

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.06.002

· 基础研究 ·

长链非编码 RNA UCA1 靶向调控 miR-185-5p 对非小细胞肺癌 A549 细胞的作用及其机制

蔡华荣, 王志强, 江跃全(重庆大学附属肿瘤医院胸外科 重庆市肿瘤研究所, 重庆 400030)

[摘要] **目的:**探究长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 尿路上皮癌抗原 1 (urothelial carcinoma associated 1, UCA1) 调控非小细胞肺癌 (NSCLC) A549 细胞增殖、侵袭和迁移的作用及其机制。**方法:**NSCLC A549 细胞培养及慢病毒转染完成后, RT-PCR 检测 A549 细胞 UCA1 表达水平, 荧光素酶实验验证 UCA1 和 miR-185-5p 的靶向关系, MTT 检测 A549 细胞活性, Transwell 和划痕实验检测细胞侵袭和迁移能力; Western blotting 检测 Wnt1/ β -catenin 信号通路蛋白的表达。**结果:**sh-UCA1 能显著抑制 UCA1 表达并促进 miR-185-5p 表达 (均 $P < 0.05$), miR-185 inhibitor 可减弱 sh-UCA1 对 miR-185-5p 表达的促进作用 ($P < 0.05$), UCA1 能明显抑制 miR-185-5p 表达 ($P < 0.05$), miR-185 mimic 可减弱 UCA1 对 miR-185-5p 表达的抑制作用 ($P < 0.05$)。荧光素酶报告实验表明 UCA1 序列上有 miR-185-5p 的结合位点。sh-UCA1 能显著抑制 A549 细胞增殖、侵袭和迁移 (均 $P < 0.05$), 并能降低信号通路蛋白 Wnt1/ β -catenin 信号和 TCF-4 表达水平 (均 $P < 0.05$); miR-185 inhibitor 能显著减弱 sh-UCA1 对 A549 细胞的增殖、侵袭、迁移及对 Wnt1/ β -catenin 通路蛋白表达的抑制作用 ($P < 0.05$)。**结论:**UCA1 可通过靶向 miR-185-5p 促进 NSCLC 细胞的增殖、侵袭和迁移, 其作用机制与 Wnt1/ β -catenin 信号通路激活有关。

[关键词] 长链非编码 RNA; 尿路上皮癌抗原 1; miR-185-5p; 非小细胞肺癌; A549 细胞

[中图分类号] R734.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)06-0555-07

Effect and mechanism of lncRNA UCA1 target regulating miR-185-5p on non-small cell lung cancer A549 cell

CAI Huarong, WANG Zhiqiang, JIANG Yuequan (Department of Thoracic Surgery, Affiliated Cancer Hospital of Chongqing University; Chongqing Cancer Institute, Chongqing 400030, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect and underlying mechanism of Long non-coding RNA urothelial carcinoma associated 1 (lncRNA UCA1) on proliferation, invasion and migration of non-small cell lung cancer (NSCLC) A549 cells. **Methods:** NSCLS A549 cells were cultured and transfected with lentivirus; RT-PCR was employed to detect the levels of UCA1 in A549 cells. The relationship between UCA1 and miR-185-5p was validated by luciferase reporter assays. Cell viability of A549 cells was measured by MTT. Cell invasion and migration were determined by Transwell and Wound healing assay, respectively; and western blotting was performed for measuring the levels of Wnt1/ β -catenin pathway-related proteins. **Results:** sh-UCA1 significantly decreased UCA1 expression and increased miR-185-5p expression in A549 cells (all $P < 0.05$). miR-185 inhibitor attenuated the promotion effect of sh-UCA1 on miR-185-5p ($P < 0.05$). UCA1 could significantly down-regulate miR-185-5p expression in A549 cells ($P < 0.05$), which was reversed by miR-185 mimic ($P < 0.05$). Luciferase reporter assay validated the binding site on UCA1 to link miR-185-5p. sh-UCA1 significantly inhibited cell proliferation, invasion and migration of A549 cells (all $P < 0.05$), and also decreased the protein levels of Wnt1, β -catenin and TCF-4 notably (all $P < 0.05$); however, miR-185 inhibitor attenuated such inhibitory effects of sh-UCA1 ($P < 0.05$). **Conclusion:** UCA1 could promote proliferation, invasion and migration of A549 cells through targeting miR-185-5p, and the mechanisms might be related with activation of Wnt1/ β -catenin pathway.

