

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.12.007

miR-194-5p 靶向下调 CD44 抑制胃癌肿瘤干细胞上皮间质转化的机制研究*

李亮 李建刚 周京涛 马博 王俊[△]

(新疆医科大学第二附属医院普外科 新疆 乌鲁木齐 830063)

摘要 目的:探讨 miR-194-5p 靶向下调 CD44 抑制胃癌肿瘤干细胞(CSCs)上皮间质转化(EMT)的相关分子机制。**方法:**采用 qRT-PCR 检测胃腺癌细胞系(SGC-7901、MGC-803、SPAG-9 和 MNK-45)和胃粘膜细胞(GES-1)中 miR-194-5p、CD44、Snail 和膜型基质金属蛋白酶-1(MT1-MMP)表达量, Western blot 检测 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量。体外构建 miR-194-5p 过表达和低表达质粒载体并进行慢病毒转染, 实验分为过表达组、对照组和低表达组, qRT-PCR 和 Western blot 检测 miR-194-5p、CD44、Snail 和 MT1-MMP 的变化; CCK8 法检测细胞增殖率, 流式细胞术检测细胞凋亡率, Transwell 实验检测细胞侵袭力, Western blot 检测 EMT 标志物 E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达量。**结果:**胃腺癌细胞系中 miR-194-5p 表达显著低于胃粘膜细胞, 而 CD44、Snail 和 MT1-MMP 表达量显著升高; SGC-7901 和 MGC-803 与胃粘膜细胞的表达差异最明显($P<0.05$)。与对照组相比, 过表达组 miR-194-5p 表达量明显升高, CD44、Snail 和 MT1-MMP 表达量显著下降, 细胞增殖率和侵袭力下降, 凋亡率升高, E-cadherin 上调, N-cadherin 下调($P<0.05$)。与对照组相比, 低表达组 miR-194-5p 表达量明显下降, CD44、Snail 和 MT1-MMP 表达量显著增加, 细胞增殖率和侵袭力升高, 凋亡率下降, E-cadherin 下调, N-cadherin 上调($P<0.05$)。**结论:**胃癌中 miR-194-5p 低表达可能发挥抑癌作用, 通过下调 CSCs 中 CD44 表达进而抑制 EMT 的发生。

关键词:miR-194-5p; CD44; 胃癌; 肿瘤干细胞; 上皮间质转化; 膜型基质金属蛋白酶-1

中图分类号:R-33; R735.2 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)12-2244-06

Mechanism of MiR-194-5p Targeted Downregulation of CD44 Inhibiting Epithelial Mesenchymal Transformation of Gastric Cancer Stem Cells*

LI Liang, LI Jian-gang, ZHOU Jing-tao, MA Bo, WANG Jun[△]

(Department of General Surgery, the Second Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830063, China)

ABSTRACT Objective: To explore the molecular mechanism of miR-194-5p targeting down regulation of CD44 and inhibiting epithelial mesenchymal transition (EMT) in gastric cancer stem cells (CSCs). **Methods:** qRT-PCR was used to detect the expression levels of miR-194-5p, CD44, Snail, and membrane matrix metalloproteinase-1 (MT1-MMP) in gastric adenocarcinoma cell lines (SGC-7901, MGC-803, SPAG-9, and MNK-45) and gastric mucosal cells (GES-1). Western blot was used to detect the expression levels of CD44, Snail, and MT1-MMP proteins. miR-194-5p over-expression and low-expression plasmid vectors were constructed in vitro then to transfect with lentivirus. The experiment was divided into over-expression group, control group, and low-expression group. qRT-PCR and Western blot were used to detect changes of miR-194-5p, CD44, Snail, and MT1-MMP; CCK8 assay was used to detect cell proliferation rate, flow cytometry was used to detect cell apoptosis rate, Transwell assay was used to detect cell invasiveness, and Western blot was used to detect the expression levels of EMT markers E-cadherin and N-cadherin proteins. **Results:** The expression of miR-194-5p was significantly lower in gastric adenocarcinoma cell lines than gastric mucosal cells, while the expression levels of CD44, Snail, and MT1-MMP were significantly higher; what's more, the expression differences of SGC-7901 and MGC-803 compared to gastric mucosal cells were the most ($P<0.05$). Compared with the control group, miR-194-5p expression in the over-expression group was significantly more, but CD44, Snail, and MT1-MMP expressions were significantly less, cell proliferation and invasiveness were lower, apoptosis rate was higher, E-cadherin was upregulated, and N-cadherin was downregulated ($P<0.05$). Compared with the control group, the expression level of miR-194-5p was significantly lower in the low-expression group, while the expression levels of CD44, Snail, and MT1-MMP were significantly higher, the cell proliferation rate and invasiveness were more, while the apoptosis rate was less, E-cadherin was downregulated, and N-cadherin was upregulated ($P<0.05$). **Conclusion:** Low expression of miR-194-5p in gastric cancer may exert an anti-tumor effect by downregulating the expression of CD44 in CSCs, thereby inhibiting the occurrence of EMT.

