

血浆外泌体 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达水平对乳腺癌早期诊断的价值研究

刘 伶¹, 邹世芳¹, 巩 亮¹, 齐 晟¹, 丁 辉¹, 黄 明²

(1. 江油市人民医院普外科, 四川江油 621799; 2 四川省医学科学院·四川省人民医院, 成都 610072)

摘要: 目的 分析血浆外泌体长链非编码 RNAs (long non-coding RNAs, LncRNAs) 膀胱癌相关转录因子 1 (bladder cancer associated transcript-1, BLACAT1) 和 E 钙黏蛋白 (E-cadherin) mRNA 在乳腺癌早期诊断中的价值。方法 对江油市人民医院自 2019 年 1 月~2020 年 9 月确诊的 96 例乳腺癌患者血液样本进行分析, 并以 75 例在该院进行体检的健康女性血液样本作为对照组。qRT-PCR 检测血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达水平, 分析二者表达水平分别与患者临床病理特征之间的关系, Pearson 法分析乳腺癌患者血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达的相关性, 受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 对乳腺癌患者诊断的敏感度和特异度。结果 与健康对照者相比, 乳腺癌患者血浆外泌体 LncRNA BLACAT1 表达水平显著升高 (2.02 ± 0.57 vs 0.99 ± 0.03), 差异有统计学意义 ($t=15.622, P=0.000$), 而 E-cadherin mRNA 表达水平显著降低 (0.65 ± 0.18 vs 1.00 ± 0.04), 差异有统计学意义 ($t=16.514, P=0.000$)。血浆外泌体 LncRNA BLACAT1 表达水平与乳腺癌患者 TNM 分期、淋巴结转移、分化程度有关 ($\chi^2=5.046 \sim 12.879$, 均 $P < 0.05$), 而与患者年龄、肿瘤大小、雌激素受体 (ER) 和孕激素受体 (PR) 无关 ($\chi^2=0.107 \sim 2.959$, 均 $P > 0.05$); E-cadherin mRNA 表达水平与乳腺癌患者 TNM 分期、ER 和 PR、分化程度有关 ($\chi^2=6.485 \sim 19.513$, 均 $P > 0.05$), 而与患者年龄、肿瘤大小和淋巴结转移无关 ($\chi^2=0.142 \sim 1.289$, 均 $P > 0.05$)。乳腺癌患者血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 与 E-cadherin mRNA 水平呈显著性负相关 ($r=-0.274, P=0.007$)。血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 单独诊断时的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.839 和 0.808, 敏感度分别为 69.80% 和 60.00%, 特异度分别为 89.70% 和 88.50%, 截断值分别为 2.08 (95% CI: 0.759 ~ 0.919, $P < 0.05$) 和 0.48 (95% CI: 0.719 ~ 0.897, $P < 0.05$); 联合诊断的 AUC 为 0.941 (95% CI: 0.896 ~ 0.985), 敏感度和特异度分别为 92.30% 和 85.60%。结论 血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 联合检测可显著提高乳腺癌患者诊断的敏感度, 对早期乳腺癌的诊断和后续治疗具有重要意义, 二者有望成为未来乳腺癌诊断的有效指标。

关键词: 乳腺癌; 长链非编码 RNAs; 膀胱癌相关转录因子 1; E-钙黏蛋白 mRNA

中图分类号: R737.9; R730.43 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2022) 05-070-06

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2022.05.015

Value of Plasma Exosomes LncRNA BLACAT1 and Ecadherin mRNA Expression in Early Diagnosis of Breast Cancer

LIU Ling¹, ZOU Shi-fang¹, GONG Liang¹, QI Sheng¹, DING Hui¹, HUANG Ming²

(1. Department of General Surgery, Jiangyou People's Hospital, Sichuan Jiangyou 621799, China; 2. Sichuan Academy of Medical Sciences · Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

