

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.07.003

叶酸抑制宫颈癌进展过程中 miR-642a-5p 的表达 及其对肿瘤细胞的抑制作用研究*

林文毅 欧阳慧 周晓宁 张艳玲 翁美娟

(中国人民解放军南部战区总医院妇产科 广东 广州 510000)

摘要 目的:探讨叶酸抑制宫颈癌进展过程中 miR-642a-5p 的表达及其对肿瘤细胞的抑制作用。**方法:**选择宫颈癌细胞株 SiHa 进行传代培养,采用随机法分为 4 组:低剂量组、中剂量组、高剂量组分别加入 1 $\mu\text{g/mL}$ 、10 $\mu\text{g/mL}$ 、100 $\mu\text{g/mL}$ 的叶酸,而空白对照组未加入叶酸处理。利用实时定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)检测 miR-642a-5p 的表达;采用细胞增殖毒性试验(CCK-8 法)、细胞迁移实验(划痕实验)和细胞侵袭实验(Transwell 法)分别测量宫颈癌 SiHa 细胞的增殖活性、迁移和侵袭能力。**结果:**低、中、高剂量组中叶酸显著抑制了宫颈癌 SiHa 细胞中 miR-642a-5p 的表达($P<0.05$),而且随着叶酸浓度升高,其对 miR-642a-5p 的抑制作用逐渐增强。此外,低、中、高剂量组中叶酸对宫颈癌 SiHa 细胞的增殖、迁移以及侵袭具有显著抑制作用($P<0.05$),而且叶酸浓度越高,其抑制作用越强。**结论:**叶酸可以抑制宫颈癌进展过程中 miR-642a-5p 的表达,而且对宫颈癌 SiHa 细胞的增殖、迁移和侵袭具有一定的抑制作用。

关键词:叶酸;宫颈癌;miR-642a-5p;细胞增殖;细胞迁移;细胞侵袭

中图分类号:R737.33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)07-1211-05

Folic Acid Inhibits the Expression of miR-642a-5p during the Progression of Cervical Cancer and Its Inhibitory Effect on Tumor Cells*

LIN Wen-yi, OUYang Hui, ZHOU Xiao-ning, ZHANG Yan-ling, WENG Mei-juan

(Department of Obstetrics and Gynecology, Southern theater General Hospital of the Chinese People's Liberation Army, Guangzhou, Guangdong, 510000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the inhibitory effect of folic acid on the expression of miR-642a-5p and tumor cells in the progression of cervical cancer. **Methods:** The cervical cancer cell line SiHa was selected for subculture and randomly divided into four groups: low dose group, medium dose group and high dose group were added with 1 $\mu\text{g/mL}$, 10 $\mu\text{g/mL}$ and 100 $\mu\text{g/mL}$ folic acid respectively, while the blank control group was not treated with folic acid. The expression of miR-642a-5p was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR); The proliferation activity, migration and invasion ability of cervical cancer SiHa cells were measured by cell proliferation toxicity test (CCK-8 method), cell migration test (scratch test) and cell invasion test (transwell method). **Results:** Folic acid in the low, medium and high dose groups significantly inhibited the expression of miR-642a-5p in cervical cancer SiHa cells ($P<0.05$), and as the concentration of folic acid increased, its inhibitory effect on miR-642a-5p gradually increased. In addition, folic acid in the low, medium and high dose groups had a significant inhibitory effect on the proliferation, migration and invasion of cervical cancer SiHa cells ($P<0.05$), and the higher the concentration of folic acid, the stronger its inhibitory effect. **Conclusion:** Folic acid can inhibit the expression of miR-642a-5p during the progression of cervical cancer, and it has a certain inhibitory effect on the proliferation, migration and invasion of cervical cancer SiHa cells.

