

• 论 著 •

lncRNA FAM83H-AS1 对结直肠癌细胞增殖和侵袭迁移的影响*

张 彪¹, 朱庆芳²

1. 福建医科大学省立临床医学院/福建省立医院检验科, 福建福州 350001;
2. 福建医科大学省立临床医学院, 福建福州 350001

摘 要:目的 探讨长链非编码 RNA 序列相似性家族 83 成员 H 反义 RNA 1(lncRNA FAM83H-AS1)在结直肠癌组织和细胞中的表达水平及其对结直肠癌细胞增殖和侵袭迁移的影响。方法 采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)检测 lncRNA FAM83H-AS1 在结直肠癌组织、细胞和血浆中的表达水平,并分析 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平与结直肠癌患者临床特征的关系。构建具有干扰 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平的 SW620 细胞模型。采用 CCK8 法和 Transwell 法分别分析 lncRNA FAM83H-AS1 对细胞增殖、细胞迁移和侵袭能力的影响。采用 qPCR 和免疫印迹法检测基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 的表达水平。结果 与正常对照组相比,lncRNA FAM83H-AS1 在结直肠癌组织和血浆中的表达显著上调($P<0.05$),且在 SW620 的表达水平高于正常结肠黏膜细胞及其他结直肠癌细胞系,差异有统计学意义($P<0.05$);lncRNA FAM83H-AS1 的表达水平与远处转移($P=0.019$)和 TNM 分期($P=0.044$)有关,但与性别、年龄、肿瘤位置和浸润深度无关($P>0.05$)。干扰 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平对结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力有明显的抑制作用($P<0.05$)。sh-FAM83H-AS1 转染细胞中 MMP-2 和 MMP-9 的 mRNA 和蛋白表达水平显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平增加可能与结直肠癌的发生发展有关,提示 lncRNA FAM83H-AS1 可能是结直肠癌诊断和治疗的潜在生物标志物。

关键词:结直肠癌; 长链非编码 RNA 序列相似性家族 83 成员 H 反义 RNA 1; 迁移; 侵袭

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.22.005 **中图法分类号:**R735.34;R730.43

文章编号:1673-4130(2023)22-2710-06 **文献标志码:**A

Effect of lncRNA FAM83H-AS1 on proliferation, invasion and migration of colorectal cancer cells*

ZHANG Biao¹, ZHU Qingfang²

1. Fujian Medical University Provincial School of Clinical Medicine/Department of Clinical Laboratory, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou, Fujian 350001, China; 2. Fujian Medical University Provincial College of Clinical Medicine, Fuzhou, Fujian 350001, China

Abstract:Objective To investigate the expression level of long non-coding RNA family with sequence similarity 83 member Hantisense RNA 1 (lncRNA FAM83H-AS1) in colorectal cancer tissues and cells and its effect on the invasion and migration of colorectal cancer cells. **Methods** The expression level of lncRNA FAM83H-AS1 in colorectal cancer tissues, cells and plasma was detected by quantitative real-time fluorescence PCR (qPCR), and the relationship between lncRNA FAM83H-AS1 expression level and clinical features of patients with colorectal cancer was analyzed. SW620 cell models with interfering lncRNA FAM83H-AS1 were constructed. The effects of lncRNA FAM83H-AS1 on cell proliferation, cell migration and invasion were analyzed respectively using CCK8 assay and Transwell assay. Levels of matrix metalloproteinase (MMP)-2, MMP-9 were detected by qPCR and Western blotting. **Results** Compared with normal controls, the expression of lncRNA FAM83H-AS1 in colorectal cancer tissues and plasma was significantly up-regulated ($P<0.05$) and expression in SW620 was higher than in normal colonic mucosal cell and other colorectal cancer cell lines, and the difference were statistically significant ($P<0.05$). The expression level of lncRNA FAM83H-AS1 was related to distant metastasis($P=0.002$) and TNM stage($P=0.033$), but it was not related to the gender, age, tumor location and depth of invasion ($P>0.05$). Cell proliferation, migration and invasion ability of colorectal cancer cells with interfering lncRNA-FAM83H-AS1 expression level were inhibited significantly ($P<0.05$). mRNA and protein expression levels of MMP-2 and MMP-9 of transfected cells with sh-FAM83H-AS1 were significantly decreased, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Increased expression of lncRNA

* 基金项目:福建省卫生健康委员会科技计划项目(2018-1-7)。
作者简介:张彪,男,主治医师,主要从事肿瘤分子诊断方面的研究。

FAM83H-AS1 may be associated with the occurrence and development of colorectal cancer, which indicates that lncRNA FAM83H-AS1 may be a potential biomarker in the diagnosis and treatment of colorectal cancer.