Abstract: **Objective** To analyze the value of long non-coding RNAs (LncRNAs) bladder cancer associated transcript-1 (BLACAT1) and E-cadherin in plasma exosomes in the early diagnosis of breast cancer. **Methods** The blood samples of 96 breast cancer patients diagnosed in Jiangyou People's Hospital from January 2019 to September 2020 were analyzed, and blood samples of 75 healthy women who underwent physical examination in the hospital were used as the control group. The expression levels of LncRNA BLACAT1 and E-cadherin mRNA in plasma exosomes were detected with qRT-PCR, the relationship between the expression levels of the two and the clinical pathological characteristics of the patients was analyzed, the correlation between the expression of LncRNA BLACAT1 and E-cadherin mRNA in plasma exosomes of breast cancer patients was analyzed with Pearson method, and the sensitivity and specificity of LncRNA BLACAT1 and E-cadherin mRNA in the diagnosis of breast cancer patients were analyzed with the ROC curve. **Results** Compared with healthy controls, the expression

基金项目: 四川省卫生健康委员会项目 (19PJ136)。

作者简介: 刘伶 (1974-), 女, 大学本科, 主治医师, 研究方向: 基本外科相关的临床与基础研究, E-mail: 11967@yeah.net。

通讯作者: 丁辉 (1962-), 男, 大学本科, 主任医师, 研究方向: 基本外科相关的临床与基础研究, E-mail: dinghui1962@126.com。

level of plasma exosomes LncRNA BLACAT1 in breast cancer patients was significantly increased (2.02 ± 0.57 vs 0.99 ± 0.03), the difference was statistically significant ($t=15.622$, $P=0.000$), while the expression level of E-cadherin mRNA was significantly decreased (0.65 ± 0.18 vs 1.00 ± 0.04), and the difference was statistically significant ($t=16.514$, $P=0.000$). The expression level of plasma exosomal LncRNA BLACAT1 was related to the TNM stage, lymph node metastasis and differentiation degree of breast cancer patients ($\chi^2=5.046 \sim 12.879$, all $P < 0.05$), and was related to the patient's age, tumor size, estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) ($\chi^2=0.107 \sim 2.959$, all $P > 0.05$). The expression level of E-cadherin mRNA was related to the TNM stage, ER, PR and degree of differentiation in breast cancer patients ($\chi^2=6.485 \sim 19.513$, all $P < 0.05$), but was not related to the patient's age, tumor size, and lymph node metastasis ($\chi^2=0.142 \sim 1.289$, all $P > 0.05$). The levels of LncRNA BLACAT1 and E-cadherin mRNA in plasma exosomes of breast cancer patients were significantly negatively correlated ($r=-0.274$, $P=0.007$). The area under the curve (AUC) of LncRNA BLACAT1 and E-cadherin mRNA in plasma exosomes diagnosed separately was 0.839 and 0.808, respectively. The sensitivity was 69.80% and 60.00%, respectively. The specificity was 89.70% and 88.50%, respectively. And the cut-off value was 2.08 (95% CI: 0.759 ~ 0.919, $P < 0.05$), 0.48 (95% CI: 0.719 ~ 0.897, $P < 0.05$), respectively. The AUC of the combined diagnosis was 0.941 (95% CI: 0.896 ~ 0.985), and the sensitivity and the specificity were 92.30% and 85.60%, respectively. **Conclusion** The combined detection of LncRNA BLACAT1 and E-cadherin mRNA in plasma exosomes can significantly improve the diagnostic sensitivity of breast cancer patients, and is of great significance for the diagnosis and subsequent treatment of early breast cancer. Both are expected to become effective indicators for future breast cancer diagnosis.

Keywords: breast cancer; long non-coding RNAs; bladder cancer associated transcript-1; E-cadherin mRNA

