

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.07.005

· 基础研究 ·

过表达 lncRNA LINC00886 抑制食管鳞状细胞癌 Eca109 细胞的恶性生物学行为

杨柳^{1a}, 梁佳^{1a}, 沈素朋^{1a}, 刘磊^{1b}, 任利兵², 郭炜^{1a}, 董稚明^{1a} (1. 河北医科大学第四医院 a. 肿瘤研究所, b. 胸外科, 河北 石家庄 050011; 2. 邯郸市中心医院 胸外科, 河北 邯郸 056001)

[摘要] **目的:** 检测 lncRNA LINC00886 在食管鳞状细胞癌(ESCC)组织及细胞系中的表达及其对 Eca109 细胞体外增殖、迁移及侵袭的影响。**方法:** 收集 2014 年 6 月至 2016 年 12 月河北医科大学第四医院生物标本库 69 例 ESCC 手术患者的癌及对应的癌旁组织标本, 以及 ESCC 细胞系 Eca109、TE13、TE1、Kyse150、Yes-2 和 Kyse170, 用 qPCR 法检测 LINC00886 在 ESCC 组织及细胞系中的表达情况。分别用 pIRES2-LINC00886、pIRES2-NC 转染 Eca109 细胞, 用 qPCR 法检测 pIRES2-LINC00886 转染 Eca109 细胞后 LINC00886 的过表达效率; 用 MTS、克隆形成实验、划痕愈合实验、Transwell 侵袭实验分别检测过表达 LINC00886 对 Eca109 细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。**结果:** 在 ESCC 组织中 LINC00886 表达水平明显低于癌旁组织 ($P < 0.01$), 其表达水平与肿瘤 TNM 分期和淋巴结转移相关 (均 $P < 0.05$)。LINC00886 在 ESCC 细胞系中的表达水平也低于对照组 (均 $P < 0.01$)。转染 pIRES2-LINC00886 后, Eca109 细胞中 LINC00886 的表达水平显著高于对照组 (均 $P < 0.05$)。与对照组相比, 过表达 LINC00886 明显抑制 Eca109 细胞的增殖、迁移和侵袭能力 (均 $P < 0.01$)。**结论:** lncRNA LINC00886 低表达可能与 ESCC 的发生发展相关, 过表达 LINC00886 可抑制 ESCC 细胞的增殖、迁移与侵袭能力。

[关键词] 食管鳞状细胞癌; Eca109 细胞; 长链非编码 RNA; LINC00886; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R730.5; R735.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)07-0751-06

lncRNA LINC00886 over-expression inhibits malignant biological behaviors of esophageal squamous cell carcinoma Eca109 cells

YANG Liu^{1a}, LIANG Jia^{1a}, SHEN Supeng^{1a}, LIU Lei^{1b}, REN Libing², GUO Wei^{1a}, DONG Zhiming^{1a} (1a. Cancer Institute, 1b. Department of Thoracic Surgery, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China; 2. Department of Thoracic Surgery, Central Hospital of Handan City, Handan 056001, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of lncRNA LINC00886 in human esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) tissues and cell lines, and its effects on proliferation, migration and invasion of Eca109 cells. **Methods:** The cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues of 69 ESCC patients were collected in the biological specimen bank of the Fourth Hospital of Hebei Medical University from June 2014 to December 2016; the ESCC cell lines Eca109, TE13, TE1, Kyse150, Yes-2 and Kyse170 were also collected. LINC00886 gene expression in ESCC tissues and cell lines was detected by qPCR. Eca109 cells were transfected with pIRES2-LINC00886 and pIRES2-NC, respectively, and the overexpression efficiency of LINC00886 gene in Eca109 cells was detected by qPCR; MTS, clone formation assay, wound-healing assay and Transwell invasion assay were respectively used to detect the effect of LINC00886 over-expression on proliferation, migration and invasion ability of Eca109 cells. **Results:** The expression of LINC00886 gene in ESCC tissues was significantly lower than that in para-cancerous tissues ($P < 0.01$), and its expression level was associated with tumor TNM stage and lymph node metastasis (both $P < 0.05$). The expression level of LINC00886 gene in ESCC cell lines was also lower than that of the control group (all $P < 0.01$). Compared with control group, the expression level of LINC00886 gene was significantly higher in Eca109 cells transfected with pIRES2-LINC00886 (both $P < 0.05$). Compared with the control group, LINC00886 over-expression significantly inhibited the proliferation, migration and invasion abilities of Eca109 cells (all $P < 0.01$). **Conclusion:** The decreased expression of LINC00886 gene may be related to the occurrence and development of ESCC. Over-expression of LINC00886

