

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2017.07.006

· 基础研究 ·

## 长链非编码 RNA FENDRR 对宣威肺癌 XWLC-05 细胞增殖、迁移及侵袭的影响

陈冉<sup>a</sup>, 王玉明<sup>c</sup>, 段勇<sup>a</sup>, 张艳亮<sup>a</sup>, 宋贵波<sup>a</sup>, 吴春燕<sup>a</sup>, 孙岩<sup>b</sup>, 杜娜<sup>a</sup>, 肖成<sup>c</sup> (昆明医科大学 a. 第一附属医院 检验科; b. 第一附属医院 急诊外科; c. 第二附属医院 检验科, 云南 昆明 650000)

**[摘要]** **目的:** 检测非编码 RNA FENDRR 长链在宣威肺腺癌 XWLC-05 株细胞与非小细胞肺癌 (NSCLC) A549 株细胞中的表达, 及其对细胞增殖、迁移及侵袭的影响。 **方法:** 实时荧光定量 PCR 检测 FENDRR 基因在 XWLC-05 与 A549 细胞中的表达; 构建过表达 pEX-3-FENDRR 质粒并转染 XWLC-05 细胞, 慢病毒干扰 LV3-FENDRR 载体转染 A549 细胞, 实时荧光定量 PCR 检测转染后 XWLC-05 和 A549 细胞内 FENDRR 的表达; MTS 法检测细胞增殖; Transwell 小室法检测细胞迁移及侵袭能力的变化。 **结果:** XWLC-05 细胞中 FENDRR 基因表达明显较 A549 细胞低, 成功提高转染 pEX-3-FENDRR 的 XWLC-05 细胞和降低转染 LV3-FENDRR 质粒的 A549 细胞中 FENDRR mRNA 水平。与对照组相比, 过表达 FENDRR 可明显抑制 XWLC-05 细胞增殖 [(1.23 ± 0.13) vs (1.46 ± 0.25),  $P < 0.05$ ] 并降低其迁移、侵袭能力 ( $P < 0.05$ ); 干扰 FENDRR 表达, 能够促进 A549 细胞增殖 [(0.85 ± 0.02) vs (0.77 ± 0.08),  $P < 0.05$ ]、迁移与侵袭能力 ( $P < 0.05$ )。 **结论:** lncRNA FENDRR 表达下调与宣威肺腺癌的发生发展相关, 其在肿瘤恶性化过程中抑制肿瘤细胞的增殖与转移。

**[关键词]** 宣威肺腺癌; 长链非编码 RNA; FENDRR 基因; 增殖; 迁移; 侵袭

**[中图分类号]** R734.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2017)07-0727-06

## Effect of lncRNA FENDRR on proliferation, migration and invasion of the Xuanwei lung carcinoma XWLC-05 cell

CHEN Ran<sup>a</sup>, WANG Yuming<sup>b</sup>, DUAN Yong<sup>a</sup>, ZHANG Yanliang<sup>a</sup>, SONG Guibo<sup>a</sup>, WU Chunyan<sup>a</sup>, SUN Yan<sup>b</sup>, DU Na<sup>a</sup>, XIAO Cheng<sup>c</sup> (a. Department of Clinical Laboratory, the 1<sup>st</sup> Affiliated Hospital; b. Department of Emergency Surgery, the 1<sup>st</sup> Affiliated Hospital; c. Department of Clinical Laboratory, the 2<sup>nd</sup> Affiliated Hospital, Kunming Medical University, Kunming 650000, Yunnan, China)

**[Abstract] Objective:** To detect expressions of FENDRR long non coding RNA (lncRNA) in the lung adenocarcinoma XWLC-05 cell line from the Xuanwei area and in the non small cell lung cancer (NSCLC) A549 cell line, and to explore its effect on proliferation, migration and invasion of the cell lines. **Methods:** Expressions of FENDRR gene in the XWLC-05 and the A549 cells were detected by Real-time quantitative fluorescence PCR. Over-expression plasmid pEX-3-FENDRR and lentiviral vector LV3-FENDRR were structured, then respectively transfected into the XWLC-05 and the A549 cells. After the transfection, expressions of FENDRR in the XWLC-05 and the A549 cells were tested by real-time quantitative fluorescence PCR. MTS assay was used to examine proliferation of the cells and Transwell assay used to test migration and invasion abilities of the cells. **Results:** Expression of FENDRR

