doi:10.11659/jjssx.11E019080

·基础研究·

敲低长链非编码 RNA MIAT 对视网膜母细胞瘤肿瘤成球、侵袭及裸鼠移植瘤生长的影响

金 梅,尹鹏程,徐 荣,张 霞,吴 丽 (湖北文理学院附属医院,襄阳市中心医院检验科,湖北 襄阳 441021)

[摘 要] **目的** 探究敲低长链非编码 RNA MIAT(lncRNA MIAT)对视网膜母细胞瘤(RB)SO-RB50 细胞系成球、侵袭能力及裸鼠移植瘤生长的影响。**方法** 选择襄阳市中心医院 2015 年 3 月至 2017 年 3 月 38 例 RB 患者,并收集 RB 组织 38 例。采用 Kaplan-Meier法绘制生存曲线,分析 lncRNA MIAT 高表达和低表达患者生存率。将 SO-RB50 细胞随机分为对照组、shRNA-NC 组、sh-MIAT 组,构建 sh-MIAT 及 shRNA-NC 载体并转染对应细胞组。RT-PCR 检测 MIAT、E-cadherin 和 N-cadherin 的表达。通过细胞成球、克隆形成试验、Transwell 分别检测细胞成球、增殖、侵袭能力。Western blot 检测 VEGF、MMP-16、E-cadherin、N-cadherin的表达情况。构建裸鼠移植瘤模型,比较肿瘤生长情况,并通过免疫组化检测 VEGF 的表达情况。**结果** lncRNA MIAT 低表达患者生存率高于高表达患者。与对照组相比,shRNA-NC 组细胞成球直径、细胞成球数、克隆形成数、侵袭数量、VEGF、MMP-16、N-cadherin 和 E-cadherin 表达量均无明显差异。与对照组相比,sh-MIAT 组细胞成球直径、细胞成球数、克隆形成数、侵袭数量和 VEGF、MMP-16、N-cadherin 表达量均较小/少/低,而 E-cadherin 表达量较高,裸鼠模型的肿瘤质量较低,且 VEGF 阳性细胞数较少,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** lncRNA MIAT 低表达患者生存率高于高表达患者,且敲低 lncRNA MIAT 可抑制 SO-RB50 细胞成球、增殖、侵袭和裸鼠移植瘤的生长。

[关键词] 长链非编码 RNAs;lncRNA MIAT;视网膜母细胞瘤;成球;增殖;侵袭;上皮间充质转化;血管内皮生长因子

[中图分类号] R739.7 [文献标识码] A [收稿日期] 2019-11-15

Effects of long non-coding RNA MIAT knockdown on spheroidization, invasion and growth of SO-RB50 cells in nude mice

JIN Mei, YIN Peng-cheng, XU Rong, ZHANG Xia, WU Li (Laboratory Department, Affiliated Hospital of Hubei University of Arts and Sciences, Xiangyang Central Hospital, Xiangyang Hubei 441021, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of long non-coding RNA MIAT (lncRNA MIAT) knockdown on spheroidization, invasive ability and growth of retinoblastoma cells(SO-RB50 cells) in nude mice. **Methods** The retinoblastoma tissues were collected from 38 patients with retinoblastoma in Xiangyang Central Hospital from March 2015 to March 2017. The survival curve was drawn by Kaplan-Meier method to analyze the survival rate of patients with high and low expression of lncRNA MIAT. SO-RB50 cells were randomly divided into control group, shRNA-NC group, and sh-MIAT group. The sh-MIAT and shRNA NC vectors were constructed and transfected into corresponding cell groups. The expressions of MIAT, E-cadherin and N-cadherin were detected by RT-PCR. The spheroidization, proliferation, and invasion ability of the cells were detected by the spheroidization, colony formation test, and Transwell. The expressions of VEGF, MMP-16, E-cadherin and N-cadherin were detected by Western blot. A nude mouse xenograft model was constructed to compare tumor growth, and the expression of VEGF was detected by immunohistochemistry. **Results** The survival rate of patients with low expression of lncRNA MIAT was higher than that of patients with high expression. Compared with the control group, the shRNA-NC group showed no significant differences in sphere diameter, sphere number, clone formation number, invasion number, and the expression levels of VEGF, MMP-16, N-cadherin, and E-cadherin. Compared with the control group, the sphere-forming diameter, sphere-forming number, colony formation number, invasion number and the expression levels of VEGF, MMP-16 and N-cadherin in the sh-MIAT group were small/less/lower, the expression level of E-cadherin was higher, the tumor mass of the model was lower, and the number of VEGF positive cells was less, the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The survival rate of patients with low expression of lncRNA MIAT is higher than that of patients with high expression of lncRNA MIAT, and knockdown of lncRNA MIAT can inhibit the sphere-forming, proliferation, invasion and growth of SO-RB50 cells.

