

中图分类号: R965; R711.71 文献标志码: A 文章编号: 1006-4931(2024)17-0056-06  
doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2024.17.014



## 差异表达微小核糖核酸在子宫内膜异位症中的诊断价值及调控机制\*

李甘<sup>1</sup>, 徐颖<sup>1</sup>, 王峰<sup>1</sup>, 陆晓凡<sup>2</sup>, 杨渊<sup>1△</sup>

(1. 南京医科大学附属苏州医院·江苏省苏州市立医院, 江苏 苏州 215008; 2. 第一三共 < 中国 > 投资有限公司, 上海 200040)

**摘要:**目的 探讨差异表达微小核糖核酸(miR)在子宫内膜异位症(EMT)中的诊断价值,并分析其调控作用机制。方法 选取南京医科大学附属苏州医院妇产科2022年3月至2023年3月收治的EMT患者75例纳入EMT组,选取同期健康志愿者75名纳入正常对照组。通过miR芯片分析技术筛选研究对象血样中表达差异的miR,采用定量聚合酶链反应(qPCR)法检测75例EMT患者的血样及60例拟行手术的EMT患者术前1d、术后2个月血样的miR-410-3p的表达水平,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析miR-410-3p在EMT中的诊断价值,通过TargetScan数据库进行生物信息学分析筛选靶基因,采用双荧光素酶报告基因实验和免疫印迹(Western blot)法检测转染miR-410-3p后血管内皮生长因子A(VEGFA)的表达水平。结果 共筛选出87个表达差异的miRNA。与正常对照组比较,EMT组miR-365的表达显著上调( $P < 0.05$ ),miR-410-3p的表达显著下调( $P < 0.05$ )。miR-410-3p的ROC曲线下面积(AUC)为0.7705。60例拟行手术的EMT患者术前、术后血样验证发现,病灶切除后,miR-410-3p的表达显著上调( $P < 0.05$ )。转染miR-410-3p后,VEGFA表达显著下调( $P < 0.05$ )。结论 血浆miR-410-3p可作为EMT患者的生物标志物,可靶向调控VEGFA的表达,具有良好的诊断潜力,其可能通过靶向抑制VEGFA发挥调控作用。

**关键词:**子宫内膜异位症;微小核糖核酸;血管内皮生长因子A;诊断价值;调控机制

### Diagnostic Value and Regulatory Mechanism of Differentially Expressed miR in Endometriosis

LI Gan<sup>1</sup>, XU Ying<sup>1</sup>, WANG Feng<sup>1</sup>, LU Xiaofan<sup>2</sup>, YANG Yuan<sup>1</sup>

(1. The Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University · Suzhou Municipal Hospital, Suzhou, Jiangsu, China 215008; 2. Daiichi Sankyo < China > Investment Co., Ltd., Shanghai, China 200040)

**Abstract: Objective** To investigate the diagnostic value of differentially expressed microRNA (miR) in endometriosis (EMT), and to analyze its regulatory mechanism. **Methods** A total of 75 patients with EMT admitted to the Obstetrics and Gynecology Department of the Affiliated Suzhou Hospital of Nanjing Medical University from March 2022 to March 2023 were selected as the EMT group, and 75 healthy volunteers were selected as the normal control group during the same period. The miR chip analysis technology was used to screen the differentially expressed miRNAs in the blood samples of the research subjects. Quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the expression levels of miR-410-3p in the blood samples of 75 EMT patients. Of which, blood samples of 60 EMT patients who were scheduled for surgery on the day before surgery and two months after surgery were also verified. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to analyze the diagnostic value of miR-410-3p in EMT. Bioinformatics analysis was carried out through the TargetScan database to screen target genes. Dual luciferase reporter gene assay and Western blot were used to detect the expression levels of transfection of miR-410-3p and the vascular endothelial growth factor A (VEGFA). **Results** A total of 87 differentially expressed miRNAs were screened out. Compared with those in the normal control group, the expression of miR-365 was significantly up-regulated in the EMT group ( $P < 0.05$ ), while the expression of miR-410-3p was significantly down-regulated in the EMT group ( $P < 0.05$ ). The area under the ROC curve (AUC) of miR-410-3p was 0.7705. The verification test of preoperative and postoperative blood samples of 60 EMT patients who were scheduled for surgery showed that the expression of miR-410-3p was significantly up-regulated after lesion tissue resection ( $P < 0.05$ ). After transfection with miR-410-3p, the expression levels of VEGFA was significantly down-regulated ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Plasma miR-410-3p can target the regulation of VEGFA expression as a biomarker for EMT patients, and it has good diagnostic potential, which may exert regulatory effects by targeting the inhibition of VEGFA.

