

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2019.08.003

· 基础研究 ·

lncRNA NEAT1 通过抑制 DNA 损伤促进肺腺癌 PC-9 细胞的增殖

刘天旭, 王梦杰, 田聪, 刘琰, 吕微, 贾云泷, 刘丽华(河北医科大学 第四医院 肿瘤免疫治疗科, 河北 石家庄 050035)

[摘要] **目的:** 研究长链非编码 RNA 核富集转录体 1 (lncRNA NEAT1) 对肺腺癌 PC-9 细胞增殖能力的影响, 并初步探讨其作用机制。 **方法:** qPCR 检测人肺腺癌 PC-9 细胞与人胚肺二倍体 2BS 细胞中 lncRNA NEAT1 的表达水平; 设计并合成 lncRNA NEAT1 的小干扰 RNA (siRNA) 序列, 采用脂质体法转染 PC-9 细胞, 通过 qPCR 检测转染前后 PC-9 细胞 NEAT1 的表达水平。MTT 法、流式细胞术分别检测 lncRNA NEAT1 敲低对 PC-9 细胞增殖及细胞周期的影响; WB 检测转染前后 DNA 损伤相关蛋白, 即共济失调毛细血管扩张突变蛋白 (ATM) 和双链 DNA 损伤标志物 γ -H2AX 的表达水平。 **结果:** 与 2BS 细胞相比, PC-9 细胞中 lncRNA NEAT1 呈高表达 ($P < 0.05$)。成功建立 NEAT1 敲低的 PC-9 细胞, 转染 siRNA 12 h 后 siNEAT1-1 及 siNEAT1-2 干扰组细胞增殖能力较空白对照组及空转染组明显下降 ($P < 0.05$); 干扰组细胞周期被阻滞在 G1 期 [(88.97±2.64)%, (88.15±1.48)% vs (84.5±1.72)%, $P < 0.05$] 和 G2/M 期 [(8.35±2.02)%, (8.11±1.36)% vs (4.28±1.28)%, $P < 0.05$]; 干扰组细胞中 DNA 损伤相关蛋白 ATM 和 γ -H2AX 表达水平显著升高 (均 $P < 0.05$)。 **结论:** lncRNA NEAT1 在肺腺癌 PC-9 细胞呈高表达, 其可通过抑制 DNA 损伤导致细胞周期 G1/M 期转变促进肺腺癌细胞 PC-9 的增殖能力。

[关键词] 长链非编码 RNA; 核富集转录体 1; DNA 损伤; 肺腺癌; PC-9 细胞; 增殖; 细胞周期

[中图分类号] R734.2; R730.2; R730.59 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2019)08-0845-05

lncRNA NEAT1 promotes cell proliferation of lung adenocarcinoma PC-9 cells through inhibiting DNA damage

