

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.24.004

## CircRNA-1565 对非小细胞肺癌 A549 细胞增殖和凋亡的影响\*

张茹茹<sup>1</sup>, 朱正秋<sup>2△</sup>, 彭猛青<sup>1</sup>, 徐娟<sup>1</sup>, 张坤<sup>1</sup>

(1. 江苏省宿迁市钟吾医院/宿迁市肿瘤医院肿瘤科 223800;

2. 徐州医科大学附属医院肿瘤科, 江苏徐州 221000)

**[摘要]** **目的** 探讨环状 RNA(CircRNA)-1565 通过 10-11 转位基因 2(TET2) 基因对非小细胞肺癌 A549 细胞增殖、细胞周期和凋亡的影响。**方法** 采用 qPCR 检测 CircRNA-1565 在肺癌组织、癌旁组织、不同肺癌细胞系中的表达,同时选取 CircRNA-1565 高表达的 A549 细胞系,并分为对照组(正常 A549 细胞)、阴性对照组(转染无基因序列的 A549 细胞)、实验组(转染沉默 CircRNA-1565 质粒的 A549 细胞)。采用 MTT 检测各组细胞增殖活性,流式细胞术检测细胞周期、凋亡率,Western blot 检测各组细胞 TET2、细胞周期蛋白 D1/E1(Cyclin D1/E1)、细胞周期素依赖性激酶 1/2(CDK1/2)、凋亡蛋白 B 淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)、多聚 ADP 核糖聚合酶(PARP)的表达情况。**结果** 与癌旁组织比较,肺癌组织 CircRNA-1565 表达明显上调( $P < 0.05$ );与对照组和阴性对照组比较,实验组 A549 细胞增殖活性明显降低, $G_0/G_1$ 、 $G_2/M$  期细胞数量明显增加,S 期细胞明显减少,细胞凋亡率显著升高( $P < 0.05$ );Western blot 结果显示实验组细胞 TET2 蛋白、细胞周期蛋白 Cyclin D1/E1、CDK1/2 表达水平明显下调,凋亡蛋白 Bax、PARP 表达水平明显上调( $P < 0.05$ )。**结论** CircRNA-1565 可促进非小细胞肺癌 A549 细胞增殖、抑制细胞凋亡,机制可能与下调 TET2 基因的表达、调控细胞周期蛋白、激活凋亡蛋白通路的表达有关。

**[关键词]** 环状 RNA-1565;10-11 转位基因 2;非小细胞肺癌;细胞周期;细胞凋亡

**[中图分类号]** R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2021)24-4156-06

## CircRNA-1565 by TET2 genes in non-small cell lung cancer A549 cell proliferation, cell cycle and apoptosis\*

ZHANG Ruru<sup>1</sup>, ZHU Zhengqiu<sup>2△</sup>, PENG Mengqing<sup>1</sup>, XU Juan<sup>1</sup>, Zhang Kun<sup>1</sup>

1. Department of Oncology, Suqian Zhongwu Hospital/Suqian Tumor Hospital, Suqian,

Jiangsu 223800, China; 2. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Xuzhou

Medical University, Xuzhou, Jiangsu 221000, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the effect of CircRNA-1565 on the proliferation, cell cycle and apoptosis of non-small cell lung cancer A549 through ten-eleven translocation 2 (TET2) gene. **Methods** QPCR was used to detect the expression of CircRNA-1565 in lung cancer tissues, adjacent tissues, and different lung cancer cell lines. At the same time, the A549 cell line with high expression of CircRNA-1565 was selected and divided into the control group (normal A549 cells), the negative control group (transfection A549 cells transfected with negative plasmid) and the experiment group (transfected with silencing CircRNA-1565 plasmid A549 cells). MTT was used to detect cell proliferation activity in each group, cell cycle and apoptosis rate were detected by flow cytometry, and Western blot was used to detect the expression of TET2, cyclin D1/E1 (Cyclin D1/E1), cyclin-dependent kinase 1/2 (CDK1/2), B-cell lymphoma 2 (Bcl-2), Bcl-2 related X protein (Bax), poly ADP-ribose polymerase (PARP). **Results** Compared with the adjacent tissues, the expression of CircRNA-1565 in lung cancer tissue was significantly up-regulated ( $P < 0.05$ ); compared with the control group and the negative control group, the proliferation activity of A549 cells in the experiment group significantly reduced, the number of cells in the  $G_0/G_1$ ,  $G_2/M$  phase significantly increased, S phase cells significantly reduced, and the apoptosis rate significantly increased ( $P < 0.05$ ); Western blot results showed that the expression