Key words: miR-194-5p; CD44; Gastric cancer; Cancer stem cells; Epithelial mesenchymal transition; Membrane matrix metalloproteinase-1

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

Article ID: 1673-6273(2024)12-2244-06

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2021D01C377)

作者简介:李亮(1980-),本科,副主任医师,主要研究方向:普外科,E-mail: 37056064@qq.com

△ 通讯作者:王俊(1987-),男,硕士研究生,主要研究方向:普外科,E-mail: 328571057@qq.com

(收稿日期:2024-01-14 接受日期:2024-01-31)

前言

胃癌作为我国最常见的恶性肿瘤之一,病死率居高不下^[1-3]。肿瘤干细胞(cancer stem cells,CSCs)是维系肿瘤恶性增殖的主要成分,其中CD44被认为是胃癌 CSCs 的一种重要标志物^[4]。胃癌 CSCs 的主要特征之一是上皮细胞向间质细胞转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT),进而促进肿瘤的侵袭和转移^[5]。胃癌细胞通过EMT可以从原位脱落并侵入周围组织,经血液或淋巴系统进行远处转移^[6]。此外,EMT还能增强胃癌细胞的抵抗力,对放疗、化疗以及免疫治疗产生耐药性^[7-9]。miRNA 可通过种子区域与靶 mRNA 的 3'UTR 端进行互补结合,调控 mRNA 转录,从而调控细胞的生物学功能,包括肿瘤 CSCs 特性以及 EMT 的发生。研究人员已经证明,miR-194 在结直肠癌中上调,并且这一过程有助于肿瘤进展^[10]。在肾癌^[11]、肝癌^[12]中发现了 miR-194 的下调。Kong 等人证明,miR-194 通过 NFAT5 来抑制肺癌细胞的迁移和侵袭^[13]。在食管癌中,miR-194 通过靶向抑制 PRC1 发挥抑制作用^[14]。此外,miR-194 通过靶向 MEF2C 抑制乳腺癌细胞增殖和侵袭^[15]。有学者探寻到^[16,17],CD44 的 3'UTR 上拥有 miR-194-5p 的应答元件可以特异性结合,进而调控 CD44 的表达。本研究旨在进一步探讨 miR-194-5p 靶向下调 CD44 抑制胃癌 CSCs 的 EMT 相关分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞培养

胃腺癌细胞系(SGC-7901、MGC-803、SPAG-9 和 MNK-45)和胃粘膜细胞(GES-1)购自上海中科院细胞研究所,常规复苏后置于含 100 mg/L 胎牛血清的 DMEM 培养液中培养,在 37 °C、5% CO₂ 培养箱中贴壁生长,隔天换液,观察到细胞体积增加至 85% 时用胰酶消化终止生长,PBS 洗涤后重悬成细胞浓度为 1× 10⁶/L 后分装保存备用。

1.2 细胞分组

体外构建 miR-194-5p 过表达和低表达质粒载体,序列分别为 ATTGTGTCG 和 CGCGTGTGACA,并进行慢病毒转染,实验分为过表达组(miR-194-5p 组)、对照组(Control 组)和低表达组(sh-miR-194-5p 组)。

1.3 检测方法

1.3.1 qRT-PCR 检测 miR-194-5p、CD44、Snail 和 MT1-MMP
qRT-PCR 检测胃腺癌细胞系和胃粘膜细胞以及过表达组、对照组和低表达组中 miR-194-5p、CD44、Snail 和膜型基质金属蛋白酶-1(membrane matrix metalloproteinase-1, MT1-MMP) 表达量。Trizol 试剂(美国 Sigma 公司)一步法提取各组细胞总 RNA,检测浓度后反转录为 cDNA(试剂盒购自上海赛默飞有限公司),根据 PCR 试剂盒(上海赛默飞有限公司)两步法步骤进行扩增反应。反应条件为 95 °C 2 min, 95 °C 30 s, 60 °C 30 s 和 72 °C 30 s, 共 40 个循环。熔解曲线分析,目的基因的表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法表示。引物序列 miR-194-5p:(F)5'-TATGCGCGT-GTGA-3', (R)5'-CGCGTGTGCGAC-3'; CD44:(F)5'-AATTGT-GTCGCCCA-3', (R)5'-CCGCGTGTGACACACCAT-3'; Snail:(F)5'-GGTGTGCGCGACC-3', (R)5'-CGCGCGTGCACGCG-3';

MT1-MMP: (F)5'-ATGCGCGTGCCT-3', (R)5'-TCGCGT-GCGTGACC-3'; 内参 U6:(F)5'-GGTTCGCACGTGCG-3', (R)5'-CCGTGTGCGCGACGTGCG-3'。引物序列由上海赛默飞有限公司在 Primer5 软件上合成。

