

## LncRNA HOTAIR 通过 COX-2 调控胃癌细胞增殖与侵袭

金星星,徐伟\*,张文灵,余纳,张婷,蒋世烨,李晓林,邵耘,孙为豪\*

南京医科大学第一附属医院老年消化科,江苏 南京 210029

**[摘要]** 目的:研究长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)对胃癌细胞增殖、侵袭能力的影响及其相关分子机制。方法:培养人胃黏膜上皮细胞株(GES-1)和胃癌细胞株(SGC7901和MKN45),实时荧光定量PCR(qRT-PCR)法检测HOTAIR表达,MTT法检测胃癌细胞增殖,细胞划痕实验、Transwell小室检测细胞迁移和侵袭;免疫印迹法分析COX-2及上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)相关标志物E-钙黏素(E-cadherin)表达。结果:与GES-1相比,SGC7901和MKN45细胞中HOTAIR表达上调( $P < 0.05$ );敲减HOTAIR基因能抑制胃癌细胞增殖、迁移与侵袭( $P < 0.01$ );胃癌细胞HOTAIR表达下调后COX-2蛋白水平降低,进而使E-cadherin蛋白水平升高( $P < 0.05$ ),且该效应可被外源性COX-2活性产物前列腺素E<sub>2</sub>(prostaglandin E<sub>2</sub>, PGE<sub>2</sub>)所纠正。与HOTAIR敲减组相比,HOTAIR敲减+PGE<sub>2</sub>组细胞增殖、迁移及侵袭能力明显升高。结论:下调HOTAIR可能通过抑制COX-2表达,进而上调E-cadherin表达,抑制胃癌细胞增殖和侵袭转移能力,有望成为治疗胃癌的重要靶点。

**[关键词]** 胃癌;长链非编码RNA;HOTAIR;环氧合酶-2;细胞增殖;细胞迁移和侵袭

**[中图分类号]** R735.2

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2018)06-739-06

**doi:**10.7655/NYDXBNS20180605

## LncRNA HOTAIR modulates the proliferation and migration of gastric cancer cells via COX-2 expression

Jin Xingxing, Xu Wei\*, Zhang Wenling, Yu Na, Zhang Ting, Jiang Shiye, Li Xiaolin, Shao Yun, Sun Weihao\*

Department of Geriatric Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of NMU, Nanjing 210029, China

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the potential effects of long non-coding RNA (lncRNA)HOX transcript antisense intergenic RNA (HOTAIR) on proliferation, invasion and metastasis capacity of gastric cancer cells and to reveal the underlying mechanisms. **Methods:** Human gastric epithelial cell line (GES-1) and different gastric cancer cell lines (SGC7901 and MKN-45) were cultured respectively. SGC7901 cancer cells were transiently transfected with small interfering RNA targeting HOTAIR (siHOTAIR), qRT-PCR was conducted to assess HOTAIR expression. MTT assay was carried out to evaluate the cell proliferation, wound-healing assay as well as transwell matrix invasion assay was performed respectively to evaluate the capability of invasion and migration of gastric cancer cells. The expression of cyclooxygenase-2 (COX-2), together with E-cadherin was detected by Western blot assay. **Results:** The expression of HOTAIR in gastric cancer cells was higher than that in GES-1 cells ( $P < 0.05$ ). The cell proliferation was significantly inhibited after HOTAIR knockdown ( $P < 0.01$ ). Both wound healing assay and transwell assay demonstrated that HOTAIR knockdown resulted in a lower ratio in migration and invasion. Western blot analysis revealed that depletion of HOTAIR substantially decreased the expression of COX-2, and then elevated the expression of E-cadherin ( $P < 0.05$ ), this effect would be attenuated by exogenous prostaglandin E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>). Compared with siHOTAIR group, proliferation and invasion of SGC7901 cells were significantly increased in siHOTAIR + PGE<sub>2</sub> group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Downregulation of lncRNA HOTAIR would inhibit cell viability, invasion and migration capability of gastric cancer cells, which were mediated partially by inhibiting the expression of COX-2 and then upregulating the expression of E-cadherin. HOTAIR might be a promising target to modulate the invasion and metastasis of gastric cancer.