LIU Tianxu, WANG Mengjie, TIAN Cong, LIU Yan, LYU Wei, JIA Yunlong, LIU Lihua (Department of Tumor Immunotherapy, the Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050035, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of long non-coding RNA nuclear enriched abundant transcript 1 (lncRNA NEAT1) on the proliferation of lung adenocarcinoma PC-9 cells and to explore its mechanism. **Methods:** qPCR was used to detect the expression level of lncRNA NEAT1 in human lung adenocarcinoma PC-9 cells and human embryonic lung diploid 2BS cells. The sequence of small interfering RNA (siRNA) targeting lncRNA NEAT1 gene was designed and synthesized, and then transfected into PC-9 cells by liposome method. The expression level of NEAT1 in PC-9 cells before and after transfection was detected by qPCR. MTT and flow cytometry were used to detect the effect of lncRNA NEAT1 knockdown on proliferation and cell cycle distribution of PC-9 cells, respectively. WB assay was used to detect the expressions of DNA damage-related proteins, namely, double-stranded DNA breaks (DSBs) biomarker γ -H2AX and ataxia-telangiectasia mutated (ATM), before and after transfection. **Results:** Compared with 2BS cells, lncRNA NEAT1 was highly expressed in PC-9 cells ($P < 0.05$). The PC-9 cells with lncRNA NEAT1 knock-down were successfully established. After being transfected with siRNA for 12 h, the proliferation of PC-9 cells in siNEAT1 group and siNEAT2 group significantly decreased as compared with the blank control group and the empty transfection group ($P < 0.05$). In the interference groups, cell cycle was arrested in G1 phase [(88.97±2.64)%, [88.15±1.48)% vs [84.5±1.72)%, $P < 0.05$] and G2/M phase [(8.35±2.02)%, [8.11±1.36)% vs [4.28±1.28)%, $P < 0.05$). The expression levels of DNA damage-related proteins ATM and γ -H2AX in the interference groups were significantly increased (all $P < 0.05$). **Conclusion:** lncRNA NEAT1 is highly expressed in lung adenocarcinoma PC-9 cells. lncRNA NEAT1 inhibits DNA damage and causes cell cycle at G1/M phase switch, and thus promotes the proliferation of lung adenocarcinoma cells.

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 81871894); 河北省自然科学基金资助项目 (No. H2018206318)。Project supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81871894), and the Natural Science Foundation of Hebei Province (No. H2018206318)

[作者简介] 刘天旭 (1993-), 女, 硕士生, 主要从事肿瘤免疫治疗的临床与基础研究, E-mail: liutx1024@foxmail.com

[通信作者] 刘丽华 (LIU Lihua, corresponding author), 博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 主要从事肿瘤免疫与生物治疗相关研究, E-mail: lihualiu567@hotmail.com

[Key words] lncRNA; nuclear enriched abundant transcript 1 (NEAT1); DNA damage; lung adenocarcinoma; PC-9 cell; proliferation; cell cycle

[Chin J Cancer Biother, 2019, 26(8): 845-849. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2019.08.003]

肺癌是中国发病率和病死率最高的恶性肿瘤。据统计^[1], 2015年中国新发肺癌病例73.33万, 死亡人数为61.02万。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌的主要病理类型, 约占肺癌的80%~85%。近年来, 尽管靶向治疗和免疫治疗在NSCLC中不断取得进展, 患者的无进展生存时间及客观缓解率有所提高, 但5年生存率仍低于20%^[2]。因此, 研究肺癌发生发展的调控机制并寻找新的治疗靶点, 对于提高临床治疗效果具有重要意义。表观遗传学调控机制在调控恶性肿瘤细胞增殖凋亡中发挥重要作用^[3]。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)在表观遗传调控中发挥核心作用, 核富集转录体1(nuclear enriched abundant transcript 1, NEAT1)是定位于核旁斑且具有促癌作用的lncRNA, 在多种肿瘤中呈高表达状态, 且与肿瘤细胞的增殖、细胞周期及凋亡等生物学行为密切相关^[4-5]。本研究旨在探究lncRNA NEAT1在人肺腺癌PC-9细胞中的表达情况, 分析lncRNA NEAT1对PC-9细胞增殖能力和细胞周期的影响, 通过检测DNA损伤相关蛋白表达水平并初步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 细胞、主要试剂和仪器

人肺腺癌细胞株PC-9购自上海富衡生物科技有限公司, 人胚肺二倍体细胞2BS由中国协和医学院基础研究所惠赠, 本实验室冻存。RPMI-1640、MEM培养基和胰蛋白酶均购自美国Gibco公司, 胎牛血清购自杭州四季青公司, TRIzol购自美国Invitrogen公司。qPCR体系试剂盒购自美国Promega公司, 引物由上海生工公司合成。Fotodyne凝胶成像分析系统购自美国PE公司。兔抗人 γ -H2AX(Ser139)和共济失调毛细血管扩张突变蛋白(ataxia-telangiectasia mutated, ATM)(phospho S1981)单克隆抗体均购自Abcam公司, 山羊抗兔二抗购自Abcam公司。MTT试剂购自美国Promega公司。实验所用NEAT1 siRNA片段(共3对)由上海吉玛公司设计提供。Lipofectamine 2000试剂购自美国Invitrogen公司。实时荧光定量PCR仪(7900HT Fast Real-time PCR System)购自美国Promega公司。

