

• 论 著 •

lncRNA TTN-AS1 调控 miR-134-5p/MBTD1 信号轴促进骨肉瘤的生长和转移^{*}

刘汉涛, 秦宏敏, 赵良虎[△]

攀枝花学院附属医院骨科, 四川攀枝花 617000

摘要:目的 探究长链非编码 RNA(lncRNA) TTN-AS1 对骨肉瘤生长和转移的影响及机制。方法 采用实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 TTN-AS1 在 hFoB1.19、U2-OS、MG-63、SOSP-9607、SAOS2 细胞中的表达水平,将其中 TTN-AS1 表达水平最高的 SAOS2 细胞分为 Control 组(未转染)、si-NC 组[转染 TTN-AS1 小干扰 RNA(siRNA)阴性对照]、si-TTN-AS1 组(转染 TTN-AS1 siRNA)、si-TTN-AS1+微小 RNA(miR)-134-5p inhibitor 组(共转染 TTN-AS1 siRNA 和 miR-134-5p inhibitor)、si-TTN-AS1+含 MBT 结构域蛋白 1(MBTD1)组(共转染 TTN-AS1 siRNA 和 MBTD1 质粒)。采用 CCK8 法检测细胞的增殖能力,Transwell 小室法检测细胞的迁移和侵袭能力,双荧光素酶报告基因实验验证 TTN-AS1 与 miR-134-5p 的靶向关系以及 miR-134-5p 与 MBTD1 的靶向关系。结果 TTN-AS1 在 U2-OS、MG-63、SOSP-9607、SAOS2 细胞中的表达水平明显高于 hFoB1.19 细胞($P<0.05$)。si-TTN-AS1 组细胞增殖、迁移和侵袭能力均明显低于 si-NC 组($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因实验证实,miR-134-5p 为 TTN-AS1 的靶基因,MBTD1 为 miR-134-5p 的靶基因。si-TTN-AS1+miR-134-5p inhibitor 组和 si-TTN-AS1+MBTD1 组细胞增殖、迁移和侵袭能力均明显强于 si-TTN-AS1 组($P<0.05$)。结论 抑制 TTN-AS1 的表达可抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭,其机制为 TTN-AS1 调控 miR-134-5p/MBTD1 信号轴。

关键词:骨肉瘤; 长链非编码 RNA; TTN-AS1; 含 MBT 结构域蛋白 1; 微小 RNA-134-5p

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.23.010

中图法分类号:R738.1

文章编号:1673-4130(2022)23-2863-06

文献标志码:A

LncRNA TTN-AS1 regulates miR-134-5p/MBTD1 signaling axis to promote the growth and metastasis of osteosarcoma^{*}

LIU Hantao, QIN Hongmin, ZHAO Lianghu[△]

Department of Orthopedics, Affiliated Hospital of Panzhihua University,
Panzhihua, Sichuan 617000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect and mechanism of long non-coding RNA (lncRNA) TTN-AS1 on the growth and metastasis of osteosarcoma. **Methods** The expression levels of TTN-AS1 in hFoB1.19, U2-OS, MG-63, SOSP-9607 and SAOS2 cells were detected by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). SAOS2 cells with the highest expression level of TTN-AS1 were divided into control group (not transfected), si-NC group [transfected with TTN-AS1 small interfering RNA (siRNA) negative control], si-TTN-AS1 group (transfected with TTN-AS1 siRNA), si-TTN-AS1+microRNA (miR)-134-5p inhibitor group (co-transfected with TTN-AS1 siRNA and miR-134-5p inhibitor), si-TTN-AS1+MBT domain-containing protein 1 (MBTD1) group (co-transfected TTN-AS1 siRNA and MBTD1 plasmid). CCK8 assay was used to detect the proliferation ability of cells. Transwell chamber method was used to detect the migration and invasion ability of cells. Dual luciferase reporter gene assay was used to verify the targeting relationship between TTN-AS1 and miR-134-5p, miR-134-5p and MBTD1. **Results** The expression levels of TTN-AS1 in U2-OS, MG-63, SOSP-9607 and SAOS2 cells were significantly higher than those in hFoB1.19 cells ($P<0.05$). The proliferation, migration and invasion abilities of cells in si-TTN-AS1 group were significantly lower than those in si-NC group ($P<0.05$). Dual luciferase reporter gene assay confirmed that miR-134-5p was the target gene of TTN-AS1 and MBTD1 was the target gene of miR-134-5p. The proliferation, migration and invasion abilities of cells in si-TTN-AS1+miR-134-5p inhibitor group and si-TTN-AS1+MBTD1 group were significantly

