

# 肺鳞状细胞癌组织中 LncRNA MIR205HG 的表达及对癌细胞增殖克隆的影响和机制研究

沈运涛<sup>1</sup>, 蔡笃雄<sup>2</sup> (1. 海口市琼山区妇幼保健院儿科, 海口 571100; 2. 海南医学院附属医院消化内科, 海口 570102)

**摘要:** **目的** 筛选肺鳞状细胞癌 (squamous cell lung carcinoma, SQCLC) 中差异表达且具有临床意义的潜在靶基因, 并探究其在癌组织中的表达及其调控肺鳞状细胞癌发生发展的分子机制。**方法** 通过临床数据库 GEPIA 找出在肺鳞状细胞癌中差异表达的长链非编码 RNA (long noncoding RNAs, LncRNAs), 进一步筛选出相较于正常肺组织表达差异性最显著的 LncRNAs 作为研究目的基因。通过 PholyCSF 数据库预测目的基因在肺鳞状细胞癌中发挥功能的形式。通过短发夹 RNA (shRNA) 介导敲低目的基因表达, 利用细胞增殖实验、克隆形成实验验证目的基因在肺鳞状细胞癌发生发展中的重要性; 通过分析目的基因共表达基因参与的信号通路, 探索其在肺鳞状细胞癌中发挥功能的潜在分子机制。**结果** 研究最终选取在肺鳞状细胞癌中显著差异高表达的 MIR205HG 作为目的基因进行实验探究。肺鳞状细胞癌组织中 MIR205HG 表达显著高于正常肺组织 ( $6.785 \pm 0.462$  vs  $1.084 \pm 0.036$ ), 差异有统计学意义 ( $t=188.873$ ,  $P < 0.05$ ), 且随着临床分期越高 MIR205HG 表达水平越高 ( $P=0.0472$ )。MIR205HG 主要通过 LncRNA 形式在肺鳞状细胞癌中发挥功能。与 shCTL 组 ( $0.988 \pm 0.039$ ) 相比, shMIR205HG#1 组 ( $0.709 \pm 0.032$ ) 和 shMIR205HG#2 组 ( $0.736 \pm 0.026$ ) 细胞的增殖率明显降低, 差异有统计学意义 ( $F=66.163$ ,  $P < 0.001$ )。shMIR205HG#1 组 ( $0.324 \pm 0.021$ ) 和 shMIR205HG#2 组 ( $0.402 \pm 0.023$ ) 细胞克隆形成速率明显低于 shCTL 对照组 ( $1.809 \pm 0.019$ ), 差异有统计学意义 ( $F=423.093$ ,  $P < 0.001$ )。shMIR205HG#1 组 ( $5.988 \pm 0.321$ ) 和 shMIR205HG#2 组 ( $5.702 \pm 0.345$ ) 细胞中 P53 蛋白表达明显高于 shCTL 对照组 ( $1.022 \pm 0.152$ ), 差异有统计学意义 ( $F=285.386$ ,  $P < 0.001$ )。shMIR205HG#1 组 ( $3.857 \pm 0.362$ ) 和 shMIR205HG#2 组 ( $3.698 \pm 0.314$ ) 细胞中下游 P21 蛋白表达亦明显高于 shCTL 对照组 ( $1.106 \pm 0.253$ ), 差异有统计学意义 ( $F=73.106$ ,  $P < 0.001$ )。**结论** LncRNA MIR205HG 在肺鳞状细胞癌中显著高表达, 可能通过 P53 信号通路参与肺鳞状细胞癌的增殖和克隆形成, 可作为肺鳞状细胞癌的潜在药物治疗靶点。

**关键词:** 长链非编码核糖核酸 (LncRNAs); MIR205HG; 肺鳞状细胞癌

**中图分类号:** R734.2; R730.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2022) 04-030-06

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2022.04.006

## Expression of LncRNA MIR205HG in Squamous Cell Lung Carcinoma and Its Effect on Cell Proliferation and Cloning and Mechanism

SHEN Yun-tao<sup>1</sup>, CAI Du-Xiong<sup>2</sup> (1. Department of Pediatrics, Qiongzhan Maternal and Child Health Hospital of Haikou City, Haikou 571100, China; 2. Department of Digestive Medicine Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570102, China)

