

苦参碱通过抑制 microRNA-192 调控顺铂耐受肺腺癌 A549 细胞对顺铂的敏感性

庞琪, 朱燕, 李陶, 李顺保

兰州石化总医院, 甘肃 兰州 730060

摘要: **目的** 探讨苦参碱通过调控 microRNA 影响顺铂耐受 A549 (A549/DDP) 细胞对顺铂的敏感性。**方法** 采用生物信息学手段对 GEO 数据库中的相关 microRNA 芯片数据 (访问编号 GSE43249) 进行数据挖掘, 筛选出与 A549 细胞顺铂敏感性相关的 microRNA。体外培养对顺铂敏感的 A549 细胞及 A549/DDP, 使用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 法在体外培养的细胞中验证生物信息学的结果, 并考察苦参碱对 A549/DDP 细胞中 microRNA 水平的影响。通过转染 microRNA-192 (miR-192) 模拟序列上调 A549/DDP 细胞的 miR-192 水平。CCK-8 细胞活力实验考察苦参碱处理及 (或) miR-192 上调对 A549/DDP 细胞顺铂敏感性的影响。**结果** 芯片数据挖掘显示与顺铂敏感的 A549 细胞相比, A549/DDP 细胞中共有 11 个 microRNA 存在显著变化 ($P < 0.05$), 其中 miR-192 及 miR-194 变化在体外培养的细胞中得到了验证。与未经处理的 A549/DDP 细胞相比, 苦参碱处理后的 A549/DDP 细胞中 miR-192 水平显著降低 ($P < 0.05$)。苦参碱处理可以增加 A549/DDP 细胞对顺铂的敏感性, miR-192 的上调可以消除这种效果。上调 miR-192 水平可诱导 A549 细胞的顺铂耐受。**结论** 苦参碱可能通过抑制 miR-192 调控 A549 对顺铂的敏感性。

关键词: 苦参碱; 非小细胞肺癌; A549; microRNA; 顺铂; 耐药

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2019)03-0653-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.03.018

Effect of matrine on sensitivity of A549/DDP cells to cisplatin by inhibiting microRNA-192

PANG Qi, ZHU Yan, LI Tao, LI Shun-bao

Lanzhou General Petrochemical Hospital, Lanzhou 730060, China

Abstract: Objective To investigate the effect of matrine on increasing the sensitivity of A549/DDP cells to cisplatin by regulating microRNAs. **Methods** Data mining was performed on a microarray dataset (accession ID: GSE43249) from GEO database using bioinformatics analysis. Then microRNAs which related to the sensitivity of A549 cells to cisplatin were selected as candidate microRNAs. A549 and A549/DDP cells were cultured *in vitro*. The expression changes of candidate microRNAs were confirmed by qRT-PCR. The effect of matrine on the level of candidate microRNAs was also determined by qRT-PCR in A549/DDP cells. The level of microRNA-192 (miR-192) in A549/DDP cells was up-regulated by transfecting sequence of miR-192mimic. The CCK-8 assay was used to observe the effect of matrine and (or) miR-192 up-regulation on the sensitivity of A549/DDP cells to cisplatin. **Results** Data mining results showed that there were 11 microRNAs with significant changes in A549/DDP cells compared with cisplatin-sensitive A549 cells ($P < 0.05$). The changes of miR-192 and miR-194 expression were confirmed *in vitro*. Compared with untreated A549/DDP cells, matrine treatment reduced the level of miR-192 in A549/DDP cells ($P < 0.05$). Matrine treatment increased the sensitivity of A549/DDP cells to cisplatin. Up-regulation of miR-192 could antagonize this effect and induce the resistance of A549 cells to cisplatin. **Conclusion** Matrine may increase the sensitivity of A549 cells to cisplatin by inhibiting miR-192.