1.3.2 Western blot 检测 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白
Western blot 检测胃腺癌细胞系和胃粘膜细胞以及过表达组、对照组和低表达组中 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量,以及过表达组、对照组和低表达组中 EMT 标志物 E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达量。加入 RIPA 细胞裂解液 600 μL(南京建成有限公司),检测蛋白浓度。上样品,电泳,转膜,封闭 1 h。加入鼠抗人 CD44、Snail 和 MT1-MMP、E-cadherin 和 N-cadherin 单克隆抗体一抗(工 1:5000,南京凯基有限公司)4 °C 孵育过夜,洗膜后加入二抗(工作浓度为 1:50,南京凯基有限公司)37 °C 孵育 2 h。洗膜后加入 ECL 荧光显色液,AlphaImager 2200 分析灰度值。结果以目的蛋白与内参蛋白 GAPDH 的灰度比值进行表示。

1.3.3 CCK8 法检测细胞增殖率
CCK8 法检测过表达组、对照组和低表达组细胞增殖率,按照 5×10^4 个 / 孔将细胞铺在 96 孔板中,孵育 48 h 后终止培养,每孔 100 μL CCK-8 试剂,孵育箱中放置 4 h,然后加入 200 μL 二甲基亚砜,孵育 10 min 后上机测吸光度。

1.3.4 流式细胞术检测细胞凋亡率
流式细胞术检测过表达组、对照组和低表达组细胞凋亡率,各组培养 48 h 后 PBS 清洗 2 次,参照凋亡试剂盒(美国 Invitrogen 公司)说明书操作,加入 500 μL 缓冲液重新悬浮细胞,加入 10 μL Annexin V - FITC,室温暗处孵育 10 min,加入 5 μL PI 混匀染色,上机。

1.3.5 Transwell 实验检测细胞侵袭力
制备 Matrigel 胶,与无血清培养液 1:3 稀释,将 1×10^5 个细胞接种到小室的上层,下层中用血清填充,培养箱下孵育。48 h 后用棉棒去除上层细胞,用戊二醛固定,结晶紫染色。在 200 倍显微镜中计数,任取 5 个视野,计数。

1.4 统计学方法

采用 SPSS20.0 统计软件对计量资料(均数±标准差)多组间比较采用单因素 ANOVA 分析,两组间 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃腺癌细胞系和胃粘膜细胞 miR-194-5p、CD44、Snail 和 MT1-MMP mRNA 表达量

胃腺癌细胞系中 miR-194-5p 表达显著低于胃粘膜细胞,而 CD44、Snail 和 MT1-MMP mRNA 表达量显著升高; SGC-7901 和 MGC-803 与胃粘膜细胞的表达差异最明显($P < 0.05$),见图 1。

2.2 胃腺癌细胞系和胃粘膜细胞 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量

胃腺癌细胞系中 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量显著高于胃粘膜细胞,SGC-7901 和 MGC-803 与胃粘膜细胞的表达差异最明显($P < 0.05$),见图 2。

2.3 组间 miR-194-5p、CD44、Snail 和 MT1-MMP mRNA 表达量

我们进一步选择 SGC-7901 细胞分别转染 miR-194-5p 过表达、空白对照以及低表达质粒载体。结果显示:与对照组相

比, 过表达组 miR-194-5p 表达量明显升高, CD44、Snail 和 MT1-MMP mRNA 表达量显著下降($P<0.05$)。与对照组相比,

低表达组 miR-194-5p 表达量明显下降, CD44、Snail 和 MT1-MMP mRNA 表达量显著增加($P<0.05$)。见图 3。

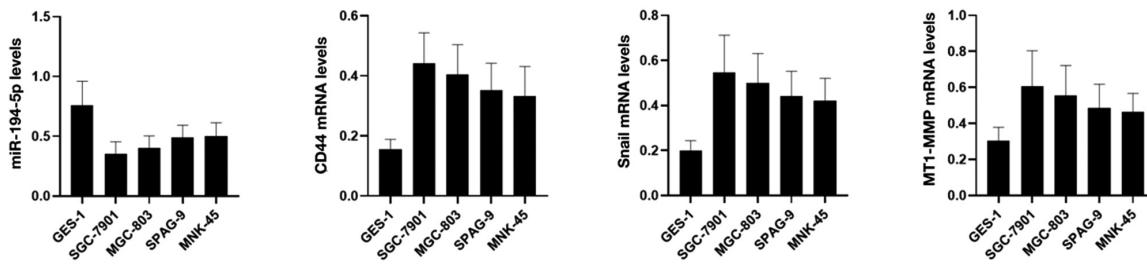


图 1 胃腺癌细胞系和胃粘膜细胞 miR-194-5p、CD44、Snail 和 MT1-MMP mRNA 表达量

Fig.1 miR-194-5p, CD44, Snail, and MT1-MMP mRNA expression levels in gastric adenocarcinoma cell lines and gastric mucosal cells