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,是世界范围内导致癌症死亡的主要原因之一。然而,早期乳腺癌的5年存活率可达78%~80%,所以,乳腺癌越早被诊断和治疗,患者存活的时间就越长^[1]。随着分子生物学的不断发展,人们对早期诊断的生物标志物也越来越感兴趣,新的生物标志物可以预测疾病的发生,并有助于开发新的治疗靶点。因此,开发更有效的筛查方法和新的治疗靶点对更好地治疗疾病至关重要。近年来,许多研究表明长链非编码RNAs (long non-coding RNAs, LncRNAs) 与乳腺癌的发生发展密切相关^[2]。LncRNAs是真核生物基因组中一类长度超过200bp的转录产物,在正常发育和肿瘤发生过程中发挥重要作用^[3]。研究发现,与邻近非癌组织相比,宫颈鳞状细胞癌组织中LncRNA膀胱癌相关转录因子1 (bladder cancer associated transcript-1, BLACAT1) 表达显著升高^[4]。E-钙黏蛋白 (E-cadherin) 是跨膜糖蛋白家族中的一员,其表达与乳腺癌的组织学表型密切相关,可作为评价乳腺癌的指标^[5]。外泌体携带的多种LncRNA及蛋白质等成分在肿瘤的发展过程中起着重要的作用,其稳定性高,且易于从血浆、乳汁等体液中收集,能更好地反映肿瘤患者LncRNA及蛋白质等指标的表达,已成为判断乳腺癌的新型生物标志物^[6]。但LncRNA BLACAT1和E-cadherin在乳腺癌患者血浆外泌体中的表达尚不清楚,因此,本研究通过检测血浆外泌体中LncRNA BLACAT1和E-cadherin mRNA表达水平,分析二者对乳腺癌早期诊断的价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 本研究的所有样本均取自2019年1月~2020年9月在江油市人民医院就诊的新确诊乳腺癌患者以及年龄和性别相匹配的健康志愿者。我们收集了96例乳腺癌患者的血液样本和75例年龄和性别相匹配的健康对照样本。两组入组对象一般资料差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性,其中乳腺癌组患者的平均年龄为 51.24 ± 18.53 岁。纳入标准:①所有患者均被确诊为原发性乳腺癌;②未接受任何术前放疗或化学疗法;③在收集样品前无其他恶性疾病和伤害影响;健康对照组志愿者的平均年龄为 47.46 ± 20.16 岁。选择的健康志愿者在采血时没有暴露于任何潜在有害的化学物质,也没有任何恶性疾病和任何急性疾病或伤害。该研究得到了江油市人民医院伦理审查委员会的批准,在收集血液之前已获得所有参与者的知情同意。

1.2 仪器与试剂 Exo Quick Exosome Precipitation Solution试剂盒(北京博迈斯科技发展有限公司,货号:EXOQ5A-1/EXOTC10A-1);RNA提取试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号:R1200-100);PrimeScript RT试剂盒(上海百赛生物技术股份有限公司,货号:RR055B);TB Green Premix Ex TaqTM II试剂盒(武汉科昊佳生物技术有限公司,货号:RR820A);透射电子显微镜(上海思为仪器制造有限公司,型号:YTS110);分光光度计(上海在途生物科技有限公司,型号:NanoDrop 2000)。

1.3 方法

1.3.1 血浆外泌体的提取和鉴定:乳腺癌患者和对照组志愿者通过抗凝血管收集术前5 ml外周血,然

后分离血浆。按照 Exo Quick Exosome Precipitation Solution 试剂盒说明书方法提取血浆外泌体。提取方法为：将血浆样本 500 μl 与上述试剂 120 μl 混合均匀，4℃ 孵育 30 min 后离心 15 min，转速 3 000 r/min，将上清液去除，并加入磷酸盐缓冲液 180 μl 重悬，得到的即为血浆外泌体。血浆外泌体的鉴定方法：①使用透射电子显微镜观察外泌体的形态；②使用免疫印迹法检测血浆外泌体相关标志物 TSG101，CD63 的表达。

1.3.2 qRT-PCR 检测 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 水平：利用 RNA 提取试剂盒提取血浆外泌体中总 RNA，分光光度计测定 RNA 的浓度和纯度，并使用 PrimeScript RT 试剂盒反转录成 cDNA。RT 反应条件：42℃ 2 min，37℃ 15 min，85℃ 5 s，4℃ 10 min，然后将 cDNA 存储在 -20℃ 条件下。

使用 TB Green Premix Ex Taq™ II 试剂盒进行 qRT-PCR，反应条件为 95℃ 10 min；95℃ 15 s，60℃ 30 s，45 个循环；72℃ 1 min。以 β -actin 为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 对血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达水平进行相对定量分析。PCR 引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

