

本文引文格式:李书,唐玉莲,孙丽双,等. miR-328-3p 调控 Hspg2 参与 HCC 发生发展研究[J]. 右江民族医学院学报, 2023, 45(5): 715-721.

【论著与临床报道】

miR-328-3p 调控 Hspg2 参与 HCC 发生发展研究

李书¹, 唐玉莲², 孙丽双¹, 李根亮³

(1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;

2. 右江民族医学院医学检验学院, 广西 百色 533000;

3. 右江民族医学院基础医学院, 广西 百色 533000)

摘要:目的 为了探讨硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 2 (heparan sulfate proteoglycan 2, Hspg2) 在肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 中过表达的可能机制。方法 通过构建小鼠 HCC 模型, 收集注射 H22 3~5 d 小鼠的肝组织、30~40 d 未成瘤小鼠的肝组织、30~40 d 成瘤小鼠的肝组织和瘤组织, 以及注射生理盐水的对照组小鼠的肝组织。基于全转录组测序和实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR), 分析 Hspg2 mRNA 在不同发展阶段瘤体的相对表达情况, 筛选出参与调控 Hspg2 表达的 miRNA 和竞争性结合的 RNA 分子。结果 与对照组相比, HCC 组织中 Hspg2 过表达同时与 3 个转录本存在差异表达 ($q < 0.05$, $n = 3$), 尤其转录本 XM_006538575.1 在各样本中都有表达且相对其它 2 个转录本表达量明显。Hspg2 与相关基因形成网络互作或是和各类 RNA 分子形成 ceRNA 调控网络。Hspg2 连同相关基因共同参与的功能包括细胞基质黏附的胶原蛋白结合, 层粘连蛋白结合和信号受体结合等。其中部分基因与 Hspg2 基因一样也属于基底膜和细胞外基质等细胞组分。结论 Hspg2 基因在 HCC 中的过表达主要是转录本 XM_006538575.1 的过表达, miR-328-3p 可能是促进其在 HCC 组织中高表达的关键因素, 多种 Hspg2 相关基因在 HCC 组织中与 Hspg2 互为 ceRNA, 进一步精细调控其表达。Hspg2 与相关基因的编码蛋白一起在细胞基质和细胞外基质通过参与细胞基质黏附的胶原蛋白结合, 与层粘连蛋白结合和细胞外基质的成分结合等生物学过程促进 HCC 的发生发展。

关键词: 肝肿瘤; 硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 2; 转录本

中图分类号: R735.7

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2023)05-0715-07

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2023.05.004

Research on the involvement of miR-328-3p in regulating Hspg2 in the occurrence and development of HCC

Li Shu¹, Tang Yulian², Sun Lishuang¹, Li Genliang³

(1. Graduate School, Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000,

Guangxi, China; 2. School of Laboratory Medicine, Youjiang Medical University

for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 3. School of Basic Medicine,

Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the potential mechanism underlying the overexpression of heparan sulfate proteoglycan 2 (Hspg2) in hepatocellular carcinoma (HCC). **Methods** A mouse HCC model was established, and liver tissues were collected from mice at different stages: those injected with H22 for 3~5 days, those without tumor formation for 30~40 days, those with tumor formation for 30~40 days, and those injected with normal saline (control group). The study analyzed the relative expression levels of Hspg2 mRNA

基金项目: 百色市科技计划项目区域多发病联合专项 (百科 20224148)

第一作者简介: 李书 (1996-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 细胞命运决定的表观遗传学机制, E-mail: 1315587661@qq.com

通讯作者简介: 李根亮 (1970-), 男, 博士, 教授, 博士/硕士研究生导师, 研究方向: 生殖生理和肿瘤基因表达调控相关研究, E-mail: ligenliang@163.com

during different stages of tumor development using whole transcriptome sequencing and real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR). Additionally, the study screened for miRNAs and competing endogenous RNA molecules involved in regulating *Hspg2* expression. **Results** *Hspg2* overexpression in HCC tissues showed differential expression with three transcripts compared to the control group ($q < 0.05$, $n = 3$). Particularly, transcript XM_006538575.1 was consistently expressed in all samples and significantly more expressed than the other two transcripts. *Hspg2* interacted with related genes and formed ceRNA regulatory networks with various RNA molecules. The functions of *Hspg2* and its related genes included binding to collagen, laminin and signal receptors in cell matrix adhesion. Some of these genes were the same as *Hspg2* gene that belong to the basement membrane and extracellular matrix cell components. **Conclusion** The overexpression of *Hspg2* in HCC is primarily attributed to the overexpression of transcript XM_006538575.1. miR-328-3p appears to be a key factor in promoting its high expression in HCC tissues. Several *Hspg2*-related genes interact with *Hspg2* as ceRNAs in HCC tissues, further fine-tuning their expression. *Hspg2* and its related genes encoding proteins collectively participate in the collagen binding of cell matrix adhesion, laminin binding, and binding to extracellular matrix components within the cell matrix and extracellular matrix, promoting the development of HCC.

