DOI:10.13406/j.cnki.cyxb.001159

MIR155HG促进人肺腺癌细胞 A549 的增殖和迁移侵袭

孙柏林，杨能学
（重庆建设医院综合内科，重庆 400050）

【摘 要】**目的**：探讨非编码 RNA MIR155HG 对人肺癌 A549 细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响及机制。**方法**：过表达或敲减 MIR155HG 后，MTS 检测 A549 细胞生长的变化，流氏细胞仪检测细胞周期。Transwell 迁移和侵袭实验检测过表达或敲减 MIR155HG 后，A549 细胞迁移和侵袭能力的变化。过表达 MIR155HG 后，定量 PCR 检测 A549 细胞中 miR-155-5p 的表达。**结果**：MTS 法显示，转染 72 h 和 96 h 后，过表达 MIR155HG 组细胞吸光度（absorbance，A）值分别为（2.47 ± 0.14）和（3.13 ± 0.15），均较对照组[（2.09 ± 0.12）（72 h）和（2.50 ± 0.13）（96 h）]增加（P=0.006，P=0.027）；敲减 MIR155HG 组细胞在 48、72 和 96 h 的 OD 值分别为（1.69 ± 0.15），（1.87 ± 0.09）和（2.24 ± 0.16），较对照组[（2.04 ± 0.06）（48 h），（2.43 ± 016）（72 h）和（2.88 ± 0.11）（96 h）]均降低（P=0.006，P=0.006 和 P=0.004）；敲减 MIR155HG 组的 A549 细胞 G0/G1 期比例为 63.93%，与对照组（54.32%）相比，增加了 9.61%；迁移实验结果显示，过表达 MIR155HG 组的穿膜细胞数为（31.67 ± 3.51）个，与对照组（12.67 ± 2.51）相比增加明显（P=0.002）。敲减 MIR155HG 组的 A549 细胞的穿膜细胞数为（13.67 ± 3.21）个，与对照组（36.00 ± 4.58）相比明显减少（P=0.002）。侵袭实验结果显示，过表达 MIR155HG 组细胞穿膜细胞数为（42.33 ± 7.02）个，与对照组（15.67 ± 3.51）相比明显增加（P=0.004）。敲减 MIR155HG 组穿膜细胞数为（15.00 ± 3.60）个，与对照组（39.00 ± 4.36）相比明显减少（P=0.002）。定量 PCR 显示，过表达 MIR155HG 后，miR-155-5p 的表达较对照组增加的倍数为（17.99 ± 2.42）（P=0.000）。**结论**：MIR155HG 能增强 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力，其发挥作用的机制可能是通过产生 miR-155-5p 来实现。

【关键词】长链非编码 RNA；MIR155HG；非小细胞肺癌
【中图分类号】R734.2 【文献标志码】A 【收稿日期】2016-04-11

Long non-coding RNA MIR155HG promotes proliferation, migration and invasion of A549 human lung cancer cells

Sun Bailin, Yang Nengxue
(*Department of Internal Medicine, Chongqing Jianshe Hospital*)

【Abstract】***Objective***: To investigate the effects and mechanism of MIR155HG on proliferation, cell cycle, migration and invasion of A549 human lung cancer cells. ***Methods***: MTS assay, flow cytometry, migration assay and invasion assay were applied to study the changes of cell proliferation, cell cycle, migration and invasion after overexpression or knock down of MIR155HG in A549 cells. The expression level of miR-155-5p was detected after overexpression of MIR155HG. ***Results***: MTS results showed that the absorbance (A) value was higher in MIR155HG overexpression group at 72 h(2.47 ± 0.14) and 96 h (3.13 ± 0.15) after transfection respectively, compared with vector control group at 72 h(2.09 ± 0.12) and 96 h (2.50 ± 0.13) after transfection (P=0.006, P=0.027; A value in MIR155HG knockdown group at 48 h(1.69 ± 0.15), 72 h(1.87 ± 0.09) and 96 h(2.24 ± 0.16) after transfection was lower than in negative control group at 48 h(2.04 ± 0.06), 72 h(2.43 ± 016) and 96 h(2.88 ± 0.11) after transfection respectively (P=0.006, P=0.006, P=0.004); The percentage of G0/G1 phase increased from 54.32% in negative control group to 63.93% in MIR155HG knockdown group. Transwell migration assay indicated that the number of migrated cells in MIR155HG overexpression group(31.67 ± 3.51) was more than in vector control group(12.67 ± 2.51) (P=0.002); the number of migrated cells in MIR155HG knockdown group(13.67 ± 3.21) was less than in negative control group (36.00 ± 4.58) (P=0.002). Transwell invasion assay showed that the number of invaded cells in MIR155HG overexpression group(42.33 ± 7.02) was more than in vector control group (15.67 ± 3.51) (P=0.004); the number of invaded cells in MIR155HG knockdown group(15.00 ± 3.60) was less than in

