

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.12.004

lncRNA-Z38 通过调控 TGF- β 通路促进胃癌的发生发展

王阳^{1a}, 徐文广^{1b}, 董艳^{1a}, 赵春武^{1a}, 徐有超², 赵浩钧², 单宝强², 孙西文², 孙钰凯³(1. 潍坊市人民医院 a. 普通外科; b. 耳鼻喉科, 山东 潍坊 261041; 2. 潍坊医学院 临床医学系, 山东 潍坊 261041; 3. 夏洛特医学院马克斯·德尔布吕克分子医学中心, 德国 柏林 13125)

[摘要] **目的:** 探讨 lncRNA-Z38 对胃癌细胞恶性生物学行为的影响及其可能的调控机制。 **方法:** 构建 lncRNA-Z38 稳定过表达的胃癌细胞系 (AGS、MKN74 细胞), 通过细胞成球实验检测过表达 lncRNA-Z38 对胃癌细胞肿瘤特征的影响。对过表达 lncRNA-Z38 的 AGS 细胞及对照细胞进行高通量测序, 对差异表达基因进行 KEGG 富集分析, 筛选出可能参与调控胃癌发生发展的信号通路, 采用 WB 等技术验证 lncRNA-Z38 通过调控该信号通路参与提高胃癌细胞的干性。 **结果:** 成功构建 lncRNA-Z38 过表达细胞株, 细胞成球实验提示 lncRNA-Z38 过表达细胞的成球能力显著高于对照细胞 ($P < 0.05$)。通过测序筛选出 lncRNA-Z38 过表达胃癌细胞中的 1 999 个差异表达基因, 其中上调基因 1 238 个、下调基因 761 个; 经 KEGG 富集分析得到其中变化最显著的通路为 TGF- β 信号通路 ($P < 0.05$)。WB 实验结果提示, lncRNA-Z38 高表达胃癌细胞中 TGF- β 信号通路组成基因编码蛋白 ID3、BMP6 显著上调 (均 $P < 0.05$)、GDF-5、WNT8B 显著下调 ($P < 0.05$)。 **结论:** 在胃癌中高度表达的 lncRNA-Z38 通过调控 TGF- β 信号通路提高胃癌细胞的干性。

[关键词] 胃癌; AGS 细胞; MKN74 细胞; lncRNA-Z38; 高通量检测; TGF- β 信号通路

[中图分类号] R735.2; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)12-1174-05

lncRNA-Z38 promotes occurrence and progression of gastric cancer through regulating TGF- β signaling pathway

WANG Yang^{1a}, XU Wenguang^{1b}, DONG Yan^{1a}, ZHAO Chunwu^{1a}, XU Youchao², ZHAO Haojun², SHAN Baoqiang², SUN Xiwen², SUN Yukai³ (1a. Department of General Surgery; 1b. Department of Otolaryngology, Weifang People's Hospital, Weifang 261041, Shandong, China; 2. Weifang Medical College, Department of Clinical Medicine, Weifang 261041, Shandong, China; 3. Max Delbrück Center for Molecular Medicine, Charité-Universitätsmedizin, Berlin 13125, Germany)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of lncRNA-Z38 on malignant biological behavior of gastric cancer cells, and the possible regulatory mechanism. **Methods:** Gastric cancer cell lines (AGS, MKN74 cells) stably over-expressing lncRNA-Z38 were constructed, and the effect of lncRNA-Z38 over-expression on the stemness of gastric cancer cells was detected through sphere forming assay. High-throughput sequencing of AGS cells with lncRNA-Z38 over-expression and the control cells was performed, and KEGG enrichment analysis was done on the differentially expressed genes to find the potential signaling pathway involved in regulating the occurrence and development of gastric cancer. Furthermore, WB was conducted to verify that lncRNA-Z38 regulates the signaling pathway to promote the stemness of gastric cancer cells. **Results:** Cell lines with stable lncRNA-Z38 over-expression were successfully constructed. Sphere forming assay suggested that the sphere-forming ability of lncRNA-Z38 overexpressed gastric cancer cells was significantly higher than their control cells ($P < 0.05$). According to the high-throughput sequencing results, 1 999 differentially expressed genes in lncRNA-Z38 over-expressed gastric cancers cells were screened out, among which 1 238 were up-regulated and 761 were downregulated. KEGG pathway enrichment analysis showed that the most significantly enriched pathway was TGF- β signaling pathway ($P < 0.05$). Further, WB results verified that the encoding proteins of TGF- β pathway constituent genes ID3 and BMP6 were significantly up-regulated while GDF-5 and WNT8B were significantly down-regulated in lncRNA-Z38 over-expressed gastric cancer cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** Highly expressed lncRNA-Z38 enhances the stemness of gastric cancer cells through regulating the TGF- β pathway.

