

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.14.006

卵巢癌细胞中 MTDH-PTEN 互作对奥沙利铂耐药性的影响及机制*

李臻¹ 郭春霞^{2Δ} 王佳¹ 姚彦³ 郭莉⁴ 岳玉光⁴

(1 西安交通大学第一附属医院妇产科 陕西 西安 710061; 2 空军第 986 医院第九门诊部 陕西 西安 710000;

3 空军军医大学第一附属医院检验病理科 陕西 西安 710054; 4 空军军医大学第一附属医院第九门诊部 陕西 西安 710054)

摘要 目的:探究卵巢癌细胞中 MTDH-PTEN 互作对奥沙利铂耐药性的影响及机制。方法:人卵巢癌细胞系通过慢病毒感染,将其分为对照组、NC-shRNA 组和 MTDH-shRNA 组。通过 RT-PCR 分析不同组细胞 MTDH 和 PTEN mRNA 表达。通过 MTT 测定法测定细胞活力。通过 CCK-8 检测奥沙利铂诱导下的细胞增殖。通过膜联蛋白 V 染色细胞凋亡测定细胞凋亡。通过流式细胞仪分析细胞周期。通过 Transwell 试验检测细胞迁移和侵袭。通过流式细胞仪分析细胞周期。通过免疫沉淀分析 MTDH 和 PTEN 的互作。结果:MTDH-shRNA 组 MTDH mRNA 表达较 NC-shRNA 组和对照组降低 ($P<0.05$),MTDH-shRNA 组 PTEN mRNA 表达较 NC-shRNA 组和对照组升高 ($P<0.05$)。当未添加奥沙利铂(浓度为 0 μM),各组细胞活力比较无差异 ($P>0.05$)。当奥沙利铂浓度为 2 μM 、4 μM 和 8 μM 时,MTDH-shRNA 组细胞活力较 NC-shRNA 组和对照组降低 ($P<0.05$)。0 h,各组细胞增殖比较无差异 ($P>0.05$),第 24 h、48 h 和 72 h 时,MTDH-shRNA 组细胞增殖较 NC-shRNA 组和对照组降低 ($P<0.05$)。MTDH-shRNA 组细胞凋亡率较 NC-shRNA 组和对照组升高 ($P<0.05$)。MTDH-shRNA 组 G1 期细胞占比较 NC-shRNA 组和对照组升高 ($P<0.05$),MTDH-shRNA 组 S/M 期细胞占比较 NC-shRNA 组和对照组降低 ($P<0.05$)。MTDH-shRNA 组细胞迁移和侵袭数量较 NC-shRNA 组和对照组减少 ($P<0.05$)。结论:MTDH 在卵巢癌细胞中与 PTEN 共表达并与 PTEN 相互作用,因此可通过抑制 MTDH 表达、诱导 PTEN 表达可以恢复对卵巢癌细胞对奥沙利铂的药物敏感性。

关键词: 卵巢癌细胞;MTDH-PTEN 互作;奥沙利铂;耐药性

中图分类号: R-33; R737.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2022)24-2631-05

The Effect and Mechanism of MTDH-PTEN Interaction on Oxaliplatin Resistance in Ovarian Cancer Cells*

LI Zhen¹, GUO Chun-xia^{2Δ}, WANG Jia¹, YAO Yan³, GUO Li⁴, YUE Yu-guang⁴

(1 Department of Obstetrics and Gynecology, First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710061, China;

