DNMT1 低表达的稳定细胞系。随后我们通过 RT-qPCR、Western Blot 实验对慢病毒感染后的 HSC3、SAS 细胞中的 DNMT1 基因表达进行验证, 结果显示 sh-DNMT1 组的 DNMT1 mRNA 和蛋白表达均较 sh-NC 组低, 说明 DNMT1 低表达稳系构建成功。用 CCK-8、克隆形成实验检测 HSC3、SAS 细胞的增殖能力, 结果表明, 敲低 DNMT1 可以抑制口腔鳞癌细胞的增殖能力; 利用划痕实验、Transwell 实验检测 HSC3、SAS 细胞迁移、侵袭能力, 发现敲低 DNMT1 表达可以减弱 HSC3、SAS 细胞迁移、侵袭的恶性行为。

综上, DNMT1 在口腔鳞癌细胞中高表达, 对口腔鳞癌的增殖、迁移和侵袭发挥重要的调控作用, 能促进肿瘤细胞的恶性生物学行为。

参考文献

- [1] Leemans CR, Snijders PJF, Brakenhoff RH. The molecular landscape of head and neck cancer[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2018, 18(5):269-282.
- [2] Johnson DE, Burtneess B, Leemans CR, et al. Head and neck squamous cell carcinoma[J]. *Nature Reviews Disease Primers*, 2020, 6(1):92.
- [3] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA: a Cancer Journal for Clinicians*, 2021, 71(3):209-249.
- [4] Fan T, Wang X, Zhang S, et al. NUPR1 promotes the proliferation and metastasis of oral squamous cell carcinoma cells by activating TFE3-dependent autophagy[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2022, 7(1):130.
- [5] Dan H, Liu S, Liu J, et al. RACK1 promotes cancer progression by increasing the M2/M1 macrophage ratio via the NF- κ B pathway in oral squamous cell carcinoma[J]. *Molecular Oncology*, 2020, 14(4):795-807.
- [6] Gong X, Tang H, Yang K. PER1 suppresses glycolysis and cell proliferation in oral squamous cell carcinoma via the PER1/RACK1/PI3K signaling complex[J]. *Cell Death & Disease*, 2021, 12(3):276.
- [7] Giraldo L, Leoncini E, Pastorino R, et al. Alcohol and cigarette consumption predict mortality in patients with head and neck cancer: a pooled analysis within the International Head and Neck Cancer Epidemiology (INHANCE) Consortium[J]. *Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology*, 2017, 28(11):2843-2851.
- [8] Wong KK. DNMT1 as a therapeutic target in pancreatic cancer: mechanisms and clinical implications [J]. *Cellular Oncology*, 2020, 43(5):779-792.
- [9] Tian R, Lv Y, Yang X, et al. DNA methyltransferase 1 inhibits O6-methylguanine-DNA methyl-transferase-mediated cell growth and metastasis of hypopharyngeal squamous carcinoma[J]. *Archives of*

- Oral Biology,2021,128;105160.
- [10] Zeng B,Zhang X,Zhao J,*et al.* The role of DNMT1/hsa-miR-124-3p/BCAT1 pathway in regulating growth and invasion of esophageal squamous cell carcinoma[J]. BMC Cancer,2019,19(1):609.
- [11] Meng J,Cai H,Sun Y,*et al.* ITGA2 induces STING expression in pancreatic cancer by inducing DNMT1 degradation[J]. Cellular Oncology,2022,45(6):1421-1434.
- [12] Geng X,Zhao J,Huang J,*et al.* Lnc-MAP3K13-7:1 inhibits ovarian GC proliferation in PCOS via DNMT1 downregulation-mediated CDKN1A promoter hypomethylation[J]. Molecular Therapy,2021,29(3):1279-1293.
- [13] Pfeifer GP. Defining driver DNA methylation changes in human cancer[J]. International Journal of Molecular Sciences,2018,19(4):1166.
- [14] Saghafinia S,Mina M,Riggi N,*et al.* Pan-cancer landscape of aberrant DNA methylation across human tumors[J]. Cell Reports,2018,25(4):1066-1080. e8.
- [15] Robertson KD,Wolffe AP. DNA methylation in health and disease[J]. Nature Reviews Genetics,2000,1(1):11-19.
- [16] Kikuchi A,Onoda H,Yamaguchi K,*et al.* Structural basis for activation of DNMT1[J]. Nature Communications,2022,13(1):7130.
- [17] Wu CT,Wu CF,Lu CH,*et al.* Expression and function role of DNA methyltransferase 1 in human bladder cancer[J]. Cancer,2011,117(22):5221-5233.
- [18] Teng Y,Yu X,Yuan H,*et al.* DNMT1 ablation suppresses tumorigenesis by inhibiting the self-renewal of esophageal cancer stem cells[J]. Oncotarget,2018,9(27):18896-18907.
- [19] Milutin Gašperov N,Sabol I,Božinović K,*et al.* DNA methylome distinguishes head and neck cancer from potentially malignant oral lesions and healthy oral mucosa[J]. International Journal of Molecular Sciences,2020,21(18):6853.
- [20] Shi C,Liu S,Tian X,*et al.* Prognostic and therapeutic prediction by screening signature combinations from transcriptome-methylome interactions in oral squamous cell carcinoma[J]. Scientific Reports,2022,12(1):11400.
- [21] Ghantous Y,Nashef A,Abu-Elnaaj I. Epigenetic alterations associated with the overall survival and recurrence free survival among oral squamous cell carcinoma patients[J]. Journal of Clinical Medicine,2020,9(4):1035.
- [22] Supic G,Kozomara R,Zeljic K,*et al.* Prognostic value of the DNMTs mRNA expression and genetic polymorphisms on the clinical outcome in oral cancer patients[J]. Clinical Oral Investigations,2017,21(1):173-182.
- [23] Yang SC,Wang WY,Zhou JJ,*et al.* Inhibition of DNMT1 potentiates antitumor immunity in oral squamous cell carcinoma[J]. International Immunopharmacology,2022,111:109113.
- (收稿日期:2023-09-01 修回日期:2023-11-16)