[Key words] gastric cancer; AGS cell; MKN47 cell; lncRNA-Z38; high-throughput sequencing; TGF- β signaling pathway

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(12): 1174-1178. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.12.004]

[基金项目] 山东省医药卫生科技发展计划项目 (No. 2018WS076); 医学免疫学国家重点实验室开放课题 (No. NKMI2018K11); 潍坊市科学技术发展计划项目 (No. 201302030)。Project supported by the Medical Health Science and Technology Development Program of Shandong Province (No. 2018WS076), the Open Project of the National Key Laboratory of Medical Immunology (No. NKMI2018K11), and the Science and Technology Development Project of Weifang City (No. 201302030)

[作者简介] 王阳 (1984—), 男, 博士, 主要从事胃癌的综合治疗及腹腔镜下微创治疗研究, E-mail: yfghwy@163.com

[通信作者] 孙钰凯 (SUN Yukai, corresponding author), 博士, 高级研究员, 主要从事肿瘤分子和转化相关的研究, E-mail: Sunyukai823@163.com

胃癌是全球发病率及病死率均位居第四的恶性肿瘤^[1],中国每年新发胃癌病例约48万^[2],深入研究胃癌的发病机制及寻找有效的治疗靶点具有重要的意义。占人类基因组95%以上的非编码RNA(non-coding RNA, ncRNA)在肿瘤中发挥着重要的作用,lncRNA是ncRNA的重要组成部分^[3],近年来受到越来越多的关注。lncRNA是转录本不超过200个核苷酸的RNA,位于细胞核内或细胞质内,通常不参与编码蛋白质。lncRNA参与基因组印记、染色质修饰、染色体沉默、mRNA转录激活及干扰、转录后调控、调节原癌基因活化、核内运输等重要的调控过程^[4]。多种lncRNA与肿瘤细胞的增殖、侵袭等特征密切相关^[5],是一类新型的潜在肿瘤标志物和治疗靶点。胃癌组织和癌旁组织中的lncRNA谱具有显著差异,如H19、UCA1、LNC00152等可作为胃癌的特异性早期检测标志物,调节胃癌细胞的增殖和侵袭能力,参与胃癌的发生和发展^[6-8]。进一步深入探索胃癌特异性相关的lncRNA及其调控机制,可为胃癌的发病机制与治疗研究提供新的理论依据。本课题前期研究^[9]发现,lncRNA-Z38在胃癌组织中高表达,且其表达水平与胃癌患者的临床病理特征如肿瘤大小、淋巴结转移、TNM分期等存在正向关联性。在此基础上构建lncRNA-Z38过表达细胞株并分析其对表达谱的影响,筛查lncRNA-Z38在胃癌细胞中可以调控的基因和信号通路,为探讨lncRNA-Z38在胃癌发生发展中的调控机制和临床胃癌诊疗提供新靶点和理论依据。

1 材料与方法

1.1 细胞系及主要实验用试剂

胃癌细胞AGS购自中国科学院细胞库上海肿瘤研究所,MKN74购自美国American Type Culture Collection公司。lncRNA-Z38过表达慢病毒序列、阴性对照慢病毒序列的设计合成以及载体构建、包装均由上海圣克鲁斯生物技术有限公司完成。兔抗人ID3单抗和兔抗人BMP6单抗均购自美国细胞信号转导技术公司,兔抗人GDF-5多抗和兔抗人WNT8B多抗均购自赛默飞生物科技公司,HRP标记的山羊抗兔二抗购自北京ZSGB生物公司,嘌呤霉素购自美国Sigma-Aldrich公司,TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司,蛋白提取试剂盒及BCA蛋白定量试剂盒均购自上海申能博彩生物公司,PVDF膜购自美国Millipore公司。

