

DOI:10.13350/j.cjpb.231009

• 论著 •

细胞质聚腺苷酸化元件结合蛋白3表达下调对皮肤黑素瘤细胞增殖、凋亡、迁移及侵袭能力的影响^{*}

张小敏^{1,2},孙艳芹^{3**}

(1.广东省泗安医院,广东东莞 523001;2.南方医科大学深圳医院皮肤科;3.广东医科大学病理学系)

【摘要】 目的 分析细胞质聚腺苷酸化元件结合蛋白3(Cytoplasmic Polyadenylation Element Binding Protein 3, CPEB3)在5种皮肤黑素瘤细胞中的表达情况,并通过下调其在细胞中的表达,评价CPEB3基因对细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力的影响。方法 利用实时荧光定量PCR(RT-qPCR)和Western blot检测5种黑素瘤细胞株(WM3211、SK-MEL-28、A2058、A375和A875)中CPEB3在mRNA和蛋白水平的表达情况;应用shRNA干扰技术下调细胞中CPEB3的表达,采用CCK-8法、平板克隆形成试验、流式细胞术、划痕法、Transwell迁移和侵袭试验等方法检测CPEB3表达下调对黑素瘤细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力的影响。结果 CPEB3在5种黑素瘤细胞株中的表达水平从高到低依次为:WM3211、SK-MEL-28、A2058、A375和A875;下调SK-MEL-28细胞中CPEB3的表达后,细胞增殖能力和克隆形成能力显著增强,凋亡率显著降低,细胞迁移和侵袭能力显著提高(均 $P < 0.05$)。结论 下调黑素瘤细胞中CPEB3的表达可促进细胞增殖,抑制细胞凋亡,并增强细胞迁移和侵袭能力,提示CPEB3基因可能在黑素瘤恶性进展过程中发挥重要作用。

【关键词】 黑素瘤;细胞质聚腺苷酸化元件结合蛋白3;增殖;凋亡;迁移;侵袭

【中图分类号】 R392

【文献标识码】 A

【文章编号】 1673-5234(2023)10-1158-04

[Journal of Pathogen Biology. 2023 Oct;18(10):1158-1161,1168.]

Down-regulation of CPEB3 is related to the malignant progression of melanoma cells

ZHANG Xiaomin¹, SUN Yanqin² (1. Department of Dermatology and Venereology, Guangdong Provincial Si'an Hospital, Dongguan 523001, China; 2. Department of Dermatology, Shenzhen Hospital, Southern Medical University; 3. Department of Pathology, Guangdong Medical University)

【Abstract】 **Objective** To analyze the expression of Cytoplasmic Polyadenylation Element Binding Protein 3 (CPEB3) in five cell lines of cutaneous melanoma, and to evaluate the effect of CPEB3 on cell proliferation, apoptosis, migration, and invasion by down-regulating the expression of CPEB3 in cells. **Methods** Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) and Western blot techniques were used to detect the expression of CPEB3 at mRNA and protein levels in five melanoma cell lines (WM3211, SK-MEL-28, A2058, A375, and A875). Using shRNA interference technology to down-regulate the expression of CPEB3 in cells, we detected the effects of down-regulation of CPEB3 expression on the proliferation, apoptosis, migration, and invasion ability of melanoma cells by CCK-8, plate clone formation assay, flow cytometry, scratch assay, Transwell migration, and invasion assay. **Results** The expression of CPEB3 decreased sequentially in five melanoma cell lines: WM3211, SK-MEL-28, A2058, A375, and A875 cell lines. After down-regulation of the expression of CPEB3 in SK-MEL-28 cell, cell proliferation and clonal formation ability were significantly enhanced, while the apoptosis rate was significantly reduced, and the cell migration and invasion ability were significantly improved ($P < 0.05$). **Conclusion** Down-regulation of CPEB3 expression in melanoma cells can promote cell proliferation, inhibit cell apoptosis, and enhance cell migration and invasion. Those results suggest that CPEB3 gene may play an important role in the malignant progression of melanoma.

