

环状 RNA circ_0024707 对乳腺癌细胞的生长和转移的影响

杨杰智 倪明立 徐倩 杨明月 王宁 吕红琼 黄静

摘要 目的 环状 RNA (circRNA) hsa_circ_0024707 尚未被报道研究。本研究通过检测 hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织和细胞株中的表达,探索环状 RNA hsa_circ_0024707 通过调节 miR-448 对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响。**方法** 实时定量聚合酶链反应 (qPCR) 检测乳腺癌组织和细胞株中 hsa_circ_0024707 的表达。以 hsa_circ_0024707 表达最低的乳腺癌细胞株感染空载慢病毒 (对照组) 和载有 hsa_circ_0024707 的慢病毒 (实验组)。CCK-8 实验和 Transwell 侵袭实验检测 hsa_circ_0024707 过表达对乳腺癌细胞株增殖和侵袭的影响。生物信息学技术预测 hsa_circ_0024707 的下游基因。qPCR 和蛋白免疫印迹 (Western blot) 法检测下游基因的表达。**结果** hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织和癌旁组织中表达分别为 1.73 ± 0.46 和 4.53 ± 0.76 ($P < 0.05$)。与永生化乳腺上皮细胞比较,hsa_circ_0024707 在乳腺癌细胞株中呈低表达 ($P < 0.05$),在 BT549 细胞中的表达量最低 ($P < 0.01$)。与对照组比较,过表达 hsa_circ_0024707 可抑制 BT549 细胞的增殖 ($P < 0.05$)。对照组和实验组侵袭细胞数分别为 82.46 ± 8.49 和 38.34 ± 8.84 ($P < 0.05$)。hsa_circ_0024707 靶基因可能为 miR-448,miR-448 靶基因可能为 SPRY2。与对照组比较,hsa_circ_0024707 过表达导致 BT549 细胞中 miR-448 的表达下调 ($P < 0.01$),SPRY2 的表达上调 ($P < 0.01$),Wnt/ β -catenin 信号通路被抑制。**结论** hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织和细胞株中均呈低表达,hsa_circ_0024707 能抑制乳腺癌 BT549 细胞的增殖和侵袭,其分子机制可能是下调 miR-448 的表达,上调 SPRY2 蛋白的表达,抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的活化。

关键词 乳腺癌 环状 RNA 微小 RNA 增殖 侵袭

中图分类号 R737.9

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2020.08.015

Effects of Circular RNA circ_0024707 on the Growth and Metastasis of Breast Cancer Cells. Yang Jiezh, Ni Mingli, Xu Qian, et al. Department of Oncology, Luoyang Central Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Henan 471009, China

Abstract Objective The circular RNA (circRNA) hsa_circ_0024707 has not been reported. To analyze the expression of circular RNA (circRNA) hsa_circ_0024707 in breast cancer tissues and cell lines, and to explore the effect of circular RNA hsa_circ_0024707 on the proliferation and invasion of breast cancer cells by regulating miR-448. **Methods** Real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the expression of hsa_circ_0024707 in breast cancer tissues and cell lines. The breast cancer cell line expressing lowest hsa_circ_0024707 was infected with empty lentivirus (control group) and lentivirus carrying hsa_circ_0024707 (experimental group). CCK-8 assay and Transwell invasion assay were used to detect the effect of hsa_circ_0024707 overexpression on proliferation and invasion of breast cancer cell lines. Bioinformatics technology predicts downstream genes of hsa_circ_0024707. qPCR and Western blot were used to detect the expression of downstream genes. **Results** The expression of hsa_circ_0024707 in breast cancer tissues and adjacent tissues was 1.73 ± 0.46 and 4.53 ± 0.76 ($P < 0.05$). Compared with immortalized mammary epithelial cells, hsa_circ_0024707 was down-regulated in breast cancer cell lines ($P < 0.05$), and lowest in BT549 cells ($P < 0.01$). Compared with the control group, overexpression of hsa_circ_0024707 inhibited the proliferation of BT549 cells ($P < 0.05$). The number of invasive cells in the control group and the experimental group were 82.46 ± 8.49 and 38.34 ± 8.84 , respectively ($P < 0.05$). The hsa_circ_0024707 target gene may be miR-448 and the miR-448 target gene may be SPRY2. Compared with the control group, overexpression of hsa_circ_0024707 resulted in down-regulation of miR-448 expression in BT549 cells ($P < 0.01$), up-regulation of SPRY2 expression ($P < 0.01$), and inhibition of Wnt/ β -catenin signaling pathway. **Conclusion** hsa_circ_0024707 is lowly expressed in breast cancer tissues and cell lines. hsa_circ_0024707 can inhibit the proliferation and invasion of breast cancer BT549 cells. The molecular mechanism may be to down-regulate the expression of miR-448, up-regulate the expression of SPRY2 protein and inhibition of activation of Wnt/ β -