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81572441)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No.81572441)

[作者简介] 杨柳(1995-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤分子发病机制研究, E-mail: 649977834@qq.com

[通信作者] 董稚明(DONG Zhiming, corresponding author), 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事上消化道肿瘤的分子病因及表观遗传学发病机制的研究, E-mail: dzm@hebm.edu.cn

gene inhibits the proliferation, migration and invasion abilities of ESCC cells.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); Eca109 cell; long non-coding RNA (lncRNA); LINC00886; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(7): 751-756. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.07.005]

近年来,食管癌的发病率及病死率均位居世界前列^[1]。中国食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)占食管癌病例的90%以上,具有高度的侵袭性和复杂的生物学行为^[2-3],中晚期ESCC患者的5年生存率不到30%^[1,4]。因此,研究ESCC的发病机制,发现其早期诊断标志物对于提高患者的生存率有重要意义。近年来,已经有越来越多在肿瘤中差异表达的长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)被证实从肿瘤发生到转移的过程中起主要作用^[5-6]。例如,lncRNA H19在成视网膜细胞瘤和结直肠腺癌组织及细胞中表达显著上调,并促进细胞的增殖、迁移和侵袭^[7-8];结肠癌相关转录本-1(colon cancer associated transcript-1, CCAT1)在肝癌及多发性骨髓瘤组织中的表达显著上调,敲低CCAT1可抑制癌细胞的增殖和生长^[9-10]。研究^[11]发现,lncRNA LINC00886在多种恶性肿瘤中呈高DNA甲基化状态,导致其在肿瘤组织中表达降低或沉默。到目前为止,尚未见到LINC00886表达与ESCC发生发展关系的研究报道。因此,本课题组通过检测LINC00886在ESCC组织中的表达水平,并构建pIRES2-LINC00886过表达载体转染人ESCC细胞系Eca109,观察过表达LINC00886对Eca109细胞体外增殖、迁移及侵袭的影响,旨在为ESCC的诊断和治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 组织标本、细胞系及主要试剂

收集2014年6月至2016年12月河北医科大学第四医院生物标本库69例ESCC手术患者的癌及对应的癌旁组织(距离癌原发灶边缘3~5 cm的正常组织)标本,其中男性51例、女性18例,年龄41~80岁,中位年龄62岁,术前均未接受放疗和化疗。切取的标本,一部分新鲜标本放入-80℃低温冰箱保存,用于提取总RNA;一部分常规制作蜡块行H-E染色。由3位病理医师确诊为ESCC组织,癌旁组织未见癌细胞浸润。按照国际抗癌联盟(UICC)标准进行TNM分期:I+II期36例(52.2%)、III+IV期33例(47.8%);按照WHO肿瘤病理学分级标准:高中分化48例(69.6%)、低分化21例(30.4%)。无淋巴结转移32例(46.4%),有淋巴结转移37例(53.6%)。

人ESCC细胞系Eca109、TE13、TE1、Kyse150、Yes-2和Kyse170由河北医科大学第四医院肿瘤研究

所病理研究室留存并传代。

pIRES2-LINC00886质粒及表达引物由上海生工公司合成,逆转录试剂盒、Lipofectamine™2000转染试剂、MTS试剂均购自美国Promega公司,胰蛋白酶、TRIzol试剂购自北京索莱宝公司,胎牛血清购自美国BI公司,RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司,Transwell小室、Matrigel胶均购自美国Corning公司。

1.2 细胞培养及转染

ESCC细胞培养用含10%胎牛血清的RPMI1640培养液,于37℃、5%CO₂孵箱中培养,每24h更换培养基。细胞汇合度达80%时,用0.25%胰酶消化,并传代培养。