(上接第 11 页)

- [7] Chao B,Huang S,Pan J,*et al.* Saikosaponin d downregulates microRNA-155 and upregulates FGF2 to improve depression-like behaviors in rats induced by unpredictable chronic mild stress by negatively regulating NF- κ B[J]. Brain Research Bulletin,2020,157:69-76.
- [8] 时薛丽,李志平,范景辉,等. 柴胡皂苷 D 对 SGC-7901 细胞生长及迁移抑制作用[J]. 中国公共卫生,2018,34(3):381-384.
- [9] 党锋,杨坤荣,刘文聘,等. 柴胡皂苷 D 通过诱导自噬抑制人结肠癌细胞 SW480 增殖的实验研究[J]. 现代肿瘤医学,2020,28(8):1272-1276.
- [10] Morshed S,Latif R,Davies TF. Rescue of thyroid cells from antibody induced cell death via induction of autophagy[J]. Journal of Autoimmunity,2022,126:102746.
- [11] 尹华夏,赵鹏伟,于慧玲. miR-18a 对胶质瘤细胞增殖和自噬的影响[J]. 现代肿瘤医学,2022,30(20):3663-3667.
- [12] Song D,Liu Y,Yao Y,*et al.* Melatonin improves bisphenol A-induced cell apoptosis,oxidative stress and autophagy impairment via inhibition of the p38 MAPK signaling pathway in FLK-BLV cells[J]. Environmental Toxicology,2022,37(7):1551-1562.
- [13] 谷诗浓,刘毓佳,王振杰,等. 基于细胞自噬探讨通督调神针法对缺血再灌注大鼠神经功能及 Beclin-1 蛋白表达的影响[J]. 针灸临床杂志,2020,36(10):64-68.
- [14] 苗双,丁国建,宋殿芳,等. 细胞自噬调节上皮细胞间充质转化过程对特发性肺纤维化的作用机制[J]. 医学研究生学报,2019,32(10):1025-1030.
- [15] 于慧玲,麻春杰,孙勤暖,等. 小柴胡汤对胶质瘤 C6 细胞增殖的影响[J]. 中医学报,2019,34(5):1003-1006.
- [16] Alexia M,Chara P,Konstantinos R,*et al.* miR-34a as predictor of immunotherapy efficacy in NSCLC patients[J]. Journal of Clinical Oncology,2021,39(15_suppl):e21191.
- [17] 姚磊,林雨佳,高爽,等. miR-34a 通过调控 TGF- β /Smad4 信号通路激活自噬而降低结肠癌细胞对奥沙利铂的耐药性[J]. 中国普外基础与临床杂志,2018,25(6):680-688.
- [18] 苏杰,马春梅,邵宏超,等. 慢病毒介导 miR-34a 表达对视网膜母细胞瘤自噬的影响及机制研究[J]. 眼科新进展,2019,39(1):27-31.
- [19] 直彦亮,张震,贺宽. 白藜芦醇调控 miR-34a 表达对骨肉瘤 MG-63 细胞生长、侵袭和自噬的影响[J]. 中国病理生理杂志,2018,34(8):1455-1460.
- (收稿日期:2023-10-05 修回日期:2023-11-05)