Keywords: long non-coding RNAs; lncRNA MIAT; retinoblastoma; sphere-forming; proliferation; invasion; epithelial transformation; vascular endothelial growth factor

[基金项目] 湖北省自然科学基金(2016CFB568)

[通信作者] 尹鹏程,E-mail:yinpengchengaaa@163.com

视网膜母细胞瘤(retinoblastoma,RB)是常发生于婴幼儿眼内的恶性肿瘤,约占所有儿童癌症的3%[1]。RB可发生于单侧或双侧眼内,临床症状包括眼结膜充血水肿、虹膜新生血管、玻璃体混浊、眼压升高及斜视等,具有可遗传性[2]。目前,不同阶段RB的治疗方案不同,主要有手术治疗、放射治疗、化学治疗、光化学治疗等,但总体预后都很差[3-4]。因此,RB迫切需要新的治疗方案。人类基因组中可编码蛋白质的基因不足2%,而大部分序列被转录成RNA不表达蛋白质,被称为非编码RNA(non-coding RNA,ncRNA),其中长于200 bp的非编码RNAs被称为长链非编码RNAs(long noncoding RNAs,lncRNAs)[5-7]。长链非编码RNA心肌梗死相关转录本(long non-coding RNA myocardial infarction associated transcript,lncRNA MIAT)是lncRNAs中的重要一员,已有研究报道lncRNA MIAT与乳腺癌、卵巢癌、胃癌等多种癌症的发展有关,具有促进癌症发展的作用[8-10]。虽然lncRNA MIAT对RB的作用尚不清楚,但可据此预测lncRNA MIAT在RB的发生发展中同样发挥致癌作用。本研究旨在探究敲低lncRNA MIAT表达对RB细胞成球、侵袭能力及对移植瘤裸鼠模型肿瘤形成的影响,以期为RB的治疗提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

选择襄阳市中心医院2015年3月至2017年3月38例RB患者的资料,收集RB组织38例。人视网膜母细胞瘤SO-RB50细胞株购自美国ATCC细胞中心,12只体质量为20~24 g的雄性裸鼠购自中国科学院实验动物中心,RPMI 1640培养基、胎牛血清、胰蛋白酶购自美国Gibco公司,Matrigel胶和Transwell小室均购于Corning公司,反转录试剂盒购自日本TaKaRa公司,Trizol、Lipofectamine 2000购自美国Invitrogen公司,RIPA裂解液购自碧云天公司,E-cadherin、N-cadherin、β-actin抗体购自CST公司,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)、MMP-16抗体购自Abcam公司,EDTA抗原修复缓冲液购自福州迈新生物公司,DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物公司,细胞培养箱购自美国Thermo公司,垂直电泳槽购自美国Bio-Rad公司。本研究得到我院研究伦理委员会和临床医学学院的批准,并根据《赫尔辛基宣言》的道德准则进行。所有志愿者监护人均签署了有关临床数据的书面知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 动物饲养 雄性裸鼠12只饲养于恒定温度(22~25 ℃)、恒定湿度(40%~50%)环境中,并提供标准饲料和饮水。

1.2.2 细胞培养 将人视网膜母细胞瘤SO-RB50细胞株接种于含10%胎牛血清、1%青链霉素双抗的RPMI 1640培养液中,在5% CO_2、37 ℃条件下进行培养,细胞长满后进行传代,待细胞状态稳定后用于后续试验。

1.2.3 载体构建 设计靶向MIAT的shRNA载体(sh-MIAT)及阴性对照载体(shRNA-NC),并克隆到plko.1质粒。MIAT的shRNA干扰序列如下,sh-MIAT:GGTGTTAAGACTTGGTTTCTG。

1.2.4 细胞分组及转染 将SO-RB50细胞随机分为对照组、shRNA-NC组、sh-MIAT组,分别以5×10^4个/孔的密度培养于6孔板,培养至其密度达到50%,按转染试剂盒说明书将100 nmol/L的shRNA-NC和sh-MIAT载体分别转染至各组细胞。

