

· 临床研究 ·

miR-200c 通过下调 TUBB3 基因表达逆转老年肺癌患者顺铂耐药性的机制

赵云龙¹, 李少军¹, 陈平¹, 刘阳^{2*}(¹ 解放军总医院第四医学中心胸外科, 北京 100048; ² 解放军总医院第一医学中心胸外科, 北京 100853)

【摘要】目的 探讨 miR-200c 逆转肺癌细胞顺铂耐药性的作用机制。**方法** miR-200c 模拟物转染肺癌 A549 细胞后, 采用实时定量 PCR 法检测 miR-200c 的表达; 采用细胞活力测定 (MTS) 法检测 miR-200c 对肺癌 A549 细胞顺铂耐受性的影响。采用流式细胞术 (FCM) 检测肿瘤细胞凋亡率的变化。采用 Western blotting 检测肿瘤细胞耐药蛋白 survivin 和 Bcl-2 蛋白的表达。通过生物信息学分析发现 miR-200c 下游靶分子 TUBB3 表达存在差异后, 构建 TUBB3 3'UTR 的野生型和突变型荧光素酶报告载体, 然后利用双荧光素酶活性分析 miR-200c 对 TUBB3 基因表达的结合位点和调控作用。通过 Western blotting 检测 miR-200c 对 TUBB3 蛋白表达的调控作用以及 Bcl-2 蛋白和肿瘤细胞耐药蛋白 survivin 的表达。采用 SPSS 19.0 统计软件分析实验数据。**结果** 与对照组相比, miR-200c 转染肺癌细胞株后, 肺癌细胞对顺铂的敏感性呈明显增加趋势 [IC₅₀ 分别为 (37.3±3.1) 和 (15.3±3.3) μmol/L, $P<0.01$]。过表达 miR-200c 的 A549/DDP 组的细胞凋亡率明显高于 NC 组 ($P<0.01$)。而肿瘤耐药相关基因 Bcl-2 和 survivin 蛋白表达降低。转染 miR-200c mimics 的 A549/DDP 细胞中 TUBB3 蛋白和 mRNA 的表达均下调 ($P<0.01$)。双荧光素酶活性分析显示 miR-200c 对 TUBB3 基因表达具有调控作用 ($P<0.01$)。这些结果均证实 TUBB3 为 miR-200c 的下游靶基因。pcDNA-TUBB3 质粒转染后, 过表达 miR-200c 的 A549/DDP 细胞株 survivin 和 Bcl-2 蛋白表达较 miR-200c mimics 组上调。**结论** miR-200c 可通过下调 TUBB3 基因的表达逆转肺癌顺铂耐药细胞的耐药性。

【关键词】 miR-200c; TUBB3 基因表达; 调控机制**【中图分类号】** R734.2**【文献标志码】** A**【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2020.06.102

miR-200c reverses cisplatin resistance in elderly lung cancer patients by down-regulating TUBB3 gene

ZHAO Yun-Long¹, LI Shao-Jun¹, CHEN Ping¹, LIU Yang^{2*}(¹ Department of Thoracic Surgery, Fourth Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100048, China; ² Department of Thoracic Surgery, First Medical Center, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China)

【Abstract】Objective To investigate the underlying mechanism of miR-200c reversing the drug resistance of lung cancer cells to cisplatin (DDP). **Methods** After transfection of miR-200c mimics into lung cancer A549 cells, the expression of miR-200c was detected by real-time PCR. MTS assay was employed to measure the cell viability to observe the tolerance of A549 cells to DDP. Flow cytometry was used to measure the apoptosis rate of the cells, and Western blotting was applied to test the expression of survivin and Bcl-2 protein. After bioinformatics analysis showed that TUBB3, the downstream target molecule of miR-200c, was expressed differentially, luciferase reporter vectors containing wild type and mutant TUBB3 3'UTR were constructed, and the regulation effect and binding site of miR-200c to TUBB3 was studied by double luciferase reporter assay. The regulatory effect of miR-200c on the expression of TUBB3 protein, and on the expression of survivin and Bcl-2 protein were detected by Western blotting. SPSS statistics 19.0 was used to perform the statistical analysis. **Results** Compared with the control group, miR-200c transfection significantly increased the sensitivity of lung cancer cells to cisplatin [IC₅₀: (37.3±3.1) vs (15.3±3.3) μmol/L, $P<0.01$]. And the overexpression of miR-200c also resulted in the increased apoptosis rate of expression of A549/DDP cells ($P<0.01$), and decreased expression of survivin and Bcl-2 protein. The expression of TUBB3 at protein and mRNA levels was down-regulated in A549/DDP cells transfected with miR-200c mimics ($P<0.01$). Double luciferase reporter assay showed that miR-200c could regulate the expression of TUBB3 ($P<0.01$). All these results confirmed that TUBB3 was the downstream target gene of miR-200c. After pcDNA-TUBB3 plasmid was transfected, the expression of survivin and Bcl-2 protein in A549/DDP cells with miR-200c overexpression was up-regulated than that in the cells transfected with miR-200c mimics. **Conclusion** miR-200c can reverse the drug resistance of DDP-resistant lung cancer cells by down-regulating TUBB3 expression.

