

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.06.009

· 基础研究 ·

## lncRNA PCGEM1 对肺癌 A549 细胞恶性生物学行为的影响及其作用机制

余丹<sup>1</sup>, 周靖<sup>2</sup>, 汤显斌<sup>1</sup> (1. 湖北医药学院附属太和医院 病理科, 湖北 十堰 442000; 2. 荆州市中心医院 血液科, 湖北 荆州 434020)

**[摘要]** **目的:** 探讨长链非编码 RNA (long-chain noncoding, lncRNA) PCGEM1 对肺癌 A549 细胞恶性生物学行为的影响及其作用机制。 **方法:** 收集 2016 年 3 月至 2018 年 5 月湖北医药学院附属太和医院胸外科接受手术治疗的 62 例肺癌 (lung cancer, LC) 患者癌组织及相应的癌旁组织标本, 并用以上组织构建 LC 组织芯片。用 qPCR 检测 lncRNA PCGEM1 及 miR-148a 在 LC 组织相应的癌旁组织及 LC 细胞株中的表达。构建 lncRNA PCGEM1 沉默细胞系 A549-siPCGEM1 和阴性对照 A549-NC, 并以 A549 细胞作为空白对照 (Control 组), 用 MTT 和平板克隆实验检测敲减 PCGEM1 对 A549 细胞增殖能力的影响, Transwell 和划痕实验检测敲减 PCGEM1 对 A549 细胞侵袭和迁移能力的影响。使用生物信息学网站 StarBase 预测可互补结合 PCGEM1 的 miRNA, 再根据 Targetscan 网站预测相应可靶向结合 miRNA 的基因; Western blotting 实验检测 TGF- $\beta$ 2/Smad2 信号通路蛋白表达情况。 **结果:** 在 LC 组织中 PCGEM1 的表达水平高于癌旁组织而 miR-148a 的表达量明显低于癌旁组织 (均  $P < 0.05$ ), PCGEM1 在 5 种 LC 细胞株中的表达明显高于人肺成纤维细胞 HLF-02 (均  $P < 0.05$ ), 且以 A549 细胞中表达最高。敲减 PCGEM1 后, 与 Control 组和 A549-NC 组比较, A549-siPCGEM1 组 A549 细胞增殖、侵袭和迁移能力显著降低 (均  $P < 0.05$ )。StarBase 和 Targetscan 网站预测结果显示, PCGEM1 可与 miR-148a 互补结合, miR-148a 与 TGF- $\beta$ 2 存在靶向结合位点。与 Control 组和 A549-NC 组比较, A549-siPCGEM1 组中 miR-148a 表达明显升高, TGF- $\beta$ 2 及 p-Smad2 蛋白的表达明显降低 (均  $P < 0.05$ )。 **结论:** lncRNA PCGEM1 在 LC 组织和细胞株中高表达, 高表达的 PCGEM1 可通过下调 miR-148a 水平强化 TGF  $\beta$ 2/Smad2 信号通路, 从而促进 A549 细胞恶性生物学行为的进展。

**[关键词]** 长链非编码 RNA; PCGEM1; miR-148a; 肺癌; A549 细胞; TGF- $\beta$ /Smad 信号通路

**[中图分类号]** R734.2; R730.54 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)06-0646-07

## Effect of lncRNA PCGEM1 on malignant biological behavior of lung cancer A549 cells and its mechanism

YU Dan<sup>1</sup>, ZHOU Jing<sup>2</sup>, TANG Xianbin<sup>1</sup> (1. Department of Pathology, Affiliated Taihe Hospital, Hubei University of Medicine, Shiyan 442000, Hubei, China; 2. Department of Hematology, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou 434020, Hubei, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the long-chain noncoding RNA (Lnc RNA) PCGEM1 regulating the lung cancer (LC) cell invasion and metastasis through the TGF- $\beta$ /Smad signaling pathways. **Methods:** From March 2016 to May 2018, total 62 cases of LC patients receiving surgical treatment in our hospital were collected, including cancer tissues and normal tissues more than 2 cm away from the cancer tissues. qRT-PCR was used to detect the expression of lncRNA PCGEM1 and miR-148a in LC, corresponding para-cancer tissues and different LC cell strains. LncRNA PCGEM1 silenced cell line A549-siPCGEM1 and negative control A549-NC were constructed, and A549 was used as blank control. MTT and plate cloning assay were used to detect the effect of PCGEM1 on the proliferation of A549 cells. Transwell and scratch assay were used to detect the effect of PCGEM1 on the invasion and migration of A549 cells. The bioinformatics website StarBase was used to predict the complementary binding miRNA of PCGEM1. Furthermore, according to the website Targetscan, the genes that the corresponding miRNAs could target and bind were predicted. **Results:** qRT-PCR results showed that the expression of PCGEM1 in LC tissues and lung cancer cell lines was higher than that in normal tissues, and the expression level of miR-148a was lower than that in normal tissues (all  $P < 0.05$ ). The expression level of PCGEM1 in A549 cells was the highest, and the difference was statistically significant compared with other cell lines ( $P < 0.05$ ). After successful construction of PCGEM1 silenced cells, compared with the blank control group and A549-NC group, the cell OD492nm value of A549-siPCGEM1 group was significantly decreased, the number of cell clones and the number of matrigel matrix gels was significantly reduced, the cell