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (No. 81460064, No. 81460325), 云南省科技厅昆医联合专项应用基础研究基金资助项目 (No.2015FB047) 和云南省领军人才计划资助项目 (L-201202). Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81460064, No. 81460325), the Science and Technology Department of Yunnan Province-Kunming Medical University Joint Special Application Basic Research Foundation (No.2015FB047) and the Leading Talent Plan of the Health System in Yunnan Province (L-201202)

**[作者简介]** 陈冉(1990-), 女, 硕士, 主要从事临床生化与分子生物学研究, E-mail: 993403050@qq.com

**[通信作者]** 王玉明(WANG Yuming, corresponding author), 博士, 教授, 硕士生导师, 主要从事临床生化与分子生物学的研究, E-mail: wangym992011@126.com

**[优先发表]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1725.R.20170707.1519.010.html>

gene in the XWLC-05cell was obviously lower than that in the A549 cell. Level of *FENDRR* mRNA in the XWLC-05cell transfected with pEX-3-FENDRR was enhanced and, which in the A549 cell transfected with LV3-FENDRR reduced. Comparing with the control group, over-expression of *FENDRR* could significantly inhibit proliferation of the XWLC-05cell ( $[1.23 \pm 0.13]$  vs  $[1.46 \pm 0.25]$ ,  $P < 0.05$ ), and reduce its abilities of migration and invasion ( $P < 0.05$ ). Interference of *FENDRR* expression could promote proliferation ( $[0.85 \pm 0.02]$  vs  $[0.77 \pm 0.08]$ ,  $P < 0.05$ ), migration and invasion of the A549 cell. **Conclusion:** Down-regulation of lncRNA *FENDRR* expression could related with occurrence and development of the Xuanweilung adenocarcinoma, which could play a role of tumor suppression in the process of tumor malignization and inhibit proliferation and metastasis of the tumor cells.

**[Key words]** Xuanwei lung adenocarcinoma; long non coding RNA (lncRNA); *FENDRR*; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2017, 24(7): 727-732. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.07.006]

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一,早期诊断和治疗是亟待解决的难题。2012年全球约有1.41千万新发癌症病例,肺癌发病数为180万,占癌症发病数的13%。发展中国家的女性肺癌的病死率仅次于乳腺癌,其中,中国女性肺癌发病率为20.4/10万,在东亚国家(包括中国),50%的肺癌死亡归因于吸入户外小分子颗粒物<sup>[1]</sup>。云南宣威地处边境,却是我国乃至世界的肺癌高发区。宣威肺癌具有高病死率、高复发率、预后极差的特点,非吸烟女性肺癌发病率、病死率极高,曾居全国首位<sup>[2]</sup>。研究宣威肺癌发生发展的分子机制,发现潜在分子靶点对改善预后尤为重要。长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)影响表观遗传调控、细胞周期调节和遗传剂量补偿效应等多种生物学过程,在人类癌症机制中发挥重要的致癌或抑癌作用<sup>[3-4]</sup>。*FENDRR*是一种lncRNA,与多梳抑制复合物2 (polycomb repressive complex 2, PRC2)或TrxG/MLL复合物协同调控基因。*FENDRR* mRNA产生于转录因子基因旁,是小鼠心脏和体壁内促进发育的作用因子<sup>[5]</sup>。目前少见对该基因抑癌作用的研究。前期芯片筛查<sup>[6]</sup>发现,*FENDRR*在云南宣威肺腺癌组织中较正常组织表达显著下调。本研究的体外实验旨在探讨宣威肺腺癌和非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)组织中*FENDRR*在分子层面的区别,及其对肺癌细胞增殖、迁移及侵袭的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞株及主要试剂

