

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.03.011

· 基础研究 ·

## SNHG6通过上调ZEB1表达促进食管鳞状细胞癌TE1细胞的侵袭和转移

王梦杰<sup>1</sup>, 刘琰<sup>1</sup>, 吕微<sup>1</sup>, 田聪<sup>1</sup>, 王郁<sup>1</sup>, 赵连梅<sup>2</sup>, 刘丽华<sup>1</sup>(河北医科大学第四医院 a. 肿瘤免疫治疗科; b. 科研中心, 河北 石家庄 050035)

**[摘要]** **目的:**探究长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)核仁小分子RNA宿主基因6(small nuclear RNA host gene 6, SNHG6)促进食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)细胞侵袭和转移的作用及其分子生物学机制。**方法:**使用实时定量聚合酶链式反应(real time quantitative polymerase chain reaction, qPCR)检测36例ESCC组织及其癌旁组织(标本收集自河北医科大学第四医院2019年2月至8月外科手术的ESCC患者)中SNHG6表达水平;使用反转录聚合酶链式反应(reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR)检测ESCC细胞系(TE1、Yes-2、Eca9706和Kyse150)中SNHG6表达水平,选用SNHG6高表达的TE1细胞,通过转染SNHG6-siRNA敲低该细胞中SNHG6表达;通过集落形成实验、划痕愈合实验和Transwell侵袭实验分别检测SNHG6敲低前后TE1细胞克隆形成、迁移和侵袭能力的变化;采用蛋白质免疫印迹法(Western blotting)检测SNHG6敲低前后TE1细胞中锌指蛋白E-盒结合同源异形盒-1(zinc finger E-box binding homeobox factor 1, ZEB1)、MMP-2和MMP-9蛋白表达的变化。**结果:**SNHG6在ESCC组织和细胞系中均呈高表达状态(均 $P<0.01$ ),且在TE1细胞中高表达最为显著。转染SNHG6-siRNA后TE1细胞中SNHG6表达水平显著降低( $P<0.01$ ),si-SNHG6-1和si-SNHG6-2组TE1细胞的克隆形成、迁移和侵袭能力均显著低于对照组(均 $P<0.01$ ),两组细胞中MMP-2、MMP-9和ZEB1表达水平均显著低于对照组(均 $P<0.05$ )。**结论:**ESCC组织中呈高表达的SNHG6可促进TE1细胞的恶性生物学行为,其机制可能涉及ZEB1表达的上调。

**[关键词]** 食管鳞状细胞癌;核仁小RNA宿主基因6;锌指蛋白E-盒结合同源异形盒-1;侵袭;转移

**[中图分类号]** R735.7;R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)03-0282-07

## SNHG6 promotes invasion and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma TE1 cells via upregulating ZEB1

WANG Mengjie<sup>1</sup>, LIU Yan<sup>1</sup>, LYU Wei<sup>1</sup>, TIAN Cong<sup>1</sup>, WANG Yu<sup>1</sup>, ZHAO Lianmei<sup>2</sup>, LIU Lihua<sup>1</sup>(a. Department of Tumor Immunotherapy; b. Research Center, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

**[Abstract] Objective:** To explore the roles and mechanisms of long non-coding RNA (lncRNA) small nucleolar RNA host gene 6 (SNHG6) in promoting invasion and metastasis of esophageal squamous carcinoma (ESCC). **Methods:** Real time quantitative polymerase chain reaction (qPCR) was used to detect the expression of SNHG6 in ESCC and matched para-carcinoma tissues. Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) was performed to detect the expression of SNHG6 in ESCC cell lines (TE1, Yes-2, Eca9706 and Kyse150). Then, TE1 cell line which harbored highest expression of SNHG6 was used in following experiments. siRNAs were used to knock down the expression of SNHG6. Clone formation, wound-healing and transwell assay were used to detect the abilities of proliferation, migration and invasion of TE1 cells, respectively. Western blotting was used to detect the expressions of MMP-2, MMP-9 and ZEB1 protein before and after knockdown of SNHG6 in TE1 cells. **Results:** SNHG6 was highly expressed in ESCC tissues, compared to para-carcinoma tissues ( $P<0.01$ ). The expression of SNHG6 was significantly decreased after transfection of SNHG6-siRNA (all  $P<0.01$ ). The abilities of proliferation, migration and invasion of TE1 cells in si-SNHG6-1 and si-SNHG6-2 group were significantly lower than those in the control group (all  $P<0.01$ ). The expressions of ZEB1, MMP-2 and MMP-9 in si-SNHG6-1 and si-SNHG6-2 group were significantly lower than those in the control group (all  $P<0.05$ ). **Conclusion:** SNHG6 is highly expressed in ESCC tissues and promotes the malignant biological behavior of ESCC cells. Its mechanism of promoting the occurrence and

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(No. 81871894)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81871894)

**[作者简介]** 王梦杰(1994-),女,硕士生,主要从事肿瘤免疫治疗的基础与临床研究,E-mail:384315379@qq.com

**[通信作者]** 刘丽华(LIU Lihua, corresponding author),博士,教授,博士生导师,主要从事肿瘤免疫学、肿瘤分子生物学、肿瘤表观遗传学和肿瘤综合治疗研究,E-mail:lihualiu567@hotmail.com

development of ESCC may be related to the upregulation of ZEB1 expression.

