doi:10.11659/jjssx.12E022138

·基础研究·

lncRNA MIR4435-2HG靶向miR-376a-3p调控胆管癌细胞生物学行为的机制研究

刘文东[1],张嘉麟[1],余紫丹[2] (1.惠州市第三人民医院肿瘤科,广东 惠州 516001;2.惠州市第三人民医院康复中心,广东 惠州 516001)

[摘 要] **目的** 探讨长链非编码RNA(lncRNA)MIR4435-2HG(MIR4435-2HG)对胆管癌细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡的影响及其对微小RNA-376a-3p(miR-376a-3p)的调控作用。**方法** qRT-PCR法检测人肝内胆管上皮细胞HIBEpic与人胆管癌细胞RBE中MIR4435-2HG、miR-376a-3p的表达。将si-NC、si-MIR4435-2HG、miR-NC、miR-376a-3p mimics、si-MIR4435-2HG联合anti-miR-NC、si-MIR4435-2HG联合anti-miR-376a-3p分别转染至RBE细胞,作为si-NC组、si-MIR4435-2HG组、miR-NC组、miR-376a-3p组、si-MIR4435-2HG+anti-miR-NC组、si-MIR4435-2HG+anti-miR-376a-3p组;采用MTT法、Transwell小室法及流式细胞仪分别检测细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡情况;双荧光素酶报告基因实验验证MIR4435-2HG与miR-376a-3p的靶向关系。Western blot检测相关蛋白表达。**结果** RBE细胞中MIR4435-2HG表达量升高($P<0.05$),miR-376a-3p表达量降低($P<0.05$)。与si-NC组比较,si-MIR4435-2HG组MIR4435-2HG表达、细胞活力及CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白水平降低($P<0.05$),迁移及侵袭细胞数减少($P<0.05$),细胞凋亡率升高($P<0.05$);与miR-NC组比较,miR-376a-3p组细胞活力及CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白水平降低($P<0.05$),迁移及侵袭细胞数减少($P<0.05$),miR-376a-3p表达、细胞凋亡率升高($P<0.05$)。MIR4435-2HG可靶向调控miR-376a-3p;与si-MIR4435-2HG+anti-miR-NC组比较,si-MIR4435-2HG+anti-miR-376a-3p组细胞活力及CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白水平升高($P<0.05$),迁移及侵袭细胞数增多($P<0.05$),miR-376a-3p表达、细胞凋亡率降低($P<0.05$)。**结论** 敲低MIR4435-2HG可通过靶向调控miR-376a-3p进而抑制RBE细胞增殖、迁移、侵袭,并诱导其凋亡。

[关键词] lncRNA MIR4435-2HG;miR-376a-3p;胆管癌;细胞增殖;迁移;侵袭
[中图分类号] R735.7 [文献标志码] A [收稿日期] 2022-12-27

Mechanism of lncRNA MIR4435-2HG targeting miR-376a-3p to regulate the biological behavior of cholangiocarcinoma cells

LIU Wen-dong[1], ZHANG Jia-lin[1], YU Zi-dan[2] (1.Department of Oncology, Huizhou Third People's Hospital, Huizhou Guangdong 516001, China; 2.Rehabilitation Center, Huizhou Third People's Hospital, Huizhou Guangdong 516001, China)

Abstract: Objective To explore the effects of long non-coding RNA (lncRNA) MIR4435-2HG (MIR4435-2HG) on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of cholangiocarcinoma cells and its regulatory effect on microRNA-376a-3p (miR-376a-3p). **Methods** qRT-PCR method was used to detect the expression of MIR4435-2HG and miR-376a-3p in human intrahepatic bile duct epithelial cells HIBEpic and human cholangiocarcinoma cells RBE. si-NC, si-MIR4435-2HG, miR-NC, miR-376a-3p mimics, si-MIR4435-2HG and anti-miR-NC, and si-MIR4435-2HG and anti-miR-376a-3p were transfected into RBE cells, respectively, as the si-NC group, the si-MIR4435-2HG group, the miR-NC group, the miR-376a-3p group, the si-MIR4435-2HG+anti-miR-NC group, the si-MIR4435-2HG+anti-miR-376a-3p group. MTT method, Transwell chamber method and flow cytometry were used to detect cell proliferation, migration, invasion and apoptosis; dual luciferase reporter gene assay was used to verify the targeting relationship between MIR4435-2HG and miR-376a-3p. Western blot was used to detect the expression of related proteins.**Results** The expression of MIR4435-2HG was increased in RBE cells, while the expression of miR-376a-3p was decreased ($P<0.05$). Compared with the si-NC group, the MIR4435-2HG expression, cell viability, and protein levels of CyclinD1, MMP-2, MMP-9 in the si-MIR4435-2HG group were reduced ($P<0.05$), the numbers of migrating and invading cells were reduced ($P<0.05$), while the MIR4435-2HG expression and apoptosis rate were increased ($P<0.05$). Compared with the miR-NC group, the cell viability and protein levels of CyclinD1, MMP-2, MMP-9 in the miR-376a-3p group were decreased ($P<0.05$), the numbers of migrating and invading cells were decreased ($P<0.05$), while the MIR4435-2HG expression and apoptosis rate were increased ($P<0.05$). MIR4435-2HG was of targeted regulation on miR-376a-3p. Compared with the si-MIR4435-2HG+anti-miR-NC group, the cell viability and protein levels of CyclinD1, MMP-2, MMP-9 in the si-MIR4435-2HG+anti-miR-376a-3p group were increased ($P<0.05$), the numbers of migrating and invading cells were increased ($P<0.05$), while the MIR4435-2HG expression and apoptosis rate were decreased ($P<0.05$). **Conclusion** Knockdown of MIR4435-2HG can inhibit the proliferation, migration, invasion and induce apoptosis of RBE cells by targeting miR-376a-3p.