**[Key words]** gastric cancer; long non-coding RNA; HOTAIR; cyclooxygenase-2; cell proliferation; cell migration and invasion

[Acta Univ Med Nanjing, 2018, 38(06):739-744]

**[基金项目]** 国家自然科学基金面上项目(81372659);江苏省自然科学基金(BK20151038)

\*通信作者(Corresponding author), E-mail: xw2000mail@163.com; swh@njmu.edu.cn

胃癌严重影响我国人民生命健康最严重的恶性肿瘤之一,其发病率和病死率分别高居恶性肿瘤的第5位和第3位<sup>[1]</sup>。尽管近年来分子生物学和病理技术的发展以及新型化疗药物的临床应用,使胃癌的诊断和治疗水平取得了一定提高,但是进展期胃癌的总体预后仍不尽如人意。侵袭和转移是肿瘤主要的恶性生物学行为,也是死亡的主要原因<sup>[2-3]</sup>。因此,研究胃癌的发生及侵袭、转移机制有助于胃癌的早期诊断、靶向治疗及改善预后,从而提高患者生存率。

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是长度超过200 bp的非编码RNA,由于缺少完整开放阅读框,很少或不能编码蛋白。但近来研究表明它们不仅参与了基因的转录调控, RNA的剪接,同时也参与包括肿瘤在内的多种重大疾病进程<sup>[4-5]</sup>。有研究表明lncRNA可能参与了包括胰腺癌在内的多种恶性肿瘤的发生和转移<sup>[6-7]</sup>。HOX转录反义RNA(HOTAIR)是lncRNA家族的成员之一,通过对HOTAIR的研究发现,其参与调控多种肿瘤的发生、发展及转移<sup>[8]</sup>。HOTAIR在胃癌组织中高表达,且HOTAIR的表达水平与胃癌患者的总生存期呈负相关,可能是一个潜在的评估预后的生物学指标<sup>[9]</sup>。但HOTAIR如何调控胃癌细胞的增殖与侵袭以及相关的分子机制目前尚未完全阐明,本研究通过干扰胃癌细胞HOTAIR的表达,进一步探讨HOTAIR对胃癌细胞增殖、侵袭与转移能力的影响,并对可能的分子机制进行初步探究。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

苯甲磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF, Sigma-Aldrich公司,美国); RPMI 1640培养液和胎牛血清(Gibco BRL公司,美国); Lipofectamine™ 2000、TRIzol(Invitrogen公司,美国); 蛋白质定量BCA试剂盒(Pierce公司,美国); Prime Script RT Master Mix和SYBR Premix Ex Taq II (TaKaRa公司,日本); DEPC水(上海碧云天公司); 兔抗人E-钙黏素(E-cadherin)、COX-2和GAPDH单克隆抗体(Abcam公司,美国); 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG抗体(Bioworld Technolog公司,美国); PVDF膜(Millipore公司,美国); ECL发光试剂盒(Amersham公司,英国); Transwell侵袭小室(Corning公司,美国); 外源性COX-2活性代谢产物前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)(Cayman公司,美国); HOTAIR干

扰RNA(siHOTAIR)及阴性对照(siNC)序列由上海吉玛公司合成。其他试剂为国产分析纯级。

人永生化胃黏膜上皮细胞株GES-1及人中分化胃腺癌细胞株SGC-7901(中国科学院上海生科院细胞资源中心),人低分化胃腺癌细胞株MKN-45(南京凯基生物科技发展有限公司)。3种细胞常规传代培养于含10%热灭活胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 µg/mL链霉素的RPMI1640培养液中,37℃、5%CO<sub>2</sub>及饱和湿度的CO<sub>2</sub>培养箱中培养生长,隔天换液,3d传代1次。取对数生长期的细胞用于后续实验。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 RNA提取和实时荧光定量PCR(qRT-PCR)

用TRIzol试剂提取细胞总RNA。按Prime Script RT Master Mix逆转录试剂盒说明书逆转录为cDNA。取上述逆转录产物在ABI StepOnePlus实时荧光定量PCR仪上扩增,反应体系为20 µL,内含cDNA 2 µL,上下游引物各0.8 µL, SYBR Premix Ex Taq(2×) 10 µL,无酶ddH<sub>2</sub>O 6 µL, ROX 0.4 µL。qRT-PCR条件为:95℃预变性30 s; 95℃ 5 s, 60℃退火30 s, 60℃延伸1 min, 40个循环。qRT-PCR数据用2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>法计算。qRT-PCR引物(由南京锐真生物技术有限公司设计并合成),见表1。

