

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.10.010

· 基础研究 ·

敲降 miR-23b 通过靶向 PTEN 增强肺癌 A549 细胞的放疗敏感性

董跃华, 杨燕君, 魏玉磊, 高永山, 姜伟华, 王贵刚(河北北方学院附属第一医院 胸心外科, 河北 张家口 075000)

[摘要] **目的:** 探讨 miR-23b/PTEN 分子轴对肺癌 A549 细胞放疗敏感性的影响及其作用机制。**方法:** 选用人肺癌细胞系 NCI-H1650、NCI-H175、Calu-1、LTP-A-2、MSTO-211H、A549 及正常肺上皮细胞株 BEAS-2B, 用 qPCR 检测肺癌细胞系中 miR-23b 的表达水平。用双荧光素酶报告基因检测 miR-23b 和 PTEN 的靶向关系。用脂质体转染技术将 miR-23b mimics、miR-23b inhibitor、pcDNA3.1-PTEN 等不同质粒转染进 A549 细胞, 用 WB 检测细胞中 PTEN 的表达水平, 用 CCK-8、Transwell 和 Annexin V-FITC/PI 染色流式细胞术分别检测 miR-23b/PTEN 分子轴对 ^{60}Co γ -射线处理的 A549 细胞增殖、侵袭和凋亡的影响。**结果:** miR-23b 在肺癌细胞系中高表达 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 尤其在 A549 细胞中表达水平最高 ($P < 0.01$)。敲降 miR-23b 可逆转 3 Gy ^{60}Co γ -射线对 A549 细胞增殖和侵袭的抑制作用, 并诱导细胞凋亡 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。双荧光素酶报告基因结果显示, miR-23b 可靶向负调控 PTEN ($P < 0.05$)。敲降 miR-23b 能上调 PTEN 的表达水平, 进而上调 3 Gy ^{60}Co γ -射线对 A549 细胞增殖和侵袭的促进作用及抑制 A549 细胞增殖和侵袭 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论:** 敲降 miR-23b 可以增强肺癌 A549 细胞的放疗敏感性, 其机制是 ^{60}Co γ -射线通过下调 miR-23b 对 PTEN 表达的抑制, 进而降低 A549 细胞增殖、侵袭能力并诱导细胞凋亡。

[关键词] 肺癌; miR-23b; PTEN; 放疗敏感性; ^{60}Co γ -射线

[中图分类号] R734.2; R730.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)10-1113-07

The knockdown of miR-23b enhances radio-sensitivity of lung cancer A549 cell via targeting PTEN

DONG Yuehua, YANG Yanjun, WEI Yulei, GAO Yongshan, JIANG Weihua, WANG Guigang (Cardiothoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of miR-23b/PTEN molecular axis on radio-sensitivity of lung cancer A549 cells and its mechanism. **Methods:** Lung cancer cell lines NCI-H1650, NCI-H175, Calu-1, LT-P-A-2, MSTO-211H, A549 and human normal lung epithelial cell line BEAS-2B were selected. The expression level of miR-23b in lung cancer cell lines was detected by qPCR. Dual-luciferase reporter gene assay was used to verify the relationship between miR-23b and PTEN. Plasmids miR-23b mimics, miR-23b inhibitor and pcDNA3.1-PTEN were transfected into A549 cells by lipofection; PTEN expression levels in cells was detected by WB. CCK-8, Transwell and Annexin V-FITC/PI staining flow cytometry were used to detect the effect of miR-23b/PTEN axis on proliferation, invasion and apoptosis of A549 cells treated with ^{60}Co γ -ray. **Results:** miR-23b was upregulated in lung cancer cell lines with the highest expression in A549 cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Knockdown of miR-23b reversed the inhibitory effect of 3 Gy ^{60}Co γ -rays on proliferation and invasion of A549 cells, and induced apoptosis ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Dual-luciferase reporter gene assay results confirmed that miR-23b could negatively regulate PTEN ($P < 0.05$). Furthermore, knockdown of miR-23b up-regulated PTEN expression level, and further enhanced the inhibitory effect of 3 Gy ^{60}Co γ -ray on the proliferation and invasion of A549 cells as well as induced apoptosis of A549 cells ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Knockdown of miR-23b can enhance the radio-sensitivity of A549 cells, the mechanism of which is that ^{60}Co γ -ray down-regulates the inhibitory effect of miR-23b on PTEN, thereby inhibiting the proliferation, invasion and inducing apoptosis of A549 cells.