2 The Ninth Outpatient Department, Air Force No. 986 Hospital, Xi'an, Shaanxi, 710000, China;

3 Department of Laboratory Pathology, First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710054, China;

4 The Ninth Outpatient Department of the First Affiliated Hospital of Air Force Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710054, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect and mechanism of MTDH-PTEN interaction on oxaliplatin resistance in ovarian cancer cells. **Methods:** Human ovarian cancer cell lines were infected with lentivirus and divided into control group, NC-shRNA group and MTDH-shRNA group. The expression of MTDH and PTEN mRNA in different groups of cells was analyzed by RT-PCR. The cell viability was measured by the MTT assay. CCK-8 is used to detect cell proliferation induced by oxaliplatin. Apoptosis was determined by staining with annexin V. Analyze the cell cycle by flow cytometry. Detect cell migration and invasion by Transwell test. Analyze the cell cycle by flow cytometry. The interaction between MTDH and PTEN was analyzed by co-immunoprecipitation. **Results:** The expression of MTDH mRNA in the MTDH-shRNA group was lower than that of the NC-shRNA group and control group ($P<0.05$), and the expression of PTEN mRNA in the MTDH-shRNA group was higher than that of the NC-shRNA group and control group ($P<0.05$). When oxaliplatin was not added (at a concentration of 0 μM), there was no difference in cell viability in each group ($P>0.05$). When the concentration of oxaliplatin was 2 μM , 4 μM and 8 μM , the cell viability of the MTDH-shRNA group was lower than that of the NC-shRNA group and the control group ($P<0.05$). At 0h, there was no difference in cell proliferation in each group ($P>0.05$). At 24 h, 48 h and 72 h, cell proliferation in the MTDH-shRNA group was lower than that in the NC-shRNA group and the control group ($P<0.05$). The apoptosis rate of MTDH-shRNA group was higher than that of NC-shRNA group and control group ($P<0.05$). The proportion of cells in the G1 phase of the MTDH-shRNA group was higher than that of the NC-shRNA group and the control group ($P<0.05$), and the proportion of cells in the S/M phase of the MTDH-shRNA group was lower than that of the NC-shRNA group and the control group

* 基金项目:陕西省科技计划项目(2020SF-030)

作者简介:李臻(1987-),女,硕士,住院医师,研究方向:妇科肿瘤,妇科内分泌,电话:18691553099, E-mail: lz20218888cx@163.com

Δ 通讯作者:郭春霞(1974-),女,本科,主治医师,研究方向:妇科肿瘤方向,电话:15309237696, E-mail: lz20218888cx@163.com

(收稿日期:2022-02-28 接受日期:2022-03-25)

($P < 0.05$). The number of cell migration and invasion in the MTDH-shRNA group was lower than that in the NC-shRNA group and the control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** MTDH is co-expressed with PTEN and can interact with PTEN in ovarian cancer cells, so the drug sensitivity of ovarian cancer cells to oxaliplatin can be restored by inhibiting the expression of MTDH and inducing the expression of PTEN.

Key words: Ovarian cancer cells; MTDH-PTEN interaction; Oxaliplatin; Drug resistance

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R737.31 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)24-2631-05

前言

卵巢癌(Ovarian cancer)是女性第五大常见癌症,也是最致命的妇科恶性肿瘤^[1]。对于晚期卵巢癌患者或高危手术候选者,标准治疗通常包括铂类药物联合非铂类药物,超过 70%最初对化疗(包括铂类和非铂类)有反应的患者最终会复发并产生化疗耐药性^[2]。MTDH 也称为星形胶质细胞升高的基因 1,已有研究注意到其在癌症化学抗性中的作用^[3]。磷酸酶和张力蛋白同系物(Phosphatase and tensin homolog, PTEN)是 PI3K/AKT 通路的天然抑制剂,是人类癌症中最常见的肿瘤抑制因子之一^[4,5]。研究表明:PTEN 的低表达或缺失是卵巢癌患者耐药的重要危险因素,诱导 PTEN 在恢复抗癌药物对卵巢癌的敏感性方面也起着关键作用^[6]。然而,仍然未知的是 MTDH 是否与 PTEN 相互作用以及这种相互作用是否在化学抗性中起作用。已有研究证实:MTDH 可以与 CREB 结合蛋白相互作用,阻止其泛素介导的降解,许可 TWIST1 的转录激活,这已被证明有助于卵巢癌耐药^[7,8]。奥沙利铂是一种二氨基环己烷-铂化合物,具有独特的活性谱,通常用于治疗包括卵巢癌在内的各种癌症。不幸的是,几乎所有复发性卵巢癌最终都会对铂产生耐药性。本研究旨在探讨卵巢癌细胞中 MTDH-PTEN 互作对奥沙利铂耐药性的影响及机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验细胞 人卵巢癌细胞系 SKOV3 购自美国 ATCC,在含有 10%胎牛血清、100 单位青霉素和 100 μg 链霉素的改良 DMEM 培养基中,在 37℃ 和 5% CO_2 中培养。

1.1.2 siRNA 介导的 MTDH 沉默 通过 pGCSIL-GFP-shRNA-MTDH 或 pGCSIL-GFP-shRNA-NC 的共转染质粒与 pHelper1.0 和 pHelper2.0 质粒在 293T 细胞中产生慢病毒(上海吉凯基因医学科技股份有限公司)。MTDH RNA 干扰慢病毒载体命名为 LV-GFP-MTDH-shRNA 和 LV-GFP-NC-shRNA。未感染的细胞命名为对照组。SKOV3 细胞系用 LV-GFP-MTDH-shRNA 或 LV-GFP-NC-shRNA 感染 2h,置于新鲜培养基中,而未感染的细胞用作空白对照。