^{*} 基金项目:四川省卫生健康委员会科研课题(19PJ143)。

作者简介:刘汉涛,男,主治医师,主要从事骨肿瘤、关节疾病方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail:122553237@qq.com。

stronger than those in si-TTN-AS1 group ($P < 0.05$). **Conclusion** Inhibition of TTN-AS1 expression can inhibit the proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells, and the mechanism is that TTN-AS1 regulates miR-134-5p/MBTD1 signaling axis.

Key words: osteosarcoma; long non-coding RNA; TTN-AS1; MBT domain-containing protein 1; microRNA-134-5p

骨肉瘤是一类多发生于儿童、青少年的原发性骨恶性肿瘤,转移性或复发性的骨肉瘤患者 5 年生存率低于 30%,目前骨肉瘤的治疗方式包括手术治疗和化疗等,但是手术后复发或化疗耐药一直威胁着患者的健康,所以寻找新型的骨肉瘤治疗方法尤为重要^[1-2]。长链非编码 RNA(lncRNA)是一类长度大于 200 nt 的非编码 RNA,可通过表观遗传学、转录及转录后水平影响基因表达和翻译,进而参与调控肿瘤生长^[3-4]。其中 TTN-AS1 已经被证实是在多种肿瘤中发挥调控作用的一种 lncRNA,过表达的 TTN-AS1 与乳腺癌、肺癌、消化系统肿瘤、生殖系统肿瘤患者的不良预后相关^[5]。本文通过探究 TTN-AS1 在骨肉瘤中的表达及其对骨肉瘤细胞生长和转移的影响与相关机制,旨在为骨肉瘤的临床治疗提供新思路。

1 材料与方法

1.1 材料来源 人成骨细胞 hFoB1.19 和人骨肉瘤细胞 U2-OS、MG-63、SOSP-9607、SAOS2 购自中国科学院上海细胞库。

1.2 仪器与试剂 反转录试剂盒为日本 TaKaRa 公司产品;PowerUp™ SYBR® Green Master Mix 试剂盒、Lipofectamine 2000 试剂盒和 Trizol 试剂盒为美国 Invitrogen 公司产品;细胞计数试剂盒(CCK8 法)为沈阳万类生物技术有限公司产品;双荧光素酶报告基因试剂盒为美国 Promega 公司产品。含 MBT 结构域蛋白 1(MBTD1)质粒、TTN-AS1 小干扰 RNA(siRNA)、TTN-AS1 siRNA 阴性对照、微小 RNA(miR)-134-5p inhibitor 为上海吉玛制药技术有限公司产品。miR-134-5p、TTN-AS1、MBTD1、GADPH、U6 引物序列由苏州吉玛基因股份有限公司合成。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 取液氮保存的 hFoB1.19、U2-OS、MG-63、SOSP-9607、SAOS2 细胞,迅速解冻后 1 000 r/min 离心 5 min,细胞沉淀溶解于含 10%胎牛血清(FBS)的 DMEM 培养基中,置于 37 °C、5%CO₂ 的细胞培养箱中,隔天更换培养基,细胞培养至汇合度达 80%时进行细胞传代。

1.3.2 细胞分组与转染 对 hFoB1.19、U2-OS、MG-63、SOSP-9607、SAOS2 细胞中 TTN-AS1 的表达水平进行检测,选择表达水平最高的 SAOS2 细胞进行后续研究。将 SAOS2 细胞分为 Control 组(未转染)、si-NC 组(转染 TTN-AS1 siRNA 阴性对照)、si-TTN-AS1 组(转染 TTN-AS1 siRNA)、si-TTN-AS1+miR-134-5p inhibitor 组(共转染 TTN-AS1

siRNA 和 miR-134-5p inhibitor)、si-TTN-AS1+MBTD1 组(共转染 TTN-AS1 siRNA 和 MBTD1 质粒),按照上述分组使用 Lipofectamine 2000 试剂盒进行转染。主要步骤:转染前 1 d 采用 6 孔板接种 5×10^5 个 SAOS2 细胞,将 1 μg/50 μL 的 A 液[TTN-AS1 siRNA 阴性对照或 TTN-AS1 siRNA 或 miR-134-5p inhibitor 或 MBTD1 质粒(不含血清 Opti-MEM 培养基)]与 1 μg/50 μL 的 B 液[Lipofectamine 2000 试剂(不含血清 Opti-MEM 培养基)]混匀,室温放置 20 min,将培养基更换为无血清的 DMEM 培养基,按实验分组分别加入相应的混合液,37 °C 孵育 6 h,再换成含 10%FBS 的 DMEM 培养基培养 24 h。