类别	引物序列 (5'-3')
LncRNA BLACAT1	F: TGACGTCTTACTACACCCATCCT
LncRNA BLACAT1	R: CTGCCACCTATAGGAAATGCG
E-cadherin mRNA	F: TAGGTATTGTCTACTACTCTG
E-cadherin mRNA	R: TATATCACTCTTGCTTCA
β -actin	F: CCTGGCAGCCAGACAAT
β -actin	R: GCTGATCCACATCTGCTGGAA

1.4 统计学分析 采用 SPSS 22.0 软件分析数据，计量资料(均符合正态分布)以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，行独立样本 t 检验；计数资料以 n 表示，行 χ^2 检验。Pearson 法分析乳腺癌患者血浆外泌体 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达的相关性；构建受试者工作特性 (ROC)，并以曲线下面积 (AUC) 评估血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 进行乳腺癌诊断的可行性。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆外泌体的鉴定 见图 1。透射电子显微镜可观察到血浆外泌体呈球形，直径约 90 nm 左右。免疫印迹法结果显示，对照组和乳腺癌组血浆外泌体均表达 CD63 和 TSG101，且乳腺癌组较对照组表达水平高。

2.2 血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达水平的比较 与健康对照组相

比，乳腺癌患者血浆外泌体 LncRNA BLACAT1 表达水平显著升高 (2.02 ± 0.57 vs 0.99 ± 0.03)，E-cadherin mRNA 表达水平显著降低 (0.65 ± 0.18 vs 1.00 ± 0.04)，差异均有统计学意义 ($t=15.622$, 16.514 , 均 $P < 0.05$)。

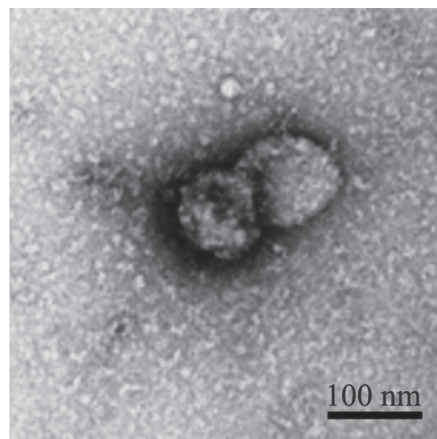


图 1 透射电子显微镜下血浆外泌体的形态

2.3 LncRNA BLACAT1 与 E-cadherin mRNA 相关性分析 根据相关性分析结果显示，LncRNA BLACAT1 与 E-cadherin mRNA 的相关系数 (r) 为 -0.274 ($P=0.007$)，表明乳腺癌患者血浆外泌体的 LncRNA BLACAT1 与 E-cadherin mRNA 水平呈显著性负相关。

2.4 血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达与临床病理特征的相关性研究 见表 2。根据乳腺癌患者体内血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达水平，分别将所有乳腺癌患者分为 LncRNA BLACAT1 高表达组 (LncRNA BLACAT1 表达水平 ≥ 2.02) 和低表达组 (LncRNA BLACAT1 表达水平 < 2.02)，E-cadherin mRNA 高表达组 (E-cadherin mRNA 表达水平 ≥ 0.65) 和低表达组 (E-cadherin mRNA 表达水平 < 0.65)。结果显示，血浆外泌体 LncRNA BLACAT1 的表达水平与乳腺癌患者的 TNM 分期、淋巴结转移和分化程度有关 (均 $P < 0.05$)，而与患者年龄、肿瘤大小、雌激素受体 (ER)、孕激素受体 (PR) 无关 (均 $P > 0.05$)。E-cadherin mRNA 的表达水平均与乳腺癌患者的 TNM 分期、ER、PR 和分化程度有关 (均 $P < 0.05$)，而与患者年龄、肿瘤大小、淋巴结转移无关 (均 $P > 0.05$)。

2.5 血浆外泌体 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 对乳腺癌的诊断价值 见图 2。ROC 曲线分析结果显示，血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 对乳腺癌单独诊断时的 AUC 为 0.839，敏感度和特异度分别为 69.80%，89.70%，截断值为 2.08 (95% CI: 0.759 ~ 0.919, $P < 0.05$)；E-cadherin mRNA