宣威肺腺癌XWLC-05株与NSCLC A549株细胞由中国科学院昆明动物研究所细胞库提供,本实验室冻存。胎牛血清(FBS)与1640培养基购自美国Gibco公司。用于基因检测分析的TRIzol及Real-

time qPCR试剂盒为TIANGEN公司产品,转染试剂Lipofectamine™ 2000与PCR引物由Invitrogen公司合成。全基因合成真核过表达重组质粒pEX-3-FENDRR与即用型shRNA慢病毒干扰系统LV3-FENDRR由上海吉玛GenePharma生物有限公司合成,并提供对应的阴性对照pEX-3-Control、LV3-NC。由于宣威肺癌致癌因素复杂,为了排除慢病毒细胞毒性因素对*FENDRR*表达的影响,研究宣威肺癌XWLC-05细胞(*FENDRR* mRNA低表达)、A549细胞(*FENDRR* mRNA高表达)中*FENDRR*基因表达变化以及生物学功能差异,根据两种细胞株的*FENDRR* mRNA表达水平高低,分别采用相对独立的两种处理方法:过表达质粒转染XWLC-05细胞,慢病毒干扰载体转染A549细胞,将实验组与同种细胞株的阴性对照相比较。

### 1.2 构建*FENDRR*过表达质粒与慢病毒干扰载体

1.2.1 构建过表达重组pEX-3-FENDRR质粒 pEX-3为全基因合成真核过表达载体,通过限制性内切酶对pUC57质粒多克隆位点Spe I/Hind III处理后,经切开的质粒去磷酸化,酶切产物通过琼脂糖凝胶电泳鉴定并切胶回收,克隆全长人*FENDRR*基因,重组合成CMV/MCS/Neo/*FENDRR*装载于真核过表达pEX-3载体,构建为过表达pEX-3-FENDRR质粒。

1.2.2 构建慢病毒干扰LV3-FENDRR载体 LV3-FENDRR(pGLVH1/GFP+Puro)是shRNA慢病毒即用型表达系统,通过GenePharma Supersilencing™ Vector方法筛选到有效的基因沉默靶点,进行Lentiviral shRNA的基因沉默构建包装,根据人*FENDRR*基因设计4条shRNA序列,包含3个干扰靶点,合成两条互补的短片段的DNA;对合成好的DNA片段进行稀释,退火,连接到线性化处理过的载体,转化,涂平板,过夜培养;通过PCR的方法筛选阳性菌落,进行

测序,分析结果以得到确定的重组质粒,提取和纯化高质量不含内毒素的shRNA病毒穿梭质粒;筛选出的高效重组载体和病毒包装质粒共转染293T细胞,进行包装并收集病毒液;浓缩、纯化病毒液,测定滴度为 $1 \times 10^8$  TU/ml。

### 1.3 实时荧光定量PCR检测XWLC-05与A549细胞内FENDRR的表达

两株细胞均在含有10% FBS的RPMI 1640培养基中培养,每3 d或当细胞密度达到 $2 \times 10^5$  个/ml时,以 $2 \times 10^4$  个/ml细胞密度传代。XWLC-05与A549细胞弃培养液,按照TRIzol-A+试剂盒说明书操作提取细胞RNA,按Tiangen逆转录试剂盒说明书操作将RNA反转录成cDNA。按SYBR Green I kit试剂盒说明书操作,两步法扩增FENDRR基因。引物上游为5'-GGTTGTTCTTATTCTGTGAGGCA-3',下游为5'-GGATAGGAAGGAGAGTTGATTTTGC-3'。以GAPDH基因为内参,根据获得的Ct值进行基因相对定量实验与分析, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法比较两株细胞FENDRR基因表达量,选用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 值法分析表达量。实验重复3次。

### 1.4 细胞转染与鉴定

1.4.1 过表达pEX-3-FENDRR质粒转染XWLC-05细胞 XWLC-05细胞接种6孔培养板( $2 \times 10^6$  个/孔),第2天待细胞密度达到90%以上时瞬时转染。设置pEX-3-FENDRR组与pEX-3-Control组,将重组过表达pEX-3-FENDRR质粒和pEX-3-Control质粒分别按1:3溶于Lipofectamin™ 2000,混匀室温放置。将6孔板培养基换成Opti-MEM减血清培养基,4 h后PBS冲洗,更换完全培养基,培养36 h后收集对数期细胞进行实时荧光定量PCR鉴定过表达效果。

