DOI:10.16016/j.1000-5404.201508089

过表达长链非编码 RNA H19 促进 miR-124-3p 表达抑制肝癌细胞增殖

吕细林[1],黄 刚[1],肖 曼[2],刘孟刚[3],陈玥琦[4],张 楠[1],张 艳[1],何凤田[1] (400038 重庆,第三军医大学:基础医学部生物化学与分子生物学教研室[1],学员旅 15 营[4];570102 海口,海南医学院理学院生物化学与分子生物学教研室[2];400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所肝胆外科[3])

[摘要] **目的** 探讨长链非编码 RNA H19(long non-coding RNA H19, lncRNA H19)对 miR-124-3p 表达的影响及在肝癌细胞增殖中的作用。**方法** Real-time PCR 检测肝癌细胞系及临床标本中 lncRNA H19 和 miR-124-3p 的表达;在肝癌细胞系 HepG2 和 SMMC7721 中过表达 lncRNA H19,Real-time PCR 检测 miR-124-3p 及其靶基因 cyclinD1 的表达;Western blot 检测 cyclinD1 蛋白表达水平;CCK-8 法检测 lncRNA H19 对细胞增殖的影响;过表达 lncRNA H19 同时加入 antagomiR-124-3p 后,检测 miR-124-3p 及其靶基因表达情况及细胞增殖情况。**结果** lncRNA H19 和 miR-124-3p 在肝癌细胞系及肝癌组织中均低表达($P<0.05$);过表达 lncRNA H19 后 miR-124-3p 表达显著增加($P<0.05$),miR-124-3p 的靶基因 cyclinD1 蛋白和 mRNA 表达明显下降($P<0.05$),细胞增殖受到抑制($P<0.05$);过表达 lncRNA H19 同时干扰 miR-124-3p 后,细胞增殖抑制作用减弱($P<0.05$)。**结论** 长链非编码 RNA H19 通过促进 miR-124-3p 表达,进而抑制其靶基因 cyclinD1 表达而抑制肝癌细胞增殖。

[关键词] lncRNA H19;miR-124-3p;cyclinD1;肝癌;细胞增殖
[中图法分类号] R394-33;R730.23;R735.7 [文献标志码] A

LncRNA H19-mediated miR-124-3p up-regulation suppresses proliferation in hepatocellular carcinoma cells

Lyu Xilin[1], Huang Gang[1], Xiao Man[2], Liu Menggang[3], Chen Yueqi[4], Zhang Nan[1], Zhan Yan[1], He Fengtian[1] ([1]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Science, [4]Battalion 15, Cadet Brigade, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Sciences, Hainan Medical University, Haikou, Hainan Province, 570102; [3]Department of Hepatobiliary Surgery, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of long non-coding RNA H19 (lncRNA H19) on the expression of miR-124-3p and the proliferation of hepatocellular carcinoma cells. **Methods** Real-time PCR was used to detect the expression of lncRNA H19 and miR-124-3p in hepatocellular carcinoma cell lines (HepG2 and SMMC7721) and clinical specimens. After over-expressing lncRNA H19 in HepG2 and SMMC7721 cells, real-time PCR was carried out to detect the expression of miR-124-3p and its target gene, cyclinD1, and Western blotting was used to detect the expression of cyclinD1 at protein level. Cell proliferation was assessed by CCK-8 assay. After over-expressing lncRNA H19 and transferring antagomiR-124-3p into SMMC7721 and HepG2 cells in the meantime, the expression of cyclinD1 and the proliferation of cells were detected again. **Results** lncRNA H19 and miR-124-3p had low expression in tumor tissues and hepatocellular carcinoma cell lines ($P<0.05$). Compared with the control group, the expression of miR-124-3p was increased in SMMC7721 and HepG2 cells after over-expressing lncRNA H19 ($P<0.05$). The protein