Key words: liver tumor; heparan sulfate proteoglycan 2; transcript

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是发生在肝细胞的恶性肿瘤, 是世界第五大常见癌症和第四大癌症相关死亡原因。HCC 具有极高的发病率和致死率, 且易转移和复发, 发病机制具有复杂性和异质性, 很难彻底明确其致病过程。但经研究发现在 HCC 发生与转移过程中与肿瘤相关的蛋白基因都产生异常表达情况, 研究其发生与表达量的变化可能为 HCC 的诊断治疗提供新靶点。同时明确靶向调控基因的 miRNA 和 ceRNA 调控网络有助于进一步提供研究异常基因表达机制的方向。

硫酸乙酰肝素蛋白聚糖 2 (heparan sulfate proteoglycan 2, Hspg2) 位于第四号染色体上, 是细胞外基质的重要成分, 在基质和基膜中形成屏障结构, 是生物信号分子的储存库。Hspg 由一个核心蛋白, 一个或多个硫酸化的糖胺聚糖和硫酸乙酰肝素链聚合而成的^[1]。其中 *Hspg2* 存在 EGF 样结构域和层粘连蛋白结构域, 可以通过与相关分子结合进而对细胞分化, 运动以及对维持组织表型和促进组织存活起到关键作用。目前有关 *Hspg2* 的研究主要集中在血管生成以及神经系统疾病等方面^[2-5], 而对 HCC 的发生发展以及调控该基因的相关 miRNA 和 ceRNA 的研究甚少。

据此, 本课题通过全转录组测序和实时荧光定量 PCR (real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR), 检测 *Hspg2* 基因在不同发展阶段肝组织和 HCC 组织的相对表达情况, 并通过深圳华大基因的 Dr. Tom 多组学交互系统, 分析全转录组数据中参与调控 *Hspg2* 的相关 miRNA、ceRNA 和 PPI, 分析 *Hspg2* 在 HCC 组织中过表达的可能分子机制。

1 材料和方法

1.1 主要仪器设备及试剂耗材 二氧化碳培养箱 (北京中科环试仪器有限公司, 型号: HH. CP-T)、超净工

作台 (江苏金净集团有限公司, 型号: BSC-1600 II b2)、正置式生物显微镜 (广州市明美光电技术有限公司, 型号: ML31)、移液枪 [艾本德 (上海) 国际贸易有限公司]、微量分光光度计 [天根生化科技 (北京) 有限公司, 型号: OSE-260-01/02]、台式高速冷冻离心机 [艾本德 (上海) 国际贸易有限公司, 型号: 5424R]、Light Cycler[®] 96 实时荧光定量 PCR 仪 (瑞士罗氏公司)、PCR 基因扩增仪 (杭州朗基科学仪器有限公司, 型号 A300)。

RPMI Medium 1640 basic 培养基和胎牛血清 [赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司, 货号: 11875-119、16140-071]、25 cm² 培养瓶 (康宁股份有限公司, 货号: 3289)、小鼠 H22 细胞系 (上海中乔新舟生物科技有限公司, 货号: ZQ0109)、总 RNA 提取试剂盒 (北京索莱宝科技有限公司, 货号: R1200)、碧云天 dBeyoRT cDNA 第一链合成试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号: D7168S)、Hif[™] qPCR SYBR[®] Green Master Mix (上海翊圣生物科技有限公司, 货号: 11201ES03/08/60)、*Hspg2* 基因和内参基因 *Gapdh* RT-qPCR 引物 (上海生工生物工程股份有限公司)。

1.2 小鼠 HCC 模型构建和全转录组测序 取 100 只 SPF 级别 3~6 周龄雄性昆明小鼠 [长沙市天勤生物技术有限公司, 许可证 SCXK (湘) 2020-0014] 构建小鼠 HCC 模型。分别收集注射 H22 肝癌细胞系 3~5 d 的小鼠的肝组织 (OT 组)、30~40 d 未成瘤小鼠的肝组织 (OS 组)、30~40 d 成瘤小鼠的肝组织 (C 组)、瘤组织 (H 组) 和同样方法生理盐水注射的对照小鼠的肝组织 (OO 组)。每个样本组织 30 mg, 重复 3 组, 使用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA, 送至深圳华大基因股份有限公司进行全转录组测序。本实验使用的实验动物经右江民族医学院动物实验伦理委员会批准

