

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.06.012

· 临床研究 ·

HOXA13在非小细胞肺癌组织中的表达及其对A549细胞和移植瘤生长的影响

刘玉玲, 黄宝和(焦作煤业集团有限责任公司中央医院 呼吸科, 河南 焦作 454000)

[摘要] **目的:** 探讨HOXA13在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)组织中的表达及沉默HOXA13基因表达对A549细胞和移植瘤生长的影响。**方法:** 收集2014年3月至2016年4月在焦作煤业集团有限责任公司中央医院胸外科接受手术切除治疗的112例NSCLC癌组织和相对应的癌旁组织。qPCR实验检测NSCLC癌和癌旁组织中HOXA13表达。培养A549细胞并分为siRNA-HOXA13组、阴性对照组和对照组, qPCR实验检测A549细胞中HOXA13表达, CCK-8法检测细胞增殖能力, Transwell法检测细胞侵袭能力。建立裸鼠移植瘤模型, 观察裸鼠生长情况, 5周后处死, 称瘤体质量并计算抑瘤率; qPCR实验检测瘤体组织中HOXA13表达水平。**结果:** NSCLC癌组织中HOXA13 mRNA相对表达量明显高于癌旁组织(1.83 ± 0.13 vs 1.12 ± 0.10 , $t=47.008$, $P=0.000$), 其相对表达量与TNM分期、分化程度和淋巴结转移相关($P<0.05$)。siRNA-HOXA13组细胞中HOXA13 mRNA相对表达量低于阴性对照组和对照组(均 $P<0.05$); siRNA-HOXA13组24、48、72、96 h时细胞增殖水平(D 值)明显低于阴性对照组和对照组($F=30.727$ 、 5.427 、 13.816 和 24.454 , 均 $P<0.05$ 或 $P<0.01$); siRNA-HOXA13组侵袭细胞数低于阴性对照组和对照组(均 $P<0.05$); siRNA-HOXA13组裸鼠移植瘤5周时瘤体质量小于阴性对照组和对照组, 而抑瘤率高于阴性对照组(均 $P<0.05$); siRNA-HOXA13组裸鼠移植瘤组织中HOXA13 mRNA相对表达量低于阴性对照组和对照组(均 $P<0.01$)。**结论:** NSCLC癌组织中HOXA13呈高表达, 且与肿瘤发生、进展及转移有关; 特异性沉默HOXA13基因表达可抑制细胞增殖和侵袭力, 并抑制裸鼠移植瘤生长。

[关键词] 非小细胞肺癌; HOXA13基因; 小分子RNA干扰; 移植瘤

[中图分类号] R730.51; R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)06-0689-06

Expression of HOXA13 in non-small cell lung cancer tissues and its effect on growth of xenograft in nude mice

LIU Yuling, HUANG Baohe (Department of Respiratory, Central Hospital of Jiaozuo Coal Industry Group Co., Ltd. of Jiaozuo City, Jiaozuo 454000, Henan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of HOXA13 in non-small cell lung cancer (NSCLC) tissues, and to explore the effect of silencing HOXA13 gene on the growth of A549 cells *in vitro* and xenograft in nude mice. **Methods:** A total of 112 pairs of NSCLC tissues and corresponding adjacent normal tissues from patients, who underwent surgical resection at the Department of Thoracic surgery, Central Hospital of Jiaozuo Coal Industry Group from March 2014 to April 2016, were selected for this study. Real-time fluorescence quantitative PCR was used to detect the expressions of HOXA13 in NSCLC tissues and adjacent tissues. A549 cells were cultured and divided into siRNA-HOXA13 group, negative control group and control group. Real-time quantitative PCR was used to detect the expression of HOXA13 in cells, CCK-8 was used to detect cell proliferation, and Transwell assay was used to detect cell invasion. Xenograft model in nude mice was constructed, and the growth of nude mice was observed. After 5 weeks, the mice was sacrificed and weighed, and the tumor-inhibition rate was calculated. Real-time fluorescence quantitative PCR(qPCR) was used to detect the expression of HOXA13 in xenograft tissues. **Results:** The relative expression level of HOXA13 mRNA in NSCLC tissues was significantly higher than that in the adjacent tissues (1.83 ± 0.13 vs 1.12 ± 0.10 , $t=47.008$, $P=0.000$), and its expression was correlated to TNM staging, differentiation and lymph node metastasis (all $P<0.05$). The relative expression level of HOXA13 mRNA in cells of siRNA-HOXA13 group was lower than that in the negative control group and the control group ($P<0.05$). The cell proliferation level (D values) at 24, 48, 72 and 96 h in the siRNA-HOXA13 group were significantly lower than those in the negative control group and control