1.4.2 慢病毒干扰LV3-FENDRR载体感染A549细胞 A549细胞种6孔板( $1.5 \times 10^6$  个/孔)。设置LV3-FENDRR组与LV3-NC组,将LV3-FENDRR病毒原液和对应LV3-NC病毒原液,分别按照1:10加入完全培养基稀释病毒原液为400  $\mu$ l直接滴加入孔,补培养基至1.2ml直接加入A549细胞,37  $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub>过夜培养。12 h移去细胞病毒培养液,加入完全培养基继续培养,感染后第3天实时荧光定量PCR鉴定干扰效果。

### 1.5 MTS实验检测FENDRR表达对肺癌细胞增殖活力的影响

pEX-3-FENDRR组和pEX-3-Control组的XWLC-05细胞分别转染过表达pEX-3-FENDRR质粒和pEX-3-Control对照质粒;LV3-FENDRR组与LV3-NC组的A549细胞分别感染慢病毒干扰LV3-FENDRR

载体和LV3-NC对照空载体。感染3d后台盼蓝计数细胞,以完全培养基重悬上述4组细胞( $1 \times 10^5$  个/ml),接种至待测板(约 $5 \times 10^3$  个/孔)继续培养。移除各组细胞液,每孔加20  $\mu$ l CellTite 96® Aqueous One Solution Reagent,常规细胞培养箱中孵育1 h。使用NanoQuant M200酶标仪检测波长490 nm的各孔光密度(D)值,测定3个复孔,取平均值,活细胞数与D值呈正比,实验重复3次。

### 1.6 Transwell实验检测细胞的侵袭和迁移能力

取pEX-3-FENDRR组、pEX-3-Control组的XWLC-05细胞和LV3-FENDRR组与LV3-NC组的A549细胞,加入8  $\mu$ m孔径、6.5 mm直径的Transwell小室,下室为含10% FBS的1640培养基,常规培养24 h后取出,弃液后PBS冲洗,用棉签轻拭擦去上室未迁移细胞,并加入4%多聚甲醛固定,使用结晶紫染色20 min后PBS冲洗待测;另使用Matrigel基质胶包被transwell上室,预冷保存12 h后,各取上述4组 $1 \times 10^4$  个细胞转移至上室培养24 h,染色并固定细胞步骤同迁移实验。侵袭与迁移实验均采用高倍显微镜下拍照细胞迁移、侵袭变化并随机选取8个视野计数,取均值。每组各设3个复孔。实验重复3次。

### 1.7 统计学处理

采用SPSS 19.0统计软件,计量资料以及表示,比较两组间差异用t检验,多组间差异比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 者表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 XWLC-05和A549细胞株内FENDRR的表达

转染前实时荧光定量PCR检测结果显示,FENDRR基因在宣威肺腺癌XWLC-05细胞中较NSCLC A549细胞呈明显低表达( $0.74 \pm 0.01$  vs  $13.60 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ )。

### 2.2 转染后XWLC-05和A549细胞内FENDRR表达的变化

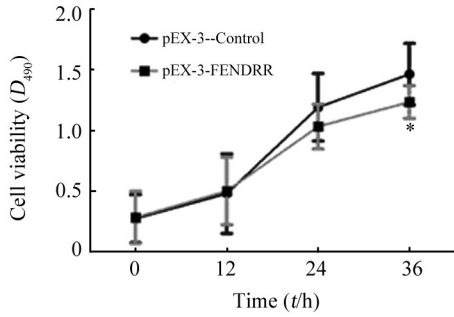
实时荧光定量PCR检测结果显示,pEX-3-FENDRR组处理后,XWLC-05细胞的FENDRR基因表达显著上调( $4.29 \pm 0.01$  vs  $1.64 \pm 0.03$ ,  $P < 0.05$ );LV3-FENDRR组干扰处理后,A549细胞FENDRR基因表达明显下调( $0.68 \pm 0.01$  vs  $1.34 \pm 0.06$ ,  $P < 0.05$ )

### 2.3 FENDRR基因过表达抑制XWLC-05细胞的增殖

MTS法检测细胞增殖结果(图1)显示,12 h后pEX-3-FENDRR组细胞增殖速率减慢,36 h后随着基因表达作用增强,pEX-3-FENDRR组D值显著低于pEX-



