长链非编码RNA BX357664对肾透明细胞癌细胞上皮间质转化过程的影响

刘伊扬,钱 健,徐爱民,苏仕峰,秦 超,王增军*

南京医科大学第一附属医院泌尿外科,江苏 南京 210029

[摘 要] **目的**:探讨长链非编码RNA(long noncoding RNA,lncRNA)BX357664在肾癌组织中的表达并研究其对Caki-1和Caki-2细胞上皮间质转化过程的影响。**方法**:以前期芯片检测结果经标准化分析确认在肾癌组织中表达明显低于癌旁正常组织的lncRNA BX357664为目标,采用逆转录-聚合酶链反应(qRT-PCR)检测其在24对肾癌组织和Caki-1以及Caki-2细胞中的表达情况;lncRNA BX357664慢病毒载体感染Caki-1和Caki-2细胞后,Transwell迁移和侵袭实验分别检测细胞迁移和侵袭能力的改变;Western blot检测Caki-1和Caki-2细胞处理组和对照组中上皮间质转化相关蛋白的表达情况。**结果**:lncRNA BX357664在24对肾癌组织和Caki-1、Caki-2细胞中表达水平降低($P<0.05$);lncRNA BX357664慢病毒过表达载体感染Caki-1和Caki-2细胞后能够显著抑制细胞迁移($P<0.01$)和侵袭能力($P<0.01$),显著改变上皮间质转化相关蛋白的表达,抑制上皮间质转化的进程($P<0.05$)。**结论**:lncRNA BX357664在肾癌中显著低表达,在Caki-1和Caki-2细胞中上调lncRNA BX357664能够通过抑制上皮间质转化过程,从而抑制肿瘤细胞的转移和侵袭。

[关键词] 长链非编码RNA;上皮间质转化;肾癌

[中图分类号] R737.11 [文献标志码] A [文章编号] 1007-4368(2018)01-0025-06

doi:10.7655/NYDXBNS20180106

LncRNA BX357664 inhibits epithelial-to-mesenchymal transition in renal cell carcinoma cells

Liu Yiyang, Qian Jian, Xu Aiming, Su Shifeng, Qin Chao, Wang Zengjun*

Department of Urology, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China

[**Abstract**] **Objective**: To investigate the expression of lncRNA BX357664 in human renal cell carcinoma (RCC) and its function in epithelial-to-mesenchymal transition(EMT) in Caki-1 and Caki-2 RCC cells. **Methods**: Downregulated LncRNA BX357664 was confirmed in RCC tumor tissues by previous lncRNA microarray. Real-time PCR was performed to analyze the expression of lncRNA BX357664 in 24 pairs of human RCC samples, Caki-1 and Caki-2 cells, respectively. Transwell migration and invasion assays were performed to detect the ability of migration and invasion in transfected Caki-1 and Caki-2 cells, respectively. Western blotting assay was carried out to identify the relative proteins in EMT process which affected RCC metastasis by lncRNA BX357664. **Results**: LncRNA BX357664 was downregulated in 24 pairs of RCC samples, Caki-1 and Caki-2 RCC cells, respectively(both $P<0.05$). Overexpression of lncRNA BX357664 suppressed migration ($P<0.01$) and invasion ($P<0.01$) by inhibiting EMT in Caki-1 and Caki-2 cells. The expressions of EMT related proteins were significantly changed, and the process of EMT was inhibited($P<0.05$). **Conclusion**: LncRNA BX357664 was downregulated in RCC and could inhibit the ability of migration and invasion in Caki-1 and Caki-2 cells by blocking EMT.

[**Key words**] lncRNA; epithelial-to-mesenchymal transition; renal cell carcinoma

[Acta Univ Med Nanjing,2018,38(01):0025-0030]

肾细胞癌(简称肾癌),是成人肾脏最常见的恶性肿瘤,约占成人肾脏疾病的90%,占成人恶性肿瘤的3%[1-2]。全世界每年约有20万新病例被诊断为肾癌,大约10万死亡病例来源于肾癌[3]。肾癌主要分为3种病理类型:肾透明细胞癌、乳头状肾细胞癌和肾嫌色细胞癌。其中,透明细胞癌最常见,约占肾癌的70%[4-5]。肾癌对化疗和放疗均不敏感,手

