

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.08.015

miR-133b 通过介导 TGF- β R1 表达下调对食管癌 细胞侵袭、迁移的抑制作用

米卫国, 张 伟, 刘建军, 张昭鹏, 杨 帆[△]

陕西省汉中市中心医院胸外科, 陕西汉中 723000

摘要:目的 探讨 miR-133b 通过介导转化生长因子- β 受体 1(TGF- β R1) 表达下调, 抑制食管癌细胞侵袭、迁移的作用及机制。方法 采用实时荧光定量 PCR 检测人正常食管上皮细胞和人食管癌 OE19、ECA109 细胞中 miR-133b 的表达; 构建 miR-133b 过表达的人食管癌 OE19、ECA109 细胞; Transwell 小室实验观察不同 miR-133b 表达水平对食管癌 OE19、ECA109 细胞迁移和侵袭能力的影响; 蛋白免疫印迹法检测不同 miR-133b 表达水平对食管癌 OE19、ECA109 细胞中 TGF- β R1、SMAD3、p-SMAD3、E-cadherin、N-cadherin 蛋白水平的影响; 双荧光素酶报告基因试验检测 miR-133b 对 TGF- β R1 的靶向调控作用。结果 成功构建 miR-133b 过表达的食管癌 OE19 和 ECA109 细胞; miR-133b 过表达的食管癌 OE19 和 ECA109 细胞的侵袭和迁移能力显著降低($P < 0.01$); miR-133b 过表达的食管癌 OE19 和 ECA109 细胞中 TGF- β R1、p-SMAD3、N-cadherin 蛋白水平明显降低($P < 0.01$), E-cadherin 蛋白水平明显升高($P < 0.01$)。双荧光素酶报告基因试验检测发现 miR-133b 可靶向调控 TGF- β R1 的表达。结论 miR-133b 通过介导 TGF- β R1 表达下调, 抑制 TGF- β R1/SMAD3 信号通路活化, 抑制人食管癌 OE19 和 ECA109 细胞上皮间质转化的发生, 抑制食管癌细胞的侵袭和迁移能力。

关键词: 食管癌; miR-133b; 转化生长因子- β 受体 1; 侵袭; 迁移

中图法分类号: R735.1

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)08-1084-06

MiR-133b inhibits the invasion and migration of esophageal cancer cells by mediating the down-regulation of TGF- β R1 expression

MI Weiguo, ZHANG Wei, LIU Jianjun, ZHANG Zhaopeng, YANG Fan[△]
Department of Thoracic Surgery, Hanzhong Municipal Central Hospital,
Hanzhong, Shaanxi 723000, China

Abstract: Objective To investigate the role and mechanism of miR-133b in inhibiting the invasion and migration of esophageal cancer cells by mediating the down-regulation of transforming growth factor- β receptor 1 (TGF- β R1) expression. **Methods** Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the expression level of miR-133b in human normal esophageal epithelial cells and human esophageal cancer OE19 and ECA109 cells. Human esophageal cancer OE19 and ECA109 cells overexpressed miR-133b were constructed. Transwell chamber experiment was used to observe the effect of miR-133b expression on the migration and invasion of OE19 and ECA109 cells. Western blotting was used to detect the effects of different miR-133b expression levels on TGF- β R1, SMAD3, p-SMAD3, E-cadherin and N-cadherin protein expression levels in esophageal cancer OE19 and ECA109 cells. The dual luciferase reporter gene test was used to detect the targeted regulation effect of miR-133b on TGF- β R1. **Results** Esophageal epithelial cancer OE19 and ECA109 cells with miR-133b overexpression were successfully constructed. The invasion and migration ability of OE19 and ECA109 cells with miR-133b overexpression were significantly decreased ($P < 0.01$). The protein levels of TGF- β R1, p-SMAD3 and N-cadherin in OE19 and ECA109 cells were significantly decreased ($P < 0.01$), and E-cadherin protein was significantly increased ($P < 0.01$). The dual luciferase reporter gene test showed that miR-133b could target and regulate the expression of TGF- β R1. **Conclusion** By mediating the down-regulation of TGF- β R1 expression, miR-133b can inhibit the activation of TGF- β R1/SMAD3 signaling pathway, inhibit epithelial mesenchymal transition occurrence of OE19 and ECA109 cells, and inhibit the invasion and migration abilities of esophageal cancer cells.

