

• 论著—实验研究 •

circularCUX1 在肝癌细胞程序性死亡因子 1 配体 耐药机制中的作用研究*

程世亮¹ 李萌¹ 郑文¹ 糕金花¹ 郭志俊¹

[摘要] 目的:探究 circularCUX1(circCUX1)对肝癌细胞免疫逃逸的作用及其相关机制。方法:收集 45 例肝癌切除肿瘤组织,qRT-PCR 检测肿瘤组织程序性死亡因子 1 配体(PD-L1)的表达水平,circRNA-seq 分析 PD-L1 高表达和低表达肿瘤组织中 circRNA 的差异表达,并比较 circCUX1 与 PD-L1 表达的相关性。在细胞实验中采用 qRT-PCR 和 Western blot 检测 HCCLM3、HepG2、SMMC-7721 细胞 circCUX1 和 PD-L1 的表达水平,通过 NK 细胞毒性实验检测对 NK 细胞的敏感性。将 HCCLM3 细胞分为 si-NC 组(转染 si-NC)和 si-circCUX1 组(转染 si-circCUX1),检测两组细胞 circCUX1 和 PD-L1 的表达水平以及对 NK 细胞的敏感性。结果:在肝癌患者肿瘤组织中,与 PD-L1 低表达肿瘤组织比较,PD-L1 高表达肿瘤组织有 282 个 circRNA 表达上调,307 个 circRNA 表达下调,其中 circCUX1 与 PD-L1 的表达水平呈正相关($R=0.6289, P<0.05$)。与 HepG2 细胞和 SMMC-7721 细胞比较,HCCLM3 细胞中 circCUX1 的表达水平升高($P<0.05$),PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平升高($P<0.05$),其对 NK 细胞的敏感性降低($P<0.05$)。与 si-NC 组比较,circCUX1 组 circCUX1 的表达水平降低($P<0.05$),PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平降低($P<0.05$),其对 NK 细胞的敏感性增加($P<0.05$)。结论:在肝癌组织中 circCUX1 与 PD-L1 的表达呈正相关,circCUX1 通过影响 PD-L1 表达介导肝癌细胞的免疫逃逸。

[关键词] 肝细胞癌;环状 RNA;程序性死亡因子 1 配体;免疫逃逸;耐药

DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2022.09.04

[中图分类号] R735.7 [文献标志码] A

Study on the role of circularCUX1 in the mechanism of drug resistance mediated by programmed death factor 1 ligand in hepatocellular carcinoma cells

CHENG Shiliang LI Meng ZHENG Wen ZHUO Jinhua GUO Zhijun

(Department of Laboratory Medicine, the Third Shandong Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan, 250031, China)

Corresponding author: CHENG Shiliang, E-mail: chengshiliang2012@126.com

Abstract Objective: To explore the effect of circularCUX1(circCUX1) on the immune escape of hepatocellular carcinoma cells and its related mechanism. **Methods:** Forty-five cases of hepatocellular carcinoma resected tumor tissues were collected, and the expression level of programmed death factor 1 ligand (PD-L1) in tumor tissues was detected by qRT-PCR. circRNA-seq was used to analyze the circRNA expression difference between the high and low expression of PD-L1, and the correlation between circCUX1 and PD-L1 expression was compared. In cell experiments, the expression levels of circCUX1 and PD-L1 in HCCLM3, HepG2 and SMMC-7721 cells were detected by qRT-PCR and Western blot, and the sensitivity to NK cells was detected by NK cell toxicity assay. HCCLM3 cells were divided into si-NC group(transfected with si-NC) and si-circCUX1 group(transfected with si-circCUX1), and the expression levels of circCUX1 and PD-L1 and their sensitivity to NK cells were detected. **Results:** In tumor tissues of hepatocellular carcinoma patients, compared with tumor tissues with low PD-L1 expression, 282 circRNA with high PD-L1 expression were up-regulated and 307 circRNA were down-regulated, among which circCUX1 was positively correlated with PD-L1 expression level($R=0.6289, P<0.05$). Compared with HepG2 cells and SMMC-7721 cells, the expression level of circCUX1 and the mRNA and protein expression of PD-L1 in HCCLM3 cells increased($P<0.05$), the sensitivity of HCCLM3 cells to NK cells decreased($P<0.05$).

*基金项目:山东省自然科学基金面上项目(No:ZR2021MH110)

¹山东大学附属山东省立第三医院检验科(济南,250031)

通信作者:程世亮, E-mail: chengshiliang2012@126.com

引用本文:程世亮,李萌,郑文,等. circularCUX1 在肝癌细胞程序性死亡因子 1 配体耐药机制中的作用研究[J]. 中国中西医结合消化杂志, 2022, 30(9): 631-637. DOI:10.3969/j.issn.1671-038X.2022.09.04.

