

张昆, 孙洋, 翟所锴, 等. 干扰 lncRNA HOXA-AS3 负调控 miR-340-5p 对小细胞肺癌细胞 DMS114/DDP 顺铂耐药性的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(11): 96-101.

Zhang K, Sun Y, Zhai SK, et al. Interference of lncRNA HOXA-AS3 negatively regulates the effect of miR-340-5p on cisplatin resistance in DMS114/DDP small cell lung cancer cells [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(11): 96-101.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2021. 11. 014

干扰 lncRNA HOXA-AS3 负调控 miR-340-5p 对小细胞肺癌细胞 DMS114/DDP 顺铂耐药性的影响

张 昆, 孙 洋, 翟所锴, 杨 光*

(淄博市第一医院呼吸内科, 山东 淄博 255200)

【摘要】 目的 探讨长链非编码 RNA HOXA-AS3(lncRNA HOXA-AS3)对小细胞肺癌耐药性细胞 DMS114/DDP 的影响及其对微小 RNA-340-5p(miR-340-5p)的调控作用。**方法** 采用 qRT-PCR 法检测肺癌组织及癌旁组织中 HOXA-AS3、miR-340-5p 的表达量;体外培养小细胞肺癌细胞 DMS114,采用顺铂浓度递增法建立耐药细胞 DMS114/DDP,分别将 si-NC、si-HOXA-AS3、si-HOXA-AS3 与 anti-miR-NC、si-HOXA-AS3 与 anti-miR-340-5p 转染至 DMS114/DDP 细胞;采用 qRT-PCR 法检测细胞中 HOXA-AS3、miR-340-5p 的表达量;采用 CCK-8 法检测细胞存活率及计算顺铂 IC₅₀值;流式细胞术检测细胞凋亡率;双荧光素酶报告实验检测 HOXA-AS3、miR-340-5p 的靶向关系。**结果** 肺癌组织中 HOXA-AS3 的表达水平升高 ($P<0.05$),miR-340-5p 的表达水平降低 ($P<0.05$);不同浓度的顺铂处理后 DMS114 细胞、DMS114/DDP 细胞存活率逐渐降低 ($P<0.05$),且 DMS114/DDP 细胞 IC₅₀值高于 DMS114 细胞 ($P<0.05$);与 DMS114 细胞比较,DMS114/DDP 细胞中 HOXA-AS3 的表达水平升高 ($P<0.05$);转染 si-HOXA-AS3 可明显降低细胞活力 ($P<0.05$),提高凋亡率 ($P<0.05$);双荧光素酶报告实验证实 HOXA-AS3 可靶向结合 miR-340-5p;共转染 si-HOXA-AS3 与 anti-miR-340-5p 可明显提高细胞活力 ($P<0.05$),降低凋亡率 ($P<0.05$)。**结论** 干扰 HOXA-AS3 表达可抑制细胞增殖及促进细胞凋亡进而增强 DMS114/DDP 细胞顺铂敏感性,其作用机制可能与上调 miR-340-5p 的表达有关。

【关键词】 lncRNA HOXA-AS3;miR-340-5p;小细胞肺癌;顺铂;增殖;凋亡

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 11-0096-06

Interference of lncRNA HOXA-AS3 negatively regulates the effect of miR-340-5p on cisplatin resistance in DMS114/DDP small cell lung cancer cells

ZHANG Kun, SUN Yang, ZHAI Suokai, YANG Guang*

(Department of Respiratory Medicine, the First Hospital of Zibo City, Zibo 255200, China)