[基金项目] 河南省科技发展计划资助项目(No.152300410158)。Project supported by the Science and Technology Development Plan of Henan Province (No.152300410158)

[作者简介] 刘玉玲(1978-), 女, 本科, 副主任医师, 主要从事肺部肿瘤的研究, E-mail: 3293799687@qq.com

[通信作者] 刘玉玲(LIU Yuling, corresponding author), E-mail: 3293799687@qq.com

group ($F=30.727, 5.427, 13.816$ and 24.454 , all $P<0.05$ or $P<0.01$); the number of invasive cells in the siRNA-HOXA13 group was lower than that in the negative control group and the control group (all $P<0.05$). The mass of xenograft in nude mice at week 5 in the siRNA-HOXA13 group was smaller than that in the negative control group and control group, while the tumor-inhibition rate was higher than the negative control group (all $P<0.05$). The relative mRNA expression level of HOXA13 in xenograft tumor tissue in the siRNA-HOXA13 group was lower than that in the negative control group and the control group (all $P<0.01$). **Conclusion:** HOXA13 was highly expressed in the non-small cell lung cancer tissues, and was related to oncogenesis, progression and metastasis of cancer. Specific silencing of HOXA13 gene expression could inhibit the proliferation and invasion of tumor cells and suppress the growth of xenograft in nude mice.

[Key words] non-small cell lung cancer; HOXA13 gene; small RNA interference; xenograft

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(6): 689-694. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.06.012]

肺癌作为我国发病率和病死率均居首位的呼吸系统恶性肿瘤,近年来发病呈升高趋势,对人群健康构成了严重威胁^[1]。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌主要类型,占肺癌发病的75%~80%。由于该肿瘤类型早期症状不典型,多数患者临床确诊时已进展至中晚期,且术后复发转移率较高,患者5年总体生存率低于20%^[2-3]。有研究^[4]显示,基因表达异常尤其是癌基因或抑癌基因表达异常在肿瘤发生、进展中发挥关键性作用。同源基因A-13(homeotic genes-A13, HOXA13)作为同源盒基因家族重要成员,在胚胎组织发育中发挥重要作用,是调控细胞增殖和分化的主要分子^[5]。近年来研究^[6]发现,HOXA13在肿瘤组织中呈高表达,其与患者预后有关。本研究拟分析NSCLC组织中HOXA13表达情况及其与临床病理特征的关系,并利用小分子RNA干扰(siRNA)技术沉默人NSCLC A549细胞中HOXA13基因,观察其对移植瘤生长的影响。

1 资料与方法

1.1 临床资料

收集2014年3月至2016年4月在焦作煤业集团有限责任公司中央医院胸外科接受手术切除治疗的112例NSCLC癌组织和相对应的癌旁组织。术前均未行放化疗,术后经病理学确诊。其中男性69例,女性43例;年龄39~78岁,平均(57.62±9.24)岁;病理学类型:鳞癌42例、腺癌70例;按照第八版TNM分期标准:I期23例、II期27例、III期54例、IV期8例;肿瘤直径:<3 cm 35例、≥3 cm 77例;发生淋巴结转移63例。术中留取肺癌组织及相应的癌旁组织,快速置于液氮中,放入-80℃冰箱保存。本研究患者均经患者或家属知情同意,并经医院医学伦理委员会批准。

