

甲状腺癌组织中微小 RNA-495-3p、Holliday 交叉识别蛋白表达水平及临床意义

刘培发, 侯文宇, 管雁兵, 李信阳

(中国人民解放军总医院第一医学中心普通外科医学部 甲状腺瘤外科, 北京, 100853)

摘要: **目的** 检测甲状腺癌组织中微小 RNA-495-3p(miR-495-3p)、Holliday 交叉识别蛋白(HJURP)的表达水平及临床意义。**方法** 选择行手术根治术切除并经病理检查确诊的甲状腺癌石蜡包埋标本 67 例及正常甲状腺组织石蜡包埋标本 42 例为研究对象,利用荧光定量聚合酶链反应(PCR)技术检测 miR-495-3p 水平,采用免疫组织化学法检测 HJURP 阳性表达情况,分析 miR-495-3p、HJURP 水平与甲状腺癌患者临床病理参数的关系。采用 Kaplan-Meier 生存曲线分析甲状腺癌组织中 miR-495-3p、HJURP 水平与患者预后的关系;采用 COX 回归分析探讨影响甲状腺癌患者预后的不良因素。**结果** HJURP 在癌组织中的阳性表达率为 62.69%,在正常甲状腺组织中的阳性表达率为 26.19%,差异有统计学意义($\chi^2 = 13.765, P < 0.01$);miR-495-3p 在甲状腺癌组织和正常甲状腺组织中的相对表达量分别为 (0.76 ± 0.21) 、 (1.26 ± 0.40) ,差异有统计学意义($t = 8.539, P < 0.001$);miR-495-3p、HJURP 水平与甲状腺癌患者临床分期、淋巴结转移有关($P < 0.05$);临床分期 III ~ IV、发生淋巴结转移的甲状腺癌患者 miR-495-3p 的水平更低,HJURP 蛋白阳性表达更高;miR-495-3p 高表达患者 3 年累积生存率高于 miR-495-3p 低表达组,差异有统计学意义($\chi^2 = 8.478, P = 0.004$);HJURP 阳性患者 3 年累积生存率为 57.14%,低于 HJURP 阴性患者的 92.00%,差异有统计学意义($\chi^2 = 9.093, P = 0.003$)。多因素分析结果显示,临床分期、淋巴结转移、miR-495-3p、HJURP 是影响甲状腺癌患者预后不良的独立危险因素($P < 0.05$)。**结论** 甲状腺癌组织中 miR-495-3p 表达下调,HJURP 表达上调,与肿瘤临床分期、淋巴结转移及预后有关,可能参与了肿瘤细胞的分化、迁移等过程。

关键词: 甲状腺癌;微小 RNA-495-3p;Holliday 交叉识别蛋白;表达;临床意义

中图分类号: R 736.1; R 581.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2353(2022)02-046-06 **DOI:** 10.7619/jcmp.20213538

Expression levels and clinical significance of microR-495-3p and Holliday junction recognition protein in thyroid cancer

LIU Peifa, HOU Wenyu, JIAN Yanbing, LI Jiyang

(Department of Thyroid Hernia Surgery, Medical Department of General Surgery of the First Medical Center of General Hospital of Chinese People's Liberation Army, Beijing, 100853)

Abstract: **Objective** To detect the expression levels of microRNA-495-3p (miR-495-3p) and Holliday junction recognition protein (HJURP) in thyroid cancer tissues and explore their clinical significance. **Methods** A total of 67 paraffin-embedded specimens of thyroid cancer diagnosed by pathological examination and 42 paraffin-embedded specimens of normal thyroid tissue were selected as research objects. The miR-495-3p level was detected with fluorescence quantitative polymerase chain reaction (PCR) technology, the positive expression of HJURP was detected by immunohistochemistry, the relationships of miR-495-3p, HJURP levels with clinicopathological parameters in patients with thyroid cancer were analyzed. Kaplan-Meier survival curve was used to analyze the relationships of the levels of miR-495-3p and HJURP in thyroid cancer with the prognosis of patients; COX regression analysis was used to explore the adverse factors affecting the prognosis of thyroid cancer patients. **Results** The positive expression rate of HJURP in cancer tissues was 62.69%, and was 26.19% in normal thyroid tissues ($P < 0.01$); the relative expression of miR-495-3p in thyroid cancer tissue and normal thyroid tissue was (0.76 ± 0.21) and (1.26 ± 0.40) , respectively ($t = 8.539, P < 0.001$);