【Abstract】 Objective To explore the effect of lncRNA HOXA-AS3 on cisplatin resistance in small cell lung cancer cells and its regulatory effect on miR-340-5p. **Methods** The expression levels of HOXA-AS3 and miR-340-5p in lung cancer tissues and adjacent tissues were measured by qRT-PCR. Small cell lung cancer cell line DMS114 was cultured in vitro and drug-resistant cell line DMS114/DDP was established by increasing the concentration of cisplatin. si-NC, si-HOXA-AS3, si-HOXA-AS3, anti-miR-NC, si-HOXA-AS3 and anti-miR-340-5p were transfected into DMS114/DDP cells. The expression levels of HOXA-AS3 and miR-340-5p in cells were measured by qRT-PCR. CCK-8 assays were used to

[作者简介] 张昆(1982—),女,硕士,主治医师,研究方向:肺癌。E-mail: zbk48@163.com

[通信作者] 杨光(1982—),男,主治医师,研究方向:肺癌。E-mail: whi6938280@126.com

measure cell survival rate and calculate the IC_{50} value of cisplatin. Flow cytometry was used to assess the apoptosis rate. Dual luciferase reporter assays were used to analyze the targeting relationship between HOXA-AS3 and miR-340-5p. Result The expression level of HOXA-AS3 in lung cancer tissue was increased significantly ($P < 0.05$) and that of miR-340-5p was decreased significantly ($P < 0.05$). After treatment with various concentrations of cisplatin, the survival rates of DMS114 and DMS114/DDP cells were decreased gradually ($P < 0.05$) and the IC_{50} value of DMS114/DDP cells was higher than that of DMS114 cells ($P < 0.05$). Compared with DMS114 cells, the expression level of HOXA-AS3 in DMS114/DDP cells was increased significantly ($P < 0.05$). Transfection with si-HOXA-AS3 significantly reduced cell viability ($P < 0.05$) and increased the apoptosis rate ($P < 0.05$). Dual luciferase reporter assays confirmed that HOXA-AS3 targeted and bound to miR-340-5p. Cotransfection of si-HOXA-AS3 and anti-miR-340-5p significantly increased cell viability ($P < 0.05$) and reduced the apoptosis rate ($P < 0.05$). **Conclusions** Interfering with the expression of HOXA-AS3 inhibits cell proliferation and promotes apoptosis, thereby enhancing the sensitivity of DMS114/DDP cells to cisplatin. The mechanism of action may be related to upregulation of miR-340-5p expression.

【Keywords】 lncRNA HOXA-AS3; miR-340-5p; small cell lung cancer; cisplatin; proliferation; apoptosis

肺癌是临床常见的一种恶性肿瘤,我国肺癌发病率逐年上升,其主要类型包括小细胞肺癌与非小细胞肺癌,其中小细胞肺癌具有高度侵袭性及转移能力,进而导致治疗效果降低,针对小细胞肺癌晚期患者,临床主要采用化疗方式进行治疗,但化疗耐药性是降低治疗效果的重要原因,然而目前关于化疗耐药性发生机制尚未阐明^[1-4]。长链非编码 RNA HOXA-AS3 (lncRNA HOXA-AS3) 在非小细胞肺癌细胞中表达水平升高,并可调控 HOXA3 表达从而增强细胞顺铂耐药性^[5]。生物信息学分析显示微小 RNA-340-5p (miR-340-5p) 在结肠癌细胞中表达水平降低, lncRNA LINC00662 通过竞争性结合 miR-340-5p 而降低其表达水平从而促进结肠癌细胞增殖及转移^[6]。因此,本研究采用顺铂浓度递增法建立小细胞肺癌顺铂耐药细胞株,探究 HOXA-AS3 对 DMS114/DDP 细胞增殖、凋亡的影响及其对 miR-340-5p 的调控作用。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞

人小细胞肺癌细胞 DMS114 购自南京科佰生物科技有限公司。

1.1.2 组织材料

肺癌组织及癌旁组织:选取 2017 年 1 月至 2019 年 1 月本院收治的 30 例肺癌患者为研究对象,所有患者均经手术、穿刺活检或支气管镜活检证实为小细胞肺癌,术前均未接受放化疗,其中男 16 例,女 14 例,年龄 40~70 岁,平均年龄 (55.63 ± 6.35) 岁,术中切除肺癌组织及癌旁组织,置于 -80°C 超低温冰箱内保存。本研究经本院伦理委员