作者介绍：孙柏林，Email：weiweite@163.com
研究方向：肺癌基础和临床研究。
通信作者：杨能学，Email：443769169@qq.com
基金项目：国家自然科学基金青年基金资助项目（编号：81502161）；重庆市科委基础科学与前沿技术研究（一般）资助项目（编号：cstc2015jcyjA10007）。
优先出版：http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1046.r.20170104.1005.008.html (2017-01-04)

negative control group (39.00 ± 4.36) (P=0.002). Real-time PCR analysis showed that the fold change of miR-155-5P expression in MIR155HG overexpression group was upregulated to 17.99 ± 2.42 compared with vector control group (P=0.000). ***Conclusion***: MIR155HG may promote A549 cells proliferation, migration and invasion possibly via miR-155-5p.

【Key words】long non-coding RNA; MIR155HG; non-small cell lung cancer

肺癌是全世界范围内最常见的恶性肿瘤，每年大约有 130 万人死于肺癌[1]。WHO 将肺癌分为两大组织类型，即小细胞癌和非小细胞癌。其中，非小细胞癌（non-small cell lung cancer，NSCLC）的比例达 80%~85%[2]。NSCLC 早期容易侵犯血管，发生远处转移，且大多数 NSCLC 患者对放化疗不敏感。尽管过去几十年，人们在新的治疗方法上有所进展，但患者的总体生存率并没有显著提高。因此，迫切需要找到 NSCLC 形成和发展中的关键分子，为 NSCLC 的治疗提供新的靶点。随着生物学技术的发展，近年来研究显示，在肿瘤中异常表达的癌基因或抑癌基因在肿瘤血管形成、浸润和转移中发挥重要作用[3]。

长非编码 RNA（long non-coding RNA，lncRNA）指长度大于 200 nt 的非编码 RNA。lncRNA 虽无编码蛋白质功能，但具有重要的生物学功能[4]。lncRNA 的表达异常与多种疾病有关，尤其与肿瘤的发生发展关系密切。lncRNA 可作为癌基因或抑癌基因对肿瘤的生物学行为产生重要影响[5-6]。研究发现，某些 lncRNA 在肺癌中异常表达并发挥重要功能。例如，lncRNA RAIN 在非小细胞肺癌中作为癌基因发挥重要功能，敲减 RAIN 的表达在体外抑制非小细胞肺癌的增殖[7]。lncRNA PCAT-1 在非小细胞肺癌组织和细胞中高表达，敲减 PCAT-1 的表达后，A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力受到抑制[8]。

MIR155HG（MIR155 host gene，又名 BIC）是长度为 1 500 bp 的 lncRNA，因其为 miR-155 的宿主基因，故而得名。文献证实，MIR155HG 在急性髓细胞白血病、霍奇金淋巴瘤、慢性淋巴细胞白血病中表达增加[9]。MIR155HG 通过 MYB 转录因子转录激活得以表达上调，继而导致许多抑癌基因表达下调[10]。然而，MIR155HG 对非小细胞肺癌的作用和机制尚无文献报道。本研究将通过细胞生物学和分子生物学方法，研究 MIR155HG 对非小细胞肺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响及机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

载体 pCDH--MSCV-MCS-EF1-GFP 和 A549 细胞由重庆医科大学基础医学院刘茜副教授惠赠。限制性内切酶 *Not* Ⅰ和 *Eco*R Ⅰ购自 Takara 公司。一步定向克隆试剂盒购自上海近岸蛋白质科技有限公司。质粒提取试剂盒、胶回收试剂盒购自 Omega 公司。RNA 提取试剂、逆转录试剂和定量 PCR试剂均购自 Takara 公司。MTS 试剂购自 Promega 公司。转染试剂 lipofectamine 2000、lipofectamine 3000 和引物购自 Invitrogen 公司。MIR155HG-siRNA 由上海权阳公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞复苏和培养 从液氮罐内取出冻存的 A549 细胞株，快速置 37 ℃恒温水浴锅内震荡以快速解冻。在超净台内，吸取冻存细胞液加入完全培养基，混匀细胞，在 37 ℃、5% CO_2 和常规湿度的培养箱中培养，待细胞贴壁后马上换液。隔天换培养基，每 2 d 或待细胞密度达到 70%以上传代，取对数生长期的细胞进行后续实验。