【Key words】 Melanoma; CPEB3; proliferation; apoptosis; migration; invasiveness

^{***}皮肤黑素瘤多表现为色素性皮肤病,虽其发病率低,但其恶性度高^[1],极易早期发生转移,预后差,因此黑素瘤的早诊早治尤为重要^[2]。胞质型多聚腺苷酸化元件结合蛋白(cytoplasmic polyadenylation element binding protein, CPEB)是一种mRNA结合蛋白,通过招募翻译抑制元件或细胞质多聚腺苷酸化元件,靶

* **【基金项目】** 广东省基础与应用研究基金项目(No. 2021B1515140067, 2022A1515012190)。

** **【通讯作者】** 孙艳芹, E-mail: sunyanqin@gdmu.edu.cn

【作者简介】 张小敏(1981-),女,广东东莞人,博士,副主任医师。研究方向:皮肤肿瘤与免疫相关皮肤病。
E-mail: sopherzhang@163.com

向连接 mRNAs 并直接调控细胞质的多聚腺苷酸化过程,在无脊椎动物和脊椎动物中参与维持细胞衰老和增殖的平衡,调控肿瘤的发生发展^[3]。CPEB3 是该家族成员之一,多项研究表明 CPEB3 基因是结直肠癌^[4]、肝细胞癌^[5]、宫颈癌^[6]和胶质瘤^[7]等多种恶性肿瘤的抑癌基因。Lin 等^[4]报道 CPEB3 可通过转录后调控与恶性转化有关的基因表达,从而抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭。Skubal 等^[7]研究表明 CPEB3 磷酸化程度与胶质瘤恶性进展呈负相关,这可能是患者预后改善的信号。另一方面,CPEB3 可影响肝细胞癌细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡,导致细胞周期 G0/G1 阻滞^[8]。生物信息学分析表明 CPEB3 在皮肤黑素瘤中的表达下调^[9],但关于 CPEB3 在黑素瘤中的作用尚不清楚。本研究旨在分析皮肤黑素瘤细胞中 CPEB3 的表达情况,并通过下调 CPEB3 在细胞中的表达,探究其对细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力的影响。

材料与方法

1 材料

1.1 细胞株 人黑素瘤细胞株 SK-MEL-28 和 A875 购自美国 ATCC(American type culture collection)公司,A375、WM3211、A2058 细胞株为南方医科大学深圳医院中心实验室保存。

1.2 主要试剂 CCK8 试剂盒,BCA 蛋白浓度测定试剂盒,瑞氏-姬姆萨复合染液,结晶紫,Tween-20,RIPA 裂解液和 TEMED 购自北京索莱宝科技有限公司;AnnexinV-FITC/PI 凋亡检测试剂盒和 Matrigel 购自美国 BD 公司;CPEB3 多克隆抗体(兔抗)购自武汉三鹰生物技术有限公司;HRP 标记的二抗(羊抗鼠)购自武汉贝茵莱生物科技有限公司;Opti-MEM 培养基为美国 Gibco 公司生产;Oligo(dT)18 Primer,PrimeScript II RTase 和 Recombinant Rnase Inhibitor 购自日本 TAKARA 公司;LipofectamineTM 3000 购自赛默飞世尔科技公司。

2 方法

2.1 细胞培养 SK-MEL-28、A875、A375、WM3211、A2058 细胞均在 37 °C、95% 的湿度、5% CO₂ 条件下用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养,采用 0.25% 胰酶消化(贴壁细胞)后进行传代,并根据细胞的生长状态取对数生长期细胞用于试验。

2.2 沉默载体转染 shRNA 表达质粒由上海吉玛基因公司(Genepharma)构建和合成,该质粒中包含绿色 GFP 荧光蛋白。本研究共构建 4 个有效的 shRNA 载体(CPEB3-homo-1169,1135,1410 和 2333)。在 50 μL Opti-MEM 培养液中加入 0.5 μg 质粒制备成溶液