**[作者简介]** 余丹 (1990-), 女, 硕士, 医师, 主要从事呼吸肿瘤病理学的研究, E-mail: syong02@163.com

**[通信作者]** 汤显斌 (TANG Xianbin, corresponding author), 博士, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事软组织肿瘤及呼吸道肿瘤病理学研究。E-mail: tangxianbin@yeah.net

migration rate was significantly reduced, the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). According to the prediction results of StarBase website, PCGEM1 could be complementary to miR-148a, and the prediction analysis on microRNA.org website shows that miR-148a had a targeted binding site with TGF- $\beta$ 2. qRT-PCR and Western blotting results showed that the expression of miR-148a was significantly increased in the A549-siPCGEM1 group compared with the blank control group and A549-NC group, and the expression of TGF- $\beta$ 2 and p-Smad 2 was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), while the expression of the above indicators in the blank control group and A549-NC group was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion:** Lnc RNA PCGEM1 is highly expressed in lung cancer. High expression of PCGEM1 may enhance the TGF- $\beta$ 2/Smad2 signaling pathway by downregulation of miR-148a, thus promoting the development of LC and the malignant biological behavior.

**[Key words]** long-chain noncoding RNA (lncRNA); PCGEM1; miR-148a; lung cancer; A549 cell; TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(6): 646-652. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.06.009]

肺癌(lung cancer, LC)病死率一直居于恶性肿瘤首位,对人们生命健康造成了严重的威胁<sup>[1]</sup>。LC早期症状不明显,患者在就诊时往往处于晚期<sup>[2]</sup>,目前治疗LC的主要手段是手术及术后化疗药物灌注,但患者5年生存率仅有约10%,寻找新的治疗靶点尤为迫切。长链非编码RNA(long-chain noncoding RNA, lncRNA)是一类不编码蛋白的RNA分子,长度为200~100 000 nt<sup>[3]</sup>。研究<sup>[4]</sup>表明,lncRNA在肿瘤细胞周期、肿瘤细胞侵袭转移与化疗耐药等相关的信号通路方面均发挥调节作用,其作用类似于癌基因或抑癌基因。PCGEM1是一种在前列腺癌细胞中特异性高表达的lncRNA,并已证实可促进前列腺癌细胞的增殖和迁移<sup>[5]</sup>。但目前关于PCGEM1在LC中作用的研究报道甚少,因此,本研究通过对LC组织和细胞株的研究,探讨PCGEM1对LC细胞增殖、侵袭及迁移的影响及其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 组织标本

收集2016年3月至2018年5月湖北医药学院附属太和医院胸外科接受手术治疗的62例LC患者(其中小细胞肺癌16例、非小细胞肺癌46例)癌组织及相应癌旁组织,用以上组织构建LC组织芯片,患者年龄35~76岁,中位年龄55岁。所有患者均同意本研究并签署知情同意书,且经医院伦理委员会审核批准后收集标本。

### 1.2 细胞株、实验动物和主要试剂

人肺成纤维细胞系HLF-02和LC细胞株A549、H460、AGZY-83a、H358、H1299均购自上海博古生物技术有限公司。siPCGEM1及阴性对照siNC稳转干扰细胞系、PCGEM1及U6引物均由上海吉玛制药技术有限公司设计完成,DMEM培养基(D777)、SYBR Green 荧光定量PCR检测试剂盒(QPK-201)购自TOYOBO公司,TRIzol reagent(9009)购自TaKaRa公司,Transwell小室购自BD公司,MTT试剂盒购自碧云天公司。

3~4周龄SPF级雄性裸鼠(BALB/c-nu/nu)购自北京维通利华实验动物技术有限公司,实验动物生产许可证为SCXK(京)2014-0001。

### 1.3 细胞转染

调整A549细胞密度至 $1 \times 10^6$ 个/ml,取2 ml接种于6孔板中,培养过夜,采用Lipofectamine 2000将浓度均为100 nmol/L的siPCGEM1和阴性对照转染至细胞,将细胞分为A549-siPCGEM1组及A549-NC组,以A549细胞作为空白对照组(Control组)。