1.2.2 重组质粒的构建、转化、筛选和鉴定 PCR 引物设计遵从 NovoRec 一步定向克隆试剂盒（无缝克隆）引物设计方法。使用高保真酶进行 PCR 扩增，扩增后产物电泳，切下符合目的基因条带大小的产物并用提胶试剂盒提纯。载体用 *Eco*R Ⅰ和 *Not* Ⅰ酶切后回收。根据一步定向克隆试剂盒说明，将目的片段与载体以一定的摩尔比（3:1~10:1）进行重组反应，反应后转化大肠肝菌 DH5α，氨苄西林抗性筛选，平板培养。单个克隆挑取后扩增，用质粒抽提试剂盒提取 DNA，PCR 初步筛选，送测序后最终确认。基因克隆用引物如下：上游 ATTCTAGAGCTAGCGAATTCGCCGAGCCCGGGCCCAGCGC；下游 GAGCGAT CGCAGATCCTTGCGGCCGCTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTT。

1.2.3 瞬时转染 实验分为对照组 Vector（空白质粒）和实验组 MIR155HG（构建的 MIR155HG 重组质粒）。转染前 1 d，将 A549 细胞接种于 6 孔板的 1 个孔，使第 2 天的细胞密度达到 70%~90%。吸取 5 μL lipofectamine 3000 加入到 125 μL OPTI-MEM 中，混匀，得到混合物 1。吸取 2.5 μg 质粒和 5 μL P3000 加入到 125 μL OPTI-MEM 中，混匀，得到混合物 2。将混合物 1 和 2 混匀后，室温孵育 5 min。将 6 孔板中的液体换

成无血清无抗生素的培养基，再加入 250 μL 混合液，放入培养箱 6 h 后，更换为完全培养基，48 h 后可用于后续实验。

1.2.4 RNA 干扰 实验分对照组 NC（阴性对照）和实验组 MIR155HG-siRNA。转染前 1 d，将 A549 细胞接种于 6 孔板的 1 个孔，使第 2 天的细胞密度达到 30%~50%。吸取 5 μL lipofectamine 2000 加入到 250 μL OPTI-MEM 中，混匀，得到混合物 1，室温放置 5 min。吸取 NC 或 MIR155HG-siRNA（20 nmol/L）5 μL 加入到 250 μL OPTI-MEM 中，混匀，得到混合物 2。将混合物 1 和 2 混匀后，室温孵育 20 min。将 6 孔板中的液体换成含 2% FBS 无抗生素的培养基，再加入 500 μL 混合液，放入培养箱继续培养，24 h 后可进行后面的实验。MIR155HG-siRNA 序列如下：UAUCUCAUUAGCUGUCAGA-TT。

1.2.5 MTS 法 将细胞接种到 96 孔板，每孔 5×10^4 个细胞。分成实验组和对照组，每组 3 个复孔。实验共计 4 d 时间完成，每天在同一个时间进行如下操作，首先吸出培养基，每孔加入 100 μL 完全培养基。每孔中再加入预先解冻混匀的 20 μL MTS。培养箱中孵育 1~4 h（每天孵育时间一致）。孵育结束后使用酶标仪在 490 nm 测吸光度（absorbance，A）值。转染 MIR155HG（实验组）和 Vector（对照组）两两均数比较，转染 MIR155HG-siRNA（实验组）和 NC（对照组）两两均数比较。

1.2.6 FCM 检测细胞周期 细胞以 2×10^6 个/孔接种于 6 孔板，细胞分成实验组和对照组，重复 3 次实验。用胰酶消化细胞，待细胞刚能从壁上脱落时加入培养基，吹打后，1 200 g离心 5 min 收集细胞。吸尽培养基，将细胞用 50 μL PBS 重悬，再加入 75% 乙醇，4 ℃固定 24~48 h。PBS 洗涤细胞 3 次，加入 PI 染色液 10 μL、混匀后 4 ℃避光染色 30 min。流式细胞仪检测细胞周期的分布。