Key words: colorectal cancer; lncRNA FAM83H-AS1; migration; invasion

结直肠癌(CRC)是一种常见的消化道肿瘤,在世界上大多数国家的发病率和死亡率显著增加^[1]。目前认为 CRC 的发生是一个多因素、多阶段、多基因改变的协同过程,癌基因和抑癌基因的表达水平失调是 CRC 发生的分子基础^[2]。长链非编码 RNA (lncRNA)可以参与许多生物反应,主要在基因表达水平上发挥对原癌基因或抑癌基因的表观遗传、转录以及转录后调控的作用,进而参与多种肿瘤和其他疾病的发生和发展^[3]。有研究表明,lncRNA 与肿瘤细胞的增殖、转移及预后密切相关。lncRNA TBILA 可通过转化生长因子 $\beta 1$ (TGFB1)调节和加速肺癌细胞的增殖^[4]。肌动蛋白丝相关蛋白 1-反义 RNA1 (AFAP1-AS1)是一种在 CRC 组织中表达水平显著升高的 lncRNA,通过调节 EZH2 增强子的表达水平来增加细胞的增殖和侵袭^[5]。同时,lncRNA 已被报道作为一种新的诊断或诊断预后的生物标志物。本课题组在前期应用转录组测序技术对 CRC 组织和癌旁组织进行测序分析,筛选出了表达水平具有明显差异的长链非编码 RNA 序列相似性家族 83 成员 H 反义 RNA 1 (lncRNA FAM83H-AS1)。早期的研究发现 lncRNA FAM83H-AS1 在胶质瘤肿瘤组织中呈高表达水平^[6]。在肺腺癌中,lncRNA FAM83H-AS1 呈高表达水平的患者提示生存率较差,而下调该基因可通过调控 MET/EGFR 信号通路减弱细胞增殖和侵袭作用^[7]。之前的 RNA 测序研究显示,lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 组织中表达水平上调^[8],然而目前关于 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 中的功能和作用机制报道较少。本研究旨在分析 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 组织、细胞和血浆中的表达水平情况,并探究其表达水平敲低对 CRC 细胞增殖和侵袭迁移作用的影响及其潜在的分子机制,以期对 CRC 的分子诊疗提供新的依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性选取 2017 年 5 月至 2019 年 12 月于福建省立医院(下称本院)胃肠外科和肿瘤外科接受 CRC 手术切除的 53 例 CRC 患者的肿瘤组织,以及距癌灶 5 cm 以上的正常黏膜,放入液氮保存。所有标本均经病理检查证实,所有入选患者术前均未接受放化疗治疗。另收集 2020 年 8 月至 2022 年 2 月本院 88 例 CRC 患者和 32 例体检健康者的血浆样本。每位受试者收集 5 mL 抗凝血液,3 000 r/min 分离血浆 5 min,−80 °C 保存至使用。本研究经医院伦理审查委员会批准,入选患者均知情同意。

1.2 仪器与试剂 FHC(正常结肠黏膜细胞系)和

Caco-2(CRC 细胞系)购自美国 ATCC。SW480(CRC 细胞系)购自中国科学院上海细胞生物研究所。SW620、HCT116、LoVo 和 HT29(CRC 细胞系)来源于本实验室。DMEM 培养基、胰酶、胎牛血清购自 Gibco 公司,Transwell 小室购自美国 Corning 公司,CCK8 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司,L-15 培养基购自南京凯基生物公司,SYBR Green PCR Mix 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,抗基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9 抗体购自美国 Santa Cruz 公司。Trizol 试剂、抗 GAPDH 和二抗购自北京康为生物技术公司。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养 SW480 和 SW620 接种于 L-15 培养基,其他细胞系接种于 DMEM 培养基;培养液均含 10%胎牛血清、100 U/mL 青霉素和链霉素,在细胞培养箱于 5%CO₂、37 °C 条件下培养,待细胞融合度达约 90%时,用 0.25%胰蛋白酶进行消化传代。