Keywords: lncRNA MIR4435-2HG; miR-376a-3p; cholangiocarcinoma; cell proliferation; migration; invasion

胆管癌是胆道系统常见的恶性肿瘤,治疗后易发生转移,患者5年生存率低于30%,因而探究胆管癌复

[基金项目] 惠州市医疗卫生类科技计划项目(20190401)

发转移的关键基因对于改善患者预后至关重要[1-2]。长链非编码RNA(long non-coding RNA,lncRNA)在胆管癌中表达异常,以微小RNA(microRNA,miRNA)的分子海绵对胆管瘤细胞生物学行为进行调控[3-4]。研究显示,lncRNA MIR4435-2HG(以下简称MIR4435-2HG)在胃癌组织及细胞系中表达上调,并可通过激活Wnt/β-catenin通路,进而促进胃癌细胞生长及转移[5]。但MIR4435-2HG对胆管癌的影响尚不清楚。生物信息学预测显示,MIR4435-2HG与miR-376a-3p存在结合位点,miR-376a-3p在结直肠癌中表达下调,且miR-376a-3p低表达可通过上调KLF15表达,促进结直肠癌的发展[6]。但MIR4435-2HG/miR-376a-3p轴在胆管癌进展过程中的作用尚不明确。故本研究就MIR4435-2HG是否可靶向调控miR-376a-3p调节胆管癌细胞增殖、迁移及侵袭展开探讨。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

人肝内胆管上皮细胞HIBEpic与人胆管癌细胞RBE购自中国科学院细胞库;反转录试剂、qRT-PCR试剂与Lipofectamine 2000购自美国Thermo Fisher;si-MIR4435-2HG(UGCUAGCUAUCGACGGU)及其阴性对照si-NC(AGUCAUCGUAGCU)、anti-miR-376a-3p(AUCGAUGCUAUCGAU)及其阴性对照anti-miR-NC(CGGUAGUUGAUCAAA)、miR-376a-3p mimics(ACGUCUAGUAUCUCCC)及其阴性对照miR-NC(GCGCUAGACAUCGUA)购自上海优宁维生物科技股份有限公司;Matrigel基质胶、MTT、凋亡检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;Trizol试剂购自美国Invitrogen;兔抗人细胞周期蛋白CyclinD1,MMP-2、MMP-9抗体与二抗购自美国Santa Cruz;Transwell小室购自美国Corning。

1.2 细胞分组

将HIBEpic细胞和RBE细胞分别接种于含10%胎牛血清、1%青/链霉素的RPMI-1640培养基中,于37 ℃、5% CO_2培养箱内培养。取对数期RBE细胞,以1×10^5/孔的密度接种于6孔板,用不含血清的培养基分别稀释si-NC、si-MIR4435-2HG、miR-NC、miR-376a-3p mimics、si-MIR4435-2HG联合anti-miR-NC、si-MIR4435-2HG联合anti-miR-376a-3p后室温孵育5 min(A液),用不含血清的培养基稀释转染试剂充分混合(B液),A液与B液充分混匀,室温孵育20 min后加入6孔板的RBE细胞中,设为si-NC组、si-MIR4435-2HG组、miR-NC组、miR-376a-3p组、si-MIR4435-2HG+anti-miR-NC组、si-MIR4435-2HG+anti-miR-376a-3p组,6 h后替换为完全培养基,2 d后收集细胞进行后续实验。将未转染的RBE细胞作为NC组。