\* 基金项目:江苏省宿迁市指导性科技计划项目(Z2020042)。 作者简介:张茹茹(1982-),副主任医师,硕士,主要从事肺癌研究。

△ 通信作者, E-mail: haojgd2ru@21cn.com。

levels of TET2 protein, Cyclin D1/E1, and CDK1/2 in the experiment group were significantly down-regulated, and the expression level of the apoptotic protein Bax, PARP significantly increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion**

CircRNA-1565 can promote the proliferation and inhibit apoptosis of non-small cell lung cancer A549 cells. The mechanism may be related to down regulating the expression of TET2 gene, regulating cell cycle proteins and activating the expression of apoptotic protein pathway.

**[Key words]** circular RNA-1565; 10-11 translocation gene 2; non-small cell lung cancer; cell cycle; apoptosis

非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 是一种常见的恶性肿瘤, 具有早期诊断困难、生存率低、预后不良等特点<sup>[1]</sup>。尽管针对 NSCLC 的治疗和研究取得了一定的进展, 但 NSCLC 细胞较高的增殖活性是 NSCLC 患者预后的主要影响因素。因此, 研究 NSCLC 发生、发展的分子机制, 对 NSCLC 的预后具有重要意义<sup>[2]</sup>。环状 RNA (CircRNA) 是一类特殊的非编码 RNA, 研究表明 CircRNA 与肿瘤的产生密切相关, CircRNA 分子富含微小 RNA (microRNA) 结合位点, 可以和靶基因竞争性结合 microRNA, 进而解除 microRNA 对靶基因的抑制作用, 改变相关基因的表达水平, 调控肿瘤的发生与发展<sup>[3-5]</sup>。本研究构建 CircRNA-1565 低表达 NSCLC A549 细胞, 进而探讨 CircRNA-1565 通过 TET2 基因对 NSCLC A549 细胞增殖、细胞周期和凋亡的影响, 为 NSCLC 的精准靶向治疗奠定理论基础。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取 2017 年 5 月至 2020 年 6 月宿迁市钟吾医院收治的 30 例 NSCLC 患者为研究对象, 其中男 14 例, 女 16 例, 平均年龄 (62.0 ± 4.3) 岁。纳入标准: (1) 患者经过病理科确诊符合非小细胞肺癌 NCCN 诊断指南 (2017 年第 5 版); (2) 术前 6 个月未接受其他治疗方案; (3) 无高血压、糖尿病等基础性疾病; (4) 患者及其家属知晓本试验所有研究方案, 并签署知情同意书。本研究由宿迁市钟吾医院伦理委员会批准通过。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 仪器与试剂

肺癌 A549、HCC827、PC9、NCI-H1650、NCI-H1299 细胞系购自中科院上海细胞库; DMEM 培养基、青链霉素、胰酶、胎牛血清购自美国 Sigma 公司。转染质粒购自上海凯吉公司; qPCR 试剂盒购自日本 Takara 公司; MTT 试剂盒购自大连美伦公司; BCA 试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司; TET2、Cyclin D1/E1、CDK1/2、Bax、PARP、GAPDH 一抗购自美国 Abcam 公司; RIPA、胰酶、ECL 显色液购自上海碧云天公司; FITC Apoptosis Detection Kit I 试剂盒购自美国 BD 公司。Lipo6000<sup>TM</sup> 购自上海碧云天公司; Trizol 试剂购自美国 Invitrogen 公司; 多功能呈像

