

凤尾草提取物通过调控 lncRNA PGM5-AS1 抑制肝癌细胞增殖、迁移、侵袭

金 浩^{1,2}, 余 佳³, 王梓瑜^{1,2}, 乔 鸥^{1,2}, 王 军^{1,2}, 韩 江^{1,2}, 李兆连^{1,2*}
(1. 云南省第一人民医院普通外科, 云南 昆明 650032; 2. 昆明理工大学附属医院普通外科, 云南 昆明 650032; 3. 武汉大学人民医院肝胆外科, 湖北 武汉 430060)

摘要: **目的** 探讨凤尾草提取物通过调控 lncRNA PGM5-AS1 抑制肝癌细胞增殖、迁移、侵袭。**方法** 凤尾草提取物 (20、40、80 μg/mL) 处理肝癌细胞 HCC9204 48 h, 将 si-NC、si-PGM5-AS1 分别转染至细胞 HCC9204 中再用 20 μg/mL 凤尾草提取物处理 48 h。Western blot 检测 Cyclin D1、p21、E-cadherin、MMP-2 蛋白表达; MTT 检测细胞存活率; Transwell 检测细胞迁移和侵袭; RT-PCR 检测 PGM5-AS1 表达。**结果** 凤尾草提取物 (20、40、80 μg/mL) 抑制肝癌细胞 HCC9204 中 Cyclin D1、MMP-2 表达, 促进 p21、E-cadherin 表达, 降低细胞存活率, 降低细胞迁移和侵袭数量, 促进 PGM5-AS1 表达 ($P<0.05$)。过表达 PGM5-AS1 抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭。抑制 PGM5-AS1 逆转了凤尾草提取物对细胞 HCC9204 增殖、迁移和侵袭的抑制作用。**结论** 凤尾草提取物可能通过上调 PGM5-AS1 抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭。

关键词: 凤尾草提取物; lncRNA PGM5-AS1; 肝癌; 增殖; 迁移; 侵袭

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1528(2020)11-2903-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2020.11.014

Inhibitory effect of *Pteris multifida* extract on the proliferation, migration and invasion of liver cancer cells via lncRNA PGM5-AS1 regulation

JIN Hao^{1,2}, YU Jia³, WANG Zi-yu^{1,2}, QIAO Ou^{1,2}, WANG Jun^{1,2}, HAN Jiang^{1,2}, LI Zhao-lian^{1,2*}
(1. Department of General Surgery, the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China; 2. Department of General Surgery, the Hospital Affiliated to Kunming University of Science and Technology, Kunming 650032, China; 3. Department of Hepatobiliary Surgery, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the inhibitory effects of *Pteris multifida* Poir. extract inhibits the proliferation, migration and invasion of liver cancer cells via lncRNA PGM5-AS1 regulation. **METHODS** HCC9204 cells exposed to 48 h *P. multifida* extract (20, 40, 80 μg/mL) were transfected si-NC and si-PGM5-AS1 respectively, and then treated with 20 μg/mL *P. multifida* extract for 48 h. The HCC9204 cells had detection of the expressions of Cyclin D1, p21, E-cadherin, MMP-2 by Western blot; detection of cell viability by MTT assay; detection of cell migration and invasion by Transwell; detection of the expression of PGM5-AS1 by RT-PCR. **RESULTS** To HCC9204 cells, *P. multifida* extract (20, 40, 80 μg/mL) inhibited the expression of Cyclin D1 and MMP-2, promoted the expression of p21 and E-cadherin, reduced cell survival rate, reduced cell migration and invasion, and promoted PGM5-AS1 expression ($P<0.05$). Overexpression of PGM5-AS1 inhibited proliferation, migration and invasion of liver cancer cells. Inhibition of PGM5-AS1 reversed the inhibitory effect of *P. multifida* extract on proliferation, migration and invasion of HCC9204 cells. **CONCLUSION** *P. multifida* extract can inhibit the

收稿日期: 2020-01-06
基金项目: 2016 年云南省教育厅科学研究指导性项目 (2016ZDX014)
作者简介: 金 浩 (1986—), 男, 博士, 主治医师, 从事肝癌的临床治疗与基础研究。Tel: 13888296183, E-mail: haobiy31928@126.com
* 通信作者: 李兆连 (1985—), 男, 硕士, 主治医师, 从事肝癌的综合治疗研究。Tel: 13678782930, E-mail: 258437055@qq.com

proliferation, migration and invasion of hepatocarcinoma cells by up-regulating *PGM5-AS1*.