Compared with si-NC group, circCUX1 group had lower circCUX1 expression ($P < 0.05$), lower PD-L1 mRNA and protein expression ($P < 0.05$), and higher sensitivity to NK cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** circCUX1 is positively correlated with the expression of PD-L1 in hepatocellular carcinoma cells, and circCUX1 mediates the immune escape of HCC cells by affecting the expression of PD-L1.

Key words hepatocellular carcinoma; circular RNA; programmed death factor 1 ligand; immune escape; drug resistance

据近期世界卫生组织数据显示,肝癌是全球第四大癌症死亡原因^[1-3]。多数癌症患者在确诊时已处于中晚期,从而错过了最佳的治疗时机^[4]。此外,肝癌细胞的耐药性是制约药物疗效的一大难点^[5],因此探索新的治疗靶点对于肝癌的治疗至关重要。

环状 RNA(circular RNA, circRNA)是一种特殊的 RNA 分子,由多个外显子反向剪接形成的没有 5'和 3'末端的非编码 RNA,在真核细胞中含量丰富^[6-7]。越来越多的证据证实, circRNA 在多种人类疾病,尤其是在癌症的发生和发展过程中发挥着重要作用^[8]。有研究表明,在甲状腺癌中发现 circ-ITCH、circRAPGEF5、circ_0025033、circZFR 和 circRNA_102171 的表达上调,暗示这些 circRNA 参与了甲状腺癌的进程^[9]。Sun 等^[10]的研究证明 circ-SFMBT2 在恶性增殖的胃癌组织中表达升高。Han 等^[11]的研究揭示抑制肝癌 circ-MTO1 表达可以缓解肝癌细胞的恶性进展。circCUX1 作为 circRNA 的一种,在对放疗有抵抗力的下咽鳞状细胞癌患者中表达上调,且与患者的不良预后相关^[12]。circCUX1 通过调节 microRNA-338-3p/PHF20 信号轴和糖酵解途径促进神经母细胞瘤的发展^[13]。程序性死亡因子 1(programmed death factor 1, PD-1)/程序性死亡因子 1 配体(programmed death factor 1 ligand, PD-L1)信号通路可抑制 T 细胞的增殖与活化,是目前肿瘤免疫治疗的研究热点,一些 microRNA 可以通过干扰免疫攻击相关分子的表达来影响癌症的免疫监视和免疫逃逸^[14]。而 circRNA 在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发病机制中的分子机制尚未完全阐明。本研究旨在探索不同 PD-L1 表达水平下肝癌组织中的差异 circRNA,并寻找与 PD-L1 最相关的 circRNA,研究其是否通过调节 PD-L1 的表达参与免疫逃逸,为研究肝癌的免疫疗法提供参考资料。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取 2018 年 6 月—2021 年 3 月于我院接受手术切除的肝癌肿瘤组织 45 例。术中取材后的标本立即置于液氮冷冻,随后于 -80°C 冰箱保存备检。所有患者术前未接受放化疗,且均签署知情

同意书。

1.2 细胞和主要试剂

HCCLM3、HepG2、SMMC-7721 肝癌细胞系购自中科院上海细胞库;RPMI1640 培养液和 FBS 购自 Gibco 公司; si-NC、si-circCUX1、Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒购自 Invitrogen 公司, Trizol、逆转录试剂盒和 SYBR Green 试剂购自上海翌圣公司, Percoll 分离液和基质胶购自美国 Sigma 公司, NK 细胞杀伤活性检测试剂购自 Promega 公司; PD-L1 抗体、GAPDH 抗体购自英国 abcam 公司, PD-L1、circCUX1、GAPDH 的 qPCR 引物由上海生工生物工程有限公司合成。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养 HCCLM3、HepG2、SMMC-7721 肝癌细胞均使用含 10% 胎牛血清 RPMI 1640 培养液培养, NK-92 细胞培养于含 20% 胎牛血清及 1% 青链霉素混合液的 L500 培养液中,均置于 37°C 、5% CO_2 的恒温细胞培养箱中培养,根据细胞生长密度更换新鲜的培养液,待细胞生长到 80%~90% 时进行消化传代,取对数生长期的细胞进行实验。

1.3.2 细胞转染 将以 3.5×10^6 个对数生长期的 HCCLM3 细胞接种于 6 孔板中,待细胞生长密度至 65%~75% 时,按照 Lipofectamine™ 2000 转染试剂盒说明书分别转染 si-NC、si-circCUX1,设为 si-NC 组(转染 si-NC)和 si-circCUX1 组(转染 si-circCUX1)。