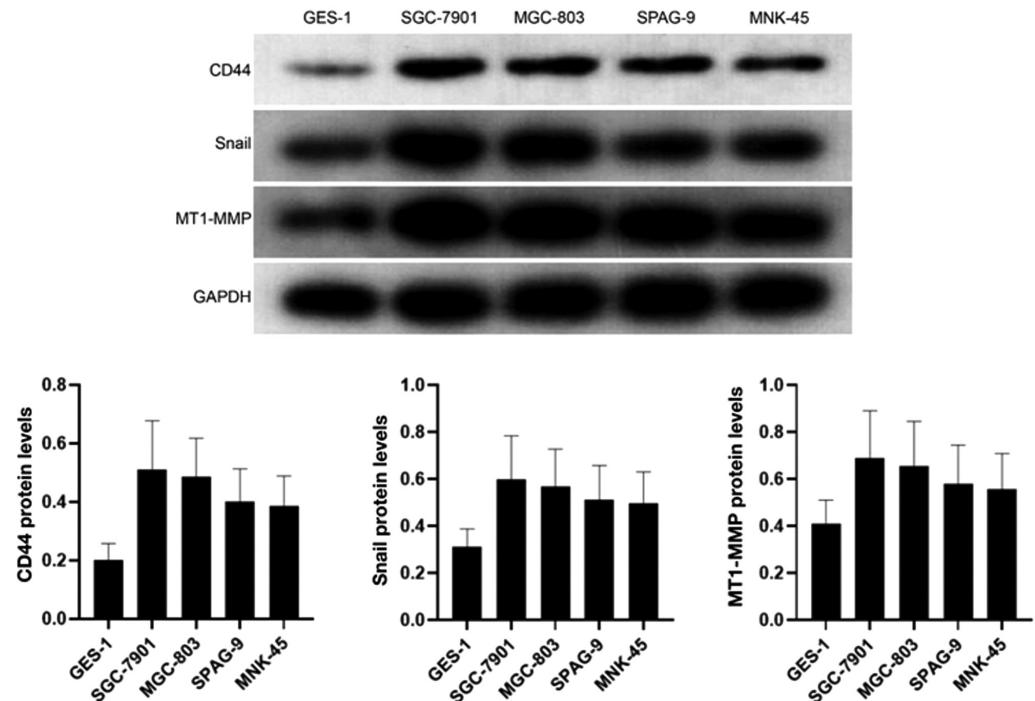


图 2 胃腺癌细胞系和胃粘膜细胞 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量

Fig.2 Expression levels of CD44, Snail, and MT1-MMP proteins in gastric adenocarcinoma cell lines and gastric mucosal cells

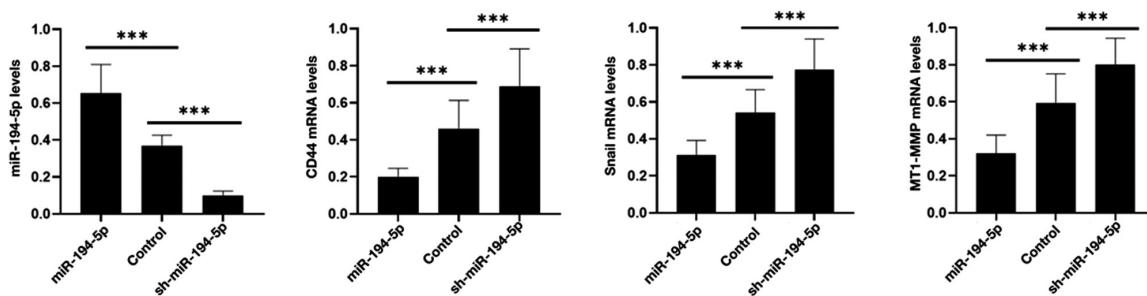


图 3 miR-194-5p、CD44、Snail 和 MT1-MMP mRNA 表达量

Fig.3 miR-194-5p, CD44, Snail, and MT1-MMP mRNA expression levels. ***, $P<0.001$

2.4 组间 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量

与对照组相比, 过表达组 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量显著下降($P<0.05$)。与对照组相比, 低表达组 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量显著增加($P<0.05$)。见图 4。

