

· 中药药理与质量 ·

miR-21、miR-182、miR-382在非小细胞肺癌中的临床意义
及益气除痰法的干预作用

孙玲玲, 乔靖, 伍家鸣, 林丽珠

(广州中医药大学第一附属医院, 广东广州 510405)

摘要:【目的】分析miR-21、miR-182、miR-382基因对肺癌进展的影响及益气除痰法的干预作用。【方法】应用生存分析在线软件Kaplan-Meier plotter分析miR-21、miR-182、miR-382对肺癌预后的影响,应用功能富集分析工具FunRich数据库对miR-21、miR-182、miR-382进行功能富集、通路富集分析, GeneMANIA数据库分析靶基因蛋白的互作网络。选取单纯中药治疗中晚期非小细胞肺癌患者(设为“中医组”)和中药联合维持化疗的中晚期非小细胞肺癌患者(设为“结合组”),采用定量聚合酶链反应(PCR)方法分析益气除痰法对患者外周血中miR-21、miR-182、miR-382表达的影响。【结果】miR-21、miR-382的表达量与肺腺癌的生存期呈负相关,与肺鳞癌的生存期关系不明显。miR-182的表达量与肺腺癌患者的生存期无明显相关性,与肺鳞癌的生存期呈正相关。miR-21、miR-182、miR-382靶基因的功能主要为信号传导、细胞之间的通讯,所涉及的信号通路主要包括:整合素家族信号通路、血管内皮生长因子(VEGF)/血管内皮生长因子受体(VEGFR)通路及肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)通路等。miR-21与肿瘤转移密切相关的靶基因包括:RECK、TNFRSF11B、TGFB1、PDCD4、SPRY2、FOXF2。中医组miR-21的增加水平较结合组低。【结论】miR-21可能影响肿瘤转移及肺腺癌的生存,益气除痰法可能通过调控miR-21的表达有效治疗中晚期非小细胞肺癌。

关键词: 益气除痰法; 肺癌; miR-21; miR-182; miR-382; 生存

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-3213(2021)03-0548-08

DOI: 10.13359/j.cnki.gzxbtcm.2021.03.021

Clinical Significance of miR-21, miR-182 and miR-382 in Non-Small
Cell Lung Cancer and Intervention Effect of Qi-Replenishing and
Phlegm-Removing Therapy

SUN Ling-Ling, QIAO Jing, WU Jia-Ming, LIN Li-Zhu

(The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To analyze the effects of miR-21, miR-182, miR-382 genes on the progression of lung cancer and the intervention effect of qi-replenishing and phlegm-removing therapy. **Methods** The effects of miR-21, miR-182 and miR-382 on prognosis of lung cancer were analyzed by online software Kaplan-Meier plotter, the functional enrichment and pathway enrichment of miR-21, miR-182 and miR-382 were analyzed by FunRich database, and the interaction network of target gene proteins was analyzed by GeneMANIA database. We selected the non-small-cell lung cancer (NSCLC) patients received Chinese herbal medicine alone (served as Chinese medicine group) and the NSCLC patients received Chinese herbal medicine combined with chemotherapy (served as combination group), Quantitative polymerase chain reaction (PCR) was used to analyze the effect of qi-replenishing and phlegm-removing therapy on the expression of miR-21, miR-182 and miR-382 in peripheral blood of the patients. **Results** The expression level of miR-21 and miR-382 was negatively correlated with the

收稿日期: 2020-06-02

作者简介: 孙玲玲(1985-), 女, 主治医师; E-mail: sunlingling5094@gzucm.edu.cn.

通讯作者: 林丽珠, 女, 教授, 博士研究生导师; E-mail: lizhulin26@yahoo.com

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(编号: 81973775, 81573780); 广东省自然科学基金资助项目(编号: 2020A1515011176)

survival period of lung adenocarcinoma, but had no obvious correlation with the survival period of lung squamous cell carcinoma. The expression level of miR-182 had no significant correlation with the survival period of lung adenocarcinoma, but was positively correlated with survival of patients with lung squamous cell carcinoma. The functions of target genes of miR-21, miR-182, miR-382 were mainly related to signal transduction and intercellular communication, and the involved signal pathways mainly included integrin family signal pathway, vascular endothelial growth factor (VEGF)/vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR) pathway, necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) pathway. The miR-21 target genes such as RECK, TNFRSF11B, TGFBI, PDCD4, SPRY2, FOXF2 was associated with tumor metastasis. The increase level of miR-21 in the Chinese medicine group was lower than that in the combination group. **Conclusion** miR-21 has possible effects on tumor metastasis and survival of lung adenocarcinoma. Qi-replenishing and phlegm-removing therapy is possibly effective for treatment of non-small-cell lung cancer by regulating expression of miR-21.