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81571601),国家自然科学基金地区科学基金项目(81360359)
[通信作者] 何凤田,E-mail:hefengtian66@aliyun.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20151207.1701.008.html(2015-12-07)

and mRNA levels of cyclinD1 were decreased in the over-expressing cells ($P < 0.05$). Over-expression of lncRNA H19 suppressed the proliferation of HepG2 and SMMC7721 cells ($P < 0.05$). However, overexpressing lncRNA H19 in the cells with antagomiR-124-3p transferring relieved the suppression of proliferation ($P < 0.05$). **Conclusion** lncRNA H19 suppresses cyclinD1 expression and proliferation hepatocellular carcinoma cells through enhancing miR-124-3p.

[**Key words**] long non-coding RNA H19; miR-124-3p; cyclinD1; hepatocellular carcinoma; cell proliferation

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (81571601) and the Regional Project of National Natural Science Foundation of China (81360359). Corresponding author: He Fengtian, E-mail: hefengtian66@aliyun.com

近年来,关于非编码 RNA(包括长链非编码 RNA 和小非编码 RNA)在肝癌作用越来越受到人们的关注[1-2]。小非编码 RNA(microRNAs, miRs)是一类长约 20nt 左右,主要在转录后水平起调控作用的非编码 RNA。它参与调控细胞分化、发育、增殖和凋亡等生物学过程[3-4],在肿瘤发生、侵袭和迁移过程中起重要作用[5]。研究表明,miR-124-3p 在肝癌细胞系和肝细胞癌组织中表达量低,且过表达 miR-124-3p 可通过抑制 STAT3、PIK3CA、cyclinD1 表达进而抑制肝癌细胞的增殖[6-7];而且 miR-124-3p 还可通过抑制 ROCK2 和 EZH2 抑制肝癌细胞的迁移侵袭[8]。在 H_2O_2 引起正常肝细胞 L02 凋亡时,过表达 miR-124-3p 能够保护细胞免于损伤[9]。上述研究结果表明 miR-124-3p 对肝细胞癌的发展有明显的抑制作用,但在肝细胞癌中对 miR-124-3p 自身表达的调控尚不清楚,亟需深入研究。

长链非编码 RNA H19 (long non-coding RNA H19, lncRNA H19)是一类由印迹基因编码,在胚胎发育期高表达,出生后大多数组织中表达降低的 lncRNA[10]。研究报道 lncRNA H19 在肝癌细胞中可以与不均一核糖核蛋白 U (heterogeneous nuclear Ribonucleoprotein U, hnRNP U)结合,从而抑制细胞内基因的转录[11]。此外,lncRNA H19 通过促进 miR-200s 的表达从而抑制肝癌细胞的迁移侵袭,并且 HCC 患者 lncRNA H19 的低表达与不良预后呈正相关[12]。既然过表达 miR-124-3p 有明显抑制 HCC 作用,且 lncRNA H19 可通过促进 microRNA(如 miR-200s)表达而抗 HCC,那么 lncRNA H19 能否通过促进 miR-124-3p 表达而抗 HCC,促进 miR-124-3p 表达是否是 lncRNA H19 抗 HCC 的新机制,目前尚未见报道。因此,本研究探讨了 lncRNA H19 对 miR-124-3p 表达的影响及在肝细胞癌增殖中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 人肝癌细胞系 HepG2 和 SMMC7721 为本实验室冻存。

