

本文引文格式:张志文,巫祥生,赵雯莉,等. lncGAS5 通过 NCAM1 调节细胞自噬抑制 A549 细胞增殖[J]. 右江民族医学院学报, 2023, 45(1): 9-14.

【论著与临床报道】

## lncGAS5 通过 NCAM1 调节细胞自噬抑制 A549 细胞增殖

张志文, 巫祥生, 赵雯莉, 兰翼君, 李也鹏

(右江民族医学院附属医院, 广西 百色 533000)

**摘要:**目的 研究长链非编码 RNA GAS5 通过神经细胞黏附分子 1(neural cell adhesion molecule 1, NCAM1)调节非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC) A549 细胞增殖机制。方法 CCK8 法分别检测 Control 组、LV-sg-NC 组(空载体的慢病毒转染 A549 细胞作为阴性对照组)、LV-sg-lncGAS5 组(携带 sg-lncGAS5 的慢病毒转染 A549 细胞作为实验组)OD 值及 A549 细胞相对存活率。QPCR 分别检测 Control 组、LV-sg-NC 组、LV-sg-lncGAS5 组 A549 细胞中 lncRNA GAS5 及 NCAM1 的表达。免疫荧光实验检测在 A549 细胞中过表达及敲降 lncRNA GAS5 后,微管相关蛋白 1A/1B-轻链 3(MAP1LC3、LC3)的表达;检测过表达 NCAM1 后,LC3 的表达,并在过表达 NCAM1 的 A549 细胞中加入 ERK 抑制剂,检测 LC3 的表达。结果 抑制 lncGAS5 表达后, A549 细胞相对存活率增高( $P < 0.001$ )。并且 A549 细胞感染 sg-lncGAS5 病毒后可发现 lncGAS5 表达下调( $P < 0.001$ ), NCAM1 表达上调( $P < 0.001$ )。过表达 lncGAS5 的 A549 细胞 LC3 的表达上调;而过表达 NCAM1 的 A549 细胞 LC3 的表达下调, ERK 通路抑制后, LC3 的表达上调。敲降 lncGAS5 的结果与过表达 NCAM1 结果一致。结论 lncGAS5 可通过 NCAM1 增强 A549 细胞自噬,从而抑制 A549 细胞的增殖。

**关键词:** A549 细胞; 细胞自噬; 癌, 非小细胞肺

中图分类号: R730.26

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2023)01-0009-06

doi: 10.3969/j.issn.1001-5817.2023.01.002

### Inhibition of lncGAS5 on A549 cell proliferation by regulating autophagy via NCAM1

Zhang Zhiwen, Wu Xiangsheng, Zhao Wenli, Lan Yijun, Li Yepeng

(The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

**Abstract:** **Objective** To study the mechanism by which long non-coding RNA GAS5 regulates proliferation of A549 cells of non-small cell lung cancer (NSCLC) via neural cell adhesion molecule 1 (NCAM1).

**Methods** CCK8 method was adopted to detect the OD value and relative survival rate of A549 cells in the control group, the LV-sg-NC group (A549 cells transfected with empty vector lentivirus as the negative control group) and the LV-sg-lncGAS5 group (A549 cells transfected with lentivirus containing sg-lncGAS5 as the experimental group). QPCR was used to detect the expressions of lncRNA GAS5 and NCAM1 in A549 cells of the control group, the LV-sg-NC group and the LV-sg-lncGAS5 group, respectively. Immunofluorescence assay was used to detect in microtubules the expressions of relevant proteins 1A/1B-light chain 3 (MAP1LC3, LC3) after detecting the over expression and knockdown of lncRNA GAS5 in A549 cells. The expression of LC3 was detected after over expression of NCAM1. And the expression of LC3 was detected after ERK inhibitor was added to A549 cells with over-expressed NCAM1. **Results** The relative survival rate of A549 cells had an increase after the lncGAS5 expression was inhibited ( $P < 0.001$ ). After A549 cells were infected with sg-lncGAS5 virus, the expression of lncGAS5 was down-regulated ( $P < 0.001$ ), while the expression of NCAM1

**基金项目:** 广西自然科学基金面上项目(2020GXNSFAA259024); 广西医疗卫生重点培育学科建设项目(肿瘤内科学)

**第一作者简介:** 张志文(1995-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 肺癌与表观遗传学, E-mail: zhangzhiwen223@outlook.com

**通讯作者简介:** 李也鹏(1976-), 女, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 肺癌与表观遗传学, E-mail: liyep28@hotmail.com

was up-regulated ( $P < 0.001$ ). LC3 expression was up-regulated in A549 cells with over-expressed lncGAS5; LC3 expression was down-regulated in A549 cells with over-expressed NCAM1; LC3 expression was up-regulated after the inhibition of ERK pathway. The results of knocking down lncGAS5 were consistent with the results of over-expressing NCAM1. **Conclusion** lncGAS5 can enhance the autophagy of A549 cells via NCAM1, thus inhibiting the proliferation of A549 cells.