Keywords: qi-replenishing and phlegm-removing therapy; miR-21; miR-182; miR-382; lung cancer; survival

microRNA(miRNA)是一类由发卡结构的转录物形成的短的单链非编码RNA,抑制信使RNA(mRNA)的翻译或者直接导致mRNA的降解,起到调控基因表达的作用,在肿瘤的发生、发展及预后中发挥着至关重要的作用^[1]。研究发现,血清和血浆中循环的无细胞miRNAs在癌症中特异性表达,表明miRNAs可以作为癌症诊断的生物标志物^[2-4]。现已证实microRNA-21(miR-21)在非小细胞肺癌中特异性高表达,成为非小细胞肺癌诊断及判断治疗预后的标志物^[4-5]。研究表明,调控miRNA表观遗传学可能是中药抗癌的机制特点之一。

肺癌的发生发展,多因脾气亏虚,痰浊内生,痰浊蕴结于肺,且肺气亏虚,肃降无权,烟毒、雾霾等外感邪毒乘虚而入,痰毒交结,而成积块所致。肺癌的核心病机特点为“痰毒正虚”。广州中医药大学第一附属医院肿瘤中心集30年临床经验,率先确立了肺癌的中医治疗以益气除痰、解毒散结为法,方药包含有半夏、山慈菇等^[6]。经过多中心大样本的临床研究明确了益气除痰方案的临床疗效及疗效特点,既可通过稳定瘤体,延缓肿瘤的恶性进展和药物的耐药,延长生存期^[7-10],又可减轻西医治疗特别是化疗的副作用,与化疗联用可提高生存质量,改善癌因性疲乏等不良反应^[11-12]。动物及分子生物学研究结果显示,益气除痰方可通过抑制细胞迁移侵袭、抑制细胞上皮间质转化等抑制肺癌转移^[13-14],并具有增

敏甚至逆转顺铂、吉非替尼耐药的作用^[15-17]。

另外,本课题组前期研究还发现,益气除痰法中药获益非小细胞肺癌患者miR-21、microRNA-182(miR-182)、microRNA-382(miR-382)的表达与治疗前患者比较有明显差异^[17]。基于此,本研究拟进一步探讨miR-21、miR-182、miR-382对肺癌进展的影响及益气除痰法的干预作用,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 miR-21、miR-182、miR-382与生存的关系 应用Kaplan-Meier plotter数据库(<https://kmpplot.com/analysis/>)^[18],分析肺癌组织中miR-21、miR-182、miR-382表达与肺癌患者生存的关系。依次输入各基因的名称,表达项选择中间值(median value),生存项选择总生存期(overall survival, OS),病理类型项依次选择鳞癌、腺癌,统计分析项选择Cox多因素回归分析。表达项选择自动选择最佳界值(auto select best cutoff)再计算1次。

1.2 miR-21、miR-182、miR-382的靶基因功能预测 本课题组前期已预测出miR-21、miR-182、miR-382的靶基因^[17]。本研究对预测出的靶基因利用功能富集分析软件(functional enrichment analysis tool, FunRich, <http://www.funrich.org/>)进行功能富集、通路富集分析^[19],使用蛋白网络互作分析软件GeneMANIA(<http://www.genemania.org/>)分析靶基因蛋白的互作网络,分析靶基因的功能。

1.3 益气除痰法对外周血 miR-21、miR-182、miR-382 水平的影响 选取 2018 年 2 月 1 日至 2019 年 1 月 31 日于广州中医药大学第一附属医院住院或门诊的中晚期非小细胞肺癌并接受维持治疗的患者,包括自愿单纯中药治疗患者(中医组)和自愿中药联合维持化疗的患者(结合组)。中药治法均为益气除痰法,主要药物包括法半夏 9 g、僵蚕 10 g、灵芝 12 g、龙葵 12 g、猫爪草 30 g、山慈菇 9 g、西洋参 6 g、浙贝母 10 g、肿节风 30 g,水煎服,每日 2 次,连续服用直到病情进展。化疗药物为培美曲塞 500 mg/m²,静滴,每 21 d 1 次,直到病情进展。共收集到 11 例患者维持治疗前及维持治疗 2 月后的血液样本,中医组 6 例,结合组 5 例;年龄 55~68 岁;女 4 例,男 7 例;病理类型均为腺癌,分期为 IV 期。收集外周静脉血,每次 15 mL,以 3 000 r/min 离心 15 min,取上清置于无核糖核酸酶的离心管中,TRIzol 法提取总 RNA, DNase I 去基因组,检测总 RNA 的纯度和完整性。使用茎环法进行 miRNA 逆转录,进行定量 PCR。反应条件:50 ℃ 2 min;95 ℃ 2 min;95 ℃ 15 s,60 ℃ 32 s,40 个循环。目的片段设计的引物:miR-21-5p-72 bp 上游引物序列为 5'-ACACTCCA GCTGGGTAGCTTATCAGACTGATG-3',miR-182-5p-74 bp 上游引物序列为 5'-ACACTCCAGCTGGG TTTGGCAATGGTAGAACTCAC-3',miR-382-5p-72 bp 上游引物序列为 5'-ACACTCCAGCTGGGGAAG TTGTTTCGTGCTGGATTG-3';通用的 miRNA 下游引物序列为 5'-CTCAACTGGTGTCTGG A-3'。内参片段:U6-94 bp,上游引物序列为 5'-CTCGCT TCGGCAGCACA-3',下游引物序列为 5'-AACGC TTCACGAATTTGCGT-3'。熔解曲线分析:温度 60~95 ℃。每个样本重复 3 次。 $\Delta Ct=(\text{目的基因 Ct}-\text{内参基因 Ct})$ 的平均值 \pm 标准差; $\Delta\Delta Ct=(\text{待测样品中目的基因}\Delta Ct-\text{参照样品中目的基因}\Delta Ct)$ 的平均值 \pm 标准差(选择收集到的第一个样本为参照进行计算);相对表达量 $=2^{-\Delta\Delta Ct}$ 的平均值 \pm 标准差。

