

魏杏茹,王翠,庞旭娇,等. 虫草素通过调控 miR-135b-5p 表达抑制宫颈癌 Hela 细胞侵袭、转移的实验研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(6): 68-74.

Wei XR, Wang C, Pang XJ, et al. Cordycepin inhibits invasion and metastasis of Hela cervical cancer cells by regulating miR-135b-5p expression [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(6): 68-74.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2023.06.009

虫草素通过调控 miR-135b-5p 表达抑制宫颈癌 Hela 细胞侵袭、转移的实验研究

魏杏茹^{1*}, 王翠², 庞旭娇³, 杜婷婷¹

(1.保定市妇幼保健院妇科,河北 保定 071000;2.定州市人民医院妇科,河北 定州 073000;
3.河北省第七人民医院妇科,河北 定州 073000)

【摘要】 目的 研究虫草素通过调控 miR-135b-5p 表达对宫颈癌 Hela 细胞侵袭、转移的影响及其调控机制。**方法** 用浓度为 50 $\mu\text{mol/L}$ (虫草素 I 组) 和 100 $\mu\text{mol/L}$ (虫草素 II 组) 的虫草素处理宫颈癌 Hela 细胞,另设空白对照组,用 MTT 法测定 Hela 细胞的生长情况。采用 Transwell 法测定 Hela 细胞侵袭情况,采用划痕实验检测宫颈癌 Hela 细胞的转移能力,采用 Real-time PCR 法测定人永生表皮细胞 HacaT 和宫颈癌 Hela 细胞中 miR-135-5p 的表达水平及不同浓度虫草素处理后对 miR-135-5p 的表达水平的影响。转染 miR-135b-5p mimic 至宫颈癌 Hela 细胞,并采用 Transwell 技术和划痕实验检测宫颈癌 Hela 细胞的侵袭能力和转移能力。**结果** 加入虫草素后宫颈癌 Hela 细胞生长受到显著的抑制,且高浓度的虫草素抑制作用更明显 ($P<0.05$)。宫颈癌 Hela 细胞中 miR-135b-5p 的表达水平为 (1.97 ± 0.07) ,显著高于人永生表皮细胞 HacaT 细胞中 miR-135b-5p 的表达水平 (1.01 ± 0.03) ,组间比较差异具有统计学意义 ($t=28.187, P=0.000$)。加入虫草素后,宫颈癌 Hela 细胞侵袭率和转移率及 miR-135b-5p 表达明显降低;且高浓度虫草素处理后,宫颈癌 Hela 细胞侵袭率和转移率更低,组间比较差异均具有统计学意义 ($t=138.614\sim317.100, P<0.05$)。过表达 miR-135b-5p 显著增加宫颈癌 Hela 细胞的侵袭率和转移率 ($t=7.145, t=7.465, P<0.05$),且 Vimentin 表达增加、E-cad 表达降低 ($t=8.223, t=7.473, P<0.05$)。**结论** 虫草素可通过抑制 miR-135b-5p 表达进而抑制 Hela 细胞的侵袭和转移。

【关键词】 虫草素;宫颈癌;Hela 细胞;侵袭;转移;miR-135b-5p

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2023) 06-0068-07

Cordycepin inhibits invasion and metastasis of Hela cervical cancer cells by regulating miR-135b-5p expression

WEI Xingru^{1*}, WANG Cui², PANG Xujiao³, DU Tingting¹

(1. Department of Gynecology, Baoding Maternal and Child Health Hospital, Baoding 071000, China.

2. Department of Gynecology, Dingzhou People's Hospital, Dingzhou 073000. 3. Department of Gynecology, Hebei Seventh People's Hospital, Dingzhou 073000)

【Abstract】 Objective To study the effect of cordycepin on invasion and metastasis of Hela cervical cancer cells by regulating miR-135b-5p expression and its regulatory mechanism. **Methods** Hela cells were treated with 50 and 100