[基金项目] 国家自然科学基金(81372757)

*通信作者(Corresponding author),E-mail:zengjunwang@njmu.edu.cn

术治疗是其唯一有效的手段，然而仍有20%~40%的患者在术后发生复发和远处转移[6]。所以，寻找可用于肾癌早期诊断和分子靶向治疗的特异性分子标记物显得尤为重要。

长链非编码RNA（long noncoding RNA，lncRNA）是一类长度大于200个核苷酸单位，且不具有编码蛋白质能力的RNA[7]。随着对其研究和认识不断加深，lncRNA被发现在多种水平参与基因的调控，例如转录水平、转录后水平、表观调控[8]。近年来，多项研究发现，lncRNA在多种肿瘤中表达失衡并表现出一定的组织特异性，已经被发现在前列腺癌、膀胱癌、肝细胞癌、乳腺癌等多种肿瘤组织中异常表达，并且与其功能学表现密切相关。然而，lncRNA在肾癌中的调控作用文献报道甚少，因此探究其在肾癌中的影响和作用机制具有重要意义。

我们前期利用Arraystar lncRNA芯片筛查了肾癌中lncRNA的表达谱，筛选出肾癌组织中低表达的lncRNA BX357664[9]，本研究通过对肾癌患者临床样本的组织学验证，着重探索其对肾癌细胞Caki-1和Caki-2的迁移侵袭能力以及上皮间质转化相关蛋白表达的影响，从而为肾癌的诊断和治疗寻找潜在的分子标记物。

1 材料与方法

1.1 材料

人肾透明细胞癌皮肤转移瘤细胞Caki-1、人肾小管上皮细胞HK-2均购自中科院上海细胞库，人肾透明细胞癌细胞Caki-2购自国家实验细胞资源共享平台。24对肾癌组织及癌旁无瘤组织均取自本院肾癌患者手术切除标本，男14例，女10例，年龄30~80岁，中位年龄60岁。其中，T_1期19例，T_2期2例，T_3期3例，病理类型均为肾透明细胞癌。标本放于液氮中保存备用，术前充分告知患者并签订知情同意书，经南京医科大学第一附属医院伦理委员会批准。McCoys’5A培养基、DMEM高糖型培养基、胎牛血清（FBS）、青链霉素、TrypLE Ex-press（Gibco公司，美国）；TRIzol（Invitrogen公司，美国）；SYBR Select Master Mix、High capacity RNA-to-cDNA kit（ABI公司，美国）；全蛋白提取盒（南京凯基）；lncRNA BX357664慢病毒、NC慢病毒对照（上海吉凯）；一抗GAPDH（Bioworld Technology，美国）；E-cadherin、N-cadherin、Vimentin（Cell Signaling Technology，美国）；山羊抗兔二抗（北京中山金桥）；PVDF膜、Tranwell小室（Mi1lipore公司，美国）；Matrigel（BD Bioscience公司，美国）。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

Caki-1和Caki-2细胞用McCoys’5A培养基、HK-2和HEK-293T细胞用DMEM高糖型培养基，培养基混合10%FBS及1%双抗配成完全培养基，置于37 ℃、5%CO_2的恒温培养箱培养，TrypLE Express消化细胞传代，取对数生长期细胞进行试验，所用细胞均不超过第20代。

1.2.2 细胞转染

构建过表达lncRNA BX357664的慢病毒载体，并感染Caki-1和Caki-2细胞构建过表达细胞系。取处于对数生长期的目的细胞进行胰酶消化，制成细胞悬液；5×10^4个/孔接种于6孔板中，37 ℃ 5% CO_2培养箱培养待细胞融合度达到约30%；根据细胞MOI值（20），加入适量病毒；感染后16 h更换培养基；感染3 d后观察慢病毒上报告基因GFP的表达情况，将细胞分成2份，1份继续培养，1用于RNA提取检测转染效率。

