

DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.007

· 基础研究 ·

lncRNA HOXA11-AS 对骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

张鸿程, 宋广元, 谈伟健, 赵绍云, 谢庆平(浙江中医药大学第二临床医学院, 浙江 杭州 310000)

[摘要] **目的:** 探究长链非编码 RNA(long-nocoding RNA, lncRNA)HOXA11-AS 在骨肉瘤中的表达及其对骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭的影响及其作用机制。 **方法:** 采用 2012 年 1 月至 2015 年 12 月浙江省人民医院骨外科 13 例骨肉瘤组织及癌旁正常组织, 以及骨肉瘤细胞系 MG63、U2OS 和人成骨细胞株 hFOB1.19, 用实时荧光定量 PCR 检测骨肉瘤组织和骨肉瘤细胞系 MG63 和 U2OS 中 lncRNA HOXA11-AS 的表达水平。用慢病毒载体构建稳定过表达 lncRNA HOXA11-AS 的骨肉瘤 MG63 及 U2OS 细胞, 用 CCK-8 和克隆形成实验、Transwell 小室法分别检测过表达 lncRNA HOXA11-AS 对骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭的影响。建立过表达 lncRNA HOXA11-AS MG63 骨肉瘤细胞裸鼠移植瘤模型, 以空载体慢病毒 Lv-NC 转染的细胞作为对照, 观察过表达 lncRNA HOXA11-AS 对裸鼠移植瘤生长的影响。 **结果:** lncRNA 在骨肉瘤组织和 MG63 及 U2OS 细胞中表达水平显著下调 ($P < 0.01$)。与 hFOB1.19 细胞比, 过表达 lncRNA HOXA11-AS 细胞后, (1) 显著抑制骨肉瘤 MG63 及 U2OS 细胞的增殖 [4.03 ± 0.98] vs [6.96 ± 0.54], [4.68 ± 0.77] vs [8.87 ± 1.23], 均 $P < 0.01$], 迁移细胞数 [83.00 ± 6.03] vs [168 ± 12.54], [96.00 ± 8.77] vs [184.00 ± 14.63] 个, 均 $P < 0.01$] 和侵袭细胞数 [35.00 ± 3.48] vs [97.00 ± 8.32], [38.00 ± 1.73] vs [87.00 ± 6.37] 个, 均 $P < 0.01$]; (2) 显著抑制骨肉瘤裸鼠皮下移植瘤的生长 ($P < 0.01$)。 **结论:** lncRNA HOXA11-AS 在骨肉瘤细胞中低表达, 且 lncRNA HOXA11-AS 过表达对骨肉瘤的发生发展具有抑制作用, 可以作为骨肉瘤治疗潜在的分子靶点。

[关键词] 骨肉瘤; 长链非编码 RNA; HOXA11-AS; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R730.54; R738.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-385X(2017)05-0497-06

Effect of lncRNA HOXA11-AS on proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cell lines

ZHANG Hongcheng, SONG Guangyuan, TAN Weijian, ZHAO Shaoyun, XIE Qingping (Second Clinical Medical College, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310000, Zhejiang, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of lncRNA HOXA11-AS in osteosarcoma, and to explore its effect on proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells and the possible mechanism. **Methods:** Thirteen cases of osteosarcoma tissues and corresponding adjacent normal tissues were collected from the Department of Bone Surgery, the People's Hospital of Zhejiang Province during January 2012 to December 2015. Osteosarcoma cell MG63, U205 lines and human osteoblast cell hFOB1.19 line were used. Real-time fluorescent quantitative PCR was performed to detect the lncRNA HOXA11-AS expression in osteosarcoma specimens and osteosarcoma MG63 and U20S cell lines. Lentiviral vectors that stably over-expressing lncRNA HOXA11-AS were constructed and transfected into MG63 and U20S cell lines; CCK8 assay and colony-formation assay were performed to investigate the effect of lncRNA HOXA11-AS on osteosarcoma cell proliferation; Transwell assay was performed to investigate the effect of lncRNA HOXA11-AS on migration and invasion of osteosarcoma cells. Nude mice model of MG63 osteosarcoma xenograft, which over-expressing lncRNA HOXA11-AS, was established to observe the effect of lncRNA HOXA11-AS on xenograft growth in mice, by comparing with Lv-NC transfected cell xenografts. **Results:** lncRNA HOXA11-AS was markedly down-regulated in tumor tissues and osteosarcoma cell lines ($P < 0.01$). Over-expression of lncRNA HOXA11-AS significantly suppressed (1) the proliferation, migration and invasion of U20S and MG63 cells (proliferation: [4.03 ± 0.98] times vs [6.96 ± 0.54] times, [4.68 ± 0.77] times vs