**Abstract:** **Objective** To screen potential target genes with differential expression and clinical significance in squamous cell lung carcinoma (SQCLC), and explore their expression in cancer tissues and the molecular mechanism of regulation of the occurrence and development of SQCLC. **Methods** Long non coding RNAs (LncRNAs) differentially expressed in SQCLC were identified through the clinical database GEPIA, and the LncRNAs with the most significant difference in expression compared with normal lung tissue were further selected as the target genes. The PholyCSF database was used to predict the functional pattern of the target gene in SQCLC. ShRNA mediated knockdown of target gene expression was used to verify the importance of target gene in the development and development of SQCLC by cell proliferation assay and clone formation assay. By analyzing the signaling pathways involved in the co-expression genes of the target genes, the potential molecular mechanisms of their function in SQCLC were explored. **Results** Finally, MIR205HG, which was significantly differentially expressed in SQCLC, was selected as the target gene for experimental exploration. The expression of MIR205HG in SQCLC was significantly higher than that in normal lung tissue ( $6.785 \pm 0.462$  vs  $1.084 \pm 0.036$ ), the difference was statistically significant ( $t=188.873$ ,  $P < 0.05$ ), and the higher the clinical stage was, the higher the MIR205HG expression level was ( $P=0.0472$ ).

**基金项目:** 海南省重点研发计划项目 (ZDYF2018135)。

**作者简介:** 沈运涛 (1970-), 男, 本科, 主治医师, 研究方向: 呼吸系统、儿科门诊, E-mail: hool1000100@yeah.net。

**通讯作者:** 蔡笃雄, 博士学位, 研究生导师, 主任医师, 消化内科科室副主任。

MIR205HG plays a role in SQCLC mainly through LncRNA form. Compared with the shCTL group ( $0.988 \pm 0.039$ ), the proliferation rate of shMIR205HG#1 group ( $0.709 \pm 0.032$ ) and shMIR205HG#2 group ( $0.736 \pm 0.026$ ) was significantly decreased, the difference was statistically significant ( $F=66.163$ ,  $P < 0.001$ ). The rate of cell cloning formation in shMIR205HG#1 group ( $0.324 \pm 0.021$ ) and shMIR205HG#2 group ( $0.402 \pm 0.023$ ) was significantly lower than that in shCTL control group ( $1.809 \pm 0.019$ ), the difference was statistically significant ( $F=423.093$ ,  $P < 0.001$ ). The expression of P53 protein in shMIR205HG#1 group ( $5.988 \pm 0.321$ ) and shMIR205HG#2 group ( $5.702 \pm 0.345$ ) was significantly higher than that in shCTL control group ( $1.022 \pm 0.152$ ), the difference was statistically significant ( $F=285.386$ ,  $P < 0.001$ ). The expression of P21 protein in shMIR205HG#1 group ( $3.857 \pm 0.362$ ) and shMIR205HG#2 group ( $3.698 \pm 0.314$ ) was significantly higher than that in shCTL control group ( $1.106 \pm 0.253$ ), the difference was statistically significant ( $F=73.106$ ,  $P < 0.001$ ). **Conclusion** LncRNA MIR205HG was highly expressed in lung squamous cell carcinoma, and would be involved in the proliferation and cloning of SQCLC through the P53 signaling pathway, which can be used as a potential drug therapy target for lung.

**Keywords:** long non coding RNAs (LncRNA); MIR205HG; squamous cell lung carcinoma (SQCLC)

肺癌是全球范围内最常见的恶性肿瘤,非小细胞肺癌(NSCLC)发生率约占肺癌总发生率的80%~85%,其亚型中肺鳞状细胞癌死亡率较高,年死亡率约为40万<sup>[1-3]</sup>。目前,针对特定基因靶向药物的开发已大大改善了肺鳞状细胞癌(squamous cell lung carcinoma, SQCLC)患者的治疗现状,然而仍有一小部分肺鳞状细胞癌患者具有驱动基因靶向治疗,导致5年生生存率<5%,原因是铂类化疗药的副作用<sup>[4]</sup>。因此,探究肺鳞状细胞癌的发病分子机制对于开发更有效的治疗方案显得至关重要。近年二代测序和生物信息学技术证实只有1%~2%的人类基因组可以编码蛋白质,没有编码潜力的RNA根据长度被分成短链非编码RNA和长链非编码RNA(lncRNAs,  $\geq 200$ nt)两个亚类<sup>[5]</sup>。研究表明,lncRNAs通过多种机制对多种生物过程产生影响,包括翻译抑制、mRNA降解、RNA诱饵、招募染色质修饰因子、调节蛋白质活性等<sup>[6]</sup>,暗示lncRNAs可作为预测患者预后生存的分子标志物<sup>[7]</sup>。且表明,lncRNAs异常表达参与人类疾病的发展过程,特别是癌症的发生发展<sup>[8]</sup>。因此,本研究通过数据库筛选出肺鳞状细胞癌中差异性表达最显著lncRNA,并探究了其在肺鳞状细胞癌中的作用及其参与肺鳞状细胞癌发生发展的分子作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 研究对象** 人肺鳞状细胞癌细胞SK-MES-1购于上海细胞库,含10g/dl胎牛血清RPMI 1640培养液培养,同时加入链霉素100  $\mu$ g/ml和青霉素100 IU/ml,培养在含5ml/dl的CO<sub>2</sub>和95%湿度的37℃培养箱中。同时选取2020年12月期间本院收治的4例人肺鳞状细胞癌患者癌组织及其对应正常肺组织标本进行研究,标本来自医院病理科,于低温液氮中保存备用。