the levels of miR-495-3p and HJURP were related to the clinical stage and lymph node metastasis of thyroid patients ($P < 0.05$). The levels of miR-495-3p in patients with thyroid cancer in clinical stage of III to IV and lymph node metastasis were lower, and their positive expression of HJURP protein were higher; the 3-year cumulative survival rates of patients with miR-495-3p high expression were significantly higher than in those with miR-495-3p low expression ($\chi^2 = 8.478$, $P = 0.004$); the 3-year cumulative survival rate of patients with positive HJURP was significantly lower than that in those with negative HJURP (57.14% versus 92.00%, $\chi^2 = 9.093$, $P = 0.003$); the results of multivariate analysis showed that clinical staging, lymph node metastasis, miR-495-3p, and HJURP were independent risk factors affecting the poor prognosis of patients with thyroid cancer ($P < 0.05$).

Conclusion In tissues of thyroid cancer, the expression of miR-495-3p is down-regulated, and the expression of HJURP is up-regulated, which are related to the clinical stage of the tumor, lymph node metastasis and prognosis, and may be involved in the differentiation and migration of tumor cells.

Key words: thyroid cancer; microRNA-495-3p; Holliday junction recognition protein; expression; clinical significance

甲状腺癌是内分泌系统常见恶性肿瘤,多发于甲状腺滤泡上皮,是目前发病率增长速度最快的恶性肿瘤之一。甲状腺癌主要包括分化型、未分化型和其他类型,不同类型甲状腺癌患者预后差异较大,且伴不同程度的术后并发症,并累及不同器官^[1]。因此,早期诊断对甲状腺癌的防治具有重要意义。微小RNA(miRNA)是一类长度约22个核苷酸的非编码小RNA分子,通过与目的基因的3'非翻译端结合来抑制mRNA翻译或降解mRNA,在转录水平上调节基因表达,参与细胞增殖、分化、凋亡等过程^[2]。研究^[3-4]发现,微小RNA-495-3p(miR-495-3p)在多种肿瘤中表达下调,可能发挥抑癌作用,在甲状腺癌中的表达关系尚未见报道。Holliday交叉识别蛋白(HJURP)是一种组蛋白H3伴侣,被认为是DNA结合及磷酸化的关键因子,可促进染色体分离和细胞有丝分裂^[5]。HJURP在肝癌、肾细胞癌、胰腺癌等多肿瘤中表达异常升高,并与不良临床结局相关,可能作为指示肿瘤发展的潜在生物标记物^[6-7]。本研究检测甲状腺癌组织miR-495-3p、HJURP表达水平及表达关系并探讨其临床意义,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择2016年1月—2018年1月行手术根治术并经病理检查确诊为甲状腺癌石蜡包埋标本及正常甲状腺组织石蜡包埋标本为研究对象,共纳入67例甲状腺癌组织标本和42例正常甲状腺组织标本。纳入标准:①临床资料和病理资料完

