DOI:10.16016/j.1000-5404.202101166

具核梭杆菌介导 MUC1 在结直肠癌中差异表达的验证

叶新力[1],李 静[1],唐 彬[1],兰远志[1],罗华星[1],卢晓雪[2],向媛媛[1],张 艳[1],曾冬竹[1] 401120 重庆,重庆医科大学附属第三医院普外科[1]; 400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)药学与检验医学系临床微生物与免疫学教研室[2]

[摘要] **目的** 通过生物信息学分析具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*,*F. nucleatum*,*Fn.*)对结直肠癌(colorectal cancer, CRC)差异表达基因(differential expression genes, DEGs)的调控作用,鉴定关键基因在 *F. nucleatum* 感染结直肠癌细胞中的表达。**方法** 利用 GEO 数据库高通量筛选 *F. nucleatum* 诱导的结直肠癌差异表达基因;基因本体论(GO),京都基因和基因组百科全书(KEGG)富集分析差异表达基因数据集;Cytoscape 软件构建差异表达基因的蛋白质-蛋白质相互作用网络(PPI);RT-qPCR 和 Western blot 验证关键(Hub)基因 MUC1 在细胞模型中的转录水平和蛋白水平表达。**结果** 共筛选出 118 个 DEGs,其中 20 个表达上调,98 个下调;GO 分析显示 DEGs 在质膜和质膜的组成部分等细胞成分中富集最显著,KEGG 分析发现其在 PI3K-Akt、MAPK、Rap1 和 JAK-STAT 等信号通路中有明显富集($P<0.05$)。在 PPI 网络中,Hub 基因 MUC1 具有较高的中心性得分,*F. nucleatum* 感染与 MUC1 的差异表达显著相关。**结论** 通过对关键基因的筛选和验证,*F. nucleatum* 感染致 CRC 的机制可能与 MUC1 的过表达有关。

[关键词] 结直肠癌;具核梭杆菌;MUC1;差异表达基因
[中图法分类号] R378.2; R394.3; R735.35 [文献标志码] A

Differential expression of MUC1 gene mediated by *Fusobacterium nucleatum* in colorectal cancer cells

YE Xinli[1], LI Jing[1], TANG Bin[1], LAN Yuanzhi[1], LUO Huaxing[1], LU Xiaoxue[2], XIANG Yuanyuan[1], ZHANG Yan[1], ZENG Dongzhu[1] [1]Department of General Surgery, the Third Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing, 401120; [2]Department of Clinical Microbiology and Immunology, Faculty of Pharmacy and Laboratory Medicine, Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing, 400038. China

[**Abstract**] **Objective** To investigate the regulatory effect of *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) on differential expression genes (DEGs) in colorectal cancer (CRC) by bioinformatics analysis, and to identify the expression of key genes in *F. nucleatum* infected CRC cells. **Methods** The high-throughput sequencing data of DEGs in CRC regulated by *F. nucleatum* were downloaded and screened from Gene Expression Omnibus (GEO) database, then Gene Ontology (GO) analysis and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analysis were performed on the datasets. Protein-protein interaction (PPI) network of DEGs were subsequently constructed with Cytoscape software. Finally, Western blotting and RT-qPCR were employed to verity the expression of hub gene MUC1 at protein and mRNA levels in the cell model, respectively. **Results** A total of 118 DEGs were screened out, of which 20 were up-regulated and 98 down-regulated. GO analysis showed that DEGs were noticeably enriched in cellular component (CC) such as plasma membrane and integral component of membrane, and KEGG analysis found that DEGs were significantly enriched in PI3K-Akt, MAPK, Rap1 and JAK-STAT signaling pathways ($P<0.05$). In the PPI network, the hub gene MUC1 presented a high centrality score. Western blotting and RT-qPCR indicated that

[基金项目] 重庆市渝北区科技计划项目(2020-35)
[通信作者] 曾冬竹,E-mail:650777@hospital.cqmu.edu.cn

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议(https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/)

the infection of *F. nucleatum* was significantly correlated with the differential expression of MUC1. **Conclusion** The mechanism of CRC induced by *F. nucleatum* infection may be related to the overexpression of MUC1, according to the screening and verification of hub genes.

[**Key words**] colorectal cancer; *Fusobacterium nucleatum*; MUC1; differential expression genes

Supported by the Science and Technology Project of Yubei District of Chongqing (2020-35). Corresponding author: ZENG Dongzhu, E-mail: 650777@hospital.cqmu.edu.cn

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的癌症之一,无论是发病率还是死亡率在恶性肿瘤中均位于前三位[1]。研究表明,结直肠癌的发病过程涉及遗传、环境、饮食和肠道菌群等多种因素。肠道菌群在消化系统恶性肿瘤的发生发展中扮演着重要角色,尤其是具核梭杆菌(*Fusobacterium nucleatum*, *F. nucleatum*),在包含口腔癌、食管癌、结直肠癌等在内的消化道恶性肿瘤患者中被检测到显著富集,并提示不良预后。*F. nucleatum* 是一种革兰阴性、厌氧、梭型杆菌,通过黏附定植、诱发炎症、抑制免疫、促进肿瘤增殖、增强肿瘤侵袭等多种方式参与到相关消化系统恶性肿瘤的进程中[2-3]。因此,分析 *F. nucleatum* 诱导 CRC 基因差异表达的显著性对研究其致病机制尤为重要。