1.2.7 Transwell 小室检测细胞迁移能力 将转染后的细胞稀释成 10×10^4 个/mL 细胞悬液，在 transwell 小室上室中加入 200 μL 细胞悬液，下室中加入 500 μL 完全培养基，常规培养 24 h 后，用棉签擦去基质胶和上室内的细胞，PBS 洗 2 次，多聚甲醛固定 30 min。用 0.1% 结晶紫染色 30 min，然后用 PBS 洗净，在 200 倍倒置显微镜下分别计数穿过膜的细胞并拍照，随机选取 3 个视野，取其平均值。

1.2.8 Transwell 侵袭实验检测细胞侵袭能力 使用包被 ECM 的 transwell 小室，其余同迁移实验。

1.2.9 定量 RT-PCR 检测转染后 MIR155HG 和 miR-155 的表达及 RNA 干扰的效率 使用 Takara 公司的 RNAiso 提取细胞中总 RNA。检测 MIR155HG 的表达时，使用 Takara 试剂盒（RR047）逆转录 RNA，得到的 cDNA 在进行定量 PCR 前，加入 80 μL ddH_2O 使其稀释成 100 μL。使用 Takara 试剂盒（RR820A）进行 qRT-PCR 检测 MIR155HG 的表达水平；检测 miR-155 的表达时，采用 Clontech 公司的试剂盒（638313）进行逆转录，得到的 cDNA 在进行定量 PCR 前，加入 90 μL ddH_2O 将 cDNA 稀释成 100 μL。使用 Takara 试剂盒（RR820A）进行 qRT-PCR 检测 miR-155 的表达水平。实验组相对于对照组表达量的变化倍数用 $2^{-\Delta\Delta Q}$ 方法计算。PCR 引物如下：MIR155HG 上游 5'- GCAGGTTTTGGCTTGTTCAT- 3'；下游 5'-AAAACGTTGCCAGACAATCC-3'；ACTB 上游 5'- TCAA-GATCATTGCTCCTCCTGAG-3'；下游 5'-ACATCTGCTGGAA-GGTGGACA-3'；miR-155 上游 5'-TTAATGCTAATCGTG-ATAGGGGT-3'；U6 上游 5'-CTCGCTTCGGCAG CACA-3'。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 19.0 统计软件，所得数值以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，2 组均数的比较采用独立样本 t 检验，检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 重组质粒载体的构建与鉴定

转化后，用氨苄西林抗性的平板培养，挑选 3 个单克隆后扩增并提取 DNA，将得到的 DNA 作为模板，进行 PCR 扩增，电泳后结果如图 1 所示，3 号质粒扩增出与 MIR155HG大小相同的条带，结果送测序比对后，序列完全正确。

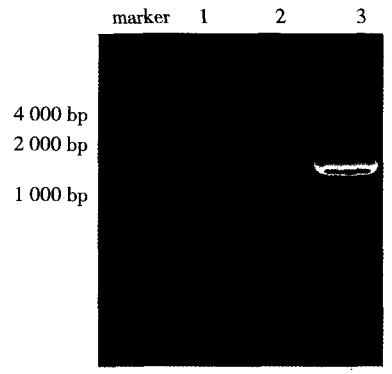


图 1 重组质粒 MIR155HG 的 PCR 鉴定

Fig.1 The preliminary identification of MIR155HG by PCR

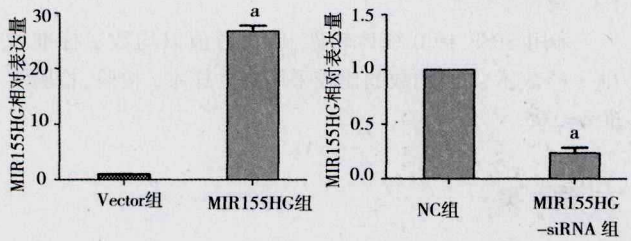
2.2 转染重组质粒或 RNA 干扰后，A549 细胞中 MIR155HG 的表达

瞬时转染重组质粒 MIR155HG 后，A549 细胞中MIR155HG 的表达量相对于对照组的增加倍数为（26.63 ± 1.03），差异有统计学意义（t=-28.057，P=0.000，图 2A）。siRNA 干扰后，A549 细胞内 MIR155HG 的表达量相对于对照组的变化倍数为 0.24 ± 0.09，降低程度>70%（t=15.546，P=0.000，图 2B）。

