

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.07.007

· 临床研究 ·

TGF- β 诱导的linc01503促进食管鳞状细胞癌细胞的增殖、侵袭及EMT过程

郭艳丽, 牛云峰, 梁晓亮, 郭炜, 沈素朋, 梁佳, 董稚明(河北医科大学第四医院 河北省肿瘤研究所, 河北 石家庄 050011)

[摘要] **目的:**探讨长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)linc01503在食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell cancer, ESCC)组织和细胞中的表达及其对ESCC细胞增殖、侵袭及上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的影响。**方法:**选取2012年1月至2014年12月河北医科大学第四医院收治的119例ESCC患者的癌及癌旁组织标本,应用qPCR法检测ESCC组织及ESCC细胞系(Ky5e150、Ky5e170、Eca109、TE1和TE13)中linc01503的表达水平;分别用pGPU6-shRNA-linc01503转染、TGF- β 1处理ESCC细胞,用qPCR法检测转染前后EMT相关基因及处理前后linc01503表达的变化,用MTS及Transwell小室法检测linc01503对ESCC细胞增殖及侵袭的影响。**结果:**linc01503在ESCC组织和细胞系中高表达(均 $P<0.05$),ESCC组织中linc01503高表达与患者淋巴结转移、浸润深度、TNM分期有关联,并与生存期密切相关(均 $P<0.05$)。TGF- β 处理促进ESCC细胞的EMT过程,同时诱导linc01503表达明显上调。linc01503敲低明显抑制细胞的增殖及侵袭能力(均 $P<0.05$),同时明显增加了E-cadherin的表达而降低了N-cadherin、vimentin基因的表达(均 $P<0.05$)。**结论:**linc01503作为TGF- β 的下游效应基因之一,促进了ESCC细胞的增殖、侵袭及EMT过程。

[关键词] 食管鳞状细胞癌;长链非编码RNA linc01503;转化生长因子- β ;增殖;侵袭;上皮间质转化

[中图分类号] R735.1;R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)07-0764-06

TGF- β induced lncRNA linc01503 promotes proliferation, invasion and EMT process of esophageal squamous cell carcinoma cells

GUO Yanli, NIU Yunfeng, LIANG Xiaoliang, GUO Wei, SHEN Supeng, LIANG Jia, DONG Zhiming (Hebei Cancer Institute, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei, China)

[Abstract] Objective: To investigate the expression of lncRNA linc01503 in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) tissues and cell lines, as well as its effect on the proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transition (EMT) of ESCC cells. **Methods:** A total of 119 pairs of tumor tissues and corresponding para-cancerous tissues of ESCC patients were obtained from the Fourth Affiliated Hospital of Hebei Medical University between Jan. 2012 and Dec. 2014. The expression of linc01503 in ESCC tissues and cell lines (Ky5e150, Ky5e170, Eca109, TE1 and TE13) was detected by qPCR. The ESCC cells were transfected with pGPU6-shRNA-linc01503 or treated with TGF- β . The expressions of EMT related genes before and after transfection as well as linc01503 expression before and after TGF- β treatment were detected with qPCR. MTS and Transwell assay were performed to assess the effect of linc01503 on proliferation and invasion of ESCC cells. **Results:** The expression of linc01503 was significantly elevated in ESCC tissues and cell lines (all $P<0.05$). High expression of linc01503 was correlated with lymph node metastasis, depth of infiltration, TNM stage and the survival of ESCC patients (all $P<0.05$). Treatment with TGF- β promoted EMT of ESCC cells and induced a significant up-regulation of linc01503 expression. Knockdown of linc01503 significantly inhibited proliferation and invasion ability of ESCC cells; Meanwhile, the low expression of linc01503 increased the expression of E-cadherin but decreased the expressions of N-cadherin and vimentin (all $P<0.05$). **Conclusion:** lncRNA linc01503, as one of the downstream effect genes of TGF- β , promotes the proliferation, invasion and EMT process of ESCC cells.