1.2.5 采用Kaplan-Meier法绘制生存曲线 选择襄阳市中心医院2015年3月至2017年3月38例RB患者的资料,绘制Kaplan-Meier曲线,对比lncRNA MIAT低表达和高表达患者存活率。

1.2.6 RT-PCR检测MIAT、E-cadherin和N-cadherin的表达 Trizol法提取RNA,并按试剂盒说明书合成cDNA。MIAT引物:正向5′-GCTCACACCTCCTATTCCT-3′,反向5′-CTTCACCAACTCTCCCACT-3′;E-cadherin引物:上游5′-CCAAAGCCTCAGGTCATAAACAT-3′,下游5′-TGAGATTGATTTTGTAGTCACCCAC-3′;N-cadherin引物:上游5′-CCATCAAGCCTGTGGGAATC-3′,下游5′-GCCGCTTTAAGGCCCTCAT-3′;GAPDH引物:上游5′-CTTTGGTATCGTGGAAGGACTC-3′,下游5′-GTAGAGGCAGGGATGATGTTCT-3′。扩增条件:95 ℃ 1 min,95 ℃ 10 s,60 ℃ 30 s,65 ℃ 5 s,39个循环,最后72 ℃延伸7 min。设对照组样品为标准1,采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算目的基因的相对表达量并进行统计学分析。

1.2.7 细胞成球试验检测细胞成球能力 分别取转染sh-MIAT、shRNA-NC载体的细胞及对照组细胞各100个(前期制作细胞OD值与细胞个数标准曲线,根据OD值换算细胞个数)接种于超低吸附24孔板中,以无血清培养基培养1周,每天于倒置显微镜下观察细胞成球情况。设5个复孔,统计学分析各组细胞成球直径和成球比例差异。

1.2.8 克隆形成试验检测细胞增殖能力 取对数生长期的 SO-RB50 细胞以 500 个/孔(前期制作细胞 OD 值与细胞个数标准曲线,根据 OD 值换算细胞个数)均匀接种于 6 孔板,置于培养箱中培养,肉眼可见克隆形成时,甲醇进行固定 15 min,Giemsa 染液染色 25 min,冲洗后待其自然干燥,拍照,计数克隆数目,重复 3 次。

1.2.9 Transwell 检测细胞侵袭能力 将 Matrigel 胶用 PRMI 1640 培养基稀释后铺于 Transwell 小室上室,下室加入 800 μL 含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养基。将各组 SO-RB50 细胞重悬,并调整密度至 1×10^5/mL,取 200 μL细胞悬液于 Transwell 小室上室,培养 24 h 后,观察各组细胞侵袭情况。

1.2.10 Western blot 检测 VEGF、MMP-16、E-cadherin、N-cadherin 的表达 转染后将各组 SO-RB50 细胞以 1×10^5 个/孔培养于 6 孔板,于 37 ℃、5% CO_2 条件下继续培养 24 h,用含有 PMSF 的 RIPA 裂解液裂解细胞,提取总蛋白。蛋白加入 loading buffer 后沸水煮 5 min使蛋白变性,经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白后转印蛋白质至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h,分别孵育一抗、二抗,PBST 洗脱后,加入 BCL,进行曝光。

1.2.11 移植瘤模型 将雄性裸鼠随机分为对照组和 sh-MIAT 组,每组 6 只。分别将对照组 SO-RB50 细胞和转染 sh-MIAT 的 SO-RB50 细胞制成密度为 5×10^7/mL的细胞悬液,并通过皮下接种于对应组裸鼠背部,若 7 d 时大鼠接种部位出现米粒大小肿瘤,说明接种成功。于 21 d 时处死移植瘤裸鼠,取出肿瘤,称取肿瘤质量。

1.2.12 免疫组化检测 VEGF 的表达情况 将各组肿瘤置于中性福尔马林溶液中固定,按常规方法制作厚度为 4 μm 的石蜡切片,并按常规操作进行抗原修复、免疫组织化学染色。VEGF 定位于胞浆和胞膜中,以在肿瘤细胞胞浆或胞膜出现棕黄色颗粒且着色强度高于背景着色者判定为阳性。每张切片观察 3 个视野,并且计算阳性细胞百分比。