1.2 细胞培养与转染

分别用含10%胎牛血清、青霉素(100 U/ml)及链霉素(100 μ g/ml)的RPMI-1640培养基和MEM高糖常规培养PC-9及2BS细胞株, 置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的培养

箱中培养。待PC-9细胞汇合度达到70%~80%时, 胰酶消化并收集细胞铺6孔板, 分为Control组(空白对照)、siNC组(阴性对照组)及siNEAT1组, 按照Lipofectamine 2000试剂说明书进行操作, 对细胞进行转染。

1.3 qPCR检测lncRNA NEAT1在2BS和PC-9细胞中的表达

分别提取2BS和PC-9细胞的RNA, 逆转录为cDNA, 逆转录反应条件: 65 $^{\circ}$ C、10 min, 37 $^{\circ}$ C、60 min, 85 $^{\circ}$ C、5 min, 所得cDNA保存于-20 $^{\circ}$ C冰箱备用。cDNA扩增反应条件: 95 $^{\circ}$ C预变性10 min; 95 $^{\circ}$ C变性15 s, 59 $^{\circ}$ C退火30 s, 72 $^{\circ}$ C延伸30 s, 进行35个循环; 72 $^{\circ}$ C延伸7 min。以GAPDH作为内参照, GAPDH基因上游引物为5'-GTCACCTTCACCGTTCCAGTTTT-3', 下游引物为5'-CTTAGTTGCGTTACACCCTTTCTT-3', 拟扩增片段的大小为154 bp。用qPCR分别检测细胞内lncRNA NEAT1表达情况, 其上游引物为5'-GCATTCTCACCGTCACTCCTG-3', 下游引物为5'-AAGCAGCAAGCAGTCCACAG-3', 拟扩增片段为136 bp。用2^{- Δ ACT}相对定量法计算lncRNA NEAT1的表达水平。

1.4 RNA干扰技术敲低PC-9细胞lncRNA NEAT1的表达

取对数生长期的PC-9细胞, 接种于6孔板中, Control组、siNC组及siNEAT1组, 按照Invitrogen公司Lipofectamine 2000说明书用NEAT1 siRNA片段转染细胞, 转染完成后将细胞培养板置于37 $^{\circ}$ C、5%CO₂的培养箱中培养, 6 h后将含转染复合物的培养基弃去, 重新加入新鲜培养基置于培养箱中培养48 h。lncRNA NEAT1 siRNA序列: siNEAT1-1正向为5'-GAUGCUGCAUCUUCUAAAUTT-3', 反向为5'-AUUUAGAAGAUGCAGCAUCTT-3'; siNEAT1-2正向为5'-GCAGGUUGAAGGGAAUUCUTT-3', 反向为5'-AGAAUCCCUUCAACCUGCTT-3'; siNEAT1-3正向为5'-GGGCUAAUCUUCAACUUGUTT-3', 反向为5'-ACAAGUUGAAGAUUAGCCCTT-3'; lncRNA NEAT1 NC序列: 正向为5'-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3', 反向为5'-ACGUGACACGUUCG-GAGAATT-3'。转染48 h后, 分别抽提Control组、siNC组及siNEAT1组RNA, 用qPCR检测细胞内lncRNA NEAT1表达情况。方法同1.3所述。