MUC1 是一种高糖基化的单向Ⅰ型跨膜糖蛋白[4],广泛存在于人体上皮细胞膜上。MUC1 糖残基因带负电荷而形成具有润滑性能的黏液凝胶,保护上皮细胞免受干燥、pH 值变化和微生物感染[4]。MUC1 在正常组织中高度糖基化,而在肿瘤组织中过度表达并异常糖基化[5]。研究表明肠道微生物诱发的结直肠癌与 MUC1 的过度表达密切相关。沙门氏菌效应蛋白分泌到宿主细胞中,诱导 MUC1 过度表达从而激活 AKT/ERK 等信号通路导致结直肠癌的发生[6-7]。此外,MUC1 与 NF-κB 的亚单位 p65 相互作用可上调上皮-间充质转化(EMT)标记物 ZEB1 的表达,进而促进结直肠癌细胞侵袭[8]。

本研究利用生物信息学对微阵列数据进行分析,通过对比多个数据集,从中筛选出 *F. nucleatum* 诱导的 CRC 差异表达基因,并鉴定了 Hub 基因 MUC1 在 *F. nucleatum* 感染 CRC 细胞系中转录水平和蛋白水平的表达。

1 材料与方法

1.1 微阵列数据

从 GEO 数据库下载 GSE110223, GSE110224, GSE113513 和 GSE122183 的生物微阵列数据。GSE110223 基于 GPL96 平台,包含 26 个样本:13 个 CRC 样本和 13 个正常结肠样本;GSE110224 基于 GPL570 平台,总共 34 个样品:17 个癌组织标本和 17 个正常对照;GSE113513 的平台为 GPL15207,包含 14 个结肠直肠肿瘤样本和相同数量的正常样本;GSE122183 数据集基于 GPL17586 平台,包含 25 个样本(15 个结直肠癌,10 个正常对照)。

1.2 微阵列数据的处理

所有样本信息分为肿瘤组和正常组,R studio 软件中 LIMMA 软件采用 *t* 检验计算差异倍数(FC)值和调整后的 *P* 值。调整后的 *P* 值(adj. *P*. Val)<0.01 和 |log FC|>2 被定义为 DEGs 判定标准。运行 R studio 中的 pheatmap, ggplot2, ggthemes 和 Cairo 软件创建热图和火山图。

1.3 功能和途径富集分析

对于 DEGs 的功能注释,我们将差异表达基因提交给 DAVID (https://DAVID.abcc.ncifcrf.gov/)进行基因本体论分析。KEGG 分析采用 KOBAS 3.0 (http://kobas.cbi.pku.edu.cn/kobas3)。*P* 值<0.05 被设定为具有统计学意义的阈值。

1.4 PPI 网络的构建和中枢基因鉴定

STRING 数据库可以预测蛋白质的相互作用[9]。我们采用 STRING 在线数据库筛选了相互作用得分≥0.4 的基因,并建立了 PPI 网络。通过 Cytoscape 软件(版本 3.6.1)输出 PPI 网络的可视化结果,并采用 CytoHubba 插件根据“degree”的排序规则对 DEGs 进行排序,最终筛得 6 个 DEGs。

1.5 细菌菌株和细胞系

具核梭杆菌亚种 (ATCC 25586)购自 ATCC[2],使用厌氧培养工作站(Ruskinn *In vivo* 2400,英国贝克)在专性厌氧环境(5%CO_2、10%H_2 和 85%N_2)中 37 ℃培养细菌 24 h。人正常结直肠上皮细胞系(NCM460)和结直肠癌细胞系(HCT116, SW620 和 SW480)由中国科学院(CAS)的细胞库提供。将其在含有 10%胎牛血清(FBS, Gibco,美国)的 DMEM(美国 Gibco)中于 36.5 ℃的潮湿环境中(含 5%CO_2)进行培养。细胞感染模型:将细胞接种在 6 孔板中,然后用具核梭杆菌(MOI =100∶1)感染肠上皮细胞系 4、12 和 24 h[10]。

1.6 实时定量 PCR 分析

TRIzol 试剂(Invitrogen, USA)提取细胞总 RNA,并通过 PrimeScript™ RT 试剂盒(TaKaRa, Tokyo, Japan)

将总 RNA 反转录为 cDNA。实时定量 PCR 反应条件为:95 ℃下 30 s,95 ℃下 5 s,60 ℃下 30 s,40 个循环,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 mRNA 的相对表达量,以 GAPDH 为实验内参。