1.3 qRT-PCR检测MIR4435-2HG、miR-376a-3p表达

采用Trizol试剂提取HIBEpic和RBE细胞总RNA,逆转录为cDNA,以此为模板行qRT-PCR。反应体系:cDNA 2 μL,快速逆转录试剂混合液10 μL,正反引物各1 μL,加RNase-free双蒸水至20 μL;反应条件:95 ℃预变性2 min,94 ℃变性30 s,57 ℃退火30 s,72 ℃延伸30 s,进行40个循环。MIR4435-2HG正向引物5′-GGAAGTGGTGGCTATGAGTCAG-3′,反向引物5′-TGTCAATTTGAAACTTAAAAAGCAG-3′;miR-376a-3p正向引物5′-CCCAGGAGGACTGAAGCAACAA-3′,反向引物5′-GCTATCTCAGGGCTTGTTGCTTC-3′;U6正向引物5′-CTCGCTTCGGCAGCACA-3′,反向引物5′-AGGGGATCCACAGTCTTC-3′;β-actin正向引物5′-GTCCACCGCAAATGCTTCTA-3′,反向引物5′-TGCTGTCACCTTCACCGTTC-3′。以β-actin为内参,采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法分析MIR4435-2HG、miR-376a-3p的表达。

1.4 MTT法检测细胞增殖能力

取每组RBE细胞,以1×10^4/孔的密度接种于96孔板,各孔均加MTT溶液20 μL,于37 ℃培养4 h,各孔加细胞冷冻液150 μL,振荡混匀后孵育10~15 min,采用酶标仪检测490 nm波长处各孔吸光度(A值)。

1.5 Transwell小室法检测细胞迁移与侵袭能力

取每组RBE细胞(约5×10^4个)接种于小室上室(侵袭实验前5 h加入Matrigel基质胶稀释液40 μL),下室为含10%胎牛血清的培养基,放入培养箱内孵育1 d后弃培养基,除去未迁移及侵袭的细胞,甲醇固定迁移及侵袭细胞20 min,0.5%结晶紫染色15 min,显微镜下观察并计数。

1.6 流式细胞仪检测细胞凋亡率

取每组RBE细胞(约5×10^6/mL),经800 r/min离心5 min,弃培养液,用预冷PBS清洗2次,去除PBS后加1×Binding Buffer缓冲液100 μL,于冰上预冷,重悬后加Annexin V-FITC染色液5 μL与PI 5 μL,避光孵育10 min,上机前再加入1×Binding Buffer缓冲液400 μL,充分混匀后流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.7 双荧光素酶报告基因实验验证MIR4435-2HG与miR-376a-3p的靶向关系

采用Starbase数据库预测MIR4435-2HG与miR-376a-3p的结合位点。构建MIR4435-2HG野生型载体(WT-MIR4435-2HG),并将MIR4435-2HG和miR-376a-3p互补结合位点突变构建MIR4435-2HG突变型载体(MUT-MIR4435-2HG),用荧光素酶报告系统鉴定其靶向关系。将WT-MIR4435-2HG、MUT-MIR4435-2HG分别与miR-376a-3p mimics或miR-NC共转染至RBE细胞后培养2 d,采用荧光素酶活性检测试剂盒检测细胞荧光素酶活性。此外,将MIR4435-2HG过表达质粒(pcDNA-MIR4435-2HG)及其阴性对

照(pcDNA-NC)、si-MIR4435-2HG、si-NC分别转染RBE细胞,分别记为pcDNA-MIR4435-2HG组、pcDNA-NC组、si-MIR4435-2HG组和si-NC组。转染2 d后收集细胞,采用qRT-PCR检测MIR4435-2HG、miR-376a-3p表达。

1.8 Western blot检测相关蛋白表达

采用RIPA裂解液提取各组RBE细胞总蛋白,测定总蛋白浓度后,加入5×上样缓冲液(每40 μL蛋白样品加入10 μL上样缓冲液)煮沸变性。分别配制分离胶与浓缩胶后进行SDS-PAGE电泳(40 V/5 h),当染料进入玻璃板的底部后停止电泳,在冰上转移至PVDF膜(100 V),然后于封闭液中封闭2 h。将PVDF膜与CyclinD1、MMP-2、MMP-9、β-actin的一抗(均以1∶1 000稀释)4 ℃孵育24 h,随后加入二抗反应液(1∶4 000稀释),37 ℃震荡孵育1 h,ECL显色后采用Image J软件分析CyclinD1、MMP-2、MMP-9灰度值。

1.9 统计学处理

采用SPSS 21.0软件分析数据,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较行独立样本t检验,多组间比较行单因素方差分析。P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 MIR4435-2HG和miR-376a-3p的表达量