1.1.2 质粒 pcDNA3.1(+)、pcDNA3.1-H19 为本实验室保存。

1.1.3 试剂 胎牛血清、胰酶、DMEM 低糖细胞培养基、Optim-MEM 培养基购自美国 Gibco 公司;CCK-8 试剂盒为日本 Dojindo Laboraories 产品;M-MLV 反转录酶、lipofectamine 2000 购自美国 invitrogen 公司;microRNA 反转录试剂盒 All-in-one-miRNA qRT-PCR 购自广州复能公司;Trizol 试剂、细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒、一抗稀释液、tubulin 抗体购自江苏碧云天生物技术公司;蛋白酶抑制剂购自美国 Roche 公司;cyclinD1 多克隆抗体购自美国 Abcam 公司;PVDF 膜购自美国 Millipore 公司;封闭蛋白粉购自武汉博士德公司;HRP 标记羊抗兔和羊抗鼠二抗购自北京中杉公司;SYBR 试剂购自美国 ABI 公司;细胞培养板购自美国 Costar 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和转染 肝癌细胞 HepG2 和 SMMC7721 接种在含 10% 胎牛血清、1×10^5 U/L 青霉素、1×10^5 U/L 链霉素的 DMEM 培养基中,37 ℃、5% CO_2 饱和湿度培养箱中培养。取对数生长期的两种肝癌细胞 HepG2 和 SMMC7721,0.25% 胰蛋白酶消化,调整细胞至一定密度,接种于 6 孔板中,每孔 1×10^5 个细胞,继续培养 12 h 后按照 Lipofectamine 2000 说明书进行转染操作,实验分组:(1) pcDNA3.1(+)组:pcDNA3.1-H19 组;(2) pcDNA3.1(+) + antagomiRNC 组:pcDNA3.1-H19 + antagomiRNC, pcDNA3.1-H19 + antagomiR-124-3p 组。AntagomiR 合成于上海吉玛公司,antagomiR-124-3p 序列:5′-GGCAUUCACCGCGUGCCUUA-3′,antagomiR NC 序列:5′-CAGUACUUUUGUGUAGUACAA-3′。

1.2.2 Real-time PCR 检测 lncRNA H19 和 miR-124-3p 肝癌细胞系及临床标本中的相对表达量 按 TRIzol 说明书提取对数生长期肝癌细胞(L02、HepG2、SMMC77721、PLC、Huh7)和 5 例肝癌组织临床标本的

总 RNA,分别用 M-MLV、All-in-one-miRNA qRT-PCR 逆转录 cDNA 和 microRNA 第一条链,将逆转录后产物稀释 10 倍,分别以 β-actin 和 U6 为内参进行 Real-time PCR 检测,反应条件为:95 ℃预变性 2 min;95 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min(40 个循环),反应后建立溶解曲线。miR-124-3p(HmiRQP0074)、U6(HmiRQP9001)和下游通用引物(货号 P01011A)购自广州复能公司;lncRNA H19 上游引物:5′-GGCAAGAAGCGGGTCTGT-3′;下游引物:5′-GTGCAGCATATTCATTTCCAAG-3′;β-actin 上游引物:5′-CGAGGCCCCCCTGAAC-3′;下游引物:5′-GCCAGAGGCGTACAGGGATA-3′。

1.2.3 Real-time PCR 检测 miR-124-3p 和 cyclinD1 的表达 HepG2 和 SMMC7721 经转染 48 h 后(转染分组同 1.2.1),提取总 RNA,用 Real-time PCR 检测 miR-124-3p-和 cycinD1 表达,分别以 U6 和 β-actin 为内参,cyclinD1 上游引物:5′-CGCCCCACCCCTCCAG-3′;下游引物:5′-CCGCCCAGACCCTCAGACT-3′。具体步骤同 1.2.2。

1.2.4 Western blot 检测 cyclinD1 蛋白表达 肝癌细胞 HepG2 和 SMMC7721 经转染 48 h 后(转染分组同 1.2.1),提取细胞的总蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。样品和 5×上样缓冲液以 4∶1混合变性,取 60 μg/孔蛋白样品上样,经 10% SDS-PAGE 电泳后,20 V、22 min 将蛋白样品转移至 PVDF 膜上,5% 蛋白封闭液室温封闭 1.5 h,分别加入 cyclinD1 抗体(1∶1 000)和 tubulin 抗体(1∶5 000)4 ℃孵育过夜,TBST 洗 3 次,每次 10 min,HRP 标记二抗(1∶10 000)室温孵育 2 h,TBST 洗涤 3 次,每次 10 min,ECL 化学发光显影。