1.2.3 总RNA提取及qRT-PCR检测

称取100 mg肾癌组织（T）或癌旁正常组织（N）加入1 mL TRIzol，或者6孔板细胞转染24 h后加入500 μL TRIzol，按照TRIzol Reagent说明书提取总RNA，将所得的RNA溶解于RNase Free H_2O。Nano Drop检测RNA浓度及纯度，按照High capacity RNA-to-cDNA kit说明书步骤进行逆转录，所得产物按照SYBR Select Master Mix说明书进行实时荧光定量检测，引物设计如下：BX357664上游5′-GGCGTGGTTTTGATGGAGTG-3′，下游5′-AGGCTGCAGAGTTGAGATCG-3′；β-actin上游5’-ACTGGAACGGTGAAGGTGAC-3′，下游5′-AGAGAAGTGGGGTGGCTTTT-3′，反应体系为10 μL，SYBR Select Master Mix 5 μL，DEPC水3 μL，上下游引物各0.5 μL，逆转录产物cDNA 250 ng/μL，1 μL。反应条件：Holding Stage：50 ℃ 2 min，95 ℃ 2 min；Cycling Stage：95 ℃ 15 s，60 ℃ 1 min，进行40个循环；Melt Curve Stage：95 ℃ 15 s，60 ℃ 1 min，95 ℃ 15 s。实验及数据存储均由StepOne Plus™ Real-Time PCR System完成，反应结束后确认扩增曲线及熔解曲线，BX357664相对表达量以β-actin作为内参照，$\Delta Ct=Ct_{lncRNA\ BX357664}-Ct_{\beta\text{-}actin}$，$\Delta\Delta Ct=\Delta Ct_T-\Delta Ct_N$，用$2^{-\Delta\Delta Ct}$方法计算相对表达量，每个样本设计3个复孔，实验重复3次。

1.2.4 Transwell小室细胞检测细胞迁移和侵袭能力

取对数生长期细胞常规消化离心，PBS清洗1

遍，以无血清培养基重悬计数，将细胞密度调整至1×10^5个/mL，于小室的上室加入200 μL细胞悬液；对于检测细胞侵袭能力，将细胞密度调整至2.5×10^5个/mL，于小室的上室（提前6 h铺Matrigel基质胶，按基质胶∶无血清培养基=1∶8于上室铺25 μL）加入200 μL细胞悬液，小室下室加入含20%FBS的培养基500 μL，常规温箱培养24 h，取出小室，PBS浸洗，棉签擦去上室中的细胞，4%多聚甲醛固定15 min，4 g/L结晶紫染液染色15 min，随机取5个视野计数细胞，取平均值，每组实验重复3次。

1.2.5 总蛋白提取及Western blot检测

收集慢病毒转染的细胞按照全蛋白提取试剂盒说明书提取总蛋白，用二喹啉甲酸（BCA）法检测蛋白浓度，加入上样缓冲液煮沸5 min，于蛋白泳道中加入蛋白60 μg，12%聚丙烯酰胺凝胶电泳（SDS-PAGE），浓缩胶80 V，分离胶120 V，以湿转法将蛋白转移至PVDF膜，用5%脱脂奶粉室温封闭2 h，加入相应一抗4℃摇床过夜，次日TBST洗膜3次，每次15 min，将膜置于山羊抗兔IgG抗体，室温反应2 h，TBST洗膜3次，每次15 min，加入ECL显色液，置于Image lab中曝光，用Image lab软件检测分析。

1.3 统计学方法

数据以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，两组间比较采用t检验，$P\leqslant0.05$为差异有统计学意义。所有统计学结果分析都采用SPSS13.0软件。

2 结 果

2.1 lncRNA BX357664在肾癌组织及肾癌细胞系中低表达

RT-PCR方法检测了24对肾癌组织及其对应癌旁无瘤组织发现lncRNA BX357664在肾癌组织中表达明显降低（$P<0.01$，图1A）。此外，我们在肾透明细胞癌皮肤转移细胞系Caki-1、肾透明细胞癌细胞系Caki-2以及正常肾小管上皮细胞系HK-2中进行验证，发现在Caki-1和Caki-2细胞系中lncRNA BX357664表达量明显降低（$P<0.01$，图1B）。

2.2 过表达lncRNA BX357664的慢病毒载体转染Caki-1和Caki-2细胞明显上调细胞中lncRNABX357664的表达

Caki-1和Caki-2细胞分别感染lncRNA BX3576664慢病毒载体和NC阴性对照慢病毒载体，分别命名为过表达组和阴性对照组，qRT-PCR结果显示过表达组细胞中lncRNA BX357664的相对表达量比阴性对照组明显增高（$P<0.001$，图2）。