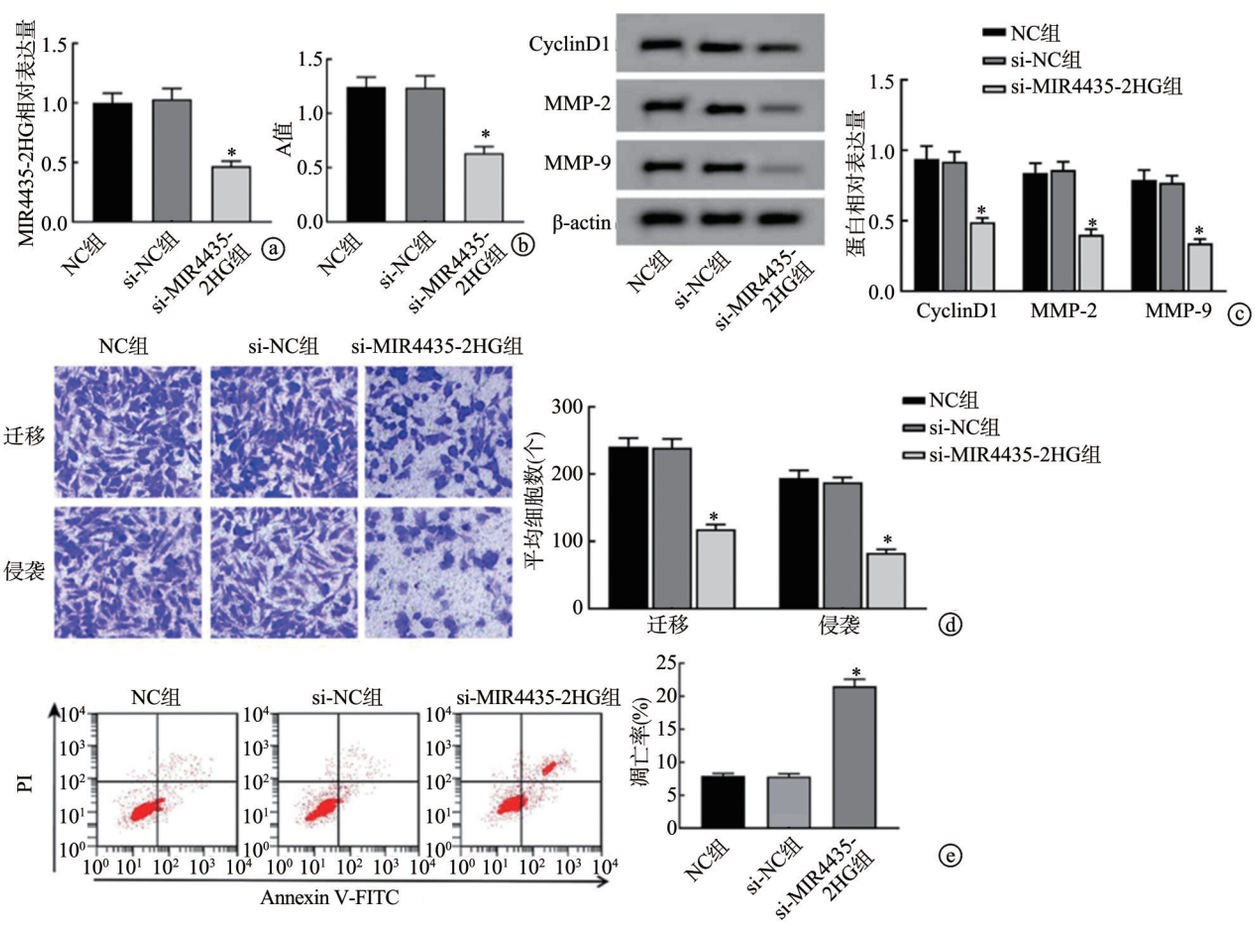
人胆管癌细胞系RBE中MIR4435-2HG的表达量高于人肝内胆管上皮细胞HIBEpic(P<0.001),而miR-376a-3p的表达量低于HIBEpic细胞(P<0.001),见表1。

表1 各细胞系中miR-376a-3p和MIR4435-2HG表达量($\bar{x}\pm s$)

细胞类别	MIR4435-2HG	miR-376a-3p
HIBEpic	1.00±0.07	1.00±0.10
RBE	2.86±0.21	0.36±0.03
t	25.208	18.390
P	<0.001	<0.001

2.2 低表达MIR4435-2HG对RBE细胞生物学行为的影响

si-MIR4435-2HG组MIR4435-2HG表达水平、细胞活力、迁移及侵袭细胞数低/少于si-NC组(P<0.05),CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白水平低于si-NC组(P<0.05),细胞凋亡率高于si-NC组(P<0.05),见图1。



a:qRT-PCR检测MIR4435-2HG表达;b:MTT法检测细胞增殖能力;c:Western blot分析CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达;d:Transwell检测RBE细胞迁移和侵袭能力(结晶紫染色,×200);e:流式细胞术检测细胞凋亡情况 *:与si-NC组比较,P<0.05

