

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.05.006

藻蓝蛋白对非小细胞肺癌细胞移植瘤生长的抑制 及促凋亡作用的机制研究 *

金 昊¹ 李福志² 张 强² 吴 斌² 宋晓波²

(1 锦州医科大学第四临床医院(盘锦辽油宝石花医院)心胸外科 辽宁 盘锦 124000;

2 锦州医科大学附属第三医院胸外科 辽宁 锦州 121000)

摘要 目的:探讨藻蓝蛋白对非小细胞肺癌细胞移植瘤生长的抑制及促凋亡作用的机制研究。**方法:**4-6 周龄 30 只无胸腺 BALB/c 裸鼠随机分为移植瘤组和藻蓝蛋白组。每 5 天用卡尺测量裸鼠肿瘤体积。通过 RT-PCR 检测裸鼠肿瘤中凋亡相关因子 MMP-2、MMP-9、Bcl-2、Bax 的 mRNA 表达。通过流式细胞术分析细胞周期。通过蛋白印迹分析 EMT 相关蛋白的表达。通过 ELISA 检测血浆细胞因子 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 TGF- β 的浓度。通过蛋白印迹分析 STAT3/NF- κ B 信号通路的表达。**结果:**第 13 天时,移植瘤组和藻蓝蛋白组肿瘤大小比较无差异($P>0.05$),第 18 天和第 25 天时,藻蓝蛋白组肿瘤体积较移植瘤组减小($P<0.05$)。藻蓝蛋白组 MMP-2、MMP-9 和 Bcl-2 的 mRNA 表达较移植瘤组降低($P<0.05$),藻蓝蛋白组 Bax mRNA 表达较移植瘤组升高($P<0.05$)。藻蓝蛋白组 G1 期占比较移植瘤组升高($P<0.05$),藻蓝蛋白组 G1 期占比较移植瘤组升高($P<0.05$),藻蓝蛋白组 S 期和 G2 期占比较移植瘤组降低($P<0.05$)。藻蓝蛋白组 N-钙粘蛋白和 VEGF 蛋白表达较移植瘤组降低($P<0.05$),藻蓝蛋白组 E-钙粘蛋白表达较移植瘤组升高($P<0.05$)。藻蓝蛋白组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 TGF- β 的浓度较移植瘤组降低($P<0.05$)。藻蓝蛋白组 p-STAT3、p-I κ B α 和 p-NF- κ B p65 蛋白表达较移植瘤组降低($P<0.05$)。**结论:**藻蓝蛋白通过调控 STAT3/NF- κ B 信号通路抑制炎症细胞因子的分泌和 EMT 发生,促进肿瘤细胞凋亡,抑制裸鼠体内移植瘤的生长。

关键词:藻蓝蛋白;NSCLC;移植瘤;细胞凋亡;STAT3/NF- κ B

中图分类号:R-33;R734.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)05-827-05

Study on the Mechanism of Phycocyanin on the Growth of Non-small Cell Lung Cancer Cell Xenografts and Its Pro-apoptotic Effect*