2.3 过表达lncRNA BX357664可以抑制Caki-1和Caki-2细胞的迁移能力

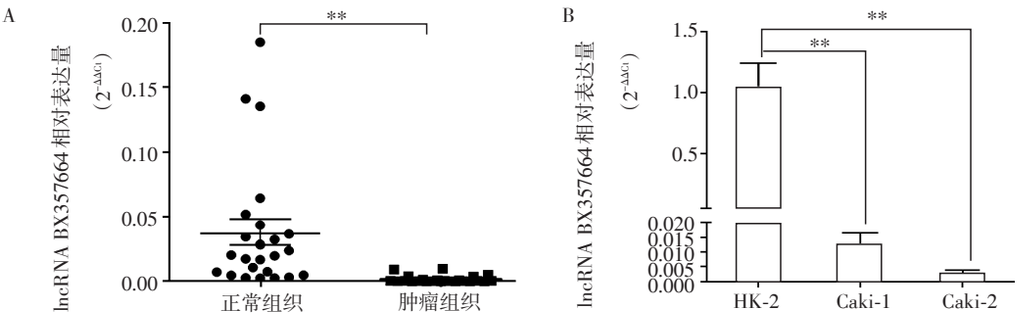
Transwell迁移实验显示，在细胞铺入小室24 h之后固定染色，阴性对照组穿过室内膜的细胞数明显多于过表达组细胞[Caki-1：(168.70 ± 16.80)个*vs.*(77.33 ± 10.79)个；Caki-2：(152.00 ± 5.20)个*vs.*(67.67 ± 3.28)个]。说明lncRNA BX357664可以抑制Caki-1和Caki-2细胞的迁移能力（$P<0.01$，图3A）。

2.4 过表达lncRNA BX357664可以抑制Caki-1和Caki-2细胞的侵袭能力

Transwell侵袭实验显示，在细胞铺入含有基质胶的小室内48 h之后固定染色，阴性对照组穿过室内膜的细胞数明显多于过表达组细胞[Caki-1：(139.30 ± 9.45)个*vs.*(64.00 ± 5.29)个；Caki-2：(137.00 ± 8.33)个*vs.*(63.33 ± 5.21)个]。说明lncRNA BX357664可以显著抑制Caki-1和Caki-2细胞的侵袭能力（$P<0.01$，图3B）。

2.5 过表达lncRNA BX357664可以抑制Caki-1和Caki-2细胞上皮间质转化（EMT）的发生

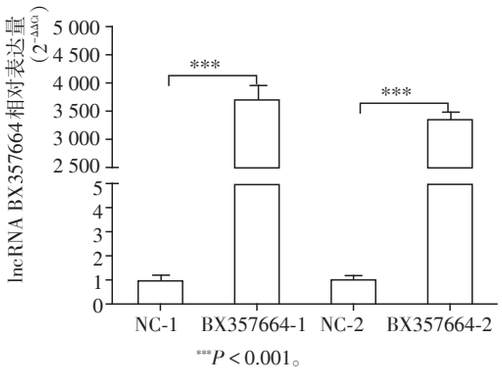
Western blot法检测EMT相关蛋白的表达水平，以GAPDH蛋白作为内参照计算各组EMT相关蛋白



A：24对肾癌组织中lncRNA BX357664的相对表达量，与癌旁正常组织相比，lncRNA BX357664在肾癌组织中表达明显下降（$^{**}P<0.01$）；B：与正常肾小管上皮细胞HK-2相比，lncRNA BX357664在Caki-1和Caki-2细胞中呈明显低表达，$^{**}P<0.01$。

图1 lncRNA BX357664在肾癌组织及肾癌细胞中的表达情况

Figure 1 The expression pattern of lncRNA BX357664 in tissues and cell lines of renal cell carcinoma