1.2 实验方法

1.2.1 RT-qPCR 分析 为了分析 mRNA 表达,将 SKOV3 细胞以 2.0×10^5 个细胞/孔的密度接种到 12 孔板中。使用 UNIQ-10 Column TRIzol 总 RNA 分离试剂盒(上海生工生物工程股份有限公司)根据制造商的说明提取总 RNA。使用 Nanodrop 2000 分光光度计(美国赛默飞世科技公司)评估提取的 RNA 的纯度和数量。使用 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (美国

赛默飞世尔科技有限公司)将总共 500 ng 的总 RNA 用于 cDNA 合成。根据制造商推荐的热循环条件,在 Applied Biosystems ViiA7 实时 PCR 系统中使用 FastStart Universal SYBR Green Master with Rox(德国 Merck KGaA 公司)对 mRNA 水平进行定量比较。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法进行相对基因表达分析。

1.2.2 细胞活力测定 使用 3-(4,5-二甲基-噻唑-2-基)-2,5-二苯基溴化四唑(MTT)测定法测定细胞活力。根据试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司)说明书进行检测。

1.2.3 CCK-8 检测 CCK-8 试剂盒(上海碧云天生物科技有限公司)检测细胞增殖。将细胞以每孔 5000 个细胞的密度接种在具有完全培养基的 96 孔板中。根据试剂盒说明书进行检测。

1.2.4 细胞凋亡分析 将指数生长的 SKOV3 细胞接种在 6 孔板中,并用指定浓度的奥沙利铂药物处理。在处理 24 h 时,将细胞胰蛋白酶消化,用 PBS 洗涤后重悬,并用膜联蛋白 V-FITC(美国 BD 公司)和碘化丙啶染色 15 在室温下避光条件下染色,并进行流式细胞术(FACSCalibur-HTS,美国 BD 公司)分析。使用 FlowJo v10.0 软件分析获得的流式细胞术数据。每个测定条件一式三份进行。

1.2.5 细胞周期分析 指数生长的 SKOV3 细胞在亚汇合处接种在 6 孔板中,并用 2 μM 浓度的奥沙利铂处理。在处理 48 h,收集细胞,固定并用 Magic Solution 染色 30min。使用 BD FACSCalibur-HTS 对染色的细胞进行流式细胞术分析。使用 FlowJo v10.0 软件分析获得的流式细胞术数据。使用制造商提供的 Multicycle 软件计算细胞周期不同阶段的细胞百分比,每个测定条件一式三份进行。

1.2.6 Transwell 侵袭试验 在 SKOV3 细胞侵袭试验中,插入物的内表面涂有 Matrigel transwell 室(2 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,美国 BD 公司),细胞转染后,收集细胞并接种(2×10^5)在含有无血清培养基的上室(8 μm 膜大小)中。下室孔中充满含有 10% FBS 的培养基,添加浓度 2 μM 奥沙利铂并在 37℃ 下与 CO_2 孵育 48 h,将细胞在 37℃ 甲醇固定 20 min,0.1%结晶紫染色并观察。

1.2.7 共免疫沉淀(co-IP)分析 将细胞接种在培养瓶中,裂解细胞后采用总蛋白提取试剂盒(美国赛默飞世科技)提取蛋白,并测定浓度,室温下温育并旋转 1 h。用含有 0.1% Tween-20 的 PBS 缓冲液洗涤 3 次后,将珠子与含有 β -巯基乙醇的 Laemmli 样品缓冲液在 70℃ 下孵育 10 min。磁珠磁化后,洗脱液在 95℃ 下煮沸 5 min,加载到 SDS-PAGE 凝胶上并使用 mAb-PTEN 进行蛋白质印迹分析。

1.3 统计分析

使用 GraphPad Prism 6.0 版进行统计分析,数据表示为平均值 $\pm$ SD。使用单向方差分析对数据进行统计评估。使用

Pearson 进行相关系数判定。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-PCR 分析 MTDH 和 PTEN mRNA 表达

MTDH-shRNA 组 MTDH mRNA 表达较 NC-shRNA 组和对照组降低 ($P<0.05$), MTDH-shRNA 组 PTEN mRNA 表达较 NC-shRNA 组和对照组升高 ($P<0.05$), 见图 1, 表 1。