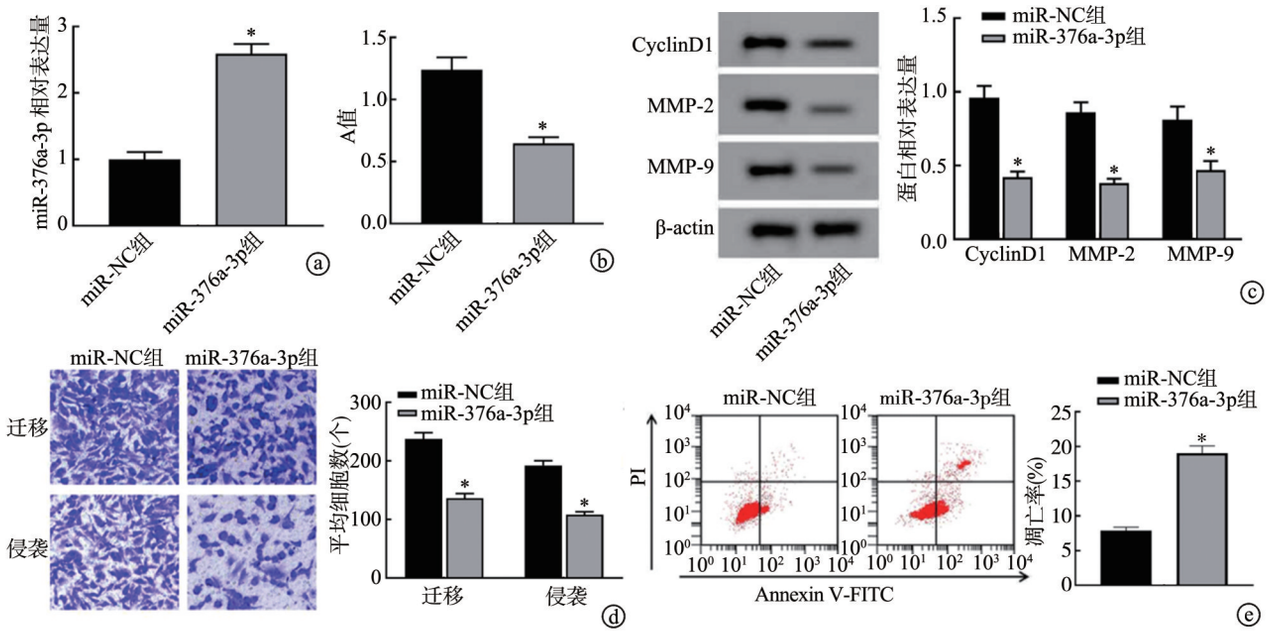
图1 低表达MIR4435-2HG对RBE细胞生物学行为的影响

2.3 高表达miR-376a-3p对RBE细胞生物学行为的影响

miR-376a-3p组细胞活力、迁移及侵袭细胞数低/少于miR-NC组($P<0.05$),CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白水平低于miR-NC组($P<0.05$),miR-376a-3p表达水平、细胞凋亡率高于miR-NC组($P<0.05$),见图2。

2.4 MIR4435-2HG靶向调控miR-376a-3p表达

MIR4435-2HG和miR-376a-3p存在结合位点,见图3a。转染miR-376a-3p mimics可降低WT-MIR4435-2HG的荧光素酶活性($P<0.05$),而未能抑制MUT-MIR4435-2HG的荧光素酶活性,见图3b。pcDNA-MIR4435-2HG组MIR4435-2HG表达量高于pcDNA-NC组,miR-376a-3p的表达量低于pcDNA-NC组($P<0.05$);si-MIR4435-2HG组MIR4435-2HG表达量低于si-NC组,miR-376a-3p的表达量高于si-NC组($P<0.05$),见图3c。



a:qRT-PCR检测miR-376a-3p表达;b:MTT法检测细胞增殖能力;c:Western blot分析CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达;d:Transwell检测RBE细胞迁移和侵袭能力(结晶紫染色,×200);e:流式细胞术检测细胞凋亡情况 *:与si-NC组比较,$P<0.05$