1.4 统计方法 各基因表达与肺癌患者生存的关系采用 Kaplan-Meier 方法进行分析,得到不同组别之间的总生存曲线图,使用 Log-Rank 检验评估组间生存差异。采用 Cox 多因素比例风险模型计算不同组别的死亡风险(hazard ratio, HR)及相对应的

95%置信区间(confidence intervals, CIs)。数据测量值表示为平均值(mean) \pm 标准差(SD)。不同基因之间表达含量的相关性检验采用 Pearson 分析,2 组治疗前后之间的差异采用配对 *t* 检验。设检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-21、miR-182、miR-382 表达与生存期的关系 应用 Kaplan-Meier plotter 数据库,分析肺癌组织中各 miRNA 基因表达与肺癌患者生存的关系。pan-cancer miRNA 数据库中肺腺癌样本量 513 例,肺鳞癌样本量为 478 例。以每个基因表达量的中间值进行二分类,进行多因素 cox 回归。结果显示:在肺腺癌中 miR-21 的表达含量与生存期相关,miR-21 高表达的患者生存期短于 miR-21 低表达的患者(HR: 1.41; 95%CI: 1.05~1.90);在肺鳞癌中二者关系不明显。miR-182 的表达含量与肺腺癌、肺鳞癌患者的生存期无明显相关性。miR-382 的表达含量与肺腺癌、肺鳞癌的生存期无明显相关性。结果见图 1。

根据 HR 结果,自动选择最佳 cutoff 值,并进行二分类,进行多因素 cox 回归。结果显示:在肺腺癌中 miR-21 的表达含量与生存期相关,miR-21 高表达的患者生存期短于 miR-21 低表达的患者(HR: 1.59; 95%CI: 1.17~2.15);在肺鳞癌中二者关系不明显。miR-182 的表达含量与肺腺癌患者的生存期无明显相关性;miR-182 高表达的肺鳞癌患者生存期明显长于 miR-182 低表达的患者(HR: 0.57; 95%CI: 0.43~0.77)。miR-382 的表达含量与肺腺癌总生存期呈负相关(HR: 1.48; 95%CI: 1.03~2.03),与肺鳞癌的生存期无明显相关性。结果见图 2。

2.2 miR-21、miR-182、miR-382 的靶基因相关通路分析 根据 FunRich 研究结果,miR-21、miR-182、miR-382 靶基因的功能主要为信号传导和细胞之间的通讯,见图 3。所涉及的信号通路主要包括整合素家族信号通路、血管内皮生长因子(VEGF)/血管内皮生长因子受体(VEGFR)通路及肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(TRAIL)通路等,见图 4。