【基金项目】河北省保定市科技计划项目(2041ZF276)。

【作者简介】魏杏茹(1978—),女,副主任医师,研究方向:妇科肿瘤。E-mail:weixr_1978@163.com

$\mu\text{mol/L}$ cordycepin, and Hela cell growth was measured by MTT assays. Transwell assays were used to assess Hela cell invasion, a scratch assay was used to assess the metastasis ability of Hela cells, and Real-time PCR was used to measure the miR-135-5p expression level in human immortalized epidermal cell line HacaT and Hela cells, and the effect of various cordycepin concentrations on miR-135-5p expression level. miR-135b-5p mimic was transfected into Hela cells, and the invasion and metastasis of Hela cells were assessed by Transwell and scratch assays. **Results** After cordycepin treatment, Hela cell growth was significantly inhibited, and the inhibitory effect of the high concentration cordycepin was more obvious ($P<0.05$). The miR-135b-5p expression level in Hela cells was (1.97 ± 0.07), which was significantly higher than that in HacaT cells (1.01 ± 0.03), and the difference between groups was statistically significant ($t=28.187$, $P=0.000$). After cordycepin treatment, the invasion and metastasis rates of Hela cells and miR-135b-5p expression were decreased significantly. After treatment with a high cordycepin concentration, the invasion and metastasis rates of Hela cells were lower, and the differences between groups were statistically significant ($t=138.614\sim317.100$, $P<0.05$). Overexpression of miR-135b-5p significantly increased the invasion and metastasis rates of Hela cells ($t=7.145$, 7.465 , $P<0.05$), and vimentin expression was increased and E-cad expression was decreased ($t=8.223$, 7.473 , $P<0.05$). **Conclusions** Cordycepin inhibits the invasion and metastasis of Hela cells by inhibiting miR-135b-5p expression.

【**Keywords**】 cordycepin; Cervical cancer; Hela cells; invasion; transfer; miR-135b-5p

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

宫颈癌是常见的生殖系统恶性肿瘤,是女性癌症死亡的重要原因^[1-2]。早期宫颈癌可以进行手术切除,但是晚期宫颈癌的标准治疗主要是放疗化疗,但是长期使用容易产生耐药性^[3-4]。因此寻找高效的抗宫颈癌药物非常重要。冬虫夏草是冬虫夏草菌子实体与其寄主蝠蛾幼虫的僵虫菌核构成的复合体,生长于高寒地带,其主要活性成分是虫草素,具有调节免疫系统、抗菌、抗炎、清除自由基等多种功效;虫草素可以通过激活 caspase 介导的细胞凋亡途径、调节 ROS 的表达水平等机制来诱导癌细胞凋亡,同时诱导细胞周期阻滞、抑制癌细胞的转移、调控抑癌基因 p53 的表达水平来抑制癌细胞的增殖^[5-6]。但是虫草素对人宫颈癌侵袭和转移作用以及生物学机制尚需认证及探索。miR-135b 位于 1 号染色体上,有 miR-135b-5p 和 miR-135b-3p 两种剪切成熟体,研究显示 miR-135b-5p 在食管鳞癌中能够通过抑制 smad2/3 的磷酸化参与 TGF- β 信号通路的调节,抑制食管鳞癌的迁移与侵袭;且 miR-135b-5p 在宫颈癌细胞系中表达水平上调,miR-135b-5p 表达与宫颈癌细胞的增殖存在相关性^[7-9],因此本研究将进一步研究虫草素在宫颈癌 Hela 细胞侵袭、转移中的作用,其对 miR-135b-5p 表达影响,以期寻找更有效的抗宫颈癌药物奠定基础。

1 材料和方法

1.1 细胞

宫颈癌 Hela 细胞和人永生表皮细胞 HacaT 均由中国科学院细胞库提供。

1.2 主要试剂与仪器

胎牛血清、RPMI 1640 培养基(美国 Gibco);虫草素(Sigma,纯度 $\geq 99\%$)。CO₂ 培养箱(ThermoFisher Scientific);酶标仪(RT-6100, Rayto);荧光显微镜(BX43, Olympus);蛋白成像系统(ChemiDoc XRS, BIO-RAD)。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养和分组

常规复苏细胞并进行传代。

实验分组:虫草素 I 组(虫草素浓度 $50 \mu\text{mol/L}$)、虫草素 II 组(虫草素浓度 $100 \mu\text{mol/L}$)和空白对照组(虫草素浓度 $0 \mu\text{mol/L}$),设 5 个复孔。

1.3.2 MTT 测定细胞的生长情况

MTT 测定细胞的生长的具体操作参照文献^[10]进行,首先测定 IC₅₀ 值:设定虫草素浓度为 0、20、30、40、50、60、70、80 $\mu\text{mol/L}$,其他操作参照文献^[10]进行。

根据 IC₅₀ 结果,采用浓度为 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的虫草素处理细胞,并设空白对照组,测定虫草素对细胞生长的影响。各组中加入的样品:空白孔中加入 10 μL 培养液,其余孔中分别加入 50、100 $\mu\text{mol/L}$ 的虫草素。