Key words: esophageal cancer; miR-133b; transforming growth factor- β receptor 1; migration; invasion

作者简介: 米卫国, 男, 主治医师, 主要从事食管癌、肺癌、主动脉夹层等方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: yangfan_811_2006@126.com。

本文引用格式: 米卫国, 张伟, 刘建军, 等. miR-133b 通过介导 TGF- β R1 表达下调对食管癌细胞侵袭、迁移的抑制作用[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(8): 1084-1088.

食管癌是全球常见的消化道恶性肿瘤,在世界范围内发病率居第 7 位,病死率居第 6 位^[1]。晚期食管癌患者远处转移是其预后不良和高病死率的主要原因^[2-3]。微小 RNA(miRNA)是一种具有调节作用的非编码小 RNA,通过靶向调节基因表达水平,在癌症的发生、发展和转移中起着重要的作用^[4]。有研究报道,miR-133b 的表达水平和食管癌的病理分级及预后密切相关^[5-6],与食管癌的恶性进展密切相关。转化生长因子-β 受体 1(TGF-βR1)是 miR-133b 的靶基因之一,是转化生长因子-β(TGF-β)/SMAD3 信号通路的关键蛋白,TGF-β/SMAD3 信号通路激活^[7-8]在诱导肿瘤细胞发生上皮间质转化(EMT),促进肿瘤细胞侵袭和迁移中发挥重要作用^[9]。但关于食管癌中 miR-133b 是否通过调控其靶基因 TGF-βR1 激活 TGF-β/SMAD3 信号通路,促进食管癌的侵袭和迁移的研究鲜见报道。因此,本研究拟明确 miR-133b 通过调控其靶基因 TGF-βR1 发挥对食管癌侵袭和迁移的作用及机制,为进一步探讨 miR-133b 作为治疗食管癌侵袭和迁移的作用靶点提供一定的实验基础。

1 材料与方法

1.1 材料来源

人食管癌 OE19、ECA109 细胞,人正常食管上皮细胞(HEEC 细胞)均购自美国典型培养物保藏中心(ATCC);胎牛血清、RPMI1640 细胞培养基购自 Hyclone 公司;Opti-MEM 细胞培养基购自 Gibco 公司;抗菌药物(青霉素、链霉素)、胰蛋白酶均购自中国 Solarbio 公司;兔抗 TGF-βR1 抗体、兔抗 SMAD3 抗体均购自 Cell Signaling Technology 公司;兔抗 p-SMAD3、兔抗 E-cadherin、兔抗 N-cadherin、兔抗 β 肌动蛋白(β-actin)抗体均购自 Bioworld Technology 公司;RNA 提取试剂盒、Trizol、蛋白提取裂解液均购自碧云天生物科技有限公司;miR-133b mimic、miR-133b negative control(miR-133b NC)、WT-TGF-βR1、MUT-TGF-βR1 荧光素酶报告基因载体均购自上海吉玛公司;Lipofectamine(R) 3000 购自 ThermoFisher 公司;双荧光素酶报告基因试剂盒(RG027)购自碧云天生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

人食管癌 OE19、ECA109 细胞和 HEEC 细胞,均采用无菌且含 10% 胎牛血清和 1% 抗菌药物(青霉素、链霉素)的 RPMI1640 培养液在 37 °C、5%CO₂ 的无菌细胞培养箱中培养。

1.2.2 实时荧光定量 PCR(qPCR)检测方法

收集对数生长期的人食管癌 OE19 和 ECA109 细胞,以 HEEC 细胞为对照。采用 RNA 提取试剂盒提取 RNA;加入 Trizol 裂解液,匀浆,加氯仿,室温 5 min,离心,转移上层水相,加异丙醇,室温 10 min,离心,去上清液,加 75% 乙醇振荡混合,4 °C 离心,去上清液,EP 管放置干燥,加入焦碳酸二乙酯水充分溶解 RNA;采用 qPCR 检测 RNA 浓度;引物序列设计见

表 1,反转录合成 cDNA,PCR 反应(PCR 反应条件:95 °C 30 s,95 °C 10 s,60 °C 30 s)检测 miR-133b 基因水平,基因的相对表达水平以 2^{-ΔΔCt} 计算。引物序列由上海吉玛公司合成并鉴定,见表 1。

表 1 PCR 试验引物序列

基因	引物序列
miR-133b	F:5'-CTTTGGTCCCCTTCAACCA-3' R:5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'
β-actin	F:5'-CCTCACCTGAAGTACCCCA-3' R:5'-TCGTCCCAGTTGGTGACGAT-3'

