DOI:10.16016/j.1000-5404.201912194

miR-92a 靶向 PTEN/PI3K/Akt 通路抑制非小细胞肺癌细胞的自噬

胡爱妮[1],王豫萍[1],路毅斌[2],杨 梅[2],崔丽丽[2],王 剑[3] 550004 贵阳,贵州医科大学医学检验学院临床微生物学及免疫学教研室[1];550004 贵阳,贵州中医药大学第二附属医院检验科[2];550004 贵阳,贵州省人民医院病理科[3]

[**摘要**] **目的** 探讨 miR-92a 对非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)细胞自噬的影响及其可能的作用机制。**方法** 收集 2016 年 1 月至 2018 年 12 月贵州中医药大学第二附属医院收治的 53 例 NSCLC 患者的癌组织和癌旁肺组织标本,RT-PCR 和免疫组化检测癌组织及癌旁组织内 miR-92a、PTEN、p-PI3K、p-Akt 和 LC3-Ⅱ表达。将 miR-92a-mimics(类似物)、miR-92a-NC(抑制剂对照)和 miR-92a-inhibitor(抑制物)分别转染至 A549 细胞,48 h 后吖啶橙染色检测细胞自噬,双荧光素酶报告实验验证 miR-92a 与 PTEN 的靶向关系,Western blot 检测各转染组细胞内 PTEN、p-PI3K、p-Akt 和 LC3-Ⅱ的蛋白表达。**结果** 与癌旁肺组织比较,肺癌组织中 miR-92a mRNA 的表达显著升高($P<0.001$),p-PI3K、p-Akt 阳性细胞率也显著升高($P<0.001$),PTEN、LC3-Ⅱ阳性细胞率显著降低($P<0.001$)。miR-92a、PTEN 和 LC3-Ⅱ在不同性别、年龄中的表达差异无统计学意义($P>0.05$),在存在淋巴结转移、TNM Ⅲ~Ⅳ期及分化程度较低的病灶中,miR-92a 高表达者显著多于无淋巴结转移、TNM Ⅰ~Ⅱ期及分化程度较高的病灶($P<0.01$);在存在淋巴结转移、TNM Ⅲ~Ⅳ期及分化程度较低的病灶中,PTEN 和 LC3-Ⅱ高表达者显著低于无淋巴结转移、TNM Ⅰ~Ⅱ期及分化程度较高的病灶($P<0.01$)。miR-92a-mimics 组细胞啶橙染色荧光最弱,miR-92a-inhibitor 组最强。3 组中 miR-92a-mimics 组 p-Akt、p-PI3K 蛋白表达最高($P<0.05$),LC3-Ⅱ最弱($P<0.05$),miR-92a-inhibitor 组 p-Akt、p-PI3K 蛋白表达最弱($P<0.05$),LC3-Ⅱ最强($P<0.05$)。**结论** miR-92a 在非小细胞肺癌中通过靶向抑制 PTEN 表达,刺激 PI3K/Akt 信号通路活性,从而抑制细胞的自噬。

[**关键词**] 非小细胞肺癌;miR-92a;PTEN;PI3K/Akt 信号通路;自噬
[**中图法分类号**] R394.3; R73-36; R734.2 [**文献标志码**] A

MiR-92a targets PTEN/PI3K/Akt pathway to inhibit autophagy in non-small cell lung cancer cells

HU Aini[1], WANG Yuping[1], LU Yibin[2], YANG Mei[2], CUI Lili[2], WANG Jian[3] [1]Department of Clinical Microbiology and Immunology, School of Laboratory Medicine, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou Province, 550004; [2]Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang, Guizhou Province, 550004; [3]Department of Pathology, Guizhou People's Hospital, Guiyang, Guizhou Province, 550004

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of miR-92a on autophagy in non-small cell lung cancer cells (NSCLC) and its possible mechanism. **Methods** The paired NSCLC tissues and paracancerous tissues were collected from 53 NSCLC patients treated in the Second Affiliated Hospital of Guizhou University of Traditional Chinese Medicine from January 2016 to December 2018. The expression levels of miR-92a and PTEN, p-PI3K, p-Akt and LC3-Ⅱ in the paired tissues were detected by RT-PCR and immunohistochemical assay. MiR-92a-mimics, miR-92a-NC and miR-92a-inhibitor were respectively transfected into A549 cells. After 48 h, acridine orange staining was used to detect autophagy. Dual luciferase reporter assay was employed

