

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.13.007

文章编号: 1005-8982(2016)13-0037-06

论著

## 缺氧微环境下人肺腺癌 A549 细胞的 microRNA 基因芯片结果分析\*

耿莹<sup>1</sup>, 鲍永霞<sup>1</sup>, 肖景滨<sup>2</sup>, 葛冬杰<sup>3</sup>, 梁铮<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨医科大学附属二院 呼吸科, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 黑龙江省军区医院 首长保健室, 黑龙江 哈尔滨 150009; 3. 黑龙江省哈尔滨市第一医院 呼吸科, 黑龙江 哈尔滨 150010)

**摘要:目的** 研究缺氧对肺腺癌 A549 细胞中 microRNA(miRNA)表达谱的影响,分析靶基因参与的生物学功能和通路。**方法** 基于 miRNA 芯片技术和生物信息学分析方法,分析缺氧条件和正常氧条件下培养的 A549 细胞中差异表达的 miRNA,并预测该 miRNA 的靶基因,分析靶基因参与的生物学功能和通路。**结果** 本研究共筛选出 14 个差异表达 miRNA,包括 9 个在缺氧细胞中上调 miRNA 和 5 个下调 miRNA。上调和下调 miRNA 的靶基因都参与 DNA 转录、核染色质修饰等功能,并且都参与 Wnt 信号、转化生长因子- $\beta$  信号和丝裂原活化蛋白激酶信号通路。**结论** 缺氧的肺腺癌 A549 细胞中 miRNA 表达谱发生显著改变,一些差异表达 miRNA 对某些基因具有调控作用。

**关键词:** 肺腺癌;A549 细胞;芯片;缺氧;差异表达 microRNA

**中图分类号:** R734.2

**文献标识码:** A

## MicroRNA gene chip analysis of human lung adenocarcinoma A549 cells in anoxic microenvironment\*

Ying Geng<sup>1</sup>, Yong-xia Bao<sup>1</sup>, Jing-bin Xiao<sup>2</sup>, Dong-jie Ge<sup>3</sup>, Zheng Liang<sup>1</sup>

(1. Department of Respiratory Diseases, the Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang 150081, China; 2. Director Healthcare Room, the Military Region Hospital of Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang 150009, China; 3. Department of Respiratory Diseases, the First Hospital of Harbin, Harbin, Heilongjiang 150010, China)

**Abstract: Objective** To analyze the effect of hypoxia on miRNA expression in lung adenocarcinoma A549 cells. **Methods** Based on miRNA chip technology and bioinformatic analysis methods, differential expression of miRNAs between hypoxia-treated A549 cells and normoxia-treated A549 cells were identified, and their target genes were predicted. Besides, biological functions and pathways of target genes were analyzed. **Results** In total, 14 differentially-expressed miRNAs were screened, including 9 upregulated miRNAs and 5 downregulated miRNAs in the hypoxia-treated A549 cells. Target genes of both upregulated and downregulated miRNAs were enriched in GO terms, such as DNA transcription, chromatin modification, as well as a set of pathways, such as Wnt signaling, TGF- $\beta$  signaling and MAPK signaling. **Conclusions** In the hypoxic A549 cells, miRNA expressions have significantly changed. A series of differentially-expressed miRNAs regulate certain genes.

**Keywords:** lung adenocarcinoma; A549 cell; chip; hypoxia; differentially-expressed microRNA

收稿日期: 2015-12-21

\* 基金项目: 黑龙江省自然科学基金(No: D201230)

[通信作者] 鲍永霞, E-mail: [baoyongxia@126.com](mailto:baoyongxia@126.com); Tel: 13936196255

肺癌是世界人口中最常见的恶性肿瘤之一,位居肿瘤死亡率之首,尽管其发生的蛋白和基因组图谱已经部分阐明,但是其发病率仍逐年升高,缺乏有效的早期诊断和治疗手段是主要原因。MicroRNAs (miRNA)是近年来生命科学领域的一个研究热点<sup>[1-2]</sup>,其广泛存在于真核生物体中,是一类高度保守、长度很短的非编码调控单链小分子 RNA,约 18~24 个碱基,通过抑制 mRNA 的翻译和降解靶 mRNA 来调控生物体中基因的表达,在肿瘤发生、发展过程中起至关重要的作用。miRNA 具有组织特异性,与肺组织相关的包括 Let-7、Let-34、Let-21、Let-143、Let-145、Let-31、Let-146 等 40 余种,其在肺癌组织表达中降低或升高,以癌基因或抑癌基因样作用调解转录后翻译,促进或抑制肿瘤发生、发展。

