

DOI: 10.16781/j.0258-879x.2019.08.0854

· 论 著 ·

长链非编码 RNA-H19 特异性吸附微 RNA-760 调控 *nanog* 基因表达促进非小细胞肺癌细胞增殖和迁移

李 莎^{1△}, 朱怡卿^{2△}, 石 荟¹, 戈霞晖³, 许 靖³, 商 艳^{1,3*}, 王 芳², 白 冲¹

1. 海军军医大学(第二军医大学)长海医院呼吸与危重症医学科, 上海 200433
2. 海军军医大学(第二军医大学)基础医学院医学遗传学教研室, 上海 200433
3. 上海中医药大学附属第七人民医院呼吸科, 上海 200137

[摘要] **目的** 探讨长链非编码 RNA (lncRNA)-H19 对非小细胞肺癌 (NSCLC) 细胞增殖、迁移的影响及分子机制。**方法** 收集 2015 年 10 月至 2016 年 5 月海军军医大学(第二军医大学)长海医院确诊的 20 例 NSCLC 患者手术切除的 NSCLC 组织及相应的癌旁正常组织。通过实时荧光定量 PCR (qPCR) 检测 NSCLC 组织及癌旁正常组织, 人 NSCLC 细胞系 A549、NCI-H1299 和人正常肺上皮细胞系 BEAS-2B 中 lncRNA-H19 的表达。在 A549 细胞中过表达 lncRNA-H19 后, 采用 CCK-8 法和 Transwell 实验分别检测细胞的增殖和迁移能力。利用生物信息学分析预测 lncRNA-H19 与微 RNA (miRNA)-760 的结合位点, 通过双荧光素酶报告基因实验分析 lncRNA-H19 对 miRNA-760 的吸附作用, 采用 qPCR 和蛋白质印迹法分别检测 lncRNA-H19 过表达对 miRNA-760 及下游靶基因 *nanog* 表达的影响。通过对 A549 细胞转染 miRNA-760 模拟剂过表达 miRNA-760 后, 检测过表达 miRNA-760 对 lncRNA-H19 促进 NSCLC 细胞增殖和迁移作用的影响。**结果** lncRNA-H19 在 NSCLC 组织和 A549、NCI-H1299 细胞中均呈高表达, 分别与其在癌旁正常组织和 BEAS-2B 细胞中的表达水平相比差异均有统计学意义 (P 均 <0.01)。与对照组相比, 过表达 lncRNA-H19 后 A549 细胞的增殖能力增强 ($P<0.05$)、迁移能力提高 ($P<0.01$)。在线数据库 starBase v3.0 预测分析结果显示 lncRNA-H19 能特异性吸附 miRNA-760。双荧光素酶报告基因检测结果显示 lncRNA-H19 与 miRNA-760 之间存在特异性结合。与对照组相比, 过表达 lncRNA-H19 可抑制 A549 细胞中 miRNA-760 的表达 (P 均 <0.05), 并促进其下游基因 *nanog* 在 mRNA 和蛋白水平的表达 (P 均 <0.01)。过表达 miRNA-760 可抑制 lncRNA-H19 对 A549 细胞增殖和迁移的促进作用, 与 lncRNA-H19 过表达组相比差异均有统计学意义 (P 均 <0.05)。**结论** lncRNA-H19 可通过特异性吸附 miRNA-760 调控 *nanog* 基因表达, 从而促进 NSCLC 细胞增殖和迁移。

[关键词] 非小细胞肺癌; 长链非编码 RNA-H19; 微 RNA-760; *nanog* 基因**[中图分类号]** R 734.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2019)08-0854-06

Long non-coding RNA-H19 promotes proliferation and migration of non-small cell lung cancer cells through sponging microRNA-760 to regulate *nanog* gene expression

LI Sha^{1△}, ZHU Yi-qing^{2△}, SHI Hui¹, GE Xia-hui³, XU Jing³, SHANG Yan^{1,3*}, WANG Fang², BAI Chong¹

1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, Changhai Hospital, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China
2. Department of Medical Genetics, College of Basic Medical Sciences, Naval Medical University (Second Military Medical University), Shanghai 200433, China
3. Department of Respiratory Medicine, Seventh People's Hospital of Shanghai, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200137, China