[**通信作者**] 王豫萍,E-mail:wyp2356@163.com

to verify the targeting relationship between miR-92a and PTEN, and Western blotting was performed to detect the expression of PTEN, p-PI3K, p-Akt and LC3-Ⅱ in each transfected cells. **Results** The mRNA expression of miR-92a was significantly higher in the NSCLC tissues than the normal lung tissues ($P<0.001$). The percentages of p-PI3K and p-Akt positive cells were obviously higher, while those of LC3-Ⅱ and PTEN positive cells were notably lower in the cancer tissues than the normal lung tissues ($P<0.001$). There were no statistical differences in the expression levels of miR-92a, PTEN and LC3-Ⅱ among the patients of different genders and ages ($P>0.05$). However, for the patients with lymph node metastasis, at TNM Ⅲ~Ⅳ stage and lower differentiation, the expression levels of miR-92a in the cancer tissue was significantly higher when compared with those without metastasis, at TNM Ⅰ~Ⅱ stage and higher differentiation ($P<0.01$). While opposite phenomena were observe when concerning of the expression of PTEN and LC3-Ⅱ ($P<0.01$). Pyridine orange staining showed that the intracellular fluorescence was the weakest in the A549 cells transfected with miR-92a-mimics, while strongest in those with miR-92a-inhibitor. Among the 3 groups of cells with transfection, the expression of p-Akt and p-PI3K protein was the highest, and that of LC3-Ⅱ was the lowest in the miR-92a-mimics group (all $P<0.05$). And opposite results were seen in the miR-92a-inhibitor group (all $P<0.05$). **Conclusion** MiR-92a targets and inhibits PTEN expression, activates PI3K/Akt signaling pathway, and thus suppresses cell autophagy in NSCLC cells.

[**Key words**] non-small cell lung cancer; miR-92a; PTEN; PI3K/Akt signaling pathway; autophagy

Corresponding author: WANG Yuping, E-mail: wyp2356@163.com

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,以非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)发病率最高,占据肺癌发病率的80%以上[1]。目前,NSCLC的临床治疗主要以手术切除、化疗、放疗为主,但预后不理想。自噬(autophagy),即Ⅱ型程序性死亡,是一种新的细胞程序性死亡方式,对维持细胞内环境的稳定有重要作用[2-3]。miRNA是一类内源性表达的非编码RNA,能通过与靶基因相互作用调节基因表达,参与肿瘤细胞的生物学进程[4-5]。miR-92a是miRNA家族重要成员,对多种肿瘤细胞的生物学行为有调控作用[6-7]。研究证实[8] miR-92a对NSCLC细胞的顺铂耐药性有调控作用,但其对NSCLC细胞自噬过程是否有影响尚不清楚。因此,本研究探讨miR-92a对NSCLC细胞自噬过程的影响及其可能的作用机制,以期待为肺癌的临床治疗和诊断提供新的靶点。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2016年1月至2018年12月贵州中医药大学第二附属医院就诊并进行手术治疗的NSCLC患者53例,术中取切除的新鲜肺癌组织标本和距癌组织5 cm以上距离的手术远端切缘的正常肺上皮组织,患者均经组织病理学确诊为NSCLC并首次进行切除手术,术前未经放疗、化疗等辅助治疗。纳入研究的患者基线资料:年龄(64.1±8.3)岁,其中≥60岁23例(43.4%),<60岁30例(56.6%);男性46例(86.8%),女性7例(13.2%)。按照国际抗癌联盟(union for international cancer control, UICC)与美国癌症联合会(American joint committee on cancer, AJCC)2017年联合发布的第8版TNM分期标准分期:Ⅰ~Ⅱ期:18例(34.0%),Ⅲ~Ⅳ期35例(66.0%);组织分化程度:低分化16例(30.2%),中高分化37例(69.8%);有淋巴结转移者22例(41.5%),无淋巴结转移者31例(58.5%)。将所取病理组织一部分用10%中性福尔马林固定,另一部分于-80℃冰箱内保存。研究进行前患者均自愿签署知情同意书。本研究于2015年12月21日通过贵州中医药大学第二附属医院医学伦理委员会批准。

1.2 实验试剂和器材

人源性非小细胞肺癌A549细胞系购自中国科学院上海细胞库;miR-92a mimic、miR-92a inhibitor、miR-92a NC及miR-92a引物序列由广州锐博生物公司合成;Lipofectamine 2000、TRIzol、逆转录试剂盒购自美国Sigma公司;TRIzol、逆转录试剂盒购自美国Invitrogen公司;兔抗人p-PI3K、p-Akt、PTEN、LC3-Ⅱ一抗购自上海艾博抗贸易有限公司,鼠抗人β-actin购自碧云天生物技术有限公司;兔抗PTEN、p-PI3K、p-Akt、LC3-Ⅱ一抗购自美国Invitrogen公司。