有研究表明,缺氧可以引起肺癌中一些基因和 miRNA 表达水平的变化<sup>[3-4]</sup>。尽管人们对肺癌细胞缺氧引起的分子生物学变化已经有一定的了解,但是其中的分子机制错综复杂,还有很多可能发生重大变化的基因、miRNA 和相关的生物学通路等还未被发现。因此,还需进一步的深入研究,而目前还没有关于缺氧对肺癌细胞中 miRNA 表达谱影响的报道。

本研究利用缺氧培养箱对肺腺癌细胞系 A549 进行缺氧处理,采用 miRNA 芯片技术分析缺氧处理的 A549 细胞和正常氧状态下的 A549 细胞中差异表达的 miRNA,并利用公共数据库预测差异表达 miRNA 的靶基因,分析靶基因所参与的生物学功能和通路。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系

本研究选取人肺腺癌 A549 细胞为研究材料,该细胞系购自于中国科学院上海细胞库。

### 1.2 细胞培养

肺癌 A549 细胞系冷冻存于液氮中,取出后置入 37℃ 电热恒温水浴箱中快速解冻复苏。1 000 r/min 离心 10 min,弃上清液,更换新鲜的培养基。细胞在含有胎牛血清的培养基中培养,正常条件下的培养条件为 37℃、5%二氧化碳 CO<sub>2</sub>;缺氧条件则使用缺氧细胞培养箱,培养条件为 37℃、5%CO<sub>2</sub>、1%氧气 O<sub>2</sub>。选择缺氧状态下 (1%O<sub>2</sub>) 和正常条件下培养 8 h 的 A549 细胞用于 miRNA 芯片分析。

### 1.3 芯片数据分析

将上述培养好的两组 A549 细胞交给哈尔滨欣

科瑞经贸有限公司做 miRNA 芯片分析。

### 1.4 差异表达 miRNA 的筛选

基于倍数法筛选两组样本的差异表达 miRNA。计算两组间芯片 miRNA 表达值的差异倍数,将满足差异倍数 >2 的 miRNA 识别为差异表达的 miRNA。

### 1.5 预测差异表达 miRNA 的靶基因

利用数据库 Target Scan,预测得到差异表达 miRNA 调控的所有靶基因。该数据库是目前利用理论方法预测 miRNA 靶基因较为理想的数据库。

### 1.6 统计学方法

分别使用基因本体 (gene ontology, GO) 数据库和京都基因与基因组百科全书 (kyoto encyclopedia of genes and genomes, KEGG) 通路数据库,对差异表达 miRNA 调控的靶基因进行 GO 功能和 KEGG 通路富集分析,利用 Fisher 精确检验和多重比较检验计算每个功能的显著性水平 (P 值),并用 Benjamini-Hochberg 法<sup>[5]</sup>校正 P 值, P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 差异表达 miRNA 的统计分析

根据筛选标准,本研究共筛选 14 个在缺氧 A549 细胞和正常 A549 细胞之间差异表达的 miRNA。其中,9 个在缺氧组中上调的 miRNA (如 hsa-miR-301b、hsa-miR-769-5p 等) 和 5 个下调的 miRNA (如 hsa-miR-622、hsa-miR-181a-3p 等) (见表 1)。hsa-miR-301b 上调的差异倍数最大,hsa-miR-622 下调的差异倍数最大。

### 2.2 差异表达 miRNA 的靶基因分析

为研究差异表达的 miRNA 在缺氧条件下对哪些基因产生调控作用,本研究利用 Target Scan 数据库来预测差异表达 miRNA 的靶基因。共有 4 个上调的 miRNA (hsa-mir-301b、hsa-mir-148b-3p、hsa-mir-769-5p 和 hsa-mir-1180) 和 2 个下调的 miRNA (hsa-mir-622 和 hsa-mir-202-3p) 预测到靶基因,靶基因数目总共 3 259 个,例如,上调表达的 hsa-miR-301b 调控的靶基因包括 FOXF2、CRE5B、MARK3 和 MYB 等; hsa-mir-148b-3p 调控 NOG、WNT10B 等基因; hsa-miR-769-5p 调控 ARID1A、PTCH1、GRAMD3 等基因; hsa-mir-1180 调控 SCN5A、ISOC2 等基因。而下调表达的 hsa-mir-622 调控 G3BP1、CEL2 等基因; hsa-mir-202-3p 调控 TFAP2B、CLCN5 等基因。见表 2。