表1 各基因qRT-PCR引物序列

Table 1 Primer sequences of genes by qRT-PCR

基因	引物序列(5'→3')
HOTAIR	F:GGTAGAAAAAGCAACCACGAAGC R:CATAAACCTCTGTCTGTGAGTGCC
GAPDH	F:CCGGGAAACTGTGGCGTGATGG R:AGGTGGAGGAGTGGGTGTCGCTGTT

#### 1.2.2 细胞转染

细胞培养至对数生长期,PBS清洗3次,胰蛋白酶消化1 min后终止消化,10% FBS-RPMI 1640重悬细胞并计数,取2.0×10<sup>5</sup>个细胞接种至6孔板中,无血清无抗生素培养基培养至细胞融合度为30%~50%进行转染。按Lipofectamine™ 2000转染试剂说明书步骤行瞬时转染。将细胞分为空白对照组、阴性对照组和转染组,分别给予未转染、转染siNC或siHOTAIR(100 nmol/L)。转染后37℃孵箱培养5 h,换用含10% FBS的RPMI1640继续培养48 h。干扰片段序列如下: siNC(5'-CUACAACAGCCA-CAACGUCdTdT-3')及siHOTAIR(5'-UAACAAGAC-CAG-AGAGCUGUU-3')。用qRT-PCR检测转染效率,再行后续实验。

### 1.2.3 细胞增殖实验

取对数生长期  $5 \times 10^3$  个细胞,制成单细胞悬液,接种于96孔培养板,每组100  $\mu\text{L}$  细胞悬液,并设置调零孔(培养基、MTT、DMSO),置于培养箱分别培养48 h后,吸去培养液,每孔加入5 mg/mL的MTT溶液20  $\mu\text{L}$ ,震荡摇匀后避光培养4 h,小心吸弃上清后,每孔加入二甲基亚砜(DMSO)150  $\mu\text{L}$  震荡溶解6~8 min,结晶完全溶解后,于波长570 nm测各孔吸光度值(每组设5个平行孔,独立重复3次)。计算增殖率(处理组吸光度值/对照组吸光度值)后绘制柱状图。

### 1.2.4 细胞划痕实验

细胞转染 siHOTAIR 或 siNC 48 h后,将细胞消化接种至6孔板,保证隔夜后细胞呈单层铺满,用10  $\mu\text{L}$  微量移液枪头垂直于板面划痕,PBS洗涤3次去除漂浮细胞,后加用无血清1640培养。在倒置显微镜下观察划痕两侧细胞在0、24 h的迁移情况,并拍照,在Image J界面下分析计算划痕创伤修复率。划痕创伤修复率(%)=[划痕创伤面积(0 h)-划痕创伤面积(24 h)]/划痕创伤面积(0 h) $\times 100\%$ 。实验重复3次,计算平均值。

### 1.2.5 Transwell 侵袭实验

取出Transwell侵袭小室置于24孔板中,于小室上层及下层分别加入预热的无血清RPMI 1640,于37  $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中孵育水化2 h后弃去培养基。细胞转染48 h后用胰蛋白酶消化并用无血清培养基调整为  $7.0 \times 10^5$  个/mL,将200  $\mu\text{L}$  细胞悬液置入小室上层,在小室下层加入600  $\mu\text{L}$  10% FBS培养基,置于培养箱孵育24 h,取出小室,4%多聚甲醛固定20 min,用棉签擦去上层细胞,结晶紫染色15 min,蒸馏水轻轻冲洗,在显微镜下计数5个高倍镜视野下的穿膜细胞数,求出穿膜细胞平均值,评估细胞侵袭能力。