3-Control组( $1.23 \pm 0.13$  vs  $1.46 \pm 0.25$ ,  $P < 0.05$ ), pEX-3-FENDRR组XWLC-05细胞增长速度明显受到抑制。

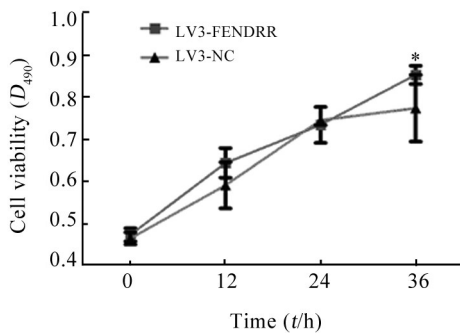


\* $P < 0.05$  vs pEX-3-Control

图1 FENDRR过表达对XWLC-05细胞增殖的抑制作用  
Fig. 1 Inhibitory effect of pEX-3-FENDRR over-expression on the proliferation of the XWLC-05 cell

2.4 抑制FENDRR基因表达促进A549细胞的增殖

MTS法检测细胞增殖结果(图2), 12 h后LV3-FENDRR组细胞增殖速率快; 36 h后LV3-FENDRR组比LV3-NC组的D值为( $0.85 \pm 0.02$ ) vs ( $0.77 \pm 0.08$ ), LV3-FENDRR组A549细胞增殖明显加快( $P < 0.05$ )。



\* $P < 0.05$  vs LV3-NC

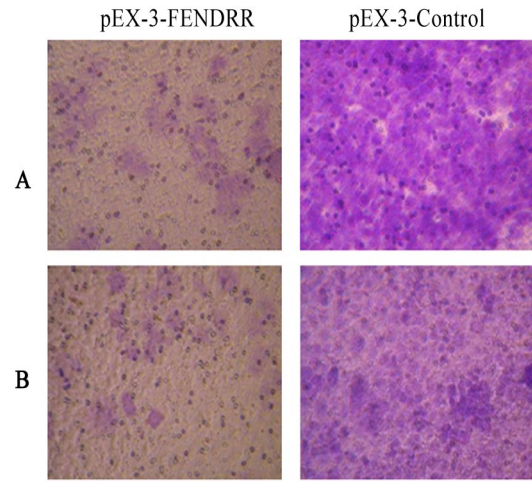
图2 干扰FENDRR表达促进A549细胞增殖  
Fig. 2 Promotion of interfering FENDRR expression on proliferation of the A549 cell

2.5 FENDRR基因过表达显著降低XWLC-05细胞的迁移和侵袭能力

Tranwell试验结果(图3)显示, pEX-3-FENDRR组和pEX-3-Control组XWLC-05细胞均能穿过无基质胶滤膜, 两组细胞穿膜数分别为( $43.78 \pm 8.60$ )个和( $119.01 \pm 8.37$ )个, 而pEX-3-FENDRR组和pEX-3-Control组侵袭穿膜数分别为( $34.56 \pm 2.88$ )个和( $93.56 \pm 3.84$ )个。上述结果说明, FENDRR基因过表达后XWLC-05细胞的迁移和侵袭能力显著降低( $P < 0.05$ )。

2.6 抑制FENDRR基因表达促进A549细胞的迁移和侵袭潜能

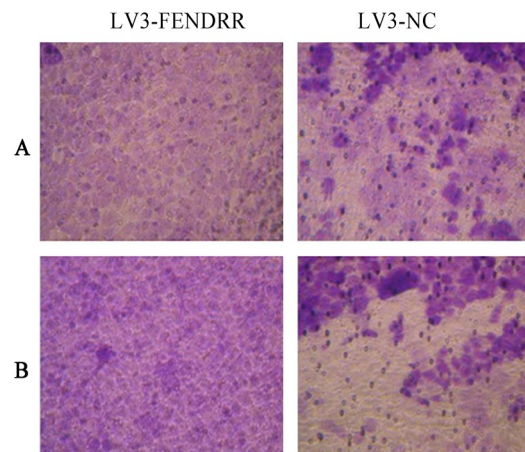
Tranwell试验结果(图4)显示, LV3-FENDRR组和LV3-NC组A549细胞均能穿过无基质胶滤膜, 两组穿膜细胞数分别为( $114.67 \pm 17.87$ )个和( $77.53 \pm 7.70$ )个, 而LV3-FENDRR组与LV3-NC组侵袭穿膜细胞数分别为( $114.44 \pm 8.68$ )个和( $79.22 \pm 5.80$ )个。上述结果说明, FENDRR基因表达下调后细胞迁移和侵袭能力显著升高( $P < 0.05$ )。