1.3.3 NK 细胞毒性实验 以培养 24 h 后的 NK-92 细胞为效应细胞,以不同方式处理的肿瘤细胞为靶细胞,600 r/min 离心, PBS 洗涤 2 次,分别按 2:1、5:1、10:1 效靶比加入 96 孔板,每组设 3 个复孔。 37°C 、5% CO_2 培养箱中培养 3 h。分别加 10 μL 裂解液培养 1 h。加反应底物室温避光放置 30 min,加反应终止液终止反应,酶标仪测吸光度 $A_{450\text{nm}}$ 值。计算 NK 细胞的杀伤活性,实验重复 3 次,取平均值。NK-92 细胞杀伤率(%) = (实验组 $A_{\text{平均值}}$ - 靶细胞自然释放组 $A_{\text{平均值}}$ - 效应细胞自然释放组 $A_{\text{平均值}}$) / (靶细胞最大释放组 $A_{\text{平均值}}$ - 靶细胞自然释放组 $A_{\text{平均值}}$) $\times 100\%$

1.3.4 qRT-PCR 法检测肿瘤组织或细胞中 PD-L1、circCUX1 的表达 Trizol 试剂提取肝癌组织

样本、肝癌细胞株 HCCLM3、HepG2、SMMC-7721 中的总 RNA。按照 qRT-PCR 试剂盒实验说明,依次进行逆转录和 qRT-PCR 实验。qRT-PCR 反应体系组成为: cDNA 模板 2 ng, 上下游引物各 0.4 μL, SYBR Primix Ex Taq™ 5 μL, 双蒸水补充至 10 μL。qRT-PCR 反应条件: 95℃ (30 s) 预变性后, 变性 95℃ (5 s), 退火 55℃ (30 s), 72℃ (15 s), 40 个循环周期。扩增结果根据 2^{-ΔΔCt} 法计算 mRNA 的相对表达量。qRT-PCR 引物序列: GAPDH-F, 5-AAT GGG CAG CCG TTA GGA AA-3, GAPDH-R, 5-GCG CCC AAT ACG ACC AAA TC-3; PD-L1-F, 5-TTG CTG AAC GCC CCA TAC AA-3, PD-L1-R, 5-TGT CCC GTT CCA ACA CTG AG-3; circCUX1-F, 5-CCA AGA GGG AGC TCC AAG TG-3, circCUX1-R, 5-CTG TTC TGT GGT GTC TCG CT-3。

1.3.5 Western blot 法检测肿瘤组织或细胞中 PD-L1 的表达 收集各组细胞, 使用 RIPA 裂解提取总蛋白, 通过 BCA 方法进行蛋白定量。样品变性后通过 SDS-PAGE 凝胶电泳分离等量蛋白转至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶 4℃ 封闭 1 h, TBST 洗膜 5 min, 3 次, 加入 PD-L1 抗体 (1 : 1000), 4℃ 摇床孵育过夜。TBST 洗膜 5 min, 3 次, 加入 HRP 标记的羊抗兔的二抗 (1 : 1000) 37℃ 孵育 1 h, TBST 洗膜 5 min, 5 次。显影曝光, 利用 Image-Pro Plus 图像分析系统对蛋白条带的灰度值进行分析。实验重复 3 次, 取平均值。

1.3.6 circRNA-seq 分析 使用 Trizol 法提取患

者肿瘤组织的总 RNA, 75% 乙醇清洗 RNA 沉淀 2 次, 晾干后溶于 RNase/DNase-free water 并使用酶标仪检测 RNA 的浓度和纯度。使用 RNase R 去除线性 RNA, 对 circRNA 进行扩增并片段化。使用 NEBNext® Ultra™ Directional RNA Library Prep Kit 构建 RNAseq 文库, Illumina HiSeq™ 3000 进行测序。HTSeq 用于 circRNA 的基因计数。RPM (reads Per Million mapped reads) 计算 circRNA 的表达量。DEGseq 计算 circRNA 的差异表达, 筛选标准是 $q < 0.05$, foldchange > 2.0 或 < 0.5 。所有 RNA-seq 分析均在 NovelBio Ltd (中国上海) 进行。