**Key words:** A549 cells; autophagy; cancer, non-small cell lung

在我国乃至全世界,肺癌的死亡率逐年升高,且肺癌因其早期症状不明显,多数人未建立良好的定期体检意识,在发现时已经处于中晚期,错过了手术治疗的最佳时机,给肺癌的治疗带来了巨大的困难<sup>[1]</sup>。而非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)(占所有肺癌的 85%)其发病率高,因其死亡的人数也在逐年增长<sup>[2]</sup>,虽然现在对于 NSCLC 诊断和治疗的方法已经有所突破,但是对于早期诊断仍缺乏一种经济、标准、有效的筛查手段。所以现急需发现敏感性及特异性都较高的早期 NSCLC 特异性分子标志物。

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是指长度大于 200 bp 且不具有编码功能的核酸序列,但其具有多种调节功能,其很大程度上与 mRNA 转录本相似,参与细胞中多种生理病理过程<sup>[3]</sup>。在细胞核中,lncRNA 通常负责染色质结构的修饰、转录控制以及对 mRNA 或 miRNA 的处理;在细胞质中,lncRNA 对翻译起控制作用,促进或抑制 mRNA 的稳定性,现研究发现 lncRNA 通过不同的方式参与多种基因表达调控。其中循环 lncRNA,生长停滞特异性转录本 5(growth arrest-specific transcripts, GAS5)是某些类型癌症中重要的肿瘤抑制因子,在细胞周期停滞阶段高度表达,但在活跃生长的细胞中下调,在调控致癌信号通路、细胞周期、细胞凋亡、肿瘤相关基因等方面起到重要作用<sup>[4]</sup>,与肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移、凋亡均有一定相关性。在 2021 年 FILIPPOVA E 团队研究发现 GAS5 可以在 miR-21、miR-222、miR-221-3p、miR-196a-5p 和 miR-378a-5p 介导下参与抑制蛋白(如 PTEN、PDCD4、DKK2、FOXO1 和 SUFU)上调,促进乳腺癌细胞凋亡,在调节乳腺癌的关键信号通路中作为重要角色,且能提升多种药物对于乳腺癌的敏感性<sup>[5]</sup>。无独有偶,在卵巢癌<sup>[6]</sup>、骨肉瘤<sup>[7]</sup>、胶质瘤<sup>[8]</sup>中 GAS5 的过表达均能抑制肿瘤细胞的增殖和侵袭。而在胆管癌、鼻咽癌中 lncGAS5 的作用恰恰与之相反,lncGAS5 作为 has-miR-1297 的内源性海绵促进胆管癌细胞增殖和侵袭<sup>[9]</sup>,lncGAS5 下调抑制鼻咽癌细胞的生长<sup>[10]</sup>。

长链非编码 RNA GAS5 通过神经细胞黏附分子 1(neural cell adhesion molecule 1, NCAM1)(又称为 CD56、NCAM、MSK39)是一种可以编码细胞黏附蛋