**Key words:** endometriosis; microRNA; vascular endothelial growth factor A; diagnostic value; regulatory mechanism

子宫内膜异位症(EMT)是月经期间尚具备生长能力的子宫内膜细胞随经血逆流到达子宫的被覆内膜或子宫腔以外的其他部位,在一定条件下引发的一种疾病。EMT在普通女性中的发病率为2%~10%,在不孕女

\*基金项目:江苏省苏州市科技发展计划项目[SYSD2020192,SKJYD2021169,SKJY2021120]。

第一作者:李甘,男,硕士,医师,研究方向为公共卫生学,(电子信箱)2086622087@qq.com。

△通信作者:杨渊,女,硕士,药师,研究方向为药理学,(电子信箱)1069149438@qq.com。

性中的发病率为50%<sup>[1]</sup>。EMT病变复杂,形态各异,易浸润、转移和复发,药物激素治疗或手术治疗后的复发率仍较高。EMT会导致剧烈的病理性疼痛及不孕不育,严重影响患者的生活和工作<sup>[2-3]</sup>。故诊疗过程中及时、正确地鉴别与诊断十分重要。目前,组织病理学诊断是诊断EMT的基本证据,通过腹腔镜可对病变部位及范围进行探查,获得病变组织,以进行组织病理学诊断。但尚无证据表明诊断性腹腔镜较经验性药物治疗能更好地改善EMT患者的症状<sup>[4]</sup>。目前,也尚无外周血及子宫内膜的标志物用于准确诊断EMT的报道<sup>[5]</sup>。微小核糖核酸(miR)为单链非编码RNA,由18~25个核苷酸组成,主要从转录后的水平对基因进行表达调节,在各类疾病的发生、发展等生物学过程中发挥着重要的调控作用<sup>[6]</sup>。miR在乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌等多种妇科疾病中起调控作用,但用于EMT的研究较少<sup>[7-9]</sup>。miR在斑马鱼发育生长的整个过程中可通过负调节来抑制血管内皮生长因子A(VEGFA)<sup>[10]</sup>。miR可从多方面调控VEGFA,包括转录后调控、转录调控、VEGFA上下游信号转导调控<sup>[11]</sup>,推测可通过干扰这些特征miR治疗EMT<sup>[12]</sup>。本研究中通过芯片筛选、分析、验证EMT患者血浆中差异表达的miR,通过双荧光素酶报告基因实验和免疫印迹(Western blot)法验证miR-410-3p的调控靶基因,旨在发现诊断EMT新的生物标志物,为研究其发病机制提供参考。现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选取南京医科大学附属苏州医院妇产科2022年3月至2023年3月收治的EMT患者75例纳入EMT组,选取同期健康志愿者75名纳入正常对照组。EMT患者的筛选以临床出具的诊断报告书为准,健康志愿者是无相关血管增生疾病或激素异常的女性。其中,需进行手术的60例EMT患者术前1d取血作为术前组,术后2个月回访取血作为术后组。本研究方案经南京医科大学附属苏州医院姑苏学院伦理委员会批准(伦理审查号:K-2022-049-K01),研究对象均签署知情同意书。