2.5 组间增殖率的比较

培养 48 h 检测发现, 过表达组细胞增殖率显著低于对照组, 低表达组显著高于对照组($P<0.05$), 见图 5。

2.6 组间凋亡率的比较

过表达组细胞凋亡率明显高于对照组, 低表达组明显小于对照组($P<0.05$), 见图 6。

2.7 组间侵袭力的比较

过表达组细胞侵袭数目比对照组下降, 低表达组比对照组增多($P<0.05$), 见图 7。

2.8 组间 E-cadherin 和 N-cadherin 表达的比较

过表达组比对照组 E-cadherin 蛋白表达上调, N-cadherin 表达下调;低表达组比对照组 E-cadherin 表达下调, N-cadherin

表达上调($P<0.05$),图 8。

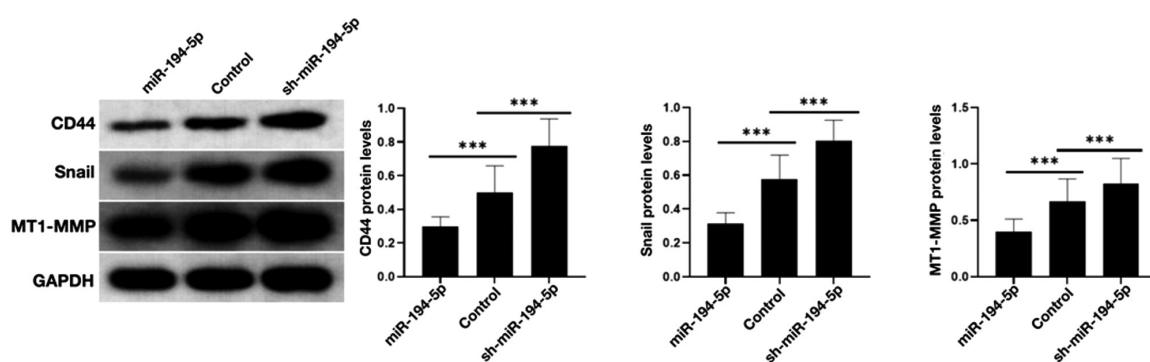


图 4 CD44、Snail 和 MT1-MMP 蛋白表达量

Fig.4 Expression levels of CD44, Snail, and MT1 MMP proteins. ***, $P<0.001$

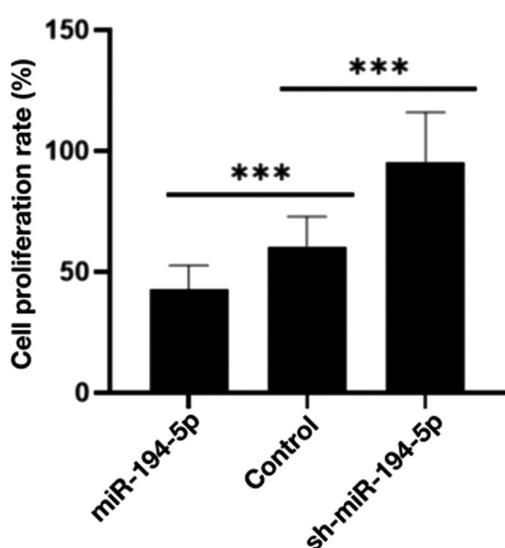


图 5 细胞增殖率的比较

Fig.5 Comparison of cell proliferation rates. ***, $P<0.001$

3 讨论

胃癌作为我国高发癌症,发病率持续升高。目前普遍认为 CSCs 在胃癌进展中扮演着重要角色。研究证实^[18-20],CSCs 具有以下特性:通过无限增殖及不断自我更新维持肿瘤细胞群的生命力;具有运动及迁徙能力导致肿瘤转移;可以处于休眠状态

同时产生多种耐药蛋白,对外界理化因素不敏感,消灭大部分普通肿瘤细胞一段时间后可以再次复发。CD44,一种细胞膜蛋白,普遍认为是 CSC 标志蛋白。CD44 表达的细胞有以下特征:自无限增殖、耐药、放疗抵抗等^[21]。CD44 被剪接后产生 CD44s、CD44v 两种型号。这些结构与配体结合后,激活了下游信号^[22]。因此,明确调控 CD44 的分子机制对于胃癌的防治至关重要。

miR-194-5p 是一种非编码 RNA,在调控肿瘤恶性进展中扮演着重要角色。首先我们观察了胃癌细胞及正常胃黏膜细胞 miR-194-5p 的表达情况,结果显示,胃腺癌细胞系 SGC-7901 和 MGC-803 中 miR-194-5p 表达显著低于胃粘膜细胞,而 CD44、Snail 和 MT1-MMP 表达量显著升高($P<0.05$)。研究发现^[23],miR-194-5p 可下调 CDK4 和 CyclinD1 表达,影响肿瘤细胞周期进而抑制胃癌细胞的增殖,提示 miR-194-5p 与胃癌的发生和发展相关。高表达 miR-194-5p 后胃癌细胞 MGC-803 侵袭迁移能力下降,上皮标志物(E-cadherin)表达上调,间质标志物(vimentin)表达下调,提示 miR-194-5p 与胃癌细胞的侵袭迁移和 EMT 密切相关^[24]。也有研究报道^[25],miR-194-5p 可促进乳腺癌细胞的增殖和侵袭。本研究证实过表达组细胞增殖率和侵袭力下降,凋亡率升高,E-cadherin 上调,N-cadherin 下调;而低表达组细胞增殖率和侵袭力升高,凋亡率下降,E-cadherin 下调,N-cadherin 上调($P<0.05$)。印证了本研究的实验设想,即 miR-194-5p 调控胃癌细胞恶性行为。

