

· 基础与实验 ·

豆根管食通口服液对食管鳞癌细胞 miR-377 的影响研究

李伟明¹, 郑玉玲¹, 尹怡², 王俊涛², 王祥麒¹

1. 河南中医药大学, 河南 郑州 450046; 2. 河南中医药大学第三附属医院, 河南 郑州 450008

【摘要】目的 观察豆根管食通口服液对食管鳞癌细胞株 KYSE450 的细胞增殖、细胞凋亡及对 miR-377、CD133 和 VEGF 表达的影响。**方法** 先制备豆根管食通口服液含药血清, 然后分为高中低三个浓度, 分别作用 24 h、48 h、72 h, 筛选出最佳浓度和最佳作用时间, 然后将 KYSE450 细胞株分为空白组、豆根管食通中剂量组、氟尿嘧啶组。采用 MTT 方法检测豆根管食通口服液含药血清对 KYSE450 细胞增殖的影响, 采用流式细胞仪检测豆根管食通口服液含药血清对 KYSE450 细胞凋亡的影响, 采用 RT-PCR 方法检测豆根管食通口服液含药血清对 KYSE450 细胞 miR-377 的影响, 采用 WB 方法检测豆根管食通口服液含药血清对 KYSE450 细胞 CD133 和 VEGF 表达的影响。**结果** 筛选出最佳浓度为豆根管食通中剂量组, 最佳作用时间为 48 h; MTT 结果显示, 豆根管食通口服液对 KYSE450 细胞能够明显抑制细胞增殖, 豆根管食通口服液含药血清中剂量组的细胞凋亡率为 $(18.8 \pm 2.66)\%$, 高于空白组 ($P < 0.01$), 促进 miR-377 表达, 与空白对照组相比 ($P < 0.05$), 抑制 CD133 表达 ($P < 0.05$), 抑制 VEGF 表达 ($P < 0.01$)。**结论** 豆根管食通口服液对食管鳞癌 KYSE450 细胞株有抗增殖、促凋亡的作用, 其机制可能是通过上调 miR-377 的表达, 进而抑制 CD133 和 VEGF 表达。

【关键词】 豆根管食通口服液; 食管鳞癌; KYSE450 细胞; miR-377

中图分类号: R730.52; R735.1

文献标志码: A

DOI: 10.19811/j.cnki.ISSN2096-6628.2021.02.010

Effect of *Dougen Guangshitong* Oral Liquid on miR-377 Expression in Esophageal Squamous Carcinoma Cells

LI Wei-ming¹, ZHENG Yu-ling¹, YIN Yi², WANG Jun-tao², WANG Xiang-qi¹

1. Henan University Of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046 Henan, China; 2. The Third Affiliated Hospital of Henan University Of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046 Henan, China;

Abstract: Objective To observe the effect of *Dougen Guanshitong* Oral Liquid on the proliferation and apoptosis of esophageal squamous cell line KYSE450 and on the expression of miR-377, CD133 and vascular endothelial growth factor (VEGF) proteins in the cell line KYSE450. **Methods** The drug serum of *Dougen Guanshitong* Oral Liquid was prepared firstly, and then the KYSE450 cells were co-cultured with high-, middle-, and low-concentration drug serum for 24, 48, and 72 hours respectively to screen out the optimal concentration and the optimal medication time. MTT method was used to detect the effect on the proliferation of KYSE450 cells, flow cytometry was used to detect the effect on the apoptosis of KYSE450 cells, RT-PCR method was used to detect the effect on the miR-377 expression in KYSE450 cells, and Western blotting method was used to detect the effect on CD133 and VEGF expression in KYSE450 cells of the blank group, middle-dose *Dougen Guanshitong* Oral Liquid group and fluorouracil group. **Results** The optimal concentration was the middle dosage of *Dougen Guanshitong* Oral Liquid, and the optimal medication time was 48 hours. MTT results showed that *Dougen Guanshitong* Oral Liquid could significantly inhibit the proliferation of KYSE450 cells, the apoptotic rate of the middle-dose group

