

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.12.013

· 临床研究 ·

lncRNA01296 在食管癌组织中的表达及其对食管癌 TE-2 细胞增殖和迁移的影响

梁云微, 连相尧, 党春艳, 胡潺潺, 朱翠敏, 李爱科, 李青山(承德医学院附属医院 肿瘤科, 河北 承德 067001)

[摘要] **目的:** 探究 lncRNA01296 在食管癌组织中的表达及其对食管癌 TE-2 细胞增殖和迁移的影响。**方法:** 收集 2017 年 1 月至 2018 年 9 月承德医学院附属医院肿瘤科收治的 36 例食管癌组织及相应的癌旁组织, 并培养人正常食管上皮细胞(HEEC)及人食管癌细胞系 ECA109、TE-1 及 TE-2。用 qPCR 检测癌组织及 ECA109、TE-1 及 TE-2 细胞中 lncRNA01296、小核核糖核蛋白 A(SNRPA) 及神经生长因子(NGF)mRNA 的表达水平。重组慢病毒干扰载体转染食管癌细胞系及相应对照细胞系, 分别分为干扰 1 组、干扰 2 组及对照组, WB 实验检测转染后细胞 SNRPA 及 NGF 蛋白的表达水平, MTS 实验检测转染后 TE-2 细胞的增殖能力, Transwell 实验检测 TE-2 细胞侵袭和迁移能力。**结果:** lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 在食管癌组织及细胞系中呈高表达(均 $P < 0.01$), 且 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 在低分化的 TE-2 细胞中表达高于其他癌细胞(均 $P < 0.05$)。干扰 1 组和干扰 2 组 lncRNA01296、NGF mRNA 表达水平明显低于对照组(均 $P < 0.01$), 而 SNRPA mRNA 表达水平与对照组无明显差异($P > 0.05$); 干扰 1 组和干扰 2 组 SNRPA 及 NGF 蛋白表达水平明显低于对照组(均 $P < 0.01$)。敲减 48、72 h 后, 干扰 1 组及干扰 2 组 TE-2 细胞相对增殖能力明显低于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 对照组、干扰 1 组及干扰 2 组侵袭细胞数分别为(72.0±6.3)、(36.6±4.3)及(33.9±3.7)个, 迁移细胞数分别为(85.2±9.9)、(47.5±8.1)及(43.8±6.5)个, 干扰 1 组及干扰 2 组侵袭及迁移细胞数显著低于对照组(均 $P < 0.01$); **结论:** lncRNA01296 可通过上调 SNRPA 表达促进 NGF 介导的食管癌细胞的增殖和迁移, 为临床食管癌诊断和治疗提供新的靶点。

[关键词] 食管癌; 长链非编码 RNA01296; ECA109 细胞; TE-1 细胞; TE-2 细胞; 增殖; 迁移

[中图分类号] R730.45; R735.21 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)12-1377-06

Expression of lncRNA01296 in esophageal carcinoma tissues and its effect on proliferation and migration of TE-2 cells

LIANG Yunwei, LIAN Xiangyao, DANG Chunyan, HU Chanchan, ZHU Cuimin, LI Aike, LI Qingshan (Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Chengde Medical College, Chengde 0670001, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of lncRNA01296 in esophageal cancer (EC) tissues and its effect on the proliferation and migration of EC TE-2 cells. **Methods:** A total of 36 pairs of esophageal cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues were collected from EC patients admitted to the Department of Thoracic Surgery, Affiliated Hospital of Chengde Medical College from January 2017 to September 2018. The human normal esophageal epithelial (HEEC) cells and human esophageal cancer cell lines ECA109, TE-1 and TE-2 were cultured. qPCR was used to detect the mRNA expressions of lincRNA01296, SNRPA (small nuclear ribonucleoprotein A) and NGF (nerve growth factor) in EC tissues and cells. Recombinant lentiviral interference vector or control vector were used to transfect EC cell lines, as sh-lncRNA01296#1, #2 and Mock groups. WB was used to detect the protein expressions of SNRPA and NGF in transfected cells. MTS assay was used to detect cell proliferation, and Transwell assays were used to detect cell invasion and migration of TE-2 cells after transfection. **Results:** The mRNA expressions of lncRNA01296, SNRPA and NGF were significantly increased in esophageal cancer tissues and cell lines (all $P < 0.01$), and these expressions in poorly differentiated TE-2 cells were higher than those in highly differentiated ECA109 and TE-1 cells (all $P < 0.05$). The mRNA expressions of lncRNA01296 and NGF in sh-lncRNA01296#1 and sh-lncRNA01296#2 groups were significantly lower than those in Mock group (all $P < 0.01$), while the mRNA expression of SNRPA showed no statistical difference among three groups ($P > 0.05$). The protein expressions of lncRNA01296 and NGF in sh-lncRNA01296#1 and sh-lncRNA01296#2 groups were significantly lower than those in Mock group (all $P < 0.01$). The relative proliferation ability of cells in sh-lncRNA01296#1 and sh-lncRNA01296#2 groups was significantly lower than that of Mock group at 48 and 72 h after transfection ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The number