[Key words] esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); long non-coding RNA linc01503 (lncRNA linc01503); transforming growth factor β (TGF- β); proliferation; invasion; epithelial-mesenchymal transition (EMT)

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(7): 764-769. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.07.007]

[基金项目] 河北省自然科学基金资助项目(No. H2019206664);河北省医学科学研究重点课题计划项目(No. 20170698);河北省人才工程培养资助项目(No.201901035)。Project supported by the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. H2019206664), the Key Project of Medical Science Research in Hebei Province (No. 20170698), and the Talent Engineering Training Project of Hebei Province (No. 201901035)

[作者简介] 郭艳丽(1980-),女,博士,副主任医师,主要从事肿瘤病因学研究,E-mail: yanli800224@163.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研究,E-mail: dongzhiming2000@163.com

长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)是一类缺少完整开放阅读框、长度为200~100 000 nt的非编码RNA^[1-2]。全基因组转录组学分析显示, lncRNA在多种人类肿瘤中异常表达,可作为癌基因或抑癌基因参与肿瘤的发生和发展,也可作为预测肿瘤侵袭和转移的潜在生物标志物^[3-6]。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是指具有极性的上皮细胞在形态学上发生向具有活动能力的间充质细胞表型转变,并获得侵袭和迁移能力的过程。EMT在肿瘤细胞转移扩散的早期事件中起着至关重要的作用^[7-9]。有研究^[10]认为,转化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)处理可诱导细胞发生EMT并促进肿瘤细胞的转移。为明确TGF- β 信号诱导EMT过程的下游效应基因,本研究根据先前文献^[10]报道的方法,应用TGF- β 处理ESCC Eca109细胞,并应用SBC-ceRNA(人4 \times 180 k)芯片筛选TGF- β 处理前后差异表达基因,发现linc01503在TGF- β 处理后表达水平明显上调,可能是TGF- β 作用的下游效应基因之一。本研究拟探讨TGF- β 诱导的linc01503在ESCC中的作用及其对EMT过程的影响,旨在阐明linc01503作为TGF- β 信号下游效应基因通过诱导EMT过程促进了ESCC细胞的侵袭与转移。

1 资料与方法

1.1 研究对象和主要试剂

选取2012年1月至2014年12月河北医科大学第四医院收治的119例ESCC患者的临床资料,全部患者术前均未经化疗和放疗。其中,临床分期依据美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)、国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)标准,肿瘤病理分级依据世界卫生组织(World Health Organization, WHO)标准。每例患者均取癌组织原发灶及距癌组织边缘2~5 cm处的癌旁组织,手术切除标本一部分保存在-80 $^{\circ}$ C低温冰箱用于提取RNA,另一部分进行石蜡包埋,常规H-E染色,经病理医师确诊为ESCC,癌旁组织均为正常黏膜组织。119例ESCC患者全部进行了随访,共有11人失访。所有入选患者术前均签署知情同意书,研究方案经所在医院伦理委员会批准。

ESCC细胞系Kyse150、Kyse170、Eca109、TE1和TE13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。TGF- β 1购自美国PeproTech公司,TRIzol购自美国Invitrogen公司,逆转录试剂盒(Reverse Transcription System A3500)、LipofectamineTM 2000转染试剂、MTS试剂均购自美国Promega公

司,RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司,Transwell小室及Matrigel胶购自美国Corning公司。敲低linc01503所用shRNA(表1)由GenePharma公司合成,qPCR引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.2 细胞培养及处理

常规培养各种ESCC细胞,待细胞处于对数生长期时,将Eca109、Kyse150和TE13细胞用10 ng/ml的TGF- β 1处理21 d,中间每2 d更换一次培养液以维持TGF- β 1浓度,后更换完全培养基继续培养24 h后收集细胞,提取RNA进行后续实验。其中经TGF- β 1处理的Eca109细胞送至上海伯豪生物技术有限公司应用SBC-ceRNA(人4 \times 180 k)芯片检测处理前后差异表达的lncRNA。药物处理剂量及处理时间依据文献[9]的方法,未经药物处理的细胞作为对照组。

取对数生长期且细胞状态良好的TE13细胞,常规消化并接种于6孔板中(2 \times 10⁵个/孔)继续培养,待细胞生长汇合度至70%~80%时,按照LipofectamineTM 2000转染试剂说明书进行转染。TE13细胞中分别转染4个pGPU6-shRNA-linc01503质粒(shRNA1~4),设定转染shRNA-control组为对照组(NC组),Mock组为空白对照(只添加转染试剂)。