白的基因,这种细胞黏附蛋白是免疫球蛋白超家族的成员,可作为跨膜分子的一部分<sup>[11]</sup>。NCAM1 也是一种免疫反应相关基因,可用于人类体细胞直接重新编程为 NK 细胞,直接重编程的 NK 细胞具有很强的先天适应性免疫调节活性,对多种癌细胞非常有效,包括难以治疗的实体癌和癌症干细胞。NCAM1 参与细胞黏附和细胞发育过程,它们的失调研究发现 NCAM1 与多种肿瘤发生、发展、预后相关。KIM H S 等<sup>[12]</sup>研究发现 KIR3DL3 主要在 NCAM1 上表达,KIR3DL3 可阻断抑制多个人源化小鼠模型中的肿瘤生长,说明其是癌症免疫治疗的潜在靶标。ZHANG Y 等<sup>[13]</sup>通过对 109 例宫颈癌患者新辅助化疗前后回顾性检测及癌组织 RNA 测序分析发现了 CD56+自然杀伤(NK)细胞免疫细胞类型的存在,为宫颈癌化疗联合免疫检查点抑制剂治疗找到了方向;在 99 例新诊断多发性骨髓瘤患者中 CD56 阳性率为 65%,回顾性分析可知 NCAM1 在多发性骨髓瘤中表达高度,其低表达与髓外疾病和髓外复发的发生有关,这表明 NCAM1 可能是预测髓外疾病和髓外复发发生的重要指标<sup>[14]</sup>;NCAM1 也是鉴定具有神经内分泌分化的肺肿瘤的推荐标志物<sup>[15]</sup>。然而,很少报道 NCAM1 在 NSCLC 细胞中的作用。研究影响 NSCLC 细胞增殖和转移潜能的 NCAM1 锚定关键分子的抑制剂,理论上将为 NSCLC 的治疗提供更有效的数据。

遂本研究以肺癌 A549 细胞为研究对象,旨在探讨 lncRNA GAS5 通过对 NCAM1 的调节对于 A549 细胞增殖能力的影响,为肺癌分子水平的诊断及治疗提供一定的参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞培养及细胞转染

1.1.1 细胞培养 常规复苏冻存的人非小细胞肺癌细胞 A549 后,用含 10% 胎牛血清的 1640 培养基(美国 Hyclone 公司生产),在 37 °C 饱和湿度、含 5% CO<sub>2</sub> 培养箱(美国 Thermo Fisher 公司生产)中培养。48 h 后换液,待细胞融合接近 80% 时即可传代。实验选择处于对数生长期的细胞。

1.1.2 细胞转染 接种 A549 细胞于 48 孔板上,每孔加入含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基,培养 24 h 至对数生长期;取出病毒原液(空载体的慢病毒原液、

携带 sg-lncGAS5 的慢病毒原液)置于冰上溶解,按 1:50 比例用培养基稀释并加入 Polybrene(终浓度为 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ),混匀后分别加入到培养板中;培养 24 h 后,更换 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基继续培养;病毒感染 96 h 后,荧光显微镜观察到荧光细胞即证明细胞转染成功,即可获得阴性对照的 A549 细胞及敲降 lncGAS5 的 A549 细胞。

1.2 CCK8 检测 A549 细胞 OD 值(450nm)及相对存活率 CCK8(日本 Dojindo 公司生产)实验分组:①将 A549 细胞悬液分别在 96 孔板按照  $3 \times 3$  加入细胞悬液[即 3 个分组,各 3 个复孔,即 Control 组、LV-sg-NC 组(空载体的慢病毒转染 A549 细胞作为阴性对照组)、LV-sg-lncGAS5 组(携带 sg-lncGAS5 的慢病毒转染 A549 细胞作为实验组)],将细胞悬液周围加入等量培养基。收集处于对数生长期 A549 细胞并制成细胞悬液,用培养液将细胞浓度调整为  $5 \times 10^4$  个/毫升,按照 100 微升/孔加入细胞悬液;②将完成种板的 96 孔板培养 24 h,观察细胞贴壁状态良好,按照预设分组转染 A549 细胞,将细胞悬液周围用培养液设为调零孔(空白对照组);③将转染 A549 细胞后的 96 孔板再次放置细胞培养箱内培养 24 h 后,将 CCK8 试剂按照 10 微升/孔加入,继续培养 2 h;④提前开机预热酶标仪,选定酶标仪光波长为 450 nm,测量并记录各化的吸光度值(OD 值)。

1.3 QPCR 检测 向细胞样本中加入 500  $\mu\text{L}$  Trizol(北京天根生化科技有限公司生产);向加有 Trizol 的 1.5 mL EP 管中加入 100  $\mu\text{L}$  氯仿(福州市广博胶业生产),震荡混匀后,静置 5 min,在 12 000 r/min,4  $^{\circ}\text{C}$  离心 10 min;离心取上层无色透明的水相层,加入等体积的异丙醇(国药集团化学试剂有限公司生产),离心之后胶状沉淀为提取的 RNA。RNA 浓度检测使用核酸蛋白检测仪(杭州奥盛仪器有限公司生产)。逆转录 PC 按表 1 配制逆转录反应液,实时荧光定量 PCR 反应反应条件设置见表 2,基因引物序列选用 GAPDH 作为内参照,引物由上海生工生物工程股份有限公司设计并合成,见表 3。