1,取 30 μL Opti-MEM 加入到 1 g LipofectamineTM 3000 中制备成溶液 2。将溶液 1 和溶液 2 混合后加到细胞培养板孔中,置于 5% CO₂ 培养箱中培养,在荧光显微镜下观察细胞内绿色荧光的亮度,判断转染效率;并在转染后 24、48、72 h 收集细胞进行 RT-qPCR,检测 CPEB3 基因表达情况。

2.3 RT-qPCR CPEB3 和内参 GAPDH 的 PCR 引物由武汉天一辉远生物科技有限公司合成。CPEB3 上游引物:5'-GCCCTTCTCCAGCAACG-3';下游引物:5'-CGGTCCTGAAATGGCAAC-3'。GAPDH 上游引物:5'-CTCGCTTCGCGCAGCACA-3';下游引物:5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。按照 Trizol-RNA 提取试剂盒说明书提取总 RNA,用紫外分光光度计测定总 RNA 纯度及浓度(参考范围:1.80 ≤ A₂₆₀ 值/A₂₈₀ 值 ≤ 2.0,总 RNA 浓度 ≥ 500 ng/μL)。按逆转录体系逆转录为 cDNA。反应程序:42 °C 60 min,70 °C 15 min;然后再进行 RT-PCR 扩增,40 个循环后终止反应。

2.4 目的蛋白的 Western blot 检测 提取细胞总蛋白并进行定量,吸取 20 μg 进行 SDA-PAGE 电泳(5% 浓缩胶,12% 的分离胶),然后转印 PVDF 膜,用 5% 脱脂奶粉封闭后进行 Western blot。一抗为 1:400 稀释的 CPEB3 抗体,二抗为 1:1000 稀释 HRP 标记的羊抗鼠 IgG,显色剂为 DAB。

2.5 CCK-8 试验 在 96 孔板中接种细胞悬液,每孔约 3 × 10³ 个细胞/孔,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养过夜使其贴壁。取出细胞培养板,每孔加入 10 μL CCK-8 溶液后继续孵育,每天固定时间采用酶标仪测各孔 A₄₅₀ 值。以空白孔为对照,根据各孔细胞 A₄₅₀ 值绘制细胞生长曲线。

2.6 平板克隆 形成试验收集细胞,调整细胞悬液浓度后加入 6 孔板,每孔 5 000 个细胞(2 mL),置于 CO₂ 细胞培养箱中培养;当培养板中出现肉眼可见的克隆时终止培养,用 PBS 洗 2 次,加 2 mL 4% 多聚甲醛 4 °C 固定细胞 15 min;去固定液,加入瑞氏-姬姆萨复合染液 20 min 后拍照并进行统计学分析。

2.7 流式细胞术检测细胞凋亡 收集各组细胞,分别用 200 μL PBS 溶液重悬后加入 10 μL Annexin V-FITC 和 10 μL PI,轻轻混匀,4 °C 避光孵育 30 min;加入 300 μL PBS 进行流式检测,使用 NovoExpress 软件分析检测结果。

2.8 划痕试验 在 6 孔板中每孔中加入约 1 × 10⁶ 个细胞,培养过夜;第 2 天在无菌条件下用枪头比着直尺垂至于孔板划痕,用 PBS 冲洗去除划下的细胞;根据不同的分组处理细胞,加入无血清培养液继续培养;分别于 0、12、24 h 拍照,并用 Image J 测量划痕区域的