1.2 慢病毒感染和细胞稳定株筛选

培养胃癌细胞AGS和MKN74均至生长50%~70%的汇合度,然后在lncRNA-Z38高表达和对照细胞组的细胞里加入相应的慢病毒,空载体慢病毒或高表达lncRNA慢病毒,MOI=10;在病毒感染的同

时,细胞培养液中添加聚凝胺至2 $\mu\text{g}/\text{ml}$;37 $^{\circ}\text{C}$ 普通CO₂细胞培养箱培养8 h,吸除上清液,再添加新的完全培养基;在慢病毒感染之后的2~3 d中,细胞培养液中直接添加嘌呤霉素至终质量浓度1 $\mu\text{g}/\text{ml}$,继续培养14 d。

1.3 qPCR检测胃癌细胞中lncRNA-Z38的表达水平

lncRNA-Z38高表达及其对照转染后细胞用TRIzol试剂提取细胞总RNA,用反转录试剂盒反转录为cDNA,以2 μl cDNA作为模板进行qPCR反应。按照试剂盒说明书配置反应体系:SYBR Green Master Mix 10 μl ,正反向引物各0.8 μl ,cDNA 2 μl ,加入ddH₂O补足体系至20 μl ;反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性2 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性15 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s,共40个循环。以GAPDH为内参。采用2^{- $\Delta\Delta\text{Ct}$} 法计算lncRNA-Z38的相对表达量。

1.4 成球实验检测胃癌细胞增殖和成瘤性

将生长状态良好的lncRNA-Z38高表达细胞及其对照细胞消化离心,接种于低黏附6孔板中,每孔加入1 ml培养基,每孔分别加入1.0 \times 10²个待测细胞。摇匀培养基后放入孵箱培养。2周后在显微镜下观察lncRNA-Z38高表达细胞及其对照细胞的成球情况,低倍镜下可见直径约50 μm 以上细胞团即为成球细胞团。实验重复3次。

1.5 WB法检测胃癌细胞中ID3、BMP6、GDF8及WNT8B蛋白的表达

收集相应胃癌细胞,用PBS洗涤后裂解,收集蛋白,使用BCA蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度,加入一定比例加样缓冲液,100 $^{\circ}\text{C}$ 变性后进行SDS-PAGE,将分离的蛋白质转移至PVDF膜,TBST清洗PVDF膜后用脱脂牛奶室温封闭60 min,加入ID3、BMP6、GDF8及WNT8B一抗4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。次日清洗PVDF膜后添加二抗,室温中1 h,TBST清洗后并添加ECL显影液显影并进行半定量分析。实验重复3次。

1.6 高通量测序检测lncRNA-Z38对胃癌细胞中表达谱的影响

提取lncRNA-Z38高表达细胞及其对照细胞相应胃癌细胞RNA,并进行质检检测。质检包括:Nano drop法测定D₂₆₀/D₂₈₀、Qubit2.0荧光计数仪测定RNA浓度、电泳观察RNA有无降解及污染、利用安捷伦4200生物分析仪检测RNA质量系数值。文库构建及扩增(由公司完成)。对文库进行质检后上机检测,检测合格的文库经变性稀释后加至微流控仪内与接头杂交,在桥联仪上完成桥式PCR扩增,最后使用Illumina HiSeq X-10平台进行测序。

1.7 统计学处理

高通量测序数据使用DESeq2、Ballgown软件及

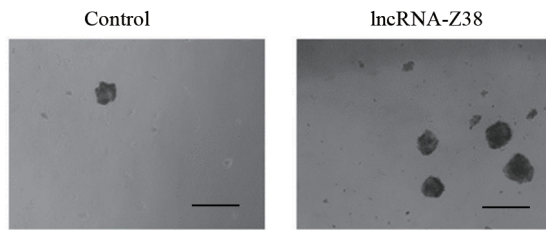
GO、KEGG数据库进行分析,非高通量测序的实验数据通过SPSS Statistics 19.0(IBM)及MS Excel(2010版)进行统计及分析。图表利用Adobe Photoshop CS5及Graphpad Prism(6.0版本)制作完成。大于或等于两组的数据,选择One-way ANOVA软件或Student's *t*-test软件分析, $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功构建lncRNA-Z38过表达胃癌细胞系

利用慢病毒感染系统构建了稳定过表达lncRNA-Z38的AGS和MKN74胃癌细胞系,qPCR验证构建效果显示,与对照组相比,过表达细胞中lncRNA-Z38表达水平均显著提高(均 $P<0.01$,图1)。