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81772795)

作者单位:471009 郑州大学附属洛阳中心医院肿瘤内科(杨杰智、倪明立、徐倩、杨明月、王宁、吕红琼),生殖助孕科(黄静)

通讯作者:黄静,电子信箱:huangjing418151@126.com

catenin signaling pathway.

Key words Breast cancer; circRNA; microRNA; Proliferation; Invasion

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一,发生率呈逐年上升趋势^[1,2]。早期乳腺癌患者经手术联合放化疗预后较理想,然而晚期乳腺癌患者目前尚缺乏有效治疗手段,寻找乳腺癌的早期诊断标志物和分子治疗靶点具有重要临床价值^[3]。环状 RNA (circRNA) 是一类内源性非编码 RNA,来源于前体信使 RNA (mRNA) 反向剪接^[4]。circRNA 的稳定性较高,可通过多种机制影响基因表达,参与调控细胞的生理活动^[5]。越来越多的 circRNA 被发现在肿瘤细胞的生长、转移中发挥重要作用,影响肿瘤的发生、发展^[6]。circRNA 已成为乳腺癌分子研究领域的热点。hsa_circ_0024707 是一种新发现的 circRNA,尚未被报道研究过,其在乳腺癌细胞中的作用亦不明确。本研究通过检测 hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织和乳腺癌细胞株中的表达,并以乳腺癌细胞株为研究对象,探讨 hsa_circ_0024707 对乳腺癌细胞增殖和侵袭的影响及其作用机制,为 circRNA 分子靶向治疗研究提供实验依据。

材料与方法

1. 材料:(1)临床标本:收集 2016 年 3 月~2018 年 7 月于笔者医院行手术切除治疗的乳腺癌临床标本 53 例,包括乳腺癌组织和距离肿瘤边缘超过 5cm 的癌旁组织,术后均经病理医生确认为乳腺浸润性导管癌。患者年龄为 28~65 岁,平均年龄为 46.89 ± 8.52 岁。组织学分级 II 级 18 例,III 级 35 例,TNM 分期 T₁ 期 5 例,T₂ 期 29 例,T₃ 期 19 例。患者术前均未行放化疗,本研究经笔者医院医学伦理学委员会批准,参与患者均签署知情同意。(2)细胞与试剂:人乳腺癌细胞株 SKBR3、BT549、MCF7、MB-MDA-468、HCC1937 和永生化乳腺上皮细胞 MCF-10A 购自中国科学院上海细胞库;实时定量聚合酶链反应 (qPCR) 试剂盒购自大连宝生物试剂公司;qPCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成;载有 hsa_circ_0024707 的慢病毒和空载慢病毒由上海汉恒科技有限公司合成;小牛血清、DMEM/F12 培养基、RPMI-1640 培养基均购自美国 Gibco 公司;CCK-8 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;Transwell 小室购自美国 Costar 公司;抗体 (SPRY2、Wnt、 β -catenin、GSK-3 β 、APC、 α -tubulin)、Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司。

2. 细胞培养和慢病毒感染:人乳腺癌细胞株 MB-MDA-468 和永生化乳腺上皮细胞 MCF-10A 复苏后,培养于含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基中,乳腺癌细胞株 SKBR3、BT549、MCF7、HCC1937 复苏后,培养于含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基,在 37℃、5% CO₂ 培养箱中培养。将对数期生长的 BT549 细胞接种在 6 孔细胞板,细胞融合度为 50% 时,选择感染复数 (MOI) = 50,根据慢病毒说明书进行操作,采用慢病毒感染 BT549 细胞。12h 后观察细胞状态并更换新鲜培养基。