收稿日期: 2020-03-08; 接受日期: 2020-04-25

通信作者: 刘阳, E-mail: liu_y301@126.com

【Key words】 miR-200c; TUBB3 gene expression; regulation mechanism

Corresponding author: LIU Yang, E-mail: liu_y301@126.com

肺癌是全球范围内发病率和死亡率最高的肿瘤之一^[1]。大多数肺癌患者早期并无明显症状,很多患者确诊时已处于中晚期且伴有病灶远处转移,因而失去外科手术切除或放疗的机会^[2]。美国2019年癌症生存统计报告数据表明,约3/4的肺癌幸存者年龄 ≥ 65 岁,肺癌确诊的中位年龄为70岁,老年人已成为肺癌的高发人群^[3]。近年来,肺癌的新型治疗药物不断问世,其中,分子靶向治疗药物由于其特异性强和毒副作用小等优点,为老年肺癌患者提供了更多治疗选择。但是,该类药物因其适应证存在局限性,并不适合大多数老年肺癌患者。以铂类药物为主的联合化疗方案仍然是老年肺癌治疗的标准一线化疗方案。但是,随着铂类化疗药物在临床中的广泛应用,肿瘤细胞对此类药物的耐药性也逐渐增强,从而导致化疗疗效明显降低,这给老年肺癌的治疗带来了严峻挑战;另一方面,由于老年患者的重要器官功能均存在一定程度的衰退,因药物耐受性欠佳等原因,很多老年患者不得不选择放弃化疗^[4]。

microRNA(miRNA)是一类内源性非蛋白编码的小分子RNA,约18~24个核苷酸,可通过与靶mRNA的互补序列相结合在转录后水平调控基因表达,进而诱导靶mRNA的降解或基因沉默^[5]。大量研究表明,miRNA对几乎所有已知的癌变过程,包括细胞生长、增殖、分化、血管生成、细胞凋亡以及侵袭和转移均具有调节作用^[6]。miR-200c作为miRNA家族的成员,已成为近年的研究热点,其在恶性肿瘤发病机制中的作用备受关注^[7]。研究发现,miR-200c家族作为重要的抑癌基因在肺癌组织中呈低表达。近年有研究报道,miR-200c在正常干细胞与乳腺癌干细胞中的表达显著下调,证实miR-200c过表达可通过靶向干细胞再生因子BMI-1显著抑制乳腺癌干细胞的干性特征^[8,9]。然而,miR-200c在肺癌耐药性中的作用机制尚不完全清楚。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

人肺癌细胞系A549和A549/顺铂(cisplatin, DDP)均购自中国科学院上海生科院细胞资源中心;顺铂和染色试剂噻唑兰(MTT)购自Sigma生物公司;脂质体2000购自Invitrogen生物公司;兔抗人

β -actin、TUBB3、survivin和Bcl-2单克隆抗体、山羊抗兔IgG二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司;siRNA由上海吉玛生物科技有限公司合成。

1.2 细胞准备

采用含10%胎牛血清的F12K培养基培养人肺癌A549细胞及其顺铂耐药株A549/DDP,在实验过程中取对数生长期细胞。以miR-200c模拟物(miR-200c mimics)分别转染A549细胞和A549/DDP细胞并设阴性对照(negative control, NC)组。

