

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.21.007

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210920.0210.002.html\(2021-09-22\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20210920.0210.002.html(2021-09-22))miR-365a-3p 靶向调控 JAK-STAT 信号通路抑制
三阴性乳腺癌细胞的恶性生物行为研究黄君华¹,王琼²,杨进¹,但家强¹,黄元坤¹,谭旭东^{1△}

(四川省成都市第五人民医院:1. 甲状腺乳腺外科;2. 健康管理中心 611130)

[摘要] **目的** 针对三阴性乳腺癌(TNBC)探究微小 RNA(miRNA)-365a-3p 对其恶性生物行为的影响并分析潜在的分子调控机制。**方法** 选取 2018 年 6 月至 2019 年 12 月该院收治的行外科手术切除治疗的 TNBC 患者 50 例作为研究对象,收集 TNBC 组织和癌旁组织,并统计 TNBC 患者的肿瘤相关临床资料。采用实时荧光定量聚合酶链反应检测 miR-365a-3p 在组织和乳腺癌细胞中的表达水平,将 miR-365a-3p 模拟物(mimic)及阴性对照(NC)mimic 转染至 MDA-MB-453 细胞后分别通过 CCK-8 实验、克隆平板形成、Transwell 和划痕实验检测 TNBC 细胞的恶性生物行为。采用双荧光素酶报告基因实验预测 miR-365a-3p 靶通路,并对细胞质双面蛋白酪氨酸激酶(JAK)和信号传导及转录激活因子(STAT)蛋白进行定量检测。**结果** TNBC 组织及乳腺癌细胞系中 miR-365a-3p 表达均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);且肿瘤越大、Ki67 表达水平越高、浸润范围越深、存在淋巴结转移及 TNM 分期越差者 miR-365a-3p 表达水平越低,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。同时转染 miR-365a-3p mimic 后能显著抑制 MDA-MB-468 细胞株增殖、集落形成、迁移及侵袭能力。JAK 与 miR-365a-3p 存在相同位点,且 JAK-WT+miR-365a-3p 共转染组荧光素酶活性与 JAK-MUT+miR-365a-3p 共转染组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$);此外 miR-365a-3p mimics 明显抑制 JAK、STAT 蛋白水平,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** miR-365a-3p 与 TNBC 肿瘤不良进展有关,并通过抑制 JAK-STAT 信号通路抑制 TNBC 细胞的恶性生物行为。

[关键词] miR-365a-3p;三阴性乳腺癌;JAK-STAT 信号通路;侵袭**[中图分类号]** R73-37**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)21-3633-06

miR-365a-3p suppresses malignant biological behaviors of triple negative breast cancer cells by targeted-regulating JAK-STAT signal pathway*

HUANG Junhua¹,WANG Qiong²,YANG Jin¹,DAN Jiaqiang¹,HUANG Yuankun¹,TAN Xudong^{1△}

(1. Department of Thyroid and Breast Surgery;2. Health Management Center, Chengdu Municipal Fifth People's Hospital, Chengdu, Sichuan 611130, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect of microRNA (miR)-365a-3p on the malignant biological behavior of triple negative breast cancer (TNBC) cells, and to analyze its potential molecular regulatory mechanisms. **Methods** Fifty cases of TNBC treated by operation in this hospital from June 2018 to December 2019 were selected as the study subjects. The TNBC tissues and paracancerous tissues were collected, and the tumor related clinical data were statistically analyzed. The expression level of miR-365a-3p in tissues and TNBC cells was detected by real-time fluorescent quantitative PCR. After transfection of miR-365a-3p mimics and negative control(NC) mimics into MDA-MB-468 cells, the malignant biological behaviors of TNBC cells were detected by the CCK-8 test, clone plate formation, Transwell and scratch test, respectively. The double luciferase reporter gene assay was adopted to predict miR-365a-3p target pathway, and the Janus Kinase (JAK) and signal transducers and activators of transcription (STAT) protein were quantitatively detected. **Results** The expression of miR-365a-3p in the TNBC tissues and breast cancer cell lines was significantly reduced with statistical difference ($P < 0.01$), moreover the bigger the tumor, the higher the Ki67 expression level, the deeper the invasion range, the lower the miR-365a-3p lever, in the patients with lymph node metastasis and poor TNM stage, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). At the same time, the transfection with miR-

