

· 临床研究 ·

长链非编码 RNA CBR3-AS1 在骨肉瘤中的表达及意义

黄杰, 胡华, 蒋林

华中科技大学同济医学院附属武汉中心医院骨科, 湖北 武汉 430014

[摘要] 目的:探讨长链非编码 RNA CBR3-AS1(LncRNA CBR3-AS1)在骨肉瘤患者中的表达及意义。方法:回顾性收集2012年1月—2014年1月本院收治的66例骨肉瘤患者组织标本和临床资料,qRT-PCR法检测组织中LncRNA CBR3-AS1表达情况,并将患者分为高表达组和低表达组,卡方检验分析LncRNA CBR3-AS1表达与临床参数的关系,Kaplan-Meier法比较LncRNA CBR3-AS1的表达与总生存率的关系。将U-2 OS细胞系分成LncRNA CBR3-AS1沉默表达组(si-CBR3-AS1组)和阴性对照组(si-NC组),经Lipofectamine™ 3000分别转染LncRNA CBR3-AS1 siRNA和si-NC序列,MTT和集落形成试验测定细胞增殖,细胞迁移和侵袭试验测定细胞迁移和侵袭能力,流式细胞术测定细胞凋亡。qRT-PCR和Western blot法检测羧基还原酶3(CBR3)的表达。结果:LncRNA CBR3-AS1在骨肉瘤组织和细胞系中高表达($P < 0.001$)。LncRNA CBR3-AS1高表达与Enneking分期($P < 0.001$)、远处转移($P=0.004$)和组织学分级($P=0.036$)显著相关;LncRNA CBR3-AS1高表达与骨肉瘤患者总生存率呈负相关($P < 0.01$),是骨肉瘤患者的不良预后因素($HR=1.558, 95\%CI: 1.041\sim 2.641, P=0.013$)。si-CBR3-AS1组细胞增殖、集落形成能力、细胞迁移和侵袭能力显著低于si-NC组,si-CBR3-AS1组细胞凋亡率高于si-NC组。LncRNA CBR3-AS1和CBR3 mRNA表达呈正相关($r=0.44, P=0.036$),si-CBR3-AS1组CBR3 mRNA和蛋白表达量显著低于si-NC组($P < 0.001$)。结论:LncRNA CBR3-AS1在骨肉瘤中高表达,LncRNA CBR3-AS1下调表达抑制细胞增殖、迁移及侵袭,促进凋亡,是影响骨肉瘤预后的独立危险因素。

[关键词] 长链非编码 RNA CBR3-AS1;表达;骨肉瘤;预后

[中图分类号] R738.1

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2020)01-056-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20200111

Expression and significance of LncRNA CBR3-AS1 in osteosarcoma

HUANG Jie, HU Hua, JIANG Lin

Department of Orthopedics, the Central Hospital of Wuhan, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430014, China

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression and significance of long non-coding RNA CBR3-AS1(LncRNA CBR3-AS1) in osteosarcoma tissue and cell lines. **Methods:** The pathological tissue samples and clinical data of 66 patients with osteosarcoma diagnosed and treated in our hospital from January 2012 to January 2014 were retrospectively collected. The expression of LncRNA CBR3-AS1 in pathological tissues was detected by qRT-PCR. The patients were divided into the high expression group and the low expression group. The correlation of the expression of LncRNA CBR3-AS1 and clinical parameters was analyzed by Chi-square test. Kaplan-Meier survival analysis was used to compare the survival rate of osteosarcoma patients with high or low expression of LncRNA CBR3-AS1. U-2 OS cell lines were divided into the LncRNA CBR3-AS1 silent expression group(si-CBR3-AS1 group) and the negative control group(si-NC group). LncRNA CBR3-AS1 siRNA and si-NC sequences were transfected by Lipofectamine™ 3000, respectively. Cell proliferation, cell migration and invasion were measured by MTT and colony formation assay. Apoptotic capacity was measured by cytometry. Expression of carboxyl reductase 3(CBR3) were detected by qRT-PCR and Western blot. **Results:** LncRNA CBR3-AS1 were highly expressed in osteosarcoma tissues and cell lines ($P < 0.001$). LncRNA CBR3-AS1 high expression were significantly correlated with Enneking staging ($P < 0.001$), distant metastasis ($P=0.004$) and histological grade ($P=0.036$). LncRNA CBR3-AS1 high expression was negatively correlated with overall survival rate in osteosarcoma patients ($P < 0.01$), it was an independent prognostic factor for osteosarcoma patients($HR=1.558, 95\%CI: 1.041-2.641, P=0.013$). Cell proliferation and colony formation ability, as well as cell migration and invasion ability in the si-CBR3-AS1 group were significantly lower than those in the si-NC group, and cell apoptosis rate in the si-CBR3-AS1 group was higher than that in the si-NC group. The expression of LncRNA CBR3-AS1 and CBR3

