

肌酸激酶线粒体 1A 在子宫内膜样腺癌组织中的表达及对 Ishikawa 细胞增殖和迁移能力的影响

郜翔^{1,2}, 王亚苹^{1,2}, 靳冬冬^{1,2}, 马彩霞^{1,2}, 杨立^{1,2}

(1. 郑州大学第三附属医院, 河南 郑州 450052; 2. 郑州市子宫内膜疾病防治重点实验室, 河南 郑州 450052)

摘要: [目的] 探讨肌酸激酶线粒体 1A (creatine kinase mitochondrial 1A, CKMT1A) 在子宫内膜样腺癌 (endometrioid adenocarcinoma, ECa) 组织和癌旁组织中的表达情况及其对子宫内膜癌细胞 Ishikawa 增殖和迁移能力的影响。[方法] 选择 2017 年 1 月至 2020 年 12 月在郑州大学第三附属医院就诊, 具有完整临床信息资料的 ECa 组织及癌旁组织各 39 例, 采用 qRT-PCR 检测组织中 CKMT1A mRNA 表达, 采用免疫组化 SP 法检测 CKMT1A 蛋白表达情况。体外细胞实验使用 siRNA 干扰 Ishikawa 细胞中的 CKMT1A 基因表达, 通过 CCK8 和划痕实验检测敲减 CKMT1A 后对 Ishikawa 细胞增殖和迁移能力的影响。[结果] 与癌旁组织相比, ECa 组织中 CKMT1A mRNA 表达量 ($t=4.006, P<0.05$) 和 CKMT1A 的阳性表达率均较高 ($P<0.001$)。CKMT1A mRNA 在不同 ECa 分期的患者组织中表达量不同, 差异具有统计学意义 ($F=11.780, P<0.001$)。在敲减 CKMT1A 组中, 细胞增殖 ($P<0.001$) 和迁移能力 ($F=164.400, P<0.001$) 明显下降。[结论] CKMT1A 在 ECa 组织中呈高表达, 敲减 Ishikawa 细胞中的 CKMT1A 后细胞增殖和迁移能力受到抑制。

关键词: 子宫内膜样腺癌; 肌酸激酶线粒体 1A; 增殖; 迁移

中图分类号: R737.33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X(2023)01-0028-07

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2023.01.B006

Expression of Creatine Kinase Mitochondrial 1A in Endometrioid Adenocarcinoma and Its Effects on Proliferation and Migration of Ishikawa Cells

GAO Xiang^{1,2}, WANG Ya-ping^{1,2}, JIN Dong-dong^{1,2}, MA Cai-xia^{1,2}, YANG Li^{1,2}

(1. The Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China;

2. Zhengzhou Key Laboratory of Gynecological Oncology, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: [Objective] To explore the expression of creatine kinase mitochondrial 1A (CKMT1A) in tissues and adjacent tissues of endometrioid adenocarcinoma and its effect on proliferation and migration of Ishikawa cells. [Methods] A total of 78 cases of endometrioid adenocarcinoma and adjacent tissue with complete clinical information were selected from The Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University from January 2017 to December 2020. qRT-PCR and immunohistochemistry assay were used to detect the relative expression of CKMT1A mRNA and the protein expression of CKMT1A. *In vitro*, siRNA interferencetargeting CKMT1A was applied to down-regulate the expression of CKMT1A in Ishikawa cells. The effect on cell proliferation and migration were detected by CCK8 and scratch-wound assay, respectively. [Results] The expression of CKMT1A mRNA ($t=4.006, P<0.05$) and protein ($P<0.001$) in endometrioid adenocarcinoma tissues were higher than those in adjacent tissues. There were significant differences in CKMT1A mRNA expression among patients with different endometrioid adenocarcinoma stages ($F=11.780, P<0.001$). In CKMT1A knockdown group, cell proliferation ($P<0.001$) and migration ability ($F=164.400, P<0.001$) decreased. [Conclusion] CKMT1A was highly expressed in endometrioid adenocarcinoma tissues, and the cell proliferation and migration ability decreased after knockdown of CKMT1A in Ishikawa cells.