选择生长状态良好的Eca109细胞用胰蛋白酶消化并计数,将细胞均匀铺于6孔板(2×10⁵个/孔),待细胞生长至70%~80%时进行转染,分别在2个EP管中加入无血清培养基与过表达载体质粒pIRES2-LINC00886,以及无血清培养基与转染试剂Lipofectamine™2000,室温孵育5 min;将两EP管中的液体混合,室温孵育15 min;其中1孔加200 μl转染试剂与质粒混合液作为实验组(pIRES2-LINC00886),1孔加等量转染试剂与空质粒混合液作为空质粒对照组(pIRES2-NC),1孔为常规细胞培养组(Eca109细胞)。培养24~48 h后,收集Eca109细胞并提取总RNA,用于观察细胞转染pIRES2-LINC00886后LINC00886的表达情况。

1.3 qPCR法检测ESCC组织及细胞系中LINC00886的表达水平

根据TRIzol试剂说明书步骤提取ESCC组织及相应癌旁正常组织及Eca109、TE13、TE1、Kyse150、Yes-2和Kyse170细胞中总RNA,逆转录成cDNA,再以cDNA为模板进行qPCR检测。PCR引物序列:LINC00886 F为5'-TGTCTGACTCTGGGCACCTA-3',R为5'-GGGCTCCAGTAGAGATATGCC-3'; GAPDH F为5'-AGGTGAAGGTCGAGTCAACG-3',R为5'-AGGGGTCATTGATGCAACA-3'。反应条件:95℃预变性10 min,95℃变性15 s,58℃退火30 s,72℃延伸30 s,共35个循环;72℃延伸7 min,4℃保存。在反应达到阈值的循环数被记录为该组织中LINC00886和GAPDH的CT值。结果采用相对定量法: $\Delta CT = CT_{LINC00886} - CT_{GAPDH}$, $\Delta\Delta CT = \Delta CT_{癌组织} - \Delta CT_{癌旁组织}$,以 $N = 2^{-\Delta\Delta CT}$ 表示目的物的相对表达量。

1.4 MTS 实验检测过表达 LINC00886 对 Eca109 细胞增殖能力的影响

将上述 3 组 Eca109 细胞培养 24 h 后常规消化并悬浮于培养基中, 调整细胞密度分别接种于 96 孔板 (1×10^3 个/孔), 每组设置 6 个复孔。分别于细胞贴壁后 0、24、48、72 和 96 h 时在每孔加入 20 μ l (500 μ g/ml) MTS 试剂, 培养箱孵育 2 h 后用酶标仪测定波长 492 nm 处的光密度 (D) 值, 代表细胞增殖水平。

1.5 克隆形成实验检测过表达 LINC00886 对 Eca109 细胞增殖能力的影响

将上述 3 组 Eca109 细胞培养 24 h 后, 常规消化并悬浮于培养基中, 调整细胞密度分别接种于 6 孔板 (3×10^3 个/孔), 培养 1 周后, 4% 多聚甲醛固定、0.1% 结晶紫染色 20 min, 光学显微镜下计数克隆形成数 (大于 50 个细胞为 1 个克隆), 分别计算 3 组细胞的克隆形成率。克隆形成率 = 克隆数/接种细胞数 $\times 100\%$ 。

1.6 划痕愈合实验检测过表达 LINC00886 对 Eca109 细胞迁移能力的影响

将上述 3 组 Eca109 细胞培养 24 h 后, 常规消化并悬浮于培养基中, 调整细胞密度分别接种于 6 孔板 (5×10^5 个/孔)。待细胞生长至完全融合时, 用 200 μ l 移液枪头垂直划痕。用 PBS 洗去划落细胞, 并加入 2 ml 无血清培养基继续常规培养。分别于划痕后 0、12、24 h 在倒置显微镜下观察细胞的划痕间距, 计算细胞迁移百分率。

1.7 Transwell 侵袭实验检测过表达 LINC00886 对 Eca109 细胞侵袭能力的影响

将上述 3 组 Eca109 细胞培养 24 h 后, 常规消化并悬浮于无血清培养基中, 小室上层加 50 μ l 基质胶, 调整细胞密度接种于小室 (1×10^5 个/孔), 上室中加入无血清培养基补齐 200 μ l; 下室加入 600 μ l 含 10% 胎牛血清的完全培养基。培养 24 h 后取出小室, 用棉签擦去基质胶和上室内的细胞, PBS 洗 2 次, 4% 多聚甲醛固定、0.1% 结晶紫染色 20 min, 光学显微镜下计数 5 个随机视野内的细胞数, 比较 3 组细胞间的差异。