面积,计算细胞之间划痕间隙的距离,计算伤口愈合率(%)。伤口愈合率(%)=[(最初面积-某时间点的面积)/最初面积]×100%。

2.9 Transwell 迁移和侵袭试验 取 Matrigel 按 1:8 的比例用无血清培养基稀释后包被于 Transwell 小室底部膜的上室面,置 37 °C 孵箱 4h 使其聚合成凝胶。其中迁移试验无需铺设基质胶。试验前 12 h 将不同分组的细胞换成无血清培养基培养,使用 0.25% 胰酶消化细胞后用无血清培养基重悬细胞;取细胞悬液(1×10⁵ 细胞/ml)接种到 Transwell 小室内,下层的 24 孔板中加入 0.75 mL 含 10% FBS 的培养液,置于 CO₂ 培养箱中分别培养 12h 和 24 h 后取出,每孔加入 4% 甲醛溶液固定,用结晶紫溶液染色,将 Transwell 小室内未出现迁移和侵袭的细胞用棉签擦去后置于 200 倍显微镜下观察并拍照。

结果

1 CPEB3 在多个黑素瘤细胞株中的表达情况及转染序列的筛选与验证

RT-qPCR 检测显示,在 5 种黑素瘤细胞株中 CPEB3 mRNA 表达最高的为 WM3211 和 SK-MEL-28 细胞,A375 和 A2058 细胞中表达量中等,A875 细胞表达量最低($P < 0.01$) (图 1A),与蛋白水平的表达差异一致(图 1B)。结合 CPEB3 mRNA 和蛋白水平的表达情况及细胞活性,选择表达量最高的 SK-MEL-28 细胞进行后续试验。细胞转染使用的 shRNA 表达载体表达绿色荧光蛋白 GFP,因此在荧光显微镜下观察到转染成功的细胞内 CPEB3 携带有绿色荧光(图 1C)。进一步采用 RT-qPCR 检测 CPEB3 在 mRNA 水平的表达情况,结果如图 1D,sh1135 组、sh1169 组、sh1410 组和 sh2333 组相对表达量分别为 0.56 ± 0.33 、 0.63 ± 0.09 、 0.47 ± 0.00 和 0.48 ± 0.09 ,差异有统计学意义($P < 0.01$)。基于以上结果,选择 shRNA-1410 序列进行细胞功能试验。在转染验证试验中,RT-qPCR 检测显示 CPEB3 下调表达组的 CPEB3 mRNA 相对表达量更低($P < 0.01$) (图 1E),与蛋白水平的表达差异一致(图 1F)。表明该表达载体能抑制黑素瘤细胞 SK-MEL-28 中 CPEB3 的表达。

2 CPEB3 基因下调对 SK-MEL-28 细胞增殖和凋亡的影响

采用 CCK8 法检测细胞增殖情况,结果如图 2A。与阴性对照组相比,自细胞贴壁 24 h 起 CPEB3 基因的下调可抑制 SK-MEL-28 细胞的增殖($P < 0.05$)。细胞克隆形成率也称为细胞接种存活率,用来表示成活的贴壁细胞并形成克隆的数量,反映的是细胞的增殖能力及细胞群体依赖性两个重要性状,可用于评价

细胞在体内成瘤性。癌细胞不一定都可以在体内成瘤,但其在体外的克隆能力越强,在体内的成瘤性也更强。图 2B 所示,与阴性对照组相比,CPEB3 基因下调可使 SK-MEL-28 细胞克隆形成个数显著增多($P < 0.05$)。表明下调 CPEB3 的表达可使 SK-MEL-28 黑素瘤细胞克隆增多,即成瘤可能性更大。

流式凋亡细胞图中 Q3+Q4 表示的是细胞总凋亡率。图 2C 所示,CPEB3 基因下调可使细胞的总凋亡率均显著降低($P < 0.01$) (图 2D),即下调 CPEB3 的表达可抑制黑素瘤细胞 SK-MEL28 凋亡。