表 1 逆转录反应液配制

Total RNA	1 $\mu\text{g}$
OligodT Primer	2.5 $\mu\text{L}$
DEPC 水	up to 12.5 $\mu\text{L}$ , 70 $^{\circ}\text{C}$ , 5min
RT Buffer	4 $\mu\text{L}$
dNTPS	2 $\mu\text{L}$
RT Enzyme	1 $\mu\text{L}$
RI Enzyme	0.5 $\mu\text{L}$
Total Volume	20 $\mu\text{L}$ , 42 $^{\circ}\text{C}$ , 60 min, 70 $^{\circ}\text{C}$ , 10 min

表 2 实时荧光定量 PCR 反应反应条件设置

循环数	Step	温度	时间	说明
1	1	94 $^{\circ}\text{C}$	10 min	起始模板变性
40	1	95 $^{\circ}\text{C}$	5 s	模板变性
	2	60 $^{\circ}\text{C}$	15 s	退火
	3	72 $^{\circ}\text{C}$	10 s	延伸

表 3 PCR 所用基因引物序列

引物命名	引物序列(5'→3')
(h)lnc-GAS5-136-F	TTTCGAGGTATGGTGCTGGG
(h)lnc-GAS5-136-R	CTGTGTGCCAATGGCTTGAG
NCAM1-F1	CTCACCCCAAACCAGCAG
NCAM1-R1	GGTGGCCTCTGACTCACT
GAPDH-127R(H)	GCTGTAGCCAAATCGTTGT
GAPDH-127F(H)	CCAGGTGGTCTCCTCTGA

1.4 细胞免疫荧光技术检测 LC3 蛋白在各组细胞中的表达 用 4% 的多聚甲醛(上海碧云天生物技术有限公司生产)固定细胞爬片 15 min,0.5% Triton X-100(PBS 配制)室温通透 15 min。每张玻片滴加足够量的稀释好的一抗,4  $^{\circ}\text{C}$  孵育过夜。加稀释好的荧光二抗,湿盒中 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 1 h,避光操作。复染核:滴加 DAPI 避光孵育 5 min,对本标进行染核,生理盐水 4 次洗去多余的 DAPI;在荧光显微镜(日本 Nikon 生产)下观察采集图像。

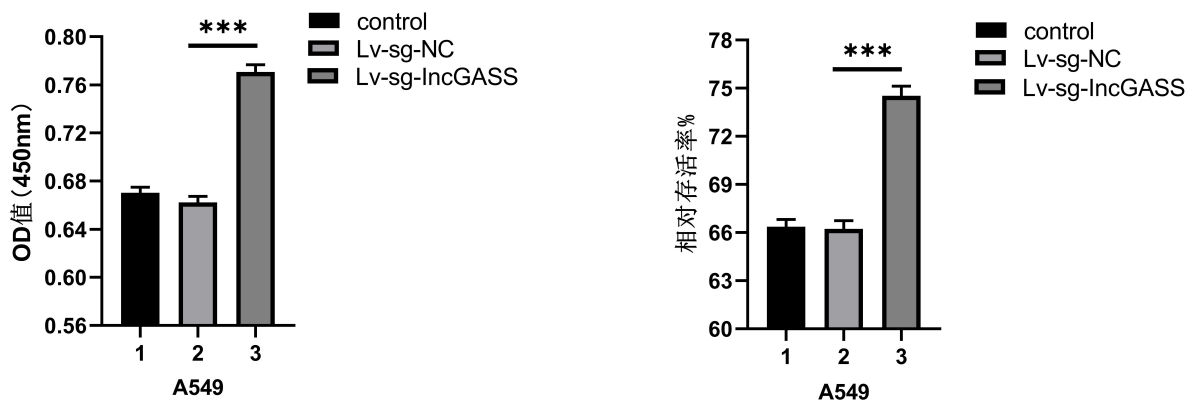
1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 软件进行分析。计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,两组比较采用独立样本  $t$  检验,多组比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK- $q$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 慢病毒转染 A549 细胞抑制 lncGAS5 的表达后对细胞增殖的影响 CCK8 实验结果显示,相对于 Control 组和 LV-sg-NC 组的 OD 值及相对存活率, LV-sg-lncGAS5 组 A549 细胞的 OD 值及相对存活率升高( $P < 0.001$ )。见图 1。