1.2.5 CCK-8 法检测细胞增殖 取对数生长期 HepG2 和 SMMC7721 细胞,0.25% 胰蛋白酶消化,调整细胞至一定密度,接种于 48 孔板,每孔加 200 μL 培养基,继续培养 12 h 后进行转染,分组同 1.2.1,转染 48 h 后取出,将 CCK-8 试剂与培养基按 1∶10 稀释后,每孔加入 200 μL 稀释后 CCK-8 试剂,在细胞孵箱中孵育 1 h 后取出,酶标仪检测波长 450 nm 处光密度。

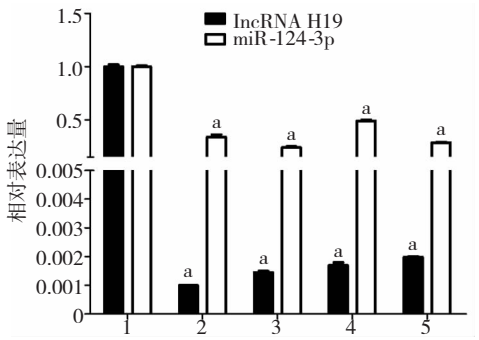
1.3 统计学分析

结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS17.0 统计学软件,两组均数比较采用 t 检验,多组均数比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 miR-124-3p 和 lncRNA H19 在肝癌细胞系中低表达

提取对数生长期细胞的总 RNA,Real-time PCR 检测结果显示:在肝癌细胞系 HepG2 和 SMMC7721 中,miR-124-3p 和 lncRNA H19 的表达均明显低于其在正常肝细胞 L02 中的表达($P<0.05$,图 1)。

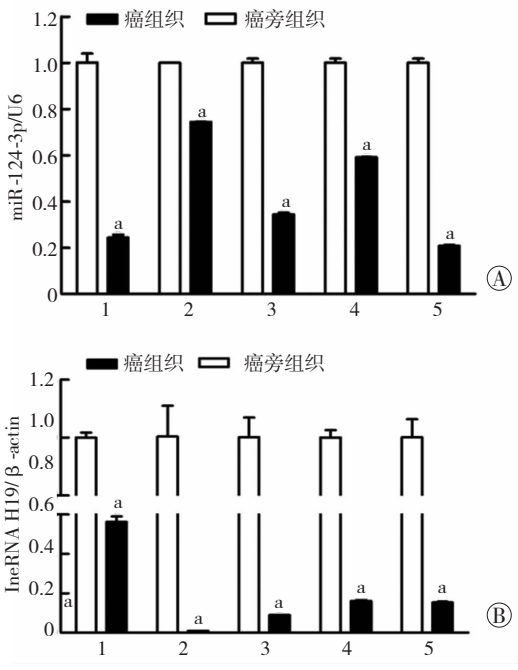


1:L02;2:HepG2;3:Huh7;4:PLC;5:SMMC7721;a:$P<0.05$,与对照组 L02 细胞比较

图 1 Real-time PCR 检测 miR-124-3p、lncRNA H19 在细胞系中表达

2.2 miR-124-3p 和 lncRNA H19 在肝癌组织中低表达

Real-time PCR 检测结果显示:癌组织中 miR-124-3p 和 lncRNA H19 表达明显低癌旁组织($P<0.05$,图 2)。



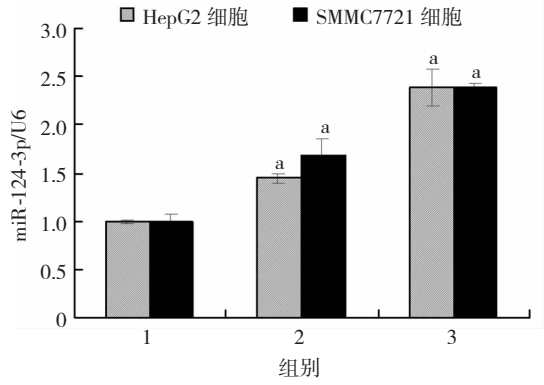
A:Real-time PCR 检测肝癌标本中 miR-124-3p 的表达;B:Real-time PCR 检测肝癌标本中 lncRNA H19 的表达;1~5 为患者编号;a:$P<0.05$,与癌旁组织比较

