doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.15.001

·基础研究·

长非编码 RNA SNHG18 对人胃癌细胞 BGC823 增殖和凋亡的影响 *

王 晶[1] 何学智[1] 鲁希夷[2] 张二宝[3] 苗登顺[1△]

（1 南京医科大学基础医学院人体解剖与组织胚胎学系 骨与干细胞研究中心 江苏 南京 211100；
2 南京医科大学附属第一医院肿瘤科 江苏 南京 210029；3 南京医科大学公共卫生学院流行病学与生物统计学系 江苏 南京 211100）

摘要 目的：探究长非编码 RNA SNHG18 对胃癌细胞增殖和凋亡的影响。**方法：**采用实时定量 PCR(qRT-PCR)技术检测人胃癌组织及癌旁组织和胃癌细胞系中 lncRNA SNHG18 的表达；采用 MTT 和克隆形成试验观察转染 SNHG18 过表达质粒后胃癌细胞 BGC823 增殖活力的变化；通过流式细胞术检测 lncRNA SNHG18 对胃癌细胞 BGC823 凋亡的影响。**结果：**相较于癌旁组织和胃正常粘膜上皮细胞系 GSE-1，胃癌组织及胃癌细胞系中 SNHG18 的表达水平显著降低($P<0.05$)；胃癌细胞过表达 SNHG18 增殖活力以及克隆形成的能力均显著降低($P<0.05$)，而细胞凋亡率明显升高($P<0.05$)。**结论：**胃癌组织中长非编码 RNA SNHG18 呈低表达，可促进胃癌细胞增殖并抑制其凋亡，可能在胃癌发生发展过程中发挥重要作用。

关键词：胃癌；lncRNA；SNHG18；细胞增殖；细胞凋亡

中图分类号：R-33；R735.2 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2019)15-2801-06

Effect of Long non-coding RNA SNHG18 on the Proliferation and Apoptosis of Gastric Cancer BGC823 Cell Line*

WANG Jing[1], HE Xue-zhi[1], LU Xi-yi[2], ZHANG Er-bao[3], MIAO Deng-shun[1△]

(1 Department of Anatomy, Histology and Embryology, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 211100, China;
2 Department of Oncology, The First Affiliated Hospital, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 210029, China;
3 Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu, 211100, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of long non-coding RNA SNHG18 on the proliferation and apoptosis of gastric cancer cells. **Methods:** Real-time quantitative PCR (qRT-PCR) was used to detect the expression of lncRNA SNHG18 in human gastric cancer tissues and adjacent normal tissues and gastric cancer cell lines. MTT and colony formation assays were used to observe the changes of proliferation activity of gastric cancer BGC823 cells after transfection of pcDNA-SNHG18. The effect of lncRNA SNHG18 on the apoptosis of gastric cancer cells was verified by flow cytometry. **Results:** Compared with paracancerous tissues and normal gastric mucosal epithelial cell line GSE-1, the expression of SNHG18 was down-regulated in gastric cancer tissues and gastric cancer cell lines ($P<0.05$); and over expression SNHG18 in gastric cancer cells could inhibit the proliferation of gastric cancer cell line BGC823 and promote apoptosis of BGC823 cells. **Conclusions:** The expression of long non-coding RNA SNHG18 is down-regulated in the gastric cancer tissues, which may play an important role in the regulation of proliferation and apoptosis of gastric cancer BGC823 cells.

Key words: Gastric cancer; LncRNA; SNHG18; Cell proliferation; Cell apoptosis

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R735.2 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2019)15-2801-06

前言

恶性肿瘤已成为全球范围内仅次于心脑血管疾病的第二大死因[6]，其中胃癌是目前世界上最常见的恶性肿瘤之一。近年来，功能基因组学的飞速发展将越来越多的目光聚焦到非编码转录产物的研究，其中存在着一类长度大于 200 nt，但并不具备编码功能蛋白质的 RNA，即长非编码 RNA(long noncoding RNAs, lncRNAs)[1,2]，很多 lncRNAs 能参与调节疾病表观基因组和基因组表达[3]，包括肿瘤的恶性和临床进展[4,5]。研究表明 lncRNAs 参与肿瘤细胞周期调控、肿瘤恶性增殖、肿瘤侵袭与转移等过程，并与肿瘤化疗药物耐药性相关[7-9]。因此，阐明 lncRNA 在胃癌细胞增殖及转移过程中的作用和分子机制，能为临床上胃癌恶性进展诊断及发病机制提供一定的参考依据。LncRNA SNHG18(small nucleolar RNA host gene 18)位于人类第 5 号染色体，其转录本长 1503 bp。既往研究表明 LncRNA SNHG18 在肝细胞癌中作为肿瘤抑制因子并可作为肝癌的独立诊断指标[10]，但其在胃癌中的作用角色尚未被研究。本研究首先采用实时荧光定量 PCR 检测 SNHG18 在胃癌组织和胃癌

* 基金项目：国家自然科学基金重点项目(81730066)；中国江苏省研究生研究创新计划(KYCX17_1301)

作者简介：王晶(1993-)，女，硕士，主要研究方向：RNA 组学与肿瘤，电话：18851723665，E-mail: wangjing701109@163.com

△ 通讯作者：苗登顺，教授，主要研究方向：衰老与肿瘤，E-mail: miaonjmu@sina.com

(收稿日期：2019-04-01 接受日期：2019-04-22)

