

· 论 著 ·

# 结直肠癌侵袭转移过程中 HOXB7 介导 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路作用及机制研究

肖海娟<sup>1</sup>, 杨林<sup>2</sup>, 徐鹏飞<sup>3</sup>, 张亚密<sup>1</sup>, 张妮<sup>1</sup>, 王克穷<sup>1</sup>, 刘莉萍<sup>4</sup>

1. 陕西中医药大学附属医院肿瘤科, 陕西 咸阳 712000; 2. 咸阳市中心医院肝胆外科, 陕西 咸阳 712000;  
3. 陕西中医药大学附属医院放疗科, 陕西 咸阳 712000; 4. 陕西中医药大学附属医院耳鼻喉科, 陕西 咸阳 712000

**摘要:** **目的** 研究同源异型盒基因 B7 (HOXB7) 介导 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路在结直肠癌侵袭转移中的作用与机制。**方法** 构建慢病毒转染重组质粒 HOXB7/psin, 包装质粒 PIK 和阴性对照质粒 psin, 通过转染技术获得稳定过表达 HOXB7 的结直肠癌细胞株 (SW480/HOXB7, 293FT/HOXB7) 及对照细胞株 (SW480/vector, 293FT/Vector)。采用实时荧光定量 PCR (qRT-PCR) 和 Western blot 法检测 HOXB7 mRNA 和蛋白的表达, 采用免疫荧光染色技术评估 HOXB7 对结直肠癌细胞株  $\beta$ -Catenin 的调控作用, 采用 qRT-PCR 和 Western blot 法检测 Wnt 信号通路下游靶基因及蛋白的表达, 采用小室试验评价各组细胞转移侵袭能力。**结果** SW480/HOXB7, 293FT/HOXB7 细胞株的 HOXB7 mRNA 和蛋白表达水平较 SW480/vector, 293FT/Vector 细胞株显著提高 ( $P$  均  $< 0.05$ )。HOXB7 过表达后, 细胞核中  $\beta$ -Catenin 表达水平显著升高, 并可见明显的入核现象, 而在细胞浆中  $\beta$ -Catenin 表达水平无明显变化。随着 HOXB7 的过表达, 293FT/SW480 细胞株中 DKK1、cyclinD1、LEF1 等 Wnt 信号通路下游基因及蛋白的表达均出现不同程度的上调现象。SW480/HOXB7 细胞株穿过滤膜的细胞数显著高于 SW480/vector 细胞株 ( $P < 0.05$ )。**结论** HOXB7 介导 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路的激活能够通过调控下游基因, 提高结直肠癌细胞侵袭能力, 增加肿瘤转移的风险。

**关键词:** 同源异型盒基因 B7; Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路; 结直肠癌; 侵袭; 转移; 机制

**中图分类号:** R 735.3 R -33 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674 - 8182(2016)11 - 1453 - 05

## Effect and mechanism of HOXB7 in the process of invasion and metastasis of colorectal cancer by mediating Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling pathway

XIAO Hai-juan\*, YANG Lin, XU Peng-fei, ZHANG Ya-mi, ZHANG Ni, WANG Ke-qiong, LIU Li-ping

\* Department of Oncology, The Affiliated Hospital of Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Xianyang, Shanxi 712000, China

Corresponding author: LIU Li-ping, E-mail: 905950846@qq.com

**Abstract: Objective** To study the effect and mechanism of homeobox B7 (HOXB7) in invasion and metastasis of colorectal cancer by mediating Wnt/ $\beta$ -Catenin pathway. **Methods** Constructing lentivirus-recombinant plasmid HOXB7/psin, packaging plasmid PIK and negative control plasmid psin, the colorectal cancer cell strains 293FT and SW480 of stably overexpressing HOXB7 (SW480/HOXB7, 293FT/HOXB7) and control cell strains (SW480/vector, 293FT/Vector) were gotten by transfection technique. Real time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (qRT-PCR) and Western blot method were used to respectively detect the expression levels of HOXB7 mRNA and protein. Immunofluorescence staining technique was used to evaluate the regulation effect of HOXB7 to  $\beta$ -Catenin of colorectal cancer cell line. qRT-PCR and Western blot method were used to detect the expression levels of downstream target genes and proteins of Wnt signaling pathway. The chamber test was used to evaluate the ability of cellular metastasis and invasion. **Results** The expression levels of HOXB7 mRNA and proteins in SW480/HOXB7 and 293FT/HOXB7 cell strains were significantly higher than those in SW480/vector, 293FT/Vector cell strains (all  $P < 0.05$ ). After overexpression of HOXB7, the expression level of  $\beta$ -Catenin in cell nucleus obviously increased with obvious nuclear import phenomenon, but its expression level in the cytoplasm