1.3 细胞复苏与转染

将冻存的A549细胞解冻、复苏,接种于含10%胎牛血清和1%双抗的1640培养液,置于37 ℃、5% CO_2

环境的恒温培养箱中,待其贴壁。取对数生长期细胞,胰蛋白酶消化细胞,制备单细胞悬液,调整细胞密度为2×10^5个/mL,接种于6孔板,继续培养24 h,待细胞汇合度达到70%左右时,按照说明书要求,用Lipofectamine2000将miR-92a类似物(miR-92a mimic)、miR-92a抑制物(miR-92a inhibitor)和阴性对照(miR-92a normal control,miR-92a NC)转染至A549细胞,Opti-MEM培养液替换常规培养液,转染8 h后换为常规培养液。

1.4 吖啶橙染色

收集各组转染后细胞,按5×10^4个/mL接种于24孔板,每孔1 mL,培养箱中孵育48 h,用终浓度为1 mg/L的吖啶橙溶液避光染色15 min,用PBS洗涤染色后的细胞,置于倒置荧光显微镜下观察并拍照。每组设置5个复孔,取平均值。

1.5 免疫组织化学染色检测病理组织内相关蛋白表达

将病理组织石蜡切片用0.3% H_2O_2处理标本30 min,枸橼酸钠缓冲液中加热20 min以修复抗原,加入一抗p-PI3K(1∶200)、p-Akt(1∶200)、LC3-Ⅱ(1∶200)、PTEN(1∶200),4 ℃孵育过夜,加入二抗37 ℃孵育30 min,DAB显色,苏木精复染,1%盐酸乙醇分化、脱水、封固,每批实验设立空白对照,PBS代替一抗作为阴性对照。标本染色后由经验丰富的病理科医师进行评分,采用双盲法在每张切片上随机选取5个视野,计算阳性细胞数与总细胞数的比值。实验重复3次。用双盲法在每张切片上随机选取5个视野,每个视野内计数100个细胞,根据细胞染色强度评分,无阳性着色为0分,淡黄色为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分,评分0~2为低表达,>2为高表达。

1.6 RT-PCR检测miR-92a表达

取冻存的癌组织和癌旁组织于液氮预冷的研钵中研磨成粉末,加1 mL TRIzol,按说明书中所示步骤提取总RNA,行逆转录反应。取2 μL RNA进行PCR扩增:内参β-actin引物序列:正义链:5′-CGTAGGGCTAGCCATAGCCAT-3′,反义链:5′-TGTTGCTAGCCATAGCAACA-3′,miR-92a引物序列:正义链:5′-TAGCGGCTAGGCTAGGCTAC-3′,反义链:5′-TGCCATGCCGTTAGCTTAGC-3′,扩增条件:94 ℃预变性2 min,1个循环;94 ℃变性30 s,55 ℃退火30 s,72 ℃延伸2 min,共35个循环;72 ℃总延伸6 min。取5 μL PCR扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳,紫外线投射仪下观察电泳条带,Image Pro Plus 6.0分析目的基因和参比基因的条带灰度值比值。

1.7 Western blot检测细胞内相关蛋白表达

将各组细胞转染48 h后,RIPA裂解液提取总蛋白,将蛋白样品加入SDS-PAGE凝胶加样孔进行电泳,使蛋白转移至PVDF膜,5%脱脂奶室温封闭2 h,TBST温和洗膜3 min后加入相对应的一抗,4 ℃孵育过夜,TBST洗涤10 min×3次,加入二抗,室温下孵育1 h,TBST洗涤10 min×3次,加入配制好的ECL发光液,避光孵育5 min,化学发光凝胶成像仪中采集图片信息,图片用Image pro plus 6.0软件进行灰度分析。每个实验结果独立重复3次。

1.8 靶基因预测及双荧光素酶报告基因分析

利用miRanda、TargetScan数据库预测了miR-92a的潜在靶基因,其中PTEN在miR-92a的3′UTR上有结合位点。将对数期细胞以2×10^5/孔的密度接种于24孔板,用Lipofectamine™ 2000将荧光素酶报告载体(PTEN-3′-UTR-WT或PTEN-3′UTR-MT)与miR-92a-mimics/inhibitor/NC共转染细胞,以Renilla荧光素酶质粒(100 ng/孔)为对照,与载体共转染。转染24 h后,用双荧光素酶报告分析系统(Promega)检测荧光素酶活性。

1.9 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件进行分析;计数资料以例(%)表示,采用χ^2检验,计量资料以$\bar{x}\pm s$表示,多组计量资料间的比较用单因素方差分析检验,组内两两比较用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

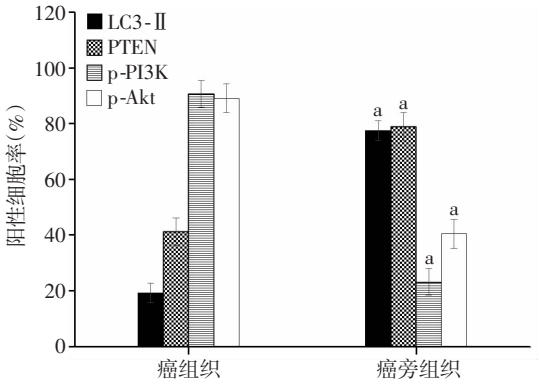
2 结果

2.1 病理组织内miR-92a的表达

癌组织内miR-92a的mRNA相对表达量为(0.89±0.07),癌旁肺组织内miR-92a的mRNA相对表达量为(0.25±0.01),显著低于NSCLC病理组织($P<0.001$)。