2.2 细胞活力检测

培养 24 h 后, 当未添加奥沙利铂(浓度为 0 μM), 各组细胞活力比较无差异 ($P>0.05$)。当奥沙利铂浓度为 2 μM 、4 μM 和 8 μM 时, MTDH-shRNA 组细胞活力较 NC-shRNA 组和对

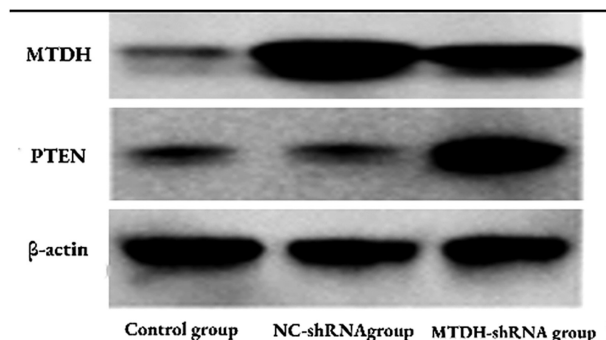


图 1 RT-PCR 分析

Fig.1 For R T-PCR analysis

表 1 RT-PCR 分析 MTDH 和 PTEN mRNA 表达
Table 1 RT-PCR analysis of MTDH and PTEN mRNA expression

Groups	n	MTDH	PTEN
Control group	6	1.87±0.15	1.04±0.05
NC-shRNA group	6	1.92±0.16	1.08±0.08
MTDH-shRNA group	6	1.02±0.01	1.95±0.18
F		10.883	8.625
P		<0.001	<0.001

表 2 细胞活力分析($\times 10^4$ cells/m)
Table 2 Cell Viability Analysis($\times 10^4$ cells/m)

Groups	n	0 μM	2 μM	4 μM	8 μM
Control group	6	42.56±4.18	37.49±3.22	26.52±2.11	16.37±1.05
NC-shRNA group	6	41.74±5.43	36.88±3.18	28.43±2.45	17.42±1.26
MTDH-shRNA group	6	42.55±5.31	27.45±2.77	13.55±1.49	5.19±0.88
F		0.833	13.426	9.772	11.639
P		0.953	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 细胞增殖分析

干预 0 h, 各组细胞增殖比较无差异 ($P>0.05$), 第 24 h、48 h

和 72 h 时, MTDH-shRNA 组细胞增殖较 NC-shRNA 组和对

组降低 ($P<0.05$), 见表 3。

表 3 450nm 处 OD 值
Table 3 OD value at 450 nm

Groups	n	0 h	24 h	48 h	72 h
Control group	6	0.37±0.14	0.73±0.18	1.24±0.22	1.55±0.26
NC-shRNA group	6	0.40±0.16	0.71±0.16	1.26±0.23	1.58±0.27
MTDH-shRNA group	6	0.38±0.13	0.51±0.17	0.85±0.19	1.08±0.19
F		0.764	13.403	11.228	8.535
P		1.336	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 细胞凋亡检测

使用浓度 1 μM 和 2 μM 的奥沙利铂处理 24 h 后, MTDH-shRNA 组细胞凋亡率较 NC-shRNA 组和对

2.5 细胞周期分析

通过流式细胞仪分析细胞周期, MTDH-shRNA 组 G1 期细胞占比较 NC-shRNA 组和对

组升高 ($P<0.05$), MTDH-shRNA 组 S/M 期细胞占比较 NC-shRNA 组和对

组降低 ($P<0.05$)。表 5。

表 4 细胞凋亡检测
Table 4 Apoptosis apoptosis

Groups	n	1 μ M(%)	2 μ M(%)
Control group	6	25.37 $\pm$ 6.33	38.57 $\pm$ 9.16
NC-shRNAgroup	6	23.49 $\pm$ 8.30	40.62 $\pm$ 10.39
MTDH-shRNA group	6	45.72 $\pm$ 11.26	66.46 $\pm$ 14.22
<i>F</i>		10.522	8.144
<i>P</i>		<0.001	<0.001

表 5 细胞周期分析
Table 5 Cell-cycle analysis

Groups	n	G1 period(%)	S/M period(%)
Control group	6	27.39 $\pm$ 5.11	56.39 $\pm$ 11.44
NC-shRNAgroup	6	23.76 $\pm$ 7.44	61.29 $\pm$ 13.39
MTDH-shRNA group	6	45.27 $\pm$ 9.32	33.52 $\pm$ 6.21
<i>F</i>		11.522	9.471
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.6 细胞迁移侵袭分析