[Abstract] **Objective** To explore the role of long non-coding RNA (lncRNA)-H19 in the proliferation and migration of non-small cell lung cancer (NSCLC) cells and the molecular mechanisms. **Methods** The expressions of lncRNA-H19 in 20 NSCLC tissues and paired non-tumor tissues, which were collected from Changhai Hospital of Naval Medical University

[收稿日期] 2019-03-17 **[接受日期]** 2019-07-17**[基金项目]** 国家自然科学基金(81570020, 81300018), 浙江省公益技术应用研究计划项目(2016C33216), 浦东新区科技发展基金(PKJ2016-Y49)。Supported by National Natural Science Foundation of China (81570020, 81300018), Public Welfare Technology Application Research Project of Zhejiang Province (2016C33216), and Science and Technology Development Fund of Pudong New Area (PKJ2016-Y49)。**[作者简介]** 李 莎, 硕士生。E-mail: lisha@outlook.com; 朱怡卿, 助教。E-mail: 971899787@qq.com

△共同第一作者(Co-first authors)。

*通信作者(Corresponding author)。Tel: 021-31161319, E-mail: shangyan751200@163.com

(Second Military Medical University) from Oct. 2015 to May 2016, were detected by real-time quantitative PCR (qPCR). We also examined lncRNA-H19 expressions in NSCLC cell lines A549 and NCI-H1299 and normal lung epithelial cell line BEAS-2B by qPCR. The proliferation and migration of A549 cells overexpressing lncRNA-H19 were detected by CCK-8 assay and Transwell assay, respectively. Bioinformatics analysis and dual-luciferase reporter assay were conducted to predict and confirm the interaction between microRNA (miRNA)-760 and lncRNA-H19. Western blotting analysis and RT-qPCR were performed to observe the influence of lncRNA-H19 overexpression on the expression of miRNA-760 and target gene *nanog*. MiRNA-760 was overexpressed in A549 cells, and its role in lncRNA-H19 promoting proliferation and migration of NSCLC cells was observed. **Results** The expressions of lncRNA-H19 in NSCLC tissues and A549 and NCI-H1299 cells were significantly upregulated compared with those in normal tissues and BEAS-2B cells (all $P < 0.01$). Overexpression of lncRNA-H19 significantly improved the proliferation ability ($P < 0.05$) and migration ability ($P < 0.01$) of A549 cells compared with the negative control group. The results of starBase v3.0 showed that lncRNA-H19 could specifically adsorb miRNA-760, and dual-luciferase reporter assay showed that lncRNA-H19 directly bound to miRNA-760. Compared with the negative control group, overexpression of lncRNA-H19 significantly inhibited miRNA-760 expression in A549 cells ($P < 0.05$) and promoted the expression of the downstream gene *nanog* at mRNA and protein levels (all $P < 0.01$). Overexpression of miRNA-760 significantly inhibited lncRNA-H19-induced proliferation and migration of A549 cells (all $P < 0.05$). **Conclusion** lncRNA-H19 can promote the proliferation and migration of NSCLC cells through sponging miRNA-760 to regulate *nanog* gene expression.

[Key words] non-small cell lung carcinoma; long non-coding RNA-H19; microRNA-760; *nanog* gene

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2019, 40(8): 854-859]

肺癌是全球发病率和致死率最高的恶性肿瘤之一。依据世界卫生组织调查数据, 仅在 2016 年全球就新增约 180 万例肺癌患者, 并超过 150 万例患者死亡^[1]。按照临床病理类型分类, 肺癌可分为小细胞肺癌和非小细胞肺癌 (non-small cell lung cancer, NSCLC) 两大类, 其中 NSCLC 是最常见的肺癌分型, 约占肺癌的 85%^[2]。2016 年的报道显示, 虽然外科手术的发展和免疫治疗的出现为肿瘤患者带来了福音, 但肺癌预后仍不尽如人意, 5 年生存率仅约为 11%^[2]。因此, 正确认识肺癌发生、发展过程及分子机制对于肺癌的早期诊断、制定合理的靶向药物治疗方案、提高患者生存率至关重要。

