

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.13.009

miR-195 通过靶向调控趋化因子 5 促进胃癌细胞增殖、转移及侵袭的实验研究 *

庞 澜 梁灿灿 吴 江 纪文静 丁永年[△]

(新疆医科大学第二附属医院内镜诊治科 新疆 乌鲁木齐 830028)

摘要 目的:研究 miR-195 通过靶向调控趋化因子 5 促进胃癌细胞增殖、转移及侵袭的分子机制。**方法:**选取 MGC803 及 NCI-N87 细胞,根据转染不同分为:miR-NC 组(空质粒),miR-195-mimics 组(模拟序列)。实时荧光定量 PCR 法检测 miR-195 表达;MTT 检测细胞增殖能力;Transwell 侵袭实验检测细胞侵袭力;细胞划痕实验检测细胞转移能力;流式细胞术检测细胞凋亡情况;Western blot 检测 chemokine 5 表达水平;Spearman 相关分析 miR-195 及 chemokine 5 相关性。荧光素酶实验验证 miR-195 与 chemokine 5 的靶向关系。**结果:**miR-195-mimics 组细胞 miR-195 水平高于 miR-NC 组($P<0.05$);miR-195 mimics 组第 1、2、3、4 d 细胞活力低于 miR-NC 组 ($P<0.05$);miR-195 mimics 组 G1 细胞高于 miR-NC 组,G2 期、S 期细胞低于 miR-NC 组,G2/S 期细胞比值低于 miR-NC 组($P<0.05$);miR-195 mimics 组划痕距离大于 miR-NC 组($P<0.05$);miR-195 mimics 组细胞侵袭数低于 miR-NC 组($P<0.05$);miR-195-mimics 组 chemokine 5 蛋白含量低于 miR-NC 组 ($P<0.05$);miR-195 mRNA 水平与 chemokine 5 蛋白含量负相关 ($r=-0.398, P=0.00$);miR-195 可直接靶向 chemokine 5。**结论:**miR-195 可通过靶向 chemokine 5 促进胃癌 MGC803 及 NCI-N87 细胞的增殖、转移及侵袭。

关键词:miR-195;趋化因子 5;胃癌;转移;侵袭

中图分类号:R-33;R735.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)13-2447-05

MiR-195 Targeting Chemokine 5 Inhibits Proliferation, Metastasis and Invasion of Gastric Cancer Cells*

PANG Lan, LIANG Can-can, WU Jiang, JI Wen-jing, DING Yong-nian[△]

(Endoscopy department of the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830028, China)

ABSTRACT Objective: To explore the molecular mechanism of miR-195 targeting chemokine 5 inhibiting proliferation, apoptosis, invasion and metastasis of gastric cancer cells. **Methods:** Gastric cancer cell lines MGC803, NCI-N87 were selected. According to the transfection, it was divided into: miR-NC group (null plasmid) and miR-195-mimics group (simulated sequence). The expression of miR-195 in cells was detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The effect of transfected miR-195 on the proliferation of tumor cells was detected by MTT assay. Cell invasion was analysed by Transwell. Cell migration was detected by wound healing. Cell apoptosis was checked by flow cytometry. The protein levels of chemokine 5 were determined by western blot. The correlation between the expressions of miR-195 and chemokine 5 was analysis by Spearman. **Results:** The level of miR-195 in miR-195-mimics group was higher than that in miR-NC group ($P<0.05$); The cell viability of miR-195 group on the 1, 2, 3 and 4 day was lower than those of miR-NC group ($P<0.05$); The number of G1 cells in miR-195-mimics group was higher than that in miR-NC group; The number of G2 and S-phase cells was lower than that in miR-NC group; The ratio of G2 / S-phase cells was lower than that in miR-NC group ($P<0.05$); The scratch distance of miR-195 group was greater than that of miR-NC group ($P<0.05$); The cell invasion number of miR-195 group was lower than that of miR-NC group ($P<0.05$); The content of chemokine 5 protein in miR-195-mimics group was lower than that in miR-NC group; The level of miR-195 mRNA was negatively correlated with the content of chemokine 5 protein ($r=-0.398, P=0.00$). miR-195 could directly target chemokine 5 protein. **Conclusion:** MiR-195 promotes the proliferation, metastasis and invasion of MGC803 and NCI-N87 cells by targeting chemokine 5.