仪、实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司; 倒置显微镜、无菌操作台购自日本基恩士公司; 流式细胞仪购自美国 Beckman Coulter 公司; 倒置荧光显微镜购自日本 Olympus 公司; DYY-7C 电泳仪购自美国 GE 公司; 二氧化碳培养箱购自美国 Thermo 公司; 台式高速冷冻离心机购自美国 Beckman Coulter 公司; 化学发光仪购自美国 BioRad 公司。

#### 1.2.2 临床标本分析

取 30 例 NSCLC 患者癌组织和癌旁组织, 按照核酸提取试剂盒说明书操作, 提取两种组织 RNA 定量, 逆转录合成 cDNA, 按照 qPCR 试剂盒说明操作检测两种组织 CircRNA-1565、TET2 表达情况, 引物序列见表 1。

表 1 基因引物序列

基因	引物序列
CircRNA-1565	正向: 5'-AGC ATA GCA GCA GAG T-3'
	反向: 5'-TGT AGA TGA TCA AGA CA-3'
TET2	正向: 5'-TGT AGC CCA TCA AGA CA-3'
	反向: 5'-TGT AGC CCA TCA AGA CA-3'
GAPDH	正向: 5'-TGT ATG CCA TCT ACA CA-3'
	反向: 5'-TGT AGA CCA TCA TCA CA-3'

#### 1.2.3 细胞培养

将处于对数生长期的 A549、HCC827、PC9、NCI-H1650、NCI-H1299 细胞置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 饱和湿度培养箱进行培养, 使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基进行培育, 细胞贴壁生长至 90%, 采用 0.25% 胰酶消化传代, qPCR 检测各组细胞 CircRNA-1565 表达情况。

#### 1.2.4 细胞分组和转染

取对数生长期 A549 细胞, 用 1% 胰酶消化制备单细胞悬液 (1 × 10<sup>6</sup>/mL), 接种于 6 孔板中, 5% CO<sub>2</sub>、37 °C 培养箱培养, 细胞贴壁生长融合至 70% 后, 按照转染试剂说明书进行操作。分组: 对照组 (正常 A549 细胞)、阴性对照组 (转染无序基因序列的 A549 细胞)、实验组 (转染 CircRNA-1565 反义基因序列质粒, 沉默 CircRNA-1565 表达的 A549 细胞)。转染完毕后, qPCR 检测各组细胞 CircRNA-1565 表达水平。

#### 1.2.5 MTT 检测细胞增殖活性

取各组对数生长期细胞,用 1.5%胰酶消化、离心制备细胞悬液( $1 \times 10^4$  个/mL),接种于 96 孔板,每孔 100  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度培养箱进行培养,分别设置 12、24、36、48 h 4 个检测时间点,检测时每孔加入 100  $\mu$ L MTT 工作液,去上清液后,每孔加 150  $\mu$ L DMSO,室温摇床 10 min,多功能酶标仪检测 570 nm 处吸光度(A)值,每组实验重复 3 次。

### 1.2.6 流式细胞术检测细胞周期

取各组对数生长期细胞,用 1.5%胰酶消化、离心制备细胞悬液( $1 \times 10^6$  个/mL),按照细胞周期检测说明书操作,采用流式细胞仪检测各组细胞周期,每组实验重复 3 次。

### 1.2.7 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况

取各组对数生长期细胞,用 1.5%胰酶消化、离心制备细胞悬液( $1 \times 10^6$  个/mL),接种于 6 孔板,每孔 200  $\mu$ L,37  $^{\circ}$ C、5%  $\text{CO}_2$  饱和湿度培养箱进行培养 24 h,待细胞贴壁融合生长至 70%时,每孔加入 200  $\mu$ L T/E 消化细胞,收集细胞悬液,混匀至 tube 管中,按照细胞凋亡试剂盒操作说明书检测各组细胞凋亡情况,用流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况,每组实验重复 3 次。

