

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.09.007

lncRNA DGCR5通过上调EGFR表达促进食管鳞状细胞癌TE1细胞的恶性生物学行为

段玉青, 贾云陇, 王佳丽, 吕微, 刘丽华(河北医科大学第四医院 肿瘤免疫科, 河北 石家庄 050035)

[摘要] **目的:**探讨长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA) DiGeorge综合征临界区基因5(digeorge syndrome critical region gene 5, DGCR5)对食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC) TE1细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其机制。**方法:**采用qPCR检测ESCC细胞系TE1、Yes-2、KYSE150和Eca9706中DGCR5的表达水平。将siRNA-DGCR5(si-DGCR5)和阴性对照组(si-NC)质粒转染进TE1细胞,用CCK-8、划痕愈合、Transwell小室法分别检测TE1细胞增殖、迁移和侵袭能力。依据GEPIA数据库资料分析食管癌组织中DGCR5表达与细胞表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的相关性,并用qPCR和Western blotting(WB)检测ESCC细胞系中EGFR mRNA和蛋白表达水平,进一步用WB实验检测转染si-DGCR5前后TE1细胞中EGFR蛋白的表达水平。**结果:**DGCR5在ESCC细胞系中均高表达(均 $P<0.01$),转染si-DGCR5组TE1细胞中DGCR5的表达水平明显低于si-NC组($P<0.01$)。敲低DGCR5后,TE1细胞的增殖、侵袭和迁移能力显著低于si-NC组细胞(均 $P<0.01$)。GEPIA数据库的分析显示,食管癌组织中DGCR5表达水平与EGFR的表达呈正相关($P<0.01$)。敲低DGCR5后TE1细胞中EGFR蛋白表达水平明显下降($P<0.01$)。**结论:**lncRNA DGCR5在ESCC细胞中呈高表达,可能通过上调EGFR表达来促进TE1细胞的增殖、侵袭和迁移等恶性生物学行为。

[关键词] DiGeorge综合征临界区基因5;表皮生长因子受体;食管鳞状细胞癌;TE1细胞;增殖;侵袭;迁移

[中图分类号] R730.54;R735.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)09-1006-06

lncRNA DGCR5 promotes the malignant biological behaviors of esophageal squamous cell carcinoma TE1 cells by up-regulating EGFR expression

DUAN Yuqing, JIA Yunlong, WANG Jiali, LYU Wei, LIU Lihua (Department of Tumor Immunotherapy, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of long non-coding RNA DiGeorge syndrome critical region gene 5 (DGCR5) on proliferation, invasion and migration of esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) TE1 cells and its mechanism. **Methods:** qPCR was used to detect the expression level of DGCR5 in ESCC cell lines (TE1, Yes-2, KYSE150 and Eca9706). TE1 cells were transfected with siRNA-DGCR5(si-DGCR5) and negative control (si-NC) plasmids, respectively. CCK-8, Wound healing and Transwell assay were used to detect the proliferation, migration and invasion of TE1 cells before and after DGCR5 knockdown. The relationship between DGCR5 expression and epidermal growth factor receptor (EGFR) in ESCC tissues was analyzed by GEPIA database. The mRNA and protein expressions of EGFR in ESCC cell line were examined by qPCR and Western blotting (WB). WB was further used to detect the expression of EGFR protein in TE1 cells before and after DGCR5 knockdown. **Results:** lncRNA DGCR5 was highly expressed in ESCC cell lines (all $P<0.01$). qPCR confirmed that the expression of DGCR5 in TE1 cells of si-DGCR5 group was significantly lower than that of si-NC group ($P<0.01$). The proliferation, migration and invasion ability of TE1 cells in si-DGCR5 group were significantly lower than those in si-NC group (all $P<0.01$). GEPIA database showed that the expression of DGCR5 was positively correlated with EGFR in ESCC tissues ($P<0.01$). WB showed that the protein level of EGFR in TE1 cells of si-DGCR5 group decreased significantly ($P<0.01$). **Conclusion:** lncRNA DGCR5 is highly expressed in ESCC cells, and promotes the proliferation, invasion and migration of TE1 cells possibly by up-regulating EGFR expression.