对照组减少($P<0.05$),见表 6。

MTDH-shRNA 组细胞迁移和侵袭数量较 NC-shRNA 组和

表 6 细胞迁移侵袭分析
Table 6 Analysis of cell migration and invasion

Groups	n	Migrate	Invade
Control group	6	116.32 $\pm$ 12.46	125.79 $\pm$ 10.52
NC-shRNAgroup	6	109.54 $\pm$ 10.82	128.36 $\pm$ 13.44
MTDH-shRNA group	6	67.19 $\pm$ 8.26	75.46 $\pm$ 9.51
<i>F</i>		14.055	11.361
<i>P</i>		<0.001	<0.001

2.7 共免疫沉淀

在用抗 MTDH 抗体免疫沉淀的免疫复合物中检测到 PTEN。如图 2 所示,在大约 50 kDa 的级分中发现了 PTEN 蛋白,见图 2。

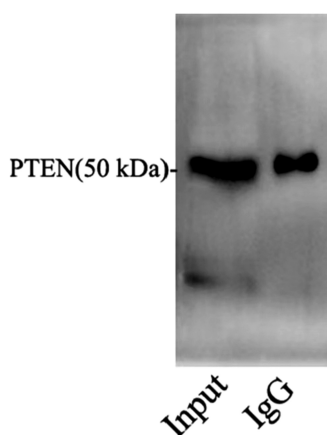


图 2 PTEN 与 co-IP 检测到的 MTDH 的相互作用

Fig.2 Interaction of P T E N with the MTDH detected by co-IP

3 讨论

在过去的 20 年中,卵巢癌患者的 5 年生存率大幅提高,这主要是由于手术技术的改进和铂类联合药物化疗方案的经验优化。尽管有这种改进,但总体治愈率仍约为 30%。大多数患者在 12-24 个月内复发并死于进行性化疗耐药的疾病。获得性耐药在卵巢癌中很常见,尤其是在晚期卵巢癌。铂化疗耐药的潜在机制以及化疗后耐药如何发生尚不完全清楚。迄今为止报道的铂耐药的已知主要机制包括癌症干细胞、上皮间质转化、异常 DNA 修复相关通路以及 NF- κ B 和 PI3K/AKT/mTOR 信号通路^[9,10]。一些先前报道的机制为克服卵巢癌中的铂耐药性提供了有价值的目标,研究耐药机制是管理卵巢癌的有效策略。有研究表明 NF- κ B 信号通路的激活部分归因于 MCF-7 细胞中的 EMT;因此,细胞获得干细胞样特性,从而促进耐药性^[11-13]。在另一份报告中,发现胃癌细胞对阿霉素的抗性与 EMT 相关,EMT 是通过激活 Akt 和抑制 PTEN 诱导的^[14-16]。MTDH 是一种单程跨膜蛋白,由 582 个氨基酸组成,在黑色素瘤、乳腺癌、前列腺癌和食道癌中经常观察到 MTDH 的过度表达,并且与较

差的临床结果相关^[17-19]。MTDH 在促进 CSC 积累和诱导 EMT 方面也发挥着重要作用。所有这些观察都证明了 MTDH/PTEN 与已知耐药机制之间的密切关系,表明 MTDH 和 PTEN 是卵巢癌化学耐药性的有希望的治疗靶点,符合前人相关研究结论^[20-22]。

丹皮酚已被证明可以抑制 MTDH 并诱导 SKOV3 细胞中的 PTEN 表达,证实了聚乳酸 C 对 MTDH 的下调。本研究通过 siRNA 介导的 MTDH 沉默,发现 MTDH 下调后对 PTEN 具有诱导作用。在正常组织发育中,PTEN 作为协调细胞类型在时间和空间上的分化和增殖以形成功能性器官的过程的一部分而起作用。然而,PTEN 是众所周知的肿瘤抑制基因,PTEN 表达的缺失与癌症的侵袭性行为和不良预后相关。PTEN 缺失的小鼠容易发生恶性肿瘤,颗粒细胞中 FOXO1/3 和 PTEN 的消耗也促进了卵巢颗粒细胞肿瘤的发展^[23-25]。