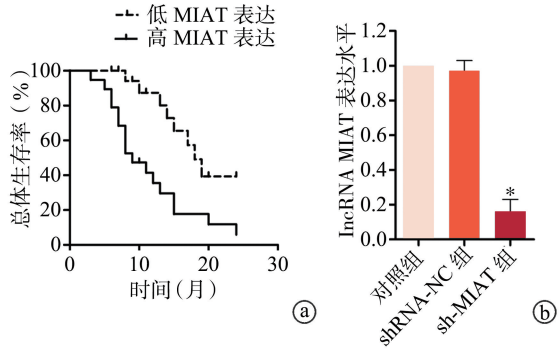
1.3 统计学分析

所有实验数据均用统计软件 SPSS 19.0 进行统计分析,实验结果以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,满足方差齐性和符合正态分布。两两比较用独立的 t 检验,组间差异采用单因素方差分析进行检验,生存情况分析采用 Log-rank 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA MIAT 与患者生存率关系

Kaplan-Meier 曲线结果显示,lncRNA MIAT 低表达患者的生存率高于 lncRNA MIAT 高表达患者(图 1a)。将 shRNA-NC、sh-MIAT 分别转染至 SO-RB50 细胞,RT-PCR 检测 MIAT 的表达,结果显示,与对照组相比,shRNA-NC 组中 lncRNA MIAT 表达量无明显变化,sh-MIAT 组中 lncRNA MIAT 表达量较低,差异具有统计学意义($P<0.05$),表明干扰成功(图 1b)。



a:lncRNA MIAT 对 RB 患者生存率的影响;b:RT-PCR 检测 MIAT 的表达 *:与对照组比较,$P<0.05$

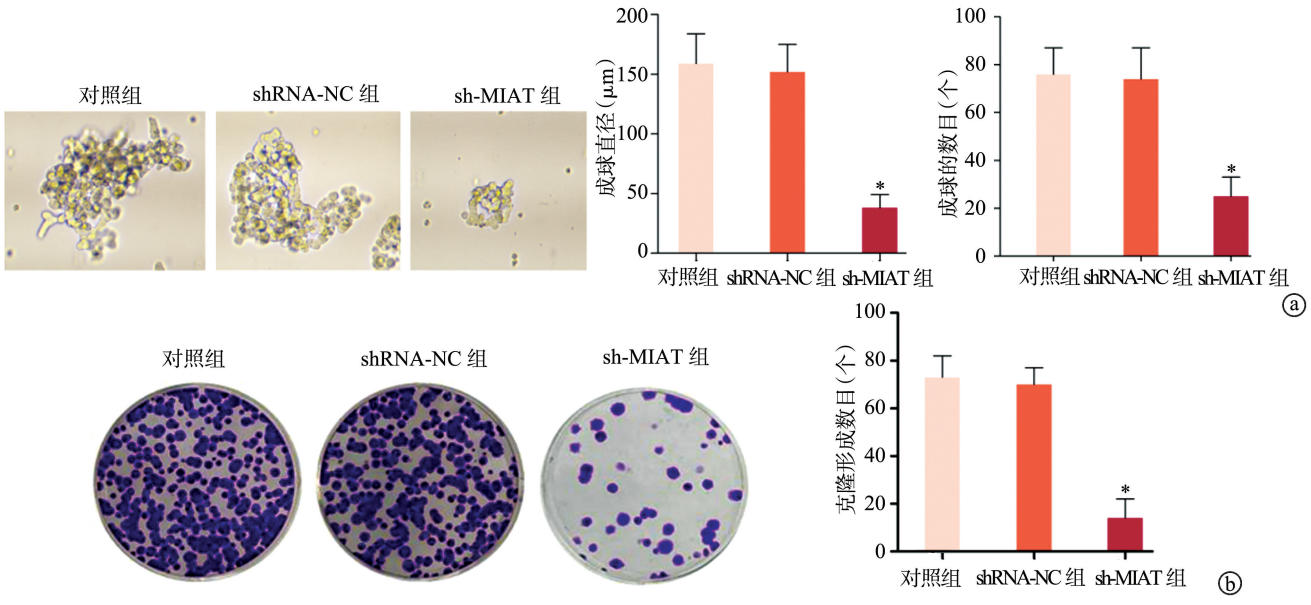
图 1 lncRNA MIAT 对 RB 患者生存率的影响和 MIAT 表达水平

2.2 敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞增殖能力的影响

通过细胞成球试验和克隆形成试验检测细胞增殖能力,结果显示,与对照组相比,shRNA-NC 组中 SO-RB50 细胞成球直径、细胞成球数及细胞克隆形成数差异无统计学意义($P>0.05$),而 sh-MIAT 组中细胞成球直径较小、细胞成球数及细胞克隆形成数较少,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 2。由此可见,敲低 lncRNA MIAT 可抑制 SO-RB50 细胞干性和增殖能力。