### 1.2.8 Western blot 检测细胞周期/凋亡蛋白表达情况

取各组对数生长期细胞,用 1.5%胰酶消化,均匀铺板至 6 孔板,待细胞生长融合至 80%时,去细胞悬液,1 $\times$ PBS 溶液清洗 3 次,采用 RIPA 冰上消化裂解 30 min,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液进行 BCA 蛋白定量,按照试剂盒说明书进行,使用 LB 溶液制备电泳样品,采用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离,转膜,封闭(5% BSA),孵育兔抗 TET2、Cyclin D1/E1、CDK1/2、Bax、PARP 一抗 4  $^{\circ}$ C 冰箱过夜,1 $\times$ PBS 溶液清洗 3 次,孵育 IgG 二抗 2 h 后,加入 ECL 显色液,多功能呈象系统曝光成像,采用 Image J 进行蛋白定量分析。

### 1.3 统计学处理

采用 SPSS19.0 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,以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

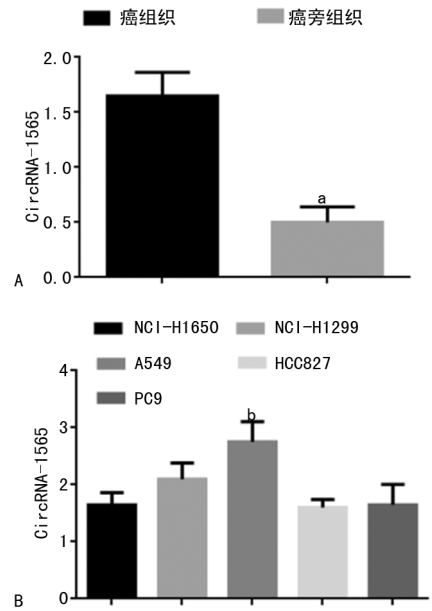
### 2.1 qPCR 检测组织和细胞中 CircRNA-1565 的表达情况

与肺癌组织比较,癌旁组织 CircRNA-1565 表达水平明显降低( $P < 0.05$ ),A549 细胞 CircRNA-1565 表达水平明显高于其他肺癌细胞系( $P < 0.05$ ),见图 1。

### 2.2 qPCR 检测 CircRNA-1565 和 TET2 在各组细胞中的表达情况

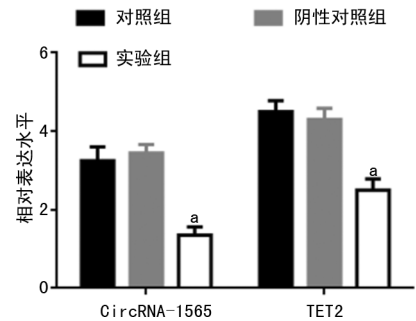
与对照组和阴性对照组比较,实验组细胞 Cir-

cRNA-1565 和 TET2 表达水平明显降低( $P < 0.05$ ),见图 2。



A: CircRNA-1565 在不同组织中的表达; B: CircRNA-1565 在不同细胞系中的表达; a:  $P < 0.05$ ,与癌组织比较; b:  $P < 0.05$ ,与其他细胞系比较。