整者;②均为首次诊断并治疗的患者,且术前未接受其他任何抗肿瘤治疗;③患者及家属知情并同意本研究。排除标准:①合并其他甲状腺疾病者;②合并近期感染或传染性疾病的患者;③继发性甲状腺癌者;④合并其他恶性肿瘤者。67例甲状腺癌患者中,男26例,女41例,年龄43~67岁,平均(55.60±4.63)岁,≥55岁39例,<55岁28例;肿瘤直径≥2cm37例,<2cm30例;病理类型:乳头状癌31例,滤泡状癌16例,髓样癌12例,未分化癌8例;TNM分期:I~II期32例,III~IV期35例;合并淋巴结转移42例,无淋巴结转移25例。正常甲状腺患者男18例,女24例,年龄42~62岁,平均(54.86±4.82)岁。2组研究的年龄、性别比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究获得伦理委员会批准。

1.2 主要仪器及试剂

TRIzol试剂(批号:20170322,购自美国Sigma公司)、反转录试剂盒、实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)扩增试剂盒(批号:20161209、20170501,均购自Thermo Scientific公司)、UV-1800PC紫外可见分光光度计(购自上海美谱达)、HJURP兔抗人多克隆抗体(批号:20170118,购自上海群己生物科技有限公司)、DAB酶底物显色剂、中杉金桥SPN-9002免疫组化染色试剂盒(批号:20170714、20160425,均购自北京百奥莱博科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 荧光定量PCR技术检测miR-495-3p水

平: 利用 TRIzol 试剂提取组织总 RNA, 紫外可见分光光度计检测总 RNA 浓度及纯度, 以 OD_{260}/OD_{280} 值在 1.8 ~ 2.2 范围内为纯度较好。以 RNA 为模板, 使用反转录试剂盒将其反转录为 cDNA, 并进行 PCR 扩增, 操作步骤及注意事项均严格按照说明书执行。miR-495-3p 以 U6 为内参, 引物序列由上海生工生物工程公司合成。miR-495-3p 上游引物 5'-GGGGAAACAAACATG-GTGCAC-3', 下游引物 5'-CAGTGGCTGTCTCGT-GAGT-3'; U6 上游引物 3'-CTCGCTTCGGCAGCA-CA-5', 下游引物 3'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-5'。反应条件: 95 ℃ 预变性 10 min, 95 ℃ 变性 10 s, 62 ℃ 延伸 30 s, 40 个循环。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 miR-495-3p 水平。

1.3.2 免疫组织化学法检测 HJURP: 将石蜡包埋组织以 4 μ m 连续切片, 常规脱蜡、水化后, 用 3% 过氧化氢孵育 5 ~ 10 min, 以消除内源性过氧化氢酶活性; 蒸馏水冲洗后, 用磷酸盐缓冲溶液 (PBS) 浸泡 5 min; 抗原热修复、封闭、滴加一抗、孵育、洗涤、再次封闭后滴加二抗, 再次洗涤, 滴加辣根过氧化物酶标记链霉亲和素, PBS 冲洗 3 次, DBA 显色, 自来水充分冲洗, 复染, 封片。所有操作步骤均按照试剂盒说明书步骤进行。利用 PBS 缓冲液代替一抗作为阴性对照。

1.3.3 结果判定: HJURP 以细胞质或细胞膜出现黄色或黄棕色颗粒为表达阳性, 采用双盲法对所有切片进行观察评分。每张切片随机选取 5 个

高倍镜视野, 根据染色强度和阳性细胞所占百分比进行评分: ① 按染色强度评分。细胞不着色记 0 分, 淡黄色记 1 分, 黄色或黄棕色记 2 分, 棕色或棕褐色记 3 分; ② 按阳性细胞百分比评分。无阳性细胞记 0 分, 阳性细胞比例 < 25% 记 1 分, 26% ~ 50% 记 2 分, > 50% 记 3 分。2 种方法评分的乘积 > 3 分即为阳性, ≤ 3 分即为阴性。

1.3.4 随访: 从手术之日开始对患者进行门诊或打电话随访, 以患者死亡或 2021 年 1 月 31 日结束随访, 统计患者累积生存情况, 以分析甲状腺癌组织中 miR-495-3p、HJURP 水平与患者预后的关系。