奥沙利铂是卵巢癌、睾丸癌和结肠癌的一线化疗药物,但由于对它们的耐药性增加,目前正在研究将它们与其他细胞抑制药物或新的分子基因联系在一起,降低癌细胞的抗药性^[26-28]。本研究通过质粒转染降低 SKOV3 中 MTDH 表达,与对照组或阴性转染相比,奥沙利铂降低了 SKOV3 细胞的增殖和活力,并促进细胞凋亡,并且发现 SKOV3 细胞的迁移侵袭能力降低,表明干扰 MTDH-PTEN 互作能显著增加卵巢癌细胞对奥沙利铂的药物敏感性。此外,本研究证明,MTDH 表达受限后可导致细胞周期停滞。铂类药物主要通过阻断 DNA 复制和转录,在非酶促转化为活性衍生物后,形成铂-DNA 链内和链间加合物以及 DNA-蛋白质交联,从而间接引起细胞周期扰动和细胞凋亡。因此,本研究表明,阻断 MTDH-PTEN 互联后使用铂类药物奥沙利铂在改变细胞周期参数方面起着至关重要的作用,结合相关研究^[29,30]分析可知:铂类药物耐药的分子机制由各种途径组成,最近的模型描述了通过促进扩散对铂的吸收,可能涉及门控通道,在选择耐药变体时可能会丢失,因此本研究中的这些发现为 MTDH-PTEN 复合物在化学抗性中的作用提供了强有力的证据基础,并且该复合物可能是癌症治疗的治疗靶点。另外,PTEN 的缺失与转移性子宫平滑肌肉瘤对抗 PD-1 检查点阻断疗法的抵抗有关。MTDH 也已证明在癌症免疫治疗中发挥作用。因此,建议对癌症免疫中的 MTDH-PTEN 复合物进行进一步研究。本研究不足之处仅对基因沉默 MTDH 对卵巢癌细胞耐药性影响进行分析,而过表达该基因是否可得到相反的结果仍需试验进一步验证。

综上所述,本研究通过证明 MTDH 在卵巢癌细胞中与 PTEN 共表达并与存在 PTEN 相互作用,因此可通过抑制 MTDH 表达、诱导 PTEN 表达来恢复卵巢癌细胞对奥沙利铂的敏感性,从而对临床卵巢癌的奥沙利铂化疗耐药性问题的解决提供思路。

参考文献(References)

[1] Wang Y, Zhao G, Condello S, et al. Frizzled-7 Identifies Platinum-Tolerant Ovarian Cancer Cells Susceptible to Ferroptosis [J]. Cancer Res, 2021, 81(2): 384-399

[2] 马水根,杨进,廖望望,等.膜联蛋白 A4 表达与卵巢浆液性囊腺癌化疗耐药性相关[J].现代生物医学进展, 2015, 15(03): 441-444

[3] Miricescu D, Totan A, Stanescu-Spinu II, et al. PI3K/AKT/mTOR

Signaling Pathway in Breast Cancer: From Molecular Landscape to Clinical Aspects[J]. Int J Mol Sci, 2020, 22(1): 173

[4] Tan AC. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. Thorac Cancer, 2020, 11(3): 511-518

[5] Zhang Y, Kwok-Shing Ng P, Kucheralapati M, et al. A Pan-Cancer Proteogenomic Atlas of PI3K/AKT/mTOR Pathway Alterations [J]. Cancer Cell, 2017, 31(6): 820-832.e3

[6] Arter WE, Levin A, Krainer G, et al. Microfluidic approaches for the analysis of protein-protein interactions in solution [J]. Biophys Rev, 2020, 12(2): 575-585

[7] Ul Haq I, Müller P, Brantl S, et al. Intermolecular Communication in *Bacillus subtilis*: RNA-RNA, RNA-Protein and Small Protein-Protein Interactions[J]. Front Mol Biosci, 2020, 7: 178

[8] Zhang Y, Fernie AR. On the Detection and Functional Significance of the Protein-Protein Interactions of Mitochondrial Transport Proteins [J]. Biomolecules, 2020, 10(8): 1107

[9] Zhou J, Jiang YY, Chen H, et al. Tanshinone I attenuates the malignant biological properties of ovarian cancer by inducing apoptosis and autophagy via the inactivation of PI3K/AKT/mTOR pathway [J]. Cell Prolif, 2020, 53(2): e12739

[10] Deng J, Bai X, Feng X, et al. Inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway alleviates ovarian cancer chemoresistance through reversing epithelial-mesenchymal transition and decreasing cancer stem cell marker expression[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1): 618

[11] Li H, Chen A, Yuan Q, et al. NF-kappaB/Twist axis is involved in chysin inhibition of ovarian cancer stem cell features induced by co-treatment of TNF-alpha and TGF-beta [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2019, 12(1): 101-112