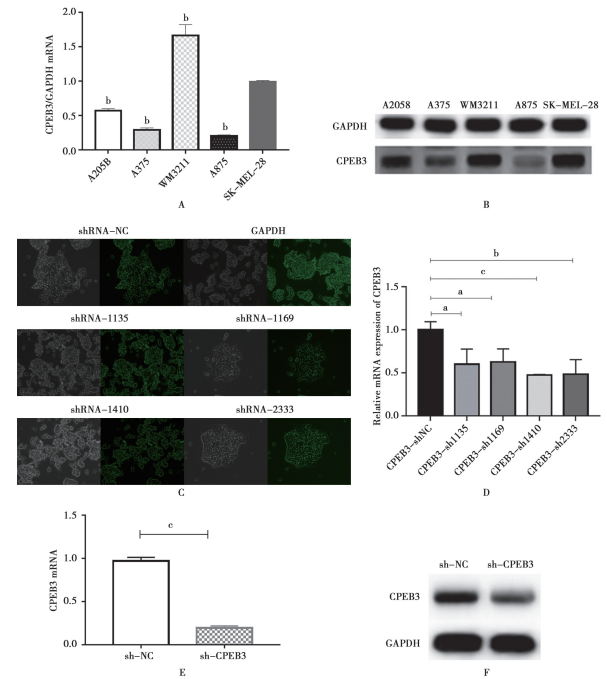


图 1 CPEB3 在不同黑素瘤细胞株中的差异表达情况及转染效率
A CPEB3 mRNA 在不同细胞株中的相对表达情况 B CPEB3 在不同细胞株中的蛋白表达情况 C 在荧光显微镜的明场和暗场下观察转染效率 D RT-qPCR 检测 CPEB3 mRNA 相对表达量 E RT-qPCR 检测 CPEB3 mRNA 相对表达量 F CPEB3 蛋白表达量。
注:组间比较, a $P < 0.05$; b $P < 0.01$; c $P < 0.001$ 。

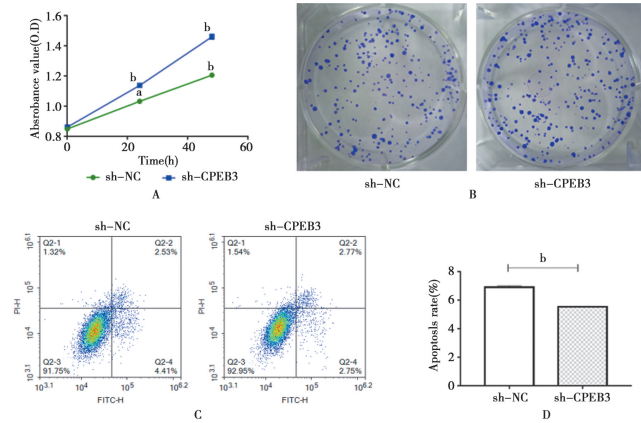
Fig. 1 Differential expression of CPEB3 in melanoma cell lines and transfection efficiency detection
A Relative Expression of CPEB3 mRNA B The Protein Expression of CPEB3 C The transfection efficiency was observed under bright and dark fluorescence microscope D Relative Expression of CPEB3 mRNA by RT-qPCR E Relative Expression of CPEB3 mRNA by RT-qPCR F The Protein Expression of CPEB3. Notes: a $P < 0.05$; b $P < 0.01$; c $P < 0.001$.

Fig. 1 Differential expression of CPEB3 in melanoma cell lines and transfection efficiency detection

3 CPEB3 基因下调对 SK-MEL-28 细胞迁移、侵袭的影响

采用划痕试验检测下调 CPEB3 基因表达对 SK-MEL-28 黑素瘤细胞株的迁移能力的影响。SK-MEL-28 黑素瘤细胞株在不同组别中的划痕伤口愈合面积的差异反映细胞迁移能力的差别。与阴性对照组相比,CPEB3 基因下调可使 SK-MEL-28 细胞在 12 h 和 24 h 内愈合面积显著增大($P < 0.05$) (图 3A, 3B)。另

外,实验组 SK-MEL-28 黑素瘤细胞在转移小室中的数目与阴性对照的差异反映下调 CPEB3 基因表达对细胞侵袭和迁移能力的影响。图 3C,3D 显示,下调 CPEB3 的表达可使 SK-MEL-28 细胞侵袭、转移能力显著增强(均 $P < 0.05$)。