表 1 在缺氧 A549 细胞中差异表达的 miRNA

| 分类        | 人 microRNA 名称    | 倍数变化       |
|-----------|------------------|------------|
| 上调 miRNAs | hsa-miR-301b     | 5.520 343  |
|           | hsa-miR-148b-3p  | 4.894 202  |
|           | hsa-miR-30d-3p   | 4.533 417  |
|           | hsa-miR-769-5p   | 4.265 323  |
|           | hsa-miR-190a     | 4.106 842  |
|           | hsa-miR-1180     | 4.027 596  |
|           | hsa-miR-19b-1-5p | 3.745 773  |
|           | hsa-miR-596      | 3.717 442  |
|           | hsa-miR-10b-3p   | 3.554 867  |
| 下调 miRNAs | hsa-miR-202-3p   | -3.746 923 |
|           | hsa-miR-1255b-5p | -3.992 389 |
|           | hsa-miR-424-3p   | -4.042 714 |
|           | hsa-miR-181a-3p  | -4.174 865 |
|           | hsa-miR-622      | -5.794 464 |

### 2.3 差异表达 miRNA 靶基因的生物学功能分析

表 2 差异表达 miRNA 调控的靶基因

| 分类        | 人 microRNA 名称   | 目标基因   |
|-----------|-----------------|--|
| 上调 miRNAs | hsa-miR-301b    | <i>FOXF2, ESR1, MARK3, MYB, CRE5B...</i>       |
|           | hsa-miR-148b-3p | <i>NOG, WNT10B, PTEN, SMAD5, SERBP1...</i>     |
|           | hsa-miR-769-5p  | <i>ARID1A, SMAD2, CPEB1, PTCH1, GRAMD3...</i>  |
|           | hsa-miR-1180    | <i>SCN5A, ISOC2, FOXP4, BAD, NRXN2...</i>      |
| 下调 miRNAs | hsa-miR-622     | <i>C3BP1, CELF2, SORBS1, SRSF1, CBX5...</i>    |
|           | hsa-miR-202-3p  | <i>TFAP2B, CLCN5, ATP2B4, LIN28B, SNX30...</i> |

注:由于每个 miRNA 调控的靶基因数目比较多,表中只列出其中 5 个靶基因

表 3 miRNA 靶基因富集到的排名前 10 的 GO 功能 (按 P 值由小到大)

| 分类             | GO ID      | GO 名称    | 调整后 P 值  | 基因计数 | 基因  |
|----------------|------------|----------|----------|------|---|
| 上调 miRNAs 目标基因 | GO:0006351 | DNA 转录   | 6.22E-66 | 6    | <i>THRB, CREB1, NR3C1, ZNF217, AR, ESR1</i>     |
|                | GO:0007275 | 多细胞有机体发育 | 2.36E-50 | 180  | <i>NDRG2, WNT10B, BMP3, NUMBL, GAP43...</i>     |
|                | GO:0006811 | 离子转运     | 1.68E-33 | 70   | <i>KCNQ4, KCNH8, ATP7A, KCNQ3, SLC24A4...</i>   |
|                | GO:0016568 | 核染色质修饰   | 1.23E-31 | 56   | <i>DNMT1, SUV420H1, ARID1A, SETD7, SUZ12...</i> |
|                | GO:0007399 | 神经系统发育   | 6.69E-25 | 92   | <i>STAT3, GAP43, ATXN3, NOG, ARID1A...</i>      |
|                | GO:0008152 | 代谢过程     | 3.97E-24 | 29   | <i>RPP14, LPGAT1, GEPT1, INSIG1, NAT14...</i>   |
|                | GO:0010467 | 基因表达     | 6.47E-20 | 1    | <i>EDA</i>                                      |
|                | GO:0007049 | 细胞周期     | 5.98E-18 | 86   | <i>CD2AP, PAPP5, ERBB2IP, ING1, SETDB2...</i>   |
|                | GO:0006412 | 翻译       | 6.00E-14 | 7    | <i>QRS1, CYLD, AARSD1, MRPS25, EIF5A2...</i>    |
|                | GO:0006508 | 蛋白水解     | 1.56E-12 | 39   | <i>ADAMTS5, ADAMTS4, CTSA, RNPEPL1, LONRF1</i>  |
| 下调 miRNAs 目标基因 | GO:0006351 | DNA 转录   | 5.84E-35 | 1    | <i>NR3C1</i>                                    |
|                | GO:0006811 | 离子转运     | 2.19E-22 | 44   | <i>SLCO4C1, CACNA11, MRS2, ATP5F1, CACNG2</i>   |
|                | GO:0007275 | 多细胞有机体发育 | 5.21E-21 | 88   | <i>EFNB3, WNT2B, LRP1, FLVCR1, DLIA...</i>      |
|                | GO:0016568 | 核染色质修饰   | 4.05E-13 | 28   | <i>ATXN7L3, TLK2, ING5, NCOR1, EYA3...</i>      |