KEY WORDS: *Pteris multifida* Poir extract; lncRNA *PGM5-AS1*; liver cancer; proliferation; migration; invasion

肝癌是常见的恶性肿瘤，近年来研究发现中药可以通过抑制癌细胞增殖、诱导癌细胞凋亡、以及逆转肝癌细胞耐药性和增强机体免疫力等方面阻止肝癌的进展，为肝癌的治疗提供了新思路^[1-2]。凤尾草是一种传统的药用植物，其有效活性成分包括黄酮类、萜类、苯丙素类、挥发油等化合物，具有抗菌、抗氧化、抗肿瘤的作用^[3]。研究报道凤尾草总黄酮可抑制人脑胶质瘤 U251 细胞的迁移能力^[4]。凤尾草总黄酮可抑制宫颈癌 U14 细胞的生长，其是通过提高机体免疫功能发挥抗肿瘤的作用^[5]。凤尾草提取物在体外对肝癌细胞株 BLE-7402、小鼠黑色素瘤细胞株 B16-BL6、人白血病细胞株 HL-60 细胞增殖均有抑制作用^[6]。研究表明 lncRNA 参与肿瘤的转移发生过程，可作为新型肿瘤标志物^[7]。磷酸葡萄糖变位酶 5 反义 RNA1 (phosphoglucosutase 5 antisense RNA1, PGM5-AS1) 是一种新发现的 lncRNA，研究发现 PGM5-AS1 在肺癌中下调表达，通过抑制细胞增殖发挥抑癌功能^[8]。PGM5-AS1 与黑色素瘤的发生和转移显著相关^[9]。PGM5-AS1 与亚洲人食管鳞癌患者生存相关，可能参与食管鳞癌的形成与进展^[10]。然而凤尾草提取物和 PGM5-AS1 对肝癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响还尚不清楚。本实验旨在研究凤尾草提取物和 PGM5-AS1 对肝癌细胞增殖、迁移、侵袭的影响以及凤尾草提取物是否通过调控 PGM5-AS1 起作用。

1 材料

1.1 细胞与试剂 肝癌细胞株 HCC9204 (货号 8691, 美国 ATCC 公司); 胎牛血清 (货号 10270-106)、DMEM 培养基 (货号 11965-175) (上海高创化学科技有限公司); RIPA 蛋白裂解液 (货号 BB-3201, 上海贝博生物科技有限公司); BCA 试剂盒 (货号 ZKP0746, 深圳子科生物科技有限公司); MTT 试剂盒 (货号 8028, 美国 Sciencell 公司); Transwell 小室 (货号 354480)、Matrigel (货号 354234) (美国 BD 公司); 总 RNA 提取试剂盒 (货号 17200, 艾美捷科技有限公司); 反转录试剂盒 (货号 6210 A, 北京百奥创新科技有限公司); 荧光定量试剂盒 (货号 DRR420 A, 北京智杰方远科技有限公司)。

1.2 药材 凤尾草购自亳州市源升堂药业有限公司

(批号 201800329)，经云南中医药大学中药学院浦仕彪教授鉴定为正品。

2 方法

2.1 凤尾草提取物的制备 将凤尾草干燥后粉碎，用 10 倍量 70% 的乙醇浸泡 30 min，回流提取 3 次，每次 1 h，合并 3 次滤液，去渣后浓缩成浸膏，再用乙酸乙酯反复超声提取，得到提取物的浓缩部分，过滤除菌后 4 ℃ 备用，提取率约为 21.6%。

2.2 细胞培养与分组 肝癌细胞株 HCC9204 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基培养，取对数生长期细胞 HCC9204，分别用 0、20、40、80 μg/mL 凤尾草提取物处理记为不同浓度凤尾草提取物处理组；将 pcDNA、pcDNA-PGM5-AS1 分别转染至细胞 HCC9204 中，分别记为 pcDNA 组、pcDNA-PGM5-AS1 组；将 si-NC、si-PGM5-AS1 分别转染至细胞 HCC9204 中再用 20 μg/mL 凤尾草提取物处理记为 20 μg/mL 凤尾草+si-NC 组、20 μg/mL 凤尾草+si-PGM5-AS1 组。