***$P < 0.001$。

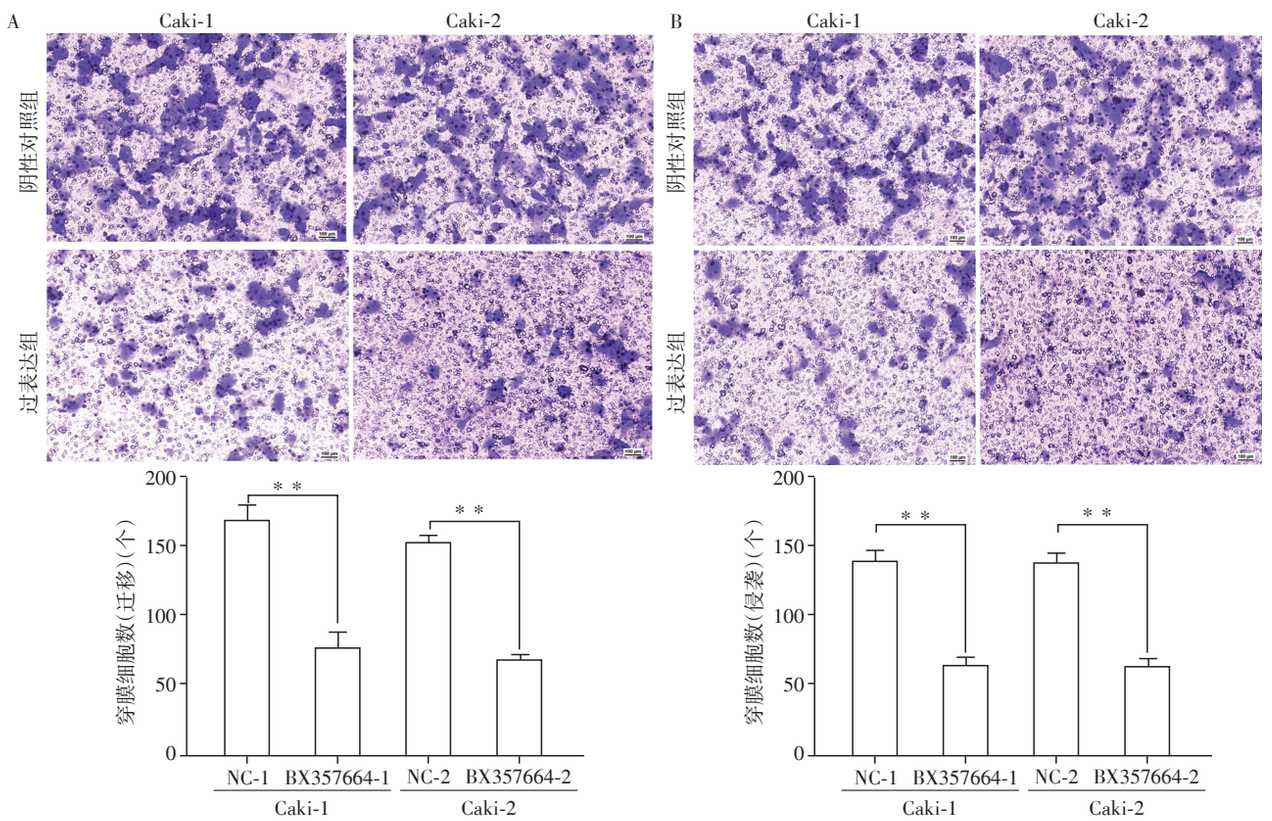
图2 慢病毒感染后Caki-1和Caki-2细胞系lncRNA BX357664的相对表达量

Figure 2 The expression of lncRNA - BX357664 in the BX357664 group and the negtive control group in Caki-1 and Caki-2 cell lines after lentiveiral transfection

相对表达量。在Caki-1和Caki-2细胞中，过表达组与阴性对照组相比，E-cadherin表达水平均明显上升（Caki-1：3.53 ± 0.26 *vs.* 1.03 ± 0.20；Caki-2：2.84 ± 0.07 *vs.* 1.02 ± 0.23，$P < 0.01$），N-cadherin表达水平均明显降低（Caki-1：0.36 ± 0.05 *vs.* 1.02 ± 0.15；Caki-2：0.36 ± 0.06 *vs.* 1.07 ± 0.21，$P < 0.05$），Vimentin表达水平均明显降低（Caki-1：0.63 ± 0.08 *vs.* 1.00 ± 0.03，Caki-2：0.37 ± 0.11 *vs.* 1.02 ± 0.13，$P < 0.05$）。说明lncRNA BX357664可以使得肾癌细胞中上皮表型蛋白表达增多，间质表现蛋白减少，从而抑制EMT过程的发生（图4）。