Key words: MiR-195; Chemokine 5; Gastric cancer; Metastasis; Invasion

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R735.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)13-2447-05

* 基金项目:新疆维吾尔自治区科技厅自然科学基金项目(211233146-10)

作者简介:庞澜(1981-),女,硕士,主治医师,主要研究方向:消化内科及消化内镜,电话:15999196120,E-mail:164073841@qq.com

△ 通讯作者:丁永年,男,硕士,主任医师,研究方向:消化系统疾病及疑难疾病的诊断治疗,E-mail:313269733@qq.com

(收稿日期:2020-02-27 接受日期:2020-03-22)

前言

胃癌(gastric cancer)是常见恶性肿瘤,预后不良。研究发现^[1],以表观遗传学影响转录基因的异常表达可能发挥更主要的作用。microRNAs(miRNAs)是长度22nt的内源性非编码RNA,与靶基因相互作用后调控转录及转录后基因表达^[2]。研究表明^[3],miR-195与胃癌的化疗抵抗、临床病理特征有关。罗文等^[4]研究提示miR-195可靶向调控SerpinA3促进胃癌细胞增殖、转移及侵袭。趋化因子5及其受体在介导机体免疫应答、炎症反应、细胞正常生长和分化、细胞修复中起到至关重要的作用^[5]。胃癌患者的肿瘤组织和外周血清中均可检测到较高水平的趋化因子5,提示趋化因子5表达升高可能与胃癌的发生密切相关^[6]。但关于miR-195如何影响胃癌的发生以及miR-195与趋化因子5间是否存在直接联系,目前仍无统一认识。本研究探讨miR-195靶向调控趋化因子5对胃癌细胞生物学行为影响,为胃癌的诊治提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂、细胞株及仪器

人胃癌MGC803及NCI-N87细胞系(上海生命科学研究所以)。miR-195引物序列,miR-195 mimics,miR-NC对照质粒(上海生命科学研究所以);chemokine 5一抗和二抗(Sigma公司,美

国);RNA提取试剂盒,转染试剂盒(上海玉森生物有限公司);AnnexinV-FITC,MTT试剂盒(上海玉森生物有限公司);Transwell小室、PCR试剂盒(Sigma公司,美国);荧光素酶检测试剂盒(BioVision公司,美国);酶标仪(北京普天新桥技术有限公司);ABI 7900PCR扩增仪(北京普天新桥技术有限公司);流式细胞计数仪JIMBIO FIL(上海玉森生物有限公司)。

1.2 细胞转染、分组

人胃癌MGC803及NCI-N87均培养于含10%胎牛血清和1%青霉素/链霉素的RPMI-1640培养基中,37℃、5%CO₂条件下常规培养,2~3d用0.25%胰蛋白酶消化传代。转染前1d取生长状态良好的细胞接种于6孔板中,每孔细胞数大约为4×10⁵,次日细胞密度达到50%~60%时进行转染实验。使用Lipofectamine 2000将miR-NC或miR-195-mimics转入细胞中,转染后继续培养,72h后用荧光显微镜观察转染效率。根据转染不同分为:miR-NC组(空质粒),miR-195-mimics组(模拟序列)。

1.3 RT-PCR检测miR-195 mRNA表达

利用Trizol试剂提取各组细胞总RNA,测定RNA浓度,将合格的总RNA转录成cDNA,然后进行PCR扩增。94℃预变性20min,94℃变性25s,60℃退火30s,75℃延伸30s,共35个循环。结果采用2^{-ΔΔCt}表示。引物序列见表1。

表1 引物序列
Table 1 Sequence of primers

Gene	Forward primer	Reverse primer
miR-195	5'-ATAACCTACCAGCGCCGAATTCGGGACCA-3'	5'-ACCACCGACTGTGTGACA-3'
U6	5'-TATTGACATTAGTTAAT-3'	5'-TTTAGAAGACTCCCTAGAGTA-3'

1.4 MTT实验

将各组细胞接种于96孔板中,细胞浓度调整为5×10³个/孔,培养24h,分别于培养后1、2、3、4、5d每孔加入20μL MTT溶液,继续培养4h后使用酶联免疫检测仪测定490nm处的吸光度(A)值(OD值),绘制生长曲线,每组设定3个复孔。细胞生长抑制率(IC)=(1-实验组OD值/对照组OD值)×100%。

1.5 流式细胞术

各组细胞胰酶消化,离心,PBS洗涤3遍,离心,PBS重悬,室温培养1h,75%乙醇固定20min,PBS洗涤3遍,加入10μLPI避光条件下4℃孵育1h。流式细胞仪测定Ex=488nm处的荧光强度。

1.6 Transwell小室实验

用预冷不含血清的培养基稀释Matrigel基质胶,铺于24孔板上室内,紫外线杀菌,单纯培养基孵育2h。接种细胞于24孔板上室内,密度为6×10⁴个/孔,下室加入RPMI-1640,孵育12h,洗涤死亡悬浮细胞。4%多聚甲醛固定10min,0.5%结晶紫染色10min。95%乙醇4℃条件下洗涤6h,光学显微镜下选取5个视野,计数,取平均值。