细胞系中的表达,并利用在线数据网站探究其与胃癌患者预后之间的关系,再通过构建过表达质粒提高胃癌细胞中 SNHG18 表达水平，探讨其对胃癌细胞增殖和凋亡的影响，以期明确 SNHG18 在胃癌中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

胃癌细胞系(BGC823、SGC7901)以及正常胃粘膜上皮细胞系(GES-1)均购于中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库。胃癌配对的肿瘤组织及相邻癌旁组织样本从 2017 年 4 月至 2018 年 4 月取自江苏省人民医院确诊为胃癌并接受手术治疗的患者,并经过病理科严格鉴定为胃癌。本课题研究通过了南京医科大学伦理委员会的同意,并得到了所有取样患者的知情同意。所有的组织取下后立即置于液氮中,并放于 -86 ℃超低温冰箱储存，直至提取组织样本的 RNA。培养细胞的 RPMI 1640 及 DMEM 培养基、TRIzol 试剂均购买于美国 Invitrogen 公司；逆转录及实时定量 PCR 试剂盒购买于日本 Takara 公司(货号:RR820A);转染试剂 X-tremeGENE 购于中国上海罗氏公司;细胞凋亡试剂盒购买于美国 BD 公司。

1.2 方法

1.2.1 胃癌细胞的培养 BGC823 细胞需要培养在含有 10 % 胎牛血清(10 % FBS)的 RPMI 1640 培养基中,贴壁生长;在培养基中可根据需要添加双抗 (100 U / mL 青霉素和 100 mg/mL 链霉素)。细胞常规培养在含有 5 % CO_2 的 37 ℃恒温培养箱中,平均每 2-3 天更换成新的培养基,当培养皿中细胞融合度达到 80 %-90 %时,按 1:3 或 1:4 的比例进行细胞传代。

1.2.2 实时定量 PCR 提取胃癌组织及细胞的总 RNA，根据 NCBI-Gene 提供的基因序列,设计并合成 lncRNA SNHG18 和内参 GAPDH 的引物。SNHG18 上游引物:5'-GGGCTGCTT-TATTGCTCACC-3',下游引物:5'-TGAAATCCAAGTGGAGG-GGC-3';GAPDH 上游引物:5'-GGGAGCCAAAAGGGTCAT-3',下游引物:5'-GAGTCCTTCCACGATACCAA-3'。实时荧光定量 PCR 反应体系 20 μL:ddH_2O 6.0 μL、模板 cDNA 2.0 μL、上游引物 0.8 μL、下游引物 0.8 μL、ROX Reference Dye (50×) 0.4 μL、SYBR 10.0 μL,每个样本设置 3 个复孔。反应条件为:第一阶段预变性 95 ℃ 30 s，第二阶段 95 ℃ 5 s,60 ℃ 30 s 进行 40 个循环。每个模板的 Ct 值与该模板的起始拷贝数的对数存在线性关系,起始拷贝数越多,Ct 值越小。

1.2.3 质粒的构建与转染 根据 NCBI-Gene 提供的人类 SNHG18 基因的全长转录本序列，插入到真核表达载体 pcDNA3.1+ 中,构建 SNHG18 过表达质粒 pcDNA- SNHG18,将上述质粒转化为大肠杆菌,并加入至液体 LB 培养基中,同时加入适当比例的相应抗生素,匀速 200 r/min 摇晃菌液,使菌体扩增培养。约 14-16 小时,待菌液浑浊,根据去除内毒素的质粒提取试剂盒(E.Z.N.A.® Endo-Free Plasmid Mini Kit Ⅱ,OMEGA)提取质粒后保存于 -20℃冰箱用于后续试验。按每孔 2× 10^5 个细胞 /mL 的密度将肿瘤细胞接种在六孔板中培养,待细胞贴壁后,每孔转染 4 μg 质粒。转染质粒时,首先将 BGC823 细胞分为两组,分别为阴性对照组和 SNHG18 过表达组,标记为 Empty vector 和 pcNDA-SNHG18。运用转染试剂 X-tremeGENE 进行细胞转染,步骤参照试剂说明书。转染后置于细胞培养箱中继续培养以待后续实验。

1.2.4 MTT 实验 将转染后 24 h 的细胞接种于 96 孔培养板中,每孔约 2000-3000 个细胞;待 80%的细胞贴壁后,使细胞同步化 12 h,弃去原有培养基。每个样品在 96 孔板中设置 6 个复孔,每孔总反应体积为 200 μL;设置 0 h、24 h、48 h、72 h、96 h 五个时间点,每孔加入 20 μL 的 MTT 反应液(5 mg/mL,溶于无菌 PBS),37 ℃避光孵育 4 h。4 h 后弃去上清液,每孔加入 150 μL 二甲亚砜 (DMSO)，振荡混匀后使用酶联免疫检测仪测定 490 nm 波长处的吸光度。