1.2 实验动物、细胞株和主要试剂

清洁级健康雄性BALB/c裸鼠15只,购自上海斯莱克实验动物公司[合格证号:SCXK(沪)2017-0005],29~38 d龄,体质量17~20 g,饲养于标准条件下。按照数字表法随机分为3组,每组5只,适应

性饲养7 d。NSCLC A549细胞株由中科院上海细胞生物研究所提供。

总RNA提取试剂盒(TRIzol法)和转染试剂购自美国Invitrogen公司,逆转录和PCR扩增试剂盒购自宝生物工程(大连)有限公司,HOXA13和内参引物由上海生工生物公司设计合成,RPMI 1640培养液、胎牛血清和胰酶购自美国Gibco公司,HOXA13干扰序列和阴性对照序列由上海美轩生物科技公司设计合成,qPCR仪购自美国ABI公司,CCK-8检测试剂盒购自南京立乔生物科技有限公司,Transwell小室购自美国Corning公司,Matrigel胶购自美国BD公司。

1.3 qPCR实验检测NSCLC癌组织和癌旁组织中HOXA13 mRNA的表达

取NSCLC癌和癌旁组织,研磨后,加入细胞裂解液,按总RNA提取试剂盒说明提取总RNA。用紫外分光光度计检测并计算其纯度和浓度, $A_{260}/A_{280} \geq 1.80$ 为合格。将总RNA用逆转录试剂盒转录为cDNA,以cDNA为模板,按PCR扩增试剂盒说明用实时荧光定量PCR仪对引物扩增。HOXA13引物序列F: 5'-CGCTTCAGAACTCGTTGCTTT-GC-3', R: 5'-CGGAAGAACTGGCAGTCTTTACCT-3'; GAPDH引物序列F: 5'-AGTGGCAAAGTGGAGATT-3', R: 5'-GTGGAGTCATACTGGAACA-3'。反应条件:95℃ 3 min后,92℃ 30 s,92℃ 30 s,60℃ 30 s,75℃ 30 s,连续循环38次。每个样品设6个平行复孔。用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算NSCLC癌和癌旁组织中HOXA13 mRNA相对表达量。实验重复3次。

1.4 细胞培养和分组转染

将A549细胞置于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液中,在含5% CO₂、相对湿度、37℃培养箱中培养。取对数生长期细胞,胰酶消化,接种于6孔板中,待细胞汇合度达80%左右时,按照转染试剂盒说明对细胞进行分组进行转染:siRNA-HOXA13组转染HOXA13 siRNA,其干扰序列为5'-GCGGA-CAAGUACAUGGAUATT-3';阴性对照组转染阴性对照序列为5'-UAAACUCCUAACCGCAGUGC-3';

对照组不作任何处理。转染后继续37℃恒温培养。

1.5 qPCR实验检测A549细胞中HOXA13 mRNA表达

取各组转染处理48 h细胞,胰酶消化,加入细胞裂解液裂解,其余步骤同1.3。实验重复3次。

1.6 CCK-8法检测干扰HOXA3对A549细胞增殖活力的影响

取上述3组A549细胞转染后,胰酶消化,接种于96孔板,细胞密度为 1×10^4 个/孔,每组设复孔5个,继续恒温培养。分别在培养24、48、72和96 h时,往各孔加入CCK-8液10 μ l,继续恒温孵育120 min,用酶标仪取450 nm波长检测各孔光密度(D)值。实验重复3次。

1.7 Transwell实验检测干扰HOXA3对A549细胞侵袭能力的影响

用无血清培养液按1:6对Matrigel胶进行稀释,取100 μ l将Transwell小室上室进行包被,4℃过夜风干备用。取各组转染处理48 h细胞,胰酶消化,离心取沉淀,无血清培养重悬密度 1.5×10^5 /ml,向Transwell小室上室加入200 μ l,下室加入含20%胎牛血清的培养液600 μ l,过夜培养。取出小室,多聚甲醛固定,结晶紫染色,将上室内膜散落细胞用棉签去除,镜下观察,随机取6个视野计数穿膜细胞数。实验重复3次。