图 2 Real-time PCR 检测 miR-124-3p、lncRNA H19 在肝癌组织中表达

2.3 lncRNA H19 促进肝癌细胞中 miR-124-3p 的表达

在肝癌细胞系 HepG2 和 SMMC7721 中,过表达

lncRNA H19 48 h 后,Real-time PCR 检测结果显示:过表达 lncRNA H19 能明显促进 miR-124-3p 表达,且呈剂量依赖性($P<0.05$,图 3)。

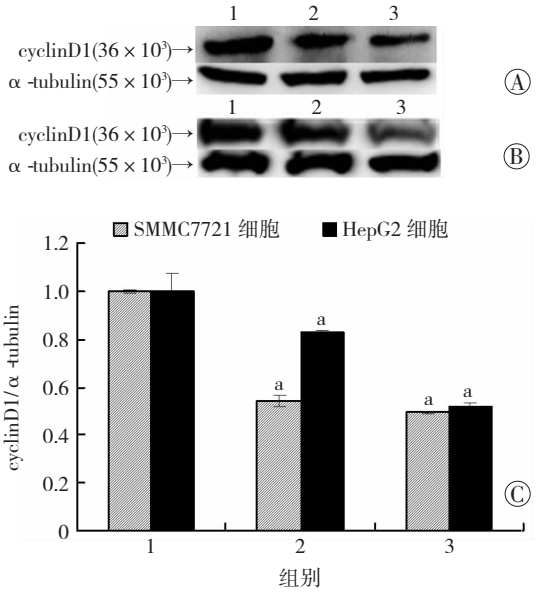


1:pcDNA3.1 对照组;2:pcDNA3.1-H19 1 μg 组;3:pcDNA3.1-H19 5 μg 组;a:$P<0.05$,与对照组比较

图 3 过表达 lncRNA H19 48 h 后 Real-time PCR 检测 HepG2、SMMC7721 细胞中 miR-124-3p 的表达

2.4 lncRNA H19 抑制 miR-124-3p 靶基因 cyclinD1 的表达

HepG2 和 SMMC7721 细胞中过表达 lncRNA H19 48 h 后,提取总 RNA 和蛋白。Real-time PCR、Western blot 检测结果显示:实验组 cyclinD1 表达相比对照组明显降低($P<0.05$,图 4)。表明 lncRNA H19 抑制 cyclinD1 表达。

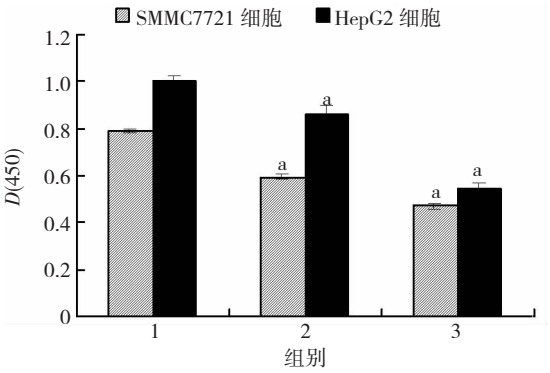


A:HepG2 细胞 Western blot 检测结果;B:SMMC7721 细胞 Western blot 检测结果;C:Real-time PCR 检测结果;1:pcDNA3.1 对照组;2:pcDNA3.1-H19 1 μg 组;3:pcDNA3.1-H19 5 μg 组;a:$P<0.05$,与对照组比较