JIN Hao¹, LI Fu-zhi², ZHANG Qiang², WU Bir², SONG Xiao-bo²

(1 Department of Cardiothoracic Surgery, Fourth Clinical Hospital of Jinzhou Medical University (Panjin Liaoyou Baoshihua Hospital), Panjin, Liaoning, 124000, China; 2 Department of Thoracic Surgery, Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning, 121000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the mechanism of phycocyanin's inhibitory effect on the growth of non-small cell lung cancer cell transplanted tumors and the mechanism of promoting apoptosis. **Methods:** Thirty 4-6 weeks old athymic BALB/c nude mice were randomly divided into transplanted tumor group and phycocyanin group. The tumor volume of nude mice was measured with a caliper every 5 days. The mRNA expression of apoptosis-related factors MMP-2, MMP-9, Bcl-2 and Bax in nude mouse tumors was detected by RT-PCR. The cell cycle was analyzed by flow cytometry. The expression of EMT-related proteins was analyzed by Western blot. The plasma cytokines TNF- α , IL-6, IL-1 β and TGF- β concentrations were detected by ELISA. The expression of STAT3/NF- κ B signaling pathway was analyzed by Western blot. **Results:** On the 13th day, there was no difference in tumor size between the transplanted tumor group and the cyanobacterial protein group($P>0.05$). On the 18th and 25th days, the tumor volume of the phycocyanin group was smaller than that of the transplanted tumor group ($P<0.05$). The mRNA expression of MMP-2, MMP-9 and Bcl-2 in the phycocyanin group was lower than that in the transplanted tumor group($P<0.05$), and the expression of Bax mRNA in the phycocyanin group was higher than that in the transplanted tumor group ($P<0.05$). Phycocyanin group G1 stage accounted for a higher rate than transplanted tumor group ($P<0.05$), phycocyanin group G1 stage accounted for a higher rate than transplanted tumor group ($P<0.05$), phycocyanin group S stage and G2 stage accounted for more transplanted tumor group decreased ($P<0.05$). The expression of N-cadherin and VEGF protein in the phycocyanin group was lower than that in the transplanted tumor group ($P<0.05$), and the expression of E-cadherin in the phycocyanin group was higher than that in the transplanted tumor group ($P<0.05$). The concentrations of TNF- α , IL-6, IL-1 β and TGF- β in the phycocyanin group were lower than those in the transplanted tumor group($P<0.05$). The expression of p-STAT3, p-I κ B α and p-NF- κ B p65 protein in the phycocyanin group was lower than that in the xenograft group ($P<0.05$). **Conclusion:** Phycocyanin inhibits the secretion of in-

* 基金项目:辽宁省科学技术计划项目(201602208)

作者简介:金昊(1983-),男,本科,副主任医师,研究方向:肺癌、食管癌相关研究,电话:18342318305,E-mail:jinh30018@163.com

(收稿日期:2021-09-28 接受日期:2021-10-23)

flammatory cytokines and the occurrence of EMT by regulating the STAT3/NF- κ B signaling pathway, promotes tumor cell apoptosis, and inhibits the growth of transplanted tumors in nude mice.

Key words: Phycocyanin; NSCLC; Transplanted tumor; Apoptosis; STAT3/ NF- κ B

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R734.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)05-827-05

前言

肺癌是全球最常见的癌症,也是全球癌症相关死亡的主要原因,每年有 160 万人死亡^[1,2]。非小细胞肺癌(Non-small cell lung cancer, NSCLC)占有肺癌病例的 83%,大多数人已被诊断为晚期^[3,4]。近年来尽管肺癌治疗取得了巨大进步,但 5 年生存率仍然很低^[5,6]。因此,确定参与肺癌生长的新型调节剂至关重要。细胞因子和免疫介质通过自分泌和旁分泌机制促进肿瘤细胞存活和化学抗性^[7,8]。浸润的炎症细胞产生不同的细胞因子和趋化因子,以促进肿瘤细胞迁移和侵袭,并有助于炎症介导的转移^[9,10]。癌症相关细胞因子的数量经常先于非小细胞肺癌的发展,并促成了非小细胞肺癌的发展^[11,12]。鉴于 NF- κ B 和 STAT3(炎症和肿瘤发生的两个主要途径)的共同激活,针对它们或上游受体的小分子抑制剂值得研究用于联合治疗非小细胞肺癌^[13,14]。藻蓝蛋白是一种海洋天然提取物,已研究其对恶性实体瘤的抗癌作用^[15,16]。此外,藻蓝蛋白对癌细胞是一种毒素,而对正常细胞无毒^[17,18]。本研究旨在探讨藻蓝蛋白对非小细胞肺癌细胞移植瘤生长的抑制及促凋亡作用的机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验裸鼠 研究中使用的 30 只无胸腺 BALB/c 裸鼠(4-6 周龄)购自背景 Vital River 实验动物中心。将裸鼠饲养在专用房间内,12 h 暗/光循环,控制温度($22 \pm 1^\circ\text{C}$)和恒定湿度($55 \pm 5\%$),动物适应 1 周。所有动物实验均经医科大学动物护理和使用机构委员会批准,并按照指南和规定进行。

1.1.2 异种移植和藻蓝蛋白处理 在裸鼠右前肢皮下注射 A549 细胞悬液(1×10^5 个细胞,每只小鼠 0.1 mL)。将 30 只携带 A549 异种移植瘤的裸鼠随机分为两组:移植瘤组和藻蓝蛋白组。藻蓝蛋白(从钝顶螺旋藻中提取,纯度 $> 90\%$)标准物质购自 Envirologix(波特兰,美国)。根据说明书将藻蓝蛋白溶解在磷酸盐缓冲溶液(PBS)中。异种移植一周后,裸鼠腹腔注射(50 mg/kg/d)的藻蓝蛋白。麻醉处死裸鼠,裸鼠每 3~5 天用卡尺测量肿瘤体积,体积计算为 $V = \text{长度} \times \text{宽度}^2 \times 0.5326$ 。