[基金项目] 承德市科技局科技计划资助项目(No.20168002)。Project supported by Science and Technology Program of Chengde Science and Technology Bureau (No.20168002)

[作者简介] 梁云微(1983-), 女, 硕士, 主治医师, 主要从事消化道肿瘤诊治的研究, E-mail: qim0382@163.com

[通信作者] 李青山(LI Qingshan, corresponding author), 硕士, 主任医师, 主要从事恶性肿瘤放疗化疗的研究, E-mail: qingshan@126.com

of invasive cells was (72.0±6.3), (36.6±4.3) and (33.9±3.7) in Mock, sh-lncRNA01296#1 and sh-lncRNA01296#2 groups, respectively; and the number of migrated cells was (85.2±9.9), (47.5±8.1) and (43.8±6.5), respectively, indicating that the numbers of invasive and migrated cells in sh-lncRNA01296#1 and sh-lncRNA01296#2 groups were significantly less than those in Mock group(all $P<0.01$). **Conclusion:** lncRNA01296 can up-regulate SNRPA expression to promote NGF-mediated proliferation and metastasis of EC cells, which may provide new target for the diagnosis and treatment of esophageal cancer.

[Key words] esophageal cancer; long non-coding RNA01296 (lncRNA01296); Eca109 cell; TE-1 cell; TE-2 cell; proliferation; migration [Chin J Cancer Biother, 2019, 26(12): 1377-1382. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.12.013]

食管癌是最具侵袭性的恶性肿瘤之一,患者预后差,全球每年约40万人死于食管癌,病死率在所有恶性肿瘤中位居第六^[1-2]。虽然目前临床上手术联合化疗可以显著改善食管癌患者的治疗和预后,但其5年的生存率仍低于16%^[3]。因此,进一步探索食管癌发展的分子机制以及诊断和治疗的新靶点至关重要。随着基因技术的发展,90%以上的人类基因组被发现转录为非编码RNA(ncRNAs),其在细胞内发挥着重要的调节作用^[4-5]。除了如miRNA等少量的非编码RNA外,大部分以长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)的形式存在,其长度超过200个核苷酸,通过表观遗传调控和转录调控发挥生物学作用^[6]。基于lncRNA数量及作用的广泛,其与恶性肿瘤的关系也逐渐被揭示,包括食管癌。有研究^[7]表明,lncRNA01296参与多种恶性肿瘤的发生发展,但其作用机制尚不清楚。神经生长因子(nerve growth factor, NGF)是一种神经营养因子蛋白,它对神经元的生长与分化起着调控作用^[8]。小核糖核蛋白A(small nuclear ribonucleoprotein A, SNRPA)作为U1 SNRNP复合物的成员,SNRPA的过表达增加了NGF表达水平^[9]。本研究旨在探讨lncRNA01296在食管癌组织中的表达及其对食管癌ECA109、TE-1及TE-2细胞增殖和迁移的影响,并进一步研究其作用机制,为临床食管癌诊断和治疗提供新的靶点。

1 资料与方法

1.1 组织样本来源

收集2017年1月至2018年9月承德医学院附属医院肿瘤科收治的36例食管癌组织及相应的癌旁组织,其中男性20例,女性16例;年龄41~70岁,平均(58.1±6.9)岁。手术时将标本(离体之后5 min内)放置于液氮中保存。按照国际抗癌联盟推出的第八版ESCC TNM分期标准进行分期, I期3例、II期8例、III期19例、IV期6例;肿瘤直径<5 cm者19例,肿瘤直径≥5 cm者17例;有淋巴结转移者25例,无淋巴结转移11例。所有患者均无其他重大基础疾病史,手术前均未进行放、化疗和免疫治疗。本研究获得医院伦理委员会的批准,所用的标本均得到患者的知情同意。