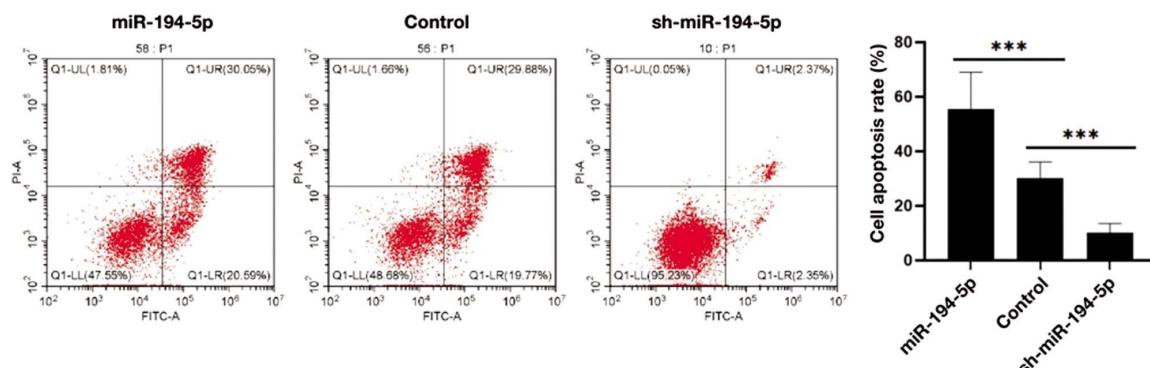


图 6 细胞凋亡率的比较

Fig.6 Comparison of cell apoptosis rates. ***, $P<0.001$

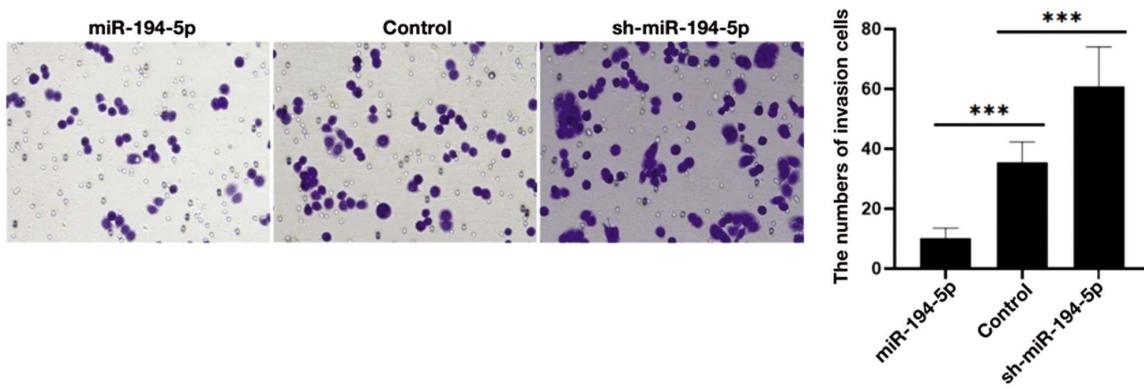


图 7 细胞侵袭数目的比较

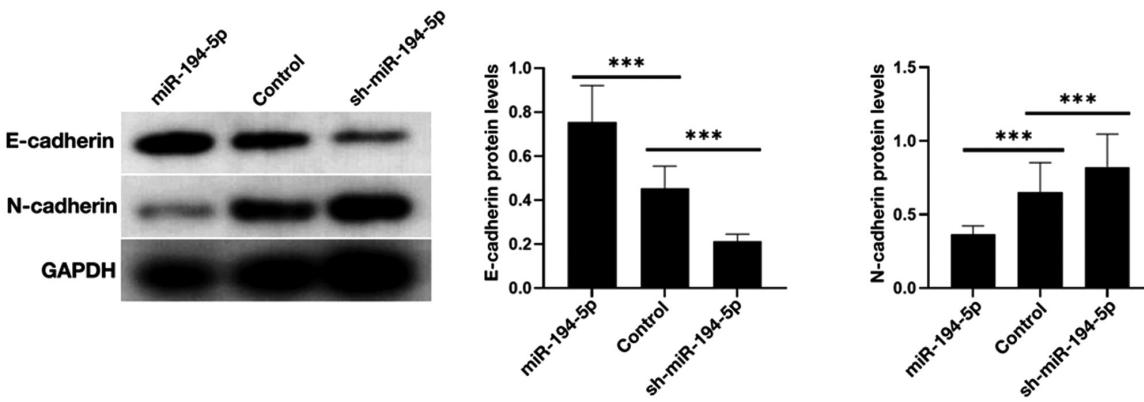
Fig.7 Comparison of the number of cell invasions. ***, $P < 0.001$.