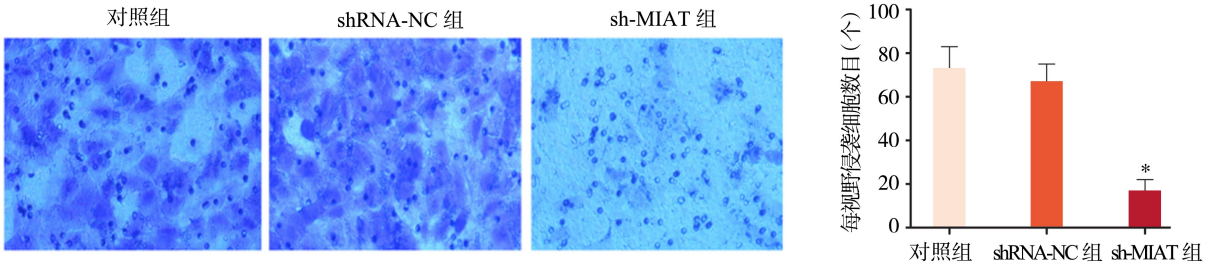
2.3 敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞侵袭能力的影响

通过 Transwell 检测各组细胞侵袭能力,结果显示,与对照组相比,shRNA-NC 组中细胞侵袭数量差异无统计学意义($P>0.05$),而 sh-MIAT 组中细胞侵袭数量较少,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3。Western blot 检测各组细胞 VEGF 及 MMP-16 的表达情况,结果显示,与对照组相比,shRNA-NC 组中 VEGF、MMP-16 表达量差异无统计学意义($P>0.05$),而 sh-MIAT组中 VEGF、MMP-16 表达量较低,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 4。



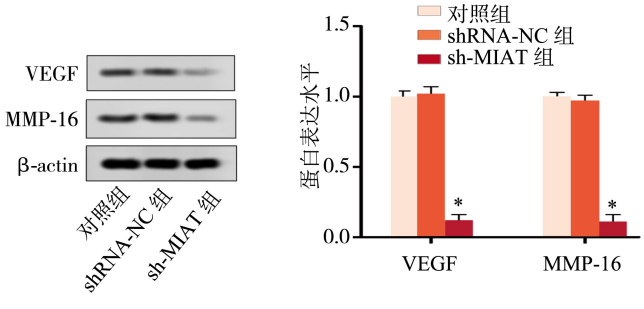
a:细胞成球试验检测敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞干性的影响;b:克隆形成试验检测敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞增殖能力的影响 *:与对照组比较,$P<0.05$

图 2 敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞干性和增殖能力的影响



*:与对照组比较,$P<0.05$

图 3 Transwell 检测敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞侵袭力的影响



*:与对照组比较,$P<0.05$

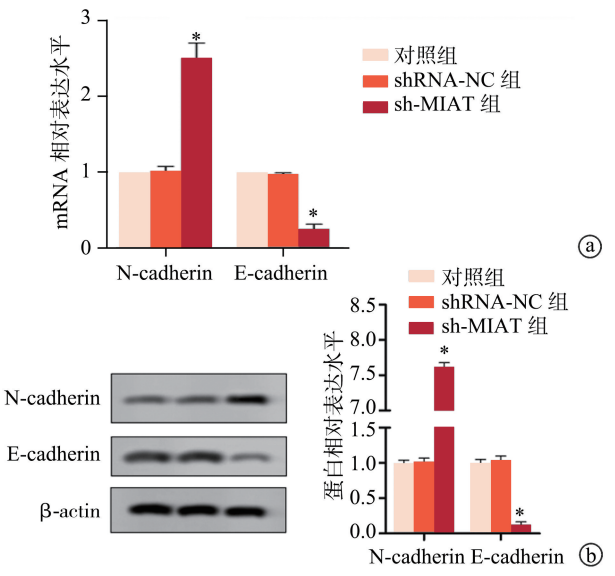
图 4 Western blot 检测敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞侵袭相关蛋白表达的影响

2.4 敲低 lncRNA MIAT 可抑制 SO-RB50 细胞的上皮间质转化

通过 RT-PCR 和 Western blot 检测各组细胞中 E-cadherin、N-cadherin 的表达情况,结果显示,与对照组相比,shRNA-NC 组中 E-cadherin、N-cadherin mRNA 和蛋白相对表达量差异无统计学意义($P>0.05$),而 sh-MIAT 组中 N-cadherin mRNA 和蛋白相对表达量较低,差异具有统计学意义($P<0.05$),E-cadherin 在 RNA 和蛋白相对表达量较高,差异具有统计学意义($P<0.05$),提示敲低 lncRNA MIAT 表达量可抑制 SO-RB50 细胞的上皮间质转化(图 5)。