1.3.3 实时荧光定量 PCR(qRT-PCR)检测 miR-134-5p、MBTD1 mRNA 与 TTN-AS1 表达水平 采用 Trizol 试剂盒提取各组细胞总 RNA,核酸定量后将 RNA 稀释为 1 μg/μL,使用反转录试剂盒将 RNA 反转录为 cDNA,反应体系:RNA 2 μL, Oligo(dT) Primer 1.5 μL, Random 6 mers 1.5 μL, PrimeScript RT Enzyme Mix I 1.5 μL, 5× PrimeScript Buffer 6 μL, RNase-free dH₂O 7.5 μL;反应条件:37 °C 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C 保存反应产物。所得 cDNA 使用 qRT-PCR 试剂盒检测 miR-134-5p、MBTD1 mRNA 与 TTN-AS1 表达水平,反应体系:PowerUp™ SYBR® Green Master Mix (2×) 10 μL, 上游引物 0.6 μL, 下游引物 0.6 μL, DNA 模板 1 μL, RNase-free dH₂O 7.8 μL;反应条件:95 °C 5 min; 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 共 40 个循环,无最后延伸。引物序列:TTN-AS1 上游引物 5'-CCAGACACCTAACCAACTTCC-3', 下游引物 5'-GTGATCTCATCCCTCTTGCTT-3'; MBTD1 上游引物 5'-CTACAGCCTC-CAGCATCACA-3', 下游引物 5'-CTCATCAGCTGACCC AGACA-3'; GADPH 上游引物 5'-GGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3', 下游引物 5'-TGGTGAAG ACGCCAGTGGA-3'; miR-134-5p 上游引物 5'-CTCAACAACCTTGGCTGACCG-3', 下游引物 5'-ACACTATGTGTCGAAGCTT-3'; U6 上游引物 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3', 下游引物 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'。采集荧光信号 Ct 值,以 GAPDH 或 U6 作为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达水平。

1.3.4 双荧光素酶报告基因实验 采用 StarBase 数据库预测 TTN-AS1 和 miR-134-5p 的结合位点, TargetScan 数据库预测 MBTD1 和 miR-134-5p 的结合

位点,使用 Lipofectamine 2000 试剂盒将含 TTN-AS1 WT、TTN-AS1 MUT、MBTD1 WT、MBTD1 MUT 荧光素酶载体转染至 SAOS2 细胞,然后再分别将 miR-NC 和 miR-134-5p mimic 转染至上述转染的 SAOS2 细胞(miR-NC + TTN-AS1 WT 组、miR-NC + TTN-AS1 MUT 组、miR-134-5p mimic + TTN-AS1 WT 组、miR-134-5p mimic + TTN-AS1 MUT 组、miR-NC + MBTD1 WT 组、miR-NC + MBTD1 MUT 组、miR-134-5p mimic + MBTD1 WT 组、miR-134-5p mimic + MBTD1 MUT 组)。转染 48 h 后,使用双荧光素酶报告基因试剂盒检测各组细胞相对荧光强度。

1.3.5 CCK8 法检测细胞增殖 将各组细胞按照每孔 5×10^3 个接种于 96 孔板中,每组 5 个复孔,设置培养 24、48、72 h 的细胞培养板,在对应的时间点取出 96 孔板,每孔加入 $10 \mu\text{L}$ 5 mg/mL 的 CCK8 溶液,在 37°C 培养箱中孵育 4 h 后用酶标仪检测 450 nm 处每孔的吸光度(A)值。