1.3.3 PCR 法测量 miR-135-5p 表达

培养 48 h 时,从细胞培养箱中取出细胞,PBS 清洗两遍,每孔中加入 1 mL 细胞裂解液 TRIzol,提取总的 RNA,并采用微量分光光度计检测 RNA 的浓度和纯度,逆转录合成 cDNA,然后进行扩增。引物由上海生工生物工程股份有限公司设计并合成。

反应体系:SYBR® Premix Ex Taq TM II 5 μ L,上游、下游引物各 0.25 μ L,ROX 0.2 μ L,cDNA 2.5 μ L,总体积 10 μ L。扩增条件:95℃预变性 30 s,95℃变性 30 s,57℃退火 10 s,72℃延伸 15 s,40 个循环。GAPDH 作为内参,GAPDH 引物序列为上游:5'-GACAGTCAGCCGCATCTTCT-3' 和下游:5'-AAATGAGCCCCAGCCTTCTC-3',miR-135-5p 引物序列为上游:5'-TGCGATATGGCTTTTCATTCCTA-3' 和下游:5'-CGCAGGGTCCGAGGTATTC-3'。按 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的方法计算目的基因相对表达量。

宫颈癌 Hela 细胞培养后,分别加入含 50、100 μ mol/L 的虫草素的培养液,并设一组空白对照组,培养过夜,然后采用 Real-time PCR 法测定宫颈癌 Hela 细胞中 miR-135-5p 的表达水平。

1.3.4 Transwell 测定细胞的侵袭能力

Transwell 测定细胞的侵袭能力的研究参照文献进行操作^[10],小室下层加入含有血清的含 50、100 μ mol/L 的虫草素的培养液,并设一组空白对照组,上层小室中加入不含血清的培养液。转染细胞的侵袭情况采用 miR-135b-5p mimic 和 miR mimic NC 转染后的细胞,具体操作方法与空白对照组相同。

1.3.5 划痕实验检测 Hela 细胞的转移能力

将含 50、100 μ mol/L 的虫草素及空白对照组的宫颈癌细胞 Hela 细胞消化铺满单层后^[10],使用小号枪头垂直划痕,然后加入不含血清的培养基,于细胞培养箱中培养 48 h,然后用显微镜拍照,用 Image J 软件进行分析,细胞迁移率=(0 h 细胞划痕宽度-48 h 细胞划痕宽度)/0 h 细胞划痕宽度 $\times$ 100%。转染细胞的转移情况采用 miR-135b-5p mimic 和 miR mimic NC 转染后的细胞,操作与空白对照组相同。

1.3.6 miR-135b-5p mimic 和 miR mimic NC 的转染

用 PBS 将宫颈癌 Hela 细胞清洗两遍,加入 2 mL 完全培养基,在超净台内,取数个 1.5 mL EP 管,分别加入 200 μ L 基础培养基,然后分别加入 5 μ L miR-135b-5p mimic 和 miR mimic NC,静置 5 min,然后分别加入 5 μ L Tubofect Transfection Reagent 转染制剂,混匀后静置 25 min。然后加入至 6 孔板中,于细胞培养箱中继续培养。48 h 后观察细胞的状态,并采用 Transwell 技术和划痕实验检测宫颈癌 Hela 细胞的侵袭能力和转移能力。

1.3.7 过表达 miR-135b-5p 对虫草素处理 Hela 细胞的侵袭、转移影响

参照方法部分 1.3.3 和 1.3.4,首先用浓度为 50、100 μ mol/L 的虫草素处理宫颈癌细胞 Hela 细胞,然后参照方法部分 1.3.6 转染 miR-135b-5p mimic 使 miR-135b-5p 过表达,48 h 后观察细胞的状态,并采用 Transwell 技术和划痕实验检测宫颈癌 Hela 细胞的侵袭能力和转移能力。

1.3.8 Western blot 检测 Vimentin 和 E-cad 蛋白表达

细胞培养 48 h 后,取出并用 PBS 清洗后,提取总蛋白,然后加入适量 $5\times$ 蛋白上样缓冲液,变性 5 min。然后进行电泳、切胶、转膜,封闭 2 h 后,加入一抗,4℃孵育过夜,PVDF 膜用 TBST 漂洗 5 次,然后加入二抗,室温孵育 1 h,用 TBST 洗膜。ECL 显色,凝胶成像系统拍照并分析灰度值,计算 EMT 标志物波形蛋白(Vimentin)和 E-钙黏蛋白(E-cad)蛋白相对表达量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件对数据进行分析处理。所有数据采用平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,计量资料多组间比较采用 F 检验,组间两两对比差异分析采用 LSD- t 检验。结果以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 虫草素对宫颈癌 Hela 细胞生长的影响