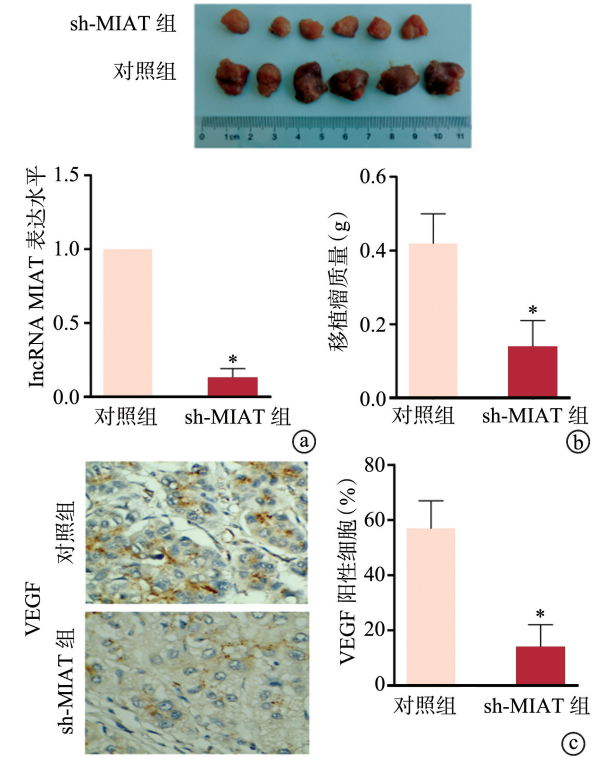
2.5 敲低 lncRNA MIAT 可抑制 RB 移植瘤生长

皮下注射转染 sh-MIAT 的 SO-RB50 细胞,建立移植瘤模型,RT-PCR 检测 lncRNA MIAT 表达情况,结果显示,与对照组相比,sh-MIAT 组中 lncRNA MIAT 表达量较低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。与对照组相比,sh-MIAT 组中 RB 移植瘤质量较低,差异具有统计学意义($P<0.05$)。通过免疫组化检测肿瘤组织中 VEGF 的表达情况,结果显示,与对照组相比,sh-MIAT 组中 VEGF 阳性细胞数较少,差异具有统计学意义($P<0.05$),提示敲低 lncRNA MIAT 可抑制 RB 移植瘤的生长(图 6)。



a:RT-PCR 检测敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞中 E-cadherin、N-cadherin 表达的影响;b:Western blot 检测敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞中 E-cadherin、N-cadherin 表达的影响 *:与对照组比较,$P<0.05$

图 5 敲低 lncRNA MIAT 对 SO-RB50 细胞上皮间质转化的影响



a:RT-PCR 检测移植瘤中 lncRNA MIAT 表达水平;b:移植瘤质量;c:免疫组化检测移植瘤中 VEGF 的表达 *:与对照组比较,$P<0.05$

图 6 敲低 lncRNA MIAT 对 RB 移植瘤生长的影响

3 讨论

近年来,虽然 RB 患者的生存率得到大幅提高,但术后依旧会造成视力、眼球缺失等损伤,给患者带来巨大的心理压力。因此,为了减轻对患者的损伤和保全患者视力,基因治疗、干细胞治疗、靶向治疗等微创或无创治疗方法极具研究前景。已有研究显示,lncRNAs 参与细胞增殖、凋亡、迁移等调控,在肿瘤发展中起重要作用,有望成为恶性肿瘤治疗的新途径[11]。