(批准号:2020093001)。

1.3 高通量测序和 RT-qPCR 中各个样本 *Hspg2* 的相对表达量 借助华大基因的 Dr. Tom 多组学交互系统,统计各个样本中 *Hspg2* 的表达量,经 Excel 分析计算平均值和标准差后,GraphPad Prism 8.0 绘制表达量图。总 RNA 提取,收集各样本组织总 RNA,后经反转录试剂盒合成 cDNA,进行实时荧光定量 PCR 检测。程序设定为:预变性 95 °C 300 s。两步法变性 95 °C 10 s,退火/延伸 60 °C 10 s,循环 40 次。熔解曲线和冷却温度等采用仪器默认。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算相对定量值,GraphPad Prism 8.0 版本绘制相对表达量图。

1.4 *Hspg2* 转录本的相对表达量 基于生物信息学分析 *Hspg2* 的相关转录组测序数据,分析样本相对表达量和组间的差异情况。差异表达的阈值为: $|\log_2(\text{FPKM 比值})| > 1$ 、 $q < 0.05$ (q 是 q -value,校正的 P)、各基因表达的 FPKM > 10 。

1.5 *Hspg2* 相关基因的功能分析和互作网络图构建 通过深圳华大基因的 Dr. Tom 多组学交互系统分

析数据,构建 *Hspg2* 相关基因的表达量聚类热图。通过 miRwalk、TargetScan 和 ENCORI 公共数据库进一步分析存在靶向调控 *Hspg2* 的 miRNA 和发挥 ceRNA 机制的 RNA 分子,Cytoscape 绘制基因蛋白网络互作图和 ceRNA 网络图。最后进行 GO 和 KEGG 富集分析。

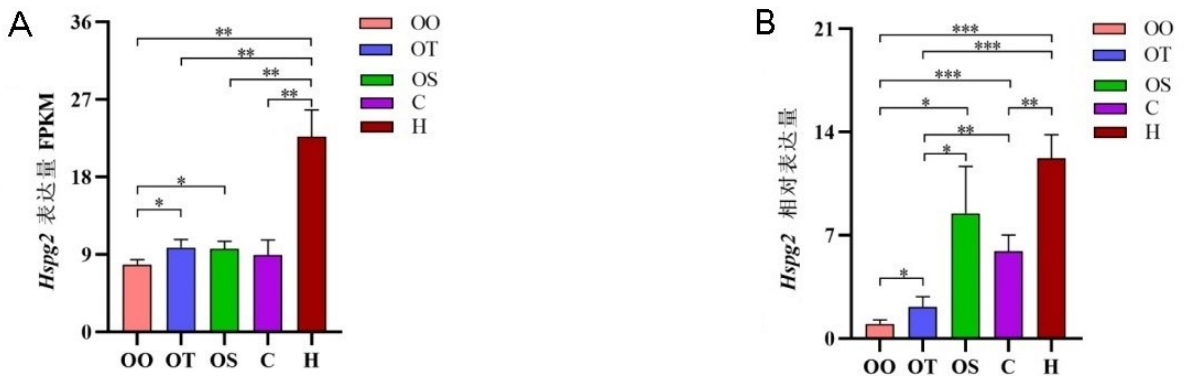
1.6 统计学方法 采用 SPSS 20.0 和 GraphPad Prism 8.0 软件和对计量资料进行统计学分析,采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 *Hspg2* 在各样本组织中的表达 合成 *Hspg2* 和内参 *Gapdh* 引物序列(见表 1),高通量测序数据和 RT-qPCR 结果共同显示(见图 1),与 OO 组比较,*Hspg2* mRNA 在 OT 组、OS 组、C 组和 H 组中均表达上调,H 组中明显过表达;测序数据中 H 组与各个组相比,以及 OO 组 vs OT 组和 OO 组 vs OS 组均有统计学意义($n = 3$, $P < 0.05$)。在 RT-qPCR 结果中除 H 组 vs OS 组和 OS 组 vs C 组无统计学差异,其余各组均存在统计学差异($n = 3$, $P < 0.05$)。

表 1 RT-qPCR 引物

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')
<i>Hspg2</i>	GTTGTCTTCCATGACGTCAC	TAACTGCTGCTCTCGGAATCTT
<i>Gapdh</i>	GGTTGTCTCCTGCGACTTCA	TGTTCCAGGGTTTCTTACTCC