2.3 MIR155HG 能促进 A549 细胞的增殖

MTS检测过表达或敲减 MIR155HG 后，细胞增殖能力的变化为：转染 MIR155HG 72 h 后，测得的 A 值为（2.47 ± 0.14），与对照组 Vector（2.09 ± 0.12）相比，差异有统计学意义（表 1，图 3A，P=0.027）。转染 96 h 后，MIR155HG 转染组 A549 细胞 A 值为（3.13 ± 0.15），比对照组 Vector（2.50 ± 0.13）增加，差

异有统计学意义(表 1,图 3A,P=0.006)。转染 MIR155HG-siRNA 到 A549 细胞 48 h 后,测得的 A 值为(1.69 ± 0.15),较对照组 NC(2.04 ± 0.06)减少,差异有统计学意义(表 1,图 3B,P=0.023),转染 MIR155HG-siRNA 到 A549 细胞 72 h 和 96 h 后,测得的 A 值分别为(1.87 ± 0.09)和(2.24 ± 0.16),均较对照组 NC[(2.43 ± 016)和(2.88 ± 0.11)]减少,差异有统计学意义(表 1,图 3B,P=0.006,P=0.004)。



A. 过表达 MIR155HG　　B. 敲减 MIR155HG

a:P<0.01

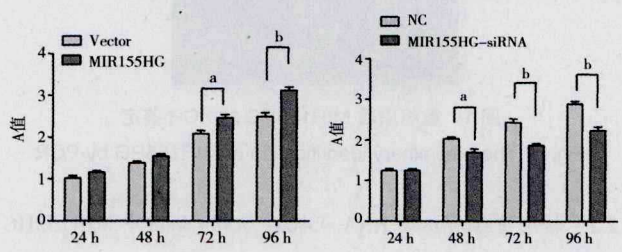
图 2　A549 细胞中 MIR155HG 的表达水平(n=3)

Fig.2　The expression level of MIR155HG in A549 cells after overexpression or knock down of MIR155HG(n=3)

表 1　检测各组细胞在 490 nm 的平均 A 值

Tab.1　Average absorbance of cells in each group at 490 nm

时间	Vector组	MIR155HG组	NC组	MIR155HG-siRNA组
24 h	1.02 ± 0.09	1.17 ± 0.04	1.25 ± 0.09	1.26 ± 0.07
48 h	1.39 ± 0.07	1.56 ± 0.08	2.04 ± 0.06	1.69 ± 0.15
72 h	2.09 ± 0.12	2.47 ± 0.14	2.43 ± 016	1.87 ± 0.09
96 h	2.50 ± 0.13	3.13 ± 0.15	2.88 ± 0.11	2.24 ± 0.16



A. 过表达 MIR155HG　　B. 敲减 MIR155HG

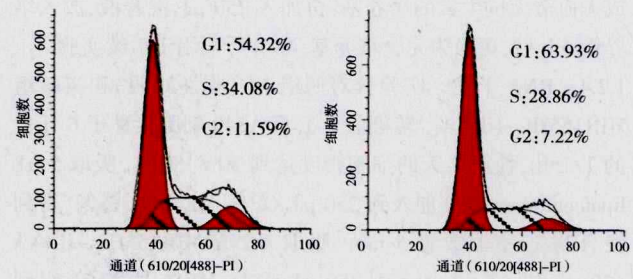
a:P<0.05;b:P<0.01

图 3　A549 细胞增殖能力的检测(n=3)

Fig.3　Detection of cell proliferation by MIR155HG overexpression or knock down in A549 cells(n=3)

2.4　RNA 干扰 MIR155HG 的表达后,细胞周期阻滞在 G0/G1 期

应用 RNA 干扰方法敲减 MIR155HG 的表达后,A549 细胞 G0/G1 期比例为 63.93%,与对照组(54.32%)相比,增加了 9.61%,说明 A549 细胞发生了的 G0/G1 期阻滞,细胞的生长减慢(图 4),这一结果与 MTS 结果一致。