1.7 免疫印迹分析

采用蛋白提取液(Beyotime,China)提取细胞总蛋白,将等量的蛋白质在 5×SDS 缓冲液中变性,12% SDS-PAG 电泳,恒电流转移到 PVDF 膜上;在 5% BSA 的 TBST 中封闭 2 h,在 4 ℃一抗孵育过夜后,室温下二抗孵育 2 h,BeyoECL Plus 试剂盒(Beyotime)显色。一抗 MUC1(ab45167)和 GAPDH(ab8245)抗体由 Abcam 生物技术公司获得,二抗(7074S)由 CST 生物技术公司提供。

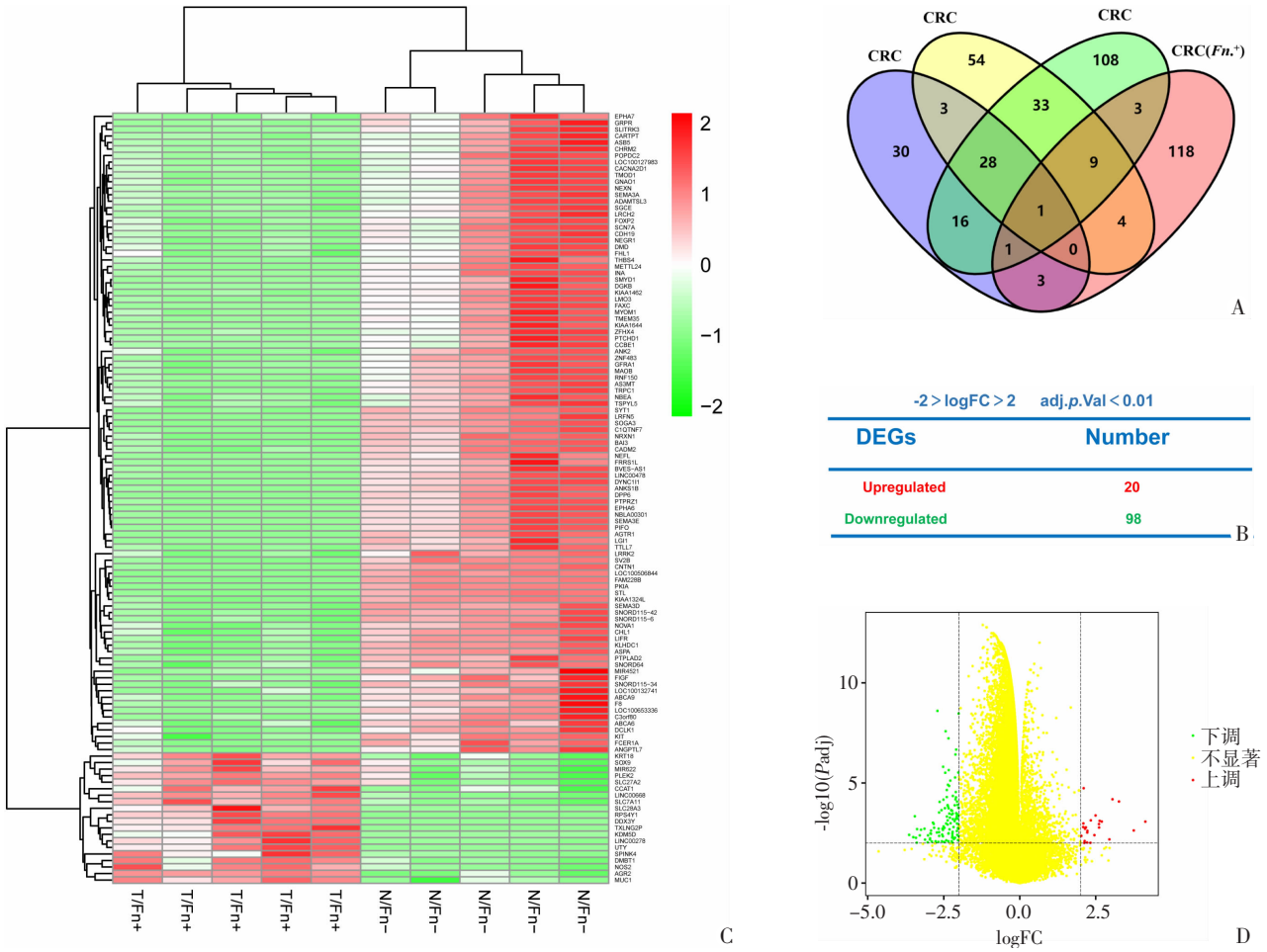
1.8 统计学分析

所有实验数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,定量检测结果采用 t 检验,使用 GraphPad Prism 6.01 进行数据分析。检验水准 $\alpha=0.05$。