2.2 过表达lncRNA-Z38提高AGS胃癌细胞的成球能力



* $P<0.01$ vs Control group

图2 lncRNA-Z38高表达促进AGS胃癌细胞的成球($n=3$, Scale bar=200 μ m, $\times 100$)

Fig.2 lncRNA-Z38 over-expression promoted the spheroidization of gastric cancer AGS cells ($n=3$, Scale bar=200 μ m, $\times 100$)

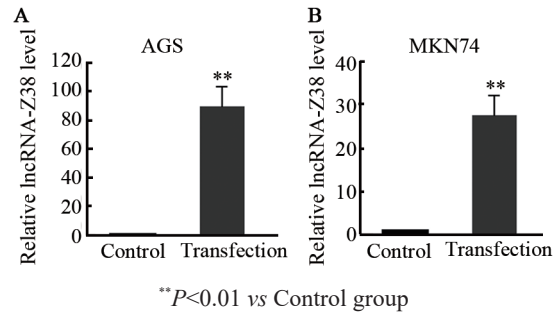
2.3 过表达lncRNA-Z38显著改变AGS细胞转录组表达谱

选取lncRNA-Z38表达更加明显的AGS细胞系,利用Illumina HiSeq X-10平台进行转录组高通量测序,对lncRNA-Z38过表达AGS细胞及对照细胞的表达谱进行分析,设定差异基因筛选条件为 $P<0.05$ 且差异倍数(fold change)大于4倍或小于0.25,得到1999个差异表达基因,其中上调基因1238个、下调基因761个。火山图(图3)中(差异倍数大于4且 $P<0.05$ 的为上调基因(红色点)、差异倍数小于0.25且 $P<0.05$ 的为下调基因(蓝色点)。以上结果说明,过表达lncRNA-Z38能够显著改变AGS细胞的转录组基因表达谱。

2.4 通路富集分析筛选lncRNA-Z38调控通路

将高通量测序得到的显著差异表达基因进行KEGG通路富集分析,结果发现上调的差异表达基因参与的信号通路共265条,下调的差异表达基因参与的信号通路共237条。其中,TGF- β 信号通路是调控

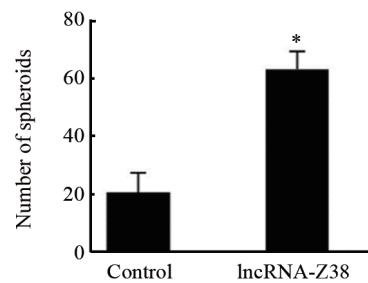
因AGS细胞中lncRNA-Z38高表达效果更好,因此选用该lncRNA-Z38过表达细胞及对照组细胞分别进行成球,实验结果(图2)显示,lncRNA-Z38过表达的细胞中细胞球的数目均高于对照细胞,提示其成球能力显著高于对照组细胞($P<0.05$)。



** $P<0.01$ vs Control group

图1 转染后胃癌细胞中lncRNA-Z38表达升高

Fig.1 lncRNA-Z38 expression increased in gastric cancer cells after transfection



变化最为显著(表1、2)。TGF- β 信号通路中组成基因TGFB3、INHBA、BMP4、GDF5及INHBB在lncRNA-Z38过表达胃癌细胞中显著上调;LTBP1、ID3、ID1、BMPR1B、LEFTY2、GDF7、BMP6和BMPR2在lncRNA-Z38过表达胃癌细胞中显著下调。

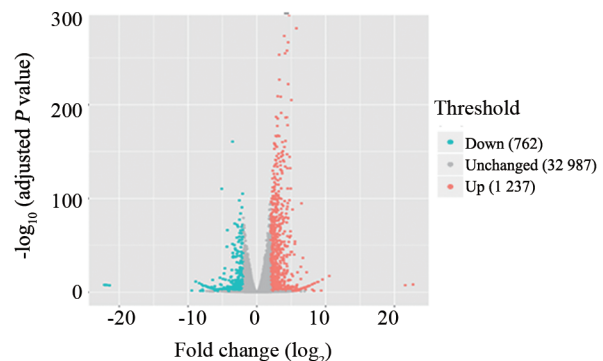


图3 火山图显示差异表达基因

Fig.3 Differentially expressed genes displayed by volcano diagram

表1 TGF-β 信号通路下调基因 KEGG 富集分析

Tab.1 KEGG enrichment analysis of down-regulated genes in TGF-β signaling pathway