[Key words] DiGeorge syndrome critical region gene 5 (DGCR5); epidermal growth factor receptor (EGFR); esophageal squamous cell carcinoma (ESCC); TE1 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(9): 1006-1011. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.09.007]

[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] 段玉青(1987-),女,博士生,主治医师,主要从事肿瘤免疫治疗的临床与基础研究,E-mail: duanyuqing29@sina.cn

[通信作者] 刘丽华(LIU Lihua, corresponding author),博士,教授、主任医师,博士生导师,主要从事肿瘤免疫治疗的临床与基础研究,E-mail: lihualiu567@hotmail.com

食管癌是常见的消化系统恶性肿瘤,中国是发达国家,其主要亚型是食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)^[1]。随着手术、放化疗及免疫治疗的发展,ESCC 的诊断和治疗较前有所改善,但患者5年生存率仍在25%~30%^[2],因此迫切需要探索 ESCC 新的诊断和治疗靶点。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类转录本超过200个核苷酸的非编码蛋白的单链RNA,在细胞发育、分化和肿瘤发生中发挥调控作用^[3-4]。lncRNA DGCR5 在多种肿瘤中表达异常,并通过不同的作用途径影响肿瘤细胞的增殖、侵袭和迁移等^[5-7]。课题组前期的研究^[8]证实, DGCR5 在 ESCC 组织中高表达,其表达与 TNM 分期、淋巴结转移及生存期密切相关,为 ESCC 预后不良的指标。然而, DGCR5 对 ESCC 细胞增殖、侵袭和迁移的影响及其作用机制目前尚未见报道。通过查阅文献和检索数据库发现, DGCR5 可能通过上调细胞表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)表达调控 ESCC 细胞的恶性进程。本研究采用体外实验用 RNA 干扰技术下调 ESCC 细胞中 DGCR5 基因表达建立稳定转染细胞株,检测敲低 DGCR5 后对 TE1 细胞增殖、侵袭和迁移的影响,并分析敲低 DGCR5 前后 EGFR 蛋白的表达变化,旨在为深入研究 DGCR5 在 ESCC 中的作用及其机制奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 细胞系、组织标本及主要试剂

人 ESCC 细胞系 TE1、Yes-2、KYSE150 和 Eca9706 来自河北医科大学第四医院科研中心。收集2016年8月至2017年3月在河北医科大学第四医院胸外科行根治性肿瘤切除术的10例 ESCC 患者的癌旁组织(取自距离癌灶边缘5 cm 以外的癌旁组织)标本,混匀后作为正常人食管细胞系(对照组)。

胎牛血清及 DMEM 培养基购自 Invitrogen 公司, RIPA 细胞裂解液及 TRIzol 总 RNA 提取试剂购自北京索莱宝生物公司, DGCR5 和 GAPDH 引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成,逆转录试剂盒购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司,实时荧光定量 PCR(qPCR) Mix 购自武汉爱博泰克生物科技有限公司,干扰 siRNA 购自上海吉玛公司, Lipofectamine™2000 购于 Invitrogen 公司, Transwell 小室(孔径 3.0 μm)购自美国 Corning 公司, Matrigel 基质胶购自美国 BD 公司, CCK-8 购自大连美仑生物技术有限公司, EGFR 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司,辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase, HRP)标记的羊抗兔 IgG 二抗购于

Sera Care 公司。

1.2 数据库中食管癌组织中 EGFR 表达数据的获取

首先使用 GEPIA 数据库(<http://gepia.cancer-pku.cn/>)分析 DGCR5 在食管癌组织中与 EGFR 表达水平的相关性。进一步利用 UALCAN 在线检索工具(<http://ualcan.path.uab.edu/index.html>)分析 EGFR 基因在 ESCC 组织和癌旁组织中的表达水平。

1.3 qPCR 检测 ESCC 细胞系中 DGCR5 和 EGFR mRNA 的表达水平

采用 TRIzol 试剂提取 ESCC 细胞系 TE1、Yes-2、KYSE150、Eca9706 细胞的总 RNA,按逆转录试剂盒说明书进行从 RNA 到 cDNA 的操作制备,反应条件:40 °C 60 min, 25 °C 5 min, 75 °C 5 min。逆转录完毕后,配置 qPCR 体系, GAPDH 作为内参。引物序列: DGCR5 F 为 5'-TCAGAGTGGCGAAGGCAGGAG-3', R 为 5'-GCAACTCAAGTAAGTCCGCACCT-3'; EGFR F 为 5'-AGGTGAAAACAGCTGCAAGG-3', R 为 5'-AGG TGATGTTTCATGGCCTGA-3'; GAPDH F 为 5'-GGA CCTGACCTGCCGTCTAG-3', R 为 5'-GTAGCCCAG GATGCCCTTGA-3'。qPCR 扩增条件: 95 °C 3 min; 95 °C 5 s, 60 °C 32 s, 共 40 个循环。扩增结束后采用相对定量法: $\Delta Ct = Ct_{目的基因} - Ct_{GAPDH}$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct_{食管癌细胞} - \Delta Ct_{对照}$, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的相对表达水平。