2.2 病理组织内PTEN、PI3K、p-Akt和LC3-Ⅱ蛋白表达

癌组织内p-PI3K、p-Akt阳性细胞率显著高于癌旁肺组织($P<0.001$),PTEN、LC3-Ⅱ阳性细胞率显著低于癌旁肺组织(图1、2)。



a:$P<0.05$,与癌组织比较

图1 免疫组化检测PTEN、p-PI3K、p-Akt和LC3-Ⅱ在癌组织和癌旁组织中的表达

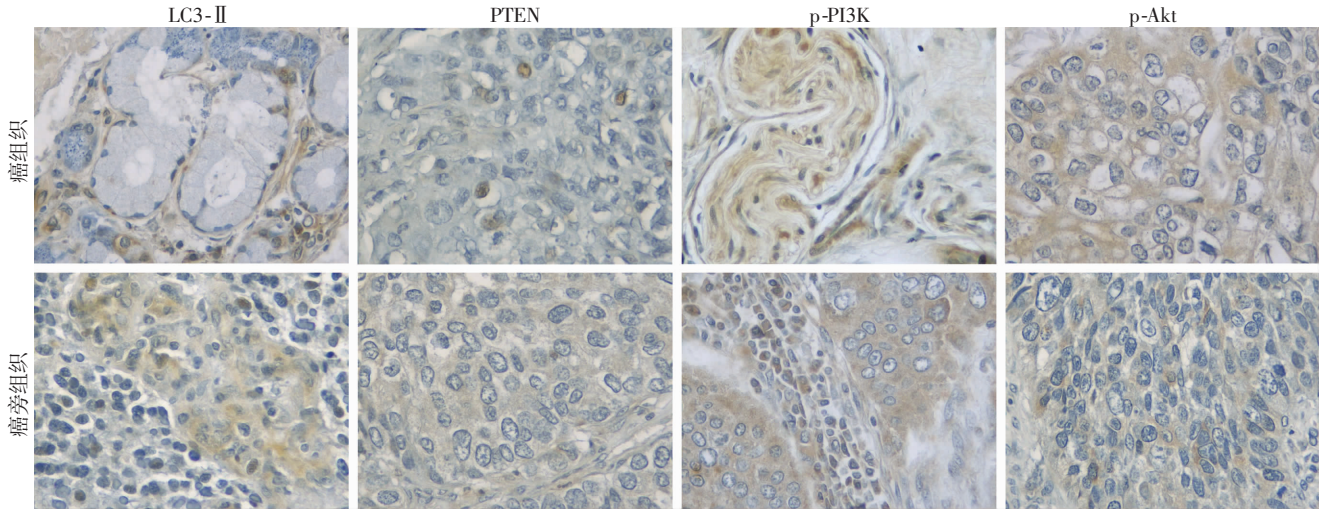


图 2 免疫组化检测 PTEN、p-PI3K、p-Akt 和 LC3-Ⅱ在癌组织和癌旁组织中的表达 (×400)

2.3 miR-92a、PTEN 和 LC3-Ⅱ与患者人口学基本信息及 NSCLC 临床病理特征相关性

以癌组织内 miR-92a 的平均表达量 0.89 为截点将癌组织分为 miR-92a 高表达组和 miR-92a 低表达组,结果显示,miR-92a 在不同性别、年龄中的表达差异无统计学意义,而在存在淋巴结转移、TNM Ⅲ~Ⅳ期及分化程度较低的病灶中,miR-92a 高表达者显著多于无淋巴结转移、TNM Ⅰ~Ⅱ期及分化程度较高的病灶。PTEN 和 LC3-Ⅱ在不同性别、年龄中的表达差异无统计学意义,在存在淋巴结转移、TNM Ⅲ~Ⅳ期及分化程度较低的病灶中,PTEN、LC3-Ⅱ高表达者显著少于无淋巴结转移、TNM Ⅰ~Ⅱ期及分化程度较高的病灶。见表 1。

2.4 各转染组细胞内自噬溶酶体的表达

吖啶橙染色使细胞中的酸性自噬泡发出红色荧光。结果显示,转染 miR-92a-mimics 的细胞内有荧光微弱,有少量酸性自噬泡的存在,miR-92a-NC 组细胞内荧光强度强于 miR-92a-mimics,而转染 miR-92a-inhibitor 的细胞内荧光强度最强。见图 3。

