

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.03.007

文章编号: 1005-8982(2017)03-0034-07

MicroRNA-222 对肺腺癌细胞 增殖、迁移和侵袭的影响

卢滨, 贾金广, 李利华, 姚菲菲

(河南省郑州人民医院 呼吸内科, 河南 郑州 450003)

摘要:目的 探讨 microRNA-222 (miR-222) 对肺腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。**方法** 将 miR-222 和对照分别转入肺腺癌细胞系 A549 进行活细胞计数法试剂盒 (CCK-8) 增殖实验、Transwell 迁移及 Matrigel 侵袭实验, 观察 miR-222 对肺腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响。运用荧光素酶报告实验、实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 及 Western blot 验证 miR-222 靶向下调 ETS1 的过程。**结果** CCK-8 增殖实验, Transwell 迁移及 Matrigel 侵袭实验发现, 与对照组相比 miR-222 能够促进肺腺癌细胞增殖、迁移和侵袭。荧光素酶报告实验、qRT-PCR 及 Western blot 实验发现, miR-222 可以靶向下调 ETS1 的表达, 且 ETS1 参与调节上述过程。**结论** miR-222 通过靶向下调 ETS1, 促进肺腺癌细胞增殖、迁移和侵袭。

关键词: microRNA-222; ETS1; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号: R734.2

文献标识码: A

MicroRNA-222 promotes proliferation, migration and invasion of human lung adenocarcinoma cells by directly targeting ETS1

Bin Lu, Jin-guang Jia, Li-hua Li, Fei-fei Yao

(Department of Respiratory Medicine, Zhengzhou People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450003, China)

Abstract: Objective To investigate the role of microRNA-222 (miR-222) in the proliferation, migration and invasion of human lung adenocarcinoma cells. **Methods** Firstly, miR-222 and negative control were transfected into lung adenocarcinoma cells, and the CCK-8 assay, Transwell migration and Matrigel invasion assays were performed to detect the effect of miR-222 on cell proliferation, migration and invasion respectively. Then the luciferase reporter assay, quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot were performed to validate the putative target of miR-222. Subsequently, loss-of-function assay was applied to determine the target involved in the regulation of proliferation, migration and invasion of lung adenocarcinoma cells. **Results** The results of CCK-8 assay, Transwell migration and Matrigel invasion assays indicated that miR-222 could promote the proliferation, migration and invasion of lung adenocarcinoma cells. The luciferase reporter assay, qRT-PCR and Western blot showed that miR-222 directly targeted the 3'UTR of ETS1. And overexpression of ETS1 significantly inhibited the miR-222-induced proliferation, migration and invasion of lung adenocarcinoma cells. **Conclusions** miR-222 facilitates proliferation, migration and invasion of lung adenocarcinoma cells by repressing ETS1.

Keywords: miR-222; ETS1; proliferation; migration; invasion

肺腺癌为肺癌的一种,属于病理分型中非小细胞肺癌。在全世界范围内有很高的发病率,其中包括中

国,且肺腺癌恶性程度高,5年生存率约为 15%^[1-2]。腺癌初发时多位于肺周边部,界限清楚,但具有高度

浸润和破坏性生长特征,容易侵犯血管和淋巴管壁,而出现较多的血行及淋巴转移^[3]。肺腺癌的发生、发展是一个复杂的过程,包括细胞的异常增殖、表观遗传学的改变、癌细胞的转移等过程^[4-5]。最近关于 miRNA (miRNAs) 在肺腺癌发生过程中发挥的作用受到广泛关注,尤其在细胞增殖、转移和对化疗药物的抵抗方面发挥的作用研究较多。许多 miRNAs 在肺癌组织、患者血清中表达水平发生改变,但关于其在肺腺癌中的作用研究得较少^[6]。先前文献报告 miR-222 在许多肿瘤中高表达,比如胶质细胞瘤、非小细胞肺癌、前列腺癌、乳腺癌、结直肠癌、膀胱癌等^[7-11]。功能学研究发现,miR-222 通过靶向 10 号染色体上张力蛋白同源物缺失活化 PI3K/AKT 信号通路,促进肿瘤细胞的增殖、迁移和微管形成^[7]。另外,miR-222 可以作用于 ETS1,间接促进内皮细胞一氧化氮合酶的表达水平^[12],而在黑色素瘤中 miR-222 通过下调 ETS1 的表达促进肿瘤的转移^[13]。为探索 miR-222 在肺腺癌的发生过程中发挥的作用,本文通过过表达 miR-222,观察该 miRNA 对肺腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响,并寻找参与该过程 miR-222 的靶基因。