1.2.3 细胞转染

转染前 24 h,将食管癌 OE19、ECA109 细胞以 1×10⁶ 个/孔的密度接种到 6 孔板中。次日,冰浴上吸取 miR-133b mimic 和 miR-133b NC 各 6 μg,用预冷的无血清 Opti-MEM 培养基 250 μL 分别稀释,轻轻混匀后,在室温无菌台中静置 5 min。同时吸取 Lipofectamine(R) 3000 转染试剂 8 μL,用预冷的无血清 Opti-MEM 培养基 250 μL 稀释,轻轻混匀后,在室温无菌台中静置 5 min。5 min 后,分别混合 Lipofectamine(R) 3000 转染试剂、miR-133b mimic 和 miR-133b NC 的稀释液,每份 500 μL,轻轻混匀,室温无菌台上静置 20 min。6 孔板中细胞用无血清 Opti-MEM 培养基漂洗 2 次,每孔加入混合液 500 μL。置于 37 °C、5%CO₂ 培养箱中孵育 6 h,然后更换含 10% 胎牛血清和 1% 抗菌药物(青霉素、链霉素)的 RPMI1640 培养液,继续培养 48 h,用于后续实验。

1.2.4 Transwell 小室实验检测细胞侵袭和迁移能力

迁移实验:取对数生长期的人食管癌 OE19、ECA109 细胞和转染了 miR-133b mimic(过表达 miR-133b,OE miR-133b)、miR-133b NC 的人食管癌 OE19、ECA109 细胞,调整细胞密度,吸取 0.2 mL 细胞悬液接种于 24 孔板的 Transwell 小室中,使细胞密度为 4×10⁴ 个/孔,小室下层相应加入含 30% 胎牛血清培养液 600 μL,将 Transwell 小室置于孵箱中培养。培养 24 h 后弃掉 Transwell 小室内外液体,加入磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤 3 次,然后每孔加入 4% 多聚甲醛 1 mL,在室温条件下固定 10 min。弃去多聚甲醛,用 PBS 洗涤 3 次。之后在 Transwell 小室孔中加入 0.1% 结晶紫 1 mL,室温条件下染色 10 min。用 PBS 洗涤 3 次,棉签擦掉 Transwell 上室中未迁移的细胞。然后将小室置于显微镜下拍照,随后在新的 24 孔板中放置小室,并加入 33% 冰乙酸 800 μL 进行脱色,振荡 5 min 使之充分溶解。用酶联免疫检测仪在 570 nm 波长下读取吸光度值(A₅₇₀),观察细胞的迁移能力。

侵袭实验:用无血清的 4 °C 预冷细胞培养液在冰浴上稀释 Matrigel 胶。稀释比例为培养基:基质胶=9:1;取 100 μL 稀释的基质胶加到 Transwell 上

室中,置于 37 °C 孵箱中孵育 2 h,使基质胶充分胶凝。以下步骤同迁移实验。用酶联免疫检测仪在 570 nm 波长下读取 A₅₇₀,观察细胞的侵袭能力。

1.2.5 蛋白免疫印迹(Western blot)法检测蛋白水平 收集对数生长期的食管癌 OE19、ECA109 细胞,收集转染了 miR-133b mimic 和 miR-133b NC 的食管癌 OE19、ECA109 细胞,每组收集的细胞加入蛋白裂解液 220 μL,置冰浴上 30 min 提取细胞蛋白。以 13 000 r/min 低温高速离心 20 min,弃去细胞沉淀,收集上清液。用考马斯亮蓝法进行蛋白定量。以 40 μg 蛋白量作为上样量,在 6% 浓缩胶、12% 分离胶上进行 SDS-PAGE 电泳。湿法进行电转移,将电泳分离后的蛋白转移至 NC 膜上。用 5% 脱脂奶粉室温条件下封闭 1.5 h,按照常规滴加一抗(TGF-βR1、SMAD3、p-SMAD3、E-cadherin、N-cadherin、β-actin, 1 : 1 000 稀释),4 °C 孵育过夜。次日常温复温 1 h,磷酸盐吐温缓冲液(PBST)洗膜 3 次,每次 5 min。加山羊抗兔二抗(1 : 8 000 稀释),室温下孵育 1.5 h。然后用 PBST 洗膜 3 次,每次 5 min。最后在化学发光仪中显影,灰度扫描,以 β-actin 为内参。结果与 β-actin 比值做统计分析,检测 TGF-βR1、SMAD3、p-SMAD3、E-cadherin、N-cadherin 蛋白水平。