Key words: Folic acid; Cervical cancer; miR-642a-5p; Cell proliferation; Cell migration; Cell invasion

Chinese Library Classification(CLC): R737.33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)07-1211-05

前言

宫颈癌是全球第四大最常见的女性癌症,其主要致病因素为人类乳头瘤病毒(HPV)持续感染^[1-3]。虽然宫颈癌发病率和死亡率很高,但是如果早期发现及治疗可以有效改善患者的预后生活质量。叶酸作为一种必需的水溶性维生素 B,有研究认为叶酸水平降低或不足与许多癌症的风险增加有关^[4-6]。其中,人

体内血清叶酸水平过低与宫颈癌发生有一定关系^[7,8]。因此,叶酸缺乏将可能导致宫颈癌的发生。有研究表明微小 RNA(miRNA)的异常表达是宫颈癌发展过程中的重要机制^[9-11],其中 miR-642a-5p 是目前发现与宫颈癌进展过程中密切相关的 miRNA 之一^[12]。但是,目前尚不清楚叶酸缺乏是否在由异常 miRNA 表达引起的宫颈癌中起作用。因此,本研究利用不同浓度的叶酸对宫颈癌 SiHa 细胞进行处理,主要探讨叶酸抑制宫

* 基金项目:广东省自然科学基金项目(2015A030313606)

作者简介:林文毅(1975-),女,本科,主治医师,研究方向:妇科肿瘤,E-mail:lwenyi0918@163.com

(收稿日期:2021-10-06 接受日期:2021-10-29)

颈癌进展过程中 miR-642a-5p 的表达及其对肿瘤细胞的抑制作用,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

叶酸购于北京斯利安药业有限公司。使用电子天平称量 1 g 叶酸,并溶解于 10 mL 的 RPMI 1640 培养基中制成 100 mg/mL 的叶酸原液。人宫颈癌细胞株 SiHa 购于中国上海生命科学细胞研究所。主要试剂:RPMI 1640 培养基和胎牛血清、磷酸盐缓冲液(PBS)购于中国上海赛信通生物试剂有限公司;实时定量聚合酶链式反应(RT-qPCR)试剂盒和 TRIzol[®] 试剂购于中国赛默飞世尔科技有限公司;Matrigel 基质胶购于中国碧云天生物技术有限公司;CCK-8 试剂、Transwell 购于中国上海信裕生物科技有限公司。

1.2 细胞培养和叶酸处理

将人宫颈癌细胞株 SiHa 细胞在接种于含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基中进行培养,环境条件为:37℃、5%CO₂ 的湿润空气,细胞一旦达到 90% 合流就传代。将传代培养后的 SiHa 细胞采用随机法分为 4 组,包括低剂量组、中剂量组、高剂量组和空白对照组。利用 RPMI 1640 培养基将叶酸原液稀释成不同浓度的叶酸,包括 1 μg/mL、10 μg/mL 以及 100 μg/mL。在低、中、高剂量组中分别加入 1 μg/mL、10 μg/mL 以及 100 μg/mL 的叶酸进行处理,而空白对照组未加入叶酸处理,继续培养 72 h。

1.3 RT-qPCR

使用 TRIzol[™] 试剂分别从经过叶酸处理后的低剂量组、中剂量组、高剂量组和空白对照组的 SiHa 细胞中提取总 RNA,然后使用 RT-qPCR 试剂盒合成 cDNA 并进行 PCR 反应。其中,采用 U6 作为 miR-642a-5p 和目标基因的内部参照。所用的特异性引物均由中国上海信裕生物科技有限公司设计合成,具体如下:miR-642a-5p (上游:GCGGTCCCTCTCCAAATGT,下游 AGTGCAGGGTCCAGGTATT);U6 (上游:CTCGCTTCG-GCAGGCACA,下游 AACGCTTCACGAATTTGCG)。所有反应均在实时荧光定量 PCR 仪(科瑞恩特科技有限公司,北京)上使用进行,循环参数设定具体如下:初始变性 50℃/2 分钟、95℃/3 分钟,变性 95℃/3 分钟;退火 60℃/40 秒;延伸 95℃/12 秒。共进行 40 个循环。采用 2^{-ΔΔCt} 方法计算 miR-642a-5p 的相对表达量,反复实验三次取平均值为最终结果。