1.2.5 平板克隆形成实验 将六孔板中转染后 24 h 的细胞,选择适当的细胞密度(600-1000 个 /mL)接种于六孔板中,吹打混匀成单细胞悬液,使细胞分散均匀分布在六孔板中,每个样品准备三个副孔。放入培养箱中培养,每 5 天更换成新鲜的完全培养基，培养 10-14 天,7 天后注意每天观察克隆形成状态;当培养皿中出现肉眼可见的细胞克隆斑点时,终止培养。弃去培养液,六孔板每孔加入 1 mL 纯甲醇,固定细胞;30 min 后弃去甲醇,每孔加入 1 mL 0.1 %结晶紫染色液进行细胞染色。染 20-30 min 后,用 PBS 缓慢冲洗六孔板,直至洗去染色液,倒扣于室温空气干燥。将六孔板倒置在看片灯上,用数码相机进行拍照,并在计算机上对图片进行计数或用显微镜观察六孔板直接计出克隆斑点的数目。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡 取转染后 36-48 h 的对照组及实验组的细胞(包括细胞培养上清液,注意使用不含 EDTA 的胰酶消化细胞),吹打混匀成细胞悬液,转移至标记好的流式管中,离心机调整为 1500× g,低速离心 5 min。弃去上清,加入预冷的 PBS 清洗 2 次,小心吸尽细胞沉淀上残留的 PBS(可用纸吸尽),涡旋振荡 30 s,使细胞成均匀悬浮液。每管加入 200 μL 含钙离子的结合缓冲液,再加入 5 μL Annexin V-FITC 荧光探针和 5 μL 的碘化丙锭(PI),轻轻振荡混匀,避光孵育 15 min。最后加入 400 μL 结合缓冲液,涡旋振荡混匀后,上流式细胞仪利用 FL1 和 FL3 双通道波长检测。

1.3 统计学分析

实验数据皆用 SPSS17.0 软件分析，以三次试验的平均值± 标准误表示,组间差异用双尾 Student's t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LncRNA SNHG18 在胃癌组织及胃癌细胞中低表达

我们在收集的 10 对胃癌组织及其配对的癌旁组织中检测 SNHG18 的表达，结果显示相较于邻近正常组织,lncRNA SNHG18 在胃癌组织中呈现低表达(图 1)。我们进一步在胃正常黏膜细胞系 GES-1 和胃癌细胞系 BGC823 及 SGC7901 中检测 SNHG18 的表达，结果显示 SNHG18 在胃癌细胞系中表达水平低于为正常黏膜细胞系,且在 BGC823 细胞中的表达水平最低(图 2)。我们推测低表达的 lncRNA SNHG18 在肿瘤的恶性增殖中发挥了重要作用。为了探究 SNHG18 的临床意义,我们进一步通过分析在线网站 kmplot(http://kmplot.com/analysis/index.php?p=service&cancer=gastric)，发现 SNHG18 高表达的患者比 SNHG18 低表达的病人预后较好(图 3)。

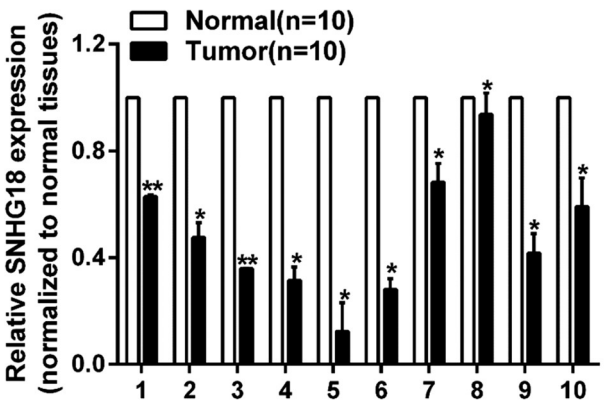

图 1 10 对胃癌及癌旁组织中 SNHG18 的表达情况

Fig.1 Expression of SNHG18 in 10 pairs of gastric cancer and adjacent tissues

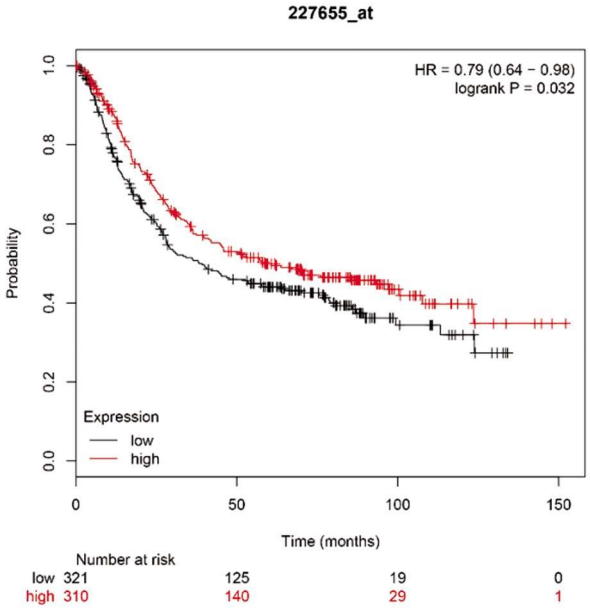

图 2 SNHG18 表达水平的降低预示着胃癌患者的不良预后

Fig.2 Decreased expression of SNHG18 predicts poor prognosis in patients with gastric cancer