### 1.4 qPCR检测组织和细胞中lncRNA PCGEM1的表达

采用TRIzol法提取LC组织和癌旁组织匀浆及各组细胞总RNA并进行反转录,按照PrimeScrip反转录试剂盒进行反转录成cDNA,采用SYBR Premix Ex Taq说明书配置PCR反应体系,反应条件为95℃预变性10 min,然后95℃ 10 s、60℃ 30 s、72℃ 10 s、40个循环。U6作为内参,上游引物为5'-CTC-GCTTCGGCAGCAC-3'、下游引物为5'-AAC-GCTTCACGAATTTGCGT-3';PCGEM1引物上游为5'-ACTGTCTCCCAACCCTTGTA-3'、下游为5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3';miR-148a引物上游为5'-ACTGTCTCCCAACCCTTGTA-3'、下游为5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'。相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算。

### 1.5 MTT及平板克隆实验检测A549细胞增殖能力

将细胞A549、A549-siNC及A549-siPCGEM1按照每孔 $1 \times 10^3$ 个细胞铺至96孔板,轻轻混匀后,置入37℃培养箱继续培养,每孔加MTT溶液20  $\mu$ l,37℃避光4 h后,弃掉孔内液体,再加DMSO各100  $\mu$ l,置于37℃摇床上快速振荡15 min,以便充分溶解结晶物,最后将96孔板置于酶标仪上检测492 nm处光密度(D)值。将上述2种稳定转染细胞按每孔 $5 \times 10^3$ 个细胞铺6孔板继续培养,隔周更换新鲜培养液,2周后用考马斯亮蓝染色,在显微镜下计数集落形成数量。

### 1.6 Transwell实验检测A549细胞侵袭能力

实验前12 h更换为无血清培养基,将40  $\mu$ l

matrigel 基质胶铺于 Transwell 小室中。消化细胞并用 1×PBS 清洗 2 遍, 将 500 μl 完全培养基加入 24 孔板, 细胞计数, 取  $5 \times 10^5$  细胞重悬, 向 Transwell 小室中加 200 μl 细胞悬液, 保证下层完全培养基与 Transwell 小室间无气泡。置于培养箱内正常培养 24 h, 加用甲醇配制、PBS 稀释的 0.1% 结晶紫染液 500 μl 进行染色, 室温避光 15 min, PBS 漂洗后用棉棒擦 Transwell 小室内, 倒置晾干, 置于倒置荧光显微镜下观察显穿过膜的细胞并拍照和计数。

### 1.7 划痕愈合实验检测 A549 细胞迁移能力

将细胞 A549、A549-NC 及 A549-siPCGEM1 按  $5 \times 10^5$  均匀铺至 6 孔板, 用 10 μl 白枪头划线并以尺子辅助, 加 PBS 将细胞碎片冲洗掉, 然后加 1% 血清的培养基, 置于显微镜下拍照并做好标记, 此时记为 0 h, 继续于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 温箱培养, 培养 24 h 于倒置显微镜下观察细胞运动情况并拍照, 计算细胞迁移率。

### 1.8 生物信息学预测 PCGEM1 靶向结合的基因和位点

使用生物信息学网站 StarBase 预测 PCGEM1 可互补结合 miRNA, 在根据 Targetscan 网站预测相应 miRNA 可靶向结合的基因。

### 1.9 WB 实验检测 A549 细胞中 TGF-β2/Smad 2 通路蛋白的表达水平

将转染 48 h 的 A549 细胞, 加入适量的 RIPA 裂解液, 裂解 30 min, 4 °C 12 000×g 离心 10 min, 收集上清, 采用 LCA 试剂盒检测蛋白浓度, 将蛋白样品和 Loading buffer 混合, 100 °C 水域变性 5 min, 然后加入至制备好的 SDS-PAGE 凝胶 (5% 浓缩胶, 10% 分离胶) 上样孔中, 每孔 25 μl, 浓缩胶时调整电压为 60 V, 分离胶电压为 120 V, 结束后取出凝胶, 4 °C 转膜 1.5 h, 采用 5% 脱脂奶粉封闭 PVDF 膜 2 h, 加入 TGF-β2 一抗 (1:500)、Smad2 一抗 (1:500)、p-Smad2 一抗 (1:500) 及 Smad2 一抗 (1:500), 4 °C 过夜, TBST 洗膜后加入辣根过氧化物标记的羊抗兔 IgG, 37 °C 孕育 2 h 后加入 ECL 显影, 采用自动凝胶成像系统采集图像, 以 GAPDH 作为内参, 分析蛋白相对表达水平。

### 1.10 统计学处理

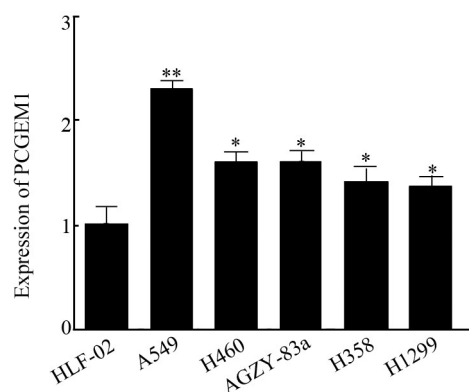
qPCR、WB、MTT、平板克隆实验、Transwell 和划痕愈合等实验均重复 3 次。采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析, 用 GraphPad Prism 7 软件绘制图片。正态分布的计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PCGEM1 在 LC 细胞系中呈高表达

qPCR 检测结果 (图 1) 显示, PCGEM1 在 5 种 LC

细胞株中的表达明显高于人肺成纤维细胞 HLF-02 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 其中在 A549 细胞中表达量最高, 因此, 选择 A549 细胞进行后续实验。