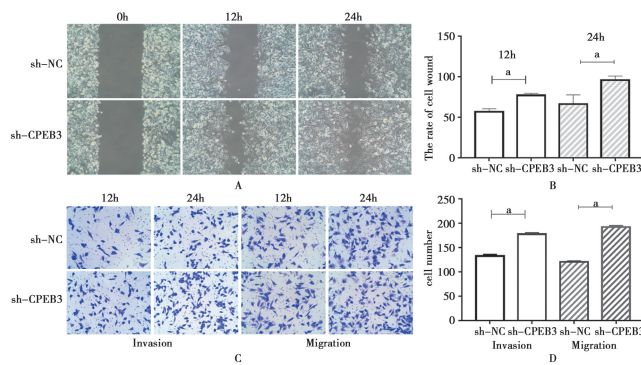


A CPEB3 对细胞增殖情况的影响 B CPEB3 对细胞克隆增殖情况的影响 C 两组细胞凋亡的流式检测 D 两组细胞的凋亡率比较。注:a 组间比较, $a P < 0.05$; $b P < 0.01$ 。

图 2 CPEB3 表达下调对 SK-MEL-28 细胞增殖与凋亡的影响

A The effect of CPEB3 on cell proliferation cells B The effect of CPEB3 on cell cloning C Flow cell apoptosis test results in the two groups D Comparison of apoptosis rate. Notes: $a P < 0.05$; $b P < 0.01$.

Fig. 2 Downregulating the expression of CPEB3 can accelerate the proliferation and decrease the apoptosis of SK-MEL-28 cell



A 划痕试验结果比较 B 12 h 和 24 h 细胞划痕愈合率比较 C Tanswell 结果比较 D Tanswell 比较统计图。注:组间比较, $a P < 0.05$ 。

图 3 CPEB3 表达下调可增强 SK-MEL-28 细胞迁移和侵袭能力

A The images of cell wound healing B The rate of cell wound healing at 12 h and 24 h C Comparison of Tanswell results D Statistics results of Tanswell. Notes: $a P < 0.05$.

Fig. 3 Downregulated CPEB3 could increase the migration and invasion ability of SK-MEL-28 cells

讨论

黑素瘤是恶性程度极高的一种皮肤癌,易发生转移^[1,10],高达 12% 的 I 期患者可在前哨淋巴结中发现转移且预后极差^[11]。这意味着临床上需要更敏感的生物标记物识别出高危患者,为黑素瘤的早期诊断和治疗提供帮助。CPEB3 是 CPEBs 家族成员之一,是

细胞质多聚腺苷化的关键调控因子,可调节蛋白的翻译,已被证明在多种肿瘤中发挥抑癌基因的作用,可能是肿瘤保护因子^[8,12]。Tang 等^[8]研究表明,过表达 CPEB3 可抑制肝癌细胞的增殖、迁移,诱导细胞凋亡。Liu 等^[13]的研究证明,CPEB3 过表达可抑制卵巢浆液癌细胞迁移和侵袭,且可使过表达 miR-301b-3p 所致的细胞侵袭和迁移能力提高效应发生逆转。Zou 等^[14]报道下调 CPEB3 的表达可促进人肝细胞癌细胞增殖和转移。生物信息学分析发现皮肤黑素瘤患者中 CPEB3 的低表达可能与患者预后不良有关,且随着黑素瘤恶性程度的升高,CPEB3 表达减少,表明 CPEB3 在黑素瘤中可能起抑制肿瘤进展的作用^[9]。为了进一步探讨 CPEB3 在皮肤黑素瘤中的生物学作用,本研究下调 SK-MEL-28 细胞中 CPEB3 的表达,结果发现细胞的增殖能力和克隆形成能力均显著增强,凋亡率显著降低,迁移和侵袭能力显著提高,与文献^[8,15]报道的结果一致,提示 CPEB3 基因可能在黑素瘤恶性进展过程中发挥重要作用。由此推测 CPEB3 可能参与黑素瘤的发展,下调 CPEB3 的表达可能推动病程向恶性发展。以上结果揭示了 CPEB3 在黑素瘤中的作用,可为黑素瘤的靶向治疗以及预后评估提供参考。