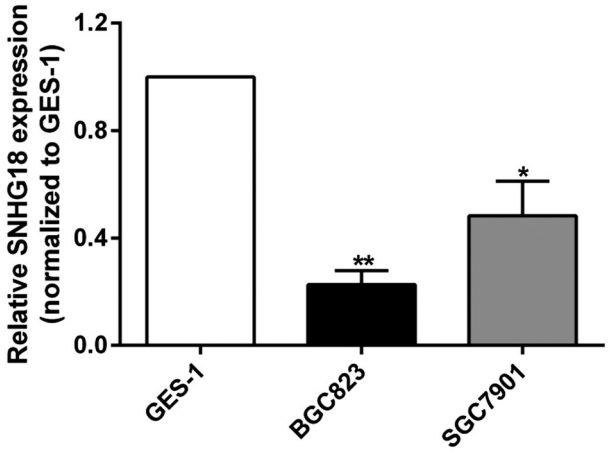

图 3 SNHG18 在胃癌细胞及胃正常黏膜细胞系中的表达

Fig.3 Expression of SNHG18 in the gastric cancer cells and normal gastric mucosal cell GES-1

2.2 在 BGC823 细胞中上调 SNHG18 的表达

为了探究 SNHG18 在胃癌细胞 BGC823 中发挥的作用，我们构建了 SNHG18 的过表达质粒，通过转染外源性上调 BGC823 细胞中 SNHG18 的水平，以 pcDNA 作为对照，时并通过实时定量 PCR 检测转染效率。结果显示转染 SNHG18 过表达质粒组的 BGC823 细胞中，SNHG18 的表达水平上调了 1244 倍(图 4)，证实外源性的过表达的效果显著。

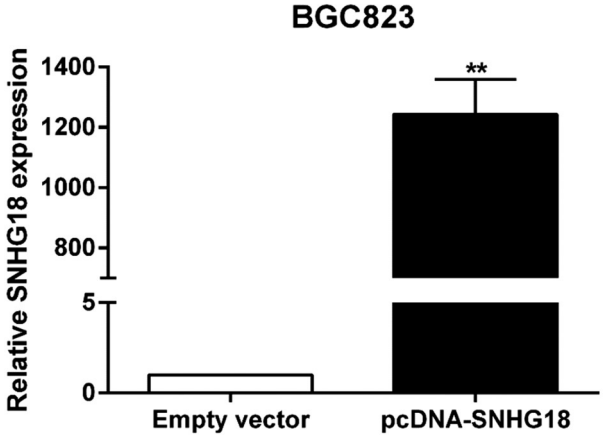

图 4 在胃癌细胞 BGC823 中过表达 SNHG18 的水平

Fig.4 Overexpression of SNHG18 in gastric cancer cell line BGC823

2.3 过表达 SNHG18 对 BGC823 胃癌细胞增殖的影响

为了检测 SNHG18 对胃癌细胞细胞恶性增殖的影响，我们进行了 MTT 及克隆形成实验探究转染 SNHG18 过表达质粒之后，胃癌细胞的增殖活力。MTT 结果显示相较于对照组，过表达 SNHG18 细胞的增殖活力明显降低(图 5)，且克隆形成能力减弱(图 6)。

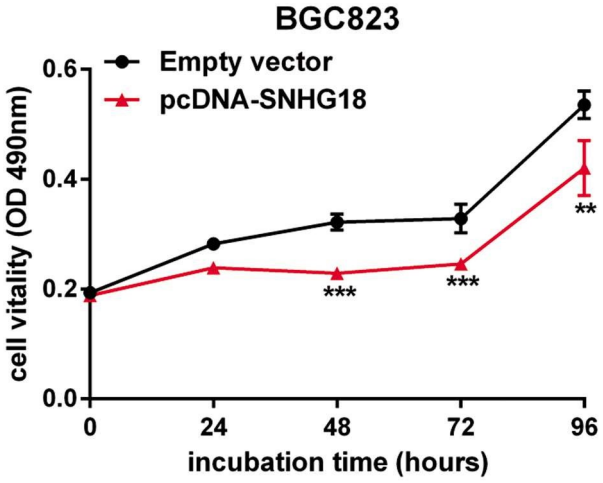

图 5 MTT 实验检测过表达 SNHG18 对 BGC823 细胞增殖活力的影响

Fig.5 Effects of overexpression SNHG18 on the proliferation of BGC823 cells by MTT assay

2.4 过表达 SNHG18 对 BGC823 胃癌细胞凋亡的影响

一般认为恶性转化的肿瘤细胞是因为失控生长，过度增殖。从细胞凋亡的角度看则认为是肿瘤的凋亡机制受到抑制不能正常进行细胞死亡清除的结果。为了检测 SNHG18 对胃癌细胞凋亡的影响，运用流式细胞术检测细胞凋亡，结果显示过表达 SNHG18 能促进胃癌细胞 BGC823 的细胞凋亡(图 7)。