[Key words] lung cancer; miR-23b; PTEN; radio-sensitivity; ^{60}Co γ -ray

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(10): 1013-1119. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.10.010]

肺癌是世界范围内严重威胁人类健康的恶性肿瘤之一, 占癌症死亡人数的 1/6 以上^[1]。放疗是目前肺癌的主要治疗手段, 由于肺癌细胞的放疗抵抗性, 致使肺癌患者的预后极差。研究^[2]发现, 微小 RNA (microRNA, miRNA) 在非小细胞肺癌术后放疗敏感

性中起到关键性的作用。miR-23b 在子宫内膜癌^[3]、

[作者简介] 董跃华(1977-), 男, 硕士, 副主任医师, 主要从事胸外科肿瘤的研究

[通信作者] 董跃华 (DONG Yaohua, corresponding author), E-mail: dyh3342@126.com

食管鳞状细胞癌^[4]、胃癌^[5]及淋巴瘤^[6]等多种恶性肿瘤中作为促癌基因,促进肿瘤的发生发展。miR-23b对胰腺癌细胞的放疗抵抗性具有调控作用^[7]。此外,PTEN作为一种肿瘤抑制因子,调控多种肿瘤的发生发展^[8-9],且PTEN对前列腺癌^[10]、乳腺癌^[11]、结直肠癌^[12]等多种肿瘤的放疗抵抗性具有调控作用。生物信息学数据库 TargetScan 预测 PTEN 很可能是 miR-23b 的靶基因,鉴于目前尚未见 miR-23b/PTEN 分子轴对肺癌细胞放疗敏感性的影响及其机制研究的报道,因此本研究以⁶⁰Co γ -射线处理人肺癌 A549 细胞,旨在探讨 miR-23b/PTEN 分子轴对肺癌 A549 细胞放疗敏感性的影响及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系及主要试剂

人肺癌细胞系 NCI-H1650、NCI-H175、Calu-1、LTEP-A-2、MSTO-211H、A549 及正常肺上皮细胞株 BEAS-2B 购自中科院上海细胞库。

miR-23b mimics、miR-23b inhibitor、pcDNA3.1-PTEN 购自山东维真生物科技有限公司,DMEM 和胎牛血清购自美国 Biological Industries 公司,青霉素和链霉素、高纯总 RNA 快速提取试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,Lipofectamine™ 2000 和逆转录试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,全蛋白提取试剂盒、细胞核蛋白与细胞质蛋白抽提试剂盒和 SDS-PAGE 凝胶快速制备试剂盒购自美国 Bio-Rad 公司,CCK-8 试剂盒购自日本同仁公司,Transwell 小室购自美国 Corning Incorporated 公司,Annexin-V-FITC/PI 凋亡检测试剂盒购自美国 eBioscience 公司,双荧光素酶报告基因试剂盒和报告基因载体购自 Promega 公司,PTEN 一抗和辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗均购自 Abcam 公司。

1.2 细胞培养、转染及分组

将肺癌 NCI-H1650、NCI-H175、Calu-1、LTEP-A-2、MSTO-211H、A549 细胞及 BEAS-2B 细胞置于含青霉素 100 U/ml、链霉素 100 μ g/ml、10%胎牛血清的 DMEM 培养液中,于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养 24 h 待用。

取对数生长期人肺癌 A549 细胞,用胰酶消化处理并计数后,将密度调整为 1×10^5 个/ml 的细胞悬液接种到 6 孔板中(2 ml/孔),继续培养 24 h 后,依据 Lipofectamine™ 2000 转染试剂说明书的方法分别将 miR-23b mimics、miR-23b inhibitor、pcDNA3.1-PTEN 转染到 A549 细胞。转染 48 h 后,于荧光显微镜下观察细胞的转染效果。

依据转染质粒的不同,实验分为 NC 组[经 0、2、4、6 和 8 Gy ⁶⁰Co γ 5 个不同强度的辐射处理及未经转染处

理组)、miR-23b inhibitor 组(经不同辐射强度及敲降 miR-23b 处理组)、对照组(未经辐射及转染处理组)、pcDNA3.1-PTEN 组(PTEN 过表达组)、pcDNA3.1-PTEN+miR-23b mimics 组(PTEN 及 miR-23b 过表达组)、Ctrl+ γ -ray 组(未经辐射及转染+3 Gy ⁶⁰Co γ -ray 组)、pcDNA3.1-PTEN+ γ -ray 组(PTEN 过表达+3 Gy ⁶⁰Co γ -ray 组)及 pcDNA3.1-PTEN+miR-23b mimics+ γ -ray 组(PTEN 及 miR-23b 过表达+3 Gy ⁶⁰Co γ -ray 组)。

1.3 qPCR 实验检测 A549 细胞中 miR-23b 的表达水平

采用 TRIzol 提取 A549 细胞中总 RNA。根据逆转录说明书,取 0.5 μ g 总 RNA 逆转录为 cDNA,随后应用 StepOnePlus™ 仪进行 qPCR 反应。以 U6 作为内参,反应体系为 20 μ l,其中包括:10 μ l SYBR® Premix Ex Taq II、0.8 μ l PCR Forward Primer、0.8 μ l PCR Reverse Primer、0.4 μ l ROX Reference Dye、2 μ l cDNA 溶液、6 μ l dH₂O,采用两步法进行反应。PCR 引物由 PrimerPremier5.0 软件设计,引物序列:miR-23b F 为 5'-AUCACAUUGCCAGGGAU-3',R 为 5'-TAATCCTGGCAATGTGA-3';U6 F 为 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',R 为 5'-AACGCTT CACGAATTTGGT-3'。反应条件:95 °C 30 s、95 °C 5 s、60 °C 30 s,共 40 次循环。采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 miR-23b 的相对表达量。