1.1.3 实验分组 裸鼠随机分为移植瘤组(皮下注射 A549 细胞悬液建立肿瘤异种移植模型, $n=15$),藻蓝蛋白组(异种移植一周后注射 50 mg/kg/d 剂量的藻蓝蛋白, $n=15$)。

1.2 实验方法

1.2.1 RT-PCR 根据供应商的说明,使用组织/细胞总 RNA 分离试剂盒(天根生物科技有限公司,北京,中国)提取裸鼠肿瘤组织的总 RNA。通过 NanoDrop One 微体积分光光度计(美国马萨诸塞州赛默费希尔科学公司)在 A260/280 下对总 RNA 进行定量。总数根据制造商的方案,使用 cDNA 合成试剂盒(中国北京天根生物科技有限公司)将 RNA 可逆转录成互补

DNA(cDNA)。MJ PTC-200 PCR 系统(bio-rad,美国加利福尼亚州大力士)和 RT-PCR 试剂盒($2 \times$ Taq PCR Master Mix,艾德实验室生物技术有限公司,中国北京)根据制造商的说明使用用于目标基因的扩增。程序包括 94°C 预变性 4 min,1 个循环; 94°C 变性 30 s, $54\text{--}65^\circ\text{C}$ 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 30-40 个循环, 72°C 超延伸 5 min。通过在 1.5% 琼脂糖凝胶上运行 $10 \mu\text{L}$ RNA 来确认最终产品。本研究使用的靶基因的特定引物列于表。

1.2.2 细胞周期分析 根据制造商的说明使用流式细胞术分析细胞周期。通过以 700 rpm 离心 5 min 收集细胞(1×10^6)。将细胞用 PBS 洗涤两次,并在 4°C 下用冰冷的 70%乙醇固定过夜。细胞沉淀用 PBS 洗涤,重悬于 500 mL 含有 50 mg/mL 碘化丙啶、0.1 mg/mL RNase A 和 0.05% Triton X-100 的 PBS 中,并在 4°C 黑暗中孵育 15 min。使用流式细胞仪(密理博,波士顿,马萨诸塞州)确定细胞周期分布。该实验一式三份进行。

1.2.3 细胞因子的测量 使用 ELISA(美国加利福尼亚州圣何塞市生物科学)根据制造商提供的协议。使用 96 孔板光谱仪(spectramax 190;分子器件,美国桑尼维尔公司)读取 450 nm 处的吸光度,参考波长为 570 nm。根据协议中的说明,以对数-对数线性回归计算细胞因子的浓度。

1.2.4 蛋白质印迹 使用 RIPA 缓冲液从肿瘤提取总蛋白。使用 BCA 试剂盒(赛默飞世尔科技)确定蛋白质浓度。蛋白质通过 SDS-PAGE 分离,转移到 PVDF 膜上,用 5%脱脂干牛奶封闭 2 小时。将膜与在封闭溶液中稀释至合适浓度的一抗在 4°C 下孵育过夜。用 TBST 洗涤膜三次(每次 10 min),在室温下用二抗孵育 50 min,用 TBST 洗涤三次(每次 10 min)。使用增强型化学发光试剂(赛默飞世尔科技)和凝胶成像仪检测条带。使用 ImageJ 量化灰度值。 β -肌动蛋白用于标准化。使用以下抗体:小鼠抗 β -肌动蛋白(1:1000)、兔 N-钙粘蛋白(1:2000)、抗 E-钙粘蛋白(1:2,000),抗 VEGF(1:2,000),兔抗 p-STAT3 (Ser 473)(1:1000)、兔抗 p-I κ B α (I κ B α ; 1:2000)和兔抗 p-NF- κ B p65 (Tyr 458)(1:1000),均购自 Cell Signaling Technology;HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(1:8000)和山羊抗小鼠 IgG 抗体(1:3000)购自 Signalway Antibody。