**[Key words]** esophageal squamous cell carcinoma; small nucleolar RNA host gene 6 (SNHG6); zinc finger E-box binding homeobox factor 1 (ZEB1); invasion; metastasis

[Chin J Cancer Biother, 2019, 27(3): 282-288. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2020.03.011]

食管癌是最常见的消化道恶性肿瘤之一,世界上约50%的食管癌发生在我国<sup>[1]</sup>。我国食管癌患者90%以上的病理类型为鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC),具有高侵袭及转移性的特点<sup>[2,3]</sup>。患者确诊时常处于ESCC中晚期,预后不良,故寻找与ESCC发生发展密切相关的生物标志物,深入了解ESCC侵袭转移机制并给予逆转治疗,是提高ESCC患者预后的关键<sup>[4]</sup>。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是指一类长度大于200个核苷酸且不具有蛋白编码能力的RNA分子,其异常表达可作为癌基因或抑癌基因参与肿瘤细胞侵袭转移等病理生理过程<sup>[5]</sup>。核仁小分子RNA宿主基因6(small nuclear RNA host gene 6, SNHG6)作为lncRNA家族中的一员能够促进乳腺癌<sup>[6]</sup>、肺腺癌<sup>[7]</sup>和结直肠癌<sup>[8]</sup>等癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力,但SNHG6在ESCC发生发展中的作用及其分子生物学机制尚待深入研究。

上皮来源的肿瘤(包括ESCC)转移是由多种因素调节的多步骤过程,锌指蛋白E-盒结合同源异形盒-1(zinc finger E-box binding homeobox factor 1, ZEB1)是上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的关键因子,有助于各种上皮肿瘤的恶性进展<sup>[9]</sup>。研究表明<sup>[10]</sup>,ESCC中ZEB1的高表达与较晚的肿瘤TNM分期和阳性淋巴结转移密切相关。本研究采用qPCR和RT-PCR检测ESCC组织及细胞系中lncRNA SNHG6的表达,通过体外实验观察SNHG6表达变化对ESCC细胞恶性生物学行为的影响,探索其促进ESCC侵袭和转移的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 ESCC组织标本和细胞系

ESCC组织及对应的癌旁组织取自于2019年2月至2019年8月在河北医科大学第四医院行手术治疗的36例ESCC患者,所有患者术前均未行放疗、化疗、免疫治疗等抗肿瘤治疗,术后均经病理检查确诊。本研究方案通过河北医科大学第四医院伦理委员会审查批准,且所有患者均签署知情同意书。ESCC细胞(TE1、Yes-2、Eca9706和Kyse150)系储存于河北医科大学第四医院科研中心,培养于RPMI 1640培养基[含10%胎牛血清、青霉素(100 U/ml)、链霉素(100 μg/ml)]中,置于37℃、CO<sub>2</sub>体积分数为

5%的细胞培养箱中,根据细胞生长状态及时换液或传代,取对数生长期的细胞用于后续实验。

### 1.2 主要试剂

实验所需的RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司,胎牛血清购自美国Gemini公司,胰蛋白酶、总RNA提取试剂TRIzol、反转录试剂盒购自美国Thermo公司,转染试剂Lipofectamine™2000购自美国Invitrogen公司,Transwell小室、Matrigel胶均购自美国Corning公司,兔抗人ZEB1抗体、MMP-2抗体、MMP-9抗体、山羊抗兔二抗购自Abcam公司,SNHG6引物由上海英维捷基公司合成。