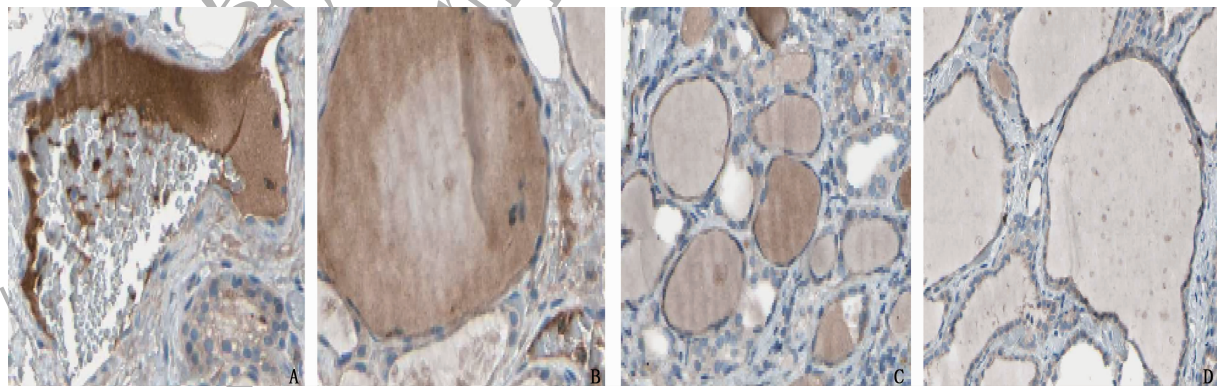
1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计学软件进行数据录入与分析, 计量资料均符合正态分布, 以均数 $\pm$ 标准差表示, 2 组比较采用 t 检验; 计数资料、分类资料用率表示, 行卡方检验。Kaplan-Meier 生存曲线分析甲状腺癌组织中 miR-495-3p、HJURP 水平与患者预后的关系, COX 回归分析影响甲状腺癌患者预后不良的因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 免疫组化结果

HJURP 在癌组织中的阳性表达率为 62.69% (42/67), 在正常甲状腺组织中的阳性表达率为 26.19% (11/42), 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 13.765, P < 0.01$), 见图 1。



A: HJURP 在癌组织中呈高表达; B: HJURP 在癌组织中呈中等表达;
C: HJURP 在癌组织中呈低表达; D: HJURP 在正常组织中几乎不表达。

图 1 免疫组化结果 (放大倍数为 100 倍)

2.2 甲状腺癌组织和正常甲状腺组织中 miR-495-3p 水平比较

miR-495-3p 在甲状腺癌组织和正常甲状腺组织中的相对表达量分别为 (0.76 ± 0.21) 、 (1.26 ± 0.40) , 差异有统计学意义 ($t = 8.539, P < 0.001$)。

2.3 miR-495-3p、HJURP 水平与甲状腺癌患者临床病理参数的关系

以甲状腺癌患者 miR-495-3p 水平中位数 (0.75) 为分界点, 将患者分为 miR-495-3p 高表达组 (35 例) 和 miR-495-3p 低表达组 (32 例), 根据

HJURP 的表达结果及将患者分为 HJURP 阳性组 ($n=42$) 和 HJURP 阴性组 ($n=25$)。结果显示, miR-495-3p、HJURP 水平与甲状腺患者年龄、性别、病理类型、分化程度无显著相关性 ($P > 0.05$), 与临床分期、淋巴结转移相关 ($P < 0.05$)。临床分期 III ~ IV、发生淋巴结转移的甲状腺癌患者 miR-495-3p 水平更低, HJURP 蛋白阳性表达越高, 见表 1。