A: Migration; B: Invasion

图3 不同组XWLC-05细胞的迁移和侵袭能力 (结晶紫染色,  $\times 200$ )

Fig. 3 Invasion and migration abilities of the XWLC-05 cell in various groups (Crystal violet staining,  $\times 200$ )



A: Migration; B: Invasion

图4 不同组A549细胞的迁移和侵袭能力 (结晶紫染色,  $\times 200$ )

Fig. 4 Invasion and migration abilities of the A549 cells in various groups (Crystal violet staining,  $\times 200$ )

### 3 讨论

FENDRR是一种反义转录的基因间lncRNA。在FOXF1基因编码区域拷贝数的研究<sup>[7]</sup>中,发现鼠FOXF1启动子区域II与lncRNA基因FENDRR(又称FOXF1-AS1,或lncFOXF1)部分重合。人类致死性肺发育障碍疾病研究<sup>[8]</sup>显示,FENDRR mRNA在正常新生儿肺组织内表达,当肺发育障碍时有部分患者在140~2 625 kb区域和96至257 kb区域与上调的FOXF1互补。有研究<sup>[9-10]</sup>表明,在多种肿瘤中FENDRR均异常表达,说明FENDRR与肿瘤的发生、发展密切相关。

细胞迁移及侵袭能力影响肿瘤转移,本课题组前期研究<sup>[6]</sup>发现,FENDRR mRNA在空气污染相关性宣威肺癌组织中显著低表达,而且表达水平与患者预后成正相关。本实验中MTS法检测结果显示,过表达pEX-3-FENDRR质粒可抑制宣威肺腺癌XWLC-05细胞的增殖,并具有显著降低细胞迁移与侵袭能力的作用。并且,慢病毒LV3-FENDRR载体干扰NSCLCA549细胞FENDRR表达后,其增殖、侵袭与转移能力升高,说明该长链非编码RNA表达下调可能促进NSCLC细胞高侵袭转移。近年有报道<sup>[10]</sup>利用慢病毒介导shRNA改变A549细胞中FENDRR表达从而抑制细胞增殖和干性转化。作为两株高侵袭性细胞,宣威肺腺癌XWLC-05细胞与NSCLC的A549细胞相比,FENDRR过表达可能抑制XWLC-05细胞的迁移、侵袭能力。因此,用过表达FENDRR基因治疗宣威肺癌可能会是一种有意义的探索。

宣威肺癌是指在云南省宣威地区(E103°35'30"~104°49'48",N25°02'38"~26°44'50"),包括宣威、富源、麒麟和沾益等地,高发的一种肺癌。全国第3次死因回顾抽样调查统计<sup>[11-12]</sup>显示,该肺癌具有以下显著特点:肺腺癌居多,农村病死率高且地域差异明显,病死率的性别比值(男:女)低,男女差别不明显,但死亡高峰年龄提前。癌症分子微环境失衡影响深远<sup>[13]</sup>,核基因表观分子及其作用元件调控肿瘤细胞异常活动<sup>[14-16]</sup>。国内PM2.5也是近年逐渐关注的热点事件,颗粒物水平升高直接影响到肺癌的发生和发展<sup>[17]</sup>。红外光谱石英研究<sup>[18]</sup>表明,宣威地区烟煤中二氧化硅的含量占0.27 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ,未充分燃烧的二氧化硅和纤维颗粒沉积肺部。烟煤燃烧是导致全国肺癌高发的主要诱因,与空气污染密切相关。该病遗传学方面的