1.8 建立NSCLC A549细胞裸鼠移植瘤模型

取1.4中转染后对数生长期细胞,胰酶消化,离心后留取细胞沉淀,用PBS冲洗3次后,用PBS重悬细胞,调整细胞浓度为 5×10^6 个/ml。于超净工作台上,用75%乙醇对裸鼠右侧腋窝部位进行消毒,分别取siRNA-HOXA13组、阴性对照组和对照组细胞悬

液200 μ l,分别对3组裸鼠进行皮下注射,结束后,用酒精棉签轻轻按住以防细胞悬液渗出。3组裸鼠饲养于标准条件下,每周对裸鼠生长情况进行观察,5周后,麻醉处死,取瘤体,称质量并拍照,抑瘤率=[对照组平均瘤体质量-siRNA-HOXA13组(或阴性对照组)平均瘤体质量]/对照组平均瘤体质量 $\times 100\%$ 。

1.9 qPCR实验检测移植瘤体组织中HOXA13表达

取各组移植瘤体组织,切碎,研磨后,提取总RNA,其余步骤同1.3。实验重复3次。

1.10 统计学处理

利用SPSS 21.0统计学软件,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间比较采用t检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-t检验;计数资料采用率值表示,组间比较采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NSCLC癌组织中HOXA13 mRNA表达水平明显提高

qPCR实验检测结果显示,NSCLC癌组织中HOXA13 mRNA相对表达量明显高于癌旁组织(1.83 ± 0.13 vs 1.12 ± 0.10 , $t = 47.008$, $P = 0.000$)。

2.2 NSCLC癌组织中HOXA13表达与临床病理特征相关性

相关性分析结果(表1)显示,NSCLC癌组织中HOXA13 mRNA相对表达量与性别、年龄、病理学类型和肿瘤大小无关($P > 0.05$),而与TNM分期、分化程度和淋巴结转移有关(均 $P < 0.05$)。

表1 NSCLC癌组织中HOXA13表达与临床病理特征的相关性($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Correlation between HOXA13 expression in NSCLC tissues and clinicopathologic features ($\bar{x} \pm s$)

Clinicopathologic features	N	HOXA13 expression	t	P
Sex			1.315	0.191
Male	69	1.85 \pm 0.12		
Female	43	1.82 \pm 0.13		
Age(/a)			1.533	0.128
<58	78	1.85 \pm 0.16		
\geq 58	34	1.80 \pm 0.10		
Pathological types			1.660	0.100
Squamous carcinoma	42	1.81 \pm 0.12		
Adenocarcinoma	70	1.86 \pm 0.17		
TNM stage			5.726	0.000
I+II	50	1.77 \pm 0.07		
III+IV	62	1.88 \pm 0.12		
Differentiation			4.601	0.000
Low	37	1.89 \pm 0.17		
Middle/high	75	1.76 \pm 0.12		
Tumor size(/cm)			1.920	0.057
<3	35	1.81 \pm 0.12		
\geq 3	77	1.85 \pm 0.10		
Lymph node metastasis			8.241	0.000
Yes	63	1.94 \pm 0.14		
No	49	1.73 \pm 0.12		

2.3 siRNA-HOXA13 组细胞中 HOXA13 mRNA 相对表达量明显降低

siRNA-HOXA13 组、阴性对照组和对照组 A549 细胞中 HOXA13 mRNA 相对表达量分别为(0.22±0.04)、(1.06±0.06)和(1.01±0.05); siRNA-HOXA13 组 A549 细胞中 HOXA13 mRNA 相对表达量低于阴性对照组和对照组(均 $P < 0.01$), 阴性对照组与对照组

A549 细胞中 HOXA13 mRNA 相对表达量无明显差异($P > 0.05$)。

2.4 沉默 HOXA13 可抑制 A549 细胞增殖能力

CCK-8 法检测结果(表 2)显示, siRNA-HOXA13 组 24、48、72、96 h 时 D 值明显低于阴性对照组和对照组($F = 30.727、5.427、13.816$ 和 24.454 , 均 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 表明 A549 细胞增殖能力明显受到抑制。

表 2 3 组 A549 细胞不同时点增殖情况比较($D_{450}, \bar{x} \pm s$)