Key words: matrine; NSCLC; A549; microRNA; cisplatin; drug-resistance

苦参碱是从豆科槐属植物苦参、广豆及苦豆子的根中提取得到的生物碱之一, 其作为上述中药的

主要活性成分在肿瘤的治疗中发挥重要作用^[1]。大量研究已经证实苦参碱不仅能够抑制肿瘤细胞的增

收稿日期: 2018-04-25

作者简介: 庞琪 (1980—), 女, 主治医师, 硕士研究生, 研究方向为呼吸病学。Tel: 13099232182 E-mail: Pangqiz80@163.com

殖,诱导其凋亡,还可以增加化疗药物的疗效,起到化疗增敏作用^[2]。苦参碱联合顺铂治疗,可以提高非小细胞肺癌(NSCLC)患者的近期疗效并减轻不良反应^[3]。体外细胞实验也证实苦参碱可增加 NSCLC 细胞对顺铂的敏感性^[4]。microRNA 是一类在癌症研究中较为热门的短链非编码 RNA,其在调控 NSCLC 对顺铂敏感性方面扮演重要角色^[5],因此本研究对相关的高通量 microRNA 微芯片进行了生物信息学数据挖掘,并设计了体外细胞实验加以验证,旨在阐明苦参碱通过调控 microRNA 来增加肺腺癌 A549 细胞对顺铂敏感性的作用机制,为其深入开发及临床应用提供参考和依据。

1 材料和方法

1.1 材料

肺腺癌 A549 细胞系(A549)和顺铂耐药的肺腺癌 A549 细胞系(A549/DDP),购自中国科学院上海生命科学研究院;DMEM 培养基、胰酶及胎牛血清购自 Gibco 公司;顺铂(质量分数>98%,批号 CAS#15663-27-1)及苦参碱(质量分数>98%,批号 CAS#519-02-8)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;HG SYBR Green miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒、一步法 miRNA 反转录试剂盒及快速组织细胞 miRNA 提取试剂盒购自哈尔滨新海基因检测有限公司;Lipofectamine RNAiMax 购自美国 Thermo Fisher 公司;相关引物、microRNA-192(miR-192)模拟序列及无关阴性对照序列购自上海吉玛制药技术有限公司;CCK-8 细胞活力试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司。

1.2 生物信息学分析

检索 Gene Expression Omnibus(GEO)芯片数据库中访问编号为 GSE43249 的芯片数据集。该数据集为顺铂敏感的 A549 细胞与顺铂耐受的 A549 细胞的 microRNA 表达谱。数据集共 6 个样本,其中 3 个样本收集自顺铂敏感的 A549 细胞,另外 3 个样本收集自顺铂耐受的 A549。使用 R 语言统计分析工具(V3.4.1)配合 limma 程序包分析顺铂敏感 A549 细胞与顺铂耐受 A549 细胞间的 microRNA 差异表达,筛选出表达变化大于 1.5 倍($\log_2FC > 0.58$)且 $P < 0.05$ 的 microRNA 作为具有显著差异的 microRNA。

1.3 细胞培养

A549 细胞和 A549/DDP 细胞常规培养于 37℃、5% CO₂ 培养箱。培养基采用含 10%胎牛血

清的 DMEM 培养基。细胞汇合度达 80%左右时常规胰酶消化传代,取对数期细胞进行实验。为维持 A549/DDP 的耐药性,用于 A549/DDP 的培养基需加入 0.5 μg/mL 的顺铂,但在实验前 48 h 时换为不含顺铂的培养基。

1.4 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测

qRT-PCR 用于验证生物信息分析筛选出的变化倍数排名前 5 位的 microRNA 在 A549 细胞及 A549/DDP 细胞间的表达差异,同时用于检测苦参碱处理后 A549/DDP 的 miR-192 及 miR-194 的变化。使用 HaiGene 快速组织细胞 miRNA 提取试剂盒提取 A549 细胞、A549/DDP 细胞及苦参碱(1.0 mg/mL, 48 h)处理后的 A549/DDP 细胞中的 microRNA 样本。使用 HaiGene 一步法 miRNA 反转录试剂盒对获取的 microRNA 样本进行反转录以获取 cDNA 模板。使用 HG SYBR Green miRNA 荧光定量 PCR 试剂盒对获取的 cDNA 进行定量扩增,内参使用 RNU6B。目标 microRNA 的相对表达水平采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算,其中 $\Delta Ct = Ct_{\text{目标}} - Ct_{\text{内参}}$ 。

1.5 细胞转染实验

通过转染 miR-192 模拟序列(miR-192 mimic)上调 A549/DDP 细胞中的 miR-192 水平,转染试剂采用 Lipofectamine RNAiMax, miR-192 mimic 的工作浓度为 5 nmol/L。同时转染无关序列(miR-NG)作为阴性转染对照。具体转染方案参考转染试剂说明书,miR-192 mimic 的转染效果已在预试验中得到验证。