### 1.2.6 细胞蛋白提取和免疫印迹法检测

细胞转染48 h后,冰上收取细胞,以预冷PBS洗3次,后加入100  $\mu\text{L}$  细胞裂解液(PBS内含:Nonidet P-40 1%,脱氧胆酸钠5 g/L,SDS 1 g/L,PMSF 0.1 g/L和抑肽酶10 mg/L)4  $^{\circ}\text{C}$ 处理60 min。细胞裂解物经11 000  $g$  4  $^{\circ}\text{C}$ 离心10 min后取上清,BCA法测定各样品组蛋白浓度,加入适量SDS-loading buffer在100  $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育5 min,后行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),PVDF膜湿转法转膜,用5%脱脂牛奶4  $^{\circ}\text{C}$ 封闭2 h,分别孵育E-cadherin、COX-2及GAPDH一抗,4  $^{\circ}\text{C}$ 过夜。次日洗膜,二抗4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h,洗膜后用ECL显色液法显影。使用Image J(national

institute of health, bethesda, MD)图像分析软件对蛋白电泳带的灰度进行半定量分析。

### 1.2.7 纠正实验

将 siHOTAIR+PGE2(于HOTAIR siRNA转染后48 h加入PGE2 10  $\mu\text{mol/L}$ 作用6 h)作用的SGC7901细胞作为纠正实验组,同时以HOTAIR敲减组(si-HOTAIR)作为对照,与实验组作用相同时间后,MTT检测细胞增殖,细胞划痕及Transwell侵袭实验检测细胞迁移和侵袭,免疫印迹法检测E-cadherin、COX-2表达,实验方法同1.2.3、1.2.4、1.2.5、1.2.6。

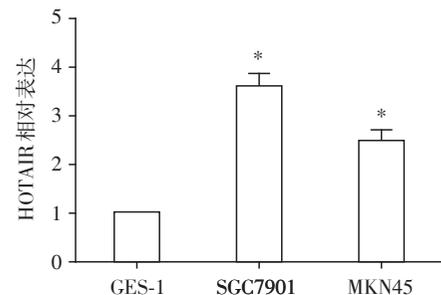
### 1.3 统计学方法

实验结果以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,所有数据均应用SPSS 20.0统计软件处理,两组间均数比较采用 $t$ 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析(ANOVA), $P \leq 0.05$ 为差异有显著意义。

## 2 结果

### 2.1 HOTAIR在胃癌细胞株中的表达

与正常胃黏膜上皮细胞株GES-1相比,胃癌细胞SGC7901及MKN45细胞内HOTAIR均明显上调,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,图1)。且胃癌细胞株SGC7901中HOTAIR表达较MKN45高,所以后续选择SGC7901细胞进行干扰验证。



与正常胃黏膜上皮细胞(GES-1)比较,\* $P < 0.05$ 。

图1 qRT-PCR检测HOTAIR在不同胃癌细胞株(SGC7901、MKN45)中的表达

Figure 1 Relative HOTAIR expression in gastric cancer cells(SGC7901, MKN45) detected by qRT-PCR

### 2.2 HOTAIR表达对胃癌细胞SGC7901增殖、迁移及侵袭能力的影响

qRT-PCR法显示,与空白对照组及si-NC组相比,si-HOTAIR组SGC7901细胞中HOTAIR表达明显下调( $P < 0.01$ ,图2A)。MTT实验显示,干扰并下调HOTAIR 48 h后,细胞活力明显下降( $P < 0.01$ ,图2B)。划痕实验发现,HOTAIR表达下调后,细胞迁移能力明显下降( $P < 0.01$ ,图2C)。Transwell侵

袭实验发现, HOTAIR 表达下调后, 细胞侵袭能力明显下降 ( $P < 0.001$ , 图 2D)。空白对照组与 si-NC 组相比差异无明显统计学意义。

### 2.3 HOTAIR 对 COX-2 及上皮类标志物 E-cadherin 表达的影响

为探索 HOTAIR 具体的作用机制, 在蛋白水平检验了 siHOTAIR 瞬时转染胃癌细胞 SGC7901 后 COX-2 及 EMT 相关蛋白的表达。结果显示, 下调 HOTAIR 表达后, 胃癌细胞 SGC7901 的 COX-2 表达水平较 siNC 组明显降低; 而 E-cadherin 蛋白表达明显上升 ( $P < 0.05$ , 图 3A)。而 E-cadherin 蛋白表达上调的效应可被外源性 COX-2 活性代谢产物 PGE2 所纠正 ( $P < 0.05$ , 图 3B), 提示 HOTAIR 可能通过 COX-2/PGE2 依赖的途径促进胃癌细胞 EMT 的过程。