1.8 统计学处理

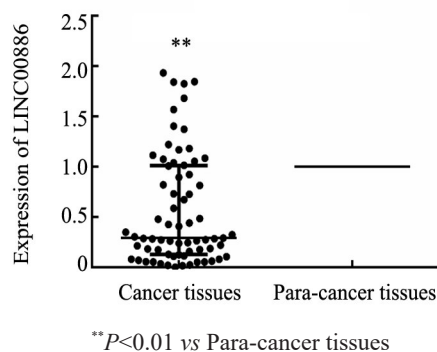
采用 SPSS21.0 统计软件进行数据分析, 上述 1.3~1.7 实验均重复 3 次。LINC00886 在 ESCC 组织及相应癌旁组织的表达差异及其与临床病理资料的关系以及 LINC00886 的过表达效率均采用秩和检验, 单组样本与总体均数比较采用 t 检验, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 组内两两比较为 SNK 检验, 采用双侧检验。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ESCC 组织中 LINC00886 表达及其与临床病理资料的关系

qPCR 检测结果 (图 1) 显示, LINC00886 在 ESCC 组织中的相对表达水平显著低于相应癌旁组织 (0.29 vs 1.00, $Z = -5.18$, $P < 0.01$)。

分析 69 例 ESCC 患者的临床病理资料发现, III~IV 期 ESCC 患者癌组织中 LINC00886 的表达水平显著低于 I~II 期患者 [0.25 (0.07, 0.54) vs 0.58 (0.18, 1.08), $Z = -2.15$, $P < 0.05$], 有淋巴结转移组 ESCC 患者组织中 LINC00886 的表达显著低于无淋巴结转移组 [0.27 (0.09, 0.70) vs 0.58 (0.18, 1.15), $Z = -2.00$, $P < 0.05$], LINC00886 的表达与肿瘤分化程度无关 ($P > 0.05$)。按照年龄、性别分组进行统计分析, 各组 ESCC 组织中 LINC00886 的表达差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。



** $P < 0.01$ vs Para-cancer tissues

图 1 LINC00886 在 ESCC 组织中低表达

Fig.1 Low expression of LINC00886 gene in ESCC tissues

2.2 ESCC 细胞中 LINC00886 表达及转染 pIRES2-LINC00886 的转染效率

随机取 10 例癌旁正常组织的 cDNA 混合后作为细胞表达的对照组 (Pools)。qPCR 检测结果 (图 2) 显示, LINC00886 在 Eca109、TE13、TE1、Kyse150、Yes-2 和 Kyse170 细胞中的表达水平均低于对照组 ($t = -17.21$ 、 -16.45 、 -17.17 、 -17.19 、 -17.19 、 -8.91 , 均 $P < 0.01$), 其中以 Eca109 细胞的表达最低 (图 2), 故后续实验选用 Eca109 细胞。

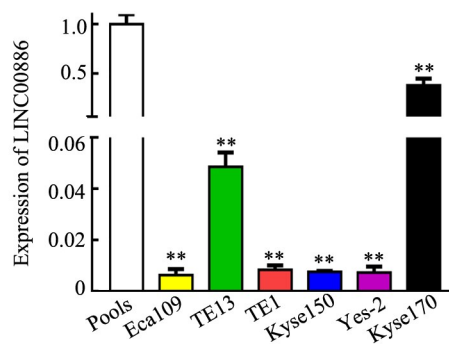
转染 pIRES2-LINC00886 后, 与对照组相比, 转染组 Eca109 细胞 LINC00886 表达水平明显增高 ($H = 7.20$, $P < 0.05$; 图 3)。

2.3 过表达 LINC00886 抑制 Eca109 细胞的增殖能力

MTS 实验结果 (图 4) 表明, 与空质粒对照组和常规细胞培养组相比, 转染 LINC00886 过表达载体的 Eca109 细胞的增殖能力显著降低, 并且在 72 h 后比较差异具有统计学意义 ($F = 66.29$, $P < 0.01$), 而空质粒对照组与常规细胞培养组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