[Key words] long non-coding RNA(lncRNA); urothelial carcinoma antigen 1(UCA1); miR-185-5p; non-small cell lung cancer (NSCLC); A549 cell

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(6): 555-561. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.06.002]

肺癌是最常见的恶性肿瘤之一, 也是我国发病率最高的一类癌症, 该病因具有高发病率和高病死率而受到广泛关注^[1-2]; 非小细胞肺癌 (NSCLC) 占所有肺癌类型的 85%^[3-5]。尽管近年来在肺癌化疗和靶

[基金项目] 重庆市卫生局资助项目 (No.2013-2-122)。Project supported by Chongqing Municipal Health Bureau Foundation (No.2013-2-122)

[作者简介] 蔡华荣 (1977-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事胸部肿瘤治疗的研究, E-mail: zp.8774@163.com

[通信作者] 江跃全 (JIANG Yuequan, corresponding author), 博士, 主任医师, 主要从事胸部肿瘤治疗的研究, E-mail: 18555203@qq.com

向治疗方面均取得新进展,但NSCLC的预后仍不容乐观^[6-7]。研究^[8-9]表明,长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)在调控癌症的发展过程中发挥了重要作用。lncRNA 尿路上皮癌抗原1(urothelial carcinoma associated 1, UCA1)是最先发现于人尿路上皮癌中的一类非编码RNA,可通过靶向调控微小RNA(miRNA)的表达影响癌症的发生发展^[10-11]。已有研究^[12]表明,UCA1表达水平与NSCLC预后密切相关,UCA1过表达能促进癌细胞增殖和迁移,其作用机制与抑制miR-193a-3p表达有关。miR-185-5p是一类抑癌基因,在胃癌、乳腺癌及肺癌等癌细胞中呈低表达状态^[13-14]。生物信息预测^[15]研究显示,UCA1和miR-185-5p之间也可能存在靶向调控关系。因此,本研究以NSCLC细胞A549为研究对象,探讨UCA1对NSCLC的作用及其机制,并探寻新的治疗靶标,对提高NSCLC患者生存率具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 细胞株及主要试剂

NSCLC A549细胞株来自于美国ATCC公司。UCA1 shRNA、miR-185 inhibitor和miR-185 mimic均由美国Invitrogen公司设计合成,RPMI 1640培养液、胎牛血清和0.25%胰蛋白酶均购自美国Gibco公司,Lipofecamine™2000购自美国ThermoFisher公司,TRIzol、反转录试剂盒和SYBR PCR Master Mix试剂盒购自日本TOYOBO公司。MTT试剂购自美国Sigma公司。抗Wnt1、 β -catenin和TCF-4抗体购自英国Abcam公司,HRP标记的山羊抗兔二抗购自北京博奥森生物技术公司。

1.2 细胞培养

用含10%胎牛血清、100 U/ml青霉素和100 mg/ml链霉素的RPMI 1640培养液培养NSCLC细胞系A549,培养条件为37℃、5% CO₂。隔天换液1次,细胞汇合度达到85%以上时进行传代培养。

1.3 细胞转染

将细胞传代培养于6孔板中,培养24 h后进行细胞转染。根据转染试剂盒说明书用GFP标记的慢病毒和Lipofecamine™2000分别或同时转染sh-UCA1、miR-185 inhibitor或转染pcDNA3.1-UCA1和miR-185 mimic。转染48 h后,收集细胞,进行后续实验。

1.4 RT-PCR检测A549细胞UCA1表达水平

将细胞分为A549组、sh-Ctrl组和sh-UCA1组,用sh-UCA1转染细胞后,用TRIzol试剂提取各组细胞总RNA,测定RNA浓度和纯度后,用反转录试剂盒合成cDNA,用PCR仪进行扩增,用SYBR PCR

Master Mix试剂盒对UCA1和miR-185-5p表达水平进行检测,以GAPDH为内参。实验所用到的引物均采用Primer 3网站设计,由大连TaKaRa公司合成。实验重复3次。

1.5 荧光素酶报告实验检测UCA1野生质粒的荧光素酶活性

利用生物信息预测网站预测UCA1和miR-185-5p的结合片段,用RT-PCR扩增UCA1上两者的结合片段,并将该结合片段插入到pMIR-REPORT中,构建UCA1野生质粒,再利用基因突变技术将结合位点突变,构建UCA1突变质粒。用UCA1野生质粒、UCA1突变质粒和miR-185mimic分别或同时对细胞进行转染,用Dual Luciferase报告基因试剂盒检测各组荧光素酶活性。实验重复3次。