1.3.2 细胞转染 按照 1×10^5 个/孔的密度将细胞接种于 6 孔板内,待细胞达约 80%汇合时,按照转染操作说明书将 3 个靶 shRNA 和阴性对照(上海吉玛公司)转染入细胞,最终浓度为 10 nmol/L。12 h 后吸弃病毒培养液,加入新鲜培养基继续培养。荧光显微镜观察绿色荧光蛋白(GFP)表达情况,采用实时荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)分析方法检测干扰效率。

1.3.3 qPCR 检测 使用 Trizol 试剂提取总 RNA,使用 NanoDrop 分光光度计检测 RNA 浓度和纯度。取 1 μ g RNA 按照逆转录试剂盒逆转录成 cDNA。然后,根据说明书进行 qPCR 反应,采用 2 $\times$ SYBR Green PCR Mix 进行。总反应体系 25 μ L,反应条件:95 °C 预变性 30 s;95 °C 变性 5 s,60 °C 退火、延伸 30 s,共 45 个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算表达水平。引物序列如下,lncRNA FAM83H-AS1 正向为 5'-TAG GAA ACG AGC GAG CCC-3';反向为 5'-GCT TTG GGT CTC CCC TTC TT-3';GAPDH 正向为 5'-ATG GAA ATC CCA TCA CCA TCT T-3';反向为 5'-ACG TAC TCA GCG CCA GCA T-3';MMP-2 正向为 5'-CCA TCA TCA AGT TCC CCG GC-3';反向为 5'-CTG GGG CAG TCC AAA GAA CT-3';MMP-9 正向为 5'-ACG ATG ACG AGT TGT GGT CC-3';反向为 5'-AGA AGC CGA AGA GCT TGT CC-3'。

1.3.4 细胞增殖试验 转染后,收集每组的对数期细胞,在 96 孔板的 5 000 个细胞/孔中接种,然后在 5%CO₂ 和 37 °C 条件下培养。在细胞接种后的 24、

48、72 h,向每孔加入 10 μ L 的 CCK-8 试剂,细胞在 37 $^{\circ}$ C 下再孵育 2 h。用酶标仪以 630 nm 为参考波长,以 450 nm 波长测定各孔内吸光度(A)值。

1.3.5 细胞迁移和侵袭实验 迁移实验:将转染后的细胞消化后重悬于无血清培养液,调整细胞密度为 5×10^5 个/毫升,在 Transwell 上层小室中按每孔 100 μ L 加入无血清细胞悬液(5×10^4 个细胞),下室加入 600 μ L 含 10%胎牛血清的新鲜培养基,于 5% CO_2 、37 $^{\circ}$ C 培养箱中继续培养 24 h。取出小室,用棉签擦去上室内的细胞,经 4%多聚甲醛固定和结晶紫染液染色后,用显微镜观察和拍照,随机选取 8 个视野进行计数。侵袭实验:需在 Transwell 小室上室预先包被 Matrigel 基质胶后备用,其余步骤同迁移实验。

1.3.6 免疫印迹法 收集各组细胞裂解后提取蛋白,BCA法定量。取 15 μ g 蛋白样品经 SDS-PAGE 电泳后转至 PVDF 膜,使用 5%脱脂奶粉封闭 2 h,加一抗孵育过夜。TBST 洗膜 3 次后分别与 HRP 标记的羊抗兔二抗孵育 1 h,增强型化学发光试剂(ECL)显影并拍照。以 GAPDH 为内参,用 Image J 软件对蛋白条带进行灰度分析。