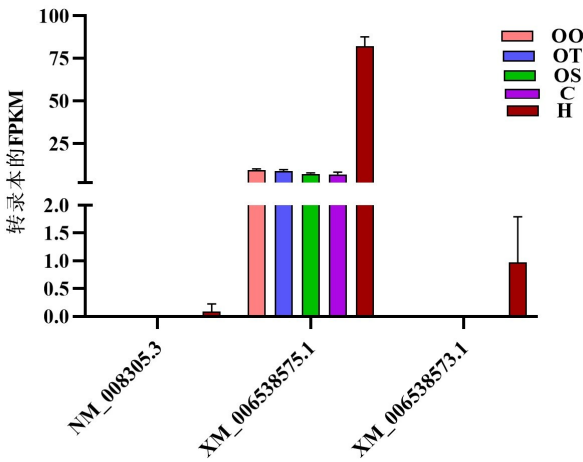


注:A.高通量测序中各样本 *Hspg2* 表达量;B. RT-qPCR 实验各样本 *Hspg2* 表达量。OT 组:注射 H22 肝癌细胞系 3~5 d 的小鼠的肝组织;OS 组:注射 H22 肝癌细胞系 30~40 d 未成瘤小鼠的肝组织;C 组:注射 H22 肝癌细胞系 30~40 d 成瘤小鼠的肝组织;H 组:注射 H22 肝癌细胞系 30~40 d 成瘤小鼠的瘤组织;OO 组:同法生理盐水注射的对照小鼠的肝组织。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 1 各样本组织中 *Hspg2* mRNA 的相对表达量

2.2 *Hspg2* 转录本相对表达量 在 HCC 中存在 *Hspg2* 基因的 3 个转录本,分别是 NM_008305.3、XM_006538575.1 和 XM_006538573.1(见图 2)。转录本 XM_006538573.1 和 NM_008305.3 只在瘤组织中明显表达。而 XM_006538575.1 转录本在 HCC 组织和各时间段的对照样本中表达量明显增加,也就是

说 *Hspg2* 基因在 HCC 组织中的过表达主要是转录本 XM_006538575.1。进一步分析发现 H 组 vs OT 组、H 组 vs OO 组、H 组 vs C 组、H 组 vs OT 组、H 组 vs OS 组差异都具有统计学意义($n = 3$, $P < 0.05$),见表 2。



注:OT组:注射 H22 肝癌细胞系 3~5 d 的小鼠的肝组织;OS组:注射 H22 肝癌细胞系 30~40 d 未成瘤小鼠的肝组织;C组:注射 H22 肝癌细胞系 30~40 d 成瘤小鼠的肝组织;H组:注射 H22 肝癌细胞系 30~40 d 成瘤小鼠的瘤组织;OO组:同法生理盐水注射的对照小鼠的肝组织。

图 2 *Hspg2* 的 3 个转录本在 HCC 组织及不同时间段对照组织中的表达

表 2 *Hspg2* 转录本在 HCC 和各时间段的对照样本中的表达量 (FPKM) 比较 (n=3)

RNA 名称	对照组	log ₂ (对照	q
	vs HCC	组/HCC 组)	
XM_006538575.1	C vs H	2.36	5.75E04
XM_006538575.1	OO vs H	2.19	2.25E25
XM_006538575.1	OS vs H	2.36	1.48E40
XM_006538575.1	OT vs H	2.29	1.10E41
XM_006538573.1	OS vs H	10.42	0.03
XM_006538573.1	OT vs H	10.55	0.03
XM_006538573.1	C vs H	10.43	0.00
XM_006538573.1	OO vs H	10.51	0.00

注:OT组:注射 H22 肝癌细胞系 3~5 d 的小鼠的肝组织;OS组:注射 H22 肝癌细胞系 30~40 d 未成瘤小鼠的肝组织;C组:注射 H22 肝癌细胞系 30~40 d 成瘤小鼠的瘤组织;OO组:同法生理盐水注射的对照小鼠的肝组织。

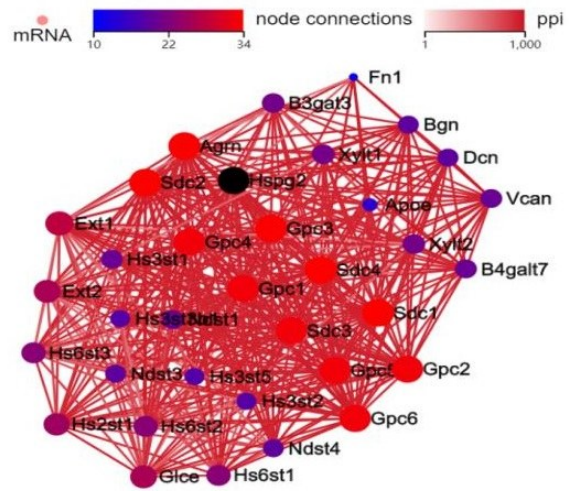


图 3 *Hspg2* 相关基因的网络互作图

2.3 *Hspg2* 相关基因的表达和互作网络分析 通过 *Hspg2* 相关基因分析发现 HCC 中存在大量与 *Hspg2* 具有网络互作关系的基因,最为密切联系的有 35 个(见图 3)。聚类热图显示,相关基因在各个样本间表达量存在一定的差异但每个样本的生物学重复的样本中表达量几乎一致,组间也具有一定的差异(见图 4)。*Hspg2* 在 HCC 中表达量较高的前 10 个相关基因分别是 *Apoe*、*Sdc4*、*Fn1*、*Vcan*、*Hs6Dt*、*Hs3St5*、*Gpc2*、*Gpc5*、*Ndst4*、*Hs3St2*。