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类转录本长度超过 200 nt、不能编码蛋白质的 RNA 分子^[3]。lncRNA-H19 是一种被广泛研究的印记基因, 具有重要的生物学功能^[4]。He 等^[5]的研究报道, lncRNA-H19 可通过竞争性结合 let-7 调控滋养层细胞的成球黏附, 参与子宫内膜修复。在胚胎造血干细胞发育过程中, lncRNA-H19 可通过抑制 S-腺苷同型半胱氨酸水解酶的活性, 促进内皮细胞向间质细胞分化^[6]。另外, 乳腺癌、肝癌及神经胶质瘤等与 lncRNA-H19 表达异常增加有关^[7-9]。然而, 目前 lncRNA-H19 在 NSCLC 中的表达及其作用鲜见报道。本研究通过检测 lncRNA-H19 在 NSCLC 组织和人 NSCLC 细胞系中的表达, 探讨 lncRNA-H19 在 NSCLC 发生、发展中的作用和机制。

1 材料和方法

1.1 组织样本 收集 2015 年 10 月至 2016 年 5 月海军军医大学 (第二军医大学) 长海医院确诊的 20 例 NSCLC 患者手术切除的 NSCLC 组织及相应的癌旁正常组织 (距离肿瘤组织 ≥ 5 cm), 其中男 15 例、女 5 例, 平均年龄为 (39 ± 7) 岁, 术前均未接受化学治疗。获取组织标本后立即浸入液氮冷冻后保存于 -80 °C。本研究遵循海军军医大学 (第二军医大学) 生物医学研究伦理委员会规定并通过审批, 患者均知情同意。

1.2 细胞培养与转染 人 NSCLC 细胞系 A549、NCI-H1299, 人正常肺上皮细胞系 BEAS-2B 均由中国科学院上海细胞库提供。培养条件: 使用含 10% 胎牛血清及 100 μ g/mL 青霉素、链霉素双抗的 DMEM 高糖培养液, 置于 37 °C、5% CO₂ 的培养箱中培养。按照 Lipo3000 转染试剂说明书进行细胞转染, 转染 48 h 后检测转染效率。

1.3 实验试剂 DMEM 高糖培养液、胰酶、磷酸盐缓冲液 (phosphate buffer saline, PBS) 及胎牛血清均购自美国 Gibco 公司; 引物、lncRNA-H19 过表达质粒、微 RNA (microRNA, miRNA) -760 模拟剂、双荧光质粒均由生工生物工程 (上海) 股份有限公司代为设计并合成; Lipo3000 转染试剂购自美国 ThermoFisher 公司; RNA 抽提、反转录及实时荧光定量 PCR (qPCR) 试剂盒均购自日本 TaKaRa 公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国 Promega 公司; CCK-8 检测试剂盒

购自广州锐博生物技术有限公司; nanog 抗体、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH), 抗体、荧光二抗均购自英国 Abcam 公司。

1.4 RNA 抽提与 qPCR 检测 依据 TRIzol 试剂说明书提取组织和细胞总 RNA, 通过反转录获得 cDNA, 反应体系为 10 μ L: 2 μ L 5 \times 反应混合液、1 μ L RNA, 7 μ L H₂O; 反应条件: 37 $^{\circ}$ C 15 min、85 $^{\circ}$ C 15 s。以 cDNA 为模板进行 qPCR, 反应体系为 20 μ L: 10 μ L SYBR, 1 μ L cDNA, 1 μ L 引物, 8 μ L H₂O; 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 10 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 60 $^{\circ}$ C 15 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 40 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。引物序列: lncRNA-H9 上游 5'-GGC AAG AAG CGG GTC TGT-3', 下游 5'-GTG CAG CAT ATT CAT TTC CAA G-3'; nanog 上游 5'-TTT GTG GGC CTG AAG AAA ACT-3', 下游 5'-AGG GCT GTC CTG AAT AAG CAG-3'; GAPDH 上游 5'-GGA GCG AGA TCC CTC CAA AAT-3', 下游 5'-GGC TGT TGT CAT ACT TCT CAT GG-3'。以 GAPDH 为内参照基因, 采用 2^{- $\Delta\Delta$ Ct} 法计算 RNA 的相对表达量。