2.3 Western blot 检测 Cyclin D1、p21、E-cadherin、MMP2 蛋白表达 收集各组培养 48 h 的细胞，提取细胞总蛋白，用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度，然后将蛋白样品变性后进行电泳，再转至 PVDF 上，封闭后加入一抗 4 ℃ 孵育过夜，洗膜后加入二抗室温孵育 2 h，然后再用 ECL 发光液显影，成像后检测蛋白条带灰度值，以 GAPDH 为内参计算蛋白相对表达。

2.4 MTT 检测细胞存活率 收集各组培养 48 h 的细胞，按照试剂盒说明操作，酶标仪检测 490 nm 各孔吸光度值 (OD)。以实验组和空白组的 OD 值比值作为细胞存活率 (%)。

2.5 Transwell 检测细胞迁移和侵袭 细胞用无血清培养基培养 12 h，制成细胞悬液。细胞迁移实验：Transwell 上室和下室分别加入 200 μL 细胞悬液和 DMEM 含血清的培养液，培养 48 h 后用多聚甲醛固定细胞，再用结晶紫染色细胞，显微镜观察并计算。细胞侵袭实验：将培养基稀释后的 Matrigel 平铺 Transwell 上室，干燥凝固后，同迁移实验操作。

2.6 RT-PCR 检测 PGM5-AS1 表达 收集各组培养 48 h 的细胞，提取细胞总 RNA，反转录成 cDNA，按照试剂盒使用说明进行 PCR，以 GAPDH 为内

参, 引物序列 *PGM5-AS1* 正向 5'-GGGCGGCT-GAAGAAAAGAAGAATG-3', 反向 5'-TCAACA-GACGGCTTCAGTGGTTG-3'; *GAPDH* 正向 5'-GGGCTCTCTGCTCCTCCCTGT-3', 反向 5'-ACGGC-CAAATCCGTTACACAC-3'; *GAPDH* 正向 5'-GGGCTCTCTGCTCCTCCCTGT-3', 反向 5'-ACGGC-CAAATCCGTTACACAC-3'。反应结束后, 相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

2.7 统计学分析 采用 SPSS 20.00 进行统计学分析。计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示, 两组比较行 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 不同浓度的凤尾草提取物对 HCC9204 细胞增殖的影响 与 0 $\mu\text{g/mL}$ 凤尾草提取物相比, 凤尾草提取物 (20、40、80 $\mu\text{g/mL}$) 处理的 HCC9204 细胞中 Cyclin D1 表达降低, p21 表达升高, 细胞存活率降低 ($P<0.05$), 见图 1、表 1。

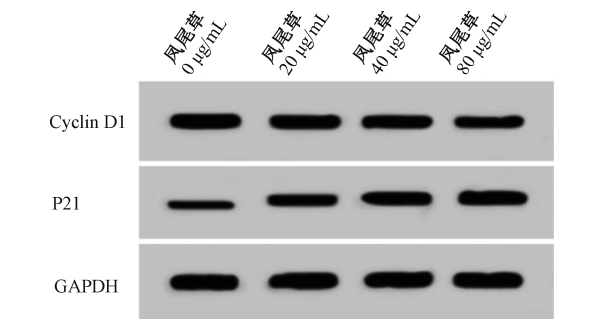


图 1 不同质量浓度凤尾草提取物对 HCC9204 细胞增殖蛋白表达的影响

Fig.1 Effects of different concentrations of *P. multifida* extract on proliferating protein expression of HCC9204 cells

表 2 不同质量浓度的凤尾草提取物对 HCC9204 细胞迁移、侵袭的影响 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

Tab.2 Effects of different concentrations of *P. multifida* extract on migration and invasion of HCC9204 cells ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	E-cadherin	MMP-2	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个
凤尾草提取物 0 $\mu\text{g/mL}$	0.23±0.02	0.85±0.08	252.00±26.12	135.00±13.61
凤尾草提取物 20 $\mu\text{g/mL}$	0.36±0.04 *	0.66±0.06 *	176.00±18.26 *	99.00±10.34 *
凤尾草提取物 40 $\mu\text{g/mL}$	0.61±0.06 *	0.37±0.04 *	119.00±12.21 *	65.00±6.60 *
凤尾草提取物 80 $\mu\text{g/mL}$	0.77±0.08 *	0.23±0.02 *	94.00±9.27 *	50.00±5.11 *