### 1.2 方法

外周血标本采集与处理:抽取研究对象2 mL静脉血,置促凝采集管中,4℃静置30 min后离心(转速为3 000 r/min)15 min,吸取上清液置无菌聚丙烯微管中,置-80℃超低温冰箱中保存,备用。采用Trizol法提取总RNA,备用。

miR芯片制备及数据处理:由上海柏豪生物技术有限公司制备miR芯片,并分析基础数据。原始图像采用Agilent Feature Extraction v10.7版软件处理,采用Agilent

GeneSpring version 13.1版软件对数据用miR-1228进行归一化处理;采用GeneSpring软件中的T-test unpair方法进行两组差异表达分析得到P值,采用Benjamini Hochberg FDR方法进行校正得到P(Corr)值;采用TargetScan数据库([https://www.targetscan.org/vert\\_80/](https://www.targetscan.org/vert_80/))对可能的靶基因进行预测,采用DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>)预测靶基因相关的功能。其中,miR-1228是一种在外周血中稳定存在的miR,其表达在同一人群中基本恒定,故本研究中将其作为内参基因使用。

EMT血液样本的定量聚合酶链反应(qPCR)验证:按miRNA cDNA synthesis kit(意大利ABM公司)说明书,将miRNA逆转录为cDNA,采用Poly(A)加尾法进行逆转录,采用EvaGreen miRNA qPCR MasterMix(意大利ABM公司)试剂盒进行荧光定量检测。20 μL体系,EvaGreen miPCR MasterMix 10 μL, Forward Primer (10 μmol/L) 1 μL, Reverse Primer (10 μmol/L) 1 μL, Template DNA 2 μL, Nuclease-free H<sub>2</sub>O 6 μL。SYBR PCR反应条件,95℃ 10 min,95℃ 10 s,63℃ 35 s,72℃ 30 s,40个循环,采用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法分析。

细胞培养和转染:子宫内膜上皮细胞(HEEC,购自ATCC细胞库)置含10%胎牛血清的DMEM培养中,在37℃、5%恒温培养箱中培养。将对数生长期的HEEC接种于6孔板,分为miR-NC组和miR-410-3p组,细胞贴壁后采用Lipofectamine 2000转染试剂分别转染miR-NC和miR-410-3p,转染4~6 h后更换新鲜培养液,继续培养48 h后收集各组细胞,采用Western blot法检测VEGFA的表达水平。

双荧光素酶报告基因实验:使用TargetScan数据库对miR-410-3p下游靶基因进行预测。将miR-410-3p或miR-NC与VEGFA WT或Mut分别共转染293T细胞,培养箱中培养48 h后使用双荧光素酶报告基因检测荧光素酶活性。

Western blot法检测蛋白表达水平:提取总蛋白,检测蛋白浓度后,通过十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白,转膜至聚偏二氟乙烯(PVDF)膜。用脱脂牛奶封闭,4℃孵育一抗β-肌动蛋白(β-actin, 1:5 000)和VEGFA(1:1 000),室温下孵育二抗(1:10 000),制备增强化学发光(ECL)显影液,在成像系统中显影和拍照。

### 1.3 统计学处理

采用SPSS 22.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较行Student's *t*检验。采用受试者工作特征(ROC)曲线分析法评估候选miR的临床诊断价值。*P* < 0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 外周血 miR 芯片检测结果