图 8 E-cadherin 和 N-cadherin 蛋白表达的比较

Fig.8 Comparison of E-cadherin and N-cadherin protein expression. ***, $P < 0.001$

在肿瘤微环境中,EMT 受复杂的信号通路及多种细胞因子的调控,如:TGF-β、Wnt、Hedgehog、Notch 信号通路及 ZEB1、Twist、Snail、Slug 细胞因子等,通过激活 EMT 转录因子促进肿瘤 EMT 发生^[26,27]。CD44 是细胞表面跨膜糖蛋白,主要参与异质性粘附,即肿瘤细胞与宿主细胞和宿主基质的粘附,异质性粘附在肿瘤细胞侵袭转移中发挥重要的促进作用^[28]。高表达 CD44 的口腔癌患者肿瘤更易发生远处转移,与预后不良相关^[29]。胃癌患者肿瘤组织中高表达 CD44 可导致淋巴转移、远处转移及复发^[30]。另外,CD44 作为胃癌 CSCs 的重要标志物,可以影响肿瘤特性,参与 EMT 的发生过程。多项研究表明^[31,32],CD44 参与调控肿瘤细胞 EMT 过程。因此探索 CD44-EMT 轴的调控机制至关重要。

EMT 的发生关键是在肿瘤转移过程中细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的降解,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)是降解 ECM 的最主要蛋白酶,在高侵袭的肿瘤细胞中高表达,通过降解 ECM 促进细胞转移^[33]。其中 MMP2、MMP9 和 MT1-MMP 研究最广泛,是参与肿瘤 EMT 最重要的酶^[34]。本研究进一步选择 SGC-7901 细胞构建 miR-194-5p 过表达、对照和低表达组,结果发现过表达组 miR-194-5p 表达量明显升高,CD44、Snail 和 MT1-MMP 表达量显著下降;而低表达组 miR-194-5p 表达量明显下降,CD44、Snail 和 MT1-MMP 表达量显著增加($P < 0.05$)。提示,靶向 miR-194-5p 可以调控 CD44、Snail 和 MT1-MMP 的表达。CD44 的 3'UTR 上拥有 miR-194-5p 的应答元件可以特异性结合,进而调控 CD44 的表达。詹盼盼等^[35]研究发现,miR-195 可

通过靶向 CD44 调控干细胞的侵袭能力,这与本次研究结果基本一致。

本研究从肿瘤干细胞角度探讨 miR-194-5p 对胃癌恶性表型的影响,具有一定的创新性,同时值得同行参考借鉴。但本次研究也存在一定局限性,如未进行体内实验在此确认 miR-194-5p 的调控作用;其次,CD44 调控 EMT 的机制还需要进一步深入研究。

综上所述,胃癌中 miR-194-5p 低表达可能发挥抑癌作用,通过下调 CSCs 中 CD44 表达进而抑制 EMT 的发生,为肿瘤的发生机制以及寻找临床干预靶点提供了重要理论支撑。

参 考 文 献(References)

- [1] 赫捷,陈万青,李兆申,等.中国胃癌筛查与早诊早治指南(2022,北京)[J].中国肿瘤,2022,31(07): 488-527.
- [2] Douda L, Cyrany J, Tachecí I. Early gastric cancer[J]. Vnitr Lek, 2022, 68(6): 371-375.
- [3] Rao X, Zhang C, Luo H, et al. Targeting Gastric Cancer Stem Cells to Enhance Treatment Response[J]. Cells, 2022, 11(18): 2828.
- [4] 魏永健,吴永娜,张磊,等. CD44 与消化系统肿瘤的关系及靶向治疗研究进展[J].现代肿瘤医学,2021,29(06): 1055-1058.
- [5] Guo K, Duan J, Lu J, et al. Tumor necrosis factor-α-inducing protein of Helicobacter pylori promotes epithelial-mesenchymal transition and cancer stem-like cells properties via activation of Wnt/β-catenin signaling pathway in gastric cancer cells [J]. Pathog Dis, 2022, 80(1): 1023-1026.
- [6] Yoon C, Lu J, Jun Y, et al. KRAS activation in gastric cancer stem-like cells promotes tumor angiogenesis and metastasis [J]. BMC Canc,