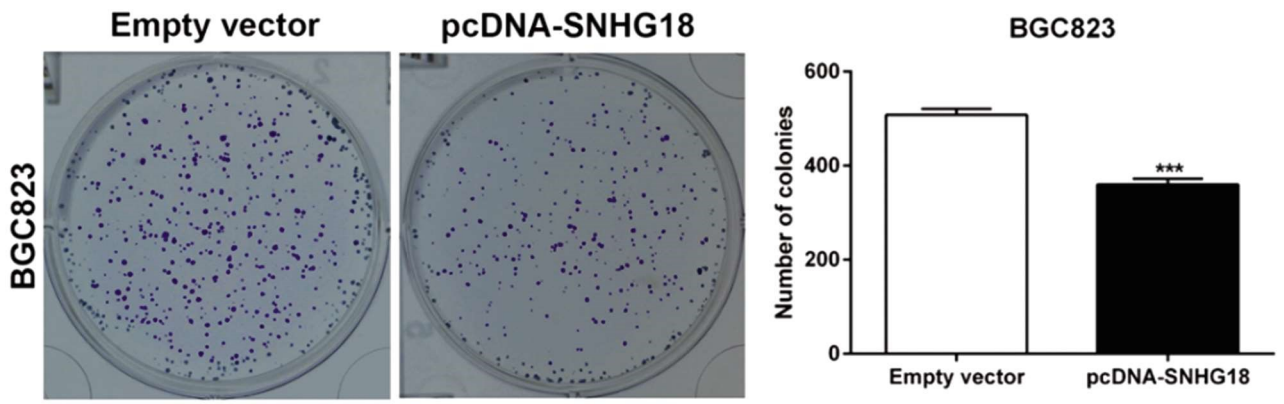

图 6 平板克隆形成实验检测过表达 SNHG18 后对 BGC823 细胞增殖的影响

Fig.6 Effects of overexpression SNHG18 on the proliferation of BGC823 cells by colony formation assay

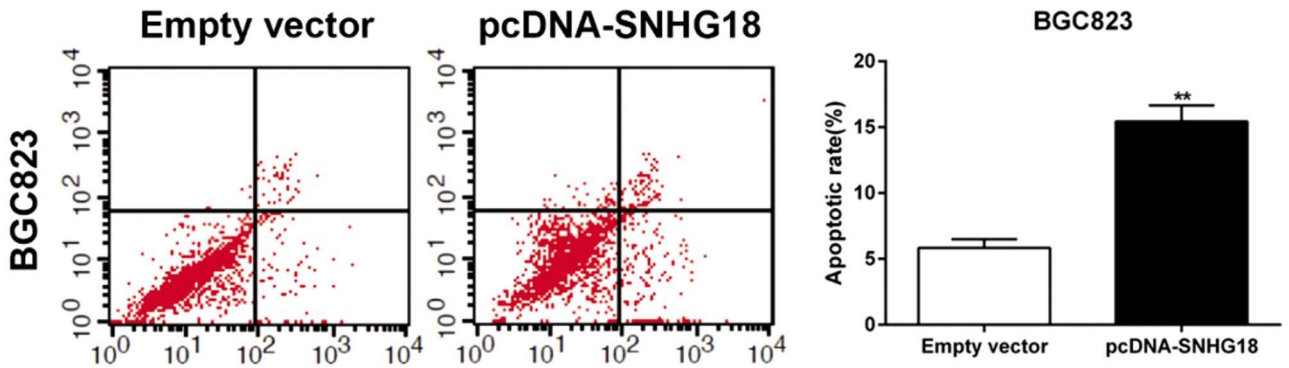

图 7 流式细胞术检测过表达 SNHG18 对胃癌细胞 BGC823 细胞凋亡的影响

Fig.7 Effects of SNHG18 overexpression on the apoptosis of BGC823 cells detected by flow cytometry

3 讨论

全球大约 2/3 的胃癌发生在发展中国家，而我国每年新发病例约 67 万例，占全世界病例的 42%左右，死亡率为欧美发达国家的 4-8 倍，是目前严重威胁我国人民健康和生命的癌症之一[11]。在临床诊断中，由于胃癌的早期临床症状并不典型，并且患者确诊时多以进展期胃癌为主，常伴有胃癌向淋巴结和腹腔内侵袭、转移[12]。目前研究认为胃癌发生发展是多基因网络调控、多步骤和多阶段发生发展的主动过程，已发现多种蛋白编码基因在胃癌中表达异常，包括 p53、Rb、CDKN2A、APC 等抑癌基因的失活和 Myc、Jun、Bcl-2 等原癌基因的激活等[9,13,14]。但迄今为止，胃癌的发病因素仍未完全清楚。

近年来，应用新一代癌症转录组测序揭示了数千种 lncRNAs，越来越多的研究表明 lncRNAs 的异常表达与不同的癌症类型相关[15]。这些 lncRNAs 在基因调控中具有关键作用，因此影响肿瘤细胞稳态的各个方面，包括细胞增殖、凋亡、迁移或基因组稳定性[16-19]。在功能上有一部分与肿瘤的恶性转化有关[20-22]。Zhang 等发现在食管鳞状细胞癌中上调的非编码 RNA SNHG6 可促进癌细胞恶性增殖并具有一定的临床诊断价值[23]。长非编码 RNA HCP5 通过激活 ZEB1 和与 miR-139-5p 的相互作用而促进结直肠癌的上皮 - 间质转化，从而加速肿瘤的恶性进展[24]。LncRNA MEG3 通过 p53 信号通路抑制胃癌的增殖和转移[25]。因此，鉴定与肿瘤相关的 lncRNAs，并深入研究其在肿瘤细胞恶性增殖、恶性进展中的作用及潜在机制成为当务之急。lncRNA 不仅有可能作为肿瘤诊断的标志物，还有可能作为肿瘤治疗的新方向[26]，为临床上胃癌治疗和诊断提供新的思路及策略。