表 1 miR-495-3p、HJURP 水平与甲状腺癌患者临床病理参数的关系

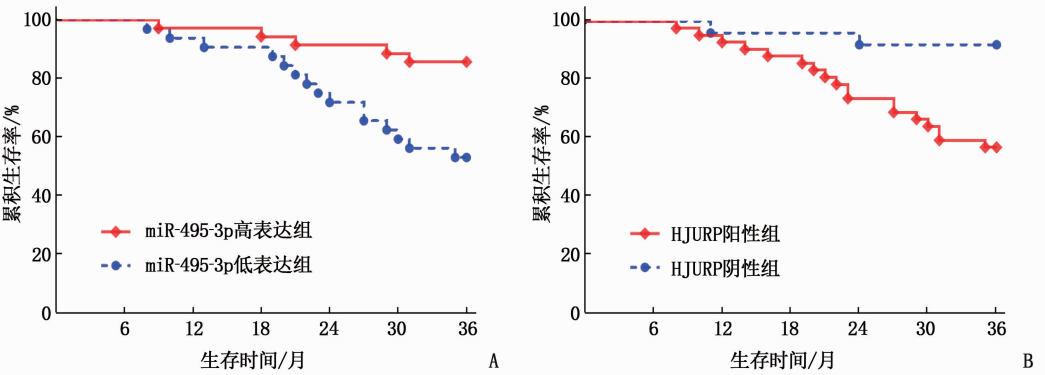
临床病理参数	<i>n</i>	miR-495-3p		χ^2/P	HJURP		χ^2/P
		高表达组 ($n=35$)	低表达组 ($n=32$)		阳性组 ($n=42$)	阴性组 ($n=25$)	
年龄				0.651/0.420			0.632/0.427
≥55 岁	39	22	17		26	13	
<55 岁	28	13	15		16	12	
性别				0.631/0.427			0.132/0.716
男	26	12	14		17	9	
女	41	23	18		25	16	
病理类型				5.824/0.121			2.018/0.569
乳头状癌	31	20	11		22	9	
滤泡状癌	16	6	10		9	7	
髓样癌	12	7	5		6	6	
未分化癌	8	2	6		5	3	
分化程度				1.712/0.191			1.848/0.174
低分化	20	8	12		15	5	
中/高分化	47	27	20		27	20	
临床分期				4.399/0.036			6.547/0.011
I ~ II 期	32	21	11		15	17	
III ~ IV 期	35	14	21		27	8	
淋巴结转移				6.242/0.012			5.954/0.015
有	42	17	25		31	11	
无	25	18	7		11	14	

miR-495-3p: 微小 RNA-495-3p; HJURP: Holliday 交叉识别蛋白。

2.4 甲状腺癌组织中 miR-495-3p、HJURP 水平与患者预后的关系

随访 3 年, 甲状腺癌患者累积生存率为 70.15% (47/67)。miR-495-3p 高表达组患者 3 年累积生存率为 85.71% (30/35), 高于 miR-495-3p

低表达组的 53.13% (17/32), 差异有统计学意义 ($\chi^2=8.478, P=0.004$); HJURP 阳性组患者 3 年累积生存率 57.14% (24/42), 低于 HJURP 阴性组 92.00% (23/25), 差异有统计学意义 ($\chi^2=9.093, P=0.003$)。见图 2。



A: miR-495-3p 高表达和低表达患者生存曲线; B: HJURP 阳性组和阴性组患者生存曲线。

图 2 甲状腺癌组织中 miR-495-3p、HJURP 水平与患者预后的关系

2.5 甲状腺癌患者预后不良的因素分析

根据甲状腺癌患者术后 3 年复发转移情况, 将患者发生复发转移定义为预后不良, 未发生复发转移定义为预后良好。单因素分析结果显示, 病理类型、分化程度、临床分期、淋巴结转移、

miR-495-3p、HJURP 是影响甲状腺癌患者预后不良的危险因素 ($P < 0.05$); 多因素分析结果显示, 临床分期、淋巴结转移、miR-495-3p、HJURP 是影响甲状腺癌患者预后不良的独立危险因素 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 2 影响甲状腺癌患者预后不良的因素分析