续表 3

| 分类             | GO ID      | GO 名称    | 调整后 P 值  | 基因计数 | 基因  |
|----------------|------------|----------|----------|------|---|
| 下调 miRNAs 目标基因 | GO:0007399 | 神经系统发育   | 2.48E-08 | 42   | <i>FGF11, TFAP2B, JHDM1D, TMOD2, NLGN1...</i>   |
|                | GO:0006417 | 翻译调节     | 7.58E-07 | 16   | <i>EIF2C3, IREB2, EIF2C4, CPEB2, DNAJC1...</i>  |
|                | GO:0006412 | 翻译       | 9.56E-07 | 3    | <i>MRPS25, EIF5A, IGF2BP3</i>                   |
|                | GO:0007596 | 血液凝固     | 9.93E-07 | 1    | <i>ITGB3</i>                                    |
|                | GO:0006333 | 染色体组装或分解 | 1.91E-06 | 6    | <i>CDYL, MPHOSPH8, CHD9, CBX5, CHD7, ARID4A</i> |
|                | GO:0008152 | 代谢过程     | 2.13E-06 | 12   | <i>AGPAT1, IREB2, SMUG1, NAA30, RPP14...</i>    |

表 4 miRNA 靶基因富集到的排名前 10 的 KEGG 通路 (按 P 值由小到大)