1.5 MTT实验检测敲低lncRNA NEAT1对PC-9细胞增殖能力的影响

取对数生长期的PC-9细胞, 分为4组: Control

组、siNC 组、siNEAT1-1 组及 siNEAT1-2 组, 细胞贴壁后更换培养基。每组设 5 个重复孔。分别培养 12、24、48、72 h 后收集细胞。在各个时间点向每孔加 100 μ l 培养基和 20 μ l MTT 溶液, 避光 37 $^{\circ}$ C 继续孵育 4 h, 酶标仪测定波长 490 nm 下的光密度(D)值, 绘制生长曲线。计算细胞生长抑制率或增殖率, 抑制率=(1-实验组 D 值/对照组 D 值) \times 100%, 增殖率=(实验组 D 值/对照组 D 值-1) \times 100%。

1.6 流式细胞术检测敲低 lncRNA NEAT1 对 PC-9 细胞周期的影响

分别取处于对数生长期的 Control 组、siNC 组、siNEAT1-1 组及 siNEAT1-2 组 PC-9 细胞, 消化并计数, 将细胞密度调至 1×10^5 个/ml 后铺 6 孔板 (2×10^5 个/孔), 继续培养。待细胞汇合度达到 80% 后, 消化并收集在离心管中, 4 $^{\circ}$ C, 3 000 \times g 离心 5 min; 弃上清, 用预冷的 PBS 洗两次, 轻柔缓慢加入 5 ml 70% 乙醇 (预冷), 封口膜封口, 4 $^{\circ}$ C 固定过夜, 71.6 \times g 离心 5 min 收集固定细胞, PBS 洗 2 次, 用 0.4 ml PBS 重悬细胞并转至 EP 管中轻轻吹打, 加 RNase-A 约 3 μ l 至终质量浓度约为 50 μ g/ml, 37 $^{\circ}$ C 水浴消化 30 min; 加碘化丙锭 (phosphate-buffered saline, PI) 约 50 μ l 至终质量浓度约为 65 μ g/ml, 在冰浴中避光染色 30 min。用 300 目 (孔径 40~50 μ m) 尼龙网过滤, 用流式细胞仪分别检测两组细胞的细胞周期 G1 期、S 期及 G2/M 期细胞数量并计算其比例。

1.7 WB 检测敲低 lncRNA NEAT1 对 PC-9 细胞中 γ -H2AX 和 ATM 表达的影响

分别提取 Control 组、siNC 组、siNEAT1-1 组及 siNEAT1-2 组 PC-9 细胞蛋白, BCA 法定量, 各取含 30 μ g 总蛋白样品, 再加入上样缓冲液和 PBS 配齐 20 μ l 体系, 沸水中煮 10 min, 置于冰上冷却, 用 10% SDS-PAGE 分离蛋白后转移蛋白至 PVDF 膜上, 用 5% 脱脂奶粉室温封闭 PVDF 膜 2 h, TBST 洗膜后加一抗 (兔抗人 P-H2AX 抗体) 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜, TBST 洗膜 3 次, 加 HRP 标记山羊抗兔二抗室温孵育 2 h, 洗膜 3 次, 曝光显影。Quantity One 4.6 软件分析图像, 以 GAPDH 为内参, 用其与各个检测蛋白条带的灰度值之比表示蛋白的相对表达量。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 21.0 统计软件处理, 所有实验在同等条件下重复 3 次。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 *t* 检验分析, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

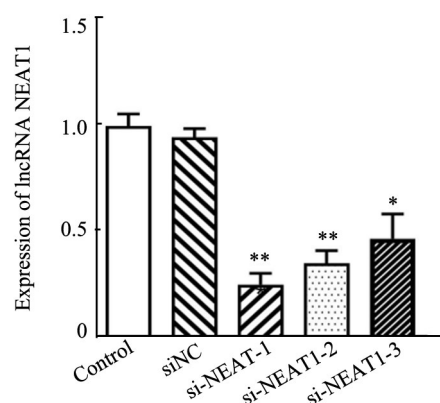
2 结果

2.1 NEAT1 在肺腺癌 PC-9 细胞中呈高表达

qPCR 检测结果显示, 与人胚肺二倍体 2BS 细胞相比, 肺腺癌 PC-9 细胞 lncRNA NEAT1 表达量较高 [(4.37 \pm 0.66) vs (0.97 \pm 0.15), $P < 0.05$], 说明 lncRNA NEAT1 在肺腺癌 PC-9 细胞中呈高表达状态。