变量	单因素			多因素		
	HR	95% CI	P	HR	95% CI	P
年龄	1.167	0.697 ~ 1.954	0.557	—	—	—
性别	1.108	0.705 ~ 1.742	0.657	—	—	—
病理类型	1.984	1.015 ~ 3.878	0.045	1.746	0.921 ~ 3.308	0.087
分化程度	1.875	1.017 ~ 3.456	0.044	1.812	0.995 ~ 3.301	0.052
临床分期	2.483	1.265 ~ 4.873	0.008	2.176	1.181 ~ 4.011	0.013
淋巴结转移	2.684	1.384 ~ 5.206	0.003	2.419	1.240 ~ 4.720	0.009
miR-495-3p	2.356	1.205 ~ 4.606	0.012	2.219	1.102 ~ 4.467	0.025
HJURP	2.439	1.257 ~ 4.731	0.008	2.175	1.074 ~ 4.405	0.031

miR-495-3p: 微小 RNA-495-3p; HJURP: Holliday 交叉识别蛋白。

3 讨论

甲状腺癌约占所有癌症的 1%，在地方性结节性甲状腺肿流行地区，甲状腺癌的发病率尤其高^[8]。目前，甲状腺癌的发病原因尚未明确，但从流行病学、实验室研究及临床观察发现，可能与放射性损伤、甲状腺病变、碘摄取异常、遗传因素等有关。近年来研究^[9]发现，原癌基因的激活突变或抑癌基因的异常失活在侵袭性甲状腺肿瘤的发生、发展中起重要作用，miRNAs 可能成为包括甲状腺癌在内的多种癌症类型特定临床病理特征相关的生物标志物。研究^[10]发现，hsa-miR-139-5p 的外源表达显著降低了间变性甲状腺癌细胞的迁移和增殖，在持续复发及局部转移相关的原发肿瘤中表达下调，通过 HNRNP 介导的选择性剪接作用参与甲状腺癌信号通路和肿瘤毒力调节机制。miRDB 网站(<http://www.mirdb.org/>)预测发现，miR-495-3p 与 HJURP 存在结合位点，提示可能在甲状腺癌发生及病情进展过程中共同发挥作用。本研究通过检测 miR-495-3p 在甲状腺癌组织中表达水平发现，miR-495-3p 在癌组织中的表达水平低于正常甲状腺组织，推测 miR-495-3p 在甲状腺癌中可能发挥抑癌基因作用，进一步分析 miR-495-3p 水平与甲状腺癌患者临床病理资料的关系发现，miR-495-3p 水平高低与患者年龄、性别、病理类型、分化程度无关，而临床分期Ⅲ~Ⅳ、发生淋巴结转移的甲状腺癌患者 miR-495-3p 水平较临床分期Ⅰ~Ⅱ期、无淋巴结转移的患者更低，表明 miR-495-3p 水平异常表达与甲状腺癌患者肿瘤细胞增殖分化、迁移侵袭等有关，但具体作用机制尚不清楚。研究^[11-12]发现，miR-495-3p 在结肠癌、前列腺癌中亦表达下调，可通过与其下游靶基因结合抑制肿瘤细胞增殖、迁移及侵袭作