was positively correlated ($r=0.44, P=0.036$). The expression of CBR3 protein in the si-CBR3-AS1 group was significantly lower than that in the si-NC group ($P < 0.001$). **Conclusion:** Downregulated expression of LncRNA CBR3-AS1 inhibits cell proliferation, migration and invasion, and promotes apoptosis, which is an independent risk factor affecting the prognosis of osteosarcoma.

[Key words] LncRNA CBR3-AS1; expression; osteosarcoma; prognosis

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(01): 056-061, 071]

骨肉瘤是一种常见的恶性骨肿瘤,来源于骨形成间充质细胞,具有高度侵袭性和早期转移特点^[1]。骨肉瘤好发于儿童和青少年,以四肢长骨为好发部位,如股骨远端(43%)、胫骨近端(23%)或肱骨(10%)^[2]。无远处转移的骨肉瘤患者5年生存率约为70%,而有远处转移的骨肉瘤患者5年生存率仅20%~30%^[3]。长链非编码RNA(long non-coding RNAs, LncRNA),是长度约200个核苷酸的非编码长链RNA,广泛参与增殖、凋亡、侵袭等肿瘤生物学过程^[4]。LncRNA CBR3-AS1又名前列腺癌上调长链非编码RNA 1,位于羧基还原酶3(carbonyl reductase 3, CBR3)的反义区域,最初发现其在前列腺癌中高表达^[5]。LncRNA CBR3-AS1表达下调抑制前列腺癌细胞增殖并促进凋亡^[6]。在肝细胞癌、结直肠癌、食管鳞状细胞癌和胃癌中均观察到LncRNA CBR3-AS1高表达^[7]。然而,LncRNA CBR3-AS1在骨肉瘤中的表达和功能尚未见报道。本研究旨在检测骨肉瘤组织中LncRNA CBR3-AS1表达,分析其与临床病理特征的关系,探讨LncRNA CBR3-AS1对骨肉瘤细胞系生物学行为的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 组织标本

收集2012年1月—2014年1月在本院骨科行骨肉瘤根治术的66例患者肿瘤标本及癌旁组织,其中骨母细胞型36例,纤维母细胞型15例,软骨母细胞型12例,混合型1例,血管扩张型2例。纳入标准:①经病理确诊为骨肉瘤;②未进行任何术前治疗的初诊患者;③除骨肉瘤外患者不存在其他部位恶性肿瘤;④患者不存在严重心肝肾疾病。排除标准:①临床资料不完整或缺乏随访资料者;②不愿意配合者。在66例中,男43例、女23例,年龄9~50岁、中位年龄23岁。Enneking外科分期^[8]: I A~II A期24例, II B~III期42例。所有组织标本于术后30 min内保存于-80℃冰箱。本研究经医院伦理委员会批准

实施。所有患者出院后均随访,初次随访时间为手术或病理活检日期,末次随访时间为2018年12月31日,至随访截止日,存活36例,死亡30例。

1.1.2 人骨肉瘤和成骨细胞系

人骨肉瘤细胞系(MG-63、U-2 OS)和人成骨细胞系(hFOB 1.19)购买于美国ATCC细胞库。细胞培养基为含有10%胎牛血清(Gibco公司,美国)、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的RPMI-1640培养基(Gibco公司,美国),细胞在5% CO₂、37℃恒温培养箱中培养。si-CBR3-AS1序列及si-NC序列由上海吉玛生物科技有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 qRT-PCR测定LncRNA CBR3-AS1表达

