

# LncRNA LINC02310对非小细胞肺癌细胞 上皮-间质转化和放射敏感性的影响

吴朝晖\* 杨建胜 林贤宾 吴佳云 吴敬阳  
(福建医科大学附属第二医院, 胸心血管外科, 泉州 362000)

**摘要** 该研究探讨长链非编码RNA(LncRNA) LINC02310对非小细胞肺癌上皮-间质转化(EMT)和放射敏感性的影响。采用实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)法检测非小细胞肺癌组织和细胞(H1299、A549、H1650)内LINC02310相对表达量。体外培养H1299细胞,按照脂质体法将si-NC、si-LINC02310转染至细胞内,记为si-NC组、si-LINC02310组,采用qRT-PCR法检测LINC02310相对表达量;噻唑蓝(MTT)法检测细胞增殖;流式细胞术检测细胞凋亡;蛋白免疫印迹(Western blot)法检测Bcl-2相关X蛋白(Bax)、B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl2)、蜗牛蛋白(Snail)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)蛋白表达;Transwell实验检测细胞迁移和侵袭;克隆形成实验检测放射敏感性。与癌旁组织和正常人支气管上皮细胞HBE比较,LINC02310在非小细胞肺癌组织和细胞中相对表达量均明显升高。与si-NC组比较,下调LINC02310能降低非小细胞肺癌细胞的D值、迁移细胞数、侵袭细胞数、细胞存活分数,增加凋亡率,降低Bcl2、Snail、N-cadherin蛋白表达,增加Bax、E-cadherin蛋白表达。下调LINC02310能抑制非小细胞肺癌细胞增殖、迁移、侵袭和上皮-间质转化,促进细胞凋亡,增强放射敏感性。

**关键词** LINC02310; 非小细胞肺癌; 增殖; 凋亡; 上皮-间质转化; 放射敏感性;

## Effects of LncRNA LINC02310 on the Epithelial-Mesenchymal Transition and Radiosensitivity of Non-Small Cell Lung Cancer Cells

WU Chaohui\*, YANG Jiansheng, LIN Xianbin, WU Jiayun, WU Jingyang

(Department of Thoracic and Cardiovascular Surgery, the Second Affiliated Hospital of Fujian Medical University, Quanzhou 362000, China)

**Abstract** This study was to investigate the effects of LncRNA (long non-coding RNA) LINC02310 on EMT (epithelial-mesenchymal transition) and radiosensitivity of non-small cell lung cancer. qRT-PCR (real-time quantitative polymerase chain reaction) method was used to detect the relative expression of LINC02310 in non-small cell lung cancer tissues and cells (H1299, A549, H1650). H1299 cells were cultured *in vitro*, si-NC and si-LINC02310 were transfected into the cells according to the liposome method, which were marked as si-NC group and si-LINC02310 group, and the relative expression of LINC02310 was detected by qRT-PCR; thiazole blue (MTT) method was used to detect cell proliferation; flow cytometry was used to detect cell apoptosis; Western blot method was used to detect Bax (Bcl-2 related X protein), Bcl2 (B-cell lymphoma/leukemia-2), Snail, E-cadherin, and N-cadherin protein expression; Transwell test was used to detect cell migration and invasion; clone formation test was used to detect radiosensitivity. Compared with adjacent tissues and normal human lung epithelial cells HBE, the

收稿日期: 2021-08-20 接收日期: 2021-10-15

泉州市科技计划项目(批准号: 2019N101S)资助的课题

\*通讯作者。Tel: 15359987916, E-mail: korawar@sina.com

Received: August 20, 2021 Accepted: October 15, 2021

This work was supported by Quanzhou Science and Technology Plan Project (Grant No.2019N101S)

\*Correspondence author. Tel: +86-15359987916, E-mail: korawar@sina.com

relative expression of LINC02310 in non-small cell lung cancer tissues and cells was significantly increased. Compared with the si-NC group, down-regulating LINC02310 can reduce the *D* value, the number of migrated cells, the number of invaded cells, and the cell SF (survival fraction) of non-small cell lung cancer cells, increase the rate of apoptosis; reduce the expression of Bcl2, Snail, and N-cadherin, and increase the expression of Bax and E-cadherin. Downregulation of LINC02310 can inhibit non-small cell lung cancer cell proliferation, migration, invasion and epithelial-mesenchymal transition, promote cell apoptosis and increase radiosensitivity.