表 1 miR-92a、PTEN 和 LC3-Ⅱ与人口学基本信息及 NSCLC 临床病理相关性

参数	例数(n)	miR-92a		χ^2	P	PTEN		χ^2	P	LC3-Ⅱ		χ^2	P
		高表达	低表达			高表达	低表达			高表达	低表达		
性别													
男	46	31	15	0.057	0.960	8	38	1.931	0.243	10	36	0.219	0.973
女	7	5	2			0	7			1	6		
年龄													
<60 岁	30	20	10	0.010	1.023	3	27	0.728	0.415	8	22	0.142	0.622
≥60 岁	23	16	7			5	18			3	20		
淋巴结转移													
有	22	9	13	8.301	0.002	0	22	12.301	0.000	10	12	6.320	0.005
无	31	27	4			8	23			1	30		
TNM 分期													
Ⅰ~Ⅱ期	18	4	14	10.964	0.000	8	10	14.391	0.000	9	9	11.032	0.000
Ⅲ~Ⅳ期	35	32	3			0	35			2	33		
分化程度													
低分化	16	16	0	6.935	0.000	6	10	7.403	0.000	7	9	9.113	0.000
中高分化	37	20	17			2	35			4	33		

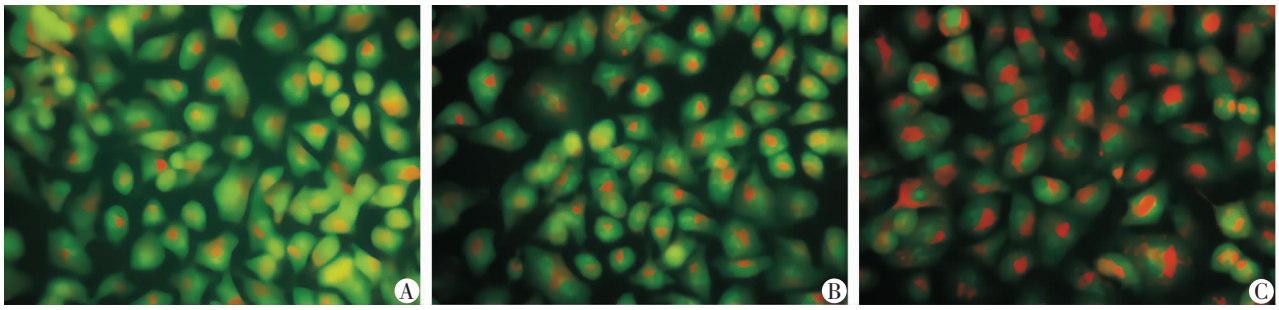


图 3　吖啶橙染色检测在 A549 细胞中分别共转染 miR-92a mimics(A)、miR-92a NC(B)、miR-92a inhibitor(C)后细胞的自噬　(×400)

2.5　miR-92a 靶基因预测

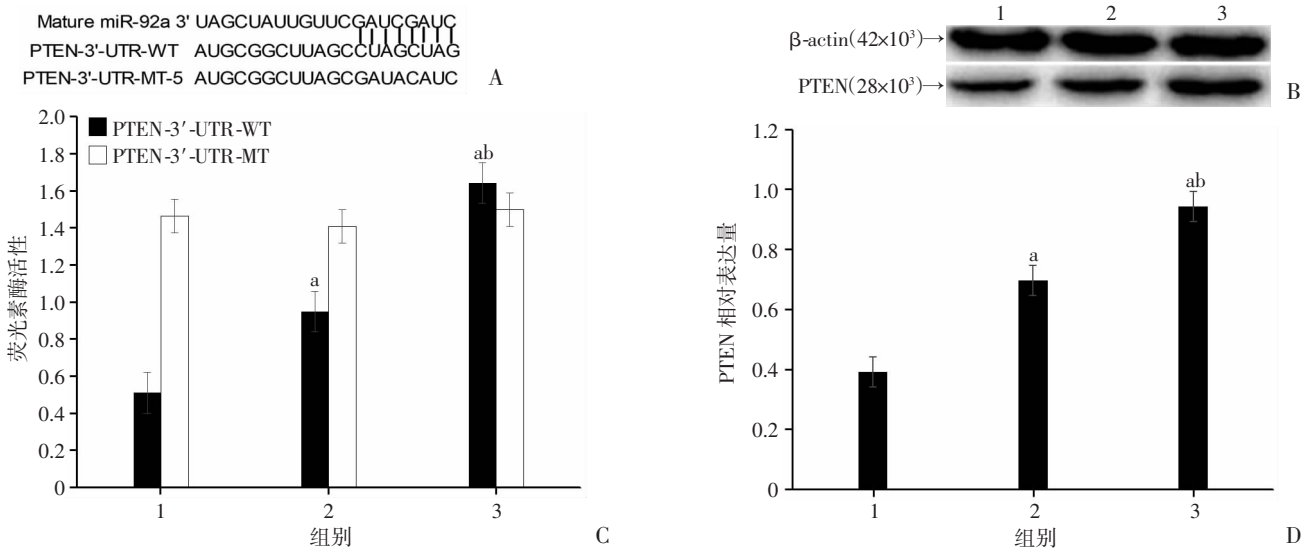
预测发现 miR-92a 与 PTEN 在 3′-UTR 区可能具有靶向调节关系,PTEN 为 miR-92a 的一个潜在作用靶点。双荧光素酶报告系统结果显示,miR-92a 能与 PTEN 基因 3′-UTR 结合,并抑制荧光素的表达,而在转染突变载体的细胞内没有观察到明显的荧光素酶活性改变,表明 PTEN 是 miR-92a 的直接靶向蛋白。转染了 miR-92a 类似物的细胞内 PTEN 的表达显著低于转染空白质粒组细胞($P<0.05$),而转染 miR-92a 抑制剂的细胞内 PTEN 的表达显著高于其他两组($P<0.05$,图 4)。