### 1.3 qPCR及RT-PCR检测ESCC组织、癌旁组织及细胞系中SNHG6表达水平

按照TRIzol试剂说明书的操作步骤提取ESCC组织、癌旁组织及细胞系的总RNA,采用紫外分光光度计测量其含量及纯度,参照反转录试剂盒说明书步骤将RNA反转录为cDNA,反转录反应条件:25℃5min,42℃60min,70℃5min。之后以该cDNA为模板,进行PCR扩增。引物序列:SNHG6上游引物为5'-TTAGTCATGCCGGTGTGGTG-3',下游引物为5'-AATACATGCCGCGTGATCCT-3'。GAPDH上游引物为5'-ACCACAGTCCATGCCATCACT-3',下游引物为5'-TCCACCACCCTGTTGCTGTA-3'。cDNA扩增条件:95℃预变性10min;95℃变性15s、58℃退火30s、72℃延伸30s,共进行35个循环;最后,72℃延伸5min。使用qPCR仪对SNHG6在基因的表达水平进行实时荧光定量分析,以GAPDH作参照。同时,取8μl PCR产物在2%琼脂糖凝胶板上电泳(120V,60mA,30min),采用Gel-pro analysis 3.1系统进行照相扫描及灰度值分析,以目的基因条带灰度值与GAPDH条带灰度值之比作为SNHG6相对表达水平。实验重复3次。

### 1.4 转染SNHG6-siRNA敲低ESCC细胞中SNHG6表达

将TE1细胞接种于六孔板中培养,待细胞生长汇合至80%~90%时,按照Lipofectamine™2000说明书进行转染。分为4组:si-SNHG6-1、si-SNHG6-2、si-SNHG6-3组以及对照组(细胞不予任何处理),转染24h后采用qPCR法检测转染效率,取转染效率较高的两组细胞进行后续实验。

### 1.5 集落形成实验测定TE1细胞集落形成能力

分别取对照组和转染效率较高的两组细胞

(si-SNHG6-1, si-SNHG6-2)接种于6孔板中,调整细胞密度为 $1 \times 10^3$ 个/孔。常规培养2~3周后进行固定染色,在显微镜下计数大于50个细胞的克隆数,计算克隆形成率。实验重复3次。

#### 1.6 划痕愈合实验测定TE1细胞迁移能力

取上述细胞接种在6孔板中,调整细胞密度为 $5 \times 10^5$ 个/孔,当细胞汇合至80%时,用无菌微量移液管尖端在每个培养板上刮擦细胞层来制备划痕伤口,将培养基替换为无血清培养基,分别于0、12、24 h,在倒置显微镜下记录相同划痕位置的划痕图像。实验重复3次。

#### 1.7 Transwell侵袭实验测定TE1细胞侵袭能力

Transwell小室上层预铺50  $\mu$ l基质胶,取上述细胞 $5 \times 10^4$ 个接种在Transwell上室的不含胎牛血清的200  $\mu$ l RPMI 1640培养基中,将含有10%胎牛血清的500  $\mu$ l RPMI 1640培养基置于下室中。温育24 h,取出小室将下侧的细胞固定,结晶紫染色后计数。

#### 1.8 Western blotting检测SNHG6敲低前后TE1细胞中ZEB1、MMP-2和MMP-9蛋白表达水平

将上述细胞培养48 h后,提取各组细胞的蛋白,用BCA法定量,各取含30  $\mu$ g总蛋白样品。用10%

SDS-PAGE分离蛋白后转移至PVDF膜,用5%脱脂奶粉室温封闭,加相应兔抗人ZEB1、MMP-2、MMP-9一抗及山羊抗兔二抗。Quantity One 4.6软件分析图像,以GAPDH为内参,用其与各个检测蛋白条带的灰度值之比表示蛋白的相对表达量。

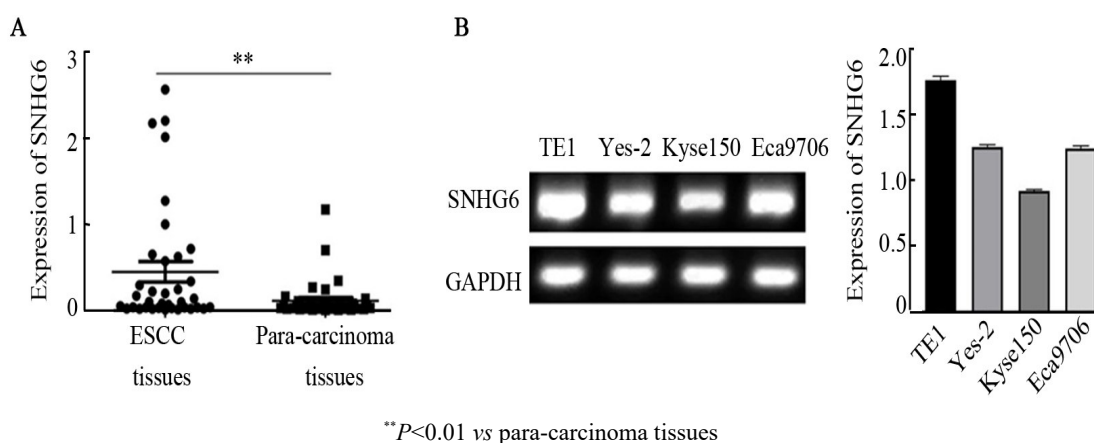
#### 1.9 统计学处理

采用SPSS 23.0统计软件,正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示,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 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SNHG6在ESCC组织及细胞系中呈高表达