图 1 CircRNA-1565 在肺癌不同组织和细胞系中表达情况

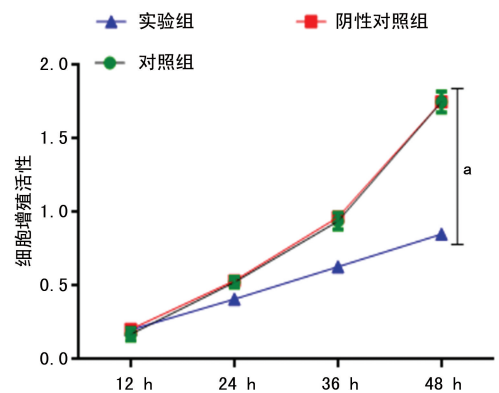


a:  $P < 0.05$ ,与对照组和阴性对照组比较。

图 2 CircRNA-1565 和 TET2 在各组细胞中的表达情况

### 2.3 MTT 检测各组细胞活性

与阴性对照组比较,实验组细胞增殖活性明显降低( $P < 0.01$ ),见图 3。



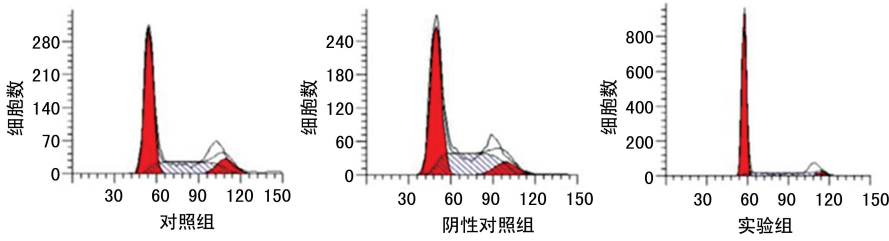
a:  $P < 0.05$ ,与对照组比较。

图 3 MTT 检测各组细胞增殖活性

### 2.4 细胞周期检测

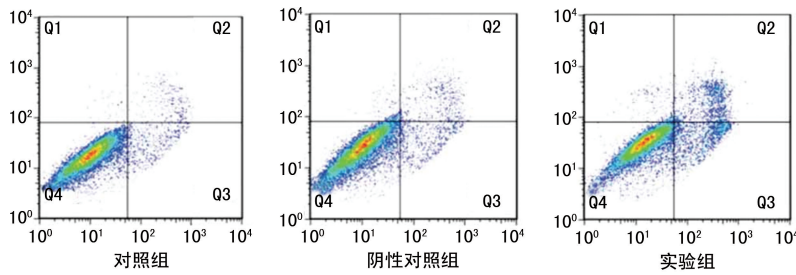
与对照组和阴性对照组比较,低表达 CircRNA-1565 的实验组 A549 细胞 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期和 G<sub>2</sub>/M 细胞比例增加,而 S 期细胞比例降低( $P < 0.05$ ),见图 4。

### 2.5 细胞凋亡检测



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与对照组和阴性对照组比较。

图 4 流式细胞术检测各组细胞周期

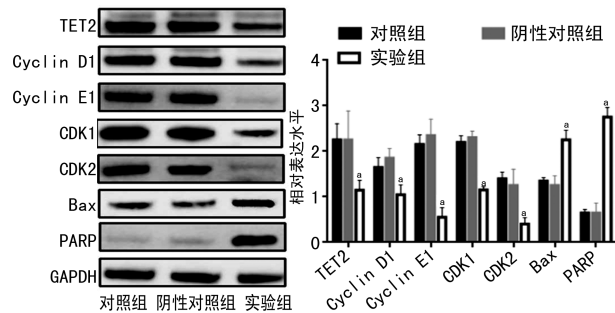


<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与对照组和阴性对照组比较。

图 5 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况

### 2.6 Western blot 检测细胞蛋白表达情况

与对照组和阴性对照组比较,实验组细胞 TET2 蛋白、细胞周期蛋白 Cyclin D1/E1、CDK1/2 表达水平明显下调,凋亡蛋白 Bax、PARP 表达水平明显上调( $P < 0.05$ ),见图 6。



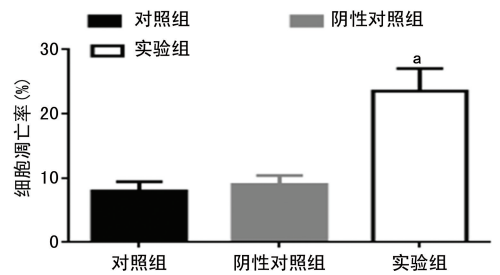
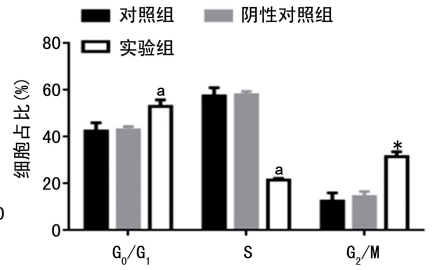
<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与对照组和阴性对照组比较。