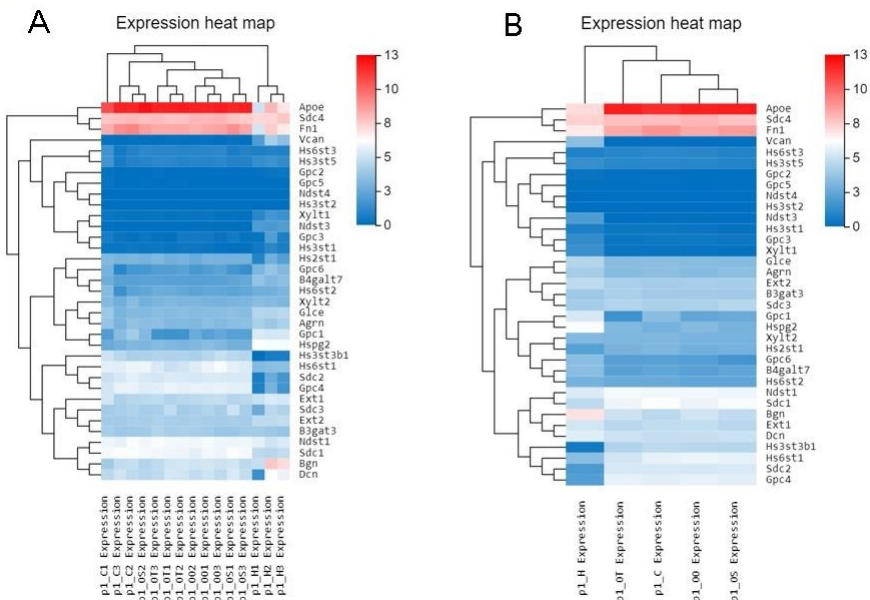
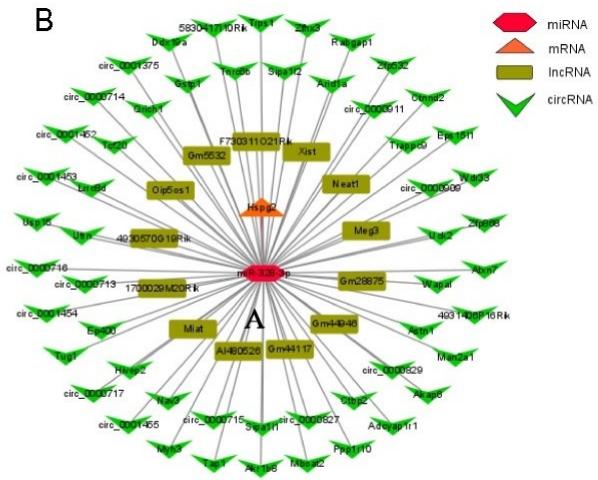
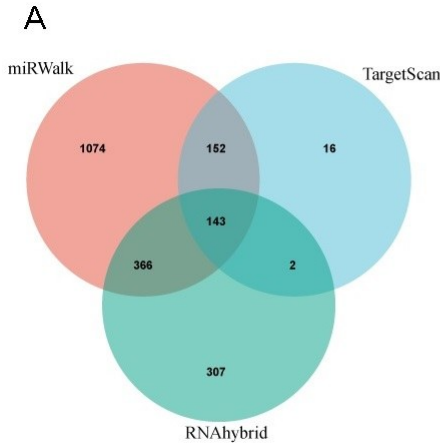


图 4 *Hspg2* 相关基因表达量的样品间聚类热图(A)和组间聚类热图(B)

2.4 *Hspg2* 参与的 ceRNA 网络分析 基于 TargetScan、RNAhybrid 和 miRWalk 公共数据库中 miRNA 靶向关系预测,发现大量 miRNA 靶向调控 *Hspg2* 的表达,3 个数据库重叠 143 个 miRNA(见图

5A)。进一步分析重叠 miRNA 测序数据,发现 miR-328-3p 的靶向关系预测值最高。在 ENCORI 数据库发现参与竞争结合 miR-328-3p 调控 *Hspg2* 表达的 lncRNA 13 个,circRNA 54 个(见图 5B)。