注:与凤尾草提取物 0 $\mu\text{g/mL}$ 组比较, * $P<0.05$ 。

尾草提取物 (20、40、80 $\mu\text{g/mL}$) 处理的 HCC9204 细胞中 *PGM5-AS1* 表达升高 ($P<0.05$), 见表 3。

3.4 过表达 *PGM5-AS1* 对 HCC920 细胞 4 增殖、迁移、侵袭的影响 与 pcDNA3.1 组比较, pcDNA3.1-*PGM5-AS1* 组 HCC9204 细胞中 *PGM5-AS1* 表

表 1 不同质量浓度凤尾草提取物对 HCC9204 细胞增殖的影响 ($\bar{x}\pm s, n=9$)

Tab.1 Effects of different concentrations of *P. multifida* extract on proliferation of HCC9204 cells ($\bar{x}\pm s, n=9$)

组别	Cyclin D1	p21	存活率/%
凤尾草提取物 0 $\mu\text{g/mL}$	0.81±0.08	0.11±0.01	100.08±10.11
凤尾草提取物 20 $\mu\text{g/mL}$	0.64±0.06 *	0.27±0.03 *	76.58±7.72 *
凤尾草提取物 40 $\mu\text{g/mL}$	0.36±0.04 *	0.53±0.05 *	54.30±5.29 *
凤尾草提取物 80 $\mu\text{g/mL}$	0.26±0.03 *	0.63±0.06 *	32.27±3.33 *

注:与凤尾草提取物 0 $\mu\text{g/mL}$ 组比较, * $P<0.05$ 。

3.2 不同浓度的凤尾草提取物对 HCC9204 细胞迁移、侵袭的影响 与 0 $\mu\text{g/mL}$ 凤尾草提取物比较, 凤尾草提取物 (20、40、80 $\mu\text{g/mL}$) 处理的 HCC9204 细胞中 E-cadherin 表达升高, MMP-2 表达降低, 细胞迁移、侵袭数降低 ($P<0.05$), 见图 2、表 2。

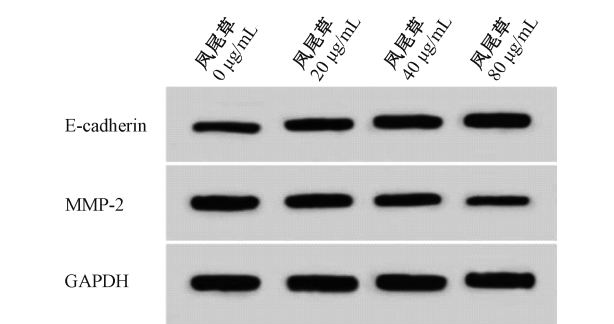


图 2 不同质量浓度的凤尾草提取物对 HCC9204 细胞迁移、侵袭蛋白表达的影响

Fig.2 Effects of different concentrations of *P. multifida* extract on migration and invasive protein expression of HCC9204 cells

3.3 凤尾草提取物对细胞 HCC9204 中 *PGM5-AS1* 表达的影响 与 0 $\mu\text{g/mL}$ 凤尾草提取物比较, 凤

达升高, Cyclin D1、MMP-2 表达降低, p21、E-cadherin 表达升高, 细胞存活率和迁移、侵袭数量降低 ($P<0.05$), 见图 3、表 4。

3.5 抑制 *PGM5-AS1* 能逆转凤尾草提取物对 HCC9204 细胞增殖的作用 与 20 $\mu\text{g/mL}$ 凤尾草+si-NC 组比较, 20 $\mu\text{g/mL}$ 凤尾草+si-*PGM5-AS1* 组

细胞 HCC9204 中 *PGM5-AS1* 表达降低, Cyclin D1 表达升高, p21 表达降低, 细胞存活率升高 ($P<0.05$), 见图 4、表 5。

表 3 凤尾草提取物对 HCC9204 细胞中 *PGM5-AS1* 表达的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	<i>PGM5-AS1</i>
凤尾草提取物 0 $\mu\text{g/mL}$	1.01 $\pm$ 0.10
凤尾草提取物 20 $\mu\text{g/mL}$	1.37 $\pm$ 0.14*
凤尾草提取物 40 $\mu\text{g/mL}$	1.69 $\pm$ 0.17*
凤尾草提取物 80 $\mu\text{g/mL}$	1.96 $\pm$ 0.20*

