

miR-138-5p通过调控Survivin表达对食管鳞癌细胞活性的影响

哈斯也提·艾力, 妮拉·马哈德, 帕力达·帕拉哈提, 崔晓宾

[摘要]目的 探究miR-138-5p通过调控Survivin表达对食管鳞癌细胞活性的影响。方法 将实验分为W组(无转染组)、C组(食管鳞癌细胞转染NC组)、Z组(转染miR-138-5p组)。RT-PCR检测Survivin、miR-138-5p水平; Western blot检测Notch1、HIF-1 α 、MMP-9的表达; Transwell小室测迁移能力; CCK-8检测增殖能力; 流式细胞仪检测凋亡情况; 双荧光素酶报告基因检测miR-138-5p与Survivin靶向关系。结果 miR-138-5p在食管鳞癌组织中的水平低于癌旁组织($P<0.05$); 食管鳞癌组织中Survivin水平较癌旁组织高($P<0.05$)。miR-138-5p、Survivin在W组与C组中的水平较为接近($P>0.05$); 与C组相比, Z组miR-138-5p的水平有所上升、Survivin水平有所下降($P<0.05$), 由此可看出, miR-138-5p转染成功。W组与C组中Notch1、HIF-1 α 、MMP-9水平较为接近($P>0.05$); 与C组相比, Z组中Notch1水平有所升高、HIF-1 α 、MMP-9水平有所下降($P<0.05$)。W组食管鳞癌细胞迁移数量(282.67 ± 27.65)与C组细胞迁移数量(279.31 ± 28.22)相差较小($P>0.05$); 与C组相比, Z组的迁移数量(76.57 ± 6.71)有所降低($P<0.05$)。W组与C组在各时间点的OD值较为接近($P>0.05$); Z组在各时间点的OD值均较W组与C组低($P<0.05$)。W组食管鳞癌细胞凋亡率(2.47 ± 0.11)%与C组食管鳞癌细胞凋亡率(2.45 ± 0.13)%较为接近($P>0.05$); Z组食管鳞癌细胞凋亡率(13.32 ± 1.23)%高于W组与C组($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因检测实验结果显示Survivin'-UTR-WT在miR-NC组表达水平为(0.79 ± 0.09)、miR-138-5p组表达水平为(0.59 ± 0.07), 组间比较差异有统计学意义($P<0.001$); Survivin'-UTR-MUT在miR-NC组(0.91 ± 0.11)及miR-138-5p组(1.02 ± 0.12)表达无显著差异($P>0.05$)。与食管癌组比较, miR-138-5p组大鼠移植瘤的瘤体积、瘤质量降低, 抑瘤率升高($P<0.05$)。结论 miR-138-5p可通过降低Survivin的表达, 抑制食管鳞癌细胞的增殖及迁移, 并促进其凋亡。

[关键词] miR-138-5p; Survivin; 食管鳞癌细胞生物活性

[中图分类号] R735.1

[文献标志码] A

[文章编号] 2095-3097(2021)04-217-6

doi: 10.3969/j.issn.2095-3097.2021.04.004

The effect of miR-138-5p on the activity of esophageal squamous cell carcinoma cells by regulating the expression of Survivin

Hasiyeti·AiLi, NiLa·Mahade, Palida·Palahati, CUI Xiaobin

(The Second People's Hospital of kashgar, kashgar Xinjiang 844000, China)

[Abstract] **Objective** Explore the effect of miR-138-5p on the activity of esophageal squamous cell carcinoma cells by regulating the expression of Survivin. **Methods** Three groups were set in our study including group W (no transfection group), group C (NC transfection group), and group Z (Transfection of miR-138-5p group). RT-PCR was used to detect the levels of Survivin and miR-138-5p. Western blot was used to detect the expression of Notch1, HIF-1 α , and MMP-9. Transwell chamber was used to detect the migration ability. CCK-8 was used to detect the proliferation ability. Flow cytometry was used to detect apoptosis. The relationship between miR-138-5p and Survivin targeting was detected by dual-luciferase reporter gene. **Results** The level of Mir-138-5p in esophageal squamous cell carcinoma tissues was lower than that in paracancer tissues ($P<0.05$). Survivin level in esophageal squamous cell carcinoma tissues was higher than that in adjacent tissues ($P<0.05$). The levels of Mir-138-5p and Survivin in W group and C group were similar ($P>0.05$). Compared with group C, the level of Mir-138-5p was increased and the level of Survivin was decreased in group Z ($P<0.05$), indicating that the transfection of Mir-138-5p was successful. The levels of Notch1, HIF-1 α and MMP-9 in group W and GROUP C were similar ($P>0.05$). Compared with group C, the levels of Notch1 were increased, hiF-1 α and MMP-9 were decreased in group Z ($P<0.05$). The number of migrating cells in group W was significantly lower than that of in the group W ($P<0.05$). The OD values of the group W and group C at each time point were close ($P>0.05$),