采用TRIzol(Invitrogen公司,美国)法提取骨肉瘤及癌旁组织标本、人骨肉瘤细胞系(MG-63、U-2 OS)和人成骨细胞系(hFOB 1.19)中总RNA。参照逆转录试剂盒说明书逆转录成cDNA,按照SYBR Green PCR Master(大连宝生生物)试剂盒说明书在real-time PCR仪上进行PCR扩增,引物如下:LncRNA CBR3-AS1,正向引物:5'-AGTAGTTGCTT-GTCCTAT-3';反向引物:5'-AAGTCAGTAAGTCCTA-AGT-3'。β-肌动蛋白(β-actin),正向引物:5'-CT-GGGACGACATGGAGAAAA-3';反向引物:5'-AAGGAAGGCTGGAAGAGTGC-3'。PCR扩增条件是:95℃ 10 min, 95℃ 15 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s,共40个循环。通过比较循环阈值法计算相对表达量,并将其标准化为相对β-actin的表达。根据骨肉瘤组织LncRNA CBR3-AS1中位表达水平,将骨肉瘤患者分为低表达组($n=33$)和高表达组($n=33$),分析高、低表达组与临床病理因素的关系。

1.2.2 siRNA转染

将U-2 OS细胞系培养至对数期,分成LncRNA CBR3-AS1沉默表达组(si-CBR3-AS1组)和阴性对照组(si-NC组),经Lipofectamine™ 3000(Invitrogen公司,美国)分别转染LncRNA CBR3-AS1 siRNA和si-NC序列。转染48 h后通过qRT-PCR评估Ln-

cRNA CBR3-AS1 敲低效果,并行后续实验。

1.2.3 MTT测定

将骨肉瘤细胞系 U-2 OS 接种于 96 孔板中,在 37 °C 培养 48、72 和 96 h 后,加入溴化 3-(4,5-二甲基噻唑-2-基)-2,5-二苯基四唑(MTT, 5 mg/mL) 10 μ L,然后在 37 °C 下孵育 4 h。去除上清液,加入 100 μ L DMSO (Sigma 公司,美国),在 490 nm 处检测吸光度值。

1.2.4 集落形成试验

将骨肉瘤细胞系 U-2 OS 以 1×10^3 个/孔接种在 6 孔培养板中。在 37 °C 培养 10 d 后,用 PBS 洗涤细胞两次,并用 Giemsa 溶液 (Corning 公司,美国) 染色。在显微镜下计数 > 50 个细胞的集落数,取 3 次重复实验平均值。

1.2.5 细胞迁移和侵袭试验

①细胞迁移:将 1×10^5 个细胞接种在 Transwell 装置 (Corning 公司,美国) 的纤连蛋白包被的聚碳酸酯膜插入物上。将细胞培养 12 h 后,在显微镜下 (100 \times) 选择 5 个预定区域计算粘附于下室 Giemsa 阳性染色细胞数目。②细胞侵袭:操作过程类似于细胞迁移测定,Transwell 膜预涂有基质胶 24 mg/mL Matrigel (Corning 公司,美国)。以上实验重复 3 次。

1.2.6 细胞凋亡检测

使用膜联蛋白 V-FITC 凋亡检测试剂盒 (Sigma 公司,美国) 分析细胞凋亡率。在 si-RNA 转染后 48 h,收获细胞,并根据制造商说明要求将细胞重悬于含有膜联蛋白 V-FITC 和 PI 结合缓冲液中。通过流式细胞术 (BD Biosciences 公司,美国) 分析样品,使用 BD FACSDiva 6.1.3 软件 (BD 公司,美国) 将细胞区分为活细胞、坏死细胞和凋亡细胞,然后比较每组的凋亡细胞百分比,实验重复 3 次。

1.2.7 蛋白质免疫印迹

细胞裂解缓冲液 (Sigma 公司,美国) 提取总蛋白用于 Western blot。将等量蛋白质变性,然后通过 12% SDS-PAGE 电泳,转至 PVDF 膜后,与一抗孵育:CBR3 抗体 (Abcam 公司,美国) 或 β -actin 抗体 (Sigma 公司,美国),然后与二抗 (Sigma 公司,美国) 孵育。使用 ECL 化学发光试剂盒 (Sigma, 美国) 检测辣根过氧化物酶 (HRP),印迹强度由 Quantity One Software (Bio-Rad, 美国) 进行分析。

1.3 统计学方法

SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,计数资料采用例数和百分率 ($n, \%$) 表示,两组间比较采用 t 检验或卡方检验统计分析。三组间的比较采用单因素方差分析,在有

意义的基础上再用 LSD- t 行两两间的比较,Kaplan-Meier 法用于生存分析,单变量和多变量 Cox 回归模型用于计算风险比并确定骨肉瘤患者预后因子独立危险因子,Spearman 相关行相关性分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

