



扫码阅读电子版

# 矿物粉尘诱导基因对肺癌细胞顺铂敏感性的影响

汪庆 耿锋 周昊旻 陈业成 赵洪文

中国医科大学附属第一医院呼吸与危重症医学科, 沈阳 110001

通信作者: 赵洪文, Email:hwzhao2007@163.com

**【摘要】 目的** 探讨矿物粉尘诱导基因 (mdig) 对肺癌细胞顺铂 (DDP) 敏感性的影响。**方法** 运用实时荧光定量聚合酶链反应和蛋白质印迹法检测 A549 细胞和 DDP 耐药的 A549 细胞 (A549/DDP) 中 mdig mRNA 和蛋白的表达水平, 进一步分别沉默和过表达 A549 细胞中的 mdig, 然后采用 CCK-8 法检测经不同浓度 DDP 处理的各组细胞的增殖情况, 进而评价其对 DDP 的药物敏感性变化, 并计算 DDP 的半数抑制浓度 (IC<sub>50</sub>)。**结果** A549/DDP 细胞 mdig mRNA 和蛋白的表达分别明显高于 A549 细胞 ( $t = 4.8, 9.7, P$  值均  $< 0.01$ ), 而且 A549/DDP 细胞的 IC<sub>50</sub> 值明显高于 A549 细胞 [(93.8 ± 8.7) mg/L 比 (29.9 ± 1.4) mg/L,  $t = 12.6, P < 0.01$ ], 耐药系数为 3.14; A549 细胞 mdig 过表达后, 其 DDP 的 IC<sub>50</sub> 值明显增高 [LV-mdig 组比 Vector 组为 (176.9 ± 13.4) mg/L 比 (37.6 ± 2.0) mg/L,  $F = 309.0, P < 0.01$ ], 而 mdig 沉默后, 其 IC<sub>50</sub> 值明显降低 [LV-mdig RNAi 组比 LV-con 组为 (10.8 ± 1.4) mg/L 比 (26.7 ± 1.1) mg/L,  $F = 146.7, P < 0.01$ ]**结论** mdig 能够降低肺癌细胞对 DDP 的敏感性, 从而导致对 DDP 的耐药。

**【关键词】** 肺肿瘤; 顺铂; 抗药性; 肿瘤; 矿物粉尘诱导基因

基金项目: 国家自然科学基金 (81472194); 辽宁特聘教授项目 (辽教发 [2013] 204 号)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.09.002

## Effect of mineral dust-induced gene on the sensitivity of lung cancer cells to cisplatin

Wang Qing, Geng Feng, Zhou Haomin, Chen Yecheng, Zhao Hongwen

Department of Respiratory and Critical Care Medicine, the First Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: Zhao Hongwen, Email:hwzhao2007@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effect of mineral dust-induced gene (mdig) on the sensitivity of lung cancer cells to cisplatin (DDP). **Methods** The expression of mdig mRNA and protein in A549 and DDP-resistant A549 cells (A549/DDP) were detected by real-time quantitative PCR and Western blot, then the mdig was further silenced and over-expressed in A549 cells. The CCK-8 assay was used to detect the proliferation of cells treated with different concentrations of DDP, and then to evaluate the sensitivity changes of DDP to calculate the half inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) of DDP. **Results** The mRNA and protein expression of mdig in A549/DDP cells were significantly higher than those in A549 cells ( $t = 4.8, 9.7, both P < 0.01$ ), and the IC<sub>50</sub> value of cisplatin in A549/DDP cells was significantly higher than that in A549 cells [(93.8 ± 8.7) mg/L vs (29.9 ± 1.4) mg/L,  $t = 12.6, P < 0.01$ ], drug resistance coefficient was 3.14. Compared with the lentivirus control group, the IC<sub>50</sub> value of the mdig-overexpressing A549 cells (LV-mdig) was significantly increased [the LV-mdig group (176.9 ± 13.4) mg/L vs the Vector group (37.5 ± 2.0) mg/L,  $F = 309.0, P < 0.01$ ], while the IC<sub>50</sub> value of mdig-knockdown A549 cell group (LV-mdig RNAi) was significantly decreased [the LV-mdig RNAi group (10.8 ± 1.4) mg/L vs the LV-con group (26.7 ± 1.1) mg/L,  $F = 146.7, P < 0.01$ ]. **Conclusions** Mdig can reduce the sensitivity of lung cancer cells to cisplatin, resulting in resistance to DDP.