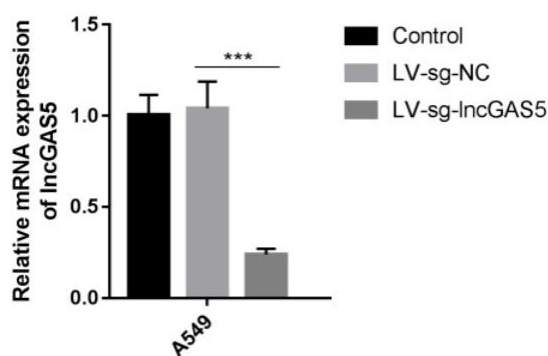
2.2 A549 细胞转染 sg-lncGAS5 病毒后细胞中 lncGAS5 及 NCAM1 的表达结果 根据 QPCR 检测结果显示,在 A549 细胞中感染 sg-lncGAS5 病毒后,细胞中 lncGAS5 的表达下调( $P < 0.001$ ),而细胞中 NCAM1 的表达上调( $P < 0.001$ )。见图 2、图 3。

2.3 过表达 lncGAS5 及敲低 lncGAS5 后细胞免疫荧光结果 根据 IF 结果显示,细胞中过表达 lncGAS5,LC3 的表达上调,镜下可观察到明显的红色自噬斑点;敲降 lncGAS5,与 sg-NC 组相比,LC3 的表达稍有降低。见图 4。



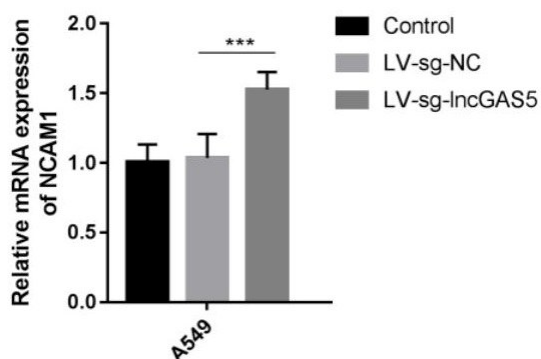
注: \*\*\*  $P < 0.001$

图 1 CCK8 法分别检测 Control 组、Lv-sg-NC 组、Lv-sg-lncGAS5 组 OD 值及 A549 细胞相对存活率



注: \*\*\*  $P < 0.001$

图 2 QPCR 检测 A549 细胞转染 sg-lncGAS5 病毒后细胞中 lncGAS5 的表达量



注: \*\*\*  $P < 0.001$

图 3 QPCR 检测 A549 细胞转染 sg-lncGAS5 病毒后细胞中 NCAM1 的表达量

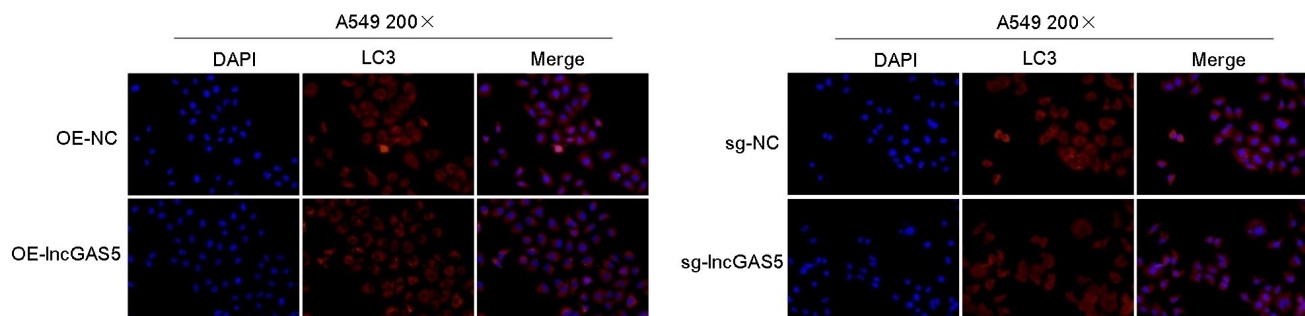


图 4 过表达 lncGAS5 及敲降 lncGAS5 后细胞免疫荧光结果

2.4 过表达 NCAM1 及加入 EPK 抑制剂后细胞免疫荧光的结果 根据 IF 结果显示, A549 细胞中过表达 NCAM1, 细胞中 LC3 的表达下调, 说明自噬被抑制; 过表达 NCAM1 的同时给予细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)抑制剂, 细胞中 LC3 的水平上调; 敲降 lncGAS5 的结果与过表达 NCAM1 结果一致。根据本结果可以说明, 过表达 NCAM1 和敲降 lncGAS5 可以激活 ERK 信号通路, 从而抑制自噬。见图 5。