1.3 qPCR法检测ESCC组织及细胞系中linc01503及EMT相关基因的表达

按TRIzol试剂盒说明书的方法提取组织及细胞系中总RNA,分别参照Promega的逆转录试剂盒说明将RNA逆转录成cDNA,用于检测linc01503及EMT相关基因的表达水平,并以GAPDH作为内参,引物序列见表1。PCR反应条件:95 $^{\circ}$ C预变性2 min;95 $^{\circ}$ C变性30 s,59 $^{\circ}$ C退火30 s,72 $^{\circ}$ C延伸30 s,共35个循环;72 $^{\circ}$ C延伸7 min,4 $^{\circ}$ C保存。结果采用相对定量法,目的基因的相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示,其中 $\Delta Ct=Ct_{目的基因}-Ct_{内参基因}$, $\Delta\Delta Ct=\Delta Ct-\Delta Ct_{对照}$ 。

1.4 MTS实验检测ESCC细胞的增殖能力

将3 \times 10³个细胞接种于96孔板中,每组设置6个复孔。分别于细胞贴壁后0、24、48、72和96 h时在每孔内加入20 μ l(500 μ g/ml)MTS试剂,在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的培养箱中培养2 h后,用酶标仪检测波长在490 nm处每孔的光密度(D)值,代表细胞的增殖水平。

1.5 Transwell小室法检测ESCC细胞的侵袭能力

常规消化并悬浮细胞于无血清培养基中,调整细胞密度接种于预铺Matrigel胶的Transwell上小室(1 \times 10⁵个/孔)内,下小室内加入600 μ l含10%FBS的RPMI 1640,培养24 h后用4%多聚甲醛固定30 min,并用0.1%结晶紫染色20 min。最后,在光学显微镜下选择5个随机视野计数侵袭细胞数。

表1 引物序列
Tab.1 Primer sequences

Primer	Sequence
linc01503	F: 5'- CCTGAGGACCATCTGGAGTG-3' R: 5'- CTAGGGCTCTGCATTTCGTCC-3'
E-cadherin	F: 5'-CGAGAGCTACACGTTACACGG-3' R: 5'-GGCCTTTTACTGTAATCACACC-3'
N-cadherin	F: 5'-CAACTTGCCAGAAAACCTCCAGG-3' R: 5'ATGAAACCGGGCTATCTGCTC-3'
Snail	F: 5'-ACGAGGTGTGACTAACTAT-3' R: 5'-CGACAAGTGACAGCCATT-3'
ZEB1	F: 5'-TCATCGCTACTCCTACTGT-3' R: 5'-TCACTGTCTTCATCCTCTTC-3'
Vimentin	F: 5'-CGCCTGCAGGATGAGATTGAG-3' R: 5'-TCAGGGAGGAAAAGTTTGAAGA-3'
GAPDH	F: 5'-AGGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3' R: 5'-AGGGGTCATTGATGGCAACA-3'
shRNA linc01503-1	5'-CACCGGAGACAAATGACGGCCTTTGTTCAAGAGACAAAAGCCGTCATTTGTCTCCTTTTTTTG-3'
shRNA-linc01503-2	5'-CACCGGAGTCGCTCTGTTTCGAACGTTCAAGAGACGTTTCGAACCCAGAGCGACTCCTTTTTTTG-3'
shRNA-linc01503-3	5'-CACCGGAGAAAGTTCTTTCCCTGAGTTCAAGAGACTCAGGGAAAGAAGTTTCTCCTTTTTTTG-3'
shRNA-linc01503-4	5'-CACCGGACGAATGCAGAGCCCTAGGTTCAAGAGACCTAGGGCTCTGCATTTCGTCCTTTTTTTG-3'
shRNA-control	5'-CACCGTTCTCCGAACGTGTCACGTCAAGAGATTACGTGACACGTTTCGGAGAATTTTTTTG-3'

1.6 统计学处理

qPCR、MTS、Transwell等实验均重复3次。所有数据均采用SPSS19.0统计软件进行处理。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, linc01503在ESCC及癌旁组织中的表达及其与患者临床病理特征的关系均采用两样本均数t检验比较; Kaplan-Meier法及Log rank检验用于分析linc01503表达对ESCC患者生存期的影响。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 TGF-β1处理使ESCC Eca109细胞发生EMT