1.3 MTS法检测miR-200c对细胞耐药性的影响

取对数生长期细胞,以 2×10^4 /ml密度接种于96孔板,每孔100 μ l,放置过夜使细胞贴壁生长。将不同浓度的顺铂加入到对应的实验孔中,继续培养72 h后吸去培养基,加入100 μ l 0.5 mg/ml的MTS试剂,继续培养4 h。孵育结束后,在490 nm波长处测定光密度($A_{490\text{nm}}$),并根据公式[细胞抑制率=(1-实验组 $A_{490\text{nm}}$ /对照组 $A_{490\text{nm}}$) $\times 100\%$]计算药物对细胞生长的抑制率。以顺铂浓度对数值为横坐标、细胞抑制率为纵坐标作图并拟合抑制曲线,求得 IC_{50} 值。

1.4 Annexin V-FITC/PI双染法检测细胞凋亡

首先根据实验设计分组以miR-200c mimics转染,转染48 h后收集细胞,以PBS缓冲液洗涤2次;取细胞数为 2×10^5 个的细胞悬液,离心并弃去上清液,加入195 μ l结合液,再次轻轻反复吹打细胞悬液后,加入5 μ l AnnexinV-FITC混匀,在室温和避光环境下继续孵育10 min后,离心,弃上清液。再加入10 μ l碘化丙啶(propidium iodide, PI),混匀,在1 h内用流式细胞术检测。以上步骤重复操作3次。

1.5 检测A549/DDP细胞中多种蛋白的表达

取miR-200c mimics转染的、处于对数生长期的A549/DDP细胞裂解液提取蛋白。采用二辛可宁酸法测定细胞裂解液中的蛋白含量。12% SDS-PAGE电泳分离后,采用半干转移法将分离胶内的蛋白转移至聚偏二氟乙烯膜(PVDF)。用5%脱脂奶粉TBS-T缓冲液(25 mmol/L Tris, 150 mmol/L NaCl, 1% Tween 20, pH 7.5)封闭PVDF膜后洗膜,滴加一抗;4℃下过夜培养,洗涤去除一抗后,加HRP标记的二抗在室温下孵育2 h,洗膜;凝胶成像分析系统曝光成像并分析图像,以 β -actin为内参照计算蛋白的相对含量。

1.6 采用实时 PCR 法检测 miR-200c 和 TUBB3 mRNA 的表达

收集转染后的各组细胞,使用 TRIzol 试剂提取总 RNA,根据试剂盒说明书要求操作,反转录合成 cDNA 并进行 PCR 反应,反应条件为 95℃ 20 s, 95℃ 10 s, 60℃ 20 s, 70℃ 10 s, 共 40 个循环。miR-200c 表达量以 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示。miR-200c 反转录引物: 5'-GTCG-TATCCAGTGGCTGTCGTGGAGTCGGCAATTGCACTG-GATACGACTCCATC-3'; PCR 上游引物: 5'-GGTA-ATACTGCCGGGTAAT-3', 下游引物: 5'-CAGTGCCT-GTCGTGGAGT-3'。TUBB3 上游引物: 5'-AAAGAAT-TCGACGCCACGGCCGAGGAAGAGG-3', 下游引物: 5'-AAAAAGCTTAAGGGTATCTGACAGCAATAGA-3'。

1.7 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件分析实验数据。结果以均数±标准差表示。组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 SNK 法。 $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组细胞株的 miR-200c 表达情况

A549 转染组中的 miR-200c 的表达水平显著高于 A549/DDP 转染组 ($P < 0.001$; 图 1A); A549/DDP miR200c mimics 转染组中的 miR-200c 表达水平明显高于 NC 组 ($P < 0.01$; 图 1B)。

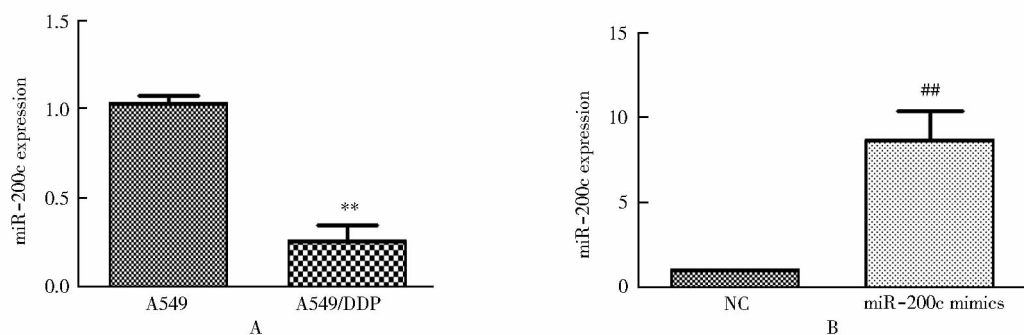


图 1 A549/DDP 细胞中 miR-200c 的表达

Figure 1 miR-200c expression in A549 and A549/DDP cells

NC: negative control. Compared with A549 group, ** $P < 0.01$; compared with NC group, ## $P < 0.01$.