会批准(院字(2016)12 号),所有患者知情且签署同意书。

1.2 主要试剂与仪器

顺铂购自上海华联制药公司;DMEM 培养基与胎牛血清购自美国 Gibco 公司;Lipofectamine2000、TRIzol 试剂、qRT-PCR 检测试剂盒与 cDNA 合成试剂盒购自美国 Thermo Fisher 公司;si-NC、si-HOXA-AS3、miR-NC、miR-340-5p mimics、anti-miR-NC、anti-miR-340-5p 购自上海吉玛制药技术有限公司;CKK-8 检测试剂盒购自北京智杰远方科技有限公司;凋亡试剂盒购自美国 Sigma 公司;兔抗人 CyclinD1、Bcl-2、p21、Bax 抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验分组

建立 DMS114/DDP 细胞:采用顺铂浓度递增的方法建立耐药细胞系,从低浓度的顺铂开始处理 DMS114 细胞,培养 48 h,弃培养液,更换不含药物的培养液,每隔 2 d 更换 1 次培养液,待细胞恢复生长后增加顺铂剂量,继续处理 DMS114 细胞,直至顺铂浓度为 0.5 mg/L,细胞可稳定生长,成功构建耐药细胞 DMS114/DDP 细胞^[7]。DMS114 细胞常规培养,每隔 2 d 更换 1 次培养液。取对数生长期 DMS114/DDP 细胞,分别将 si-NC、si-HOXA-AS3、si-HOXA-AS3 与 anti-miR-NC、si-HOXA-AS3 与 anti-miR-340-5p 转染至 DMS114/DDP 细胞,分别记作 si-NC 组、si-HOXA-AS3 组、si-HOXA-AS3+anti-miR-NC 组、si-HOXA-AS3+anti-miR-340-5p 组。

1.3.2 qRT-PCR 检测 HOXA-AS3、miR-340-5p 的表达水平

采用 TRIzol 法提取癌旁组织、肺癌组织、DMS114 细胞、DMS114/DDP 细胞及各组转染后的

DMS114/DDP 细胞总 RNA, 将总 RNA 反转录合成 cDNA。以 cDNA 为模板进行 qRT-PCR 反应, 应用美国 ABI StepOnePlus 实时荧光定量 PCR 仪检测 HOXA-AS3、miR-340-5p 相对表达量。

1.3.3 CCK-8 法检测细胞存活率及 IC_{50} 值

取 DMS114 细胞、DMS114/DDP 细胞接种于 96 孔板 (1×10^4 个/孔), 采用不同浓度 (5、15、30、45、60 $\mu\text{mol/L}$) 的顺铂处理细胞 24 h^[8], 加入 CCK-8 溶液 10 μL 后培养 2 h, 检测光密度值 (OD 值)。应用 Msvbm50 软件计算细胞抑制率为 50% 时的顺铂浓度即顺铂 IC_{50} 值。各组 DMS114/DDP 细胞于转染 24、48、72 h 时加入 CCK-8 溶液 10 μL 后继续培养 2 h, 检测 OD 值。

1.3.4 检测细胞凋亡率

取各组 DMS114/DDP 细胞, 采用流式细胞术检测细胞凋亡率, 将预冷 PBS 加入各组 DMS114/DDP 细胞后弃上清, 细胞沉淀中加入 500 μL Binding Buffer 悬浮细胞, 按照试剂盒说明书检测细胞凋亡率。

1.3.5 双荧光素酶报告基因检测 HOXA-AS3 与 miR-340-5p 的靶向关系

LncBase Predicted v.2 预测显示 HOXA-AS3 与 miR-340-5p 存在结合位点, 分别构建野生型载体 WT-HOXA-AS3 与突变型载体 MUT-HOXA-AS3, 分别将 miR-NC、miR-340-5p mimics 与 WT-HOXA-AS3、MUT-HOXA-AS3 共转染至 DMS114/DDP 细胞后检测细胞荧光素酶活性。