### 3 讨论

2020 年全球肿瘤流行病学调查中, 肺癌已经成为全球发病率第二高和死亡率最高的恶性肿瘤, 现如今在我国男性恶性肿瘤发病率最高的是肺癌, 在女性中肺癌已经是除乳腺癌外发病率最高的肿瘤。NSCLC 作为肺癌中最常见的一类病理类型, 因其发病率及死亡率极高, 现已研究发现多种治疗方法, 包括经典的手术、放疗、化疗, 以及现在新兴的靶向治疗和免疫治疗, 尤其最近炙手可热的免疫治疗, 其改变了多种癌症的

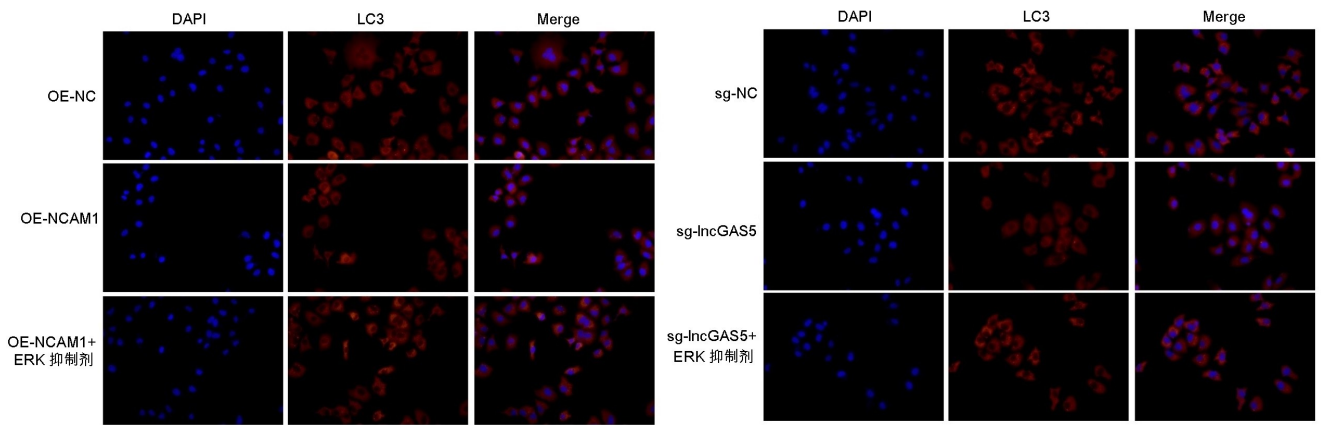


图 5 过表达 NCAM1 及加入 ERK 抑制剂后细胞免疫荧光结果

治疗方式,但并不是每一个癌症患者均能对免疫检查点抑制剂产生良好的效果<sup>[16]</sup>。并且对于中晚期 NSCLC 的诊断金标准,目前常用的方法也仅是支气管镜取活检或者超声/CT 引导下经皮肺穿刺活检<sup>[17]</sup>,对病人来说创伤大、风险高、经济性差。所以现在急需一种标志物或者一个靶点能够微创甚至无创诊断 NSCLC,并且通过这个靶点能够应用于临床,对 NSCLC 产生较好的治疗效果。