收稿日期: 2020-12-19

作者简介: 李伟明(1982-), 男, 博士, 副主任中医师, 研究方向: 肿瘤中西医结合治疗。Email: 49231374@qq.com。

通信作者: 王祥麒, 博士, 教授, 主任中医师, 硕士生导师, 研究方向: 肿瘤中西医结合治疗。Email: wangxiangqi777@163.com。

基金项目: 河南省教育厅河南省高等学校重点科研项目(编号: 14B360023)。

was (18.8 ± 2.66) % ($P < 0.01$) as compared with the blank group. *Dougen Guanshitong* Oral Liquid could also significantly promote the expression of miR-377 ($P < 0.05$) compared with the blank group, and inhibit the expression of CD133 ($P < 0.05$) and the expression of VEGF ($P < 0.01$). **Conclusion** *Dougen Guanshitong* Oral Liquid has certain effect on inhibiting the proliferation and promoting the apoptosis of esophageal squamous carcinoma KYSE450 cells. The mechanism may be related with the up-regulation of the expression of miR-377 and with the inhibition of the expression of CD133 and VEGF.

Keywords: *Dougen Guanshitong* Oral Liquid; esophageal squamous carcinoma; KYSE450 cells; miR-377

食管癌是常见的消化道恶性肿瘤,我国食管癌高发,河南、河北、山西是食管癌发生率最高的三个省,目前研究已证明吸烟和重度饮酒是其发病的重要原因^[1]。由于食管癌早期症状不明显,所以大多数患者发展到晚期才发现,食管癌的病理分型以鳞癌为主,约占70%~80%以上,中晚期的食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)主要的治疗方法是以化疗和放疗为主,5年生存率只有10%~20%左右^[2]。豆根管食通口服液是河南中医药大学郑玉玲教授总结30多年临床经验而研制出来的中药制剂,在治疗中晚期食管癌方面具有较好疗效,王新杰通过临床观察食管癌60例,对比替加氟片,豆根管食通口服液能明显改善患者吞咽困难,胸骨后闷胀等症状,改善卡氏评分,升高血清IL6,降低血清IL10,提高IgM、IgA、IgG,治疗两个疗程后总有效率为46.7%^[2]。王祥麒通过豆根管食通口服液灌胃治疗食管癌动物模型,发现其能促进大鼠食管癌细胞凋亡,其作用机制可能与其提高Fas表达、降低FasL表达有关^[3]。王玲玲在体外研究发现豆根管食通口服液具有明显抑制Eca-109细胞的作用,与药物浓度呈正相关,还可下调Eca-109细胞的端粒酶活性^[4],但是其治疗食管癌的作用机制还不明确。巴云涛发现miR-377能够增加食管癌细胞TE-1的放射敏感性,其机制可能是抑制AKT1/GSK-3 β 信号通路^[5]。方娜等^[6]发现circ_0072088靶向调节miR-377,上调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)基因表达,在体外促进ESCC细胞增殖、迁移和侵袭。因此,本研究采用RT-PCR的方法检测miR-377的表达,探讨豆根管食通口服液对ESCC的疗效及对miR-377的影响。

1 材料与仪器

1.1 试剂 RPMI-1640培养液(杭州基诺生物医药公司),胎牛血清(上海臻诺生物科技有限公司、MTT试剂盒)艾博抗生物公司,凋亡试剂盒(Applied BioProbes公司)、RT-PCR试剂盒(北京百奥莱博公司)、WB试剂盒(默沙克生物公司)。

1.2 仪器 细胞培养箱(美国Sigma公司)、超净工作台(苏州苏洁医疗)、PCR扩增仪(赛默飞世尔公司)、电泳槽(伯乐电泳槽公司)、流式细胞仪(Abcam公司)。

1.3 豆根管食通口服液 由河南中医药大学第一附属医院制剂室提供,由山豆根、制天南星、急性子、黄药子、姜半夏、沉香、郁金、三七等制成,每支10 ml,含生药1 g/ml。批号:020425。

1.4 细胞株 KYSE450细胞,由中国科学院细胞库提供。

1.5 SD大鼠 购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证:SCXK(京)2018-0005。

2 方法

2.1 豆根管食通口服液含药血清的制备

SD大鼠60只雌雄各半,将豆根管食通口服液分为高中低三个剂量组,剂量分别为20 g/kg、10 g/kg、5 g/kg,每天给药2次,连续3天,末次给药后1 h采血。经过灭活和灭菌处理,低温保存。

2.2 豆根管食通口服液含药血清不同浓度、不同时间点对KYSE450细胞增殖的影响

KYSE450细胞贴壁生长于RPMI-1640培养液中,在37.0℃、5%CO₂饱和湿度培养箱中,每周换液2~3次,当细胞处于对数生长期的时候开始实验,将细胞混匀并依次接种到96孔板中,分别加入豆根管食通口服液含药血清高中低剂量组