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No. 81672769)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China(No. 81672769)

[作者简介] 张鸿程(1990-),男,硕士生,主要从事骨肿瘤的发生及转移的研究, E-mail: 865265818@qq.com

[通信作者] 谢庆平(XIE Qingping, corresponding author),主任医师,硕士生导师,主要从事骨和骨肿瘤的研究, E-mail: xqp2511247@sina.com

[8.87 ± 1.23] times, all $P < 0.01$; migration: [83.00 ± 6.03] vs [168 ± 12.54], [96 ± 8.77] vs [184 ± 14.63], all $P < 0.01$; invasion: [35.00 ± 3.48] vs [97.00 ± 8.32], [38.00 ± 1.73] vs [87.00 ± 6.37], all $P < 0.01$); (2) the growth of xenografts in rats ($P < 0.01$). **Conclusion:** lncRNA HOXA11-AS significantly down-regulated in osteosarcoma cells, and suppressed the progression of osteosarcoma. lncRNA HOXA11-AS can be served as a therapeutic target for osteosarcoma.

[**Key words**] long-nocoding RNA(lncRNA);HOXA11-AS; osteosarcoma; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(5): 497-502. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2017.05.007]

骨肉瘤是一种常见的具有高度侵袭性的骨骼系统肿瘤,其发病率和病死率在原发性骨肿瘤中位居第一^[1]。肿瘤细胞的恶性增殖、转移和侵袭成为骨肉瘤患者病死的主要原因,因此探究干预骨肉瘤恶性生物学表型的新靶点成为目前研究的热点^[2]。长链非编码 RNA(long-nocoding RNA, lncRNA)是一类长度 200 nt 的非编码 RNA, 在肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭中具有重要调控作用^[3]。lncRNA HOXA11-AS 是最近发现的 lncRNA 分子,在胃癌和上皮性卵巢癌中均具有重要的功能,而在骨肉瘤中的研究尚未见报道^[4,5]。本课题利用实时荧光定量 PCR 技术检测骨肉瘤组织和 MG63 和 U2OS 细胞中 lncRNA HOXA11-AS 的表达水平;CCK-8、克隆形成实验和 Transwell 小室法检测 lncRNA HOXA11-AS 对骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响;建立裸鼠移植瘤模型观察 lncRNA HOXA11-AS 的体内抑瘤作用。通过一系列体内外实验,旨在探究其作用机制,以期发现骨肉瘤治疗潜在的分子靶点。

1 材料与方法

1.1 标本来源及主要试剂

收集 2012 年 1 月至 2015 年 12 月浙江省人民医院骨外科 13 例(男性 8、女性 5 例)骨肉瘤组织及癌旁正常组织,肿瘤长度 1.2 ~ 7 cm,平均长度 4.02 cm。患者平均年龄为(25 ± 2.1)岁,术前均未行放疗化疗等干预措施,手术均为根治性切除术。所有标本采集术前均告知患者并签署知情同意书,研究方法征得医院伦理委员会批准。

骨肉瘤细胞系 MG63 和 U2OS、人成骨细胞株 hFOB1.19 均购自中科院上海细胞库。DMEM 和 DMEM/F12 细胞培养基、胎牛血清均购自美国 Gibco 公司,RT-PCR 逆转录试剂盒及 SYBR Green 荧光定量试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司,lncRNA HOXA11-AS、GAPDH 引物由上海吉玛生物公司合成(引物序列如下:lncRNA HOXA11-AS: Forward: 5'-AGCAACAGATCGTCAC TCGG-3'; Reverse: 5'-GAGAACGAGGACCCTG-