Subject words: endometrioid adenocarcinoma; creatine kinase mitochondrial 1A; proliferation; migration

子宫内膜癌是来源于子宫内膜上皮细胞的一种

恶性肿瘤, 发病率仅次于宫颈癌, 位居女性生殖系统恶性肿瘤第二位, 子宫内膜样腺癌 (endometrioid adenocarcinoma, ECa) 是最常见的类型^[1-2]。近年来在全球范围内, 随着年龄结构和人口规模的变化,

基金项目: 河南省科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20200449, LHGJ20210444)

通信作者: 杨立, E-mail: zdsfyyangli@163.com

收稿日期: 2022-12-08; **修回日期:** 2022-12-25

ECa 的发病率和死亡率逐渐增加,严重危害女性生命健康^[3]。大多数 ECa 患者在早期确诊后,可以通过手术配合相应的辅助治疗获得较好的预后。约 75% 的早期 ECa 患者总生存期可达 5 年,但对于晚期、复发或转移性 ECa 患者,手术和辅助治疗等治疗效果欠佳,预后仍不理想^[4]。肌酸激酶线粒体 1A(creatine kinase mitochondrial 1A,CKMT1A),也称为 U-MiCK、CKMT1 或 mia-CK,是一种线粒体肌酸激酶,属于肌酸激酶同工酶家族^[5]。CKMT1A 传统上的功能是使高能磷酸盐从线粒体到胞质转移的载体^[6]。有研究表明,CKMT1A 的表达与细胞增殖、侵袭能力有关^[7]。另有研究报道,CKMT1A 的表达与急性髓细胞性白血病^[8]、乳腺癌^[5]、肝细胞癌^[7]、颈部鳞状细胞癌^[9]和鼻咽癌^[10]等患者的预后有关。然而,ECa 及癌旁组织中的 CKMT1A 表达及 CKMT1A 对 Ishikawa 细胞增殖和迁移能力的影响目前尚无文献报道。因此,本研究探讨了 CKMT1A 在 ECa 组织中的表达情况及对 Ishikawa 细胞增殖和迁移能力的影响,以期对 ECa 的靶向治疗提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2017 年 1 月至 2020 年 12 月在郑州大学第三附属医院就诊,且具有完整临床信息资料的 ECa 组织和癌旁组织(经病理科鉴定的距离癌组织 2 cm 以上的非癌组织)各 39 例,所有标本术后病理证实为 ECa 及 ECa 癌旁组织,诊断至少由 2 名独立的经验丰富的病理学专家完成。患者年龄范围为 34~79 岁,平均年龄 56.9 岁,中位年龄 57 岁。根据《子宫内膜癌诊断与治疗指南(2021 年版)》标准确定子宫内膜癌分期^[11]。纳入病例中无应用激素类药物者、合并其他恶性肿瘤者、合并有自身免疫性疾病者和已行放、化疗者。以上所有组织标本的收集均通过郑州大学第三附属医院伦理委员会的批准,以电话联系方式告知患方并取得其同意签字。

1.2 细胞

本研究所用的 Ishikawa 细胞是从中科院协和细胞库购买而来。

1.3 试剂

兔抗人 CKMT1A 抗体购自中国武汉三鹰生物

技术有限公司,免疫组化试剂盒购自中杉金桥生物科技有限公司,Lipofectamine3000、Trizol 试剂购自赛默飞世尔科技有限公司,qRT-PCR 试剂盒购自上海东洋纺生物科技有限公司,引物由北京擎科生物科技有限公司合成。培养基、胎牛血清购自美国 Sigma 公司,CCK-8 试剂盒购自日本同仁公司,Annexin V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购自美国 BD 公司。

1.4 方法

1.4.1 qRT-PCR 检测 CKMT1A mRNA 的表达量

qRT-PCR 法检测 ECa 及癌旁组织中 CKMT1A mRNA 表达。用消毒过的钢珠在组织匀浆仪中研磨组织,按照 Trizol 的说明书逐步提取总 RNA,利用 NanoDrop 检测样品中的 RNA 浓度和纯度,将 RNA 反转录合成 cDNA,反应参数为:37 ℃ 5 min;50 ℃ 5 min;98 ℃ 5 min。使用预混式 SYBR 荧光定量试剂盒进行 qRT-PCR,反应体系为 20 μL,模板 cDNA 质量浓度为 1 ng/μL,95 ℃ 预变性 30 s,95 ℃ 变性 15 s,60 ℃ 退火 30 s,65 ℃ 延伸 15 s,共 40 个循环。qPCR 引物由北京擎科生物科技有限公司设计完成(Table 1)。qRT-PCR 反应结束后需要分别记录每个样本的 Ct 值,最终 CKMT1A 的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法表示。