1.4 细胞增殖毒性试验(CCK-8 法)

分别将经叶酸处理后的低、中、高剂量组以及空白对照组中的对数期生长的 SiHa 细胞接种于 96 孔板中(细胞密度为 1.0×10⁵/mL),每组均设置 3 个复孔(包括实验孔、对照孔、空白孔),每组孔加入 100 μL 含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基,在条件为 37℃、5%CO₂、95%湿度的培养箱中培养过夜。当细胞融合度达到 35-50%时,每组实验孔加入 10 μL CCK-8 试剂,轻微振动混合后,再置于相同条件下的培养箱中进行培养 24 h。采用酶标仪(科瑞恩特科技有限公司,北京)在 450 nm 吸光度处测量 SiHa 细胞的增殖率。计算公式如下:增殖率(%)=(实验孔光密度 - 空白孔光密度)/(对照孔光密度 - 空白孔光密度)×100%。反复实验三次取平均值为最终结果。

1.5 细胞迁移实验(划痕实验)

分别将低、中、高剂量组以及空白对照组中的 SiHa 细胞接种于 6 孔板中(细胞密度为 1.0×10⁵/mL),在条件为 37℃、5%CO₂、95%湿度的培养箱中培养,使其长满超过 90% 的视野。使用 2 mm 宽的塑料移液器吸头划出一条划痕,反复用 FBS 清洗 3 次。在低、中、高剂量组中分别加入 1 μg/mL、10 μg/mL 以及 100 μg/mL 的叶酸进行处理,而空白对照组未加入叶酸处理;每组均加入等量的含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基一起培养 24h。使用 Lionheart[™] FX 自动活细胞成像仪(科瑞恩特科技有限公司,北京)观察细胞迁移到透明切片的能力。迁移率的计算公式如下:迁移率=(0 h 时的划痕距离)-(24 h 时的刮擦距离)/0 h 时的刮擦距离。反复实验三次取平均值为最终结果。

1.6 细胞侵袭实验(Transwell 法)

将孔径为 8 μm 的 Transwell 小室插入涂有 Matrigel 基质胶的 24 孔板中。分别将经叶酸处理后的低、中、高剂量组以及空白对照组的 SiHa 细胞添加到上室,每个下室均添加 500 μL 含 30% FBS 的 RPMI 1640 培养基,在条件为 37℃、5%CO₂、95%湿度的培养箱中培养 24 h。培养结束后,用棉签小心地去掉膜上表面的非侵入性细胞。将膜取出后放入 4% 甲醛的 24 孔板中进行固定 20 分钟,并在室温下用 0.1% 结晶紫进行染色 5 分钟。通过 Lionheart[™] FX 自动活细胞成像仪(科瑞恩特科技有限公司,北京)可视化膜下测量表面上的侵袭细胞数目。反复实验三次取平均值为最终结果。

1.7 统计分析

采用 SPSS 21.0 统计学软件进行分析,呈正态分布的计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞中 miR-642a-5p 的相对表达水平

经过不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后 miR-642a-5p 的相对表达水平总体上具有显著差异($P < 0.05$);进一步两两比较可知,与空白对照组相比,低、中、高剂量组 miR-642a-5p 的相对表达水平显著降低,且差异具有统计学意义($P < 0.05$);与低剂量组相比,中、高剂量组 miR-642a-5p 的相对表达水平也显著降低,且差异具有统计学意义($P < 0.05$);而中剂量组与高剂量组之间 miR-642a-5p 的相对表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。如表 1,图 1 所示。

2.2 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后的增殖和迁移能力

不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后的增殖率、迁移率总体上具有显著差异($P < 0.05$);进一步两两比较可知,与空白对照组相比,低、中、高剂量组的增殖率、迁移率显著降低,且差异具有统计学意义($P < 0.05$);与低剂量组相比,中、高剂量组的增殖率、迁移率也显著降低,且差异具有统计学意义($P < 0.05$);而中剂量组与高剂量组之间 miR-642a-5p 的相对表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。具体如表 2,图 2 所示。