2.6　各转染组细胞内 p-PI3K、p-Akt、和 LC3-Ⅱ的蛋白表达

miR-92a-mimics 组细胞内 p-Akt、p-PI3K 蛋白表达显著高于其他两组($P<0.05$),LC3-Ⅱ蛋白表达显著弱于其他两组($P<0.05$),miR-92a-inhibitor 组细胞内 p-Akt、p-PI3K 蛋白表达显著弱于其他两组($P<0.05$),LC3-Ⅱ蛋白表达显著高于其他两组($P<0.05$,图 5)。

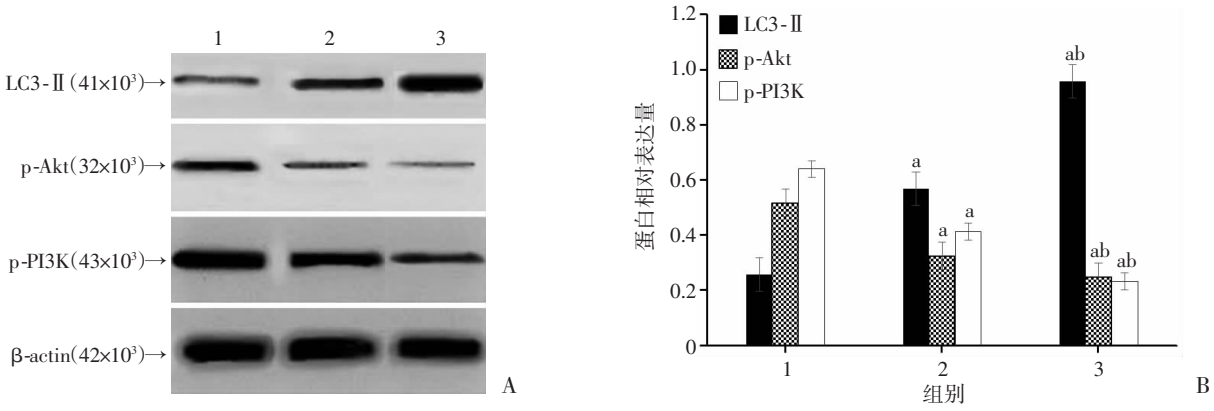
3　讨论

miR-92a 属于 miIR-17-92a 家族成员,作为癌基因或抑癌基因在多种恶性肿瘤的发生、发展中发挥作用。WANG 等[6]报道 miR-92a 在肝癌中发挥原癌基因的作用;CHEN 等[7]证实 miR-92a 在食管鳞癌中呈高表达。本研究发现,miR-92a 在癌组织内的表达显著高于正常肺组织,且在 TNM 分期较高、存在淋巴结转移、低分化的病理组织内呈现异常高表达,这一结果与 ZHU 等[9]的研究结果是一致的,提示 miR-92a 在 NSCLC 中可能作为癌基因发挥作用。



A:miRanda、TargetScan 数据库预测 miR-92a 的潜在靶基因;C:双荧光素酶报告基因实验检测在 A549 细胞中分别共转染 miR-92a mimics、miR-92a NC、miR-92a inhibitor 和 PTEN-3′-UTR-WT 及分别共转染 miR-92a mimics、miR-92a NC、miR-92a inhibitor 和 PTEN-3′-UTR-MT 后荧光素酶活性;B、D:Western blot 检测结果与半定量分析 1:miR-92a mimics 组;2:miR-92a NC 组;3:miR-92a inhibitor 组　a:$P<0.05$,与 miR-92a mimics 组相比;b:$P<0.05$,与 miR-92a NC 组相比