通过加入不同浓度的虫草素对细胞处理 48 h 之后,计算得到宫颈癌 Hela 细胞的 IC_{50} 为 50 μ mol/L,结果见图 1A。因此选择 50 μ mol/L 和高浓度 100 μ mol/L 进行后续实验研究。

虫草素 I 组和虫草素 II 组宫颈癌 Hela 细胞 OD 值均小于空白对照组,且高浓度的虫草素抑制作用更明显($P<0.05$),结果见图 1B。

2.2 人永生表皮细胞 HacaT 和宫颈癌 Hela 细胞中 miR-135b-5p 的表达差异

宫颈癌 Hela 细胞中 miR-135b-5p 的表达水平为 1.97 ± 0.07 ,显著高于人永生表皮细胞 HacaT 细胞中 miR-135b-5p 的表达水平 1.01 ± 0.03 ,组间比较差异具有统计学意义($t=28.187,P=0.000$)。

2.3 虫草素对宫颈癌 Hela 细胞侵袭和转移及 miR-135b-5p 表达的影响

加入虫草素后,宫颈癌 Hela 细胞侵袭率和转移

率及 miR-135b-5p 表达明显降低;且高浓度虫草素处理后,宫颈癌 Hela 细胞侵袭率和转移率更低,组间比较差异均具有统计学意义 ($t = 138.614 \sim 317.100, P < 0.05$),见表 1、图 2。

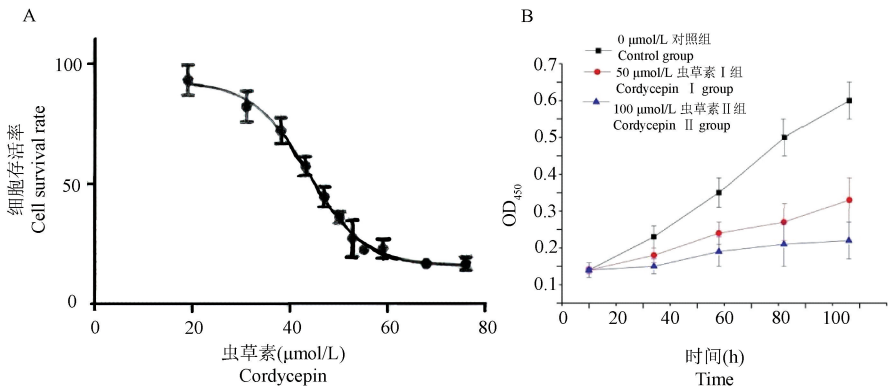
2.4 过表达 miR-135b-5p 对 Hela 细胞的侵袭、转移及蛋白表达的影响

miR-135b-5p 过表达对宫颈癌 Hela 细胞的侵袭率和转移率有所增加 ($t = 7.145, t = 7.465, P < 0.05$),且造成 Vimentin 表达增加、E-cad 表达降低

($t = 8.223, t = 7.473, P < 0.05$)。Western blot 结果显示,miR-135b-5p 过表达组与 NC 组相比, Vimentin 蛋白表达显著增加 ($t = 5.284, P < 0.05$);E-cad 表达显著降低 ($t = 10.284, P < 0.05$),见表 2、图 3。

2.5 过表达 miR-135b-5p 对虫草素处理 Hela 细胞的侵袭、转移影响

miR-135b-5p 处理后经虫草素处理 Hela 细胞的侵袭、转移显著高于 miR-135b-5p 处理前 ($P < 0.05$)。(表 3)



注:A;不同浓度虫草素对宫颈癌 Hela 细胞生存率的影响;B;各组别宫颈癌 Hela 细胞干预后 OD₄₅₀ 值。

图 1 虫草素对宫颈癌 Hela 细胞生存率以及干预后 OD₄₅₀ 值的影响

Note. A, Effect of different concentrations of cordycepin on the survival rate of cervical cancer Hela cells. B, OD₄₅₀ value of Hela cells of cervical cancer in each group after intervention.