CAAT-3'; GAPDH: Forward: 5'-GGGAGCCAAA AGGGTCAT-3'; Reverse: 5'-GAGTCCTTCCACGAT-ACCAA-3'),CCK-8 试剂盒购自江苏碧云天公司,Transwell 小室购自美国 Corning 公司,含 Luciferase 荧光酶基因的 lncRNA HOXA11-AS 慢病毒载体及 Luciferase 底物购自上海吉满公司。

1.2 细胞培养和慢病毒载体感染骨肉瘤细胞

人成骨细胞株 hFOB1.19 采用含 10% FBS 的 DEME/F12 培养基培养,骨肉瘤 MG63 和 U2OS 细胞采用含 10% FBS 的 DMEM 培养基培养,所有细胞均在 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养。取对数生长期的 MG63 及 U2OS 细胞,转染含 lncRNA HOXA11-AS 的带有 Luciferase 荧光酶的慢病毒载体,以携带无义序列的慢病毒载体作为阴性对照,培养、收集包裹完成的慢病毒颗粒,以 MOI = 30 感染骨肉瘤 MG63 及 U2OS 细胞,采用含嘌呤霉素的培养基进行培养,4 周后提取总 RNA 进行后续实验。

1.3 实时荧光定量 PCR 检测骨肉瘤组织和细胞株中 lncRNA HOXA11-AS 表达水平

取 100 mg 组织或 1×10^6 个细胞,用 TRIzol 抽提总 RNA。采用 96 孔板微量分光光度仪进行 RNA 纯度和浓度的测定, D_{260}/D_{280} 值在 1.8 ~ 2.0 之间认为 RNA 纯度较高。将 RNA 浓度调整到 300 ~ 500 ng/ μ l 后,采用 RNA 逆转录试剂盒将 RNA 的逆转录为 cDNA。按照 SYBR Green 荧光定量试剂盒说明书配置反应体系,每个体系设置 3 个重复孔,以 GAPDH 作为实验内参。结果采用相对定量方法 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算, $\Delta Ct = Ct(\text{目的基因}) - Ct(\text{内参基因})$, $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(\text{样本}) - \Delta Ct(\text{对照组})$ 。实验重复 3 次。

1.4 CCK-8 法及克隆形成实验检测过表达 lncRNA HOXA11-AS 对骨肉瘤细胞增殖的影响

取对数生长期的 MG63 和 U2OS 细胞,接种于 96 孔板(1×10^5 /孔),每孔加入 200 μ l 含 10% FBS 的 DMEM 培养基,另外同时以 200 个细胞/皿接种于 10 ml 37 °C 预温的培养皿中,轻轻转动培养皿使细胞均匀分散。每种实验分为两组: Lv-lncRNA

HOXA11-AS 组及 Lv-NC 组, 每组设 6 个重复孔。分别检测培养 0、6、12、24、48 和 96 h 时间点细胞增殖情况。检测时在 96 孔板中每孔加入 20 μ l CCK-8 试剂, 37 $^{\circ}$ C 下孵育 2 h, 于微量分光光度仪 450 nm 波长处检测光密度(D)值。通过计算得出细胞增殖倍数, 增殖倍数 = (测试组 D 值 - 空白组 D 值) / (对照组 D 值 - 空白组 D 值)。培养皿置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO_2 培养箱中培养 14 d, 后采用 0.1% 结晶紫染色, 置于高像素相机下拍照。实验重复 3 次。

1.5 Transwell 小室法检测过表达 lncRNA HOXA11-AS 对骨肉瘤细胞的迁移和侵袭的影响

取 Lv-lncRNA HOXA11-AS 组和 Lv-NC 组对数生长期的 MG63 及 U2OS 细胞, 采用无血清的 DMEM 培养液制备密度为 2.5×10^5 个/ml 单细胞混悬液, 取 200 μ l 加入 Transwell 上室中, 下室加入含 10% FBS 的 DMEM 培养液。每组细胞置于细胞培养箱中培养 24 h 后, 4% 多聚甲醛固定 20 min, 用棉签轻轻擦去上室的细胞, 0.1% 结晶紫染色后, 倒置显微镜放大 100 倍下取 5 个视野计数并拍照。实验重复 3 次。