1 材料与方法

1.1 细胞与质粒

人肺腺癌细胞 A549^[14-15]和人胚肾上皮细胞 293T 细胞购自中国科学院上海细胞库,其中 A549 生长于含 10% 灭活胎牛血清 fetal calf serum, FBS, 2 mmol/L 谷氨酰胺、青霉素 (100 U/mL) 和链霉素 (100 μg/mL) 的 RPMI 1640 培养基中。293T 细胞生长于 10% FBS 改良伊格尔培养基 dulbecco's modified eagle medium, DMEM) 中。

表达海肾荧光素酶的质粒 pRL-TK 购自美国 Promega 公司。pGL3-control 报告质粒为本实验所有,在 pGL3-control 虫荧光素酶序列下游插入 ETS1 3'-UTR 序列的质粒为本实验构建,经测序验证正确并命名为 pGL3-ETS1 3'-UTR。

1.2 实验试剂

Trizol 试剂、蛋白分子量 Marker 及转染试剂 Lipofectamine™ 2000 购自美国 Invitrogen 公司,蛋白酶抑制剂、磷酸酶抑制剂及苯甲基磺酰氟购自上海康成生物公司,抗 ETS1 单克隆抗体、抗 α-tubulin 单克隆抗体及辣根过氧化物酶标记的山羊抗小鼠免疫球蛋白 G 购自美国 Santa Cruz 公司,活细胞计数

法试剂盒 cell counting kit-8, CCK-8) 购自日本同仁化学研究所,Transwell 小室 (8 μm) 购于德国 Millipore 公司,基质胶购自美国 BD Biosciences 公司, MiR-222 mimic 和阴性对照 (negative control, NC) 由上海吉玛生物公司合成,定量引物由上海申能博彩生物公司合成。

1.3 荧光素酶报告实验

将 293T 按 2×10^4 个/孔接种于 48 孔板中,加入 0.2 ml DMEM 培养基。次日将 miR-222 和阴性对照分别与 pGL3-Control 或 pGL3-ETS1 3'-UTR 及 pRL-TK 质粒共转染入细胞。48 h 后收集细胞,运用 GLOMAX 多功能酶标仪进行荧光素酶报告分析。

1.4 实时荧光定量聚合酶链反应检测 ETS1 mRNA 的表达

于实验前 1 天将 5×10^4 A549 铺入 6 孔板中,次日细胞贴壁,细胞汇合度达 60%~70%,按照 Lipofectamine™ 2000 说明书操作,将 miR-222 和阴性对照分别转染入 A549 细胞,48 h 后用 Trizol 试剂收取细胞,提取 RNA,进行反转录,按 SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli RNaseH Plus) 说明书建立反应体系,运用 ABI7300 进行实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 实验。反应条件:95°C 预变性 30 s, 95°C 变性 5s, 60°C 退火 31 s, 共 40 次循环,获得 Ct 值。获得的 Ct 值按美国 Applied Biosystem 公司 ABI PRISM 7700 Sequence Detection System User Bulletin #2 推荐方法进行计算,并比较各样本中目的基因的表达水平。引物序列:ETS1 正向引物:5'-GTGGTGAGGC AAGGACCTAG-3', 反向引物:5'-TGAGTTGCCATCT CATCCCA-3'; β-actin 正向引物:5'-TTGCCGACAG GATGCA GAAGGA-3', 反向引物:5'-AGGTGGACAG CGAGGCCAGGAT-3'。