图 6 Western blot 检测各组细胞蛋白表达情况

## 3 讨论

肺癌是一种常见的恶性肿瘤,其较高的发病率(11.6%)和病死率(18.4%),极大地影响了我国居民健康水平的改善<sup>[6]</sup>。肺癌分为鳞癌、腺癌、大细胞肺癌、小细胞肺癌 4 种,其中 NSCLC 占肺癌的 80%~85%<sup>[7]</sup>。NSCLC 的发生、发展涉及多种影响因素,早期诊断治疗对 NSCLC 的防治具有重要意义。研究 NSCLC 的分子机制,寻找新型的肿瘤标志物和分子靶点已经成为了新的研究热点。

与对照组和空白对照组比较,实验组 A549 细胞经转染 CircRNA-1565 反义基因序列后凋亡率上升,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见图 5。



CircRNA 是一种由共价键形成的闭合环状 RNA,广泛参与了细胞调节、免疫自稳、组织发育等生命活动<sup>[8-9]</sup>。CircRNA 作为内源性非编码 RNA 包含多个 miRNA 结合位点,可与 U1 snRNP、RNA 聚合酶 II 等蛋白相互作用,竞争性结合 miRNA 的作用靶点,具有 miRNA sponge 的作用<sup>[10-11]</sup>。研究 CircRNA 的表达与多种肿瘤的发生密切相关,CircRNA-001569 可通过 miR-145/HBXIP 轴影响乳腺癌细胞恶性生物学行为,CircRNA-001287 可通过 CEP55 促进肾癌细胞的增殖,CircRNA-HIPK3、LARP4、ZNF609 也被证实在鼻咽癌中异常表达<sup>[12-13]</sup>。CircRNA-1565 是一种新发现的 CircRNA,目前已经发现 CircRNA-1565 在前列腺癌、胰腺癌、食管癌的产生过程中发挥重要作用<sup>[14-15]</sup>,而 CircRNA-1565 在 NSCLC 方面的研究报道较少,因此,本研究选择 CircRNA-1565 为研究对象,通过构建 CircRNA-1565 低表达 A549 细胞系,观察 CircRNA-1565 对非小细胞肺癌 A549 细胞增殖、细胞周期和凋亡的影响。

研究结果显示,相对于 NSCLC 患者癌旁组织,肺癌组织中 CircRNA-1565 表达水平明显增高,说明 CircRNA-1565 与肺癌的发展密切相关。qPCR 选择 CircRNA-1565 高表达细胞系 A549 细胞,通过转染沉默质粒构建 CircRNA-1565 低表达细胞系。10-11 转位酶 2(TET2)一种催化甲基胞嘧啶转化为 5-羟甲基



胞嘧啶,启动基因去甲基化的甲基胞嘧啶双加氧酶<sup>[16]</sup>。TET2 的高表达可激活经典癌症 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的表达,促进肝癌、肺癌、胰腺癌等多种癌症产生且与肿瘤细胞的细胞周期、细胞凋亡密切相关<sup>[17]</sup>。qPCR 检测各组 A549 细胞中 CircRNA-1565 和 TET2 表达情况,结果显示,与对照组比较,实验组细胞 CircRNA-1565 和 TET2 表达水平同时降低,说明 CircRNA-1565 与 TET2 呈正相关。MTT 结果显示,与对照组 A549 细胞比较,实验组低表达 CircRNA-1565 A549 细胞增殖活性明显降低。流式细胞仪检测各组细胞细胞周期和凋亡情况,实验组细胞在 G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> 期和 G<sub>2</sub>/M 细胞比例增加,而 S 期细胞比例降低,同时实验组细胞凋亡率上升,说明 CircRNA-1565 具有促进 A549 细胞增殖活性、抑制细胞凋亡的作用。为了进一步明确具体的分子机制,本研究采用 Western blot 检测各组细胞周期蛋白 Cyclin D1/E1、CDK1/2 和凋亡蛋白 Bax、PARP 的表达。Cyclin D1/E1、CDK1/2、Cyclin D1/E1 可与 CDK1/2 结合形成周期蛋白复合物直接促进细胞成熟进行有丝分裂,推进细胞周期运行<sup>[18-22]</sup>。DNA 修复酶 PARP 是细胞凋亡核心成员半胱天冬酶的切割底物,可通过识别结构损伤的 DNA 片段而被激活,被认为是细胞凋亡的感受器<sup>[23-25]</sup>。结果显示,经转染 CircRNA-1565 反义基因序列质粒后,实验组 A549 细胞 TET2 蛋白、细胞周期蛋白 Cyclin D1/E1、CDK1/2 表达水平明显下调,凋亡蛋白 Bax、PARP 表达水平明显上调。说明 CircRNA-1565 可能通过抑制 TET2 基因的表达,进而诱导细胞周期蛋白下调,凋亡蛋白下调控 A549 细胞的周期和凋亡。