2.3 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后的侵袭能力

不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后的侵袭数总体上具有显著差异($P < 0.05$);进一步两两比较可知,与空白对照组相

表 1 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后 miR-642a-5p 的相对表达水平($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Relative expression level of miR-642a-5p in cervical cancer SiHa cells treated with different concentrations of folic acid($\bar{x}\pm s$)

Groups	miR-642a-5p
Blank control group	16.58±3.49
Low dose group	8.32±2.51 ^a
Medium dose group	6.69±3.12 ^{ab}
High dose group	6.51±2.93 ^{ab}
F value	12.357
P value	0.000

Note: ^aCompared with the blank control group, $P<0.05$; ^bCompared with the low dose group, $P<0.05$.

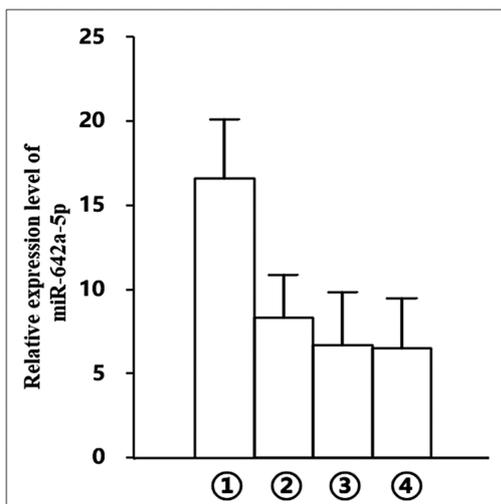


图 1 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后 miR-642a-5p 的相对表达水平

Fig. 1 Relative expression level of miR-642a-5p in cervical cancer SiHa cells treated with different concentrations of folic acid

Note: ①, ②, ③ and ④ represent blank control group, low dose group, medium dose group and high dose group respectively

比,低、中、高剂量组的的侵袭数显著降低,且差异具有统计学意义($P<0.05$);与低剂量组相比,中、高剂量组的侵袭数也显著降低,且差异具有统计学意义($P<0.05$);而中剂量组与高剂量组之间的侵袭数差异无统计学意义($P>0.05$)。具体如表 3 所示。

3 讨论

目前,全球大约有 80%以上的女性都曾感染过 HPV,而

HPV 的持续感染将导致宫颈癌的发生^[13-15]。由于叶酸主要参与 DNA 的合成以及 DNA 的甲基化,叶酸的缺乏将导致肿瘤抑制基因的高甲基化、表达沉默或减少^[16,17]。有文献报道,宫颈癌的发展与人类血清中叶酸水平降低密切相关^[7,18-20]。此外 miRNA 参与了肿瘤组织的细胞增殖、迁移和侵袭^[21-23],其中 miR-642a-5p 是目前发现与宫颈癌进展过程中密切相关的 miRNA 之一^[12]。因此,本研究利用不同浓度的叶酸对宫颈癌 SiHa 细胞进行处理,主要探讨叶酸抑制宫颈癌进展过程中 miR-642a-5p 的表达及其对肿瘤细胞的抑制作用。