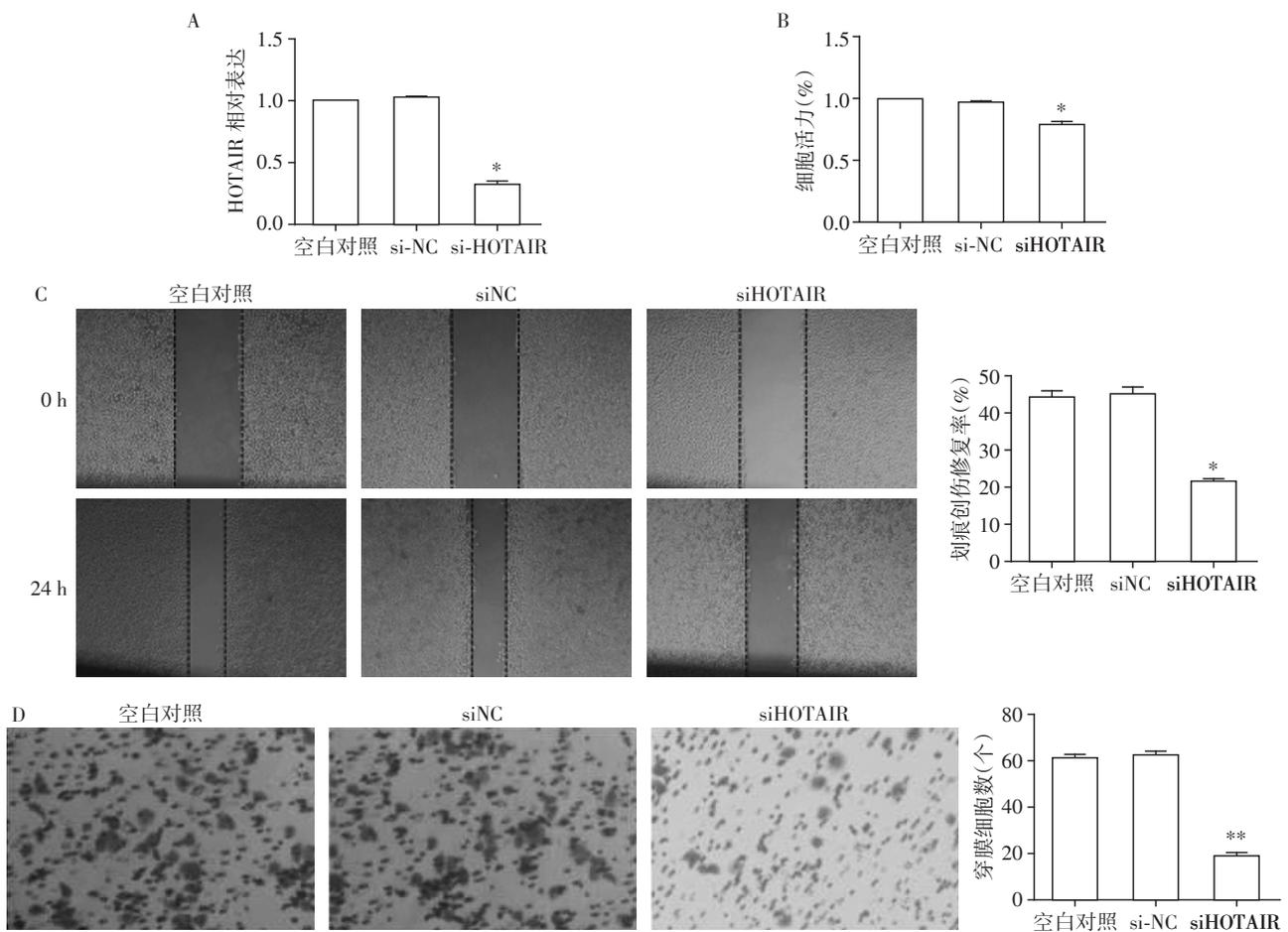
### 2.4 PGE2 对 HOTAIR 敲减介导的 SGC7901 细胞抑制作用的影响