单独诊断时的 AUC 为 0.808, 敏感度和特异度分别为 60.00%, 88.50%, 截断值为 0.48 (95% CI: 0.719 ~ 0.897, $P < 0.05$); 血浆外泌体 LncRNA

BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 联合诊断乳腺癌的 AUC 为 0.941 (95% CI: 0.896 ~ 0.985), 敏感度和特异度分别为 92.30%, 85.60%。

表 2 血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达与临床病理特征的相关性 (n)

类别	n	LncRNA BLACAT1		χ^2	P	E-cadherin mRNA		χ^2	P
		低表达 ($n=35$)	高表达 ($n=61$)			低表达 ($n=52$)	高表达 ($n=44$)		
年龄 (岁)	< 50	46	16	30	0.107	27	19	0.730	0.393
	≥ 50	50	19	31		25	25		
肿瘤大小 (cm)	< 2	54	22	32	0.977	32	22	1.289	0.256
	≥ 2	42	13	29		20	22		
TNM 分期	I-II	60	14	46	11.898	40	20	10.070	0.002
	III	36	21	15		12	24		
ER	+	67	23	44	0.434	42	25	6.485	0.011
	-	29	12	17		10	19		
PR	+	52	23	29	2.959	37	15	11.737	0.001
	-	44	12	32		15	29		
淋巴结转移	是	63	28	35	5.046	35	28	0.142	0.706
	否	33	7	26		17	16		
分化程度	低	70	18	52	12.879	48	22	19.513	0.000
	中、高	26	17	9		4	22		

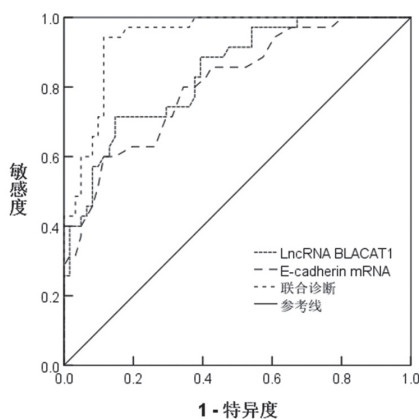


图 2 血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 对乳腺癌诊断价值的 ROC 曲线

3 讨论

随着社会生活的不断发展、生活方式和饮食习惯的改变以及环境的恶化, 乳腺癌已成为女性发病率最高的恶性肿瘤^[7], 严重影响人们的身心健康。相关统计数据显示, 乳腺癌约占女性恶性肿瘤发病率的 15%^[8]。根据 2015 年世界卫生组织的报告, 女性乳腺癌死亡率显著上升, 主要原因是复发和转移以及发病机制不明^[9]。因此, 乳腺癌的早期发现和诊断是提高治疗效果的关键。

大多数乳腺癌患者预后差是由于诊断晚。目

前, 组织、基因和血清标记物被用于乳腺癌的诊断, 但这些标记物在乳腺癌的早期诊断中作用较小^[2]。大量研究发现, 包括 LncRNAs 在内的多种因素和蛋白质参与乳腺癌的发生发展。外泌体是直径 40 ~ 100 nm 的内源性膜小泡, 由各种细胞分泌, 含有多种物质, 包括核酸 (例如 DNA, mRNA, miRNA, LncRNA)、蛋白质 (例如跨膜蛋白和热休克蛋白) 和酶^[10-12]。本研究血浆中提取的外泌体经鉴定发现, 外泌体直径符合要求, 可进行下一步研究。因此, 本研究通过探讨乳腺癌患者血浆外泌体中 LncRNA BLACAT1 和 E-cadherin mRNA 表达水平, 分析其诊断价值, 为临床应用提供理论依据。

LncRNA BLACAT1 是长度为 2 616 bp 的未翻译 RNA 分子, 位于人染色体 1q32.1, 可通过不同的机制调控肿瘤细胞的转移、增殖等过程, 与多种疾病有关联^[13-14]。CHENG 等^[4] 研究报道, 肿瘤组织中 LncRNA BLACAT1 表达可通过下调微小 RNA-424 和微小 RNA-143 促进宫颈鳞状细胞癌的侵袭和转移。WANG 等^[15] 研究发现, 与癌旁正常组织相比, 胃癌组织和细胞中 LncRNA BLACAT1 表达均上调。本研究也得出与既往研究^[15] 相似的结果, 即血浆外泌体 LncRNA BLACAT1 表达升高可能与乳腺癌的发生有关, 同时发现其与乳腺癌