2 结果

2.1 *F. nucleatum* 诱导 CRC 差异表达基因的筛选

对 GEO 的生物芯片数据进行标准化,利用 R studio 软件在 GSE110223 中筛选出与结直肠癌相关的 DEGs 共 82 个,在 GSE110224 和 GSE113513 中分别获得 132 个和 199 个。此外,在 GSE122183 中筛选获得 *F. nucleatum* 感染致显著差异表达的结直肠癌基因 139 个。鉴于各芯片数据中的临床样本量较小,将 4 个数据集重叠以获得 *F. nucleatum* 介导的结直肠癌差异表达基因。GSE122183 数据集的非重叠区域代表了上述 DEGs,该区域筛选出 118 个基因,维恩图(图 1A)对其进行可视化;其中,有 20 个表达上调基因和 98 个表达下调基因(图 1B)。热图和火山图分别显示了 118 个 DEGs(图 1C、D)。



A:重叠 4 个数据集获得 *F. nucleatum* 诱导结直肠癌的差异表达基因数量;B: *F. nucleatum* 感染下 CRC 组织中 DEGs 的上调表达基因数量和下调表达基因数量;C:118 个 DEGs 的热图;红色表示上调;绿色表示下调,而无显著差异表达的基因则用白色表示;D:CRC 的 DEGs 火山图;红点,代表 *F. nucleatum* 感染致明显上调的 DEGs;绿点,代表 *F. nucleatum* 感染致显著下调的 DEGs;黄点表示差异不显著;显著性定义为 adj. P. Val<0.01 和|log FC|> 2

图 1 GSE110223、GSE110224、GSE113513 和 GSE122183 数据集中 DEGs 的筛选

2.2 GO 和 KEGG 富集分析

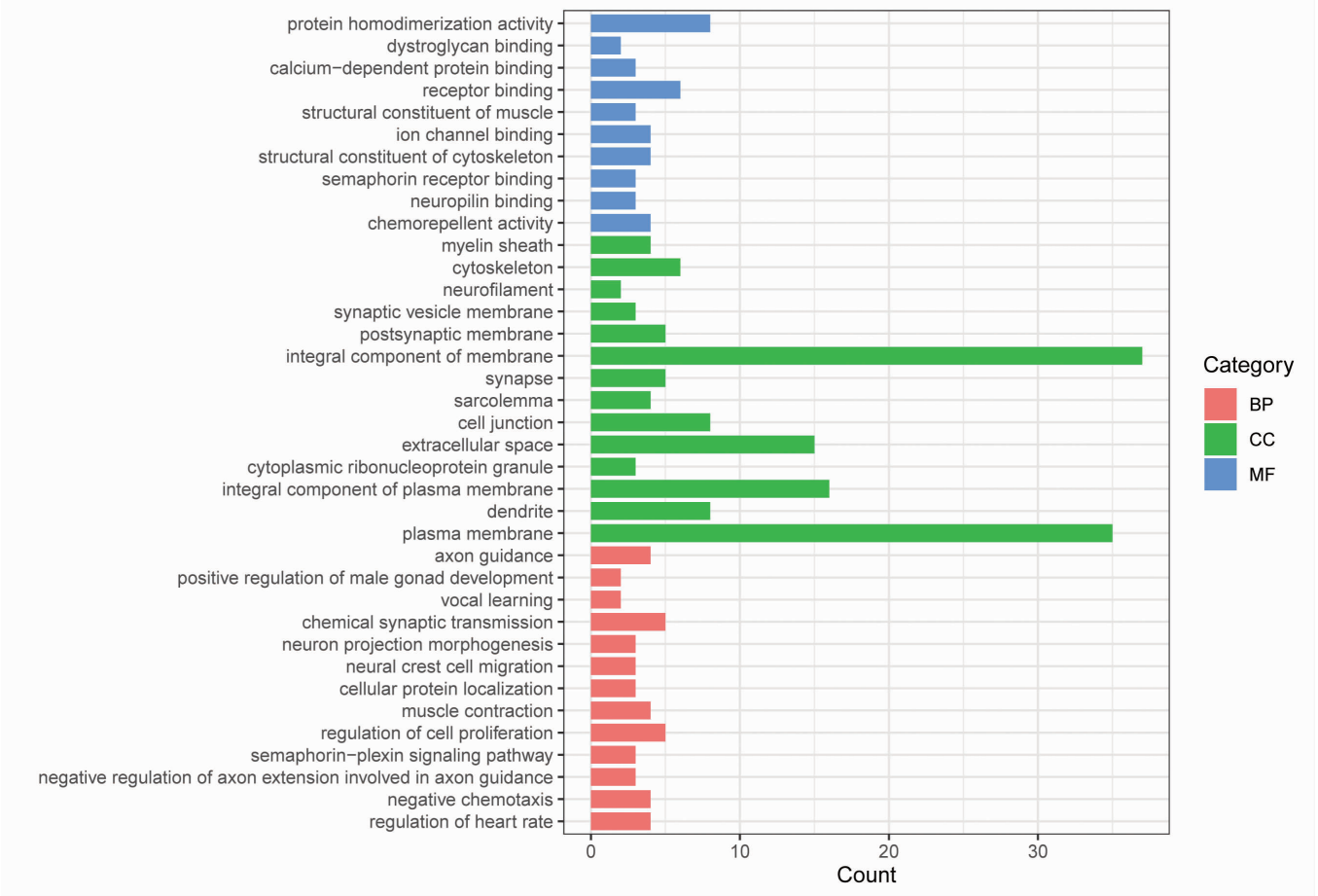
为了分析 DEGs 的关键功能分类,本研究采用 DAVID 进行 GO 分析。GO 注释和分类的基因功能主要分为:生物过程(BP)、细胞成分(CC)和分子功能(MF)。如图 2 所示,差异表达基因涉及的生物过程主要在化学突触传递和细胞增殖调节等方面;细胞成分富集分析显示 DEGs 主要涉及膜、细胞外空间和质膜的组成部分;而分子功能分析上最显著富集是蛋白质二聚体活性和受体结合功能。此外,我们通过 KOBAS 3.0 软件在 KEGG 中分析了差异表达基因。这些差异表达基因主要富集于以下信号途径:轴突引导(hsa04360)、磷脂酶 D 信号传导途径(hsa04072)、钙信号传导途径(hsa04020)、组氨酸代谢(hsa00340)和血清素能突触(hsa04726)。上述 KEGG 富集分析结果可视化显示在图 3 中。