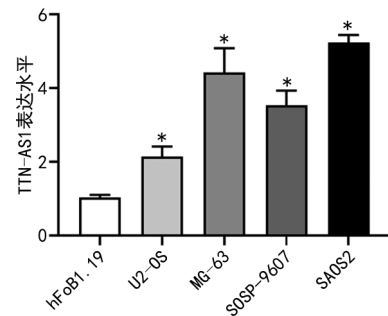
1.3.6 Transwell 小室法检测细胞迁移和侵袭 将各组细胞用不含血清的 DMEM 溶液重悬后,以 1×10^4 个/孔的浓度接种于 Transwell 上室(或以 1×10^4 个/孔的浓度接种于铺有 $50 \mu\text{L}$ Matrigel 胶的 Transwell 上室用于检测细胞侵袭能力),小室置于含 DMEM 培养基(含 10% FBS)的 24 孔板中,小室底部浸于培养基中,72 h 后取出小室,用棉签擦除上室中未穿过的细胞,小室底部用多聚甲醛固定 10 min,然后用结晶紫染色 10 min,清洗晾干后于显微镜下观察拍照,使用 Image J 软件统计细胞迁移或侵袭数。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism 8.0 软件作图,采用 SPSS 19.0 软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组比较采用 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TTN-AS1 在人成骨细胞及骨肉瘤细胞中的表达水平 与人成骨细胞 hFoB1.19 比较,骨肉瘤细胞

U2-OS、MG-63、SOSP-9607、SAOS2 中 TTN-AS1 表达水平明显上调($P < 0.05$),其中 SAOS2 细胞中 TTN-AS1 表达水平最高,因此选择 SAOS2 细胞进行后续研究,见图 1。

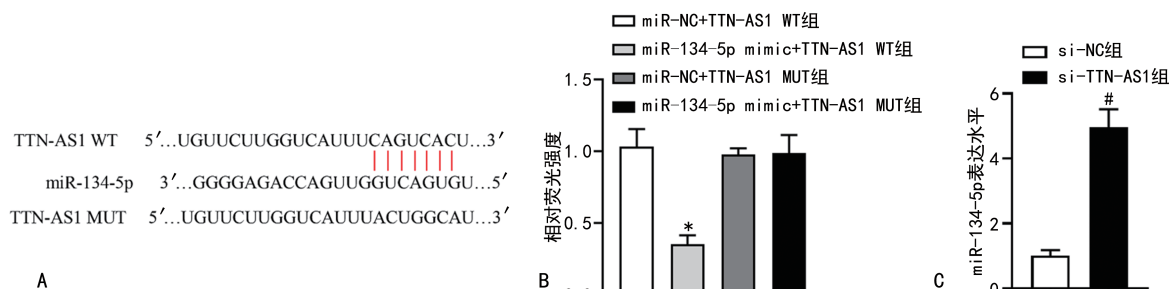


注:与 hFoB1.19 细胞比较, * $P < 0.05$ 。

图 1 TTN-AS1 在 hFoB1.19、U2-OS、MG-63、SOSP-9607、SAOS2 细胞中的表达水平

2.2 TTN-AS1 靶向调控 miR-134-5p StarBase 数据库预测 TTN-AS1 和 miR-134-5p 的结合位点如图 2A 所示。双荧光素酶报告基因实验结果显示,与 miR-NC + TTN-AS1 WT 组比较,miR-134-5p mimic + TTN-AS1 WT 组的 SAOS2 细胞相对荧光强度明显下调($P < 0.05$),而 miR-NC + TTN-AS1 MUT 组的 SAOS2 细胞相对荧光强度与 miR-134-5p mimic + TTN-AS1 MUT 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 2B。qRT-PCR 检测结果显示,si-TTN-AS1 组 SAOS2 细胞 miR-134-5p 表达水平明显高于 si-NC 组($P < 0.05$),见图 2C。

2.3 miR-134-5p 靶向调控 MBTD1 TargetScan 数据库预测 MBTD1 和 miR-134-5p 的结合位点如图 3A 所示。双荧光素酶报告基因实验结果显示,与 miR-NC + MBTD1 WT 组比较,miR-134-5p mimic + MBTD1 WT 组的 SAOS2 细胞相对荧光强度明显下调($P < 0.05$),而 miR-134-5p mimic + MBTD1 MUT 组和 miR-NC + MBTD1 MUT 组的 SAOS2 细胞相对荧光强度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见图 3B。