1.6 MTT法检测转染后A549细胞的生长情况

将细胞传代接种于96孔板中,将细胞分为sh-Ctrl组、sh-UCA1组、miR-185 inhibitor组和sh-UCA1 + inhibitor组,每组6个复孔。sh-Ctrl组用不含目的基因的载体进行转染,sh-UCA1组和miR-185 inhibitor组分别用sh-UCA1和miR-185 inhibitor进行转染,sh-UCA1 + inhibitor组用sh-UCA1和miR-185 inhibitor同时转染,转染4~6 h后,更换为正常培养液,并分别于转染后0、24、48、72和96 h每孔加入20 μ l MTT试剂,于37℃孵育4 h后加入150 μ l DMSO,混匀后于490 nm处检测光密度(D)值。实验重复3次。

1.7 Transwell检测A549细胞的侵袭能力

将转染后的细胞传代培养于用基质胶预包被的Transwell小室中,细胞密度为 1×10^5 个/ml,用无血清培养液进行培养,小室下层加入正常培养液。培养24 h后用无菌棉签擦去小室内细胞,用结晶紫对侵袭至小室下层的细胞进行染色,每孔随机选取5个视野进行计数统计,每组3个复孔。实验重复3次。

1.8 划痕实验检测A549细胞的迁移能力

实验前1 d用Marker笔于12孔板背面划平行的5条直线,消毒灭菌后置于无菌环境备用。第2天将细胞传代培养于提前准备好的12孔板中,细胞密度为 1×10^5 个/ml,转染后48 h,用10 μ l枪头垂直于培养板背面横线划痕。用预冷PBS洗涤3次,每次5 min,加入无血清培养液继续培养24 h,分别于0、24 h于荧光显微镜下每孔随机选取3个视野记录统计。实验重复3次。

1.9 Western blotting检测A549细胞Wnt1、 β -catenin和TCF-4的表达

用RIPA提取各组细胞总蛋白,用BCA试剂盒检测各组蛋白质浓度。用10% SDS-PAGE分离蛋白,半干法转移蛋白质到PVDF膜,用5%脱脂奶粉室温

封闭 2 h 后, 加入稀释一抗 (Wnt1, 1:1 200; β -catenin, 1:1 000; TCF-4, 1:1 000) 4 °C 封闭过夜。次日弃去一抗, 清洗 3 次后, 加入相应二抗室温封闭 1 h 后, 滴加 ECL 用凝胶成像系统采集蛋白条带图像, 用 ImageJ 对蛋白质条带进行定量分析。实验重复 3 次

1.10 统计学处理

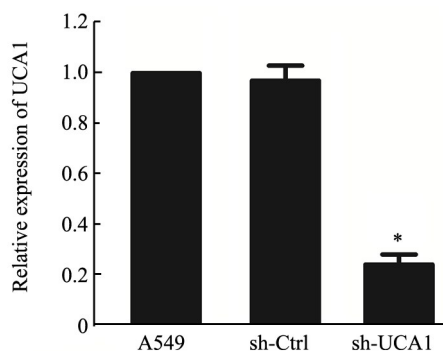
采用 SPSS 17.0 统计学软件, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 UCA1 靶向调控 A549 细胞 miR-185-5p 的表达。

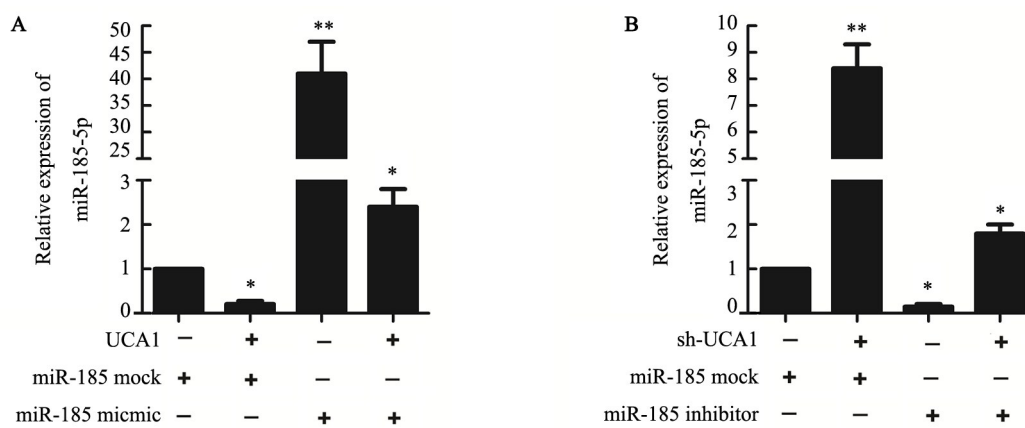
RT-PCR 检测结果(图 1)显示, 与 A549 组比较, sh-UCA1 组 UCA1 表达水平明显降低 ($P < 0.05$), 表明转染成功; UCA1 过表达能显著抑制 A549 细胞 miR-185-5p 表达, miR-185 mimic 能明显减弱 UCA1 对 miR-185-5p 表达的抑制作用 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 图