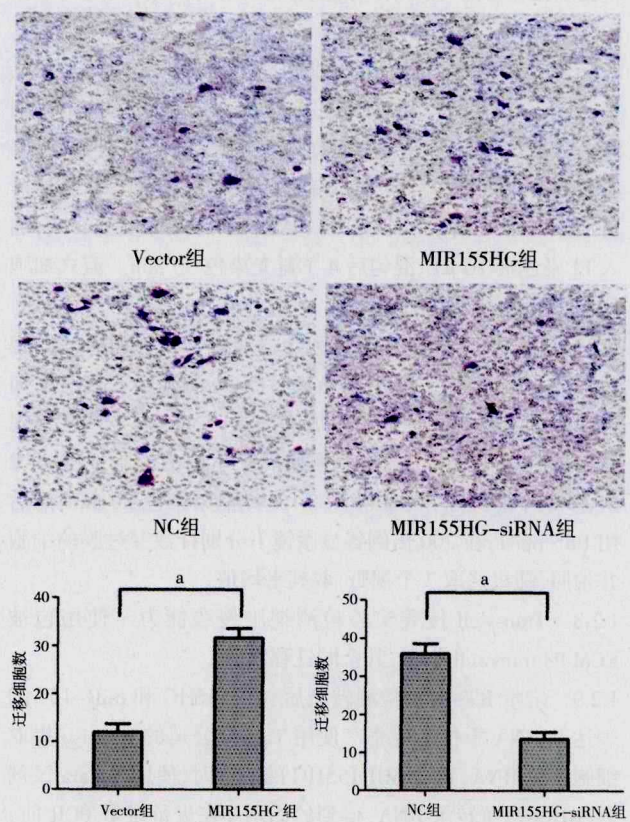
A. NC 组　　B. MIR155HG-siRNA 组

图 4　敲减 MIR155HG 后,检测 A549 细胞细胞周期

Fig.4　Cell cycle detected in A549 cells after MIR155HG knock down

2.5　MIR155HG 能够增强 A549 细胞的迁移能力

在 A549 细胞中过表达或敲减 MIR155HG 后,transwell 迁移实验检测细胞迁移能力的改变。结果显示,过表达 MIR155HG 后,A549 细胞的穿膜细胞数为(31.67 ± 3.51)个,与对照组(12.67 ± 2.51)相比,增加明显,差异有统计学意义(图 5,t=-7.62,P=0.002)。敲减 MIR155HG 后的 A549 细胞的平均每视野下穿膜细胞数为(13.67 ± 3.21),与对照组(36.00 ± 4.58)相比明显减少,差异有统计学意义(图 5,t=6.91,P=0.002)。



a:P<0.01

图 5　过表达或敲减 MIR155HG 对 A549 细胞的迁移能力的影响(n=3)

Fig.5　Effect of MIR155HG overexpression or knock down on the migration of A549 cells(n=3)

2.6 MIR155HG 能够增强 A549 细胞的侵袭能力

Transwell 侵袭实验证实，在 A549 细胞中过表达MIR155HG 后，穿膜细胞数为（42.33 ± 7.02）个，与对照组（15.67 ± 3.51）相比，细胞侵袭能力增强，差异有统计学意义（图 6，t=-5.88，P=0.004）。siRNA 敲减 MIR155HG 的表达后，A549 细胞穿膜细胞数为（15.00 ± 3.60）个，与对照组（39.00 ± 4.36）相比，细胞的侵袭能力明显减弱，差异有统计学意义（图 6，t=7.35，P=0.002）。

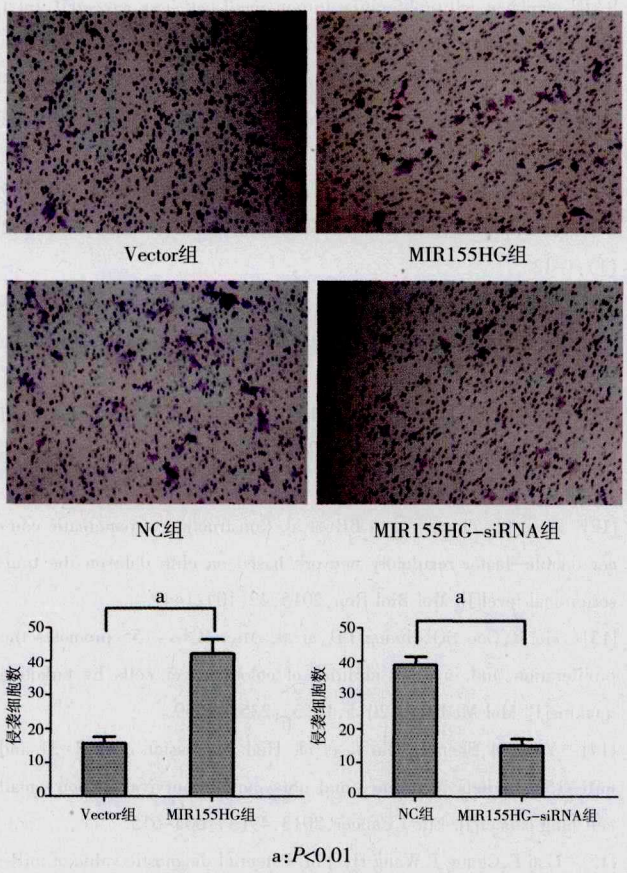


图 6 过表达或敲低 MIR155HG 对 A549 细胞的侵袭能力的影响（n=3）

Fig.6 Effect of MIR155HG Overexpression or knock down on the invasive ability of A549 cells(n=3)