1.4 WB 实验检测 A549 细胞中 PTEN 的表达水平

用 RIPA 细胞裂解液处理 A549 细胞处理,用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度及纯度。制备 SDS-PAGE 凝胶,总蛋白中加入 SDS-PAGE 缓冲液,沸水浴加热 5 min,待冷却到室温后,进行 SDS-PAGE、转膜,5%脱脂奶粉中封闭 2 h 后,加入 PTEN 一抗(1:1 000),4 °C 孵育过夜。次日,TBST 清洗后去除一抗,加入 HRP 标记的羊抗兔二抗(1:500)孵育 1~2 h,洗膜后,用 ECL 化学发光液进行显色,用凝胶成像系统进行蛋白成像,拍照记录。以 GAPDH 作为内参,用 Image J 对蛋白条带灰度值进行定量分析。

1.5 CCK-8 实验检测 A549 细胞的增殖能力

在 96 孔板中加入 100 μ l 培养基,之后每孔接种 10 μ l 密度为 1×10^2 个/ μ l 的 A549 细胞悬液,在 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 24 h。每孔加入 10 μ l 的 CCK-8 溶液,37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养 2 h 后,用酶标仪测定 A549 细胞培养 0、24、48、72 和 96 h 后波长在 450 nm 处的光密度(D)值。

1.6 Transwell 实验检测 A549 细胞的侵袭能力

将 50 mg/l Matrigel 基质胶用无血清的培养基稀释至 1:8,后将稀释后的 Matrigel 基质胶铺于 Transwell 上小室,置于 37 °C 培养箱中干燥 2 h。将 200 μ l 密度为 1×10^6 个/ml 的 A549 细胞悬液加入预先使用 Matrigel 基质胶处理后的 Transwell 上小室内;下室内

加入 500 μ l 含 FBS 的培养基, 培养 24 h 后, 取出 Transwell 小室, 弃去培养液, 用 PBS 清洗 2 遍, 甲醛固定 30 min, 将小室风干后, 用 0.1% 结晶紫染色 45 min, PBS 清洗后, 用棉签轻轻擦掉上室水分。光学显微镜下 ($\times 200$) 随机选择 5 个视野观察、计数穿膜细胞数。

1.7 Annexin-V-FITC/PI 染色流式细胞术检测 A549 细胞的凋亡

将处于对数生长期密度为 1×10^6 个/ml 的 A549 细胞悬液转移至 10 ml EP 管中, 4 $^{\circ}$ C、离心后弃上清, 用 500 μ l 预冷的 PBS 洗涤细胞 2 次。在 EP 管分别加入 5 μ l Annexin V-FITC 染色液, 充分混合后, 再加入 5 μ l 的 PI 染色液, 混匀后室下避光染色 20 min, 上流式细胞仪检测细胞的凋亡情况。

1.8 双荧光素酶报告基因验证 miR-23b 和 PTEN 的靶向关系

利用 TargetScan 数据库预测 miR-23b 潜在的靶向基因。将野生型及突变型 PTEN 3'-UTR 上下游各 200 bp 区域构建至 pGLO-basic 载体中报告基因的下游, 然后分别与表达载体 pcDNA-EGFP-pre-miR-23b 和 miR-NC 共转染入至 293T 细胞中, 培养 12 h 后, 弃去培养液, 添加 0.5 ml 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养液 (不含抗生素), 继续培养 36 h 后用 PBS 洗涤 3 次, 弃尽洗液, 每孔中加入 200 μ l 细胞裂解液, 轻微振荡 15 min, 于 4 $^{\circ}$ C 条件下 $1000 \times g$ 离心 5 min, 吸出上清液并加到空白不透明的 96 孔板中。在酶标仪上检测萤火虫和海肾荧光值, 以海肾荧光素酶作为内参, 计算相对荧光素酶活性。相对荧光素酶活性 = 萤火虫荧光素酶活性值/海肾荧光素酶活性值。

1.9 统计学处理

1.3~1.8 实验均重复 3 次。用 SPSS 20.0 软件对实验数据进行统计分析, 用 GraphPad Prism 7 软件绘制实验相关图片。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-23b 在肺癌细胞系中高表达

qPCR 实验结果 (图 1) 显示, 与 BEAS-2B 细胞比较, 肺癌 NCI-H1650、NCI-H175、Calu-1、LTEP-A-2、MSTO-211H 和 A549 细胞中 miR-23b 表达水平均显著升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 其中以 A549 细胞中表达水平最高 ($P < 0.01$), 所以后续实验选用 A549 细胞。