[12] Cheng M, Ye X, Dai J, et al. SOS1 promotes epithelial-mesenchymal transition of Epithelial Ovarian Cancer (EOC) cells through AKT independent NF-kappaB signaling pathway[J]. Transl Oncol, 2021, 14(9): 101160

[13] Ravindran F, Koroth J, Manjunath M, et al. Curcumin derivative ST09 modulates the miR-199a-5p/DDR1 axis and regulates proliferation and migration in ovarian cancer cells [J]. Sci Rep, 2021, 11(1): 23025

[14] Yeasmin S, Nakayama K, Rahman MT, et al. Loss of MKK4 expression in ovarian cancer: a potential role for the epithelial to mesenchymal transition[J]. Int J Cancer, 2011, 128(1): 94-104

[15] Lutgendorf SK, Thaker PH, Arevalo JM, et al. Biobehavioral modulation of the exosome transcriptome in ovarian carcinoma [J]. Cancer, 2018, 124(3): 580-586

[16] Cui Y, Wang D, Xie M. Tumor-Derived Extracellular Vesicles Promote Activation of Carcinoma-Associated Fibroblasts and Facilitate Invasion and Metastasis of Ovarian Cancer by Carrying miR-630[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 652322

[17] Rong C, Shi Y, Huang J, et al. The Effect of Metadherin on NF-kappaB Activation and Downstream Genes in Ovarian Cancer [J]. Cell Transplant, 2020, 29: 963689720905506

[18] Yu X, Wang Y, Qiu H, et al. AEG-1 Contributes to Metastasis in Hypoxia-Related Ovarian Cancer by Modulating the HIF-1alpha/NF-kappaB/VEGF Pathway[J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 3145689

- ischemia-reperfusion injury via the NLRP3 signaling pathway [J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(4): 605-612
- [13] 王敏. 局灶性脑缺血损伤后 HIF-1 α 双重调节作用的研究进展[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2018, 16(24): 3636-3638
- [14] 张岩, 刘庆煊, 王宏, 等. 复方景川片调控低氧诱导因子 -1 α 表达对大鼠缺血性脑损伤的保护作用[J]. *现代药物与临床*, 2019, 34(12): 3506-3511
- [15] 吴家鹏, 李学智, 汪莹, 等. 电针结合脑内注射血管内皮生长因子对脑缺血再灌注损伤大鼠内质网应激反应相关蛋白 ATF6、IRE1、XBP1、CHOP 的影响[J]. *针刺研究*, 2018, 43(6): 341-346
- [16] Peng L, Yin J, Wang S, et al. TGF-beta2/Smad3 Signaling Pathway Activation Through Enhancing VEGF and CD34 Ameliorates Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury After Isoflurane Post-conditioning in Rats[J]. *Neurochem Res*, 2019, 44(11): 2606-2618
- [17] 张兰, 张祥建. 川陈皮素通过激活 Akt/CREB 通路减轻大鼠脑缺血损伤作用机制的研究[C].//2016 河北省神经病学术年会、河北省中西医结合学会神经内科专业委员会学术年会暨第二届京津冀脑血管病论坛论文集, 2016: 400-400
- [18] 张爱民, 蒋宗滨. 高压氧预处理通过 HIF-1 α /VEGF 通路减轻大鼠缺血再灌注损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(11): 2048-2053
- [19] 程黎, 贾功伟. 亚低温对脑缺血再灌注大鼠血管内皮生长因子和低氧诱导因子 -1 α 表达的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2017, 23(6): 667-671
- [20] 惠志蓉, 陶陶, 徐坚. 缺氧诱导因子 1 α 对脑缺血再灌注损伤后热休克蛋白 90 及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 和 9 表达的影响[J]. *中华老年医学杂志*, 2016, 35(3): 334-337
- [21] 范崇桂, 付国惠, 闪海霞, 等. 血塞通对局灶性脑缺血再灌注大鼠 VEGF/VEGFR2 的调节[J]. *热带医学杂志*, 2020, 20(1): 13-17, 前插1
- [22] 彭莉, 王胜, 殷姜文, 等. 异氟醚后处理对大鼠脑缺血再灌注时血管生成的影响及 Shh 信号通路在其中的作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2019, 39(3): 283-286
- [23] 杨华, 田萌, 刘喜燕. 川陈皮素对脑梗死大鼠 HIF-1 α 和 VEGF 含量及神经细胞凋亡的影响与机制 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2017, 16(20): 1980-1983
- [24] Liang W, Lin C, Yuan L, et al. Preactivation of Notch1 in remote ischemic preconditioning reduces cerebral ischemia-reperfusion injury through crosstalk with the NF-kappaB pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 181
- [25] Xie W, Zhu T, Dong X, et al. HMGB1-triggered inflammation inhibition of notoginseng leaf triterpenes against cerebral ischemia and reperfusion injury via MAPK and NF-kappaB signaling pathways [J]. *Biomolecules*, 2019, 9(10): 512
- [26] Zhao H, Chen Z, Xie LJ, et al. Suppression of TLR4/NF-kappaB Signaling Pathway Improves Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats[J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(5): 4311-4319
- [27] 叶伟, 何金川, 谢文霞, 等. 电针对脑缺血再灌注损伤小鼠 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J]. *浙江中医杂志*, 2021, 56(5): 379-380
- [28] 陈萌, 田焕娜, 吴晓光, 等. 半胱氨酸蛋白酶抑制剂 C 对脑缺血再灌注大鼠 Bcl-2、Bax 和 Beclin-1 的表达及细胞凋亡的影响 [J]. *解剖学杂志*, 2017, 40(4): 417-420
- [29] Erfani S, Khaksari M, Oryan S, et al. Namp1/PBEF/visfatin exerts neuroprotective effects against ischemia/reperfusion injury via modulation of Bax/Bcl-2 ratio and prevention of caspase-3 activation [J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 56(1): 237-243
- [30] Aboutaleb N, Shamsaei N, Rajabi H, et al. Protection of Hippocampal CA1 Neurons Against Ischemia/Reperfusion Injury by Exercise Preconditioning via Modulation of Bax/Bcl-2 Ratio and Prevention of Caspase-3 Activation[J]. *Basic Clin Neurosci*, 2016, 7(1): 21-29