1.6 裸鼠骨肉瘤皮下移植瘤模型的建立及观察

取对数生长期的 MG63 细胞, 采用 PBS 制备密度为 1×10^7 个/ml 单细胞混悬液, 取 50 μ l 注射到裸鼠右前肢腋下皮下, 模型共分为两组: Lv-lncRNA HOXA11-AS 组及 Lv-NC 组。自第 2 周起, 每周用游标卡尺测量瘤体的长径(a)和短径(b), 瘤体体积计算公式为: 瘤体体积 = $4/3 \times \pi \times R^3$, $R = (a + b)/4$ 。在最终检测时间点(第 6 周), 每只裸鼠腹腔注射 100 μ l Luciferase 溶液(45 mg/ml)麻醉裸鼠后, 置于活体成像仪中成像及拍照。

1.7 统计学处理

采用 SPSS17.0 统计学软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组均数比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 骨肉瘤组织、MG6 和 U2OS 细胞中 lncRNA HOXA11-AS 低表达

实时荧光定量 PCR 检测结果(图 1)显示, 骨肉瘤组织中 lncRNA HOXA11-AS 的表达水平显著低于癌旁正常组织($t = 5.350$, $P < 0.01$; 图 1A, 1B); 骨肉瘤 MG63 及 U2OS 细胞中 lncRNA HOXA11-AS 的表达水平显著低于 hFOB1.19 细胞($t = 9.119$, $P < 0.01$; 图 1C); 过表达慢病毒载体可显著上调骨肉瘤 MG63 和 U2OS 细胞 lncRNA HOXA11-AS 的表

达水平($t = 17.24$, $P < 0.01$; 图 1D)。

2.2 过表达 lncRNA HOXA11-AS 抑制骨肉瘤细胞的增殖

CCK-8 实验检测结果(图 2)显示, 自 12 h 起, 过表达 lncRNA HOXA11-AS 的骨肉瘤 MG63 及 U2OS 细胞增殖曲线相比于对照组趋于平缓, 各个检测时间点的细胞数目显著低于对照组($t = 5.537$, $P < 0.01$), 表明过表达 lncRNA HOXA11-AS 显著抑制骨肉瘤 MG63 及 U2OS 细胞的增殖。

2.3 过表达 lncRNA HOXA11-AS 降低骨肉瘤细胞的迁移和侵袭能力

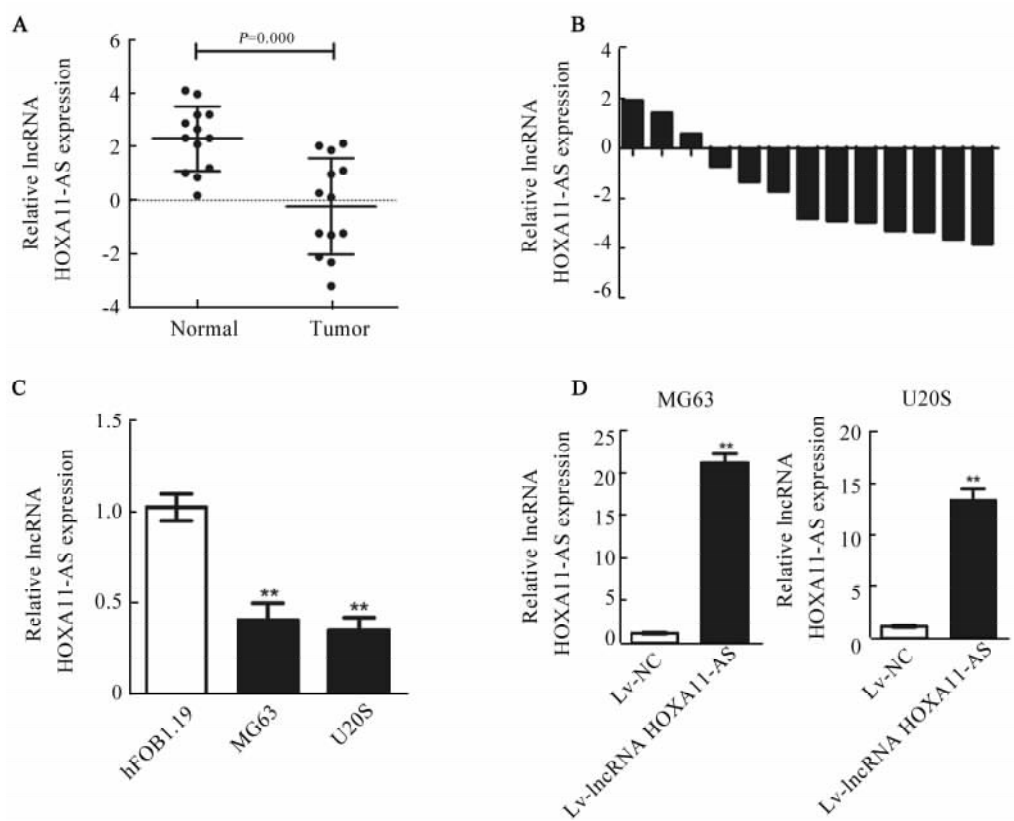
Transwell 小室检测结果(图 3)显示, 过表达 lncRNA HOXA11-AS 后, 骨肉瘤 MG63 及 U2OS 细胞迁移、侵袭数目均显著低于对照组细胞[迁移: MG63 (83.00 ± 6.03) vs (168 ± 12.54) 个, $t = 6.782$, $P < 0.01$; U2OS (96.00 ± 8.77) vs (184.00 ± 14.63) 个, $t = 10.336$, $P < 0.01$; 侵袭: MG63 (35.00 ± 3.48) vs (97.00 ± 8.32) 个, $t = 7.762$, $P < 0.01$; U2OS (38.00 ± 1.73) vs (87.00 ± 6.37) 个, $t = 9.581$, $P < 0.01$]。