Figure 1 Effects of cordycepin on survival rate of cervical cancer Hela cells and OD₄₅₀ after intervention

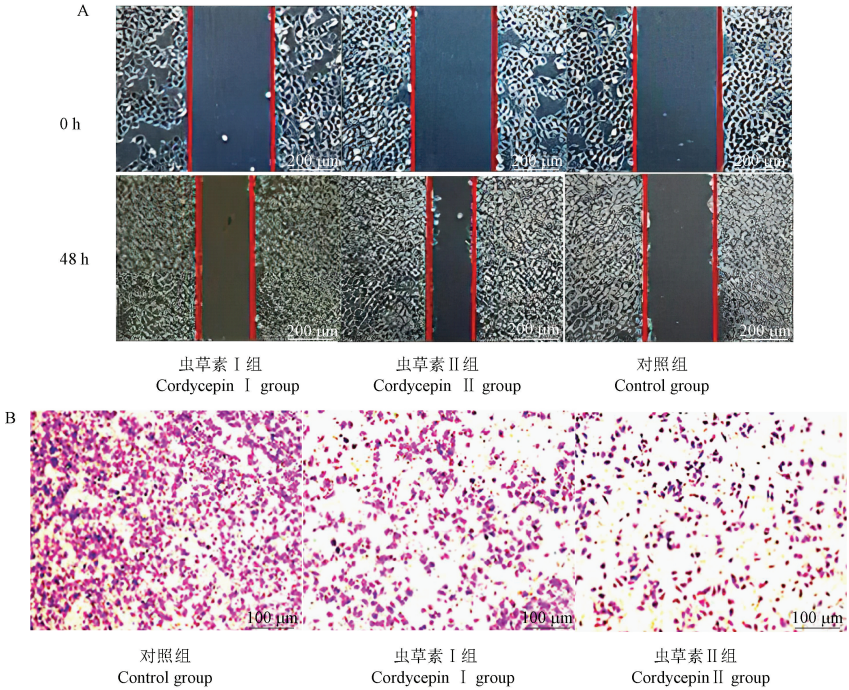
表 1 虫草素对宫颈癌 Hela 细胞侵袭、转移及 miR-135b-5p 表达的影响

Table 1	Effects of cordycepin on invasion, metastasis and expression of mir-135b-5p in Hela cells of cervical carcinoma				
项目 Objective	空白对照 Control group	虫草素 I 组 Cordycepin I group	虫草素 II 组 Cordycepin II group	F	P
宫颈癌 Hela 细胞侵袭率 (%) Hela cell invasion rate of cervical cancer	85.63±4.22	68.23±3.58 [*]	49.02±2.38 [#]	138.614	<0.001
宫颈癌 Hela 细胞转移率 (%) Hela cell metastasis rate of cervical cancer	60.00±5.42	45.28±4.07 [*]	19.87±2.39 [#]	222.511	<0.001
miR-135b-5p 相对表达量 Relative expression of miR-135b-5p	1.99±0.05	1.68±0.04 [*]	1.34±0.03 [#]	10.328	<0.001

注:与空白对照组比较, $^* P < 0.05$;与虫草素 I 组比较, $^{\#} P < 0.05$ 。
Note. Compared with control group, $^* P < 0.05$. Compared with cordycepin I group, $^{\#} P < 0.05$.

表 2 过表达 miR-135b-5p 对 Hela 细胞侵袭、转移和蛋白表达影响

Table 2	Effects of overexpression of miR-135b-5p on invasion, metastasis and protein expression of Hela cells			
组别 Groups	空白对照 Control group	miR-135b-5p	t	P
Hela 细胞转移率 (%) Hela cell metastasis rate	26.23±8.39	64.45±5.34	7.145	<0.001
Hela 细胞侵袭率 (%) Hela cell invasion rate	33.58±7.59	113.49±4.86	7.465	<0.001
E-cad	0.97±0.04	0.57±0.02	7.473	<0.001
Vimentin	0.87±0.04	1.11±0.05	8.223	<0.001



注:A:虫草素对宫颈癌 Hela 细胞侵袭的影响(划痕实验);B:草素对宫颈癌 Hela 细胞转移的影响。

图 2 虫草素对宫颈癌 Hela 细胞侵袭以及细胞转移的影响

Note. A, Effect of cordycepin on the invasion of cervical cancer Hela cells(scratch test). B, Effect of cordycepin on metastasis of cervical cancer Hela cells.

Figure 2 Effect of cordycepin on the invasion and cordycepin on metastasis of cervical cancer Hela cells

表 3 过表达 miR-135b-5p 对虫草素处理 Hela 细胞的侵袭、转移影响

项目 Objective	miR-135b-5p 处理前 Before miR-135b-5p treatment		miR-135b-5p 处理后 After miR-135b-5p treatment	
	虫草素 I 组 Cordycepin I group	虫草素 II 组 Cordycepin II group	虫草素 I 组 Cordycepin I group	虫草素 II 组 Cordycepin II group
宫颈癌 Hela 细胞侵袭率(%) Hela cell invasion rate	66. 65±3. 34	49. 04±2. 33	76. 56±5. 01 *	65. 39±4. 02 *
宫颈癌 Hela 细胞转移率(%) Hela cell metastasis rate	44. 87±4. 54	19. 90±2. 41	53. 47±4. 89 *	48. 48±3. 89 *

注:与同组处理前比较,**P*<0. 05。

Note. Compared with the same group before treatment, **P*<0. 05.