1.5 Western blot 检测

将 miR-222 和 NC 分别转染入 A549 细胞,48 h 收取细胞蛋白进行 Western blot 检测。每孔加样 20 μl,先恒压 60 V 电泳 30 min,待蛋白样品进入分离胶后再 110 V 电泳 90 min,然后恒流 80 mA、100 min 将蛋白转移至聚偏(二)氟乙烯膜,转膜结束后用 5% 脱脂牛奶 37°C 封闭 1 h,三羟基甲胺-盐酸缓冲盐溶液 (Tris-HCl buffer saline, TBS)-T 洗 3 次,5 min/次,加入以抗体稀释液 1:1 000 配制的抗 ETS1 抗体 4°C 过夜, TBS-T 洗 3 次,10 min/次,加入抗体稀释液 1:4 000 配制的辣根过氧化物酶 horseradish

peroxidase, HRP) 标记山羊抗小鼠免疫球蛋白, 37°C 作用 1 h, TBS-T 洗 3 次, 10 min/次, 以化学发光法检测。同时以抗体稀释液 1:1 000 配制的抗 α -tubulin 为一抗, 以抗体稀释液 1:4 000 配制的 HRP 标记的山羊抗小鼠抗体为二抗, 检测 α -Tubulin 作为参照。

1.6 CCK-8 增殖实验

于实验前 1 天分别将 miR-222 和 NC 分别转染入 A549 细胞, 次日用胰酶消化细胞以 3 000 个/孔细胞数接种于 96 孔板中, 37°C、5% 二氧化碳 CO₂ 培养箱中培养, 分别在培养 1、2、3、4 和 5 d 后, 每孔加入 10 μ l CCK-8, 继续培养 1h, 以空白孔调零, 波长 450 nm 下, 用 Biotech DR-3506 全自动酶标读数仪上测出每孔光密度 optical density, OD) 值。

1.7 Transwell 迁移实验

于实验前 1 天, 将 miR-222 和 NC 分别转染入 A549 细胞, 第 2 天进行 Transwell 迁移实验。首先于 24 孔板中加入 500 μ l 10% FBS 1640 培养基, 将 Transwell 小室置于孔上, 放入细胞培养箱平衡 30 min。然后将转染有 miR-222 和 NC 的细胞消化用纯 1640 培养基配制成 5 \times 10⁵ 个/ml 的细胞悬液。每个小室加入 200 μ l 细胞悬液, 即每孔细胞约为 1 \times 10⁵ 个。每组设置 3 个复孔, 将 24 孔板放入细胞培养箱, 分别于培养 6 和 12 h 后取出小室染色固定, 显微镜下拍照计数, 观察进入下室的细胞数量以判断细胞迁移情况。

1.8 Matrigel 侵袭实验

将基质胶和 1640 培养基按 2:1 配成基质胶-1640 混合液, 置于冰上备用。将 Transwell 小室置于 24 孔板中, 下室加入 500 μ l 10% FBS 1640 培养基, 每个小室加入 60 μ l 基质胶-1640 混合液, 于 37°C、5% CO₂ 细胞培养箱中培养 5 h。然后将转染有 miR-222 和 NC 的细胞消化用纯 1640 培养基配制成 5 \times 10⁵ 个/ml 的细胞悬液。每个小室加入 200 μ l 细胞悬液, 即每孔细胞约为 1 \times 10⁵ 个, 每组设置 3 个复孔。将 24 孔板放入细胞培养箱, 分别于 6 和 12 h 取出小室染色固定, 显微镜下拍照计数, 观察进入下室的细胞数量以判断细胞侵袭情况。

1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 15.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 用重复测量设计的方差分析, 任意两组间比较用 LSD-t 检验, 偏态数据则

为秩和检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 过表达 miR-222 促进肺腺癌细胞的增殖

将 miR-222 和 NC 分别转染入 A549 细胞后 1、2、3、4 和 5 d 进行 CCK-8 增殖实验, 采用重复测量数据的方差分析, 结果: ① 转染不同时间点间的细胞增殖比较, 差异有统计学意义 ($F=7.782, P=0.000$); ② 转染 miR-222 组和对照组的细胞增殖情况比较, 差异有统计学意义 ($F=8.128, P=0.000$); ③ 转染 miR-222 组和对照组的细胞增殖的变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F=5.781, P=0.000$)。见表 1 和图 1。

表 1 两组过表达 miR-222 促进肺腺癌细胞增殖的 OD 值 ($\bar{x}\pm s$)

组别	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
NC 组	1.33 \pm 0.32	1.98 \pm 0.41	2.31 \pm 0.42	3.31 \pm 0.44	3.82 \pm 0.49
miR-222 组	1.41 \pm 0.41	2.21 \pm 0.39	2.89 \pm 0.40	4.25 \pm 0.47	5.01 \pm 0.53