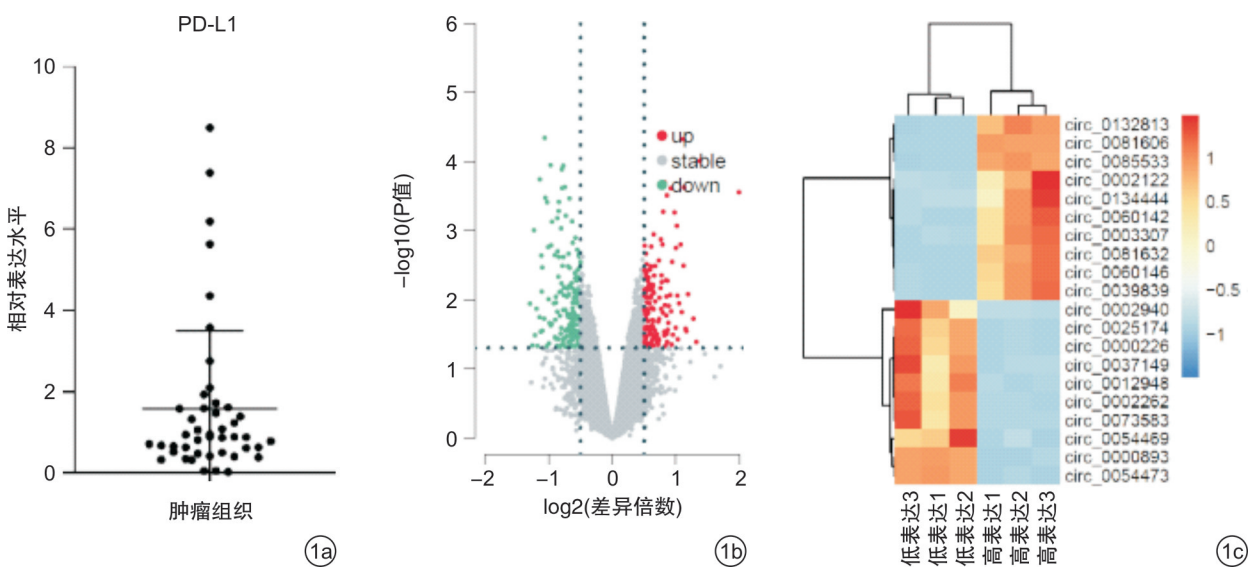
1.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 和 GraphPad Prism 8.0 软件进行数据统计分析。符合正态分布的数据以 $\bar{X} \pm S$ 表示, 组间两两比较采用 LSD-t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PD-L1 高表达和低表达肝癌组织中 circRNA 的表达比较

采用 qRT-PCR 法检测 45 例肝癌患者肿瘤组织中 PD-L1 的表达水平, 见图 1a。根据 PD-L1 的表达差异, 从表达水平前 1/3 和后 1/3 中各随机挑选 3 例进行 circRNA-seq 分析。结果显示, 与 PD-L1 低表达肿瘤组织比较, PD-L1 高表达肿瘤组织中 282 个 circRNA 表达水平显著升高, 307 个 circRNA 表达水平显著降低, 见图 1b 和 1c。



1a: 肝癌组织中 PD-L1 的相对表达水平; 1b: 高表达 PD-L1 肿瘤组织与低表达 PD-L1 肿瘤组织中差异 circRNA 火山图; 1c: 10 个显著上调和下调的差异 circRNA 热图。

图 1 PD-L1 高表达和低表达肝癌组织中 circRNA 的表达比较

2.2 肝癌组织中 circCUX1 和 PD-L1 表达水平的相关性

在 PD-L1 高表达肿瘤组织上调 circRNA 中, 选择显著上调前 3 的 circRNA 进行验证。采用 qRT-PCR 法检测 circ0081606、circ0132813 和

circ0085533 的表达水平, 并与 PD-L1 的表达水平进行相关性分析。结果显示, 肝癌组织中 PD-L1 与 circ0081606 (circCUX1) 的表达呈显著正相关 ($R=0.6289, P<0.05$), 见图 2。