3 讨 论

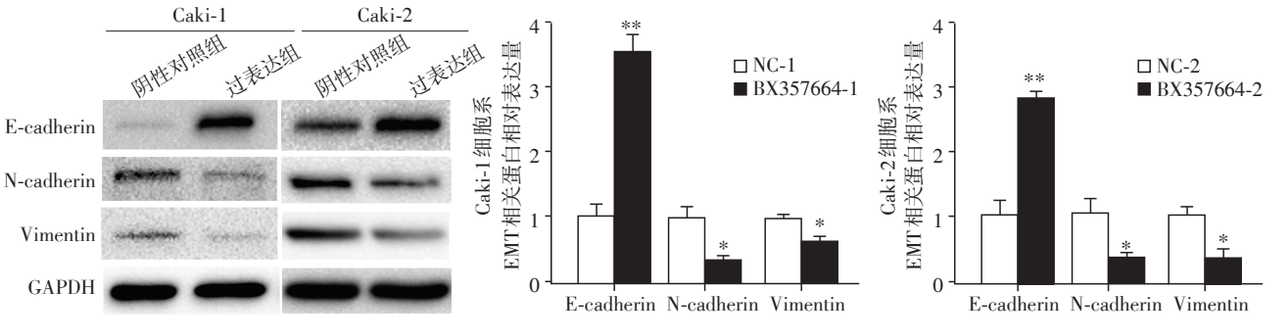
近年来，lncRNA在肿瘤中的调控作用不断被人们所发现和研究。随着lncRNA芯片技术的广泛应用，泌尿系肿瘤中差异性表达的lncRNA不断被文献报道。根据目前文献报道的lncRNA与泌尿系统肿瘤的关系，我们初步将其分为3种：促癌基因、抑癌基因和促/抑癌基因。在促癌性lncRNA中，PCAT1可以作为重要的转录调控元件与PRC2结合，抑制其他抑癌基因，从而促进前列腺癌细胞的增殖[10]；PlncRNA可以通过抑制雄激素受体（AR）及其通路下游的靶点对前列腺癌细胞的增殖和迁移能力进行抑制[11]；MALAT1可以促进膀胱癌细胞的增



A：在Transwell小室迁移实验中，BX357664-1组细胞的穿膜数目明显低于NC-1组，BX357664-2组细胞的穿膜数目明显低于NC-2组，**$P < 0.01$；B：在Transwell小室侵袭实验中，BX357664-1组细胞的穿膜数目明显低于NC-1组，BX3576664-2组细胞的穿膜数目明显低于NC-2组，**$P < 0.01$。以上结果说明BX357664明显抑制了Caki-1和Caki-2细胞的迁移和侵袭能力。

图3 细胞迁移和侵袭实验

Figure 3 Cell migration and invasion assays



Western blot实验检测EMT相关蛋白表达情况，在Caki-1中，BX357664-1组的E-cadherin表达水平明显高于NC-1组，$^{**}P < 0.01$，N-cadherin和Vimentin表达水平明显低于NC-1组，$^{*}P < 0.05$；在Caki-2中，E-cadherin个达水平明显高于NC-2组，$^{**}P < 0.01$，N-cadherin和Vimentin表达水平明显低于NC-2组，$^{*}P < 0.05$。说明BX357664能够显著抑制Caki-1和Caki-2细胞的EMT过程。

图4　Western blot实验检测lncRNA-BX357664对EMT相关蛋白表达水平的影响

Figure 4　The protein level of EMT-related markers in NC group and BX357664 group by Western blot assay