图 4　miR-92a 靶基因预测和双荧光素酶报告基因实验检测及 Western blot 检测结果



A: Western blot 检测结果;B:半定量分析 1:miR-92a mimics 组;2:miR-92a NC 组;3:miR-92a inhibitor 组;a: $P<0.05$,与 miR-92a mimics 组相比;b: $P<0.05$,与 miR-92a NC 组相比

图 5 Western blot 检测在 A549 细胞中分别共转染 miR-92a mimics、miR-92a NC、miR-92a inhibitor 后 p-PI3K、p-Akt 和 LC3-Ⅱ的蛋白表达

细胞自噬是细胞非选择性的降解,在肿瘤形成初期,自噬能阻止影响正常细胞的各种退行性过程,抑制肿瘤的发展[10-11]。ZHOU 等[12]证实 miR-92a 通过 FBXW7 调控胶质瘤细胞的自噬,但对 NSCLC 细胞的自噬是否有调控作用尚未可知。LC3-Ⅱ(Microtubule-associated protein 1A/1B light chain 3)蛋白位于自噬小体细胞质表面,是自噬小体形成的标志,也是自噬研究中常用的标志物[13]。本研究发现,癌组织内 LC3-Ⅱ表达低于正常组织,其在 TNM 分期较高、存在淋巴结转移、低分化的病理组织内呈现异常低表达,提示在 NSCLC 的发展过程中自噬小体生成减少,自噬活性降低,推动了癌症的进展。这与孙雨晴等[14]的研究结果基本一致。同时,体外实验证实,在 miR-92a 高表达的细胞内,自噬溶酶体数量很少,LC3-Ⅱ蛋白表达很弱,抑制 miR-92a 表达后,自噬溶酶体大量生成,LC3-Ⅱ蛋白表达显著增加,以上实验结果提示,miR-92a 可能是通过抑制肺癌细胞的自噬活性而发挥癌基因的作用。

为了进一步探讨 miR-92a 抑制肺癌细胞的自噬活性的可能的作用机制,本研究检测了其与第 10 号染色体缺失的磷酸酶和张力蛋白同源基因(PTEN)是否存在靶向关系。PTEN 是一种重要的抑癌基因,能通过负向调控 PI3K/Akt 信号通路活性而对肿瘤细胞的增殖、凋亡、自噬等生物学活性产生影响。ZHAO 等[15]报道吉非替尼能通过阻断该通路活性而诱导肺癌细胞的自噬和凋亡,从而起到抑制肿瘤的作用,另有研究证实[16-17],阻断该通路能促进肿瘤细胞自噬,而激活该通路能抑制肿瘤细胞的自噬。赵靓等[18]研究发现,miR-92a 能靶向 PTEN/Akt 信号通路对鼻咽癌细胞的增殖与凋亡产生影响,王秀等[19]报道 miR-92a 可能通过抑制直肠癌细胞 PTEN 的表达发挥促进结直肠癌血管新生,从而影响结肠癌患者的预后,本研究发现,miR-92a 在 NSCLC 细胞中,能靶向抑制 PTEN 的表达,继而上调 PI3K/Akt 通路活性,引发其下游活化蛋白表达的增加。

综上,miR-92a 在 NSCLC 中发挥癌基因的作用,可能与抑制 NSCLC 细胞的自噬有关,而这种抑制作用可能是通过靶向 PTEN,从而激活 PI3K/Akt 信号通路的活性而实现的。

参考文献:

[1] 田崇梅, 夏道宗, 邢梦雨, 等. 亚硒酸钠通过 Keap1/Nrf2/ARE 信号通路诱导人肺腺癌 A549 细胞凋亡[J]. 中国药理学通报, 2019, 35(2): 181-186. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2019.02.008.
TIAN C M, XIA D Z, XING M Y, *et al*. Sodium selenite induced human lung cancer A549 cells apoptosis through Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway[J]. Chin Pharmacol Bull, 2019, 35(2): 181-186. DOI:10.3969/j.issn.1001-1978.2019.02.008.

[2] LU H Y, CHANG Y J, FAN N C, *et al*. Synergism through combination of chemotherapy and oxidative stress-induced autophagy in A549 lung cancer cells using redox-responsive nanohybrids: a new strategy for cancer therapy[J]. Biomaterials, 2015, 42: 30-41. DOI: 10.1016/j.biomaterials.2014.11.029.

[3] LI Y J, LEI Y H, YAO N, *et al*. Autophagy and multidrug resistance in cancer[J]. Chin J Cancer, 2017, 36(1): 52. DOI:10.1186/s40880-017-0219-2.

[4] MINGARDI J, MUSAZZI L, DE PETRO G, *et al*. MiRNA editing: new insights into the fast control of gene expression in

health and disease[J]. Mol Neurobiol, 2018, 55(10): 7717-7727. DOI:10.1007/s12035-018-0951-x.

[5] LU T X, ROTHENBERG M E. MicroRNA[J]. J Allergy Clin Immunol, 2018, 141(4): 1202-1207. DOI:10.1016/j.jaci.2017.08.034.