1.6 细胞活性实验

细胞分为未经任何处理的 A549 细胞组(对照)及顺铂处理的细胞组,其中顺铂处理的细胞组根据使用的细胞及预处理方式不同,再分为 9 个亚组,包括:(A)未经预处理的 A549 细胞;(B)未经预处理的 A549/DDP 细胞;(C)苦参碱预处理的 A549/DDP 细胞;(D)苦参碱预处理+转染 miR-192 mimic 的 A549/DDP 细胞;(E)苦参碱预处理+转染 miR-NG 的 A549/DDP 细胞;(F)仅转染 miR-192 mimic 的 A549/DDP 细胞;(G)仅转染 miR-NG 的 A549/DDP 细胞;(H)仅转染 miR-192 mimic 的 A549 细胞;(I)仅转染 miR-NG 的 A549 细胞。前期预试验发现苦参碱预处理的最佳质量浓度为 1.0 mg/mL,苦参碱预处理和细胞转染均于顺铂处理前 48 h 进行。将上述各组细胞以每孔 10 000 个的密度种植于 96 孔板,待细胞贴壁后,顺铂处理组的细

胞使用 20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 顺铂处理 48 h。使用 CCK-8 细胞活力试剂盒检测各组细胞的活力：弃去培养孔原有培养基，每孔加入 15 μL CCK-8 试剂，37 $^{\circ}\text{C}$ 放置 1 h 后测量 450 nm 处吸光度 (A) 值。计算相对细胞活力。

相对细胞活力 = 处理组 A 值 / 对照组 A 值

1.7 统计学分析

统计学分析采用 SPSS 17.0 软件，数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示。两组间均数差异的比较采用独立样本 t 检验，多组间均数的比较采用单因素方差分析，多组数据的两两比较采用 LSD 检验。

2 结果

2.1 参与调控 A549 细胞顺铂敏感性的相关 microRNA 筛选结果

通过对 GEO 数据库中编号为 GSE43249 的芯片数据集进行生物信息学分析发现，与顺铂敏感的

A549 细胞相比，A549/DDP 细胞中共 11 个 microRNA 存在显著变化，变化倍数大于 1.5 倍，且 $P < 0.05$ 。其中 5 个 microRNA 发生下调，6 个 microRNA 发生上调（图 1）。这些 microRNA 被认为与 A549 细胞顺铂敏感性的调控有关。鉴于芯片数据可能存在假阳性，为了方便进一步研究，选取变化倍数排名前 5 位的 microRNA (miR-886-5p、miR-194、miR-106b、miR-192、miR-574-3p) 在体外培养的 A549 及 A549/DDP 细胞中进行 qRT-PCR 的验证，结果（图 2）显示仅 miR-192 及 miR-194 的结果与芯片数据的分析结果一致，即在 A549/DDP 细胞中过表达且差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 苦参碱对 A549 及 A549/DDP 细胞中 miR-192 水平的影响

如图 3 所示，1.0 mg/mL 苦参碱处理可以降低

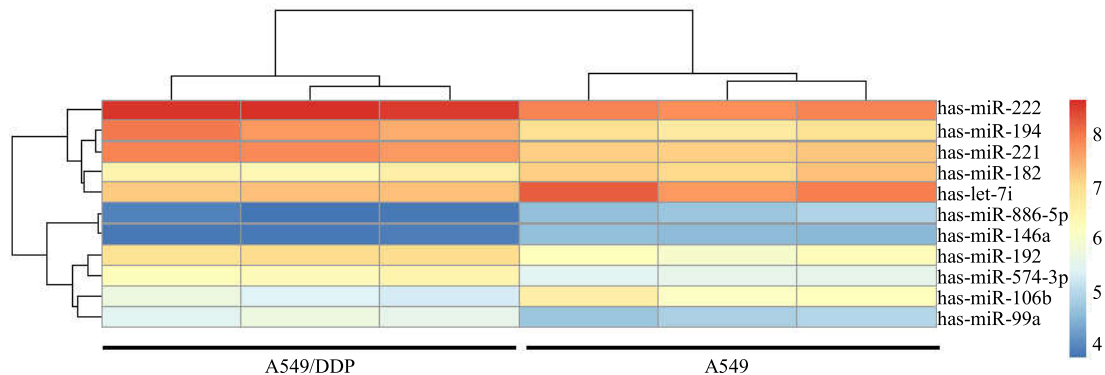


图 1 芯片数据分析筛选出的在 A549 及 A549/DDP 细胞间存在显著表达差异的 microRNA

Fig. 1 MicroRNAs with significant expression differences between A549 and A549/DDP cells screened by microarray dataset analysis