克隆形成实验结果 (图 5) 表明, 转染 LINC00886

过表达载体的Eca109细胞克隆形成率显著低于空质粒对照组[(11.8±1.6)% vs (20.3±3.3)% , $F=15.64, P<0.01$]及常规细胞培养组[(11.8±1.6)% vs (22.1±4.6)% , $F=15.64, P<0.01$] , 空质粒对照组与常规细胞培养组的细胞克隆形成率比较差异无统计学意义($P>0.05$)。



** $P<0.01$ vs Pools group

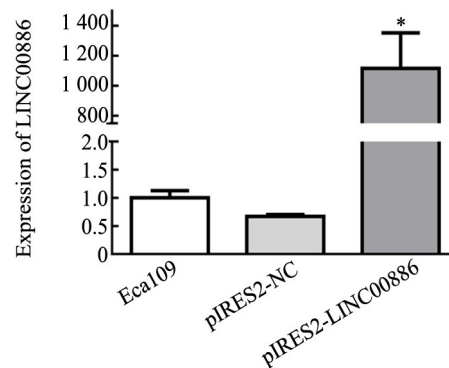
图2 LINC00886在ESCC细胞系中低表达

Fig. 2 Low expression of LINC00886 in ESCC cell lines

2.4 过表达LINC00886抑制Eca109细胞的迁移能力

划痕愈合实验结果(图6)显示,转染LINC00886过表达载体的Eca109细胞12及24 h划痕迁移率显著低于空质粒对照组[12 h:(15.0±2.2)% vs (49.8±3.6)% , $F=45.72, P<0.01$; 24 h:(45.1±9.4)% vs (63.2±2.6)% , $F=10.09, P<0.05$]及常规细胞培养组[12 h:(15.0±2.2)% vs (52.9±8.4)% , $F=45.72, P<0.01$; 24 h:(45.1±9.4)% vs (74.2±10.1)% , $F=10.09, P<0.05$] , 空质粒对照组12和24 h划痕迁移率与常规细胞培养组

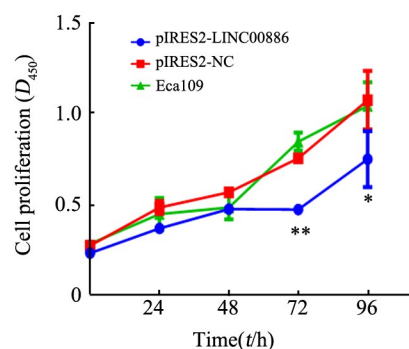
比较差异无统计学意义(均 $P>0.05$)。



* $P<0.05$ vs Eca109 or pIRES2-NC group

图3 转染pIRES2-LINC00886提高Eca109细胞中LINC00886的表达水平

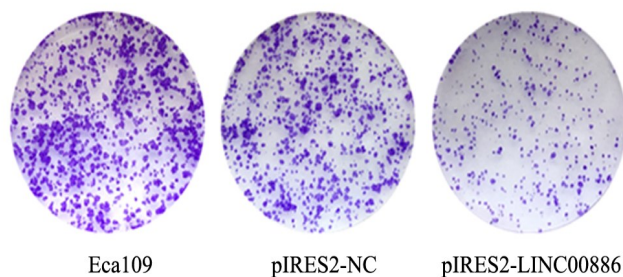
Fig. 3 Transfection with pIRES2-LINC00886 increased the expression level of LINC00886 in Eca109 cells



* $P<0.05, **P<0.01$ vs Eca109 or pIRES2-NC group

图4 过表达LINC00886抑制Eca109细胞的增殖能力

Fig. 4 Overexpression of LINC00886 inhibited proliferation of Eca109 cells



** $P<0.01$ vs Eca109 or pIRES2-NC group

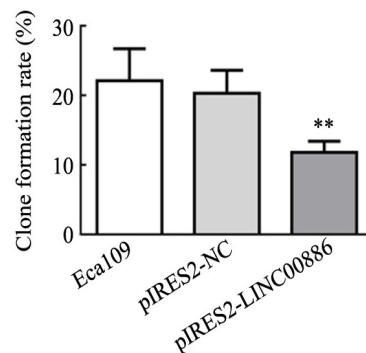
图5 过表达LINC00886抑制Eca109细胞的克隆形成增殖能力(结晶紫染色,×40)