was unchanged. With the over expression of HOXB7, the expression levels of downstream gens and proteins of DKK1, cyclinD1 and LEF1 of Wnt signaling pathway in 293FT and SW480 cell strains presented up-expressions of deferent degrees. The cells number passed through the filter membrane in SW480/HOXB7 cell strain was significantly higher than that in SW480/vector cell strain ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The activation of HOXB7-mediated Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway could increase the invasive ability of colorectal cancer cells and the risk of tumor metastasis.

**Key words:** Homeobox B7; Wnt/ $\beta$ -Catenin signaling pathway; Colorectal cancer; Invasion; Metastasis; Mechanism

结直肠癌作为一种常见的消化道恶性肿瘤,发病率较高,且其发病率仍在以每年 4.2% 的增速递增<sup>[1]</sup>。由于结直肠癌诱因不确定,早期无典型症状,易发生转移等因素造成预后较差,病死率较高<sup>[2-3]</sup>。因而,开展关于结直肠癌发生发展和转移机制的相关研究,为其预防和治疗提供新的途径是目前结直肠癌的研究热点。Wnt 信号途径在生物体进化过程中高度保守,在胚胎发育过程中决定着细胞的生长、分化,调节心血管、中枢神经等重要器官的分化和形成<sup>[4-5]</sup>。在成人体内,Wnt 信号途径与细胞的增殖、分化、凋亡以及抗凋亡等细胞活动密切相关,这是因为当 Wnt 信号通路出现异常, $\beta$ -连锁蛋白( $\beta$ -Catenin)在细胞内大量蓄积,侵入细胞核的  $\beta$ -Catenin 会干扰下游基因的表达,加重肿瘤患者病情。由此可见,结肠癌的发生、侵袭和转移与 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号传导通路密切相关。此外,HOXB7 是同源异型盒基因 HOX 家族之一,研究表明其在多种肿瘤细胞内存在异常表达,且与肿瘤的分级、分化密切相关<sup>[6-8]</sup>。通过 Affymetrix 全基因组表达谱芯片分析具有不同转移潜能的结直肠癌细胞中的差异表达基因,发现同源盒基因 HOXB7 在高转移潜能结直肠癌细胞中表达上调,提示 HOXB7 基因可能参与结直肠癌的发生、发展及转移。本研究旨在探讨 HOXB7 和 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路在结直肠癌侵袭转移中的作用,为临床进一步明确结直肠癌发病机制,改善预后奠定基础。

## 1 材料与方法

1.1 主要试剂与溶液 寡核苷酸芯片(Affymetrix 公司),RNeasy Mini 试剂盒(Affymetrix 公司),TOP-FLASH、PRL-SV40、FOP-FLASH、双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自上海锐赛生物技术有限公司,Invitrogen Lipo2000 购自上海康稳生物科技有限公司。RIPA Buffer、RIPA 蛋白酶抑制剂、10% 十二烷基硫酸钠、10% 过硫酸铵、30% 聚丙烯酰胺、1.0 mol/L DTT、电泳缓冲液(10 $\times$ )、电转缓冲液(10 $\times$ )和 5% 脱脂牛奶等其他溶液由陕西中医药大学医学科研实验中心自行配制。

1.2 HOXB7 过表达细胞株及其对照株的构建 以 GeneBank 收录的 HOXB7 目的基因序列为参考,采用引物设计软件 Primer premier 5 自行设计引物,设计完成后采用 Trizol 法对 RNA 进行常规提取,参考逆转录试剂盒说明书向逆转录体系中加入相应的试剂(该步骤需在低温环境下操作),采用高保真 KOD-Plus DNA 聚合酶实施 Stepdown PCR 扩增,扩增完成后对 PCR 扩增产物进行割胶、纯化、克隆测序,然后将 PCR 扩增得到的目的基因片段与质粒目的基因片段进行酶切和连接,之后将此连接产物与预先制备好的感受态菌混合,在特定的条件下完成质粒转化,完成转化的细菌进行扩增和质粒小量提取用于酶切和测序鉴定,符合要求后进行质粒大量提取,得到重组质粒(HOXB7/psin),阴性对照质粒 psin 和包装质粒 PIK。