2.3 通过构建 PPI 网络进行目的基因筛选

为了预测差异表达基因的蛋白质之间的相互作用,本研究在 STRING 中提交了 118 个靶基因。随后,使用 Cytoscape 3.8.0 软件中 CytoHubba 插件进行了 PPI 网络分析。网络的 Hub 基因通过“degree”法排序。最后,从网络中筛选出在 CRC 中过表达的 MUC1,及其 5 个与 MUC1 相互作用的 DEGs:SLC7A11,AGR2,KRT18,CARTPT 和 TSPYL5(图 4A)。此模块中有 4 个上调基因(MUC1,SLC7A11,AGR2 和 KRT18)和 2 个下调基因(CARTPT 和 TSPYL5,图 4B)。

2.4 *F. nucleatum* 感染与目的基因的差异表达显著相关

为了验证 *F. nucleatum* 感染对 Hub 基因表达影响,时间依赖实验分析 *F. nucleatum* 感染结直肠细胞系对 MUC1 的转录水平和蛋白质水平表达。RT-qPCR 和 Western blot 分析表明,在不同的 *F. nucleatum* 感染时间点(4,12 h 和 24 h),MUC1 的转录水平表达和蛋白水平表达在 4 个细胞系中均逐渐增加(图 5A~C)。上述结果提示,*F. nucleatum* 感染可能通过调节 MUC1 的表达促进结直肠癌的发生(图 5D)。



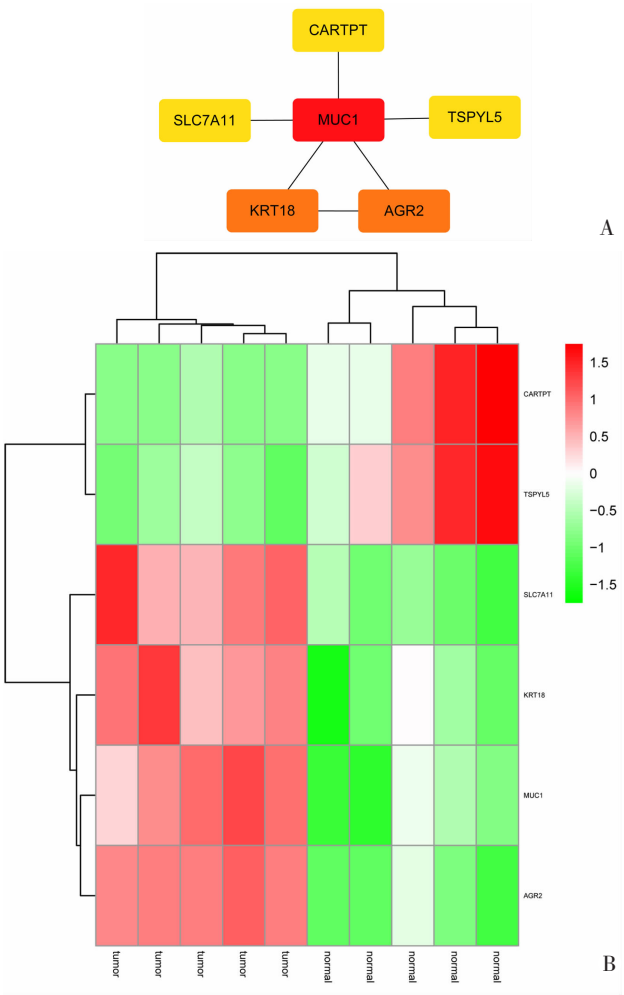
X 轴代表基因功能;Y 轴代表基因数量;3 种不同颜色分别表示 BP、CC 和 MF

图 2 DEGs 的 GO 注释



X 轴显示富集系数;富集系数指筛选所得参与该通路基因与通路总基因的比值;Y 轴显示了 DEGs 富集通路;点的大小表示该通路中靶基因的数量,点的颜色反映了不同的 *P* 值($P<0.05$)