Fig.5 Over-expression of LINC00886 inhibited the clone formation and proliferation of Eca109 cells (crystal violet staining,×40)

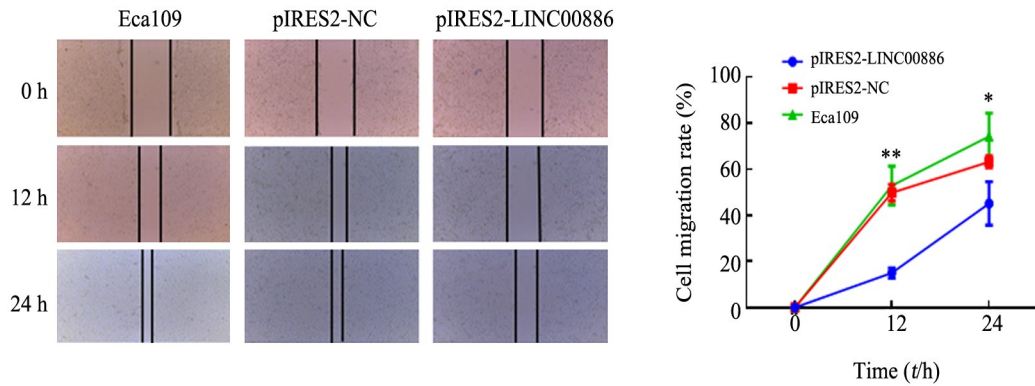
2.5 过表达LINC00886抑制Eca109细胞的侵袭能力

Transwell侵袭实验结果(图7)显示,转染LINC00886过表达载体的Eca109细胞穿膜细胞数显

著低于空质粒对照组[(251.0±33.4)% vs (387.0±26.6)% , $F=32.86, P<0.01$]及常规细胞培养组[(251.0±33.4)% vs (404.0±27.3)% , $F=32.86, P<0.01$] , 空质粒



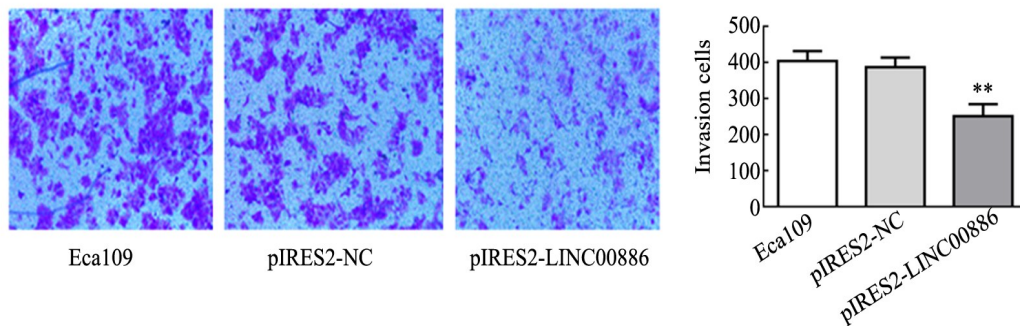
对照组与常规细胞培养组穿膜细胞数比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。



* $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs Eca109 or pIRES2-NC group

图6 过表达 LINC00886 抑制 Eca109 细胞的迁移能力 ($\times 40$)

Fig.6 Over-expression of LINC00886 inhibited migration of Eca109 cells ($\times 40$)



** $P<0.01$ vs Eca109 or pIRES2-NC group

图7 过表达 LINC00886 抑制 Eca109 细胞的侵袭能力 (结晶紫染色, $\times 100$)

Fig. 7 Over-expression of LINC00886 inhibited invasion of Eca109 cells (crystal violet staining, $\times 100$)