1.3.6 Western blot 检测 CyclinD1、Bcl-2、p21、Bax 蛋白表达

DMS114/DDP 细胞加入 RIPA 蛋白裂解液提取细胞总蛋白, SDS-PAGE 分离蛋白, 转膜、封闭, 分别加入一抗稀释液 (1:1000) 与二抗稀释液 (1:5000), 室温孵育 1 h, ECL 显影, 应用 Image J 软件分析各蛋白条带灰度值。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计学软件分析数据, 计量资料以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示且均符合正态分布, 两组间比较采用独立样本 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

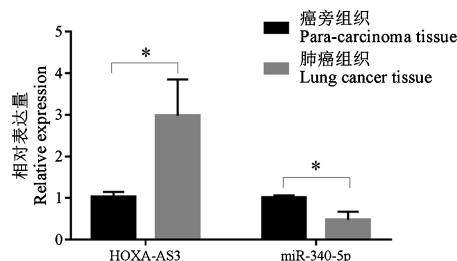
2.1 lncRNA HOXA-AS3 和 miR-340-5p 在肺癌组织中的表达

与癌旁组织比较, 肺癌组织中 HOXA-AS3 的表

达水平升高 ($P < 0.05$), miR-340-5p 的表达水平降低 ($P < 0.05$), 见图 1。

2.2 顺铂对小细胞肺癌 DMS114 和 DMS114/DDP 细胞活性的影响

与对照组比较, 不同浓度的顺铂处理后 DMS114 细胞、DMS114/DDP 细胞存活率逐渐降低 ($P < 0.05$), 且 DMS114/DDP 细胞存活率高于 DMS114 细胞; 与 DMS114 细胞比较, DMS114/DDP 细胞 IC_{50} 值升高 ($P < 0.05$), 见图 2。

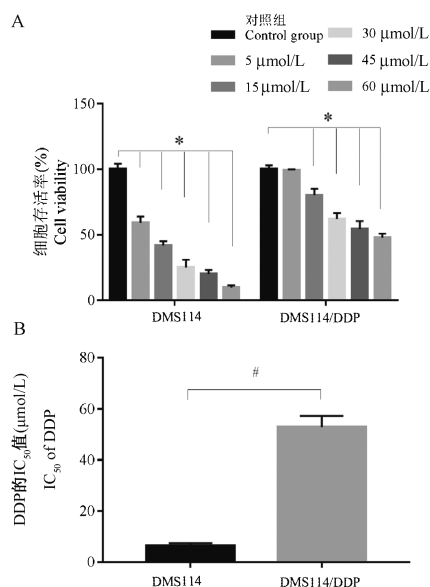


注: 与癌旁组织相比, * $P < 0.05$ 。

图 1 lncRNA HOXA-AS3 和 miR-340-5p 在肺癌组织中的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

Note. Compared with para-carcinoma tissue, * $P < 0.05$.

Figure 1 Expression of lncRNA HOXA-AS3 and miR-340-5p in lung cancer tissues



注: 与对照组相比, * $P < 0.05$; 与 DMS114 相比, # $P < 0.05$ 。

图 2 顺铂对小细胞肺癌 DMS114 和 DMS114/DDP 细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Note. Compared with the Control group, * $P < 0.05$. Compared with DMS114, # $P < 0.05$.