3. 实时定量聚合酶链反应 (qPCR) 检测:采用 Trizol 法提取乳腺癌组织和乳腺癌细胞株总 RNA,反转录合成 cDNA 后行 qPCR 检测。以 GAPDH 为内参基因,检测组织或细胞中 hsa_circ_0024707 和 SPRY2 mRNA 的相对表达量。以 U6 为内参基因,检测细胞中 miR-448 的相对表达量。U6 上游引物:5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3';GAPDH 上游引物:5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAT-3',下游引物:5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3';miR-448 上游引物:5'-GGGCAGTGCCTGTCTG-3',下游引物:5'-CAGTGCCTGTCGTGGAGT-3';hsa_circ_0024707 上游引物:5'-TGCACAGGGGAAGGAAATAA-3',下游引物:5'-GATGATGGGGTTGCAAACTT-3';SPRY2 上游引物:5'-CCTACTGTCGTCCCAAGACCT-3',下游引物:5'-GGGGCTCGTGCAGAAGAAT-3'。qPCR 值采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行计算。

4. CCK-8 检测:将感染后的 BT549 细胞接种于 96 孔板。CCK-8 方法连续检测 5 天,绘制细胞生长曲线。检测时,每孔加 5mg/ml 的 CCK-8 试剂 10 μ l,培养箱培养 4h,每孔加 150 μ l 二甲基亚砷, SpectraMax plus384 型全波长酶标仪检测每孔在波长 450nm 处的吸光度 (A) 值。

5. Transwell 侵袭实验:采用 Matrigel 基质胶制备 Transwell 小室上室;将感染后的 BT549 细胞用血清培养基重悬后,接种于 Transwell 小室上室;下室加入含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基;培养 24h 后,取出上室,多聚甲醛固定 10min,0.1% 的结晶紫染液染色 10min,棉签拭去上室未穿膜的细胞,PBS 溶液漂洗;晾干后,采用倒置显微镜计数穿膜细胞数并统计。

6. 生物信息学技术预测:starBase v2.0 靶基因预测数据库预测 hsa_circ_0024707 的下游 miRNA,TargetScan Release 3.1 靶基因预测数据库预测 miRNA 的下游 mRNA。

7. 蛋白免疫印迹 (Western blot) 法:将感染后的 BT549 细胞裂解并提取总蛋白,采用十二烷基硫酸钠 (SDS) - 聚丙烯酰胺凝胶 (PAGE) 电泳,聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜转膜,5% 脱脂牛奶封闭 1h。加入一抗 SPRY2 (1:1000 稀释)、Wnt (1:2000 稀释)、 β -catenin (1:500 稀释)、GSK-3 β (1:2000 稀释)、APC (1:2000 稀释)、 α -tubulin (1:3000 稀释),4℃ 孵育过夜,在室温下二抗孵育 2h。ECL 显影液在凝胶成像系统显影。

8. 统计学方法:采用 SPSS 18.0 统计学软件对数据进行统计分析,计量资料采用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间数据比较采用单因素方差分析,两组数据比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织中的表达:qPCR 结果显示,hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织和癌旁组织中的表达分别为 1.73 ± 0.46 和 4.53 ± 0.76 ,hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织中呈低表达 ($P < 0.05$)。

2. hsa_circ_0024707 在乳腺癌细胞中的表达:qPCR 结果显示,hsa_circ_0024707 在 SKBR3、BT549、MCF7、MB-MDA-468、HCC1937 细胞株和永生化乳腺上皮细胞 MCF-10A 中的表达量分别为 0.75 ± 0.03 、 0.12 ± 0.02 、 0.37 ± 0.02 、 0.52 ± 0.05 、 0.39 ± 0.01 和 1.00 ± 0.05 ,相比永生化乳腺上皮细胞 MCF-10A,hsa_circ_0024707 在乳腺癌细胞株中表达下调,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.01)。hsa_circ_0024707 在 BT549 细胞表达降低最明显 ($P < 0.01$),故以 BT549 细胞为对象进行研究,详见图 1。