1.7 细胞划痕实验

将转染24h的细胞饥饿处理,用200μL移液器吸头顶端

沿培养板均匀地将单层细胞划出一条划痕,无血清培养基清洗2次,置于200倍倒置显微镜下拍摄0h的划痕距离,继续培养24h后再次拍摄细胞,Image J软件进行分析。

1.8 Western Blot检测chemokine 5蛋白量表达

去除培养基,PBS洗涤,加入裂解液,冰浴30min,40℃1500r/min离心5min,吸去上层液体,超声波破核,再次离心,取上层液体10μL待测。配胶,上样,电泳,转膜,封闭液封闭1h,逐次鼠抗人chemokine 5多克隆抗体、HRP标记的兔抗鼠二抗。曝光成像,Image Lab Software测定光密度。

1.9 荧光素酶实验验证miR-195与chemokine 5的靶向作用关系

按照试剂盒步骤将chemokine 5野生型或突变型的荧光素酶报告基因质粒载体单独转入细胞,培养48h后去除培养液。PBS洗涤3遍,加入细胞裂解液。4℃振荡10min,40℃1000r/min离心3min,取上清进行发光测定。

1.10 统计学方法

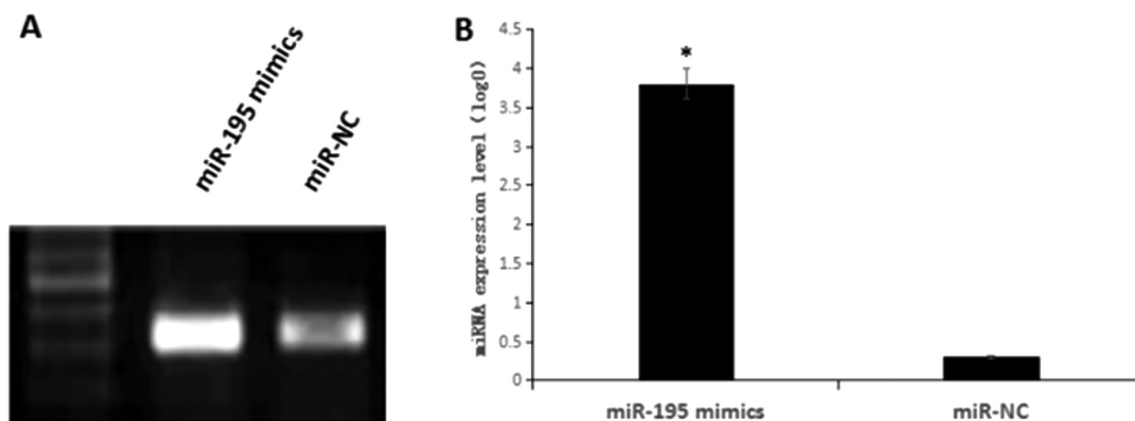
本实验数据使用SPSS11.0软件分析,计量资料($\bar{x} \pm s$)表示,组间t检验,计数资料使用%表示,组间 χ^2 检验。采用Pearson相关分析chemokine 5蛋白及miRNA-195表达的相关性。 $P < 0.05$ 认为差异具有统计意义。

2 结果

2.1 各组 miR-195 表达分析

(P<0.05)。见图 1。

miR-195-mimics 组细胞 miR-195 水平高于 miR-NC 组



A RT-PCR 检测结果;B 各组 miR-195 mRNA 相对水平 * 与 miR-195 mimics 组比较, P<0.05。

A The results of RT-PCR; B The relative level of miR-195 mRNA in group * Compared with miR-195 mimics group, P<0.05.

图 1 各组细胞 miR-195 mRNA 水平

Fig. 1 Level of miR-195 mRNA in each group

2.2 miR-195 过表达对细胞增殖、凋亡的影响

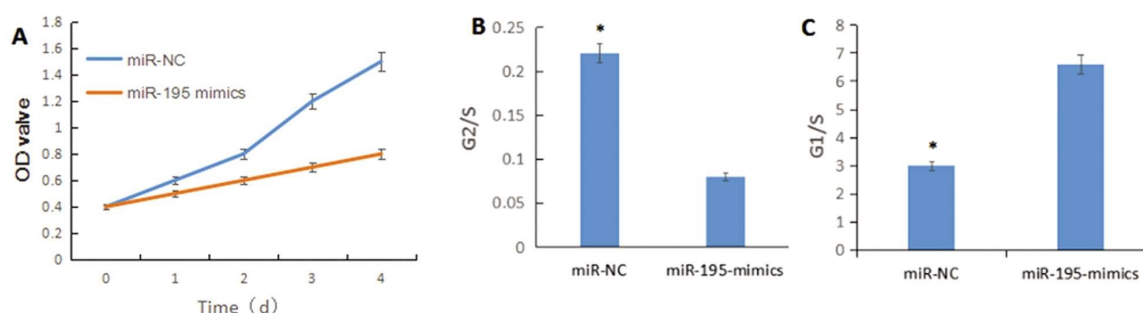
miR-195 mimics 组 G1 细胞高于 miR-NC 组, G2 期、S 期

miR-195 mimics 组第 1、2、3、4 d 细胞活力低于 miR-NC 组 细胞低于 miR-NC 组, G2/S 期细胞比值低于 miR-NC 组 (P<0.05)。见图 2。