综上所述,CircRNA-1565 在 NSCLC 患者癌组织中高表达,低表达 CircRNA-1565 可抑制 A549 细胞的增殖活性和细胞周期,促进细胞凋亡。其具体的作用机制可能与 CircRNA-1565 通过 TET2 基因调控细胞周期蛋白 Cyclin D1/E1、CDK1/2 和凋亡蛋白 Bax、PARP 的表达有关。CircRNA-1565 具有成为 NSCLC 肿瘤诊断标志物和分子治疗靶点的潜在价值,其具体的作用机制有待进一步研究明确。

## 参考文献

- [1] CHAE Y K, CHANG S, KO T, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) signature is inversely associated with T-cell infiltration in non-small cell lung cancer (NSCLC) [J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1):2918.
- [2] LIU J C, NARVA S, ZHOU K, et al. A review on the antitumor activity of various nitrogenous-based heterocyclic compounds as nslc inhibitors [J]. *Mini Rev Med Chem*, 2019, 19(18):1517-1530.
- [3] LI R, JIANG J, SHI H, et al. CircRNA: a rising star in gastric cancer [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(9):1661-1680.
- [4] ZHU J, ZHANG X, GAO W, et al. LncRNA/circRNA miRNA mRNA ceRNA network in lumbar intervertebral disc degeneration [J]. *Mol Med Rep*, 2019, 20(4):3160-3174.
- [5] YU J, YANG M, ZHOU B, et al. CircRNA-104718 acts as competing endogenous RNA and promotes hepatocellular carcinoma progression through miRNA-218-5p/TXNDC5 signaling pathway [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(13):1487-1503.
- [6] 王庆华, 蔡宏剑, 袁荣正, 等. 肺癌患者术后并发肺部感染的危险因素分析 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2020, 12(1):95-99.
- [7] 王宇松, 吉晓莹, 穆楠, 等. 非小细胞肺癌分子靶向治疗标志物研究进展 [J]. *中国癌症防治杂志*, 2020, 12(3):285-290.
- [8] YANG Y, YU J W, FANG W, et al. The roles of miRNA, lncRNA and circRNA in the development of osteoporosis [J]. *Biol Res*, 2020, 53(1):40.
- [9] SHI J, YAO S, CHEN P, et al. The integrative regulatory network of circRNA and microRNA in keloid scarring [J]. *Mol Biol Rep*, 2020, 47(1):201-209.
- [10] JIN J, SUN H, SHI C, et al. Circular RNA in renal diseases [J]. *Cell Mol Med*, 2020, 24(12):6523-6533.
- [11] LI S, TENG S, XU J, et al. Microarray is an efficient tool for circRNA profiling [J]. *Brief Bioinform*, 2019, 20(4):1420-1433.
- [12] GE P, ZHANG J, ZHOU L, et al. CircRNA expression profile and functional analysis in testicular tissue of patients with non-obstructive azoospermia [J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2019, 17(1):100.
- [13] LIU W, ZHANG J, ZOU C, et al. Microarray expression profile and functional analysis of circular RNAs in osteosarcoma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 43(3):969-985.
- [14] DU W W, ZHANG C, YANG W, et al. Identifying and characterizing circRNA-protein interaction [J]. *Theranostics*, 2017, 7(17):4183-4191.