(20%、10%、5%)，并放置在细胞培养箱中，继续培养24 h、48 h、72 h。测试前每孔加入MTT试剂10 uL，检测每孔的光密度值(optical density, OD)，重复3次测量取平均值。根据细胞抑制率确定豆根管食通口服液含药血清中剂量组(10%)为最佳浓度，然后将KYSE450细胞分为空白组、豆根管食通口服液含药血清中剂量组(10%)、氟尿嘧啶组，再次进行细胞增殖MTT检测。

2.3 豆根管食通口服液含药血清中剂量组对KYSE450细胞凋亡的影响

将各组KYSE450细胞($0.5-1.0 \times 10^6$)用PBS洗2次，加入100ul Binding Buffer和FITC标记的Annexin-V，常温避光30 min，加入PI 5ul，避光反应5 min，然后加入Binding Buffer 400ul，用FACScan快速进行流式细胞定量检测，同时设置一管为阴性对照(未加AnnexinV-FITC及PI)。

2.4 豆根管食通口服液含药血清中剂量组对KYSE450细胞miR-377的影响

使用Trizol试剂提取总RNA，通过分光光度计进行定量，并通过琼脂糖凝胶电泳进行鉴定。总共使用5μgRNA合成第1链cDNA，并稀释至100μl。随后，将2.5μl稀释的cDNA混合物用于最终25μl反应体积中的PCR扩增。miR-377的PCR引物序列下：3'-UGUUUCAACGGAAACACACUA-5'(F)；5'-CUACCUCCUCCAGUUGGU-3'(R)。PCR扩增进行35个循环，产物长度为122 bp。

2.5 豆根管食通口服液含药血清中剂量组对KYSE450细胞CD133和VEGF的影响

收集各组细胞，加入一定的RIPA重悬细胞，裂解离心后收集含有蛋白的上清液，测量蛋白浓度，加入适量的4×Loading buffer，混匀后煮沸5 min。上样后电泳，转膜，抗原封闭，一抗4℃过夜。用含有5%脱脂奶粉稀释羊抗鼠IgG，室温孵育1h，滴加显影液，置于暗室内孵育2 min后，用X光片进行曝光。

2.6 统计学处理

采用SPSS19.0进行分析，计数资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，使用多个样本均数比较的单因素方差分析。以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准， $P < 0.05$ 具有统计学意义。

3 结果

3.1 不同浓度豆根管食通口服液含药血清在不同时间点对KYSE450细胞增殖的影响

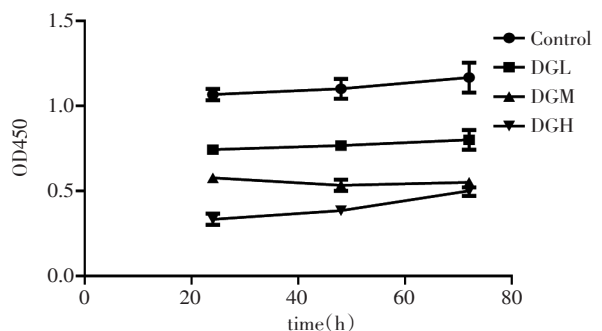
显微镜下观察不同剂量的豆根管食通口服液含药血清对KYSE450细胞的增殖有明显的抑制作用，且在3个时间点存在明显的时间依赖性和浓度依赖性。各剂量组OD值均低于空白对照组且差异有统计学意义($P < 0.05$)(见表1、图1)。因此选择豆根管食通口服液含药血清中剂量组(10%)作用48 h进行下一步的研究。然后将KYSE450细胞分为空白组、豆根管食通口服液含药血清中剂量组(10%)、氟尿嘧啶组(终浓度为100 ug/ml)，作用48 h，观察形态学变化，通过MTT检测增殖情况(见图2-3)。

表1 豆根管食通口服液含药血清作用KYSE450细胞48 h的影响

Table1 Effect of Dou Genguan Shitong Oral Liquid with Serum on KYSE450 Cells for 48 h

组别	数量	OD值	抑制率(%)
48h Control	12	1.285 ± 0.014 ^①	
豆根管食通低剂量组*	12	0.771 ± 0.013 ^②	32.64 ± 0.48
豆根管食通中剂量组*	12	0.492 ± 0.013 ^③	57.45 ± 0.59
豆根管食通高剂量组*	12	0.385 ± 0.012 ^④	68.24 ± 2.69