2A); 沉默 UCA1 后, A549 细胞 miR-185-5p 表达水平明显升高, miR-185 inhibitor 能显著减弱 sh-UCA1 对 miR-185-5p 的促进作用 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$, 图 2B)。



* $P < 0.05$ vs sh-Ctrl or A549 group

图 1 sh-UCA1 对 A549 细胞 UCA1 表达的影响
Fig.1 The effect of sh-UCA1 on the expression of UCA1 in A549 cells



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs UCA1 or sh-UCA1 group

A: Effect of miR-185 mimic on UCA1 inhibiting miR-185-5p expression;
B: Effect of miR-185 inhibitor on sh-UCA1 promoting miR-185-5p expression

图 2 沉默 UCA1 对 NSCLC 细胞 miR-185-5p 表达的影响

Fig.2 Effect of UCA1 silencing on the expression of miR-185-5p in NSCLC cells

2.2 miR-185 mimic 能显著降低 UCA1 野生质粒的荧光素酶活性

生物信息预测显示, UCA1 上存在连续的 miR-185-5p 结合位点。荧光素酶报告实验结果结果(图 3)显示, miR-185 mimic 能显著降低 UCA1 野生质粒的荧光素酶活性 ($P < 0.05$), 但对 UCA1 突变质粒荧光素酶活性无明显影响 ($P > 0.05$)。表明 UCA1 和 miR-185-5p 之间存在靶向调控关系。

2.3 sh-UCA1 能通过促进 miR-185-5p 的表达抑制 A549 细胞生长

与 sh-Ctrl 组比较, 细胞转染后 96 h, sh-UCA1 组 A549 细胞生长速度明显降低 ($P < 0.05$, 图 4), miR-

185 inhibitor 组细胞生长速度明显升高 ($P < 0.05$, 图 4); sh-UCA1+inhibitor 组细胞生长速度与 sh-UCA1 组比较显著升高, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$, 图 3)。

2.4 sh-UCA1 通过促进 miR-185-5p 的表达而降低 A549 细胞的侵袭能力

Transwell 实验结果(图 5)显示, sh-UCA1 组侵袭细胞数与 sh-Ctrl 组比较明显较少; 与 sh-UCA1 组比较, sh-UCA1+inhibitor 组侵袭细胞数显著增多 ($P < 0.05$)。表明 sh-UCA1 能通过 miR-185-5p 的表达从而降低 A549 细胞的侵袭能力。

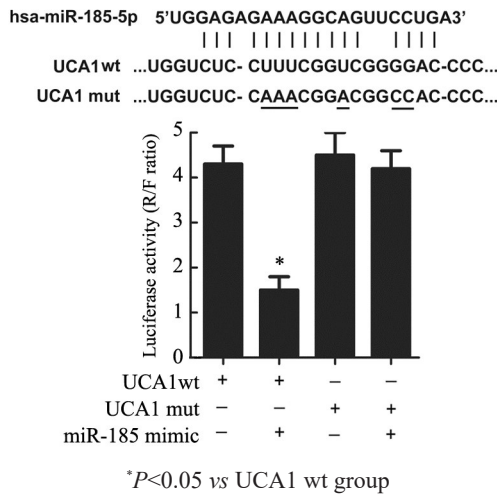


图3 荧光素酶报告实验验证UCA1和miR-185-5p的靶向关系
Fig. 3 Luciferase report assay validated the targeting relationship between UCA1 and miR-185-5p

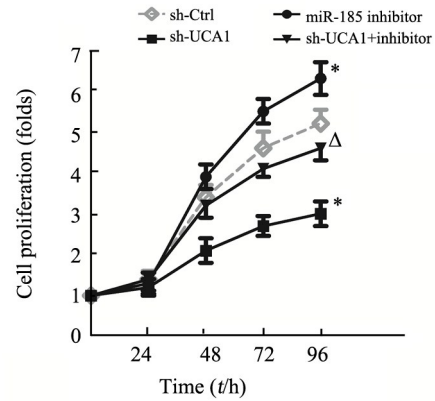


图4 沉默UCA1对A549细胞增殖的影响
Fig. 4 Effect of silencing UCA1 on the proliferation of A549 cells