(上接第 2635 页)

- [19] Liu C, Bordeaux A, Hettich S, et al. MicroRNA-497-5p Functions as a Modulator of Apoptosis by Regulating Metadherin in Ovarian Cancer[J]. *Cell Transplant*, 2020, 29: 963689719897061
- [20] Zhao T, Zhao C, Zhou Y, et al. HIF-1 α binding to AEG-1 promoter induced upregulated AEG-1 expression associated with metastasis in ovarian cancer[J]. *Cancer Med*, 2017, 6(5): 1072-1081
- [21] 张玲芳. MTDH 过量表达与乳腺癌化疗耐药的关系及机制研究[D]. 宁夏医科大学, 2020
- [22] Stefan Haug, Dominik Schnerch, Sebastian Halbach, et al. Metadherin exon 11 skipping variant enhances metastatic spread of ovarian cancer [J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(10): 2328-2340
- [23] He L, Zhu W, Chen Q, et al. Ovarian cancer cell-secreted exosomal miR-205 promotes metastasis by inducing angiogenesis [J]. *Theranostics*, 2019, 9(26): 8206-8220
- [24] 陈飞任, 黄婷婷, 远征. 丙泊酚上调 FOXO1 抑制卵巢癌耐药细胞的增殖和紫杉醇耐药性[J]. *标记免疫分析与临床*, 2021, 28(8): 7
- [25] Zhao W, Han T, Li B, et al. miR-552 promotes ovarian cancer progression by regulating PTEN pathway [J]. *J Ovarian Res*, 2019, 12(1): 121
- [26] 姚士伟, 李静, 郭秀丽, 等. 奥沙利铂和氟尿嘧啶联合贝伐珠单抗对晚期胃癌患者免疫功能、肿瘤标志物和预后的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2021, 21(08): 1452-1455
- [27] Noordhuis P, Laan AC, van de Born K, et al. Coexisting Molecular Determinants of Acquired Oxaliplatin Resistance in Human Colorectal and Ovarian Cancer Cell Lines [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(15): 3619
- [28] Sato J, Iwasa S, Honma Y, et al. Impact of Oxaliplatin-Induced Neuropathy on Subsequent Paclitaxel for Advanced Gastric Cancer [J]. *临床医学国际期刊(英文)*, 2020, 11(9): 12
- [29] M?ltgen S, Piumatti E, Massafra GM, et al. Cisplatin Protein Binding Partners and Their Relevance for Platinum Drug Sensitivity [J]. *Cells*, 2020, 9(6): 1322
- [30] 陈绍正, 岳秀英. 老年晚期铂类耐药复发性卵巢癌患者白蛋白结合型紫杉醇治疗方案的临床疗效[J]. *中国老年学杂志*, 2020, 40(4): 4