用TGF-β1连续处理Eca109细胞21 d后, qPCR法检测结果(图1)显示, 细胞中E-cadherin表达水平明显下调($P < 0.01$), 而N-cadherin、Snail、ZEB1及vimentin基因表达明显上调(均 $P < 0.01$)。结果提示, TGF-β1处理促进了ESCC Eca109细胞的EMT进程。

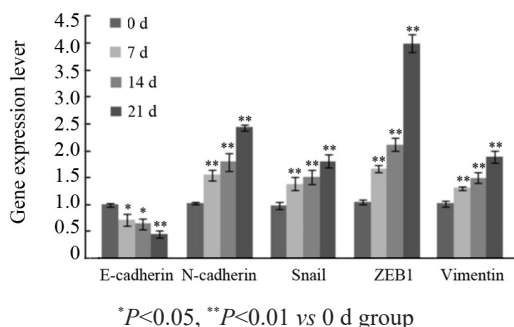


图1 TGF-β对Eca109细胞中EMT相关基因表达的影响
Fig.1 Effects of TGF-β on the expressions of EMT-related genes in Eca109 cells

2.2 linc01503是TGF-β作用的下游效应基因

应用SBC-ceRNA(人4×180 k)芯片筛选TGF-β1处理前后Eca109细胞差异表达的lincRNA, 发现linc01503在TGF-β1处理后表达水平上调2.29倍。qPCR法检测结果(图2)显示, TGF-β1处理后显著提高了Eca109、Kyse150、TE13细胞中linc01503表达水平($t_{Eca109} = -30.874, P < 0.01; t_{Kyse150} = -28.940, P < 0.01; t_{TE13} = -16.480, P < 0.01$)。实验结果表明, linc01503是TGF-β下游效应基因。

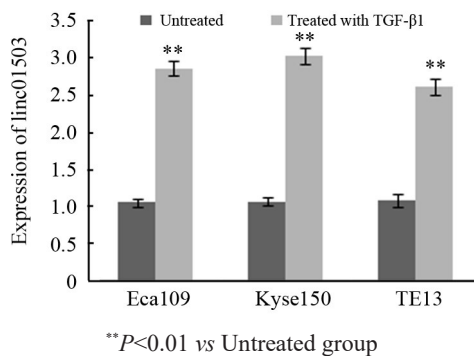


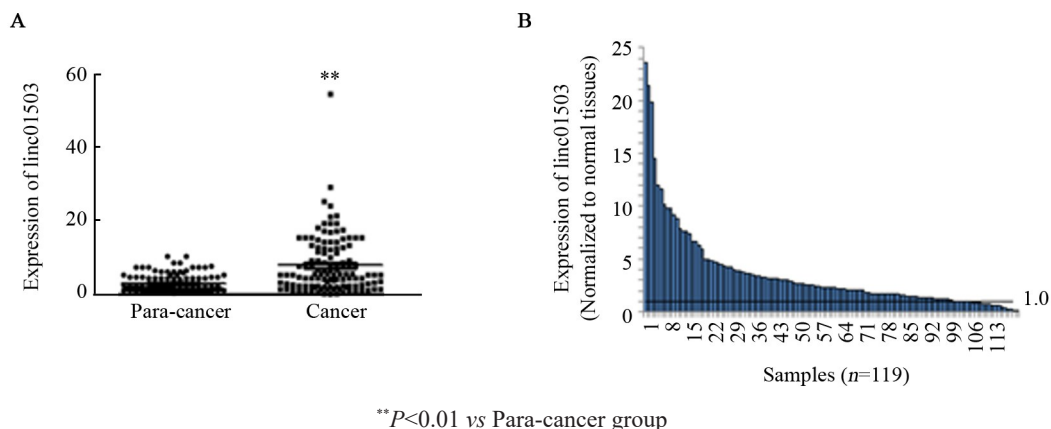
图2 TGF-β对ESCC细胞中linc01503表达的影响
Fig.2 Effect of TGF-β on linc01503 expression in ESCC cells