1.3 统计分析

数值数据表示为平均值 $\pm$ 标准差。进行 t 检验以在不同组之间进行比较。 $P < 0.05$ 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 藻蓝蛋白抑制裸鼠皮下肿瘤生长

第 13 天时,移植瘤组和藻蓝蛋白组肿瘤大小比较无差异($P > 0.05$),第 18 天和第 25 天时,藻蓝蛋白组肿瘤体积较移植瘤组减小($P < 0.05$)。(表 1)。

表 1 裸鼠移植瘤体积大小测量(mm³)Table 1 Size measurements of transplanted tumors in nude mice(mm³)

Groups	13 d	18 d	25 d
Transplantation tumor group	313.44± 32.18	856.23± 77.25	1463.88± 115.27
Algal blue protein group	287.61± 33.52	544.16± 49.20	892.51± 85.30
t	1.329	10.552	11.494
P	0.618	<0.001	<0.001

2.2 RT-PCR 分析凋亡蛋白的 mRNA 表达

植瘤组降低($P<0.05$),藻蓝蛋白组 Bax mRNA 表达较移植瘤组

藻蓝蛋白组 MMP-2、MMP-9 和 Bcl-2 的 mRNA 表达较移 升高($P<0.05$)。(表 2)。

表 2 RT-PCR 分析凋亡蛋白的 mRNA 表达

Table 2 RT-PCR analysis of the mRNA expression of the apoptotic proteins

Groups	MMP-2	MMP-9	Bcl-2	Bax
Transplantation tumor group	1.93± 0.19	1.96± 0.20	1.97± 0.18	1.05± 0.03
Algal blue protein group	1.15± 0.11	1.08± 0.03	1.03± 0.02	1.95± 0.18
t	13.026	9.557	11.494	11.715
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 藻蓝蛋白对细胞增殖周期的影响

白组 G1 期占比较移植瘤组升高($P<0.05$),藻蓝蛋白组 S 期和

藻蓝蛋白组 G1 期占比较移植瘤组升高($P<0.05$),藻蓝蛋白组 G2 期占比较移植瘤组降低($P<0.05$)。(表 3)。

表 3 细胞增殖周期分析

Table 3 Analysis of the cell proliferation cycle

Groups	G1	S	G2
Transplantation tumor group	35.27± 5.44	52.81± 5.44	18.33± 2.85
Algal blue protein group	65.23± 9.35	31.26± 3.72	6.29± 1.43
t	10.522	9.415	13.443
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 蛋白印迹分析 EMT 相关蛋白的表达

低($P<0.05$),藻蓝蛋白组 E- 钙粘蛋白表达较移植瘤组升高

藻蓝蛋白组 N- 钙粘蛋白和 VEGF 蛋白表达较移植瘤组降 低($P<0.05$)。(表 4)。

表 4 细胞增殖周期分析

Table 4 Analysis of the cell proliferation cycle

Groups	N-cadherin	E-cadherin	VEGF
Transplantation tumor group	1.95± 0.13	1.08± 0.03	1.97± 0.18
Algal blue protein group	1.07± 0.04	1.94± 0.18	1.05± 0.03
t	11.402	9.717	13.458
P	<0.001	<0.001	<0.001

2.5 细胞因子检测

藻蓝蛋白组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 TGF- β 的浓度较移植瘤组降低($P<0.05$)。(表 5)。

2.6 藻蓝蛋白抑制 STAT3/NF- κ B 信号通路的激活

藻蓝蛋白组 p-STAT3、p-I κ B α 和 p-NF- κ B p65 蛋白表达较移植瘤组降低($P<0.05$)。(表 6)。

3 讨论

非小细胞肺癌是一种恶性程度高、侵袭性强的癌症,具有早期广泛转移和预后差的特点,在过去的 50 年中,NSCLC 的发病率和死亡率在全球范围内增加^[19,20]。藻蓝蛋白具有抗氧化功能、抗炎活性、抗癌功能、免疫增强功能、保护肝肾等药理作

用,因此,藻蓝蛋白作为一种潜在的药物具有重要的开发利用价值^[21,22]。本研究中,在裸鼠右前肢皮下注射 A549 细胞建立了肿瘤移植模型,并探讨了藻蓝蛋白裸鼠对体内肿瘤生长的作用