为探究SNHG6对ESCC的作用,首先检测SNHG6在36例ESCC组织及对应癌旁组织中的表达情况。qPCR结果显示(图1A),SNHG6在ESCC组织中的表达水平明显高于癌旁组织( $t=2.709, P < 0.01$ )。通过RT-PCR检测ESCC细胞系TE1、Yes-2、Eca9706和Kyse150中的SNHG6的表达情况,结果显示(图1B),ESCC细胞系中TE1细胞的SNHG6表达相对较高,选择最高表达的TE1细胞进行后续实验。



A: Expression of SNHG6 in ESCC and para-carcinoma tissues; B: Expression of SNHG6 in ESCC cell lines

图1 SNHG6在ESCC中的表达情况

Fig.1 Expression of SNHG6 in ESCC

### 2.2 转染SNHG6-siRNA可敲低SNHG6表达

为探讨SNHG6在ESCC中的作用,首先在TE1细胞中转染SNHG6-siRNA以敲低SNHG6表达。结果如图2所示,与对照组相比,转染SNHG6-siRNA组SNHG6表达水平显著降低( $t=9.576、17.75、7.518$ ,均 $P < 0.01$ ),提示基因水平上敲低成功,且si-SNHG6-1及si-SNHG6-2组的敲低效率较高。

### 2.3 敲低SNHG6表达对TE1细胞克隆形成、迁移和侵袭能力的影响

为探讨SNHG6对TE1细胞恶性生物学行为的影

响,观察si-SNHG6转染对TE1细胞的增殖、迁移和侵袭能力的影响。集落形成实验(图3)结果显示,si-SNHG6-1和si-SNHG6-2组的细胞集落形成率显著低于对照组( $t=10.15、8.05$ ,均 $P < 0.01$ );细胞划痕实验结果(图4)显示,si-SNHG6-1和si-SNHG6-2组TE1细胞迁移能力显著低于对照组( $t=11.93、11.46$ ,均 $P < 0.01$ );Transwell实验结果(图5)显示,si-SNHG6-1和si-SNHG6-2组TE1细胞的侵袭能力显著低于对照组( $t=19.25、132.6$ ,均 $P < 0.01$ )。综上,敲低SNHG6表达显著抑制TE1细胞的克隆形成、迁移及侵袭能力。



2.4 敲低SNHG6表达对TE1细胞中ZEB1、MMP-2和MMP-9表达的影响

为了进一步研究SNHG6促进TE1细胞侵袭和转移的机制,采用Western blotting分别检测了对照与si-SNHG6-1和si-SNHG6-2组TE1细胞中ZEB1、MMP-2和MMP-9的表达水平,Western blotting结果(图6)显示,si-SNHG6-1和si-SNHG6-2组MMP-2( $t=12.52, 20.32$ , 均 $P<0.01$ )、MMP-9( $t=4.40, 38.64$ , 均 $P<0.05$ )和ZEB1( $t=9.662, 7.973$ , 均 $P<0.05$ )表达水平均显著低于对照组。说明敲低SNHG6显著抑制TE1细胞侵袭和转移的机制与其下调ZEB1、MMP-2和MMP-9的表达有关。

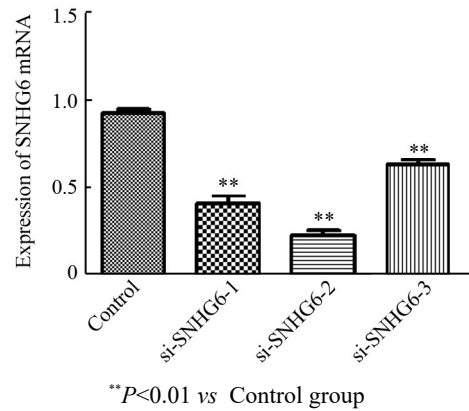


图2 转染SNHG6-siRNA敲低TE1细胞SNHG6 mRNA表达  
Fig.2 Transfection of SNHG6-siRNA knocked down SNHG6 mRNA expression in TE1 cells