**Keywords** LINC02310; non-small cell lung cancer; proliferation; apoptosis; epithelial-mesenchymal transition; radiosensitivity;

全球范围内肿瘤种类逐渐增多,其中非小细胞肺癌相对较为常见,临床将其进行进一步的分类,可以分为腺癌、鳞状细胞癌等,若将其归于大类,其属于肺癌的一种,在所有肺癌中占80%~85%,随着工业、制造业等发展快速,环境污染、电离辐射等因素使肺癌有较高发病率、死亡率,严重威胁人类生命健康安全<sup>[1-2]</sup>。非小细胞肺癌发病机制复杂,目前主要治疗方法有手术,放化疗,靶向、免疫治疗等,但治疗效果不甚理想<sup>[3]</sup>。最近的研究报道显示,长链非编码RNA(long non-coding RNA, LncRNA)在非小细胞肺癌发病机制中发挥着重要作用<sup>[4]</sup>,如SNHG1、SLC16A1-AS1等已被证实与非小细胞肺癌发病有关,参与非小细胞肺癌细胞增殖、凋亡、转移和放射敏感性等生物学过程<sup>[5-6]</sup>。之前的报道显示,LINC02310与肺腺癌患者预后相关,在肺癌中表达上调<sup>[7]</sup>,但是对肺癌的具体作用机制尚不清楚。本研究以H1299细胞为主要研究对象,主要探讨LncRNA LINC02310对非小细胞肺癌细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭、上皮-间质转化和放射敏感性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本收集

收集本院诊断为非小细胞肺癌的患者25例,并切除非小细胞肺癌组织和相邻的癌旁组织,将切除的组织放置于液氮内保存。所有非小细胞肺癌患者均未接受任何化疗或放疗,在进行手术前均签署患者知情同意书。本研究符合《赫尔辛基宣言》,并获得了本院伦理委员会的批准,批准号:[2021]福医附二伦理审字(284)号。

### 1.2 主要试剂

胎牛血清购于杭州四季青公司;DMEM培养基、Lipofectamine 2000试剂盒、TRIzol试剂盒均购于美国Invitrogen公司;si-NC、si-LINC02310、引

物由上海生工生物工程股份有限公司设计合成;反转录试剂盒购于上海恒斐生物科技有限公司;荧光定量试剂盒购于北京康为世纪生物科技有限公司;MTT试剂盒、凋亡试剂盒购于美国Sigma公司;Bax抗体、Bcl2抗体、Snail抗体、E-cadherin抗体、N-cadherin抗体、 $\beta$ -actin抗体、Transwell、Matrigel基质胶均购于美国BD公司。

### 1.3 细胞培养和转染

正常人支气管上皮细胞HBE,肺癌细胞H1299、A549、H1650购于美国典型培养保藏中心,将所有细胞在含有10%胎牛血清的DMEM培养基中培养,设置恒温培养箱条件为37℃、5% CO<sub>2</sub>。其间需要对细胞的生长情况进行相应的观察和记录,尤其注意其融合率,当其数值达到85%时,对其行消化传代培养。取对数期H1299细胞,接种在6孔细胞板中,以每孔 $1 \times 10^5$ 密度接种。然后按照Lipofectamine 2000试剂盒说明书将阴性对照(si-NC)、抑制剂LINC02310(si-LINC02310)转染至细胞内,记作si-NC组、si-LINC02310组。

### 1.4 qRT-PCR法检测LINC02310相对表达量

将TRIzol试剂加入癌旁组织、非小细胞肺癌组织、正常人支气管上皮细胞HBE、非小细胞肺癌细胞H1299、A549、H1650以及各组H1299细胞中,再将其完全混合,并提取细胞总RNA,选择合适的紫外分光光度计,检测 $D_{260}/D_{280}$ 处总RNA质量,取1  $\mu$ L总RNA稀释50倍,加入RNase free dH<sub>2</sub>O合成cDNA模板,然后取10  $\mu$ L SYBR Green, 0.8  $\mu$ L正向、反向引物, 2  $\mu$ L cDNA模板, 0.4  $\mu$ L ROX Reference Dye(荧光参比染料),加入灭菌水补充至20  $\mu$ L,在荧光PCR仪器进行实时PCR反应。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算LINC02310相对表达量。

### 1.5 细胞定位实验

取对数期H1299细胞接种于6孔板中,当融合率达到80%时,根据细胞核分离试剂盒说明书提

取分离细胞质RNA和细胞核RNA, 然后按照上述1.4方法检测细胞质RNA和细胞核RNA表达量, 以MALAT1、GAPDH作为对照。

### 1.6 MTT法检测细胞增殖

收集各组H1299细胞, 调整浓度后接种到96孔板中, 培养箱内常规培养24 h、48 h、72 h后, 每孔内加入20  $\mu$ L的MTT溶液, 继续培养4 h, 加入150  $\mu$ L二甲基亚砷溶液, 然后用酶标仪测定波长为490 nm处吸光度 $D$ 值。