1.2 主要材料与试剂

人正常食管上皮细胞(HEEC)及人食管癌细胞系ECA109、TE-1及TE-2购自美国ATCC公司。RPMI 1640培养基、胰蛋白酶购自美国Hyclone公司,胎牛血清购自美国BI公司,TRIzol购自美国Invitrogen公司,Platinum SYBR SuperMix试剂、MTS细胞增殖分析试剂盒均购自美国Promega公司,qPCR引物和Lipofectamine 2000转染试剂均购自美国Invitrogen公司,反转录试剂盒和BCA蛋白定量检测试剂盒购自美国Thermo公司,RIPA裂解缓冲液购自北京Beyotime公司,Transwell小室、Matrigel基质胶购自美国Corning公司,0.25%胰蛋白酶购自美国Sigma公司,特异性抗体SNRPA购自美国Abcam公司,Chemi-Doc XRS购自美国Bio-rad公司。

1.3 细胞培养

HEEC及人食管癌ECA109、TE-1及TE-2细胞均由RPMI 1640培养基+10%胎牛血清培养,293T细胞采用DMEM培养基+10%胎牛血清培养,湿化培养箱环境温度37℃、5%CO₂,当HEEC细胞融合度达到80%时按1:2进行传代,ECA109、TE-1及TE-2细胞汇合度达80%时按1:3进行传代,每天更换1次培养液。

1.4 重组慢病毒感染构建lncRNA01296干扰细胞系

培养对数生长期的293T及TE-2细胞于6孔板中,当293T细胞汇合度达80%时,根据Lipofectamine™ 2000说明书上的操作步骤进行转染,0.72 μg Gag-Pol+0.72 μg REV+0.45 μg gVSV-G为慢病毒包装载体,同时加入1 μg靶向lncRNA01296的干扰载体1#、2#或对照载体,1 ml DMEM培养基重悬,室温静置20 min,缓缓加入到293T细胞中,转染后6 h更换DMEM培养基+10%胎牛血清培养,继续培养48 h,收集含干扰载体1#、2#及对照载体的病毒悬液,离心病毒悬液并过滤,与RPMI-1640培养基+10%胎牛血清1:1混合培养TE-2细胞,并使用5 μg/ml polybrene增强感染效率,培养3 d后1 μg/ml嘌呤霉素筛选细胞,当细胞处于对数生长期,完成细胞系的构建,分别作为本研究的干扰1组(sh-lncRNA01296#1组)、干扰2组(sh-lncRNA01296#2组)及对照组(Mock组)细胞。

1.5 qPCR 检测癌组织及细胞中 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 表达水平

从液氮中将癌组织取出, 在研钵中将其研磨成粉末后, 加入 1 ml TRIzol 试剂, 将粉末重悬, 冰上继续研磨 1.5 min, 对总 RNA 进行抽提。将对数生长期干扰 1 组、干扰 2 组及对照组细胞收集 1×10^6 个左右, 加入 1 ml TRIzol 试剂将细胞重悬, 对总 RNA 进行抽提。使用 Prime-Script 一步法将 RNA 转录成 cDNA, 在 7500 实时 PCR 系统上检测 lncRNA01296 mRNA 的表达水平, GAPDH 作为内部对照。lncRNA01296 正向引物序列: 5'-AAGTGGCACCAGCCTCACT-3', lnc01296 反向引物序列: 5'-CGGCCAAGTTCTTTACCATC-3'; SNRPA 正向引物序列: 5'-GGCCAGGAGAGAAAGCTTTG-3', SNRPA 反向引物序列: 5'-CTCGAGCAGCAAGTTTCCTC-3'; NGF 正向引物序列: 5'-AGGTGATGTGTTGGGAGAG-3', NGF 反向引物序列: 5'-ACA-CAGGCCGTATCTATCCG-3'; GAPDH 正向引物序列: 5'-AGAAGGCTGGGGCT-CATTTG-3', GAPDH 反向引物序列: 5'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-3'。使用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算待测物 mRNA 表达的相对水平。