2.2 敲降 miR-23b 可增强 A549 细胞的放疗敏感性

CCK-8 实验结果 (图 2A) 显示, 随着 ^{60}Co γ -射线剂量的上调, A549 细胞增殖能力显著受到抑制, 且半抑制剂浓度 IC_{50} 为 3.49 Gy。

qPCR 实验结果 (图 2B、C) 显示, 随着放疗剂量的递增, A549 细胞中 miR-23b 的表达水平显著下调 ($P < 0.05$); 转染 miR-23b inhibitor 后, A549 细胞中 miR-23b 的表达水平显著低于对照组 ($P < 0.01$)。CCK-8 及 Transwell 检测结果 (图 2D、E) 显示, A549 细胞增殖及侵袭能力随着辐射强度的增强显著下降, 敲降 miR-23b 后细胞的增殖及侵袭能力显著低于对照组 ($P < 0.05$)。流式细胞术检测结果 (图 2F) 显示, A549 细胞凋亡率随着辐射强度的增强显著增高, 且敲降 miR-23b 的 A549 细胞凋亡水平显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

上述结果表明, 敲降 miR-23b 抑制 A549 细胞增殖和侵袭能力并促进细胞凋亡, 增强 A549 细胞的放疗敏感性。

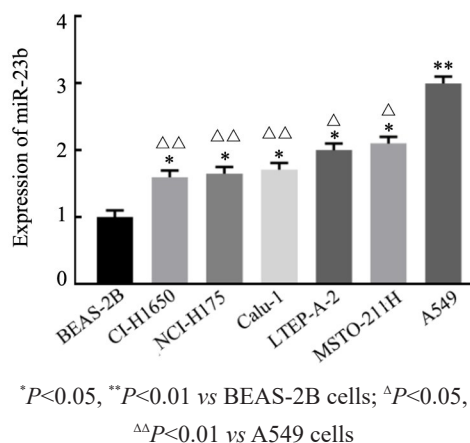


图 1 miR-23b 在肺癌细胞系中高表达

Fig.1 miR-23b was upregulated in lung cancer cell lines

2.3 miR-23b 靶向调控 PTEN

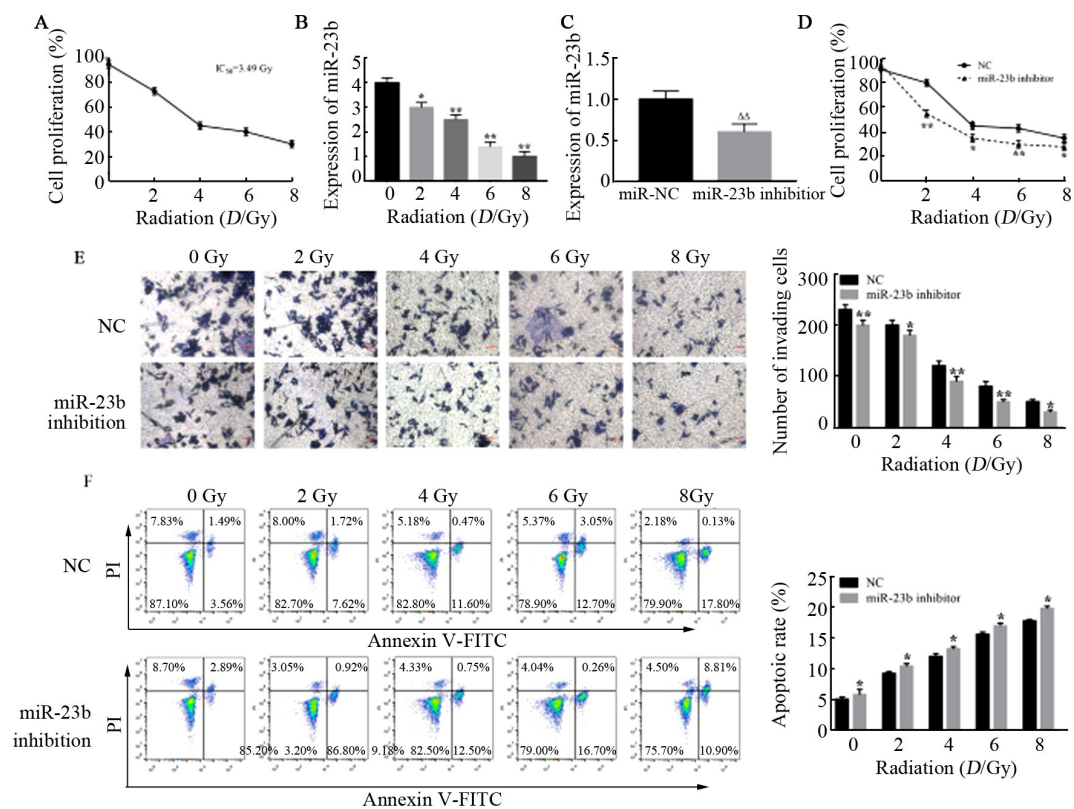
生物信息学 TargetScan 数据库分析结果 (图 3A) 显示, miR-23b 能结合 PTEN 的 3'-UTR 区域。双荧光素酶报告基因实验结果 (图 3B) 证实, 过表达 miR-23b 显著抑制了 PTEN-Wt 荧光素酶活性 ($P < 0.05$), 且对 PTEN-Mut 荧光素酶活性无影响。WB 结果 (图 3C) 显示, 与对照组比较, 转染 miR-23b mimics 显著地抑制了 PTEN 的表达水平 ($P < 0.05$)。结果表明, miR-23b 靶向 PTEN 并对 PTEN 起到负调控的作用。