表 2 流式细胞术各组 G1、G2、S 期细胞数 (%)

Table 2 Number of cells in G1, G2 and S phase of flow cytometry (%)

	miR-NC	miR-195 mimics
G1	69.86± 11.86	86.91± 24.46
G2	4.44± 0.11	0.01± 0.05
S	25.38± 2.84	12.89± 5.16



A MTT 检测 miR-195 mimics 转染后细胞增殖能力; B-D 流式细胞术 miR-195 mimics 转染后细胞凋亡情况, G1/S、G2/S 期细胞比值 * 与 miR-195 mimics 组比较, P<0.05。

A MTT was used to detect proliferation of miR-195 mimics after transfection; B-D apoptosis of miR-195 mimics after transfection by flow cytometry, G1/S, G2/S cell ratio * Compared with miR-195 mimics group, P<0.05.

图 2 miR-195 过表达对细胞增殖、凋亡的影响

Fig.2 Effect of over-expression of miR-195 on cell increment and apoptosis

2.3 miR-195 过表达对细胞迁移、侵袭影响

miR-195 mimics 组划痕距离大于 miR-NC 组 (P<0.05)。见图 3A。miR-195 mimics 组细胞侵袭数低于 miR-NC 组 (P<0.05)。见图 3B。

2.4 过表达 miR-195 对 chemokine 5 蛋白的影响

miR-195 mimics 组细胞 chemokine 5 蛋白水平低于

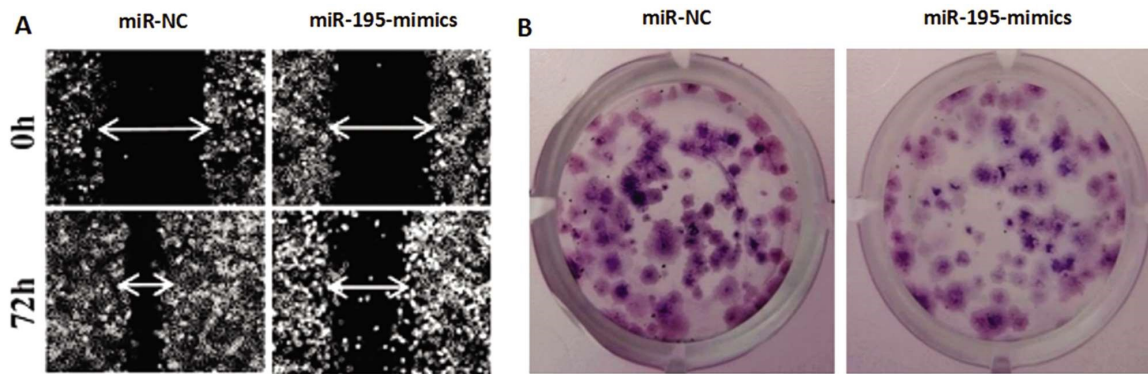
miR-NC 组 (P<0.05), 见图 4B。Pearman 相关分析显示, 转染 miR-195 mimics 前后细胞中 miR-195 mRNA 水平与 chemokine 5 蛋白水平负相关 (r=-0.326, P=0.00)。见图 4A。

2.5 miR-195 下游基因的预测及鉴定

生物学信息分析表明, miR-195 与 chemokine 5 之间存在连续的结合片段, 见图 4B。荧光素酶实验验证结果显示, 转染

miR-195 mimic 和野生型 chemokine 5 序列质粒与单独转染野生型 chemokine 5 序列质粒比较,荧光素酶活性明显下降($P<0.01$)。见图 4A。上述结果表明 miR-195 直接靶向作用于 chemokine 5。