2.4 过表达 lncRNA HOXA11-AS 抑制裸鼠骨肉瘤皮下移植瘤的生长

对过表达 lncRNA HOXA11-AS 的 Lv-lncRNA HOXA11-AS 组细胞株及转染空载体的 Lv-NC 组细胞株 MG63 构建裸鼠皮下移植瘤的观察结果(图 4)显示, 自第 3 周起, 过表达 lncRNA HOXA11-AS 组裸鼠皮下移植瘤瘤体体积显著小于同期 Lv-NC 组裸鼠($t = 6.785$, $P < 0.01$), 表明过表达 lncRNA HOXA11-AS 能够抑制裸鼠骨肉瘤皮下移植瘤的生长。

3 讨论

非编码 RNA 在调控细胞生长、分化、代谢等生物进程中发挥着重要的生物学功能, 与包括肿瘤在内的多种疾病的发生发展具有密切的关系^[3]。近年来, 多条 lncRNA 序列如 lncRNA HOTAIR、lncRNA H19、lncRNA DANCR、lncRNA MEG3 等, 均被报道在胰腺癌、肝癌、前列腺癌、鼻咽癌、子宫颈癌等多种肿瘤的发生发展中具有重要的调控作用, 为探索肿瘤新的治疗靶点提供了理论依据^[6-9]。因此, 进一步探究 lncRNA 在骨肉瘤中的作用机制将有助于为骨肉瘤的治疗探寻新的分子靶点。本研究着重探究了 lncRNA HOXA11-AS 在骨肉瘤中的表达及其在调控骨肉瘤恶性生物学表型中的功能, 以期为骨肉瘤的治疗提供新的分子靶点。

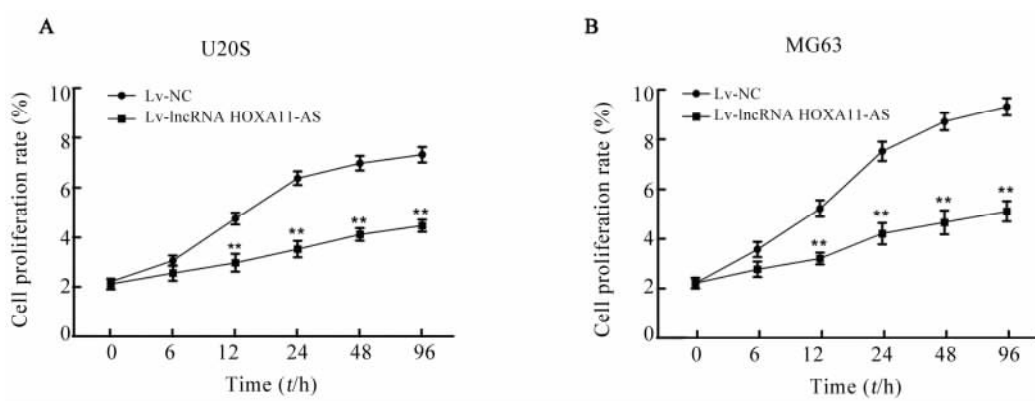


** $P < 0.01$ vs Normal group or hFOB1.19 or Lv-NC group

A, B: lncRNA HOXA11-AS level in osteosarcoma tissue or normal tissue; C: lncRNA HOXA11-AS level in osteosarcoma cell line; D: Over-expression of lncRNA HOXA11-AS in osteosarcoma cell line