2.4 miR-23b/PTEN 分子轴对 A549 细胞放疗敏感性的影响

WB 实验结果 (图 4A) 显示, 与对照组比较, 转染 pcDNA3.1-PTEN 后, PTEN 的表达水平显著升高 ($P < 0.05$), 而同时转染 miR-23b mimics 和 pcDNA3.1-PTEN 后, PTEN 的表达水平与对照组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。CCK-8 和 Transwell 检测结果 (图 4B、C) 显示, 与 Ctrl+ γ -ray 组较, 过表达 PTEN 增强 3 Gy ^{60}Co γ -射线对 A549 细胞增殖和侵袭能力的抑制作用 ($P < 0.05$), 而同时过表达 miR-23b 和 PTEN,

A549细胞的增殖和侵袭能力与Ctrl+ γ -ray组比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。Annexin V-FITC/PI染色流式细胞术检测结果(图4D)显示,与Ctrl+ γ -ray组比较,过表达PTEN增强3 Gy ^{60}Co γ -射线对A549细胞凋亡的促进作用($P<0.01$),而同时转染miR-23b

mimics和pcDNA3.1-PTEN后,A549细胞凋亡水平与Ctrl+ γ -ray组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。结果表明,敲降miR-23b靶向负调控PTEN的表达,抑制A549细胞的增殖与侵袭并促进细胞凋亡,从而增强A549细胞对 ^{60}Co γ -射线放疗的敏感性。

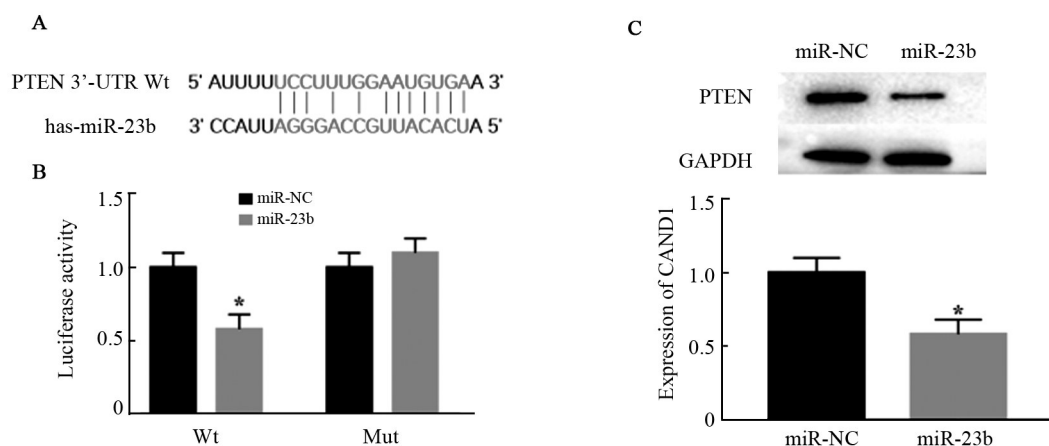


* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs NC group, $\Delta\Delta P<0.01$ vs miR-NC group

A and D: The proliferation of A549 cells was detected by CCK-8 assay; B and C: The expression of miR-23b in A549 cells was detected by qPCR; E and G: The invasion of A549 cells was detected by Transwell assay (crystal violet staining, $\times 200$); F and H: The apoptosis of A549 cells as detected by flow cytometry