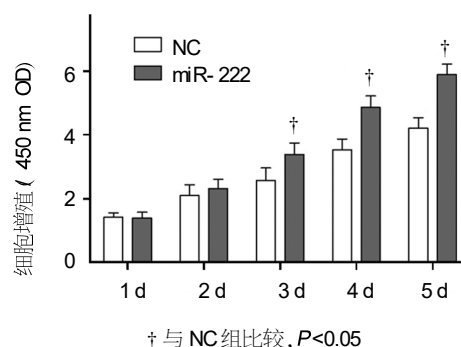


图 1 转染入 A549 细胞后, 过表达 miR-222 促进肺腺癌细胞的增殖 ($\bar{x}\pm s$)

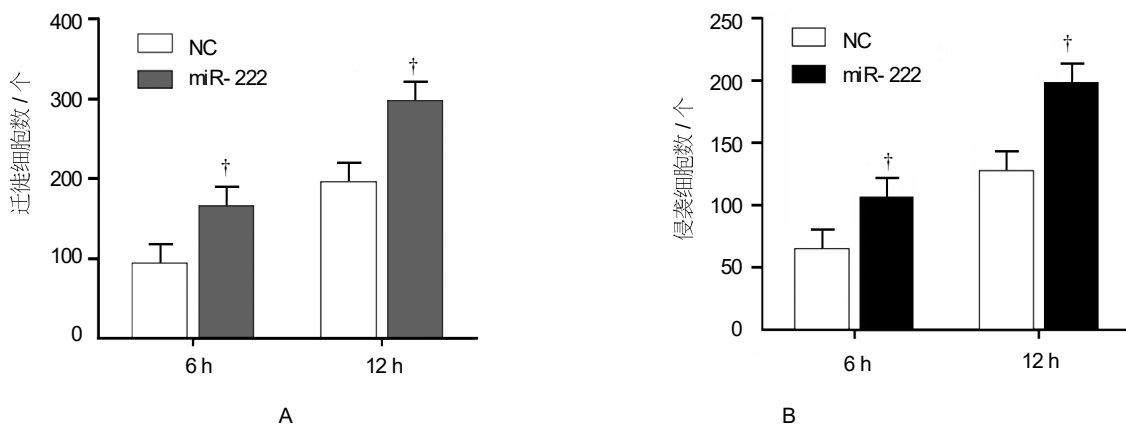
2.2 过表达 miR-222 促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭

对转染有 miR-222 和 NC 的 A549 细胞分别进行 Transwell 迁移实验。NC 组 6 和 12 h 迁移细胞数分别为 (98 \pm 5) 和 (190 \pm 38) 个; miR-222 组 6 和 12 h 迁移细胞数分别为 (160 \pm 17) 和 (282 \pm 18) 个, 采用重复测量数据的方差分析, 结果: ① 转染不同时间点的细胞迁移比较, 差异有统计学意义 ($F=4.182, P=0.000$); ② 转染 miR-222 组和对照组的细胞迁移情况比较, 差异有统计学意义 ($F=4.122, P=0.000$); ③ 转染 miR-222 组和对照组的细胞迁移变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F=3.981, P=0.000$)。见图 2A。

对转染有 miR-222 和 NC 的 A549 细胞分别进

行Matrigel 侵袭实验。NC 组 6 和 12 h 侵袭细胞数分别为 (58± 4) 和 (110± 12) 个;miR-222 组 6 和 12 h 侵袭细胞数分别为 (104± 11) 和 (176± 10) 个,采用重复测量数据的方差分析,结果:① 转染不同时间点的细胞侵袭比较,差异有统计学意义 ($F=4.467$,

$P=0.000$);② 转染 miR-222 组和对照组的细胞侵袭情况比较,差异有统计学意义 ($F=5.162, P=0.000$);③ 转染 miR-222 组和对照组的细胞侵袭变化趋势比较,差异有统计学意义 ($F=4.512, P=0.000$)。提示过表达 miR-222 促进 A549 细胞的迁移和侵袭能



A: Transwell 迁移实验;B: Matrigel 侵袭实验。† 与 NC 组比较, $P<0.05$

图 2 过表达 miR-222 促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭 ($\bar{x} \pm s$)