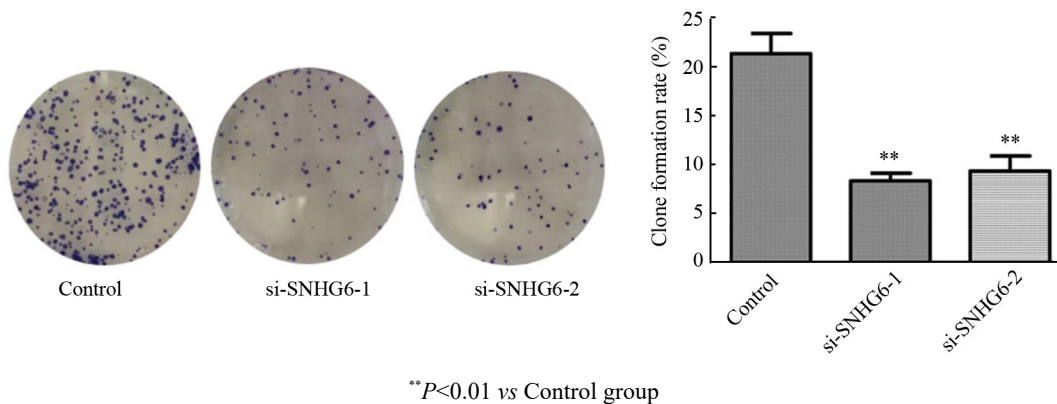


图3 敲低SNHG6表达抑制TE1细胞克隆形成能力  
Fig.3 Knockdown of SNHG6 inhibited the clone formation ability of TE1 cells

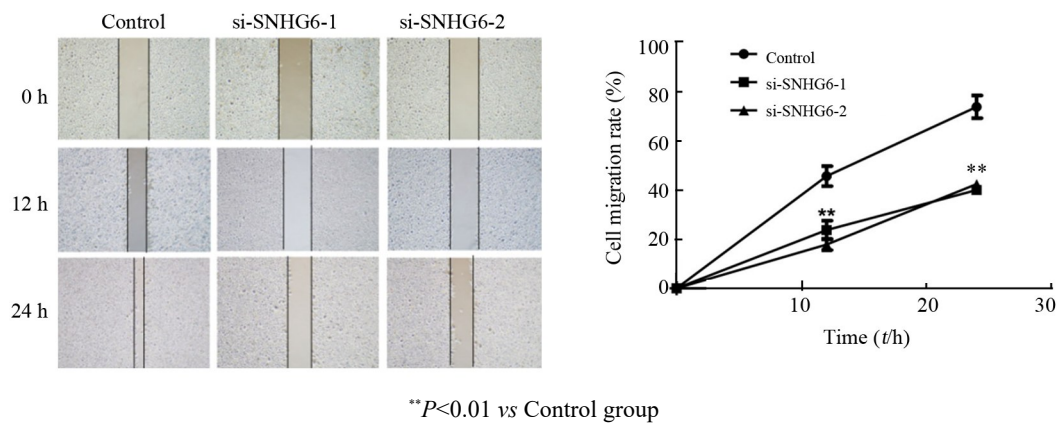


图4 敲低SNHG6表达抑制TE1细胞迁移能力( $\times 4$ )  
Fig.4 Knockdown of SNHG6 inhibited the migration ability of TE1 cells( $\times 4$ )

3 讨论

lncRNA是指一类长度大于200个核苷酸且不具有蛋白编码能力的RNA分子<sup>[11]</sup>,最初被认为是RNA聚合酶II转录的副产物,是基因组转录的“噪声”,没有任何生物学功能。近年来多项研究证实,lncRNA

虽然不具有编码能力,但能够参与包括染色质重塑、细胞周期、可变剪接、mRNA降解等基因调控过程,广泛涉及机体生理和病理过程<sup>[12]</sup>。lncRNA的失调与恶性肿瘤的发生发展密切相关。lncRNA可作为抑癌基因或癌基因发挥作用,具备成为肿瘤标志物和治疗靶点的临床应用潜力<sup>[13]</sup>。

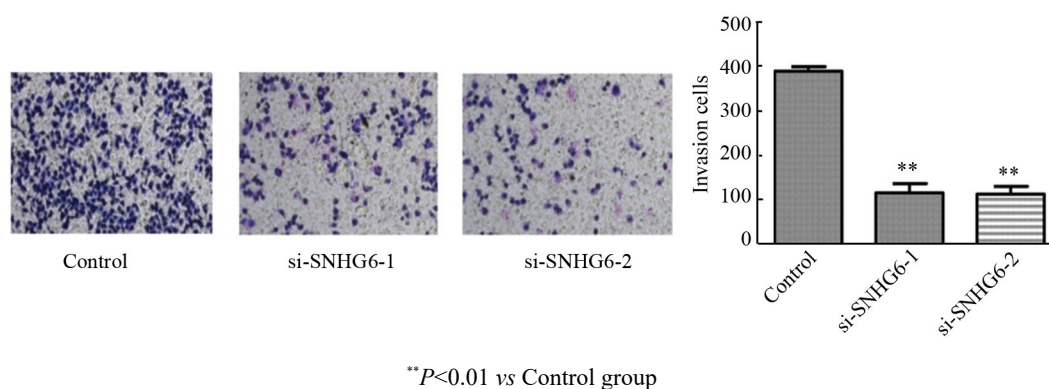


图5 敲低SNHG6表达抑制TE1细胞侵袭能力(×10)