注:与凤尾草提取物 0 $\mu\text{g/mL}$ 组比较, * $P<0.05$ 。

3.6 抑制 *PGM5-AS1* 能逆转凤尾草提取物对 HCC9204 细胞迁移、侵袭的作用 与 20 $\mu\text{g/mL}$ 凤尾草+si-NC 组相比, 20 $\mu\text{g/mL}$ 凤尾草+si-*PGM5-AS1* 组 HCC9204 细胞中 E-cadherin 表达降低, MMP-2 表达升高, 细胞迁移、侵袭数量升高 ($P<0.05$), 见图 5、表 6。

表 4 过表达 *PGM5-AS1* 对 HCC9204 细胞增殖、迁移、侵袭的影响 ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

Tab. 4 Effects of *PGM5-AS1* overexpression on proliferation, migration and invasion of HCC9204 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	<i>PGM5-AS1</i>	Cyclin D1	p21	E-cadherin	MMP-2	存活率/%	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个
pcDNA3.1	1.01 $\pm$ 0.10	0.80 $\pm$ 0.08	0.13 $\pm$ 0.01	0.24 $\pm$ 0.02	0.82 $\pm$ 0.08	100.26 $\pm$ 10.19	249.00 $\pm$ 25.50	137.00 $\pm$ 13.29
pcDNA3.1- <i>PGM5-AS1</i>	1.88 $\pm$ 0.19*	0.30 $\pm$ 0.03*	0.64 $\pm$ 0.06*	0.74 $\pm$ 0.07*	0.26 $\pm$ 0.03*	41.31 $\pm$ 4.26*	104.00 $\pm$ 10.36*	56.00 $\pm$ 5.63*

注:与 pcDNA3.1 组比较, * $P<0.05$ 。

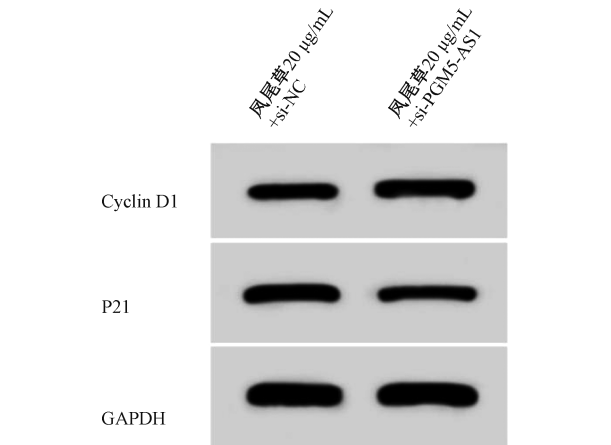


图 4 凤尾草提取物对 HCC9204 细胞增殖蛋白表达的逆转作用

Fig. 4 Reversed effect of *P. multifida* extract on proliferation protein expression of HCC9204 cells

表 5 凤尾草提取物对 HCC9204 细胞增殖的逆转作用 ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

Tab. 5 Reversed effect of *P. multifida* extract on proliferation of HCC9204 cells ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	<i>PGM5-AS1</i>	Cyclin D1	p21	存活率/%
凤尾草 20 $\mu\text{g/mL}$ +si-NC	1.00 $\pm$ 0.10	0.34 $\pm$ 0.03	0.54 $\pm$ 0.05	54.62 $\pm$ 5.53
凤尾草 20 $\mu\text{g/mL}$ +si- <i>PGM5-AS1</i>	0.41 $\pm$ 0.04*	0.67 $\pm$ 0.07*	0.24 $\pm$ 0.02*	83.12 $\pm$ 8.22*