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81463062)

[作者单位] 844000 新疆喀什, 喀什地区第二人民医院(哈斯也提·艾力, 木妮拉·马哈德, 帕力达·帕拉哈提, 崔晓宾)

and the OD values of the group Z at each time point were lower than those of in the group W and group C ($P < 0.05$). The apoptosis rate of ESCC in the group W was $(2.47 \pm 0.11)\%$, which was close to that in the group C $(2.45 \pm 0.13)\%$ ($P > 0.05$). The apoptosis rate of ESCC in the group Z was $(13.32 \pm 1.23)\%$, which was higher than that of in the group W and group C ($P < 0.05$). The results of double fluorescein plum reporter gene detection showed that the expression level of Survivin^{3'}-utr-wt in the mir-nc group was higher (0.79 ± 0.09) than that of in the group and that of in the miR-138-5p group $(0.59 \pm 0.07, P < 0.001)$. There was no difference of the expression level of Survivin^{3'}-utr-mut in the mir-nc group (0.91 ± 0.11) and miR-138-5p group $(1.02 \pm 0.12, P > 0.05)$. Compared with the esophageal cancer group, the tumor volume and tumor mass of rats in Mir-138-5p group were decreased, and the tumor inhibition rate was increased ($P < 0.05$). **Conclusion** miR-138-5p can inhibit the proliferation and migration of ESCC cells and promote the apoptosis of ESCC cells by reducing the expression of Survivin.

[**Key words**] miR-138-5p; Survivin; Biological activity of esophageal squamous cell carcinoma cells

食管鳞癌是消化道类恶性疾病,其发生率男性高于女性^[1],食管鳞癌发病因素主要有长期进食热烫食物、烟酒、烟熏、腌制食物、遗传、基因突变等^[2]。食管鳞癌的早期病变多限于黏膜,表现为黏膜充血、糜烂,呈斑块儿和乳头状,少见肿块。中晚期肿块逐渐累积增加并凸入腔内穿透食管进入中隔癌细胞^[3]。食管鳞癌具有强侵袭、易复发、预后差等特点。相关研究表明,基因分子对食管鳞癌的治疗具有一定的效果。生存素(Survivin)是凋亡抑制因子的一种,且抑制凋亡能力较强,在正常机体中水平较低,在癌症中水平升高,其水平的高低与肿瘤产生及发展联系密切^[4]。微小RNA在多种肿瘤的产生及发展中发挥着重要作用,可通过与其靶基因结合进而调控基因的表达,与细胞的增殖、凋亡等联系密切,miR-138-5p是微小RNA之一,已有研究证实^[5]miR-138-5p在肺癌中具有一定的作用,过表达的miR-138-5p可抑制肺癌细胞的增殖、并促进肺癌细胞的凋亡。尚未有关报道明确证实其对食管鳞癌细胞具体的作用,因此本文研究miR-138-5p通过调控Survivin的表达对食管鳞癌细胞活性的影响。

1 材料和方法

1.1 一般资料 食管鳞癌细胞系 EC8733、EC8501、EC109、EC9706 细胞来自上海冠导生物公司。收集喀什地区第二人民医院 2018 年 1 月至 2020 年 1 月食管鳞癌组织及其癌旁组织标本 24 例;男性 14 例、女性 10 例、年龄 (55.65 ± 5.18) 岁、肿瘤长度 < 5 cm、病理分期:T1-T2 期 9 例、T3 期 15 例。所有食管癌患者术前均未接受过放、化疗。清洁级 SD 大鼠 20 只,购自长沙天勤生物技术有限公司,鼠龄 9~11 周,体质量 200~300 g,动物许可证号:SCXK(湘)20190018,无菌环境常温饲养,自由饮食饮水,1 周后进行实验。本研究经医学伦理委员会获得批准(批号:Y2018-024-05),所有患者及家属均签署知情同意书。