图 1 骨肉瘤组织及细胞中 lncRNA HOXA11-AS 的表达

Fig. 1 Expression of lncRNA HOXA11-AS in the osteosarcoma tissue and osteosarcoma cell line



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

图 2 转染 lncRNA HOXA11-AS 抑制骨肉瘤 MG63 及 U2OS 细胞的增殖

Fig. 2 Transfection with lncRNA HOXA11-AS suppresses the U2OS and MG63 cell proliferation

肿瘤中发生异常表达的 lncRNA 往往在调控肿瘤细胞增殖、迁移和侵袭等恶性生物学表型中具有重要的作用^[10]。lncRNA H19 在胰腺癌中表达显著上调, 具有促进胰腺癌细胞增殖的作用^[11]; lncRNA

GAS5 在前列腺癌细胞中表达显著下调, 具有抑制前列腺癌细胞增殖的作用^[12]; lncRNA HOXA11-AS 在胃癌细胞中高表达, 具有促进胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的作用^[4]; lncRNA HOXA11-AS 在上皮性卵

巢癌细胞中低表达,有抑制卵巢癌发生发展的作用^[5]。本研究通过检测骨肉瘤组织及细胞系中 lncRNA HOXA11-AS 的表达水平发现, lncRNA

HOXA11-AS 在骨肉瘤组织及细胞系中均低表达,提示 lncRNA HOXA11-AS 在骨肉瘤发生发展中可能发挥重要作用。

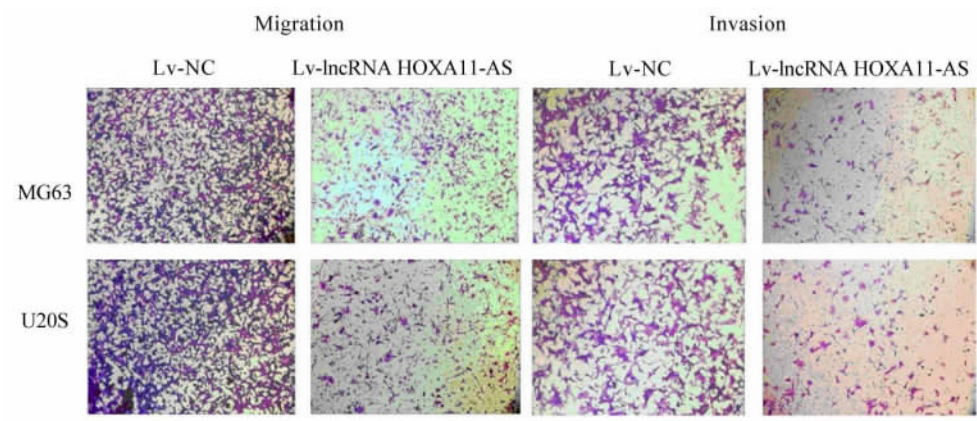
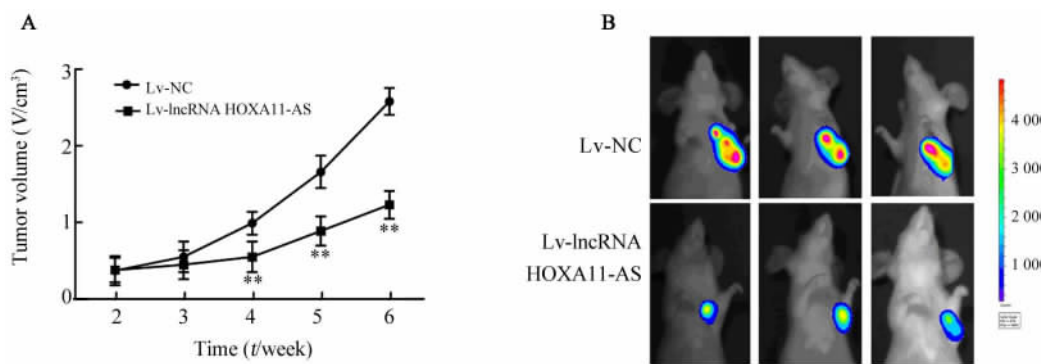