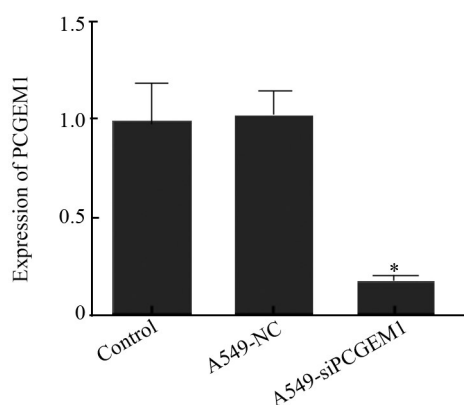
\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$  vs HLF-02 cell group

图 1 lncRNA PCGEM1 在 LC 细胞株中的表达

Fig.1 Expression of lncRNA PCGEM1 in LC cell strains

### 2.2 转染 siPCGEM1 明显降低 A549 细胞 PCGEM1 的表达

qPCR 检测结果 (图 2) 显示, 转染 siPCGEM1 后, A549-siPCGEM1 组细胞 PCGEM1 的表达量明显低于 Control 组和 A549-NC 组 ( $P < 0.05$ ), 表明成功构建 PCGEM1 敲减细胞系。



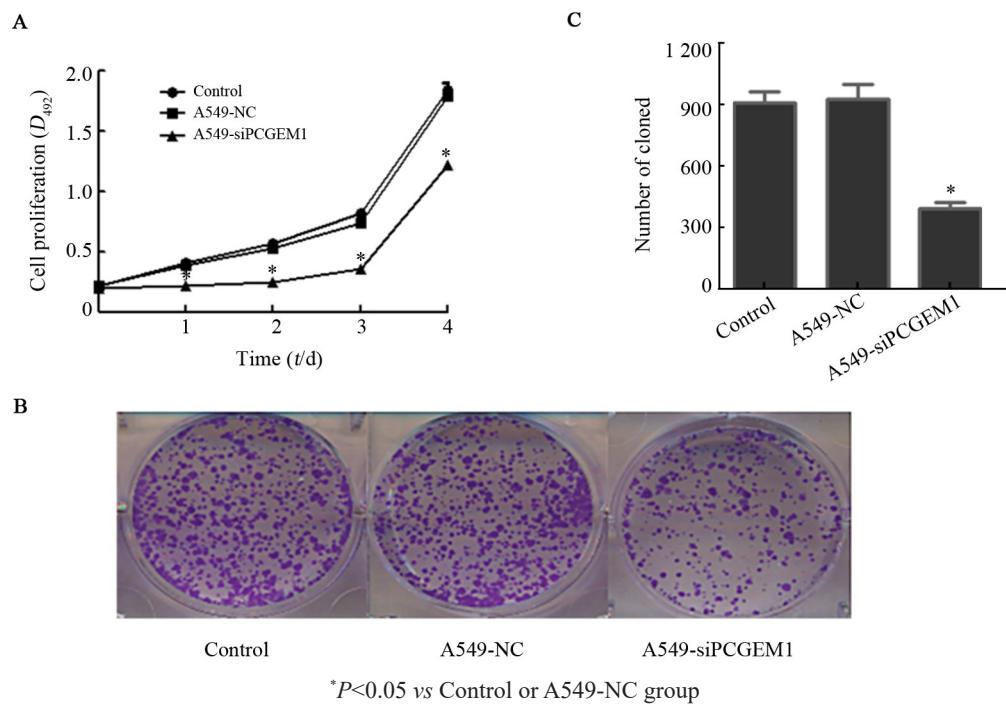
\* $P < 0.05$  vs Control or A549-NC group

图 2 转染 siPCGEM1 对 A549 细胞 PCGEM1 表达的影响

Fig.2 Effect of siPCGEM1 on the expression of PCGEM1 in A549 cells

### 2.3 敲减 PCGEM1 可抑制 A549 细胞的增殖能力

MTT 实验检测结果 (图 3A) 显示, 与 Control 组和 A549-NC 组比较, 敲减 PCGEM1 后 A549-siPCGEM1 组 A549 细胞增殖能力显著降低 ( $P < 0.05$ ); 克隆实验结果 (图 3B) 显示, 敲减 PCGEM1 使 A549-siPCGEM1 细胞克隆数显著减少 ( $P < 0.05$ )。表明敲减 PCGEM1 后, A549 细胞增殖能力显著降低。



A: MTT assay for the proliferation of A549 cells; B: Detection of A549 cell proliferation by plate cloning