图2 敲降miR-23b可以增强A549细胞的放疗敏感性

Fig.2 Knockdown of miR-23b enhanced radio-sensitivity of A549 cells

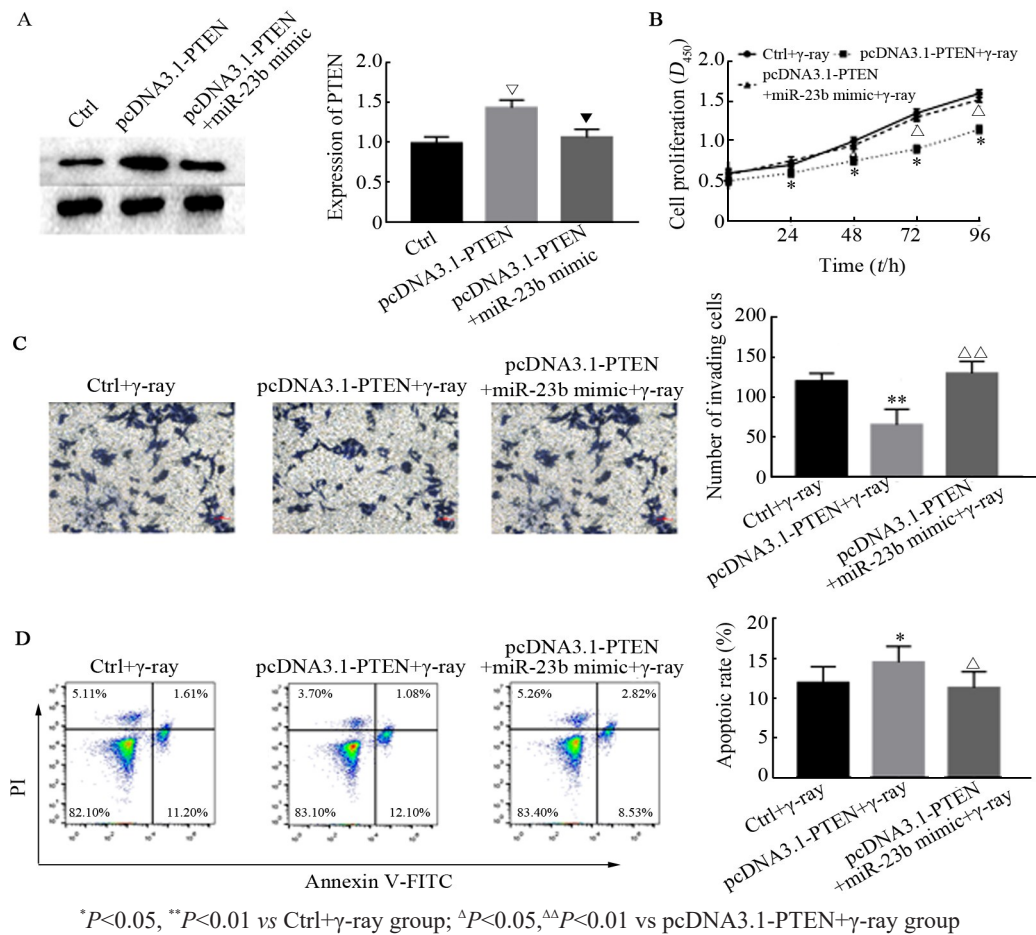


* $P<0.05$ vs miR-NC group

A: TargetScan database was used to predict the interaction between miR-23b and PTEN; B: Dual-luciferase reporter gene was applied to detect the luciferase activity of 293T cells; C: WB was used to measure the expression of PTEN in A549 cells

图3 miR-23b靶向调控PTEN

Fig.3 miR-23b targeted by regulated PTEN



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Ctrl+ γ -ray group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs pcDNA3.1-PTEN+ γ -ray group

A: The expression of PTEN was detected by WB; B: The expression of PTEN detected by qPCR; C: CCK-8 assay was applied to evaluate proliferation of A549 cells; D: The invasion of A549 cells was detected by Transwell assay (crystal violet staining, $\times 200$); E: Flow cytometry was used to measure the apoptosis of A549 cells

图4 miR-23b/PTEN 分子轴对 A549 细胞放疗敏感性的影响

Fig.4 Effect of miR-23b/PTEN axis on radio-sensitivity of A549 cells

3 讨论

肺癌已成为中国发病率和病死率均最高的恶性肿瘤,放疗是肺癌治疗的主要手段之一^[13]。miRNA 是一类由 20~24 个核苷酸组成的非编码单链 RNA 分子,它们在动植物中参与转录后基因表达调控^[14]。研究^[15-17]发现,多种 miRNA 在肿瘤的发生发展中起重要作用,影响肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移及凋亡,并参与调控肿瘤细胞的放疗敏感性。通过 miRNA 差异表达分析发现,miR-23b 与乳腺癌预后较差及放疗敏感性相关^[18];miR-23b 在胰腺癌放疗抵抗细胞中高表达,敲降 miR-23b 可上调 ATG12 的表达水平,从而促进自噬、缓解胰腺癌细胞的放疗抵抗^[19]。由此可知,miR-23b 作为促癌因子介导多种肿瘤的发生及发展。本研究证实,敲降 miR-23b 可以抑制肺癌 A549 细胞的增殖、侵袭并促进细胞凋亡,从而增强 A549 细胞的放疗敏感性。但 miR-23b 调控肺癌的具体机制还需