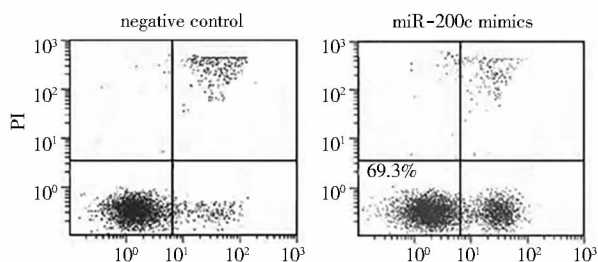


图 2 各组细胞凋亡率结果

Figure 2 Apoptosis rates of each group

2.2 miR-200c 表达对 A549/DDP 细胞顺铂敏感性的影响

与 NC 组相比, miR200c mimics 组中的 A549/DDP 细胞株对顺铂的敏感性显著增加, IC_{50} 值由 $(37.3 \pm 3.1) \mu\text{mol/L}$ 下降至 $(15.3 \pm 3.3) \mu\text{mol/L}$ ($P < 0.01$)。

2.3 miR-200c 对 A549/DDP 细胞凋亡的影响

采用 Annexin-V-FITC/PI 双染法检测 miR-200c 过表达对 A549/DDP 细胞凋亡的影响。结果发现: 过表达 miR-200c 的 A549/DDP 组的细胞凋亡率明显高于 NC 组 ($P < 0.01$; 图 2)。

2.4 miR-200c 对 A549/DDP 细胞中 survivin 和 Bcl-2 蛋白表达的影响

为了进一步探讨 miR-200c 逆转 A549/DDP 耐药性, 我们观察了 miR-200c 是否与肿瘤耐药相关基因 survivin 和 Bcl-2 的蛋白表达相关。结果发现 A549/DDP 过表达 miR-200c 后, survivin 和 Bcl-2 蛋白表达明显下调 (图 3)。

2.5 miR-200c 增加肺癌细胞对顺铂的耐药性的机制

通过生物信息学分析发现, TUBB3 可能是 miR-200c 的靶基因, 而 survivin 和 Bcl-2 并非 miR-200c 的靶蛋白 (图 4A)。为了验证这一假设, 我们首先在 A549/DDP 细胞中转染 miR-200c mimics, 检测 TUBB3 蛋白和 mRNA 的表达情况。结果发现, 过表达 miR-200c 后, TUBB3 蛋白和 mRNA 的表达均下

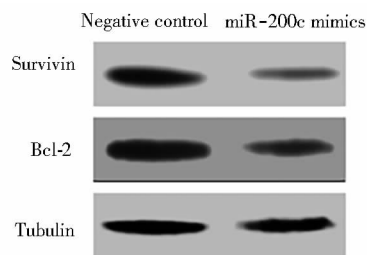


图 3 各组 survivin 和 Bcl-2 蛋白的表达情况

Figure 3 Expression of survivin and Bcl-2 proteins in each group

调($P<0.01$;图4B,C);其次,我们构建了 TUBB3 3' UTR 野生型和突变型荧光素酶报告载体,并利用双荧光素酶活性分析检测 miR-200c 对 TUBB3 基因表达的调控作用和结合位点($P<0.01$;图4D)。这些结果均证实 TUBB3 为 miR-200c 的下游靶基因。最后,为了与 miR-200c mimics 转染组比较,我们在过表达 miR-200c 的 A549/DDP 细胞株中同时转染了 pcDNA-TUBB3 质粒,结果发现 survivin 和 Bcl-2 蛋白的表达较 miR-200c mimics 组上调(图4E)。上述结果证实 miR-200c 可通过下调其下游靶分子 TUBB3 的基因表达下调 survivin 和 Bcl2 蛋白的表达,最终增加肺癌细胞对顺铂的耐药性。