365a-3p mimic could significantly inhibit the proliferation, colony formation, migration and invasion ability of MDA-MB-468 cell lines. The same site between JAK and miR-365a-3p existed, moreover the luciferase activity of the JAK-WT+miR-365a-3p co-transfection group was statistically different from that of the JAK-MUT+miR-365a-3p co-transfection group, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). In addition, miR-365a-3p mimics significantly inhibited the levels of JAK and STAT proteins, and the difference was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion** miR-365a-3p is related to the adverse tumor progression of TNBC and inhibits the malignant biological behavior of TNBC cells by inhibiting the JAK-STAT signaling pathway.

[Key words] miR-365a-3p; triple negative breast cancer; JAK-STAT signaling pathway; invasion

乳腺癌是起源于女性乳腺上皮细胞的恶性肿瘤, 2018 年全球肿瘤普查性研究表明, 乳腺癌占女性恶性肿瘤新确诊病例的 25%, 已成为全球范围内影响女性身体健康最常见的恶性肿瘤^[1-2]。而三阴性乳腺癌 (triple negative breast cancer, TNBC) 作为侵袭性最高的乳腺癌类型^[3], 占乳腺癌确诊病例的 15%~25%^[4], 早期即可出现腋窝淋巴结转移。且由于无法应用曲妥珠单抗等生物靶向药物, 临床治疗手段较为局限, 故多数 TNBC 患者出现病灶侵袭及转移预后差, 极易复发, 生存时间短^[5]。因此, 探究 TNBC 生物治疗靶标及潜在的发生、发展机制对开发 TNBC 的临床治疗方式、改善患者预后具有重要意义。

微小 RNA (micro RNA, miRNA) 是内生性非编码短链核苷酸序列, 可调控体内 1/3 的蛋白编码基因^[6]。有研究发现, miRNA 通过调节下游信号通路参与调控 TNBC 肿瘤细胞的侵袭、发展, 并与 TNBC 耐药性及预后相关^[7-8]。XU 等^[7]报道, miRNA-193 通过靶向作用磷脂酰肌醇-3-羟激酶及蛋白激酶 B 等通路促进 TNBC 的进展, 而 UMEH-GARCIA 等^[8]则发现, miR-127 可通过下调神经酰胺激酶活性进而抑制 TNBC 侵袭、转移。最近有研究表明, miR-365a-3p 通过调节蛋白激酶 B/ β -链蛋白等相关通路参与了结肠癌、喉癌、肝癌等肿瘤的发生、发展^[9-11], 然而 miR-365a-3p 在 TNBC 组织中表达如何、是否介导 TNBC 的恶性生物行为及潜在的作用机制尚不可知, 故本研究针对 TNBC, 探究了 miR-365a-3p 的作用及潜在机制, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2018 年 6 月至 2019 年 12 月本院收治的行外科手术切除治疗的 TNBC 患者 50 例, 年龄 35~67 岁, 平均 (51.78 \pm 9.84) 岁。纳入标准: (1) 经病理学及影像学检查确诊为 TNBC; (2) 术前未接受任何形式的非手术治疗。排除标准: 乳腺癌复发或合并其他恶性肿瘤者。本研究符合本院伦理委员会制订的相关标准。

1.2 方法

1.2.1 细胞及试剂

人正常乳腺上皮细胞系 MCF-10A 和乳腺癌细胞

系 MDA-MB-231、MDA-MB-468、HCC-1937、MCF-7 均购自武汉大学生命科学系, 其中 MDA-MB-468 为 TNBC 细胞株。杜氏改良 Eagle 培养基 (Dulbecco's modified Eagle medium, DMEM) 培养基、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、Lipofectamine 2000 均购自广州派真生物科技有限公司。miR-365a-3p 模拟物 (mimic) 及阴性对照 (Negative control, NC) mimic 均购自上海吉凯生物科技有限公司。CCK-8 试剂购自上海碧云天生物科技有限公司。细胞质双面蛋白酪氨酸激酶 (janus Kinase, JAK) 和信号传导及转录激活因子 (signal transducers and activators of transcription, STAT) 及 β -actin 抗体均购自美国 Abcam 生物公司。