**1.2 仪器与试剂** 胎牛血清、RPMI 1640培养液(美国Gibco公司),链霉素、青霉素(北京索莱宝科技有限公司),PCR仪(美国Thermo Fisher

Scientific公司),逆转录试剂盒(日本Takara公司),Lipo2000(美国Invitrogen公司),酶标仪(美国Bio-rad公司),MTS反应液(南京凯基生物技术有限公司),MIR205HG干扰siRNA序列(上海吉玛制药技术有限公司)等。

### 1.3 方法

**1.3.1 临床数据筛选及编码能力预测:**检索GEPID<sup>[9]</sup>临床数据库,以tumor/normal > 2为条件筛选出在肺鳞状细胞癌中差异性最高表达的lncRNA,并通过检索PholyCSF<sup>[10]</sup>数据库预测目的lncRNA编码蛋白质的潜力。

**1.3.2 实时荧光定量PCR实验(RT-qPCR):**采用TRIzol试剂盒提取细胞及组织总RNA,逆转录合成cDNA,并以此为模板配置PCR反应体系为cDNA 4  $\mu$ l, qPCR mix 5  $\mu$ l, primer 1  $\mu$ l,加ddH<sub>2</sub>O至总体积为20  $\mu$ l,行PCR扩增反应。反应条件:95℃ 35 s, 95℃ 20 s, 72℃ 15 s,循环40次。使用primer 3设计特异性qPCR引物,引物序列MIR205HG正向:5'-GCGATGACATTTCGACGCG-3',反向:5'-CAGTGCCCTGTGCTGCAGT-3'; GAPDH正向:5'-ACGAGAGTGCATGGCTCAC-3',反向:5'-CGAGCAGGCTGTTCGTGTAG-3';采用2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 法计算基因相对表达。

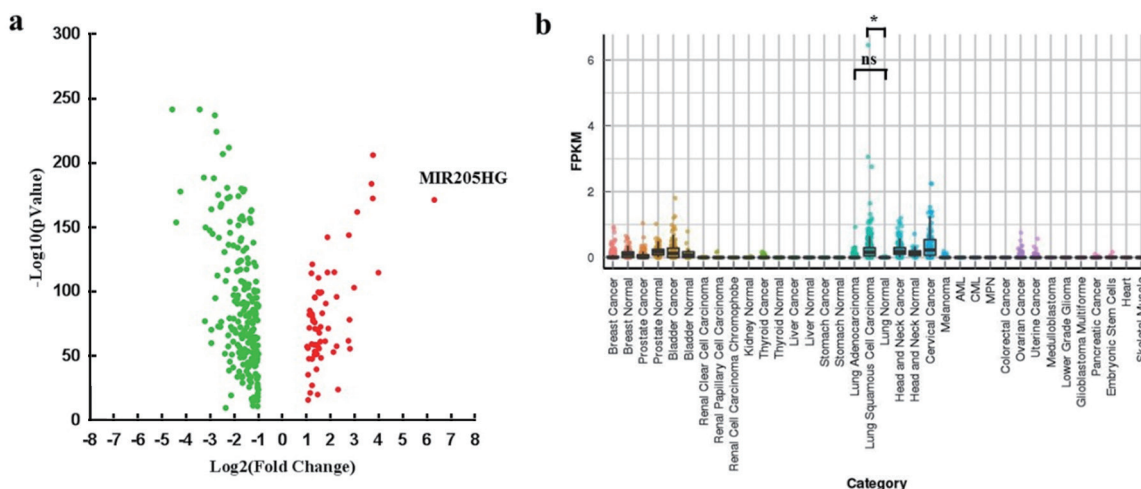
**1.3.3 细胞转染:**以6孔板为例:将10  $\mu$ l MIR205HG-siRNA与50  $\mu$ l Opti-MEM培养液混匀,将5  $\mu$ l上述混匀液与2  $\mu$ l脂质体合并混匀,静置20 min后常规培养6 h,更换无血清培养液为完全培养液继续培养24 h,收集细胞进行后续实验检测。

**1.3.4 细胞增殖实验检测:**取转染后待测细胞以1  $\times 10^5$ 个/孔铺于96孔板,每组设3个生物重复,培养48 h。按照MTS:培养液=1:20比例配制MTS反应液,每孔加入反应溶液约100  $\mu$ l,每30 min检测一次吸光度。每孔加入150  $\mu$ l二甲基亚砜,置摇床低速振荡10 s,使结晶物充分溶解,490 nm处测各孔吸光度值,绘制细胞增殖曲线。