1.2 实验试剂 胰蛋白酶(山西利德生物制品有限公司);Primer 5.0 软件(北京中科瑞泰生物科技公司);CCK-8 试剂(武汉卡诺斯科技有限公司);酶标仪(山东恒美电子科技有限公司);结晶紫染色液(上海如吉生物科技发挥有限公司);流式细胞仪(江苏新力科技实业有限公司);miR-138-5p 引物、lipofectamine TM 2000 脂质体(百奥迈科生物技术有限公司)。

1.3 细胞培养与分组 取食管鳞癌细胞系 EC8733、EC8501、EC109、EC9706 细胞,运用 RPMI 1640 培养液培养,36 h 后更换培养基。常规条件下培养,取对数期细胞进行试验。

miR-138-5p 的转染:将细胞接种于 6 孔板中培养。直至细胞长到 45%~55% 时,按说明书操作,用 lipofectamine TM 2000 转染 50 nmol/L 相应的 miR-138-5p mimics、miR-138-5p-NC,转染培养 9 h 后,更换新鲜培养液继续培养 3 d 后即可进行实验。实验分为 W 组(无转染组)、C 组(食管鳞癌细胞转染 NC 组)、Z 组(转染 miR-138-5p 组)。

1.4 动物实验 取 20 只大鼠,分为食管癌组(注射食管鳞癌细胞)、miR-138-5p 组(注射转染 miR-138-5p 食管鳞癌细胞),每组各 10 只。各组于右侧前肢腋下注射相应 0.5 mL 细胞悬液建立移植瘤模型,4 d 后肿瘤体积约为 100 mm,表示建模成功。

1.5 检测指标

1.5.1 RT-PCR 检测 Survivin、miR-138-5p 水平 取 W 组、C 组、Z 组食管癌组织及食管鳞癌组织、癌旁组织标本运用胰蛋白酶消化后提取细胞悬液,冲洗,放于无菌试管中。TRIzol 法提取总 RNA,Primer5.0 软件设计合成引物。将逆转后所得的 cDNA 进行荧光反应实验。所有反应严格按照反应的条件进行扩增,PCR 反应条件:94 °C、4 min;94 °C、30 s;58 °C、30 s;2 °C、30 s。取 PCR 产物(5 μL)进行电泳分析(琼脂糖凝胶 1.5%),以 GAPDH 为内参,共 40 个循环,取得到的平均值后得到 Ct

值,计算方法用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行分析,引物序列,表1。

表1 引物序列

基因	方向	引物序列
miR-138-5p	F	5'-:GGAGCTGGTGTGTGAATCA-3'
	R	5'-:CAGTGCCTGTCGTGGAGT-3'
Survivin	F	5'-:CCCTGCCTGGCAGGCCTTTG-3'
	R	5'-:CTGGCTCCCAGCCTTCCA-3'
GAP-DH	F	5'-:GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3'
	R	5'-:GGCTGTGTCATACTTCTCATGG-3'

1.5.2 Western blot 检测 取W组、C组、Z组细胞,裂解液裂解并提取蛋白,并对蛋白的浓度进行测量,分装后,保存在-20℃的环境中。将提取出的蛋白溶液和缓冲溶液进行混均,然后将其煮沸、变性。把电泳后的50 μm蛋白移至PVDF膜上,脱脂奶粉封闭1 h。加入1抗后PBS漂洗3次,每次间隔10 min,最后加入2抗对溶液稀释,常温封闭1 h。取出PVDF膜,上述方法漂洗,DAB显色后照相。

1.5.3 Transwell小室测迁移能力 取W组、C组、Z组细胞,用DMEM培养液重悬后将细胞悬液(6×10⁴/孔)加入Transwell小室的上室,下室加入1 mL含10%FBS的高糖DMEM培养液。培养72 h后取出小室,PBS漂洗2次,4%的多聚甲醛溶液固定15 min,用棉签擦去上层细胞,加入0.1%结晶紫染色液染色15 min。自来水冲洗3次,显微镜拍照。实验重复3次。

1.5.4 CCK-8检测食管鳞癌细胞增殖情况 取W组、C组、Z组细胞,离心5 min,1250 r/min,制成细胞悬液,接种于96孔板中(4×10³个细胞)。分别于细胞贴壁后24、48、72 h加入CCK-8试剂,避光孵育3 h。酶标仪检测450 nm处OD值。