本研究结果显示,与空白对照组相比,低、中、高剂量组 miR-642a-5p 的相对表达水平显著降低($P<0.05$),说明叶酸抑制了宫颈癌 SiHa 细胞中 miR-642a-5p 的表达;同时,与低剂量组相比,中、高剂量组 miR-642a-5p 的相对表达水平也显著降低($P<0.05$),说明中、高浓度叶酸抑制 miR-642a-5p 表达具有剂量依赖性。miR-642a-5p 作为目前最新发现的肿瘤相关 miRNA,已被证实 miR-642a-5p 在宫颈癌、结肠癌、肾细胞癌中异常表达^[12,24-26],其中 miR-642a-5p 在宫颈癌细胞中主要以表达上调为主^[12]。因此,叶酸抑制宫颈癌 SiHa 细胞中 miR-642a-5p 的表达,将有可能抑制宫颈癌的进展。为了进一步证实叶酸是否对肿瘤细胞的生物学行为也具有抑制作用,本研究进一步进行通过细胞增殖毒性试验、迁移实验以及侵袭实验进行验证。结果显示,与空白对照组相比,低、中、高剂量组宫颈癌 SiHa 细胞的增殖率、迁移率以及侵袭数均显著降低($P<0.05$),而且随着叶酸浓度的增加,宫颈癌 SiHa 细胞增殖活性、迁移能力以及侵袭能力减弱,说明叶酸不仅对宫颈癌 SiHa 细胞增殖活性、迁移能力以及侵袭能力具有显著抑制作用,而且具有剂量依赖性。与刘雅淑等^[27]研究结果不一致的是,本研究中低剂量组叶酸浓度不

表 2 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后的增殖率、迁移率($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Proliferation rate and migration rate of cervical cancer SiHa cells treated with different concentrations of folic acid($\bar{x}\pm s$)

Groups	Proliferation rate(%)	Migration rate(%)
Blank control group	92.37±2.76	326.47±4.38
Low dose group	67.62±2.87 ^a	318.36±3.45 ^a
Medium dose group	62.49±3.41 ^{ab}	273.42±5.73 ^{ab}
High dose group	61.83±2.92 ^{ab}	256.38±4.26 ^{ab}
F value	17.342	39.472
P value	0.000	0.000

Note: ^aCompared with the blank control group, $P<0.05$; ^bCompared with the low dose group, $P<0.05$.

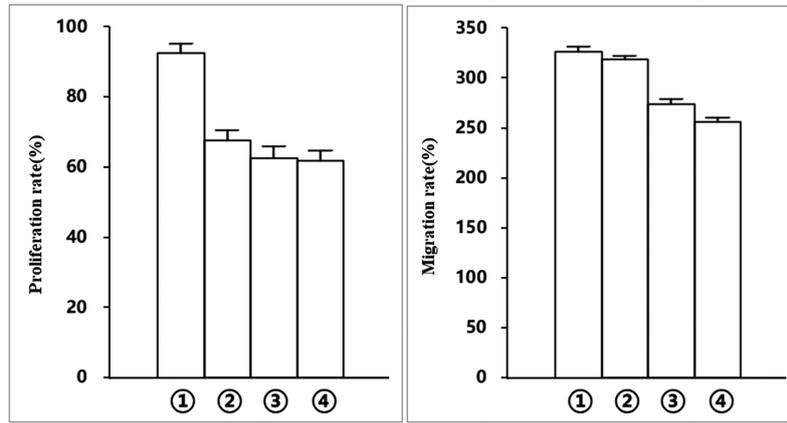


图 2 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后的增殖率、迁移率

Fig. 2 Proliferation rate and migration rate of cervical cancer SiHa cells treated with different concentrations of folic acid
Note: ①, ②, ③ and ④ represent blank control group, low dose group, medium dose group and high dose group respectively.

表 3 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后的侵袭数($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Invasion number of cervical cancer SiHa cells treated with different concentrations of folic acid($\bar{x} \pm s$)

Groups	Invasion number
Blank control group	81.40±10.20
Low dose group	69.30±9.70 ^a
Medium dose group	42.5±8.20 ^{ab}
High dose group	32.90±8.60 ^{ab}
F value	6.379
P value	0.000

Note: ^aCompared with the blank control group, $P < 0.05$; ^bCompared with the low dose group, $P < 0.05$.