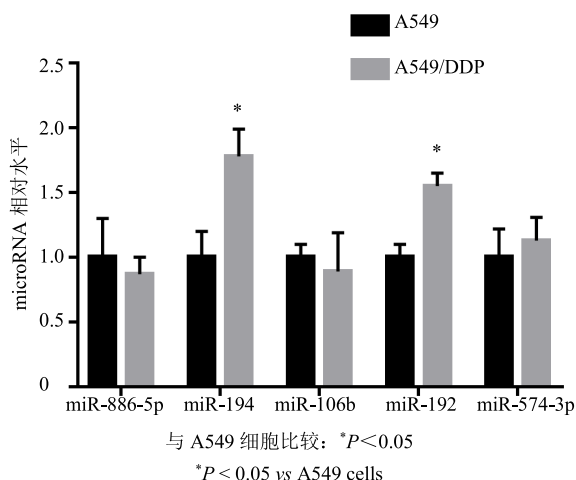


图 2 qRT-PCR 对芯片分析结果的验证 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Verification of microarray analysis by qRT-PCR ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

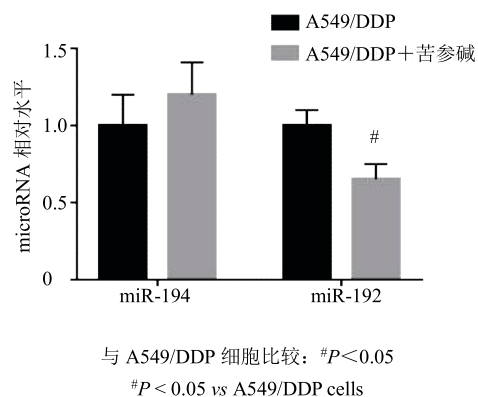


图 3 苦参碱对 A549/DDP 细胞中 miR-192 及 miR-194 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 3 Effect of matrine on level of miR-192 or miR-194 in A549/DDP cells ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

A549/DDP 细胞中的 miR-192 水平,与未经任何处理的 A549/DDP 细胞相比差异显著 ($P < 0.05$)。但苦参碱处理并未减少 miR-194 的水平,与未经任何处理的 A549/DDP 细胞相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$),故后续实验主要关注 miR-192。

2.3 苦参碱通过调控 miR-192 影响 A549 细胞的顺铂敏感性

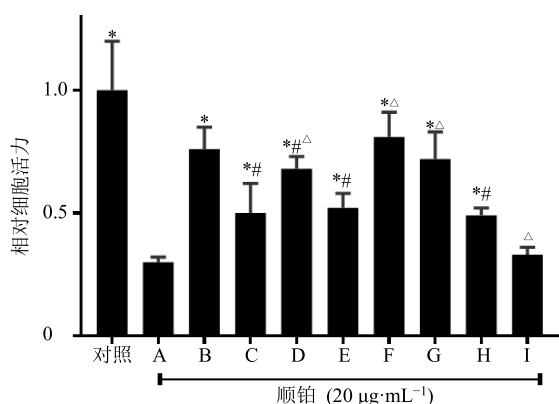
如图 4 所示,20 $\mu\text{g/mL}$ 顺铂处理后,无预处理 A549/DDP 细胞 (B 组) 的相对细胞活力显著高于无预处理 A549 细胞 (A 组),差异显著 ($P < 0.05$),提示 A549/DDP 细胞确实存在顺铂耐受。苦参碱预处理的 A549/DDP 细胞 (C 组) 的相对细胞活力低于无预处理的 A549/DDP 细胞 (B 组),差异显著 ($P < 0.05$),提示苦参碱预处理提高了 A549/DDP 细胞的顺铂敏感性。苦参碱预处理 + 转染 miR-192 mimic 的 A549/DDP 细胞 (D 组) 的相对细胞活力高于苦参碱预处理组 (C 组, $P < 0.05$),但仍低于无预处理的 A549/DDP 细胞 (B 组, $P < 0.05$)。苦参碱预处