【参考文献】

- [1] Fane LS, Wei AH, Tripathi R, et al. Disparities between Asian groups in time to melanoma treatment: a cross-sectional study [J]. J Am Acad Dermatol, 2023, S0190-9622(23)00589-3.
- [2] Prado G, Svoboda RM, Rigel DS. What's new in melanoma [J]. Dermatol Clin, 2019, 37(2): 159-168.
- [3] Charlesworth A, Meijer HA, de Moor CH. Specificity factors in cytoplasmic polyadenylation [J]. Wiley Interdiscip Rev RNA, 2013, 4(4): 437-461.
- [4] Lin H, Guo Q, Lu S, et al. LncRNA SUMO1P3 promotes proliferation and inhibits apoptosis in colorectal cancer by epigenetically silencing CPEB3 [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 511(2): 239-245.
- [5] Liu H, Wang Y, Chen B, et al. Effects of lidocaine-mediated CPEB3 upregulation in human hepatocellular carcinoma cell proliferation *In Vitro* [J]. Biomed Res Int, 2018, 2018: 8403157.
- [6] Hansen CN, Ketabi Z, Rosenstierne MW, et al. Expression of CPEB, GAPDH and U6snRNA in cervical and ovarian tissue during cancer development [J]. Apmis, 2009, 117(1): 53-59.
- [7] Skubal M, Gielen GH, Waha A, et al. Altered splicing leads to reduced activation of CPEB3 in high-grade gliomas [J]. Oncotarget, 2016, 7(27): 41898-41912.
- [8] Tang H, Zhang J, Yu Z, et al. Mir-452-3p: A potential tumor promoter that targets the CPEB3/EGFR Axis in human hepatocellular carcinoma [J]. Technol Cancer Res Treat, 2017, 16(6): 1136-1149.