1.2.2 标本及临床资料收集

所有患者均取 1 份肿瘤组织, 并取癌灶边缘 3 cm 的癌旁组织作为对照。提取组织后迅速放置 -80°C 进行保存并进行相关后续实验, 同时收集患者年龄、肿瘤大小、Ki67 表达水平、浸润范围、淋巴结转移及 TNM 分期等临床资料。

1.2.3 细胞转染及培养

将 MCF-10A、MDA-MB-468、MDA-MB-231、HCC-1937、MCF-7 培养于含 10% FBS 的 DMEM 培养基内并置于 37°C 培养箱内培养, 当细胞生长融合度为 70%~80% 时用 0.25% 胰酶-乙二胺四乙酸消化传代。按照 Lipofectamine 2000 试剂说明书将 TNBC 细胞株 MDA-MB-468 转染 miR-365a-3p mimic 和 NC mimic 探究 miR-365a-3p 对 TNBC 细胞株的恶性生物行为。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 检测 miR-365a-3p 表达水平

采用 Trizol 裂解 TNBC 组织及 TNBC 细胞系并用总 RNA 纯化试剂盒提取乳腺癌细胞总 RNA; 用 QuantiTect Reverse Transcription Kit 将 RNA 逆转录为 cDNA 后采用两步扩增法进行 PCR 扩增。随后进行荧光定量检测。miR-365a-3p、U6 及内参 GAPDH 的引物序列见表 1。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因表达水平。

1.2.5 蛋白提取及 Western blot 实验

用 RIPA 裂解乳腺癌细胞提取细胞总蛋白后采用蛋白质定量 (BCA) 法测定蛋白浓度。然后将蛋白

在 80 V 电压下进行十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后在 120 V 条件下采用湿转法将蛋白转移至聚偏氟乙烯膜。用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h 后分别孵育 JAK、STAT、 β -actin 抗体,并 4 °C 过夜。漂洗后

加入辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 1 h。采用电化学发光(ECL)发光液检测蛋白条带,并用 Image J 进行条带定量计算。

表 1 miR-365a-3p、U6 及 GAPDH 的引物序列

RNA	Sequences	Anti-sequences
miR-365a-3p	5'-GCCCTAAAAATCCTT-3'	5'-GTGCAGGGTCCGAGGT
U6	5'-CTCGCTTCGGCAGCACAIN1-3'	5'-AACGCTTACGAATTTGCGT-3'
GAPDH	5'-ACAACCTTTGGTAT CGTGAAGG-3'	5'-GCCATCACGCCACAGTTTC-3'

1.2.6 CCK-8 实验检测 MDA-MB-468 增殖能力

将 5×10^3 个细胞接种于 96 孔培养板中置于含 5% CO₂ 的 37 °C 培养箱内培养 24 h。然后每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂后在培养箱中 37 °C 孵育 1 h。在转染 miR-365a-3p mimic 和 NC mimic 后第 0、24、48、72、96 h 检测波长 450 nm 处的光密度值。

1.2.7 克隆形成实验检测细胞集落形成能力

MDA-MB-468 细胞转染 24 h 后以 0.25% 胰酶-乙二胺四乙酸消化,用含 10% FBS 的 DMEM 培养基重悬并接种至 6 孔板,每孔 800 个细胞。置 37 °C、5% CO₂ 及饱和湿度细胞培养箱中培养 2~3 周后采用 4% 多聚甲醛固定后以 0.1% 结晶紫染色,低倍显微镜下拍照记录细胞克隆数。