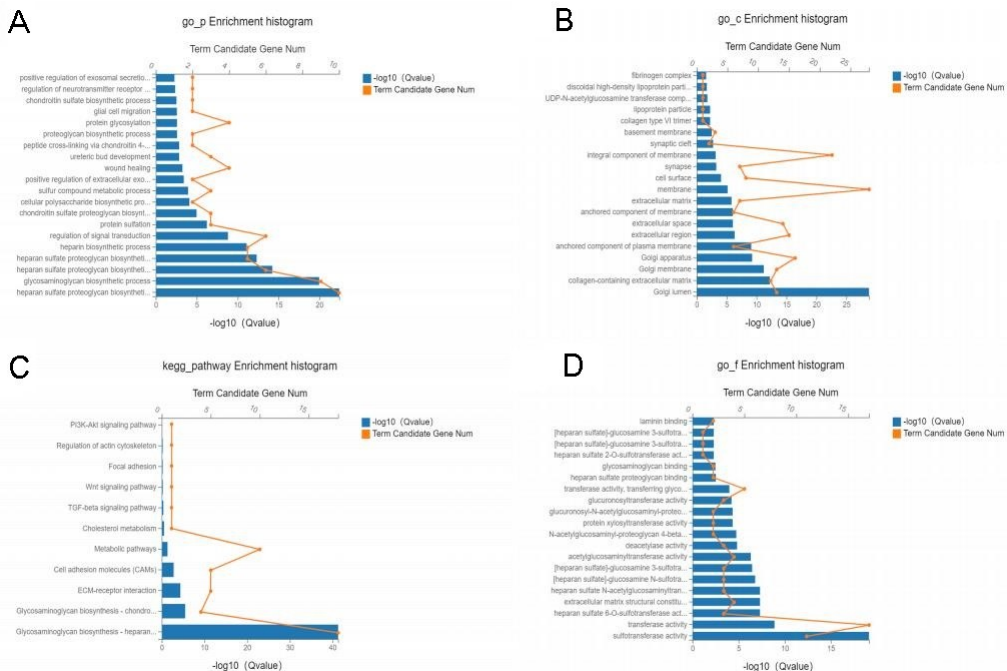


注:A. miRNA 靶向调控 *Hspg2* 表达的韦恩图;B. miR-328-3p 参与的 ceRNA 网络图。

图 5 *Hspg2* 相关 ceRNA 网络

2.5 *Hspg2* 相关基因的功能分析 对 *Hspg2* 相关基因的功能富集分析,发现其主要位于细胞基底膜(GO:0005604),细胞表面(GO:0009986),细胞外基质(GO:0062023),含胶原蛋白的细胞外基质(GO:0062023),胞外区(GO:0005576)等细胞组分部位,通过参与基底膜组织形成(GO:0071711)、细胞黏附

(GO:0030155),细胞迁移调控(GO:0030335)和血管生成(GO:0001525)等生物学过程进而发挥细胞基质黏附的胶原蛋白结合(GO:0098639),层粘连蛋白结合(GO:0043236),细胞外基质结合(GO:0050840)等功能,参与糖胺聚糖生物合成,代谢途径和 PI3K-Akt-mTOR 等信号通路(见图 6)。



注:A. 生物学过程;B. 细胞组分;C. 分子功能;D. KEGG 通路。

图 6 *Hspg2* 与相关基因的 GO 和 KEGG 富集分析

3 讨论

研究结果发现 *Hspg2* 基因在 HCC 各样本组织中都上调表达, 尤其 H 组明显, 与其它各组比值差异均具有统计学意义。同时找到了 *Hspg2* 基因的 3 个转录本, 其中 XM_006538575.1 转录本在各样本中的表达量相对较高, *Hspg2* 在 HCC 组织中的过表达主要是转录本 XM_006538575.1 在 HCC 组织中的过表达。通过华大基因的 Dr. Tom 多组学交互系统分析获得 35 个与 *Hspg2* 相关的基因, 表明该基因功能的复杂性和作用机制的多样性。基于公共数据库发现 miR-328-3p 可以靶向调控 *Hspg2*, 而各种 lncRNA 和 circRNA 可能通过竞争结合靶向调控 *Hspg2* 的 miRNA 构成 ceRNA 调控网络, 进一步精细调控 *Hspg2* 基因的表达。对 *Hspg2* 进行功能富集发现其主要位于细胞基底膜 (GO: 0005604), 细胞表面 (GO: 0009986), 细胞外基质 (GO: 0062023), 含胶原蛋白的细胞外基质 (GO: 0062023) 和胞外区 (GO: 0005576) 等细胞组分部位, 通过参与基底膜组织形成 (GO: 0071711), 细胞黏附 (GO: 0030155), 细胞迁移调控 (GO: 0030335) 和血管生成 (GO: 0001525) 等生物学过程发挥细胞基质黏附的胶原蛋白结合 (GO: 0098639), 层粘连蛋白结合 (GO: 0043236) 和细胞外基质结合 (GO: 0050840) 等功能。