* $F=326.427$ ，①与②、③、④相比， P 值分别=0.007、0.003、0.001， $P < 0.01$ ，②与③、④相比， P 值分别=0.026、0.018， $P < 0.05$ ，③与④相比， P 值=0.113， $P > 0.05$ 。



注：Control为空白组；DGL为豆根管食通低剂量组；DGM为豆根管食通中剂量组；DGH为豆根管食通高剂量组。

图1 豆根管食通口服液含药血清分别作用KYSE450细胞24 h、48 h、72 h的OD值

Figure1 OD values of Dou Genguan Shitong Oral Liquid with Serum on KYSE450 Cells for 24 h、48 h、72 h

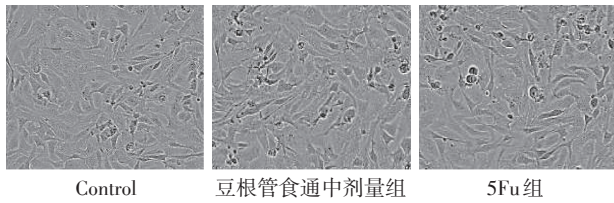


图2 不同组别对KYSE450细胞的形态学变化

Figure 2 Morphological changes of KYSE450 cells in different groups

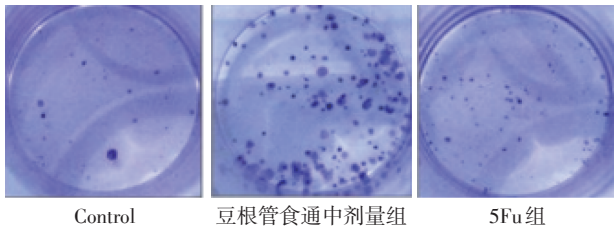


图3 MTT法测定不同组别对KYSE450细胞的影响

Figure 3 The effects of different groups on KYSE450 cells were determined by MTT assay

3.2 豆根管食通口服液含药血清中剂量组对KYSE450细胞凋亡的影响

将KYSE450细胞分为空白组、豆根管食通口服液含药血清中剂量组(10%)、氟尿嘧啶组(100 ug/ml)，作用48 h，流式细胞仪结果显示，空白组的细胞凋亡率为(5.4 ± 0.63)%，豆根管食通口服液含药血清中剂量组的细胞凋亡率为(18.8 ± 2.66)%，氟尿嘧啶组的细胞凋亡率为(26.1 ± 2.95)%，统计学分析显示，给药组与空白组相比，两组的细胞凋亡率均高于空白组($P < 0.01$)，见表2和图4-5。

3.3 豆根管食通口服液含药血清中剂量组对KYSE450细胞miR-377的影响

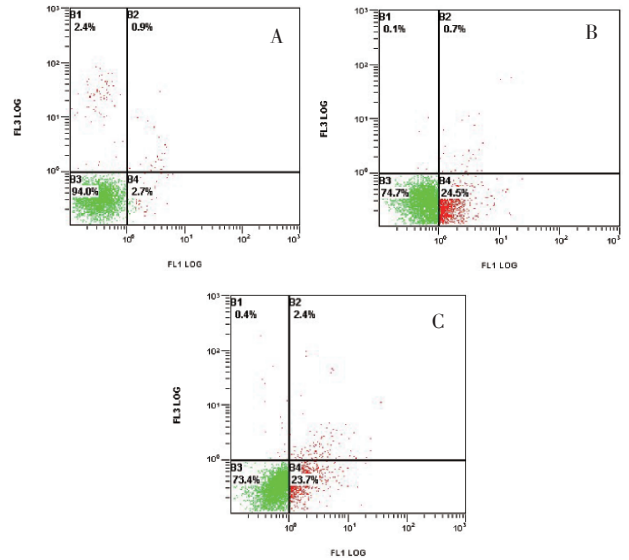
将KYSE450细胞分为空白组、豆根管食通口服液含药血清中剂量组(10%)、氟尿嘧啶组(100 ug/ml)，作用48h，RT-PCR结果显示，豆根

表2 豆根管食通口服液含药血清作用KYSE450细胞对凋亡的影响

Table 2 Effect of Dou Genguan Shitong Oral Liquid with Serum on apoptosis of KYSE450 Cells