| 分类             | 通路 ID | 通路名称              | 调整后 P 值  | 基因计数 | 基因   |
|----------------|-------|-------------------|----------|------|--|
| 上调 miRNAs 目标基因 | 4310  | Wnt 信号通路          | 2.60E-14 | 47   | <i>CCND3, SMAD2, FOSL1, CER1, WNT10B...</i>        |
|                | 4144  | 内噬作用              | 9.39E-13 | 53   | <i>SMAD2, FLT1, ADRBK2, PSD3, EPN2...</i>          |
|                | 4350  | TGF- $\beta$ 信号通路 | 6.16E-11 | 30   | <i>SMAD2, TNF, NOG, ROCK2, BMPR1B...</i>           |
|                | 4010  | MAPK 信号通路         | 7.26E-11 | 59   | <i>FGFR1, RELA, FGF2, TNF, MAP3K5...</i>           |
|                | 4916  | 黑素合成              | 2.96E-10 | 32   | <i>CALM2, CREB3L2, WNT10B, KRAS, FZD6...</i>       |
|                | 4510  | 黏着斑               | 6.59E-10 | 47   | <i>PAK6, FLT1, ITGA9, TNXB, XIAP...</i>            |
|                | 4810  | 细胞骨架肌动蛋白的调节       | 1.46E-09 | 48   | <i>ARHGEF4, FGFR1, KRAS, FGF2, ARHGEF7...</i>      |
|                | 4360  | 轴突导向              | 2.49E-09 | 35   | <i>PAK6, DPYSL5, UNC5D, UNC5C, EPHB4...</i>        |
|                | 4722  | 神经营养因子信号通路        | 6.18E-09 | 34   | <i>KRAS, SH2B3, SOS1, MAP3K5, PIK3R1...</i>        |
|                | 4910  | 胰岛素信号通路           | 1.56E-08 | 35   | <i>CALM2, KRAS, PRKACB, SOS1, PIK3R1...</i>        |
| 下调 miRNAs 目标基因 | 4010  | MAPK 信号通路         | 6.97E-12 | 43   | <i>PLA2G3, TRAF6, MAP3K1, MEF2C, HRAS...</i>       |
|                | 4722  | 神经营养因子信号通路        | 6.28E-09 | 25   | <i>MAP3K1, FOXO3, TRAF6, YWHAZ, FASLG...</i>       |
|                | 4360  | 轴突导向              | 3.77E-08 | 24   | <i>SRGAP3, SRGAP1, HRAS, NFAT5, ROBO2...</i>       |
|                | 4115  | p53 信号通路          | 5.46E-07 | 16   | <i>BBC3, IGF1, PMAIP1, CDK6, FAS...</i>            |
|                | 4310  | Wnt 信号通路          | 5.71E-07 | 24   | <i>WIF1, LRP6, DVL3, NFAT5, PPP2R1B...</i>         |
|                | 4510  | 黏着斑               | 2.54E-06 | 27   | <i>LAMA1, COL4A1, IGF1, HRAS, COL3A1...</i>        |
|                | 5220  | 慢性髓细胞性白血病         | 1.91E-04 | 13   | <i>PTPN11, CDK6, BCL2L1, RB1, TGFBFR1...</i>       |
|                | 4512  | ECM-受体相互作用        | 2.16E-04 | 14   | <i>COL4A2, LAMA1, COL4A1, COL3A1, COL6A3...</i>    |
|                | 4920  | 脂肪细胞因子信号通路        | 4.56E-04 | 12   | <i>PPARGC1A, CAMKK1, LEP, PPARA, ADIPOR2...</i>    |
|                | 4350  | TGF- $\beta$ 信号通路 | 6.70E-04 | 13   | <i>PPP2R1B, TGFBFR1, ACVR1C, ACVR2A, ACVR2B...</i> |

### 3 讨论

在肿瘤中,细胞快速增殖,但新生血管的生成速度相对较慢,来不及为实体瘤内部和肿瘤周围细胞供应血氧,所以这些细胞就会产生缺氧状态。有研究表明,几乎所有的实体瘤中都存在缺氧细胞<sup>[6]</sup>。缺氧对于肿瘤的发展具有十分重要的意义<sup>[7]</sup>。①缺氧会直接导致细胞凋亡或者坏死;②缺氧会激活与细胞代谢和蛋白质合成等相关基因的转录,从而减缓增殖速度,增加无氧糖酵解,使细胞能适应缺氧环境,抑制细胞的凋亡;③缺氧可以刺激肺癌细胞中血管内皮细胞生长因子和碱性成纤维细胞生长因子的表

达,促进移植瘤中新血管的生成,提高肿瘤的生长能力;④缺氧还会刺激缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )的表达,激活转录调节因子核转录因子- $\kappa$ B (nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)通路<sup>[8]</sup>。

本研究利用 miRNA 芯片技术和生物信息学方法,分析缺氧对肺腺癌 A549 细胞中 miRNA 表达谱的影响,并预测差异表达 miRNA 的靶基因,分析靶基因所参与的生物学功能和通路。

本研究共筛选出 14 个在缺氧 A549 细胞和正常 A549 细胞之间差异表达的 miRNA,包括 9 个在缺氧

组中上调的 miRNA 和 5 个下调的 miRNA。在上调表达的 miRNA 中,hsa-miR-769-5p 调控 ARID1A 和 SMAD2 等基因。ARID1A 基因编码 SWI/SNF 家族蛋白,该蛋白具有解旋酶和腺苷三磷酸酶活性。本研究发现,ARID1A 被富集到染色质修饰功能上。有研究报道,ARID1A 可以通过改变核染色质结构来调控某些基因的转录<sup>[9]</sup>。有研究报道称,SWI/SNF 家族蛋白可以结合到缺氧诱导因子 HIF-1 $\alpha$  的启动子上,通过 HIF-1 $\alpha$  的表达来调控细胞缺氧应答<sup>[10]</sup>。目前,还没有研究报道 ARID1A 基因与缺氧肺癌的关系。笔者推测,ARID1A 可能是通过其染色质修饰功能来调节某些与缺氧相关基因的转录和表达,从而对肺腺癌细胞的缺氧应答产生影响。