图2 高表达miR-376a-3p对RBE胆管癌细胞生物学行为的影响

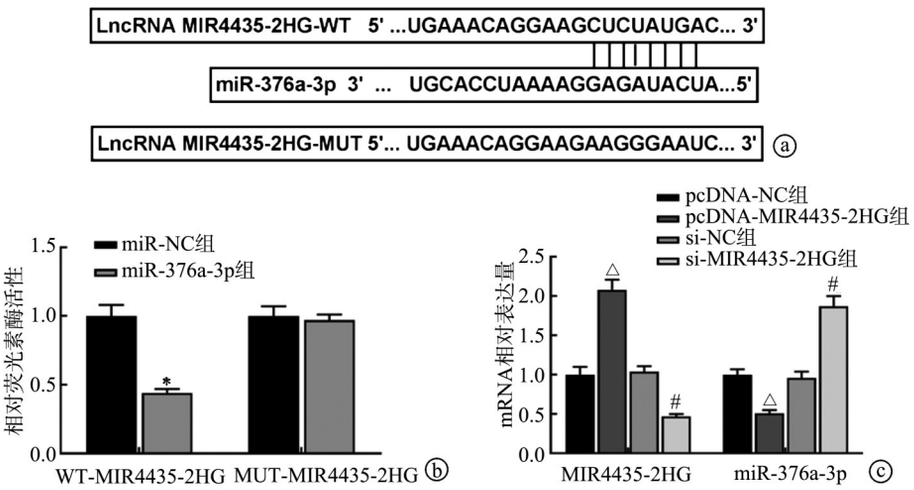
2.5 敲低miR-376a-3p逆转沉默MIR4435-2HG对RBE细胞的影响

与si-MIR4435-2HG+anti-miR-NC组比较,si-MIR4435-2HG+anti-miR-376a-3p组细胞活力、迁移及侵袭细胞数升高/增加($P<0.05$),CyclinD1、MMP-2、MMP-9蛋白水平升高($P<0.05$),miR-376a-3p表达水平、细胞凋亡率降低($P<0.05$),见图4。

3 讨论

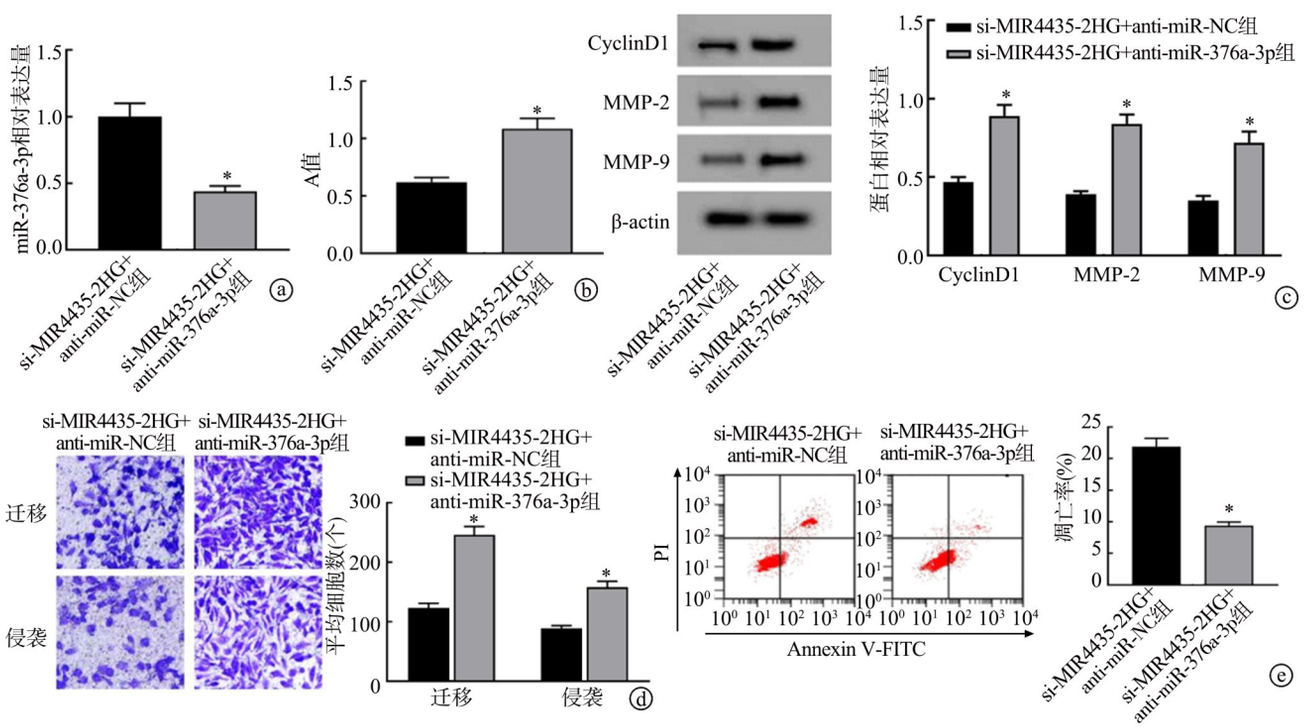
lncRNA可调控细胞增殖、分化及侵袭等过程,既往研究显示,lncRNA在胆管癌的形成及转移中可发挥重要调控作用,如lncRNA TUG1通过抑制miR-29a促进胆管癌细胞的生长和转移[7];lncRNA MEG3可抑制胆管癌细胞增殖和侵袭[8];lncRNA LINC01061可充当miR-612的竞争性内源性RNA调节轴突导向因子4D从而促进胆管癌的发生及发展[9];敲低lncRNA SNHG20可通过上调miR-520f-3p抑制胆管癌细胞增殖[10];lncRNA FENDRR低表达可促进胆管癌细胞恶性生物学特性[11]。但lncRNA/miRNA/mRNA分子轴在胆管癌发生及发展过程中的作用机制尚未完全阐明[12]。