组别	数量	凋亡率(%)
Control	3	5.4 ± 0.63
豆根管食通中剂量组(10%)	3	18.8 ± 2.66 ^①
氟尿嘧啶组(100 ug/ml)	3	26.1 ± 2.95 ^{①②}

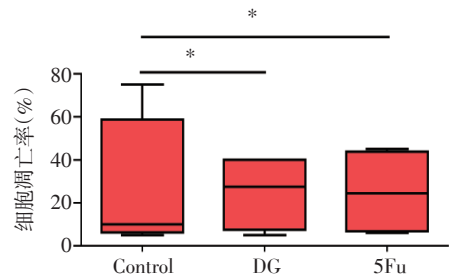
注：与空白组比较，^① $P < 0.01$ ，与豆根管食通中剂量组相比，^② $P > 0.05$ 。



注：A为空白组；B为豆根管食通组；C为氟尿嘧啶组。

图4 各组KYSE450细胞的凋亡率

Figure 4 Apoptosis rate of KYSE450 cells of different groups



注：Control为空白组；5Fu为氟尿嘧啶组；DG为豆根管食通中剂量组。

图5 不同组别KYSE450细胞的凋亡率

Figure 5 Apoptosis rate of KYSE450 cells of different groups

管食通口服液含药血清中剂量组和氟尿嘧啶组miR-377表达增高，与空白对照组相比，差异有统计学意义， $P < 0.05$ ($P = 0.025$, $P = 0.017$)，见图6、图7。

3.4 豆根管食通口服液含药血清中剂量组对KYSE450细胞CD133和VEGF蛋白表达的影响

将KYSE450细胞分为空白组、豆根管食通口

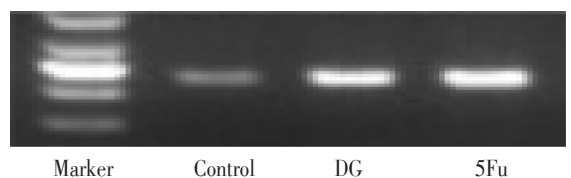
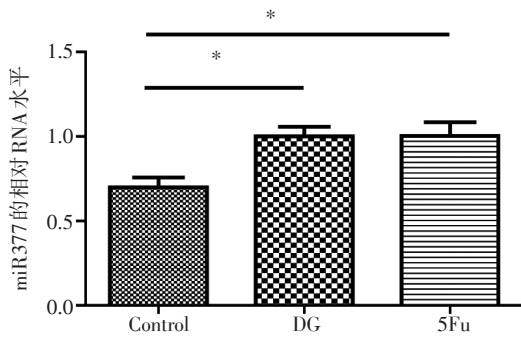


图6 不同组别细胞的miR-377表达

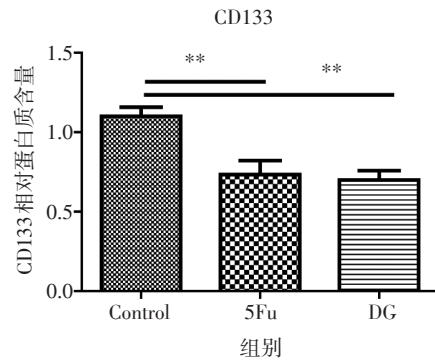
Figure 6 Expression of miR-377 in different groups



注：与空白对照组相比，豆根管食通口服液含药血清中剂量组和氟尿嘧啶组差异有统计学意义， $P < 0.05$ ($P = 0.025$, $P = 0.017$)。

图7 不同组别细胞miR-377表达量半定量分析

Figure 7 Semi-quantitative analysis of expression of miR-377 in different groups



注：与空白对照组相比，豆根管食通口服液含药血清中剂量组和氟尿嘧啶组 CD133 表达下调，差异有统计学意义， $P < 0.05$ ($P = 0.028$, $P = 0.027$)。

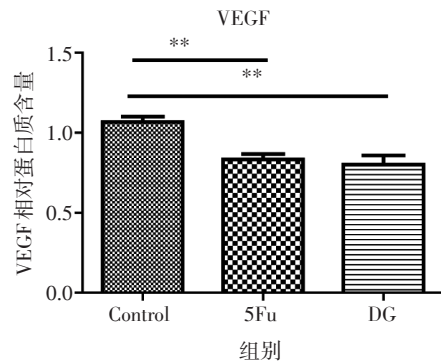
图9 不同组别细胞CD133蛋白表达的半定量分析

Figure 9 Semi-quantitative analysis of expression of CD133protein in different groups