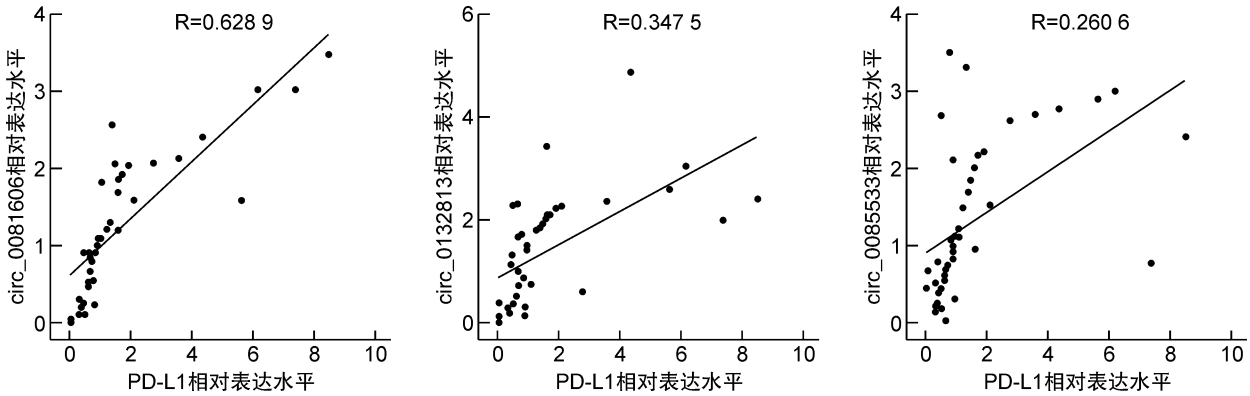


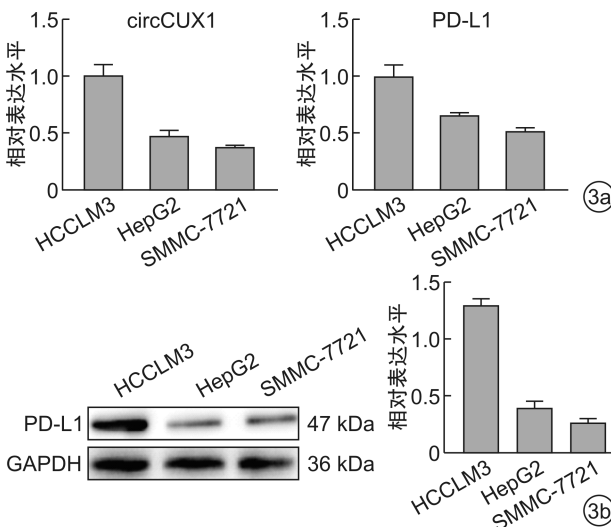
图 2 肝癌组织中 PD-L1 和 circ0081606、circ0132813、circ0085533 表达水平的相关性分析

2.3 肝癌细胞系中 circCUX1 和 PD-L1 表达水平的相关性

采用 qRT-PCR 检测 HCCLM3、HepG2 和 SMMC-7721 细胞中 circCUX1 的表达水平, 结果显示, 与 HepG2 细胞和 SMMC-7721 细胞比较, HCCLM3 细胞中 circCUX1 的表达水平升高 ($P<0.05$)。采用 qRT-PCR 和 Western blot 检测 HCCLM3、HepG2 和 SMMC-7721 细胞中 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平, 结果显示, 与 HepG2 细胞和 SMMC-7721 细胞比较, HCCLM3 细胞中 PD-L1 的表达水平升高 ($P<0.05$)。见图 3。

2.4 不同肝癌细胞系对 NK 细胞的敏感性比较

采用 NK 细胞毒性实验检测 HCCLM3、HepG2 和 SMMC-7721 细胞对 NK 细胞的敏感性。结果显示, 与 HepG2 细胞和 SMMC-7721 细胞比较, HCCLM3 细胞在 NK : 肿瘤细胞为 2 : 1、5 : 1 和 10 : 1 时, 对 NK 细胞的敏感性均降低 ($P<0.05$)。见图 4。



3a: qRT-PCR 检测 circCUX1 和 PD-L1 的表达; 3b: Western blot 检测 PD-L1 蛋白的表达。

图 3 3 种肝癌细胞系中 circCUX1 和 PD-L1 表达水平的比较

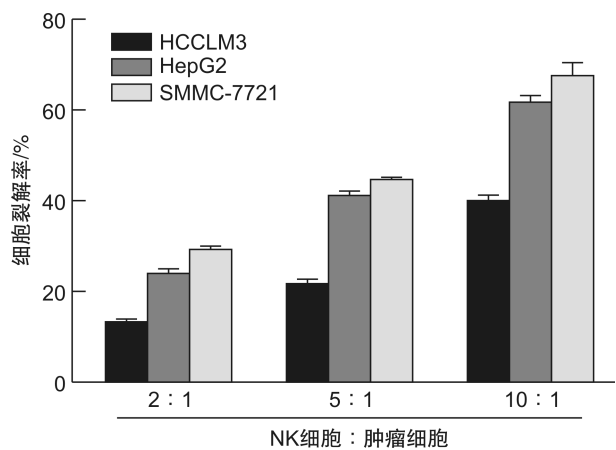
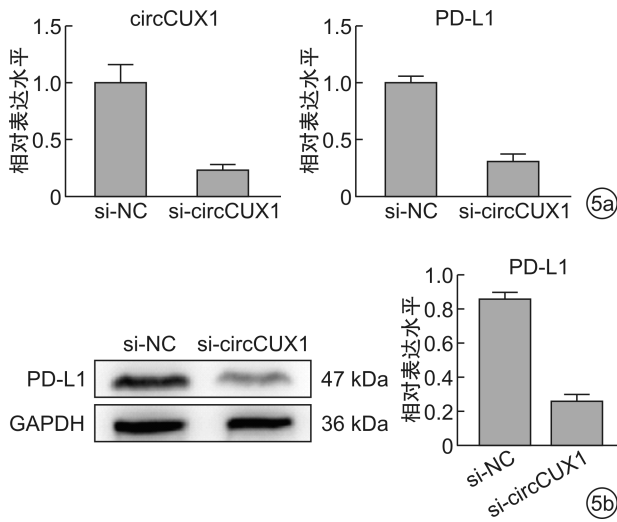