SMAD2 基因编码的蛋白是信号传感器和转录调节器,调节多个信号通路。在本研究中,SMAD2 被富集在 Wnt 信号通路和 TGF- $\beta$  信号通路上。已有很多文献报道,Wnt 信号与缺氧之间的关系,例如,Wnt 信号通路中的  $\beta$ -连环蛋白可以与缺氧诱导因子 HIF-1 $\alpha$  相互作用,增强细胞对缺氧的适应能力<sup>[11]</sup>。HIF-1 $\alpha$  可以通过抑制  $\beta$ -连环蛋白的活性来阻碍 Wnt 信号通路,该机制可能与缺氧诱导的肿瘤细胞生长抑制有关<sup>[12]</sup>。上述研究表明,Wnt 信号通路在细胞缺氧应答过程中具有非常重要的作用。另外,目前也有很多关于缺氧与 TGF- $\beta$  信号关系的研究报道,例如缺氧(1%O<sub>2</sub>)可以诱导 TGF- $\beta$ <sub>1</sub> 的表达和 SMAD2 磷酸化,激活肝星状细胞的活性<sup>[13]</sup>。TGF- $\beta$  信号通路还可以调节缺氧诱导的新生小鼠肺血管重建过程<sup>[14]</sup>。上述研究结果显示,TGF- $\beta$  信号通路与缺氧关系密切。缺氧会诱导 SMAD2 蛋白的磷酸化,这是细胞缺氧应答过程中一个十分重要的机制<sup>[15-16]</sup>。但目前还没有文献报道 hsa-miR-769-5p 与缺氧的关系。笔者推测,hsa-miR-769-5p 可能通过调节 ARID1A 和 SMAD2 等基因的表达,间接调控 Wnt 信号通路和 TGF- $\beta$  信号通路,从而在肺腺癌细胞的缺氧应答中发挥重要功能。

本研究发现,在上调 miRNA 和下调 miRNA 靶基因富集的 GO 功能和 KEGG 通路中,有些功能和通路是一样的,例如在 GO 功能富集结果中,DNA 转录、多细胞有机体发育、离子转运、核染色质修饰与代谢过程等功能均被上调 miRNA 和下调 miRNA 的靶基因富集到。该研究结果表明,在肺腺癌细胞的缺氧应答中,该功能可能受上调 miRNA 和下调 miRNA 的共同调控。在 KEGG 通路富集结果中,Wnt 信号通

路、TGF- $\beta$  信号通路、MAPK 信号通路和黏着斑等通路均被上调 miRNA 和下调 miRNA 的靶基因富集到。心肌缺氧导致细胞内 pH 降低,促进 P38 MAPK 的磷酸化,从而激活该信号通路,而抑制该通路则会使心肌细胞免于缺氧导致的细胞凋亡<sup>[17]</sup>。还有研究报道,缺氧可以激活 MAPK 信号通路<sup>[18]</sup>。另外,缺氧也会激活黏着斑激酶的活性和亚细胞迁移,促进黏着斑蛋白的磷酸化<sup>[19]</sup>。

综上所述,本研究利用 miRNA 芯片技术和相关生物信息学分析手段,在经缺氧处理的人肺腺癌 A549 细胞中筛选出 14 个差异表达的 miRNA,包括 9 个上调 miRNA 和 5 个下调 miRNA。而且差异表达的 miRNA 及其靶基因可能在肺腺癌 A549 细胞的缺氧反应中具有十分重要的功能。另外,靶基因参与的一些生物学功能以及一些通路功能可能在肺腺癌细胞的缺氧反应中发挥重要作用。该 miRNA 和靶基因的表达水平变化,以及对肺腺癌细胞的一些功能影响还需后续实验进一步验证。本研究结果为深入探索缺氧对肺癌细胞在分子层面的影响提供理论基础和实验依据,也为临床治疗肺癌提供一些潜在药物靶点。