Table 1 Primer sequences

Gene	Sequence of primer(5'-3')
CKMT1A	F:ACAGGAAGTAGGAAGTACCGGA
	R:TGCCAATCAGACTTTTGATCTTTTAC
GAPDH	F:GGAGTCCACTGGCGTCTTCA
	R:GTCATGAGTCCTTCCACGATACC

1.4.2 免疫组化 SP 法检测 CKMT1A 蛋白的表达

用免疫组化 SP 法检测 CKMT1A 蛋白的表达。将标本固定、脱水、石蜡包埋后,以 5 μm 为标准连续切片,利用二甲苯脱蜡,酒精脱水,3% H₂O₂ 去除内源性过氧化物酶,柠檬酸抗原修复。然后根据 SP 法对石蜡标本进行一抗(兔抗人 CKMT1A 抗体)、二抗孵育,显色,中性树胶进行封片,在光学显微镜下观察免疫组化染色结果。磷酸盐缓冲液代替一抗作为阴性对照。CKMT1A 主要定位于病变部位的胞浆内,少数细胞膜可见。由 2 位经验丰富的病理科医师在双盲的条件下统计,并对染色结果进行评分。

阳性细胞判断标准根据阳性细胞数来判定蛋白的表达水平和胞浆染色情况。染色强度评分:无色为 0 分,浅黄色为 1 分,棕黄色为 2 分,棕褐色为

3分。阳性细胞百分比:阳性细胞数≤5%为0分,>5%~25%为1分,>25%~50%为2分,>50%~75%为3分,>75%为4分。染色强度分数×阳性细胞百分比≥4分为阳性,<4分为阴性。

1.4.3 细胞培养

用含有10%胎牛血清的高糖DMEM培养基培养Ishikawa细胞(简称“完全培养基”),放置于体积分数为5% CO₂的37℃培养箱中,当生长密度达到80%~90%时,用胰蛋白酶进行消化传代或者计数用于后续实验铺板。

1.4.4 siRNA技术干扰细胞内CKMT1A基因的表达

根据Lipofectamine3000说明书进行实验操作,共设计3条siRNA,即si-CKMT1A-1、si-CKMT1A-2和si-CKMT1A-3(Table 2)。48h后提取总RNA,使用qRT-PCR检测CKMT1A mRNA表达,筛选转染效率>70%的用于后续试验。

1.4.5 CCK8检测细胞增殖

在96孔板中接种Ishikawa细胞5×10³个/孔,加入100 μL培养液培养24h后,分别用对照组(NC)和干扰效率最佳的CKMT1A-siRNA进行转染。在转染0、48、72h后,每孔加入CCK8 10 μL,置于体积分数为5% CO₂的37℃培养箱中1.5h,于450 nm处检测光密度。

1.4.6 划痕实验检测细胞迁移能力

将Ishikawa细胞按照4×10⁵个/孔接种于6孔板中,再加入培养液2 mL,于培养箱中孵育过夜细胞完全贴壁后,分别用NC、空白对照组(Control组)和干扰效率最佳的CKMT1A-siRNA进行转染,转染24h后在6孔板底部用200 μL枪头划一条线,再垂直它划一条直线,用PBS冲洗3次将划掉的细胞完全冲洗干净弃去,再加入新的培养基,分别于0、48h拍照记录。划痕宽度代表细胞的迁移能力,通过Image J划线法来计算。

1.5 统计学处理

使用SPSS 24.0软件进行统计学分析,正态分布计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,定性资料用百分比(%)表示,定性资料采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。两独立样本t检验和单因素方差分析用于分析定量资料。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CKMT1A mRNA在ECa组织中的表达上调

为了检测CKMT1A mRNA在ECa组织中的表达,纳入以下病例:年龄≥56岁的20例,BMI≥24的20例,肿瘤直径≥30 mm的18例,淋巴结转移的6例,I~II期的25例,分化差的17例,浸润较深的11例,已经绝经的28例(Table 3)。qRT-PCR结果表明,CKMT1A在ECa组织中的表达高于癌旁组织,差异具有统计学意义($t=4.006, P < 0.001$)(Figure 1A)。