理 + 转染 miR-NG 的 A549/DDP 细胞 (E 组) 的相对细胞活力与苦参碱预处理组 (C 组) 相比,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。单纯转染 miR-192 mimic 的 A549/DDP 细胞 (F 组) 及转染 miR-NG 的 A549/DDP 细胞 (G 组) 的相对细胞活力与无预处理 A549/DDP 细胞 (B 组) 相比差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。单纯转染 miR-192 mimic 的 A549 细胞 (H 组) 的相对细胞活力高于无预处理的 A549 细胞 ($P < 0.05$)。转染 miR-NG 的 A549 细胞 (I 组) 的相对细胞活力与无预处理的 A549 细胞 (A 组) 相比,差异不显著 ($P > 0.05$)。上述结果提示过表达 miR-192 的水平部分消除了苦参碱的顺铂增敏效果,miR-192 能引起 A549 细胞的顺铂耐药,qRT-PCR 实验已经证明苦参碱可以降低 A549/DDP 细胞的 miR-192 水平,因此推测苦参碱的顺铂增敏效果可能是通过抑制 miR-192 水平来实现的。

3 讨论

顺铂是临床上 NSCLC 患者化疗方案中常涉及的药物,其临床疗效已经得到肯定。但是各种原因造成的顺铂耐药,严重制约了患者顺铂治疗的疗效,提高 NSCLC 患者对顺铂的敏感性成为了临床亟待解决的问题之一^[6]。不少学者尝试使用中西医结合的方法来提高 NSCLC 患者的化疗效果,并取得了一定的成果。苦参具有清热利湿、凉血解毒、散结止痛作用,其主要活性成分为苦参碱^[7-8],近年来在 NSCLC 患者中西医结合治疗研究领域受到关注并有了一定临床应用^[9-10]。大量临床研究的证据表明,苦参碱的应用可以增加 NSCLC 患者顺铂治疗的疗效,减轻患者的不良反应^[3]。体外研究也表明,苦参碱可以增加 NSCLC 细胞对顺铂的敏感性^[11-12]。但是苦参碱在 NSCLC 顺铂治疗中发挥协同作用,增加肿瘤细胞顺铂敏感性的具体分子机制并没有完全阐明。

为促进苦参碱的临床应用,本研究从 microRNA 调控的角度尝试揭示该机制。microRNA 是一类短链非编码 RNA,其不编码蛋白质,但可以通过与靶基因 mRNA 的结合,实现对靶基因 mRNA 的抑制,从而发挥转录后调控作用,且这种转录调控作用的层次非常丰富,是网络化、立体化的调控。这种特性使得 microRNA 不仅参与众多正常的细胞生长、发育及分化过程,也在很多疾病,如肿瘤的发生发展中扮演重要角色^[13-14]。现阶段已经证实,microRNA 可通过对多种靶基因的调控参与肿瘤细



A-未经预处理的 A549 细胞 B-未经预处理的 A549/DDP 细胞 C-苦参碱预处理的 A549/DDP 细胞 D-苦参碱预处理 + 转染 miR-192 mimic 的 A549/DDP 细胞 E-苦参碱预处理 + 转染 miR-NG 的 A549/DDP 细胞 F-仅转染 miR-192 mimic 的 A549/DDP 细胞 G-仅转染 miR-NG 的 A549/DDP 细胞 H-仅转染 miR-192 mimic 的 A549 细胞 I-仅转染 miR-NG 的 A549 细胞与 A 组比较: * $P < 0.05$; 与 B 组比较: # $P < 0.05$; 与 C 组比较: Δ $P < 0.05$
A-A549 cells without treatment B-A549/DDP without treatment C-A549/DDP cells pretreated with matrine D-A549/DDP cells pretreated with matrine and transfected with miR-192 mimic E-A549/DDP cells pretreated with matrine and transfected with miR-NG F-A549/DDP cells transfected with miR-192 mimic G-A549/DDP cells transfected with miR-NG H-A549 cells transfected with miR-192 mimic I-A549 cells transfected with miR-NG * $P < 0.05$ vs group A; # $P < 0.05$ vs group B; Δ $P < 0.05$ vs group C

图 4 苦参碱处理和 miR-192 上调对 A549/DDP 顺铂敏感性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 4 Effect of matrine and up-regulation of miR-192 on sensitivity of A549/DDP cells to cisplatin ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