注:A 为 StarBase 数据库预测 TTN-AS1 和 miR-134-5p 的结合位点;B 为双荧光素酶报告基因实验验证 TTN-AS1 与 miR-134-5p 的靶向关系,与 miR-NC + TTN-AS1 WT 组比较, * $P < 0.05$;C 为 qRT-PCR 检测 TTN-AS1 对 miR-134-5p 表达的影响,与 si-NC 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 2 TTN-AS1 靶向调控 miR-134-5p

2.4 TTN-AS1 通过调控 miR-134-5p/MBTD1 信号轴调控骨肉瘤细胞的增殖 Control 组与 si-NC 组细

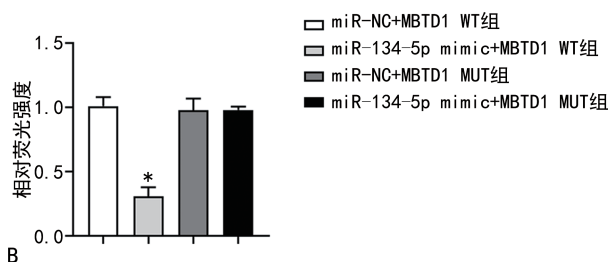
胞 MBTD1 mRNA 表达水平及增殖能力(即培养 24、48、72 h 时细胞的 A 值)差异无统计学意义($P >$

0.05)。与 si-NC 组比较, si-TTN-AS1 组细胞 MBTD1 mRNA 表达水平明显降低 ($P < 0.05$), 细胞增殖能力明显下降 ($P < 0.05$); 与 si-TTN-AS1 组比较, si-TTN-AS1 + miR-134-5p inhibitor 组和 si-TTN-AS1 + MBTD1 组细胞 MBTD1 mRNA 表达水平明显升高 ($P < 0.05$), 细胞增殖能力明显增强 ($P < 0.05$), 见图 4。

2.5 TTN-AS1 通过调控 miR-134-5p/MBTD1 信号

MBTD1 WT 5'...UUUUAGAAGUUAGGCCAGUCACA...3'
miR-134-5p 3'...GGGGAGACCAGUUGGUCAGUGU...5'
MBTD1 MUT 5'...UUUUAGAAGUUAGGCUGACACCG...3'