图3 敲减 PCGEM1 对 A549 细胞增殖能力的影响

Fig.3 Effect of silencing PCGEM1 on proliferation of A549 cells

#### 2.4 敲减 PCGEM1 可降低 A549 细胞的侵袭能力

Transwell 实验检测(图4)结果显示,与空白对照组和 A549-NC 组比较,敲减 PCGEM1 后, A549-siPC-

GEM1 细胞穿过 matrigel 基质胶的数量明显减少 ( $P<0.05$ ),表明敲减 PCGEM1 后 A549 细胞侵袭能力明显降低。

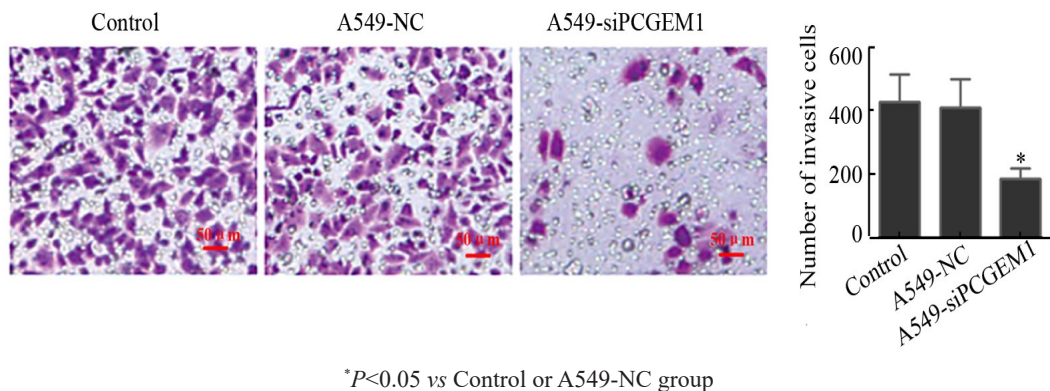


图4 敲减 PCGEM1 对 A549 细胞侵袭能力的影响(×400)

Fig.4 Effects of silencing PCGEM1 on invasive ability of A549 cells(×400)

#### 2.5 敲减 PCGEM1 可明显降低 A549 细胞迁移能力

划痕愈合实验检测结果(图5)显示,与 Control 组和 A549-NC 组比较,敲减 PCGEM1 后, A549-siPCGEM1 组细胞迁移率明显下降 ( $P<0.05$ ),表明敲减 PCGEM1 后 A549 细胞迁移能力明显降低。

#### 2.6 生物信息学预测 miR-148a 与 TGFβ2 存在靶向结合位点

采用 StarBase 网站预测结果(图 6A)显示, lncRNA PCGEM1 可与 miR-148a 互补结合; Tar-

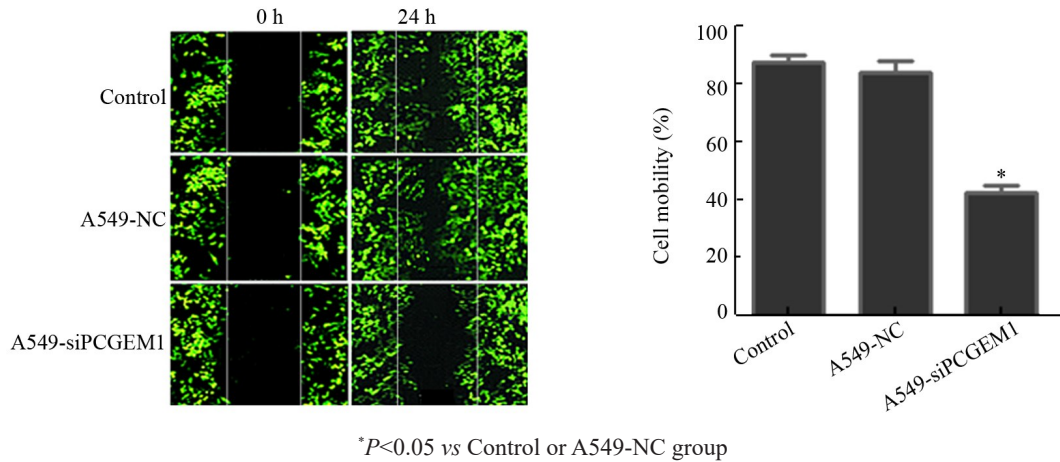
getsan 网站预测分析结果(图 6B)显示, miR-148a 与 TGF-β2 存在靶向结合位点。

#### 2.7 PCGEM1 调控 TGF-β2/Smad 2 通路蛋白的表达

qPCR 实验检测结果显示, PCGEM1 在 LC 组织中的表达水平高于癌旁组织 ( $P<0.05$ , 图 7A); miR-148a 在 LC 组织中的表达水平明显低于癌旁组织 ( $P<0.05$ , 图 7B); 与 Control 组和 A549-NC 组比较, A549-siPCGEM1 组 miR-148a 表达明显上调 ( $P<0.05$ , 图 7C)。WB 实验检测结果(图 7D、7E)显示, TGF-β2 及

p-Smad2 的表达明显下调(均  $P < 0.05$ ), Smad2 的表达在各组间差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ ), 表明 PC-