1.3.5 克隆形成实验检测:取转染后待测细胞以  $1 \times 10^6$  个/孔铺于6孔板,每个样品做3个生物重复,培养至出现肉眼可见的克隆时收集细胞, PBS 洗涤两次,常温固定 5 min,含 0.5g/dl 结晶紫甲醇溶液固定 15 min,水洗掉紫色背景,晾干扫描,10g/dl 醋酸溶液溶解结晶紫,测量 590 nm 处测吸光度值。

1.3.6 基因功能分析:检索 cBioPortal<sup>[11]</sup> 数据库找寻 MIR205HG 的共表达基因,经 metaspase 行通路分析。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 20.0 软件进行实验结果分析,每个实验均设计三次重复,数据用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。两组间比较采用独立样本 *t* 检验,癌组织及对应癌旁组织中差异比较采用配对 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析,组内两两比较采用 LSD 检验;  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。



a. 火山图显示筛选到的各 lncRNA 的表达差异; b. MIR205HG 在各种肿瘤中的表达情况。

图1 筛选具有临床意义的 lncRNA

2.2 探究 MIR205HG 在肺鳞状细胞癌中发挥功能的形式 研究通过 PholyCSF 数据库对 MIR205HG 的编码能力进行预测,发现 MIR205HG 不具有蛋白编码能力,其通过 lncRNA 形式在肺鳞状细胞癌中发挥功能。

2.3 研究 MIR205HG 在肺鳞状细胞癌中的重要性 见图 2。研究提取 4 组临床正常肺组织和肺鳞状细胞癌组织中 RNA,通过 DNA 电泳(图 2a)以及 qPCR 实验(图 2b),均验证了 MIR205HG 在肺鳞状细胞癌组织中高表达 ( $P < 0.05$ );通过检索 GEPIA 数据库发现,临床分期越高 MIR205HG 表达水平越高 ( $P = 0.0472$ ,图 2c)。通过转染 2 条 shRNA 至肺鳞状细胞癌细胞,检测发现 shMIR205HG#1 组和 shMIR205HG#2 组细胞中 MIR205HG 表达分别为  $0.289 \pm 0.046$ ,  $0.304 \pm 0.051$ ,明显低于转染无义序列 shCTL 对照组的  $1.000 \pm 0.003$ ,差异有统计学意义 ( $F = 314.271$ ,  $P < 0.001$ ),提示敲降

## 2 结果

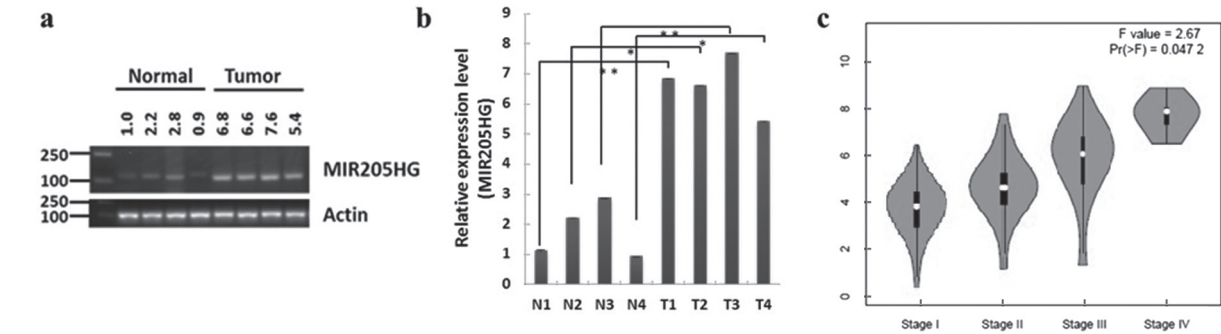
2.1 筛选具有临床意义的 lncRNA 研究检索 GEPIA 数据库共找到在肺鳞状细胞癌中差异表达的 lncRNA 有 289 个,其中 63 个在癌组织中高表达,226 个在正常组织中高表达,通过火山图筛选出在肺鳞状细胞癌中高表达且对比正常组织表达差异最显著的 MIR205HG,见图 1a。通过数据库发现, MIR205HG 仅在部分组织和肿瘤中表达,相较于肺腺癌, MIR205HG 仅在肺鳞状细胞癌中高表达 ( $P < 0.05$ ),见图 1b;同时发现相比 338 例正常组织 ( $1.084 \pm 0.036$ ), MIR205HG 在 486 例肺鳞状组织 ( $6.785 \pm 0.462$ ) 中显著高表达,差异有统计学意义 ( $t = 188.873$ ,  $P = 0.000$ ),暗示了 MIR205HG 在肺癌且仅在肺鳞状细胞癌中具有作用。