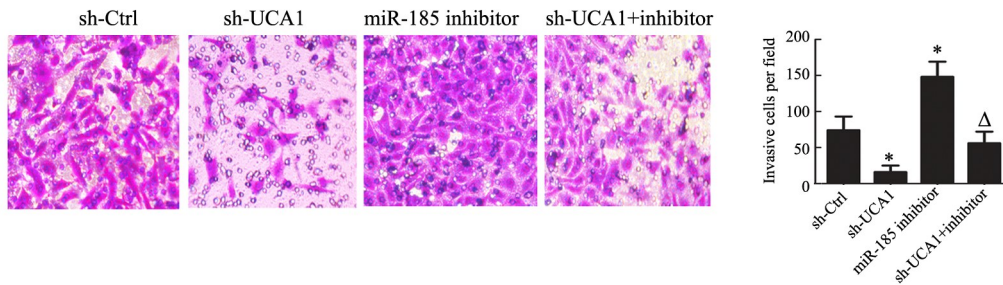


图5 沉默UCA1对NSCLC细胞侵袭能力的影响(H-E,×200)

Fig. 5 Effect of silencing UCA1 on the invasive ability of NSCLC cells (H-E, ×200)

2.5 沉默UCA1通过促进miR-185-5p的表达降低A549细胞的迁移能力

划痕实验检测结果(图6)显示,与sh-Ctrl组比较,sh-UCA1组A549细胞划痕愈合速度明显减慢($P <$

0.05),miR-185 inhibitor组细胞划痕愈合速度明显加快($P < 0.05$),sh-UCA1+inhibitor组划痕愈合速度显著高于sh-UCA1组($P < 0.05$)。

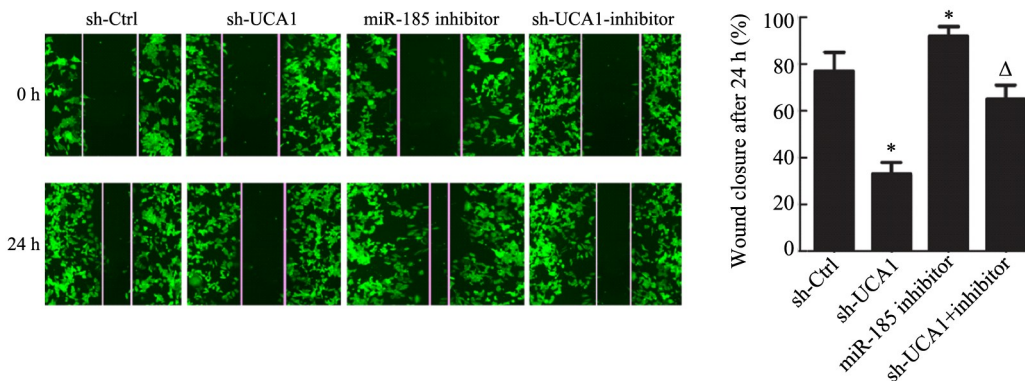


图6 沉默UCA1对NSCLC细胞迁移能力的影响(×40)

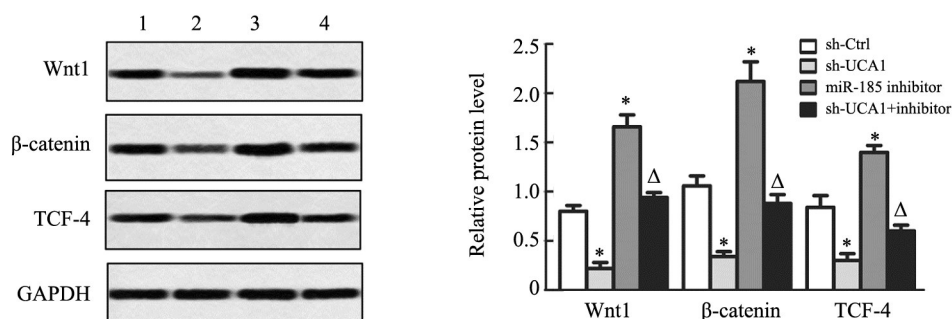
Fig. 6 Effect of silencing UCA1 on migration ability of NSCLC cells (×40)

2.6 沉默sh-UCA1可激活Wnt1/β-catenin信号通路

Western blotting 检测结果(图7)显示,sh-UCA1

能显著抑制 A549 细胞 Wnt1、 β -catenin 和 TCF-4 的表达 (均 $P < 0.05$); miR-185 inhibitor 能显著提高 Wnt1、 β -catenin 和 TCF-4 蛋白表达水平 (均 $P < 0.05$); miR-185 inhibitor 能明显减弱 sh-UCA1 对 Wnt1、 β -catenin

和 TCF-4 表达的抑制作用 (均 $P < 0.05$)。表明 sh-UCA1 可通过上调 miR-185-5p 表达抑制 Wnt1/ β -catenin 信号通路激活。