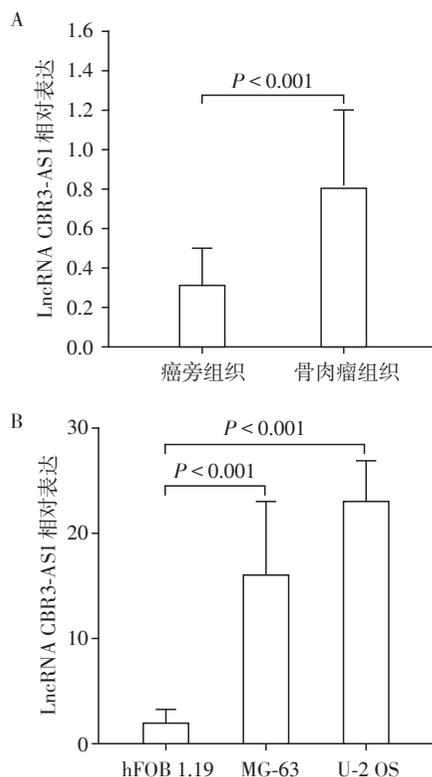
2 结果

2.1 LncRNA CBR3-AS1 在骨肉瘤组织和细胞系中高表达

qRT-PCR 示骨肉瘤癌组织中 LncRNA CBR3-AS1 表达显著高于癌旁组织 (0.82 ± 0.38 vs. 0.31 ± 0.13 , $P < 0.001$, 图 1A); 人骨肉瘤细胞系 MG-63 及 U-2OS 的 LncRNA CBR3-AS1 相对表达量 (16.2 ± 5.5 , 23.5 ± 2.7) 显著高于人成骨细胞系 hFOB 1.19 (2.1 ± 0.8 , $P < 0.001$, 图 1B)。

2.2 LncRNA CBR3-AS1 表达与骨肉瘤患者临床病理因素和总生存率间的关系

LncRNA CBR3-AS1 表达水平与年龄、性别、肿瘤大小和肿瘤部位无显著相关,与 Enneking 分期



A: 骨肉瘤组织中的 LncRNA CBR3-AS1 表达量高于癌旁组织; B: 与人成骨细胞系相比,骨肉瘤细胞系中 LncRNA CBR3-AS1 表达水平升高。

图 1 LncRNA CBR3-AS1 在骨肉瘤组织和细胞系中高表达
Figure 1 LncRNA CBR3-AS1 is highly expressed in osteosarcoma and cell lines

($P=0.019$)、远处转移($P=0.004$)和组织学分级($P=0.036$)显著相关(表1)。

LncRNA CBR3-AS1 高表达与总生存率呈负相关($P < 0.01$,图2),即与 LncRNA CBR3-AS1 低表达组相比,LncRNA CBR3-AS1 高表达组患者总生存率更低。

表1 LncRNA CBR3-AS1 表达与骨肉瘤患者临床病理因素间的关系

Table 1 Correlation between LncRNA CBR3-AS1 expression and clinicopathological characteristics in osteosarcoma patients [n(%)]

因素	例数	高表达组	低表达组	χ^2 值	P值
年龄(岁)				2.625	0.154
≤18	26	15(45.5)	11(33.3)		
>18	40	18(54.5)	22(66.7)		
性别				1.962	0.715
女	23	11(33.3)	12(36.4)		
男	43	22(66.7)	21(63.6)		
Enneking分期				13.276	0.019
I~IIA	24	9(27.3)	15(45.5)		
II B~III	42	24(72.7)	18(54.5)		
肿瘤大小				3.159	0.078
≤8 cm	40	18(54.5)	22(66.7)		
>8 cm	26	15(45.5)	11(33.3)		
远处转移				10.328	0.004
无	56	25(75.8)	31(93.9)		
有	10	8(24.2)	2(6.1)		
组织学分级				9.361	0.036
G~G2	30	12(36.4)	18(54.5)		
G3~G4	36	21(63.6)	15(45.5)		
肿瘤部位				3.529	0.267
股骨/胫骨	46	18(54.5)	28(84.8)		
其他	20	15(45.5)	5(15.2)		

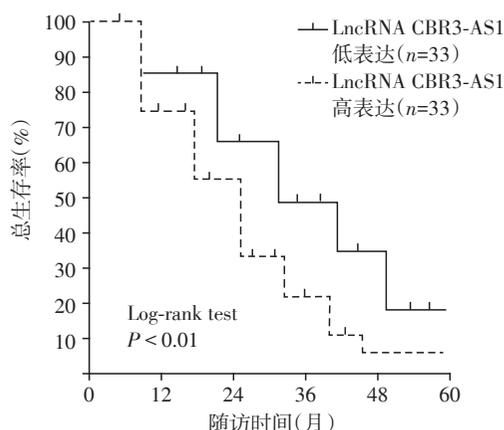


图2 LncRNA CBR3-AS1 高表达组和低表达组患者生存曲线
Figure 2 Survival curves of patients with LncRNA CBR3-AS1 high expression or low expression