1.4 细胞转染

取对数生长期的 TE1 细胞,接种于 6 孔板中(1×10^5 个/孔),培养 24 h 后分为 siRNA-DGCR5 (si-DGCR5) 和阴性对照 (si-NC) 组。DGCR5 干扰片段分别命名为 si-DGCR5#1 (F: 5'-GCAAUAGCUUCAGCUCUATT-3', R: 5'-UAGAGCUGAAGCUAAUUGCTT-3'), si-DGCR5#2 (F: 5'-CCAGUAGUGUUUGUGCUUUTT-3', R: 5'-AAAGCACAAACACUACUGGTT-3'), si-DGCR5#3 (F: 5'-GCACAAAGAGA UCCCUCAATT-3', R: 5'-UUGAG GGGAUUCUUUGUGCTT-3'), si-NC 组 (F: 5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3', R: 5'-ACGUGACACGUUCGGAGAATT-3')。按 Lipofectamine™2000 转染试剂的说明书进行操作。24 h 后采用 qPCR 法检测各组细胞中 DGCR5 表达水平(方法同 1.2), 48 h 后抽提各组细胞内的总蛋白。

1.5 CCK-8 法检测 TE1 细胞的增殖能力

选取各组细胞,制备转染 24 h 后各组单细胞悬液,以 1×10^3 个/孔的密度接种 TE1 细胞于 96 孔板,每组设 4 个平行复孔,置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱连续培养 0、24、48、72、96 h。于每个检测时间点加入 CCK-8 试剂(10 μl/孔),置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱培养 1 h,用酶标仪检测波长在 450 nm 处的光密度(D)值。

1.6 划痕愈合实验检测TE1细胞的迁移能力

选取各组细胞,先于6孔板背面划5条平行线做标记,TE1细胞转染24 h后,用200 μl枪头在细胞中划2条垂直于背面平行线的直线,PBS冲洗3次,加入2 ml无血清DMEM培养基,分别于0、24 h在倒置显微镜下观察细胞向划痕中间迁移的距离并拍照,每组实验设2个平行孔。

1.7 Transwell小室法检测ESCC细胞的侵袭能力

将Transwell小室模型置于24孔板中,以不含血清的DMEM培养基1:7稀释Matrigel基质胶后,加入20 μl到预冷的Transwell上室,于37 °C培养箱放置约2 h使Matrigel胶凝固。将转染细胞悬浮于无血清的细胞培养液中,于上小室内加入200 μl密度为 4×10^4 个细胞悬液,下小室内加入600 μl含10%胎牛血清的DMEM培养液,每组细胞重复2个小室。37 °C温箱中培养24 h后,用棉签擦净上室细胞,PBS清洗后,1%多聚甲醛固定30 min,继用0.1%结晶紫染色30 min,冲洗后晾干,于显微镜下($\times 100$)随机选取5个视野观察、记录穿膜细胞数,取均值。

1.8 Western blotting(WB)检测TE1细胞中EGFR蛋白的表达水平

分别提取各组细胞总蛋白,行6%SDS-PAGE分离蛋白后电转移至PVDF膜,用含5%脱脂奶粉的封闭液37 °C封闭1 h后,加入兔抗人EGFR(1:1 000)及 β -actin(1:1 000)一抗,4 °C孵育过夜。次日,加入HRP标记的羊抗兔IgG二抗(1:10 000),37 °C孵育1 h,ECL法进行显影。采用Image J软件测定各目的蛋白条带的灰度值,以 β -actin作为内参蛋白,与各个检测蛋白条带的灰度值之比表示蛋白的相对表达水平。

1.9 统计学处理

qPCR、CCK-8、划痕愈合、Transwell、WB等实验均重复3次。采用SPSS20.0软件进行统计分析,用GraphPad Prism 8对实验数据进行相关图片的绘制。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 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 DGCR5在ESCC细胞系中的表达水平

qPCR检测结果(图1)显示,TE1、Yes-2、KYSE150、Eca9706细胞中DGCR5表达水平均显著升高($F=695.9, P < 0.01$)。表明DGCR5在ESCC细胞中呈高表达水平。鉴于TE1细胞的表达丰度最高,选择TE1细胞进行后续研究。