2.3 ESCC组织中linc01503表达及其与患者临床病理特征的关系

qPCR检测结果发现, ESCC组织中linc01503表达水平明显高于癌旁组织($t = -6.837, P < 0.01$; 图3A)。119例ESCC组织中, 有102例表达上调, 其中71例表达上调达2倍以上(图3B)。119例ESCC患者的临床病理特征, 如年龄、性别、病理分级、TNM分期、淋巴

结转移、浸润深度等数据见表 2。linc01503 的表达与患者的淋巴结转移、浸润深度及 TNM 分期有关联(均

$P < 0.05$); 而与患者的年龄、性别、病理分级无关联(均 $P > 0.05$)。



A: The relative expression of linc01503; B: The fold change of linc01503 expression in cancer tissues to TE1 normal tissues

图3 ESCC 组织中 linc01503 的表达
Fig.3 The expression of linc01503 in ESCC tissues

表 2 ESCC 组织中 linc01503 表达与临床病理特征的关系

Tab.2 The relationship between linc01503 expression in ESCC tissues and clinicopathologic features

Clinicopathological feature	n	linc01503	t	p
Age (t/a)				
<50	32	8.401±6.810	0.384	0.702
≥50	87	7.785±8.080		
Gender				
Male	72	7.305±6.146	1.129	0.261
Female	47	8.940±9.672		
Histological grade				
Well	74	8.142±8.568	0.345	0.731
Poor	45	7.636±6.207		
TNM stage				
I + II	54	5.923±5.784	-2.673	0.009
III+IV	65	9.635±8.734		
Lymphatic metastasis				
No	25	2.487±1.606	-4.251	<0.001
Yes	94	9.403±8.069		
Depth of invasion				
T1+T2	51	4.605±3.614	-4.391	<0.001
T3+T4	68	10.460±8.985		

2.4 linc01503 表达与 ESCC 患者生存期的关系

根据 ESCC 组织中 linc01503 表达的均值, 将患者分 linc01503 高表达组(42 例)和低表达组(77 例)。linc01503 高表达 ESCC 患者 5 年生存率为 9.52%(中位生存期为 20 个月), linc01503 低表达的 ESCC 患者 5 年生存率为 25.97%(中位生存期为 48 个月)。Log rank 检验分析结果显示, linc01503 高表达明显缩短了患者的生存期($\chi^2=21.673, P < 0.01$; 图 4)。结果提示, linc01503 可能是 ESCC 患者一个潜在的预后因素。

2.5 linc01503 对 ESCC 细胞增殖及侵袭能力的影响

随机取 10 例 ESCC 癌旁组织的 cDNA 等比例混

合后作为细胞表达的对照组(Pools)。qPCR 检测结果显示, ESCC 细胞中 linc01503 表达水平平均高于对照组($t_{Eca109}=-4.469, P < 0.01; t_{Kysc150}=-11.828, P < 0.01; t_{Kysc170}=-12.689, P < 0.01; t_{TE1}=-7.488, P < 0.01; t_{TE13}=-15.702, P < 0.01$), 尤其在 TE13 中表达水平最高($t_{TE13}=-15.702, P < 0.01$; 图 5A)。在 TE13 细胞中分别转染 shRNA1~4 后, 如图 5B 所示, 以 shRNA1 及 shRNA2 转染效率较高。MTS 及 Transwell 小室法检测结果(图 6A、B)显示, 与 NC 组相比, 敲低 linc01503 表达(shRNA1 组及 shRNA1 组)均可明显降低 TE13 细胞的增殖及侵袭能力(均 $P < 0.05$); 而 NC 组与 Mock 组相比较差异无统计学意义, 提示转染试剂对细胞的增殖及侵袭能力无明显影响, 确保了结果的可靠性。