用，并受各自信号通路调节，由此推测 miR-495-3p 在甲状腺癌中发挥相似的抑癌作用，并通过激活信号通路参与甲状腺癌的发生、发展过程。HJURP 是 G1 早期阶段着丝粒 CENP-A 沉积的唯一伴侣，已被证明是 DNA 结合和磷酸化的关键调节因子，参与染色体分离、细胞分裂等调控作用^[13]。研究^[14]发现，DNA 损伤诱导后，HJURP 表达显著上调，与 DNA 修复因子发挥协同作用。HJURP 在肿瘤细胞中的作用越来越受到关注。本研究结果显示，甲状腺癌组织中 HJURP 阳性表达率高于正常甲状腺组织，表达水平与肿瘤临床分期、淋巴结转移有关，与 HJURP 在其他肿瘤中的表达趋势一致^[15-16]。研究^[17]认为，HJURP 通过上调鞘氨醇基酶 1 (SPHK1) 参与肝癌细胞迁移和侵袭过程，且高表达 HJURP 预示肝细胞癌患者较低无病生存期和较高微血管浸润风险。生存分析发现，miR-495-3p 高表达和 HJURP 阴性的甲状腺癌患者具有更高的 3 年累积生存率，提示检测 miR-495-3p、HJURP 可能对评估甲状腺癌患者预后有帮助。进一步分析发现，临床分期、淋巴结转移、miR-495-3p、HJURP 是影响甲状腺癌患者预后不良的独立危险因素，临床分期Ⅲ~Ⅳ期、发生淋巴结转移、miR-495-3p 低表达、HJURP 高表达使甲状腺癌患者术后发生复发转移的风险增加，表明 miR-495-3p、HJURP 可能作为甲状腺癌患者预后的潜在生物指标。综上所述，在甲状腺癌组织中 miR-495-3p 表达下调，HJURP 表达上调，表达水平与临床分期、淋巴结转移有关，可能作为甲状腺癌患者预后不良的潜在标志物，具体作用方式有待进一步研究。miR-495-3p、HJURP 表达水平与甲状腺癌发生及患者预后的关系尚不能定论，下一步需增加细胞功能或动物模型实验，继续探讨两者是否有治疗

甲状腺癌的潜在价值。

参考文献

[1] 周娟, 马英豪, 赵广利, 等. 2010 年 - 2019 年 765 例甲状腺癌病例特点分析[J]. 中国病案, 2021, 22(3): 79 - 82.

[2] 林晓云, 侯莎莎, 谭建. 微小 RNA 在甲状腺癌发生、发展中的研究进展[J]. 国际放射医学核医学杂志, 2020, 44(5): 323 - 327.

[3] 林钦, 张丽婷, 吴文艺, 等. 特异性核基质结合区结合蛋白 1 和微小 RNA-495-3P 在甲状腺乳头状癌侵袭和转移中的作用[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(1): 139 - 143.

[4] 韩听锋, 李春燕, 侯青霞, 等. 微小 RNA-495-3p 在卵巢癌组织的表达及对卵巢癌细胞凋亡和增殖的影响[J]. 医学研究杂志, 2019, 48(10): 162 - 166.

[5] DING M, JIANG J, YANG F, *et al.* Holliday junction recognition protein interacts with and specifies the centromeric assembly of CENP-T[J]. J Biol Chem, 2019, 294(3): 968 - 980.

[6] YUAN JS, CHEN ZS, WANG K, *et al.* Holliday junction recognition protein modulates apoptosis, cell cycle arrest and reactive oxygen species stress in human renal cell carcinoma[J]. Oncol Rep, 2020, 44(3): 1246 - 1254.

[7] WANG C J, LI X, SHI P, *et al.* Holliday junction recognition protein promotes pancreatic cancer growth and metastasis via modulation of the MDM2/p53 signaling[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(5): 386.

[8] NAMBRON R, ROSENTHAL R, BAHL D. Diagnosis and evaluation of thyroid nodules-the clinician's perspective[J]. Radiol Clin North Am, 2020, 58(6): 1009-1018.

[9] CORTEZ M A, ANFOSSI S, RAMAPRIYAN R, *et al.* Role of miRNAs in immune responses and immunotherapy in cancer[J].

Genes Chromosomes Cancer, 2019, 58(4): 244 - 253.

[10] MONTERO-CONDE C, GRAÑA-CASTRO O, MARTÍN-SERRANO G, *et al.* Hsa-miR-139-5p is a prognostic thyroid cancer marker involved in HNRNPF-mediated alternative splicing[J]. Int J Cancer, 2020, 146(2): 521 - 530.