通过 miR 芯片分析的 75 例 EMT 患者血样的 miR 热图见图 1, 共发现 87 个差异表达的 miR。

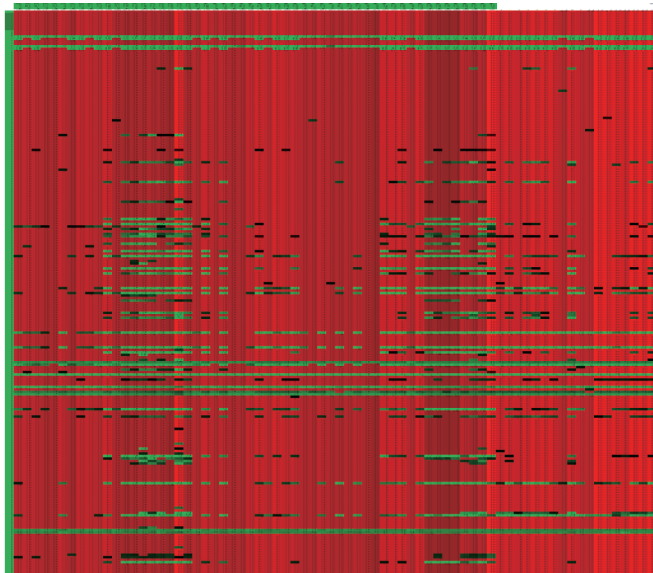


图 1 75 例 EMT 患者血样的 miR 热图

Fig. 1 miR heatmap of blood samples of 75 EMT patients

### 2.2 生物信息学分析筛选相关性 miR

在 87 个差异表达的 miR 中, 通过查阅文献 [13 - 17] 与生物信息学分析, 筛选出 12 个目前尚未充分阐明且预测与 EMT 具有关联的基因。在此基础上, 用已获得的样本进行 qPCR 检测, 确认与 EMT 具有较强相关性的 miR。由表 1 可知, 根据 *t* 检验结果, 这 12 种 (其中 hsa - let - 7d 为对照) miR 与 EMT 的相关性均显著 ( $P < 0.05$ )。在此基础上比较平均值, 根据最大化均值差异分析发现, 与正常对照组比较, miR - 365 的表达均值增幅最大, 而 miR - 410 - 3p 的表达均值降幅最大, 故认为 miR - 365 和 miR - 410 - 3p 的表达差异最显著。

### 2.3 血样 qPCR 验证与候选 miR 诊断价值

对 2.2 项下分析得到的差异表达 miR 进行 qPCR 验证。由图 2 A 可知, 与正常对照组比较, EMT 组 miR - 365 的表达显著上调 ( $P < 0.05$ ), miR - 410 - 3p 的表达显著下调 ( $P < 0.05$ )。根据已证实的 miR - 365 和 miR - 410 - 3p 在 EMT 组患者和正常对照组患者血样中的相对表达水平绘制 ROC 曲线, 分析 miR - 365 和 miR - 410 - 3p 在 EMT 中的临床诊断潜力。由图 2 B 可知, miR - 365 的 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.711 3, miR - 410 - 3p 的 AUC 为 0.770 5, 表明 miR - 365 和 miR - 410 - 3p 可能是诊断 EMT 的生物标志物。

### 2.4 术前、术后的外周血定量 qPCR 验证

采用 qPCR 法检测 60 例拟行手术 EMT 患者术前 1 d、术后 2 个月血浆中 miR - 365 及 miR - 410 - 3p 的表达。由图 3 可知, 病灶切除后, EMT 患者外周血中 miR - 342,

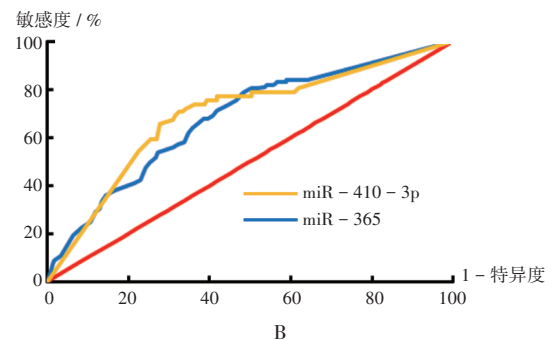
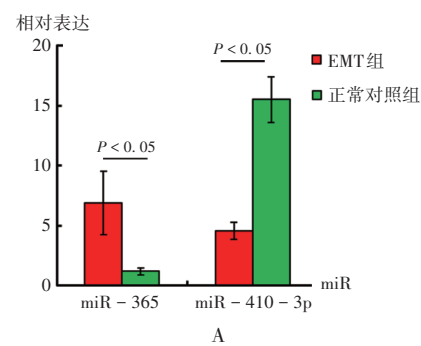
表 1 12 个与 EMT 相关性较强的 miR