机制,结果显示:藻蓝蛋白干预后,小鼠非小细胞肺癌移植瘤体积显著减小,显示出较好的消瘤和治疗效果。

表 5 裸鼠细胞因子检测

Table 5 Detection of cytokines in nude mice

Groups	TNF- α (ng/L)	IL-6 (pg/L)	IL-1 β (ng/L)	TGF- β (ng/L)
Transplantation tumor group	72.13 $\pm$ 15.38	58.39 $\pm$ 10.25	765.44 $\pm$ 88.24	376.54 $\pm$ 54.26
Algal blue protein group	54.67 $\pm$ 9.54	36.27 $\pm$ 5.46	538.19 $\pm$ 53.05	186.32 $\pm$ 33.43
t	9.718	12.432	13.446	10.285
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 6 蛋白印迹分析 STAT3/NF- κ B 信号通路表达Table 6 Protein blot analysis of STAT3/NF- κ B signaling pathway expression

Groups	p-STAT3	p-I κ B α	p-NF- κ B p65
Transplantation tumor group	1.87 $\pm$ 0.14	1.95 $\pm$ 0.18	1.92 $\pm$ 0.14
Algal blue protein group	1.08 $\pm$ 0.03	1.05 $\pm$ 0.03	1.12 $\pm$ 0.10
t	10.527	13.132	9.547
P	<0.001	<0.001	<0.001

细胞凋亡,也称为程序性细胞死亡,是细胞生命中与细胞增殖的互补机制^[23]。研究表明藻蓝蛋白可激活线粒体/细胞色素 C(内源性)途径,改变 Bcl-2/Bax 比率和激活半胱天冬酶并诱导聚合酶-1 裂解^[24]。VEGF 属于一组主要由肿瘤细胞和细胞间质产生的内皮生长因子,可促进新血管的形成和发育^[25]。在本研究中,藻蓝蛋白可抑制移植瘤组织中 MMP-2、MMP-9 和 Bcl-2 的 mRNA 表达和 VEGF 蛋白表达较移植瘤组降低,可促进 Bax mRNA 表达,结合上述研究可知:藻蓝蛋白可能在非小细胞肺癌的细胞增殖、分化、凋亡以及新生血管的生成中起重要作用。另外,近年来有报道称细胞周期调节功能障碍与肿瘤的发生发展密切相关,因此,细胞周期的药物干预正成为肿瘤治疗的潜在途径^[26]。正常细胞周期是可控的,而肿瘤细胞周期不受控制可无限增殖,因此实现肿瘤细胞周期调控对其治疗至关重要^[27]。细胞周期检查点是许多抗癌药物最重要的靶点,通过阻断这些检查点进一步诱导肿瘤细胞凋亡。本研究通过流式细胞分析发现:藻蓝蛋白增加了肿瘤细胞 G1 期占比,而 S 期和 G2 期占比降低,表明藻蓝蛋白可通过延长非小细胞肺癌细胞的增殖周期从而一定程度抑制其增殖。

肿瘤微环境在致癌作用中起着重要作用,炎症常存在于肿瘤微环境中,由肿瘤、基质和浸润细胞产生的炎症介质诱导^[28]。这些因子调节组织重塑和血管生成,并通过自分泌和旁分泌机制积极促进肿瘤细胞迁移和侵袭。肿瘤微环境中的许多炎症介质将炎症与肿瘤进展联系起来。研究表明,TNF- α 和 IL-1 β 是慢性炎症启动所必需的,它们激活 NF- κ B 通路与肿瘤发展密切相关^[29]。IL-6 是参与炎症相关癌症的主要因素,强烈刺激 JAK 和 STAT3 的激活,并在肿瘤细胞的扩散和侵袭中发挥重要作用,另外其还可以与细胞因子(如 TGF- β)协同诱导 EMT,从而促进肿瘤增殖、运动和侵袭^[30]。JAK3/STAT3 信号传导在肿