3 讨论

高通量 RNA 测序技术的发展使得大量非编码 RNA (non coding RNA, ncRNA) 被发现, 将 ncRNA 进行亚分类可分成短链非编码 RNA (short non coding RNA, sncRNA) 和 lncRNA^[12]。lncRNA 是一类长度超过 200 个核苷酸的非蛋白质编码 RNA^[13-14], 最初被认为是基因组的“垃圾”和“噪音”。近年来, 越来越多的证据表明, lncRNA 对于转录后控制、剪切和修饰是必不可少的, 且其异常表达与多种肿瘤的致癌作用有关^[15]。已有研究显示, 这些转录本参与 ESCC 细胞的增殖、迁移、侵袭等多种恶性生物学行为。例如, lncRNA linc00460 在 ESCC 组织中高表达, 其表达水平与淋巴结转移和 TNM 分期相关, 敲降 linc00460 可抑制细胞增殖能力, 促进细胞凋亡^[16]; lncRNA FTH1P3 通过调控 SP1/NF- κ B 信号传导通路, 在 ESCC 中起致癌基因的作用, 敲低 FTH1P3 可抑制 ESCC 细胞的迁移和侵袭能力^[17]; lncRNA RP11-766N7.4 在

ESCC 组织和细胞系中低表达, 并与淋巴结转移、肿瘤分期及生存率相关, 敲低 RP11-766N7.4 后可通过诱导上皮间质转化进程促进细胞迁移和侵袭, 相反, 过表达 RP11-766N7.4 后可抑制这些生物学行为^[18]。上述研究结果均提示, lncRNA 在 ESCC 的体内转移和肿瘤进展中起到重要的调控作用。

WANG 等^[11]通过基因芯片分析了 1 006 个表观遗传激活的 lncRNA 和 1 117 个表观遗传沉默的 lncRNA, 其中 LINC00886 是在该芯片中筛选出的表观遗传沉默的差异表达分子。LINC00886 位于人染色体 3q25.31, 只有一个转录本, 长度为 3 354 bp, 是一个新发现的、未被研究的 lncRNA。LINC00886 在皮肤黑色素瘤、脑低级别胶质瘤、多形性成胶质细胞瘤及宫颈癌等肿瘤中由于 DNA 甲基化的表观遗传调控而呈现表达下调, 但目前尚无有关其在 ESCC 中的报道。所以, 本课题围绕 LINC00886 如何影响 ESCC 的发生发展展开了研究。

本研究结果表明, LINC00886 在 ESCC 组织中呈

现低表达,并且与肿瘤的TNM分期和淋巴结转移相关,这提示LINC00886很可能与ESCC的发生发展关系密切。进一步研究LINC00886对ESCC细胞系生物学行为的影响,发现过表达LINC00886后可抑制ESCC细胞的体外增殖、迁移及侵袭能力,所以LINC00886在ESCC中起着抑制肿瘤的作用,有望为ESCC后续的机制研究及临床的靶向治疗提供新的潜在靶点。

综上, lncRNA LINC00886可以抑制ESCC细胞的体外增殖、迁移及侵袭能力,可能在ESCC的发生发展中起着至关重要的作用。lncRNA可能通过DNA甲基化、乙酰化、泛素化及组蛋白修饰等方式在癌症中起调控作用,本课题组将继续进行后续实验,探究LINC00886在ESCC中低表达的可能原因,并深入LINC00886在ESCC发生、发展中起作用的机制研究。

[参考文献]