进一步检测 siHOTAIR 与 PGE2 共同作用于

SGC7901 后的细胞的增殖、迁移和侵袭。结果如图 4 所示, 与 siHOTAIR 组相比, siHOTAIR+PGE2 组 SGC7901 细胞的增殖、迁移和侵袭能力明显增强 ( $P < 0.05$ , 图 4)。

### 3 讨论

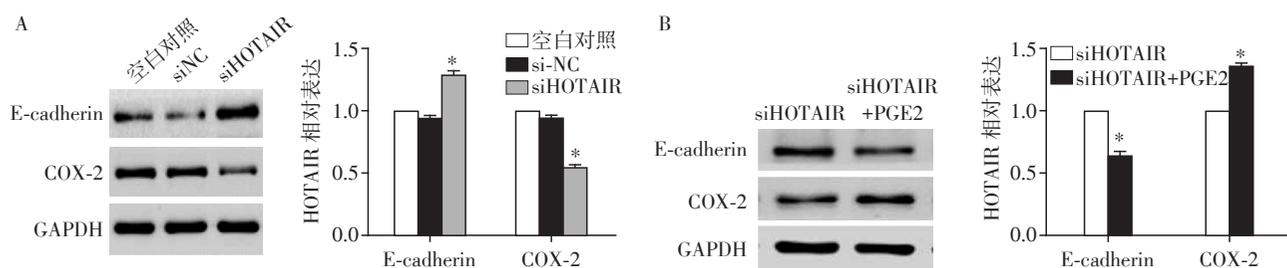
侵袭和转移是导致胃癌复发和预后不良的重要因素。有研究发现 HOTAIR 在包括胃癌在内的多种肿瘤组织及细胞中表达明显上升<sup>[10]</sup>。且近来有研究显示 HOTAIR 的异常表达与肿瘤的临床分期、神经侵犯和远处转移存在一定相关性<sup>[11-12]</sup>。本研究发现, 与正常胃黏膜细胞相比, HOTAIR 在胃癌细胞株 SGC7901、MKN45 中的表达量明显升高, 干涉并下调 HOTAIR 表达后, 胃癌细胞 SGC7901 的增殖能力减弱。进一步研究发现, 干涉并下调 HOTAIR 表达后, 胃癌细胞 SGC-7901 的迁移与侵袭能力下降, 证实了 HOTAIR 参与调节胃癌细胞的增殖与迁移,



A: HOTAIR 表达 (qRT-PCR 法); B: 细胞增殖能力 (MTT 实验); C: 细胞迁移能力 (划痕实验,  $\times 40$ ); D: 细胞侵袭能力 (Transwell 侵袭实验,  $\times 100$ )。与对照组比较, \* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.001$ 。

图 2 下调 HOTAIR 抑制胃癌细胞 SGC7901 的增殖、迁移和侵袭

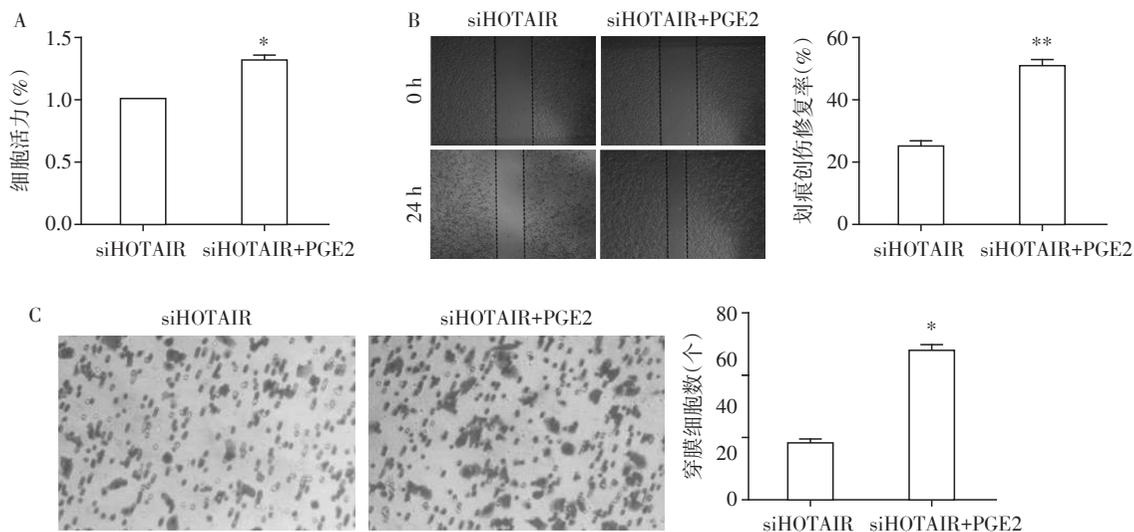
Figure 2 HOTAIR knockdown exerts antagonistic effects on cell proliferation, invasion and migration of SGC7901 cell line