MIR205HG 表达转染成功。细胞增殖实验检测显示,转染 72h 时 shMIR205HG#1 组和 shMIR205HG#2 组细胞增殖率分别为  $0.709 \pm 0.032$ ,  $0.736 \pm 0.026$ ,明显低于 shCTL 对照组的  $0.988 \pm 0.039$ ,差异有统计学意义 ( $F = 66.163$ ,  $P < 0.001$ )。细胞克隆实验检测发现 shMIR205HG#1 组和 shMIR205HG#2 组细胞克隆形成速率分别为  $0.324 \pm 0.021$ ,  $0.402 \pm 0.023$ ,亦明显低于 shCTL 对照组的  $1.809 \pm 0.019$ ,差异有统计学意义 ( $F = 423.093$ ,  $P < 0.001$ ),提示敲低 MIR205HG 表达可明显抑制肺鳞状细胞癌细胞的增殖及克隆形成。

2.4 探究 MIR205HG 在肺鳞状细胞癌中发挥功能的作用方式 见图 3。研究在数据库中找到与 MIR205HG 共表达的基因,通过 KEGG 和 HallMark 信号通路分析发现, MIR205HG 可能参与 P53 这个重要的致癌信号通路(图 3a)。通过蛋白质免疫印迹验证发现,转染 shRNA 介导敲低 MIR205HG 时,

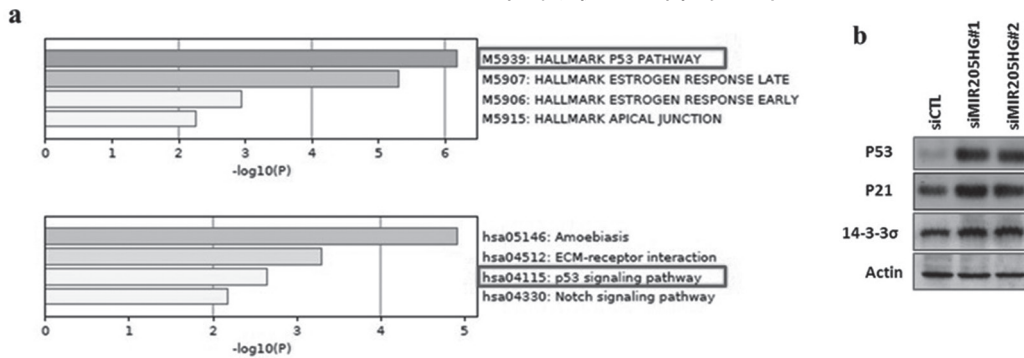
shMIR205HG#1 组和 shMIR205HG#2 组细胞中 P53 表达分别为  $5.988 \pm 0.321$ ,  $5.702 \pm 0.345$ , 下游重要的 P21 蛋白表达分别为  $3.857 \pm 0.362$ ,  $3.698 \pm 0.314$ , 均明显高于 shCTL 对照组的  $1.022 \pm 0.152$ ,

$1.106 \pm 0.253$ , 差异均有统计学意义 ( $F=285.386$ ,  $73.106$ , 均  $P<0.001$ , 图 3b), 提示 MIR205HG 可能通过下调 P53 以及抑制其介导的信号通路, 从而促进肺鳞状细胞癌的生长增殖。



a. DNA 电泳显示 MIR205HG 在肺正常组织和癌症组织中的表达情况; b. qPCR 显示 MIR205HG 在肺正常组织和癌组织中的表达情况,  $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ ; c. MIR205HG 在不同肿瘤分期的表达情况。

图 2 研究 MIR205HG 在肺鳞状细胞癌中的重要性



a. 与 MIR205HG 共表达基因参与的信号通路; b. 敲低 MIR205HG 表达对 P53 信号通路中蛋白表达的影响。

图 3 探究 MIR205HG 在肺鳞状细胞癌中发挥功能的作用方式

### 3 讨论

近年, 越来越多证据发现 LncRNA 参与了包括肺癌在内的多种癌症的进展和转移<sup>[12]</sup>, 为肿瘤的临床研究及诊治提供了新的目标和思路。LncRNA 是一类转录物大小超过 200 个核苷酸的非编码 RNA<sup>[8]</sup>。LncRNA 在结构上与 mRNA 相似, 但其具有更高的组织表达特异度<sup>[13]</sup>。LncRNAs 可作为识别癌症的特异性生物标志物和功能驱动因子。大量研究表明, LncRNAs 在肿瘤的发生发展和化学耐药中都起着重要作用, 例如: LncRNAs CCAT1 下调增强了人结肠癌细胞对 5-氟尿嘧啶的敏感度<sup>[14]</sup>。LncRNAs-GAS5/miR-221-3p/DKK2 轴通过 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路调控 abcb1 介导的乳腺癌阿霉素耐药<sup>[15]</sup>。LncRNA TUC338 通过激活 MAPK 通路促进了肺癌的增殖、侵袭及迁移<sup>[16]</sup>。近年众多研究也发现, 多种 LncRNAs 与肺癌的发生发展密切相关, 例如 LncRNA MALAT1 通过调节 miR-124/STAT3 轴参与非小细胞肺癌的发生<sup>[17]</sup>。体外实验表明, 敲低 PVT1 会抑制肺鳞状细胞癌的细胞增殖、迁移和侵袭<sup>[18]</sup>。CCAT2 通过调节 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路