图3 过表达 lncRNA HOXA11-AS 对骨肉瘤细胞的迁移和侵袭的影响(结晶紫染色, $\times 100$)

Fig. 3 Transfection with lncRNA HOXA11-AS suppresses the invasion and metastasis of U20S and MG63 cells(Crystal violet staining, $\times 100$)



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

A: Tumor volume curve; B: Nude mice with transplanted tumor in various group

图4 过表达 lncRNA-HOXA11-AS 抑制裸鼠骨肉瘤移植瘤的生长

Fig. 4 Over expression of lncRNA HOXA11-AS suppressed growth of the transplanted tumor in nude mice

为了探究 lncRNA HOXA11-AS 在骨肉瘤发生发展中的作用,本研究构建了稳定过表达 lncRNA HOXA11-AS 的骨肉瘤细胞系,观察了过表达 lncRNA HOXA11-AS 对骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭的影响,发现过表达 lncRNA HOXA11-AS 具有抑制骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭的作用。此外,裸鼠骨肉瘤皮下移植瘤实验同样发现,过表达 lncRNA HOXA11-AS 具有体内抑制骨肉瘤生长的作用。

lncRNA 在肿瘤中发挥作用的分子机制十分复杂,目前尚未明了。但有证据表明, lncRNA 在肿瘤中发挥作用的分子机制主要有三种:(1) lncRNA 可通过结合内源性 miRNA,调控癌相关基因的表达;

(2) lncRNA 可结合转录因子蛋白,通过激活或抑制转录因子,调控下游相关基因表达;(3) lncRNA 可结合染色体空间构象或结合 mRNA,调控癌相关基因的表达^[13-15]。有研究^[4]发现, lncRNA HOXA11-AS 一方面通过其特有的结构域结合并调控 DNA 甲基转移酶 1(DNA methyltransferase 1, DNMT1)、组蛋白甲基转移酶 zeste 同源基因增强子 2(enhancer of zeste homolog 2, E2H2)编码及赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶 1(lysine specific demethylase 1, LSD1)等表观调控因子活性从而调控肿瘤相关基因的表达;另一方面通过结合内源性 miR-1297,间接上调其靶基因 EZH2 的表达,从而促进胃癌的发生发展。鉴

于 lncRNA HOXA11-AS 在骨肉瘤的表达及作用与其在胃癌中相反,因此推测其可能的分子机制:一是下调表达的 lncRNA HOXA11-AS,通过调控表观调控因子的活性从而抑制抑癌基因的表达,进而促进骨肉瘤的发生发展;二是 lncRNA HOXA11-AS 的表达下调使其无法作为竞争性的内源 RNA(competing endogenous RNA, ceRNA)来结合促癌性 miRNA,进而促进骨肉瘤发生发展。

总之,本研究发现 lncRNA HOXA11-AS 在骨肉瘤中发生显著的下调表达,且具有抑制骨肉瘤发生发展的作用,因此 lncRNA HOXA11-AS 可能是骨肉瘤治疗潜在的分子靶点,但其对骨肉瘤抑癌作用的分子机制尚需进一步探究。

[参考文献]

[1] ISAKOFF M S, BIELACK S S, MELTZER P, et al. Osteosarcoma: current treatment and a collaborative pathway to success[J]. J Clin Oncol, 2015, 33(27): 3029-3035. DOI: 10. 1200/JCO. 2014. 59. 4895.

[2] KIM E H, KIM M S, LEE K H, et al. Zoledronic acid is an effective radiosensitizer in the treatment of osteosarcoma [J]. Oncotarget, 2016, 7(43): 70869-70880. DOI:10. 18632/oncotarget. 12281.

[3] SCHMITT A M, CHANG H Y. Long noncoding RNAs in cancer pathways[J]. Cancer Cell, 2016, 29(4): 452-263. DOI:10. 1016/j. cell. 2016. 03. 10.