图 4 3 种肝癌细胞系对 NK 细胞的敏感性比较

2.5 沉默 circCUX1 对 PD-L1 mRNA 和蛋白表达水平的影响

根据 HCCLM3、HepG2 和 SMMC-7721 细胞中 circCUX1 的表达水平, 选择表达较高的 HCCLM3 细胞进行后续的 circRNA 干扰实验。将 si-NC 和 si-circCUX1 分别转染至 HCCLM3 细胞中, 采用 qRT-PCR 和 Western blot 检测 circCUX1 和

PD-L1 的表达水平。结果显示,与 si-NC 组比较, si-circCUX1 组 circCUX1 的表达水平降低, PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平降低 ($P < 0.05$)。见图 5。



5a: qRT-PCR 检测 circCUX1 和 PD-L1 的表达; 5b: Western blot 检测 PD-L1 蛋白的表达。

图 5 沉默 circCUX1 对肝癌细胞 PD-L1 表达水平的影响

2.6 沉默 circCUX1 对 NK 细胞敏感性的影响

采用 NK 细胞毒性实验检测沉默 circCUX1 对 NK 细胞敏感性的影响。结果显示,与 si-NC 组比较,在 NK : HCCLM3 为 2 : 1、5 : 1 和 10 : 1 时, si-circCUX1 组对 NK 细胞的敏感性均升高 ($P < 0.05$)。见图 6。

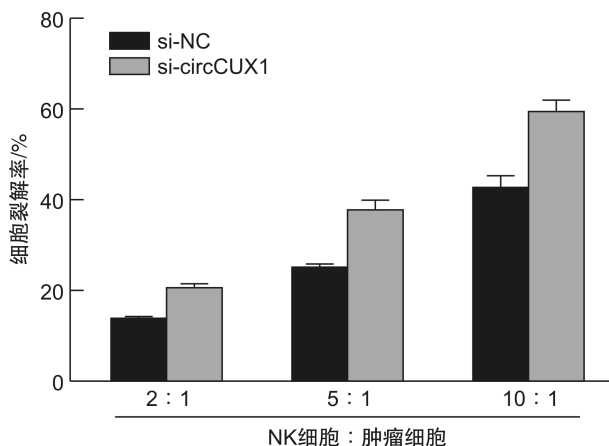


图 6 沉默 circCUX1 对 NK 细胞敏感性的影响

3 讨论

肝癌是世界范围内最常见和最致命的癌症之一。近年来,肝癌的发病率呈现出逐年递增的趋势,成为一种高病死率的恶性肿瘤^[15-16]。肝癌患者

目前主要的有效治疗方式是手术切除和肝移植^[17-18]。随着医学技术的发展,肝癌患者的生存质量日益提高,但术后肿瘤复发和耐药仍然严重影响患者的预后。

随着高通量测序技术的发展,越来越多的非编码 RNA 被发现,且在肿瘤调控中发挥着重要作用,具有极大的研究价值^[19]。相比于 mRNA、microRNA 和长链非编码 RNA, circRNA 在外泌体、血浆和尿液中具有较高的稳定性,通过参与基因表达调控以发挥不同的功能^[20-21]。近期研究表明, circRNA 参与癌症的发生、发展,例如在结直肠癌中, circPTK2 可与波形蛋白结合并相互作用,促进结直肠癌细胞的上皮间充质转化^[22];在胃癌中, circRNA_100876 通过促进胃癌细胞增殖、侵袭和迁移促进肿瘤的发展^[23];Huang 等^[24]研究发现 hsa_circRNA_104348 可直接靶向 microRNA-187-3p,调控肝癌细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡,沉默该 circRNA 能抑制肿瘤细胞的肺转移。以上研究说明 circRNA 可通过不同的分子作用模式参与肿瘤进展, circRNA 有望成为肿瘤发生的生物标志物和治疗的潜在靶点。 circCUX1 作为 circRNA 的一种,在多种癌症中表达上调。在对放疗效果不佳的下咽鳞状细胞癌患者体内检测到 circCUX1 的表达升高,且与患者的不良预后相关^[12]。 circCUX1 通过靶向 microRNA-16-5p/DMRT2 信号通路,在神经母细胞瘤中发挥致癌作用^[25]。此外, circCUX1 与 EWS RNA 结合蛋白 1 结合,促进其与锌指蛋白的相互作用,导致神经母细胞瘤加剧^[26]。