01)。见图 4A。上述结果表明 miR-195 直接靶向作用于 chemokine 5。

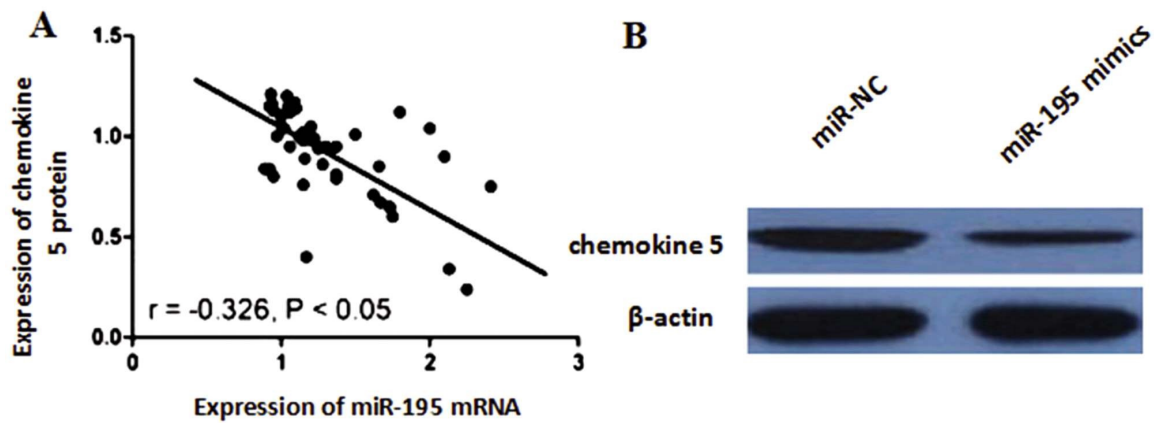


A, 各组划痕距离 (100×); B, 各组贴在膜底面的细胞数 (100×)

A, the scratch distance of each group (100×); B, the number of cells of each group attached to the bottom of the membrane (100×)

图 3 miR-195 对细胞迁移、侵袭影响

Fig.3 Effect of miR-195 on cell migration and invasion

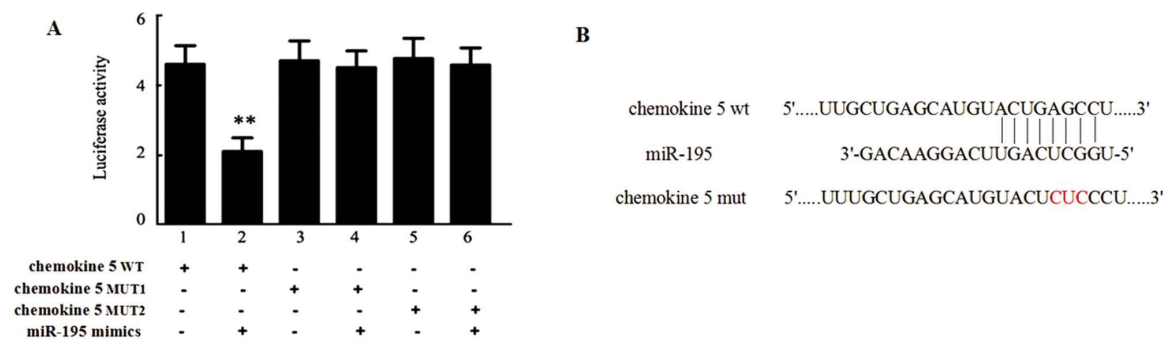


A, miR-195 与 chemokine 5 负相关; B, 各组细胞 chemokine 5 蛋白含量

A, miR-195 negatively correlated with chemokine5; B, content of chemokine5 protein in each group

图 4 过表达 miR-195 对 chemokine 5 蛋白的影响

Fig.4 Effect of over-expression of miR-195 on chemokine5 protein



A 双荧光素酶报告结果; B miR-195 与 chemokine 5 的靶向结合位点预测图。*与 chemokine 5WT 组比较, $P<0.01$

A double luciferase report results; B miR-195 and chemokine 5 target binding site prediction map. **Compared with chemokine 5wt group, $P<0.01$

图 5 miR-195 与 chemokine 5 的靶向关系

Fig.5 Targeting relationship between miR-195 and chemokine 5

3 讨论

胃癌是一种多基因参与的肿瘤,早期易发生转移,恶性程度较高。因此,探讨肿瘤细胞的侵袭、增殖对肿瘤的诊治意义重

大。研究表明多种 miRNA 参与胃癌细胞增殖、迁移、侵袭中发挥重要作用^[6-8]。

miR-195 位于人 17 号染色体,通过调控其靶基因,影响信号传导途径,影响各种肿瘤的致癌性。例如 miR-195 通过靶向

cyclin D3 使肺癌细胞阻滞在 G1 期,通过调控 survivin 促进肺癌细胞凋亡^[9]。研究表明^[10]miR-195 在肝癌患者血清中的表达水平与对照组显著下调,在肝癌细胞系中的表达水平也显著低于对照 THLE-3 细胞,且过表达 miR-195 可抑制肝癌细胞增殖,而抑制 miR-195 则促进肝癌细胞增殖,提示 miR-195 在肝癌进展中扮演抑癌基因的角色。miR-195 在结直肠癌组织中表达低于其正常对照组,其通过靶向 FGF2 抑制大肠癌细胞增殖,靶向 WNT3A 抑制结肠癌的增殖和转移^[11]。miR-195 在 AML 中低表达,且 PTEN、miR-195 表达的与 AML 呈负相关^[12]。另有研究表明^[13],miR-195 低表达能促进乳腺癌细胞增殖,提高侵袭力。有研究指出^[15],miR-195 在胃癌伴淋巴结转移者中表达水平比无淋巴结转移者明显降低。因此,探讨 miR-195 在胃癌中的表达及调控细胞生物学行为的内在机制对了解肿瘤的发生和寻找特异性干预靶点具有十分重要的临床意义。