1.6 WB 实验检测细胞系中 SNRPA 及 NGF 蛋白的表达水平

收集 1×10^6 左右对数生长期对照组、干扰 1 组及干扰 2 组细胞, 用补充有蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解缓冲液裂解细胞, 收集蛋白上清液, 蛋白质提取物用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳并转移至聚偏二氟乙烯膜上 (GE healthcare, piscataway, NJ)。使用在含有 0.05% Tween-20 的 Tris 缓冲盐水稀释的 5% 脱脂牛奶封闭膜 2 h, 然后与特异性抗体 SNRPA、NGF 及 β -actin 在 4 °C 环境下孵育过夜, 用二抗 (1:1 000) 孵育 2 h 后, 条带用 ECL 化学发光试剂盒孵育后, 使用 ChemiDoc XRS 曝光显影。

1.7 MTS 实验检测 TE-2 细胞转染前后增殖能力

培养对数生长期对照组、干扰 1 组及干扰 2 组细胞, 胰酶消化, 加入培养液至细胞密度为 1.5×10^4

个/ml, 然后在 96 孔培养板中接种细胞, 接种密度为 3 000 个/孔。设置 0、24、48、72 h 时间点, 每个时间点加入 MTS 稀释液 (1:5) 100 μ l/孔, 在 37 °C、5%CO₂ 的条件下孵育 2 h, 酶标仪在 490 nm 波长处检测每孔光密度 (D) 值, 并绘制生长曲线。

1.8 Transwell 实验检测 TE-2 细胞转染前后侵袭及迁移能力

将 Matrigel 基质胶在无血清培养基按 1:8 比例稀释, 并将其铺到 Transwell 小室上室上面, 慢慢摇匀, 然后, 在 37 °C 的条件下 4 h 风干, 基底膜用无血清培养基水化, 将对照组、干扰 A 组及干扰 B 组细胞用 0.25% 胰蛋白酶进行消化, PBS 洗 3 次, 细胞用 1% FBS + RPMI 1640 重悬, 计数细胞后调整细胞密度为 1×10^6 个/ml, 在 Transwell 小室上室面以 100 μ l/孔密度进行接种, 缓慢摇匀。细胞侵袭模型为含 Matrigel 基质胶的 Transwell 小室, 细胞迁移模型为未铺胶的 Transwell 小室。在 37 °C、5%CO₂ 环境条件下培养 1 d, 用 10% 甲醇将细胞固定 20 min, 然后加入 0.1% 结晶紫染色 30 min, 在 200 倍光镜下计数, 从中间和四周的 5 个视野下随机统计细胞数目, 计算其均值。

1.9 统计学处理

qPCR、WB、MTS、Transwell 等实验均重复 3 次。采用 SPSS 20.0 软件进行统计数据分析, 用 GraphPad Prism 7 软件绘制图片。计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 在食管癌组织中呈高表达

qPCR 检测结果 (图 1) 显示, lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 在食管癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织 (均 $P < 0.01$), 表明 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 在食管癌组织中呈高表达。

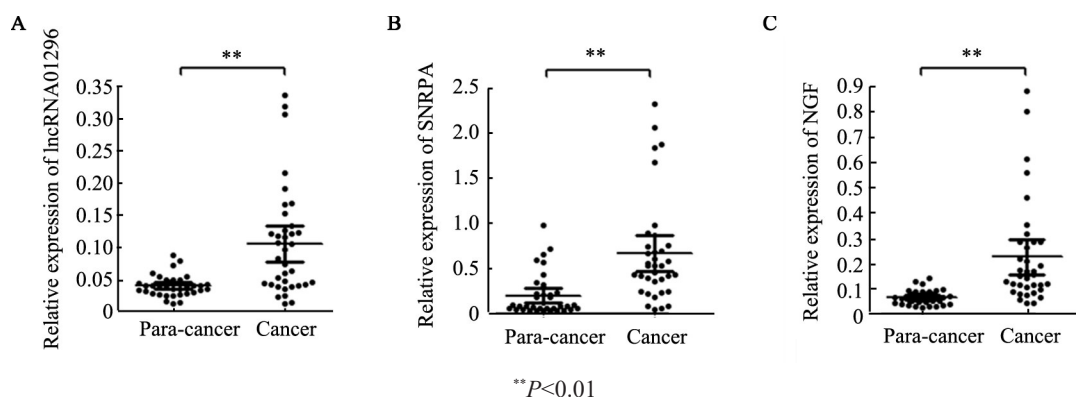


图 1 lncRNA01296 (A)、SNRPA (B) 及 NGF (C) 在食管癌组织及癌旁组织中的表达

Fig.1 Expressions of lncRNA01296 (A), SNRPA (B) and NGF (C) in esophageal cancer and para-cancerous tissues