应用 GeneMANIA 数据库进一步分析与肿瘤转移密切相关的通路及基因,见图 5。调控细胞外基

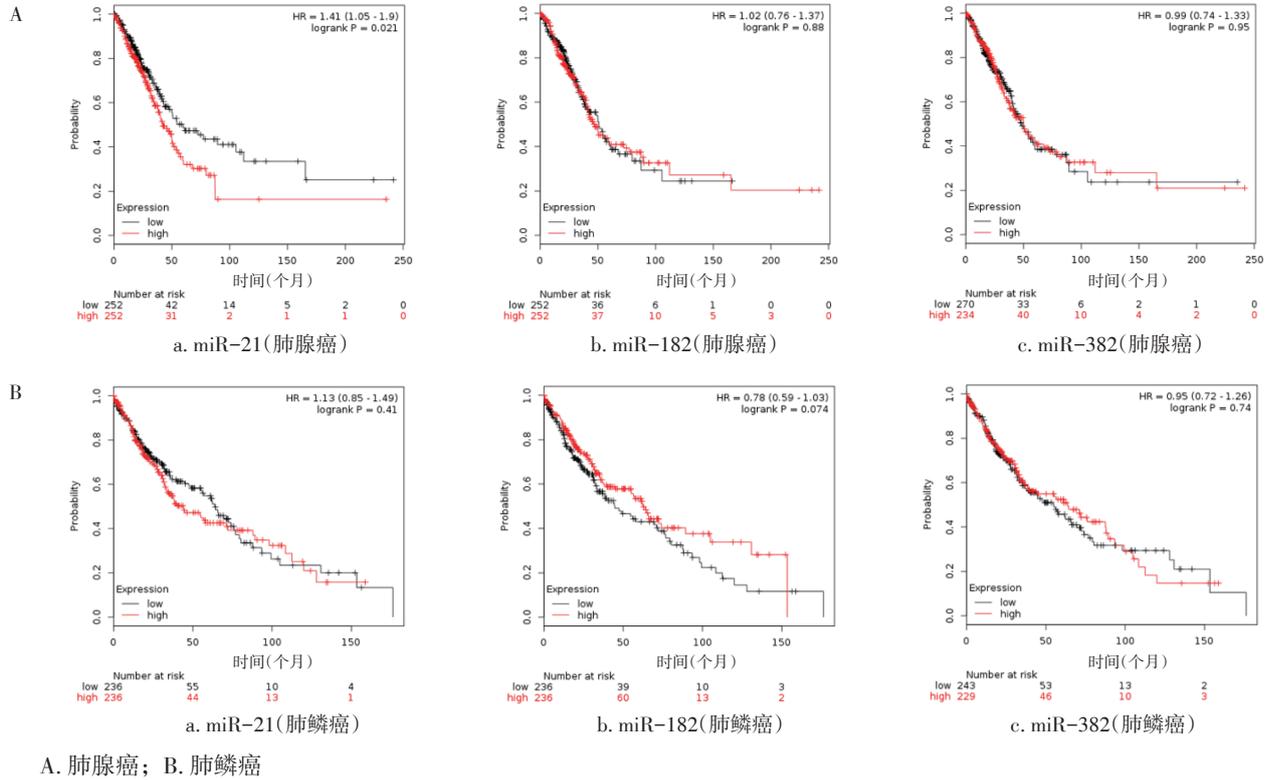


图1 miR-21、miR-182、miR-382表达与总生存期的关系(按中间值进行二分类)

Figure 1 Relationship between miR-21, miR-182, miR-382 expression and overall survival (two classification by median)

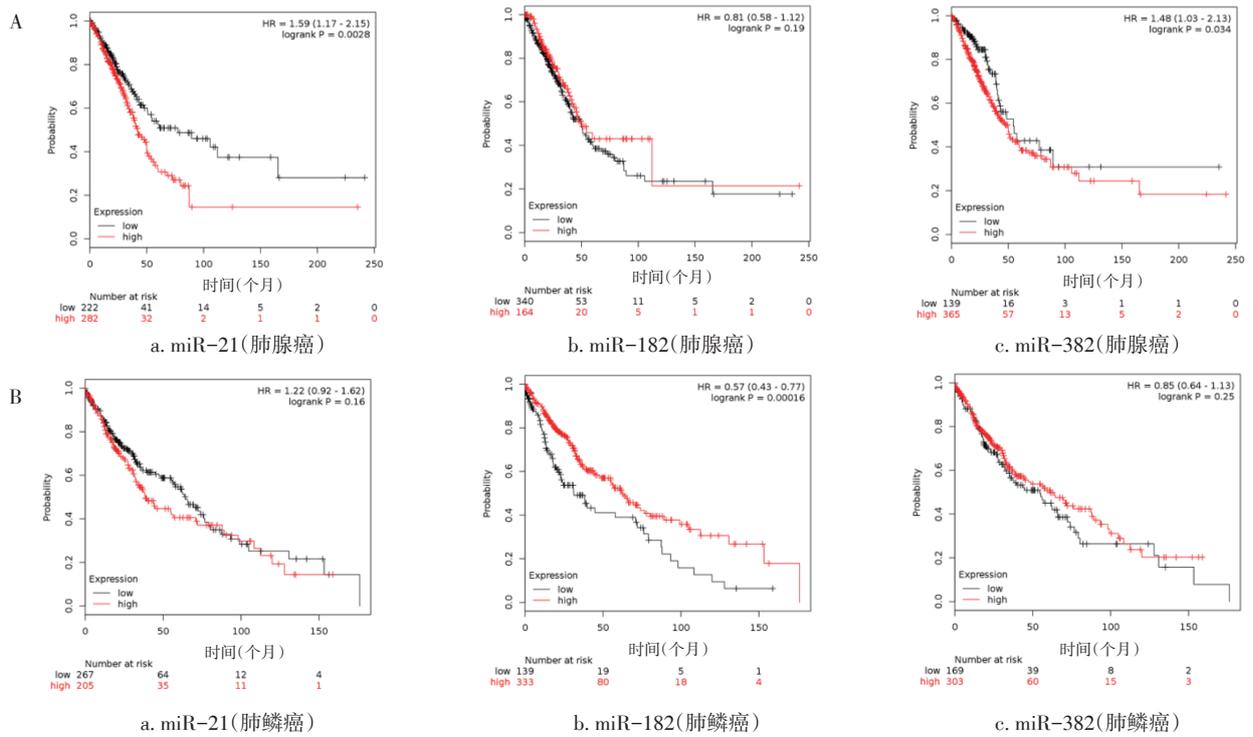


图2 miR-21、miR-182、miR-382表达与总生存期的关系(自动选择最佳cutoff值)

Figure 2 Relationship between miR-21, miR-182, miR-382 expression and overall survival (auto-selecting the best cutoff)

质的基因包括 RECK、TNFRSF11B、TGFB1，调控上皮间质转化的主要基因包括 PDCD4、SPRY2、FOXF2，以上基因均为 miR-21 的靶基因。