3 讨论

肺癌的发病率和死亡率居高不下,是最常见的恶性肿瘤之一。多数肺癌患者,尤其是老年患者,确诊时已属于中晚期。随着全球老龄化的加剧,老年肺癌患者的人数不断增加。由于老年肺癌患者身体的各个器官机能均处于衰退阶段,而且患有的基础疾病较多,故外科治疗风险较大;另外,化疗虽然是中晚期肺癌治疗相对安全有效的方法,但由于老年

患者肾功能减退以及药物治疗不耐受等原因,严重影响了其在老年肺癌患者中的疗效^[10,11]。

近年来,由于治疗方案的不断优化,靶向药物不断涌现,老年肺癌的治疗现状得到了明显改善^[12]。靶向药物治疗和免疫疗法在肺癌治疗中已取得重大进展,而且效果较为显著,但其高昂的治疗费用却使得很多患者望而却步。目前铂类化疗方案仍然是最常用的标准治疗方案,而且顺铂也是最经济的治疗药物。顺铂可通过诱导细胞凋亡阻止肿瘤细胞的生长,其作用机制为通过靶向 DNA 和拓扑异构酶 II (Topo II) 抑制 DNA 的转录与合成^[13]。但在肺癌治疗的临床实践中,顺铂较高的耐药率,使其疗效明显降低^[14],这一问题亟待解决。

因此,解决肿瘤细胞的耐药性、研究逆转肿瘤耐药性的机制与方法对于提高老年肺癌患者的生存率和改善生活质量具有非常重要的意义。

近年来的大量研究发现,铂类药物在抗肿瘤作用和肿瘤耐药性中的机制甚为复杂。这些机制通常与胞饮过程、铜离子受体、谷胱甘肽、铜转运 P 型 ATP 酶(ATP7B)以及 DNA 修复蛋白等多种因素有关^[4]。因此,目前尚未发现合适的靶点能够逆转肿