2.2 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 在食管癌细胞系中呈高表达

qPCR 检测结果(图2)显示,lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 在食管癌细胞 ECA109、TE-1 及 TE-2 中的表达水平明显高于 HEEC(均 $P < 0.01$),表明 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF 在食管癌细胞呈高表达。另外,lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 在食管癌 TE-2 细胞中表达水平高于 ECA109、TE-1 细胞(均 $P < 0.05$),取食管癌 TE-2 细胞进行后续实验。。

2.3 重组慢病毒转染后 lncRNA01296、NGF mRNA

在干扰 1 组和干扰 2 组细胞中呈低表达

qPCR 检测结果(图3)显示,干扰 1 组和干扰 2 组 lncRNA01296、NGF mRNA 表达水平明显低于对照组(均 $P < 0.01$),而 SNRPA mRNA 表达水平与对照组无明显差异($P > 0.05$)。

2.4 敲减 lncRNA01296 表达可降低 SNRPA、NGF 蛋白的表达水平

WB 检测结果(图4)显示,干扰 1 组和干扰 2 组细胞中 SNRPA 及 NGF 蛋白表达水平明显低于对照组(均 $P < 0.01$)。

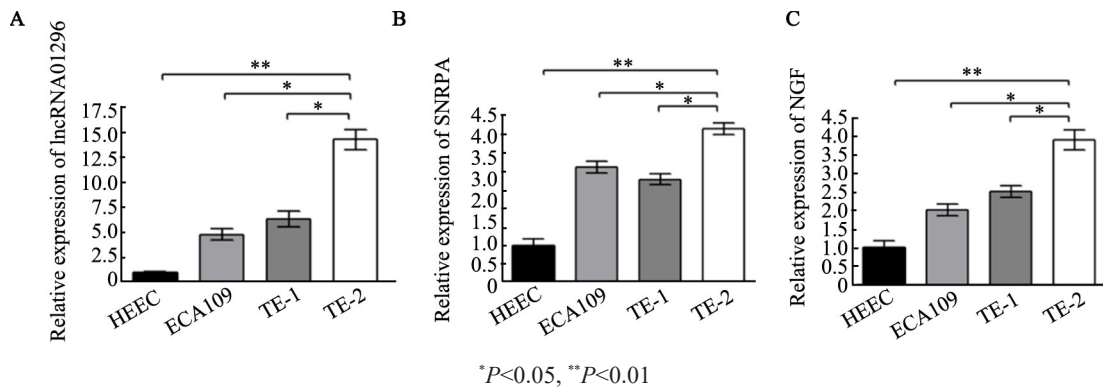


图2 lncRNA01296 (A)、SNRPA(B)及 NGF(C)在食管癌细胞系及正常食管上皮细胞中的表达
Fig. 2 Expressions of lncRNA01296 (A), SNRPA (B) and NGF (C) in esophageal cancer cell lines and normal esophageal epithelial cells

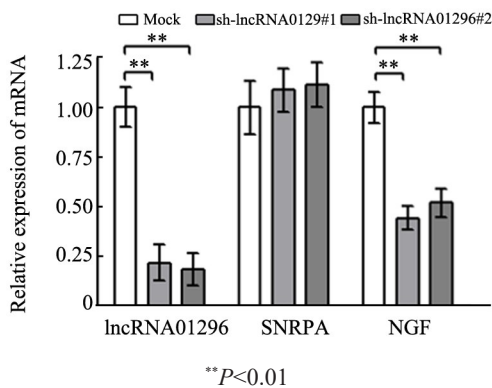


图3 重组慢病毒转染后对 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF mRNA 表达水平的影响
Fig.3 Effects of recombinant lentivirus transfection on the mRNA expressions of lncRNA01296, SNRPA and NGF

扰 1 组及干扰 2 组侵袭细胞数分别为 (72.0±6.3)、(36.6±4.3) 及 (33.9±3.7) 个, 迁移细胞数分别为 (85.2±9.9)、(47.5±8.1) 及 (43.8±6.5) 个, 干扰 1 组及干扰 2 组侵袭及迁移细胞数均显著低于对照组(均 $P < 0.01$)。