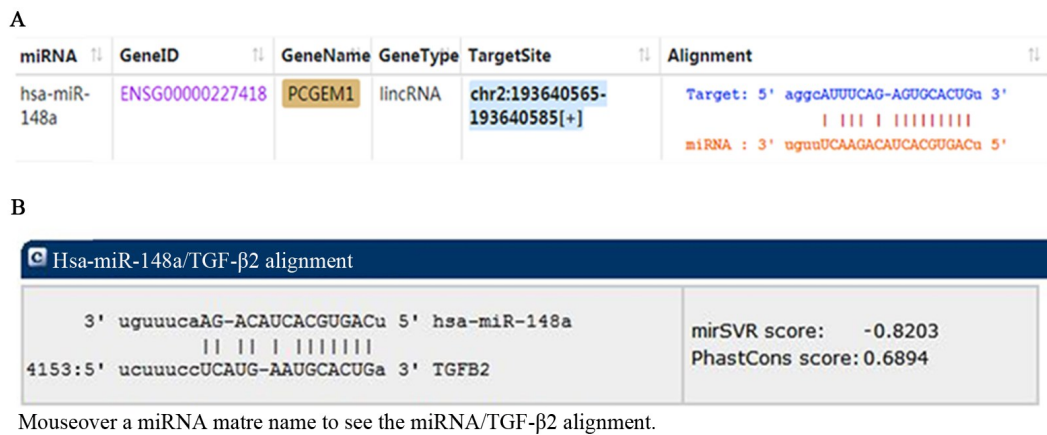
GEM1 对 TGF  $\beta$ 2/Smad2 通路蛋白表达的具有调控作用。



\* $P < 0.05$  vs Control or A549-NC group

图5 敲减 PCGEM1 对 A549 细胞迁移能力的影响( $\times 100$ )

Fig.5 Effect of silencing lncRNA PCGEM1 on migration ability of A549 cells( $\times 100$ )



A: StarBase predicts the complementary binding site of PCGEM1 and miR-148a;

B: Targetscan predicts the target binding sites of miR-148a and TGF- $\beta$ 2

图6 生物信息学预测 lncRNA PCGEM1 与 TGF- $\beta$ 2 的靶向关系

Fig.6 Bioinformatics predicts the targeting relationship between lncRNA PCGEM1 and TGF- $\beta$ 2

### 3 讨论

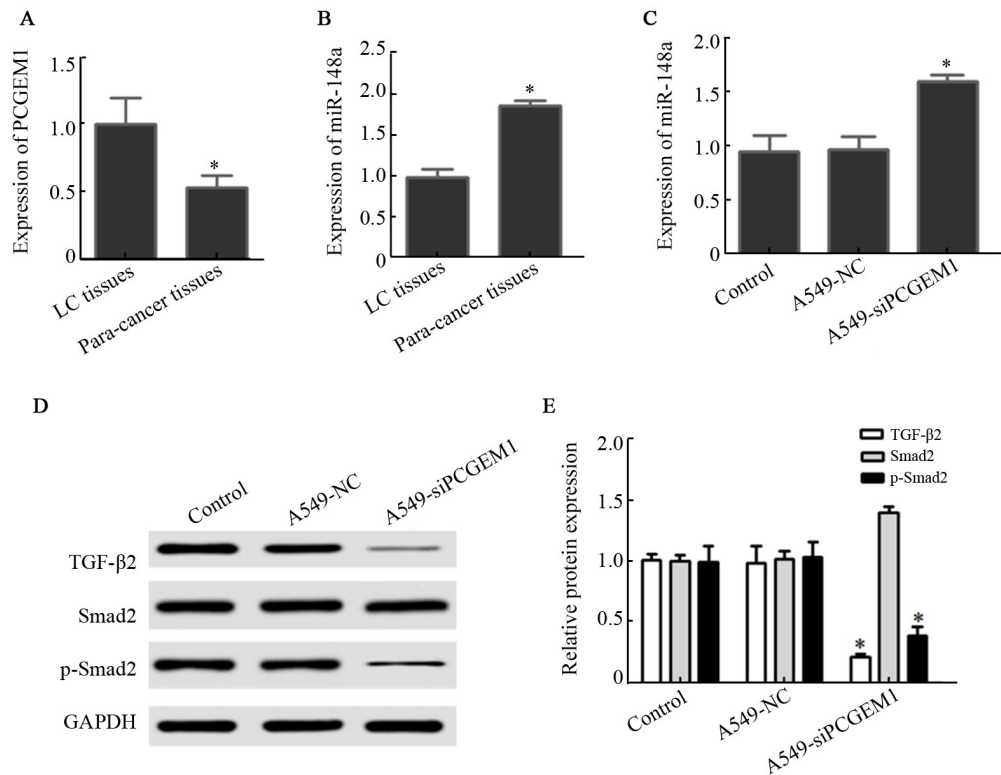
目前, LC 发病率在多数国家均呈明显上升趋势。由于 LC 的发生、浸润和转移是由多种分子参与的复杂过程, 已有的治疗手段不能完全抑制肿瘤细胞的增殖, 常导致治疗的失败<sup>[6]</sup>。因此从分子生物学角度出发寻找其进展和转移的标志物, 研发新的治疗方法和预后判定标记物具有重要的意义。