1.5 细胞功能学实验

1.5.1 CCK-8 法检测细胞增殖 取对数生长期 A549 细胞, 稀释至细胞密度为 3 \times 10⁴/mL 的细胞悬液, 并以每孔 100 μ L 接种于 96 孔板。待细胞贴壁后, 分别在培养 0、24、48、72、96 h 时加入 10 μ L CCK-8 试剂, 再培养 2 h 后用酶标仪检测 450 nm 处光密度值。

1.5.2 Transwell 法检测细胞迁移 取对数生长期 A549 细胞, 用无血清培养液稀释至细胞密度为 1 \times 10⁵/mL 的细胞悬液, 取 400 μ L 接种于 Transwell 小室内, 小室外添加 400 μ L 完全培养液。连续培养 24 h 后取出小室, 用预热后的 PBS 轻轻润洗, 浸泡于 4% 多聚甲醛溶液中固定 20 min。再次取出小室, 用蒸馏水洗涤后自然晾干, 加入结晶紫染色液染色 30 min。洗去结晶紫染色液后在显微镜下观察。

1.6 双荧光素酶报告基因实验 采用美国 Promega 公司的双荧光素酶报告基因检测系统, 依据实验说明进行操作, 计算萤火虫荧光值与海肾荧光值的比值, 评估报告基因在细胞中的相对活力。

1.7 蛋白质印迹法 用细胞刮收集细胞, 用含有蛋白酶抑制剂的 RIPA 细胞裂解液裂解, 100 $^{\circ}$ C 煮沸 10 min 变性后冰上冷却, 然后保存于 -20 $^{\circ}$ C。配制十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶, 取 20 μ L 蛋白质样本进行电泳。转膜后用快速封闭液封闭 1 h, 加入按 1:1 000 稀释的 nanog 抗体、GAPDH 抗体稀释液室温孵育 2 h, 用吐温磷酸盐缓冲液

(phosphate buffer saline-Tween, PBST) 洗膜 3 次, 再加入二抗稀释液室温孵育 1 h, 用 PBST 洗膜 3 次。用 Odyssey 近红外扫描仪扫描。

1.8 统计学处理 应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验; 呈偏态分布的计量资料以中位数表示, 两组间比较采用非参数秩和检验。检验水准 (α) 为 0.05。

2 结果

2.1 lncRNA-H19 在 NSCLC 组织及细胞中表达增加 qPCR 检测结果显示, lncRNA-H19 在 NSCLC 组织中的表达高于其在癌旁正常组织中的表达, 差异有统计学意义 ($P=0.001 1$, 图 1A); lncRNA-H19 在人 NSCLC 细胞系 A549 和 NCI-H1299 细胞中的表达均高于其在人正常肺上皮细胞系 BEAS-2B 细胞中的表达, 差异均有统计学意义 (P 均 <0.01 , 图 1B)。

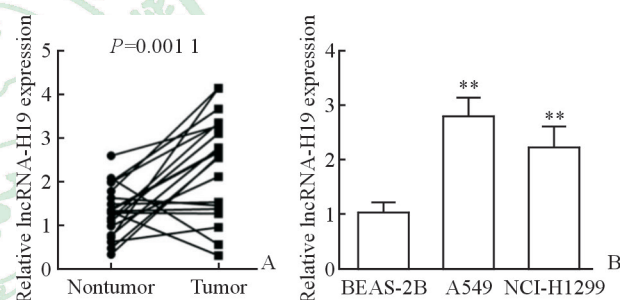


图 1 qPCR 检测 NSCLC 组织和细胞系中 lncRNA-H19 的表达

Fig 1 Expression of lncRNA-H19 in NSCLC tissues and cell lines detected by qPCR

A: Relative expression of lncRNA-H19 in NSCLC tissues and nontumor tissues. $n=20$. B: Relative expression of lncRNA-H19 in human NSCLC cell lines (A549 and NCI-H1299) and human normal lung cell line (BEAS-2B). ** $P<0.01$ vs BEAS-2B. $n=3$, $\bar{x}\pm s$. NSCLC: Non-small cell lung cancer; lncRNA: Long non-coding RNA