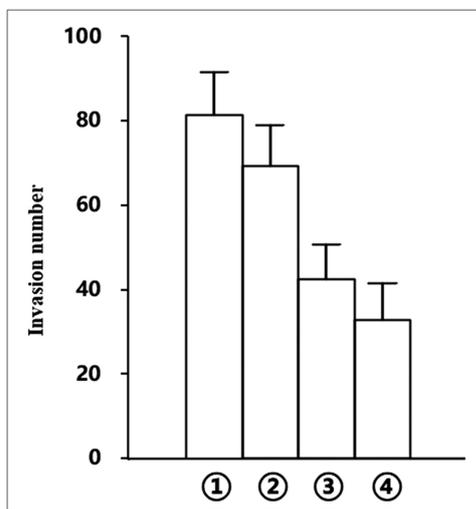


图 3 不同浓度叶酸处理宫颈癌 SiHa 细胞后的侵袭数

Fig. 3 Invasion number of cervical cancer SiHa cells treated with different concentrations of folic acid

Note: ①, ②, ③ and ④ represent blank control group, low dose group, medium dose group and high dose group respectively.

同,但是叶酸对宫颈癌细胞的抑制作用一致。因此,高水平叶酸对宫颈癌细胞的生物学行为有一定的抑制作用。本研究存在一些局限性。首先,叶酸与 DNA 甲基化有关,因此,叶酸可能通过 miR 甲基化改变 miR 表达而发挥其在宫颈癌发生中的作用^[28-30],需要今后进一步研究去验证叶酸、miR-642a-5p 甲基化

和宫颈癌之间的关系。其次,本研究的数据也没有证明 miR-642a-5p 介导基因的调控可能会影响宫颈癌进展过程。最后,本研究并未在体内的宫颈癌进行叶酸验证实验。

综上所述,叶酸可以抑制宫颈癌进展过程中 miR-642a-5p 的表达,而且对于肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭具有一定的抑制作用。

参考文献 (References)

- [1] Pimple SA, Mishra GA. Global strategies for cervical cancer prevention and screening[J]. Minerva Ginecol, 2019, 71(4): 313-320
- [2] Olusola P, Banerjee HN, Philley JV, et al. Human Papilloma Virus-Associated Cervical Cancer and Health Disparities [J]. Cells, 2019, 8 (6): 622
- [3] Johnson CA, James D, Marzan A, et al. Cervical Cancer: An Overview of Pathophysiology and Management[J]. Semin Oncol Nurs, 2019, 35 (2): 166-174
- [4] Oliyai Araghi S, Kieffe-de Jong JC, van Dijk SC, et al. Folic Acid and Vitamin B12 Supplementation and the Risk of Cancer: Long-term Follow-up of the B Vitamins for the Prevention of Osteoporotic Fractures (B-PROOF) Trial [J]. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev, 2019, 28(2): 275-282
- [5] 李元幸,王伟,郝敏.叶酸及其代谢在宫颈癌中的研究进展[J].国际妇产科学杂志, 2021, 48(1): 47-50
- [6] Moazzen S, Dolatkah R, Tabrizi JS, et al. Folic acid intake and folate status and colorectal cancer risk: A systematic review and meta-analysis[J]. Clin Nutr, 2018, 37(6): 1926-1934