**【Key words】** Lung neoplasms; Cisplatin; Drug resistance, neoplas; Mineral dust-induced gene

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81472194); Project of Liaoning

Distinguished Professor[(2013)204]

DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2019.09.002

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一，是世界上癌症死亡的主要原因<sup>[1]</sup>。在最近的几十年里，肺癌发病率和病死率显著增加，并将在未来的几年中持续升高<sup>[2]</sup>。目前，以顺铂（cisplatin, DDP）为基础的联合化疗仍是晚期非小细胞癌（non-small cell lung cancer, NSCLC）的一线治疗方案，然而其效果往往欠佳，这主要由于在化疗过程中肿瘤细胞易对 DDP 等药物产生多药耐药所致（multidrug resistance, MDR）<sup>[3]</sup>。矿物粉尘诱导基因（mineral dust-induced gene, mdig），是 2005 年从煤矿工人的肺泡巨噬细胞中发现的新肺癌相关致癌基因，随后发现其与 myc 诱导核抗原 53（mina53）和核蛋白 52 是同一基因<sup>[4-6]</sup>。既往研究已经证明，mdig 是 c-myc 的下游靶基因，在肿瘤细胞的增殖、生长、分化、侵袭和迁移、以及基因组稳定性等方面起着重要的调节作用<sup>[4-5,7-9]</sup>。因此，mdig 被认为在肺癌的发生、发展过程中起重要作用。然而，mdig 与肺癌耐药之间的关系国内外未见报道。

本研究以 A549（肺腺癌细胞）和 A549/DDP（肺腺癌耐 DDP 细胞）为靶细胞，通过 mdig 沉默和过表达技术，探讨 mdig 对 A549 细胞 DDP 敏感性的影响，以阐明 mdig 在肺癌 DDP 耐药中的作用，从而为肺癌有效的靶向治疗提供一种新的治疗方法。

## 1 材料与方法

**1.1 细胞系与细胞培养** 选择人肺腺癌细胞系 A549 细胞和肺腺癌耐 DDP 细胞系 A549/DDP 细胞进行实验。A549 细胞购自中国科学院，A549/DDP 细胞购自北纳创联。将 A549 细胞在含有 10% 胎牛血清（美国 Hyclone 公司）的 RPMI-1640 培养基（美国 Hyclone 公司）中于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱（美国 Thermo Fisher Scientific 公司）的湿润环境中生长，将 A549/DDP 细胞在有 DDP 的培养基（终浓度 1 mg/L）中培养以维持其耐药性。

**1.2 肿瘤细胞的稳定转染** mdig 过表达的慢病毒载体（LV-mdig 组，GenBank accession NM\_032778）和相对应的慢病毒载体（Vector 组），mdig 沉默的慢病毒载体（LV-mdig RNAi 组，引物序列：5'-GGGTGATTTGTTGTACTTT-3'）

和相对应的慢病毒载体（LV-con 组，引物序列：5'-TTCTCCGAACGTGTCACGT-3'）均购自吉凯基因（上海吉凯基因化学技术有限公司）。将 2.5 ml（5 × 10<sup>4</sup> 个/ml）A549 细胞在转染前一天接种在 T 12.5 的培养瓶中（美国 Corning 公司），于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的条件下培养，待细胞融合度达到 30% ~ 50% 时，按照 A549 细胞的复染指数（MOI=50）进行病毒感染。16 h 后进行换液再孵育 48 h，随后在倒置荧光显微镜（德国 Zeiss GmbH 公司）下观察细胞的转染效率，并用 GFP 荧光模块鉴定的 GFP 阳性细胞的百分比表示。将稳定转染的细胞继续换液、传代及冻存，作为后续实验进行使用。

**1.3 细胞毒性试验** 采用 CCK-8 试剂盒（美国 MCE 公司）测定细胞毒性，具体实验步骤按照试剂盒说明书进行，即：取对数生长期的目的细胞，消化吹打后分别以每孔约 5 × 10<sup>3</sup> 个细胞数接种于 96 孔板上（100 μl/孔），用只加 RIPA 1640 培养基作为空白对照，每组设置 3 个复孔，培养 24 h，然后依次加入不同浓度的 DDP（美国 MCE 公司）孵育 24 h 后加入 CCK-8 溶液 10 μl/孔，再孵育 1~2 h 后用酶标仪（瑞士 Tecan infinite M200 PRO 公司）测定 450 nm 处的吸光度（optical density, OD）值，细胞活力 = （实验组平均 OD 值 - 空白对照组平均 OD 值） / （阴性对照组平均 OD 值 - 空白对照组平均 OD 值） × 100%，最后用 Graphpad Prism 7.0 软件计算各组细胞对 DDP 的半数抑制浓度（50% inhibition concentration, IC50）。每个实验至少重复 3 次。

**1.4 实时荧光定量聚合酶链式反应（quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR）** 采用 TRIzol 试剂（美国 Ambion 公司）提取各组目的细胞的总 RNA，参照 Takara 试剂盒说明书先反转录合成 cDNA，以 actin 基因为检测的内参照，实验所用的 PCR 引物由宝生物工程（大连）有限公司进行合成，引物序列如表 1 所示，设置 PCR 反应的条件为 95 °C 预变性 30 s，95 °C 5 s、60 °C 30 s，循环 40 次，95 °C 5 s、60 °C 1 min、95 °C 15 s 和 50 °C 30 s，然后采用实时荧光定量 PCR 仪（瑞士 Roch 公司）测定其循环阈值，最后

使用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算目的基因的相对比值<sup>[10]</sup>。

表 1 靶基因引物序列

基因	引物序列
mdig	上游序列: 5'-GCAACGATTCAGTTTCACCAACC-3'
	下游序列: 5'-ATGTACACATTCGAGCCAACCAAG-3'
actin	上游序列: 5'-CCTGGCACCCAGCCAAT-3'
	下游序列: 5'-GGGCCGACTCGTCATAC-3'