2.7 过表达 MIR155HG 后，A549 细胞中 miR-155-5p 的表达升高

在 A549 细胞中过表达 MIR155HG 后，定量 PCR 检测发现，细胞中 miR-155-5p 的表达量较对照组相比增加的倍数为（17.99 ± 2.42），差异具有统计学意义（图 7，t=-12.152，P=0.000）。

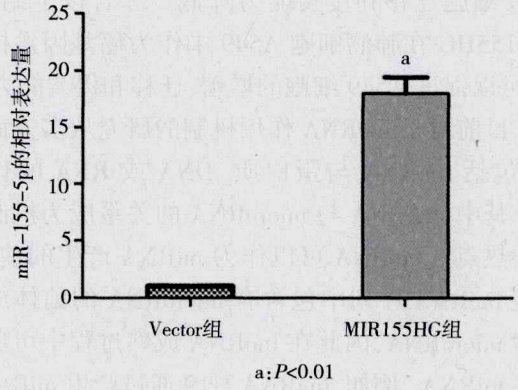


图 7 过表达 MIR155HG 后，A549 细胞中 miR-155-5p 的表达（n=3）

Fig.7 The expression of miR-155-5p in A549 cells after overexpression of MIR155HG（n=3）

3 讨 论

MIR155HG 中包含有 miR-155 的前体序列。尽管目前对 MIR155HG 在肿瘤中的表达差异与功能研究较少，但来自 MIR155HG 的 miR-155 在肿瘤中的作用已有文献报道。研究发现，miR-155 的过表达可以促进结肠癌、脂肪肉瘤、胰腺癌的增殖和侵袭能力[11-13]。Yang 等[14]报道在肺癌组织中高表达 miR-155 的患者，生存期较短，预后不良，甚至在肺腺癌患者血清中检测到 miR-155 的表达显著增加，提示其可能作为肺腺癌的诊断标志物[15]。组织学类型为鳞癌并伴有淋巴结转移的肺癌患者中，miR-155 高表达且与患者的 5 年生存率呈正相关[16]。以上研究提示，miR-155 在肺癌中可能发挥癌基因的功能，然而作为 miR-155 的宿主基因，MIR155HG 在肺癌中发挥的功能及机制尚无研究报道。因此，深入研究 MIR155HG 或 miR-155 在肺癌发生中的作用及机制，不仅有助于阐明肺癌发生发展机制，而且对于寻找治疗肺癌的靶点具有重要意义。

本研究应用瞬时转染使 MIR155HG 在 A549 细胞中表达明显增加，采用 RNA 干扰的方法，使 MIR155HG 在 A549 细胞中表达降低超过 70%。应用 MTS 方法检测发现，MIR155HG 能明显促进 A549 细胞的生长。应用流式细胞仪检测细胞周期时发现，敲减 MIR155HG 的表达后，A549 细胞的周期阻滞在 G0/G1 期，与 MTS 结果一致，以上结果均证明 MIR155HG 能在体外促进 A549 细胞增殖。本研究还检测了 MIR155HG 对 A549 细胞迁移和侵袭能力的影响，结果发现，过表达 MIR155HG 后，A549 细胞迁移和侵袭能力均增加，敲减 MIR155HG 后，

A549 细胞迁移和侵袭能力降低。综合以上结果，MIR155HG 在肺癌细胞 A549 中作为癌基因发挥功能，可以促进 A549 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