Tab. 1 Twelve miRs with high correlation with EMT

miR	$\bar{X} \pm s$		P 值	AUC 值
	EMT 组	正常对照组		
hsa - let - 7d <sup>*</sup>	2.309 30 ± 1.154 69	0.000 00 ± 0.000 00	0.041 4	0.602 9
hsa - miR - 151 - 3p	1.445 34 ± 0.722 67	2.198 88 ± 1.439 82	0.004 9	0.652 6
hsa - miR - 17	0.839 73 ± 0.419 86	1.087 63 ± 1.567 81	0.025 2	0.610 3
hsa - miR - 199a - 3p	2.396 71 ± 1.198 35	0.000 00 ± 1.029 81	0.042 3	0.602 9
hsa - miR - 361 - 5p	1.584 37 ± 0.792 18	2.264 63 ± 2.014 38	0.009 2	0.649 8
hsa - miR - 365	2.785 06 ± 1.392 53	0.239 72 ± 1.507 49	0.002 8	0.750 6
hsa - miR - 4284	2.860 53 ± 1.430 27	0.495 65 ± 1.480 94	0.000 1	0.796 0
hsa - miR - 4286	1.468 47 ± 0.734 24	2.268 04 ± 0.896 48	0.002 2	0.644 3
hsa - miR - 557	1.349 52 ± 0.674 76	2.295 60 ± 1.412 02	0.001 9	0.660 8
hsa - miR - 634	2.277 70 ± 1.138 85	0.000 00 ± 1.329 30	0.000 8	0.720 6
hsa - miR - 410 - 3p	2.191 32 ± 1.095 66	3.955 15 ± 0.945 31	0.000 3	0.769 3
hsv2 - miR - H7 - 3p	2.397 83 ± 1.198 92	0.242 41 ± 1.008 08	0.042 6	0.647 1
kshv - miR - K12 - 8	2.483 04 ± 1.241 52	0.000 00 ± 1.272 81	0.030 5	0.617 6

注: \* 为对照。

Note: \* refers to the control.



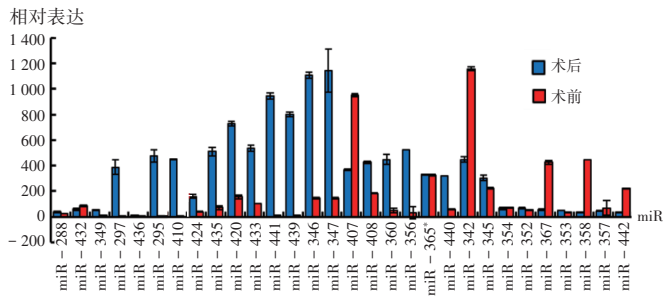
A. miR - 365 及 miR - 410 - 3p 的相对表达 B. miR - 365 及 miR - 410 - 3p 的 ROC 曲线分析

图 2 EMT 患者血样的 qPCR 验证与候选 miR 的 ROC 分析

A. Relative expression of miR - 365 and miR - 410 - 3p B. ROC curve analysis of miR - 365 and miR - 410 - 3p

Fig. 2 qPCR validation of blood samples of EMT patients and ROC analysis of candidate miR

miR - 407 等表达显著下调 ( $P < 0.05$ ), miR - 410, miR - 346, miR - 435 等表达显著上调 ( $P < 0.05$ ), 未发现 miR - 365 表达有变化。因此, 结合 2.3 项下研究结果发现, miR - 410 - 3p 在 EMT 患者血浆及手术治疗后的