2.3 影响骨肉瘤患者生存率的单因素和多因素分析

单因素分析示:Enneking分期($P < 0.001$)、肿瘤大小($P=0.035$)、远处转移($P < 0.001$)、组织学分级($P < 0.001$)和 LncRNA CBR3-AS1 表达($P < 0.001$)是影响骨肉瘤总生存率的危险因素;多因素分析示:远处转移($P < 0.001$)及 LncRNA CBR3-AS1 高表达($P=0.013$)是影响骨肉瘤患者预后的独立危险因素(表2)。

2.4 敲降LncRNA CBR3-AS1抑制骨肉瘤细胞增殖

通过 siRNA-CBR3-AS1 诱导 U-2 OS 细胞 LncRNA CBR3-AS1 表达下调(图3A);MTT显示,转染后继续培养48、72和96 h,LncRNA CBR3-AS1 敲低可显著抑制U-2 OS细胞增殖($P < 0.001$,图3B)。

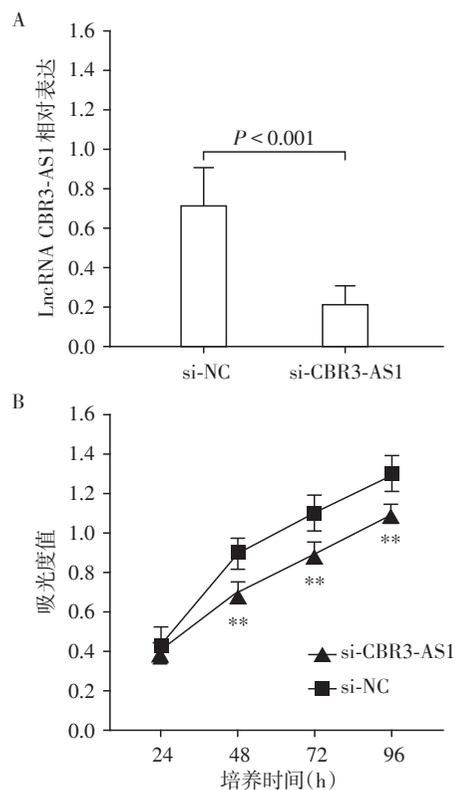
2.5 敲降LncRNA CBR3-AS1抑制骨肉瘤细胞迁移和侵袭、促进细胞凋亡

集落形成试验示 LncRNA CBR3-AS1 敲低可显著减少U-2 OS细胞的集落数($P < 0.001$,图4A)。细胞迁移和侵袭试验显示 LncRNA CBR3-AS1 敲低可

表2 影响骨肉瘤患者总生存率的单因素和多因素分析

Table 2 Univariate and multivariate analysis of prognostic factors for overall survival in osteosarcoma patients

临床参数	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P值	HR	95%CI	P值
年龄(≤18岁 vs. >18岁)	0.865	0.594~1.378	0.603	—	—	—
性别(女 vs. 男)	1.52	0.846~2.060	0.122	—	—	—
Enneking分期(II B~III vs. I~IIA)	4.483	2.564~7.155	<0.001	2.08	0.933~4.636	0.073
肿瘤大小(>8 cm vs. ≤8cm)	1.827	1.064~2.486	0.035	1.269	0.818~1.969	0.287
远处转移(有 vs. 无)	7.773	3.976~13.306	<0.001	4.108	2.169~7.780	<0.001
组织学分级(G3~G4 vs. G1~G2)	3.443	2.069~5.241	<0.001	1.596	0.803~3.171	0.182
肿瘤部位(股+胫骨 vs. 其他)	1.752	0.873~2.417	0.151	—	—	—
LncRNA CBR3~AS1 表达(高 vs. 低)	2.553	1.721~4.090	<0.001	1.558	1.041~2.641	0.013



A: 在U-2 OS细胞中通过qRT-PCR确认si-CBR3-AS1效率; B: 敲低LncRNA CBR3-AS1表达抑制骨肉瘤细胞增殖。与si-NC组比较, ** $P < 0.001$ 。