目前对于 lncRNA 作用机制的研究从多方面展开，包括 lncRNA 与蛋白质、DNA 或 RNA 的作用等。其中，lncRNA 与 microRNA 的关系成为机制研究的热点。lncRNA 可以作为 miRNA 产生的前体。某些 lncRNA 序列中包含有 microRNA 的前体或者原始 microRNA，因此在 lncRNA 成熟过程中可剪切产生 miRNA。例如，lncRNA H19 通过产生 miR-675 影响胃癌细胞的增殖和侵袭能力[17]。MIR155HG 包含有 miR-155 序列，可以加工生成 miR-155。目前，已有文献证实 miR-155 在肺癌细胞中发挥癌基因的功能[11-13]。因此推测 MIR155HG 对肺癌细胞的作用是通过生成的 miR-155 来实现的。在 A549 细胞中过表达 MIR155HG 后，定量 PCR 检测发现miR-155-5p 的表达增加，这一结果提示，MIR155HG 在 A549 细胞中的作用可能通过生成的 miR-155-5p 实现。对于此机制，本课题组还将在以后通过更多的后续实验加以证实。MIR155HG 在肺癌中的作用机制还可能包括与蛋白质的相互作用，与 DNA 或 RNA 的相互作用，这都有待于后续更深入的研究。

综合本研究的结果，MIR155HG 能促进人肺癌细胞 A549 的增殖、迁移和侵袭能力，其作用机制可能是通过产生 miR-155-5p 来实现。这一研究为阐明肺癌的发生发展机制提供了理论基础，并为寻找新的治疗肺癌的靶标提供了理论依据。

参 考 文 献

[1] Huang YC. Outdoor air pollution:a global perspective[J]. J Occup Environ Med,2014,56(s10):3-7.

[2] Moschini I,Dell'Anna C,Losardo PL,et al. Radiotherapy of non-small-cell lung cancer in the era of EGFR gene mutations and EGF receptor tyrosine kinase inhibitors[J]. Future Oncol,2015,11(16):2329-2342.

[3] Lu M,Tian Y,Yue WM,et al. GOLPH3,a good prognostic indicator in early-stage NSCLC related to tumor angiogenesis[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2014,15(14):5793-5798.

[4] Silva A,Bullock M,Calin G. The clinical relevance of long non-coding RNAs in cancer[J]. Cancers,2015,7(4):2169-2182.

[5] Malek E,Jagannathan S,Driscoll JJ. Correlation of long non-coding RNA expression with metastasis,drug resistance and clinical outcome in cancer[J]. Oncotarget,2014,5(18):8027-8038.

[6] Serviss JT,Johnsson P,Grander D. An emerging role for long non-coding RNAs in cancer metastasis[J]. Front Genet,2014,5:234.

[7] Feng J,Sun Y,Zhang EB,et al. A novel long noncoding RNA I-RAIN regulates cell proliferation in non small cell lung cancer[J]. Int J Clin Exp Pathol,2015,8(10):12268-12275.

[8] Zhao B,Hou X,Zhan H. Long non-coding RNA PCAT-1 over-expression promotes proliferation and metastasis in non-small cell lung cancer cells[J]. Int J Clin Exp Med,2015,8(10):18482-18487.

[9] Elton TS,Selemon H,Elton SM,et al. Regulation of the MIR155 host gene in physiological and pathological processes[J]. Gene,2013,532(1):1-12.

[10] Nielsen CB,Shomron N,Sandberg R,et al. Determinants of targeting by endogenous and exogenous microRNAs and siRNAs[J]. RNA,2007,13(11):1894-1910.

[11] Vincenzi B,Iuliani M,Zoccoli A,et al. Deregulation of dicer and mir-155 expression in liposarcoma[J]. Oncotarget,2015,6(12):10586-10591.

[12] Zhao LL,Zhang T,Liu BR,et al. Construction of pancreatic cancer double-factor regulatory network based on chip data on the transcriptional level[J]. Mol Biol Rep,2015,42(10):1447.

[13] He B,Gao SQ,Huang LD,et al. MicroRNA-155 promotes the proliferation and invasion abilities of colon cancer cells by targeting quaking[J]. Mol Med Rep,2015,11(3):2355-2359.

[14] Yang M,Shen H,Qiu C,et al. High expression of miR-21 and miR-155 predicts recurrence and unfavourable survival in non-small cell lung cancer[J]. Eur J Cancer,2013,49(3):604-615.

[15] Gao F,Chang J,Wang H,et al. Potential diagnostic value of miR-155 in serum from lung adenocarcinoma patients[J]. Oncol Rep,2014,31(1):351-357.

[16] Donnem T,Eklo K,Berg T,et al. Prognostic impact of MiR-155 in non-small cell lung cancer evaluated by in situ hybridization[J] .J Transl Med,2011,9:6.

[17] Liu G,Xiang T,Wu QF,et al. Long noncoding RNA H19-derived miR-675 enhances proliferation and invasion via RUNX1 in gastric cancer cells[J]. Oncol Res,2016,23(3):99-107.

（责任编辑：方 济）