对 293FT 细胞进行传代培养,取对数生长期细胞采用胰酶进行消化后接种在 6 孔板(每孔  $5 \times 10^5$  个),当细胞生长 80% 汇合时转染,转染过程为分别将 25  $\mu$ g 重组质粒(HOXB7/psin),包装质粒 PIK 和阴性对照质粒 psin 加入 EP 管,之后根据操作说明加入对应试剂,24 h 后收集细胞培养上清液,处理完成后加至 6 孔细胞培养板(每孔提前 24 h 接种  $10^5$  个结直肠癌细胞株 SW480),完成以上操作后,间隔 4 h 收集病毒上清液,连续进行 3 次感染。感染操作完成后 1~2 d,使用含有 1  $\mu$ g/ml 的嘌呤霉素培养基对细胞株进行筛选,分别收集对照株 293FT/psin(Vector)、SW480/psin(Vector)、及 HOXB7 过表达株 293FT/HOXB7、SW480/HOXB7 四种细胞株的 RNA 和蛋白,采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)和 Western blot 进行鉴定。

1.3 HOXB7 对  $\beta$ -Catenin 的调控分析 采用核浆分离实验和蛋白质免疫共沉淀技术;将构建的稳定过表达 HOXB7 的 SW480 和 293FT 细胞株的核浆进行分离,之后分别检测细胞浆与细胞核中  $\beta$ -Catenin 的表达;采用免疫荧光染色技术探讨 HOXB7 对结直肠癌细胞株的  $\beta$ -Catenin 调控作用。

1.4 HOXB7 对 Wnt 信号通路活性和下游靶基因的影响 采用 qRT-PCR 检测 Wnt 信号通路下游靶基

因,首先在参考 GeneBank 提供的相关序列的基础上使用 Primer premier 5 软件设计,并经 BLAST 软件实施同源性分析设计各下游靶基因的引物,各基因引物序列如下。GAPDH upper: 5'-ACA GTC AGC CGC ATC TTC TT-3'; lower: 5'-GAC AAG CTT CCC GTT CTC AG-3'。HOXB7 upper: 5'-ACC GAC ACT AAA ACG TCC CTG-3'; lower: 5'-TTT GTT CTG GGA AGG CTC CG-3'。DKK1 upper: 5'-TGG AAC TCC CCT GTG ATT GC-3'; lower: 5'-AAT AGG CAG TGC AGC ACC TT-3'。LEF1 upper: 5'- GAG GAG AAG CGG TGG GAA G-3'; lower: 5'- GGT CAA AGC AAA GAG CTG CC-3'。之后经提取细胞及组织样本总 RNA,逆转录,qRT-PCR 等步骤分析下游靶基因表达情况,Western blot 检测 Wnt 信号通路下游靶基因蛋白的表达:经过细胞蛋白质提取、组织蛋白质提取、蛋白变性、聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜、抗原抗体反应、化学发光检测。

1.5 细胞侵袭能力评估 侵袭小室的上、下室之间以 8 μm 孔径聚碳酸酯微孔膜间隔,并用人工基底膜胶对滤膜实施包被,实验前在上室中加入无血清培养基用于水化人工基底膜胶。在上室接种 200 μl 肿瘤细胞;在下室加入 300 μl 完全培养基(含 10% 胎牛血清)作为趋化因子。之后将整个侵袭小室置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 进行 36 h 孵育,完成上述操作后用棉签擦除上室残留细胞,滤膜取出,经中性甲醛溶液固定后姬姆萨染色计数,以此评估肿瘤细胞的侵袭能力。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,采用成组 *t* 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 稳定过表达 HOXB7 结直肠癌细胞株的构建和鉴定结果 qRT-PCR 检测结果显示,293FT 和 SW480 细胞株经慢病毒转染重组体质粒 HOXB7/psin 后,mRNA 水平和蛋白表达量较空白质粒株 HOXB7 显著提高( $P$  均  $< 0.05$ )。见图 1、图 2。