2.2 过表达 lncRNA-H19 促进 NSCLC 细胞的增殖与迁移 qPCR 结果 (图 2A) 显示, 在 A549 细胞中过表达 lncRNA-H19 后, 细胞中 lncRNA-H19 表达增加, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P<0.01$), 说明过表达细胞模型构建成功。CCK-8 实验结果 (图 2B) 显示, 过表达 lncRNA-H19 可以提高 A549 细胞的增殖能力, 在细胞培养 72、96 h 时与对照组相比差异均有统计学意义 ($P<0.05$, $P<0.01$)。Transwell 实验结果 (图 2C) 显示, 过表达 lncRNA-H19 可以提高 A549 细胞的迁移能力, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P<0.01$)。

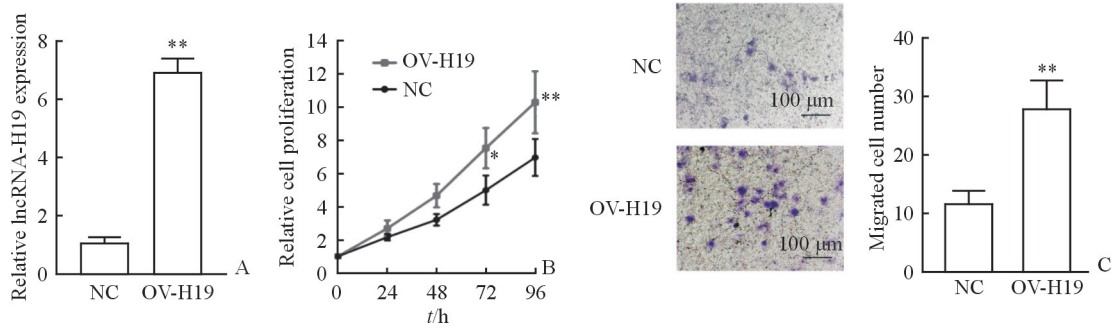


图 2 过表达 lncRNA-H19 促进人 NSCLC 细胞系 A549 的增殖和迁移

Fig 2 Overexpression of lncRNA-H19 improving proliferation and migration of human NSCLC cell line A549

A: Overexpression of lncRNA-H19 was confirmed by qPCR; B: CCK-8 analysis revealed that overexpression of lncRNA-H19 dramatically enhanced the proliferation ability of A549 cells; C: Transwell assay showed that overexpression of lncRNA-H19 dramatically improved the migration ability of A549 cells. lncRNA: Long non-coding RNA; NSCLC: Non-small cell lung cancer; NC: Negative control; OV-H19: Overexpression of lncRNA-H19; CCK-8: Cell counting kit-8. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs NC group. $n = 3, \bar{x} \pm s$

2.3 lncRNA H19 特异性吸附 miRNA-760 并调控其靶基因 *nanog* 的表达 在线数据库 starBase v3.0 (<http://starbase.sysu.edu.cn/>) 预测分析结果 (图 3A) 显示, lncRNA-H19 能特异性吸附 miRNA-760。双荧光素酶报告基因检测结果 (图 3B) 显示, 野生型 lncRNA-H19 与 miRNA-760 同时转染细胞后荧光强度下降 ($P < 0.05$), 表明 lncRNA-H19 与 miRNA-760 之间存在特异性结合。qPCR 检测结果 (图 3C) 显示, 过表达 lncRNA-H19 可抑制 A549 细胞中 miRNA-760 的表达, 与对照组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。qPCR (图 3D) 和蛋白质印迹分析检测结果 (图 3E) 显示, 过表达 lncRNA-H19 促进 A549

细胞中 *nanog* 基因在 mRNA 和蛋白质水平的表达, 差异均有统计学意义 (P 均 < 0.01)。

2.4 过表达 miRNA-760 抑制 lncRNA-H19 对 NSCLC 细胞增殖和迁移的促进作用 CCK-8 实验结果 (图 4A) 显示, 在过表达 lncRNA-H19 的 A549 细胞中转染 miRNA-760 模拟剂后, lncRNA-H19 对 A549 细胞的促增殖作用被抑制, 在细胞培养 72、96 h 时与过表达组相比差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。Transwell 实验结果 (图 4B) 显示, 过表达 miRNA-760 可以抑制 lncRNA-H19 对 A549 细胞迁移的促进作用, 与 lncRNA-H19 过表达组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