### 1.7 流式细胞术检测细胞凋亡

收集各组H1299细胞, 用PBS清洗后加入500  $\mu$ L的结合缓冲液制成细胞悬液。按照凋亡试剂盒说明书步骤, 分别与5  $\mu$ L的Annexin V-FITC和10  $\mu$ L的PI混匀培养, 暗室反应15 min, 反应完成后将其置于室温下静置30 min, 使用流式细胞仪检测1 h内各组细胞凋亡情况。

### 1.8 Western blot法检测Bax、Bcl2、Snail、E-cadherin、N-cadherin蛋白表达

收集各组H1299细胞加入放射免疫沉淀(RIPA)裂解液提取总蛋白, 提取完成后, 需要对蛋白的质量进行检测, 采用的方法为BCA法。同时需要制定分离胶, 并将分离胶的浓度设定为10%, 随后取35  $\mu$ g的样品给予分离, 将蛋白转膜, 5%脱脂奶粉室温封闭培养1.5 h, 加入Bax、Bcl2、Snail、E-cadherin、N-cadherin抗体, 稀释至1:800, 4  $^{\circ}$ C孵育过夜, 随后加入二抗(稀释比例1:3 000)并置于室温下, 1.5 h后对其显影。显影物质采用的是电化学发光液, 观察其显影后进行拍照处理, 拍照的目的是将其条带灰度值进行分析, 分析物质为凝胶成像仪, 以 $\beta$ -actin为对照, 分析蛋白条带灰度值。

### 1.9 Transwell实验检测细胞迁移和侵袭

侵袭实验: 收集各组H1299细胞, 按照1:8比例稀释Matrigel基质胶, 并调整浓度至 $2 \times 10^5$ 个/mL。每孔内加入50  $\mu$ L溶液铺至Transwell小室上室底部, 在其下室内加入培养基, 该培养基内含有500  $\mu$ L血清, 放入恒温培养箱内继续培养24 h, 取出小室擦掉多余细胞, 用多聚甲醛固定15 min, 并计数。迁移实验: Transwell上室加入100  $\mu$ L不含血清的培养液, 其余步骤同侵袭实验一致。对Transwell小室进行染色, 染色时间为15 min, 染色剂为吉萨姆, 染色15 min后使用清水将其染色剂进行清洗, 随后将其置于室温下风干处理, 并通过显微镜对其细胞数目进行观察。

### 1.10 克隆形成实验检测放射敏感性

收集生长状态良好的各组H1299细胞, 采用PBS清洗, 制备细胞悬液, 然后以500个/孔密度接种至6孔板中, 轻轻转动保证细胞分布均匀, 然后用X射线剂量0、2、4、6、8 Gy进行照射, 照射结束后放置于培养箱中培养, 随后需要每天对细胞的生长情况进行观察, 观察方式均为肉眼观察, 当观察至细胞克隆后, 需要将整个培养过程终止。使用多聚甲醛固定细胞15 min, 吉萨姆染色15 min, 冲洗染液, 自然风干, 置于显微镜下观察细胞克隆数目。首先需要拟合细胞存活曲线进行分析, 采用的软件为GraphPad Prism 7软件, 此外, 还需对致死剂量(D0)、准域剂量(Dq)、外推数(N)、2 Gy照射后存活分数(SF2)、参数值 $k(1/D0)$ 、放射增敏比(sensitivity ratio, SER)(对照组D0/干扰组D0)等参数给予计算。

### 1.11 统计学分析

用SPSS 22.0软件分析处理实验数据, 实验结果以平均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两组间比较用 $t$ 检验, 多组间比较用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 LINC02310在非小细胞肺癌组织的表达

采用qRT-PCR法检测非小细胞肺癌组织中LINC02310的相对表达量, 结果显示, 非小细胞肺癌组织中LINC02310相对表达量显著高于癌旁组织, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1)。

### 2.2 LINC02310在非小细胞肺癌细胞中的表达和定位

采用qRT-PCR法检测非小细胞肺癌细胞中LINC02310的相对表达量, 结果显示, 非小细胞肺癌细胞H1299、A549、H1650中LINC02310相对表达量显著高于正常人支气管上皮细胞HBE, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表2)。研究选择差异相对较大的H1299细胞进行后续实验, 通过细胞核分离实验发现, LINC02310在细胞核中表达较高(表3)。