MIR4435-2HG在透明细胞肾细胞癌中呈高表达,并可通过调控miR-513a-5p/KLF6轴促进透明细胞肾细胞癌细胞增殖及转移[13]。MIR4435-2HG可通过miR-128-3p/CDK14轴诱导卵巢癌细胞凋亡,敲除MIR4435-2HG可抑制卵巢癌细胞的增殖、迁移[14]。但MIR4435-2HG在胆管癌发生及发展过程中的作用机制尚不清楚。本研究结果显示,MIR4435-2HG在胆管癌细胞中表达升高,敲低MIR4435-2HG可明显降低胆管癌细胞活力,并可抑制CyclinD1的表达。研究表明,CyclinD1可与细胞周期蛋白依赖性激酶结合从而诱导细胞周期停滞于G_1期,细胞周期失控后可进入无限增殖分化状态进而促进肿瘤发生[15]。细胞外基质的异常降解与癌细胞迁移密切相关,高表达的基质金属蛋白酶MMP-2、MMP-9可加速细胞外基质降解,从而提高癌细胞迁移能力[16-18]。本研究敲低MIR4435-2HG



a:Starbase预测miR-376a-3p与MIR4435-2HG的结合位点;b:MIR4435-2HG和miR-376a-3p靶向关系验证;c:各组MIR4435-2HG和miR-376a-3p表达量 *:与miR-NC组比,$P<0.05$;△:与pcDNA-NC组比较,$P<0.05$;#:与si-NC组比较,$P<0.05$

图3 MIR4435-2HG靶向调控miR-376a-3p表达



a:qRT-PCR检测miR-376a-3p表达;b:MTT法检测细胞增殖能力;c:Western blot分析CyclinD1、MMP-2和MMP-9蛋白表达;d:Transwell检测RBE细胞迁移和侵袭能力(结晶紫染色,×200);e:流式细胞术检测细胞凋亡情况 *:与si-MIR4435-2HG+anti-miR-NC组比较,$P<0.05$

图4 敲低miR-376a-3p逆转沉默MIR4435-2HG对RBE细胞的影响

后RBE细胞迁移及侵袭数减少,MMP-2、MMP-9蛋白水平降低,细胞凋亡率升高,提示敲低MIR4435-2HG可抑制RBE细胞迁移及侵袭,促进RBE细胞凋亡。

为探究敲低MIR4435-2HG调控RBE细胞生物学行为的分子机制,本研究进一步分析发现,RBE细胞中MIR4435-2HG可与miR-376a-3p靶向结合并负向调控其表达。Shen等[19]研究表明,lncRNA TTN-AS1可通过抑制miR-376a-3p的表达促进子宫内膜癌的发生及发展。Zhou等[20]研究发现,miR-376a-3p表达减少可能与骨肉瘤进展有关,miR-376a可通过对SATB1的直接靶向调控,显著抑制骨肉瘤细胞增殖、侵袭。本研究检测到RBE细胞中的miR-376a-3p表达降低,其高表达能够抑制RBE细胞的增殖、迁移,诱导细胞凋亡,而抑制miR-376a-3p表达能够逆转敲低MIR4435-2HG对

RBE细胞生物学行为的作用。

综上,敲低MIR4435-2HG可通过上调miR-376a-3p而抑制RBE细胞增殖、迁移及侵袭,并可促进其凋亡,MIR4435-2HG/miR-376a-3p轴在胆管癌形成及发展过程中具有重要调控作用,MIR4435-2HG可能作为胆管癌的潜在分子治疗靶点。但MIR4435-2HG/miR-376a-3p轴在胆管癌发生发展中的作用仍需进行在体实验进一步验证。

[参考文献]

[1] 彭 丰,王 敏,谢 昱,等. 长链抗分化非编码RNA在胆管癌中的表达及其对胆管癌侵袭转移的影响[J]. 中华实验外科杂志,2020,37(5):918-921. doi:10.3760/cma.j.cn421213-20200228-00107.

[2] 叶 华,何 波,陈 捷,等. 长链非编码RNA HULC在胆管癌中促进细胞迁移和侵袭的机制[J]. 中华实验外科杂志,2019,36(8):1401-1405. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2019.08.019.

[3] 吕 波,朱新锋,蔡常春,等. 长链非编码RNA CBR3-AS1在胆管癌中的表达及其临床意义[J]. 中国普通外科杂志,2019,28(8):960-965. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.08.008.