注:与凤尾草 20 $\mu\text{g/mL}$ +si-NC 组比较, * $P<0.05$ 。

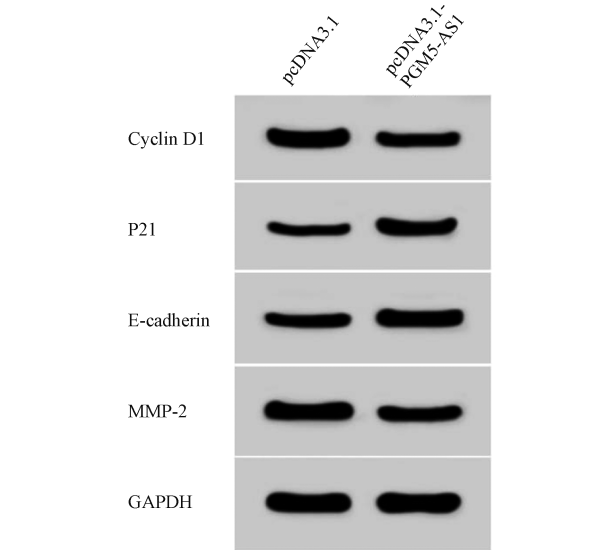


图 3 过表达 *PGM5-AS1* 对 HCC9204 细胞增殖、迁移、侵袭蛋白表达的影响

Fig. 3 Effects of *PGM5-AS1* overexpression on proliferation, migration and invasive protein expression of HCC9204 cells

4 讨论

肿瘤的发生发展受多因素调节, 研究发现中药联合用药治疗恶性肿瘤具有多靶点、疗效持久、毒副作用低等优势, 已成为抗肿瘤药物重要的研究方向^[11]。有研究报道凤尾草总黄酮可抑制骨肉瘤 MG-63 细胞的迁移能力^[12]。凤尾蕨总黄酮能抑制 H22 荷瘤小鼠肿瘤生长^[13]。凤尾草甲醇提取物对宫颈癌细胞 HeLa、肺癌细胞 NCI-H460 和乳腺癌细胞 MCF-7 均具有抗癌活性^[14]。从凤尾草根分离出的蝶呤化合物具有抗人结肠癌细胞 HCT116 增殖的活性^[15]。本实验结果显示, 不同浓度凤尾草提取物处理的肝癌细胞 HCC9204 中 Cyclin D1、MMP-2 表达水平显著降低, p21、E-cadherin 表达水平显著升高, HCC9204 细胞存活率显著降低, HCC9204 细胞迁移和侵袭数量显著降低。说明凤

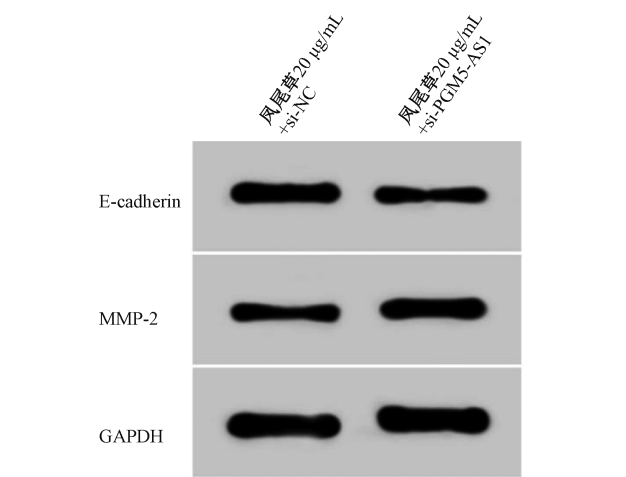


图 5 凤尾草提取物对 HCC9204 细胞迁移、侵袭蛋白表达的逆转作用

Fig. 5 Reverse effects of *P. multifida* extract on migration and invasive protein expression of HCC9204 cells

表 6 凤尾草提取物对 HCC9204 细胞迁移、侵袭的逆转作用 ($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别	E-cadherin	MMP-2	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个
凤尾草 20 µg/mL+si-NC	0.59±0.06	0.39±0.04	121.00±12.22	67.00±6.74
凤尾草 20 µg/mL+si-PGM5-AS1	0.33±0.03 *	0.71±0.07 *	199.00±20.08 *	101.00±10.16 *

注:与凤尾草 20 µg/mL+si-NC 组比较, * $P<0.05$ 。

调 *PGM5-AS1* 抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

综上所述,凤尾草提取物可能通过上调 *PGM5-AS1* 抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭。

参考文献:

[1] 贺 珊, 廖长秀. 中药治疗肝癌机制的研究进展 [J]. 中成药, 2017, 39(1): 155-160.

[2] 张 颖, 周媛凤, 胡 敏. 肝癌侵袭转移的中医药研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(5): 594-600.

[3] 高燕萍, 吴 强, 张亚梅, 等. 凤尾草化学成分及药理活性研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2017, 45(29): 126-130.