### 2.3 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞增殖的影响

将si-LINC02310转染H1299细胞后发现, 与si-NC组相比, si-LINC02310组中LINC02310相对表达量显著降低, 48 h、72 h时细胞 $D$ 值显著降低, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表4)。

## 2.4 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞凋亡的影响

将 si-LINC02310 转染 H1299 细胞后发现, 与 si-NC 组相比, si-LINC02310 组的细胞凋亡率显著升高, Bax 蛋白表达显著增加, Bcl2 蛋白表达显著降低,

差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(图1和表5)。

## 2.5 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞迁移、侵袭的影响

将 si-LINC02310 转染 H1299 细胞后发现, 与 si-NC 组相比, si-LINC02310 组的迁移细胞数、侵袭

表1 LINC02310在非小细胞肺癌组织的表达

Table 1 Expression of LINC02310 in non-small cell lung cancer tissues

分组 Group	LINC02310
Adjacent tissues	1.09±0.30
Non-small cell lung cancer tissues	3.10±0.73*
<i>F</i>	12.374
<i>P</i>	0.000

\* $P < 0.05$ , 与癌旁组织比较。

\* $P < 0.05$  compared with adjacent tissues.

表2 LINC02310在非小细胞肺癌细胞中的表达

Table 2 Expression of LINC02310 in non-small cell lung cancer cells

分组 Group	LINC02310
HBE	0.99±0.05
H1299	3.29±0.32*
A549	2.55±0.32*
H1650	1.72±0.15*
<i>F</i>	156.108
<i>P</i>	0.000

\* $P < 0.05$ , 与HBE比较。

\* $P < 0.05$  compared with HBE.

表3 核分离实验

Table 3 Nuclear separation experiment

分组 Group	$D_{260}/D_{280}$	
	细胞质 Cytoplasm	细胞核 Nucleus
MALAT1	0.13±0.02	1.00±0.06
GAPDH	0.97±0.06	1.01±0.05
LINC02310	0.64±0.03	0.99±0.08

表4 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞增殖的影响

Table 4 The effect of down-regulating of LINC02310 on the proliferation of non-small cell lung cancer cells

分组 Group	LINC02310	$D_{490}$		
		24 h	48 h	72 h
si-NC	0.97±0.08	0.35±0.03	0.72±0.07	1.16±0.10
si-LINC02310	0.43±0.03*	0.32±0.04	0.54±0.05*	0.71±0.06*
<i>t</i>	18.961	1.800	6.277	11.576
<i>P</i>	0.000	0.091	0.000	0.000

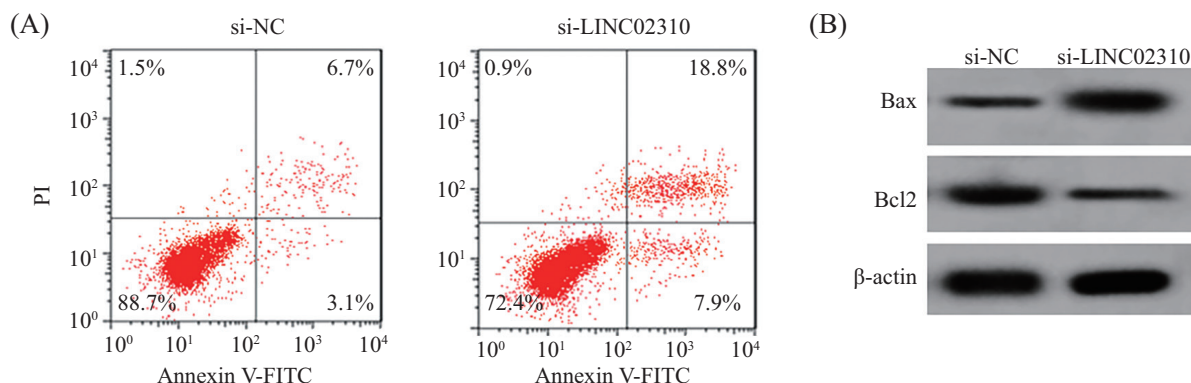
\* $P < 0.05$ , 与si-NC组比较。

\* $P < 0.05$  compared with si-NC group.

细胞数减少, 蛋白表达之间存在显著差异, 其中E-cadherin蛋白显著增加, Snail、N-cadherin蛋白表达显著降低( $P<0.05$ )(图2和表6)。

## 2.6 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞放射敏感性的影响

用X射线剂量为0、2、4、6、8 Gy照射H1299细胞,



A: 流式细胞术检测凋亡率; B: Western blot法检测Bax、Bcl2蛋白表达。

A: flow cytometry was used to detect apoptosis rate; B: Western blot was used to detect Bax and Bcl2 protein expression.