[4] SUN M, NIE F, WANG Y, et al. LncRNA HOXA11-AS promotes proliferation and invasion of gastric cancer by scaffolding the chromatin modification factors PRC2, LSD1 and DNMT1 [J]. Cancer Res, 2016, 76(21): 6299-6310. DOI: 10. 1158/0008-5472. CAN-16-0356.

[5] RICHARDS E J, PERMUTH-WEY J, LI Yi, et al. A functional variant in HOXA11-AS, a novel long non-coding RNA, inhibits the oncogenic phenotype of epithelial ovarian cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(33): 34745-34757. DOI: 10. 18632/oncotarget. 5784.

[6] WANG Y, HE L, DU Y, et al. The long noncoding RNA lncTCF7 promotes self-renewal of human liver cancer stem cells through activation of Wnt signaling[J]. Cell Stem Cell, 2015, 16(4): 413-425. DOI: 10. 1016/j. stem. 2015. 03. 003.

[7] JIA J, LI F, TANG X S, et al. Long noncoding RNA DANCR promotes invasion of prostate cancer through epigenetically silencing expression of TIMP2/3[J]. Oncotarget, 2016, 7(25): 37868-37881. DOI:10. 18632/oncotarget. 9350.

[8] LIANG W C, FU W M, WONG C W, et al. The lncRNA H19 promotes epithelial to mesenchymal transition by functioning as miRNA sponges in colorectal cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(26): 22513-22525. DOI:10. 18632/oncotarget. 4154.

[9] LEE M, KIM H J, KIM S W, et al. The long non-coding RNA HOTAIR increases tumour growth and invasion in cervical cancer by targeting the Notch pathway[J]. Oncotarget, 2016, 7(28): 44558-44571. DOI: 10. 18632/oncotarget. 10065.

[10] LEE S C, ABDEL-WAHAB O. Therapeutic targeting of splicing in cancer[J]. Nat Med, 2016, 22(9): 976-986. DOI: 10. 1038/nm. 4165.

[11] MA L, TIAN X, WANG F, et al. The long noncoding RNA H19 promotes cell proliferation via E2F-1 in pancreatic ductal adenocarcinoma[J]. Cancer Biol Ther, 2016, 17(10): 1051-1061. DOI: 10. 1080/15384047. 2016. 1219814.

[12] XUE D, ZHOU C, LU H, et al. LncRNA GAS5 inhibits proliferation and progression of prostate cancer by targeting miR-103 through AKT/mTOR signaling pathway[J/OL]. Tumour Biol, 2016, 37(12): 16187-16197[2016-12-28]. [http://www. karger. com/Journal/Home/224124](http://www.karger.com/Journal/Home/224124). DOI: 10. 1007/s13277-016-5429-8.

[13] KHAITAN D, DINGER M E, MAZAR J, et al. The melanoma-up-regulated long noncoding RNA SPRY4-IT1 modulates apoptosis and invasion[J]. Cancer Res, 2011, 71(11): 3852-3862. DOI: 10. 1158/0008-5472. CAN-10-4460.

[14] XIE M, NIE F Q, SUN M, et al. Decreased long noncoding RNA SPRY4-IT1 contributing to gastric cancer cell metastasis partly via affecting epithelial-mesenchymal transition[J/OL]. J Transl Med, 2015, 13: 250[2016-12-28]. [https://www. ncbi. nlm. nih. gov/pmc/articles/PMC4522960/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4522960/). DOI: 10. 1186/s12967-015-0595-9.

[15] XIE H W, WU Q Q, ZHU B, et al. Long noncoding RNA SPRY4-IT1 is upregulated in esophagea squamous cell carcinoma and associated with poor prognosis[J]. Tumor Biol, 2014, 35(8): 7743-7754. DOI: 10. 1007/s13277-014-2013-y.

[收稿日期] 2016 - 12 - 01 [修回日期] 2017 - 03 - 23
[本文编辑] 党瑞山

本期广告目次

沈阳三生制药有限责任公司 封二
上海厦泰生物科技有限公司 封三
索尼(中国)有限公司生命科学业务部 封四
上海细胞治疗工程技术研究中心集团 后插页