[4] 刘银凤, 张 龙, 杨大为, 等. 凤尾草总黄酮抑制 U251 细胞迁移的体外研究 [J]. 承德医学院学报, 2014, 31(2): 93-95.

[5] 吴殿斌, 陶 萍. 凤尾草总黄酮对荷瘤小鼠的抑瘤作用及对免疫功能的影响 [J]. 中外健康文摘, 2014(12): 19-20.

[6] 陈 岩, 杨丽杰, 黄智坤, 等. 凤尾草提取物对不同肿瘤细胞生长抑制作用研究 [J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(7): 1610-1611.

[7] 杜鸣宇, 尹 丽, 何 侠. lncRNA 在肿瘤侵袭转移中的研究进展与临床展望 [J]. 肿瘤学杂志, 2017, 23(1): 54-59.

[8] 张 霖, 周昌盛, 虞晓明, 等. 长链非编码 RNA *PGM5-AS1* 在非小细胞肺癌中表达及分子机制 [J]. 全科医学临床与教育, 2018, 16(6): 613-616.

[9] 颜 哈, 谭 丹, 谢 攀, 等. 多种 lncRNA 可影响黑色素瘤的发生和发展 [J]. 中南大学学报 (医学版), 2017, 42(2): 134-138.

尾草提取物可以抑制肝癌细胞的增殖、迁移和侵袭。

PGM5-AS1 是间变性胶质瘤患者中免疫相关的 lncRNA^[16]。研究发现 *PGM5-AS1* 在乳腺癌中低表达^[17]。*PGM5-AS1* 在食道鳞状细胞癌组织, 血浆和细胞系中也下调表达, 其低表达与患者不良分化, 晚期肿瘤结转移 (tumor node metastasis, TNM) 分期和淋巴结转移呈正相关; p53 诱导 *PGM5-AS1* 可在体外抑制食道鳞状细胞癌细胞的增殖, 迁移和侵袭^[18]。本实验结果显示, 过表达 *PGM5-AS1* 可抑制肝癌细胞增殖、迁移和侵袭。表明 *PGM5-AS1* 在肝癌中同样起抑癌基因作用。且本实验还发现不同浓度凤尾草提取物处理的肝癌细胞 HCC9204 中 *PGM5-AS1* 表达水平显著升高, 抑制 *PGM5-AS1* 逆转了凤尾草提取物对细胞 HCC9204 增殖、迁移和侵袭的抑制作用。提示, 凤尾草提取物可能通过上

[10] 李雨濛, 马佳康, 任凯凯, 等. 食管鳞癌差异表达基因鉴定及亚洲人食管鳞癌预后 lncRNA 功能分析 [J]. 胃肠病学和肝病杂志, 2019, 28(5): 532-537.

[11] 李 惠, 沈凯凯. 中药抗肿瘤联合用药研究进展 [J]. 上海中医药大学学报, 2017, 31(3): 90-94.

[12] 孔维鑫, 杨永明, 邹 君, 等. 凤尾草总黄酮抑制骨肉瘤 MG-63 细胞迁移及其机制的初步研究 [J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(1): 42-44.

[13] Yu C, Chen J, Huang L. A study on the antitumour effect of total flavonoids from *Pteris multifida* Poir in H22 tumour-bearing mice [J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2013, 10(6): 459-463.

[14] Son H L, Thao T H P. *In vitro* antioxidant and anticancer properties of active compounds from methanolic extract of *Pteris multifida* Poir. leaves [J]. *Eur J Med Plants*, 2014, 4(3): 292-302.

[15] Kim J W, Kim H P, Sung S H. Cytotoxic pterins from *Pteris multifida* roots against HCT116 human colon cancer cells [J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2017, 27(14): 3144-3147.

[16] Wang W, Zhao Z, Yang F, et al. An immune-related lncRNA signature for patients with anaplastic gliomas [J]. *J Neurooncol*, 2017, 136(2): 263-271.

[17] 张 莉, 张开炯, 吴立春, 等. 乳腺癌相关长链非编码 RNA 的生物信息学分析 [J]. 肿瘤预防与治疗, 2018, 31(5): 305-312.

[18] Zhao Z H, Wang W W, Niu L H, et al. p53-induced long non-coding RNA *PGM5-AS1* inhibits the progression of esophageal squamous cell carcinoma through regulating miR-466/PTEN axis [J]. *IUBMB Life*, 2019, 71(10): 1492-1502.