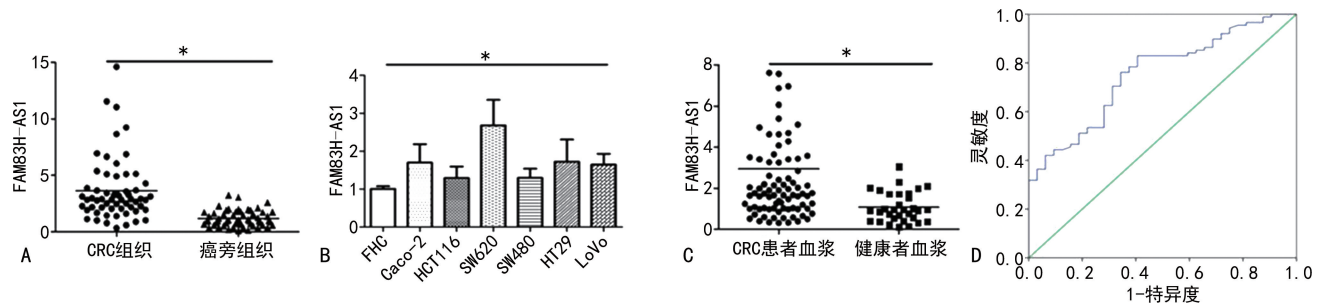
1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 统计学软件进行

数据分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析(两两比较采用 SNK 法)。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 患者中的表达水平 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 组织中的表达水平显著高于癌旁组织,差异有统计学意义($P<0.05$),在 CRC 细胞株中的表达水平也显著高于正常结肠黏膜细胞 FHC,差异有统计学意义($P<0.05$)。lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 患者血浆中的表达水平明显高于健康者血浆,差异有统计学意义($P<0.05$)。lncRNA FAM83H-AS1 对 CRC 患者的 AUC 为 0.751,灵敏度为 76%,特异度为 66%。见图 1。

2.2 lncRNA FAM83H-AS1 的表达水平与 CRC 临床病理特征的关系 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平升高与肿瘤的远处转移($P=0.019$)和 TNM 分期($P=0.044$)有关,但与患者的性别、年龄、肿瘤部位、浸润深度等均无相关性($P>0.05$)。见表 1。



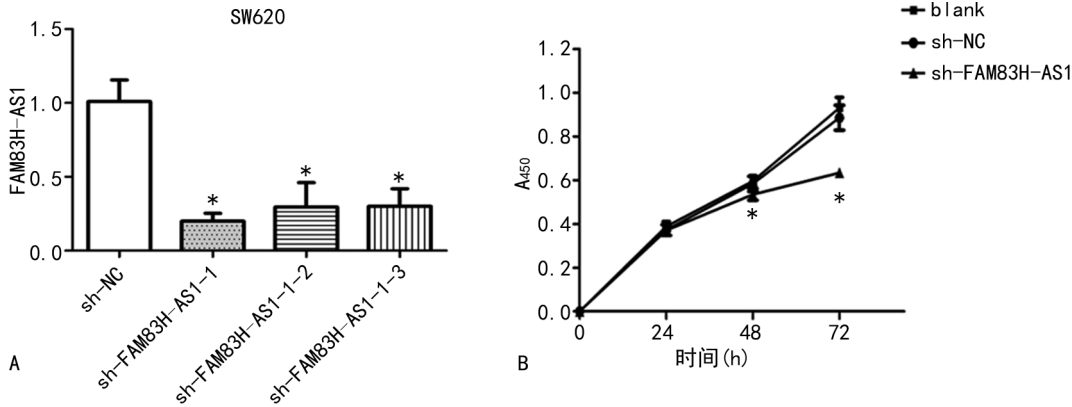
注:A 为 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 组织和癌旁组织中的表达水平;B 为 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 细胞与正常结肠黏膜细胞的表达水平;C 为 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 患者和健康者血浆中的表达水平;D 为 CRC 患者血浆表达水平的 ROC 曲线。与健康者比较,* $P<0.05$ 。

图 1 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 样本中的表达情况

表 1 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平与临床病理特征的关系(n)				
项目	lncRNA FAM83H-AS1		χ^2	P
	低表达(n=12)	高表达(n=41)		
性别			0.082	0.775
男	7	22		
女	5	19		
年龄(岁)			0.198	0.656
>60	9	28		
≤60	3	13		
肿瘤位置			0.016	0.899
结肠	9	30		
直肠	3	11		
浸润深度			0.006	0.941
T1/T2	6	20		