3. qPCR 检测感染后 BT549 细胞中 hsa_circ_0024707 的表达:qPCR 结果显示,对照组和实验组乳腺癌 BT549 细胞中 hsa_circ_0024707 的表达分别为 1.02 ± 0.09 和 8.05 ± 0.76 ,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),证明外源性 hsa_circ_0024707 在 BT549 细胞中成功表达。

4. hsa_circ_0024707 对乳腺癌 BT549 细胞增殖的影响:采用 CCK-8 法检测 hsa_circ_0024707 过表达对 BT549 细胞增殖能力的影响,与对照组比较,实

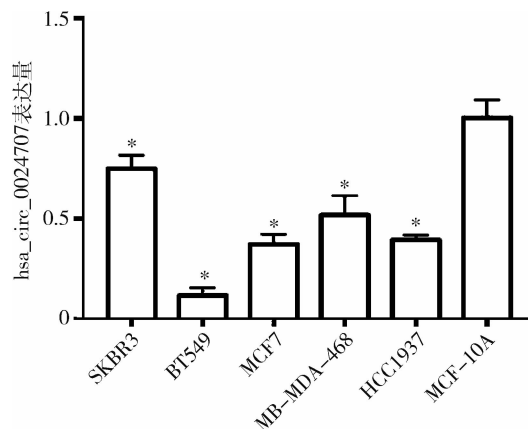


图 1 hsa_circ_0024707 在永生化乳腺上皮细胞株和乳腺癌细胞株中的表达
与 MCF-10A 细胞比较,* $P < 0.01$

验组 BT549 细胞从第 3 天开始,细胞增殖能力明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 2。

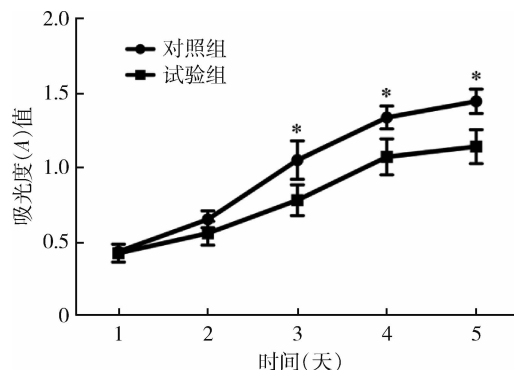


图 2 hsa_circ_0024707 过表达对乳腺癌 BT549 细胞增殖的影响
两组比较,* $P < 0.05$

5. hsa_circ_0024707 对乳腺癌 BT549 细胞侵袭的影响:采用 Transwell 侵袭实验检测 hsa_circ_0024707 过表达对 BT549 细胞侵袭的影响,对照组和实验组 BT549 穿膜细胞数分别为 82.46 ± 8.49 和 38.34 ± 8.84 ,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),证明 hsa_circ_0024707 过表达能抑制乳腺癌细胞 BT549 的侵袭,详见图 3。

6. 生物信息学预测 hsa_circ_0024707 的下游基因:starBase v2.0 靶基因预测数据库显示,hsa_circ_0024707 靶基因可能为 miR-448。TargetScan Release 3.1 靶基因预测数据库显示,miR-448 靶基因可能为 SPRY2,详见图 4。

7. qPCR 检测感染后 BT549 细胞中 miR-448 和 SPRY2 mRNA 的表达:qPCR 结果显示,对照组和实验组乳腺癌 BT549 细胞中 miR-448 的表达分别为