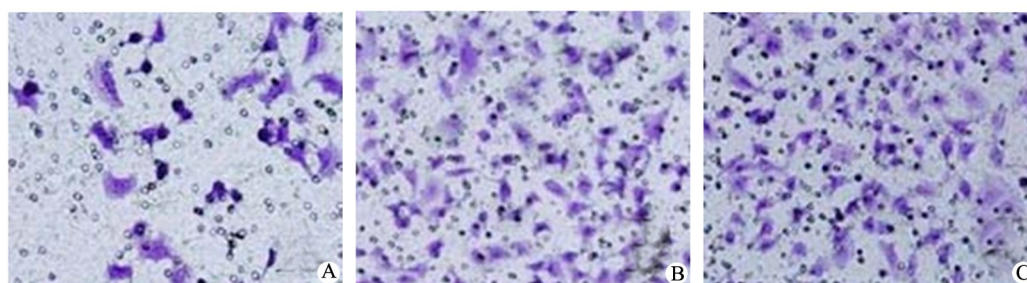
Tab. 2 Comparison of proliferation of A549 cells in three groups at different time points($D_{450}, \bar{x} \pm s$)

Group	24 h	48 h	72 h	96 h
siRNA-HOXA13	0.23±0.03	0.35±0.08	0.49±0.05	0.55±0.08
Negative control	0.36±0.04	0.46±0.10	0.68±0.10	0.76±0.02
Control	0.37±0.03	0.50±0.05	0.65±0.04	0.77±0.06
F	30.727	5.427	13.816	24.454
P	<0.001	0.017	<0.001	<0.001

2.4 沉默 HOXA13 可抑制 A549 细胞侵袭能力

Transwell 实验检测结果(图 1)显示, siRNA-HOXA13 组、阴性对照组和对照组侵袭细胞数分别为(87.65±5.68)、(124.25±7.18)和(128.35±8.06)个;

阴性对照组和对照组侵袭细胞数比较无明显差异($P = 0.474$), siRNA-HOXA13 组侵袭细胞数明显低于阴性对照组和对照组(均 $P < 0.05$)。



A: siRNA-HOXA13 group; B: Negative control group; C: Control group

图 1 沉默 HOXA13 对 A549 细胞侵袭能力的影响(结晶紫染色, ×200)

Fig. 1 Effect of silencing HOXA13 on invasive ability of A549 cells (Crystal violet dyeing, × 200)

2.5 沉默 HOXA13 可抑制移植瘤生长

3 组裸鼠在 1~2 周内均有肿块形成, 成瘤率 100%, 观察期内未见裸鼠死亡, 活动自如。转染 2 周后, 与 siRNA-HOXA13 组比较, 阴性对照组和对照组裸鼠消瘦明显, 饮食和饮水量减少, 各有 1 只出现腹水, 分别有 1 只和 2 只腋下发现淋巴结肿大。

阴性对照组和对照组裸鼠移植瘤 5 周时瘤体质量无明显差异($P = 0.184$), siRNA-HOXA13 组裸鼠移植瘤 5 周时瘤体质量明显小于阴性对照组和对照组, 抑瘤率高于阴性对照组(均 $P < 0.01$)。见表 3。

2.6 siRNA-HOXA13 组裸鼠移植瘤组织中 HOXA13 mRNA 相对表达量明显降低

siRNA-HOXA13 组、阴性对照组和对照组裸鼠

移植瘤组织中 HOXA13 mRNA 相对表达量分别为(1.17±0.16)、(1.96±0.08)和(2.01±0.12); 阴性对照组和对照组裸鼠移植瘤组织中 HOXA13 mRNA 相对表达量无差异($P = 0.563$), siRNA-HOXA13 组裸鼠移植瘤组织中 HOXA13 mRNA 相对表达量低于阴性对照组和对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

NSCLC 作为常见的恶性肿瘤之一, 发病机制至今尚未完全清楚, 尽管现有的诊疗技术不断进步, 但患者早期诊断率和总体预后改善有限^[7]。研究^[8]表明, 肿瘤细胞恶性增殖是导致 NSCLC 预后不佳的重要因素。HOXA13 基因最早在果蝇中被发现, 位于