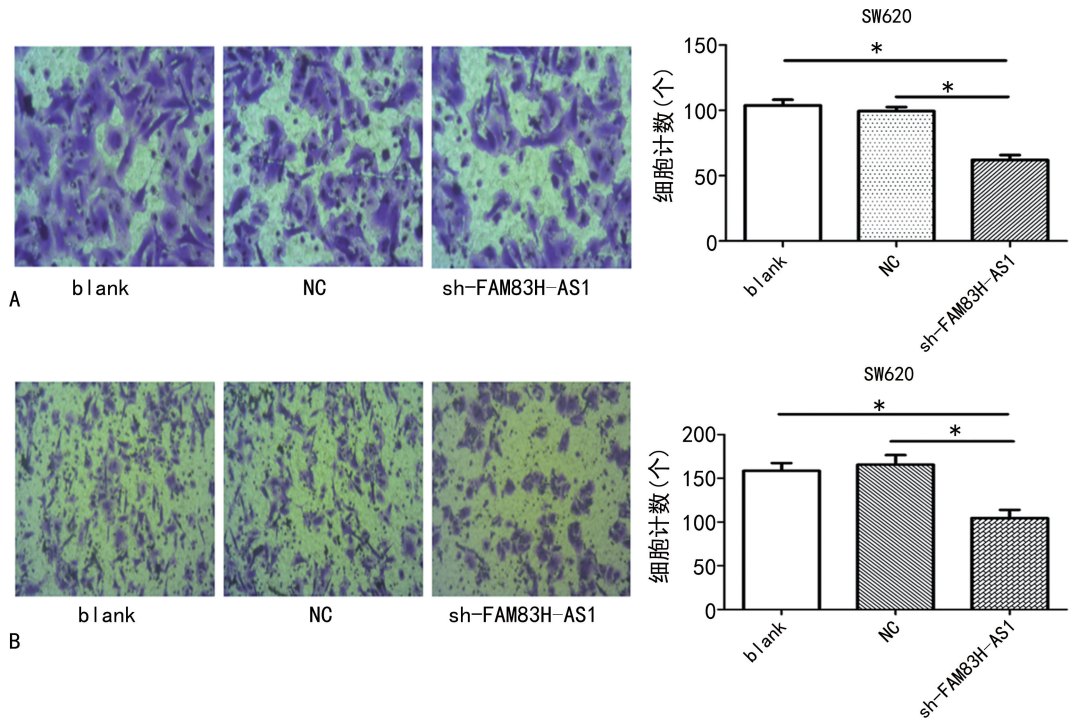
续表 1 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平与临床病理特征的关系(n)				
项目	lncRNA FAM83H-AS1		χ^2	P
	低表达(n=12)	高表达(n=41)		
T3/T4	6	21		
淋巴结转移			0.427	0.513
+	4	18		
-	8	23		
远处转移			5.529	0.019
+	3	26		
-	9	15		
TNM 分期			4.044	0.044
Ⅲ+Ⅳ	4	27		
I+Ⅱ	8	14		

2.3 敲低 lncRNA FAM83H-AS1 的表达水平对 SW620 细胞增殖的影响 将 sh-FAM83H-AS1 慢病毒转染入表达水平最高的 SW620 细胞后,荧光显微镜下观察各组转染效率均为 80% 以上。qPCR 检测结果显示,sh-FAM83H-AS1 转染组 FAM83H-AS1 的表达水平明显低于转染阳性对照(NC)组,差异有统计学意义($P<0.05$),且在 3 个 sh-FAM83H-AS1 转染组中 sh-FAM83H-AS1-1 表现出最高的干扰效率。CCK8 检测结果显示,与 NC 组相比,sh-FAM83H-AS1 转染组的细胞增殖被明显抑制($P<0.05$),说明 FAM83H-AS1 可促进 CRC 细胞增殖。见图 2。



注:A 为转染后各组中 lncRNA FAM83H-AS1 的表达水平情况;B 为 CCK8 试验检测细胞的增殖能力。blank 表示空白对照,sh-FAM83H-AS1 表示转染 lncRNA FAM83H-AS1。与 NC 组比较,* $P<0.05$ 。