进一步探讨。

近年来,越来越多的研究证实,miRNA 是通过调控其下游靶基因的转录进而发挥促癌或抑癌的作用。本研究通过生物信息学预测发现 PTEN 是 miR-23b 的下游靶基因。PTEN 具有蛋白磷酸酶和脂质磷酸酶活性,是第一个具有磷酸酶活性的抑癌因子^[20]。研究^[21-22]发现,USP10 通过上调 PTEN 的表达水平,从而抑制肺癌细胞的增殖及侵袭;过表达 PTEN 能够逆转 miR-21 对肺癌细胞增殖及侵袭的促进作用,此与本研究过表达 PTEN 抑制肺癌 A549 细胞的恶性生物学行为的结果一致,且本研究进一步证实了过表达 PTEN 可以缓解肺癌 A549 细胞的放疗敏感性,但是对于 PTEN 的下游通路还有待深入研究。大量研究^[23-25]证明,PTEN 通过调控 PI3K/Akt 信号通路,从而影响肺癌细胞的增殖、分化、侵袭和细胞内转运等生物学行为。由此可见,在肺癌 A549 细胞中 PI3K/Akt 很可能是 PTEN 的下游通路,且对于 PTEN 通过调控

PI3K/Akt信号通路,进而介导A549细胞放疗敏感性的分子机制将是课题组后续研究的重点。

综上所述,本研究探讨miR-23b/PTEN分子轴对肺癌A549细胞放疗敏感性的影响及其分子机制。研究发现,miR-23b在肺癌细胞系中高表达,且miR-23b可靶向负调控PTEN的表达水平;敲降miR-23b可上调PTEN的表达水平,从而抑制A549细胞的增殖、侵袭并促进细胞凋亡,进而增强肺癌A549细胞的放疗敏感性。但本研究对PTEN上游或下游相关通路研究还不够充分,同时缺少相关动物实验加以证实,因此后续实验将结合动物实验进一步探究miR-23b是否通过介导相关信号调控PTEN的表达进而参与肺癌的发展。

[参考文献]