疑难点,同样引起了对肿瘤恶性生物学行为的思考。宣威DNA甲基化研究<sup>[19]</sup>表明,苯并芘(a)诱导DKK2肺癌组织启动子甲基化导致基因下调促进细胞增殖,说明颗粒物沉积促进基因表达异常是造成宣威肺癌高发的可能机制之一。本研究发现,FENDRR基因过表达后,XWLC-05细胞的迁移和侵袭能力均显著降低( $P<0.05$ ),说明该基因表达异常与宣威肺癌高侵袭、转移密切相关。进一步深入研究污染颗粒物与FENDRR的作用,FENDRR对基质金属蛋白酶及细胞外基质中的蛋白成分的影响是必要的。

本研究发现与NSCLC的A549细胞相比,FENDRR基因在宣威肺癌XWLC-05细胞中显著低表达;过表达FENDRR基因后,XWLC-05细胞生长增殖明显受到抑制,细胞侵袭、迁移能力显著降低。为探讨lncRNA FENDRR在宣威肺癌的侵袭转移及基因治疗中的作用奠定实验基础。

### [参考文献]

- [1] TORRE L A, BRAY F, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2): 87-108. DOI: 10.3322/caac.21262.
- [2] 吕任齐,赵体德. 云南省9县市肺癌死亡率趋势分析[J]. 中国肺癌, 2002, 11(12): 700-701.
- [3] GUO X, GAO L, LIAO Q, et al. Long non-coding RNAs function annotation: a global prediction method based on bi-colored networks. Nucleic Acids Res[J/OL], 2013, 41(2): e35[2017-01-15]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3554231/>. DOI:10.1093/nar/gks967.
- [4] XIANG J F, YIN Q F, CHEN T, et al. Human colorectal cancer-specific CCAT1-L lncRNA regulates long-range chromatin interactions at the MYC locus[J]. Cell Res, 2014, 24(5):513-531. DOI: 10.1038/cr.2014.35.
- [5] GROTE P, WITTLER L, HENDRIX D, et al. The tissue-specific lncRNA FENDRR is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse[J]. Dev Cell, 2013, 24(2):206-214. DOI: 10.1016/j.devcel.2012.12.012.
- [6] LI Q, WU C, SONG G, et al. Genome-wide analysis of long noncoding RNA expression profiles in human Xuanwei lung cancer [J]. Clin Lab, 2015, 61(10): 1515-1523. PMID: 26642714.
- [7] KIM I M, ZHOU Y, RAMAKRISHNA S, et al. Functional characterization of evolutionarily conserved DNA regions in Forkhead box fl gene locus[J]. J Biol Chem, 2005, 280(45): 37908-37916. DOI: 10.1074/jbc.M506531200.
- [8] SZAFRANSKI P, DHARMADHIKARI A V, BROSENS E, et al. Small noncoding differentially methylated copy-number variants, including lncRNA genes, cause a lethal lung developmental disorder [J]. Genome Res, 2013, 23(1):23-33. DOI:10.1101/gr.141887.112.
- [9] XU T P, HUANG M D, XIA R, et al. Decreased expression of the long non-coding RNA FENDRR is associated with poor prognosis

in gastric cancer and FENRR regulates gastric cancer cell metastasis by affecting fibronectin1 expression[J/OL]. *J Hematol Oncol*, 2014, 7:63[2017- 01- 15]. <https://jhoonline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13045-014-0063-7>. DOI:10.1186/s13045-014-0063-7.

[10] MIAO L, HUANG Z, ZENGLI Z, et al. Loss of long noncoding RNA FOXF1-AS1 regulates epithelial-mesenchymal transition, stemness and metastasis of non-small cell lung cancer cells[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(42): 68339-68349. DOI: 10.18632/oncotarget.11630.

[11] 李继华,唐锐,殷国清,等. 云南富源县肺癌发病状况调查[J]. *中国肿瘤*, 2004, 13(5): 286-289.

[12] 陈竺. 全国第三次死因回顾抽样调查报告[M]. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 52-87.

[13] SULPICE L, DESILLE M, TURLIN B, et al. Gene expression profiling of the tumor microenvironment in human intrahepatic cholangiocarcinoma[J/OL]. *Genom Data*, 2016, 7: 229-232 [2017-01-15]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213596016300113>. DOI: 10.1016/j.gdata.2016.01.012.