- [7] Yang J, Yang A, Wang Z, et al. Interactions between serum folate and human papillomavirus with cervical intraepithelial neoplasia risk in a Chinese population-based study [J]. *Am J Clin Nutr*, 2018, 108(5): 1034-1042
- [8] 陈国新,龙振洪,冼小珍,等.血清同型半胱氨酸和叶酸水平变化与宫颈癌的相关性分析[J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(14): 2035-2036
- [9] Gao C, Zhou C, Zhuang J, et al. MicroRNA expression in cervical cancer: Novel diagnostic and prognostic biomarkers [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(8): 7080-7090
- [10] Yi Y, Liu Y, Wu W, et al. Reconstruction and analysis of circRNA-miRNA-mRNA network in the pathology of cervical cancer[J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(4): 2209-2225
- [11] 杜宜兰,邓娟,贾宁.宫颈癌新 miRNA 分子标记物发掘与功能分析[J]. *国际遗传学杂志*, 2019, 42(6): 411-418
- [12] Liu Y, Wang Y, Shen X, et al. Down-regulation of lncRNA PCGEM1 inhibits cervical carcinoma by modulating the miR-642a-5p/LGMN axis[J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 117: 104561
- [13] Kreisel KM, Spicknall IH, Gargano JW, et al. Sexually Transmitted Infections Among US Women and Men: Prevalence and Incidence Estimates, 2018[J]. *Sex Transm Dis*, 2021, 48(4): 208-214
- [14] 程文俊,申庆文.高危型 HPV 感染者宫颈免疫状况及与宫颈癌的关系[J]. *分子诊断与治疗杂志*, 2021, 13(5): 766-769
- [15] 匡婷. HPV 感染对宫颈癌转移前微环境的影响[J]. *医学研究生学报*, 2021, 34(4): 434-438
- [16] Pieroth R, Paver S, Day S, et al. Folate and Its Impact on Cancer Risk [J]. *Curr Nutr Rep*, 2018, 7(3): 70-84
- [17] 李元幸,王伟,郝敏.叶酸及其代谢在宫颈癌中的研究进展[J]. *国际妇产科学杂志*, 2021, 48(1): 47-50
- [18] 刘建国,张礼婕,林秀萍,等.宫颈癌患者血清同型半胱氨酸及叶酸水平与分期的关系 [J]. *岭南急诊医学杂志*, 2020, 25 (5): 510-512, 515
- [19] 黄燕,吴晓宁,蒙亚晴,等. 壮族妇女阴道微生态环境、血清叶酸水平与宫颈癌的关系[J]. *广西医科大学学报*, 2015, 32(6): 954-955
- [20] 夏琪,吕爱兰. 宫颈癌患者血清叶酸、细胞凋亡信号受体蛋白、辅助性 T 细胞 17 表达与人乳头状瘤病毒感染关系的研究 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2021, 31(5): 586-588
- [21] Rupaimoole R, Slack FJ. MicroRNA therapeutics: towards a new era for the management of cancer and other diseases [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2017, 16(3): 203-222
- [22] 刘秀玲,陈新宇,王志红,等. HCG11 靶向 miRNA-421 调控宫颈癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移的研究 [J]. *癌症进展*, 2020, 18(1): 30-34, 38
- [23] 张曦,郝敏. miRNA-20a 在宫颈癌中作用机制的研究进展[J]. *中国妇产科临床杂志*, 2020, 21(1): 99-101
- [24] 郑光威,方志鹏,林劲权,等.微小 RNA-642a-5p 通过靶向作用于 I 型胶原 $\alpha 1$ 对结肠癌细胞的迁移和侵袭的影响[J]. *中华实验外科杂志*, 2021, 38(8): 1511-1514
- [25] Marchionni L, Hayashi M, Guida E, et al. MicroRNA expression profiling of Xp11 renal cell carcinoma [J]. *Hum Pathol*, 2017, 67: 18-29
- [26] Lin C, Zhang Y, Chen Y, et al. Long noncoding RNA LINC01234 promotes serine hydroxymethyltransferase 2 expression and proliferation by competitively binding miR-642a-5p in colon cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(2): 137
- [27] 刘雅淑,雷声云,郑春艳,等.叶酸对宫颈癌细胞生物学行为及自噬的影响[J]. *生物医学工程与临床*, 2020, 24(4): 375-380
- [28] 张银玲,张毅,薛赓,等. 叶酸对卵巢癌细胞基因组 DNA 整体甲基化及细胞行为学的影响[J]. *发育医学电子杂志*, 2015(2): 74-78
- [29] 王治,凌曦,张国伟,等. 叶酸对 1,3- 丁二烯诱发的小鼠 DNA 低甲基化和染色体损伤的影响[J]. *癌变·畸变·突变*, 2017, 29(3): 189-193
- [30] Frederick AM, Guo C, Meyer A, et al. The influence of obesity on folate status, DNA methylation and cancer-related gene expression in normal breast tissues from premenopausal women [J]. *Epigenetics*, 2021, 16(4): 458-467