2.2 成功构建DGCR5低表达的TE1细胞株

qPCR检测结果(图2)显示,si-DGCR5组TE1细

胞中DGCR5表达水平显著低于si-NC组($F=635, P < 0.01$)。其中si-DGCR5#2组敲低效率最高,且与si-DGCR5#1组和si-DGCR5#3组相比,差异均具有统计学意义($t=5.565、7.328$,均 $P < 0.01$),因此后续实验选择该序列转染TE1细胞。

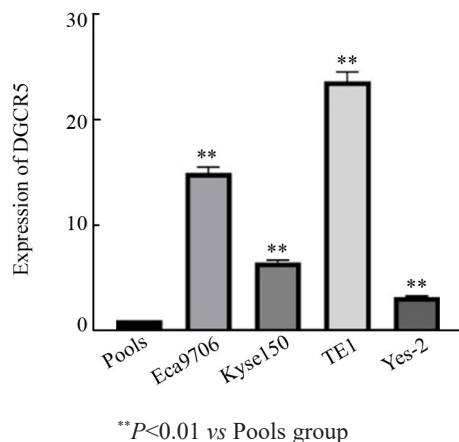


图1 DGCR5在ESCC细胞系中高表达

Fig.1 High expression of DGCR5 in ESCC cell lines

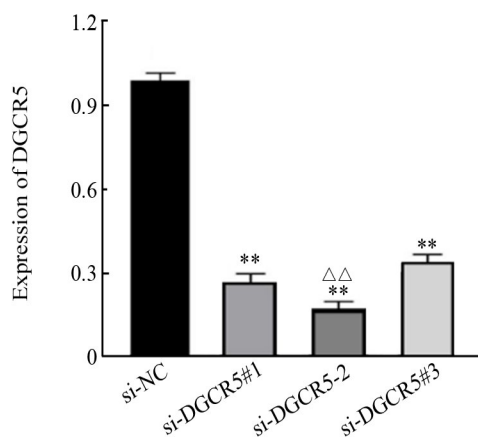


图2 转染si-DGCR5后TE1细胞中DGCR5的表达

Fig.2 Expression of DGCR5 in TE1 cells after transfection with si-DGCR5

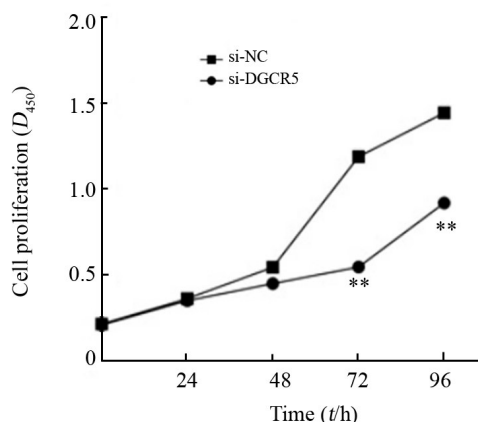
2.3 敲低DGCR5显著抑制TE1细胞的增殖能力

CCK-8法检测结果(图3)显示,各组细胞增殖能力均呈升高趋势,但si-DGCR5组TE1细胞在72 h细胞增殖能力显著低于si-NC组($t=12.15, P < 0.01$),96 h细胞增殖能力也低于si-NC组($t=9.976, P < 0.01$)。结果表明,沉默DGCR5抑制了ESCC细胞的增殖能力。

2.4 敲低DGCR5显著降低TE1细胞的迁移和侵袭能力

划痕愈合实验结果(图4A)显示,si-DGCR5组TE1细胞的迁移能力显著低于si-NC组细胞($t=10.11,$

$P < 0.01$)。Transwell 小室实验结果 (图 4B) 显示, si-DGCR5 组 TE1 细胞的侵袭能力显著低于 si-NC 组细胞 ($t=15, P < 0.01$)。实验结果表明, DGCR5 在体外可提高 ESCC 细胞的迁移和侵袭能力。