在本研究中，我们探究了 lncRNA SNHG18 在胃癌恶性进展中的作用。LncRNA SNHG18 位于人类第 5 号染色体，其转录本长 1503 bp，已有文献报道，LncRNA SNHG18 在肝细胞癌中作为肿瘤抑制因子并可作为肝癌的独立诊断指标[10]，但其在胃癌中的作用角色尚未被研究。首先我们通过 TCGA 在线数据网站 GEPIA(http://gepia.cancer-pku.cn/)对 SNHG18 在各种肿瘤中的表达水平进行分析，发现 SNHG18 在多种肿瘤中差异表达，相较于邻近正常组织，其在大部分肿瘤组织中呈现低表达水平。我们进一步在收集的 10 对胃癌组织及其配对的癌旁组织中检测 SNHG18 的表达，结果显示 SNHG18 在胃癌组织及胃癌细胞中低表达。同时我们还检测了为正常黏膜细胞系 GES-1 和胃癌细胞系 BGC823 及 SGC7901 中 SNHG18 的表达，结果显示 SNHG18 在胃癌细胞系中表达水平低于为正常黏膜细胞系。我们推测低表达的 lncRNA SNHG18 在肿瘤的恶性增殖中发挥了重要作用。为了探究 SNHG18 的临床意义，我们进一步通过分析在线网站 kmplot(http://kmplot.com/analysis/index.php?p=service&cancer=gastric)发现 SNHG18 高表达的患者预后好于 SNHG18 低表达的病人。因此，我们推测 SNHG18 在胃癌的发生发展中起到重要的抑癌基因的作用。

但 SNHG18 在胶质瘤中被报道发挥的是类似癌基因的作用，并促进了肿瘤的放射抗性[27]，这说明同一个 lncRNA 在不同的肿瘤中发挥的作用可能不同。既往就有文献报道一种定位于细胞质中的 lncRNA SPRY4-IT1 在不同的肿瘤中发挥着截然

相反的作用。在食管癌和膀胱癌中,SPRY4-IT1 发挥的是类似癌基因的作用,可以促进食管癌和膀胱癌细胞的增殖、侵袭和转移,并可成为肿瘤诊断的新型生物标志物[28,29]。在胆管癌中,lncRNA SPRY4-IT1 受转录因子 SP1 的转录激活,高表达的 SPRY4-IT1 通过 EZH2/LSD1/DNMT1 蛋白复合体和海绵吸附 miR-101-3p 在胆管癌中发挥致癌特性[30]。但在胃癌中,SPRY4-IT1 发挥的则是类似抑癌基因的作用,降低 SPRY4-IT1 的表达导致胃癌细胞的恶性转移[31]。这些研究结论说明同一个 lncRNA 在不同的肿瘤中发挥的作用可能不同甚至完全相反。

一般认为恶性转化的肿瘤细胞是因为失控生长,过度增殖。我们通过在胃癌细胞中过表达 SNHG18 的表达,进行 MTT 以及克隆形成实验,发现过表达 SNHG18 能显著抑制胃癌细胞 BGC823 的恶性增殖。从细胞凋亡的角度,肿瘤的凋亡机制受到抑制不能正常进行细胞死亡清除的结果。研究表明 lncRNA 在肿瘤细胞凋亡受抑制中也发挥了重要的作用。Wang 等[32]发现 LncRNA SNHG7 通过抑制肿瘤抑制因子 p15 和 p16 的表达从而促进胃癌细胞的增殖和抑制细胞凋亡。LncRNA CDKN2B-AS1 能够促进宫颈癌细胞转移并促抑制癌细胞的凋亡和衰老[33]。我们在胃癌细胞中过表达 SNHG18,检测其对胃癌细胞凋亡的影响,结果显示过表达 SNHG18 能够够促进肿瘤细胞 BGC823 的凋亡。

综上所述,胃癌组织中长非编码 RNA SNHG18 呈低表达,可促进胃癌细胞增殖并抑制其凋亡,可能在胃癌细胞中发挥类似抑癌基因的作用,参与胃癌的恶性进程,其可作为潜在的胃癌患者的预后和生存指标。现阶段关于肿瘤中差异表达的 lncRNA 多为在肿瘤组织和癌细胞中高表达的 lncRNA,即发挥癌基因角色的 lncRNA[34-36],而在肿瘤组织和癌细胞中低表达的 lncRNA 则研究较少[37]。本研究的研究对象 SNHG18 就是在胃癌组织和细胞中表达下调的 lncRNA,首次证实 SNHG18 在胃癌的恶性进展中起抑癌基因的作用。但 SNHG18 对于胃癌细胞侵袭转移的影响及具体机制还需要进一步研究。同时,还需继续扩大临床研究的样本量,进一步确认 SNHG18 作为胃癌的诊断和预后分子标志物所发挥的重要作用。

参 考 文 献(References)

[1] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. Nat Rev Genet, 2009, 10: 155-159

[2] Derrien T, Johnson R, Bussotti G, et al. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression [J]. Genome Res, 2012, 22: 1775-1789

[3] Beckedorff FC, Amaral MS, Deocesano-Pereira C, et al. Long non-coding RNAs and their implications in cancer epigenetics [J]. Biosci Rep, 2013, 33