Fig.5 Knockdown of SNHG6 inhibited the invasion ability of TE1 cells(×10)

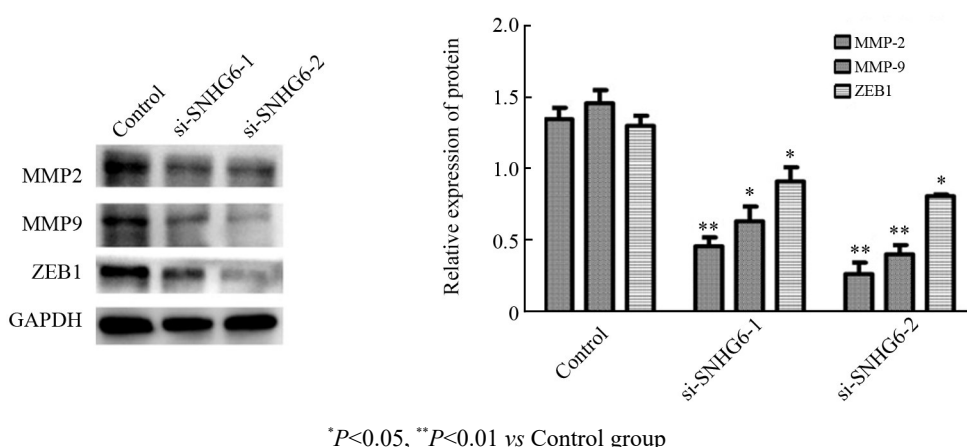


图6 敲低SNHG6表达下调TE1细胞中ZEB1、MMP-2和MMP-9的表达

Fig.6 Knockdown of SNHG6 expression down-regulated ZEB1, MMP-2 and MMP-9 expression in TE1 cells

SNHG6是位于染色体8q13.1上的lncRNA,与多种肿瘤的发生发展密切相关<sup>[14]</sup>。在乳腺癌中,SNHG6通过调控miR-26a-5p/MAPK6轴提高其增殖、迁移和侵袭能力<sup>[15]</sup>;在肺腺癌中,SNHG6通过吸附miR-26a-5p调节E2F7的表达<sup>[16]</sup>;在结肠癌中,SNHG6还可通过抑制P53表达促进肿瘤细胞的增殖、迁移和侵袭<sup>[17]</sup>。已有研究<sup>[18]</sup>证实,SNHG6与ESCC患者的淋巴结转移、远处转移、TNM分期和不良预后密切相关,但其作用机制仍不明确。本研究首先检测了SNHG6在ESCC组织及对应癌旁组织中的表达情况,RT-PCR结果显示SNHG6在ESCC组织中呈高表达状态。同时,检测ESCC细胞系中的表达情况,选择表达最高的TE1细胞进行细胞生物学功能研究。为探讨SNHG6对ESCC细胞恶性生物学行为的影响,在TE1细胞中转染特异siRNA以敲低SNHG6表达。细胞功能实验结果显示,敲低SNHG6表达可以显著抑制TE1细胞的克隆形成、迁移和侵袭能力,表明SNHG6作为促癌基因参与ESCC的发生发展。

MMPs(包括MMP-2及MMP-9)是一类钙依赖性含锌内肽酶的大家族,包括胶原蛋白、弹性蛋白、明

胶酶、基质糖蛋白和蛋白多糖。MMPs通过降解细胞外基质成分促进血管生成,增强肿瘤细胞迁移和侵袭周围基质的能力<sup>[19]</sup>。已有研究表明,MMP-2及MMP-9的高表达促进鼻咽癌<sup>[20]</sup>、非黑色素瘤<sup>[21]</sup>、肾细胞癌<sup>[22]</sup>的侵袭,诱导细胞EMT发生,与患者不良预后密切相关。本研究Western blotting结果显示,敲低SNHG6后TE1细胞的MMP-2和MMP-9表达水平显著下调,表明SNHG6对ESCC细胞的侵袭和转移至关重要。