促进肺鳞状细胞癌的发生<sup>[19]</sup>。因此, 找寻更多肺鳞状细胞癌中特异性表达的分子靶标, 探究其表达发挥作用对临床治疗及攻克意义显著。

本研究首先通过 GEPIA 数据库找到在肺癌中差异表达的 lncRNA 有 289 个, 进一步筛选到在肺癌中过表达且相比于正常组织表达差异最明显的 MIR205HG 作为研究目的基因, 探究发现其主要通过 lncRNA 形式在肺鳞状细胞癌中发挥功能。既往相关研究发现, LncRNA MIR205HG 通过调控 miR-122-5p 加速宫颈癌肿瘤细胞的生长进展<sup>[20]</sup>。LncRNA MIR205HG 能够引起 Hsa-miR-590-3p 缺失导致头颈部鳞状细胞癌不受抑制的增殖, 促进其发展进程<sup>[21]</sup>。LncRNA MIR205HG 通过 miR-299-3p/VEGFA 轴支持黑色素瘤的生长, 是黑色素瘤治疗的潜在靶点<sup>[22]</sup>。LncRNA MIR205HG 在食管腺癌细胞中表达下调, 其过表达可抑制体外细胞的增殖和细胞周期进程, 涉及对 Hh 信号通路的调控作用<sup>[23]</sup>; 且发现通过调控 miR-214/SOX4 轴驱动了食管鳞状细胞癌的进展<sup>[24]</sup>。提示 MIR205HG 在临床癌症中的癌基因作用, 故进一步探究其在肺鳞状细胞癌中

的作用机制十分必要。研究通过经典的分子生物学实验验证发现 MIR205HG 可促进肺鳞状细胞癌的生长增殖和克隆形成。进一步分析发现 MIR205HG 可能参与 P53 致癌的信号通路。P53 关键靶基因 P21 和 14-3-3 $\sigma$  在几种类型的人类肿瘤中的异常表达,被认为是肿瘤抑制因子,以 P53 依赖性方式发挥功能<sup>[25]</sup>。而研究通过敲低 MIR205HG 对 P53 及其关键靶基因的表达进行验证,发现敲降其表达会促进 P53 以及其下游关键靶基因 P21, 14-3-3 $\sigma$  的表达,由此说明了 MIR205HG 可能通过调控 P53 表达,并阻断其参与的信号通路来发挥作用参与肺鳞状细胞癌发生发展。本研究从基因筛选、发挥作用形式、功能验证和作用机制探讨四个方面探究了 MIR205HG 在肺鳞状细胞癌中的重要作用,但其功能机制尚不够全面深入,故后期还需进一步的研究阐明。

综上所述, lncRNA MIR205HG 在肺鳞状细胞癌中显著高表达,其参与调控肺鳞状细胞癌的增殖与 P53 信号通路密切相关,可将其作为肺鳞状细胞癌的潜在药物治疗靶点。