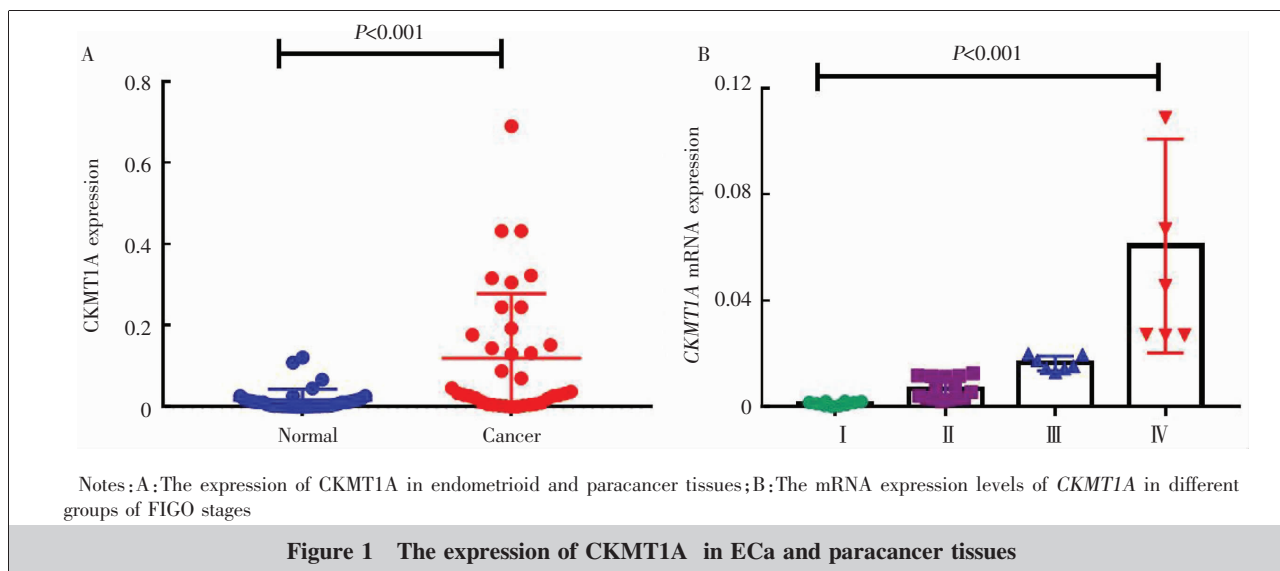
Table 2 Sequence of si-CKMT1A

Gene	Sequence of si-CKMT1A(5'-3')
Si-CKMT1A-1 sense	F:GGCCAGAUGCUCGUGGAAUUUT
Si-CKMT1A-1 antisense	R:AAAUUCCACGAGCAUCUGGCCTT
Si-CKMT1A-2 sense	F:UGAGGAGACCUAUGAGGUAUUTT
Si-CKMT1A-2 antisense	R:AAUACCUCAUAGGUCUCCUCATT
Si-CKMT1A-3 sense	F:GCUGAACAGCAGCAGCUUAUUTT
Si-CKMT1A-3 antisense	R:AAUAAGCUGCUGCUGUUCAGCTT

Table 3 Characteristics of ECa patients

Parameter	N	CKMT1A expression		χ^2	P
		High	Low		
Age(years old)					
<56	19	8	11	1.249	0.264
≥56	20	12	8		
BMI(kg/m ²)					
<24	19	12	7	2.092	0.148
≥24	20	8	12		
Tumor size(mm)					
<30	21	9	12	1.293	0.256
≥30	18	11	7		
Lymph node metastasis					
N ₀	33	16	17	0.661 [△]	
N ₁	6	4	2		
FIGO Stage					
I/II	25	6	19	0.009 ^{**△}	
III/IV	14	14	0		
Histological differentiation					
Poor	17	13	4	7.653	0.006 ^{**}
Well	22	7	15		
Myometrial invasion					
<1/2	28	13	15	0.936	0.333
≥1/2	11	7	4		
Menopause					
No	11	6	5	0.283 [△]	
Yes	28	14	14		

Notes: Endometrial carcinomatology Grade 1 and Grade 2 were defined as highly differentiated groups; Grade 3,dedifferentiation and undifferentiation were classified as low differentiation group; **: $P < 0.05$, [△]: Fisher's exact test



随着癌症分期的增高,CKMT1A 的表达量也逐渐增加 ($F=11.780, P<0.001$) (Figure 1B)。不同 FIGO 分期的患者 CKMT1A 的表达水平不同,差异具有统计学意义 ($P<0.01$);不同组织分化的患者 CKMT1A 的表达水平也不同,差异具有统计学意义 ($\chi^2=7.653, P<0.01$)。