1.5.5 流式细胞仪检测食管鳞癌细胞凋亡情况 取W组、C组、Z组细胞接种于6孔板中,胰酶消化,完全培养基终止;PBS清洗,进行细胞计数,离心5 min、1250 r/min,弃上清,混入500 μL Binding Buffer(结合缓冲液)重悬。加入5 μL Annexin V-FITC混匀、10 μL PI混匀,常规孵育15 min后,流式细胞仪检测。

1.5.6 双荧光素酶报告基因检测实验 将2×10⁵个/孔细胞接种于6孔板中,待细胞生长融合至80%时,参照Lipofectamine™2000转染试剂说明书将构建好的Survivin'-UTR-WT和Survivin'-UTR-MUT质粒转染miR-NC(NC组),miR-138-5p mimics(miR-

138-5p组)共转染至细胞,按照双试剂盒操作步骤检测各组细胞荧光素酶活性。

1.5.7 观察各组大鼠移植瘤生长情况 建模成功4周后处死大鼠,测量肿瘤病灶的长径以及与其垂直的短径,计算瘤体积;同时称瘤质量,计算抑瘤率。

1.6 统计学处理 采用SPSS 18.0统计软件进行分析,W组、C组、Z组3组食管鳞癌细胞增殖、迁移、Survivin水平等影响的比较采用单因素方差分析,两组间比较采用t检验,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$), $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-138-5p、Survivin水平检测结果 miR-138-5p在食管癌组织中的表达水平低于癌旁组织($P<0.05$);Survivin在食管癌组织中的表达水平高于癌旁组织($P<0.05$),图1。

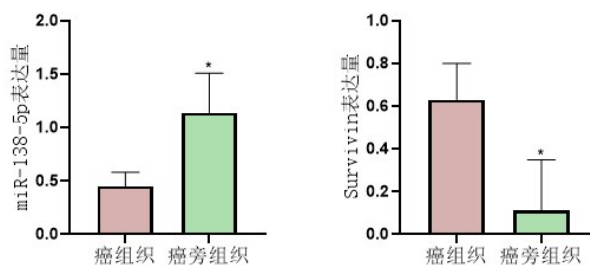


图1 癌组织组与癌旁组织组miR-138-5p、Survivin水平比较 *表示与癌组织组比较($P<0.05$),实验重复3次

miR-138-5p在食管鳞癌细胞系EC9706细胞中表达最低($P<0.05$),且Survivin在食管鳞癌细胞系EC9706细胞中表达最高($P<0.05$),因此选择EC9706细胞进行本次实验,图2。

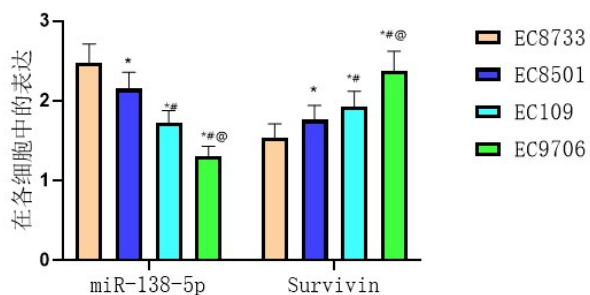


图2 各细胞中miR-138-5p、Survivin水平表达与在EC8733细胞中比较 $P<0.05$ 、与在EC8501细胞中比较 $P<0.05$ 、与在EC109细胞中比较 $P<0.05$,实验重复3次

miR-138-5p、Survivin在W组与C组中的水平较为接近,组间比较差异无意义($P>0.05$);在Z组中miR-138-5p的水平有所上升、Survivin水平有所下降,组间比较差异有统计学意义($P<0.05$),由此可看出,miR-138-5p转染成功,图3。

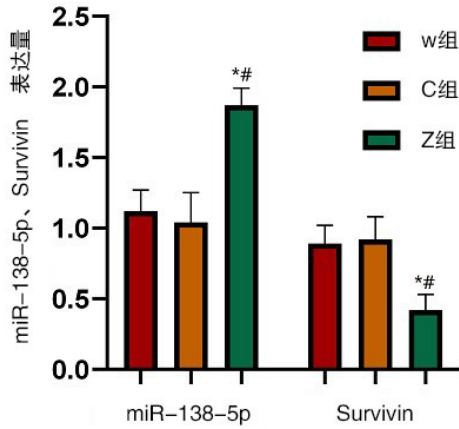


图3 miR-138-5p、Survivin在W组、C组、Z组细胞中的水平与W组比较, $P < 0.05$ 、与C组比较, $P < 0.05$, 实验重复3次