胞对化疗药物的耐受,针对相关 microRNA 进行干预,有可能逆转肿瘤细胞的化疗耐受或增加其化疗敏感性。在肺癌、乳腺癌、胰腺癌以及淋巴瘤中 miR-155 可诱导肿瘤细胞的化疗耐受,使用 miR-155 抑制剂后,肿瘤细胞的化疗敏感性得到改善^[15]。关于 NSCLC 细胞顺铂耐受与 microRNA 紊乱的相关研究也呈现爆发式增长。大量调控 NSCLC 细胞顺铂耐药的 microRNA 通过各种手段被筛选出来,并在体内外实验中得到了验证。体外研究发现在顺铂耐药的 A549/DDP 细胞中存在 microRNA-196a 的高表达,抑制 microRNA-196a 的水平可以增加细胞对顺铂的耐药性^[16]。Chen 等^[17]发现对顺铂耐药的 A549 细胞存在 microRNA-378 的低表达,并在裸鼠 NSCLC 模型中证实了该结果:上调 microRNA-378 能够增加肿瘤灶对顺铂的敏感性。Li 等^[18]通过对临床标本的分析,提出 miR-1244 表达较高的患者对顺铂治疗的响应较好,表现出较高的生存率。接着他们在体外细胞实验中证实,过表达 miR-1244 确实可以增加 NSCLC 细胞对顺铂的敏感性。基于 microRNA 在 NSCLC 细胞顺铂敏感性调控中的重要角色,一些研究开始尝试使用药物,特别是中药活性物质干预相关 microRNA,从而改善肿瘤细胞对化疗药物的敏感性,并取得了令人兴奋的结果。唐妮等^[19]发现姜黄素可以抑制 miR-186 表达从而增加 NSCLC 细胞对顺铂的敏感性。Li 等^[20]发现萝卜硫素可以通过调控 miR-214 改善 NSCLC 细胞的顺铂耐药。

本研究假设苦参碱可能通过调控某些 microRNA 实现对 NSCLC 细胞顺铂敏感性的调控。发现 miR-192 在对顺铂耐药的 A549/DDP 中存在高表达,且苦参碱处理可以降低 A549/DDP 中的 miR-192 表达,提示二者存在潜在的调控关系。细胞活力分析的数据发现,在体外苦参碱确实能增加 A549 细胞对顺铂的敏感性,这与既往报道的结果是一致的^[3]。而通过转染 miR-192 模拟序列上调 A549/DDP 中 miR-192 的表达后,苦参碱的上述增敏效果被部分抵消。上调 A549/DDP 细胞中的 miR-192 后,细胞对顺铂的敏感性并未改变,可能因为 A549/DDP miR-192 原本已经过表达,功能趋于饱和。但上调 A549 细胞中的 miR-192 后,细胞出现一定程度的顺铂耐受。上述证据表明,苦参碱可以通过对 miR-192 的调节,提高 A549 细胞对顺铂敏感性。

当然, microRNA 对 NSCLC 细胞顺铂敏感性的调控很大程度上是通过对其靶基因的调控实现的。如本研究关注的 miR-192,已有报道指出 miR-192 靶向负调控 Bim 基因,从而诱导肺癌顺铂耐药^[21]。当然 miR-192 的靶基因必然不只是 Bim 一种,苦参碱是否能够通过 miR-192 影响 Bim 或者其他的 miR-192 靶基因还有待深入研究。除 miR-192 后,苦参碱是否还调控其他 microRNA,也还有待在未来的研究中发现。总之,本研究初步揭示了苦参碱可能通过抑制 miR-192 的表达增加 NSCLC 对顺铂的敏感性,该结果为相关的研究提供了思路,也为临床应用提供了理论依据。