lncRNA MIAT 是受到广泛关注的 lncRNAs 之一。lncRNA MIAT 在多种恶性肿瘤中发挥作用,Alipoor 等[12]发现 lncRNA MIAT 在乳腺肿瘤组织中高表达,且沉默 lncRNA MIAT 后乳房癌细胞的增殖、侵袭能力受到抑制,乳房癌细胞凋亡水平升高,造成乳房癌细胞周期阻滞在 G1 期;Qu 等[13]的研究显示,lncRNA MIAT 在肾透明细胞癌组织中高表达,且敲低 lncRNA MIAT 后肾癌细胞增殖和转移均受到明显抑制。本研究发现 2 年内 lncRNA MIAT 低表达的患者生存率高于 lncRNA MIAT 高表达的患者,敲低 lncRNA MIAT 后可显著抑制 SO-RB50 细胞的成球能力,减少克隆形成数和侵袭细胞数,并下调 VEGF、MMP-16 的表达量,同上述研究结果一致。VEGF 具有促血管内皮细胞生长、增殖和促进血管形成的作用,且 VEGF 是参与癌症等血管生成依赖性疾病的关键因子[14]。基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase,MMPs)是降解细胞外基质、破坏肿瘤细胞侵袭的组织学屏障,促进肿瘤细胞侵袭转移的关键蛋白[15]。有研究显示,MMPs 和 VEGF 过表达与 RB 的分化、肿瘤的侵袭密切相关,因此 MMPs 和 VEGF 的表达量对 RB 患者的预后具有预测作用[16]。此外,Webb 等[17]发现,在 RB 的体外模型中,抑制 MMPs 可减少细胞迁移和血管生成。因此,敲低 lncRNA MIAT 后可抑制 SO-RB50 细胞增殖、侵袭能力。

上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition,EMT)是指上皮细胞转化为具有间质表型细胞的生物学过程,是恶性肿瘤细胞获得迁移、侵袭能力的重要途径。EMT 过程中主要特征是 E-cadherin 表达降低,N-cadherin 表达增加[18]。有相关研究显示,在肿瘤细胞侵犯脉络膜、视神经、眼眶等部位的 RB 患者癌变组织中,N-cadherin 的表达量显著高于非侵袭性 RB 患者癌变组织中的表达量,而 E-cadherin 表达量显著低于非侵袭性 RB 患者癌变组织中的表达量[19]。本研究发现,敲低 lncRNA MIAT 后 SO-RB50 细胞中 E-cadherin 表达量升高,而 N-cadherin 表达下调,提示敲低 lncRNA MIAT 抑制 SO-RB50 细胞 EMT。

体内环境更加复杂多变,为了更好了解 lncRNA

MIAT 对 RB 的作用,本研究构建了 RB 移植瘤模型。Huang 等[20]的研究表明,lncRNA MIAT 在肝癌细胞中高表达,敲低 lncRNA MIAT 通过释放 miR-214 而显著抑制肝癌移植瘤的生长;Sha 等[21]发现 lncRNA MIAT 在胃癌组织和人胃腺癌 BGC-823 细胞系中高表达,而敲低 lncRNA MIAT 后可抑制胃癌细胞的增殖和转移,从而抑制胃癌移植瘤的生长。同样,本研究结果发现 lncRNA MIAT 在 RB 移植瘤中高表达,敲低 lncRNA MIAT 可抑制 RB 移植瘤的生长。

综上所述,lncRNA MIAT 低表达患者较 lncRNA MIAT 高表达患者生存率高,敲低 lncRNA MIAT 后可抑制 SO-RB50 细胞的增殖和侵袭能力,并抑制 RB 移植瘤的生长。因此,lncRNA MIAT 有望成为治疗 RB 的新靶标。下一步,本课题组将探究 lncRNA MIAT 能否通过 PI3K/AKT 通路影响 RB 的发展。

[参考文献]

[1] Rao R, Honavar SG. Retinoblastoma[J]. Indian J Pediatr, 2017, 84(12):937 - 944. doi:10.1007/s12098 - 017 - 2395 - 0.

[2] AlAli A, Kletke S, Gallie B, et al. Retinoblastoma for pediatric ophthalmologists[J]. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2018, 7(3):160 - 168. doi:10.22608/APO.201870.

[3] 王一卓,黄东生,史季桐,等. 术前化疗对眼内期视网膜母细胞瘤术后病理及预后的影响[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志,2016,21(5):269 - 274. doi:10.3969/j.issn.1673 - 5323.2016.05.010.

[4] Krishnan R, Lauren A, Jose S, et al. Intra-arterial chemotherapy for retinoblastoma: an updated systematic review and meta-analysis[J]. J Neurointerv Surg, 2019, 11(12): 14909. doi: 10.1136/neurintsurg - 2019 - 014909.

[5] 张 鹏,赵军伟,安红丽,等. 肺腺癌转移相关转录因子 1 在口腔鳞状细胞癌组织中的表达及临床意义[J]. 局解手术学杂志,2019,166(9):715 - 718. doi:10.11659/jjssx.05E019109.