- [1] LENG A L, JING J, NICHOLAS S, et al. Geographical disparities in treatment and health care costs for end-of-life cancer patients in China: a retrospective study[J/OL]. *BMC Cancer*, 2019, 19(1): 39[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6325809/>. DOI: 10.1186/s12885-018-5237-1.
- [2] XIONG K, SHAO L H, ZHANG H Q, et al. MicroRNA-9 functions as a tumor suppressor and enhances radio-sensitivity in radio-resistant A549 cells by targeting neuropilin 1[J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 15(3): 2863-2870[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5778782/>. DOI:10.3892/ol.2017.7705.
- [3] SHANG C, LANG B, AO C N, et al. Long non-coding RNA tumor suppressor candidate 7 advances chemotherapy sensitivity of endometrial carcinoma through targeted silencing of miR-23b[J]. *Tumour Biol*, 2017, 39(6): 1010428317707883. DOI:10.1177/1010428317707883.
- [4] ZHANG J, ZHANG Y, TAN X P, et al. MiR-23b-3p induces the proliferation and metastasis of esophageal squamous cell carcinomas cells through the inhibition of EBF3[J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2018, 50(6): 605-614. DOI:10.1093/abbs/gmy049.
- [5] YIREN H, YINGCONG Y, SUNWU Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 regulates autophagy associated chemoresistance via miR-23b-3p sequestration in gastric cancer[J/OL]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 174[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5699172/>. DOI:10.1186/s12943-017-0743-3.
- [6] HAFSI S, CANDIDO S, MAESTRO R, et al. Correlation between the overexpression of Yin Yang 1 and the expression levels of miRNAs in Burkitt's lymphoma: a computational study[J/OL]. *Oncol Lett*, 2016, 11(2): 1021-1025[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4734029/>. DOI:10.3892/ol.2015.4031.
- [7] NAKANISHI A, KITAGISHI Y, OGURA Y, et al. The tumor suppressor PTEN interacts with p53 in hereditary cancer (Review)[J]. *Int J Oncol*, 2014, 44(6): 1813-1819. DOI:10.3892/ijo.2014.2377.
- [8] ZHANG J, XU E S, REN C, et al. Genetic ablation of Rbm38 promotes lymphomagenesis in the context of mutant p53 by downregulating PTEN[J/OL]. *Cancer Res*, 2018, 78(6): 1511-1521[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6340497/>. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-17-2457.
- [9] LIU L G, YAN X B, WU D P, et al. High expression of Ras-related protein 1A promotes an aggressive phenotype in colorectal cancer via PTEN/FOXO3/CCND1 pathway[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 178[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6069867/>. DOI:10.1186/s13046-018-0827-y.
- [10] VAN DE VEN A L, TANGUTOORI S, BALDWIN P, et al. Nano-formulation of olaparib amplifies PARP inhibition and sensitizes PTEN/TP53-deficient prostate cancer to radiation[J/OL]. *Mol Cancer Ther*, 2017, 16(7): 1279-1289[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6089215/>. DOI:10.1158/1535-7163.MCT-16-0740.
- [11] SIZEMORE G M, BALAKRISHNAN S, THIES K A, et al. Stromal PTEN determines mammary epithelial response to radiotherapy[J/OL]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 2783[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6050339/>. DOI:10.1038/s41467-018-05266-6.
- [12] KHOSHINANI H M, AFSHAR S, PASHAKI A S, et al. Involvement of miR-155/FOXO3a and miR-222/PTEN in acquired radioresistance of colorectal cancer cell line[J]. *Jpn J Radiol*, 2017, 35(11): 664-672. DOI:10.1007/s11604-017-0679-y.
- [13] SUN K X, ZHENG R S, ZENG H M, et al. The incidence and mortality of lung cancer in China, 2014[J]. *Chin J Oncol*, 2018, 40(11): 805-811. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2018.11.002.
- [14] WITWER K W, HALUSHKA M K. Toward the promise of microRNAs-enhancing reproducibility and rigor in microRNA research[J/OL]. *RNA Biol*, 2016, 13(11): 1103-1116[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5100345/>. DOI:10.1080/15476286.2016.1236172.
- [15] LI A L, CHUNG T S, CHAN Y N, et al. MicroRNA expression pattern as an ancillary prognostic signature for radiotherapy[J/OL]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 341[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6282371/>. DOI:10.1186/s12967-018-1711-4.
- [16] WANG L J, LI N N, XU S J, et al. A new and important relationship between miRNA-147a and PDPK1 in radiotherapy[J/OL]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(4): 3519-3527[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6009837/>. DOI:10.1002/jcb.26523.
- [17] CHEN L, WEN Y H, ZHANG J W, et al. Prediction of radiotherapy response with a 5-microRNA signature-based nomogram in head and neck squamous cell carcinoma[J/OL]. *Cancer Med*, 2018, 7(3): 726-735[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5852342/>. DOI:10.1002/cam4.1369.
- [18] WONG A C, WATSON S P, PITRODA S P, et al. Clinical and molecular markers of long-term survival after oligometastasis-directed stereotactic body radiotherapy (SBRT) [J]. *Cancer*, 2016, 122(14): 2242-2250. DOI:10.1002/cncr.30058.
- [19] WANG P, ZHANG J, ZHANG L, et al. MicroRNA 23b regulates autophagy associated with radioresistance of pancreatic cancer cells[J/OL]. *Gastroenterology*, 2013, 145(5): 1133-1143.e12[2019-06-05]. <http://www.sciencedirect.com/science/journal/00165085>. DOI: 10.1053/j.gastro.2013.07.048.
- [20] XIN X R, WU M Y, MENG Q Y, et al. Long noncoding RNA HULC accelerates liver cancer by inhibiting PTEN via autophagy cooperation to miR15a[J/OL]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 94[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5998602/>.

- DOI:10.1186/s12943-018-0843-8.
- [21] SUN J, LI T X, ZHAO Y Y, et al. USP10 inhibits lung cancer cell growth and invasion by upregulating PTEN[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 441(1/2): 1-7. DOI:10.1007/s11010-017-3170-2.
- [22] ZHANG J G, WANG J J, ZHAO F, et al. MicroRNA-21 (miR-21) represses tumor suppressor PTEN and promotes growth and invasion in non-small cell lung cancer (NSCLC)[J]. *Clin Chim Acta*, 2010, 411(11/12): 846-852. DOI:10.1016/j.cca.2010.02.074.
- [23] PÉREZ-RAMÍREZ C, CAÑADAS-GARRE M, MOLINA M Á, et al. PTEN and PI₃K/AKT in non-small-cell lung cancer[J]. *Pharmacogenomics*, 2015, 16(16): 1843-1862. DOI:10.2217/pgs.15.122.
- [24] PU X, HILDEBRANDT M A, LU C, et al. PI₃K/PTEN/AKT/mTOR pathway genetic variation predicts toxicity and distant progression in lung cancer patients receiving platinum-based chemotherapy[J/OL]. *Lung Cancer*, 2011, 71(1): 82-88[2019-06-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2952281/>. DOI:10.1016/j.lungcan.2010.04.008.
- [25] AKCA H, DEMIRAY A, TOKGUN O, et al. Invasiveness and anchorage independent growth ability augmented by PTEN inactivation through the PI₃K/AKT/NFκB pathway in lung cancer cells[J]. *Lung Cancer*, 2011, 73(3): 302-309. DOI: 10.1016/j.lungcan.2011.01.012.

[收稿日期] 2019-06-05

[修回日期] 2019-09-24

[本文编辑] 党瑞山