1.2.8 Transwell 法检测细胞侵袭能力

将转染后的 MDA-MB-468 细胞接种于 RPMI-1640 培养基重悬后加入 Transwell 上室无血清培养,Transwell 下室加入含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液。细胞于含 5% CO₂ 的 37 °C 培养箱内培养 48 h,用棉签擦去 Transwell 上室细胞。4% 多聚甲醛固定后以 0.1% 结晶紫染色。随机选取 5 个视野计数每个视野中的迁移或侵袭细胞数。

1.2.9 细胞划痕实验检测细胞迁移能力

取 6×10^5 个转染后的细胞并将其接种于 6 孔板,在 6 孔板背面画 5 条平行线作为标记,24 h 后枪头比着直尺,垂直于背后的横线划痕,用磷酸盐缓冲溶液洗细胞 3 次,去除划下的细胞,加入无血清培养基。置于放入 37 °C、5% CO₂ 培养箱中进行孵育。

1.2.10 双荧光素酶报告基因实验预测 miR-365a-3p 的潜在靶通路

通过 TargetScan 在线预测 JAK 是否存在与 miR-365a-3p 的可匹配的碱基序列。将 JAK 基因 3'-端非编码区 (3'-untranslated region, 3'-UTR) 构建到荧光素酶报告基因载体上,将 JAK-野生型 (wild type, WT) 和 JAK-突变型 (mutant type, MUT) 分别与 NC mimic 及 miR-365a-3p mimic 转染至 MDA-MB-468 细胞内。孵育 72 h 后检测细胞中荧光素酶活性。

1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用 *t* 检验;计数资料采用例数或率表示,比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-365a-3p 在 TNBC 组织及 TNBC 细胞系中的表达水平

与癌旁组织比较,TNBC 组织中 miR-365a-3p 表达明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1A。同时肿瘤越大、Ki67 表达水平越高、浸润范围越深、存在淋巴结转移、TNM 分期越差患者 miR-365a-3p 表达水平越低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 2。此外与正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 比较,乳腺癌细胞中 miR-365a-3p 表达明显下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 1B。

表 2 TNBC 患者临床特征与 miR-365a-3p 表达水平比较

项目	<i>n</i>	$\bar{x} \pm s$	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄			0.429	0.669
<50 岁	21	0.36 \pm 0.09		
\geq 50 岁	29	0.35 \pm 0.09		
肿瘤大小			3.480	0.001
\leq 2 mm	35	0.39 \pm 0.09		
>2 mm	15	0.30 \pm 0.07		
Ki67			4.613	0.001
\leq 14%	26	0.40 \pm 0.07		
>14%	24	0.48 \pm 0.07		
浸润范围			3.261	0.002
T1+T2	31	0.38 \pm 0.07		
T3+T4	19	0.30 \pm 0.10		
淋巴结转移			2.601	0.013
无	24	0.37 \pm 0.07		
有	26	0.34 \pm 0.09		
TNM 分期			8.634	0.001
0/I/II	27	0.43 \pm 0.04		
III/IV	13	0.29 \pm 0.06		