**1.5 蛋白质印迹法 (Western blot)** 各组目的细胞均用含有 10% PMSF 的 RIPA 裂解液在冰上提取细胞总蛋白, 然后用 BCA 蛋白定量试剂盒进行蛋白浓度的测定, 采用 SDS-PAGE 凝胶电泳分离总蛋白 (30  $\mu$ g), 转膜 90 min, 脱脂牛奶室温阻滯 2 h, TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min, 然后按一定的比例孵育如下—抗: 抗- $\alpha$ -tubulin (美国 Santa Cruz 公司), 和抗-GAPDH (美国 Cell Signaling Technology 公司), 4 $^{\circ}$ C 过夜后, TBST 洗膜 3 次, 每次 15 min, 孵育辣根过氧化物酶结合的二抗 2 h (抗兔 IgG, 中山金桥公司; 抗鼠 IgG, 中山金桥公司), ECL 发光显影 (美国 Bio-Rad 公司), Image J 软件分析目的基因与 GAPDH 的灰度值百分比。每个实验至少重复 3 次以上。

**1.6 统计学分析** 本次实验的结果均以  $\bar{x} \pm s$  的形式表示, 两组间比较采用  $t$  检验, 三组间比较采用单因素方差分析。所有的统计分析均采用 Graphpad Prism 7.0 软件,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 构建 mdig 沉默和过表达 A549 细胞** 采用倒置荧光显微镜分别在明场视野  $\times 100$ , 同一个视野的 GFP 荧光场  $\times 100$ 、 $\times 400$  进行拍照, 可见细胞状态良好, 转染效率较高 (达到 90% 以上) (图 1、2), 并用 qRT-PCR 和 Western blot 加以验证。结果显示: 较 A549 组和 LV-con 组相比, LV-mdig RNAi 组显著降低了 A549 细胞中 mdig mRNA 和蛋白的表达水平 ( $F = 27.8$ 、 $19.4$ ,  $P$  值均  $< 0.01$ ), 见图 3、4; 而较 A549 组和 Vector 组相比, LV-mdig 组明显增加了 A549 细胞中 mdig mRNA 和蛋白的表达水平 ( $F = 42.0$ 、 $124.8$ ,  $P$  值均  $< 0.01$ ), 见图 5、6。

**2.2 mdig 在 A549 和 A549/DDP 细胞中的基础表达** 为了探讨 mdig 与肿瘤细胞铂类耐药之间的关系, 本研究首先检测了 A549 和 A549/DDP 细胞中 mdig 的基础表达。qRT-PCR 和 Western blot 结果显示, A549/DDP 细胞中 mdig mRNA 和蛋白表达均明显高于 A549 细胞 ( $t = 4.8$ 、 $9.7$ ,  $P$  值均  $< 0.01$ ), 表明 mdig 可能与肺癌细胞 DDP 耐药有关 (图 7、8)。

**2.3 mdig 抑制 A549 细胞对 DDP 的敏感性** 为了进一步探讨 mdig 对肺癌细胞 DDP 敏感性的影响, 本研究首先检测了 A549 细胞和 A549/DDP 细胞对 DDP 的 IC<sub>50</sub>。结果发现: A549/DDP 细胞的 IC<sub>50</sub> 明显高于 A549 细胞 [ $(93.8 \pm 8.7)$  mg/L 比