RT-qPCR 结果发现相对于正常小鼠肝组织 *Hspg2* 在小鼠肝癌移植瘤中高表达。通过结合国内外的研究证实该基因同样在白血病、前列腺癌以及乳腺癌等癌组织中过表达参与到癌症的发生发展^[6-8]。如在胶质瘤中 perlecan/*Hspg2* 的过表达, 通过将脑细胞外基质转化为肿瘤微环境促进肿瘤发生^[9]。近期在国内研究发现^[10], *Hspg2* 表达升高与 HCC 恶化程度密切相关, 其可能参与 HCC 的发生发展, 且在肝癌患者血清中显著增加, 有可能成为肿瘤标志物的价值。本研究结果发现在调控 *Hspg2* 基因中 miR-328-3p 靶向结合分数最高, 在相关 miR-328-3p 的研究中发现, 靶向 PYCR1 的 miR-328-3p 通过阻碍在肺腺癌细胞增殖和迁移来抑制细胞的恶性程度, 同时有效促进细胞凋亡^[11]。乳腺癌中 miR-328-3p miRNA 可以介导乳腺癌细胞的雄性激素受体调节, 成为一种新的靶向治疗方向^[12]。目前在肝癌研究中也发现 miR-328-3p 调节 GLUT1 介导的葡萄糖摄取和代谢, 可能发挥与化疗药物的协同抗增殖作用^[13]。miRNA-328-3p 通过调节 MMP-9 抑制 HCC 细胞的增殖能力并促进其凋亡^[14]。研究证明^[15] 存在可以竞争性结合 miRNA 调控 *Hspg2* 表达的 lncRNA 影响肿瘤的发生发展。*Hspg2* 是细胞外基质 (ECM) 的一种高度糖基化的蛋白质成分, 拥有大量的分子功能。其中 *Hspg2* 具有层

粘连蛋白结构域, 表皮生长因子结构域和钙结合 EGF 样结构域。故此, 存在细胞表面, 细胞外基质和基底膜位置的 *Hspg2* 基因拥有与胶原蛋白、纤连蛋白、整合素、信号受体结合的分子功能, 进而参与到细胞黏附连接、血管生成、基底膜形成等生物学过程中。在国内外的研究中发现 *Hspg2* 在黑色素瘤和肺癌中高表达, 且与血管生成相关, 可通过靶向抑制血管的生成有望成为治疗癌症的新手段^[16-17]。全基因组测序数据显示 HCC 中存在 *Hspg2* 的突变^[18], 据此推断 *Hspg2* 可能由于存在细胞粘连的细胞组分和分子生物学功能, 黏附乙肝等病毒或是 *Hspg2* 介导的细胞增殖和血管生成不受限制促进了肝癌的发生发展。

综上所述, *Hspg2* 基因在 HCC 组织中的过表达和对 HCC 发生发展的调控可能主要通过以下几个方面实现: 一是以 XM_006538575.1 转录本的过表达参与 HCC 发生发展; 二是 ceRNA 网络中竞争性结合 miR-328-3p 进而抑制靶向调控 *Hspg2* 的表达; 三是多种与 *Hspg2* 存在相互协调作用的基因和编码蛋白的异常改变也促进 HCC 的发生发展。

参考文献:

- [1] YAN W J, DAI J, SHI D Q, et al. Novel HSPG2 mutations causing Schwartz-Jampel syndrome type 1 in a Chinese family: a case report[J]. Mol Med Rep, 2018, 18(2): 1761-1765.
- [2] ZHANG Z Q, ZHAN W G, CHEN H J, et al. Inhibitory effect of Siwei Xiaoliuyin on glioma angiogenesis in nude mice[J]. Int Rev Neurobiol, 2020, 151: 243-252.
- [3] ZHAO X C, ZHANG T M, YAN Y Q, et al. Notch signaling regulates vessel structure and function via Hspg2[J]. Gene, 2022, 826: 146439.
- [4] CASTELLANOS B S, REYES-NAVA N G, QUINTANA A M. Knockdown of hspg2 is associated with abnormal mandibular joint formation and neural crest cell dysfunction in zebrafish[J]. BMC Dev Biol, 2021, 21(1): 7.
- [5] HAYES A J, FARRUGIA B L, BIOSE I J, et al. Perlecan, a multi-functional, cell-instructive, matrix-stabilizing proteoglycan with roles in tissue development has relevance to connective tissue repair and regeneration[J]. Front Cell Dev Biol, 2022, 10: 856261.
- [6] ZHOU X J, LIANG S M, ZHAN Q, et al. HSPG2 overexpression independently predicts poor survival in patients with acute myeloid leukemia[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(6): 492.
- [7] KALSCHUEER S, KHANNA V, KIM H, et al. Discovery of HSPG2 (perlecan) as a therapeutic target in triple negative breast cancer[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 12492.
- [8] OJALILL M, VIRTANEN N, RAPPU P, et al. Interaction