[14] KIM J S, HE X, ORR B, et al. Intact Cohesion, anaphase, and chromosome segregation in human cells harboring tumor-derived mutations in STAG2[J/OL]. *PLoS Genet*, 2016, 12(2):e1005865[2017-01- 15]. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pgen.1005865>. DOI:10.1371/journal.pgen.1005865.

[15] FEINBERG A P, KOLDOBSKIY M A, GÖNDÖR A. Epigenetic modulators, modifiers and mediators in cancer aetiology and progression[J]. *Nat Rev Genet*, 2016, 17(5): 284- 299. DOI:10.1038/nrg.2016.13.

[16] HSU C C, TSENG L M, LEE H C. Role of mitochondrial dysfunction in cancer progression[J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2016, 241(12):1281-1295. DOI: 10.1177/1535370216641787

[17] YANG B, CHEN D, ZHAO H, et al. The effects for PM2.5 exposure on non-small-cell lung cancer induced motility and proliferation[J/OL]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 2059[2017- 01- 15]. <http://springerplus.springeropen.com/articles/10.1186/s40064- 016- 3734-8>. DOI:10.1186/s40064-016-3734-8.

[18] DOWNWARD G S, HU W, ROTHMAN N, et al. Quartz in ash, and air in a high lung cancer incidence area in China[J/OL]. *Environ Pollut*, 2017, 221: 318-325[2017-01-15]. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749116310442>. DOI:10.1016/j.envpol.2016.11.081.

[19] JIANG C L, HE S W, ZHANG Y D, et al. Air pollution and DNA methylation alterations in lung cancer: A systematic and comparative study[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(1): 1369-1391. DOI:10.18632/oncotarget.13622.

[收稿日期] 2017-03-05 [修回日期] 2017-05-25  
[本文编辑] 宋关鸿

· 读者·作者·编者·

## 凡临床试验都应在中国临床试验注册中心注册

中国临床试验注册中心(Chinese Clinical Trial Register,ChiCTR)为卫生部下属的国家临床试验注册中心,是世界卫生组织国际临床试验注册协作网一级注册机构(World Health Organization International Clinical Trial Registration Platform Primary Register, WHO ICTRP Primary Register),由卫生部中国循证医学中心和四川大学华西医院等于2005年7月25日正式成立并运行。全球临床试验注册制度由世界各国政府共同决定由WHO领导建立。临床试验注册具有伦理和科学的双重意义,目的是为了尊重和珍惜所有试验参与者的贡献,他们的贡献用于改善全社会的医疗保健,因此,任何临床试验都与公众利益相关。公开临床试验的信息,并将其置于公众监督之下是试验研究者的义务和道德责任。临床试验注册不仅能确保追溯每个临床试验的结果,公开在研试验或试验结果信息还有助于减少不必要的重复研究。

ChiCTR的宗旨是联合中国和全球的临床医师、临床流行病学家、统计学家、流行病学家和医疗卫生管理者,严格科学地管理中国临床试验信息,提高其质量,为广大医务工作者、医疗卫生服务消费者和政府卫生政策制定者提供可靠的临床试验证据,让医疗卫生资源更好地服务于中国人民和全人类的健康事业。

所有在人体实施的试验均属于临床试验,都应该先注册后实施。凡已注册临床试验都会被授予WHO ICTRP全球统一的唯一注册号。

我国众多医学期刊已和中国临床试验注册中心共同建立了临床试验报告发表机制,正在分步实施优先发表、直到只发表具有全球性唯一注册号的临床试验报告。

ChiCTR接受中国地区及全球的临床试验注册申请,还接受获得WHO ICTRP认证的二级注册机构输送的注册资料,并向WHO ICTRP中央数据库输送注册信息供全球检索。除注册临床试验外,ChiCTR以卫生部中国循证医学中心、循证医学教育网上合作研究中心、中国Cochrane中心、英国Cochrane中心、四川大学华西医院国际临床流行病学网华西资源与培训中心为人才和技术支持平台,负责指导临床试验设计、中心随机、论文写作、教育培训,推动提高我国临床试验的质量。

通过ChiCTR检索入口网址 [www.chictr.org](http://www.chictr.org),公众可方便地查询已注册临床试验信息,并与WHO全球检索入口链接,可方便地查询全球已注册临床试验。

(本刊编辑部)