2.3 miR-21、miR-182、miR-382 的含量相关性 共收集到 11 例患者维持治疗前后的血液样本，中医组 6 例，结合组 5 例。目的基因 miRNA 的表达含量以 U16 作为内参基因计算各样本的 miRNA 相对表达含量。经 Pearson 两两相关性分析，结果显示 miR-21、miR-182、miR-382 三者的表达具有良好的相关性，见表 1。

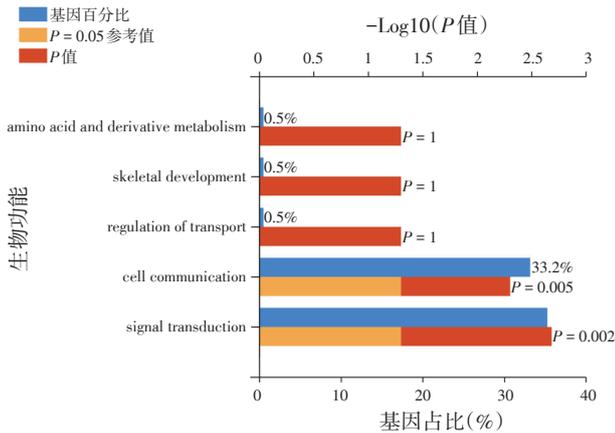


图3 miR-21、miR-182、miR-382 靶基因的生物学功能
Figure 3 Biological processes of miR-21, miR-182, miR-382 target genes

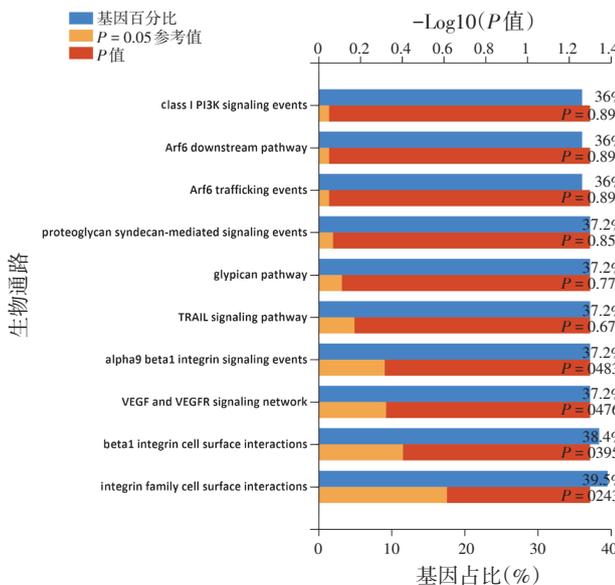


图4 miR-21、miR-182、miR-382 靶基因所涉及的信号通路

Figure 4 Biological pathways of miR-21, miR-182, miR-382 target genes

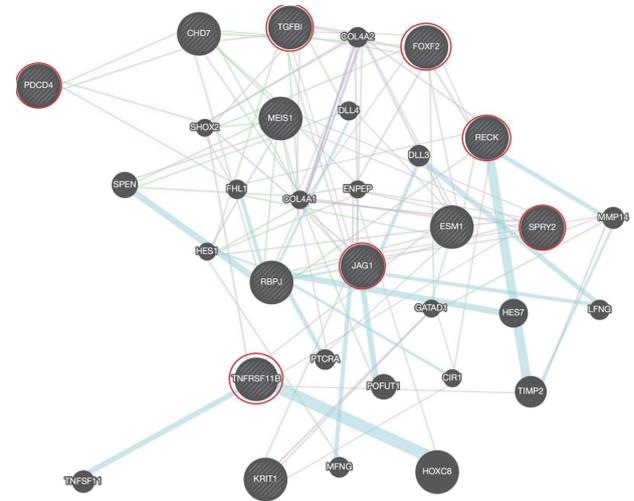


图5 miR-21、miR-182、miR-382 转移相关靶基因的蛋白互作网络图

Figure 5 Protein-protein interaction network of miR-21, miR-182, miR-382 target genes related to metastasis

表 1 指标含量之间的相关性

Table 1 Correlation among expression levels of the miRNAs

指标 1	指标 2	相关系数	P 值
miR-182	miR-382	0.995	0.000
miR-21	miR-182	0.929	0.000
miR-21	miR-382	0.909	0.000

2.4 治疗前后目的基因的表达变化 如图 6 所示，中医组 miR-182、miR-382 以上调为主，而 miR-21 的表达变化一致性较差。中医联合化疗的结合组 miR-21、miR-182、miR-382 的变化一致性较差。比较中医组与中医联合化疗的结合组中 miR-21 的表达变化，中医组治疗前后的上调幅度 (0.397 ± 0.824) 较结合组 (2.410 ± 1.666) 低，但差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (注：结合组去除 1 例上调明显的患者)。

3 讨论

大量研究表明，miRNA 通过调控细胞周期、细胞凋亡、细胞迁移和血管生成等肿瘤相关基因的表达，参与了肿瘤的发生、发展和预后^[1]。本研究首先分析了 miR-21、miR-182、miR-382 与肺癌预后的关系，结果显示：miR-21、miR-382 的含量与肺腺癌的预后呈负相关，与肺鳞癌的预后没有