* $P < 0.05$ vs sh-Ctrl group; $\Delta P < 0.05$ vs sh-UCA1 group

1: sh-Ctrl; 2: sh-UCA1; 3: miR-185 inhibitor; 4: sh-UCA1+inhibitor

图7 沉默UCA1对Wnt1/ β -catenin信号通路的影响

Fig. 7 Effect of silencing UCA1 on Wnt1/ β -catenin signaling pathway

3 讨论

肺癌是全球发病率和致死率最高的一类恶性肿瘤,大多数肺癌患者在确诊时都已属于晚期,癌细胞已经出现了远端转移,无法接受手术根治^[2]。虽然目前针对晚期肺癌的化疗及靶向治疗等已经取得了一定的进展,但肺癌致死率仍居高不下^[6-7]。因此探究肺癌发生机制、寻找新的治疗靶标是提高肺癌患者存活率的关键。近年来lncRNA在癌症发生发展中的异常表达受到广泛关注。研究^[16-18]表明,lncRNA的异常表达与癌症的发生发展密切相关。如lncRNA CARLo-5、XIST、HIF1A-AS1和MVIH等在NSCLC中均呈高表达状态,能够促进癌细胞的增殖、抑制癌细胞凋亡。也有lncRNA在NSCLC中低表达,促进其表达能减缓癌症的发展,如GAS5、MEG3、GAS6-AS1和BANCR等^[19-22]。因此,探究lncRNA调控癌症发展的机制可能对发现新的癌症治疗靶点具有积极意义。

lncRNA UCA1是近年来发现于尿路上皮癌中的一类lncRNA,UCA1高表达与癌细胞的转移密切相关^[10]。已有研究^[23]表明,UCA1在肺癌细胞中呈高表达状态,可以作为肺癌的预测标记物。本研究也表明,UCA1在NSCLC细胞A549中表达明显增高。lncRNA是一类竞争性内源RNA,可通过靶向调控下游miRNA的表达影响癌症的发生发展。UCA1可通过抑制miR-135a的表达促进胰腺癌细胞增殖和转移,还可通过调控miR-203表达促进肝细胞癌发展^[24-25]。WEI等^[26]研究发现,UCA1的致癌作用与下调miR-

193a-3p表达有关,抑制UCA1表达能减少NSCLC细胞集落的形成。本文通过生物信息预测发现,UCA1序列上存在连续的miR-185-5p结合位点。miR-185-5p被认为是一类抑癌基因,miR-185-5p可通过增强NSCLC细胞对化疗药物顺铂的敏感性减缓NSCLC的发展^[27-28]。本研究表明,UCA1过表达能显著抑制A549细胞miR-185-5p的表达,miR-185 mimic能减弱其对miR-185-5p表达的抑制作用;沉默UCA1后,miR-185-5p表达水平明显升高,其抑制剂可减弱sh-UCA1对miR-185-5p的促进作用,提示UCA1可能可通过靶向结合miR-185-5p,从而抑制其表达,促进癌症发展。荧光素酶报告实验进一步验证了UCA1与miR-185-5p的靶向调控关系。

癌细胞无限增殖是癌症发生发展的重要机制之一,癌症的转移则是导致癌症恶化和癌症病人死亡的重要原因^[29]。本研究发现,用sh-UCA1沉默UCA1表达能显著抑制NSCLC细胞生长,并能减弱A549细胞的侵袭和迁移能力,进一步表明UCA1是一类致癌基因,临床可能可通过下调UCA1减缓NSCLC的发展。本研究结果表明,UCA1可靶向调控miR-185-5p表达,但UCA1对NSCLC的作用是否与调控miR-185-5p表达有关还未知。进一步研究发现,抑制miR-185-5p表达能显著减弱sh-UCA1对A549细胞增殖、侵袭和迁移的抑制作用,提示UCA1促进NSCLC细胞增殖、侵袭和迁移的作用与其抑制miR-185-5p的表达有关。

研究^[30-31]表明,Wnt1/ β -catenin信号通路与癌症的发生密切相关,Wnt1高表达可与Frizzled家族成员结

合形成稳定的受体复合物,该受体复合物可抑制 GSK-3 β 合成,从而抑制 β -catenin 磷酸化,导致细胞质 β -catenin 堆积。 β -catenin 积累过多时可转移至细胞核并与 TCF-4 结合,从而上调细胞周期相关蛋白基因 cyclin D1、cyclin D2 表达,延长细胞 S 期,从而促进细胞增殖,诱导癌症的发生^[30, 33]。研究^[34]发现,Wnt1/ β -catenin 信号通路在调控 NSCLC 发生发展过程中发挥了重要作用。本研究发现,沉默 UCA1 能显著抑制 Wnt1、 β -catenin 和 TCF-4 表达,抑制 miR-185-5p 表达能明显减弱 sh-UCA1 对 Wnt1/ β -catenin 信号通路的抑制作用,提示 UCA1 可通过抑制 miR-185-5p 表达促进 Wnt1/ β -catenin 信号通路激活,从而促进 NSCLC 细胞增殖、侵袭和迁移。