2.2 CKMT1A 蛋白阳性表达率在 ECa 组织中高于癌旁组织

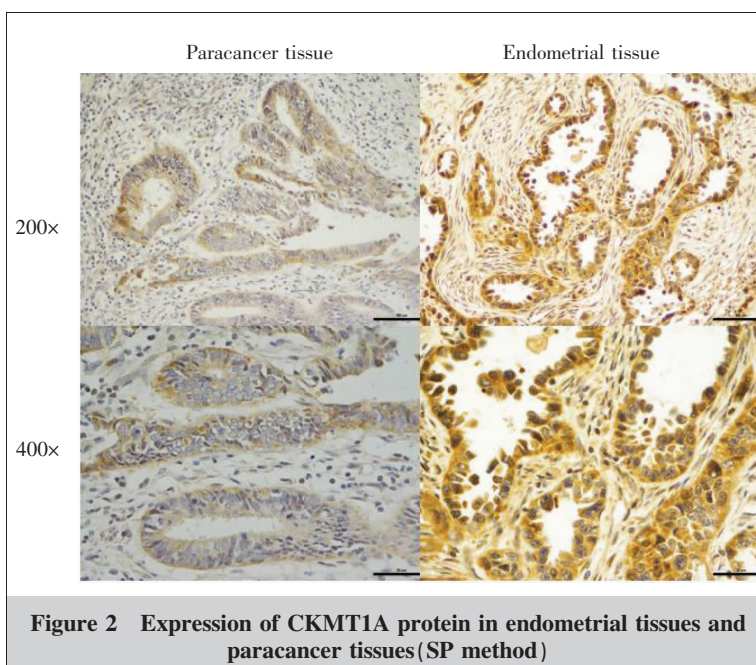
CKMT1A 蛋白阳性表达率在 ECa 组织中明显高于癌旁组织 (87.2% vs 46.1%), 差异具有统计学意义 ($P<0.001$) (Table 4)。CKMT1A 蛋白阳性表达定位于细胞浆中,显微镜下表现为被染成棕黄色、颗粒状分布 (Figure 2)。

2.3 检测 CKMT1A-siRNA 转染 Ishikawa 细胞的效率

实验组为转染过 *si-CKMT1A-1*、*si-CKMT1A-2*、*si-CKMT1A-3* 的细胞, 阴性对照组为转染 NC 的细胞。应用 qRT-PCR 技术检测 3 种不同处理方法后的细胞中 *CKMT1A* 的表达水平。实验结果显示: 阴性对照组、实验 1 组、实验 2 组和实验 3 组中 *CKMT1A* 相对表达量分别为: 1.847 ± 0.033 、 1.705 ± 0.042 、 0.489 ± 0.039 、 1.924 ± 0.031 , 差异具有统计学意义 ($F=346.000, P<0.001$)。与阴性对照组相比, 转染 *si-CKMT1A-2* 的细胞中 *CKMT1A* 的表达水平明显降

Table 4 Expression rate of CKMT1A in endometrial carcinoma and paracancer tissues

Tissue	N	CKMT1A				Positive number (%)	P
		-	+	++	+++		
Paracancer	39	21	10	5	3	18 (46.1)	<0.001
Endometrial	39	5	5	6	23	34 (87.2)	



低,且差异具有统计学意义 ($t=26.92, P<0.001$) (Figure 3), 而 *si-CKMT1A-1* 组和 *si-CKMT1A-3* 组中 *CKMT1A* 相对表达量之间无明显差异 ($P>0.05$)。上述结果证实了 *si-CKMT1A-2* 的有效性,可用于下一步细胞功能试验的相关研究。

2.4 敲减 *CKMT1A* 可能降低 Ishikawa 细胞的增殖能力

实验组为转染过 *si-CKMT1A-2* 的细胞, 阴性对照组为转染 NC 的细胞, 空白对照组为未转染的细胞。在 450 nm 处用酶标仪测定 3 组细胞的吸光度, 结果表明: 相对于空白对照组和空转的阴性对照组而言, 转染 *si-CKMT1A-2* 的实验组中细胞的增殖能力明显减弱, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$) (Figure 4), 表明敲减 *CKMT1A* 可抑制 Ishikawa 细胞的增殖能力。

2.5 敲减 *CKMT1A* 可能降低 Ishikawa 细胞的迁移能力

3 组细胞分别于划痕培养 48 h 后在显微镜下拍照, 结果表明: 培养 48 h 后, 3 组划痕宽度不同, 分别为 64.000 ± 2.646 (空白对照组)、 59.000 ± 0.577 (阴性对照组) 和 22.330 ± 1.453 (*si-CKMT1A-2* 组), 差异具有统计学意义 ($F = 164.400, P < 0.001$)。转染 *si-CKMT1A-2* 的实验组划痕宽度变窄, 明显比空白对照组间隙宽, 差异具有统计学意义 ($t = 13.800, P < 0.001$); 与阴性对照组相比, 划痕宽度也有变窄, 差异具有统计学意义 ($t = 23.450, P < 0.001$), 表明敲减 *CKMT1A* 可以抑制 Ishikawa 细胞的迁移能力 (Figure 5)。