[6] WANG L, WU J H, XIE C G. MiR-92a promotes hepatocellular carcinoma cells proliferation and invasion by FOXA2 targeting[J]. Iran J Basic Med Sci, 2017, 20(7): 783-790. DOI:10.22038/IJBMS.2017.9010.

[7] CHEN Z L, ZHAO X H, WANG J W, *et al*. MicroRNA-92a promotes lymph node metastasis of human esophageal squamous cell carcinoma via E-cadherin[J]. J Biol Chem, 2011, 286(12): 10725-10734. DOI:10.1074/jbc.M110.165654.

[8] ZHAO J, FU W F, LIAO H Y, *et al*. The regulatory and predictive functions of miR-17 and miR-92 families on cisplatin resistance of non-small cell lung cancer[J]. BMC Cancer, 2015, 15: 731. DOI:10.1186/s12885-015-1713-z.

[9] ZHU Q, ZANG Q, JIANG Z M. Enhanced expression of non coding miR 92a expression is implicated in the development of lung cancer[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(4): 1028-1034. DOI:10.26355/eurrev_201802_14385.

[10] MATTEONI S, ABBRUZZESE C, MATARRESE P, *et al*. The kinase inhibitor SI113 induces autophagy and synergizes with quinacrine in hindering the growth of human glioblastoma multiforme cells[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2019, 38(1): 202. DOI:10.1186/s13046-019-1212-1.

[11] MAITI P, PERUZZARO S, KOLLI N, *et al*. Transplantation of mesenchymal stem cells overexpressing interleukin-10 induces autophagy response and promotes neuroprotection in a rat model of TBI[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(8): 5211-5224. DOI:10.1111/jcmm.14396.

[12] ZHOU C Y, SHEN L F, MAO L, *et al*. MiR-92a is upregulated in cervical cancer and promotes cell proliferation and invasion by targeting FBXW7[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 458(1): 63-69. DOI:10.1016/j.bbrc.2015.01.066.

[13] RUNWAL G, STAMATAKOU E, SIDDIQI F H, *et al*. LC3-positive structures are prominent in autophagy-deficient cells[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 10147. DOI:10.1038/s41598-019-46657-z.

[14] 孙雨晴, 程朋朋, 於海洋, 等. 自噬相关蛋白及基因在非小细胞肺癌中的表达及其意义[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2019, 18(5): 447-451. DOI:10.7507/1671-6205.201811038.
SUN Y Q, CHENG P P, YU H Y, *et al*. Expression of autophagy-related proteins and genes in patients with non-small cell lung cancer[J]. Chin J Respir Crit Care Med, 2019, 18(5): 447-451. DOI:10.7507/1671-6205.201811038.

[15] ZHAO Z Q, YU Z Y, LI J, *et al*. Gefitinib induces lung cancer cell autophagy and apoptosis via blockade of the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Oncol Lett, 2016, 12(1): 63-68. DOI:10.3892/ol.2016.4606.

[16] DATTA K, SUMAN S, FORNACE A J Jr. Radiation persistently promoted oxidative stress, activated mTOR via PI3K/Akt, and downregulated autophagy pathway in mouse intestine[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2014, 57: 167-176. DOI:10.1016/j.biocel.2014.10.022.

[17] WANG C, ZHANG X, TENG Z P, *et al*. Downregulation of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in curcumin-induced autophagy in APP/PS1 double transgenic mice[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 740: 312-320. DOI:10.1016/j.ejphar.2014.06.051.

[18] 赵靓, 吴堂兵, 夏春军, 等. 微小RNA-92a靶向PTEN/Akt信号通路对鼻咽癌细胞增殖与凋亡的影响[J]. 临床肿瘤学杂志, 2017, 22(8): 673-677. DOI:CNKI:SUN:LCZL.0.2017-08-002.
ZHAO L, WU T B, XIA C J, *et al*. Effect of miR-92a targeting PTEN/Akt signaling pathway on proliferation and apoptosis of nasopharyngeal carcinoma cells[J]. Chin Clin Oncol, 2017, 22(8): 673-677. DOI:CNKI:SUN:LCZL.0.2017-08-002.

[19] 王秀, 杜冀晖, 黄虞, 等. miR-92a在结直肠癌中的表达及其对肿瘤血管生成的作用[J]. 中国肿瘤临床, 2016, 43(6): 223-227. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.2016.06.012.
WANG X, DU J H, HUANG Y, *et al*. Expression of miR-92a in colorectal cancer and its effect on tumor angiogenesis[J]. Chin J Clin Oncol, 2016, 43(6): 223-227. DOI:10.3969/j.issn.1000-8179.2016.06.012.

(**收稿**:2019-12-20;**修回**:2020-03-26)

(编辑 王 红)