Path ID	has04350
Path description	TGF-β signaling pathway
Gene ratio	5/154
Bg ratio	84/7431
P value	0.0298636930105027
P adj	0.194705296462488
Q value	0.168632168821609
Enrich score	2.87221706864564
Overlap gene list	TGFB3/INHBA/BMP4/GDF5/INHBB

表2 TGF-β 信号通路上调基因 KEGG 富集分析

Tab.2 KEGG enrichment analysis of up-regulated genes in TGF-β signaling pathway

Path ID	has04350
Path description	TGF-β signaling pathway
Gene ratio	8/318
Bg ratio	84/7431
P value	0.0267039797864045
P adj	0.147428221737441
Q value	0.12180762709588
Enrich score	2.22551662174304
Overlap gene list	LTBP1/ID3/ID1/BMPR1B/ LEFTY2/GDF7/BMP6/BMPR2

2.5 lncRNA-Z38 参与调控 TGF-β 信号通路

TGF-β 信号通路在胚胎发育与组织器官形成、干性维持及免疫应答等过程中发挥着重要的作用,因此本课题组利用 lncRNA-Z38 稳定过表达的 AGS 和 MKN74 细胞与其对照细胞进行检测 TGF-β 信号通路的变化情况,尤其针对 ID3、BMP6、GDF8 及 WNT8B 这几个 TGF-β 信号通路的重要组成基因。WB 实验结果与表达谱测序结果相一致,在 lncRNA-Z38 过表达胃癌细胞中 ID3、BMP6 基因编码蛋白表达显著上调,GDF-5、WNT8B 基因编码蛋白表达显著下调($P < 0.05$,图4)。

3 讨论

越来越多的研究^[10-11]发现,lncRNA 在多种细胞的生理功能中起着至关重要的作用,FANTOM(Functional Annotation of the Mammalian Genome)项目绘制了人类 lncRNA 综合图谱,发现 19 175 种 lncRNA 可能具备功能性。多项研究结果^[12-14]表明,lncRNA 在乳腺癌、肝癌、膀胱癌等多种肿瘤中存在异常表达或突变,并与肿瘤的发生、转移和肿瘤分期等密切相关。lncRNA 是一类新的潜在肿瘤标志物和治疗靶标,其通过多种方式参与调控肿瘤的发生发展^[15]。目前已知 lncRNA 与 mRNA 均由 RNA 聚合酶 II 转录,然而 lncRNA 优先定位于细胞

核中,参与顺式或反式调节基因表达、剪切调节和参与亚核域成核等多种功能。而部分与 mRNA 相似的 3' 切割和聚腺苷酸化特征的 lncRNA 可运输至细胞质执行多种功能,例如作为竞争性内源 RNA(ceRNA)或海绵 RNA 与 miRNA 相互作用,或与信号相关基因相互作用参与调控信号转导通路^[16]。lncRNA-Z38 的具体作用分子机制可能是上述机制中的一种,这需要后续研究进一步证实。

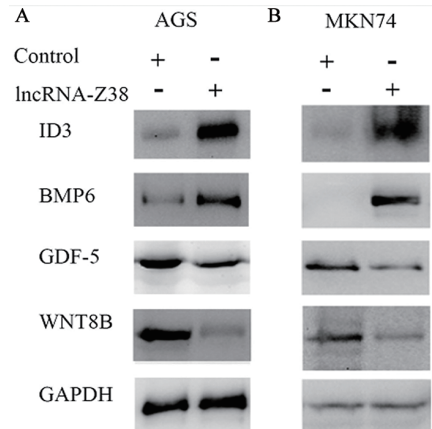


图4 TGF-β 通路组成蛋白在 lncRNA-Z38 过表达的胃癌细胞 AGS(A)和 MKN74(B)中的表达水平变化($n=3$)

Fig.4 Analysis of TGF-β pathway constituent proteins in lncRNA-Z38 over-expressed gastric cancer AGS(A) and MKN74 cells (B) ($n=3$)