图1 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞凋亡的影响

Fig.1 The effect of down-regulation of LINC02310 on cell apoptosis in non-small cell lung cancer cells

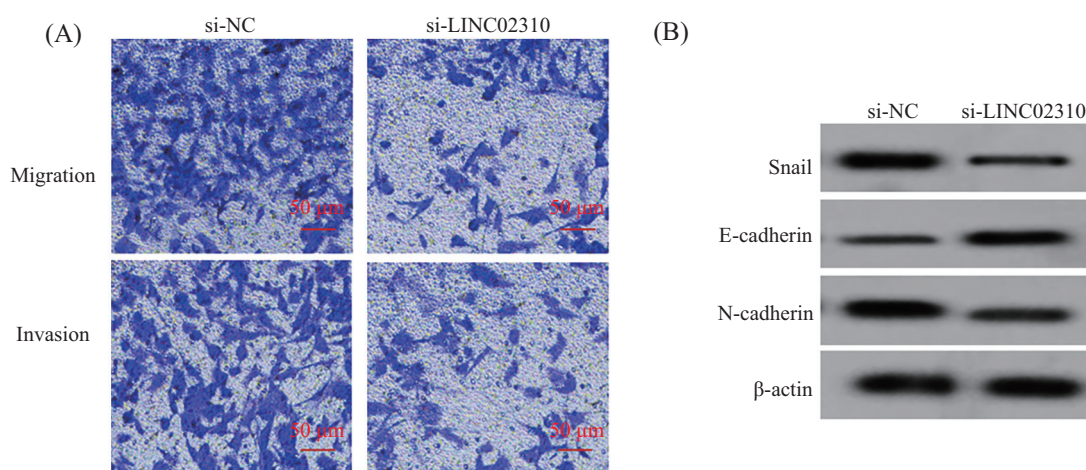
表5 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞凋亡的影响

Table 5 The effect of down-regulation of LINC02310 on cell apoptosis in non-small cell lung cancer cells

分组 Group	细胞凋亡率/% Apoptosis rate /%	Bax	Bcl2
si-NC	9.8±0.9	0.33±0.04	0.46±0.04
si-LINC02310	26.7±2.3*	0.52±0.04*	0.32±0.03*
<i>t</i>	20.528	10.076	8.400
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000

\* $P<0.05$ , 与si-NC组比较。

\* $P<0.05$  compared with si-NC group.



A: Transwell实验检测细胞迁移和侵袭; B: Western blot检测EMT相关蛋白表达。

A: Transwell test was used to detect cell migration and invasion; B: Western blot detection of EMT-related protein expression.

图2 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞迁移、侵袭和上皮-间质转化相关蛋白表达的影响

Fig.2 The effect of down-regulation of LINC02310 on the migration, invasion and the expression of EMT-related proteins of non-small cell lung cancer cells

表6 下调LINC02310对非小细胞肺癌细胞迁移、侵袭和EMT相关蛋白表达的影响

Table 6 The effect of down-regulation of LINC02310 on migration, invasion and the expression of EMT-related proteins of non-small cell lung cancer cells

分组 Group	迁移细胞数 (个) Number of migrating cells	侵袭细胞数(个) Number of Invasive cell	Snail	E-cadherin	N-cadherin
si-NC	76.32±7.31	72.55±6.52	0.51±0.04	0.32±0.04	0.48±0.04
si-LINC02310	42.75±4.11*	39.27±3.68*	0.34±0.03*	0.62±0.05*	0.22±0.02*
<i>t</i>	12.009	13.335	10.200	14.056	17.441
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

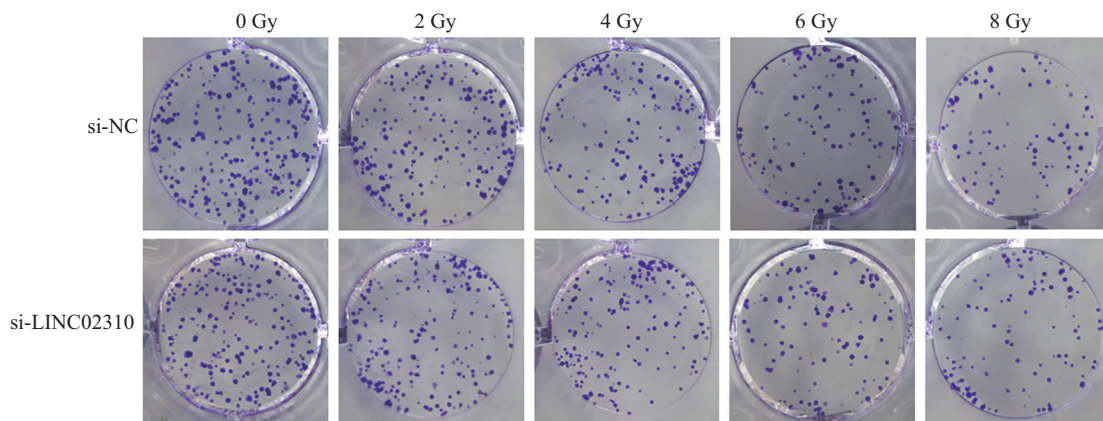
\**P*<0.05, 与si-NC组比较。\**P*<0.05 compared with si-NC group.