参考文献

- [1] Niu H, Zhang Y, Wu B, *et al.* Matrine induces the apoptosis of lung cancer cells through downregulation of inhibitor of apoptosis proteins and the Akt signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(3): 1087-1093.
- [2] Liao X Z, Tao L T, Liu J H, *et al.* Matrine combined with cisplatin synergistically inhibited urothelial bladder cancer cells via down-regulating VEGF/PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Cancer Cell Int*, 2017, doi: 10.1186/s12935-017-0495-6.
- [3] Yang C L, Liu S S, Ma Y G, *et al.* The influence of intraoperative pleural perfusion with matrine-cisplatin or cisplatin on stromal cell-derived factor-1 in non-small cell lung cancer patients with subclinical pleural metastasis [J]. *Med Oncol*, 2012, 29(2): 574-581.
- [4] An Q, Han C, Zhou Y, *et al.* Matrine induces cell cycle arrest and apoptosis with recovery of the expression of miR-126 in the A549 non-small cell lung cancer cell line [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(5): 4042-4048.
- [5] Fu W F, Chen W B, Dai L, *et al.* Inhibition of miR-141 reverses cisplatin resistance in non-small cell lung cancer cells via upregulation of programmed cell death protein 4 [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(12): 2565-2572.
- [6] Konishi M, Imai A, Fujii M, *et al.* Correlation of expression levels of copper transporter 1 and thymidylate synthase with treatment outcomes in patients with advanced non-small cell lung cancer treated with S-1/carboplatin doublet chemotherapy [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19(2): 435-441.
- [7] 王珂欣,高丽,周玉枝,等. 苦参碱抗肝癌细胞增殖的 ¹H-NMR 代谢组学研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(20): 4275-4283.
- [8] 张庆,茹庆国,刘艳,等. 苦参碱与氧化苦参碱对炎症相关结直肠癌的化学预防作用研究 [J]. *中草药*,

- 2016, 47(9): 1548-1553.
- [9] Chen S F, Zhang Z Y, and Zhang J L. Matrine increases the inhibitory effects of afatinib on H1975 cells via the IL6/JAK1/STAT3 signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(3): 2733-2739.
- [10] Yang Y, Guo J X, Shao Z Q, *et al.* Matrine inhibits bladder cancer cell growth and invasion *in vitro* through PI3K/AKT signaling pathway: An experimental study [J]. *Asian Pac J Trop Med*, 2017, 10(5): 515-519.
- [11] Liu Y Q, Li Y, Qin J, *et al.* Matrine reduces proliferation of human lung cancer cells by inducing apoptosis and changing miRNA expression profiles [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(5): 2169-2177.
- [12] Zhang Y, Zhang H, Yu P, *et al.* Effects of matrine against the growth of human lung cancer and hepatoma cells as well as lung cancer cell migration [J]. *Cytotechnology*, 2009, 59(3): 191-200.
- [13] Gu Y, Zhang Z, Yin J, *et al.* Epigenetic silencing of miR-493 increases the resistance to cisplatin in lung cancer by targeting tongue cancer resistance-related protein 1 (TCRP1) [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2017, doi: 10.1186/s13046-017-0582-5.
- [14] Wei X, Shen X, Ren Y, *et al.* The roles of microRNAs in regulating chemotherapy resistance of non-small cell lung cancer [J]. *Curr Pharm Des*, 2018, 23(39): 5983-5988.
- [15] Bayraktar R, Van Roosbroeck K. miR-155 in cancer drug resistance and as target for miRNA-based therapeutics [J]. *Cancer Metastasis Rev*, 2018, 37(1): 33-44.
- [16] Li Q, Yang Z, Chen M, *et al.* Downregulation of microRNA-196a enhances the sensitivity of non-small cell lung cancer cells to cisplatin treatment [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 37(4): 1067-1074.
- [17] Chen X, Jiang Y, Huang Z, *et al.* miRNA-378 reverses chemoresistance to cisplatin in lung adenocarcinoma cells by targeting secreted clusterin [J]. *Sci Rep*, 2016, doi: 10.1038/srep19455.
- [18] Li G J, Zhao G Q, Yang J P, *et al.* Effect of miR-1244 on cisplatin-treated non-small cell lung cancer via MEF2D expression [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(6): 3475-3483.
- [19] 唐妮, 张 艰, 杜永平. 姜黄素通过下调 miR-186 促进人肺腺癌细胞 A549/DDP 凋亡 [J]. *中国肺癌杂志*, 2010, 13(4): 301-306.
- [20] Li Q Q, Xie Y K, Wu Y, *et al.* Sulforaphane inhibits cancer stem-like cell properties and cisplatin resistance through miR-214-mediated downregulation of c-MYC in non-small cell lung cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(7): 12067-12080.
- [21] 张 芳, 李 洋, 吴 蘅, 等. MiR-192 靶向负调控 Bim 表达诱导肺癌顺铂耐药 [J]. *中国肺癌杂志*, 2014, 17(5): 384-390.