1.2.6 双荧光素酶报告基因试验检测 miR-133b 对 TGF-βR1 的靶向调控 通过 TargetScan 数据库(<http://www.targetscan.org>)和 miRPathDB 数据库(<https://mpd.bioinf.uni-sb.de/mirnas.html>)检索,分析发现 TGF-βR1 的 3'UTR 区域可与 miR-133b 结合。通过上海吉玛基因有限公司构建野生型(WT)和突变型(MUT)基因靶点 TGF-βR1 的 3'UTR 荧光素酶报告基因载体(WT-TGF-βR1 和 MUT-TGF-βR1)。取对数生长期的食管癌 OE19、ECA109 细胞接种于 24 孔板中,使细胞密度为 5 × 10⁴ 个/孔。采用 Lipofectamine (R) 3000 转染试剂共转染 WT-TGF-βR1、MUT-TGF-βR1 和 miR-133b NC、miR-133b,共转染 36 h 后,使用双荧光素酶报告基因试剂盒,严格按照说明书要求,检测萤火虫荧光素酶反应

强度和内参海肾荧光素酶反应强度,计算 2 组数据比值进行统计学分析,观察 miR-133b 对 TGF-βR1 的靶向调控,实验重复 3 次。

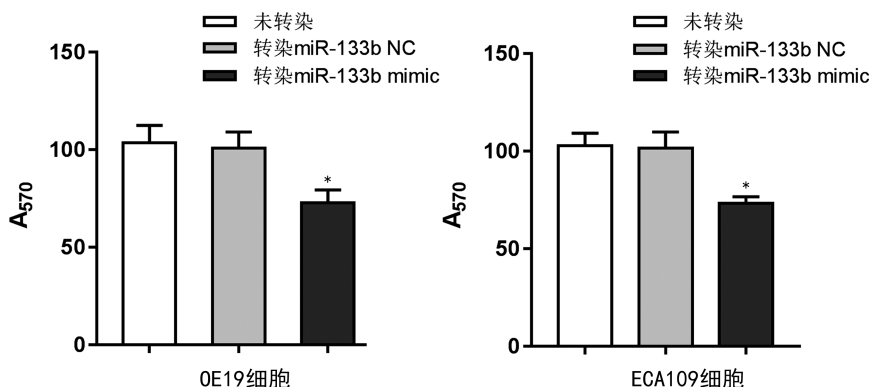
1.3 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件对各组数据进行统计分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析,组间有差异再进行两两比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 miR-133b 在食管癌 OE19、ECA109 细胞和 HEEC 细胞中的相对表达水平比较 结果显示,miR-133b 在 HEEC 细胞中的相对表达水平为 1.08 ± 0.09,在食管癌 OE19、ECA109 细胞中的相对表达水平分别为 0.61 ± 0.06、0.53 ± 0.08,与 HEEC 细胞比较,食管癌 OE19、ECA109 细胞中 miR-133b 的相对表达水平明显下调,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 成功构建了过表达 miR-133b 的食管癌 OE19、ECA109 细胞 采用 miR-133b mimic 和 miR-133b NC,应用 Lipofectamine(R) 3000 转染试剂转染食管癌 OE19、ECA109 细胞,qPCR 检测转染细胞中 miR-133b 的相对表达水平。结果显示,转染细胞培养 48 h 后,转染 miR-133b NC、miR-133b mimic 的 HECC 细胞中 miR-133b 的相对表达水平分别为 1.03 ± 0.06 和 0.97 ± 0.06,而转染 miR-133b mimic 的食管癌 OE19、ECA109 细胞中 miR-133b 的相对表达水平分别为 2.57 ± 0.12 和 2.33 ± 0.13,与 HEEC 细胞比较,转染 miR-133b mimic 的食管癌 OE19、ECA109 细胞中 miR-133b 的相对表达水平上调($P < 0.01$),表明过表达 miR-133b 的食管癌 OE19、ECA109 细胞构建成功。

2.3 miR-133b 对食管癌 OE19、ECA109 细胞的迁移和侵袭能力的影响 结果显示,与未转染的食管癌 OE19、ECA109 细胞和转染 miR-133b NC 的食管癌 OE19、ECA109 细胞比较,转染 miR-133b mimic 的食管癌 OE19、ECA109 细胞的迁移和侵袭能力均降低($P < 0.01$),见图 1、2。