近几年来研究表明,lncRNA 与胃癌的发生发展密切相关。已发现数千种 lncRNA 在胃癌中异常表达^[17],多种显著异常的 lncRNA 被推荐用于胃癌的早期筛查^[18]。lncRNA 在胃癌进展中的作用及调控机制也成为研究热点,如胃癌患者肿瘤组织及血清中均发现 lncRNA H19 水平显著升高,通过参与调控胃癌细胞代谢或通过 H19/miR-675 轴抑制胃癌细胞凋亡等方式促进胃癌进展^[19-20]; PENG 等^[21]发现,lncRNA EGOT 通过 Hedgehog 通路促进胃癌的发生发展。

lncRNA-Z38 是最先在乳腺癌中被发现的一种 lncRNA^[22]。一系列体外及体内实验^[23]证实,lncRNA-Z38 具有促进乳腺癌细胞增殖和肿瘤发生的作用,利用特异性 siRNA 敲降 MDA-MB-231 细胞中 lncRNA-Z38 可抑制肿瘤细胞的体内成瘤能力,从而为肿瘤治疗提供潜在靶点。本课题组前期研究^[9]发现,lncRNA-Z38 在胃癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织,提示 lncRNA-Z38 可能在胃癌的发生发展过程中具有重要作用。但 lncRNA-Z38 在肿瘤中的作用及调控机制尚需进一步研究,因此,还需深入探索 lncRNA-Z38 在胃癌进展过程中的作用及其调控机制。本研究进一步分析了 lncRNA-Z38 对胃癌细胞

恶性生物学行为的影响,发现 lncRNA-Z38 参与促进胃癌细胞干性。通过高通量测序检测,筛选出 lncRNA-Z38 过表达细胞与对照细胞中存在 1 999 个差异表达基因。利用通路富集分析得到 265 条显著发生上调的信号通路及 237 条显著下调的信号通路。研究发现,在显著上调通路和显著下调通路中均包含明星通路 TGF- β 信号通路。TGF- β 被认为是上皮间质转化及维持肿瘤干性的重要因子,在胃癌的增殖、侵袭及微环境重塑等过程中起着重要的作用^[24-25]。本研究进一步对 TGF- β 信号通路组成基因 (ID3、BMP6、GDF5 及 WNT8B) 在 lncRNA-Z38 过表达及干扰细胞中的表达水平进行了验证,得到了过表达 lncRNA-Z38 可调控癌细胞干性的 TGF 通路的相关基因的预期结果。

本研究较深入地探索了 lncRNA 在胃癌进展中的作用及其机制,发现 lncRNA-Z38 在胃癌细胞中高表达并通过调控 TGF- β 信号通路参与调节胃癌的发生发展,为胃癌的临床诊疗提供了新靶点和新思路。