lncRNA 在肿瘤中的作用仅有部分被发现, 有些 lncRNA 在肿瘤中的表达呈异常改变, 功能类似于癌基因或抑癌基因, 可通过参与调控肿瘤细胞周期, 进而影响癌症的发生发展<sup>[7]</sup>。目前, 尚无标志性 lncRNA 可以直接预测 LC, 但 lncRNA PCGEM1 在前列腺癌

中特异性表达已由 SRIKANTAN 等<sup>[8]</sup>证实, 该基因位于染色体 2q32 位点上。ZHANG 等<sup>[9]</sup>检测结果显示, PCGEM1 在结肠癌组织中的表达明显高于癌旁组织。CHEN 等<sup>[10]</sup>研究表明, 在胰腺癌患者癌组织和血清中, lncRNA PCGEM1 的表达量明显上升。徐岷等<sup>[11]</sup>研究结果显示, lncRNA PCGEM1 在胰腺癌细胞分化过程中表达量显著升高, 而被沉默后胰腺癌细胞的增殖能力减弱, 并且与增殖相关的基因表达量亦明显下降, 由此推测 lncRNA PCGEM1 对胰腺癌细胞的增殖起到促进作用。本研究采用 qPCR 检测 lncRNA PCGEM1 在 LC 组织和癌旁组织中的表达, 在 LC 组织中 lncRNA PCGEM1 表达水平明显高于癌旁组织, 提示 lncRNA PCGEM1 在 LC 的发生发

展中可能起着重要作用。为了进一步探讨 lncRNA PCGEM1 在 LC 中的作用机制,本研究构建了 PCGEM1 沉默细胞系, MTT、Transwell 和划痕愈合实验结果显

示,敲减 PCGEM1 后, A549 癌细胞的增殖、侵袭和迁移能力均明显下降。



\* $P < 0.05$  vs LC tissue or Control or A549-NC group

A: Expression of lncRNA PCGEM1 in LC tissues; B: Expression of miR-148a in LC tissue;

C: Detection of miR-148a expression in A549 cells by qPCR; D: Expression of TGF- $\beta$ 2/p-Smad2 proteins in A549 cells by WB assay;

E: Relative expression of TGF- $\beta$ 2/p-Smad2 proteins

图7 PCGEM1 对 TGF- $\beta$ 2/Smad 2 通路相关蛋白表达的影响

Fig.7 Effect of PCGEM1 on the expression of TGF- $\beta$ 2/Smad2 pathway proteins

研究<sup>[12]</sup>表明, miRNA 通过碱基不完全互补方式结合于靶基因上, 从而影响肿瘤细胞增殖、侵袭和迁移, 并引发周围细胞坏死与凋亡, 同时 miRNA 也是 lncRNA 发挥作用的重要环节。本研究应用 StarBase 数据库预测 lncRNA PCGEM1 可与 miR-148a 互补结合。LI 等<sup>[13]</sup>研究发现, miR-148a 在食管癌组织中表达低于相应的癌旁组织, 下调 miR-148a 表达可促进食管癌细胞的增殖和迁移, 表明 miR-148a 作为癌基因对食管癌的进展发挥促进作用。Smad 蛋白包括 Smad1~9, 其中当 Smad2 磷酸化水平受到抑制甚至沉默时, TGF- $\beta$ 2/Smad2 信号通路的生物学功能发生转变, 对肿瘤细胞增殖和侵袭起到抑制作用<sup>[14-15]</sup>。PAROLIA 等<sup>[16]</sup>研究发现, 下调 lncRNA PCGEM1 后, TGF $\beta$ 2 蛋白的表达水平下降, 结直肠癌细胞的侵袭及迁移能力降低。本研究结果显示, LC 组织中 miR-148a 表达水平明显低于相应的癌旁组织, 敲减 PCGEM1 后 A549 细胞中 miR-148a 表达上调, 提示 lncRNA