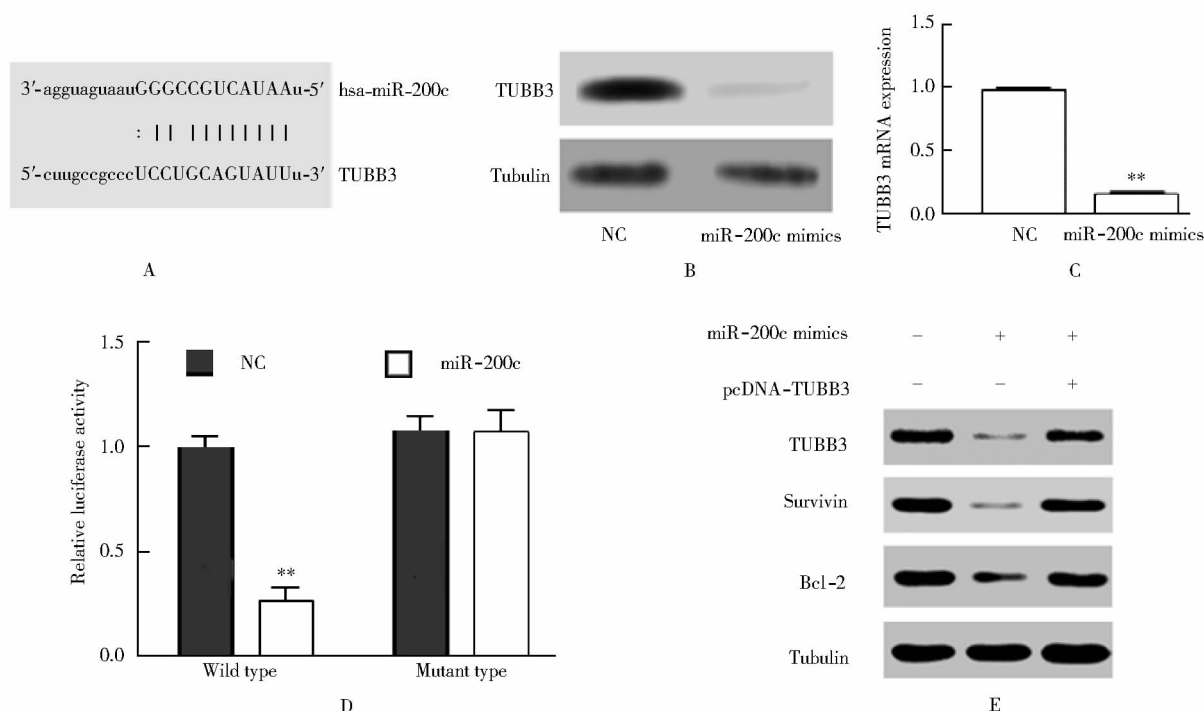


图4 miR-200c通过调控其下游靶分子 TUBB3 而影响 survivin 和 Bcl2 的表达

Figure 4 miR-200c affects expression of survivin and Bcl-2 protein by regulating its downstream target molecule TUBB3
A: sequences of miR-200c and target gene TUBB3; B: expression of TUBB3 in each group; C: expression of TUBB3 mRNA in each group;
D: luciferase activity of TUBB3 3'UTR wild type and mutant type; E: miR-200c down-regulates TUBB3 and affects expression of survivin and Bcl-2 protein. NC: negative control. Compared with NC, ** $P<0.01$.

瘤细胞对铂类药物的耐药性。近来,miRNA 作为调控肿瘤细胞侵袭、转移、耐药及凋亡的关键因子而备受关注^[15,16]。其中 miR-200c 参与对多个经典细胞信号通路的调节,从而调控肿瘤细胞的侵袭、耐药及凋亡等过程。在临床实践中,尤其是老年肺癌患者,通常由于没有较好的外科治疗条件而不得不将化疗作为首选治疗方法,但肿瘤细胞对化疗不敏感,这是所有临床医师面临的最大挑战,因为这不仅会增加患者的痛苦,而且可能会延误治疗时机,降低疗效。miR-200c 在肿瘤中的异常表达是抗肿瘤治疗疗效评估的一个重要因素,其作为一种生物标志物,使得个体化诊断及治疗成为可能,以此增加抗肿瘤疗效,同时也能缓解恶性肿瘤患者的心理应激状态^[17-19]。survivin 仅在肿瘤细胞和胚胎组织中表达,其可抑制肿瘤细胞的凋亡并具有肿瘤特异性,是细胞凋亡抑制蛋白家族的成员,能够促进细胞增殖和血管形成^[20],已成为一个公认的具有较高价值的肿瘤治疗靶点。Bcl-2 蛋白可抑制肿瘤细胞的凋亡。研究发现,肿瘤细胞的耐药性与 Bcl-2 在肿瘤中的高表达密切相关^[21,22]。有研究发现,在非小细胞肺癌顺铂耐药的细胞株 A549/DDP 中,下调 survivin 与 Bcl-2 蛋白的表达可逆转肿瘤细胞的耐药性。

本研究结果表明,在非小细胞肺癌顺铂耐药的 A549/DDP 细胞株中,miR-200c 表达明显下调,表明 miR-200c 的低表达与肿瘤产生耐药性的过程密切相关。miR-200c mimics 转染显著降低了 survivin 和 Bcl-2 蛋白的表达,同时可显著增加 A549/DDP 细胞对顺铂的敏感性。这些结果表明,过表达 miR-200c 可能通过对 survivin 和 Bcl-2 蛋白表达水平的调节显著减少细胞株的顺铂耐药性。另外,本研究同时探讨了 miR-200c 对 survivin 和 Bcl-2 蛋白表达的调控过程。TUBB3 是唯一一种能够影响微管稳定性的微管蛋白,其表达的差异直接与化疗药物敏感性相关。有研究发现,在乳腺癌肿瘤细胞中,上调 miR-200c 表达可通过抑制 TUBB3 表达增加肿瘤细胞对紫杉醇的敏感性。本研究同样发现肺癌细胞过表达 miR-200c 后,TUBB3 蛋白和 mRNA 的表达水平均下调。而且,在过表达 miR-200c 的 A549/DDP 细胞中过表达 TUBB3 基因后,结果发现 survivin 和 Bcl-2 蛋白的表达高于 miR-200c mimics 组。综上,我们发现 miR-200c 过表达可明显增加顺铂在肺癌治疗中的敏感性,能够导致与肿瘤耐药相关基因 survivin 和 Bcl-2 的蛋白表达水平下调,进一步证实 miR-200c 可通过下调其下游靶分子 TUBB3 基因的表达从而下调 survivin 和 Bcl-2 蛋白表达,以增加肺癌细胞对顺铂的耐药性。