图3 克隆形成图

Fig.3 Diagram of clone formation

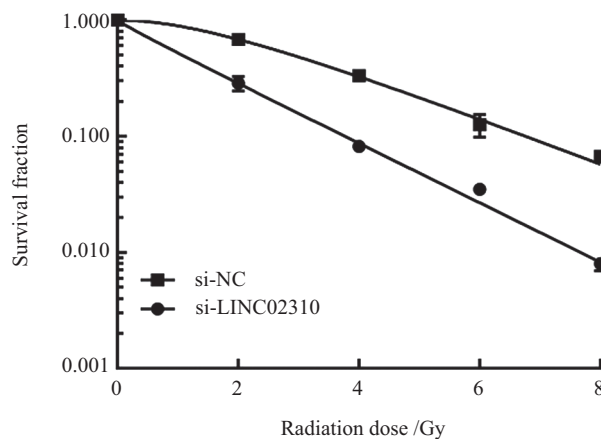


图4 存活曲线

Fig.4 Survival curve

结果发现, 与si-NC组相比, si-LINC02310组的存活分数显著降低, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ )(图3和图4)。表7结果显示, 用单击多靶拟合计算得出, si-NC组、si-LINC02310组的D<sub>0</sub>值分别2.193、1.701,

D<sub>q</sub>分别为1.769、-0.153, SER为1.289。

### 3 讨论

随着现代医学技术的进步, 非小细胞肺癌治疗水

表7 单击多靶模型参数

Table 7 Single-click multi-target model parameters

分组 group	D0 /Gy	Dq /Gy	N	SF2	k	SER
si-NC	2.193	1.769	2.240	0.684	0.456	
si-LINC02310	1.701	-0.153	0.914	0.286	0.588	1.289

平取得了一定效果,但是患者存在复发转移、耐药等常见的临床问题,导致5年预后效果不甚理想<sup>[8]</sup>。越来越多报道显示,LncRNA是一种非编码式RNA转录本,临床研究中,大多将其定义为长度大于200 bp,在癌症中包括非小细胞肺癌在内的人类疾病中异常表达,不仅在癌症的发生过程中广泛参与,还在癌症细胞的发展中广泛存在<sup>[9-10]</sup>。据报道显示,LncRNA(如LncRNA NEAT1、NNT-AS1、HOTTIP等)能促进非小细胞肺癌的生长、发展和凋亡,以及增强放疗敏感性等<sup>[11-13]</sup>。有研究结果显示,利用TCGA数据库筛选胃癌相关的LncRNA,发现LINC02310与胃癌患者预后显著相关<sup>[14]</sup>,但是具体机制尚不清楚。ZHAO等<sup>[15]</sup>研究结果显示,LINC02310是被鉴定为与肺腺癌总体生存期显著相关的一种促癌基因,与患者临床分期、TNM分期相关,过表达LINC02310能显著促进肺腺癌细胞的增殖,抑制LINC02310能明显抑制肺腺癌细胞的增殖。以上均说明,LINC02310可以作为癌症的潜在生物标记物,但是对非小细胞肺癌的研究相对较少。在本次研究中,采用qRT-PCR检测癌组织中LINC02310表达情况,结果发现,在癌组织中,LINC02310表达显著上调,说明LINC02310可以促进非小细胞肺癌发展。