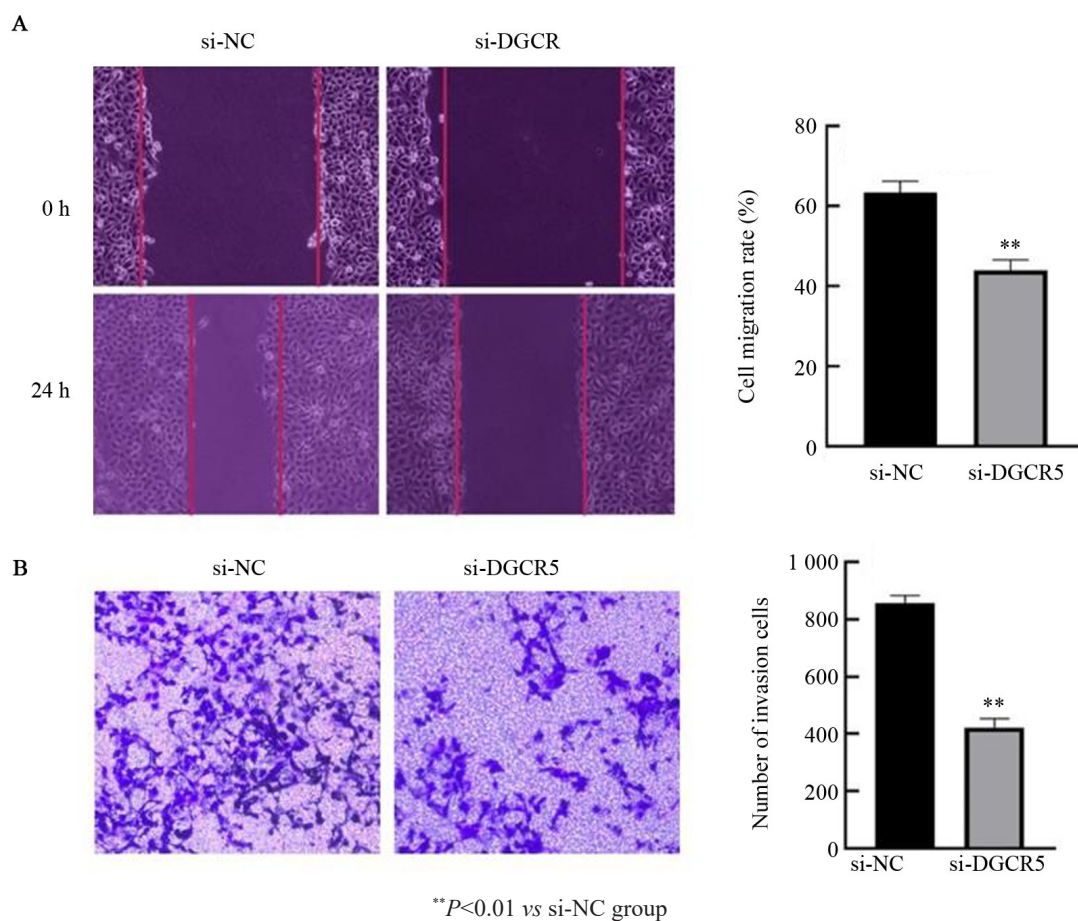


** $P < 0.01$ vs si-NC group

图3 敲低 DGCR5 表达对 TE1 细胞增殖能力的影响
Fig.3 Effect of DGCR5 knockdown on proliferation ability of TE1 cells