[4] Cheetham SW, Gruhl F, Mattick JS, et al. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer [J]. Br J Cancer, 2013, 108: 2419-2425

[5] Niazi F, Valadkhan S. Computational analysis of functional long noncoding RNAs reveals lack of peptide-coding capacity and parallels with 3' UTRs [J]. RNA, 2012, 18: 825-843

[6] Perlikos F, Harrington KJ, Syrigos KN. Key molecular mechanisms in lung cancer invasion and metastasis: a comprehensive review [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2013, 87: 1-11

[7] Wang L, Ma L, Xu F, et al. Role of long non-coding RNA in drug resistance in non-small cell lung cancer [J]. Thorac Cancer, 2018, 9: 761-768

[8] Milne AN, Carneiro F, O'Morain C, et al. Nature meets nurture: molecular genetics of gastric cancer [J]. Hum Genet, 2009, 126: 615-628

[9] Gou WF, Shen DF, Yang XF, et al. ING5 suppresses proliferation, apoptosis, migration and invasion, and induces autophagy and differentiation of gastric cancer cells: a good marker for carcinogenesis and subsequent progression [J]. Oncotarget, 2015, 6: 19552-19579

[10] Sun CC, Li SJ, Chen ZL, et al. Expression and Prognosis Analyses of Runt-Related Transcription Factor Family in Human Leukemia [J]. Mol Ther Oncolytics, 2019, 12: 103-111

[11] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65: 87-108

[12] Miller KD, Siegel RL, Lin CC, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016 [J]. CA Cancer J Clin, 2016, 66: 271-289

[13] Xu SH, Huang JZ, Chen M, et al. Amplification of ACK1 promotes gastric tumorigenesis via ECD-dependent p53 ubiquitination degradation [J]. Oncotarget, 2017, 8: 12705-12716

[14] Lv H, Liu R, Fu J, et al. Epithelial cell-derived periostin functions as a tumor suppressor in gastric cancer through stabilizing p53 and E-cadherin proteins via the Rb/E2F1/p14ARF/Mdm2 signaling pathway [J]. Cell Cycle, 2014, 13: 2962-2974

[15] Huarte M. The emerging role of lncRNAs in cancer [J]. Nat Med, 2015, 21: 1253-1261

[16] Luo H, Xu C, Le W, et al. lncRNA CASC11 promotes cancer cell proliferation in bladder cancer through miRNA-150 [J]. J Cell Biochem, 2019[Epub ahead of print]

[17] Sha QK, Chen L, Xi JZ, et al. Long non-coding RNA LINC00858 promotes cells proliferation, migration and invasion by acting as a ceRNA of miR-22-3p in colorectal cancer [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47: 1057-1066

[18] Lei T, Zhu X, Zhu K, et al. EGR1-induced upregulation of lncRNA FOXD2-AS1 promotes the progression of hepatocellular carcinoma via epigenetically silencing DKK1 and activating Wnt/beta-catenin signaling pathway [J]. Cancer Biol Ther, 2019, 1-10

[19] Zhang L, Dong Y, Wang Y, et al. Long noncoding RNAs in ocular diseases: New and potential therapeutic targets [J]. FEBS J, 2019 [Epub ahead of print]

[20] Gu Y, Chen T, Li G, et al. LncRNAs: emerging biomarkers in gastric cancer [J]. Future Oncol, 2015, 11: 2427-2441

[21] Li Z, Dong M, Fan D, et al. LncRNA ANCR down-regulation promotes TGF-beta-induced EMT and metastasis in breast cancer [J]. Oncotarget, 2017, 8: 67329-67343

[22] Liu C, Wang L, Li Y, et al. Long non-coding RNA CHRF promotes proliferation and mesenchymal transition (EMT) in prostate cancer cell line PC3 requiring up-regulating microRNA-10b [J]. Biol Chem, 2018[Epub ahead of print]

[23] Zhang Y, Li R, Ding X, et al. Upregulation of long non-coding RNA SNHG6 promote esophageal squamous cell carcinoma cell malignancy and its diagnostic value [J]. Am J Transl Res, 2019, 11: 1084-1091

[24] Yang C, Sun J, Liu W, et al. Long noncoding RNA HCP5 contributes to epithelial-mesenchymal transition in colorectal cancer throu gh ZEB1 activation and interacting with miR-139-5p [J]. Am J Transl Res, 2019, 11: 953-963

[25] Wei GH, Wang X. lncRNA MEG3 inhibit proliferation and metastasis of gastric cancer via p53 signaling pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21: 3850-3856

[26] Li Y, Zhao J, Yu S, et al. Extracellular Vesicles Long RNA Sequencing Reveals Abundant mRNA, circRNA, and lncRNA in Human Blood as Potential Biomarkers for Cancer Diagnosis [J]. Clin Chem, 2019[Epub ahead of print]

[27] Zheng R, Yao Q, Ren C, et al. Upregulation of Long Noncoding RNA Small Nucleolar RNA Host Gene 18 Promotes Radioresistance of Glioma by Repressing Semaphorin 5A [J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2016, 96: 877-887

[28] Zhao XL, Zhao ZH, Xu WC, et al. Increased expression of SPRY4-IT1 predicts poor prognosis and promotes tumor growth and metastasis in bladder cancer [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8: 1954-1960