图3 敲低LncRNA CBR3-AS1后抑制骨肉瘤细胞增殖
Figure 3 Knockdown of LncRNA CBR3-AS1 suppresses osteosarcoma cells proliferation

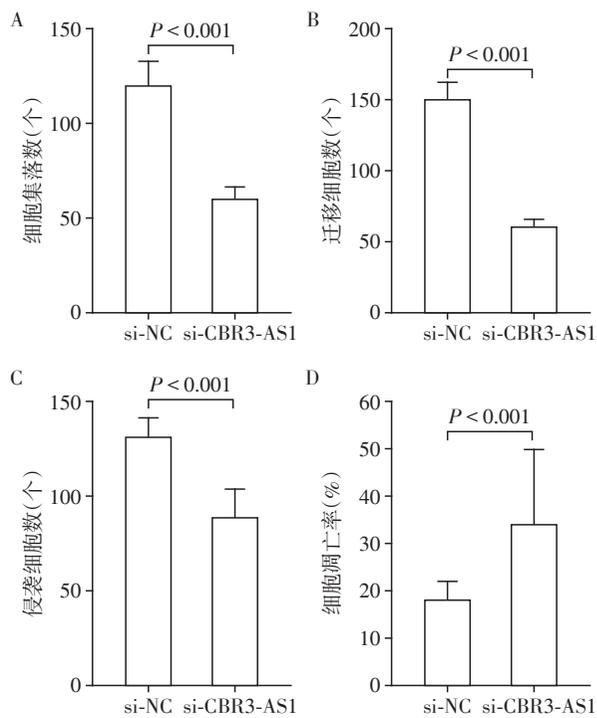
抑制U-2 OS细胞的迁移($P < 0.001$, 图4B)和侵袭能力($P < 0.001$, 图4C)。细胞凋亡检测显示转染si-RNA-CBR3-AS1后,U-2 OS细胞凋亡率高于对照组细胞($P < 0.001$, 图4D)。

2.6 LncRNA CBR3-AS1与CBR3表达的关系

在U-2 OS细胞系中敲降LncRNA CBR3-AS1,CBR3 mRNA表达量显著降低($P < 0.001$, 图5A), CBR3蛋白表达下调($P < 0.001$, 图5B)。骨肉瘤组织中LncRNA CBR3-AS1与CBR3 mRNA表达间呈正相关($r=0.44, P=0.036$, 图5C)。

3 讨论

骨肉瘤是青少年最常见的恶性骨肿瘤,发病率约为每100万人中6~8例,且有增加的趋势^[8]。由于骨肉瘤侵袭性强,主要经血液转移,预后较差,大部分患者发现时已进入晚期或者发生转移,缺乏有效的生物标志物^[9]。LncRNA CBR3-AS1是一种新LncRNA,位于CBR3的反义区域,首先被发现在前列腺癌细胞系和组织中过表达^[5]。随后在肝细胞癌、

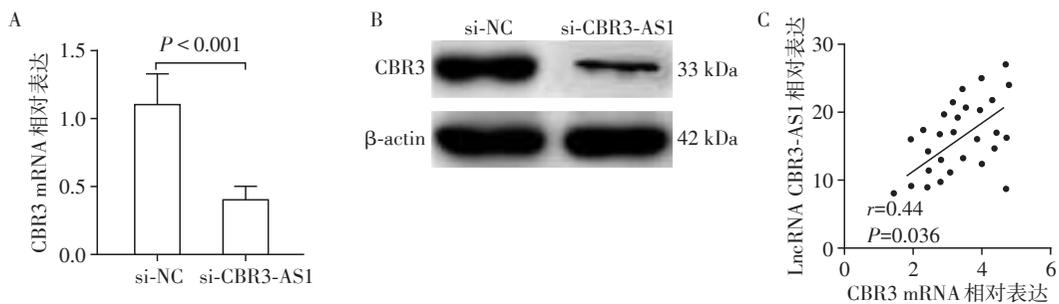


A: 与对照相比,敲低LncRNA CBR3-AS1表达减少骨肉瘤细胞集落形成; B: 敲低LncRNA CBR3-AS1抑制骨肉瘤细胞的迁移能力; C: 敲低LncRNA CBR3-AS1降低骨肉瘤细胞的侵袭能力; D: 敲低LncRNA CBR3-AS1诱导骨肉瘤细胞凋亡。