细胞增殖是机体内重要的生命特征,是机体生长、发育、繁殖的基础,在人类癌症的发展中至关重要;凋亡是维持内环境稳定的关键,能自主性地结束周期,Bax和Bcl2是常见的凋亡相关蛋白,Bcl2能抑制凋亡产生,与Bax相互拮抗影响凋亡发展<sup>[16]</sup>。LncRNA在癌细胞抑制增殖、促进凋亡方面发挥着重要的作用。如下调LINC00301能抑制非小细胞肺癌细胞的增殖和促进细胞凋亡<sup>[17]</sup>。肖钦晓等<sup>[18]</sup>研究结果显示,抑制ADPGK-AS1能抑制非小细胞肺癌细胞增殖和诱导凋亡。本研究结果显示,将si-LINC02310转染非小细胞肺癌细胞后,下调LINC02310能降低非小细胞肺癌细胞48 h、72 h时的D值,细胞凋亡率明显增加,蛋白的表达也存在显著差异,说明下调LINC02310能抑制非小细胞肺癌

细胞的增殖,并促进细胞凋亡。在细胞的发生、发展过程中,上皮-间质转化与其存在密切的关系,E-cadherin、N-cadherin和Snail等是常见的上皮-间质转化相关蛋白,E-cadherin是抑制因子,与N-cadherin和Snail结合,可以促进上皮-间质转化的发生<sup>[19-20]</sup>。有研究指出,当非小细胞肺癌出现上皮-间质转化时,首先其细胞的生长发展会受到一定影响,其次细胞黏附力下降,导致迁移、侵袭能力上升<sup>[21]</sup>。本研究结果显示,下调LINC02310能减少非小细胞肺癌细胞迁移细胞数、侵袭细胞数,上调E-cadherin蛋白表达,下调Snail、N-cadherin蛋白表达,说明下调LINC02310能抑制非小细胞肺癌细胞迁移、侵袭和上皮-间质转化。目前,临床对非小细胞肺癌的治疗方法较多,包括药物、手术切除等,其中对于非小细胞肺癌晚期患者而言,最为常用的治疗方法之一为放疗,放射线辐射量照射癌细胞,能引起DNA损伤,加速细胞发生凋亡,对非小细胞肺癌的治疗具有重要意义<sup>[22]</sup>。有研究结果显示,X射线照射细胞后能促进非小细胞肺癌细胞中LncRNA(如LINC00319)表达升高,下调LINC00319能增强非小细胞肺癌放射敏感性<sup>[23]</sup>。本研究结果显示,采用不同剂量X射线照射非小细胞肺癌细胞,下调LINC02310能降低非小细胞肺癌细胞存活分数,增强其放射敏感性。

综上所述,LINC02310在非小细胞肺癌中高表达,下调LINC02310表达,可以抑制非小细胞癌的增殖、迁移、侵袭和上皮-间质转化,促进细胞凋亡,并增强放射敏感性。这为非小细胞肺癌放疗提供了新的依据,关于LINC02310对非小细胞肺癌调控机制非常复杂,还需要进一步进行实验探究。

## 参考文献 (References)

- [1] SUSTER D I, MINO-KENUDSON M. Molecular pathology of primary non-small cell lung cancer [J]. Arch Med Res, 2020, 51(8): 784-8.
- [2] WANG L Y, CUI J J, LIU J Y, et al. Gene-gene and gene-environment interaction data for platinum-based chemotherapy in non-small cell lung cancer [J]. Sci Data, 2018, 5: 180284.
- [3] DING H Y, XIN W X, TONG Y H, et al. Cost effectiveness of