综上所述,UCA1 可通过下调 miR-185-5p 表达促进 NSCLC 细胞生长、侵袭和迁移,其机制与其通过调控 miR-185-5p 表达促进 Wnt1/ β -catenin 信号通路激活有关。提示抑制 UCA1 表达可通过靶向 miR-185-5p 抑制 NSCLC 细胞生长和转移,从而抑制 NSCLC 的发展。本研究进一步阐明了 UCA1 促进 NSCLC 发展的作用机制,可能为临床开发新的抗 NSCLC 药物提供了新的思路。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21332.
- [2] CHEN W, ZHENG R, ZENG H, et al. Annual report on status of cancer in China, 2011[J]. *Chung-kuo Yen Cheng Yen Chiu*, 2015, 27(1): 2-12. DOI:10.3978/j.issn.1000-9604.2015.01.06.
- [3] MOLINA J R, YANG P, CASSIVI S D, et al. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship[J]. *Mayo Clin Proc*, 2008, 83(5): 584-594. DOI:10.4065/83.5.584.
- [4] KIM A W, DETTERBECK F C, BOFFA D J, et al. Characteristics associated with the use of nonanatomic resections among medicare patients undergoing resections of early-stage lung cancer[J]. *Ann Thorac Surg*, 2012, 94(3): 895-901. DOI: 10.1016 / j. athorac-sur.2012.04.091.
- [5] SHER T, DY G K, ADJEI A A. Small cell lung cancer[J]. *Mayo Clin Proc*, 2008, 83(3): 355-367. DOI: 10.4065/83.3.355.
- [6] JANKU F, STEWART D J, KURZROCK R. Targeted therapy in non-small-cell lung cancer is it becoming a reality[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2010, 7(7): 401-414. DOI: 10.1038/nrclinonc.2010.64.
- [7] RECK M, HEIGENER D F, MOK T, et al. Management of non-small-cell lung cancer: recent developments[J]. *Lancet*, 2013, 382(9893): 709-719. DOI: 10.1016/S0140-6736(13)61502-0.
- [8] SHI X, SUN M, LIU H, et al. Long non-coding RNAs: a new frontier in the study of human diseases[J]. *Cancer Lett*, 2013, 339(2): 159-166. DOI: 10.1016/j.canlet.2013.06.013.
- [9] HAEMMERLE M, GUTSCHNER T. Long non-coding RNAs in cancer and development: where do we go from here?[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(1): 1395-1405. DOI: 10.3390/ijms16011395.
- [10] WANG X S, ZHANG Z, WANG H C, et al. Rapid identification of UCA1 as a very sensitive and specific unique marker for human bladder carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2006, 12(16): 4851-4858. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0134.
- [11] TUO Y L, LI X M, LUO J. Long noncoding RNA UCA1 modulates breast cancer cell growth and apoptosis through decreasing tumor suppressive miR-143[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(18): 3403-3411.
- [12] LI H J, LI X, PANG H, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes glutamine metabolism by targeting miR-16 in human bladder cancer[J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2015, 45(11): 1055-1063. DOI: 10.1093/jjco/hyv132.
- [13] LI S, MA Y, HOU X, et al. miR-185 acts as a tumor suppressor by targeting AKT1 in non-small cell lung cancer cells[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(9): 11854-11862.
- [14] TAN Z, JIANG H, WU Y, et al. miR-185 is an independent prognosis factor and suppresses tumor metastasis in gastric cancer[J]. *Mol Cell Biochem*, 2014, 386(1/2): 223-231. DOI: 10.1007/s11010-013-1860-y.
- [15] TANG H, LIU P, YANG L, et al. miR-185 suppresses tumor proliferation by directly targeting E2F6 and DNMT1 and indirectly up-regulating BRCA1 in triple-negative breast cancer[J]. *Mol Cancer Ther*, 2014, 13(12): 3185-3197. DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-14-0243.
- [16] NIE F Q, ZHU Q, XU T P, et al. Long non-coding RNA MVIH indicates a poor prognosis for non-small cell lung cancer and promotes cell proliferation and invasion[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(8): 7587-7594. DOI: 10.1007/s13277-014-2009-7.
- [17] TANTAI J, HU D, YU Y, et al. Combined identification of long non-coding RNA XIST and HIF1A-AS1 in serum as an effective screening for non-small cell lung cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(7): 7887-7895. PMID: 26339353.
- [18] LUO J, TANG L, ZHANG J, et al. Long non-coding RNA CARLo-5 is a negative prognostic factor and exhibits tumor pro-oncogenic activity in non-small cell lung cancer[J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(11): 11541-11549. DOI: 10.1007/s13277-014-2442-7.
- [19] SHI X, SUN M, LIU H, et al. A critical role for the long non-coding RNA GAS5 in proliferation and apoptosis in non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2015, 54 Suppl 1(S1): 1-12. DOI: 10.1002/mc.22120.
- [20] PRENSNER J R, CHINNAIYAN A M. The emergence of lncRNAs in cancer biology[J]. *Cancer Discov*, 2011, 1(5): 391-407. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-11-0209.
- [21] HAN L, KONG R, YIN D D, et al. Low expression of long noncoding RNA GAS6-AS1 predicts a poor prognosis in patients with NSCLC[J]. *Med Oncol*, 2013, 30(4): 694-699. DOI: 10.1007 / s12032-013-0694-5.
- [22] CHEN J, WANG R, ZHANG K, et al. Long non-coding RNAs in non-small cell lung cancer as biomarkers and therapeutic targets[J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(12): 2425-2436. DOI: 10.1111/jcmm.12431.
- [23] WANG H M, LU J H, CHEN W Y, et al. Upregulated lncRNA-UCA1 contributes to progression of lung cancer and is closely related to clinical diagnosis as a predictive biomarker in plasma[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(7): 11824-11830.
- [24] ZHANG X, GAO F, ZHOU L, et al. UCA1 Regulates the growth