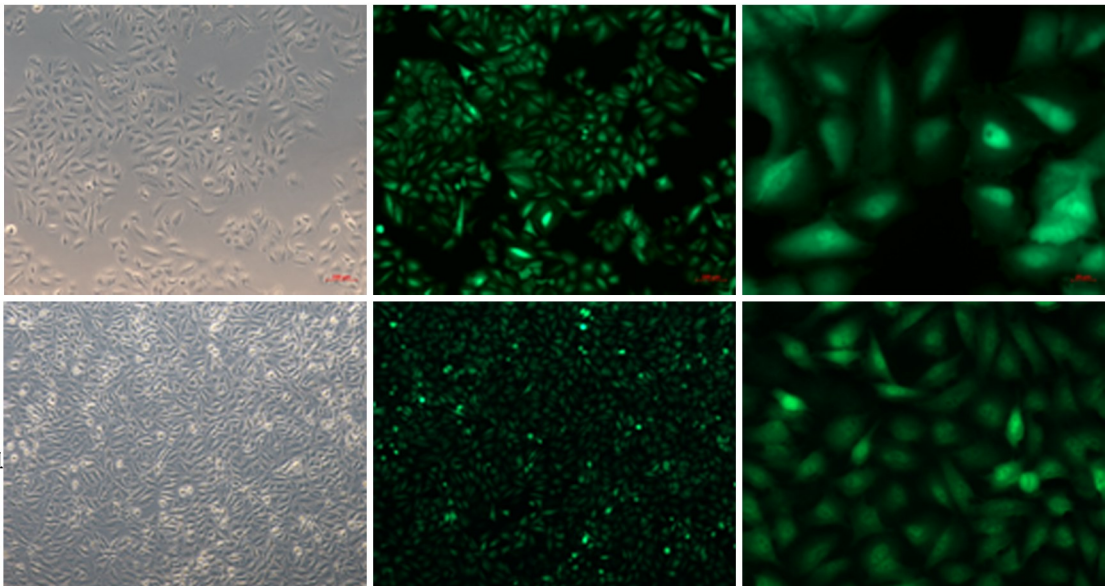
明场视野  $\times 100$

荧光视野  $\times 100$

荧光视野  $\times 400$

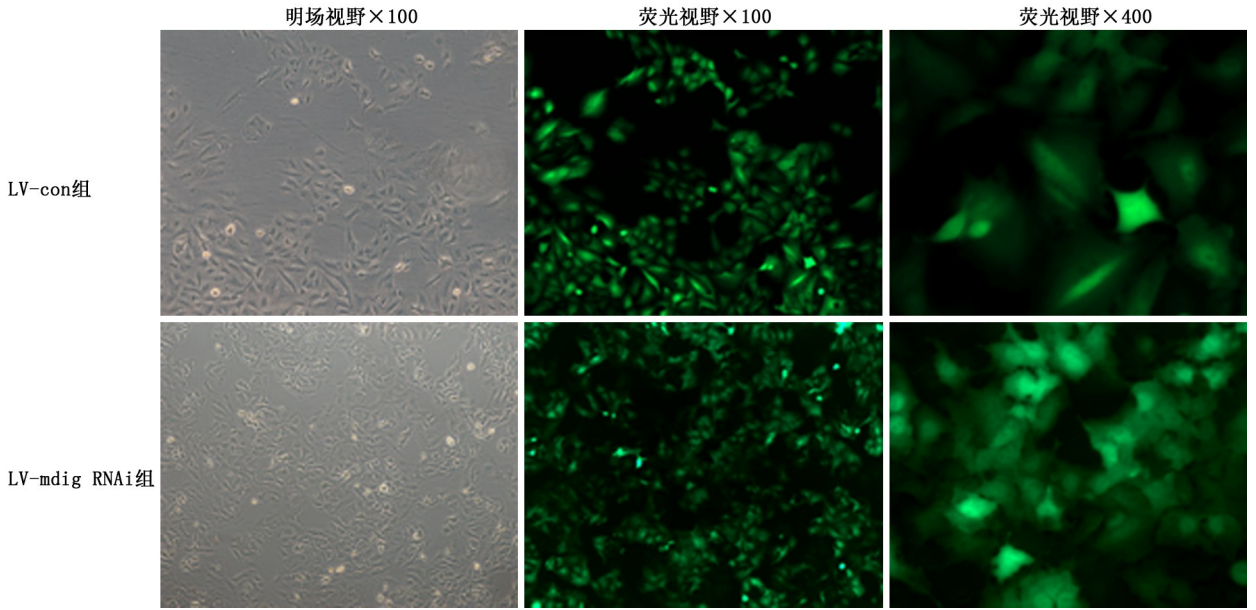
LV-con 组

LV-mdig RNAi 组



注: mdig 为矿物粉尘诱导基因

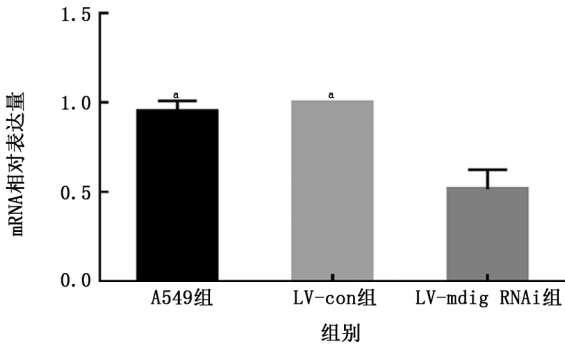
图 1 倒置荧光显微镜下 A549 细胞 mdig 沉默转染效率和细胞形态



注：mdig 为矿物粉尘诱导基因

图 2 倒置荧光显微镜下 A549 细胞 mdig 过表达转染效率和细胞形态

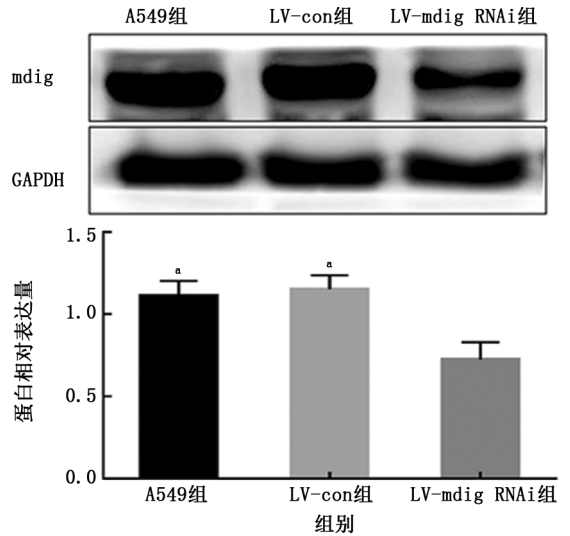
( $29.9 \pm 1.4$ ) mg/L,  $t = 12.6$ ,  $P < 0.01$ ], 其耐药系数为 3.14 (图 9)。