本研究通过构建体外稳定过表达 miR-195 载体,并转染胃癌细胞后证实转染效率较满意;进一步研究表明,转染 miR-195 后的肿瘤细胞增殖、侵袭及迁移能力降低,提示 miR-195 与胃癌存在一定的联系,这与其他的研究结果基本一致^[16]。miR-195 遵循 microRNAs 在真核细胞内的作用特点,即与转录基因特异性位点结合,发挥沉默转录基因翻译蛋白的功能,产生不同的生物学效应,即抑制胃癌细胞的增殖,促进凋亡,实现肿瘤细胞的自我代谢^[17]。与胃癌关系较密切的趋化因子家族成员主要有 CXC、CC、CX3C 亚型及相应受体,发挥促进胃癌细胞的增殖、侵袭及转移行为^[18],部分趋化因子还可诱导肿瘤细胞产生耐药性或耐药性突变,影响肿瘤化疗效果^[19],并且可介导雷帕霉素靶蛋白(mTOR)、JAK/STAT 等多条信号通路的激活^[20]。趋化因子 5 属于小分子细胞因子蛋白家族,可招募大量免疫细胞^[21]如 T 淋巴细胞、抗原提呈细胞,和炎症细胞^[22]如中性粒细胞、巨噬细胞和成纤维细胞等,进而释放大量炎症因子^[23],如白细胞介素-1(Interleukin 1, IL-1)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、干扰素 γ (interferon- γ , INF- γ)等,和细胞因子^[24]如血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)等,产生有利于肿瘤细胞增殖和侵袭的微环境,抑制凋亡,诱导新生血管提供肿瘤细胞恶性增殖的营养^[25,26];同时可介导免疫逃逸降低机体免疫系统的监视,或增加肿瘤细胞表面分子变异,避免被抗原提呈细胞识别^[27,28]。达成利帕拉提·艾斯卡研究表明^[29],CCL5 与 CCR5 结合后能增强涎腺腺样囊性癌(salivaryadenoid cystic carcinoma, SACC)细胞的侵袭能力。梁亮研究表明^[30],与透明细胞癌患者血清 CCL5 表达水平高于正常人群,且与患者的临床病理特征及预后密切相关。另外学者研究发现^[31],CCL5 可下调 miR-200b 促进人软骨肉瘤 EGFR 依赖的血管生成,VEGF 合成。miR-195 遵循 microRNAs 在真核细胞内的作用特点,即与转录基因特异性位点结合,发挥沉默转录基因翻译蛋白的功能,产生不同的生物学效应。笔者通过在线生物学信息分析表明 chemokine 5 为 miR-195 的下游靶基因的可能性较大,进一步研究结果表明,miR-195 过表达组 chemokine 5 水平明显低于对照组($P < 0.05$),相关性分析表明,两者呈负相关。荧光素酶实验进一步验证结果显示,miR-195 直接靶向作用于 chemokine 5。分析原因可能与 miR-195 下调 chemokine 5 蛋白

的表达,进而调控胃癌细胞生物学行为。

综上所述,本次研究初步阐明了 miR-195 可能通过下调趋化因子 5 抑制胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭,miR-195/趋化因子 5 轴可能是胃癌治疗潜在分子靶点。本研究也存在一定的不足之处,我们并未对其他靶基因与相关通路研究,今后我们对相关通路分析、验证,希望为胃癌的诊治提供思路。

参考文献(References)