2.2 Notch1、HIF-1 α 、MMP-9水平的检测结果 W组与C组中Notch1、HIF-1 α 、MMP-9水平较为接近, 组间比较差异无意义 ($P > 0.05$); 与W组、C组比较, Z组中Notch1水平有所升高、HIF-1 α 、MMP-9水平有所下降, 组间比较差异有意义 ($P < 0.05$), 见图4。

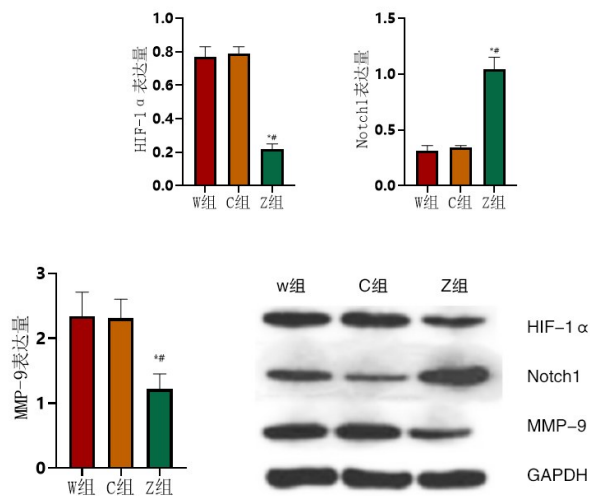


图4 三组 Notch1、HIF-1 α 、MMP-9水平比较

*表示与W组比较 ($P < 0.05$)、[#]表示与C组比较 ($P < 0.05$), 实验重复3次

2.3 食管鳞癌细胞迁移能力 W组食管鳞癌细胞迁移数量 (282.67 ± 27.65)与C组细胞迁移数量 (279.31 ± 28.22)相差较小, 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 与W组、C组比较, Z组中的迁移数量 (76.57 ± 6.71)有所降低, 组间比较差异有意义 ($P < 0.05$), 图5。

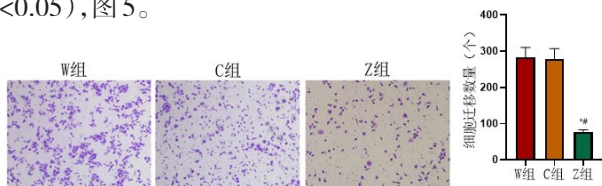


图5 W组、C组、Z组食管鳞癌细胞迁移情况比较与W组比较, $P < 0.05$ 、与C组比较, $P < 0.05$, 实验重复3次

2.4 食管鳞癌细胞增殖情况 W组与C组在24、48、72

h的OD值较为接近, 组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); Z组在各时间点的OD值均较W组与C组低, 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 表2、图6。

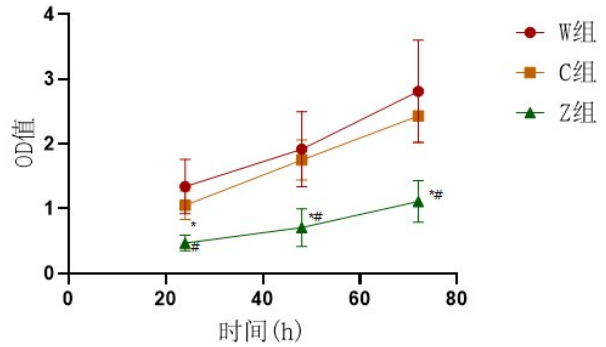


图6 三组食管鳞癌细胞不同时间点OD值比较与W组比较 ($P < 0.05$)、与C组比较 ($P < 0.05$), 实验重复3次

2.5 食管鳞癌细胞凋亡情况 W组食管鳞癌细胞凋亡率 (2.47 ± 0.11)%与C组食管鳞癌细胞凋亡率 (2.45 ± 0.13)%较为接近, 组间比较差异无意义 ($P > 0.05$); Z组食管鳞癌细胞凋亡率 (13.32 ± 1.23)%高于W组与C组, 组间比较差异有意义 ($P < 0.05$), 见图7。