注：mdig 为矿物粉尘诱导基因；与 LV-mdig RNAi 组比较,  $^a P < 0.01$

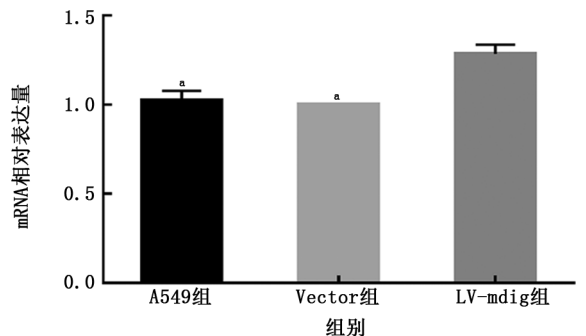
图 3 实时荧光定量 PCR 检测每组细胞 mdig mRNA 的表达

考虑到 DDP 耐药株 A549/DDP 细胞中 mdig 表达高于 A549 细胞, 我们进一步分别过表达和沉默 A549 细胞中 mdig 后, 再测定过表达和沉默 mdig 后的 A549 细胞对 DDP 的 IC<sub>50</sub>, 结果发现: A549 细胞 mdig 过表达后其 IC<sub>50</sub> 值明显增高 [LV-mdig 组 IC<sub>50</sub> 值为 ( $176.9 \pm 13.4$ ) mg/L, A549 组 IC<sub>50</sub> 值为 ( $29.9 \pm 1.4$ ) mg/L, Vector 组 IC<sub>50</sub> 值为 ( $37.6 \pm 1.98$ ) mg/L,  $F = 309.0$ ,  $P < 0.01$ ] (图 10), 而 A549 细胞 mdig 沉默后其 IC<sub>50</sub> 值则明显降低 [LV-mdig-RNAi 组 IC<sub>50</sub> 值为 ( $10.8 \pm 1.4$ ) mg/L, A549 组 IC<sub>50</sub> 值为 ( $29.9 \pm 1.4$ ) mg/L, LV-con 组 IC<sub>50</sub> 值为 ( $26.7 \pm 1.1$ ) mg/L,  $F = 146.7$ ,  $P < 0.01$ ] (图 11)。



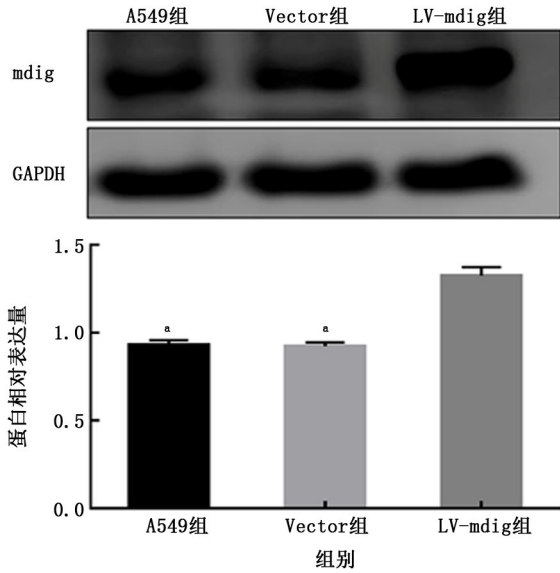
注：mdig 为矿物粉尘诱导基因；GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶；与 LV-mdig RNAi 组比较,  $^a P < 0.01$