- and metastasis of pancreatic cancer by sponging miR-135a[J]. *Oncol Res*, 2017, 25(9): 1529-1541. DOI: 10.3727/096504017X14888987683152.
- [25] XIAO J N, YAN T H, YU R M, et al. Long non-coding RNA UCA1 regulates the expression of snail2 by miR-203 to promote hepatocellular carcinoma progression[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2017, 143(6): 981-990. DOI: 10.1007/s00432-017-2370-1.
- [26] NIE W, GE H J, YANG X Q, et al. LncRNA-UCA1 exerts oncogenic functions in non-small cell lung cancer by targeting miR-193a-3p [J]. *Cancer Lett*, 2016, 371(1): 99-106. DOI: 10.1016/j.canlet.2015.11.024.
- [27] BRAZA-BOÏLS A, SALLOUM-ASFAR S, MARÍ-ALEXANDRE J, et al. Peritoneal fluid modifies the microRNA expression profile in endometrial and endometriotic cells from women with endometriosis[J]. *Hum Reprod*, 2015, 30(10): 2292-2302. DOI: 10.1093/humrep/dev204.
- [28] PEI K, ZHU J J, WANG C E, et al. MicroRNA-185-5p modulates chemosensitivity of human non-small cell lung cancer to cisplatin via targeting ABCC1[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(22): 4697-4704.
- [29] POUILLIS M, SHACKCLOTH M, PAGE R, et al. Metastatic index of non-small-cell lung cancer and long-term survival[J]. *Asian Cardiovasc Thorac Ann*, 2015, 23(2): 185-90. DOI: 10.1177/0218492314545833.
- [30] MIZUSHIMA T, NAKAGAWA H, KAMBEROV Y G, et al. Wnt-1 but not epidermal growth factor induces beta-catenin/T-cell factor-dependent transcription in esophageal cancer cells[J]. *Cancer Res*, 2002, 62(1): 277-282.
- [31] TAKAHASHIYANAGA F, KAHN M. Targeting wnt signaling: can we safely eradicate cancer stem cells?[J]. *Clin Cancer Res*, 2010, 16(12): 3153-3162. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2943.
- [32] TENG Y, WANG X, WANG Y, et al. Wnt/beta-catenin signaling regulates cancer stem cells in lung cancer A549 cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 392(3): 373-379. DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.01.028.
- [33] MAO J, FAN S, MA W, et al. Roles of Wnt/ β -catenin signaling in the gastric cancer stem cells proliferation and salinomycin treatment [J]. *Cell Death Dis*, 2014, 5(1): 1039-1045. DOI: 10.1038/cddis.2013.515.
- [34] STEWART D J. Wnt signaling pathway in non-small cell lung cancer[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2014, 106(1): djt356[2018-01-03]. <https://academic.oup.com/jnci/article/106/1/djt356/2518008>. DOI: 10.1093/jnci/djt356.

[收稿日期] 2018-02-11

[修回日期] 2018-04-20

[本文编辑] 王映红