[11] HE Z, DANG J, SONG A, *et al.* NEAT1 promotes colon cancer progression through sponging miR-495-3p and activating CDK6 in vitro and in vivo[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(11): 19582 - 19591.

[12] CHEN F, LIU L, WANG S. Long non-coding RNA NORAD exhaustion represses prostate cancer progression through inhibiting TRIP13 expression via competitively binding to miR-495-3p[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20: 323.

[13] HORI T, CAO J, NISHIMURA K, *et al.* Essentiality of CENP-A depends on its binding mode to HJURP[J]. Cell Rep, 2020, 33(7): 108388.

[14] WEI Y, OUYANG G L, YAO W X, *et al.* Knockdown of HJURP inhibits non-small cell lung cancer cell proliferation, migration, and invasion by repressing Wnt/ β -catenin signaling[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(9): 3847 - 3856.

[15] SERAFIM R B, CARDOSO C, DI CRISTOFARO L F M, *et al.* HJURP knockdown disrupts clonogenic capacity and increases radiation-induced cell death of glioblastoma cells[J]. Cancer Gene Ther, 2020, 27(5): 319 - 329.

[16] CHEN Y F, LIANG Y X, YANG J A, *et al.* Upregulation of Holliday junction recognition protein predicts poor prognosis and biochemical recurrence in patients with prostate cancer[J]. Oncol Lett, 2019, 18(6): 6697 - 6703.

[17] CHEN T, ZHOU L, ZHOU Y, *et al.* HJURP promotes epithelial-to-mesenchymal transition via upregulating SPHK1 in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Biol Sci, 2019, 15(6): 1139 - 1147.

(本文编辑: 周冬梅)

(上接第 45 面)

[14] 孙沐炎. 五苓散临证思考[J]. 新中医, 2021, 53(11): 12 - 14.

[15] 倪跃, 叶仲昊, 赵胜男, 等. 祛湿药对肠道菌群的影响[J]. 中医学报, 2021, 36(5): 983 - 988.

[16] 李叶, 孟伟明, 赵雪梅. 鸡内金提取物通过调节肺泡巨噬细胞自噬水平减轻尘肺大鼠肺间质纤维化的机制[J]. 临床和实验医学杂志, 2021, 20(8): 792 - 796.

[17] 张静, 刘畅. 中西医结合治疗晚期结肠癌的临床疗效[J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(5): 548 - 551.

[18] 曹丹. 扶正消积汤对中晚期结肠癌免疫功能的改善作用研究[J]. 湖北科技学院学报: 医学版, 2016, 30(6): 516 - 518.

[19] 李慧, 冷静, 秦毅. 扶正消积汤含药血清通过下调 miR-184 促进人肺腺癌 SPC-A1 细胞凋亡的影响[J]. 世界中西医结合杂志, 2021, 16(2): 277 - 280.

[20] 刘文立, 莫海云. 白及多糖通过调节免疫作用抑制结肠

癌 CT26 荷瘤小鼠肿瘤生长[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(8): 941 - 945.

[21] 刘艳玲, 袁娟, 郭敏, 等. 基于 TLR4/MyD88/NF- κ B 信号通路探讨黄芪多糖对肺癌小鼠免疫功能的影响及对 Th1/Th2 的调节作用[J]. 中国免疫学杂志, 2021, 37(6): 676 - 682.

[22] ZHU X, ZHU J. CD4 T Helper Cell Subsets and Related Human Immunological Disorders[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(21): 8011.

[23] MEIKLE C K, MEISLER A J, BIRD C M, *et al.* Platelet-T cell aggregates in lung cancer patients: Implications for thrombosis[J]. PLoS One, 2020, 15(8): e0236966.

[24] JIESHENG L, HANNAH Y, ZEMIN Z, *et al.* Landscape of transcript isoforms in single T cells infiltrating in non-small-cell lung cancer[J]. J Genet Genomics, 2020, 47(7): 373 - 388.

(本文编辑: 陆文娟)