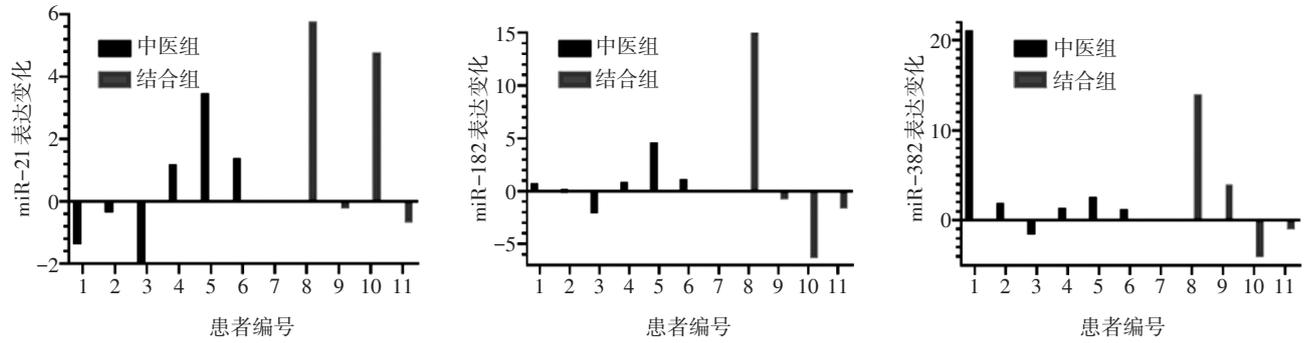


图6 miR-21、miR-182、miR-382在治疗前后的表达变化

Figure 6 Comparison of expression levels of miR-21, miR-182, miR-382 before and after treatment

明显相关性。miR-182的表达含量与肺腺癌的预后无明显相关性，与肺鳞癌的预后呈正相关。

研究表明，miR-21在多种实体瘤中表达升高，特别是肺癌，miR-21在肿瘤分期高、有淋巴结转移及有吸烟史的肺癌患者中表达更高^[20-22]。miR-21与第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源蛋白(PTEN)的表达密切相关，并促进肿瘤细胞的增殖、转移及化疗、放疗、靶向治疗的耐药，与预后显著相关^[23-24]。在肺癌细胞中，miR-21与转化生长因子 β (TGF- β)关系密切，共同介导上皮间质的转化过程^[25-26]。除了在肿瘤细胞中高表达外，在卵巢癌等癌组织中，miR-21在 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)阳性的癌相关成纤维细胞(CAFs)也表达升高，其表达甚至高于癌细胞^[27]。CAF中的miR-21也发挥重要作用，一方面，miR-21可由CAF通过外泌体传递给临近的癌细胞导致癌细胞发生上皮间质转化和耐药。在miR-21促上皮间质转化过程中，PDCD4是其靶基因，miR-21抑制PDCD4的表达，促进上皮间质转化发生^[28]。另一方面，miR-21的上调可促进CAF的招募和活化。miR-21的上调诱导肺成纤维细胞分泌新的CAF分泌蛋白钙腔蛋白及表达CAF标记物 α -SMA，激活肺成纤维细胞成为CAF^[29]。miR-182调控上皮间质转化增强迁移能力，同时与增殖、侵袭能力的增强密切相关^[30]。研究表明，miR-182在TGF- β 诱导的上皮间质转化中发挥重要作用，TGF- β 通过激活miR-182抑制Smad7蛋白的表达。miR-182沉默可抑制TGF- β 诱导的上皮间质转化和癌细胞侵袭^[31]。miR-182的过度表达促进乳腺肿瘤侵袭。FOX2、RECK、RhoA、MTSS1是miR-182主要调控的靶基因，促进肿瘤的转移侵袭

和化疗药物耐药^[32-33]。miR-182通过靶向调控PDCD4调节肺癌细胞的化疗耐药^[34]。miR-382靶向调控NR2F2抑制结肠癌的进展和转移^[35]，调控I型受体酪氨酸激酶样孤儿受体(receptor tyrosine kinase like orphan receptor 1, ROR1)抑制卵巢癌细胞的迁移侵袭和上皮间质转化^[36]。

本课题组前期观察到晚期非小细胞肺癌患者益气除痰方治疗前后外周血中miR-21、miR-182、miR-382差异表达^[17]，在本研究进一步得到证实。通过对miR-21、miR-182、miR-382靶基因所涉及信号通路分析进一步确证了益气除痰方抗肺癌转移的机制。miR-21、miR-182、miR-382的靶基因主要涉及的生物学过程与转移密切相关，其中整合素家族信号通路介导细胞与细胞外基质之间的粘附^[37]，VEGF/VEGFR通路介导血管新生^[38]，高表达的TRAIL可促进肺转移的发生^[39]。miR-21、miR-182、miR-382靶基因中包含多个与转移密切相关的基因，包括调控细胞外基质的基因RECK、TNFRSF11B、TGFB1，其中RECK可以抑制基质金属蛋白酶的表达^[40]，TNFRSF11B调节肿瘤坏死因子TNF的表达，TGFB1则调节TGF- β 表达；调控上皮间质转化的主要基因PDCD4、SPRY2^[41]、FOX2^[42]。上述既往研究说明，miR-21、miR-382等促进肿瘤细胞的增殖、转移及化疗、放疗、靶向治疗的耐药，与预后显著相关。本研究结果显示，中医组的miR-21增加水平较结合组低，通过分析我们认为，miR-21为主介导的转移侵袭及细胞间相关作用可能是益气除痰方治疗肺癌发挥疗效的主要机制。