EMT是指细胞经历从极化的上皮表型到高度运动的非极化间质表型的分子转换,上皮肿瘤发生EMT后产生高度侵袭和转移性的癌细胞群<sup>[23-24]</sup>。ZEB1作为EMT激活分子,促进肿瘤进展的主要驱动因素<sup>[25-26]</sup>。研究表明,ZEB1在肺腺癌<sup>[27]</sup>、乳腺癌<sup>[28]</sup>、结直肠癌<sup>[29-30]</sup>等恶性肿瘤中均与发展和转移密切相关。已有研究证明SNHG6通过激活TGF-β/Smad信号通路而上调ZEB1表达,诱导EMT发生,促进结直肠癌的发生和转移<sup>[31]</sup>。本实验在ESCC细胞中展开SNHG6对ZEB1调控作用的研究,Western blotting结果显示,敲低TE1细胞中SNHG6表达后,ZEB1表达显著降低,说明在ESCC中SNHG6与ZEB1的表达

密切相关, SNHG6通过上调ZEB1的表达促进ESCC侵袭和转移。

综上, 本研究通过体外实验证明lncRNA SNHG6促进ESCC细胞的克隆形成、迁移和侵袭能力, 推测其通过上调ZEB1表达诱导肿瘤细胞EMT发生而促进ESCC的侵袭和转移, 为ESCC转移机制的深入研究及临床治疗提供新的潜在靶点。

#### [参 考 文 献]

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2020 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21590. Epub 2020 Jan 8.
- [2] ZHANG Y G, LI C, CHEN M. Prognostic value of immunohistochemical factors in esophageal small cell carcinoma (ESCC): analysis of clinicopathologic features of 73 patients[J]. *J Thorac Dis*, 2018, 10(7): 4023-4031. DOI: 10.21037/jtd.2018.06.26.
- [3] NG H Y, LI J, TAO L, et al. Chemotherapeutic treatments increase PD-1 expression in esophageal squamous cell carcinoma through EGFR/ERK activation[J]. *Transl Oncol*, 2018, 11(6): 1323-1333. DOI: 10.1016/j.tranon.2018.08.005.
- [4] HUANG X Y, HONG C Q, PENG Y H, et al. The diagnostic value of serum igfbp7 in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *J Cancer*, 2019, 10(12): 2687-2693. DOI: 10.7150/jca.32393. eCollection 2019.
- [5] KAZIMIERCZYK M, KASPROWICZ M K, KASPRZYK M E, et al. Human long noncoding rna interactome: detection, characterization and function[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3): 1027. DOI: 10.3390/ijms21031027.
- [6] LI K, Ma Y B, TIAN Y H, et al. Silencing lncRNA SNHG6 suppresses proliferation and invasion of breast cancer cells through miR-26a/VASP axis[J]. *Pathol Res Pract*, 2019, 215(10): 152575. DOI: 10.1016/j.prp.2019.152575.
- [7] LIANG R, XIAO G, WANG M, et al. SNHG6 functions as a competing endogenous RNA to regulate E2F7 expression by sponging miR-26a-5p in lung adenocarcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1434-1446. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.08.099.
- [8] ZHU Y, XING Y, CHI F, et al. Long noncoding RNA SNHG6 promotes the progression of colorectal cancer through sponging miR-760 and activation of FOXC1[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 5743-5752. DOI: 10.2147/OTT.S170246.
- [9] SHEN J, HONG L, YU D, et al. LncRNA XIST promotes pancreatic cancer migration, invasion and EMT by sponging miR-429 to modulate ZEB1 expression[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2019, 113: 17-26. DOI: 10.1016/j.biocel.2019.05.021.
- [10] YANG X Z, WANG Q, DAI W J, et al. Overexpression of zinc finger E-box binding homeobox factor 1 promotes tumor invasiveness and confers unfavorable prognosis in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(12): 11977-11984. DOI: 10.1007/s13277-014-2494-8.
- [11] YAO J, SHEN X, LI H, et al. LncRNA-ECM is overexpressed in esophageal squamous cell carcinoma and promotes tumor metastasis [J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(3): 3935-3942. DOI: 10.3892/ol.2018.9130.
- [12] ENGREITZ J M, PANDYA-JONES A, MCDONEL P, et al. The Xist lncRNA exploits three-dimensional genome architecture to spread across the X chromosome[J]. *Science*, 2013, 341(6147): 1237973. DOI: 10.1126/science.1237973.
- [13] MERCER T R, DINGER M E, MATTICK J S. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3): 155-159.
- [14] ZHAO S, ZHU H, JIAO R, et al. Prognostic and clinicopathological significance of SNHG6 in human cancers: a meta-analysis[J]. *BMC Cancer*, 2020, 20(1): 77. DOI: 10.1186/s12885-020-6530-3.
- [15] LV P W, QIU X G, GU Y T, et al. Long non-coding RNA SNHG6 enhances cell proliferation, migration and invasion by regulating miR-26a-5p/MAPK6 in breast cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 110: 294-301. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.11.016.
- [16] LIANG R, XIAO G, WANG M, et al. SNHG6 functions as a competing endogenous RNA to regulate E2F7 expression by sponging miR-26a-5p in lung adenocarcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 107: 1434-1446. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.08.099.
- [17] LI Z, QIU R, QIU X, et al. SNHG6 promotes tumor growth via repression of P21 in colorectal cancer[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(2): 463-478. DOI: 10.1159/000492986.
- [18] ZHANG Y L, LI R J, DING X L, et al. Upregulation of long non-coding RNA SNHG6 promote esophageal squamous cell carcinoma cell malignancy and its diagnostic value[J]. *Am J Transl Res*, 2019, 11(2): 1084-1091. eCollection 2019.
- [19] KAPOOR C, VAIDYA S, WADHWAN V, et al. Seesaw of matrix metalloproteinases (MMPs)[J]. *J Cancer Res Ther*, 2016, 12(1): 28-35. DOI: 10.4103/0973-1482.157337.
- [20] LI S Y, LUO W R. Matrix metalloproteinase 2 contributes to aggressive phenotype, epithelial-mesenchymal transition and poor outcome in nasopharyngeal carcinoma[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 5701-5711. DOI: 10.2147/OTT.S202280. eCollection 2019.
- [21] O'GRADY A, DUNNE C, O'KELLY P, et al. Differential expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 and tissue inhibitor of metalloproteinase (TIMP)-1 and TIMP-2 in non-melanoma skin cancer: implications for tumour progression[J]. *Histopathology*, 2007, 51(6): 793-804. DOI: 10.1111/j.1365-2559.2007.02885.x.
- [22] KALLAKURY B V, KARIKEHALI S, HAHOLU A, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 and tissue inhibitors of metalloproteinases 1 and 2 correlate with poor prognostic variables in renal cell carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2001, 7(10): 3113-3319. PMID: 11595703.
- [23] YANG J, WEINBERG R A. Epithelial-mesenchymal transition: at the crossroads of development and tumor metastasis[J]. *Dev Cell*, 2008, 14(6): 818-829. DOI: 10.1016/j.devcel.2008.05.009.
- [24] KREBS A M, MITSCHKE J, LASIERRA L M, et al. The EMT-activator Zeb1 is a key factor for cell plasticity and promotes metastasis in pancreatic cancer[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(5): 518-529. DOI: 10.1038/ncb3513.
- [25] VANDEWALLE C, VAN ROY F, BERX G. The role of the ZEB family of transcription factors in development and disease[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2009, 66(5): 773-787. DOI: 10.1007/s00018-008-8465-8.
- [26] HILL L, BROWNE G, Tulchinsky E. ZEB/miR-200 feedback loop: at the crossroads of signal transduction in cancer[J]. *Int J Cancer*,