图 4 蛋白质印迹法检测每组细胞 mdig 蛋白的表达



注：mdig 为矿物粉尘诱导基因；与 LV-mdig 组比较,  $^a P < 0.01$

图 5 实时荧光定量 PCR 检测每组细胞 mdig mRNA 的表达



注：mdig 为矿物粉尘诱导基因；与 LV-mdig 组比较，<sup>a</sup> $P < 0.01$

图 6 蛋白质印迹法检测每组细胞 mdig 蛋白的表达

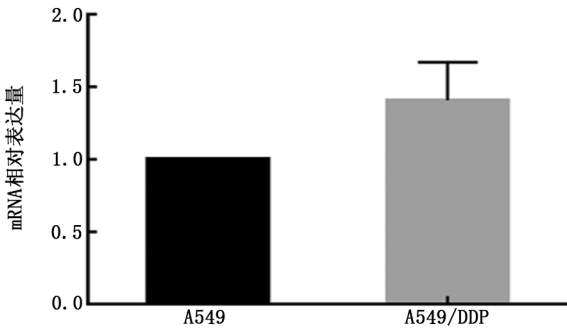
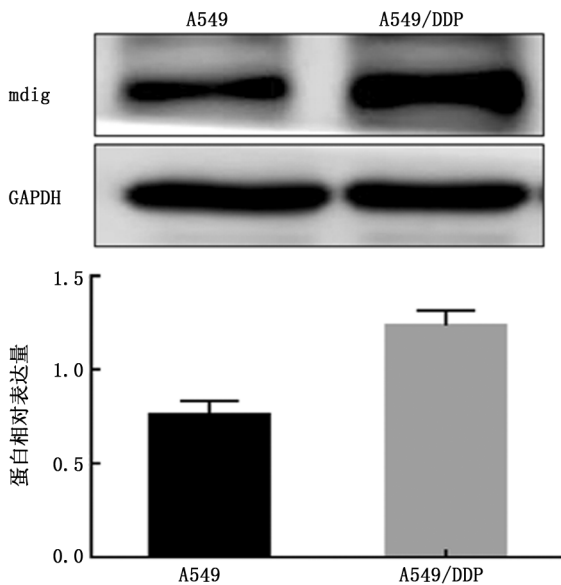
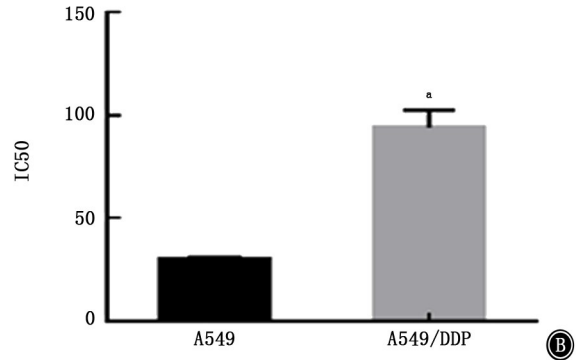
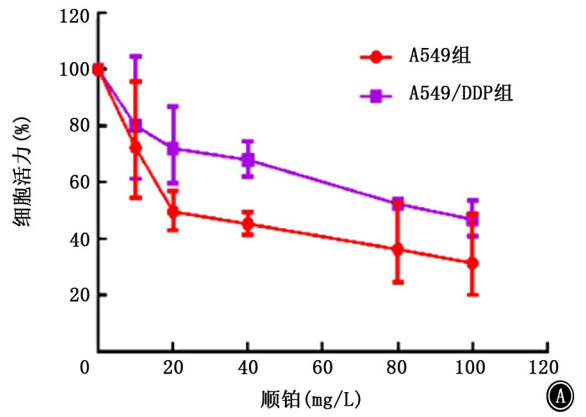


图 7 实时荧光定量 PCR 检测 2 种细胞系中矿物粉尘诱导基因 mRNA 的表达



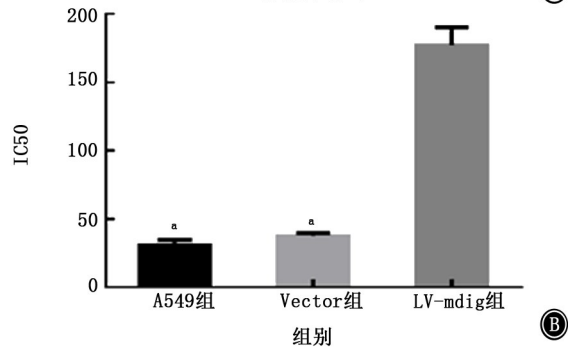
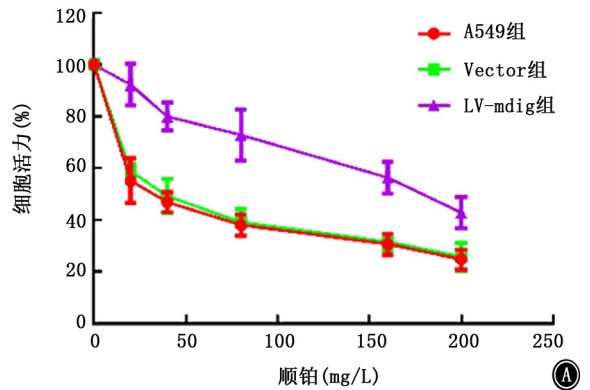
注：mdig 为矿物粉尘诱导基因；GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶

图 8 蛋白质检测法检测 2 种细胞系中 mdig 蛋白的表达



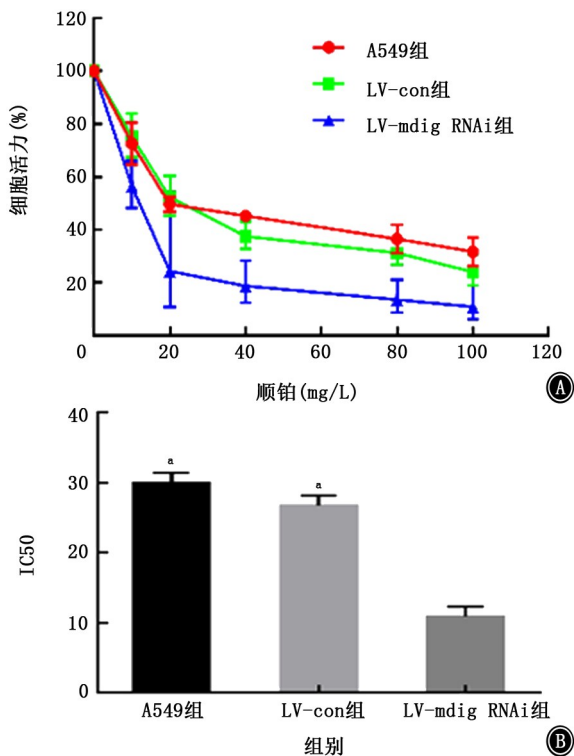
注：IC<sub>50</sub> 为半数抑制浓度

图 9 CCK-8 法检测经不同浓度的顺铂处理 48 h 后的 A549 和 A549/DDP 细胞 A：细胞活力；B：顺铂的 IC<sub>50</sub> 值