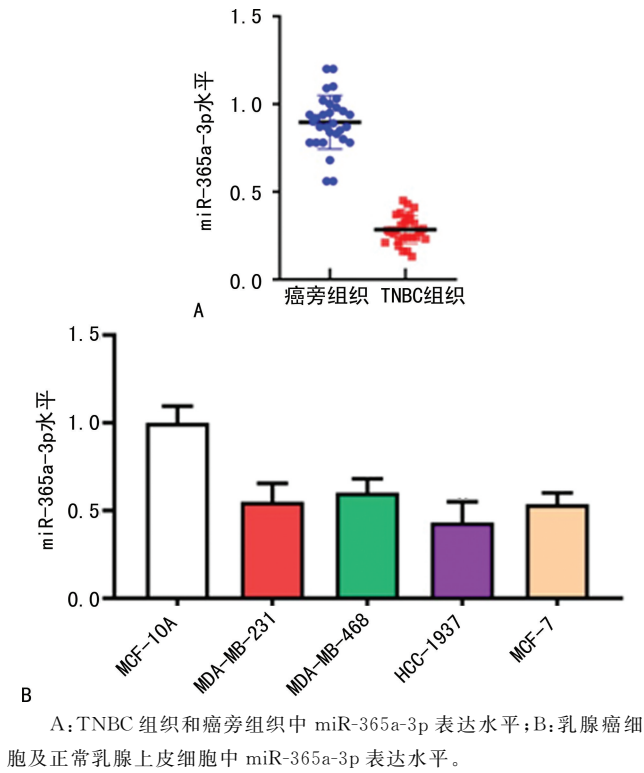


图 1 miR-365a-3p 在 TNBC 组织及乳腺癌细胞系中的表达水平

图 1 miR-365a-3p 在 TNBC 组织及乳腺癌细胞系中的表达水平

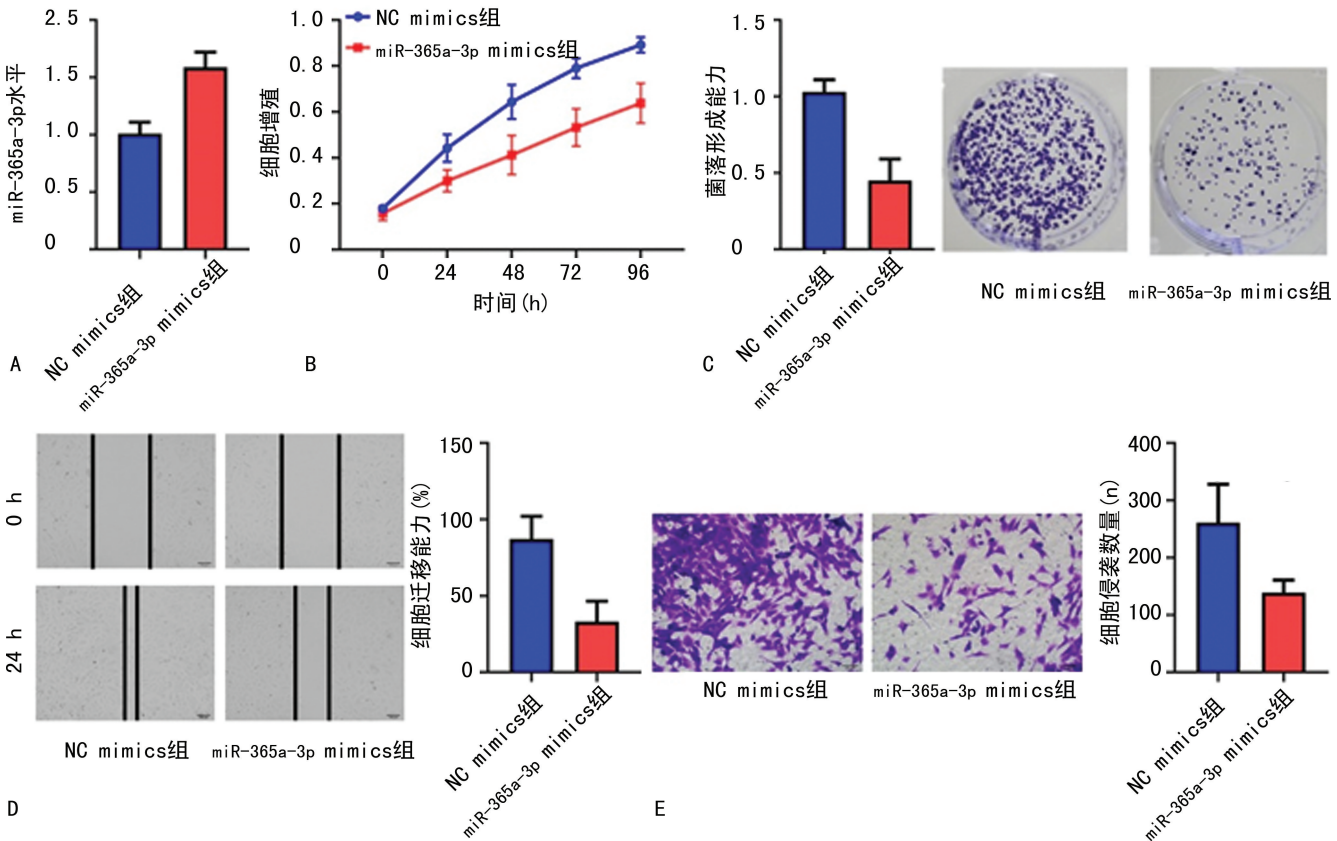


图 2 miR-365a-3p 促进 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭

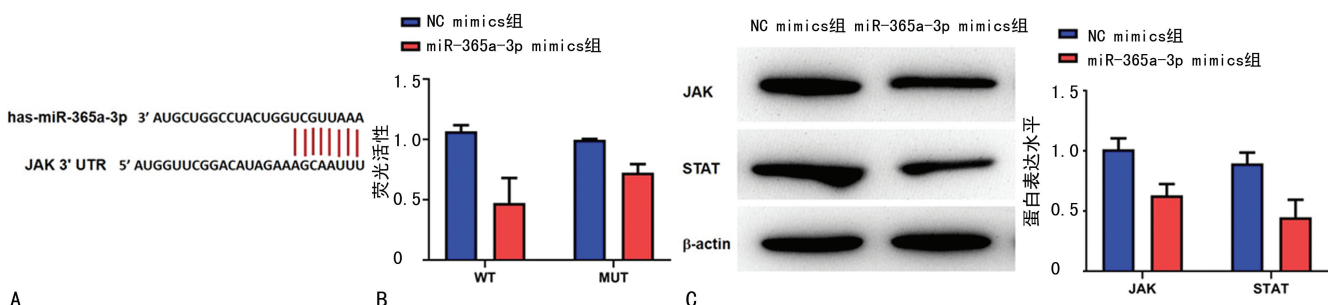
2.2 miR-365a-3p 促进 TNBC 细胞的恶性生物行为

转染 miR-365a-3p mimics 后 miR-365a-3p 表达明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2A, 提示转染成功。转染 miR-365a-3p mimics 后 MDA-MB-468 细胞增殖水平明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2B。与 NC mimics 组比较, miR-365a-3p mimics 组细胞克隆集落形成能力明显降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2C。转染 miR-365a-3p mimics 后 TNBC 细胞迁移能力受损, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2D。高表达 miR-365a-3p 可抑制 MDA-MB-468 细胞侵袭能力, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 2E。