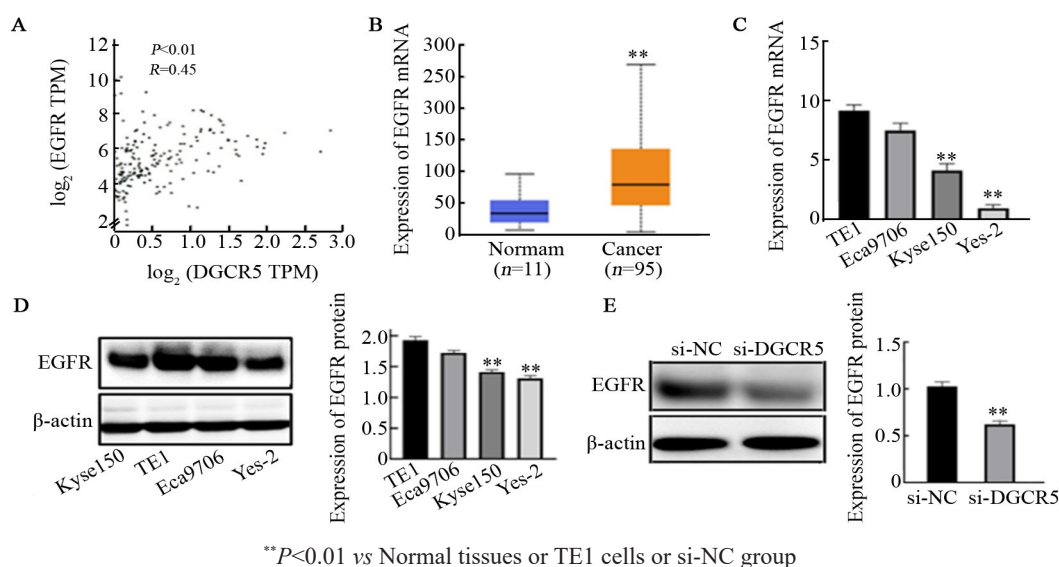
2.5 敲低 DGCR5 显著提高 TE1 细胞中 EGFR 蛋白的表达水平

通过检索 GEPIA 数据库发现食管癌组织中 DGCR5 与 EGFR 的表达呈正相关 ($r=0.45, P < 0.01$; 图 5A)。另外检索 TCGA 数据库发现, ESCC 组织中 EGFR mRNA 表达水平显著高于癌旁组织 (78.69 ± 44.41 vs $32.29 \pm 14.86, P < 0.01$; 图 5B)。进一步 qPCR 法检测结果 (图 5C) 表明, TE1 细胞中 EGFR mRNA 表达水平显著高于 Yes-2 和 KYSE150 细胞 ($t=22.18, 10.57$, 均 $P < 0.01$), 但与 Eca9706 细胞比较差异无统计学意义。WB 结果 (图 5D) 显示, TE1 细胞中 EGFR 蛋白表达水平显著高于 Yes-2 和 KYSE150 细胞 ($t=12.75, 11.36$, 均 $P < 0.01$), 但与 Eca9706 细胞比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 敲低 DGCR5 后, si-DGCR5 组 TE1 细胞中 EGFR 蛋白表达水平显著低于 si-NC 组 ($t=9.950, P < 0.01$; 图 5E)。以上结果提示, DGCR5 可能通过上调 EGFR 表达从而影响了 ESCC 细胞的增殖、侵袭和迁移等恶性生物学行为。



** $P < 0.01$ vs si-NC group

图4 DGCR5 促进 TE1 细胞的迁移(A)和侵袭(B)的影响(结晶紫染色, $\times 100$)
Fig.4 DGCR5 enhanced migration (A) and invasion (B) of TE1 cells (crystal violet staining, $\times 100$)



**P<0.01 vs Normal tissues or TE1 cells or si-NC group

A: Correlation between DGCR5 and EGFR in ESCC tissues; B: Analysis of EGFR mRNA levels in ESCC tissues from TCGA database; C: The expression of EGFR mRNA in ESCC cells; D and E: Bands of proteins in WB image and the statistical histograms of proteins

图5 DGCR5对TE1细胞中EGFR蛋白表达水平的影响

Fig.5 Effect of DGCR5 on protein expression of EGFR in TE1 cells

3 讨论

越来越多的研究^[9-11]表明, lncRNA 在肿瘤的发生发展中起重要作用, 可通过调控靶基因参与信号通路, 并影响肿瘤细胞的增殖、侵袭、迁移、凋亡和耐药等。其中 DGCR5 与多种肿瘤密切相关, 但在不同肿瘤类型中 DGCR5 的表达水平及作用明显不同。在胃癌^[12]、脑胶质瘤^[13]和肝癌^[5]组织和细胞系中 DGCR5 均低表达, 过表达 DGCR5 能够抑制癌细胞的恶性生物学行为; 其低表达与较晚肿瘤患者的 TNM 分期和短的总生存期显著相关, 提示 DGCR5 具有促癌作用。但在喉癌组织中 DGCR5 高表达, 敲低 DGCR5 则明显抑制细胞的增殖和侵袭能力, 提示 DGCR5 有抑癌作用^[14]。上述研究说明, DGCR5 在肿瘤中具有较强的异质性, 在不同的肿瘤中可能通过不同的上下游分子通路起着不同的调控作用。但在 ESCC 中 DGCR5 对肿瘤细胞的恶性生物学作用及其机制尚未见报道。

在课题组前期的研究^[8]表明, DGCR5 在 ESCC 组织中高表达, 其表达与较晚患者的 TNM 分期和淋巴结转移密切相关, 为预后不良指标。在此基础上, 本研究进一步检测了 DGCR5 在 ESCC 细胞系中的表达水平及对 ESCC 细胞恶性生物学行为的影响, 并初步探讨其作用机制。qPCR 检测结果显示, DGCR5 在 ESCC 细胞系中呈高表达水平。此结果与课题组前期在 ESCC 组织中的结果表达一致, 进一步说明 DGCR5 在 ESCC 发生发展中可能作为致癌基因发挥作用。根据 qPCR 检测结果, 筛选出相对表达丰度最