表观遗传学是目前研究较为火热的领域,其往往通过 DNA/RNA 甲基化、组蛋白修饰及染色体三维构象的改变来干扰正常基因的表达和功能。表观遗传信息对生命个体的正常生长发育及保持基因一定的表达模式至关重要,表观遗传修饰紊乱可能改变基因表达,导致疾病发生。研究发现在癌症中表观遗传学修饰发生了许多改变,且这一过程动态可逆,这为癌症的治疗带来了新的思路。lncRNA 是表观遗传修饰的重要组成部分,lncRNA 的调控模式多样化,能与多种物质结合并以不同的作用模式来实施基因表达调控在多种生命过程中发挥重要作用。而 lncGAS5 作为 lncRNA 中重要的一种已被发现和 NSCLC 密切相关,lncGAS5 的下调显著诱导了 NSCLC 的生长、迁移和侵袭,且与 NSCLC 患者的预后不良有关<sup>[18]</sup>。lncGAS5 也可降低 NSCLC 顺铂(DDP)耐药性<sup>[19]</sup>,并对 NSCLC 具有放射增敏作用<sup>[20]</sup>,另外 lncGAS5 也是 NSCLC 目前发现特异性较高的癌症生物标志物和血清标志物<sup>[21]</sup>。根据 CCK8 实验结果研究发现,A549 细胞敲降 lncGAS5 后,A549 细胞的相对存活率显著升高,说明 lncGAS5 能够抑制 A549 细胞的增殖。QPCR 检测感染 sg-lncGAS5 病毒的 A549 细胞中 lncGAS5 表达量,结果发现 lncGAS5 的表达下调;IF 结果显示,细胞中过表达 lncGAS5 后,LC3 的表达上调,镜下可观察到明显的红色自噬斑点;敲降 lncGAS5,与 sg-NC 组相比,LC3 的表达稍有降低。LC3 作为细胞自噬标志物,本研究表

明过表达 lncGAS5 能够使 A549 细胞抑制增殖和促进细胞自噬。

目前已证实 NCAM1 在细胞黏附、神经元轴突生长以及神经元可塑性的调节中具有重要意义。最近进行的一项研究表明, DNMT3B 对 miR 152 3p 启动子的直接作用,通过增加 miR 152 3p 和减少 NCAM1,阻碍人肺癌细胞中的肿瘤细胞增殖,而 NCAM1 的过表达可以逆转这种作用,因此,作为一种在人肺肿瘤细胞中高表达的跨膜蛋白,NCAM1 是一种潜在的肺癌靶向细胞表面抗原<sup>[22]</sup>。遂在本研究中,通过 QPCR 检测 A549 细胞转染 sg-lncGAS5 病毒后细胞中 NCAM1 的表达量,发现 NCAM1 的表达上调。在随后的 IF 实验中 A549 细胞中过表达 NCAM1,细胞中 LC3 的表达下调,说明自噬被抑制。

ERK 是一类丝/苏氨酸蛋白激酶,是传递丝裂原信号的信号转导蛋白,目前研究也发现 ERK 通路在 NSCLC 的增殖、侵袭等方面占有重要地位<sup>[23]</sup>。为了研究 lncGAS5 与 ERK 通路的相关性,在过表达 NCAM1 的同时给予 ERK 抑制剂,细胞中 LC3 的水平上调;敲降 lncGAS5 的结果与过表达 NCAM1 结果一致。根据本结果可以说明,A549 细胞转染 sg-lncGAS5 病毒后,lncGAS5 表达量下降,可调节 NCAM1 的表达,使其表达升高,而 NCAM1 过表达可能会通过 ERK 通路抑制细胞自噬功能。

综上所述,本研究发现 A549 细胞敲降 lncGAS5 后,进而调节 NCAM1 过表达,并可能与激活 ERK 通路相关而抑制细胞自噬,从而也促进了 A549 细胞的增殖。这一结果为 NSCLC 提供了潜在的生物标志物和治疗靶点。

#### 参考文献:

- [1] CAO M M, CHEN W Q. Epidemiology of lung cancer in China[J]. Thorac Cancer, 2019, 10(1): 3-7.
- [2] ZHANG X, LIU S, LIU Y, et al. Economic burden for