- 2013, 132(4): 745-754. DOI: 10.1002/ijc.27708.
- [27] ZHONG Y, WANG J, LV W, et al. LncRNA TTN-AS1 drives invasion and migration of lung adenocarcinoma cells via modulation of miR-4677-3p/ZEB1 axis[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(10): 17131-17141. DOI: 10.1002/jcb.28973.
- [28] LIU H, WEN T, ZHOU Y, et al. DCLK1 plays a metastatic-promoting role in human breast cancer cells[J]. *Biomed Res Int*, 2019, 2019: 1061979. DOI: 10.1155/2019/1061979.
- [29] TAO L, ZHU Y J, GU Y, et al. ARHGAP25: A negative regulator of colorectal cancer (CRC) metastasis via the Wnt/beta-catenin pathway[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 858: 172476. DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172476.
- [30] 熊伟, 张洪涛, 杨之斌, 等. LncRNA HCG11 通过调控 miR-144-3p/ZEB1 分子轴影响直肠癌的发生及转移[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(2): 173-181. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2019.02.006.
- [31] WANG X K, LAI Q H, HE J, et al. LncRNA SNHG6 promotes proliferation, invasion and migration in colorectal cancer cells by activating TGF-beta/Smad signaling pathway via targeting UPF1 and inducing EMT via regulation of ZEB1[J]. *Int J Med Sci*, 2019, 16(1): 51-59. DOI: 10.7150/ijms.27359. eCollection 2019.

[收稿日期] 2019-12-14

[修回日期] 2020-02-16

[本文编辑] 韩丹