图 4 过表达 H19 48 h 后,Western blot 及 Real-time PCR 分别检测 cyclinD1 的蛋白和 mRNA 表达

2.5 lncRNA H19 抑制肝癌细胞 HepG2 和 SMMC7721 的增殖

过表达 lncRNA H19 72 h 后,CCK-8 法检测细胞增殖情况,结果表明,与对照组相比,过表达 lncRNA H19 组细胞,增殖明显受到抑制,且表现出剂量依赖性($P<0.05$,图 5)。

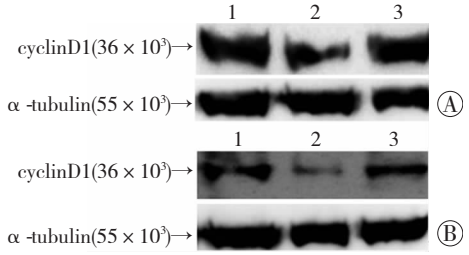


1:pcDNA3.1 对照组;2:pcDNA3.1-H19 1 μg 组;3:pcDNA3.1-H19 5 μg 组;a:$P<0.05$,与对照组比较

图 5 CCK-8 法检测转染不同浓度 pcDNA3.1-H19 质粒 72 h 后 HepG2、SMMC7721 细胞增殖

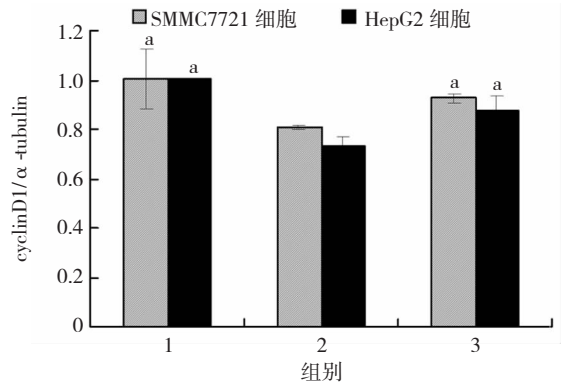
2.6 沉默 miR-124-3p 减弱 lncRNA H19 对 HepG2、SMMC7721 增殖抑制

按照 1.2.1 中第二类分组进行细胞转染实验,转染 48 h 后,Western blot 和 Real-time PCR 分别检测 cyclinD1 的蛋白和 mRNA 的表达水平;转染 72 h 后,采用 CCK-8 法检测细胞增殖情况。结果表明,过表达 lncRNAH19 组,细胞增殖明显受到抑制;过表达 lncRNA H19 同时加入 antagomiR-124-3p,lncRNA H19 对 cyclinD1 的抑制作用减弱,对细胞增殖的抑制作用得到缓解($P<0.05$,图 6)。证明 lncRNA H19 通过 miR-124-3p 发挥作用。



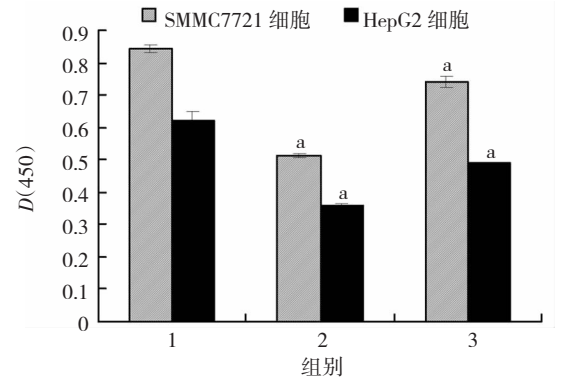
A:HepG2 细胞;B:SMMC7721 细胞

图 6 Western blot 检测转染 pcDNA3.1-H19 和 antagomiR-124-3p 后 cyclinD1 蛋白表达水平



1:pcDNA3.1 + antagomiRNC 对照组;2:pcDNA3.1-H19 5 μg + antagomiRNC 组;3:pcDNA3.1-H19 5 μg + antagomiR-124-3p 组;a:$P<0.05$, 与对照组比较