#### 参考文献:

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2019 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2019, 69(1):7-34.
- [2] CAO Maomao, CHEN Wanqing. Epidemiology of lung cancer in China[J]. *Thoracic Cancer*, 2019, 10(1): 3-7.
- [3] DONG Ming, GONG Hao, LI Tong, et al. Lymph node metastasis in lung squamous cell carcinoma and identification of metastasis-related genes based on the Cancer Genome Atlas [J]. *Cancer Medicine*, 2019, 8(14): 6280-6294.
- [4] 席俊峰, 彭彦才, 马兴聪, 等. Aurora-B 激酶的表达与非小细胞肺癌患者预后及耐药的相关性分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2020, 35(6):59-63.  
XI Junfeng, PENG Yancui, MA Xingcong, et al. Study on the relationship between high expression of aurora-B kinase and drug resistance and prognosis in patients with non-small cell lung cancer [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2020, 35(6): 59-63.
- [5] YAMAMURA S, IMAI-SUMIDA M, TANAKA Y, et al. Interaction and cross-talk between non-coding RNAs[J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 2018, 75(3): 467-484.
- [6] CARLEVARO-FITA J, LANZÓS A, FEUERBACH L, et al. Cancer lncRNA census reveals evidence for deep functional conservation of long noncoding RNAs in tumorigenesis[J]. *Communications Biology*, 2020, 3(1): 56.
- [7] LIU Chang, LI Yinyan, WEI Minjie, et al. Identification of a novel glycolysis-related gene signature that can predict the survival of patients with lung adenocarcinoma[J]. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 2019, 18(5): 568-579.
- [8] DASTMALCHI N, SAFARALIZADEH R, NARGESI M M. LncRNAs: Potential novel prognostic and diagnostic biomarkers in colorectal cancer[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2020, 27(30): 5067-5077.
- [9] 闫小妮, 田国祥, 潘振宇, 等. 如何挖掘 GEPIA 数据库中研究数据并生成分析结果表达图 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2019, 11(5):521-525.  
YAN Xiaoni, TIAN Guoxiang, PAN Zhenyu, et al. How to research data in the GEPIA database and generate an analysis result graph [J]. *Chinese Journal of Evidence-Based Cardiovascular Medicine*, 2019, 11(5): 521-525.
- [10] MUDGE J M, JUNGREIS I, HUNT T, et al. Discovery of high-confidence human protein-coding genes and exons by whole-genome PhyloCSF helps elucidate 118 GWAS loci[J]. *Genome Research*, 2019, 29(12): 2073-2087.
- [11] WU P, HEINS Z J, MULLER J T, et al. Integration and analysis of CPTAC proteomics data in the context of cancer genomics in the cBioPortal[J]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 2019, 18(9): 1893-1898.
- [12] 吴良银, 李文丽, 刘俊. 肝细胞癌患者生存预后相关长链非编码 RNA(lncRNA) 的生物信息学分析 [J]. *现代检验医学杂志*, 2019, 34(4):18-21.  
WU Liangyin, LI Wenli, LIU Jun. Bioinformatics analysis of long-chain non-coding RNA related to survival and prognosis in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2019, 34(4): 18-21.
- [13] WU Cheng, WEI Yunzhen, ZHU Yinling, et al. Identification of cancer-related potential biomarkers based on lncRNA-pseudogene-mRNA competitive networks[J]. *FEBS Letters*, 2018, 592(6): 973-986.
- [14] YANG Chun, PAN Yong, DENG Shaoping. Downregulation of lncRNA CCAT1 enhances 5-fluorouracil sensitivity in human colon cancer cells[J]. *BMC Molecular and Cell Biology*, 2019, 20(1): 9.
- [15] CHEN Zhaolin, PAN Tingting, JIANG Duochen, et al. The lncRNA-GAS5/miR-221-3p/DKK2 Axis modulates ABCB1-mediated adriamycin resistance of breast cancer via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19:1434-1448.
- [16] ZHANG Y X, YUAN J, GAO Z M, et al. LncRNA TUC338 promotes invasion of lung cancer by activating MAPK pathway[J]. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2018, 22(2): 443-449.
- [17] LI Sen, MEI Zhoufang, HU Haibo, et al. The lncRNA MALAT1 contributes to non-small cell lung cancer development via modulating miR-124/STAT3 axis[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2018, 233(9): 6679-6688.
- [18] GUO Dong, WANG Yanli, REN Kewei, et al. Knock-down of lncRNA PVT1 inhibits tumorigenesis in non-small-cell lung cancer by regulating miR-497 expression[J]. *Experimental Cell Research*, 2018, 362(1): 172-179.
- [19] ZHAO Chengling, QIAO Chenchen, ZONG Ligu, et al. Long noncoding RNA-CCAT2 promotes the occurrence of non-small cell lung cancer by regulating the Wnt/ $\beta$  catenin signaling pathway[J]. *Oncology Letters*, 2018, 16(4): 4600-4606.