图 3 DEGs 的 KEGG 富集分析

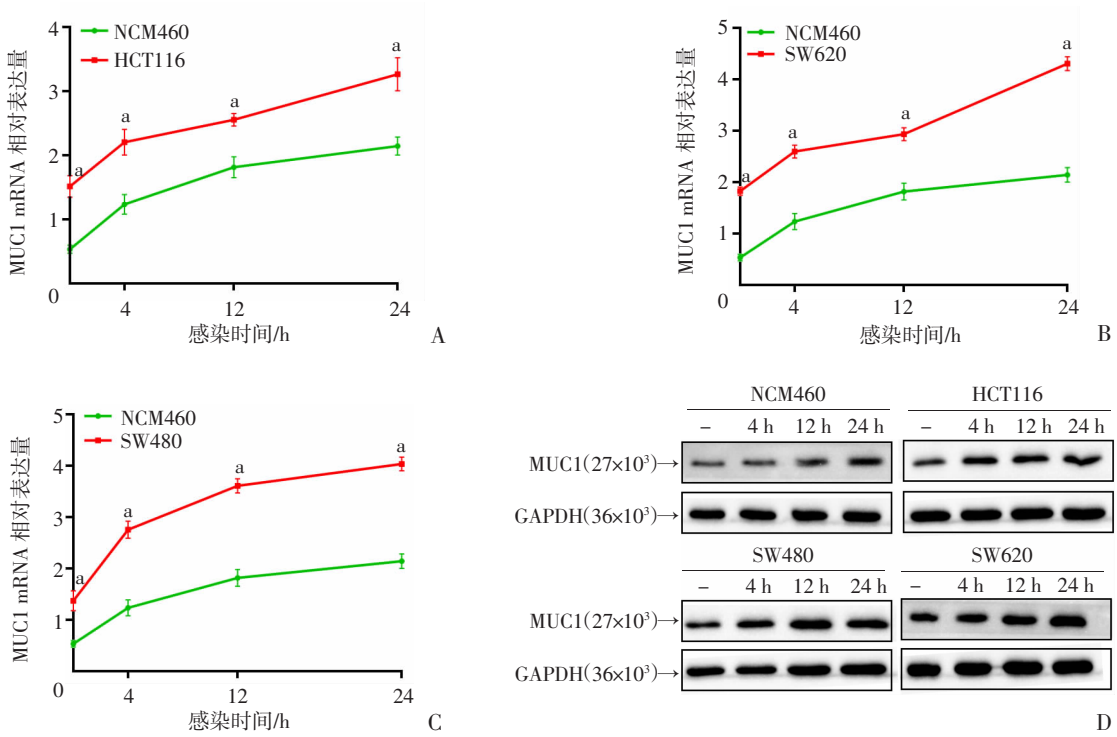


A: *F. nucleatum* 调控 CRC 显著差异表达基因的 PPI 网络,即 MUC1 和其他 5 个相互作用的 DEGs 的 PPI 网络;
B: MUC1 和 5 个相互作用 DEGs 的热图

图 4 通过构建 PPI 网络筛选关键基因

3 讨论

结直肠长期暴露于肠道微生物的环境下,肠道微生物菌群失调与结直肠癌的发生发展密不可分[11],甚至是其病因之一。具核梭杆菌(*F. nucleatum*)是革兰阴性专性厌氧菌,常寄生于人类口腔及胃肠道。新进研究 *F. nucleatum* 在结直肠癌中明显富集,并与不良预后相关,更是作为一种加速结直肠癌进展和严重程度的“肿瘤细菌”而引起广泛关注[2,12]。CASTELLARIN 等[2]运用转录组学探测 CRC 组织中微生物菌群的变化,结果显示 CRC 组织内存在高丰度的具核梭杆菌。比对 CRC 癌组织和癌旁正常组织时发现,癌组织样本中具核梭杆菌的丰度明显高于癌旁组织,而且发现癌组织中高丰度的具核梭杆菌与淋巴结转移呈正相关,这项研究揭示了具核梭杆菌与 CRC 之间具有密切的相关性。本研究利用 GEO 的生物芯片数据,筛选出 118 个因 *F. nucleatum* 感染 CRC 引起的显著差异表达基因。基因本体论分析表明,这些 DEGs 在化学突触传递、细胞增殖转化、细胞膜组成、细胞外间隙、蛋白同源二聚体活性和受体结合等方面都有着显著富集。此外,DEGs 显著富集的几种 KEGG 信号通路与 CRC 密切相关[13-16],包括 PI3K-Akt、MAPK、Rap1 和 JAK-STAT 等信号通路。利用 CytoHubba 插件进行了 PPI 网络分析,进一步筛选出在 CRC 中过表达的 MUC1,及其 5 个与 MUC1 相互作用的 DEGs,包括 SLC7A11、AGR2、KRT18、CARTPT 和 TSPYL5。并验证了具有高中心性得分的关键 MUC1 的转录水平和蛋白水平表达,其结果与生物信息学分析结果一致,提示该基因可能是 *F. nucleatum* 特异并参与调控结直肠癌发生的关键基因。