- 2023, 23(1): 690.
- [7] Wang F, Yi J, Chen Y, et al. PRSS2 regulates EMT and metastasis via MMP-9 in gastric cancer[J]. *Acta Histochem*, 2023, 125(6): 152071.
- [8] Li D, Xia L, Huang P, et al. Heterogeneity and plasticity of epithelial-mesenchymal transition (EMT) in cancer metastasis: Focusing on partial EMT and regulatory mechanisms [J]. *Cell Prolif*, 2023, 56(6): e13423.
- [9] Liu Y, Fang X, Wang Q, et al. SMC1A facilitates gastric cancer cell proliferation, migration, and invasion via promoting SNAIL activated EMT[J]. *BMC Gastroenterol*, 2023, 23(1): 268.
- [10] Liu T, Fang Y. MiR-194-3p modulates the progression of colorectal cancer by targeting KLK10 [J]. *Histol Histopathol*, 2022, 37 (3): 301-309.
- [11] Luo W, Xu Z, Wang H, et al. HIF1A-repressed PUS10 regulates NUDC/Cofilin1 dependent renal cell carcinoma migration by promoting the maturation of miR-194-5p[J]. *Cell Biosci*, 2023, 13(1): 153.
- [12] Niu X, Nong S, Gong J, et al. MiR-194 promotes hepatocellular carcinoma through negative regulation of CADM1 [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2020, 13(7): 1518-1528.
- [13] Meng X, Li Z, Zhou S, et al. miR-194 suppresses high glucose-induced non-small cell lung cancer cell progression by targeting NFAT5[J]. *Thorac Cancer*, 2019, 10(5): 1051-1059.
- [14] Wang Y, Yao N, Sun J. Upregulation of miR-194-5p or silencing of PRC1 enhances radiotherapy sensitivity in esophageal squamous carcinoma cells[J]. *Heliyon*, 2023, 9(12): e22282.
- [15] Caetano S, Garcia AR, Figueira I, et al. MEF2C and miR-194-5p: New Players in Triple Negative Breast Cancer Tumorigenesis[J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(18): 14297.
- [16] 李建刚,李亮,帕合热迪尼·玉素甫,等. miR-194-5p 靶向下调 CD44 抑制胃癌干细胞干性特征的研究[J]. 临床外科杂志, 2021, 29 (06): 554-558.
- [17] Li L, Gao J, Li J, et al. miR-194-5p regulates gastric cancer progression by targeting CD44 [J]. *Cancer Biomark*, 2022, 35 (1): 71-81.
- [18] 林浩,王朝样,张海宝,等. 微小 RNA 在胃癌干细胞干性调控及靶向治疗中的研究进展 [J]. 中国普外基础与临床杂志, 2023, 30 (03): 358-363.
- [19] 黄玉斌,刘霄,徐翠香,等. 胃癌干细胞和免疫检查点抑制剂治疗胃癌研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2022, 39 (05): 486-490, 495.
- [20] 李扬波,董卫国. 胃癌干细胞作为胃癌治疗靶点的研究进展 [J]. 中南药学, 2022, 20 (04): 888-892.
- [21] Hou W, Kong L, Hou Z, et al. CD44 is a prognostic biomarker and correlated with immune infiltrates in gastric cancer [J]. *BMC Med Genomics*, 2022, 15(1): 225-227.
- [22] Sohn SH, Kim B, Sul HJ, et al. Foretinib Inhibits Cancer Stemness and Gastric Cancer Cell Proliferation by Decreasing CD44 and c-MET Signaling[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(2): 1027-1035.
- [23] Xiao WS, Li DF, Tang YP, et al. Inhibition of epithelial mesenchymal transition in gastric cancer cells by miR 711 mediated downregulation of CD44 expression [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40 (5): 2844-2853.
- [24] 谭芳芳,廖爱军. microRNA-711 的研究进展与展望 [J]. 医学研究杂志, 2019, 48 (05): 189-192, 89.
- [25] 胡希,高炜. miR-194-5p 的表达和功能研究进展 [J]. 生理科学进展, 2018, 49 (03): 177-181.
- [26] Li S, Cong X, Gao H, et al. Tumor-associated neutrophils induce EMT by IL-17a to promote migration and invasion in gastric cancer cells[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 6-8.
- [27] Wang F, Yi J, Chen Y, et al. PRSS2 regulates EMT and metastasis via MMP-9 in gastric cancer [J]. *Acta Histochem*, 2023, 125 (6): 152071.
- [28] Li Q, Li Y, Jiang H, et al. Vitamin D suppressed gastric cancer cell growth through downregulating CD44 expression in vitro and in vivo [J]. *Nutrition*, 2021, 91(11): 111413.
- [29] 毛煌兴,刘晓阳,周晓,等. CD44 表达与口腔癌患者临床病理特征及生存预后的荟萃分析 [J]. 肿瘤药学, 2020, 10 (05): 594-599, 607.
- [30] 蔡迎彬,张玉俊,王岩,等. 胃腺体组织癌变过程中 CD44 和 survivin 表达与幽门螺杆菌感染的相关性及其在胃癌浸润和转移中的作用 [J]. 新乡医学院学报, 2023, 40 (08): 729-735.
- [31] Li J, Ren H, Wang J, et al. Extracellular HMGB1 promotes CD44 expression in hepatocellular carcinoma via regulating miR-21 [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(6): 8380-8395.
- [32] Huang H, Huang F, Liang X, et al. Afatinib Reverses EMT via Inhibiting CD44-Stat3 Axis to Promote Radiosensitivity in Nasopharyngeal Carcinoma[J]. *Pharmaceuticals (Basel)*, 2022, 6(1): 37.
- [33] Wang F, Yi J, Chen Y, et al. PRSS2 regulates EMT and metastasis via MMP-9 in gastric cancer [J]. *Acta Histochem*, 2023, 125 (6): 152071.
- [34] Zhao L, Niu H, Liu Y, et al. LOX inhibition downregulates MMP-2 and MMP-9 in gastric cancer tissues and cells [J]. *J Cancer*, 2019, 10 (26): 6481-6490.
- [35] 詹盼盼,舒雄,陈梦. 微小 RNA-195 抑制 CD44+ 胃癌干细胞的干性特征和侵袭能力[J]. 江苏医药, 2021, 47(5): 437-442, 446.