注:\*指miR-365术前、术后无差异表达。

图3 60例EMT患者术前、术后定量qPCR验证有差异表达的miR

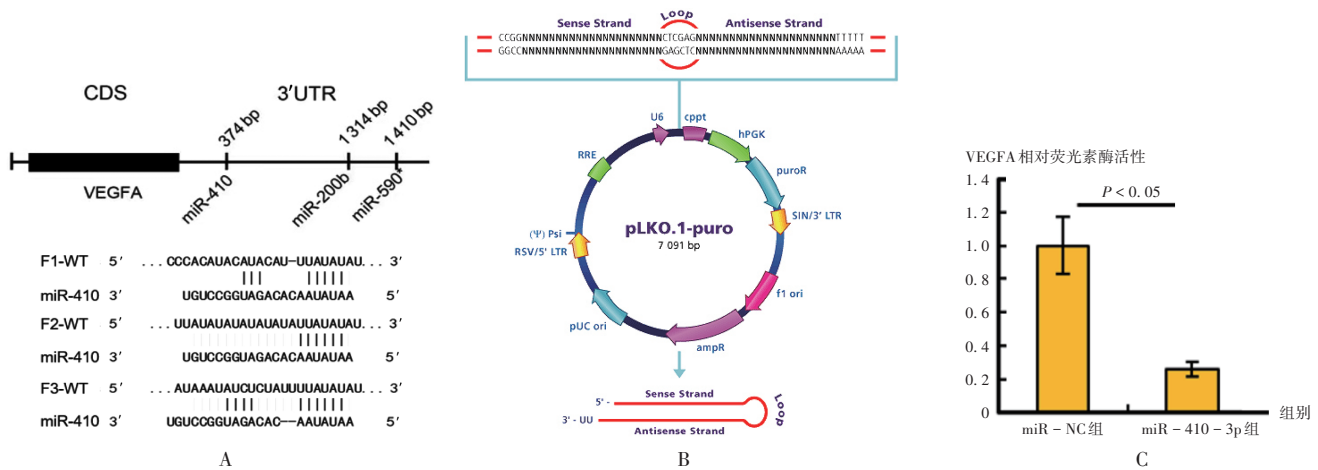
Note:\* refers to miR-365 with no differential expression before and after surgery.

Fig. 3 Quantitative qPCR verification of differentially expressed miR in 60 EMT patients before and after surgery

外周血中的表达均有差异,病灶切除后,miR-410-3p的表达显著上调,表明miR-410-3p与EMT的进展有一定关系。

### 2.5 双荧光素酶报告基因实验验证调控靶基因

为阐明miR-410-3p在子宫内膜细胞中的作用,对miR-410-3p进行生物信息学分析,通过TargetScan数据库筛选发现,VEGFA可能是miR-410-3p的调控靶基因。通过生物信息学分析发现,miR-410-3p对于VEGFA有3个结合位点(图4A),构建含有miR-410-3p结合位点的VEGFA的3'UTR质粒,符合浓度及纯度的要求后对合成的质粒进行测序,将VEGFA 3'UTR质粒测序结果与BLAST软件比对,结果显示构建成功(图4B)。将VEGFA 3'UTR序列质粒转染进293T细胞



A. VEGFA 3' UTR区域的3个与miR-410-3p结合的位点图 B. miR-410-3p质粒构建 C. 双荧光素酶报告基因实验验证miR-410-3p与VEGFA的靶向调控关系

图4 生物信息学分析与双荧光素酶报告基因实验验证miR-410-3p的调控靶基因

A. Three binding sites of miR-410-3p in the 3'UTR region of VEGFA B. Construction of miR-410-3p plasmid C. Validation of the targeted regulatory relationship between miR-410-3p and VEGFA through dual luciferase reporter gene assay

Fig. 4 Verification of regulatory target genes of miR-410-3p through the bioinformatics analysis and dual luciferase reporter gene assay

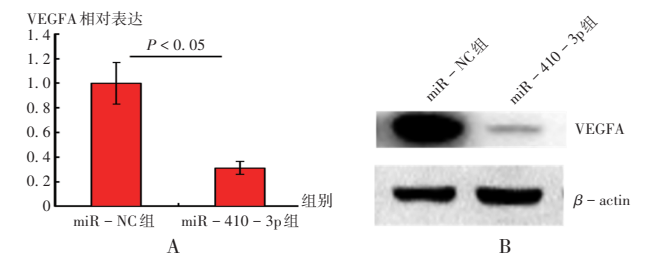
中,转染后24 h,选用Promega公司的双荧光素酶报告基因试剂盒进行双荧光素酶报告基因实验发现,转染载有miR-410-3p的质粒后,VEGFA荧光素酶活性显著降低,表明VEGFA是miR-410-3p的调控靶基因。详见图4C。