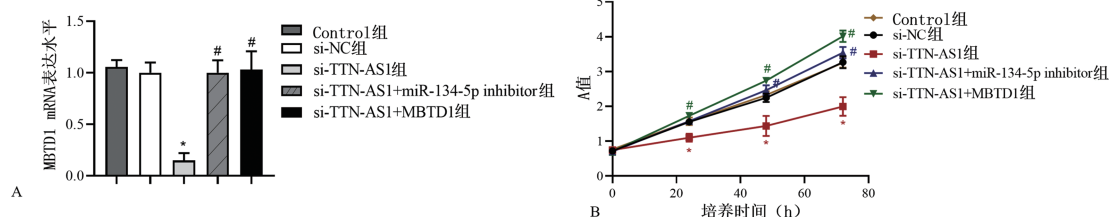
A



B

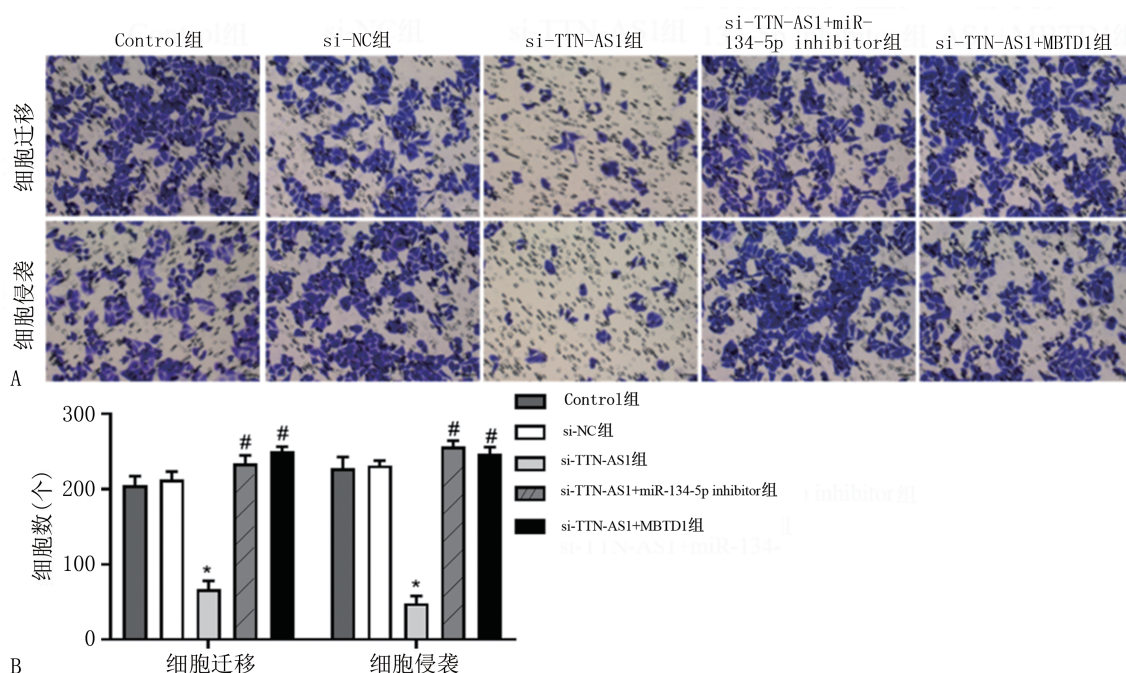
注: A 为 TargetScan 数据库预测 MBTD1 和 miR-134-5p 的结合位点; B 为双荧光素酶报告基因实验验证 MBTD1 和 miR-134-5p 的靶向关系, 与 miR-NC+MBTD1 WT 组比较, * $P < 0.05$ 。

图 3 miR-134-5p 靶向调控 MBTD1



注: A 为 qRT-PCR 检测各组细胞 MBTD1 mRNA 表达水平; B 为 CCK8 法检测各组细胞增殖能力; 与 si-NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 si-TTN-AS1 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 4 TTN-AS1 通过调控 miR-134-5p/MBTD1 信号轴调控骨肉瘤细胞的增殖



注: A 为 Transwell 小室法检测各组细胞迁移和侵袭能力镜下图 ($\times 20$); B 为 Transwell 小室法检测各组细胞迁移和侵袭数; 与 si-NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 si-TTN-AS1 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 5 TTN-AS1 通过调控 miR-134-5p/MBTD1 信号轴调控骨肉瘤细胞的迁移和侵袭

3 讨 论

随着基因测序和基因芯片技术的发展,越来越多的 lncRNA 被发现可调控肿瘤的发生、发展以及与患者的预后相关,也有研究指出,lncRNA 有望成为肿瘤治疗的新靶点^[6-7]。骨肉瘤是一种原发性骨恶性肿瘤,肿瘤的迅速增殖以及转移是影响骨肉瘤预后的重要因素,虽然随着手术和放化疗等治疗方式的联合使用,骨肉瘤患者的生存时间显著延长,但是耐药、复发、转移等仍严重影响着患者的临床治疗效果。研究表明,多种 lncRNA 均可调控骨肉瘤的病理进程,例如 SNHG4 通过靶向调控 miR-224-3p 促进骨肉瘤的生长并且与患者的不良预后相关^[8],其也可通过调控 miR-377-3p 的表达而促进骨肉瘤的增殖和迁移^[9]; SARCC 可调控 miR-143/己糖激酶 2 信号轴而影响骨肉瘤对顺铂的敏感性^[10]; DANCR 可靶向调控 miR-149/MSI2 轴而促进骨肉瘤的迁移和侵袭能力^[11]。有研究亦发现多种 lncRNA 具有抑制骨肉瘤的功能,例如 TMPO-AS1 可靶向调控 miR-329 和 E2F1 基因而促进骨肉瘤细胞的凋亡^[12]; TUSC7 可通过 miR-181a/RASSF6 轴抑制骨肉瘤的进展^[13]。所以,lncRNA 被认为具有作为肿瘤治疗靶点的潜力。