[4] Zhu H,Zhai B,He C,et al. LncRNA TTN-AS1 promotes the progression of cholangiocarcinoma via the miR-320a/neuropilin-1 axis[J]. Cell Death Dis,2020,11(8):637-647. doi:10.1038/s41419-020-02896-x.

[5] Wang H,Wu M,Lu Y,et al. LncRNA MIR4435-2HG targets desmoplakin and promotes growth and metastasis of gastric cancer by activating Wnt/beta-catenin signaling[J]. Aging (Albany NY),2019,11(17):6657-6673. doi:10.18632/aging.102164.

[6] Wang Y,Jiang F,Xiong Y,et al. LncRNA TTN-AS1 sponges miR-376a-3p to promote colorectal cancer progression via upregulating KLF15[J]. Life Sci,2020,244(1):116936-116946. doi:10.1016/j.lfs.2019.116936.

[7] Hao WY,Guo LW,Luo J,et al. LncRNA TUG1 promotes growth and metastasis of cholangiocarcinoma cells by inhibiting miR-29a[J]. Cancer Manag Res,2020,12(1):11103-11111. doi:10.2147/CMAR.S270515.

[8] Li J,Jiang X,Li C,et al. LncRNA-MEG3 inhibits cell proliferation and invasion by modulating Bmi1/RNF2 in cholangiocarcinoma[J]. J Cell Physiol,2019,234(12):22947-22959. doi:10.1002/jcp.28856.

[9] Yu A,Zhao L,Kang Q,et al. LncRNA LINC01061 sponges miR-612 to regulate the oncogenic role of SEMA4D in cholangiocarcinoma[J]. Biochem Biophys Res Commun,2019,513(2):465-471. doi:10.1016/j.bbrc.2019.03.125.

[10] Guan C,Zhao Y,Wang W,et al. Knockdown of lncRNA SNHG20 suppressed the proliferation of cholangiocarcinoma by sponging miR-520f-3p[J]. Cancer Biother Radiopharm,2020,9(1):1-9. doi:10.1089/cbr.2020.4042.

[11] Qin X,Lu M,Zhou Y,et al. LncRNA FENDRR represses proliferation,migration and invasion through suppression of survivin in cholangiocarcinoma cells[J]. Cell Cycle,2019,18(8):889-897. doi:10.1080/15384101.2019.1598726.

[12] 陈 杰. LncRNA ZFPM2-AS1靶向miR-515-5p调控胆管癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. 河北医药,2021,43(7):976-980. doi:10.3969/j.issn.1002-7386.2021.07.003.

[13] Zhu K,Miao C,Tian Y,et al. lncRNA MIR4435-2HG promoted clear cell renal cell carcinoma malignant progression via miR-513a-5p/KLF6 axis[J]. J Cell Mol Med,2020,24(17):10013-10026. doi:10.1111/jcmm.15609.

[14] Zhu L,Wang A,Gao M,et al. LncRNA MIR4435-2HG triggers ovarian cancer progression by regulating miR-128-3p/CKD14 axis[J]. Cancer Cell Int,2020,20(1):145-155. doi:10.1186/s12935-020-01227-6.

[15] Zhang FH,Ren HY,Shen JX,et al. Magnolol suppresses the proliferation and invasion of cholangiocarcinoma cells via inhibiting the NF-kappaB signaling pathway[J]. Biomed Pharmacother,2017,94(1):474-480. doi:10.1016/j.biopha.2017.07.085.

[16] Bao W,Cao F,Ni S,et al. lncRNA FLVCR1-AS1 regulates cell proliferation,migration and invasion by sponging miR-485-5p in human cholangiocarcinoma[J]. Oncol Lett,2019,18(3):2240-2247. doi:10.3892/ol.2019.10577.

[17] 刘玉辉,孙庆庆,郭 放. Gab2对结肠癌细胞细胞外黏附作用的影响[J]. 实用临床医药杂志,2017,21(15):61-63. doi:10.7619/jcmp.201715016.

[18] 徐 倩,杨根岭,张 波,等. 长链非编码RNA XIST通过miR-186调控宫颈癌细胞侵袭迁移及凋亡的分子机制[J]. 中国免疫学杂志,2020,36(13):1600-1604. doi:10.3969/j.issn.1000-484X.2020.13.012.

[19] Shen L,Wu Y,Li A,et al. LncRNA TTN-AS1 promotes endometrial cancer by sponging miR-376a-3p[J]. Oncol Rep,2020,44(4):1343-1354. doi:10.3892/or.2020.7691.

[20] Zhou G,Jiang H,Ma L. MicroRNA-376a inhibits cell proliferation and invasion in osteosarcoma via directly targeting SATB1[J]. Mol Med Rep,2018,18(3):3521-3528. doi:10.3892/mmr.2018.9344.

(编辑:魏 源)