### 2.6 qPCR法与Western blot法验证靶向调控作用

将miR-410-3p转染到HEEC中,通过qPCR法及Western blot法分析发现,转染miR-410-3p后,VEGFA表达显著下调,表明miR-410-3p可靶向调控VEGFA。详见图5。

### 3 讨论

EMT是一种以子宫腔外存在子宫内膜(覆盖子宫腔的黏膜)样组织为特征的疾病。其形态学表现良性,但病变处长时间分泌、吸收,邻近组织粘连,导致组织间解剖关系改变,可能影响受孕功能,及时诊治有利于



A. qPCR法检测VEGFA mRNA表达 B. Western blot法检测VEGFA的蛋白表达

图5 qPCR法与Western blot法验证miR-410-3p对VEGFA的靶向调控作用

A. Detection of VEGFA mRNA expression by PCR B. Detection of VEGFA protein expression by Western blot

Fig. 5 Verification of miR-410-3p targeted regulation of VEGFA by the qPCR and Western blot

改善预后<sup>[18]</sup>。目前,EMT的诊断过程一般是在痛经症状出现后进行妇科和辅助检查,并在腹腔镜手术和术后

病理检查后明确诊断。EMT的临床诊断具有一定价值,但EMT诊断的金标准是手术和术后病理检查<sup>[19]</sup>。EMT的症状可能是非特异性的,可与其他盆腔疾病重叠,对临床医师鉴别诊断经验要求更高,诊断延迟是影响EMT患者诊断和治疗的重要临床问题。在此期间,患者不仅需要承受疼痛的折磨,生育力也可能出现大幅下降<sup>[3]</sup>。因此,识别早期诊断标志物对于EMT的诊断和治疗具有重要意义。

miR参与多种人类疾病,使其成为潜在的诊断和预后生物标志物。与肿瘤转移类似,异位子宫内膜具有黏附、增殖及浸润细胞外基质的能力。EMT是一种多因素和多基因疾病,miR表达可能与其有关<sup>[7,20]</sup>。且miR具有非侵袭性、稳定性、可重复性、高灵敏度、特异度等特征,故理论上miR是一种理想的EMT非侵袭性诊断标志物<sup>[21]</sup>。本研究中通过芯片测序技术结合生物信息学方法研究EMT患者的血浆miR表达差异,并揭示其在EMT中的作用机制,将miR检测与EMT患者诊断联系起来。本研究中通过miR芯片分析技术共筛选出82个表达差异的miRNA;经qPCR法验证发现,miR-365表达显著上调,miR-410-3p表达显著下调;进一步通过患者术前、术后血样验证发现,miR-410-3p的表达在病灶切除后显著上调;miR-410-3p的AUC为0.7705,提示miR-410-3p在调节EMT的发病及疾病进展过程中起关键调控作用,可作为分子标志物或靶标,为临床诊治及预后提供了新的思路。

EMT的发病机制复杂,通过生物信息学分析发现,VEGFA上有3个miR-410-3p的结合位点。通过TargetScan数据库筛选发现,miR-410-3p可能通过调控VEGFA而发挥生物学效应,与文献<sup>[22-23]</sup>的研究结果一致。因此,为进一步验证miR-410-3p是否可直接靶向VEGFA,本研究中进行了双荧光素酶报告基因实验,证明miR-410-3p能与VEGFA 3'UTR非翻译区结合。又通过细胞实验发现,在转染miR-410-3p后的HEEC中,VEGFA的表达显著下调,表明miR-410-3p能通过靶标VEGFA,抑制VEGFA信号通路,从而发挥生物学功能。