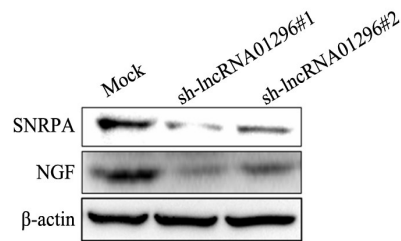


图4 敲减 lncRNA01296 对 SNRPA 及 NGF 蛋白表达水平的影响
Fig.4 The effect of lncRNA01296 knockdown on the protein expressions of SNRPA and NGF

2.5 敲减 lncRNA01296 表达可降低 TE-2 细胞增殖能力

MTS 实验检测结果(图5)显示,敲减 48、72 h 后,干扰 1 组及干扰 2 组 TE-2 细胞相对增殖能力明显低于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.6 敲减 lncRNA01296 表达可降低 TE-2 细胞侵袭和迁移能力

Transwell 实验检测结果(图6)显示,对照组、干

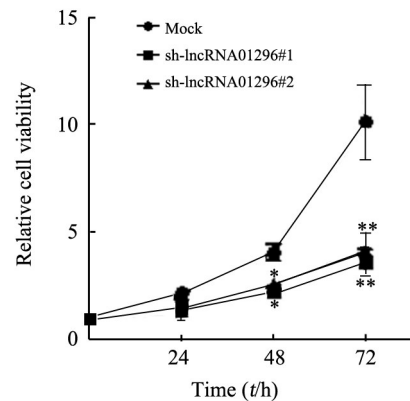
3 讨论

近来,lncRNA01296 的关键作用在各种疾病中被广泛发现,包括癌症^[10-11]。研究^[12]显示,lncRNA TTN-AS1、lncRNA CASC9 等参与食管癌的进展。一种新的癌症相关的 lncRNA01296,已被证明在几种癌症中上调,并在肿瘤发生和发展中作为致癌基因发挥作

用^[13]。lncRNA01296 上调与前列腺癌患者的不良预后密切相关, 并促进癌细胞的生长、迁移和侵袭^[14]。此外, QIU 等^[15]研究发现, lncRNA01296 可作为结直肠癌患者的潜在预后预测因子。lncRNA01296 还可通过 miR-122 / MMP-9 加重胃癌细胞进展^[16]。然而, 关于与食管癌进展相关的 lncRNA01296 的表达知之甚少。与本研究结果一致, lncRNA01296 转录在食管癌组织中相对于其对应物显著上调。此外, lncRNA01296 可视为手术后食管癌患者的独立预后预测因子^[17]。上述结果表明, lncRNA01296 可能在食管癌细胞中发挥致癌特性。

NGF 是一种神经营养因子蛋白, 它对神经元细胞的生长与分化起着调控作用^[17]。然而有证据^[18]表明, NGF 在一些非神经细胞中同样有多种活性。最近, 关于 NGF 在肿瘤进展中的作用研究很多。据报道^[19], 早期持续的 NGF 螯合可减少肿瘤诱导的骨质破坏, 维持骨癌动物的体重减轻。NGF 还通过激活 ERK/CD133 信号级联促进肿瘤细胞的 EMT 过程使胰腺癌的迁移和侵袭^[20]。研究^[8]证明, SNRPA 作为 U1 SNRNP 复合物的成员, SNRPA 的过表达增加了 NGF 水平, 并且 SNRPA 的敲低降低了 NGF 水平; 更重要的是, 敲低 NGF 可减弱

了 SNRPA 过表达对胃癌细胞增殖能力的影响, 这些结果可能意味着 NGF 在人胃癌中充当 SNRPA 的潜在下游靶标。有研究^[9]发现, SNRPA 在食管癌细胞中高表达。因此, 本研究认为 SNRPA 为食管癌中潜在的致癌基因, 其在肿瘤组织中表达升高并在体外和体内促进食管癌细胞的增殖能力。



*P<0.05, **P<0.01 vs MOCK group

图5 敲减 lncRNA01296 对 TE-2 细胞增殖能力的影响
Fig.5 Effect of lncRNA01296 knockdown on the proliferation of TE-2 cells