TTN-AS1 已经被发现在多种肿瘤中发挥重要的调控作用。有研究指出,TTN-AS1 可通过调控 miR-376a-3p 而促进子宫内膜癌病理进程^[14]; TTN-AS1 也可通过靶向调控 miR-27b-3p/RUNX1 轴而促进胶质瘤的病理进程^[15]; 其亦可通过调控 miR-15b-5p/FBXW7 轴而促进卵巢癌的生长和转移^[16]。但是目前关于 TTN-AS1 在骨肉瘤中的表达研究较少,本研究发现,TTN-AS1 在骨肉瘤细胞 U2-OS、MG-63、SOSP-9607、SAOS2 中的表达水平明显高于在人成骨细胞 hFoB1.19 中的表达水平,推测 TTN-AS1 具有调控骨肉瘤细胞生长和转移的功能。本研究在 TTN-AS1 表达水平最高的 SAOS2 细胞中转染 TTN-AS1 siRNA 抑制 TTN-AS1 表达后,SAOS2 细胞的增殖、迁移和侵袭能力均显著降低,说明抑制 TTN-AS1 表达可抑制骨肉瘤细胞的生长和转移。lncRNA 的重要调控机制为抑制 miRNA 表达而影响其靶基因的表达,在肿瘤的病理进程中,lncRNA 会携带其 miRNA 的“种子序列”,像海绵一样结合于 miRNA,进而抑制 miRNA 与 mRNA 的结合^[17-18]。本文通过生物信息学预测 TTN-AS1 和 miR-134-5p 的结合位点,并且通过双荧光素酶报告基因实验证明 miR-134-5p 为 TTN-AS1 的靶基因。miR-134-5p 亦在多种肿瘤中发挥调控作用,例如 miR-134-5p 靶向 DAB2 促进 I 期肺腺癌的转移和化疗耐药^[19]。也有研究表明,

miR-134-5p 可被多种 lncRNA 调控而影响肿瘤的病理进程,例如 LINC01278 通过调控 miR-134-5p/KDM2A 轴而加速肠癌的病理进程^[20],LINC00858 通过调控 miR-134-5p/RAD18 信号通路而加重卵巢癌细胞的癌症表型^[21]。本研究发现,抑制 TTN-AS1 可促进 SAOS2 细胞 miR-134-5p 的表达。共转染 TTN-AS1 siRNA 和 miR-134-5p inhibitor 后的 SAOS2 细胞增殖、迁移及侵袭能力均明显强于转染 TTN-AS1 siRNA 的 SAOS2 细胞,说明 TTN-AS1 可通过调控 miR-134-5p 的表达水平而影响骨肉瘤细胞的生长和转移。

miRNA 发挥调控作用的机制为结合于其靶基因 mRNA 的 3' 非翻译区而抑制靶基因的蛋白质翻译^[22]。本文通过 TargetScan 数据库预测 miR-134-5p 与 MBTD1 的结合位点,双荧光素酶报告基因实验验证了 MBTD1 为 miR-134-5p 的靶基因。MBTD1 是与肿瘤发生相关的多克隆蛋白家族成员^[23-24],研究表明,过表达 MBTD1 与前列腺癌的不良预后相关^[25]; HAN 等^[26]发现,在子宫内膜间质肉瘤中存在的 MBTD1-PHF1 基因融合与疾病的发生密切相关。

综上所述,lncRNA TTN-AS1 在骨肉瘤中高表达,抑制其表达可显著抑制骨肉瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力,其机制可能与 TTN-AS1 调控 miR-134-5p/MBTD1 信号轴有关,但本研究仅为体外研究,体内研究是否会得到相同的结果尚需深入探讨,特别是 TTN-AS1 能否作为骨肉瘤诊断标志物或治疗靶点还需进一步研究。

参考文献

- [1] CORRE I, VERRECCHIA F, CRENN V, et al. The osteosarcoma microenvironment: a complex but targetable ecosystem[J]. Cells, 2020, 9(4): 976-1000.
- [2] HAN J, SHEN X. Long noncoding RNAs in osteosarcoma via various signaling pathways[J]. J Clin Lab Anal, 2020, 34(6): e23317-e23325.
- [3] PENG W X, KOIRALA P, MO Y Y. LncRNA-mediated regulation of cell signaling in cancer[J]. Oncogene, 2017, 36(41): 5661-5667.
- [4] SANCHEZ C A, KAWAMURA Y, YAMAMOTO Y, et al. Emerging roles of long non-coding RNA in cancer[J]. Cancer Sci, 2018, 109(7): 2093-2100.
- [5] ZHENG Q X, WANG J, GU X Y, et al. TTN-AS1 as a potential diagnostic and prognostic biomarker for multiple cancers[J]. Biomed Pharmacother, 2021, 135 (13): 111169-111182.
- [6] WANG L, CHO K B, LI Y, et al. Long noncoding RNA (lncRNA)-mediated competing endogenous RNA networks