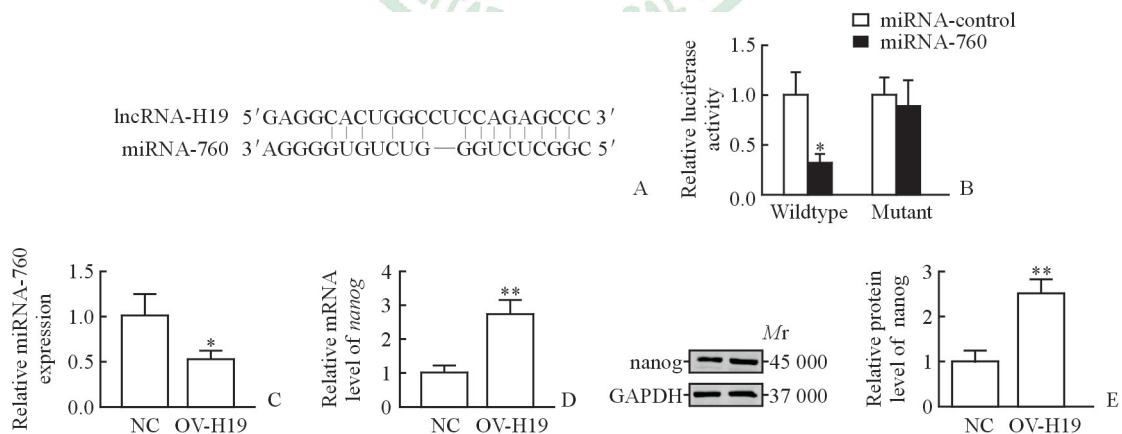


图 3 lncRNA-H19 特异性结合 miRNA-760 并调控 miRNA-760 和 *nanog* 基因的表达

Fig 3 lncRNA-H19 directly bound to miRNA-760 and regulated the expression of miRNA-760 and *nanog* gene

A: The binding sites between lncRNA-H19 and miRNA-760 were predicted by starBase v3.0; B: Dual-luciferase reporter analysis revealed that lncRNA-H19 bound to miRNA-760 specifically; C: qPCR analysis revealed that overexpression of lncRNA-H19 significantly decreased the relative expression of miRNA-760 in human NSCLC cell line A549; D: qPCR analysis revealed that overexpression of lncRNA-H19 significantly decreased the relative mRNA expression of *nanog* in A549 cells; E: Western blotting analysis revealed that overexpression of lncRNA-H19 significantly decreased the relative protein expression of *nanog* in A549 cells. lncRNA: Long non-coding RNA; miRNA: microRNA; NSCLC: Non-small cell lung cancer; NC: Negative control; OV-H19: Overexpression of lncRNA-H19; GAPDH: Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs miRNA-control in Fig 3B, vs NC in Fig 3C-3E. $n = 3, \bar{x} \pm s$

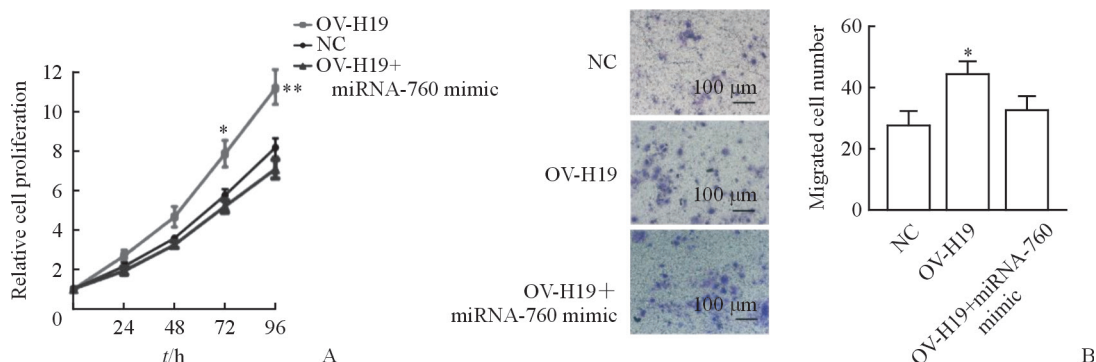


图4 MiRNA-760模拟剂处理抑制lncRNA-H19对人NSCLC细胞系A549细胞增殖和迁移的促进作用

Fig 4 MiRNA-760 mimic reserved lncRNA-H19-induced proliferation and migration of human NSCLC cell line A549