2.2 成功建立 lncRNA NEAT1 敲低的 PC-9 细胞

qPCR 检测结果 (图 1) 显示, siNEAT1-1、siNEAT1-2 及 siNEAT1-3 组 lncRNA NEAT1 的表达低于 Control 组 [(0.24 \pm 0.90)、(0.34 \pm 0.10)、(0.46 \pm 0.20) vs (0.99 \pm 0.96), $P < 0.05$], 其中 siNEAT1-1、siNEAT1-2 两组低表达更为显著, 而 Control 组与 siNC 组 lncRNA NEAT1 的表达无明显差异 [(0.93 \pm 0.70) vs (0.99 \pm 0.96), $P > 0.05$]。选用 siNEAT1-1 和 siNEAT1-2 干扰序列进行后续实验。

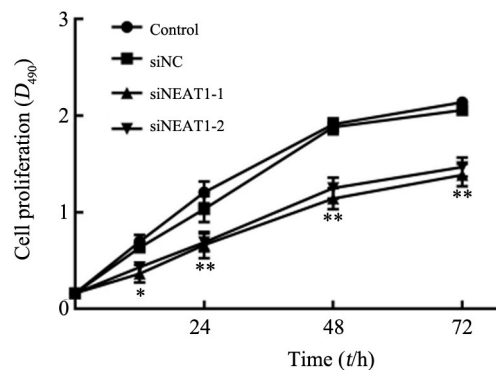


* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group

图 1 siRNA 成功敲低 PC-9 细胞中 lncRNA NEAT1 的表达
Fig. 1 siRNA successfully knocked down the expression of lncRNA NEAT1 in PC-9 cells

2.3 敲低 lncRNA NEAT1 抑制 PC-9 细胞的增殖

MTT 实验检测结果 (图 2) 显示, 培养 12 h 后, 与 Control 组相比, siNEAT1-1 及 siNEAT1-2 组 PC-9 细胞的增殖即受到显著抑制 ($P < .05$), 在 24、48 和 72 h 时细胞增殖进一步受到抑制 ($P < 0.01$); siNC 组与 Control 组相比 PC-9 细胞增殖能力无明显变化 ($P > 0.05$)。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Control group

图 2 敲低 lncRNA NEAT1 抑制 PC-9 细胞的增殖
Fig. 2 Knockdown of lncRNA NEAT1 inhibited proliferation of PC-9 cells

2.4 敲低lncRNA NEAT1 诱导PC-9细胞周期阻滞

流式细胞术检测结果(图3)显示,与Control组相比,siNEAT1-1及siNEAT1-2组细胞中G1期[(88.97±2.64)%、(88.15±1.48)% vs (84.5±1.72)%、 $P<0.05$]和G2/M期[(8.35±2.02)%、(8.11±1.36)% vs (4.28±1.28)%、 $P<0.05$]细胞百分比明显增加,S期细胞比例显著减少[(2.86±0.85)%、(3.75±0.79)% vs (11.22±1.02)%、 $P<0.05$],阻止其细胞进入S期,DNA合成受到抑制;与Control组相比,siNC组G1期、S期及G2/

M期比例无明显变化(均 $P>0.05$)。

2.5 敲低lncRNA NEAT1 上调PC-9细胞中 γ -H2AX和ATM表达

WB检测结果(图4)显示,与Control组相比较,siNEAT1-1 [(0.91±0.01)、(0.94±0.03) vs (0.63±0.04)、 $P<0.05$]及siNEAT1-2组[(0.62±0.07)、(0.73±0.05) vs (0.21±0.08)、 $P<0.05$]PC-9细胞DNA损伤相关蛋白 γ -H2AX和ATM的表达水平均显著上调。