图 7 Real-time PCR 检测转染 pcDNA3.1-H19 和 antagomiR-124-3p 后 cyclinD1 mRNA 表达水平



1:pcDNA3.1 + antagomiRNC 对照组;2:pcDNA3.1-H19 5 μg + antagomiRNC 组;3:pcDNA3.1-H19 5 μg + antagomiR-124-3p 组;a:$P<0.05$, 与对照组比较

图 8 CCK-8 法检测转染 pcDNA3.1-H19 和 antagomiR-124-3p 后细胞增殖

3 讨论

本研究探讨了 lncRNA H19 对 mir-124-3p 表达的影响及在肝癌细胞增殖中的作用。发现在肝癌细胞系 HepG2 和 SMMC7721 中,过表达 lncRNA H19 可以促进 miR-124-3p 的表达,并能抑制 miR-124-3p 下游靶基因 cyclinDl 的表达进而抑制细胞增殖,且呈剂量依赖性。过表达 lncRNA H19 同时抑制 miR-124-3p 后,可减弱 lncRNA H19 对 miR-124-3p 靶基因 cyclinDl 的抑制作用,以及对细胞增殖抑制作用。该研究结果表明,促进 miR-124-3p 表达是 lncRNA H19 抑制肝癌细胞增殖的新机制。

长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度大于 200 nt,不编码蛋白质的 RNA。最初认为 lncRNA 是没有生物学功能的转录"噪音",近年研究表明 lncRNA 具有在多个层面上调节基因表达的功能[13]。目前,长链非编码 RNA 调节靶基因的方式大致分为三类:第一,通过干扰转录因子与启动子结合、诱导组蛋白修饰和使染色质发生重构等方式直接抑制邻近编码基因表达;第二,作为重要的调节因子与靶蛋白结合后影响基因转录;第三,通过与蛋白结合伴侣作用或调节蛋白的亚细胞定位影响蛋白活性等[14-16]。而 lncRNA H19 在发挥功能时,除上述机制外,还可通过"分子海绵"(molecular sponge)机制调节基因表达。"分子海绵"是 lncRNA 根据碱基互补配对与 microRNA 竞争性结合,从而抑制 microRNA 与其靶基因结合,以此上调 microRNA 靶基因的表达并行使其功能;将 lncRNA 与 microRNA 的结合位点突变后,不符合碱基配对原则的 lncRNA 无法吸附 microRNA,microRNA 则结合到靶基因上,抑制靶基因的表达[17]。此外,lncRNA H19 作为 miR-675 的前体分子,其自身可以通过被剪切形成成熟的 miR-675, 两者通过调节 AKT/GSK-3β/Cdc25A 通路抑制 HCC 的迁移和侵袭[18]。

本研究中发现,在 HCC 细胞系 HepG2 和 SMMC7721 中过表达 lncRNA H19 后,miR-124-3p 表达量明显升高。而作为推动细胞周期由 G1 期进入 S 期,促进细胞增殖的重要分子 cyclinD1 也受到明显抑制。lncRNA H19 通过促进 miR-124-3p 的表达来发挥功能,不符合其以"分子海绵"机制调控基因表达的条件。lncRNA H19 不是 miR-124-3p 的前体 RNA,不能以通过剪切形成成熟 microRNA 的机制来促进 miR-124-3p 的表达。那么,lncRNA H19 促进 miR-124-3p 表达的方式是什么,是否存在新的调节机制,目前尚不清楚,有待进一步探讨。

总之,本研究证实 lncRNA H19 促进 miR-124-3p 表达并抑制肝癌细胞增殖,有望为探索通过调节 miR-124-3p 的表达来治疗肝细胞癌的新路径提供参考。

参考文献:

[1] He Y, Meng X M, Huang C, *et al*. Long noncoding RNAs: Novel insights into hepatocelluar carcinoma[J]. Cancer Lett, 2014, 344(1): 20-27. DOI:10.1016/j.canlet.2013.10.021