患者的TNM分期、淋巴结转移和分化程度有关。提示LncRNA BLACAT1表达变化可能通过影响肿瘤TNM分期、淋巴结转移和分化程度而在乳腺癌进展中发挥作用。研究显示在非小细胞肺癌中,LncRNA BLACAT1高表达患者的总生存期和无进展生存期均较LncRNA BLACAT1低表达患者短,LncRNA BLACAT1表达升高与非小细胞肺癌患者预后独立相关^[16]。但LncRNA BLACAT1表达是否可作为判断乳腺癌的指标尚有待验证。因此,本研究绘制了诊断乳腺癌的ROC曲线,结果显示血浆外泌体中LncRNA BLACAT1对乳腺癌单独诊断的敏感度和特异度分别为69.80%,89.70%,认为血浆外泌体LncRNA BLACAT1表达可作为潜在的分子标志物用于乳腺癌早期诊断。

E-cadherin是钙黏蛋白家族的成员之一,是一种钙依赖性跨膜糖蛋白,主要表达于上皮细胞。它由染色体16q22.1上的钙黏蛋白-1(Cadherin-1, Cdh1)基因编码,分子量约为120 000^[17]。E-cadherin介导同种异体上皮细胞的黏附,在上皮细胞聚集和黏附以及维持上皮形态结构完整性方面发挥重要作用,是介导上皮细胞黏附的最重要分子^[18]。已有报道称,E-cadherin作为一种肿瘤抑制因子,其表达对肿瘤的进展、侵袭和转移有很强的抑制作用,且它在正常乳腺组织中高表达,在乳腺癌组织中表达下调^[19]。本研究中,与健康对照组相比,乳腺癌患者血浆外泌体的E-cadherin mRNA表达水平明显下调,与TAVAKOLIAN等^[19]研究具有相似性;同时发现,E-cadherin mRNA的表达水平与乳腺癌患者的TNM分期、ER、PR和分化程度有关。ER也是乳腺癌内分泌治疗的靶点和良好的预后指标,E-cadherin mRNA表达与ER呈正相关,表明E-cadherin mRNA在乳腺癌患者血浆外泌体中的表达变化可能与ER参与临床病理有关,但相关机制仍需进一步研究。此外,研究还得出E-cadherin mRNA对乳腺癌单独诊断的敏感度和特异度分别为60.00%,88.50%,提示血浆外泌体E-cadherin mRNA表达是诊断乳腺癌的可靠指标之一。

上皮间质转化(epithelial mesenchymal transformation, EMT)被认为是侵袭性和转移性癌细胞扩散的根源,E-cadherin是此过程中的重要参与者,可形成建立和维持细胞间相互作用的结构^[20]。XU等^[16]研究报道,LncRNA BLACAT1低表达时E-cadherin表达增加,可通过下调Wnt/ β -catenin信号通路抑制非小细胞肺癌转移和EMT。本研究相关性分析结果显示,血浆外泌体LncRNA BLACAT1和E-cadherin mRNA表达水平呈负相关,提示二者可能通过参与Wnt/ β -catenin等多种致癌信号通路

在乳腺癌中发挥作用,今后需要深入探讨。进一步使用ROC曲线分析发现,LncRNA BLACAT1和E-cadherin mRNA联合诊断的AUC为0.941,且敏感度高达92.30%,表明联合检测可提高诊断乳腺癌的敏感度,具有更好的诊断价值。

综上所述,血浆外泌体LncRNA BLACAT1和E-cadherin mRNA表达水平对乳腺癌的早期诊断有一定的临床价值。而且,LncRNA BLACAT1和E-cadherin mRNA联合检测比单独检测有更好的诊断价值,可提高敏感度,有望成为未来乳腺癌诊断的有效指标,但其相关的作用机制仍需进一步研究。

参考文献:

- [1] GUO Jian, LIU Chen, WANG Wei, et al. Identification of serum miR-1915-3p and miR-455-3p as biomarkers for breast cancer[J]. PLoS One, 2018, 13(7): e0200716.
- [2] YOUSEFI H, MAHERONNAGHSH M, MOLAEI F, et al. Long noncoding RNAs and exosomal lncRNAs: classification, and mechanisms in breast cancer metastasis and drug resistance[J]. Oncogene, 2020, 39: 953-974.
- [3] LIU Lingxia, ZHANG Yu, LU Jun. The roles of long noncoding RNAs in breast cancer metastasis[J]. Cell Death & Disease, 2020, 11(9): 749.
- [4] CHENG Hailing, TIAN Jun, WANG Chen, et al. LncRNA BLACAT1 is upregulated in cervical squamous cell carcinoma (CSCC) and predicts poor survival[J]. Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.), 2020, 27(2): 585-591.
- [5] PADMANABAN V, KROL I, SUHAIL Y, et al. E-cadherin is required for metastasis in multiple models of breast cancer[J]. Nature, 2019, 573(7774): 439-444.
- [6] CHEN Feiyu, WANG Ning, TAN Horyue, et al. The functional roles of exosomes-derived long non-coding RNA in human cancer[J]. Cancer Biology & Therapy, 2019, 20(5): 583-592.
- [7] BARZAMAN K, KARAMI J, ZAREI Z, et al. Breast cancer: Biology, biomarkers, and treatments[J]. International Immunopharmacology, 2020, 84(1): 106535.
- [8] LUO Min, HUANG Yu, HUANG Junqing, et al. Evaluation of the value of GATA3 combined with E-cadherin in the diagnosis of breast cancer[J]. Journal of BUON, 2019, 24(3): 1038-1044.
- [9] LI Yongzhen, SONG Ying, WANG Zhihui, et al. Long non-coding RNA LINC01787 drives breast cancer progression via disrupting mir-125b generation[J]. Frontiers in Oncology, 2019, 9(1): 1140.
- [10] JABBARI N, AKBARIAZAR E, FEQHII M, et al. Breast cancer-derived exosomes: Tumor progression and therapeutic agents[J]. Journal of Cellular Physiology, 2020, 235(10): 6345-6356.
- [11] WU Qi, SUN Si, LI Zhiyu, et al. Breast cancer-released exosomes trigger cancer-associated cachexia to promote tumor progression[J]. Adipocyte, 2019, 8(1): 31-45.

- [12] ZHAO Zhuo, SUN Wei, GUO Ziyuan, et al. Mechanisms of lncRNA/microRNA interactions in angiogenesis[J]. *Life Sciences*, 2020, 254(1): 116900.
- [13] ZHU Min, LI Xiao, ZHU Shengtao, et al. Long non-coding RNA BLACAT1, a novel promising biomarker and regulator of human cancers[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2020, 132: 110808.
- [14] YE Tao, YANG Xiaoqi, LIU Haoran, et al. Long Non-Coding RNA BLACAT1 in human cancers[J]. *OncoTargets and Therapy*, 2020, 13: 8263-8272.
- [15] WANG Zhengkun, LIU Xichun, LIU Xiaolei, et al. Long non-coding RNA BLACAT1 promotes the tumorigenesis of gastric cancer by sponging microRNA-149-5p and targeting KIF2A[J]. *Cancer Management and Research*, 2020, 12(1): 6629-6640.
- [16] XU R, CAO X R, ZHANG B Q, et al. BLACAT1 is negatively associated with prognosis in patients with NSCLC and inhibits cell progression, metastasis and epithelial-mesenchymal transition through down-regulating Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(14): 6217-6225.
- [17] MENDONSA A M, NA T Y, GUMBINER B M. E-cadherin in contact inhibition and cancer[J]. *Oncogene*, 2018, 37(35): 4769-4780.
- [18] 刘郑生, 田海卫, 赵银利. 食管鳞状癌组织 E-cadherin 和 Vimentin 的表达与肿瘤浸润和转移的关系 [J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(6):50-53.
- LIU Zhengsheng, TIAN Haiwei, ZHAO Yinli. Expression of E-cadherin and vimentin and its relationship with infiltration and metastasis of esophageal squamous carcinoma [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(6):50-53.
- [19] TAVAKOLIAN S, GOUDARZI H, FAGHIHLOO E. E-cadherin, Snail, ZEB-1, DNMT1, DNMT3A and DNMT3B expression in normal and breast cancer tissues[J]. *Acta Biochimica Polonica*, 2019, 66(4): 409-414.
- [20] BURE I V, NEMTSOVA M V, ZALETAEV D V. Roles of E-cadherin and noncoding RNAs in the Epithelial-mesenchymal transition and progression in gastric cancer[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, 20(12): 2870.