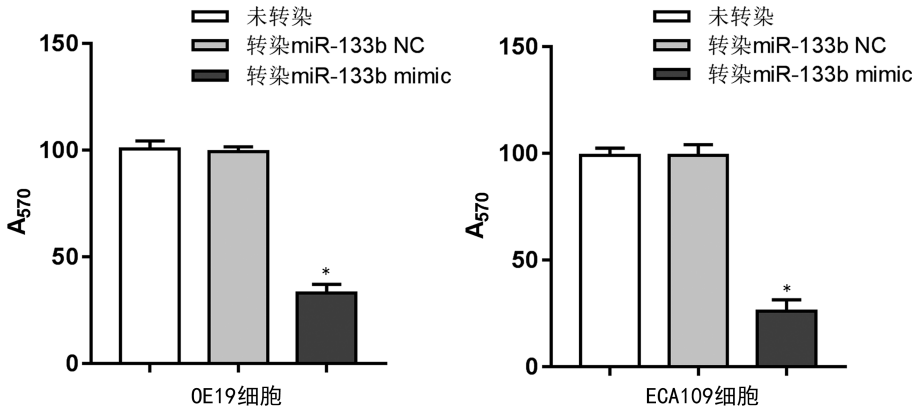


注:与未转染和转染 miR-133b NC 的比较,* $P < 0.01$ 。

图 1 miR-133b 对食管癌 OE19、ECA109 细胞迁移能力的影响

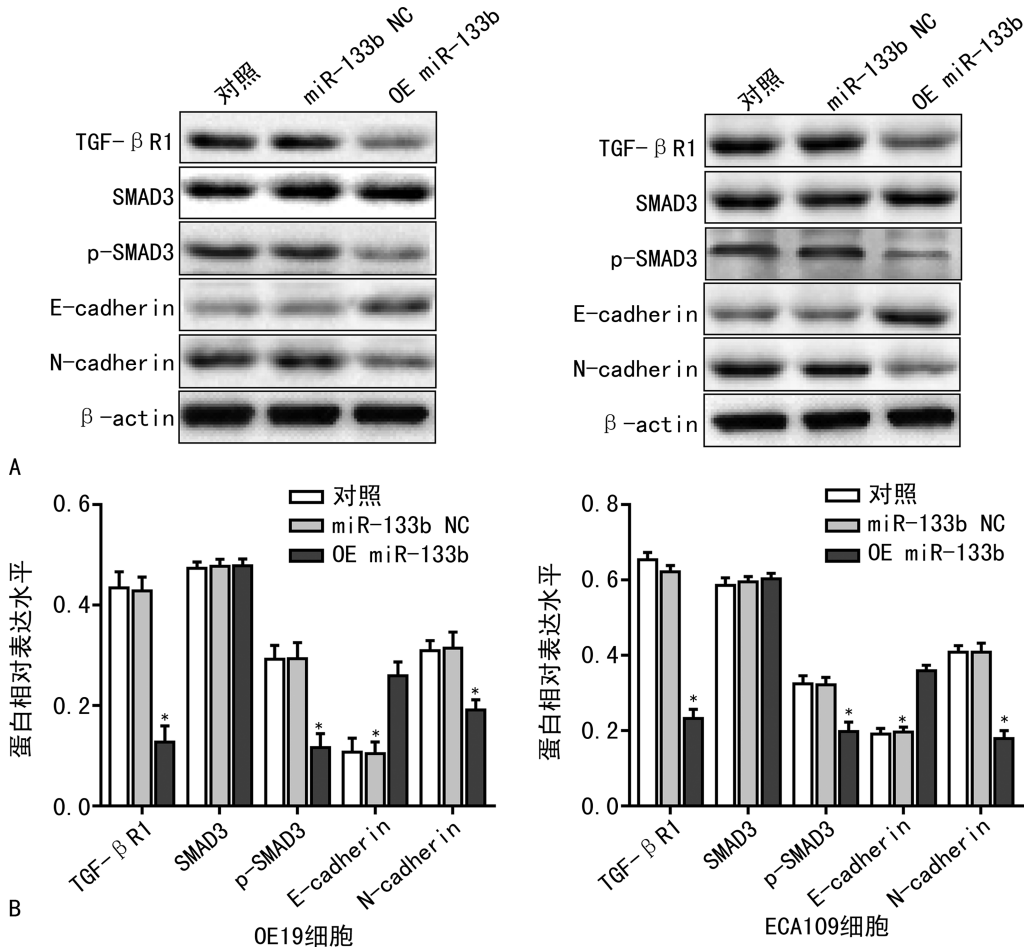
2.4 miR-133b 对人食管癌 OE19、ECA109 细胞中 TGF-βR1/SMAD3 信号通路蛋白表达水平的影响
结果显示,与未转染和转染 miR-133b NC 的人食管癌 OE19、ECA109 细胞比较,转染 miR-133b mimic 的人

食管癌 OE19、ECA109 细胞中的 TGF-βR1、p-SMAD3、N-cadherin 的蛋白水平下降,E-cadherin 的蛋白水平升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$),见图 3。