注：mdig 为矿物粉尘诱导基因；IC<sub>50</sub> 为半数抑制浓度；与 LV-mdig 组比较，<sup>a</sup> $P < 0.01$

图 10 CCK-8 法检测 mdig 过表达的 A549 细胞 A：细胞活力；B：顺铂的 IC<sub>50</sub> 值



注：mdig为矿物粉尘诱导基因；IC50为半数抑制浓度；与LV-mdig RNAi组比较,\*P<0.01

图 11 CCK-8法检测 mdig 沉默的 A549 细胞 A：细胞活力；B：顺铂的 IC50 值

### 3 讨论

肺癌是全球癌症相关死亡的主要原因，NSCLC 占有肺癌病例的 85%。肺腺癌是 NSCLC 中的一个主要类型，约占 NSCLC 的 40% 左右，其发病率近几年来逐渐升高，Ⅲ B/Ⅳ 期 NSCLC 的总体 5 年生存率为 1%~5%。大约 70% 的 NSCLC 患者被确诊时已经伴有局部转移，只能通过化疗来延长患者的生命和提高其生活质量<sup>[11-15]</sup>。DDP 是晚期肺癌患者最重要的化疗药物之一，属于一线用药，然而随着肺癌对 DDP 的耐药性越来越突出，使得 DDP 治疗效果差强人意，这是导致肺癌化疗失败的主要原因。MDR 的产生是多基因参与的复杂过程，但目前包括 DDP 在内的化疗药物的 MDR 机制仍未完全阐明，所以迫切需要寻找新的耐药相关基因。

mdig 是肺癌相关的一个原癌基因，其在肺癌组织和大多数肺癌细胞系中高度表达，但在正常肺组织中不表达<sup>[4]</sup>。目前的研究已经证实，mdig 除了肺癌以外，在多种肿瘤中高度表达，如乳腺癌、结肠癌、肝癌、肾细胞癌、神经细胞瘤等<sup>[16-21]</sup>，而且在肿瘤进展中具有不同的生物学作用，包括调控肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移、分化和基因组稳定性

等<sup>[4-5,7-9]</sup>，但是，关于 mdig 与肿瘤耐药是否有关鲜见报道，目前仅有 Huo 等<sup>[22]</sup>于 2017 年报道过 mdig 与体外肝细胞对索拉非尼的耐药有关，他们发现 mdig 沉默后能显著增加 Huh7 细胞（人肝癌细胞）和 MHCC-97H 细胞（人高转移潜能肝癌细胞）对索拉非尼的敏感性，具体的耐药机制未进一步探讨，而肺癌和其他肿瘤细胞中关于 mdig 和 DDP 敏感性之间的关系国内外尚未见报道。

为了研究 mdig 与肺癌细胞 DDP 耐药的关系，本研究发现，相比于肺腺癌 A549 细胞，肺腺癌耐 DDP 细胞 A549/DDP 中 mdig mRNA 和蛋白的表达均增加，提示 mdig 可能与肺癌 DDP 耐药相关。为了进一步探讨 mdig 对肺癌细胞 DDP 敏感性的影响，首先检测 A549 和 A549/DDP 细胞对 DDP 的 IC50，结果显示 A549/DDP 细胞的 IC50 明显高于 A549 细胞，表明 A549/DDP 细胞对 DDP 的敏感性低于 A549 细胞。在此基础上，进一步分别过表达（LV-mdig 组）和沉默（LV-mdig RNAi 组）A549 细胞中 mdig 后，再测定各组目的细胞对 DDP IC50，结果显示：A549 细胞中 mdig 过表达后其 IC50 值明显增高，而 A549 细胞中 mdig 沉默后其 IC50 值则明显降低，表明 mdig 过表达能够抑制肺腺癌 A549 细胞对 DDP 的敏感性，而 mdig 沉默能增加 A549 细胞对 DDP 的敏感性。这些结果提示 mdig 通过降低肺癌细胞对 DDP 的敏感性，从而导致对 DDP 的耐药。然而，其具体的耐药机制及调控通路尚需进一步探讨。

总之，本研究发现肺癌细胞 mdig 的表达与肺癌细胞 DDP 耐药有关，这可能将为进一步研究肺癌细胞的耐药机制提供实验依据，并为肺癌耐药相关基因的治疗提供一个新靶点，具有重要的临床意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] de Groot P, Munden RF. Lung cancer epidemiology, risk factors, and prevention [J]. Radiol Clin North Am, 2012, 50 (5):863-876. DOI:10.1016/j.rcl.2012.06.006.
- [2] Ma D, Guo D, Li W, et al. Mdig, a lung cancer-associated gene, regulates cell cycle progression through p27KIP1 [J]. Tumour Biol, 2015, 36(9):6909-6917. DOI:10.1007/s13277-015-3397-z.
- [3] Lu HY, Wang XJ, Mao WM. Targeted therapies in small cell lung cancer [J]. Oncol Lett, 2013, 5(1):3-11. DOI:10.3892/ol.2012.79.
- [4] Zhang Y, Lu Y, Yuan BZ, et al. The Human mineral dust-induced gene, mdig, is a cell growth regulating gene associated