[参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. *CA Cancer J Clin*, 2020, 70(1): 7-30. DOI: 10.3322/caac.21590.
- [2] DE MARTEL C, GEORGES D, BRAY F, et al. Global burden of cancer attributable to infections in 2018: a worldwide incidence analysis[J/OL]. *Lancet Glob Health*, 2020, 8(2): e180-e190[2021-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31862245/>. DOI: 10.1016/S2214-109X(19)30488-7.
- [3] GOODALL G J, WICKRAMASINGHE V O. RNA in cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2021, 21(1): 22-36. DOI: 10.1038/s41568-020-00306-0.
- [4] KOPP F, MENDELL J T. Functional classification and experimental dissection of long noncoding RNAs[J]. *Cell*, 2018, 172(3): 393-407. DOI: 10.1016/j.cell.2018.01.011.
- [5] BHAN A, SOLEIMANI M, MANDAL SS. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(15): 3965-3981. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-2634.
- [6] ZHOU X, YIN C, DANG Y, et al. Identification of the long non-coding RNA H19 in plasma as a novel biomarker for diagnosis of gastric cancer[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11516. DOI:10.1038/srep11516.
- [7] WANG C J, ZHU C C, XU J, et al. The lncRNA UCA1 promotes proliferation, migration, immune escape and inhibits apoptosis in gastric cancer by sponging anti-tumor miRNAs[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 115. DOI:10.1186/s12943-019-1032-0.
- [8] PANG Q Q, GE J X, SHAO Y F, et al. Increased expression of long intergenic non-coding RNA LINC00152 in gastric cancer and its clinical significance[J]. *Tumor Biol*, 2014, 35(6): 5441-5447. DOI: 10.1007/s13277-014-1709-3.
- [9] WANG Y, ZHENG C, LI T et al. Long noncoding RNA Z38 promotes cell proliferation and metastasis and inhibits cell apoptosis in human gastric cancer[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(5): 6051-6058. DOI: 10.3892/ol.2018.9343.
- [10] TAN Y T, LIN J F, LI T, et al. lncRNA-mediated posttranslational modifications and reprogramming of energy metabolism in cancer[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2021, 41(2): 109-120. DOI: 10.1002/cac2.12108.
- [11] HON C C, RAMIŁOWSKI J A, HARSHBARGER J, et al. An atlas of human long non-coding RNAs with accurate 5' ends[J]. *Nature*, 2017, 543(7644): 199-204. DOI: 10.1038/nature21374.
- [12] JIANG YZ, LIU YR, XU XE et al. Transcriptome analysis of triple-negative breast cancer reveals an integrated mRNA-lncRNA signature with predictive and prognostic value[J]. *Cancer Res*, 2016, 76(8): 2105-2014. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-3284.
- [13] PANZITT K, TSCHERNATSCH M M, GUELLY C, et al. Characterization of HULC, a novel gene with striking up-regulation in hepatocellular carcinoma, as noncoding RNA[J]. *Gastroenterology*, 2007, 132(1): 330-342. DOI: 10.1053/j.gastro.2006.08.026.
- [14] WANT 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.
- [15] WANG K C, CHANG H Y. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs[J]. *Mol Cell*, 2011, 43(6): 904-914. DOI: 10.1016/j.molcel.2011.08.018.
- [16] TAY Y, RINN J, PANDOLFI P P. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition[J]. *Nature*, 2014, 505(7483): 344-352. DOI: 10.1038/nature12986.
- [17] GHAFOURI-FARD S, TAHERI M. Long non-coding RNA signature in gastric cancer[J]. *Exp Mol Pathol*, 2020, 113: 104365. DOI: 10.1016/j.yexmp.2019.104365.
- [18] AKHAVAN-NAIKI H. lncRNAs as potential diagnostic and prognostic biomarkers in gastric cancer: A novel approach to personalized medicine[J]. *J Cell Physiol*, 2020, 235(4): 3189-3206. DOI: 10.1002/jcp.29260.
- [19] GHAFOURI-FARD S, ESMAEILI M, TAHERI M. H19 lncRNA: Roles in tumorigenesis[J/OL]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 123: 109774[2021-03-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31855739/>. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109774.
- [20] WANG J T, MA X, SI H, et al. Role of long non-coding RNA H19 in therapy resistance of digestive system cancers[J]. *Mol Med Camb Mass*, 2021, 27(1): 1. DOI:10.1186/s10020-020-00255-2.
- [21] PENG W, WU J, FAN H et al. lncRNA EGOT promotes tumorigenesis via hedgehog pathway in gastric cancer[J]. *Pathol Oncol Res*, 2019, 25(3): 883-887. DOI: 10.1007/s12253-017-0367-3.
- [22] NIE Z L, WANG Y S, MEI Y P, et al. Prognostic significance of long noncoding RNA Z38 as a candidate biomarker in breast cancer[J/OL]. *J Clin Lab Anal*, 2018, 32(1): e22193[2021-03-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6816943/>. DOI: 10.1002/jcla.22193.
- [23] DENG R, LIU B, WANG Y, et al. High expression of the newly found long noncoding RNA Z38 promotes cell proliferation and oncogenic activity in breast cancer[J]. *J Cancer*, 201, 7(5): 576-586. DOI: 10.7150/jca.13117.
- [24] LUO J, CHEN X Q, LI P. The role of TGF- β and its receptors in gastrointestinal cancers[J]. *Transl Oncol*, 2019, 12(3): 475-484. DOI: 10.1016/j.tranon.2018.11.010.
- [25] ISHIMOTO T, MIYAKE K, NANDI T, et al. Activation of transforming growth factor beta 1 signaling in gastric cancer-associated fibroblasts increases their motility, via expression of rhomboid 5 homolog 2, and ability to induce invasiveness of gastric cancer cells[J]. *Gastroenterology*, 2017, 153(1): 191-204. e16. DOI: 10.1053/j.gastro.2017.03.046.

[收稿日期] 2021-04-27

[修回日期] 2021-11-26

[本文编辑] 王润蓓, 党瑞山