注:与未转染和转染 miR-133b NC 比较,* $P < 0.01$ 。

图 2 miR-133b 对人食管癌 OE19、ECA109 细胞侵袭能力的影响

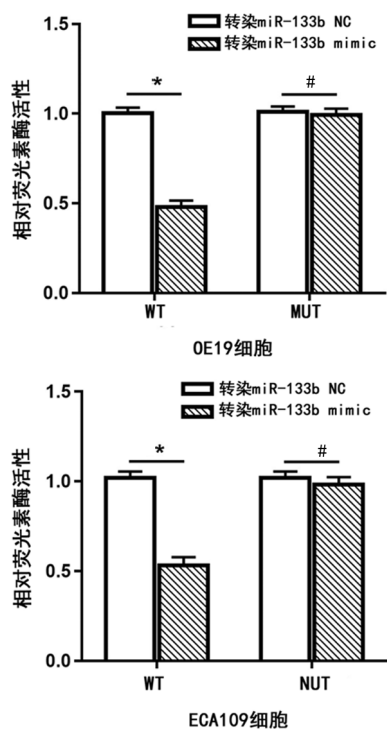


注:A 为 Western blot 检测各蛋白水平;B 为各蛋白相对表达水平。与对照比较,* $P < 0.01$ 。

图 3 miR-133b 对人食管癌 OE19、ECA109 细胞 TGF-βR1/SMAD3 信号通路中蛋白水平的影响

2.5 miR-133b 靶向调控 TGF-βR1 的表达 通过双荧光素酶报告基因试验检测发现,转染 WT-TGF-βR1 基因表达载体后,与转染 miR-133b NC 比较,转染 miR-133b mimic 的 WT-TGF-βR1 食管癌细胞的相

对荧光素酶活性降低($P < 0.01$);转染 MUT-TGF-βR1 基因表达载体后,与转染 miR-133b NC 比较,转染 miR-133b mimic 的 MUT-TGF-βR1 食管癌细胞的相对荧光素酶活性差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 4。



注: * $P < 0.01$, # $P > 0.05$ 。

图 4 双荧光素酶报告基因实验检测 miR-133b 对 TGF- β 1 的靶向调控

3 讨 论

食管癌发生转移是其预后差、病死率高的主要原因^[10],晚期食管癌转移患者临床治疗多采用化疗及放疗结合的方法,但由于放疗的耐受性和药物选择性低等问题,其预后不佳,严重影响食管癌患者生活质量,因此迫切需要对调控食管癌发生转移的靶点进行研究^[11-12]。

miR-133b 在多种肿瘤中发挥重要作用^[13],其在食管癌中的表达低于其癌旁组织,与食管癌的发生、发展密切相关,是治疗食管癌转移的潜在靶标^[14]。TGF- β 1 是 miR-133b 的靶基因,miR-133b 通过靶向结合 TGF- β 1 的 3'UTR 端,负调控 TGF- β 1 的表达^[8];有研究报道,miR-133b 通过调控其靶基因 TGF- β 1 影响腺癌骨转移及乳腺癌 EMT 的发生^[7-8]。TGF- β 1 在诱导食管癌细胞发生 EMT,促进食管癌细胞发生侵袭和迁移过程中发挥重要作用^[15],TGF- β 1 通过激活 TGF- β /SMAD3 信号通路,促进 SMAD3 发生磷酸化。磷酸化 SMAD3 入核后启动转录翻译,影响目的基因表达,介导肿瘤细胞 EMT 的发生^[9-10]。而在 EMT 发生、发展过程中,E-cadherin、N-cadherin 是标志物蛋白,E-cadherin 表达减少,N-cadherin 表达升高,减少细胞间黏附力,进而促进肿瘤细胞的侵袭和迁移^[16-17]。

本研究通过 qPCR 检测 HECC 细胞和食管癌 OE19 和 ECA109 细胞中 miR-133b 的表达水平,结果发现,miR-133b 在食管癌细胞中的表达水平明显低于 HECC 细胞。通过 miR-133b mimic 转染食管癌