[6] 麦 碧,陈永秀,胡桂英,等. 长链非编码 RNA LINC00393 在子宫内膜癌临床预后判断中的意义[J]. 分子诊断与治疗杂志,2019,11(3):198 - 203. doi:10.3969/j.issn.1674 - 6929.2019.03.009.

[7] 郑心子,程美玉,李 娜. LncRNA-HOTAIR 与肿瘤侵袭转移[J]. 医学分子生物学杂志,2018,15(4):242 - 247. doi:10.3870/j.issn.1672 - 8009.2018.04.011.

[8] Luan T, Zhang X, Wang S, et al. Long non-coding RNA MIAT promotes breast cancer progression and functions as ceRNA to regulate DUSP7 expression by sponging miR-155-5p[J]. Oncotarget, 2017, 8(44): 76153 - 76164. doi:10.18632/oncotarget.19190.

[9] Mitra R, Chen X, Greenawalt EJ, et al. Decoding critical long non-coding RNA in ovarian cancer epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Nat Commun, 2017, 8(1):1604. doi:10.1038/s41467 - 017 - 01781 - 0.

[10] Li Y, Wang K, Wei Y, et al. lncRNA-MIAT regulates cell biological behaviors in gastric cancer through a mechanism involving the miR-29a-3p/HDAC4 axis[J]. Oncol Rep, 2017, 38(6):3465 - 3472. doi:10.3892/or.2017.6020.

[11] 史俊英,王 晔,陈 文,等. GeXP 多重分析技术检测肝癌组织长链非编码 RNA 表达的实验研究[J]. 分子诊断与治疗杂志,2018,10(1):9 - 16. doi:10.3969/j.issn.1674 - 6929.2018.01.002.

[12] Alipoor FJ, Asadi MH. MIAT lncRNA is overexpressed in breast cancer and its inhibition triggers senescence and G1 arrest in MCF7 cell line[J]. J Cell Biochem, 2018, 119(8):6470 - 6481. doi:10.1002/jcb.26678.

[13] Qu Y, Xiao H, Xiao W, et al. Upregulation of MIAT regulates LOXL2 expression by competitively binding miR-29c in clear cell renal cell carcinoma[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 48(3):1075 - 1087. doi:10.1159/000491974.

[14] 张 巍,李 芳,赵曼曼. miR-195-5p 通过靶向调控 VEGFA 的表达对宫颈癌 HeLa 细胞侵袭和迁移能力的影响[J]. 医学分子生物学杂志,2019,16(2):99 - 106. doi:10.3870/j.issn.1672 - 8009.2019.02.001.

[15] 杨云鹏,刘 莉,李 慧. MMP-2、MMP-3 和 MMP-9 在胃癌患者中的表达及意义[J]. 局解手术学杂志,2016,25(9):625 - 628. doi:10.11659/jjssx.03E016107.

[16] Zhu J, Zhang X, Ai L, et al. Clinicohistopathological implications of MMP/VEGF expression in retinoblastoma: a combined meta-analysis and bioinformatics analysis[J]. J Transl Med, 2019, 17(1):226. doi:10.1186/s12967 - 019 - 1975 - 3.

[17] Webb AH, Gao BT, Goldsmith ZK, et al. Inhibition of MMP-2 and MMP-9 decreases cellular migration, and angiogenesis in in vitro models of retinoblastoma[J]. BMC Cancer, 2017, 17(1):434. doi:10.1186/s12885 - 017 - 3418 - y.

[18] 李 博,李栋梁,谭 强,等. TGF-β1 诱导上皮间质转化促进口腔鳞癌侵袭转移[J]. 局解手术学杂志,2018,27(7):467 - 473. doi:10.11659/jjssx.01E018078.

[19] Shao XL, Chen Y, Gao L. MiR-200c suppresses the migration of retinoblastoma cells by reversing epithelial mesenchymal transition[J]. Int J Ophthalmol, 2017, 10(8):1195 - 1202. doi:10.18240/ijo.2017.08.02.

[20] Huang X, Gao Y, Qin J, et al. LncRNA-MIAT promoted proliferation and invasion of HCC cells via sponging miR-214[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2017, 314(5): G559 - G565. doi: 10.1152/ajpgi.00242.2017.

[21] Sha M, Lin M, Wang J, et al. Long non-coding RNA MIAT promotes gastric cancer growth and metastasis through regulation of miR-141/DDX5 pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2018, 37(1):58. doi:10.1186/s13046 - 018 - 0725 - 3.

(编辑:左艳芳)