A: HCT116 细胞系 MUC1 mRNA 的表达;B: SW620 细胞系 MUC1 mRNA 的表达;C: SW480 细胞系 MUC1 mRNA 的表达;D: 正常及 CRC 细胞中 MUC1 蛋白表达

图 5 感染 *F. nucleatum* 不同时间后正常及 CRC 细胞系中 MUC1 mRNA 及蛋白的表达变化

MUC1 在多种肿瘤组织中异常表达,表现为量的增加和结构改变[5],其畸形糖基化或糖基化不全,使 MUC1 暴露出新的蛋白表位或新的糖抗原,其同种型 MUC1/Y 具有肿瘤特异性。因此,MUC1 已作为一种肿瘤生物学标志物运用于乳腺癌、卵巢癌、胃肠肿瘤等的诊断和微小淋巴结转移检测[17]。研究发现一些胃肠道细菌与 MUC1 的相互作用促进了消化道肿瘤的发生发展,而 MUC1 致癌作用的可能机制为:(1)直接促进肿瘤的生长和加速其转移;(2)通过分子间相互作用,促进癌基因的表达和抑制抗癌基因的表达;(3)免疫逃逸机制[17]。例如,幽门螺杆菌诱导 MUC1 高表达通过 NF-κB 信号通路促进炎症反应导致胃癌发生[18]。本研究中,MUC1 在 *F. nucleatum* 感染的结直肠癌组织中过度表达,以及该菌感染肠上皮细胞系诱导 MUC1 的高表达,提示 MUC1 可能在结直肠癌的发生发展中发挥重要作用,并可作为一种早期诊断结直肠癌的生物标志物提升临床价值。

而与 MUC1 相互作用的 5 个 DEGs(AGR2、KRT18、TSPYL5、CARTPT 和 SLC7A11)在多种恶性肿瘤的发生、转移、侵袭和化疗耐药性中起重要作用。前梯度蛋白 2(AGR2)具有促进肿瘤细胞生长和侵袭转移等生物学功能,与前列腺癌、胰腺癌、乳腺癌和食管癌等多种肿瘤转移密切相关。例如,AGR2 通过上调 Wnt11 激活 JNK 和 CaMKII 从而促进 CRC 细胞迁移[19]。角蛋白 18(KRT18)作为 CRC 患者的一个独立预测因子,其过度表达对整体生存率不利[20]。睾丸特异性蛋白 Y 编码样 5(TSPYL5)是抑癌基因。HUANG 等[21]报道 miR-19-5p 与 TSPYL5 相互作用,在 CRC 的发生和发展中起着至关重要的作用。溶质载体家族 7 成员 11(SLC7A11)在抗氧化和分解谷氨酰胺方面发挥着关键作用。JU 等[22]报道低剂量紫杉醇(PTX)诱导下,下调的 SLC7A11 的表达可以降低肿瘤微环境 pH 值,从而抑制肿瘤细胞的生长。尽管 CARTPT 在 CRC 的生物学进展过程中发挥的作用并不明确,但 CARTPT 与其他类型的癌症有着密切的联系。例如,CARTPT 与乳腺癌发生密切相关[23],*F. nucleatum* 引起的 CARTPT 的异常表达可能影响结直肠癌的发生和侵袭转移。虽然我们构建了上述 6 个 DEGs 的 PPI 网络,提示它们在结直肠癌的发生发展中的作用,但是其具体功能及其作用机制还有待于进一步的研究。

综上所述,生物信息学分析和细胞感染模型证实了 MUC1 在 *F. nucleatum* 感染的结直肠癌中过表达,为进一步研究其在结直肠癌中的作用机制奠定了基础,也有望成为抑制结直肠癌发生的分子靶标,为预防和治疗 CRC 开辟新的途径。

参考文献:

[1] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, *et al*. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(6): 394-424. DOI: 10.3322/caac.21492.

[2] CASTELLARIN M, WARREN R L, FREEMAN J D, *et al*. Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma[J]. Genome Res, 2012, 22(2): 299-306. DOI: 10.1101/gr.126516.111.

[3] BRENNAN C A, GARRETT W S. Fusobacterium nucleatum-symbiont, opportunist and oncobacterium[J]. Nat Rev Microbiol, 2019, 17(3): 156-166. DOI: 10.1038/s41579-018-0129-6.

[4] NATH S, MUKHERJEE P. MUC1: a multifacetedoncoprotein with a key role in cancer progression[J]. Trends Mol Med, 2014, 20(6): 332-342. DOI: 10.1016/j.molmed.2014.02.007.

[5] LAN M S, BATRA S K, QI W N, *et al*. Cloning and sequencing of a human pancreatic tumor mucincDNA[J]. J Biol Chem, 1990, 265(25): 15294-15299.