- immune checkpoint inhibitors for treatment of non-small cell lung cancer: a systematic review [J]. *PLoS One*, 2020, 15(9): e0238536.
- [4] GINN L, SHI L, MONTAGNA M, et al. LncRNAs in non-small-cell lung cancer [J]. *Noncoding RNA*, 2020, 6(3): 25.
- [5] PEI S L, CHEN Z Y, TAN H J, et al. SLC16A1-AS1 enhances radiosensitivity and represses cell proliferation and invasion by regulating the miR-301b-3p/CHD5 axis in hepatocellular carcinoma [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2020, 27(34): 42778-90.
- [6] LI X M, ZHENG H. LncRNA SNHG1 influences cell proliferation, migration, invasion, and apoptosis of non-small cell lung cancer cells via the miR-361-3p/FRAT1 axis [J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(2): 295-304.
- [7] LI Y Y, YANG C, ZHOU P, et al. Genome-scale analysis to identify prognostic markers and predict the survival of lung adenocarcinoma [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(11): 8909-21.
- [8] WANG W H, SUN X, HUI Z H. Treatment optimization for brain metastasis from anaplastic lymphoma kinase rearrangement non-small-cell lung cancer [J]. *Oncol Res Treat*, 2019, 42(11): 599-606.
- [9] HUA Q, MI B M, XU F, et al. Hypoxia-induced lncRNA-AC020978 promotes proliferation and glycolytic metabolism of non-small cell lung cancer by regulating PKM2/HIF-1 $\alpha$  axis [J]. *Theranostics*, 2020, 10(11): 4762-78.
- [10] WANG T, TANG X P, LIU Y C. LncRNA-ATB promotes apoptosis of non-small cell lung cancer cells through miR-200a/ $\beta$ -catenin [J]. *J BUON*, 2019, 24(6): 2280-6.
- [11] ZHOU W, CHEN X, HU Q H, et al. Galectin-3 activates TLR4/NF- $\kappa$ B signaling to promote lung adenocarcinoma cell proliferation through activating lncRNA-NEAT1 expression [J]. *BMC Cancer*, 2018, 18(1): 580.
- [12] HE W L, ZHANG Y Y, XIA S L. LncRNA NNT-AS1 promotes non-small cell lung cancer progression through regulating miR-22-3p/YAP1 axis [J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(3): 549-60.
- [13] 魏少贤, 牛锐, 杨海林, 等. 沉默lncRNA HOTTIP通过上调miR-663a表达增加非小细胞肺癌细胞系放射敏感性[J]. *中华放射肿瘤学杂志*(WEI S X, NIU R, YANG H L, et al. Silencing lncRNA HOTTIP increases the radiosensitivity of non-small cell lung cancer cell lines by up-regulating miR-663a expression [J]. *Chinese Journal of Radiation Oncology*), 2020, 29(7): 563-8.
- [14] 常紫薇, 刘辉, 张秋萌, 等. 基于TCGA和LASSO回归的胃癌预后lncRNA预测模型构建[J]. *临床肿瘤学杂志*(CHANG Z W, LIU H, ZHANG Q M, et al. Establishment of lncRNA predictive model based on TCGA and LASSO for prognosis gastric cancer [J]. *Chinese Clinical Oncology*), 2020, 25(9): 823-9.
- [15] ZHAO W Y, WANG J, LUO Q X, et al. Identification of LINC02310 as an enhancer in lung adenocarcinoma and investigation of its regulatory network via comprehensive analyses [J]. *BMC Med Genomics*, 2020, 13(1): 185.
- [16] SALEEM M, ASIF J, ASIF M, et al. Amygdalin from apricot kernels induces apoptosis and causes cell cycle arrest in cancer cells: an updated review [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2018, 18(12): 1650-5.
- [17] SUN C C, ZHU W, LI S J, et al. FOXC1-mediated LINC00301 facilitates tumor progression and triggers an immune-suppressing microenvironment in non-small cell lung cancer by regulating the HIF1 $\alpha$  pathway [J]. *Genome Med*, 2020, 12(1): 77.
- [18] 肖钦晓, 程宏宁, 颜洪顺, 等. lncRNA ADPGK-AS1通过调控miR-217表达对非小细胞肺癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. *临床肺科杂志*(XIAO Q X, CHENG H Y, YAN H S, et al. Effect of lncRNA ADPGK-AS1 on the proliferation and apoptosis of non-small cell lung cancer cells by regulating the expression of miR-217 [J]. *Journal of Clinical Pulmonary Medicine*), 2020, 25(7): 998-1004.
- [19] AIELLO N M, MADDIPATI R, NORGARD R J, et al. EMT Subtype influences epithelial plasticity and mode of cell migration [J]. *Dev Cell*, 2018, 45(6): 681-95.
- [20] 俞婷婷, 刘莉, 王若峥. 非小细胞肺癌组织中Snail、E-cadherin及N-cadherin的表达及临床意义[J]. *实用临床医药杂志*(YU T T, LIU L, WANG R Z. Expression of Snail, E-cadherin and N-cadherin in tissues of non-small cell lung cancer and its clinical significance [J]. *Journal of Clinical Medicine in Practice*), 2016, 20(17): 29-31,56.
- [21] SCHAAL C M, BORA-SINGHAL N, KUMAR D M, et al. Regulation of Sox2 and stemness by nicotine and electronic-cigarettes in non-small cell lung cancer [J]. *Mol Cancer*, 2018, 17(1): 149.
- [22] SHARMA A, ALMASAN A. USP14 regulates DNA damage response and is a target for radiosensitization in non-small cell lung cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(17): 6383.
- [23] 李伟, 石柯. 辐照后A549细胞中差异表达lncRNAs的生物信息学筛选及预后价值分析[J]. *辐射研究与辐射工艺学报*(LI W, SHI K. Identification of long non-coding RNAs in irradiated A549 cells and analysis of lung cancer prognostic values by bioinformatics analysis [J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*), 2017, 35(2): 30-5.