肿瘤免疫逃逸是指肿瘤细胞通过各种机制躲避免疫系统的识别和攻击,从而使肿瘤得以发展和转移^[27-28]。当 PD-1 与其配体 PD-L1 结合后,可激活细胞内信号通路,抑制免疫细胞的激活,从而减少免疫细胞分泌抗体和细胞因子,甚至耗尽免疫细胞,最终帮助肿瘤实现免疫逃逸^[29]。Wang 等^[30]的研究发现 circRNA-002178 可以通过海绵化癌细胞中的 microRNA-34 诱导 T 细胞耗竭来增强 PD-L1 的表达。本研究通过 circRNA-seq 分析,发现与 PD-L1 低表达肿瘤组织比较,高表达 PD-L1 的肿瘤组织中 circCUX1 的表达显著上调,表明 circCUX1 可能参与了 PD-L1 介导的肝癌的发生、发展和免疫逃逸。进一步在细胞实验中进行了验证,结果证明 circCUX1 与 PD-L1 在不同肝癌细胞系中的表达呈正相关,当沉默 circCUX1 后 PD-L1 mRNA 和蛋白的表达水平均降低。

NK 细胞在对癌症的免疫反应中起关键作用,然而肿瘤细胞可以利用肿瘤微环境中多种因素逃逸 NK 细胞的免疫监视。在本实验中, circCUX1

表达较高的 HCCLM3 肝癌细胞系对 NK 细胞的杀伤性明显降低,沉默 circCUX1 的表达会提高肝癌细胞对 NK 细胞的杀伤敏感性,说明 circCUX1 可能通过促进 PD-L1 的表达帮助肿瘤细胞实现免疫逃逸。另外,本实验也有不足之处,circCUX1 具体如何调控 PD-L1 的表达尚未阐述清晰,需要后续进一步探索。

综上所述,本研究发现不同 PD-L1 表达水平的肝癌组织存在大量差异表达的 circRNA,其中 circCUX1 和 PD-L1 的表达水平在肝癌组织和肝癌细胞系中呈正相关,circCUX1 可能通过 PD-L1 依赖的免疫逃逸机制促进肿瘤发展。以上结果表明,circCUX1 可能作为新的肝癌治疗靶点,可为进一步探讨肝癌的免疫疗法提供新的思路,这种疗法尚需要在动物模型中验证,以期在肝癌治疗中得到进一步的开发与应用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Arnold M, Abnet CC, Neale RE, et al. Global Burden of 5 Major Types of Gastrointestinal Cancer[J]. *Gastroenterology*, 2020, 159(1):335-349.
- [2] Frager SZ, Schwartz JM. Hepatocellular carcinoma: epidemiology, screening, and assessment of hepatic reserve[J]. *Curr Oncol*, 2020, 27(Suppl 3):S138-S143.
- [3] Lovet JM, Castet F, Heikenwalder M, et al. Immunotherapies for hepatocellular carcinoma[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2022, 19(3):151-172.
- [4] Crouchet E, Schuster C, Baumert TF. Liver cell circuits and therapeutic discovery for advanced liver disease and cancer[J]. *C R Biol*, 2021, 344(3):233-248.
- [5] Man S, Luo C, Yan M, et al. Treatment for liver cancer: From sorafenib to natural products[J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 224:113690.
- [6] Kristensen LS, Andersen MS, Stagsted LVW, et al. The biogenesis, biology and characterization of circular RNAs[J]. *Nat Rev Genet*, 2019, 20(11):675-691.
- [7] Chen CK, Cheng R, Demeter J, et al. Structured elements drive extensive circular RNA translation[J]. *Mol Cell*, 2021, 81(20):4300-4318.
- [8] Zhu G, Chang X, Kang Y, et al. CircRNA: A novel potential strategy to treat thyroid cancer (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2021, 48(5):201.
- [9] Yang Y, Ding L, Li Y, et al. Hsa_circ_0039411 promotes tumorigenesis and progression of papillary thyroid cancer by miR-1179/ABCA9 and miR-1205/MTA1 signaling pathways[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(2):1321-1329.
- [10] Sun H, Xi P, Sun Z, et al. Circ-SFMBT2 promotes the proliferation of gastric cancer cells through sponging miR-182-5p to enhance CREB1 expression[J]. *Cancer Manag Res*, 2018, 10:5725-5734.
- [11] Han D, Li J, Wang H, et al. Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression [J]. *Hepatology*, 2017, 66(4):1151-1164.
- [12] Wu P, Fang X, Liu Y, et al. N6-methyladenosine modification of circCUX1 confers radioresistance of hypopharyngeal squamous cell carcinoma through caspase1 pathway[J]. *Cell Death Dis*, 2021, 12(4):298.
- [13] Wang Y, Niu Q, Dai J, et al. CircCUX1 promotes neuroblastoma progression and glycolysis by regulating the miR-338-3p/PHF20 axis [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2021, 40(1):17-29.
- [14] Yi M, Xu L, Jiao Y, et al. The role of cancer-derived microRNAs in cancer immune escape [J]. *Hematol Oncol*, 2020, 13(1):25.
- [15] Dermani FK, Samadi P, Rahmani G, et al. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: Potential target for cancer therapy[J]. *Cell Physiol*, 2019, 234(2):1313-1325.
- [16] Xing R, Gao J, Cui Q, et al. Strategies to Improve the Antitumor Effect of Immunotherapy for Hepatocellular Carcinoma [J]. *Front Immunol*, 2021, 26(12):783236.
- [17] Anwanwan D, Singh SK, Singh S, et al. Challenges in liver cancer and possible treatment approaches [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1873(1):188314.
- [18] Varley R, Tarazi M, Dave M, et al. Liver Transplantation for Non-Resectable Liver Metastases from Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis [J]. *World J Surg*, 2021, 45(11):3404-3413.
- [19] Rincon-Riveros A, Morales D, Rodriguez JA, et al. Bioinformatic Tools for the Analysis and Prediction of ncRNA Interactions [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21):11397.
- [20] Patop IL, Wust S, Kadener S. Past, present, and future of circRNAs [J]. *EMBO J*, 2019, 38(16):e100836.
- [21] Zhang X, Xu Y, Ma L, et al. Essential roles of exosome and circRNA_101093 on ferroptosis desensitization in lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2022, 42(4):287-313.
- [22] Yang H, Li X, Meng Q, et al. CircPTK2 (hsa_circ_0005273) as a novel therapeutic target for metastatic colorectal cancer [J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):13.
- [23] Yu X, Xiao W, Song H, et al. CircRNA_100876 sponges miR-136 to promote proliferation and metastasis of gastric cancer by upregulating MIEN1 expression [J]. *Gene*, 2020, 748:144678.
- [24] Huang G, Liang M, Liu H, et al. CircRNA hsa_circRNA_104348 promotes hepatocellular carcinoma progression through modulating miR-187-3p/RTKN2 axis and activating Wnt/ β -catenin pathway [J]. *Cell*