同源盒基因的5'端位点,由1个内含子和2个外显子组成,参与了胚胎组织发育,在出生后机体正常组织中低表达或表达缺失^[9]。近年来研究^[10-13]发现,该基因在肿瘤组织中复活,在促进肿瘤发生及生长中发挥重要作用。在食管癌^[14]、肝癌^[15]、胃癌^[16]等多种恶性肿瘤组织中呈高表达,且与患者不良预后有关^[17-18]。本研究结果显示,NSCLC癌组织中HOXA13相对表达量高于癌旁组织,说明HOXA13在NSCLC癌组织中呈高表达,其相对表达量与TNM分期、分化程度和淋巴结转移有关,TNM分期中III+IV期、低分化及发生淋巴结转移组织中呈高表达,说明HOXA13可能参与了NSCLC的发生、进展及转移过程。

表3 3组裸鼠移植瘤5周时瘤体质量和抑瘤率
Tab.3 Tumor weight and inhibition rate in three groups of nude mice at week 5 after transplantation

Group	Tumor mass(m/mg)	Inhibition rate (%)
siRNA-HOXA13	228.34±13.43	52.01
Negative control	455.90±15.40	4.72
Control	474.06±28.75	—
F/Z	226.059	17.624
P	0.000	0.000



图2 3组裸鼠5周时移植瘤瘤块体积比较
Fig. 2 Xenograft volume of transplanted tumors in three groups of nude mice at week 5

为进一步探讨HOXA13基因在非小细胞肺癌中的作用,本研究利用siRNA技术特异性沉默NSCLC A549细胞中HOXA13基因,结果显示,siRNA-HOXA13组细胞中HOXA13 mRNA相对表达量低于阴性对照组和对照组,表明siRNA-HOXA13组细胞中HOXA13表达被成功抑制。研究结果显示,siRNA-HOXA13组24、48、72和96 h时,增殖能力明显受到抑制,说明下调HOXA13基因表达可抑制细胞增殖,提示HOXA13基因可能参与了NSCLC A549细胞增殖过程。研究结果还显示,siRNA-HOXA13组侵袭细胞数低于阴性对照组和对照组,表明下调HOXA13基因表达可抑制细胞侵袭力,提示

HOXA13基因可能参与了细胞侵袭过程。

裸鼠移植瘤治疗实验结果显示,3组裸鼠在1~2周时间内均有肿块形成,成瘤率100%;与siRNA-HOXA13组比较,阴性对照组和对照组裸鼠消瘦明显,饮食和饮水量减少,各有1只出现腹水,分别有1只和2只腋下发现淋巴结肿大,说明沉默HOXA13基因表达可减轻肿瘤相关症状,抑制移植瘤生长及转移;5周时瘤体质量均低于阴性对照组和对照组,而抑瘤率高于阴性对照组,进一步说明沉默HOXA13基因表达可有效抑制非小细胞肺癌移植瘤生长。本研究结果显示,siRNA-HOXA13组裸鼠移植瘤组织中HOXA13 mRNA相对表达量显著低于阴性对照组和对照组,进一步印证了裸鼠移植瘤组织中HOXA13基因被成功抑制。

综上所述,NSCLC癌组织中HOXA13呈高表达,且与肿瘤发生、进展及转移有关,特异性沉默HOXA13基因表达可抑制细胞增殖和侵袭力,以及裸鼠移植瘤生长,有望成为NSCLC基因治疗的新靶位。

[参考文献]