图 2 敲低 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平对 CRC 细胞增殖的影响

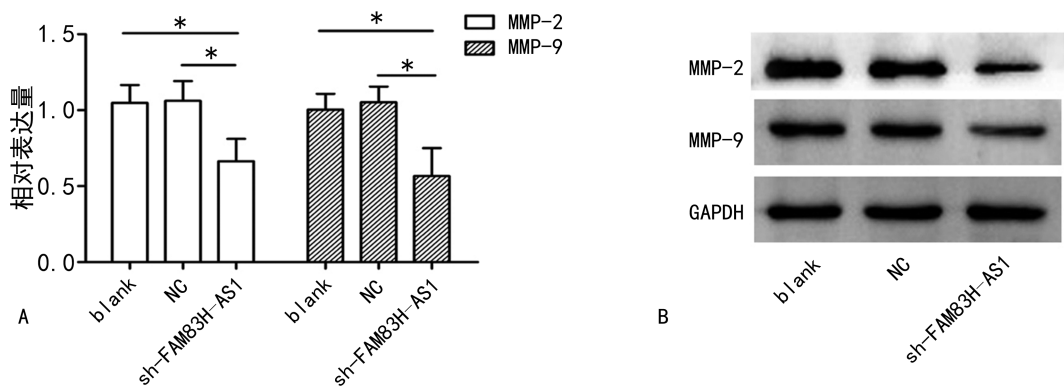


注:A 为 Transwell 迁移实验穿膜细胞结果和统计图;B 为 Transwell 侵袭实验穿膜细胞结果和统计图。blank 表示空白对照,sh-FAM83H-AS1 表示转染 lncRNA FAM83H-AS1。与 NC 组比较,* $P<0.05$ 。

图 3 Transwell 实验检测 lncRNA FAM83H-AS1 对 SW620 细胞迁移和侵袭能力的影响

2.4 敲低 lncRNA FAM83H-AS1 的表达水平对 SW620 细胞迁移和侵袭的影响 Transwell 实验结果显示,与 NC 组相比,sh-FAM83H-AS1 转染组平均每个视野穿至小室外的迁移细胞数和侵袭细胞数均明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$),细胞迁移和侵袭能力明显受到抑制,说明 FAM83H-AS1 可促进 CRC 细胞迁移和侵袭。见图 3。

2.5 敲低 lncRNA FAM83H-AS1 的表达水平对 MMP-2、MMP-9 表达水平的影响 qPCR 和免疫印迹法结果显示,与 NC 组相比,sh-FAM83H-AS1 转染组 MMP-2、MMP-9 的 mRNA 和蛋白表达水平均显著降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 4。



注:A为 qPCR 检测各组细胞 MMP-2、MMP-9 的 mRNA 相对表达水平;B 为免疫印迹法检测各组细胞 MMP-2、MMP-9 的蛋白表达水平。blank 表示空白对照,sh-FAM83H-AS1 表示转染 lncRNA FAM83H-AS1。与 NC 组比较,* $P<0.05$ 。

图 4 敲低 lncRNA FAM83H-AS1 对 MMP-2、MMP-9 表达水平的影响

3 讨论

CRC 是我国常见的胃肠道恶性肿瘤,是癌症相关死亡的第八大原因^[8]。然而,癌症诊断技术和治疗方面的巨大进步并不能显著延长 CRC 患者的总生存时间^[9],其最重要的原因是临床确诊 CRC 缺乏足够的生物标志物,从而使患者无法得到有效地治疗。因此,寻找新的 CRC 分子诊断和治疗靶点,分析肿瘤进展的相关机制,对 CRC 预后改善和生存率的提高具有重要意义。

lncRNA 是 RNA 聚合酶转录过程中产生的、由 200 多个核苷酸组成一组 RNA,它是一种具有编码蛋白潜能的基因,在肿瘤生物学中扮演着举足轻重的角色^[10]。肿瘤患者中 lncRNA 的异常在肿瘤发生中起着重要作用,目前越来越多的研究表明,多种异常表达的 lncRNAs 与包括 CRC 在内的多种恶性肿瘤有关^[11-13],其功能也包括了调节癌细胞增殖和转移^[14-15]。MA 等^[16]研究表明,lncRNA FAM83H-AS1 的上调通过 Wnt/ β -连环蛋白通路促进肝细胞癌的细胞增殖、迁移和侵袭。lncRNA FAM83H-AS1 也通过表观遗传学沉默 CDKN1A(p21)在胶质瘤中发挥致癌作用^[6]。