收稿日期: 2022-02-26

修回日期: 2022-03-11

(上接第32页)

- [13] 王彬, 刘明, 张玉冬, 等. 消栓通脉颗粒调节 Treg/Th17 亚群平衡治疗下肢深静脉血栓形成研究 [J]. 山东中医药大学学报, 2013, 37(3):203-205,207.
- WANG Bin, LIU Ming, ZHANG Yudong, et al. Effect of Xiaoshuan Tongmai Granule on Treg/Th17 subgroup balance in treatment of lower extremity deep vein thrombosis [J]. *Journal of Shandong University of Traditional Chinese Medicine*, 2013, 37(3):203-205,207.
- [14] 孙涛, 李霞, 王彬. 中药单体绿原酸对深静脉血栓形成大鼠 Th17/Treg 亚群失衡的影响 [J]. 山东医药, 2015, 55(8):4-6.
- SUN Tao, LI Xia, WANG Bin. Effect of chlorogenic acid on Th17 / Treg shift in deep vein thrombosis rats [J]. *Shandong Medical Journal*, 2015, 55(8):4-6.
- [15] DING Peiwu, ZHANG Shaoshao, YU Miao, et al. IL-17A promotes the formation of deep vein thrombosis in a mouse model[J]. *International Immunopharmacology*, 2018, 57: 132-138.
- [16] NOSAKA M, ISHIDA Y, KIMURA A, et al. Crucial involvement of IL-6 in thrombus resolution in mice via macrophage recruitment and the induction of proteolytic enzymes[J]. *Frontiers in Immunology*, 2019, 10: 3150.
- [17] 赵琳, 黄安斌. 细胞因子在静脉血栓栓塞形成中的研究进展 [J]. 临床医学研究与实践, 2021, 6(1): 196-198.
- ZHAO Lin, HUANG Anbin. Research progress of cytokines in venous thromboembolism [J]. *Clinical Research and Practice*, 2021, 6(1):196-198.
- [18] MUHAMMAD Y F, WONG K K, MOHD R N. Th1, Th2, and Th17 cytokines in systemic lupus erythematosus[J]. *Autoimmunity*, 2020, 53(1): 8-20.
- [19] KNOCHELMANN H M, DWYER C J, SMITH A S, et al. IL-6 fuels durable memory for Th17 cell-mediated responses to tumors[J]. *Cancer Research*, 2020, 80(18): 3920-3932.
- [20] BERTIN F R, RYS R N, MATHIEU C, et al. Natural killer cells induce neutrophil extracellular trap formation in venous thrombosis[J]. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2019, 17(2): 403-414.
- [21] 吕慧珍, 李侃, 艾珂. 整合素的作用及其应用: 心血管病治疗新靶点 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2021, 29(2): 98-105.
- LÜ Huizhen, LI Kan, AI Ding. Role and application of integrin: a new therapeutic target for cardiovascular disease [J]. *Chinese Journal of Arteriosclerosis*, 2021, 29(2):98-105.
- [22] XU X R, WANG Y M, ADILI R, et al. Apolipoprotein A-IV binds α IIb β 3 integrin and inhibits thrombosis[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3608.
- [23] QIAO Jianlin, WU Xiaoqing, LUO Qi, et al. NLRP3 regulates platelet in-tegrin α IIb β 3 outside-in signaling, hemostasis and arterial thrombosis[J]. *Haematologica*, 2018, 103(9):191700.

收稿日期: 2021-12-23

修回日期: 2022-03-02