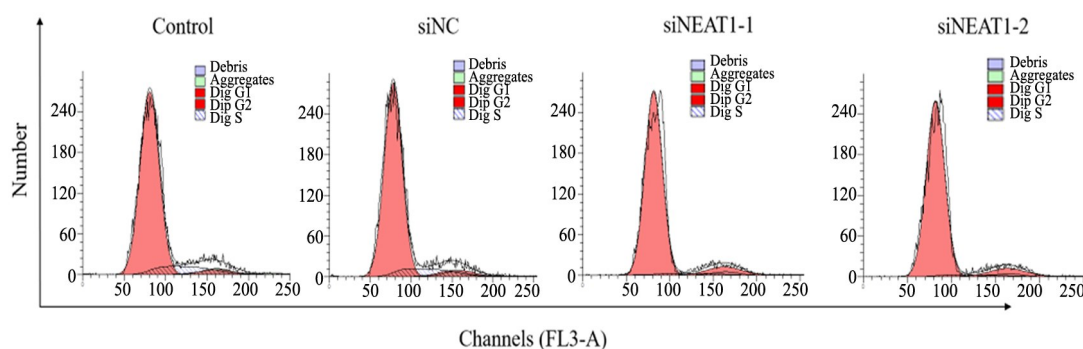


图3 敲低lncRNA NEAT1 诱导PC-9细胞周期阻滞于G1期和G2/M期

Fig.3 Knockdown of lncRNA NEAT1 induced PC-9 cell cycle arrest at G1 and G2/M phases

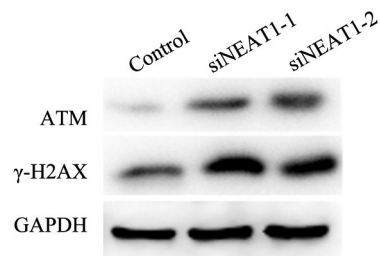


图4 敲低lncRNA NEAT1 上调PC-9细胞中 γ -H2AX和ATM表达

Fig.4 Knockdown of lncRNA NEAT1 up-regulated γ -H2AX and ATM expression in PC-9 cells

3 讨论

肺癌居中国恶性肿瘤发病率和病死率之首,严重威胁人们的生命健康^[1]。肺癌的发生发展与多种因素相关,lncRNA是细胞生理及病理过程中的重要调节分子,参与细胞增殖、凋亡、迁移以及侵袭等生物学进程^[6-7]。多种lncRNA在肺癌中表达失调,其中lncRNA NEAT1是一个大小约3.7 kb的核富集lncRNA,位于染色体11q13.1上,被认为是促进肿瘤形成及转移的重要致癌基因^[8-10]。本课题组前期研究发现,NEAT1在肺癌患者血清中呈高表达状态,且与患者肿瘤大小、淋巴结转移及临床TNM分期密切相