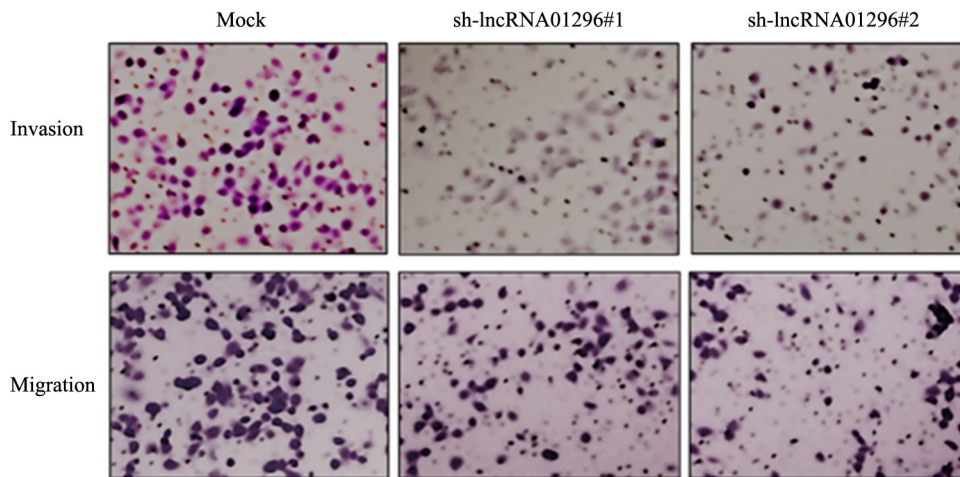


图6 敲减 lncRNA01296 对 TE-2 细胞侵袭和迁移能力的影响(×200)
Fig.6 Effect of lncRNA01296 knockdown on invasion and migration of TE-2 cells(×200)

为了明确 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF 在食管癌中的表达特征, 本研究检测了食管癌组织及细胞中的相关分子, 发现 lncRNA、SNRPA 及 NGF 均高表达于食管癌组织及细胞中, 提示 lncRNA01296 及 SNRPA 可能参与食管癌的发生发展, 且低分化的 TE-2 细胞中 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF 的表达显著高于高分化的 ECA109 细胞株, 表明 lncRNA01296、SNRPA 及 NGF 可能参与食管癌细胞的恶性转化, 但 lncRNA01296 及 SNRPA 在其中的作用机制仍然不明

确, 因此本研究通过慢病毒转染技术下调 TE-2 细胞中 lncRNA01296 的表达, 发现 SNRPA mRNA 并没有呈现出显著的变化, 但 NGF mRNA 表达呈现出显著的下调, 进而本研究检测了蛋白的表达水平, 发现 SNRPA 及 NGF 蛋白的表达水平均显著下调, 表明 lncRNA01296 可以在蛋白水平正调控 SNRPA 的表达, 从而发挥其剪接因子的作用, 促使 NGF 的产生。为了明确 lncRNA01296 对食管癌细胞转移能力是否有影响, 通过 Transwell 实验发现, 下调 lncRNA01296 后

TE-2细胞的侵袭迁移能力明显的减弱,证明了lncRNA01296对食管癌细胞存在促转移作用。

综上所述,本研究表明lncRNA01296在食管癌组织和细胞系中呈高表达,敲低lncRNA01296可抑制细胞的增殖、侵袭和迁移。此外,lncRNA01296可通过作用SNRPA促使NGF的产生,从而促使食管癌细胞增殖和迁移。上述结果表明,lncRNA01296可作为致癌基因,可能是食管癌治疗的潜在靶点,为lncRNA01296指导食管癌的临床诊治及预后提供依据。