A: Treatment of miRNA-760 mimic dampened the proliferation ability of A549 cells that was enhanced by overexpression of lncRNA-H19; B: Treatment of miRNA-760 mimic dampened the migration ability of A549 cells that was enhanced by overexpression of lncRNA-H19. miRNA: microRNA; lncRNA: Long non-coding RNA; NSCLC: Non-small cell lung cancer; NC: Negative control; OV-H19: Overexpression of lncRNA-H19. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs OV-H19+miRNA-760 mimic. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$

3 讨论

本研究利用 qPCR 法检测了 20 对 NSCLC 组织和相应癌旁正常组织中 lncRNA-H19 的表达情况,发现 lncRNA-H19 在癌组织中的表达水平高于癌旁正常组织;同时,相较人正常肺上皮细胞,人 NSCLC 细胞系中 lncRNA-H19 的表达也增加。结果提示 lncRNA-H19 与 NSCLC 的发生、发展密切相关。为了进一步明确 lncRNA-H19 在 NSCLC 发生、发展过程中的作用,本实验构建了 lncRNA-H19 过表达的人 NSCLC 细胞系,并通过 CCK-8 法和 Transwell 实验评估 lncRNA-H19 对 NSCLC 细胞增殖和迁移的影响,结果显示, lncRNA-H19 过表达可以提高人 NSCLC 细胞的增殖和迁移能力,表明 lncRNA-H19 对促进 NSCLC 的发生、发展有重要作用。

竞争性内源 RNA (competing endogenous RNA, ceRNA) 假说认为,非编码 RNA 可以通过竞争性结合内源性 miRNA,阻断 miRNA 与其下游靶分子间的相互作用,间接调控 mRNA 的降解,发挥生物学作用^[10]。Wang 等^[11]研究发现, LINC00336 通过特异性吸附 miRNA-6852 参与胱硫醚 β 合成酶的调控,从而促进肺癌的发生、发展。相似的,也有报道称 lncRNA-PVT1 通过竞争性结合 miRNA-365 参与肝癌的形成^[12]。因此,我们推测 lncRNA-H19 在 NSCLC 中的促癌作用可能也依赖于 ceRNA 机制。为了深入探讨 lncRNA-H19 在 NSCLC 发生、发展中的作用机

制,我们利用生物信息学分析预测 lncRNA-H19 可能吸附的 miRNA。结果显示, lncRNA-H19 与抑癌基因 miRNA-760^[13]之间存在结合位点。双荧光素酶报告基因实验证实, lncRNA-H19 确实可以特异性地吸附 miRNA-760。进一步 qPCR 检测和蛋白质印迹实验表明, lncRNA-H19 过表达可以降低 miRNA-760 的表达水平,同时促进 miRNA-760 下游靶基因 *nanog* 的表达。为了证实 lncRNA-H19 在 NSCLC 中的促癌作用依赖于其特异性吸附 miRNA-760,我们用 miRNA-760 模拟剂处理过表达 lncRNA-H19 的 A549 细胞后,采用 CCK-8 实验和 Transwell 实验分别检测细胞的增殖和迁移能力,结果显示, miRNA-760 模拟剂可以抑制 lncRNA-H19 的促增殖作用和促迁移作用。以上实验结果均表明, lncRNA-H19 可通过特异性地吸附 miRNA-760 调控原癌基因 *nanog* 的表达,从而促进 NSCLC 的发生和发展。