殖和迁移侵袭能力，抑制凋亡，从而促进膀胱尿路上皮肿瘤的进展[12]。在抑癌性lncRNA中，GAS5能够抑制肾癌细胞的增殖，诱导凋亡，并且抑制细胞的迁移和侵袭能力[13]；MEG3可以抑制自噬性溶酶体的活化，进而抑制膀胱癌细胞的增殖[14]。对于促/抑癌基因，多篇文献报道其在不同肿瘤中，呈现出完全相反的调控作用，例如H19 lncRNA，它在膀胱肿瘤中呈高表达，可以通过激活Wnt/β-catenin通路，抑制E-cadherin的表达，从而促进膀胱癌的转移[15]；同时，H19 lncRNA又可以作为抑癌基因microRNA-675的前体，在前列腺癌细胞系中通过抑制TGF-β1抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭能力[16]；H19在肾母细胞瘤中呈低表达也有文献报道[17]。

先前我们选取了5例肾癌患者的正常组织和肿瘤组织，将其送检进行基因微阵列芯片分析，详细结果分析见我们之前发表的文章[9]。从该芯片结果中，我们筛选出在肿瘤组织中低表达的lncRNA CR613822基因进行研究，但是NCBI nucleotide数据库中显示CR613822数据记录已被上传者删除，更新后的数据参考BX357664基因。我们通过在线蛋白编码潜能预测工具CPAT(http://lilab.research.bcm.edu/cpat/index.php)分析该基因，结果显示其不具备蛋白编码能力，同时该基因长度为650 nt，所以根据长链非编码RNA的定义，我们认为BX357664是一个lncRNA。

我们首先针对芯片数据中lncRNA BX357664的分析结果，通过RT-PCR方法检测了24对肾癌患者组织样本中该基因的表达情况，发现结果与芯片信息一致。同时，与正常肾小管上皮细胞系HK-2相比，lncRNA BX357664在肾癌细胞系Caki-1和Caki-2中的表达也明显下调。这也验证了我们的猜想，lncRNA BX357664可能作为一个新发现的低表达基因，在肾癌的调控中发挥着一定的作用。

目前在肾癌研究中已报道的抑癌性lncRNA很少，GAS5作为肾癌中的一个抑癌性lncRNA，它能够诱导肾癌细胞系A498凋亡，并将其抑制在细胞周期的G1期，从而抑制其增殖能力，同时，GAS5还可以抑制A498细胞系的侵袭和迁移能力。这些结果为抑癌性lncRNA对肾癌的影响提供了重要依据[13]。所以我们设想，在肾癌细胞系中上调lncRNA BX357664的表达是否对肾癌的发生进展能产生调控作用。

我们通过慢病毒感染技术，成功构建了过表达lncRNA BX357664的Caki-1、Caki-2细胞系和NC对照组Caki-1、Caki-2细胞系，对两组细胞进行Transwell迁移实验和侵袭实验，发现过表达组细胞的穿膜数量明显减少，迁移和侵袭能力明显减低，说明lncRNA BX357664可能对Caki-1和Caki-2细胞的迁移和侵袭能力产生抑制效应。肿瘤细胞迁移和侵袭能力与EMT密切相关[18-20]。发生EMT的细胞易突破基底膜，进入淋巴或血管发生远处转移，使得原位癌发展成转移性癌[19]。同时，EMT在肿瘤中的异常诱发使得肿瘤细胞后天获得很多能力，例如抗凋亡，致癌基因诱导的衰老、细胞致死等[20]。因此，我们利用Western blot技术检测了EMT相关标志性蛋白的表达，其中包括上皮细胞标志物E-cadherin和间质细胞标志物N-cadherin、Vimentin。在过表达lncRNA BX357664的Caki-1和Caki-2细胞中，其E-cadherin相对于NC组表达水平明显上调，而N-cadherin和Vimentin表达水平则显著下调，说明lncRNA BX357664在一定水平上，可以使间质标记性分子减少，上皮标记性分子增多，从而抑制或逆转EMT过程，一定程度地抑制Caki-1和Caki-2细胞的

迁移和侵袭能力。这一结果与Transwell迁移侵袭实验相符,说明lncRNA BX357664可能通过某种分子调控机制抑制EMT的发生,从肿瘤细胞的迁移侵袭方面对肾癌的发生发展起到一定抑制作用。