综上所述,miR-200c 通过对 TUBB3 基因表达调节在逆转肺癌顺铂耐药性的过程中发挥重要作用,其作用机制可能与多种耐药和细胞凋亡相关蛋白的表达调控密切相关。对相关耐药机制的进一步明确可为老年肺癌患者制定个体化治疗策略提供参考依据。

【参考文献】

- [1] 李龙芸. 老年Ⅲ/Ⅳ期非小细胞肺癌的化学治疗[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2005, 4(3): 166-168. DOI: 10.3969/j.issn.1671-5403.2005.03.002.
- Li LY. Chemotherapy in elderly for stage Ⅲ/Ⅳ non-small cell lung cancer[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2005, 4(3): 166-168. DOI: 10.3969/j.issn.1671-5403.2005.03.002.
- [2] Miller KD, Nogueira L, Mariotto AB, *et al.* Cancer treatment and survivorship statistics, 2019[J]. CA Cancer J Clin, 2019, 69(5): 363-385. DOI: 10.3322/caac.21565.
- [3] 张银文, 蒋浩, 毛晓博, 等. Myrian 影像后处理系统在老年早期肺癌诊断中的应用[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2018, 17(10): 735-739. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2018.10.169.
- Zhang YW, Jiang H, Mao XB, *et al.* Application of Myrian post-processing system in the diagnosis of early-stage lung cancer in the elderly[J]. Chin J Mult Organ Dis Elderly, 2018, 17(10): 735-739. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2018.10.169.
- [4] 毛楠, 何关生, 饶进军, 等. 沉默 Bmi-1 表达可逆转肺癌细胞对顺铂的耐药性[J]. 南方医科大学学报, 2014, 34(7): 1000-1004. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2014.07.17.
- Mao N, He GS, Rao JJ, *et al.* Effect of silencing Bmi-1 expression in reversing cisplatin resistance in lung cancer cells and its mechanism[J]. J South Med Univ, 2014, 34(7): 1000-1004. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2014.07.17.
- [5] Wu KL, Tsai YM, Lien CT, *et al.* The roles of microRNA in lung cancer[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(7): 1611. DOI: 10.3390/ijms20071611.
- [6] Bica-Pop C, Cojocneanu-Petric R, Magdo L, *et al.* Overview upon miR-21 in lung cancer: focus on NSCLC[J]. Cell Mol Life Sci, 2018, 75(19): 3539-3551. DOI: 10.1007/s00018-018-2877-x.
- [7] Lei W, Kang W, Nan Y, *et al.* The downregulation of miR-200c promotes lactate dehydrogenase A expression and non-small cell lung cancer progression[J]. Oncol Res, 2018, 26(7): 1015-1022. DOI: 10.3727/096504018X15151486241153.
- [8] Li F, Liang A, Lv Y, *et al.* microRNA-200c inhibits epithelial-mesenchymal transition by targeting the BMI-1 gene through the phospho-AKT pathway in endometrial carcinoma cells *in vitro* [J]. Med Sci Monit, 2017, 23: 5139-5149. DOI: 10.12659/MSM.907207.
- [9] Akkouch A, Eliason S, Sweat ME, *et al.* Enhancement of microRNA-200c on osteogenic differentiation and bone regeneration by