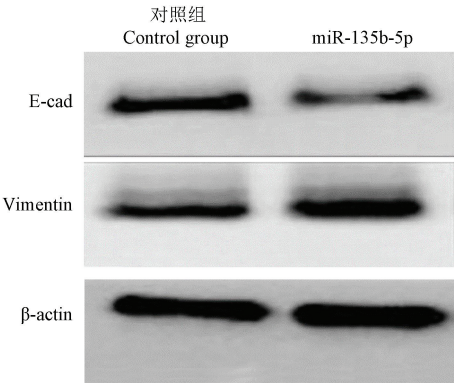


图 3 过表达 miR-135b-5p 对宫颈癌 Hela 细胞中 Vimentin 和 E-cad 的影响

Figure 3 Effects of overexpression of miR-135b-5p on Vimentin and E-cad in Hela cells

3 讨论

本研究使用不同浓度的虫草素处理宫颈癌 Hela 细胞,对不同组细胞的增殖率进行检测,结果显示,加入虫草素后宫颈癌 Hela 细胞生长受到显著的抑制,且高浓度的虫草素抑制作用更明显。细胞过度增殖会促进肿瘤的增长、远处转移和局部侵袭是宫颈癌临床治疗中的主要限制因素,降低肿瘤细胞的侵袭和转移率可以提高临床治疗效果^[11]。本研究结果显示虫草素可以显著降低宫颈癌 Hela 细胞的侵袭率和转移率,且高浓度的虫草素对宫颈癌 Hela 细胞侵袭和转移的抑制效果更佳。虫草素是冬虫夏草的主要活性成分,具有多种功效,如抗肿

瘤、抗菌、抗自由基、消炎及调节机体免疫系统的作用^[12]。虫草素对多种肿瘤细胞如肝癌细胞等细胞的侵袭和转移具有一定的抑制作用^[13]。有研究已经证实载虫草素的脂质体可以增加肝癌细胞核的破裂,促进细胞凋亡^[14-15]。另有研究证实虫草素还可以加速宫颈癌 Hela 细胞的凋亡,降低肿瘤细胞增殖率^[16]。结合已有研究结果及本研究结果证实,虫草素可以抑制肿瘤细胞的增殖,进而抑制肿瘤细胞的侵袭和转移,起到抗肿瘤的效果。

前期文献报道,相对于癌旁组织,宫颈癌组织中多种 miRNAs 表达水平异常,miR-135b-5p 是其中的 miRNAs 之一,对肿瘤细胞的干细胞化具有促进作用,因此其表达水平可以作为早期诊断的指标之一^[17]。miR-135b-5p 在多种组织中都有一定水平的表达,且在多种癌症如胃癌等实体肿瘤发生发展过程中表达水平增加^[18]。miR-135b-5p 是一种促癌基因,对肿瘤细胞的生长有一定促进作用,抑制 miR-135b-5p 表达可以抑制鼻咽癌及结直肠癌等癌细胞的增殖、分化和侵袭能力^[19]。本研究结果显示,miR-135b-5p 在宫颈癌 Hela 细胞中的表达水平显著高于人永生表皮细胞 Hacat 细胞中的表达水平。虫草素处理后可以显著降低 miR-135b-5p mRNA 的相对表达水平,且呈现浓度依赖性。提示虫草素可以显著抑制 miR-135b-5p 的表达,且浓度越高抑制作用越强。本研究进一步转染 miR-135b-5p mimic 和 miR mimic NC,结果显示过表达 miR-135b-5p 可以显著增加宫颈癌 Hela 细胞的侵袭率和转移率;miR-135b-5p 高表达的 Hela 细胞经虫草素处理后,其侵袭率、转移率显著高于 miR-135b-5p 低表达的 Hela 细胞。提示宫颈癌 Hela 细胞的侵袭和转移可能与 miR-135b-5p 过表达有关。以上研究结果证实 miR-135b-5p 过表达会促进肿瘤的发展。