高的 TE1 细胞, 经转染 si-DGCR5 以建立 DGCR5 低表达的 TE1 细胞模型, 后续通过 CCK-8、划痕愈合实验实验发现, 敲低 DGCR5 能够明显抑制 ESCC 细胞的增殖和迁移能力; Transwell 侵袭实验表明, 转染 si-DGCR5 组 TE1 细胞的侵袭能力较 si-NC 组细胞明显下降。上述结果表明, DGCR5 在 ESCC 组织和细胞中均高表达, 在体外可促进 ESCC 细胞的增殖、侵袭和迁移能力, DGCR5 可作为促癌基因介导 ESCC 的恶性生物学行为。

有研究^[15]认为, DGCR5 通过结合 EGFR 蛋白促进肾癌的发生发展。EGFR 是 ERBB 受体酪氨酸激酶家族成员之一, 是原癌基因 *CerbB1* 的表达产物, EGFR 信号通路的激活在肿瘤细胞增殖、侵袭、迁移、血管生成和转移中发挥重要作用^[16]。在人类多种实体瘤组织中均可检测到 EGFR 的过表达^[17-18]。研究^[19]显示, EGFR 在 ESCC 中的表达率为 42.5%~85.7%, 与 ESCC 患者 TNM 分期、高复发率和较短生存期相关, 为 ESCC 预后不良指标。但是使用 EGFR 抗体并不能提高 ESCC 患者的生存率^[20-21]。本研究进一步通过检索 GEPIA 数据库资料, 预测 DGCR5 与 EGFR 在 ESCC 中表达是否具有相关性, 结果显示两者具有正相关。因此, 笔者推测 DGCR5 在 ESCC 中可能通过上调 EGFR 的表达促进 ESCC 的进展。为验证这一结果, 本研究首先检测 EGFR 在 ESCC 组织和细胞系中的表达水平。通过检索 TCGA 数据库资料, 发现 EGFR mRNA 在 ESCC 癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织。本研究发现, EGFR mRNA 和蛋白在 ESCC 细胞系中均高表达; 敲减 DGCR5 后, WB 检测

实验结果显示 si-DGCR5 组 TE1 细胞中 EGFR 蛋白的表达水平显著低于 si-NC 组 ($P < 0.01$), 提示 DGCR5 可上调 EGFR 的表达水平。本研究结果证实, DGCR5 可上调 EGFR 的表达从而促进 TE1 细胞的增殖、侵袭和迁移, 在 ESCC 的发生发展中起着促癌基因的作用, 提示 DGCR5 蛋白在 ESCC 方面的深入研究对于抑制 EGFR 的过表达具有重要意义。然而, DGCR5 在 ESCC 中是否直接靶向结合 EGFR 或者通过其他相关途径调控 EGFR 的表达, 目前尚缺乏该方面系统性的研究, 课题组将在后续的研究中进行深入的探讨。

综上所述, 本研究首次证实 DGCR5 在 ESCC 细胞中高表达, DGCR5 体外可通过上调 EGFR 蛋白表达从而促进 ESCC 细胞的增殖、侵袭和迁移等恶性生物学行为, 为 ESCC 的靶向治疗提供了新的研究方向。

[参考文献]