2.3 miR-365a-3p 靶向调控 JAK-STAT 的通路

JAK 启动子区存在 miR-365a-3p 的靶向结合位点, 即 JAK 可能是 miR-365a-3p 靶向调节基因, 见图 3A。JAK-WT + miR-365a-3p 共转染组荧光素酶活性明显降低, 与 JAK-MUT + miR-365a-3p 共转染组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3B。miR-365a-3p mimics 组 JAK、STAT 蛋白水平较 NC mimics 组明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3C。

图 2 miR-365a-3p 促进 TNBC 细胞增殖、迁移和侵袭



A: JAK 是 miR-365a-3p 潜在靶点; B: miR-365a-3p-WT 降低荧光活性; C: miR-365a-3p 模拟物可降低 JAK、STAT 蛋白表达水平。

图 3 JAK-STAT 是 miR-365a-3p 的靶向通路

3 讨论

TNBC 是具有高度侵袭性、转移性和异质性的乳腺癌亚型,该亚型患者发病年龄低,早期即出现淋巴结转移,同时对常规内分泌和靶向药物治疗无效,预后差,复发率高,严重威胁着人类健康^[7]。因此,探究 TNBC 发生、发展机制对完善临床治疗方式、改善患者预后极为重要。miRNA 可通过调控编码蛋白的表达而控制肿瘤细胞生长、分化、侵袭等病理过程,成为近年来乳腺癌研究的热点问题,也是实现 TNBC 精准基因靶向治疗的重要研究方向^[12]。