- [1] 董环,郝冉,宋园园,等.慢性疼痛相关 MicroRNA 的研究进展[J].实用医学杂志,2018,34(8):1390-1393
- [2] 张杰,庞利群,吴昆,等.胃癌患者癌组织与血浆中 miR-195 的表达及临床病理意义[J].江苏大学学报(医学版),2016,26(3):249-253
- [3] 汤旭山,张建清,许春蕾,等. miR-93、miR-195、miR-196a 表达与胃癌患者化疗疗效关系研究 [J]. 新疆医科大学学报,2017,40(8):1028-1034
- [4] 罗文,李群芳,严超,等. miR-195 通过靶向调控 SerpinA3 促进胃癌细胞增殖、转移及侵袭的实验研究[J]. 实用医学杂志,2019,35(23):3588-3592
- [5] 王鹏飞,金劲激,胡畅远,等. 胃癌组织中趋化因子及其受体相关变化及作用分析[J]. 温州医科大学学报,2019,49(3):194-197
- [6] Tian QG, Tian RC, Liu Y, et al. The role of miR-144/GSPT1 axis in gastric cancer [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22 (13): 4138-4145
- [7] Adami B, Tabatabaeian H, Ghaedi K, et al. miR-146a is deregulated in gastric cancer[J]. J Cancer Res Ther, 2019, 15(1): 108-114
- [8] Li Y, Qin C. MiR-1179 inhibits the proliferation of gastric cancer cells by targeting HMGB1[J]. Hum Cell, 2019, 32(3): 352-359
- [9] Chae DK, Park J, Cho M, et al. MiR-195 and miR-497 suppress tumorigenesis in lung cancer by inhibiting SMURF2-induced TGF- β receptor I ubiquitination[J]. Mol Oncol, 2019, 13(12): 2663-2678
- [10] Guo J, Fang W, Sun L, et al. Ultraconserved element uc.372 drives hepatic lipid accumulation by suppressing miR-195/miR4668 maturation[J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 612
- [11] Umemura T, Kuroki C. Circulating microRNAs as biomarkers of colorectal cancer[J]. Rinsho Byori, 2015, 63(3): 336-346
- [12] Dong L, Bi KH, Huang N, et al. Biological analysis of chronic lymphocytic leukemia: integration of mRNA and microRNA expression profiles[J]. Genet Mol Res, 2016, 15(1): 154-156
- [13] Yang L, Cai Y, Zhang D, et al. miR-195/miR-497 Regulate CD274 Expression of Immune Regulatory Ligands in Triple-Negative Breast Cancer[J]. J Breast Cancer, 2018, 21(4):371-381
- [14] Mao Y, Zhao Q, Yin S, et al. Genome-wide expression profiling and bioinformatics analysis of deregulated genes in human gastric cancer tissue after gastroscopy [J]. Asia Pac J Clin Oncol, 2018, 14 (2): e29-e36
- [15] 彭美茜,徐丽云,杨丹,等. Droscha 通过调控 miR-195-5P 促进胃癌细胞的迁移和侵袭[J]. 肿瘤,2018,38(10):925-932
- [16] Wang CQ. MiR-195 reverses 5-FU resistance through targeting HMGA1 in gastric cancer cells[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23 (9): 3771-3778
- [17] 汤旭山,张建清,许春蕾,等. miR-93、miR-195、miR-196a 表达与胃癌患者化疗疗效关系研究 [J]. 新疆医科大学学报,2017,40(8):1028-1034
- [18] 杨帅,刘相良,李理,等. 趋化因子及其受体在胃癌中的研究进展 [J]. 中国普外基础与临床杂志,2018,25(3):365-371(下转第 2457 页)

- cer[J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2010, 19(10): 1171-1173
- [16] Wang-Jing, Guo Wei-guang, Teng Lin, et al. The 32 cases of diabetic foot treated with scorpion ointment and MEBO[J]. Chinese Traditional Medicine, 2014, 12(17): 33-34
- [17] Xia Kun-peng, Pang Jing, Zhang Miao, et al. Clinical observation on pressure ulcer treated by bangci electro-acupuncture with quanxie ruangao[J]. World Latest Medicine Information, 2018, 18(55): 163-164
- [18] Wang Jing, Zhang, Hai-li, Guo Wei-guang, et al. Evaluation of the Effect of Scorpion Ointment Combined with Asiaticoside Ointment in the Treatment of Hypertrophic Scar [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2019, 19(22): 4232-4237
- [19] Zhang Jie-xia, Zhou Ling. Clinical observation on the treatment of 120 cases of dryness and lung type nose haggard with scorpion ointment[J]. Chin J Otorhinolaryngol Integ Med, 2016, 24(2): 131-134
- [20] Zhang Dan-dan, Zhang Han, Zhao Jiu-feng, et al. Treatment of Chronic Ulcer in Diabetic Rats with Asiaticosides [J]. Chin Pharm J, 2017, 52(08): 643-648
- [21] He Xuan-ling, Wang Xing-zhi, Huang Zheng-de. Experimental study on Dragon's blood to promote the healing of diabetic skin ulcer[J]. Journal of New Chinese Medicine, 2011, 43(8): 144-147
- [22] Kulkarni Y S, Emmi S V, Dongargaon T N, et al. Wound healing effect of Vimlapanakarma with Jatyadi tailam in diabetic foot [J]. Anc Sci Life, 2015, 34(3): 171-174
- [23] Hicks C W, Canner J K, Karagozlu H, et al. The Society for Vascular Surgery Wound, Ischemia, and foot Infection (WIFI) classification system correlates with cost of care for diabetic foot ulcers treated in a multidisciplinary setting[J]. J Vasc Surg, 2018, 67(5): 1455-1462
- [24] Game F. Treatment strategies for neuroischaemic diabetic foot ulcers [J]. Lancet Diabetes Endocrinol, 2018, 6(3): 159-160
- [25] Kallio M, Vikatmaa P, Kantonen I, et al. Strategies for free flap transfer and revascularisation with long-term outcome in the treatment of large diabetic foot lesions[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2015, 50(2): 223-230
- [26] Berlanga A J, Armstrong D, Schultz G, et al. Chronic wounds with emphasis in diabetic foot ulcers [J]. Biomed Res Int, 2014, 26(11): 352-357
- [27] Albert, Stephen. Cost-effective management of recalcitrant diabetic foot ulcers[J]. Clinics in podiatric medicine and surgery, 2002, 19(4): 483-491
- [28] Ma Qiong, Chen Li-hua, Wang Yan, et al. Clinical observation of 810 nm diode laser combined with skin care in the treatment of facial acne vulgaris[J]. Journal of Dali University, 2015, 14(10): 42-44
- [29] Xu Jin-bo, Chen Min-yuan, Xu Hong-tao, et al. Emodin Inhibits the Angiogenesis of Pancreatic Cancer by Regulating the TGF- β 1 and Smad4[J]. Journal of Medical Research, 2017, 46(10): 162-165
- [30] Zongguo Sun, Qi Xie, Jie Pan, et al. Cadmium regulates von Willebrand factor and occludin expression in glomerular endothelial cells of mice in a TNF- α -dependent manner[J]. Renal Failure, 2019, 41(1): 354-362