OE19 和 ECA109 细胞,成功构建过表达 miR-133b 的食管癌 OE19 和 ECA109 细胞,以 miR-133b NC 为对照组,采用 Transwell 小室实验观察过表达 miR-133b 的食管癌 OE19 和 ECA109 细胞,结果发现,与 miR-133b NC 比较,过表达 miR-133b 的食管癌 OE19 和 ECA109 细胞的侵袭和迁移能力明显下降(图 1、2, $P < 0.01$),表明 miR-133b 负调控食管癌细胞的转移能力。进一步机制研究表明,miR-133b 靶蛋白 TGF- β 1 的水平在过表达 miR-133b 的食管癌 OE19 和 ECA109 细胞中明显下调,TGF- β 1/SMAD3 信号通路中 SMAD3 的磷酸化水平明显下降,N-cadherin 蛋白水平明显升高,E-cadherin 蛋白水平明显降低(图 3)。双荧光素酶活性检测结果显示,TGF- β 1 的 3'UTR 区域可与 miR-133b 结合,miR-133b 靶向调控 TGF- β 1 的表达。

综上所述,miR-133b 在食管癌 OE19 和 ECA109 细胞中水平明显下调,可显著抑制食管癌细胞的侵袭和迁移能力,其作用机制是通过负调控其靶基因 TGF- β 1 的蛋白水平,抑制 TGF- β 1/SMAD3 信号通路活化,进而抑制食管癌细胞 EMT 的发生而降低其侵袭和迁移的能力。本实验结果将为 miR-133b 作为食管癌分子标志物的治疗应用提供一定的科学依据。

参考文献

- [1] HONG Y, DING Z Y. PD-1 inhibitors in the advanced esophageal cancer[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 1418-1421.
- [2] SHORT M W, BURGERS K G, FRY V T. Esophageal cancer[J]. Am Fam Physician, 2017, 95(1): 22-28.
- [3] HUANG F L, YU S J. Esophageal cancer: risk factors, genetic association, and treatment[J]. Asian J Surg, 2018, 41(3): 201-215.
- [4] MOLLAEI H, SAFARALIZADEH R, ROSTAMI Z. MicroRNA replacement therapy in cancer[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(8): 12369-12384.
- [5] 张志梅,何晓燕,施瑞华. miR-133b 在食管鳞癌中的表达及其临床病理意义[J]. 世界华人消化杂志, 2015, 23(26): 4242-4246.
- [6] MEI L L, QIU Y T, ZHANG B, et al. MicroRNAs in esophageal squamous cell carcinoma: potential biomarkers and therapeutic targets[J]. Cancer Biomark, 2017, 19(1): 1-9.
- [7] HUANG S, WA Q D, PAN J C, et al. Transcriptional downregulation of miR-133b by REST promotes prostate cancer metastasis to bone via activating TGF- β signaling[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(7): 779-782.
- [8] WANG S J, HUANG M L, WANG Z C, et al. MicroRNA-133b targets TGF- β receptor I to inhibit TGF- β -induced epithelial-to-mesenchymal transition and metastasis by suppressing the TGF- β /SMAD pathway in breast cancer[J]. Int J Oncol, 2019, 55(5): 1097-1109.

着更高的特异度及灵敏度^[13],本研究对此缺乏考究。CRP 作为机体受到病原微生物入侵时在肝细胞内合成的一种急性时相反应蛋白,在机体组织受到损伤等炎症刺激时可大量产生,故在冠心病的临床检验中常规应用^[14]。(2)不同危险分级 UA 组受检者其 CTFC 值由高到低呈高危险组>中危险组>低危险组的变化。提示血清 cTnI、CK-MB、CRP 水平与心肌微循环状态关系密切,UA 组中血清 cTnI、CK-MB、CRP 检测结果为阳性者发生血管病变的比例均明显高于检测结果为阴性者亦可佐证。亦有相关文献报道心肌损伤标志物及 CRP 对分析 UA 患者的临床预后具有一定价值^[15]。由此可见,对心肌损伤相关指标进行探讨的意义重大。

综上所述,UA 患者血清 CK-MB、CRP 水平较 SA 患者及健康人群高,其血清水平升高可能预测心肌微循环状态不良,临床监测上述指标对其具有重要的诊断及鉴别价值。

参考文献

[1] 王赛. 氯吡格雷联合阿司匹林对老年冠心病不稳定心绞痛患者血清炎症因子及心功能的影响[J]. 中国老年学杂志,2018,38(3):529-531.

[2] 付英姿,赵岸松,苏维彪,等. N 末端脑钠肽前体、超敏 C 反应蛋白和肌钙蛋白 I 检测对急性冠脉综合征临床治疗、危险分层的意义[J]. 中国老年学杂志,2018,38(24):5892-5895.

[3] 胡义忠. CK-MB、cTnI、Myo 和 NT-proBNP 联合检测在诊断急性心肌梗死中的应用[J]. 基因组学与应用生物学,2019,38(9):4213-4217.