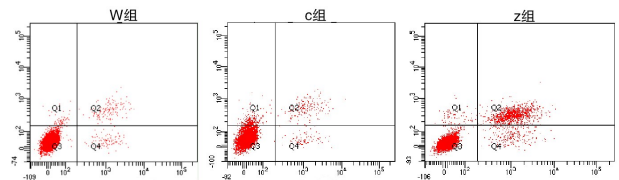


图7 三组食管鳞癌细胞凋亡情况比较, 实验重复3次

2.6 双荧光素酶检测报告结果 结果显示 Survivin'-UTR-WT在miR-NC组表达水平为 (0.79 ± 0.09)、miR-138-5p组表达水平为 (0.59 ± 0.07), 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.001$); Survivin'-UTR-MUT在miR-NC组 (0.91 ± 0.11)及miR-138-5p组 (1.02 ± 0.12)表达无统计学差异 ($P > 0.05$), 说明Survivin是miR-138-5p的直接靶点, 图8。

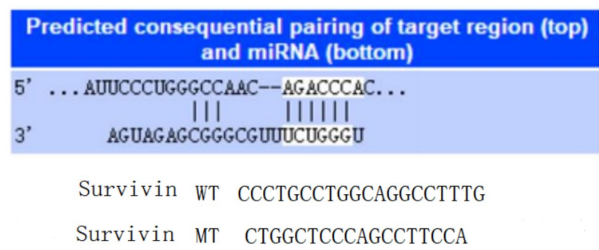


图8 荧光素酶报告图

2.7 各组移植瘤生长情况 与食管癌组比较, miR-138-5p组大鼠移植瘤的瘤体积、瘤质量降低, 抑瘤率升高 ($P < 0.05$), 见表3。

表2 三组不同时间点OD值的比较($\bar{x}\pm s$)

分组	24 h	48 h	72 h
W组	1.34±0.42	1.92±0.58	2.81±0.79
C组	1.05±0.22	1.75±0.31	2.43±0.41
Z组	0.47±0.12**	0.71±0.29**	1.11±0.32**
F	14.77	14.95	16.02
P	<0.001	<0.001	<0.001

表3 各组大鼠移植瘤生长情况($\bar{x}\pm s$)

组别	n	瘤体积(mm ³)	瘤质量(g)	抑瘤率(%)
食管癌组	10	1531.42±215.37	1.61±0.29	-
miR-138-5p组	10	702.38±85.41	0.61±0.08	56.24±5.38
t		11.320	10.510	33.060
P		<0.001	<0.001	<0.001

3 讨论

目前,中国是食管鳞癌的高发地区,发病率位列恶性肿瘤的第四位,且有逐年增长的趋势^[6]。威胁患者的生命健康安全,寻求新的食管癌分子靶向治疗方法迫在眉睫,因此本文运用 miR-138-5p 调控 Survivin 对食管鳞癌进行治疗,具体分析如下。

在肿瘤的产生与发展过程中,微小RNA通过调节基因的表达,从而调控细胞的生物活性,间接发挥促癌或抑癌的作用,已有研究证实^[7]微小RNA在多种肿瘤中参与癌细胞的增殖、迁移等,miR-138-5p是miRNA的一种。miR-138-5p可通过靶向调控其下游基因进行调控细胞的生物活性, Survivin是miR-138-5p的下游基因之一,可直接作用其上下游分子,对细胞凋亡途径具有抑制作用,在正常机体中水平较低,在癌症中水平升高,其水平的高低与肿瘤的产生与发展密切相关,是抑制细胞凋亡的重要基因之一^[8-9]。经本文研究发现在经过转染 miR-138-5p 模拟物后,miR-138-5p 水平有所增加, Survivin 水平有所下降。YangR 等^[10]研究提示, miR-138-5p 与 Survivin 为负相关,miR-138-5p 直接识别并结合 Survivin mRNA 转录,从而抑制 Survivin 在膀胱癌细胞中的作用,降低癌细胞的增殖与侵袭能力。张志明等^[11]对前列腺癌的实验研究中提出,基因敲除 SIRT1 靶向结合 miR-138-5p 具有促进癌细胞凋亡的作用。本文研究与上述研究结果相似。且本文荧光酶报告结果、以及动物实验结果表明转染 miR-138-5p 具有一定的抑瘤作用。

Notch 信号通路可调控细胞的分化,根据近年来的研究发现^[12-13],Notch1 信号还与肿瘤的产生密切相关,其表达水平的变化还起着抑癌或促癌的作用;有关研究指出^[14-15],当小鼠体内的 Notch1 被敲除