[2] Lyra-Gonzalez I, Flores-Fong L E, Gonzalez-Garcia I, *et al*. MicroRNAs dysregulation in hepatocellular carcinoma: Insights in genomic medicine[J]. World J Hepatol, 2015, 7(11): 1530-1540. DOI:10.4254/wjh.v7.i11.1530

[3] Hammond S M. An overview of microRNAs[J]. Adv Drug

Deliv Rev, 2015, 87: 3 – 14. DOI:10.1016/j.addr.2015.05.001

[4] 郑永霞, 焦炳华. miRNA 的生物形成和及调控基因表达机制[J]. 生命的化学, 2010, 30(6): 821 – 826.

[5] Garofalo M, Croce C M. Role of microRNAs in maintaining cancer stem cells[J]. Adv Drug Deliv Rev, 2015, 81: 53 – 61.

[6] Lu Y, Yue X, Cui Y, *et al*. MicroRNA-124 suppresses growth of human hepatocellular carcinoma by targeting STAT3[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2013, 441(4): 873 – 879.

[7] Lang Q, Ling C. MiR-124 suppresses cell proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting PIK3CA[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 426(2): 247 – 252. DOI:10.1016/j.bbrc.2012.08.075

[8] Zheng F, Liao Y J, Cai M Y, *et al*. The putative tumour suppressor microRNA-124 modulates hepatocellular carcinoma cell aggressiveness by repressing ROCK2 and EZH2[J]. Gut, 2012, 61(2): 278 – 289.

[9] Li X, Yi S, Deng Y, *et al*. MiR-124 protects human hepatic L02 cells from H2O2-induced apoptosis by targeting Rab38 gene[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2014, 450(1): 148 – 153. DOI:10.1016/j.bbrc.2014.05.085

[10] Feil R, Walter J, Allen N D, *et al*. Developmental control of allelic methylation in the imprinted mouse Igf2 and H19 genes[J]. Development, 1994, 120(10): 2933 – 2943.

[11] Bi H S, Yang X Y, Yuan J H, *et al*. H19 inhibits RNA polymerase II-mediated transcription by disrupting the hnRNP U-actin complex[J]. Biochim Biophys Acta, 2013, 1830(10): 4899 – 4906. DOI:10.1016/j.bbagen.2013.06.026

[12] Zhang L, Yang F, Yuan J H, *et al*. Epigenetic activation of the MiR-200 family contributes to H19-mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma[J]. Carcinogenesis, 2013, 34(3): 577 – 586.

[13] 余良河, 李楠, 程树群. 长链非编码 RNA 的功能及其研究[J]. 中国细胞生物学学报, 2010, 32(3): 350 – 356.

[14] Wang K C, Chang H Y. Molecular mechanisms of long noncoding RNAs[J]. Mol Cell, 2011, 43(6): 904 – 914.

[15] Maass P G, Luft F C, Bahring S. Long non-coding RNA in health and disease[J]. J Mol Med (Berl), 2014, 92(4): 337 – 346. DOI:10.1007/s00109 – 014 – 1131 – 8

[16] Schaukowitch K, Kim T K. Emerging epigenetic mechanisms of long non-coding RNAs[J]. Neuroscience, 2014, 264: 25 – 38.

[17] Kallen A N, Zhou X B, Xu J, *et al*. The imprinted H19 lncRNA antagonizes let-7 microRNAs[J]. Mol Cell, 2013, 52(1): 101 – 112. DOI:10.1016/j.molcel.2013.08.027

[18] Lv J, Ma L, Chen X L, *et al*. Downregulation of LncRNAH19 and MiR-675 promotes migration and invasion of human hepatocellular carcinoma cells through AKT/GSK-3β/Cdc25A signaling pathway[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2014, 34(3): 363 – 369. DOI:10.1007/s11596 – 014 – 1284 – 2

(**收稿**:2015-08-19;**修回**:2015-11-04)

(编辑 郭建秀)