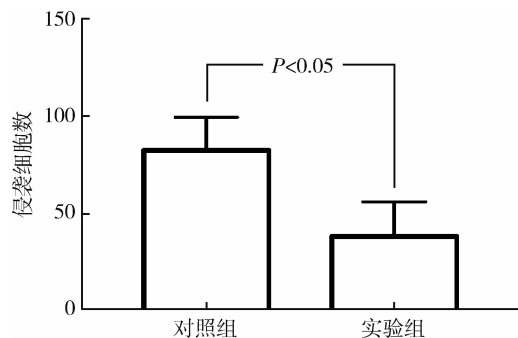


图3 hsa_circ_0024707 过表达对乳腺癌 BT549 细胞侵袭的影响

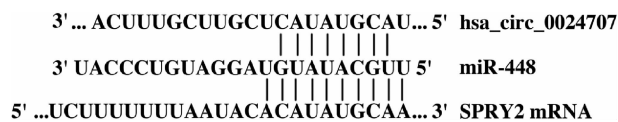


图4 生物信息学预测 hsa_circ_0024707 的下游基因

1.00 ± 0.07 和 0.27 ± 0.05 ($P < 0.01$), 证明 hsa_circ_0024707 过表达可下调 BT549 细胞中 miR-448 的表达。对照组和实验组乳腺癌 BT549 细胞中 SPRY2 mRNA 的表达分别为 1.01 ± 0.07 和 5.16 ± 0.30 ($P < 0.01$), 证明下调 miR-448 可上调 BT549 细胞中 SPRY2 mRNA 的表达。

8. hsa_circ_0024707 过表达对乳腺癌 BT549 细胞 SPRY2 蛋白及 Wnt/β-catenin 信号通路蛋白表达的影响: Western blot 法结果显示, 与对照组比较, 实验组的 SPRY2 蛋白表达上调, 而 Wnt/β-catenin 信号通路蛋白 Wnt、β-catenin、GSK-3β、APC 表达下调, 详见图 5。

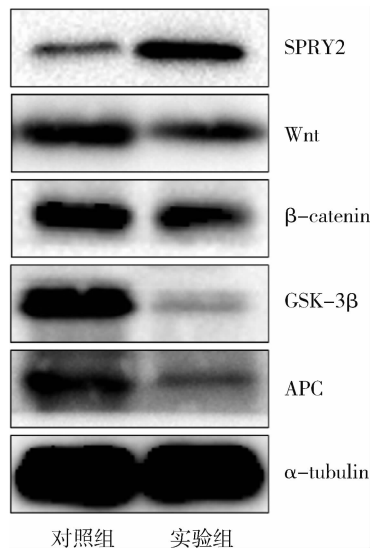


图5 hsa_circ_0024707 过表达对乳腺癌 BT549 细胞中 SPRY2 蛋白及 Wnt/β-catenin 信号通路蛋白表达的影响

讨 论

环状 RNA (circRNA) 最初被认为是错误的剪接副产物, 没有生物学功能^[7]。随着高通量测序技术的发展, 大量的 circRNA 被发现和鉴定, 在多种肿瘤中发挥癌基因或者抑癌基因的作用^[8]。近年来研究表明, circRNA 的异常表达与乳腺癌的发生、发展相关^[9]。circRNA 如 hsa_circ_0001982、circDENND4C、circ-ABCB10、hsa_circ_0008039 在乳腺癌组织和细胞株中呈过表达, 具有促进乳腺癌的恶性生物性行为的作用, 与乳腺癌的不良预后相关^[10-13]。circRNA 如 hsa_circ_0072309、MTO1 在乳腺癌组织和细胞株中呈低表达, 与乳腺癌的病理分期及预后等相关, 具有抑制乳腺癌的增殖、迁移和侵袭的作用^[8, 9]。hsa_circ_0024707 是一个新发现的 lncRNA, hsa_circ_0024707 在乳腺癌中的表达和作用机制尚不明确。

本研究发现, hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织和细胞株中呈低表达, 提示 hsa_circ_0024707 可能在乳腺癌中发挥抑癌基因作用。本研究进一步通过 CCK-8 实验和 Transwell 侵袭实验发现, hsa_circ_0024707 过表达可明显抑制乳腺癌细胞 BT549 的增殖能力和侵袭能力, 进一步提示 hsa_circ_0024707 在乳腺癌中发挥抑癌基因作用。有研究表明, circRNA 含有 miRNA 反应元件, 能通过海绵作用竞争性结合 miRNA, 下调 miRNA 的表达, 从而调节 miRNA 下游基因 mRNA 的翻译^[14]。starBase v2.0 靶基因预测数据库显示, hsa_circ_0024707 靶基因可能为 miR-448。TargetScan Release 3.1 靶基因预测数据库显示, miR-448 靶基因可能为 SPRY2。miR-448 在胃癌、口腔鳞状细胞癌中表达明显升高, 与患者的不良预后显著相关, 发挥癌基因的作用^[15, 16]。