2.2 HOXB7 对 β-Catenin 的调控结果 HOXB7 能够与 β-Catenin 和 TCF-4 在细胞核内形成复合物(图 3)。HOXB7 过表达后,细胞核中 β-Catenin 表达水平显著升高,而在细胞浆中 β-Catenin 表达水平无明显变化(图 4);HOXB7 过表达后,不仅 β-Catenin 表达水平显著升高,而且可见明显的入核现象,但 293FT 细胞中 β-Catenin 入核现象不如结直肠癌细胞株 SW480 细胞更加明显(图 5)。

2.3 HOXB7 对 Wnt 信号通路活性和下游靶基因的

影响 根据 Western blot 和 qRT-PCR 检测结果,随着 HOXB7 的过表达,293FT、SW480 细胞株中 DKK1、cyclinD1、LEF1 等下游基因及蛋白的表达均出现不同程度的上调现象。见图 6、表 1。

2.4 细胞侵袭能力 SW480/HOXB7 细胞株穿过滤膜的细胞数显著高于 SW480/vector 细胞株 [ $(612 \pm 23)$  vs  $(213 \pm 11)$ ],  $t = 16.183, P < 0.05$ ,表明 SW480/HOXB7 细胞株侵袭能力显著高于 SW480/vector。见图 7、图 8。

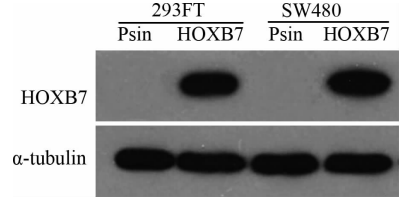


图 1 Western blot 鉴定 HOXB7 稳定高表达细胞株 293FT/HOXB7 和 SW480/HOXB7 HOXB7 蛋白表达情况

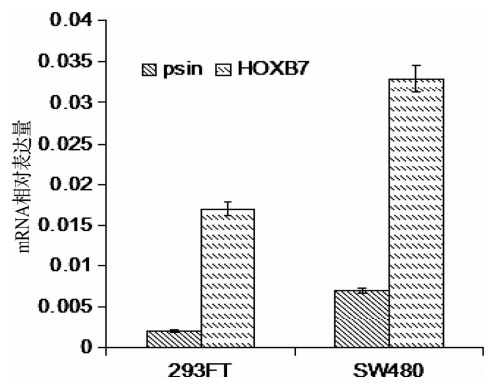
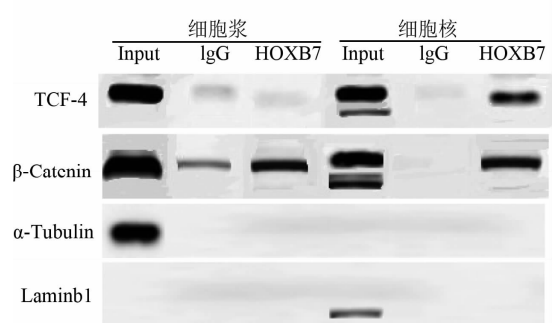