Figure 2 Effect of cisplatin on the survival rate of small cell lung cancer DMS114 and DMS114/DDP cells

2.3 lncRNA HOXA-AS3 在 DMS114 和 DMS114/DDP 细胞中的表达

与 DMS114 细胞比较, DMS114/DDP 细胞中 HOXA-AS3 的表达水平升高 ($P < 0.05$), 见图 3。

2.4 干扰 lncRNA HOXA-AS3 对 DMS114/DDP 细胞增殖和凋亡的影响

与 si-NC 组比较, 转染 si-HOXA-AS3 后细胞活力降低 ($P < 0.05$), 并可提高凋亡率及 p21、Bax 蛋白水平 ($P < 0.05$), 降低 CyclinD1、Bcl-2 蛋白水平 ($P < 0.05$), 见图 4。

2.5 lncRNA HOXA-AS3 靶向调控 miR-340-5p 的表达

LncBase Predicted v.2 预测显示 HOXA-AS3 与 miR-340-5p 存在结合位点, 见图 5A。miR-340-5p 过表达可降低 WT-HOXA-AS3 的荧光素酶活性 ($P < 0.05$), 而对 MUT-HOXA-AS3 荧光素酶活性无明显影响 ($P > 0.05$), 见图 5B。与 pcDNA 组比较, pcDNA-HOXA-AS3 组 miR-340-5p 的表达水平降低 ($P < 0.05$); 与 si-NC 组比较, si-HOXA-AS3 组 miR-340-5p 的表达水平升高 ($P < 0.05$), 见图 5C。

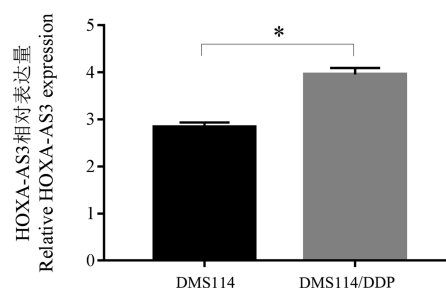
2.6 抑制 miR-340-5p 可逆转干扰 lncRNA HOXA-AS3 对 DMS114/DDP 增殖和凋亡的影响

与 si-HOXA-AS3+anti-miR-NC 组比较, 共转染 si-HOXA-AS3+anti-miR-340-5p 后细胞活力升高 ($P < 0.05$), 并可降低凋亡率及 p21、Bax 蛋白水平 ($P < 0.05$), 提高 CyclinD1、Bcl-2 蛋白水平 ($P < 0.05$), 见图 6。

3 讨论

小细胞肺癌具有恶性程度高、生存期短特点, 主要治疗方式为化疗, 治疗早期患者放化疗敏感性较高, 但随着治疗时间的延长, 患者出现放化疗抵抗而导致治疗失败, 因而逆转小细胞肺癌耐药性已成为亟待解决的问题。研究表明 LncRNA 可通过竞争性结合 miRNA, 进而在肺癌顺铂耐药性中发挥重要调控作用^[9-11]。提示 LncRNA 可能作为逆转小细胞肺癌耐药性的潜在靶点。

HOXA-AS3 在肝细胞癌中的表达水平升高, 并可充当 miR-29c 的海绵分子, 进而促进细胞增殖、转移^[12]。HOXA-AS3 在肺癌细胞中表达水平升高, 并可促进细胞增殖^[13]。但 HOXA-AS3 在肺癌发生及

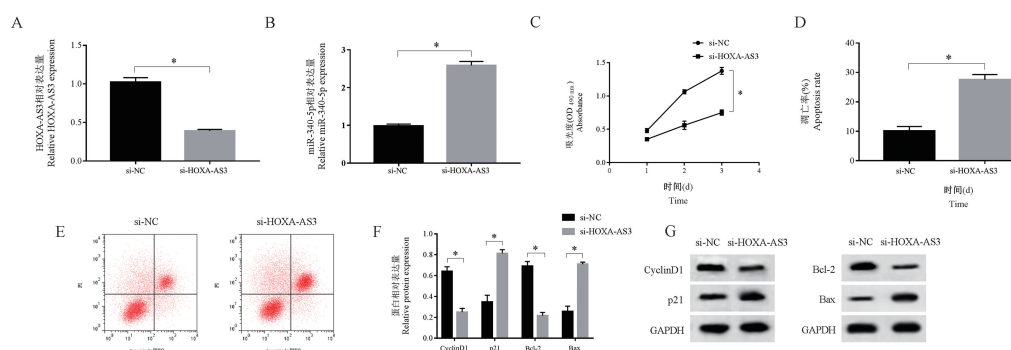


注: 与 DMS114 相比, $*P < 0.05$ 。

图 3 lncRNAHOXA-AS3 在 DMS114 和 DMS114/DDP 细胞中的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Note. Compared with DMS114, $*P < 0.05$.