SPRY2 蛋白由 315 个氨基酸构成, 是一种潜在的抑癌蛋白, 在胃癌、卵巢癌、神经胶质瘤等多种肿瘤中低表达, 过表达 SPRY2 可抑制肿瘤的生长和转移^[17, 18]。本研究发现, hsa_circ_0024707 在乳腺癌细胞 BT549 中过表达后, miR-448 的表达明显下调, SPRY2 基因的表达明显上调, 表明 hsa_circ_0024707 可能通过下调 miR-448 的表达, 促进 SPRY2 基因的表达。有研究表明, SPRY2 可通过降低 β-catenin 蛋白的表达, 发挥抑制肿瘤的生长和转移的作用^[19]。Western blot 法结果显示, 乳腺癌细胞 BT549 中 SPRY2 基因表达增加后, Wnt/β-catenin 信号通路蛋白如 Wnt、β-catenin、GSK-3β、APC 的表达下调, Wnt/β-catenin 信号通路的转导被抑制。

综上所述,本研究首次验证 hsa_circ_0024707 在乳腺癌组织和乳腺癌细胞株中的表达下调,过表达 hsa_circ_0024707 可抑制乳腺癌细胞的增殖和侵袭,其作用机制可能是 hsa_circ_0024707 通过下调 miR - 448 的表达,促进 SPRY2 基因的表达,并抑制 Wnt/ β - catenin 信号通路的转导。hsa_circ_0024707 可能成为乳腺癌治疗的分子靶标。

参考文献

- Zhang HD, Jiang LH, Sun DW, *et al.* CircRNA: a novel type of biomarker for cancer[J]. *Breast Cancer*, 2018, 25(1): 1 - 7
- 庄晓苹, 林琼琼, 季剑乐, 等. 乳腺癌中 SyK, HGF 表达的相关性及预后的关系[J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(5): 126 - 129
- 王述莲, 呼建民, 李绵洋, 等. NLR, CRP, IL - 2, BRCA1, miR - 145, miR - 21, miR - 10b 在乳腺癌诊断及预后中的应用[J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(7): 99 - 102, 116
- Zeng K, He B, Yang BB, *et al.* The pro - metastasis effect of circANKS1B in breast cancer[J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 160
- He R, Liu P, Xie X, *et al.* circGFRA1 and GFRA1 act as ceRNAs in triple negative breast cancer by regulating miR - 34a[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, 36(1): 145
- Wang H, Xiao Y, Wu L, *et al.* Comprehensive circular RNA profiling reveals the regulatory role of the circRNA - 000911/miR - 449a pathway in breast carcinogenesis[J]. *Int J Oncol*, 2018, 52(3): 743 - 754
- 田忠昌, 褚志杰, 杨天保, 等. 环状 RNA 用于肝细胞癌诊断的 Meta 分析[J]. *医学研究杂志*, 2019, 48(10): 157 - 161
- Liu Y, Dong Y, Zhao L, *et al.* Circular RNAMT01 suppresses breast cancer cell viability and reverses monastrol resistance through regulating the TRAF4/Eg5 axis[J]. *Int J Oncol*, 2018, 53(4): 1752 - 1762
- Yan L, Zheng M, Wang H. Circular RNA hsa_circ_0072309 inhibits proliferation and invasion of breast cancer cells via targeting miR - 492[J]. *Cancer Manag Res*, 2019, 11: 1033 - 1041
- Liang HF, Zhang XZ, Liu BG, *et al.* Circular RNA circ - ABCB10

promotes breast cancer proliferation and progression through sponging miR - 1271[J]. *Am J Cancer Res*, 2017, 7(7): 1566 - 1576