图 2 qRT-PCR 鉴定 HOXB7 稳定高表达细胞株 293FT/HOXB7 和 SW480/HOXB7 HOXB7 mRNA 表达情况



注:α-tubulin、LaminB1 分别为细胞浆和细胞核的对照。

图 3 细胞核、细胞浆中 HOXB7 与 β-Catenin 和 TCF-4 细胞的作用部位

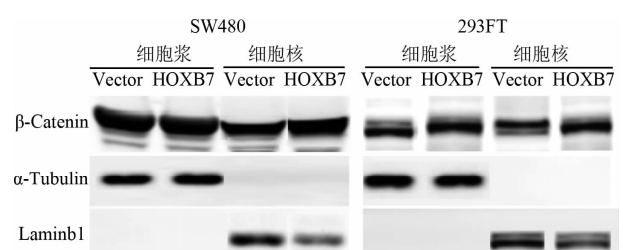


图 4 Western blot 检测 SW480/HOXB7 和 293FT/HOXB7 细胞浆和细胞核中 β-Catenin 的表达水平

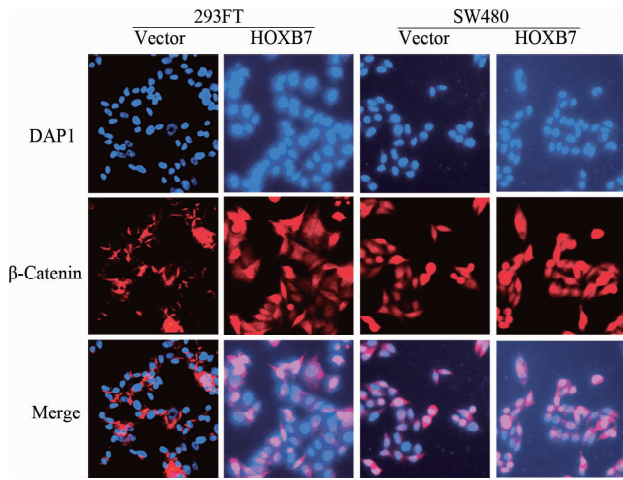


图 5 免疫荧光检测  $\beta$ -Catenin 在 SW480/HOXB7 和 293FT/HOXB7 细胞中的入核现象

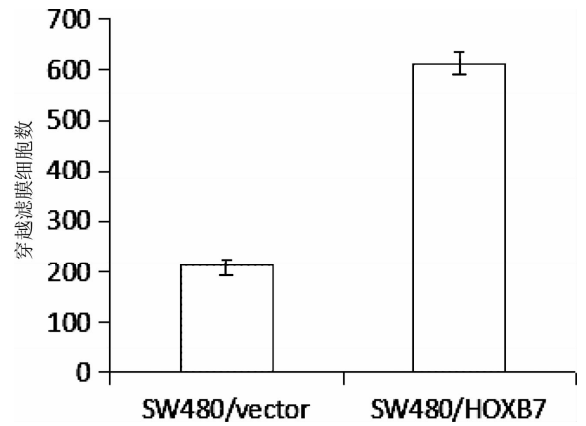


图 8 穿越滤膜细胞计数柱状图

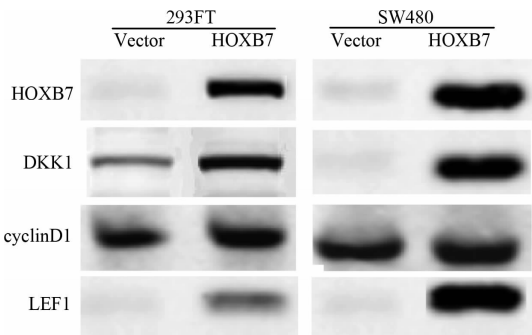
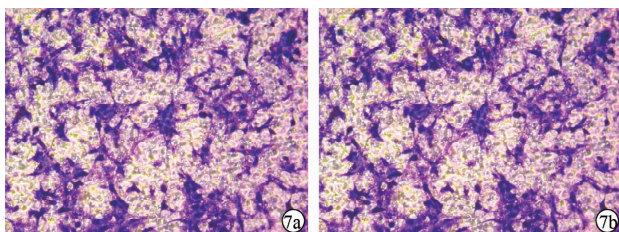


图 6 Western blot 检测 SW480/HOXB7、SW480/Vector、293FT/HOXB7、293FT/Vector 细胞株中 DKK1、cyclinD1 和 LEF1 蛋白的表达情况

表 1 qRT-PCR 检测不同细胞株中 DKK1、cyclinD1 和 LEF1 的表达情况 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	DKK1	Cyclin D1	LEF1
SW480/HOXB7	0.62009 ± 0.09212	0.08714 ± 0.007653	0.00683 ± 0.00134
SW480/Vector	0.02511 ± 0.01314	0.00623 ± 0.002170	3.3743 × 10 <sup>-6</sup> ± 1.17 × 10 <sup>-6</sup>
t 值	7.473	11.682	6.047
P 值	<0.05	<0.05	<0.05
293FT/HOXB7	0.67354 ± 0.13251	0.12763 ± 0.01211	0.00513 ± 0.00141
293FT/Vector	0.01420 ± 0.00463	0.00058 ± 0.00021	4.4236 × 10 <sup>-5</sup> ± 2.78 × 10 <sup>-5</sup>
t 值	4.351	16.513	5.517
P 值	<0.05	<0.05	<0.05