[6] ALAM M, AHMAD R, RAJABI H, *et al*. MUC1-Concoprotein activates ERK→C/EBPβ signaling and induction of aldehyde dehydrogenase 1A1 in breast cancer cells[J]. J Biol Chem, 2013, 288(43): 30892-30903. DOI: 10.1074/jbc.m113.477158.

[7] HIRAKI M, SUZUKI Y, ALAM M, *et al*. MUC1-C stabilizes MCL-1 in the oxidative stress response of triple-negative breast cancer cells to BCL-2inhibitors[J]. Sci Rep, 2016, 6: 26643. DOI: 10.1038/srep26643.

[8] RAJABI H, ALAM M, TAKAHASHI H, *et al*. MUC1-Concoprotein activates the ZEB1/miR-200c regulatory loop and epithelial-mesenchymal transition[J]. Oncogene, 2014, 33(13): 1680-1689. DOI: 10.1038/onc.2013.114.

[9] SZKLARCZYK D, FRANCESCHINI A, WYDER S, *et al*. STRING v10: protein-protein interaction networks, integrated over the tree of life[J]. Nucleic Acids Res, 2015, 43(database issue): D447-D452. DOI: 10.1093/nar/gku1003.

[10] MENDES R T, NGUYEN D, STEPHENS D, *et al*. Endothelial cell response to Fusobacterium nucleatum[J]. Infect Immun, 2016, 84(7): 2141-2148.

[11] HAUSEN H Z. The search for infectious causes of human cancers: where and why[J]. Virology, 2009, 392(1): 1-10. DOI: 10.1016/j.virol.2009.06.001.

[12] TJALSMA H, BOLEIJ A, MARCHESI J R, *et al*. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects[J]. Nat Rev Microbiol, 2012,10(8): 575-582. DOI: 10.1038/nrmicro2819.

[13] BAHRAMI A, KHAZAEI M, HASANZADEH M, *et al*. Therapeutic potential of targeting PI3K/AKT pathway in treatment of colorectal cancer: rational and progress[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(3): 2460-2469. DOI: 10.1002/jcb.25950.

[14] UDDIN S, BAVI P P, HUSSAIN A R, *et al*. Leptin receptor expression in Middle Eastern colorectal cancer and its potential clinical implication[J]. Carcinogenesis, 2009, 30(11): 1832-1840. DOI: 10.1093/carcin/bgp145.

[15] UDDIN S, HUSSAIN A R, KHAN O S, *et al*. Role of dysregulated expression of leptin and leptin receptors in colorectal carcinogenesis[J]. Tumor Biol, 2014, 35(2): 871-879. DOI: 10.1007/s13277-013-1166-4.

[16] TANG Y, ZHAO Y, SONG X, *et al*. Tumor-derivedexosomal miRNA-320d as a biomarker for metastatic colorectal cancer[J]. J Clin Lab Anal, 2019, 33(9): e23004. DOI: 10.1002/jcla.23004.

[17] 高志强, 丁志强, 陈勇军, 等. 胰腺癌组织黏蛋白 MUC1 表达的意义[J]. 世界华人消化杂志, 2006, 14(9): 923-926.
GAO Z Q, DING Z Q, CHEN Y J, *et al*. Significance of mucin 1 expression in pancreatic cancer tissues[J]. World Chin J Dig, 2006, 14(9): 923-926.

[18] SHENG Y H, TRIYANA S, WANG R, *et al*. MUC1 and MUC13 differentially regulate epithelial inflammation in response to inflammatory and infectious stimuli[J]. Mucosal Immunol, 2013, 6(3): 557-568. DOI: 10.1038/mi.2012.98.

[19] TIAN S, HU J, TAO K, *et al*. Secreted AGR2 promotes invasion of colorectal cancer cells *via* Wnt11-mediated non-canonical Wnt signaling[J]. Exp Cell Res, 2018, 364(2): 198-207. DOI: 10.1016/j.yexcr.2018.02.004.

[20] ZHANG J, HU S, LI Y. KRT18 is correlated with the malignant status and acts as an oncogene in colorectal cancer[J]. Biosci Rep , 2019,39(8): BSR20190884. DOI: 10.1042/BSR20190884.

[21] HUANG C, LUO H. miR-19-5p enhances tumorigenesis in human colorectal cancer cells by targeting TSPYL5[J]. DNA and Cell Biology, 2018,37(1): 23-30. DOI: 10.1089/dna.2017.3804.

[22] JU H Q, LU Y X, CHEN D L, *et al*. Redox regulation of stem-like cells though the CD44v-xCT axis in colorectal cancer: mechanisms and therapeutic implications[J]. Theranostics, 2016, 6(8): 1160-1175. DOI: 10.7150/thno.14848.

[23] Slattery M L,Lundgreen A, Hines L, *et al*, Energy homeostasis genes and breast cancer risk: The influence of ancestry, body size, and menopausal status, the breast cancer health disparities study[J]. Cancer Epidemiol, 2015, 39(6): 1113-1122. DOI: 10.1016/j.canep.2015.08.012.

(收稿:2021-01-20;修回:2021-03-30)

(编辑 邓强庭)