3 讨论

子宫内膜癌是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤之一^[12-13], 其中, ECa 是发病率最高的类型。多数 ECa 可以在早期得到确诊, 早期确诊的 ECa 患者 5 年生存率可以达到 75% 以上^[14]。但是部分患者在确诊时即为晚期, 这部分患者的治疗选择有限, 结局多为不良预后^[15-16]。因此, 需要寻找新的预后标志物以在早期诊断的患者中识别出预后较差的患者, 以便采取适当的治疗措施或进行随访, 可以让具有良好预后的患者不会被过度治疗。

CKMT1A 是肌酸激酶同工酶家族的一员, 是一种线粒体肌酸激酶, 也是 *CKMT1* 的一个亚基, 主要负责将肌酸从线粒体向胞质载体转移高能磷酸。*CKMT1A* 在多种肿瘤中呈高表达^[7, 10, 12, 17-19]。研究发现 *CKMT1A* 可以作为晚期头颈部鳞状细胞癌患者的预后独立危险因素^[9]。Fenouille 团队报道 *CKMT1A* 是 Evi1 阳性白血病中 Evi1 的表达细胞生存所必需的, 同时 Evi1 可以通过抑制髓系分化调控子 RUNX1

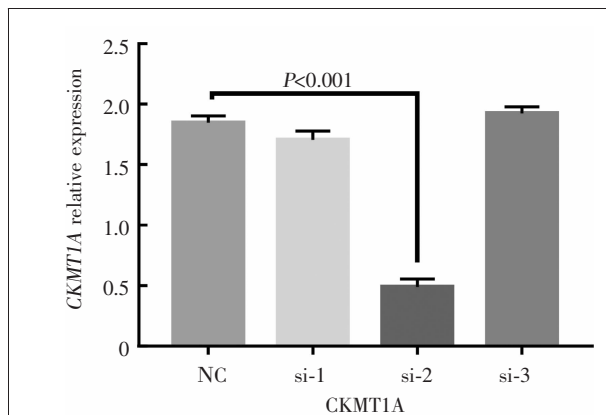
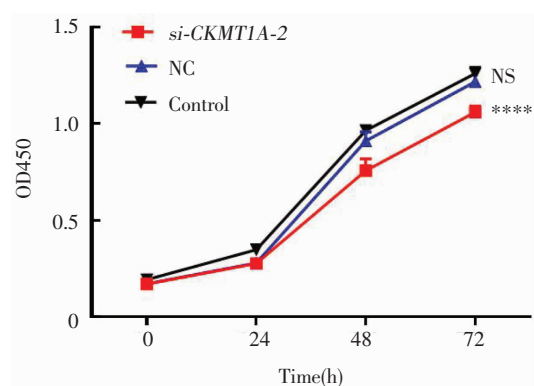


Figure 3 Relative expression of *CKMT1A* mRNA in 3 knockdown groups



Notes: NS: There was no statistically significant difference; ***, $P < 0.001$

Figure 4 The effect of proliferation of Ishikawa cells on *CKMT1A* knockdown

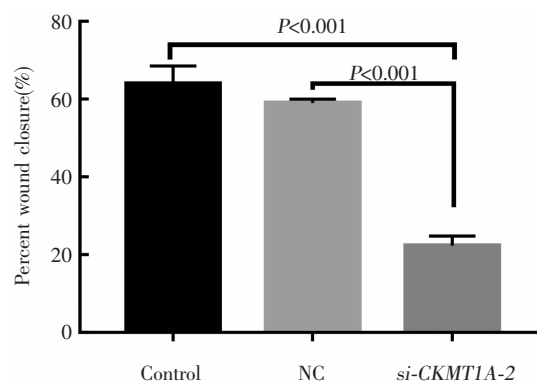


Figure 5 Migration of Ishikawa cells with *CKMT1A* knockdown

促进 *CKMT1A* 的表达。敲减 *CKMT1A* 可以抑制精氨酸-肌酸的代谢, 从而抑制细胞的活性、促进细胞周期的阻滞和人 Evi1 阳性细胞凋亡并延长生存期, 因此, *CKMT1A* 是当前治疗高度耐药的 Evi1 阳性白血