图4 敲低LncRNA CBR3-AS1抑制骨肉瘤细胞集落形成、迁移和侵袭,促进细胞凋亡
Figure 4 Knockdown of LncRNA CBR3-AS1 suppresses colony formation, migration and invasion, and promotes apoptosis of osteosarcoma cells

结直肠癌、食管鳞状细胞癌和胃癌中发现LncRNA CBR3-AS1过表达^[10]。本研究发现与癌旁组织和人成骨细胞系相比,LncRNA CBR3-AS1在骨肉瘤组织和细胞系中高表达,LncRNA CBR3-AS1表达与Enneking分期、远处转移和组织学分级显著相关,LncRNA CBR3-AS1高表达组患者表现出更高的恶性程度、分级和侵袭能力。肝细胞癌中LncRNA CBR3-AS1高表达与肿瘤大小、血管侵犯和TNM分期间存在显著正相关^[11],LncRNA CBR3-AS1高表达与结直肠癌患者TNM分期、肿瘤深度和淋巴结转移有关^[10],LncRNA CBR3-AS1高表达与食管癌临床分期和淋巴结转移显著相关^[12],上述报道联合本研究结果表明,LncRNA CBR3-AS1高表达与上述人类癌症中的恶性状态相关,提示LncRNA CBR3-AS1高表达可能为癌症患者不良预后的预测因子。

本研究发现在66例骨肉瘤患者中,其病理组织样本中LncRNA CBR3-AS1表达与总生存率存在相关性,LncRNA CBR3-AS1高表达患者总生存率显



A:U-2 OS细胞中LncRNA CBR3-AS1 敲低后 CBR3 mRNA 表达降低;B:U-2 OS 细胞 LncRNA CBR3-AS1 敲低后 CBR3 蛋白表达下降;C:骨肉瘤组织中 LncRNA CBR3-AS1 和 CBR3 mRNA 表达间呈正相关。

图5 骨肉瘤细胞系中 LncRNA CBR3-AS1 和 CBR3 之间的关系

Figure 5 The association between LncRNA CBR3-AS1 and CBR3 in osteosarcoma

著低于 LncRNA CBR3-AS1 低表达患者。同时,单因素和多因素模型分析显示 LncRNA CBR3-AS1 高表达是影响骨肉瘤患者预后的不良因素。在肝细胞癌患者中,Dong 等^[11]还发现 LncRNA CBR3-AS1 高表达的患者预后较差,且 LncRNA CBR3-AS1 高表达可作为独立的预后因子。

LncRNA CBR3-AS1 可参与细胞多种生物过程,如细胞凋亡、炎症反应和肿瘤发生^[13]。在前列腺癌细胞中,LncRNA CBR3-AS1 已被证实可作为癌基因,通过调节细胞周期蛋白-D1 调节细胞周期,通过转化生长因子 β 1(TGF- β 1)途径促进上皮细胞向间充质细胞转化过程,并通过人类表皮生长因子受体2(Her-2)途径诱导细胞凋亡^[14]。LncRNA CBR3-AS1 调节雄激素受体靶向微小 RNA,以保护雄激素受体免受微小 RNA 介导下调,且参与前列腺癌进展调节^[15]。在肝细胞癌中 LncRNA CBR3-AS1 表达敲低显著抑制体外细胞增殖、迁移、侵袭和上皮-间质转化过程,并抑制体内肿瘤的生长^[11]。LncRNA CBR3-AS1 的下调抑制肿瘤细胞增殖,促进食管鳞状细胞癌细胞凋亡^[12]。目前关于 LncRNA CBR3-AS1 在骨肉瘤中的生物学功能知之甚少,本研究表明 LncRNA CBR3-AS1 下调可抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,并促进细胞凋亡。

CBR3-AS1 在反向链和内含子区域中存在 CBR3 基因,本研究猜测 CBR3-AS1 和 CBR3 之间存在关联,CBR3-AS1 可调节 CBR3 表达^[16]。本研究在骨肉瘤组织中发现 CBR3-AS1 和 CBR3 mRNA 表达之间存在显著正相关,且敲低 LncRNA CBR3-AS1 可显著下调骨肉瘤细胞系中 CBR3 mRNA 和蛋白表达,其可能为 LncRNA CBR3-AS1 调节骨肉瘤细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的潜在机制。最新研究显示在乳腺癌患者中,CBR3 表达与雌激素基因表达相关,体