关。本研究通过RNA干扰技术,进一步探讨lncRNA NEAT1对肺腺癌细胞PC-9的作用及机制。

本研究发现,与人胚肺二倍体细胞2BS相比,肺腺癌细胞系PC-9中NEAT1呈高表达状态。为了探讨NEAT1高表达对PC-9细胞功能的影响,通过干扰RNA技术敲低PC-9细胞系中NEAT1的表达,并经过qPCR验证转染效率。MTT实验发现,敲低NEAT1表达后可抑制肺腺癌PC-9细胞增殖能力。细胞周期调控紊乱是肿瘤细胞异常增殖的重要原因^[11]。本研究发现,NEAT1低表达可促进肺腺癌PC-9细胞周期阻滞在G1期和G2/M期。细胞周期阻滞与多种信号通路相关,调控过程较为复杂。DNA损伤是指复制过程中发生的DNA核苷酸序列永久性改变,影响基因组的复制及转录,与肿瘤的发生及恶性生物学功能密切相关^[12]。细胞发生DNA损伤后可通过调节细胞周期检测点激酶,阻滞细胞周期修复DNA或者诱导细胞凋亡对DNA损伤产生反应^[13]。lncRNA可参与肿瘤DNA损伤应答过程,影响细胞增殖及细胞周期等细胞生物学功能^[14-16]。因此推测敲低NEAT1对肺腺癌细胞PC-9细胞增殖及细胞周期的影响,可能与DNA损伤修复相关。ATM和 γ -H2AX为双链DNA损伤的生物标志物^[17],双链DNA损伤后可通过募集及激活ATM,促进 γ -H2AX磷酸化,通过调节Chk2表达促进DNA损伤修复^[18]。本研究发现,敲低

NEAT1 的表达可上调 PC-9 细胞中 ATM 和 γ -H2AX 的表达水平,诱导肺腺癌细胞 PC-9 的 DNA 损伤。以上结果表明,NEAT1 低表达抑制肺腺癌 PC-9 细胞增殖和促进细胞周期阻滞可能与诱导细胞 DNA 损伤相关。

DNA 损伤修复抑制剂是目前抗肿瘤治疗的热点。研究^[19]表明,MET 抑制剂可与 AZD2281 (olaparib) 协同促进肺腺癌细胞凋亡。并且,DNA 损伤可通过 STING/TBK1/IRF3 激活肺癌免疫微环境中的 T 淋巴细胞,促进人体免疫系统对肿瘤的杀伤能力^[20]。因此,进一步探究 NEAT1 对 DNA 损伤机制对于寻求新的联合治疗靶点具有重要指导作用。

综上,本研究证实,lncRNA NEAT1 在肺腺癌 PC-9 细胞中呈高表达,敲低 NEAT1 表达可通过诱导细胞 DNA 损伤使细胞周期阻滞于 G1 期和 G2/M 期,抑制 PC-9 细胞的增殖能力。为 DNA 修复抑制剂和免疫检查点阻滞剂的联合治疗及临床应用提供新的靶点。

[参考文献]