【参考文献】

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2014[J]. *CA Cancer J Clin*, 2015, 65(1): 87-108. DOI: 10.3322/caac.20107.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21387.
- [3] CHEN Y H, LI S H, CHIU Y C, et al. Comparative study of esophageal stent and feeding gastrostomy/jejunostomy for tracheoesophageal fistula caused by esophageal squamous cell carcinoma[J/OL]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42766[2019-08-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3418295/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0042766.
- [4] XU Y, YAO Y, JIANG X M, et al. SP1-induced upregulation of lncRNA SPRY4-IT1 exerts oncogenic properties by scaffolding EZH2/LSD1/DNMT1 and sponging miR-101-3p in cholangiocarcinoma[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 81[2019-08-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5896100/>. DOI: 10.1186/s13046-018-0747-x.
- [5] JIANG Y H, FENG E H, SUN L F, et al. An increased expression of long non-coding RNA PANDAR promotes cell proliferation and inhibits cell apoptosis in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 685-691. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.08.124.
- [6] LIU J, JUNG C, XU J, et al. Genome-wide analysis uncovers regulation of long intergenic noncoding RNAs in arabidopsis[J/OL]. *Plant Cell*, 2012, 24(11): 4333-4345[2019-08-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3531837/>. DOI:10.1105/tpc.112.102855.
- [7] TAN D S W, CHONG T, LEONG S, et al. Long noncoding RNA EGFR-AS1 mediates epidermal growth factor receptor addiction and modulates treatment response in squamous cell carcinoma[J]. *Nat Med*, 2017, 23(10): 1167-1175. DOI:10.1038/nm.4401.
- [8] HAYAKAWA Y, SAKITANI K, KONISHI M, et al. Nerve growth factor promotes gastric tumorigenesis through aberrant cholinergic signaling[J/OL]. *Cancer Cell*, 2017, 31(1): 21-34[2019-08-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5225031/>. DOI: 10.1016/j.ccell.2016.11.005.
- [9] DOU N, YANG D, YUS J, et al. SNRPA enhances tumour cell growth in gastric cancer through modulating NGF expression[J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(5): e12484. DOI:10.1111/cpr.12484.
- [10] HUANG C, HU Y W, ZHAO J J, et al. Long noncoding RNA HOXC-AS1 suppresses ox-LDL-induced cholesterol accumulation through promoting HOXC6 expression in THP-1 macrophages[J]. *DNA Cell Biol*, 2016, 35(11): 722-729. DOI:10.1089/dna.2016.3422.
- [11] HU G W, WU L, KUANG W, et al. Knockdown of linc-OIP5 inhibits proliferation and migration of glioma cells through down-regulation of YAP-NOTCH signaling pathway[J]. *Gene*, 2017, 610: 24-31. DOI:10.1016/j.gene.2017.02.006.
- [12] LIN C Y, ZHANG S N, WANG Y, et al. Functional role of a novel long noncoding RNA TTN-AS1 in esophageal squamous cell carcinoma progression and metastasis[J]. *Clin Cancer Res*, 2018, 24(2): 486-498. DOI:10.1158/1078-0432.CCR-17-1851.
- [13] WU Y Y, HU L W, LIANG Y, et al. Up-regulation of lncRNA CASC9 promotes esophageal squamous cell carcinoma growth by negatively regulating PDCD4 expression through EZH2[J/OL]. *Mol Cancer*, 2017, 16(1): 150[2019-08-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5577767/>. DOI:10.1186/s12943-017-0715-7.
- [14] WU J, CHENG G, ZHANG C, et al. Long noncoding RNA lncRNA01296 is associated with poor prognosis in prostate cancer and promotes cancer-cell proliferation and metastasis[J/OL]. *Oncotargets Ther*, 2017, 10: 1843-1852[2019-08-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5376120/>. DOI: 10.2147/OTT.S129928.
- [15] QIU J J, YAN J B. Long non-coding RNA LINC01296 is a potential prognostic biomarker in patients with colorectal cancer[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(9): 7175-7183. DOI:10.1007/s13277-015-3448-5.
- [16] QIN Q H, YIN Z Q, LI Y, et al. Long intergenic noncoding RNA 01296 aggravates gastric cancer cells progress through miR-122/MMP-9[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 450-457. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.066.
- [17] WANG B, LIANG T, LI J. Long noncoding RNA LINC01296 is associated with poor prognosis in ESCC and promotes ESCC cell proliferation, migration and invasion[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(14): 4524-4531. DOI:10.26355/eurerv_201807_15507.
- [18] KAPLAND R, MILLER D. Neurotrophin signal transduction in the nervous system[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2000, 10(3): 381-391. DOI:10.1016/s0959-4388(00)00092-1.
- [19] SARIOLA H. The neurotrophic factors in non-neuronal tissues[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2001, 58(8): 1061-1066. DOI: 10.1007/PL00000921.
- [20] MCCAFFREY G, THOMPSON M L, MAJUTA L, et al. NGF blockade at early times during bone cancer development attenuates bone destruction and increases limb use[J/OL]. *Cancer Res*, 2014, 74(23): 7014-7023[2019-08-13]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4253026/>. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-1220.

【收稿日期】 2019-08-18

【修回日期】 2019-11-29

【本文编辑】 王映红