病亚型的潜在治疗策略^[8]。在心血管疾病的研究中,高表达的 CKMT1A 可以阻止心脏能量的改变,而心脏能量的改变被认为是心脏衰竭的标志^[6]。在鼻咽癌中,CKMT1A 的过表达可减少 G₂/M 期细胞周期停滞,提高集落形成率,降低细胞凋亡率和 c-PARP 水平并提高放射治疗后的 STAT3 磷酸化水平^[10]。我们课题组在 TCGA 数据库中筛选发现,CKMT1A 随着子宫内膜癌 FIGO 分期的增加,其表达量逐渐增加,但 CKMT1A 在 ECa 中发挥的作用未知,需要进一步探讨。

在本研究中,我们通过 qRT-PCR 检测 ECa 组织和癌旁组织中 CKMT1A 的表达,研究表明 CKMT1A 在 ECa 组织中的表达高于癌旁组织,且在不同 FIGO 分期中其表达量不同。CKMT1A 在 III~IV 期中的表达水平明显高于 I~II 期。免疫组化结果表明,ECa 组织中的 CKMT1A 蛋白阳性率明显高于癌旁组织,以上结果表明,CKMT1A 可以发挥促癌基因的作用。为了探究其在 ECa 中的具体功能,我们用人 ECa Ishikawa 细胞株作为研究对象,通过 CKK8、划痕实验检测敲减 CKMT1A 表达探究其对子宫内膜癌细胞的影响。结果表明干扰 CKMT1A 表达后子宫内膜癌 Ishikawa 细胞的增殖和迁移能力明显受到抑制。这一结果与 CKMT1A 在肝癌、鼻咽癌和头颈部鳞状细胞癌中起促癌基因的作用相一致,可能是因为 Ishikawa 细胞在干扰 CKMT1A 表达后,因细胞内部代谢紊乱导致 G₂/M 期细胞周期停滞影响细胞的增殖使其增殖能力降低。高表达的 CKMT1A 还能促进 STAT3 表达增加。STAT 蛋白家族是一种能够被多种细胞因子的受体激活的蛋白,STAT3 是其中一个重要的家族成员^[20-22]。STAT3 是目前公认的与肿瘤的发生、发展相关的一种蛋白。近年来,多篇文章报道 STAT3 在多种肿瘤中高表达,其主要通过促进细胞增殖、侵袭、迁移、促进肿瘤细胞免疫逃逸和抑制细胞的凋亡等发挥促癌基因功能^[23-25]。结合研究结果和以往的文献,我们推测 CKMT1A 可能通过促进 STAT3 的表达来促进子宫内膜癌细胞的增殖和迁移能力,从而影响患者预后。但是具体的分子机制有待进一步研究。本实验只是进行了体外实验,为了进一步证实 CKMT1A 在 ECa 中的作用,下一步需建立小鼠模型进行实验,以验证实验结果。

综上所述,CKMT1A 可能在 ECa 的发生、发展

中起促进作用。本研究为以后 CKMT1A 基因成为 ECa 的治疗靶点提供了理论依据。然而其能否用于临床,仍需后续大量实验以及临床大数据研究。

参考文献:

- [1] 贾萌萌,王许艳,陈健,等. 血清 miR-15b 诊断子宫内膜癌及预判淋巴结转移的价值分析[J]. 肿瘤学杂志,2020,26(1):43-46.
- [2] Jia MM, Wang XY, Chen J, et al. Value analysis of serum miR-15b in diagnosis of endometrial carcinoma and prediction of lymph node metastasis [J]. Journal of Chinese Oncology, 2020, 26(1):43-46.
- [3] 谢幸,孔北华,段涛. 妇产科学[M]. 第9版. 北京:人民卫生出版社,2018.
- [4] Xie X, Kong BH, Duan T. Obstetrics and gynecology[M]. 9th edition. Beijing: People's Medical Publishing House, 2018.
- [5] Brooks RA, Fleming GF, Lastra RR, et al. Current recommendations and recent progress in endometrial cancer[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(4):258-279.
- [6] Casey L, Singh N. Metastases to the ovary arising from endometrial, cervical and fallopian tube cancer: recent advances[J]. Histopathology, 2020, 76(1):37-51.
- [7] Kurmi K, Hitosugi S, Yu J, et al. Tyrosine phosphorylation of mitochondrial creatine kinase 1 enhances a druggable tumor energy shuttle pathway[J]. Cell Metabolism, 2018, 28(6):833-847.e838.
- [8] Cao F, Maguire M, McAndrew D, et al. Overexpression of mitochondrial creatine kinase preserves cardiac energetics without ameliorating murine chronic heart failure[J]. Basic Res Cardiol, 2020, 115(2):12.
- [9] Fan H, Lv P, Mu T, et al. LncRNA n335586/miR-924/CKMT1A axis contributes to cell migration and invasion in hepatocellular carcinoma cells[J]. Cancer Lett, 2018, 429:89-99.
- [10] Fenouille N, Bassil C, Ben-Sahra I, et al. The creatine kinase pathway is a metabolic vulnerability in EVI1-positive acute myeloid leukemia[J]. Nat Med, 2017, 23(3):301-313.
- [11] Pavón M, Parreño M, Téllez-Gabriel M, et al. CKMT1 and NCOA1 expression as a predictor of clinical outcome in patients with advanced-stage head and neck squamous cell carcinoma[J]. Head Neck, 2016, 38(Suppl 1):E1392-E1403.
- [12] Lan R, Huang F, Zhong G, et al. Effects of CKMT1 on radiosensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Int J Radiat Biol, 2019, 95(5):597-606.
- [13] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 子宫内膜癌诊断

- 与治疗指南(2021年版)[J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(6): 501–512.
- Chinese Anti-Cancer Association, Committee of Gynecological Oncology. Guidelines for diagnosis and treatment of endometrial cancer(2021 edition)[J]. China Oncology, 2021, 31(6): 501–512.
- [12] Wang Y, Zhao S, Qin Q, et al. CKMT1A is a novel potential prognostic biomarker in patients with endometrial cancer[J]. PLoS One, 2022, 17(1): e0262000.
- [13] Xu Q, Ge Q, Zhou Y, et al. MELK promotes endometrial carcinoma progression via activating mTOR signaling pathway[J]. EBioMedicine, 2020, 51: 102609.
- [14] Cho YM, Lee SA, Chew YL, et al. Multimodal stimulation in a microfluidic device facilitates studies of interneurons in sensory integration in *C. elegans*[J]. Small, 2020, 16(10): e1905852.
- [15] Raffone A, Travaglini A, Raimondo D, et al. Lymphovascular space invasion in endometrial carcinoma: A prognostic factor independent from molecular signature [J]. Gynecol Oncol, 2022, 165(1): 192–197.
- [16] 李美艳. 171 例子宫内膜癌患者预后因素分析 [J]. 肿瘤学杂志, 2016, 22(7): 543–548.
- Li MY. Prognostic factors of 171 patients with endometrial carcinoma [J]. Journal of Chinese Oncology, 2016, 22(7): 543–548.
- [17] Bang-Christensen S, Katerov V, Jørgensen A, et al. Detection of VAR2CSA-captured colorectal cancer cells from blood samples by real-time reverse transcription PCR[J]. Cancers, 2021, 13(23): 5881.
- [18] Li M, Liu H, Li J, et al. Mitochondrial creatine kinase 1 in non-small cell lung cancer progression and hypoxia adaptation[J]. Respir Res, 2021, 22(1): 190.
- [19] Datler C, Pazarentzos E, Mahul-Mellier A, et al. CKMT1 regulates the mitochondrial permeability transition pore in a process that provides evidence for alternative forms of the complex[J]. J Cell Sci, 2014, 127(Pt 8): 1816–1828.
- [20] Yu H, Lee H, Herrmann A, et al. Revisiting STAT3 signalling in cancer: new and unexpected biological functions[J]. Nat Rev Cancer, 2014, 14(11): 736–746.
- [21] Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(11): 798–809.
- [22] Awasthi N, Liongue C, Ward AC. STAT proteins: a kaleidoscope of canonical and non-canonical functions in immunity and cancer[J]. J Hematol Oncol, 2021, 14(1): 198.
- [23] Verhoeven Y, Tilborghs S, Jacobs J, et al. The potential and controversy of targeting STAT family members in cancer[J]. Semi Cancer Biol, 2020, 60: 41–56.
- [24] Yu H, Pardoll D, Jove R. STATs in cancer inflammation and immunity: a leading role for STAT3[J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(11): 798–809.
- [25] Owen K, Brockwell N, Parker B. JAK-STAT signaling: a double-edged sword of immune regulation and cancer progression[J]. Cancers(Basel), 2019, 11(12): 2002.