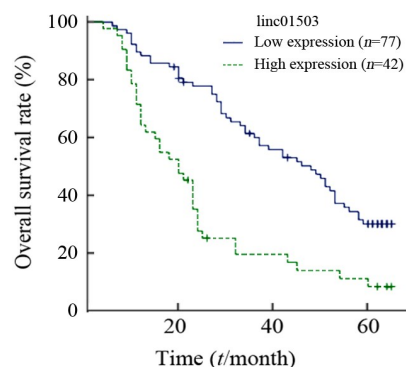


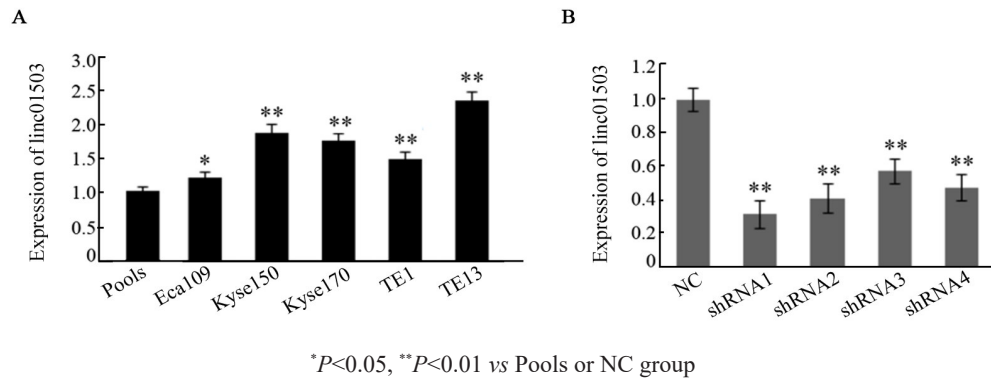
图 4 linc01503 表达水平对 ESCC 患者生存期的影响
Fig. 4 Effect of linc01503 expression level on the survival of ESCC patients

2.6 敲低 linc01503 抑制 ESCC TE13 细胞 EMT 进程

qPCR 法检测结果(图 7)显示, 敲低 linc01503 后, ESCC TE13 细胞中 E-cadherin 的表达水平显著上

调 ($t_{\text{RNA1}}=-7.075, P=0.05; t_{\text{RNA2}}=-5.043, P<0.01$), 而 N-cadherin ($t_{\text{RNA1}}=6.527, P<0.01; t_{\text{RNA2}}=5.686, P<0.01$)、vimentin ($t_{\text{RNA1}}=9.017, P<0.01; t_{\text{RNA2}}=7.603, P<0.01$) 表达

显著下调。结果提示, 敲低 linc01503 表达抑制了 ESCC TE13 细胞的 EMT 过程。



A: The expression level of linc01503 in five ESCC cell lines; B: The expression level of linc01503 in TE13 cells transfected with four shRNAs or control plasmid

图5 ESCC 细胞中 linc01503 的表达水平和 shRNA 转染效率

Fig.5 The expression of linc01503 in ESCC cell lines and the transfection efficiency of shRNAs

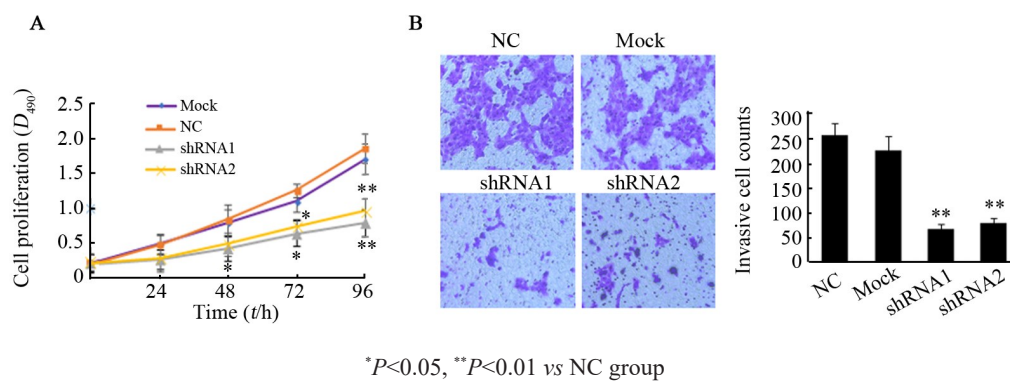


图6 linc01503 对 ESCC 细胞 TE13 增殖(A)及侵袭(B)的影响

Fig.6 Effects of linc01503 on cell proliferation (A) and invasion (B) of TE13 cells