#### 参 考 文 献:

- [1] SHENOUDA S K, ALAHARI S K. MicroRNA function in cancer: oncogene or a tumrosuppressor[J]. Cancer Metastasis Rev, 2009, 28(3/4): 369-378.
- [2] KULSHRESHTHA R, DAVULURI R V, CALIN G A, et al. A microRNA component of the hypoxicresponse[J]. Cell Death Differ, 2008, 15(4): 667-671.
- [3] BABAR I A, CZOCHOR J, STEINMETZ A, et al. Inhibition of hypoxia-induced miR-155 radiosensitizes hypoxic lung cancer cells[J]. Cancer Biology Therapy, 2011, 12(10): 908-914.
- [4] GROSSO S, DOYEN J, PARKS S K, et al. MiR-210 promotes a hypoxic phenotype and increases radioresistance in human lung cancer cell lines[J]. Cell Death Disease, 2013, 4(3): 544.
- [5] BENJAMINI Y, HOCHBERG Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing[J]. Journal of the Royal Statistical Society, 1995, 57(57): 289-300.
- [6] TALKS K L, TURLEY H, GATTER K C, et al. The expression and distribution of the hypoxia-inducible factors HIF-1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$  in normal human tissues, cancers, and tumor-associated macrophages[J]. the American Journal of Pathology, 2000, 157(2): 411-421.
- [7] DEHDASHTI F, MINTUN M A, LEWIS J S, et al. In vivo assessment of tumor hypoxia in lung cancer with 60Cu-ATSM[J]. European Journal of Nuclear Medicine and Molecular Imaging,

- 2003, 30(6): 844-850.
- [8] YANG C, YANG Z, ZHANG M, et al. Hydrogen sulfide protects against chemical hypoxia-induced cytotoxicity and inflammation in HaCaT cells through inhibition of ROS/NF- $\kappa$ B/COX-2 pathway[J]. PLoS one, 2011, 6(7): DOI: 10.1371/journal.pone.0021971.
- [9] NIE Z, XUE Y, YANG D, et al. A specificity and targeting subunit of a human SWI/SNF family-related chromatin-remodeling complex[J]. Mol Cell Biol, 2000, 20(23): 8879-8888.
- [10] KENNETH N S, MUDIE S, VAN UDEN P, et al. SWI/SNF regulates the cellular response to hypoxia[J]. Journal of Biological Chemistry, 2009, 284(7): 4123-4131.
- [11] KAIDI A, WILLIAMS A C, PARASKEVA C. Interaction between  $\beta$ -catenin and HIF-1 promotes cellular adaptation to hypoxia[J]. Nature Cell Biology, 2007, 9(2): 210-217.
- [12] LIM J H, CHUN Y S, PARK J W. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  obstructs a Wnt signaling pathway by inhibiting the hARD1-mediated activation of  $\beta$ -catenin[J]. Cancer Research, 2008, 68(13): 5177-5184.
- [13] SHI Y F, FONG C C, ZHANG Q, et al. Hypoxia induces the activation of human hepatic stellate cells LX-2 through TGF- $\beta$  signaling pathway[J]. FEBS Letters, 2007, 581(2): 203-210.
- [14] AMBALAVANAN N, NICOLA T, HAGOOD J, et al. Transforming growth factor- $\beta$  signaling mediates hypoxia-induced pulmonary arterial remodeling and inhibition of alveolar development in newborn mouse lung[J]. American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology, 2008, 295(1): 86-95.
- [15] ZHANG H, AKMAN H O, SMITH E L, et al. Cellular response to hypoxia involves signaling via smad proteins[J]. Blood, 2003, 101(6): 2253-2260.
- [16] TAKAHASHI T, TAKAHASHI I, KOMATSU M, et al. Mutations of the NOG gene in individuals with proximal symphalangism and multiple synostosis syndrome[J]. Clin Genet, 2001, 60(6): 447-451.
- [17] ZHENG M, REYNOLDS C, JO S H, et al. Intracellular acidosis-activated p38 MAPK signaling and its essential role in cardiomyocyte hypoxic hypoxia and reoxygenation stimulates MAP kinase signaling injury[J]. The FASEB Journal, 2005, 19(1): 109-111.
- [18] MILLAR T M, PHAN V, TIBBLES L A. ROS generation in endothelial and kinase-dependent neutrophil recruitment [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2007, 42(8): 1165-1177.
- [19] SEKO Y, TAKAHASHI N, SABE H, et al. Hypoxia induces activation and subcellular translocation of focal adhesion kinase (p125 FAK) in cultured rat cardiac myocytes[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1999, 262(1): 290-296.

(童颖丹 编辑)