综上所述, lncRNA-H19 在 NSCLC 的发生、发展中发挥着重要作用,其可通过特异性吸附 miRNA-760 调控 *nanog* 基因的表达促进 NSCLC 细胞的增殖和迁移,本研究结论为 NSCLC 的治疗提供了新的干预靶点。近年来许多研究表明,在肿瘤组织中特异性表达的 lncRNA 是一种潜在肿瘤标志物,如 NSCLC 患者血浆中 lncRNA-UCA1 的表达较正常人增加^[14],而 lncRNA-H19 在 NSCLC 患者血浆中的表达水平及其临床意义仍待进一步探究。同时,虽然本研究在细胞水平证实了 lncRNA-H19 在 NSCLC 细胞增殖和迁移中的作用,但干扰

lncRNA-H19 是否可以作为 NSCLC 的治疗策略仍需通过动物实验进一步明确。

[参考文献]

- [1] GARRISON G W. Lung cancer screening[J]. *Cancer Cytopathol*, 2016, 124: 533-534.
- [2] MINARI R, BORDI P, TISEO M. Third-generation epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitors in T790M-positive non-small cell lung cancer: review on emerged mechanisms of resistance[J]. *Transl Lung Cancer Res*, 2016, 5: 695-708.
- [3] DHANOA J K, SETHI R S, VERMA R, ARORA J S, MUKHOPADHYAY C S. Long non-coding RNA: its evolutionary relics and biological implications in mammals: a review[J/OL]. *J Anim Sci Technol*, 2018, 60: 25. doi: 10.1186/s40781-018-0183-7.
- [4] CHU M, YUAN W, WU S, WANG Z, MAO L, TIAN T, et al. Quantitative assessment of polymorphisms in H19 lncRNA and cancer risk: a meta-analysis of 13,392 cases and 18,893 controls[J]. *Oncotarget*, 2016, 7: 78631-78639.
- [5] HE D, ZENG H, CHEN J, XIAO L, ZHAO Y, LIU N. H19 regulates trophoblastic spheroid adhesion by competitively binding to let-7[J/OL]. *Reproduction*, 2019 Feb 1. pii: REP-18-0339.R2. doi: 10.1530/REP-18-0339.
- [6] ZHOU J, XU J, ZHANG L, LIU S, MA Y, WEN X, et al. Combined single-cell profiling of lncRNAs and functional screening reveals that H19 is pivotal for embryonic hematopoietic stem cell development[J/OL]. *Cell Stem Cell*, 2019, 24: 285-298.e5. doi: 10.1016/j.stem.2018.11.023.
- [7] GAO H, HAO G, SUN Y, LI L, WANG Y. Long noncoding RNA H19 mediated the chemosensitivity of breast cancer cells via Wnt pathway and EMT process[J]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 8001-8012.
- [8] WEI L Q, LI L, LU C, LIU J, CHEN Y, WU H. Involvement of H19/miR-326 axis in hepatocellular carcinoma development through modulating TWIST1[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234: 5153-5162.
- [9] HU Q, YIN J, ZENG A, JIN X, ZHANG Z, YAN W, et al. H19 functions as a competing endogenous RNA to regulate EMT by sponging miR-130a-3p in glioma[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 50: 233-245.
- [10] ZHANG J, LIU L, LI J, LE T D. LncmiRSRN: identification and analysis of long non-coding RNA related miRNA sponge regulatory network in human cancer[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34: 4232-4240.
- [11] WANG M, MAO C, OUYANG L, LIU Y, LAI W, LIU N, et al. Long noncoding RNA LINC00336 inhibits ferroptosis in lung cancer by functioning as a competing endogenous RNA[J/OL]. *Cell Death Differ*, 2019 Feb 20. doi: 10.1038/s41418-019-0304-y.
- [12] YANG L, PENG X, JIN H, LIU J. Long non-coding RNA PVT1 promotes autophagy as ceRNA to target ATG3 by sponging microRNA-365 in hepatocellular carcinoma[J]. *Gene*, 2019, 697: 94-102.
- [13] HAN M L, WANG F, GU Y T, PEI X H, GE X, GUO G C, et al. MicroR-760 suppresses cancer stem cell subpopulation and breast cancer cell proliferation and metastasis: by down-regulating NANOG[J]. *Biomed Pharmacother*, 2016, 80: 304-310.
- [14] WANG H M, LU J H, CHEN W Y, GU A Q. 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: 11824-11830.

[本文编辑] 杨亚红