本文进一步研究了过表达 miR-135b-5p 对宫颈癌 Hela 细胞中 EMT 标志物表达水平的影响,结果显示过表达 miR-135b-5p 宫颈癌细胞中 Vimentin 蛋白表达水平增加,E-cad 蛋白表达水平降低,提示过表达 miR-135b-5p 对 EMT 进程具有促进作用。本研究结果提示虫草素对 miR-135b-5p 表达水平具有抑制作用。因此证实虫草素可以通过抑制 miR-135b-5p 的表达进而抑制宫颈癌 Hela 细胞侵袭和转移。虫草素抑制肿瘤发展具有多种作用机制,文献报道显示虫草素可以通过靶向调控 *Bcl-2*、*p53* 等基因表达从而诱导肝癌细胞凋亡,抑制其转移和侵

袭^[20]。本研究结果进一步证实虫草素还可以通过抑制 miR-135b-5p 的表达对宫颈癌 Hela 细胞侵袭和转移起到抑制作用,抑制 EMT 进程,但是虫草素抑制 miR-135b-5p 表达的机制尚不清楚,尚需要进一步的研究。

综上,虫草素通过抑制 miR-135b-5p 的表达,进而抑制 Hela 细胞的侵袭和转移,为进一步揭示虫草素抑制宫颈癌 Hela 细胞的侵袭和转移的分子机制奠定了实验基础,也为进一步寻找抗宫颈癌的药物提供了新的方向。但是本研究中未直接证实虫草素通过抑制 miR-135b-5p 的表达进而抑制宫颈癌 Hela 细胞的侵袭和转移,需要进一步的实验进行证实。

参考文献:

- [1] 徐晓峰,王纯,卢国丰,等. 宫颈癌患者 Kruppel 样因子 6, p21 蛋白表达水平与病理特征及化疗敏感性的相关性分析 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(6): 12-15.
- [2] Yang W, Kim Y, Liu Y, et al. SU-E-T-547: rotating shield brachytherapy (RSBT) for cervical cancer [J]. Med Phys, 2012, 39(6Part18): 3831.
- [3] Shi TY, Zhu ML, He J, et al. Polymorphisms of the Interleukin 6 gene contribute to cervical cancer susceptibility in Eastern Chinese women [J]. Hum Genet, 2013, 132(3): 301-312.
- [4] Nair N, Zhang L, Kuan-Celalier A, et al. Revised FIGO staging shows dramatic survival differences in cervical cancer patients with positive lymph nodes in Louisiana [J]. Journal of Clinical Oncology, 2019, 37(15): e17010.
- [5] Wongsu B, Raethong N, Chumnanpuen P, et al. Alternative metabolic routes in channeling xylose to cordycepin production of *Cordyceps militaris* identified by comparative transcriptome analysis [J]. Genomics, 2020, 112(1): 629-636.
- [6] Xu JC, Zhang YQ, Chen T, et al. Tu152-cordycepin induces G2/M phase arrest and apoptosis through the Mapk/Erk pathways in esophageal cancer cells [J]. Gastroenterology, 2019, 156(6): S-964-S-965.
- [7] Wang Z, Chen Z, Jiang Z, et al. Cordycepin prevents radiation ulcer by inhibiting cell senescence via NRF₂ and AMPK in rodents [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 2538.
- [8] Li R, Hu J, Cao S. The clinical significance of miR-135b-5p and its role in the proliferation and apoptosis of *Hippocampus* neurons in children with temporal lobe epilepsy [J]. Dev Neurosci, 2020, 42(5/6): 187-194.
- [9] Li L, Wang A, Cai M, et al. Identification of stool miR-135b-5p as a non-invasive diagnostic biomarker in later tumor stage of colorectal cancer [J]. Life Sci, 2020, 260: 118417.
- [10] 方健,王辰男,孟庆刚. 猫眼草提取物通过调控 miR-501-3p/KPNA4 轴影响肝癌细胞增殖、迁移和侵袭的实验研究 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2020, 29(11): 1291-1296, 1300.

[11] 曼热帕·吐尔逊, 马蓉, 祖菲娅·艾力. 干细胞转录因子 Oct4 及 Sox2 对宫颈癌细胞成瘤、迁移和浸润能力的影响 [J]. 现代检验医学杂志, 2022, 37(1): 145-148.

[12] 张婕, 汪露, 韩世愈. 沉默 FOXC1 对宫颈癌 HeLa 细胞侵袭和转移能力的影响 [J]. 中国生育健康杂志, 2021, 32(6): 540-545, 602.

[13] 杨刚, 张永红, 郑茂华. 虫草素对胶质瘤细胞的增殖及侵袭作用的影响及机制研究 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(10): 1208-1212.

[14] 陈汝君, 盛婵, 孙克, 等. 过表达 PLAC1 基因对子宫颈癌 HeLa 细胞侵袭和转移能力影响 [J]. 中华肿瘤防治杂志, 2021, 28(11): 811-818.