- [1] CHEN W Q, ZHENG R S, BAADE P D, et al. Cancer statistics in China, 2015[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(2): 115-132. DOI:10.3322/caac.21338.
- [2] ALLEMANI C, MATSUDA T, DI CARLO V, et al. Global surveillance of trends in cancer survival 2000-14 (CONCORD-3): analysis of individual records for 37 513 025 patients diagnosed with one of 18 cancers from 322 population-based registries in 71 countries[J]. *Lancet*, 2018, 391(10125): 1023-1075. DOI: 10.1016/S0140-6736(17)33326-3.
- [3] WIDSCHWENDTER M, JONES A, EVANS I, et al. Epigenome-based cancer risk prediction: rationale, opportunities and challenges [J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2018, 15(5): 292-309. DOI:10.1038/nrclinonc.2018.30.
- [4] WANG S, ZHANG Q, WANG Q L, et al. NEAT1 paraspeckle promotes human hepatocellular carcinoma progression by strengthening IL-6/STAT3 signaling[J/OL]. *Oncoimmunology*, 2018, 7(11): e1503913[2019-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6205018/>. DOI:10.1080/2162402X.2018.1503913.
- [5] KLEC C, PRINZ F, PICHLER M. Involvement of the long noncoding RNA NEAT1 in carcinogenesis[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(1): 46-60. DOI:10.1002/1878-0261.12404.
- [6] LAN Y, XIAO X W, HE Z C, et al. Long noncoding RNA OCC-1 suppresses cell growth through destabilizing HuR protein in colorectal cancer[J]. *Nucleic Acids Res*, 2018, 46(11): 5809-5821. DOI:10.1093/nar/gky214.
- [7] SHI X F, LIU Z L, LIU Z C, et al. Long noncoding RNA PCAT6 functions as an oncogene by binding to EZH2 and suppressing LATS2 in non-small-cell lung cancer[J/OL]. *EBioMedicine*, 2018, 37: 177-187[2019-04-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6286630/>. DOI:10.1016/j.ebiom.2018.10.004.
- [8] KLEC C, PRINZ F, PICHLER M. Involvement of the long noncoding RNA NEAT1 in carcinogenesis[J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(1): 46-60. DOI:10.1002/1878-0261.12404.
- [9] KONG X J, ZHAO Y, LI X M, et al. Overexpression of HIF-2 α -dependent NEAT1 promotes the progression of non-small cell lung cancer through mir-101-3p/SOX9/Wnt/ β -catenin signal pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2019, 52(3): 368-381. DOI:10.33594/000000026.
- [10] LI B Y, GU W Y, ZHU X H. NEAT1 mediates paclitaxel-resistance of non-small cell of lung cancer through activation of Akt/mTOR signalling pathway[J]. *J Drug Target*, 2019, 20(1): 1-7. DOI: 10.1080/1061186x.2019.1585437.
- [11] TAN E P, DUNCAN F E, SLAWSON C. The sweet side of the cell cycle[J]. *Biochem Soc Trans*, 2017, 45(2): 313-322. DOI:10.1042/BST20160145.
- [12] JACKSON S P, BARTEK J. The DNA-damage response in human biology and disease[J]. *Nature*, 2009, 461(7267): 1071-1078. DOI: 10.1038/nature08467.
- [13] CIMPRICH K A, CORTEZ D. ATR: an essential regulator of genome integrity[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(8): 616-627. DOI:10.1038/nrm2450.
- [14] ZHANG C, PENG G. Non-coding RNAs: an emerging player in DNA damage response[J]. *Mutat Res Rev Mutat Res*. 2015; 763(1): 202-211. DOI:10.1016/j.mrrev.2014.11.003.
- [15] SHAHABI S, KUMARAN V, CASTILLO J, et al. LINC00261 is an epigenetically regulated tumor suppressor essential for activation of the DNA damage response[J]. *Cancer Res*, 2019, 79(12): 3050-3062. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-2034.
- [16] LI X, WANG X T, SONG W L, et al. Oncogenic properties of NEAT1 in prostate cancer cells depend on the CDC5L-AGRN transcriptional regulation circuit[J]. *Cancer Res*, 2018, 78(15): 4138-4149. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-0688.
- [17] FOLK W P, KUMARI A, IWASAKI T, et al. Loss of the tumor suppressor BIN1 enables ATM Ser/Thr kinase activation by the nuclear protein E2F1 and renders cancer cells resistant to cisplatin[J]. *J Biol Chem*, 2019, 294(14): 5700-5719. DOI:10.1074/jbc.RA118.005699.
- [18] REZAEIAN A H, LI C F, WU C Y, et al. A hypoxia-responsive TRAF6-ATM-H2AX signalling axis promotes HIF1 α activation, tumorigenesis and metastasis[J]. *Nat Cell Biol*, 2017, 19(1): 38-51. DOI:10.1038/ncb3445.
- [19] DEBEN C, LARDON F, WOUTERS A, et al. APR-246 (PRIMA-1 (MET)) strongly synergizes with AZD2281 (olaparib) induced PARP inhibition to induce apoptosis in non-small cell lung cancer cell lines[J]. *Cancer Lett*, 2016, 375(2): 313-322. DOI:10.1016/j.canlet.2016.03.017.
- [20] SEN T, RODRIGUEZ B L, CHEN L M, et al. Targeting DNA damage response promotes antitumor immunity through STING-mediated T-cell activation in small cell lung cancer[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(5): 646-661. DOI:10.1158/2159-8290.CD-18-1020.

[收稿日期] 2019-04-15

[修回日期] 2019-06-11

[本文编辑] 黄静怡