Figure 3 Expression of lncRNAHOXA-AS3 in DMS114 and DMS114/DDP cells

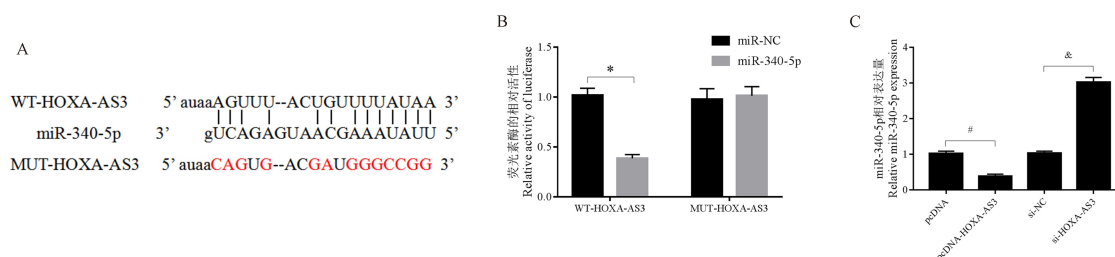


注: A: HOXA-AS3 的表达量; B: miR-340-5p 的表达量; C: 细胞增殖; D、E: 细胞凋亡; F、G: 增殖和凋亡相关蛋白的表达。与 si-NC 组相比, $*P < 0.05$ 。

图 4 干扰 lncRNA HOXA-AS3 对 DMS114/DDP 细胞增殖和凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 9$)

Note. A, Expression level of HOXA-AS3. B, Expression level of miR-340-5p. C, Cell proliferation. D, E, Cell apoptosis. F, G, Expression of proliferation and apoptosis-related proteins. Compared with the si-NC group, $*P < 0.05$.

Figure 4 Effects of interference lncRNA HOXA-AS3 on the proliferation and apoptosis of DMS114/DDP cells

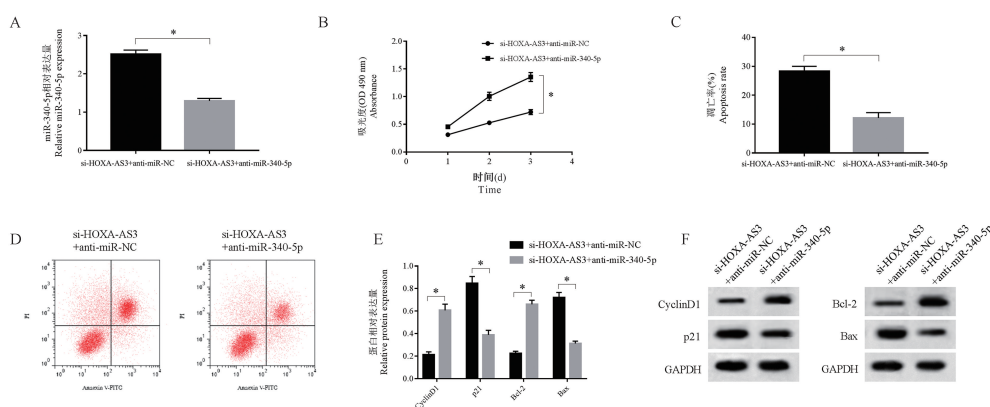


注:A;lncRNA HOXA-AS3 的序列中含有与 miR-340-5p 互补的核苷酸序列;B:双荧光素酶报告实验;C:lncRNA HOXA-AS3 调控 miR-340-5p 表达。与 miR-NC 组相比, * $P<0.05$;与 pcDNA 组相比, # $P<0.05$;与 si-NC 组相比, & $P<0.05$ 。