服液含药血清中剂量组(10%)、氟尿嘧啶组(100 ug/ml)，作用48 h，WB结果显示，豆根管食通口服液含药血清中剂量组和氟尿嘧啶组 CD133 表达下调，与空白对照组相比，差异有统计学意义， $P < 0.05$ ($P = 0.028$, $P = 0.027$)，VEGF 表达下调，与空白对照组相比，差异有统计学意义， $P < 0.05$ ($P = 0.030$, $P = 0.025$)，见图8-10。

4 讨论

食管癌属于中医“噎膈”范畴，古代医家多认为本病的病因病机是情志不畅，肝气郁结；或者忧思过度，思虑伤脾；或饮食不节，肥甘厚腻辛辣刺激均可损伤脾胃，造成气滞水聚，痰湿凝结，积聚成块；或年老体衰，正气亏虚，癌毒瘤邪乘虚而入^[7]。《景岳全书·噎膈》所言：“噎膈一证，必以忧愁思虑，积劳积郁，或酒色过度，损伤而成”，是对噎膈的病因认识^[8]。目前食管癌仍然是世界上最危险的癌症之一，生存能力差，治



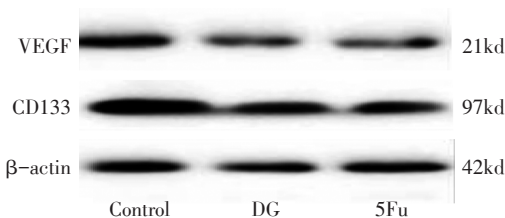
注：与空白对照组相比，豆根管食通口服液含药血清中剂量组和氟尿嘧啶组 VEGF 表达下调，差异均有统计学意义， $P < 0.05$ ($P = 0.0298$, $P = 0.0253$)。

图10 不同组别细胞VEGF蛋白表达的半定量分析

Figure 10 Semi-quantitative analysis of expression of VEGF protein in different groups

疗手段有限。

郑玉玲根据自己的临床经验，结合食管癌的病因病机，提出了“豁痰化瘀解毒”的治疗方法，依据中药药性药效及现代药理研究，精心组方遣药，在临床上反复验证最终形成了豆根管食通口服液，该方以山豆根为君，制南星、姜半夏、急性子、黄药子、郁金、沉香为臣，三七为佐使^[9]，山豆根解毒散结消肿，制南星温散化痰、姜半夏降气化痰散结、急性子软坚破血消积、黄药子凉血解毒化痰散结、郁金活血行气解毒散结、沉香行气降逆，三七散瘀消肿止痛。全方共奏解毒散结、豁痰化瘀之功效，适用于中医辨证



注：Control 为空白组；DG 为豆根管食通中剂量组(10%)；5Fu 为氟尿嘧啶组(100 ug/ml)。

图8 不同组别细胞VEGF和CD133蛋白的表达

Figure 8 Expression of VEGF and CD133 proteins in different groups

为痰气交阻、津亏热结、瘀血内结型的食管癌患者^[10]。中晚期食管癌大多属于本虚标实，治疗方法以扶正祛邪为主，豆根管食通口服液攻补兼施，临床也证实对中晚期食管癌有确切疗效，郑玉玲观察 60 例中晚期食管癌患者，辨证属于痰气交阻、瘀血内结或痰瘀互结者，对肝肾功无明显影响，钡餐检查提示食管癌的分级减轻，尤其是治疗前 3、4 级的患者，治疗两个周期后，有效率达到 50%^[11]。

microRNAs 的发现是肿瘤研究的里程碑，miR-377 位于 14q32 染色体区域，是 miRNA 家族中重要一员。2017 年 3 月香港大学医学院生物医学系李冰洁团队研究发现 miR-377 在食管鳞癌患者的肿瘤组织和血清中的表达明显下调^[12]，过表达 miR-377 抑制 ESCC 肿瘤的发生、生长、血管生成以及 ESCC 细胞的转移定植，而沉默 miR-377 则具有相反的作用。而且肿瘤组织和血清中 miR-377 表达水平与患者生存率呈正相关，较高的血清 miR-377 表达与肿瘤病理分期、远处转移、残留肿瘤状态以及放化疗耐药性呈负相关^[13]。验证了 miR-377 在抑制食管鳞癌发生发展中的作用与 CD133 和 VEGF 有关，可能是一种有前景的无创诊断、预后生物标志物和 ESCC 患者的治疗策略^[14]，但是 miR-377 在食管鳞癌中的生物学功能、临床意义及治疗意义还需要进一步的研究。