本研究探索性分析了益气除痰方治疗方案对中晚期非小细胞肺癌外周血中miR-21、miR-382、

miR-182等表达的影响,得到了初步的研究结果,但因为样本量较小,仍需要较大样本量来进一步验证。

参考文献:

- [1] MCMANUS M T. MicroRNAs and cancer[J]. *Semin Cancer Biol*, 2003, 13(4): 253-258.
- [2] GUO S, ZHANG J, WANG B, et al. A 5-serum miRNA panel for the early detection of colorectal cancer[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 2603-2614.
- [3] KELLER A, LEIDINGER P, GISLEFOSS R, et al. Stable serum miRNA profiles as potential tool for non-invasive lung cancer diagnosis[J]. *RNA Biol*, 2011, 8(3): 506-516.
- [4] WANG Z X, BIAN H B, WANG J R, et al. Prognostic significance of serum miRNA-21 expression in human non-small cell lung cancer[J]. *J Surg Oncol*, 2011, 104(7): 847-851.
- [5] ROA W H, KIM J O, RAZZAK R, et al. Sputum microRNA profiling: a novel approach for the early detection of non-small cell lung cancer[J]. *Clin Invest Med*, 2012, 35(5): E271.
- [6] 孙玲玲, 林丽珠. 益气除痰法治疗肺癌理论探讨及临床应用[J]. *中医研究*, 2011, 24(10): 1-3.
- [7] 高天琦, 陈芝强, 林丽珠, 等. 益气除痰法对晚期非小细胞肺癌患者生存期影响的meta分析[J]. *中医学报*, 2018, 243(8): 1383-1387.
- [8] 周岱翰, 林丽珠, 田华琴, 等. 益气化痰法为主中医药治疗方案对老年非小细胞肺癌中位生存期的影响: 一项多中心、前瞻性临床队列研究[J]. *世界中医药*, 2014, 9(7): 833-838.
- [9] 周岱翰, 林丽珠, 周宜强, 等. 中西医结合治疗非小细胞肺癌近期疗效观察[J]. *中国中西医结合杂志*, 2005, 25(12): 1061-1065.
- [10] 周岱翰, 林丽珠, 周宜强, 等. 益气除痰法延长非小细胞肺癌中位生存期的作用[J]. *中医杂志*, 2005, 46(8): 600-602.
- [11] 吕文姣, 欧阳明子, 林丽珠, 等. 益气除痰方对非小细胞肺癌患者化疗相关性疲劳的防治作用[J]. *中医药导报*, 2015, 21(10): 3134.
- [12] 高天琦, 郑丹如, 陈芝强, 等. 益气除痰法联合化疗对晚期非小细胞肺癌患者生存质量的Meta分析[J]. *时珍国医国药*, 2017, 28(6): 1501-1505.
- [13] 周京旭, 吕文姣, 欧阳明子, 等. 益气除痰方干预TGF- β 信号途径逆转A549细胞上皮间质转化研究[J]. *中药材*, 2016, 39(7): 1643-1646.
- [14] 陈昌明, 孙玲玲, 林丽珠. 益气除痰方对BALB/c-nu裸小鼠A549肺癌转移的抑制作用及其机制探索[J]. *中药新药与临床药理*, 2016, 27(4): 513-519.
- [15] ZHANG J, SUN L, CUI J, et al. Yiqi Chutan Tang reduces gefitinib-induced drug resistance in non-small-cell lung cancer by targeting apoptosis and autophagy[J]. *Cytometry A*, 2020, 97(1): 70-77.
- [16] 李元滨, 林丽珠, 王超, 等. 益气除痰方联合顺铂对肺癌耐药皮下移植瘤生长及Bax、Bcl-2表达的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2019, 34(2): 755-758.
- [17] 李元滨. 益气除痰法通过caspase-4途径抗癌及中西医联合治疗晚期NSCLC miRNA表达谱初步研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2014.
- [18] GYORFFY B, SUROWIAK P, BUDCZIES J, et al. Online survival analysis software to assess the prognostic value of biomarkers using transcriptomic data in non-small-cell lung cancer[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e82241.
- [19] PATHAN M, KEERTHIKUMAR S, ANG C S, et al. FunRich: an open access standalone functional enrichment and interaction network analysis tool[J]. *Proteomics*, 2015, 15(15): 2597-2601.
- [20] 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.
- [21] ZHAO W, ZHAO J J, ZHANG L, et al. Serum miR-21 level: a potential diagnostic and prognostic biomarker for non-small cell lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9): 14759-14763.
- [22] YUAN Y, XU X Y, ZHENG H G, et al. Elevated miR-21 is associated with poor prognosis in non-small cell lung cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(13): 4166-4180.
- [23] LI B, REN S, LI X, et al. MiR-21 overexpression is associated with acquired resistance of EGFR-TKI in non-small cell lung cancer[J]. *Lung Cancer*, 2014, 83(2): 146-153.
- [24] LIU Z L, WANG H, LIU J, et al. MicroRNA-21 (miR-21) expression promotes growth, metastasis, and chemo- or radioresistance in non-small cell lung cancer cells by targeting PTEN[J]. *Mol Cell Biochem*, 2013, 372(1-2): 35-45.
- [25] JIANG Y, CHEN X, TIAN W, et al. The role of TGF- β 1-miR-21-ROS pathway in bystander responses induced by irradiated non-small-cell lung cancer cells[J]. *Br J Cancer*, 2014, 111(4): 772-780.
- [26] YAN L, MA J, WANG Y, et al. MiR-21-5p induces cell proliferation by targeting TGFBI in non-small cell lung cancer cells[J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4655-4663.
- [27] AU YEUNG C L, CO N N, TSURUGA T, et al. Exosomal transfer of stroma-derived miR21 confers paclitaxel resistance in ovarian cancer cells through targeting APAF1[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11150.
- [28] ASANGANI I A, RASHEED S A, NIKOLOVA D A, et al. MicroRNA-21 (miR-21) post-transcriptionally downregulates tumor suppressor Pdcd4 and stimulates invasion, intravasation and metastasis in colorectal cancer[J]. *Oncogene*, 2008, 27(15): 2128-2136.
- [29] LUO F, JI J, LIU Y, et al. MicroRNA-21, up-regulated by arsenite, directs the epithelial-mesenchymal transition and enhances the invasive potential of transformed human bronchial