- [1] CHUNG C S, LEE Y C, WU M S. Prevention strategies for esophageal cancer: Perspectives of the East vs. West[J]. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*, 2015, 29(6): 869-883. DOI:10.1016/j.bpg.2015.09.010.
- [2] BAI Y Y, LIN H Y, FANG Z X, et al. Plasma microRNA-19a as a potential biomarker for esophageal squamous cell carcinoma diagnosis and prognosis[J]. *Biomark Med*, 2017, 11(5): 431-441. DOI: 10.2217/bmm-2016-0286.
- [3] LI T, XIE J J, SHEN C, et al. Amplification of long noncoding RNA ZFAS1 promotes metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2015, 75(15): 3181-3191. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-14-3721.
- [4] LIN C R, YANG L Q. Long non-coding RNA in cancer: wiring signaling circuitry[J/OL]. *Trends Cell Biol*, 2018, 28(4): 287-301[2020-02-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5869122/>. DOI: 10.1016/j.tcb.2017.11.008.
- [5] HUANG R Y, WANG X C, ZHANG W J, et al. Down-regulation of LncRNA DGCR5 correlates with poor prognosis in hepatocellular carcinoma[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 40: 707-715. DOI: 10.1159/000452582.
- [6] KANG M F, SHI J Q, LI B H, et al. LncRNA DGCR5 regulates the non-small cell lung cancer cell growth, migration, and invasion through regulating miR-211-5p/EPHB₆ axis[J]. *Biofactors*, 2019, 45(5): 788-794. DOI:10.1002/biof.1539.
- [7] LIU Y, CHANG Y, LU S X, et al. Downregulation of long noncoding RNA DGCR5 contributes to the proliferation, migration, and invasion of cervical cancer by activating Wnt signaling pathway[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 11662-11669. DOI:10.1002/jcp.27825.
- [8] 段玉青, 王梦杰, 王洪琰, 等. lncRNA DGCR5 在食管鳞状细胞癌组织中的表达及其临床意义[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(4): 416-419. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2020.04.012.
- [9] WEN X, LIU X, MAO Y P, et al. Long non-coding RNA DANCR stabilizes HIF-1 α and promotes metastasis by interacting with NF90/NF45 complex in nasopharyngeal carcinoma[J/OL]. *Theranostics*, 2018, 8(20): 5676-5689[2020-02-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6276287/>. DOI:10.7150/thno.28538.
- [10] HAN Q R, XU L J, LIN W H, et al. Long non-coding RNA CRCMSL suppresses tumor invasive and metastasis in colorectal carcinoma through nucleocytoplasmic shuttling of HMGB2[J]. *Oncogene*, 2019, 38(16): 3019-3032. DOI:10.1038/s41388-018-0614-4.
- [11] 李欢, 张评梅, 王郁, 等. lncRNA NORAD 促进食管鳞状细胞癌 EC9706 细胞的增殖和迁移 [J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(4): 359-364. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.04.003.
- [12] XU Y, ZHANG G H, ZOU C, et al. Long noncoding RNA DGCR5 suppresses gastric cancer progression by acting as a competing endogenous RNA of PTEN and BTG1[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(7): 11999-12010. DOI:10.1002/jcp.27861.
- [13] YANG F, HUANG Y L. DGCR5 suppresses the EMT of pediatric primary glioblastoma multiforme cell and serves as a prognostic biomarker[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(22): 10024-10034. DOI:10.26355/eurrev_201911_19569.
- [14] TANG T, SHAN G, ZENG F. Knockdown of DGCR5 enhances the radiosensitivity of human laryngeal carcinoma cells via inducing miR-195[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(8): 12918-12925. DOI: 10.1002/jcp.27958.
- [15] GONG X H, DU X J, XU Y, et al. LINC00037 inhibits proliferation of renal cell carcinoma cells in an epidermal growth factor receptor-dependent way[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(2): 523-536. DOI:10.1159/000487030.
- [16] ROSKOSKI R Jr. ErbB/HER protein-tyrosine kinases: Structures and small molecule inhibitors[J]. *Pharmacol Res*, 2014, 87: 42-59. DOI:10.1016/j.phrs.2014.06.001.
- [17] MIYAI K, ITO K, MATSUKUMA S, et al. Frequent EGFR expression/EGFR amplification and lack of activating mutation in testicular choriocarcinoma[J]. *Pathol Int*, 2020, 70(5): 262-269. DOI:10.1111/pin.12905.
- [18] PIETRASZEK-GREMPLEWICZ K, SIMICZYJEW A, DRATKIEWICZ E, et al. Expression level of EGFR and MET receptors regulates invasiveness of melanoma cells[J/OL]. *J Cell Mol Med*, 2019, 23(12): 8453-8463[2020-02-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6850915/>. DOI:10.1111/jcmm.14730.
- [19] HUANG J, FAN Q X, LU P, et al. Icotinib in patients with pretreated advanced esophageal squamous cell carcinoma with EGFR overexpression or EGFR gene amplification: a single-arm, multicenter phase 2 study[J]. *J Thorac Oncol*, 2016, 11(6): 910-917. DOI: 10.1016/j.jtho.2016.02.020.
- [20] MOEHLER M, MADERER A, THUSS-PATIENCE P C, et al. Cisplatin and 5-fluorouracil with or without epidermal growth factor receptor inhibition panitumumab for patients with non-resectable, advanced or metastatic oesophageal squamous cell cancer: a prospective, open-label, randomised phase III AIO/EORTC trial (POWER)[J]. *Ann Oncol*, 2020, 31(2): 228-235. DOI:10.1016/j.annonc.2019.10.018.
- [21] SUNTHARALINGAM M, WINTER K, ILSON D, et al. Effect of the addition of cetuximab to paclitaxel, cisplatin, and radiation therapy for patients with esophageal cancer: the NRG oncology RTOG 0436 phase 3 randomized clinical trial[J/OL]. *JAMA Oncol*, 2017, 3(11): 1520-1528[2020-02-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5710193/>. DOI:10.1001/jamaoncol.2017.1598.

[收稿日期] 2020-04-21

[修回日期] 2020-08-12

[本文编辑] 党瑞山