注:7a:SW480/vector;7b:SW480/HOXB7。

图 7 侵袭小室实验检测 SW480/vector 和 SW480/HOXB7 细胞株侵袭能力

### 3 讨论

Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路与大肠癌、肝癌、食管癌和胃癌等肿瘤的发生、进展密切相关<sup>[9-10]</sup>。已有研究证实,90% 以上的结直肠癌患者 Wnt 经典信号通路被激活<sup>[11]</sup>, $\beta$ -Catenin 为该经典通路的核心因子。HOXB7 能够调节肿瘤细胞分泌的相关细胞因子,进而促进肿瘤的转移,与肿瘤血管生成有关<sup>[12]</sup>,且其在具有不同转移潜能的结直肠癌细胞中的表达水平存在显著差异。

本研究结果表明,293FT 和 SW480 细胞株经慢病毒转染重组体质粒 HOXB7/psin 后,MOXB7 mRNA 水平和蛋白表达量较空白质粒组 HOXB7 显著提高,这一结果说明稳定高表达外源性 HOXB7 的结直肠癌细胞株构建成功。采用 Western blot 对  $\beta$ -Catenin 蛋白水平检测,显示 HOXB7 能够与  $\beta$ -Catenin 在 TCF4Z 细胞核内形成复合物,HOXB7 过表达后,细胞核中  $\beta$ -Catenin 表达水平显著升高。一方面  $\beta$ -Catenin 通过与 E-cadherin 结合维持细胞上皮的完整性,从而降低肿瘤在该处转移成功的可能性,而在 Wnt 信号通路激活时,会使细胞核中  $\beta$ -Catenin 聚集而丧失维持细胞上皮结构完整性的功能,进而增加肿瘤转移、浸润的风险;另一方面, $\beta$ -Catenin 还具有信号传导功能, $\beta$ -Catenin 作为一种信号分子促进血管内皮生长因子的生成,上调基质金属蛋白酶家族的表达,促进细胞外基质的降解,进而促进肿瘤细胞的生长和转移<sup>[13]</sup>。

本研究结果发现,随着 HOXB7 的过表达,293FT、SW480 细胞株中 DKK1、cyclinD1、LEF1 等下游基因的表达均不同程度的上调。Wnt 经典信号通路影响细胞命运,非经典信号通路则与细胞的移动关系密切。非经典的信号转导途径可以通过激活相关分子,分泌拮抗剂等方式抑制经典途径,形成负反馈环路<sup>[14]</sup>。不同信号分子的相互作用引起的复杂信号

级联反应使 Wnt 蛋白产生了能够调节细胞分化、生长、迁移和发育的作用,正常情况下 Wnt 信号蛋白高度保守,当其被异常激活时就会增加肿瘤发生的风险。

此外,本研究对稳定过表达 HOXB7 的 SW480 细胞株侵袭能力进行了评估,结果显示 SW480/HOXB7 细胞株穿过滤膜的细胞数显著高于 SW480/vector 细胞株,表明其侵袭能力显著高于 SW480/vector。

综上所述,HOXB7 介导 Wnt/ $\beta$ -Catenin 信号通路的激活能够通过调控下游基因,提高结直肠癌细胞侵袭能力,增加肿瘤转移的风险。

#### 参考文献

[1] 陈辰,房静远. 饮食因素影响结直肠癌发生的研究进展[J]. 中华医学杂志,2014,101(26):2069-2072.

[2] 孙增峰,孙亚方,谈丽彩,等. 结直肠癌脑转移的临床特征及预后因素分析[J]. 中华肿瘤杂志,2016,38(1):63-68.

[3] 孙德聪,茅慧,王治宽,等. 影响 III 期结直肠癌预后的相关因素分析[J]. 中国医学科学院学报,2015,37(5):549-556.

[4] 尚海,郝志强,傅熙博,等. 中介素通过经典 Wnt 信号途径促进肝癌细胞增殖[J]. 中国医科大学学报,2014,43(7):631-634.

[5] 刘之力. Wnt 信号途径与常见皮肤肿瘤[J]. 辽宁医学院学报,2015,36(3):100-102.

[6] 原薇薇,谭艳,杜敏,等. HOXB7 基因在肺腺癌中的表达及其临床意义[J]. 临床肿瘤学杂志,2014,19(11):987-991.

[7] 朱发霞,马瑞,林从尧,等. 同源异型盒基因 HOXB7 在乳腺癌组织中的表达及其意义[J]. 武汉大学学报(医学版),2015,36(1):58-61,85.

[8] 赵宇清,黄妍,高蜀君,等. 下调 HOXB7 基因对卵巢癌 SKOV3 细胞增殖的影响及机制探讨[J]. 中国癌症杂志,2013,23(3):173-178.