图 5 lncRNA HOXA-AS3 靶向调控 miR-340-5p 的表达($\bar{x}\pm s, n=9$)

Note. A, Sequence of lncRNA HOXA-AS3 contains a nucleotide sequence complementary to miR-340-5p. B, Double luciferase report experiment. C, lncRNA HOXA-AS3 regulated the expression of miR-340-5p. Compared with miR-NC group, * $P<0.05$. Compared with pcDNA group, # $P<0.05$. Compared with si-NC group, & $P<0.05$.

Figure 5 lncRNA HOXA-AS3 targeted the expression of miR-340-5p



注:A:miR-340-5p 的表达量;B:细胞增殖;C、D:细胞凋亡;E、F:增殖和凋亡相关蛋白的表达。与 si-HOXA-AS3+anti-miR-NC 组相比, * $P<0.05$ 。

图 6 抑制 miR-340-5p 可逆转干扰 lncRNA HOXA-AS3 对 DMS114/DDP 增殖和凋亡的影响($\bar{x}\pm s, n=9$)

Note. A, Expression level of miR-340-5p. B, Cell proliferation. C, D, Cell apoptosis. E, F, Expression of proliferation and apoptosis-related proteins. Compared with si-HOXA-AS3+anti-miR-NC group, * $P<0.05$.

Figure 6 Inhibition of miR-340-5p could reverse the effect of interference lncRNA HOXA-AS3 on DMS114/DDP cell proliferation and apoptosis

发展中的分子机制尚未阐明。本研究结果显示肺癌组织及细胞中 HOXA-AS3 的表达水平明显升高, 顺铂耐药性细胞中 HOXA-AS3 的表达水平明显高于正常肺癌细胞, 提示 HOXA-AS3 在 DMS114/DDP 细胞中可能发挥重要调控作用。本研究结果显示干扰 HOXA-AS3 表达后顺铂耐药细胞增殖能力减弱, 凋亡率升高, 并可降低 CyclinD1、Bcl-2 的表达及促进 p21、Bax 的表达。既往研究表明 CyclinD1、p21 表达异常与细胞增殖密切相关, CyclinD1 在肿瘤中表达水平升高, 并可调控细胞周期, 促进细胞增殖, 而 p21 的作用与之相反^[14]。Bcl-2/Bax 比值失衡可促进或抑制细胞凋亡, 其中 Bcl-2 属于抗凋亡蛋白, Bax 属于促细胞凋亡蛋白^[15]。本研究结果显示干

扰 HOXA-AS3 表达可抑制 DMS114/DDP 细胞增殖及促进细胞凋亡进而提高细胞顺铂敏感性。

miR-340-5p 表达异常可通过抑制 BMP4 而促进甲状腺癌的进展^[16]。miR-340-5p 在肺癌细胞中表达下调, 上调其表达可抑制肺癌细胞增殖及侵袭^[17]。本研究结果显示, miR-340-5p 在肺癌中呈低表达, HOXA-AS3 可靶向结合 miR-340-5p, 抑制 miR-340-5p 表达可明显逆转干扰 HOXA-AS3 对细胞增殖、凋亡的作用。

综上所述, 干扰 HOXA-AS3 表达可抑制细胞增殖及诱导细胞凋亡进而提高 DMS114/DDP 细胞顺铂敏感性, 其作用机制可能与上调 miR-340-5p 的表达有关, 其可能作为逆转小细胞肺癌顺铂耐

药性的潜在靶点,但关于其具体作用机制仍需进一步探究。

参考文献:

- [1] 李文,张玉高,石敏,等. LncRNA RP11-513G11.1 在小细胞肺癌患者化疗耐药和预后测评中的作用 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(11): 1166-1170.
- [2] 赵冲,汪强,武奋萍,等. LncRNA AC010145.4 与小细胞肺癌预后及化疗耐药的关系 [J]. 肿瘤防治研究, 2017, 44(10): 677-681.
- [3] 蒋骞,雷静,周业琴,等. 小细胞肺癌中 LncRNA AC009336.24 的表达及其与化疗耐药的关系 [J]. 肿瘤防治研究, 2018, 45(4): 225-229.
- [4] 李晓华,代斌,周婷,等. LncRNA RP11-259P1.1 在小细胞肺癌组织中的表达及其临床意义 [J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2018, 25(10): 84-89.
- [5] Lin S, Zhang R, An X, et al. LncRNA HOXA-AS3 confers cisplatin resistance by interacting with HOXA3 in non-small-cell lung carcinoma cells [J]. *Oncogenesis*, 2019, 8(11): 60-70.
- [6] Cheng B, Rong A, Zhou Q, et al. LncRNA LINC00662 promotes colon cancer tumor growth and metastasis by competitively binding with miR-340-5p to regulate CLDN8/IL22 co-expression and activating ERK signaling pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 5-15.
- [7] 李朝慧,任本洪,孙雪娇,等. 顺铂耐药对食管癌细胞增殖,凋亡,迁移和血管生成的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(1): 1-6.
- [8] Cui F, Hao ZX, Li J, et al. SOX2 mediates cisplatin resistance in small-cell lung cancer with downregulated expression of hsa-miR-340-5p [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2020, 8(5): e1195-e1205.
- [9] Zeng F, Wang Q, Wang S, et al. Linc00173 promotes chemoresistance and progression of small cell lung cancer by sponging miR-218 to regulate Etk expression [J]. *Oncogene*, 2020, 39(2): 293-307.
- [10] Jing C, Wang Z, Lou R, et al. Nedaplatin reduces multidrug resistance of non-small cell lung cancer by downregulating the expression of long non-coding RNA MVIH [J]. *J Cancer*, 2020, 11(3): 559-569.
- [11] Ye Y, Gu J, Liu P, et al. Long Non-Coding RNA SPRY4-IT1 reverses cisplatin resistance by downregulating MPZL-1 via suppressing EMT in NSCLC [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(1): 2783-2793.
- [12] Tong Y, Wang M, Dai Y, et al. LncRNA HOXA-AS3 sponges miR-29c to facilitate cell proliferation, metastasis, and EMT process and activate the MEK/ERK signaling pathway in hepatocellular carcinoma [J]. *Hum Gene Ther Clin Dev*, 2019, 30(3): 129-141.
- [13] Zhang H, Liu Y, Yan L, et al. Increased levels of the long noncoding RNA, HOXA-AS3, promote proliferation of A549 cells [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6): 707-717.
- [14] Zhang XS, Zhao C, Tang WZ, et al. Gypsapogenin H, a novel dammarane-type triterpene induces cell cycle arrest and apoptosis on prostate cancer cells [J]. *Steroids*, 2015, 104(1): 276-283.
- [15] Li J, Liu F, Jiang S, et al. Berberine hydrochloride inhibits cell proliferation and promotes apoptosis of non-small cell lung cancer via the suppression of the MMP2 and Bcl-2/Bax signaling pathways [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(5): 7409-7414.
- [16] Zhao P, Ma W, Hu Z, et al. Up-regulation of miR-340-5p promotes progression of thyroid cancer by inhibiting BMP4 [J]. *J Endocrinol Invest*, 2018, 41(10): 1165-1172.
- [17] Yang G, Yang C, She Y, et al. LINC01354 enhances the proliferation and invasion of lung cancer cells by regulating miR-340-5p/ATF1 signaling pathway [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 3737-3744.

[收稿日期]2020-12-01