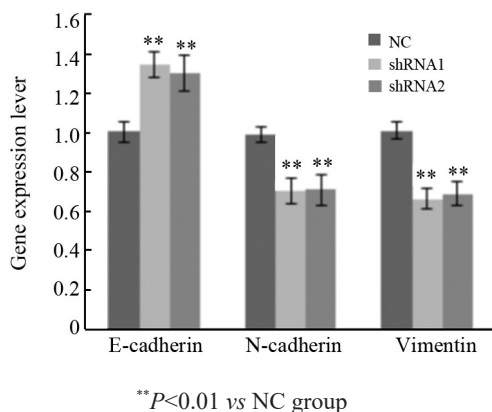


图7 敲低 linc01503 对 ESCC TE13 细胞中 EMT 相关基因表达的影响

Fig.7 Effects of LINC01503 knockdown on the expressions of EMT-related gene in ESCC TE13 cells

3 讨论

食管癌是中国高发的恶性肿瘤之一, 其主要的

组织学类型为 ESCC。尽管多年来对 ESCC 的防治做了大量的工作, 但其发病率和病死率仍居高不下^[11-12]。早期转移是 ESCC 高病死率的主要原因, 50% ESCC 患者在明确诊断时就已经发生了转移^[13]。由于 ESCC 早期易转移的特性, 导致传统的手术治疗效果欠佳, 患者的 5 年生存率仍低于 20%^[13-14]。因此, 明确癌细胞转移的分子机制对于 ESCC 治疗及延长患者生存期具有重要意义。研究已证实, EMT 在肿瘤细胞转移扩散中起着至关重要的作用。

TGF- β 信号网络可调控肿瘤的发生和发展。先前研究^[10]已证实, TGF- β 处理可诱导细胞发生 EMT。为明确 TGF- β 信号诱导 EMT 过程的下游效应基因, 本研究应用 TGF- β 1 连续处理 ESCC Eca109 细胞, 待成功诱导细胞发生 EMT 后, 用芯片筛选 TGF- β 1 处理前后差异表达的基因, 其中, linc01503 在 TGF- β 1 处理后表达上调明显。为验证芯片结果, 进一步检测了 Eca109、Kyse150、TE13 三株 ESCC 细胞中 TGF- β 1

处理前后 linc01503 表达的变化, 其结果与芯片检测相同。因此本研究结果高度提示, linc01503 可能作为 TGF- β 信号的下流效应基因之一, 在 ESCC 细胞 EMT 过程中起重要的作用。

已有研究证实, linc01503 可通过调控细胞增殖、凋亡和转移, 在肿瘤的发生和发展中发挥重要作用。例如, LU 等^[15]发现 linc01503 可作为 ceRNA 通过海绵吸附 miR-4492 靶向调控 FOXK1 基因的表达, 进而促进结直肠癌的进展; 在对胶质瘤的研究中, linc01503 可通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路发挥癌基因的功能, 并可能成为胶质瘤新的预后标志物和分子治疗靶点^[16]; QU 等^[17]研究指出, linc01503 可以通过 EMT 过程促进胆管癌细胞的增殖和侵袭; 同时, linc01503 也被认为是鉴定卵巢癌的候选分子标志物^[18]。本研究发现, 在 ESCC 组织和细胞系中 linc01503 表达明显上调, 并且 linc01503 在肿瘤组织中高表达与 ESCC 患者的侵袭性临床病理特征(包括淋巴结转移、浸润深度和临床分期)有关联, 并与不良预后密切相关。同时功能实验进一步显示, linc01503 敲低抑制 ESCC 细胞的增殖和侵袭能力。因此, 笔者认为 linc01503 可能在 ESCC 侵袭、转移等恶性进程中扮演着重要的角色, 并可能是 ESCC 患者预后不良的潜在预测因子。为探讨 linc01503 在肿瘤进展中发挥促癌作用的分子机制, 本研究首先验证了 linc01503 对 EMT 过程的影响, 结果显示 linc01503 低表达明显增加了上皮标志物的表达水平, 而间质标志物表达下降, 说明 linc01503 参与正向调控 EMT 过程, 并且是 TGF- β 介导的 ESCC 细胞 EMT 过程的下流效应基因之一。

综上所述, 本研究揭示了 TGF- β 可诱导 ESCC 细胞中 linc01503 表达上调, linc01503 高表达促进 ESCC 细胞的增殖和侵袭, 并可能作为 TGF- β 作用的下流效应基因之一介导了 ESCC 细胞的 EMT 过程, 进而促进 ESCC 的恶性进展。linc01503 有望为 ESCC 患者的预后评估提供一种新的分子标志物。