miR-365a-3p 是近年来新发现的抗癌因子,其异常表达参与了众多实体恶性肿瘤的发生、发展,并与多种疾病的不良预后有关。HONG 等^[9]报道,低表达 miR-365a-3p 结肠癌患者无复发生存率和总生存率明显降低,同时是结肠癌患者预后的独立危险因素。而 LI 等^[10]则通过功能学实验发现,miR-365a-3p 作为长链非编码 RNA ZEB1-AS1 的下游调控基因可明显抑制肝癌细胞增殖和侵袭。本研究结果显示, TNBC 组织中 miR-365a-3p 明显降低,同时低表达 miR-365a-3p 患者肿瘤范围更大、Ki67 表达水平较高、浸润深、存在淋巴结转移情况及 TNM 分期较差提示低表达 miR-365a-3p 作为抗癌因子与 TNBC 的不良预后明显相关。因此,本研究进一步通过实时荧光定量 PCR 检测发现,各乳腺癌细胞系 miR-365a-3p 均较低,与临床组织学结果一致。通过转染 miR-365a-3p mimics 发现,MDA-MB-468 细胞内 miR-365a-3p 表达升高,同时能明显抑制 MDA-MB-468 细胞株增殖、集落形成、迁移及侵袭能力,表明高表达 miR-365a-3p 可明显阻滞 TNBC 细胞株发生、发展,抑制其恶性生物学行为,提示 miR-365a-3p 可作为 TNBC 潜在的治疗靶点。

尽管现有研究表明, E2F 转录因子 2、核转录因子-κB 及跨膜蛋白 Robo1 等作为 miR-365a-3p 靶通路参与了众多肿瘤的发生、发展^[11-13],然而 miR-365a-3p 调控 TNBC 的增殖和侵袭等恶性生物学行为的作用机制尚不明确,本研究通过 TargetScan 软件发现, JAK 编码基因存在与 miR-365a-3p 序列存在可匹配位点,继而通过双荧光素酶报告基因实验发现, miR-365a-

3p 靶向调控 JAK 蛋白基因。而 STAT 作为 JAK 的下游蛋白,二者共同组成 JAK-STAT 顺序通路信号参与肿瘤的进展。本研究结果显示, miR-365a-3p 可明显抑制 JAK-STAT 蛋白表达水平,提示 miR-365a-3p 通过靶向抑制 JAK-STAT 信号通路。而最新有研究表明, JAK-STAT 信号通路突变激活后可促进乳腺癌细胞的增殖、侵袭^[14],同时通过诱导原细胞源性因子的表达参与了乳腺癌的耐药性^[15],进一步佐证了 JAK-STAT 信号通路可作为 miR-365a-3p 的调控靶点抑制 TNBC 细胞的恶性生物行为。

综上所述, miR-365a-3p 在 TNBC 肿瘤样本和乳腺癌细胞系中表达水平下降,同时与 TNBC 患者的不良预后指标存在相关性,此外 miR-365a-3p 可通过抑制 JAK-STAT 信号通路而抑制 TNBC 细胞株的恶性生物行为,为解释 TNBC 发展的潜在机制及开发新的治疗靶点提供了重要参考。

参考文献

- [1] 张志强, 郑爽, 马怡, 等. MicroRNA-145 在乳腺癌中的表达及其对乳腺癌侵袭转移的影响研究[J]. 中国医药指南, 2020, 18(12): 125-126.
- [2] BRAY F, FRELAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424.
- [3] 程龙, 徐五琴, 张鹏, 等. 下调 miR-27a 表达对三阴乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2020, 40(2): 188-193.
- [4] COSTA R L B, HAN H S, GRADISHAR W J. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in triple-negative breast cancer: a review [J]. Breast Cancer Res Treat, 2018, 169(3): 397-406.
- [5] 黎辉, 韩明其, 陈明光. 三阴性乳腺癌的病理特征及临床预后探讨[J]. 中外医疗, 2020, 39(2): 29-31.