- [17] Li CK, Seth R, Gray T, et al. Production of proinflammatory cytokines and inflammatory mediators in human intestinal epithelial cells after invasion by *Trichinella spiralis* [J]. Infect Immun, 1998, 66(5): 2200-2206.
- [18] Xu M, Jiang Z, Huang W, et al. Altered gut microbiota composition in subjects infected with *Clonorchis sinensis* [J]. Front Microbiol, 2018, 9: 2292.
- [19] 邢鑫. 旋毛虫感染小鼠肠道菌群变化与免疫应答关系初步研究 [D]. 吉林农业大学, 2017.
- [20] Chen HL, Xing X, Zhang B, et al. Higher mucosal type II immunity is associated with increased gut microbiota diversity in BALB/c mice after *Trichinella spiralis* infection [J]. Mol Immunol, 2021, 138: 87-98.
- [21] Riva A, Borgo F, Lassandro C, et al. Pediatric obesity is associated with an altered gut microbiota and discordant shifts in Firmicutes populations [J]. Environment Microbiol, 2017, 19(1): 95-105.
- [22] Mukherjee S, Joardar N, Sengupta S, et al. Gut microbes as future therapeutics in treating inflammatory and infectious diseases: Lessons from recent findings [J]. J Nutrit Biochem, 2018, 61: 111-128.
- [23] Safarpour A, Ebrahimi M, Shahzadeh Fazeli SA, et al. Supernatant metabolites from *Halophilic Archaea* to reduce tumorigenesis in prostate cancer *In-vitro* and *In-vivo* [J]. Ira J Pharmaceut Res, 2019, 18(1): 241-253.
- [24] Lagkouvardos I, Lesker TR, Hitch TCA, et al. Sequence and cultivation study of *Muribaculaceae* reveals novel species, host preference, and functional potential of this yet undescribed family [J]. Microbiome, 2019, 7(1): 28.
- [25] Holm JB, Sorobetea D, Küllerich P, et al. Chronic *Trichuris muris* infection decreases diversity of the intestinal microbiota and concomitantly increases the abundance of *Lactobacilli* [J]. PloS one, 2015, 10(5): e0125495.
- [26] Davrandi M, Harris S, Smith PJ, et al. The relationship between mucosal microbiota, colitis, and systemic inflammation in chronic granulomatous disorder [J]. J Clin Immunol, 2022, 42(2): 312-324.
- [27] Hans W, Scholmerich J, Gross V, et al. The role of the resident intestinal flora in acute and chronic dextran sulfate sodium-induced colitis in mice [J]. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2000, 12(3): 267-273.
- [28] 潘东斌, 孙笑非, 王文娟, 等. 益生菌在动物营养健康中的研究进展 [J]. 饲料研究, 2022, 45(12): 121-125.
- [29] Sorbara MT, Littmann ER, Fontana E, et al. Functional and genomic variation between Human-Derived isolates of *Lachnospiraceae* reveals inter- and intra-species diversity [J]. Cell Host Microbe, 2020, 28(1): 134-146.
- [30] 周文斌, 郑越, 尚佳, 等. 二乙基亚硝胺诱导肝细胞癌模型鼠肠道微生物生态研究 [J]. 浙江大学学报(医学版), 2022, 51(4): 438-453.
- [31] Takamura T, Harama D, Fukumoto S, et al. *Lactobacillus bulgaricus* OLL1181 activates the aryl hydrocarbon receptor pathway and inhibits colitis [J]. Immunol Cell Biol, 2011, 89(7): 817-822.
- [32] Lei Y, Tang L, Liu S, et al. *Parabacteroides* produces acetate to alleviate heparanase-exacerbated acute pancreatitis through reducing neutrophil infiltration [J]. Microbiome, 2021, 9(1): 115.
- [33] 梁露莹, 林鸿鑫, 蔡义思, 等. 基于 16S rDNA 测序研究当归拈痛汤对风湿热痹佐剂性关节炎大鼠肠道菌群的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(9): 18-27.

【收稿日期】 2023-04-20 【修回日期】 2023-07-07

(上接 1161 页)

- [9] Zhang X, Liang Y. Decreased expression of CPEB3 predicts a poor prognosis in patients with melanoma: A study based on TCGA data [J]. Biomed Res Int, 2021, 2021: 8197936.
- [10] Rosendahl C, Clark S. General practice and melanoma management in Australia: controversies and implications for generalist GP training [J]. Med J Aust, 2023, May 15; 218(9): 397-398.
- [11] Kovacs SA, Fekete JT, Györfy B. Predictive biomarkers of immunotherapy response with pharmacological applications in solid tumors [J]. Acta Pharmacol Sin, 2023, Apr 13.
- [12] Wang XP, Cooper NG. Comparative in silico analyses of cpeb1-4 with functional predictions [J]. Bioinform Biol Insights, 2010, 4: 61-83.
- [13] Liu F, Zhang G, Lv S, et al. miRNA-301b-3p accelerates migration and invasion of high-grade ovarian serous tumor via targeting CPEB3/EGFR axis [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(8): 12618-12627.
- [14] Zou CD, Zhao WM, Wang XN, et al. MicroRNA-107: a novel promoter of tumor progression that targets the CPEB3/EGFR axis in human hepatocellular carcinoma [J]. Oncotarget, 2016, 7(1): 266-278.
- [15] Liu H, Ma X, Niu N, et al. MIR-301b-3p promotes lung adenocarcinoma cell proliferation, migration and invasion by targeting DLC1 [J]. Technol Cancer Res Treat, 2021, 20: 1533033821990036.

【收稿日期】 2023-05-20 【修回日期】 2023-08-14