- provide novel potential biomarkers and therapeutic targets for colorectal cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(22): 5758-5773.
- [7] BHAN A, SOLEIMANI M, MANDAL S S. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(15): 3965-3981.
- [8] XU R, FENG F, YU X, et al. LncRNA SNHG4 promotes tumour growth by sponging miR-224-3p and predicts poor survival and recurrence in human osteosarcoma[J]. *Cell Prolif*, 2018, 51(6): e12515-e12523.
- [9] HUANG Y F, LU L, SHEN H L, et al. LncRNA SNHG4 promotes osteosarcoma proliferation and migration by sponging miR-377-3p[J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2020, 8(8): e1349-e1358.
- [10] WEN J F, JIANG Y Q, LI C, et al. LncRNA-SARCC sensitizes osteosarcoma to cisplatin through the miR-143-mediated glycolysis inhibition by targeting Hexokinase 2[J]. *Cancer Biomark*, 2020, 28(2): 231-246.
- [11] ZHANG W, LI J Z, TAI Q Y, et al. LncRNA DANCR regulates osteosarcoma migration and invasion by targeting miR-149/MSI2 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(12): 6551-6560.
- [12] LIU X, WANG H, TAO G L, et al. LncRNA-TMPO-AS1 promotes apoptosis of osteosarcoma cells by targeting miR-329 and regulating E2F1[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(21): 11006-11015.
- [13] ZHAO A, LIU W, CUI X, et al. LncRNA TUSC7 inhibits osteosarcoma progression through the miR-181a/RASSF6 axis[J]. *Int J Mol Med*, 2021, 47(2): 583-594.
- [14] 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.
- [15] CHANG K, WANG G, LOU J, et al. LncRNA TTN-AS1 upregulates RUNX1 to enhance glioma progression via sponging miR-27b-3p[J]. *Oncol Rep*, 2020, 44(3): 1064-1074.
- [16] MIAO S, WANG J, XUAN L, et al. LncRNA TTN-AS1 acts as sponge for miR-15b-5p to regulate FBXW7 expression in ovarian cancer[J]. *Biofactors*, 2020, 46(4): 600-607.
- [17] STATELLO L, GUO C J, CHEN L L, et al. Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(2): 96-118.
- [18] YANG Y, YUJIAO W, FANG W, et al. The roles of miRNA, lncRNA and circRNA in the development of osteoporosis[J]. *Biol Res*, 2020, 53(1): 40.
- [19] ZHANG L, HUANG P, LI Q, et al. miR-134-5p promotes stage I lung adenocarcinoma metastasis and chemoresistance by targeting DAB2[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2019, 18(6): 627-637.
- [20] XI C, YE N Y, WANG Y B. LncRNA LINC01278 accelerates colorectal cancer progression via miR-134-5p/KDM2A axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(20): 10526-10534.
- [21] XUE H, WU Z, RAO D, et al. Long non-coding RNA LINC00858 aggravates the oncogenic phenotypes of ovarian cancer cells through miR-134-5p/RAD18 signaling[J]. *Arch Gynecol Obstet*, 2020, 302(5): 1243-1254.
- [22] ALI SYEDA Z, MUNKHZUL C, LEE M, et al. Regulatory mechanism of microRNA expression in cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(5): 1723.
- [23] YAMAMOTO K, YAKUSHIJIN K, ICHIKAWA H, et al. Expression of a novel ZMYND11/MBTD1 fusion transcript in CD7⁺ CD56⁺ acute myeloid leukemia with t(10;17)(p15; q21)[J]. *Leuk Lymphoma*, 2018, 59(11): 2706-2710.
- [24] CHADCHAN S B, MAURYA V K, KREKELER G L, et al. A role for malignant brain tumor domain-containing protein 1 in human endometrial stromal cell decidualization[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2020, 8: 745.
- [25] WU W, BAI S, ZHU D, et al. Overexpression of malignant brain tumor domain containing protein 1 predicts a poor prognosis of prostate cancer[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(5): 4640-4646.
- [26] HAN L, LIU Y J, RICCIOTTI R W, et al. A novel MBTD1-PHF1 gene fusion in endometrial stromal sarcoma: a case report and literature review[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2020, 59(7): 428-432.

(收稿日期: 2022-02-11 修回日期: 2022-06-28)