[4] DECKERS J W. Classification of myocardial infarction and unstable angina: a re-assessment[J]. Int J Cardiol, 2013,167(6):2387-2390.

[5] 章武战,周亮良,刘生华,等. 血浆 N 末端脑钠肽前体水平与不稳定型心绞痛 Braunwald 分级及心血管不良事件

关系[J]. 心脑血管病防治,2018,18(4):298-300.

[6] 吴铮,吕昀,王平,等. 急性非 ST 段抬高型心肌梗死患者血清 hs-CRP、CK-MB、cTnI、NT-proBNP 的表达及临床意义[J]. 疑难病杂志,2018,17(12):1297-1300.

[7] PYDI B, ALSUBAIEI M, RYAN M, et al. 70 does the corrected TIMI frame count actually represent coronary flow and microvascular resistance? [J]. British Heart J, 2019,105(6):60-65.

[8] TASCANOV M B, GÖNEL A. How do contrast agents affect cardiac markers and coagulation tests? Experimental study [J]. Comb Chem High Throughput Screen, 2019,22(5):355-360.

[9] NOZARI Y, ESHRAGHI A, TALASAZ A H, et al. Protection from reperfusion injury with intracoronary N-Acetylcysteine in patients with STEMI undergoing primary percutaneous coronary intervention in a cardiac tertiary center[J]. Am J Cardiovasc Drugs,2018,18(3):213-221.

[10] 郭景,邓又斌,刘娅妮,等. 心肌超声造影评估心肌梗患者心肌微循环损伤程度[J]. 放射学实践,2018,33(10):111-114.

[11] 武霞,杨清华,刘学键,等. 24 h 动态心电图联合心肌肌钙蛋白 I 评价放射性心脏损伤的应用研究[J]. 中华放射肿瘤学杂志,2020,29(6):421-426.

[12] 薛炎,王立新,周帆,等. 血清 BNP、CK-MB、H-FABP 水平早期动态检测对先心病合并肺炎患儿病情评估的临床价值[J]. 临床和实验医学杂志,2020,19(3):282-286.

[13] 王宇,彭晓恩,薛铮,等. 联合检测 IMA、cTnI、CK-MB 早期诊断急性冠脉综合征的应用价值[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2018,16(2):211-212.

[14] 丛敬,王柏山. 益气活血方联合西药治疗冠心病心绞痛的临床观察[J]. 中华中医药学刊,2018,36(5):1048-1050.

[15] 李亚宁,王琳,黄刚,等. 冠状动脉病变患者血清 HCY CK-MB cTnI 水平与血管狭窄程度及临床预后的关系[J]. 西部医学,2019,31(8):1283-1286.

(收稿日期:2020-08-31 修回日期:2021-01-28)

(上接第 1088 页)

[9] HAO Y, BAKER D, TEN D P. TGF-β-mediated epithelial-mesenchymal transition and cancer metastasis[J]. Int J Mol Sci,2019,20(11):2767-2771.

[10] 李湘杰,沈磊. 食管腺癌危险因素及治疗进展[J]. 医学综述,2020,26(10):1951-1955.

[11] KOMAL K, CHAUDHARY S, YADAV P, et al. The therapeutic and preventive efficacy of curcumin and its derivatives in esophageal cancer[J]. Asian Pac J Cancer Pre,2019,20(5):1329-1337.

[12] 王云晓,霍忠超,金秀,等. 同步放化疗在食管癌中的研究进展[J]. 肿瘤研究与临床,2020,32(6):436-441.

[13] 郭有新,陈宝刚,刘建伟,等. miR-133b 对喉癌细胞增殖、凋亡、侵袭的影响及机制研究[J]. 安徽医科大学学报,2019,54(1):90-96.

[14] LI D J, XIA L, CHEN M, et al. MiR-133b, a particular

member of myomiRs, coming into playing its unique pathological role in human cancer[J]. Oncotarget,2017,8(30):50193-50208.

[15] EBBING E A, STEINS A, FESSLER E, et al. Esophageal adenocarcinoma cells and xenograft tumors exposed to erb-b2 receptor tyrosine kinase 2 and 3 inhibitors activate transforming growth factor beta signaling, which induces epithelial to mesenchymal transition[J]. Gastroenterology,2017,153(1):63-76.

[16] PASTUSHENKO I, BLANPAIN C. EMT transition states during tumor progression and metastasis[J]. Trends Cell Biol,2019,29(3):212-226.

[17] ALSOP B R, SHARMA P. Esophageal cancer[J]. Gastroenterol Clin North Am,2016,45(3):399-412.

(收稿日期:2020-06-20 修回日期:2020-12-25)