- Death Dis, 2020, 11(12):1065.
- [25] Zhang X, Zhang J, Liu Q, et al. Circ-CUX1 Accelerates the Progression of Neuroblastoma via miR-16-5p/DMRT2 Axis [J]. Neurochem Res, 2020, 45(12): 2840-2855.
- [26] Li H, Yang F, Hu A, et al. Therapeutic targeting of circ-CUX1/EWSR1/MAZ axis inhibits glycolysis and neuroblastoma progression [J]. EMBO Mol Med, 2019, 11(12):e10835.
- [27] Pathania AS, Prathipati P, Challagundla KB. New insights into exosome mediated tumor-immune escape: Clinical perspectives and therapeutic strategies [J]. Biochim Biophys Acta Rev Cancer, 2021, 1876(2): 188624.
- [28] Sarkar T, Dhar S, Sa G. Tumor-infiltrating T-regulatory cells adapt to altered metabolism to promote tumor-immune escape [J]. Curr Res Immunol, 2021, 2:132-141.
- [29] Dermani FK, Samadi P, Rahmani G, et al. PD-1/PD-L1 immune checkpoint: Potential target for cancer therapy [J]. Cell Physiol, 2019, 234(2):1313-1325.
- [30] Wang J, Zhao X, Wang Y, et al. circRNA-002178 act as a ceRNA to promote PDL1/PD1 expression in lung adenocarcinoma [J]. Cell Death Dis, 2020, 11(1):32.
- (收稿日期:2022-05-10)
(本文编辑:衡璐)

《中国中西医结合消化杂志》征订启事

《中国中西医结合消化杂志》是由中华人民共和国教育部主管,华中科技大学同济医学院、中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会、中华中医药学会脾胃病分会主办,面向国内外公开发行的国家级学术期刊。本刊为中国科技论文统计源期刊、中国科技核心期刊,已被美国《化学文摘》(CA)、波兰《哥白尼索引》(IC)等收录。

《中国中西医结合消化杂志》的办刊宗旨是发掘祖国医学脾胃理论精华,传播中西医结合诊疗消化系统疾病基础理论与临床研究成果,重点关注国内外有关消化系统疾病的新技术、新药物、新疗法。本刊设有指南与共识、专家笔谈、临床研究、研究报告、名医经验、经验交流、病例报告和综述等栏目,突出中医与西医相结合、理论与临床相结合、提高与普及相结合三大特点,为促进国内外学术交流提供平台。

本刊现为月刊,大16开本,彩图随文排版,2023年定价为23元/册,全年276元,出刊时间为每月15日。国内统一刊号:CN 42-1612/R;国际标准刊号:ISSN 1671-038X。邮发代号:38-212(国内),NTE 1065(国际)。全国各地邮局均可订阅。

地址:武汉解放大道1277号协和医院杂志社

邮政编码:430022

官方网站:www.whuhzss.com

电子信箱:zxyjhxhzz_whuhzss@163.com

电话:(027)85726342-8818

传真:(027)85727988