综上所述,本研究中揭示了EMT患者血浆miR测序的差异性,并进一步验证了miR-410-3p在EMT患者中的诊断价值,通过生物信息学验证miR-410-3p可能是通过调控VEGFA而发挥生物学效应,初步探讨了其作用的分子信号通路,为诊断EMT患者提供了一个新的潜在生物标志物,也为更好地了解EMT患者的发病机制提供了帮助。但本研究仍存在局限性:招募的患者数量较少,miR-410-3p作为单一的诊断检测指标的科学性还有待提升。故后续研究中还需在更大临床样本中进行验证,以寻求更完善、合理的临床联合诊断指标。

## 参考文献

- [1] BECKER CM, MISSMER SA, ZONDERVAN KT. Endometriosis. Reply[J]. *New Engl J Med*, 2020, 383(2): 194 - 206.
- [2] REKKER K, SAARE M, ROOST AM, et al. Circulating miR - 200 - family micro - RNAs have altered plasma levels in patients with endometriosis and vary with blood collection time[J]. *Fertil Steril*, 2015, 104(4): 938 - 946.
- [3] FRIEDMAN JR, KALLEN CB. Diagnosing endometriosis by measuring plasma micro ribonucleic acids: it may take a miRacle[J]. *Fertil Steril*, 2020, 113(6): 1158 - 1159.
- [4] GIETKA - CZERNEL M, GLINICKI P. Subclinical hypothyroidism in pregnancy: controversies on diagnosis and treatment[J]. *Pol Arch Intern Med*, 2021, 131(3): 266 - 275.
- [5] 林勇清, 刘玥君, 张少芬, 等. 2022 欧洲人类生殖与胚胎学会子宫内膜异位症指南解读[J]. *现代妇产科进展*, 2023, 32(6): 452 - 454.
- [6] AGAVERDIEV M, SHAMSOV B, MIRZOEV S, et al. miRNA regulated therapeutic potential of the stromal vascular fraction: Current clinical applications - A systematic review[J]. *Noncoding RNA Res*, 2023, 8(2): 146 - 154.
- [7] 储亚娟, 李云海. microRNA 在肝癌转移中的作用及其对预后的预测价值[J]. *中国医药指南*, 2021, 19(13): 22 - 24.
- [8] AWASTHI R, RATHBONE MJ, HANSBRO PM, et al. Therapeutic prospects of microRNAs in cancer treatment through nanotechnology[J]. *Drug Deliv Transl Res*, 2018, 8(1): 97 - 110.
- [9] ZARREDAR H, ANSARIN K, BARADARAN B, et al. Critical microRNAs in Lung Cancer Recent Advances and Potential Applications[J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2018, 18(14): 1991 - 2005.
- [10] STAHLHUT C, SMTREZ Y, LN J, et al. miR - 1 and miR - 206 regulate angiogenesis by modulating Vegfa expression in zebrafish[J]. *Development*, 2012, 139(23): 4356 - 4364.
- [11] 王广娇, 杨欣, 郝敏, 等. 血管内皮生长因子 A 在宫颈癌发病机制中的研究进展[J]. *国际妇产科学杂志*, 2016, 43(5): 519 - 523.
- [12] KASINSKI AL, SLACK FJ. Epigenetics and genetics MicroRNAs en route to the clinic: progress in validating and targeting microRNAs for cancer therapy[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(12): 849 - 864.
- [13] BENDIFALLAH S, SUISSE S, PUCHAR A, et al. Salivary microRNA signature for diagnosis of endometriosis[J]. *J Clin Med*, 2022, 11(3): 612 - 623.
- [14] POKROVENKO DA, VOZNIUK V, MEDVEDIEV MV. MicroRNA let - 7: a promising non - invasive biomarker for diagnosing and treating external genital endometriosis [J]. *Turk J Obstet Gynecol*, 2021, 18(4): 291 - 297.
- [15] DE SANTIS C, GÖTTE M. The role of microRNA let - 7d in female malignancies and diseases of the female reproductive tract[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(14): 7359 - 7373.
- [16] WANG F, WANG H, JIN D, et al. Serum miR - 17, IL - 4, and IL - 6 levels for diagnosis of endometriosis[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(24): e10853 - e10857.