- [1] OHASHI S, MIYAMOTO S, KIKUCHI O, et al. Recent advances from basic and clinical studies of esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Gastroenterology*, 2015, 149(7): 1700-1715. DOI:10.1053/j.gastro.2015.08.054.
- [2] YAO J, SHEN X Z, LI H Z, et al. lncRNA-ECM is overexpressed in esophageal squamous cell carcinoma and promotes tumor metastasis [J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 3935-3942[2019-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6096090/>. DOI:10.3892/ol.2018.9130.
- [3] 梁佳,吴璇,邝钢,等. lncRNA NUP50-AS1在食管鳞癌组织中的表达及其对Eca109细胞恶性生物学行为的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(12): 1290-1295. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018-12.013.
- [4] LIU H F, ZHEN Q, FAN Y K. lncRNA GHET1 promotes esophageal squamous cell carcinoma cells proliferation and invasion via induction of EMT[J/OL]. *Int J Biol Markers*, 2017,32(4): e403-e408. <https://doi.org/10.5301/ijbm.5000304>. DOI:10.5301/ijbm.5000304.
- [5] LI Y, CHEN D, GAO X, et al. lncRNA NEAT1 regulates cell viability and invasion in esophageal squamous cell carcinoma through the miR-129/ CTBP2 axis[J/OL]. *Dis Markers*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/5314649>. DOI:10.1155/2017/5314649.
- [6] DHAMIJA S, DIEDERICH S. From junk to master regulators of invasion: lncRNA functions in migration, EMT and metastasis[J]. *Int J Cancer*, 2016, 139(2): 269-280. DOI:10.1002/ijc.30039.
- [7] LI L, CHEN W, WANG Y C, et al. Long non-coding RNA H19 regulates viability and metastasis, and is upregulated in retinoblastoma [J/OL]. *Oncol Lett*, 2018, 15(6): 8424-8432[2019-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5950605/>. DOI:10.3892/ol.2018.8385.
- [8] LI C F, LI Y C, WANG Y, et al. The effect of lncRNA H19/miR-194-5p axis on the epithelial-mesenchymal transition of colorectal adenocarcinoma[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50(1): 196-213. DOI:10.1159/000493968.
- [9] DENG L, YANG S B, XU F F, et al. Long noncoding RNA CCAT1 promotes hepatocellular carcinoma progression by functioning as let-7 sponge[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2015, 34: 18[2019-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4339002/>. DOI:10.1186/s13046-015-0136-7.
- [10] CHEN L, HU N, WANG C, et al. Long non-coding RNA CCAT1 promotes multiple myeloma progression by acting as a molecular sponge of miR-181a-5p to modulate HOXA1 expression[J/OL]. *Cell Cycle*, 2018, 17(3): 319-329[2019-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5914888/>. DOI:10.1080/15384101.2017.1407893.
- [11] WANG Z H, YANG B, ZHANG M, et al. lncRNA epigenetic landscape analysis identifies EPIC1 as an oncogenic lncRNA that interacts with MYC and promotes cell-cycle progression in cancer[J/OL]. *Cancer Cell*, 2018, 33(4): 706-720. e9[2019-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6143179/>. DOI:10.1016/j.ccell.2018.03.006.
- [12] KLINGENBERG M, MATSUDA A, DIEDERICH S, et al. Non-coding RNA in hepatocellular carcinoma: Mechanisms, biomarkers and therapeutic targets[J]. *J Hepatol*, 2017, 67(3): 603-618. DOI:10.1016/j.jhep.2017.04.009.
- [13] DONG D, MU Z Y, ZHAO C H, et al. ZFAS1: a novel tumor-related long non-coding RNA[J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2018, 18: 125[2019-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6122210/>. DOI:10.1186/s12935-018-0623-y.
- [14] DONG Z M, ZHANG A L, LIU S N, et al. Aberrant methylation-mediated silencing of lncRNA MEG3 functions as a ceRNA in esophageal cancer[J/OL]. *Mol Cancer Res*, 2017, 15(7): 800-810 [2019-02-26]. <https://doi.org/10.1158/1541-7786.mcr-16-0385>. DOI:10.1158/1541-7786.
- [15] 蔡华荣,王志强,江跃全. 长链非编码RNA UCA1靶向调控miR-185-5p对非小细胞肺癌A549细胞的作用及其机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(6): 555-561. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2018.06.002.
- [16] LIANG Y, WU Y Y, CHEN X D, et al. A novel long noncoding RNA linc00460 up-regulated by CBP/P300 promotes carcinogenesis in esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *Biosci Rep*, 2017, 37(5): BSR20171019[2019-02-26]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5964888/>. DOI:10.1042/BSR20171019.
- [17] YANG L J, SUN K Y, CHU J, et al. Long non-coding RNA FTH1P3 regulated metastasis and invasion of esophageal squamous cell carcinoma through SP1 / NF-kB pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 106: 1570-1577. DOI:10.1016/j.biopha.2018.07.129.
- [18] YAO G L, PAN C F, XU H R, et al. Long noncoding RNA RP11-766N7.4 functions as a tumor suppressor by regulating epithelial-mesenchymal transition in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 88: 778-785. DOI:10.1016/j.biopha.2017.01.124.

[收稿日期] 2019-02-28

[修回日期] 2019-05-17

[本文编辑] 党瑞山