- [6] WU X. Expressions of miR-21 and miR-210 in breast cancer and their predictive values for prognosis[J]. *Iran J Public Health*, 2020, 49(1):21-29.
- [7] XU J H, ZHAO J X, JIANG M Y, et al. MiR-193 promotes cell proliferation and invasion by ING5/PI3K/AKT pathway of triple-negative breast cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(6):3122-3129.
- [8] UMEH-GARCIA M, SIMION C, HO P Y, et al. A novel bioengineered miR-127 prodrug suppresses the growth and metastatic potential of triple-negative breast cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(3):418-429.
- [9] HONG Y G, XIN C, ZHENG H, et al. miR-365a-3p regulates ADAM10-JAK-STAT signaling to suppress the growth and metastasis of colorectal cancer cells[J]. *J Cancer*, 2020, 11(12):3634-3644.
- [10] LI M, GUAN H, LIU Y, et al. LncRNA ZEB1-AS1 reduces liver cancer cell proliferation by targeting miR-365a-3p [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(5):3539-3547.
- [11] GENG J, LIU Y, JIN Y, et al. MicroRNA-365a-3p promotes tumor growth and metastasis in laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2016, 35(4):2017-2026.
- [12] KAPADIA C H, IOELE S A, DAY E S. Layer-by-layer assembled PLGA nanoparticles carrying miR-34a cargo inhibit the proliferation and cell cycle progression of triple-negative breast cancer cells[J]. *J Biomed Mater Res A*, 2020, 108(3):601-613.
- [13] YIN L, XIAO X, GEORGIKOU C, et al. MicroRNA-365a-3p inhibits c-Rel-mediated NF- κ B signaling and the progression of pancreatic cancer [J]. *Cancer Lett*, 2019, 28(452):203-212.
- [14] KNUTTI N, HUBER O, FRIEDRICH K. CD147 (EMMPRIN) controls malignant properties of breast cancer cells by interdependent signaling of Wnt and JAK/STAT pathways[J]. *Mol Cell Biochem*, 2019, 451(1/2):197-209.
- [15] IREY E A, LASSITER C M, BRADY N J, et al. JAK/STAT inhibition in macrophages promotes therapeutic resistance by inducing expression of protumorigenic factors [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2019, 116(25):12442-12451.

(收稿日期:2021-03-08 修回日期:2021-05-22)

(上接第 3632 页)

- [9] YAO C C, LI Z, YU W, et al. Astragaloside IV attenuates renal fibrosis through repressing epithelial-to-mesenchymal transition by inhibiting microRNA-192 expression; in vivo and in vitro studies[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(8):5029-5038.
- [10] BOSE B, CATTRAN D. Glomerular diseases: FSGS [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014, 9(3):626-632.
- [11] WADA T, NANGAKU M. A circulating permeability factor in focal segmental glomerulosclerosis; the hunt continues[J]. *Clin Kidney J*, 2015, 8(6):708-715.
- [12] 吕静, 庞立健, 吕晓东. 运用肾络理论论治肾小球硬化[J]. *中华中医药学刊*, 2013, 31(9):1928-1929.
- [13] 徐蕾, 任现志. 黄芪对足细胞损伤修复作用的研究进展[J]. *江苏中医药*, 2017, 49(3):82-85.
- [14] Kidney Disease Outcomes Quality Initiative(K/DOQI). K/DOQI clinical practice guidelines on hypertension and antihypertensive agents in chronic kidney disease[J]. *Am J Kidney Dis*, 2004, 43(5 Suppl 1):S1-290.
- [15] HE K Q, LI W Z, CHAI X Q, et al. Astragaloside IV prevents kidney injury caused by iatrogenic hyperinsulinemia in a streptozotocin-induced diabetic rat model[J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(2):1078-1088.
- [16] MOORHEAD J F, CHAN M K, EI-NAHAS M, et al. Lipid nephrotoxicity in chronic progressive glomerular and tubulo-interstitial disease[J]. *Lancet*, 1982, 2:1309-1311.

(收稿日期:2021-02-16 修回日期:2021-07-12)