[9] Bordonaro M. Crosstalk between Wnt signaling and RNA processing in colorectal cancer[J]. J Cancer,2013,4(2):96-103.

[10] Lv J, Cao XF, Ji L, et al. Association of Wnt1/ $\beta$ -catenin with clinical pathological characteristics and prognosis of esophageal squamous cell carcinoma[J]. Genet Test Mol Biomarkers,2010,14(3):363-369.

[11] Zhang X, Yang Y, Liu X, et al. Epigenetic regulation of the Wnt signaling inhibitor DACT2 in human hepatocellular carcinoma[J]. Epigenetics,2013,8(4):373-382.

[12] Starkova J, Zamostna B, Mejstrikova E, et al. HOX gene expression in phenotypic and genotypic subgroups and low HOXA gene expression as an adverse prognostic factor in pediatric ALL[J]. Pediatr Blood Cancer,2010,55(6):1072-1082.

[13] Belaya ZE, Rozhinskaya LY, Melnichenko GA, et al. Serum extracellular secreted antagonists of the canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in patients with Cushing's syndrome[J]. Osteoporos Int,2013,24(8):2191-2199.

[14] Xu X, Sun PL, Li JZ, et al. Aberrant Wnt 1/ $\beta$ -catenin expression is an independent poor prognostic marker of non-small cell lung cancer after surgery[J]. J Thorac Oncol,2011,6(4):716-724.

收稿日期:2016-07-05 编辑:王国品

(上接第 1452 页)

[3] Zhou Y, Zhong Y, Wang Y, et al. Activation of p53 by MEG3 non-coding RNA[J]. J Biol Chem,2007,282(34):24731-24742.

[4] Braconi C, Kogure T, Valeri N, et al. microRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer[J]. Oncogene,2011,30(47):4750-4756.

[5] Zhang X, Gejman R, Mahta A, et al. Maternally expressed gene 3, an imprinted noncoding RNA gene, is associated with meningioma pathogenesis and progression[J]. Cancer Res,2010,70(6):2350-2358.

[6] Pickard MR, Mourtada-Maarabouni M, Williams GT. Long non-coding RNA GAS5 regulates apoptosis in prostate cancer cell lines[J]. Biochim Biophys Acta,2013,1832(10):1613-1623.

[7] Qiao HP, Gao WS, Huo JX, et al. Long non-coding RNA GAS5 functions as a tumor suppressor in renal cell carcinoma[J]. Asian Pac J Cancer Prev,2013,14(2):1077-1082.

[8] Mourtada-Maarabouni M, Pickard MR, Hedge VL, et al. GAS5, a non-protein-coding RNA, controls apoptosis and is downregulated in breast cancer[J]. Oncogene,2009,28(2):195-208.

[9] Sun M, Jin FY, Xia R, et al. Decreased expression of long non coding RNA GAS5 indicates a poor prognosis and promotes cell proliferation

in gastric cancer[J]. BMC Cancer,2014,14:319.

[10] Li Z, Li C, Liu C, et al. Expression of the long non-coding RNAs MEG3, HOTAIR, and MALAT-1 in non-functioning pituitary adenomas and their relationship to tumor behavior[J]. Pituitary,2015,18(1):42-47.

[11] Carninci P, Kasukawa T, Katayama S, et al. The transcriptional landscape of the mammalian genome[J]. Science,2005,309(5740):1559-1563.

[12] Lu KH, Li W, Liu XH, et al. Long non-coding RNA MEG3 inhibits NSCLC cells proliferation and induces apoptosis by affecting p53 expression[J]. BMC Cancer,2013,13:461.

[13] Brooks CL, Gu W. p53 regulation by ubiquitin[J]. FEBS Lett,2011,585(18):2803-2809.

[14] Kino T, Hurt DE, Ichijo T, et al. Noncoding RNA gas5 is a growth arrest-and starvation-associated repressor of the glucocorticoid receptor[J]. Sci Signal,2010,3(107):ra8.

[15] Pickard MR, Williams GT. Regulation of apoptosis by long non-coding RNA GAS5 in breast cancer cells: implications for chemotherapy[J]. Breast Cancer Res Treat,2014,145(2):359-370.

收稿日期:2016-05-15 修回日期:2016-07-20 编辑:王国品