- lung cancer survivors in urban China[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2017, 14(3): 308.
- [3] GAO Y P, LI Y, LI H J, et al. LncRNA NBR2 inhibits EMT progression by regulating Notch1 pathway in NSCLC[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(18): 7950-7958.
- [4] KAUR J, SALEHEN N, NORAZIT A, et al. Tumor suppressive effects of GAS5 in cancer cells[J]. *Noncoding RNA*, 2022, 8(3): 39.
- [5] FILIPPOVA E A, FRIDMAN M V, BURDENYY A M, et al. Long noncoding RNA GAS5 in breast cancer: epigenetic mechanisms and biological functions[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(13): 6810.
- [6] DONG Q, LONG X R, CHENG J, et al. LncRNA GAS5 suppresses ovarian cancer progression by targeting the miR-96-5p/PTEN axis [J]. *Ann Transl Med*, 2021, 9(24): 1770.
- [7] LIU J M, CHEN M, MA L Y, et al. LncRNA GAS5 suppresses the proliferation and invasion of osteosarcoma cells via the miR-23a-3p/PTEN/PI3K/AKT pathway[J]. *Cell Transplant*, 2020, 29: 963689720953093.
- [8] TAN X W, JIANG H F, FANG Y L, et al. The essential role of long non-coding RNA GAS5 in glioma: interaction with microRNAs, chemosensitivity and potential as a biomarker[J]. *J Cancer*, 2021, 12(1): 224-231.
- [9] LI Q, FU L, HAN L L, et al. Long noncoding RNA GAS5 accelerates cholangiocarcinoma progression by regulating hsa-miR-1297 [J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 2745-2753.
- [10] ZHONG Q, WANG Z Q, LIAO X, et al. LncRNA GAS5/miR 4465 axis regulates the malignant potential of nasopharyngeal carcinoma by targeting COX2[J]. *Cell Cycle*, 2020, 19(22): 3004-3017.
- [11] GUAN G Y, NIU X, QIAO X, et al. Upregulation of neural cell adhesion molecule 1 (NCAM1) by hsa-miR-141-3p suppresses ameloblastoma cell migration[J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26: e923491.
- [12] KIM H S, KIM J Y, SEOL B, et al. Directly reprogrammed natural killer cells for cancer immunotherapy[J]. *Nat Biomed Eng*, 2021, 5(11): 1360-1376.
- [13] ZHANG Y, YU M H, JING Y, et al. Baseline immunity and impact of chemotherapy on immune microenvironment in cervical cancer[J]. *Br J Cancer*, 2021, 124(2): 414-424.
- [14] 李高, 黄秀娟, 牛彤, 等. 多发性骨髓瘤肿瘤细胞 CD56 表达与髓外病变和髓外复发的关系[J]. *中国实验血液学杂志*, 2021, 29(2): 553-556.
- [15] KRIEGSMANN K, ZGORZELSKI C, MULEY T, et al. Role of synaptophysin, chromogranin and CD56 in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung lacking morphological features of neuroendocrine differentiation: a retrospective large-scale study on 1170 tissue samples[J]. *BMC Cancer*, 2021, 21(1): 486.
- [16] BRAVACCINI S, BRONTE G, ULIVI P. TMB in NSCLC: a broken dream? [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6536.
- [17] 利青, 蒋玉洁, 李智贤, 等. 超声引导下经皮穿刺活检术在周围型肺癌临床应用中的研究进展[J]. *右江民族医学院学报*, 2022, 44(2): 289-292.
- [18] KAUR J, SALEHEN N, NORAZIT A, et al. Tumor suppressive effects of GAS5 in cancer cells[J]. *Noncoding RNA*, 2022, 8(3): 39.
- [19] YANG X H, MENG L F, ZHONG Y, et al. The long intergenic noncoding RNA GAS5 reduces cisplatin-resistance in non-small cell lung cancer through the miR-217/LHPP axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(2): 2864-2884.
- [20] CHEN L, REN P, ZHANG Y D, et al. Long non coding RNA GAS5 increases the radiosensitivity of A549 cells through interaction with the miR 21/PTEN/Akt axis [J]. *Oncol Rep*, 2020, 43(3): 897-907.
- [21] KAMEL L M, ATEF D M, MACKAWY A M H, et al. Circulating long non-coding RNA GAS5 and SOX2OT as potential biomarkers for diagnosis and prognosis of non-small cell lung cancer [J]. *Biotechnol Appl Biochem*, 2019, 66(4): 634-642.
- [22] YANG B, HUANG S Q, CHEN H M, et al. DNMT3B regulates proliferation of A549 cells through the microRNA-152-3p/NCAM1 pathway [J]. *Oncol Lett*, 2022, 23(1): 11.
- [23] KONG Y R, DENG S S, LIANG X H, et al. RPS9 promotes the progression of NSCLC via activation Stat3 and Erk signaling pathways[J]. *J Cancer*, 2022, 13(4): 1346-1355.

收稿日期: 2022-10-12; 修回日期: 2022-11-26