- [15] BREUER J, ROSSBACH O. Production and purification of artificial circular RNA sponges for application in molecular biology and medicine[J]. *Methods Protoc*, 2020, 3(2):42.
- [16] FERRONE C K, BLYDT H M, Rauh M J, et al. Age-associated TET2 mutations: common drivers of myeloid dysfunction, cancer and cardiovascular disease[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(2):626.
- [17] ZHANG Q, CASANOVA J L. Human TET2 bridges cancer and immunity[J]. *Blood*, 2020, 136(9):1018-1019.
- [18] TCHAKARSKA G, SOLA B. The double dealing of cyclin D1 [J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(2):163-178.
- [19] HANEKE K, SCHOTT J, LINDNER D, et al. CDK1 couples proliferation with protein synthesis [J]. *J Cell Biol*, 2020, 219(3):e201906147.
- [20] WU C X, WANG X Q, CHOK S H, et al. Blocking CDK1/PDK1/ $\beta$ -Catenin signaling by CDK1 inhibitor RO3306 increased the efficacy of sorafenib treatment by targeting cancer stem cells in a preclinical model of hepatocellular carcinoma[J]. *Theranostics*, 2018, 8(14):3737-3750.
- [21] QIAN J Y, GAO J, SUN X, et al. KIAA1429 acts as an oncogenic factor in breast cancer by regulating CDK1 in an N6-methyladenosine-independent manner [J]. *Oncogene*, 2019, 38(33):6123-6141.
- [22] BURY M, LE C B, LESSARD F, et al. NFE2L3 controls colon cancer cell growth through regulation of DUX4, a CDK1 inhibitor[J]. *Cell Rep*, 2019, 29(6):1469-1481.
- [23] LOIZZI V, RANIERI G, LAFORGIA M, et al. PARP inhibitors and epithelial ovarian cancer: Molecular mechanisms, clinical development and future prospective[J]. *Oncol Lett*, 2020, 20(4):90.
- [24] BOUSSIOS S, KATIHATA P, MOSCHETTA M, et al. Combined strategies with poly (adp-ribose) polymerase (parp) inhibitors for the treatment of ovarian cancer: a literature review [J]. *Diagnostics (Basel)*, 2019, 9(3):87.
- [25] SACHDEV E, TABATABAI R, ROY V, et al. PARP inhibition in cancer: an update on clinical development[J]. *Target Oncol*, 2019, 14(6):657-679.

(收稿日期:2021-03-11 修回日期:2021-08-22)

(上接第 4155 页)

- [9] NOVO E, CANNITO S, PATERATERNOSTRO C, et al. Cellular and molecular mechanisms in liver fibrogenesis[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2014, 548:20-37.
- [10] SHAH R, REYES-GORDILLO K, ROJKIND M. Thymosin  $\beta$ 4 inhibits PDGF-BB induced activation, proliferation, and migration of human hepatic stellate cells via its actin-binding domain[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2018, 18(1):177-184.
- [11] TANWAR S, RHODES F, SRIVASTAVA A, et al. Inflammation and fibrosis in chronic liver diseases including non-alcoholic fatty liver disease and hepatitis C[J]. *World J Gastroenterol*, 2020, 26(2):109-133.
- [12] 刘伟,符小红,黄思远,等.藏药波棱瓜子总木脂素对四氯化碳致大鼠肝纤维化的保护作用及机制探讨[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(3):567-571.
- [13] ZANG H, LV M, ZHAO Z, et al. Glucose-regulated protein 78 may play a crucial role in promoting the pulmonary microvascular remodeling in a rat model of hepatopulmonary syndrome[J]. *Gene*, 2014, 545(1):156-162.
- [14] 高爱梅,平洁,汪晖. 吡啶-3-原醇对复合因素所致肝纤维化大鼠的治疗作用及部分机制研究[J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(6):764-769.
- [15] TIAN X X, ZHANG H Y, WANG L M, et al. Dynamic changes of TGF- $\alpha$  and TGF- $\beta$ 1 in rats with liver cirrhosis induced by multiple pathogenic factors[J]. *Zhongguo Ying Yong Sheng Li Xue Za Zhi*, 2016, 32(1):65-68.

(收稿日期:2021-03-10 修回日期:2021-10-11)