与对照组比较, \* $P < 0.05$ 。

图3 免疫印记法检测下调HOTAIR表达对胃癌细胞SGC7901中COX-2、E-cadherin的影响

Figure 3 Effects of HOTAIR knockdown on the expression of COX-2 and E-cadherin in SGC7901 cells by Western blot



A: 细胞增殖能力(MTT实验);B: 细胞迁移能力(划痕实验,×40);C: 细胞侵袭能力(Transwell侵袭实验,×100)。与siHOTAIR组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ 。

图4 外源性PGE2可部分逆转HOTAIR敲减对胃癌SGC7901细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用

Figure 4 PGE2 addition following HOTAIR knockdown reverted the inhibition of proliferation, invasion and metastasis by HOTAIR downregulation in SGC7901 cells

但内在分子机制尚不明确。

本课题组前期研究发现,COX-2能诱导胃癌细胞的增殖与侵袭,胃癌组织中COX-2的高表达与肿瘤浸润及淋巴结转移密切相关<sup>[13-14]</sup>。此外,有研究发现青蒿琥酯可能通过下调HOTAIR来抑制COX-2的表达从而抑制宫颈癌转移<sup>[15]</sup>。但HOTAIR是否能调控胃癌细胞COX-2的表达目前尚未见报道,本研究首次发现干涉并下调HOTAIR表达后,胃癌细胞的COX-2表达水平随之下降,提示COX-2是HOTAIR下游调控的靶点之一,HOTAIR可能部分通过调控COX-2的表达调节胃癌细胞的增殖与侵袭。

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是一种从有极性的不能移动的上皮细胞转化为间质细胞的分子重塑和表型改变,是肿瘤侵袭、转移发生中的一个重要步骤<sup>[16-17]</sup>。EMT过程中

的一个重要特征就是上皮细胞失去E-cadherin介导的细胞间紧密连接,获得运动能力,因而E-cadherin下调被认为是EMT过程中一个必不可少的标志<sup>[18-19]</sup>。既往研究发现,多种细胞因子能通过COX-2/PGE2依赖的途径诱导EMT的发生,过表达的COX-2或外源性PGE2能下调E-cadherin表达并上调N-cadherin表达,在肿瘤细胞EMT过程以及侵袭转移中发挥重要作用<sup>[20-21]</sup>。本研究中,发现干涉并下调HOTAIR表达后胃癌SGC7901细胞的COX-2表达下降,进而EMT上皮标志物E-cadherin表达上调,而E-cadherin表达上调的效应可被外源性PGE2所逆转。进一步纠正实验发现COX-2参与了HOTAIR敲减对胃癌细胞增殖和侵袭的抑制作用。由此推测HOTAIR可能部分通过COX-2/PGE2途径参与胃癌细胞的EMT,进而调控细胞迁移和侵袭,且COX2亦

参与了HOTAIR对胃癌细胞增殖的调控。

综上所述,本研究表明HOTAIR在胃癌细胞的增殖、侵袭和转移中起重要调控作用,并首次报道COX-2是HOTAIR调控胃癌细胞增殖和侵袭的重要节点。本实验尚未从获得性功能(gain of function)方面研究正面阐释过表达HOTAIR是否能够促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭,也没有进行动物等体内研究,且目前仅从1株细胞系进行研究,也不排除不同通路之间存在关联(如cross-talk等)。在后期研究中,应该弥补上述不足之处,为HOTAIR作为胃癌诊断治疗的潜在靶点,提供更好的理论基础和实验支持。

[参考文献]