- between prostate cancer cells and prostate fibroblasts promotes accumulation and proteolytic processing of basement membrane proteins[J]. *Prostate*, 2020, 80(9): 715-726.
- [9] TIAN Y X, KE Y Q, MA Y X. High expression of stromal signatures correlated with macrophage infiltration, angiogenesis and poor prognosis in glioma microenvironment[J]. *PeerJ*, 2020, 8: e9038.
- [10] 蒋鹏, 杨浩然, 张青鸱, 等. 原发性肝细胞癌组织中 HSPG2 蛋白的表达及其临床意义[J]. *临床与实验病理学杂志*, 2018, 34(9): 972-977.
- [11] LU J C, LIN J H, ZHOU Y, et al. MiR-328-3p inhibits lung adenocarcinoma-gensis by downregulation PYCR1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2021, 550: 99-106.
- [12] AL-OTHMAN N, HAMMAD H, AHRAM M. Dihydrotestosterone regulates expression of CD44 via miR-328-3p in triple-negative breast cancer cells[J]. *Gene*, 2018, 675: 128-135.
- [13] YI W R, TU M J, LIU Z Z, et al. Bioengineered miR-328-3p modulates GLUT1-mediated glucose uptake and metabolism to exert synergistic antiproliferative effects with chemotherapeutics[J]. *Acta Pharm Sin B*, 2020, 10(1): 159-170.
- [14] LI J Z, LI J, LIU B Z. MicroRNA-328-3p inhibits malignant progression of hepatocellular carcinoma by regulating MMP-9 level[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(21): 9331-9340.
- [15] CAO W, LIU X J, SU W J, et al. LINC00665 sponges miR-641 to promote the progression of breast cancer by targeting the SNF₂-related CREBBP activator protein (SRCAP)[J]. *Bioengineered*, 2022, 13(2): 4573-4586.
- [16] ZHANG W J, LIN Z J, SHI F Y, et al. HSPG2 mutation association with immune checkpoint inhibitor outcome in melanoma and non-small cell lung cancer[J]. *Cancers (Basel)*, 2022, 14(14): 3495.
- [17] ZHAO X C, ZHANG T M, YAN Y Q, et al. Notch signaling regulates vessel structure and function via Hspg2[J]. *Gene*, 2022, 826: 146439.
- [18] MERONI M, LONGO M, PAOLINI E, et al. Expanding the phenotypic spectrum of non-alcoholic fatty liver disease and hypertriglyceridemia[J]. *Front Nutr*, 2022, 9: 967899.

收稿日期: 2023-03-18; 修回日期: 2023-06-05

(上接第 703 页)

- [15] XU D, XIA N, HOU K, et al. Clematichinenside facilitates recovery of neurological and motor function in rats after cerebral ischemic injury through inhibiting notch/NF- κ B pathway[J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(11): 104288.
- [16] ALBERI L, LIU S X, WANG Y, et al. Activity-induced Notch signaling in neurons requires Arc/Arg3.1 and is essential for synaptic plasticity in hippocampal networks[J]. *Neuron*, 2011, 69(3): 437-444.
- [17] HAO X Z, YIN L K, TIAN J Q, et al. Inhibition of Notch1 signaling at the subacute stage of stroke promotes endogenous neurogenesis and motor recovery after stroke[J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 245.
- [18] 李静, 尉娜, 刘亚美, 等. γ -分泌酶抑制剂 DAPT 阻断 Notch 通路并纠正脑卒中后抑郁大鼠 Th17/Treg 失衡[J]. *中国病理生理杂志*, 2021, 37(3): 393-399.
- [19] 尹梦霞, 欧阳竞锋, 崔拓拓, 等. 黄芩素抑制小胶质细胞活化及保护 SH-SY5Y 神经细胞的机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(10): 93-101.
- [20] 曾洪艳, 李璠, 赵晓妹, 等. 依达拉奉对脑缺血大鼠大脑皮质 Notch-1 表达的影响[J]. *神经解剖学杂志*, 2018, 34(1): 27-33.
- [21] 李伟艺, 刘红松, 高山瑛, 等. 基于 Notch1/NF- κ B 信号通路探究补阳还五汤对脑缺血再灌注损伤的拮抗作用及其机制[J]. *西部中医药*, 2022, 35(11): 16-21.

收稿日期: 2023-07-19; 修回日期: 2023-07-31