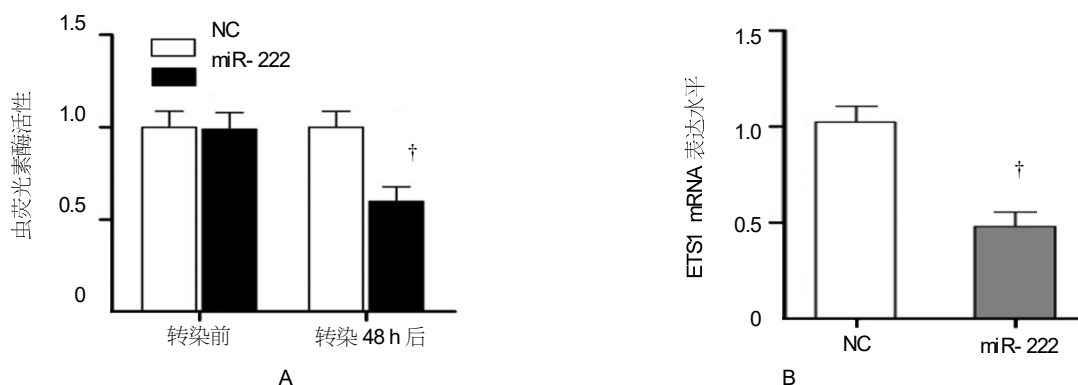
力。见图 2B。

2.3 miR-222 靶向作用于 ETS1

荧光素酶双报告实验结果显示,NC 组转染前和转染 48 h 后荧光素酶活性分别为 (1.15± 0.14) %和 (1.13± 0.07) %;miR-222 组分别为 (1.14± 0.16) %和 (0.66± 0.10) %。采用重复测量数据的方差分析,结果:① 转染不同时间点的细胞表达 ETS1 比较,差异有

统计学意义 ($F=3.131, P=0.007$);② 转染 miR-222 组和对照组的细胞表达 ETS1 水平比较,差异有统计学意义 ($F=3.012, P=0.003$);③ 转染 miR-222 组和对照组的细胞表达 ETS1 变化趋势比较,差异有统计学意义 ($F=3.631, P=0.010$)。见图 3A。

MicroRNA 作用于靶基因的结果是抑制靶基因的表达水平,本实验将 miR-222、NC 分别转染入



A: 荧光素酶报告实验检测 miR-222 对 pGL3-ETS1 3'-UTR 活性的影响;B: qRT-PCR 检测 ETS1 mRNA 的表达水平。† 与 NC 组比较, $P<0.05$

图 3 miR-222 靶向作用于 ETS1 ($\bar{x} \pm s$)

A549 细胞,利用 qRT-PCR 反应和 Western blot 检测 ETS1 的表达水平,结果显示,过表达 miR-222 后 ETS1 mRNA 表达水平较对照下降,差异有统计学意义 ($t=2.417, P=0.007$)。Western blot 检测显示,转染 miR-222 后与 NC 比较,ETS1 的表达水平下调。见图 3B、4。

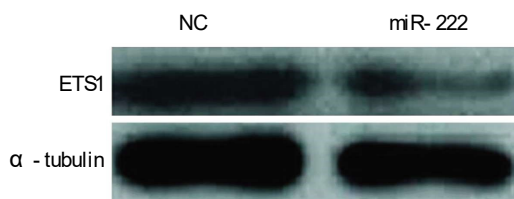


图 4 Western blot 检测 ETS1 蛋白表达水平

2.4 过表达 ETS1 抑制肺腺癌细胞的增殖过程

为说明 ETS1 是否参与 miR-222 促进肺腺癌细胞的增殖过程,笔者将 ETS1 质粒及对照分别转染入过表达 NC 和 miR-222 的细胞中进行 CCK-8 增殖实验,采用重复测量数据的方差分析,结果:① 过表达不同时间点的细胞增殖比较,差异有统计学意义 ($F=3.411, P=0.012$);② 转染不同组的细胞增殖水平比较,差异无统计学意义 ($F=3.578, P=0.006$);③ 转染不同组的细胞增殖变化趋势比较,差异有统计学意义 ($F=3.821, P=0.005$)。见表 2 和图 5。