PCGEM1 促进 A549 细胞的增殖作用可能与下调 miR-148a 的表达有关。根据 Targetscan 网站预测结果显示, miR-148a 可互补结合 TGF $\beta$ 2。本研究发现, A549-siPCGEM1 组中 miR-148a 表达上调后, TGF $\beta$ 2 蛋白的表达降低, 表明 TGF- $\beta$ 2/Smad2 信号通路在肿瘤的发生发展中扮演了重要角色, 且该通路通过磷酸化转录因子 Smad 蛋白实现细胞内通路信号的转导。因此推断 lncRNA PCGEM1 可能通过调节 TGF- $\beta$ 2/Smad2 信号通路影响 LC 的进展。综上所述, lncRNA PCGEM1 在 LC 组织和细胞系中高表达, 高表达的 lncRNA PCGEM1 可能通过下调 miR-148a 水平强化 TGF- $\beta$ 2/Smad2 信号通路, 从而促进 LC 的进展。

#### [参考文献]

- [1] 朱祎娜, 沈红, 杜强, 等. HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 鉴别诊断结核性胸腔积液与肺癌伴癌性胸腔积液的意义[J]. 临床肿瘤学杂志, 2017, 22

- (10): 908. DOI: CNKI:SUN:LCZL.0.2017-10-009.
- [2] 王丽萍. 肺癌免疫治疗现状及展望[J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(2):105-110. DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2017.02.001.
- [3] FOX M D, XIAO L, ZHANG M, et al. Plasmacytoid urothelial carcinoma of the urinary bladder: a clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 49 cases[J]. *Am J Clin Pathol*, 2017, 147(5): 500-506. DOI: 10.1093/ajcp/aqx029.
- [4] 祝兴旺, 李永智, 刘屹立. SRSF1 和 Caspase-3 在膀胱尿路上皮癌中的表达及其临床意义[J]. 现代肿瘤医学, 2017, 25(3):412-414. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4992.2017.03.019.
- [5] HUANG F, ZHAO J L, WANG L, et al. miR-148a-3p mediates Notch signaling to promote the differentiation and M1 activation of macrophages[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1327. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01327.
- [6] 郭春芳, 李华强, 陈晏林. 卵巢癌患者组织中 lncRNA NEAT1 和 CTBP2 表达水平及其与临床病理特征的关系[J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 18(12): 1285-1289. DOI: CNKI:SUN:SYLC.0.2018-12-016.
- [7] PENG W X, KOIRALA P, MO Y Y. LncRNA-mediated regulation of cell signaling in cancer[J]. *Oncogene*, 2017, 36(41):5661. DOI: 10.1038/onc.2017.184.
- [8] ZHANG Z, ZHOU N, HUANG J, et al. Regulation of androgen receptor splice variant AR3 by PCGEM1[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(13): 15481-15491. DOI: 10.18632/oncotarget.7139.
- [9] ZHANG S, LI Z, ZHANG L, et al. MEF2-activated long non-coding RNA PCGEM1 promotes cell proliferation in hormone-refractory prostate cancer through downregulation of miR-148a[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 18(1):202-208. DOI: 10.3892/mmr.2018.8977.
- [10] CHEN S, WANG L L, SUN K X, et al. LncRNA PCGEM1 induces ovarian carcinoma tumorigenesis and progression through rhoa pathway[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 47(4): 1578-1584. DOI: 10.1159/000490931.
- [11] 徐岷, 倪鑫, 葛璐, 等. 长链非编码 RNA PCGEM1 促进胰腺癌细胞增殖和迁移[J]. 中国细胞生物学学报, 2016, 38(2): 157-163.
- [12] SAMBANDAN S, AKBALIK G, KOCHEN L, et al. Activity-dependent spatially localized miRNA maturation in neuronal dendrites [J]. *Science*, 2017, 355(6325): 634-637. DOI: 10.1126/science.aaf8995.
- [13] LI B, WANG W, LI Z, et al. MicroRNA-148a-3p enhances cisplatin cytotoxicity in gastric cancer through mitochondrial fission induction and cyto-protective autophagy suppression[J]. *Cancer Lett*, 2017, 410: 212-227. DOI: 10.1016/j.canlet.2017.09.035.
- [14] DENG G, CHEN L, ZHANG Y, et al. Fucosyltransferase 2 induced epithelial-mesenchymal transition via TGF- $\beta$ /Smad signaling pathway in lung adenocarcinoma[J]. *Exp Cell Res*, 2018, 370(2): 613-622. DOI: 10.1016/j.yexcr.2018.07.026.
- [15] 孙雪, 梅峰. TGF- $\beta$ /Smad 信号通路诱导肾上皮细胞间充质转化机制的研究进展[J]. 山东医药, 2017, 57(30):108-110. DOI: CNKI:SUN:SDYY.0.2017-30-033.
- [16] PAROLIA A, CREA F, XUE H, et al. The long non-coding RNA PCGEM1 is regulated by androgen receptor activity in vivo [J]. *Mol Cancer*, 2015, 14(1):1-7. DOI: 10.1186/s12943-015-0314-4.

[收稿日期] 2020-02-10

[修回日期] 2020-05-12

[本文编辑] 韩丹