在本研究中，本实验体外实验证实豆根管食通口服液能够抑制 KYSE450 细胞增殖，MTT 结果显示对细胞增殖的抑制效果与药物浓度和作用时间呈正相关，其中豆根管食通口服液含药血清中剂量组能够诱导细胞凋亡，细胞凋亡率高于空白对照组，能够促进 miR-377 基因表达。EL B 等^[14]研究在 ESCC 组织和细胞中显著过表达机制上，miR-377 通过直接结合到 3' 非翻译区来调节 CD133 和 VEGF。因此本实验通过检测 CD133 和 VEGF 蛋白表达，豆根管食通口服液含药血清中剂量组 CD133 表达下调、VEGF 表达下调。因此，本实验证实豆根管食通口服液对食管鳞癌 KYSE450 细胞株有抗增殖、促凋亡的作用，其机制可能是通过上调 miR-377 的表达，进而抑制 CD133 和 VEGF 表达。

本研究揭示了豆根管食通口服液抗食管鳞癌

的部分作用机理，为该药的临床应用进一步提供了理论依据，但还需要进一步验证。

参考文献:

- [1] SANTOSA A, CAPPELLARI A R, DEMARCHI F O, et al. Potential role of P2X7R in esophageal squamous cell carcinoma proliferation [J]. *Purinergic Signal*, 2017, 13(3): 279-292.
- [2] 郑玉玲, 王祥麒, 张明智, 等. 豆根管食通口服液治疗食管癌临床观察与研究[J]. *中医药学刊*, 2005, 23(7): 1175-1177.
- [3] 王祥麒, 郑玉玲, 王璇, 等. 豆根管食通口服液对食管癌模型大鼠细胞凋亡及免疫逃逸的影响[J]. *中医杂志*, 2012, 53(7): 595-598.
- [4] 王玲玲, 孙宏新. 豆根管食通口服液对人食管癌细胞端粒酶活性影响的实验研究[J]. *时珍国医国药*, 2010, 21(9): 2387-2389.
- [5] 巴云涛, 王权. miR-377-5p 通过抑制 AKT1/GSK-3 β 通路增强食管癌细胞 TE-1 的放射敏感性[J]. *中华放射肿瘤学杂志*, 2020, 29(12): 1096-1101.
- [6] FANG N, SHI Y J, FAN Y, et al. Circ_0072088 promotes proliferation, migration, and invasion of esophageal squamous cell cancer by absorbing miR-377 [J]. *J Oncol*, 2020, 2020: 8967126.
- [7] 郑玉玲, 王祥麒, 张明智, 等. 豆根管食通口服液对食管癌患者近期疗效及血清细胞因子 IL-6 IL-10 的影响[J]. *中医药学刊*, 2005, 23(10): 1741-1742.
- [8] 秦善文. 豆根管食通口服液对人食管癌细胞增殖、凋亡及凋亡相关基因表达的影响[J]. *中国医药导报*, 2009, 6(10): 31-33.
- [9] 郑玉玲, 刘宏民, 王庆端, 等. 豆根管食通口服液对食管癌造模大鼠细胞周期调控因子的影响[J]. *中国中医药信息杂志*, 2005, 12(9): 25-26.
- [10] 马纯政, 郑玉玲. 豆根管食通口服液对人食管癌细胞多药耐药基因糖蛋白 P-170 表达的影响[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(6): 237-239.
- [11] 姬卫国. 豆根管食通口服液对食管癌患者近期生活质量及细胞凋亡指数的影响[J]. *中医临床研究*, 2011, 3(19): 1-5.
- [12] WANG C Q, CHEN L, DONG C L, et al. MiR-377 suppresses cell proliferation and metastasis in gastric cancer via repressing the expression of VEGFA [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(22): 5101-5111.
- [13] YU R, CAI L, CHI Y, et al. miR-377 targets CUL4A and regulates metastatic capability in ovarian cancer [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(6): 3147-3156.
- [14] EL BAROUDI M, MACHIELS J P, SCHMITZ S. Expression of SESN1, UHRF1BP1, and miR-377-3p as prognostic markers in mutated TP53 squamous cell carcinoma of the head and neck [J]. *Cancer Biol Ther*, 2017, 18(10): 775-782.