外研究发现其促进乳腺癌的发生^[17]。尽管如此,LncRNA CBR3-AS1 精确的调节机制尚需进一步研究。

综上,LncRNA CBR3-AS1 在骨肉瘤中表达增加,LncRNA CBR3-AS1 下调表达可抑制骨肉瘤细胞增殖、迁移和侵袭,并诱导凋亡,是影响骨肉瘤预后的独立危险因素。

本研究探讨骨肉瘤患者术后生存率纳入病例数目较少,尚需大样本数据探讨 LncRNA CBR3-AS1 表达与患者预后之间的关系;LncRNA CBR3-AS1 在动物体内的作用也值得进一步研究。

[参考文献]

- [1] LINDSEY B A, MARKEL J E, KLEINERMAN E S. Osteosarcoma overview [J]. *Rheumatol Ther*, 2017, 4(1): 25-43
- [2] 马方方,陆超. 干扰 AURKA 基因表达对人骨肉瘤细胞系 U2-OS 细胞增殖与细胞周期的影响[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(6): 670-675
- [3] HARRISON D J, GELLER D S, GILL J D, et al. Current and future therapeutic approaches for osteosarcoma [J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2018, 18(1): 39-50
- [4] KONDO Y, SHINJO K, KATSUSHIMA K. Long non-coding RNAs as an epigenetic regulator in human cancers [J]. *Cancer Sci*, 2017, 108(10): 1927-1933
- [5] 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
- [6] ZHANG A, ZHANG J, KAIPAINEN A, et al. Long non-coding RNA: A newly deciphered "code" in prostate cancer [J]. *Cancer Lett*, 2016, 375(2): 323-330
- [7] SWIER L J, DZIKIEWICZ-KRAWCZYK A, WINKLE M, et al. Intricate crosstalk between MYC and non-coding

(下转第 071 页)

- cation of patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention using a combination of serum soluble ST2 and NT-proBNP[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8):e0182829
- [12] 毛雅晶,凌 琳,叶家欣,等.急性心肌梗死患者血浆sST2水平与冠状动脉病变程度的相关性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(6):557-560
- [13] 季燕妮,陈燕春,赵祥海.急性冠脉综合征病人NT-proBNP水平与冠状动脉Gensini评分的相关性研究[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2017, 15(22):2934-2935
- [收稿日期] 2019-05-26

(上接第061页)

- RNAs regulates hallmarks of cancer [J]. *Mol Oncol*, 2019, 13(1):26-45
- [8] KUMAR R, KUMAR M, MALHOTRA K, et al. Primary osteosarcoma in the elderly revisited: current concepts in diagnosis and treatment [J]. *Curr Oncol Rep*, 2018, 20(2):13
- [9] 王文剑,于秀淳,韩 加,等.1 593例骨肉瘤流行病学及治疗的回顾性分析[J]. *中华骨科杂志*, 2018, 38(18):1097-1107
- [10] SONG W, MEI J Z, ZHANG M Z. Long noncoding RNA PlncRNA-1 promotes colorectal cancer cell progression by regulating the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Oncol Res*, 2018, 26(2):261-268
- [11] DONG L Y, NI J W, HU W H, et al. Upregulation of long non-coding RNA PlncRNA-1 promotes metastasis and induces epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2016, 38(2):836-846
- [12] WANG C M, WU Q Q, LI S Q, et al. Upregulation of the long non-coding RNA PlncRNA-1 promotes esophageal squamous carcinoma cell proliferation and correlates with advanced clinical stage [J]. *Dig Dis Sci*, 2014, 59(3):591-597
- [13] CHEN T, XUE H, LIN R, et al. MiR-34c and PlncRNA1 mediated the function of intestinal epithelial barrier by regulating tight junction proteins in inflammatory bowel disease [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 486(1):6-13
- [14] YANG Q, CUI Z L, WANG Q, et al. PlncRNA-1 induces apoptosis through the Her-2 pathway in prostate cancer cells [J]. *Asian J Androl*, 2017, 19(4):453-457
- [15] FANG Z Y, XU C, LI Y M, et al. A feed-forward regulatory loop between androgen receptor and PlncRNA-1 promotes prostate cancer progression [J]. *Cancer Lett*, 2016, 374(1):62-74
- [16] GAO P, WEI G H. Genomic insight into the role of lncRNAs in cancer susceptibility [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(6):1239
- [17] FARAMARZI S, DIANATPOUR A, GERANPAYEH L, et al. Expression analysis of CBR3-AS1 and androgen receptor genes in breast cancer [J]. *Meta Gene*, 2018, 17:82-87
- [收稿日期] 2019-05-08