- Liang G, Liu Z, Tan L, *et al.* HIF1alpha - associated circDENND4C promotes proliferation of breast cancer cells in hypoxic environment[J]. *Anticancer Res*, 2017, 37(8): 4337 - 4343
- Tang YY, Zhao P, Zou TN, *et al.* Circular RNA hsa_circ_0001982 promotes breast cancer cell carcinogenesis through decreasing miR - 143[J]. *DNA Cell Biol*, 2017, 36(11): 901 - 908
- Liu Y, Lu C, Zhou Y, *et al.* Circular RNA hsa_circ_0008039 promotes breast cancer cell proliferation and migration by regulating miR - 432 - 5p/E2F3 axis[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 502(3): 358 - 363
- Gao D, Qi X, Zhang X, *et al.* hsa_circRNA_0006528 as a competing endogenous RNA promotes human breast cancer progression by sponging miR - 7 - 5p and activating the MAPK/ERK signaling pathway[J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(4): 554 - 564
- Shen L, Liu L, Ge L, *et al.* miR - 448 downregulates MPPED2 to promote cancer proliferation and inhibit apoptosis in oral squamous cell carcinoma[J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(4): 2747 - 2752
- Hong X, Xu Y, Qiu X, *et al.* MiR - 448 promotes glycolytic metabolism of gastric cancer by downregulating KDM2B[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(16): 22092 - 22102
- Ma N, Li S, Zhang Q, *et al.* Long non - coding RNA GAS5 inhibits ovarian cancer cell proliferation via the control of microRNA - 21 and SPRY2 expression[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(1): 73 - 82
- Li Y, Chen H, She P, *et al.* microRNA - 23a promotes cell growth and metastasis in gastric cancer via targeting SPRY2 - mediated ERK signaling[J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(6): 8433 - 8441
- Li J, Yang R, Dong Y, *et al.* Knockdown of FOXO3a induces epithelial - mesenchymal transition and promotes metastasis of pancreatic ductal adenocarcinoma by activation of the beta - catenin/TCF4 pathway through SPRY2[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 38

(收稿日期: 2020 - 02 - 23)

(修回日期: 2020 - 03 - 23)

(上接第 41 页)

- Smith KM, Mrozek JD, Simonton SC, *et al.* Prolonged partial liquid ventilation using conventional and high - frequency ventilatory techniques: gas exchange and lung pathology in an animal model of respiratory distress syndrome[J]. *Crit Care Med*, 1997, 25(25): 1888 - 1897
- Wu GR, Dai XP, Li XR, *et al.* Antioxidant and anti - inflammatory effects of rhamnazin on lipopolysaccharide - induced acute lung injury and inflammation in rats[J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2017, 14(4): 201 - 212
- Sezen SC, Kucuk A, Ozer A, *et al.* Assessment of the effects of levo-simendan and thymoquinone on lung injury after myocardial ischemia reperfusion in rats[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 1347 - 1352
- Zhang W, Guo Y, Yu S, *et al.* Effects of edaravone on the expression of β - defensin - 2 mRNA in lung tissue of rats with myocardial ischemia reperfusion[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(5): 1683 - 1687
- Lai CC, Huang PH, Yang AH, *et al.* Baicalein attenuates lung injury

induced by myocardial ischemia and reperfusion[J]. *Am J Chin Med*, 2017, 45(4): 791 - 811

- Guo W, Zhao B, Liu L, *et al.* Myocardial ischemic post - conditioning protects the lung against myocardial ischemia/reperfusion - induced damage by activating GSK - 3 β [J]. *Acta Cir Bras*, 2017, 32(5): 376 - 387
- Vohwinkel CU, Hoegl S, Eltzschig HK. Hypoxia signaling during acute lung injury[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2015, 119(10): 1157 - 1163
- McClendon J, Jansing NL, Redente EF, *et al.* Hypoxia - inducible factor 1 α signaling promotes repair of the alveolar epithelium after acute lung injury[J]. *Am J Pathol*, 2017, 187(8): 1772 - 1786
- Xie P, Yang L, Talaiti A, *et al.* Deferoxamine - activated hypoxia - inducible factor - 1 restores cardioprotective effects of sevoflurane preconditioning in diabetic rats[J]. *Acta Physiol*, 2017, 221(2): 98 - 114

(收稿日期: 2020 - 03 - 11)

(修回日期: 2020 - 03 - 30)