- [1] Torre L A, Bray F, Siegel R L, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. *Ca A Cancer Journal for Clinicians*, 2015, 65(2):87-108
- [2] Hurst D R. Metastasis suppressor genes at the interface between the environment and tumor cell growth.[J]. *International Review of Cell & Molecular Biology*, 2011, 286(286):107-180
- [3] Vaidya KS, Welch DR. Metastasis suppressors and their roles in breast carcinoma[J]. *Journal of Mammary Gland Biology & Neoplasia*, 2007, 12(2-3):175-190
- [4] Fatica A, Bozzoni I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2014, 15(1):7-21
- [5] Alvarez-Dominguez JR, Hu W, Gromatzky AA, et al. Long noncoding RNAs during normal and malignant hematopoiesis [J]. *International Journal of Hematology*, 2014, 99(5):531-541
- [6] Wu BQ, Jiang Y, Zhu F, et al. Long noncoding RNA PVT1 promotes EMT and cell proliferation and migration through downregulating p21 in pancreatic cancer cells [J]. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 2017(1):1533034617700559
- [7] 马腾,赵晔,邵永丰. LncRNA-HOTTIP对食管鳞癌细胞增殖和侵袭的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(8):947-951
- [8] Cai B, Song XQ, Cai JP, et al. HOTAIR: a cancer-related long non-coding RNA.[J]. *Neoplasia*, 2014, 61(4):379
- [9] Liu FT, Qiu C, Luo HL, et al. The association of HOTAIR expression with clinicopathological features and prognosis in gastric cancer patients[J]. *Panminerva Medica*, 2016, 58(2):167-174
- [10] Berger H, Marques MS, Zietlow R, et al. Gastric cancer pathogenesis[J]. *Helicobacter*, 2016, 21(S1):34
- [11] Wu ZH, Wang XL, Tang HM, et al. Long non-coding RNA HOTAIR is a powerful predictor of metastasis and poor prognosis and is associated with epithelial-mesenchymal transition in colon cancer[J]. *Oncology Reports*, 2014, 32(1):395
- [12] Xu ZY, Yu QM, Du YA, et al. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR suppresses tumor invasion and reverses epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2013, 9(6):587-597
- [13] Xu W, Chen GS, Shao Y, et al. Gastrin acting on the cholecystokinin 2 receptor induces cyclooxygenase-2 expression through JAK2/STAT3/PI3K/Akt pathway in human gastric cancer cells [J]. *Cancer Letters*, 2013, 332(1):11-18
- [14] Sun WH, Sun YL, Fang RN, et al. Expression of cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-9 in gastric carcinoma and its correlation with angiogenesis [J]. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 2005, 35(12):707-713
- [15] Zhang L, Qian H, Sha M, et al. Downregulation of HOTAIR expression mediated anti-metastatic effect of artesunate on cervical cancer by inhibiting COX-2 expression [J]. *PLoS One*, 2016, 11(10):e0164838
- [16] Nieto MA, Huang RYJ, Jackson R, et al. EMT:2016 [J]. *Cell*, 2016, 166(1):21-45
- [17] Gurzu S, Turdean S, Kovacs A, et al. Epithelial-mesenchymal, mesenchymal-epithelial, and endothelial-mesenchymal transitions in malignant tumors: An update [J]. *World Journal of Clinical Cases*, 2015, 3(5):393
- [18] Guarino M, Rubino B, Ballabio G. The role of epithelial-mesenchymal transition in cancer pathology [J]. *Pathology*, 2007, 39(3):305
- [19] Hay ED, Zuk A. Transformations between epithelium and mesenchyme: normal, pathological, and experimentally induced[J]. *American Journal of Kidney Diseases*, 1995, 26(4):678-690
- [20] Bocca C, Ievolella M, Autelli R, et al. Expression of Cox-2 in human breast cancer cells as a critical determinant of epithelial - to - mesenchymal transition and invasiveness. [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18(2):121-135
- [21] Che D, Zhang S, Jing Z, et al. Macrophages induce EMT to promote invasion of lung cancer cells through the IL-6-mediated COX-2/PGE2/ $\beta$ -catenin signalling pathway [J]. *Molecular Immunology*, 2017, 90:197-210

[收稿日期] 2017-12-13