- with lung cancer [J]. *Oncogene*, 2005, 24 (31): 4873-4882. DOI:10.1038/sj.onc.1208668.
- [5] Tsuneoka M, Koda Y, Soejima M, et al. A novel myc target gene, mina53, that is involved in cell proliferation [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277 (38): 35450-35459. DOI: 10.1074/jbc.M204458200.
- [6] Eilbracht J, Kneissel S, Hofmann A, et al. Protein NO52—a constitutive nucleolar component sharing high sequence homologies to protein NO66 [J]. *Eur J Cell Biol*, 2005, 84 (2-3): 279-294. DOI:10.1016/j.ejcb.2004.12.022.
- [7] Yu M, Sun J, Thakur C, et al. Paradoxical roles of mineral dust induced gene on cell proliferation and migration/invasion [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (2): e87998. DOI: 10.1371/journal.pone.0087998.
- [8] Thakur C, Wolfarth M, Sun J, et al. Oncoprotein mdig contributes to silica-induced pulmonary fibrosis by altering balance between Th17 and Treg T cells [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(6):3722-3736. DOI:10.18632/oncotarget.2914.
- [9] Chen B, Yu M, Chang Q, et al. Mdig de-represses H19 large intergenic non-coding RNA (lincRNA) by down-regulating H3K9me3 and heterochromatin [J]. *Oncotarget*, 2013, 4(9): 1427-1437. DOI:10.18632/oncotarget.1155.
- [10] Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method [J]. *Methods*, 2001, 25 (4): 402-408. DOI:10.1006/meth.2001.1262.
- [11] 周文文, 尹端端, 薛雷, 等. 尼妥珠单抗联合顺铂对人肺腺癌 A549 细胞的体外实验 [J]. *河北医科大学学报*, 2016, 37(9): 1080-1083. DOI:10.3969/j.issn.1007-3205.2016.09.022.
- [12] Molina JR, Yang P, Cassivi SD, et al. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship [J]. *Mayo Clin Proc*, 2008, 83 (5): 584-594. DOI: 10.4065/83.5.584.
- [13] Zhou C. Lung cancer molecular epidemiology in China: recent trends [J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2014, 3 (5): 270-279. DOI:10.3978/j.issn.2218-6751.2014.09.01.
- [14] Reck M, Heigener DF, Mok T, et al. Management of non-small-cell lung cancer: recent developments [J]. *Lancet*, 2013, 382(9893): 709-719. DOI:10.1016/S0140-6736(13)61502-0.
- [15] Yoh K, Ishii G, Yokose T, et al. Breast cancer resistance protein impacts clinical outcome in platinum-based chemotherapy for advanced non-small cell lung cancer [J]. *Clin Cancer Res*, 2004, 10 (5): 1691-1697. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-0937-3.
- [16] Lu Y, Chang Q, Zhang Y, et al. Lung cancer-associated JmjC domain protein mdig suppresses formation of tri-methyl lysine 9 of histone H3 [J]. *Cell Cycle*, 2009, 8 (13): 2101-2109. DOI:10.4161/cc.8.13.8927.
- [17] Thakur C, Lu Y, Sun J, et al. Increased expression of mdig predicts poorer survival of the breast cancer patients [J]. *Gene*, 2014, 535(2): 218-224. DOI:10.1016/j.gene.2013.11.031.
- [18] Teye K, Tsuneoka M, Arima N, et al. Increased expression of a Myc target gene Mina53 in human colon cancer [J]. *Am J Pathol*, 2004, 164 (1): 205-216. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63111-2.
- [19] Ogasawara S, Komuta M, Nakashima O, et al. Accelerated expression of a Myc target gene Mina53 in aggressive hepatocellular carcinoma [J]. *Hepato Res*, 2010, 40(4): 330-336. DOI:10.1111/j.1872-034X.2009.00604.x.
- [20] Ishizaki H, Yano H, Tsuneoka M, et al. Overexpression of the myc target gene Mina53 in advanced renal cell carcinoma [J]. *Pathol Int*, 2007, 57 (10): 672-680. DOI: 10.1111/j.1440-1827.2007.02156.x.
- [21] Fukahori S, Yano H, Tsuneoka M, et al. Immunohistochemical expressions of Cap43 and Mina53 proteins in neuroblastoma [J]. *J Pediatr Surg*, 2007, 42(11): 1831-1840. DOI:10.1016/j.jpedsurg.2007.07.008.
- [22] Huo Q, Ge C, Tian H, et al. Dysfunction of IKZF1/MYC/MDIG axis contributes to liver cancer progression through regulating H3K9me3/p21 activity [J]. *Cell Death Dis*, 2017, 8 (5): e2766. DOI:10.1038/cddis.2017.165.

(收稿日期: 2018-11-22)