(上接第 2451 页)

- [19] Izumi D, Ishimoto T, Miyake K, et al. CXCL12/CXCR4 activation by cancer-associated fibroblasts promotes integrin β 1 clustering and invasiveness in gastric cancer[J]. Int J Cancer, 2016, 138(5): 1207-1219
- [20] Park JY, Sung JY, Lee J, et al. Polarized CD163+ tumor-associated macrophages are associated with increased angiogenesis and CXCL12 expression in gastric cancer[J]. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2016, 40(3): 357-365
- [21] Yu C, Zhang Y. Characterization of the prognostic values of CXCR family in gastric cancer[J]. Cytokine, 2019, 123(7): 154785
- [22] Naito Y, Yamamoto Y, Sakamoto N, et al. Cancer extracellular vesicles contribute to stromal heterogeneity by inducing chemokines in cancer-associated fibroblasts[J]. Oncogene, 2019, 38(28): 5566-5579
- [23] Sebrell T A, Hashimi M, Sidar B, et al. A Novel Gastric Spheroid Co-culture Model Reveals Chemokine-Dependent Recruitment of Human Dendritic Cells to the Gastric Epithelium [J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2019, 8(1): 157-171.e3
- [24] Aldinucci D, Casagrande N. Inhibition of the CCL5/CCR5 Axis against the Progression of Gastric Cancer [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(5): 4123-4124
- [25] Hiramatsu S, Tanaka H, Nishimura J, et al. Neutrophils in primary gastric tumors are correlated with neutrophil infiltration in tumor-draining lymph nodes and the systemic inflammatory response [J]. BMC Immunol, 2018, 19(1): 13
- [26] 韩璐, 周娟娟, 孙吉瑞, 等. 趋化因子受体 CCR1 及 CCR5 在胃癌中的表达及临床意义[J]. 中华保健医学杂志, 2018, 20(2): 105-108
- [27] 辛琪, 张娜, 温丽坤, 等. 趋化因子受体 CXCR7 通过 VEGF 促进胃癌生长[J]. 世界华人消化杂志, 2018, 26(11): 639-647
- [28] 张彬, 姜红, 刘松, 等. 趋化因子受体 7 在胃癌组织中的表达情况及与临床特征的关系[J]. 癌症进展, 2019, 17(10): 1215-1218
- [29] 达成利帕拉提·艾斯卡, 比力克孜·玉素甫. 趋化因子 CCL5 在涎腺腺样囊性癌患者肿瘤组织和血清中的表达及临床意义[J]. 实用癌症杂志, 2019, 34(6): 891-894
- [30] 梁亮, 邓霄, 聂治军, 等. 趋化因子 CCL5 表达与肾透明细胞癌病理特征及预后的相关性研究 [J]. 现代肿瘤医学, 2018, 26(3): 405-408
- [31] Liu GT, Chen HT, Tsou HK, et al. CCL5 promotes VEGF-dependent angiogenesis by down-regulating miR-200b through PI3K/Akt signaling pathway in human chondrosarcoma cells [J]. Oncotarget, 2014, 5(21): 10718-10731