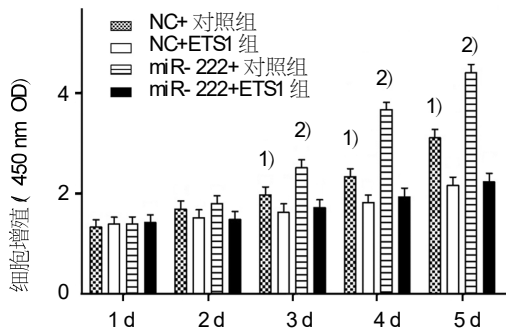
2.5 过表达 ETS1 抑制肺腺癌细胞的迁移和侵袭过程

为说明 ETS1 是否参与 miR-222 促进肺腺癌细胞的迁移和侵袭过程,笔者将 ETS1 质粒及对照分别转染入过表达 NC 和 miR-222 的细胞中进行 Transwell 迁移实验,并采用重复测量数据的方差分析,结果:① 过表达不同时间点的细胞迁移比较,差异有统计学意义 ($F=7.424, P=0.000$);② 转染不同组的细胞迁移水平比较,差异有统计学意义 ($F=7.524, P=0.000$);③ 转染不同组的细胞迁移变化趋势比较,差异有统计学意义 ($F=7.831, P=0.000$)。见表 3 和图 6A。

同样进行 Matrigel 侵袭实验,采用重复测量数据的方差分析,结果:① 过表达不同时间点的细胞侵袭

表 2 过表达 ETS1 抑制肺腺癌细胞增殖的 OD 值 ($\bar{x} \pm s$)

组别	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d
NC+ 对照组	1.27± 0.21	1.57± 0.40	1.91± 0.42	2.11± 0.44	2.82± 0.43
NC+ETS1 组	1.30± 0.22	1.37± 0.31	1.34± 0.33	1.72± 0.31	2.11± 0.48
miR-222+ 对照组	1.31± 0.20	1.62± 0.39	2.21± 0.45	3.21± 0.38	4.17± 0.38
miR-222+ ETS1 组	1.32± 0.35	1.36± 0.30	1.36± 0.51	1.92± 0.41	2.11± 0.48

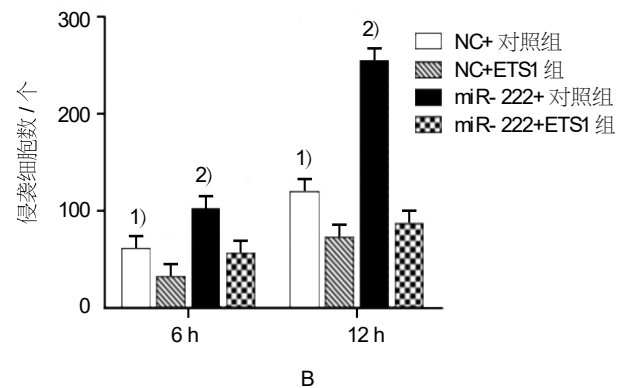
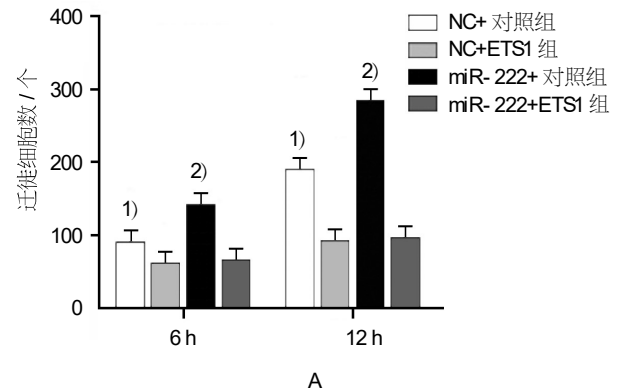


1) 与 NC+ETS1 组、miR-222+ 对照组比较, $P<0.05$; 2) 与 miR-222+ETS1 组比较, $P<0.05$

图 5 过表达 ETS1 抑制肺腺癌细胞的增殖过程 ($\bar{x} \pm s$)

表 3 过表达 ETS1 抑制肺腺癌细胞的迁移 ($\bar{x} \pm s$)

组别	6 h	12 h
NC+ 对照组	97± 12	191± 21
NC+ETS1 组	76± 8	97± 16
miR-222+ 对照组	135± 12	289± 18
miR-222+ETS1 组	81± 4	99± 10



A: 过表达 ETS1 抑制 A549 细胞的迁移能力; B: 过表达 ETS1 明显抑制 A549 细胞的侵袭能力。1) 与 NC+ETS1 组、miR-222+ 对照组比较, $P<0.05$; 2) 与 miR-222+ETS1 组比较, $P<0.05$