综上所述,研究显示lncRNA BX357664在肾癌患者组织中和肾癌细胞系低表达。同时,该lncRNA有可能通过某个调控点阻断了肾癌进展过程中EMT的发生,导致肾癌细胞的迁移和侵袭能力降低,影响肾癌的进展和转移。我们认为,lncRNA BX357664在肾癌中可能作为一个抑癌基因,影响着肿瘤细胞的迁移侵袭等生物学行为,为肾癌的发生机制和治疗提供依据和潜在的分子靶点。目前,lncRNA BX357664调控肾癌的具体机制仍然不明,所有实验均于体外完成,具有局限性,仍需不断深入研究以及进行体内实验对我们的猜想进一步地确证。

[参考文献]

[1] Ljungberg B, Campbell SC, Cho HY, et al. The epidemiology of renal cell carcinoma [J]. Eur Urol, 2011, 60(4): 615-621

[2] Ljungberg B, Cowan NC, Hanbury DC, et al. EAU guidelines on renal cell carcinoma: the 2010 update[J]. Eur Urol, 2010, 58(3): 398-406

[3] Gupta K, Miller JD, Li JZ, et al. Epidemiologic and socioeconomic burden of metastatic renal cell carcinoma(mRCC): a literature review[J]. Cancer Treat Rev, 2008, 34(3): 193-205

[4] Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R, et al. 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults[J]. Eur Urol, 2006, 49(5): 798-805

[5] Lopez-Beltran A, Carrasco JC, Cheng L, et al. 2009 update on the classification of renal epithelial tumors in adults [J]. Int J Urol, 2009, 16(5): 432-443

[6] Janzen NK, Kim HL, Figlin RA, et al. Surveillance after radical or partial nephrectomy for localized renal cell carcinoma and management of recurrent disease [J]. Urol Clin North Am, 2003, 30(4): 843-852

[7] Kapranov P, Cheng J, Dike S, et al. RNA maps reveal new RNA classes and a possible function for pervasive transcription[J]. Science, 2007, 316(5830): 1484-1488

[8] Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs[J]. Cell, 2009, 136(4): 629-641

[9] Qin C, Han Z, Qian J, et al. Expression pattern of long noncoding RNAs in renal cell carcinoma revealed by microarray[J]. PLoS One, 2014, 9(6): e99372

[10] Prensner JR, Iyer MK, Balbin OA, et al. Transcriptome sequencing across a prostate cancer cohort identifies PCAT-1, an unannotated lincRNA implicated in disease progression[J]. Nat Biotechnol, 2011, 29(8): 742-749

[11] Cui Z, Ren S, Lu J, et al. The prostate cancer-up-regulated long noncoding RNA PlncRNA-1 modulates apoptosis and proliferation through reciprocal regulation of androgen receptor[J]. Urol Oncol, 2013, 31(7): 1117-1123

[12] Han Y, Liu Y, Nie L, et al. Inducing cell proliferation inhibition, apoptosis, and motility reduction by silencing long noncoding ribonucleic acid metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 in urothelial carcinoma of the bladder[J]. Urology, 2013, 81(1): 209.e1-209.e7

[13] Qiao HP, Gao WS, Huo JX, et al. Long non-coding RNA GAS5 functions as a tumor suppressor in renal cell carcinoma[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2013, 14(2): 1077-1082

[14] Ying L, Huang Y, Chen H, et al. Downregulated MEG3 activates autophagy and increases cell proliferation in bladder cancer[J]. Mol Biosyst, 2013, 9(3): 407-411

[15] Luo M, Li Z, Wang W, et al. Long non-coding RNA H19 increases bladder cancer metastasis by associating with EZH2 and inhibiting E-cadherin expression[J]. Cancer Lett, 2013, 333(2): 213-221

[16] Zhu M, Chen Q, Liu X, et al. lncRNA H19/miR-675 axis represses prostate cancer metastasis by targeting TGFBI [J]. FEBS J, 2014, 281(16): 3766-3775

[17] Taniguchi T, Sullivan MJ, Ogawa O, et al. Epigenetic changes encompassing the IGF2/H19 locus associated with relaxation of IGF2 imprinting and silencing of H19 in Wilms tumor[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1995, 92(6): 2159-2163

[18] Nieto MA. The ins and outs of the epithelial to mesenchymal transition in health and disease[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2011, 27: 347-376

[19] Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression[J]. Nat Rev Cancer, 2002, 2(6): 442-454

[20] De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression[J]. Nat Rev Cancer, 2013, 13(2): 97-110

[收稿日期] 2015-10-19