- proBNP 检测在急性脑梗死诊断及预后中的应用研究[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(3):70-73.
- ZHAO Man, ZHAO Ya, WANG Yu, et al. Clinical application of serum HCY, Cys C and NT-proBNP joint detection in diagnosis and prognosis of acute cerebral infarction [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2019,34(3):70-73 .
- [12] HASAN T, ARORA R, BANSAL A K, et al. Disturbed homocysteine metabolism is associated with cancer[J]. Experimental & Molecular Medicine, 2019, 51(2): 1-13.
- [13] 单娜, 孙凡, 赵丽. 血清 25-羟维生素 D, 维生素 B12 及同型半胱氨酸水平与老年急性缺血性脑卒中患者认知功能障碍及复发的相关性分析[J]. 川北医学院学报, 2021, 36(3):347-351.
- SHAN Na, SUN Fan, ZHAO Li. Correlation analysis of serum 25 hydroxyvitamin D, vitamin B12 and homocysteine levels with cognitive dysfunction and recurrence in elderly patients with acute ischemic stroke [J]. Journal of North Sichuan Medical College, 2021, 36(3): 347-351.
- [14] 何培成, 许著一, 姚晴宇, 等. 血清同型半胱氨酸, 维生素 B12 水平对急性缺血性脑卒中患者认知功能及预后的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2019, 23 (24): 27-30.
- HE Peicheng, XU Zhuyi, YAO Qingyu, et al. Effects of serum homocysteine and vitamin B12 levels on cognitive function and prognosis in patients with acute ischemic stroke [J]. Journal of Clinical Medicine in Practice, 2019,23(24) :27-30.
- [15] 朱佩仪, 李胜男, 邓福, 等. 长链非编码 RNA GAS5 在脑卒中及相关疾病发生发展中的作用[J]. 神经疾病与精神卫生, 2021, 21(3):176-180.
- ZHU Peiyi, LI Shengnan, DENG Fu, et al. Role of long non-coding RNA GAS5 in the occurrence and development of stroke and related diseases[J]. Journal of Neuroscience and Mental Health,2021,21(3):176-180.
- [16] 李鹏飞, 王蕾, 李帆, 等. LncRNA H19 和 lncRNA GAS5 在急性缺血性脑卒中的表达及临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(4):531-534, 546.
- LI Pengfei, WANG Lei, LI Fan, et al. Expression and clinical significance of lncRNA H19 and lncRNA GAS5 in acute ischemic stroke [J]. Journal of Molecular Diagnostics and Therapy,2021,13(4):531-534,546.
- [17] 黄燕, 周婧, 陈小灵, 等. LncRNA ANRIL rs2383207 及其交互效应与急性缺血性脑卒中早期神经功能恶化的关系[J]. 川北医学院学报, 2021, 36(5):622-626.
- HUANG Yan, ZHOU Qiang, CHEN Xiaoling, et al. Relationship between lncRNA ANRIL rs2383207 and its interaction with early neurological deterioration in patients with acute ischemic stroke [J]. Journal of North Sichuan Medical College,2021,36(5):622-626.
- [18] 夏荣钧, 张锦辉, 林黎娟, 等. 肝细胞癌中 lncRNA-CAI2 的表达及临床意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2019, 35(8):893-896, 901.
- XIA Rongjun, ZHANG Jinhui, LIN Lijuan, et al. Expression and clinical significance of lncRNA-CAI2 in hepatocellular carcinoma [J]. Chinese Journal of Clinical and Experimental Pathology, 2019,35(8):893-896, 901.
- [19] 吕鹏飞, 周静, 朱瑞楠, 等. ERCC1 基因 C8092A 多态性与肺癌遗传易感性的关联研究[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(3):458-461.
- LÜ Pengfei, ZHOU Jing, ZHU Ruinan, et al. Association between ERCC1 C8092A polymorphism and genetic susceptibility to lung cancer [J]. Acta Universitatis Medicinalis Anhui, 2021, 56(3):458-461.
- [20] EL-MONIEM ELRAWI D A, EL KHODARY A I, NASSAR H R, et al. Significance of ERCC1 and hormonal receptor expression in ovarian cancer[J]. The Journal of Medical Investigation: JMI, 2020, 67(3/4): 391-398.
- [21] KOUTSOUKOS K, ANDRIKOPOULOU A, DEDES N, et al. Clinical perspectives of ERCC1 in bladder cancer[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(22): 8829.

收稿日期: 2021-10-18

修回日期: 2021-12-20

(上接第34页)

- [20] LI Yishu, WANG Hongying, HUANG Huijuan. Long non-coding RNA MIR205HG function as a ceRNA to accelerate tumor growth and progression via sponging miR-122-5p in cervical cancer[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 514(1): 78-85.
- [21] DI AGOSTINO S, VALENTI F, SACCONI A, et al. Long non-coding MIR205HG depletes Hsa-miR-590-3p leading to unrestrained proliferation in head and neck squamous cell carcinoma[J]. Theranostics, 2018, 8(7): 1850-1868.
- [22] GUO Jianlan, GAN Quan, GAN Caibin, et al. LncRNA MIR205HG regulates melanomagenesis via the miR-299-3p/VEGFA axis[J]. Aging, 2021, 13(4): 5297-5311.
- [23] SONG J H, TIEU A H, CHENG Yulan, et al. Novel long noncoding RNA miR205HG functions as an esophageal tumor-suppressive hedgehog inhibitor[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(7): 1707.
- [24] LI Hongle, JIA Jinlin, YANG Lijun, et al. LncRNA MIR205HG drives esophageal squamous cell carcinoma progression by regulating miR-214/SOX4 axis[J]. OncoTargets and Therapy, 2020, 13: 13097-13109.
- [25] KAST D J, DOMINGUEZ R. Mechanism of IRSp53 inhibition by 14-3-3[J]. Nature Communications, 2019, 10(1): 483.

收稿日期: 2021-04-01

修回日期: 2022-02-08