[29] Cui F, Wu D, He X, et al. Long noncoding RNA SPRY4-IT1 promotes esophageal squamous cell carcinoma cell proliferation, invasion, and epithelial-mesenchymal transition [J]. Tumour Biol, 2016, 37: 10871-10876

[30] Xu Y, Yao Y, Jiang X, et al. SP1-induced upregulation of lncRNA SPRY4-IT1 exerts oncogenic properties by scaffolding EZH2/LSD1/DNMT1 and sponging miR-101-3p in cholangiocarcinoma [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37: 81

[31] Xie M, Nie FQ, Sun M, et al. Decreased long noncoding RNA SPRY4-IT1 contributing to gastric cancer cell metastasis partly via affecting epithelial-mesenchymal transition [J]. J Transl Med, 2015, 13: 250

[32] Wang MW, Liu J, Liu Q, et al. LncRNA SNHG7 promotes the proliferation and inhibits apoptosis of gastric cancer cells by repressing the P15 and P16 expression [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21: 4613-4622

[33] Zhu L, Zhang Q, Li S, et al. Interference of the long noncoding RNA CDKN2B-AS1 upregulates miR-181a-5p/TGFbetaI axis to restrain the metastasis and promote apoptosis and senescence of cervical cancer cells [J]. Cancer Med, 2019[Epub ahead of print]

[34] Mu Z, Dong D, Wei N, et al. Silencing of lncRNA AFAP1-AS1 inhibits cell growth and metastasis in clear cell renal cell carcinoma [J]. Oncol Res, 2019[Epub ahead of print]

[35] Zhang L, Liu SK, Song L, et al. SP1-induced up-regulation of lncRNA LUCAT1 promotes proliferation, migration and invasion of cervical cancer by sponging miR-181a [J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47: 556-564

[36] Jafari-Oliayi A, Asadi MH. SNHG6 is upregulated in primary breast cancers and promotes cell cycle progression in breast cancer-derived cell lines [J]. Cell Oncol (Dordr), 2019[Epub ahead of print]

[37] Sellers ZP, Bolkun L, Kloczko J, et al. Increased methylation upstream of the MEG3 promotor is observed in acute myeloid leukemia patients with better overall survival [J]. Clin Epigenetics, 2019, 11: 50

（上接第 2817 页）

[19] Wang M, Su P. The role of the Fas/FasL signaling pathway in environmental toxicant-induced testicular cell apoptosis: An update [J]. Systems Biology in Reproductive Medicine, 2018, 64(2): 1-10

[20] He L, Ren Y, Zheng Q, et al. Fas-associated protein with death domain (FADD) regulates autophagy through promoting the expression of Ras homolog enriched in brain (Rheb) in human breast adenocarcinoma cells[J]. Oncotarget, 2016, 7(17): 24572-24584

[21] Russo A, Cardile V, Graziano A C E, et al. Involvement of Bax and Bcl-2 in Induction of Apoptosis by Essential Oils of Three Lebanese Salvia Species in Human Prostate Cancer Cells[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(1)

[22] Opferman J T, Kothari A. Anti-apoptotic BCL-2 family members in development[J]. Cell Death & Differentiation, 2018, 25(1): 37-45

[23] Xie Z Y, Chen L, Zhang C, et al. Acid-Sensing Ion Channel 1a Regulates Fate of Rat Nucleus Pulposus Cells in Acid Stimulus Through Endoplasmic Reticulum Stress [J]. Biores Open Access, 2018, 7(1): 2-9

[24] Yue B, Lin Y, Ma X, et al. Effect of Survivin gene therapy via lentivirus vector on the course of intervertebral disc degeneration in an in vivo rabbit model[J]. Molecular Medicine Reports, 2016, 14(5): 4593-4598

[25] Xie Z Y, Chen L, Wang F, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Is Involved in Nucleus Pulposus Degeneration and Attenuates Low pH-Induced Apoptosis of Rat Nucleus Pulposus Cells [J]. Dna & Cell Biology, 2017, 36(8): 627

[26] 贺斌, 陶海鹰, 卫爱林,等. 线粒体途径在吡咯喹啉醌抑制氧化应激诱导施万细胞凋亡中的作用 [J]. 中华整形外科杂志, 2017, 33(1): 43-48

[27] 杨联军, 朱立新, 董为人,等. 氧化应激诱导髓核细胞凋亡中细胞内活性氧及线粒体膜电位的变化 [J]. 实用医学杂志, 2014, 30(2): 193-195

[28] Yang S D, Ma L, Yang D L, et al. Combined effect of 17β-estradiol and resveratrol against apoptosis induced by interleukin-1β in rat nucleus pulposus cells via PI3K/Akt/caspase-3 pathway [J]. Peerj, 2016, 4(10): e1640

[29] 溶酶体与线粒体途径在局麻药诱导兔椎间盘细胞死亡中的作用研究[D]. 华中科技大学, 2016

[30] Wang J, Chen H, Cao P, et al. Inflammatory cytokines induce caveolin-1/β-catenin signalling in rat nucleus pulposus cell apoptosis through the p38 MAPK pathway [J]. Cell Proliferation, 2016, 49(3): 362-372

[31] 线粒体凋亡通路在氧化应激诱导大鼠髓核细胞凋亡中的作用研究[D]. 南方医科大学, 2014