[15] Marcelo A, Brito F, Carmo-Silva S, et al. Cordycepin activates autophagy through AMPK phosphorylation to reduce abnormalities in Machado-Joseph disease models [J]. Hum Mol Genet, 2019, 28(1): 51-63.

[16] Hulpia F, Mabilille D, Campagnaro GD, et al. Combining tubercidin and cordycepin scaffolds results in highly active candidates to treat late-stage sleeping sickness [J]. Nat Commun, 2019, 10(1): 5564.

[17] 李永红, 刘文明, 李伟, 等. miR-135b-5p 靶向 CMTM3 调节胃癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力 [J]. 现代肿瘤医学, 2020, 28(19): 3305-3310.

[18] 刘青, 邓慧敏, 周林涛, 等. 卵巢癌患者组织中 miR-135b 的表达及临床意义 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(2): 32-34.

[19] 王亚楠, 丁建华, 许艳平, 等. 微小 RNA-34 对小儿恶性胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(9): 1659-1662.

[20] 崔琳琳, 韩丹, 王莹, 等. 虫草素药理作用研究进展 [J]. 食品工业科技, 2019, 40(9): 335-338, 345.

[收稿日期] 2022-07-15

(上接第 67 页)

[3] Joyce MR, Holton KF. Neurotoxicity in Gulf War Illness and the potential role of glutamate [J]. Neurotoxicology, 2020, 80: 60-70.

[4] Leigh RS, Ruskoaho HJ, Kaynak BL. Cholecystokinin peptide signaling is regulated by a TBX5-MEF₂ axis in the heart [J]. Peptides, 2021, 136: 170459.

[5] Pirmík Z, Korínková L, Osacká J, et al. Cholecystokinin system is involved in the anorexigenic effect of peripherally applied palmitoylated prolactin-releasing peptide in fasted mice [J]. Physiol Res, 2021, 70(4): 579-590.

[6] Funakoshi A, Tatsuno K, Shimauchi T, et al. Cholecystokinin downregulates psoriatic inflammation by its possible self-regulatory effect on epidermal keratinocytes [J]. J Immunol, 2019, 202(9): 2609-2615.

[7] Kumar M, Kumar A, Sindhu RK, et al. Arbutin attenuates monosodium L-glutamate induced neurotoxicity and cognitive dysfunction in rats [J]. Neurochem Int, 2021, 151: 105217.

[8] Song J, Yang X, Zhang M, et al. Glutamate metabolism in mitochondria is closely related to Alzheimer's disease [J]. J Alzheimers Dis, 2021, 84(2): 557-578.

[9] Taguchi K, Izumi Y, Takada-Takatori Y, et al. Protective effect of 2', 3'-dihydroxy-4', 6'-dimethoxychalcone on glutamate-induced neurotoxicity in primary cortical cultures [J]. Biol Pharm Bull, 2020, 43(1): 184-187.

[10] Ge L, Liu S, Rubin L, et al. Research progress on neuroprotection of insulin-like growth factor-1 towards glutamate-induced neurotoxicity [J]. Cells, 2022, 11(4): 666.

[11] Wang C, Zhang C, Wu D, et al. Cholecystokinin octapeptide reduces myocardial fibrosis and improves cardiac remodeling in post myocardial infarction rats [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2020, 125: 105793.

[12] Sachuriga, Iinuma N, Shibata H, et al. Intracerebroventricular administration of sulphated cholecystokinin octapeptide induces anxiety-like behaviour in goldfish [J]. J Neuroendocrinol, 2019, 31(1): e12667.

[13] 王雅楠. 八肽胆囊收缩素在 MPTP 诱导的 PD 小鼠模型中的神经保护作用 [D]. 太原: 山西医科大学, 2021.

[14] Miao Y, Zheng Y, Geng Y, et al. The role of GLS1-mediated glutaminolysis/2-HG/H3K4me3 and GSH/ROS signals in Th17 responses counteracted by PPAR γ agonists [J]. Theranostics, 2021, 11(9): 4531-4548.

[15] Zhang C, Xie S, Yuan S, et al. Metabotropic glutamate receptor 8 is regulated by miR-33a-5p and functions as an oncogene in breast cancer [J]. J Oncol, 2021, 2021: 8002087.

[16] Li H, Zhu Z, Liu J, et al. microRNA-137 regulates hypoxia-induced retinal ganglion cell apoptosis through Notch1 [J]. Int J Mol Med, 2018, 41(3): 1774-1782.

[收稿日期] 2022-07-29