时,小鼠的皮肤发生增殖、基底细胞样癌形成,其原因与 Notch1 信号通路被激活引起与细胞凋亡相关途径发生改变有关。HIF-1 α 是一种调控细胞增殖和血管进化相关基因转录的重要因子,在多种肿瘤中均呈现高表达^[16]。miRNA 具有转录后调控因子水平的作用,多项研究已证实 miR-138-5p 与 HIF-1 α 具有一定的相关性^[17]。肿瘤细胞或周围间质细胞可分泌出 MMP,可降解细胞外基质以及细胞间的黏附、促进新生血管生成从而增加癌细胞的活性, MMP-9 是金属基质蛋白酶之一,且其与肿瘤的发生发展密切相关^[18-19]。miR-138-5p 定位于 chr16 染色体,在多种肿瘤中均为低表达,发挥抑癌作用,对肿瘤细胞的增殖、迁移具有一定的抑制作用^[20]。经本文研究表明,经过转染 miR-138-5p 模拟物后, Notch1 水平升高, HIF-1 α 、MMP-9 水平降低。史永亮^[21]提示 Notch1、Survivin 在甲状腺乳头状癌中呈负相关关系,与癌细胞的转移和侵袭联系密切。在王丽萍^[22]等对食管鳞癌的实验研究中提出, Notch1 与食管鳞癌的产生、发展和转移联系密切,可评估食管鳞癌病情的严重程度。赵军华等^[23]研究提示, HIF-1 α 是 miR-138-5p 的靶基因,在肾癌细胞中 miR-138-5p 通过靶向调控的表达 HIF-1 α 削弱了癌细胞的增殖、侵袭并抑制了其凋亡。在刘正端等^[24]对食管鳞癌细胞研究的实验中发现, MMP-9 水平升高,食管鳞癌细胞的侵袭与转移加剧。尚双艳^[25]提示 Survivin 与 MMP-9 在胃癌中具有正相关关系。本文研究与上述研究结果相似,均认为提高 Notch1 的表达,降低 HIF-1 α 、MMP-9 水平可抑制肿瘤发展,因此本文推测, miR-138-5p 通过靶向调控 Survivin 及 HIF-1 α 的表达间接提高 Notch1 的水平,抑制了 MMP-9 表达,从而抑制了食管鳞癌的发展。且

CCK8 测增殖、Transwell 小室测细胞迁移以及流式细胞仪测凋亡结果均可证实上述结论。

综上所述, miR-138-5p 可通过降低 Survivin 的表达, 抑制食管鳞癌细胞的增殖及迁移, 并促进其凋亡, 其作用机制可能与 HIF-1 α 、Notch1 及 MMP-9 表达有关。