[参 考 文 献]

- [1] BHAN A, SOLEIMANI M, MANDAL S S. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(15): 3965-3981. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-16-2634.
- [2] FENG Q, ZHANG H, YAO D, et al. Emerging role of non-coding RNAs in esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 21(1): 258. DOI:10.3390/ijms21010258.
- [3] SANCHEZ CALLE A, KAWAMURA Y, YAMAMOTO Y, et al. Emerging roles of long non-coding RNA in cancer[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(7): 2093-2100. DOI:10.1111/cas.13642.
- [4] ZHANG H, CHEN Z H, WANG X X, et al. Long non-coding RNA: a new player in cancer[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2013, 6: 37[2020-01-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3693878/>. DOI:10.1186/1756-8722-6-37.
- [5] QIU M T, HU J W, YIN R, et al. Long noncoding RNA: an emerging paradigm of cancer research[J]. *Tumour Biol*, 2013, 34(2): 613-620. DOI:10.1007/s13277-013-0658-6.
- [6] KOPP F, MENDELL J T. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2018, 172(3): 393-407. DOI:10.1016/j.cell.2018.01.011.
- [7] SMITH B, BHOWMICK N. Role of EMT in metastasis and therapy resistance[J]. *J Clin Med*, 2016, 5(2): 17. DOI:10.3390/jcm5020017.
- [8] SAITOH M. Involvement of partial EMT in cancer progression[J]. *J Biochem*, 2018, 164(4): 257-264. doi:10.1093/jb/mvy047.
- [9] 孙卉, 钱亚云. 胰岛素样生长因子系统和 EMT 在胃癌中作用的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2019, 26(7): 823-827. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2019.07.017.
- [10] YUAN J H, YANG F, WANG F, et al. A long noncoding RNA activated by TGF- β promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(5): 666-681. DOI:10.1016/j.ccr.2014.03.010.
- [11] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, 68(6): 394-424. DOI:10.3322/caac.21492.
- [12] SONG Y M, LI L, OU Y W, et al. Identification of genomic alterations in oesophageal squamous cell cancer[J]. *Nature*, 2014, 509(7498): 91-95. DOI:10.1038/nature13176.
- [13] NAGARAJA V, ESLICK G D. Forthcoming prognostic markers for esophageal cancer: a systematic review and meta-analysis[J/OL]. *J Gastrointest Oncol*, 2014, 5(1): 67-76[2020-01-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3904028/>. DOI:10.3978/j.issn.2078-6891.2013.054.
- [14] LIN D C, WANG M R, KOEFFLER H P. Genomic and epigenomic aberrations in esophageal squamous cell carcinoma and implications for patients[J/OL]. *Gastroenterology*, 2018, 154(2): 374-389[2020-01-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5951382/>. DOI:10.1053/j.gastro.2017.06.066.
- [15] LU S R, LI Q, LU J L, et al. Long non-coding RNA LINC01503 promotes colorectal cancer cell proliferation and invasion by regulating miR-4492/FOXK1 signaling[J/OL]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(6): 4879-4885[2020-01-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6257603/>. DOI:10.3892/etm.2018.6775.
- [16] WANG H, SHENG Z G, DAI L Z. Long non-coding RNA LINC01503 predicts worse prognosis in glioma and promotes tumorigenesis and progression through activation of Wnt/ β -catenin signaling[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(4): 1600-1609. DOI:10.26355/eurrev_201902_17119.
- [17] QU Y K, QU X S, CHEN G, et al. LINC01503 promotes cell proliferation, invasion and EMT process in cholangio-carcinoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(15): 6445-6452. DOI:10.26355/eurrev_201908_18526.
- [18] LI N, ZHAN X Q. Identification of clinical trait-related lncRNA and mRNA biomarkers with weighted gene co-expression network analysis as useful tool for personalized medicine in ovarian cancer[J/OL]. *EPMA J*, 2019, 10(3): 273-290[2020-01-08]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6695468/>. DOI:10.1007/s13167-019-00175-0.

[收稿日期] 2020-01-09

[修回日期] 2020-05-19

[本文编辑] 党瑞山