瘤炎症和免疫中发挥双重作用,因为它将许多致癌途径与炎症途径密切相关。相关研究表明,阻断 JAK3/STAT3 信号不仅可以抑制肿瘤细胞的增殖,还可以减少肿瘤微环境中的炎症促进作用。IL-6 激活 STAT3 可防止癌细胞凋亡并通过上调增殖和抗凋亡因子促进恶性细胞增殖^[31]。NF- κ B 不仅激活与癌细胞增殖、侵袭和转移相关的基因,而且诱导炎症细胞因子和趋化因子的表达。NF- κ B 可以在多个层面与 STAT3 进行串扰,也是抗肿瘤治疗的关键靶分子。I κ B α 磷酸化是激活 NF- κ B 信号传导的关键步骤。本研究显示:藻蓝蛋白组 TNF- α 、IL-6、IL-1 β 和 TGF- β 的浓度以及 p-STAT3、p-I κ B α 和 p-NF- κ B p65 蛋白表达均较移植瘤组显著降低,结合上述研究^[30,31]分析:藻蓝蛋白可降低炎性细胞因子的分泌,尤其是 TNF- α 和 IL-6,并可抑制 STAT3、I κ B α 、NF- κ B p65 磷酸化,从而对肿瘤细胞的增殖和凋亡发挥调控作用。

综上所述,本研究表明,藻蓝蛋白通过调控 STAT3/NF- κ B 信号通路抑制炎性细胞因子的分泌和 EMT 发生,促进肿瘤细胞凋亡,抑制裸鼠体内移植瘤的生长。因此,藻蓝蛋白未来可能作为一种可安全有效治疗人类非小细胞肺癌的候选药物,本研究结果为藻蓝蛋白在抗 NSCLC 抗肿瘤治疗中的抗肿瘤特性提供了新的见解。

参考文献(References)

- [1] Hollstein PE, Eichner LJ, Brun SN, et al. The AMPK-Related Kinases SIK1 and SIK3 Mediate Key Tumor-Suppressive Effects of LKB1 in NSCLC[J]. Cancer Discov, 2019, 9(11): 1606-1627
- [2] 李昌盛,孙临奥,周雪峰,等. 胞质分裂作用因子 10 在肺癌诊断及预后中的意义[J]. 现代生物医学进展, 2021, 21(12): 2258-2262
- [3] Li JT, Yin M, Wang D, et al. BCAT2-mediated BCAA catabolism is critical for development of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Nat Cell Biol, 2020, 22(2): 167-174