- targeting Sox2-mediated Wnt signaling and Klf4 [J]. Hum Gene Ther, 2019, 30 (11): 1405 - 1418. DOI: 10. 1089/hum. 2019. 019.
- [10] 陈万青, 李贺, 孙可欣, 等. 2014 年中国恶性肿瘤发病和死亡分析[J]. 中华肿瘤杂志, 2018, 40(1): 5-13. DOI: 10. 3760. cma. j. issn. 0253-3766. 2018. 01. 002.
- Chen WQ, Li H, Sun KX, *et al.* Report of cancer incidence and mortality in China, 2014[J]. Chin J Oncol, 2018, 40(1): 5-13. DOI: 10. 3760. cma. j. issn. 0253-3766. 2018. 01. 002.
- [11] 张玉秀. 老年综合评估在晚期老年非小细胞肺癌患者化疗护理中的应用效果[J]. 现代医药卫生, 2019, 35(24): 3857-3859. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-5519. 2019. 24. 04.
- Zhang YX. The effect of elderly comprehensive evaluation in the chemotherapy nursing of advanced non-small cell lung cancer patients[J]. J Mod Med Health, 2019, 35(24): 3857-3859. DOI: 10. 3969/j. issn. 1009-5519. 2019. 24. 04.
- [12] 蔡勇, 王季颖. 姜黄素联合顺铂对非小细胞肺癌细胞 A549 放疗增敏作用的初步研究[J]. 临床肿瘤学杂志, 2015, 20(1): 13-17.
- Cai Y, Wang JY. A preliminary study on radiosensitization effect of curcumin plus cisplatin on non-small cell lung cancer A549 cells[J]. Chin Clin Oncol, 2015, 20(1): 13-17.
- [13] 龚道辉, 闵凌峰. 非小细胞肺癌顺铂耐药相关长链非编码 RNA 研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2018, 38(24): 1896-1898. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-436X. 2018. 24. 012.
- Gong DH, Min LF. Progress of non-small cell lung cancer cisplatin resistance associated long non-coding RNA [J]. Int J Respir, 2018, 38(24): 1896-1898. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-436X. 2018. 24. 012.
- [14] 候聪芳, 达林泰. RbAP48 与恶性肿瘤的研究进展[J]. 实用肿瘤学杂志, 2018, 32(5): 67-71. DOI: 10. 11904/j. issn. 1002-3070. 2018. 05. 012.
- Hou CF, Da LT. Research progress of RbAP48 and malignant tumors[J]. Prac Oncol J, 2018, 32(5): 67-71. DOI: 10. 11904/j. issn. 1002-3070. 2018. 05. 012
- [15] 刘德春, 姜艳辉, 王灵芝, 等. 沉默 miR-21 表达对顺铂耐药卵巢上皮性癌细胞耐药性的影响及其机制研究[J]. 中华妇产科杂志, 2016, 51(4): 300-303. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0529-567x. 2016. 04. 011.
- Liu DC, Lou YH, Wang LZ, *et al.* Effect of miR-21 silencing on cisplatin resistance in ovarian epithelial cancer cells and its mechanism[J]. Chin J Obstet Gynecol, 2016, 51(4): 300-303. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 0529-567x. 2016. 04. 011.
- [16] 韦尉元, 曹稳琰, 张笑石, 等. MicroRNA-1284 在胃癌中的表达及其作用机制研究[J]. 中国病理生理杂志, 2015, 31(3): 440-446. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-4718. 2015. 03. 010.
- Wei WY, Cao WL, Zhang XS, *et al.* Expression of microRNA-1284 in gastric cancer and underlying mechanism [J]. Chin J Pathophysiol, 2015, 31(3): 440-446. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-4718. 2015. 03. 010.
- [17] Byun Y, Choi YC, Jeong Y, *et al.* miR-200c downregulates HIF-1 α and inhibits migration of lung cancer cells[J]. Cell Mol Biol Lett, 2019, 24: 28. DOI: 10. 1186/s11658-019-0152-2.
- [18] Karimi Mazraehshah M, Tavangar SM, Saidijam M, *et al.* Anticancer effects of miR-200c in colorectal cancer through BMI1 [J]. J Cell Biochem, 2018, 119(12): 10005-10012. DOI: 10. 1002/jcb. 27330.
- [19] Wu MJ, Chen YS, Kim MR, *et al.* Epithelial-mesenchymal transition directs stem cell polarity *via* regulation of mitofusin [J]. Cell Metab, 2019, 29(4): 993-1002. DOI: 10. 1016. j. cmet. 2018. 11. 004.
- [20] Lyu H, Huang JC, He ZM, *et al.* Epigenetic mechanism of survivin dysregulation in human cancer [J]. Sci China Life Sci, 2018, 61(7): 808-814. DOI: 10. 1007/s11427-017-9230-2.
- [21] Pentimalli F. Bcl2: a 30-year tale of life, death and much more to come [J]. Cell Death Differ, 2018, 25(1): 7-9. DOI: 10. 1038/cdd. 2017. 189.
- [22] Yochum ZA, Cades J, Wang H, *et al.* Targeting the EMT transcription factor TWIST1 overcomes resistance to EGFR inhibitors in EGFR-mutant non-small-cell lung cancer [J]. Oncogene, 2019, 38(5): 656-670. DOI: 10. 1038. s41388-018-0482-y.

(编辑: 兆瑞臻)