【参考文献】

- [1] Shen F, Chen J, Guo S, et al. Genetic variants in miR-196a2 and miR-499 are associated with susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma in Chinese Han population[J]. *Tumour Biology the Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology&Medicine*, 2016, 37(4): 4777-4784.
- [2] Roth MJ, Liu SF, Dawsey SM, et al. Cytologic detection of esophageal squamous cell carcinoma and precursor lesions using balloon and sponge samplers in asymptomatic adults in Linxian, China[J]. *Cancer*, 1997, 80(11): 2047-2059.
- [3] Hu L, Wu Y, Tan D, et al. Up-regulation of long noncoding RNA MALAT1 contributes to proliferation and metastasis in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34(1): 7.
- [4] 马臻奇, 陈凤娟, 沈丽娟, 等. 食管上皮高级别内瘤变与食管鳞癌组织中第2个线粒体衍生的半胱氨酸蛋白酶激活剂和生存素的表达及意义[J]. *中华消化外科杂志*, 2016, 15(11): 1106-1112.
- [5] 张宁, 卢创新, 务森, 等. miR-138-5p 在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J]. *临床肿瘤学杂志*, 2019, 24(02): 59-62.
- [6] Zhao ZH, Tian Y, Yang JP, et al. RhoC, vascular endothelial growth factor and microvascular density in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(3): 905-912.
- [7] 郭涛, 纪冬梅, 李艳平, 等. miR-138-5p 靶向 HIF-1 α 影响人白血病 K562 细胞增殖和侵袭转移[J]. *局解手术学杂志*, 2020, 29(4): 272-277.
- [8] 王海峰, 阿曼姑丽·艾合买提, 陆艳荣, 等. 辐射表达载体 Egr1-Survivin shRNA 联合放疗对食管鳞癌 ECA109 细胞放疗敏感性的影响[J]. *武警医学*, 2020, 31(2): 122-126.
- [9] 赵艳霞, 罗丹, 张彦惠, 等. 丹参酮IIA 通过下调 Survivin 促进顺铂对咽鳞状细胞癌 Fadu 细胞抑制作用的研究[J]. *临床耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2017, 31(10): 781-784+788.
- [10] Yang R, Liu M, Liang H, et al. miR-138-5p contributes to cell proliferation and invasion by targeting Survivin in bladder cancer cells[J]. *Mol Cancer*, 2016, 15(1): 82.
- [11] 张志明, 薛炜, 聂志勇, 等. 基因敲除去乙酰化酶 SIRT1 并靶向结合 miR-138-5p 诱导前列腺癌细胞 PC-3 氧化应激和凋亡[J]. *中国实验诊断学*, 2020, 24(11): 1863-1868.
- [12] 李博, 陈志勇, 刘太阳, 等. 汉黄芩素对皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞株增殖与侵袭的影响及其作用机制[J]. *局解手术学杂志*, 2019, 28(4): 256-261.
- [13] 胡丽娜, 彭兴春, 郭显智, 等. 抑制 Notch 和 PI3K/Akt 信号通路对食管腺癌细胞增殖、侵袭及迁移的影响[J]. *肿瘤防治研究*, 2016, 43(8): 653-658.
- [14] 叶福林, 冯英备, 张玉景, 等. 水飞蓟宾通过抑制 Notch1 信号通路发挥抗食管癌 EC109 细胞的作用[J]. *现代生物医学进展*, 2015, 15(24): 4620-4623+4609.
- [15] 李博, 陈志勇, 刘太阳, 等. 汉黄芩素对皮肤鳞状细胞癌 A431 细胞株增殖与侵袭的影响及其作用机制[J]. *局解手术学杂志*, 2019, 28(4): 10-15.
- [16] 侯鹏, 董玲, 赵飞. 血管内皮生长因子和乏氧诱导因子-1 α 联合环氧化酶-2 在食管鳞癌组织中的表达及与放射敏感性的关系[J]. *中国肿瘤临床与康复*, 2018, 25(3): 287-291.
- [17] 周良, 王颖慧, 周美娟, 等. HOXA9、CRIP2 相互作用抑制 HIF-1 α 介导的糖酵解以阻遏皮肤鳞癌发生发展[J]. *中华放射医学与防护杂志*, 2018, 38(8): 583.
- [18] 张鲁川, 王峰, 樊青霞. TFPI-2 和 MMP-9 在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其与血管生成拟态的关系[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2014, 40(3): 664-667.
- [19] 何从文, 汪斌, 向小勇. Galectin-7 与 MMP-9 在食管鳞状细胞癌中的表达与术后早期复发转移的关系[J]. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36(7): 983-988.
- [20] 杨伟, 张娜, 金丽娟, 等. 胃癌细胞株 BGC-823 中 miR-138-5p 负性调控 Sirt1 基因的表达[J]. *宁夏医科大学学报*, 2016, 38(9): 980-984+993+封四..
- [21] 史永亮. Notch-1 和 Survivin 在甲状腺乳头状癌中的表达及意义[J]. *河北医药*, 2013, 35(11): 1611-1612.
- [22] 王丽萍, 江小强, 张海燕, 等. Notch1、VEGF 在食管癌组织中的表达及与生存率的相关性[J]. *中国热带医学*, 2016, 16(3): 277-280.
- [23] 赵军华, 周志杰, 崔吉冈, 等. miR-138-5p 靶向缺氧诱导因子对人肾癌细胞 GRC-1 生长、侵袭和迁移的影响[J]. *中国免疫学杂志*, 2019, 35(5): 564-569.
- [24] 刘正端, 刘丽娜, 刘源, 等. 通幽汤对食管鳞癌细胞 MMP-2、MMP-9 及 TIMP-1 表达的影响[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2018, 24(2): 187-189+244.
- [25] 尚双艳. MMP-9 和 Survivin 在胃癌中的表达及其相关性[D]. 延安大学, 2013.

(收稿日期: 2021-06-04 本文编辑: 李记文)