- [4] Kim YH. Durvalumab after Chemoradiotherapy in Stage III Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*, 2019, 380(10): 989-990
- [5] Zhang X, Fan T, Li S, et al. C-Phycocyanin elicited antitumor efficacy via cell-cycle arrest, apoptosis induction, and invasion inhibition in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2019, 39(2): 114-121
- [6] Ruiz-Cordero R, Devine WP. Targeted Therapy and Checkpoint Immunotherapy in Lung Cancer[J]. *Surg Pathol Clin*, 2020, 13(1): 17-33
- [7] Yeung YT, Fan S, Lu B, et al. CELF2 suppresses non-small cell lung carcinoma growth by inhibiting the PREX2-PTEN interaction[J]. *Carcinogenesis*, 2020, 41(3): 377-389
- [8] 何亚运, 罗泊涛, 陆元志. 肿瘤微环境中免疫抑制性细胞和细胞因子在抗肿瘤免疫反应中的作用研究进展 [J]. *山东医药*, 2019, 059(006): 88-92
- [9] Tan Z, Cao F, Jia B, et al. Circ_0072088 promotes the development of non-small cell lung cancer via the miR-377-5p/NOVA2 axis[J]. *Thoracic Cancer*, 2020, 11(8): 2224-2236
- [10] Fu Y, Su L, Cai M, et al. Downregulation of CPA4 inhibits non small-cell lung cancer growth by suppressing the AKT/c-MYC pathway[J]. *Mol Carcinog*, 2019, 58(11): 2026-2039
- [11] Zhao J, Xue X, Fu W, et al. Epigenetic activation of FOXF1 confers cancer stem cell properties to cisplatin resistant non small cell lung cancer[J]. *Int J Oncol*, 2020, 56(5): 1083-1092
- [12] Kim DH, Kim H, Choi YJ, et al. Exosomal PD-L1 promotes tumor growth through immune escape in non-small cell lung cancer[J]. *Exp Mol Med*, 2019, 51(8): 1-13
- [13] Li L, Li W, Chen N, et al. FLI1 Exonic Circular RNAs as a Novel Oncogenic Driver to Promote Tumor Metastasis in Small Cell Lung Cancer[J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(4): 1302-1317
- [14] Ghergurovich JM, Esposito M, Chen Z, et al. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Is Not Essential for K-Ras-Driven Tumor Growth or Metastasis[J]. *Cancer Res*, 2020, 80(3): 3820-3829
- [15] Wen P, Hu TG, Wen Y, et al. Targeted delivery of phycocyanin for the prevention of colon cancer using electrospun fibers [J]. *Food Funct*, 2019, 10(4): 1816-1825
- [16] Braune S, Krüger-Genge A, Kammerer S, et al. Phycocyanin from *Arthrospira platensis* as Potential Anti-Cancer Drug: Review of In Vitro and In Vivo Studies[J]. *Life (Basel)*, 2021, 11(2): 91
- [17] Adli SA, Ali F, Azmi AS, et al. Development of Biodegradable Cosmetic Patch Using a Polylactic Acid/Phycocyanin-Alginate Composite[J]. *Polymers (Basel)*, 2020, 12(8): 1669
- [18] Xie Y, Li W, Zhu L, et al. Effects of phycocyanin in modulating the intestinal microbiota of mice [J]. *Microbiologyopen*, 2019, 8(9): e00825
- [19] Wang Y, Jiang T, Qin Z, et al. HER2 exon 20 insertions in non-small-cell lung cancer are sensitive to the irreversible pan-HER receptor tyrosine kinase inhibitor pyrotinib [J]. *Ann Oncol*, 2019, 30(3): 447-455
- [20] Hua Q, Mi B, Xu F, et al. Hypoxia-induced lncRNA-AC020978 promotes proliferation and glycolytic metabolism of non-small cell lung cancer by regulating PKM2/HIF-1 α axis [J]. *Theranostics*, 2020, 10(11): 4762-4778
- [21] Gao F, Li M, Liu W, et al. Inhibition of EGFR Signaling and Activation of Mitochondrial Apoptosis Contribute to Tanshinone IIA-Mediated Tumor Suppression in Non-Small Cell Lung Cancer Cells[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13(2): 2757-2769
- [22] Zhou ZW, Ambrogio C, Bera AK, et al. KRAS (Q61H) Preferentially Signals through MAPK in a RAF Dimer-Dependent Manner in Non-Small Cell Lung Cancer [J]. *Cancer Res*, 2020, 80(17): 3719-3731
- [23] Zhu Y, Li J, Bo H, et al. LINC00467 is up-regulated by TDG-mediated acetylation in non-small cell lung cancer and promotes tumor progression[J]. *Oncogene*, 2020, 39(38): 6071-6084
- [24] Guan Y, Yang J, Liu X, et al. Long noncoding RNA CBR3 antisense RNA 1 promotes the aggressive phenotypes of non small cell lung cancer by sponging microRNA 509 3p and competitively upregulating HDAC9 expression[J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(4): 1403-1414
- [25] 邢天容, 吕敬媛, 朴英兰, 等. 沙利度胺联合放疗对宫颈癌裸鼠移植瘤的 VEGF、bFGF、TNF- α 表达的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2020, 20(16): 3038-3042
- [26] 王迪, 吴传芳. RBM5 蛋白的 RNA 识别区在肿瘤细胞周期调控中作用的研究 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2019, 056(003): 531-536
- [27] 许永杰, 胡雨萌, 秦朝, 等. 钙周期素结合蛋白促进非小细胞肺癌增殖和侵袭[J]. *中华肿瘤杂志*, 2021, 43(09): 924-931
- [28] Wang L, Wu L, Pang J. Long noncoding RNA PSMA3 AS1 functions as a microRNA 409 3p sponge to promote the progression of non small cell lung carcinoma by targeting spindlin 1 [J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(4): 1550-1560
- [29] 王剑锋, 高磊, 周天, 等. 基质细胞在肿瘤微环境中作用的研究进展[J]. *癌症进展*, 2020, 18(14): 1417-1423
- [30] Zhao S, Ren S, Jiang T, et al. Low-Dose Apatinib Optimizes Tumor Microenvironment and Potentiates Antitumor Effect of PD-1/PD-L1 Blockade in Lung Cancer [J]. *Cancer Immunol Res*, 2019, 7(4): 630-643
- [31] Zhang X, Yang J, Bian Z, et al. Long noncoding RNA DANCER promotes nasopharyngeal carcinoma progression by interacting with STAT3, enhancing IL-6/JAK1/STAT3 signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 113: 108713