- [1] 韩仁强,武鸣,罗鹏飞,等. 2013年江苏恶性肿瘤发病和死亡情况分析[J]. 中华预防医学杂志, 2017, 51(8): 703-710. DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-9624.2017.08.009.
- [2] 杜风华,闵旭红,梅晓冬. 肺腺癌靶向治疗药物的应用及耐药机制[J]. 临床肺科杂志, 2018, 23(1): 168-172. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2018.01.046.
- [3] JUNG C Y, ANTONIA S J. Tumor immunology and immune checkpoint inhibitors in non-small cell lung cancer[J/OL]. Tuberc Respir Dis (Seoul), 2018, 81(1): 29-41[2019-02-22]. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5771744/. DOI:10.4046/trd.2017.0120.
- [4] OKAFOR M T, NWAGHA T U, ANUSIEM C, et al. Cancer prevention, the need to preserve the integrity of the genome at all cost[J]. Niger J Clin Pract, 2018, 21(5): 539-545. DOI:10.4103/njcp.njcp_272_17.
- [5] CAO L H, CHEN C, LENG Y J, et al. A missense mutation of HOXA13 underlies hand-foot-genital syndrome in a Chinese family[J]. J Genet, 2017, 96(4): 647-652.
- [6] WEN Y A, SHU F P, CHEN Y D, et al. The prognostic value of HOXA13 in solid tumors: A meta-analysis[J]. Clin Chim Acta, 2018, 483: 64-68. DOI:10.1016/j.cca.2018.04.024.
- [7] 李霞,汤志远,冯健. Rab27A蛋白表达在非小细胞肺癌中的研究进展[J]. 南通大学学报(医学版), 2017, 37(1): 58-62. DOI: 10.16424/j.cnki.cn32-1807/r.2017.01.015.
- [8] 张艳苗,顾玉海. 低氧微环境与非小细胞肺癌关系的研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2017, 22(4): 746-749. DOI:10.3969/j.issn.1009-6663.2017.04.047.
- [9] 林志川,王飞,陈谭根. 同源异型盒基因调控肝细胞肝癌的生物学机制[J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(5): 1218-1221. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.05.015.
- [10] HAN Y, SONG C L, WANG J Y, et al. HOXA13 contributes to gas-

- tric carcinogenesis through DHRS2 interacting with MDM2 and confers 5-FU resistance by a p53-dependent pathway[J]. *Mol Carcinog*, 2018, 57(6): 722-734. DOI:10.1002/mc.22793.
- [11] 单艳, 李志刚, 姬卫国, 等. VEGFR2 基因 V297I 位点对贝伐珠单抗联合化疗一线治疗晚期非小细胞肺癌患者临床疗效的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(1): 67-72. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.01.011.
- [12] 曲宝亮, 穆怀博, 勾建强, 等. lncRNA HCG18/miR-17-5p/HMGA2 分子轴调控非小细胞肺癌细胞增殖及迁移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(4): 409-416. 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.04.007.
- [13] 戴素丽, 白函瑜, 王耀杰, 等. 非小细胞肺癌组织中高表达的 miR-1269 对肺癌细胞 A549 生物学行为的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(12): 1282 - 1289. DOI: 10.3872 / j. issn. 1007 - 385x.2018.12.012.
- [14] MA R L, SHEN L Y, CHEN K N. Coexpression of ANXA2, SOD2 and HOXA13 predicts poor prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(5): 2157-2164. DOI: 10.3892/or.2014.3088.
- [15] QUAGLIATA L, QUINTAVALLE C, LANZAFAME M, et al. High expression of HOXA13 correlates with poorly differentiated hepato-cellular carcinomas and modulates sorafenib response in in vitro models[J]. *Lab Invest*, 2018, 98(1): 95-105. DOI: 10.1038 / labinvest.2017.107.
- [16] QU L P, ZHONG Y M, ZHENG Z, et al. CDH17 is a downstream effector of HOXA13 in modulating the Wnt/ β -catenin signaling pathway in gastric cancer[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(6): 1234-1241.
- [17] 李欢, 王梦杰, 张翔宇, 等. 桥接整合因子 1 通过 c-MYC 途径抑制非小细胞肺癌 A549 细胞中 PD-L1 的表达[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(8): 762-766. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.08.002.
- [18] 蔡华荣, 王志强, 江跃全. 长链非编码 RNA UCA1 靶向调控 miR-185-5p 对非小细胞肺癌 A549 细胞的作用及其机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(6): 555-561. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.06.002.

[收稿日期] 2019-02-06

[修回日期] 2019-04-11

[本文编辑] 王映红