图 6 过表达 ETS1 抑制肺腺癌细胞的迁移和侵袭过程

表 4 过表达 ETS1 抑制肺腺癌细胞的侵袭 ($\bar{x} \pm s$)

组别	6 h	12 h
NC+ 对照组	61± 17	112± 21
NC+ETS1 组	37± 10	67± 11
miR-222+ 对照组	100± 21	232± 21
miR-222+ETS1 组	71± 11	85± 17

比较,差异有统计学意义 ($F=8.411, P=0.000$);② 转染不同组的细胞侵袭水平比较,差异有统计学意义 ($F=7.783, P=0.000$);③ 转染不同组的细胞侵袭变化趋势比较,差异有统计学意义 ($F=7.812, P=0.000$)。该结果提示 miR-222 通过靶向 ETS1 促进 A549 细胞的迁移和侵袭能力。见表 4 和图 6B。

3 讨论

肺癌是最常见的恶性肿瘤,具有较高的死亡率,全世界每年约有130万人死于肺癌,其中非小细胞肺癌占全部肺癌的85%,且40%非小细胞肺癌为肺腺癌。尽管现在诊断与治疗方式不断革新,但是肺腺癌的预后仍较差,很多患者会发生转移,5年生存率仅为15%^[1]。因此关于肺腺癌发生的机制,尤其关于转移方面仍需更多的研究,为进一步治疗提供理论基础。

miR-222属于miR-221/miR-222家族,在许多肿瘤中高表达,被认为是肿瘤相关microRNAs,参与许多肿瘤细胞的增殖和转移过程。MAO等^[19]对非小细胞肺癌组织和邻近正常组织进行比较发现,miR-222在癌组织中有较高的表达水平,且高表达的miR-222与临床分期和淋巴结转移明显相关,且miR-222表达水平较高的患者生存周期较短,这提示miR-222可能参与非小细胞肺癌的发生和转移过程。且另一课题组研究发现,过表达miR-222可以明显促进非小细胞肺癌细胞系H460的增殖^[7],但是关于miR-222在肺腺癌细胞系A549中的研究尚未有报道。因此,本文研究miR-222对肺腺癌的影响。在肺腺癌细胞系A549中分别过表达miR-222进行功能学实验后,通过重复测量数据的方差分析发现,miR-222促进肺腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力。已知microRNA通过下调其靶基因的表达水平发挥生物学功能,且miR-222被报道可靶向p27促进非小细胞肺癌的增殖^[7]。而事实上1个microRNA可以作用于较多靶基因,因此笔者预寻找参与该过程的miR-222靶基因。miR-222可以靶向结合ETS1,但关于miR-222与ETS1在肺癌中的相互作用尚未有报道,因此本研究通过荧光素酶报告实验和Western blot检测证实,ETS1确实为miR-222的靶基因,该结果与EVANGELISTA等^[12]的研究一致。接着,本文通过过表达ETS1再次进行功能学实验发现,过表达ETS1后,A549细胞的增殖、迁移和侵袭能力明显下降。以上结果说明miR-222确实通过抑制ETS1的表达促进A549细胞的增殖、迁移和侵袭能力。ETS1为转录因子家族成员,参与调节许多基因的转录过程,且ETS1在疾病发生过程中发挥多重作用^[16],而低水平的ETS1被报道参与非小细胞肺癌化疗的耐药过程^[19]。本研究推测miR-222通过下调ETS1的表达,从而抑制其下游多种基因的转录,有利于肺腺癌细胞发生增殖、迁移和侵袭过程,但详细的机制有待进

一步研究。

综上所述,本文通过在肺腺癌细胞A549中过表达miR-222进行实验发现,miR-222通过靶向下调转录因子ETS1的表达,从而促进A549细胞的增殖、迁移和侵袭能力,再次证明miR-222在肺癌中发挥作用,为miR-222作为肺癌尤其是肺腺癌的生物诊断标记物和新的治疗靶点提供更多理论基础。

参 考 文 献:

- [1] SEGEL R, MA J, ZOU Z, et al. Cancer statistics, 2014[J]. CA: a cancer journal for clinicians, 2014, 64(1): 9-29.
- [2] 黄霞, 陈亮, 刘景丽, 等. 紫杉醇联合卡培他滨治疗IV期肺腺癌临床疗效及毒理研究[J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(17): 3276-3279.
- [3] MORALES-OYARVIDE V, MINO-KENUDSON M. Tumor islands and spread through air spaces: distinct patterns of invasion in lung adenocarcinoma[J]. Pathology International, 2016, 66(1): 1-7.
- [4] DEVARAKONDA S, MORGENZTERN D, GOVINDAN R. Genomic alterations in lung adenocarcinoma[J]. The Lancet Oncology, 2015, 16(7): e342-e351.
- [5] KIM H, CHUNG J.H. Overview of clinicopathologic features of ALK-rearranged lung adenocarcinoma and current diagnostic testing for ALK rearrangement [J]. Translational Lung Cancer Research, 2015, 4(2): 149-155.
- [6] RANI S, GATELY K, CROWN J, et al. Global analysis of serum microRNAs as potential biomarkers for lung adenocarcinoma[J]. Cancer Biology Therapy, 2013, 14(12): 1104-1112.
- [7] ZHANG C Z, HAN L, ZHANG A L, et al. MicroRNA-221 and microRNA-222 regulate gastric carcinoma cell proliferation and radioresistance by targeting PTEN[J]. BMC Cancer, 2010, 10: 367.
- [8] HWANG M S, YU N, STINSON S Y, et al. miR-221/222 targets adiponectin receptor 1 to promote the epithelial-to-mesenchymal transition in breast cancer[J]. PLoS One, 2013, 8(6): DOI: 10.1371/journal.pone.0066502.
- [9] XU K, LIANG X, SHEN K, et al. MiR-222 modulates multidrug resistance in human colorectal carcinoma by down-regulating ADAM-17[J]. Experimental Cell Research, 2012, 318(17): 2168-2177.
- [10] LEE C, HE H, JIANG Y, et al. Elevated expression of tumor miR-222 in pancreatic cancer is associated with Ki67 and poor prognosis[J]. Med Oncol, 2013, 30(4): 700.
- [11] PUERTA-GIL P, GARCIA-BAQUERO R, JIA A Y, et al. miR-143, miR-222, and miR-452 are useful as tumor stratification and noninvasive diagnostic biomarkers for bladder cancer[J]. The American Journal of Pathology, 2012, 180(5): 1808-1815.
- [12] EVANGELISTA A M, DESCHAMPS A M, LIU D, et al. miR-222 contributes to sex-dimorphic cardiac eNOS expression via ets-1[J]. Physiological Genomics, 2013, 45(12): 493-498.
- [13] MATTIA G, ERRICO M C, FELICETTI F, et al. Constitutive activation of the ETS-1-miR-222 circuitry in metastatic

- melanoma[J]. *Pigment Cell Melanoma Research*, 2011, 24 (5): 953- 965.
- [14] HUANG Q M, ZENG Y M, ZHANG H P, et al. 4-Nitroquinoline- 1-oxide effects human lung adenocarcinoma A549 cells by regulating the expression of POLD4 [J]. *Biomedical Reports*, 2016, 4(3): 345- 348.
- [15] ZHANG B, DENG S M, GUO L C, et al. Effect of gemcitabine on the uptake of (18)F- fluorodeoxyglucose and (18)F- fluorothymidine in lung adenocarcinoma A549 cells and the animal tumor model [J]. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 2016, 12(1): 271- 276.
- [16] MAO K P, ZHANG W N, LIANG X M, et al. MicroRNA- 222 expression and its prognostic potential in non-small cell lung cancer[J]. *The Scientific World Journal*, 2014: DOI: 10.1155/2014/ 908326.
- [17] ZHONG C, DING S, XU Y, et al. MicroRNA- 222 promotes human non-small cell lung cancer H460 growth by targeting p27[J]. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 2015, 8(4): 5534- 5540.
- [18] DITTMER J. The role of the transcription factor Ets1 in carcinoma[J]. *Seminars in Cancer Biology*, 2015, 35: 20- 38.
- [19] PHUCHAREON J, MCCORMICK F, EISELE D W, et al. EGFR inhibition evokes innate drug resistance in lung cancer cells by preventing Akt activity and thus inactivating Ets- 1 function[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(29): E3855- E3863.

(童颖丹 编辑)