- epithelial cells by targeting PDCD4[J]. *Toxicol Lett*, 2015, 232(1): 301-309.
- [30] ZHAN Y, LI X, LIANG X, et al. MicroRNA-182 drives colonization and macroscopic metastasis via targeting its suppressor SNAI1 in breast cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(3): 4629-4641.
- [31] YU J, LEI R, ZHUANG X, et al. MicroRNA-182 targets SMAD7 to potentiate TGFbeta-induced epithelial-mesenchymal transition and metastasis of cancer cells [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13884.
- [32] YU J, SHEN W, GAO B, et al. MicroRNA-182 targets FOXF2 to promote the development of triple-negative breast cancer [J]. *Neoplasma*, 2017, 64(2): 209-215.
- [33] HIRATA H, UENO K, SHAHRYARI V, et al. MicroRNA-182-5p promotes cell invasion and proliferation by down regulating FOXF2, RECK and MTSS1 genes in human prostate cancer [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e55502.
- [34] NING F L, WANG F, LI M L, et al. MicroRNA-182 modulates chemosensitivity of human non-small cell lung cancer to cisplatin by targeting PDCD4 [J]. *Diagn Pathol*, 2014, 9: 143.
- [35] ZHOU B, SONG J, HAN T, et al. MiR-382 inhibits cell growth and invasion by targeting NR2F2 in colorectal cancer [J]. *Mol Carcinog*, 2016, 55(12): 2260-2267.
- [36] TAN H, HE Q, GONG G, et al. MiR-382 inhibits migration and invasion by targeting ROR1 through regulating EMT in ovarian cancer [J]. *Int J Oncol*, 2016, 48(1): 181-190.
- [37] 宋江眷. 细胞外基质与粘附分子——整合素 [J]. *肝脏*, 1999, 4(2): 95-96.
- [38] 陈珊, 金伟, 闵平, 等. 血管内皮生长因子家族及其受体与肿瘤血管生成研究进展 [J]. *生命科学*, 2004(1): 22-26.
- [39] PAL S, AMIN P J, SAINIS K B, et al. Potential role of TRAIL in metastasis of mutant KRAS expressing lung adenocarcinoma [J]. *Cancer Microenvironment*, 2016, 9(2-3): 77-84.
- [40] HUANG Q, LIU L, LIU C H, et al. MicroRNA-21 regulates the invasion and metastasis in cholangiocarcinoma and may be a potential biomarker for cancer prognosis [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2013, 14(2): 829-834.
- [41] WANG J H, ZHOU W W, CHENG S T, et al. Downregulation of Sprouty homolog 2 by microRNA-21 inhibits proliferation, metastasis and invasion, however promotes the apoptosis of multiple myeloma cells [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 1810-1816.
- [42] ZHANG X, MA G, LIU J, et al. MicroRNA-182 promotes proliferation and metastasis by targeting FOXF2 in triple-negative breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(4): 4805-4811.

【责任编辑：侯丽颖】

科技论文中图表的格式

凡用文字已能说明的问题，尽量不用表和图。如用表和图，则文中不需重复其数据，不要同时用表和图重复同一数据。图表中的数据需标注单位符号。

表格：用三线表，不用纵线。表格上方应注明表序和表名。

插图：应精选，具有自明性，勿与文中的文字和表格重复。插图应用电脑绘制或用碳素墨水绘制在绘图纸上。插图必须线条均匀、清晰，主线和辅线粗细比例约为2:1。图勿过大或过小，每图不超过10 cm × 10 cm。插图下方应注明图序和图名。如为照片时，应层次清晰、反差合适、剪裁恰当。