在本研究中,本文首先检测了 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 组织和细胞系中的表达水平。结果显示,lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 组织中的表达水平明显高于邻近的癌旁组织,且在 CRC 细胞系中的表达水平也高于正常结肠黏膜细胞。此外,本文还检测了 lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 患者血浆和健康者血浆中的表达水平,发现其在 CRC 患者血浆中的表达水平明显高于健康者血浆。本文分析了 lncRNA FAM83H-AS1 的表达水平与临床病理特征的关系,结果显示 lncRNA FAM83H-AS1 的高表达与 CRC 患者的远处转移及 TNM 分期显著相关。由此可以推断出 lncRNA FAM83H-AS1 有望成为 CRC 的早期筛查、早期诊断和预后判断的潜在分子标志。继而,本文以 lncRNA FAM83H-AS1 表达水平相对较

高的 SW620 细胞为研究对象,探讨 lncRNA FAM83H-AS1 对于 CRC 细胞侵袭迁移能力的影响。本研究将 sh-FAM83H-AS1 慢病毒转染入 SW620 细胞,敲低其表达水平,结果显示转染后细胞增殖受到明显抑制;同时,Transwell 实验证实敲低 lncRNA FAM83H-AS1 可显著抑制 SW620 细胞的迁移和侵袭能力,提示在 CRC 细胞中 lncRNA FAM83H-AS1 起促癌的作用。

肿瘤的转移被认为是 CRC 患者的重要死因之一,抑制肿瘤的侵袭和迁移可有效遏制肿瘤的进展。细胞外基质和基底一起构成肿瘤转移过程中的第一道屏障,其降解是肿瘤侵袭和转移的关键环节。MMPs 是一类锌离子和钙离子依赖的蛋白酶家族,参与调控肿瘤细胞的侵袭迁移过程。肿瘤细胞通过合成和分泌 MMPs 降解细胞外基质的各种蛋白质底物,包括胶原蛋白和弹性蛋白,破坏肿瘤细胞侵袭的组织学屏障,从而促进肿瘤的侵袭和转移^[17],并在血管生成、细胞凋亡和组织修复中发挥作用。多项研究证实,MMP-2 和 MMP-9 激活后的异常高表达与肿瘤转移的多样性和预后不良密切相关^[18-19]。本研究在证实了 lncRNA FAM83H-AS1 参与对 CRC 细胞侵袭迁移能力的调控后,进一步发现其可能通过上调 MMP-2 和 MMP-9 的表达水平,加速细胞外基质的降解,从而促进 CRC 细胞的侵袭迁移过程。

综上所述,lncRNA FAM83H-AS1 在 CRC 组织和细胞中呈高表达且发挥促癌作用,通过外源 shRNA 手段下调其表达可抑制其增殖和迁移侵袭能力,可能与抑制 MMP-2 和 MMP-9 表达水平有关,有望成为 CRC 分子诊断和治疗的生物标志物和潜在靶点。

参考文献

[1] SUNG H,FERLAY J,SIEGEL R L,et al. Global cancer statistics 2020;GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin,2021,71(3):209-249.

- [2] WANG M Y, QIU Y H, CAI M L, et al. Role and molecular mechanism of stem cells in colorectal cancer initiation [J]. J Drug Target, 2020, 28(1): 1-10.
- [3] WILUSZ J E, SUNWOO H, SPECTOR D L. Long non-coding RNAs; functional surprises from the RNA world [J]. Genes Dev, 2009, 23(13): 1494-1504.
- [4] LU Z, LI Y, CHE Y, et al. The TGF β -induced lncRNA TBILA promotes non-small cell lung cancer progression in vitro and in vivo via cis-regulating HGAL and activating S100A7/JAB1 signaling [J]. Cancer Lett, 2018, 432: 156-168.
- [5] TANG J, ZHONG G, WU J, et al. Long noncoding RNA AFAP1-AS1 facilitates tumor growth through enhancer of zeste homolog 2 in colorectal cancer [J]. Am J Cancer Res, 2018, 8: 892-902.
- [6] BI Y Y, SHEN G, QUAN Y, et al. Long noncoding RNA FAM83H-AS1 exerts an oncogenic role in glioma through epigenetically silencing CDKN1A (p21) [J]. J Cell Physiol, 2018, 233: 8896-8907.
- [7] ZHANG J, FENG S, SU W, et al. Overexpression of FAM83H-AS1 indicates poor patient survival and knock-down impairs cell proliferation and invasion via MET/EGFR signaling in lung cancer [J]. Sci Rep, 2017, 7: 42819.
- [8] BRAY F, FERLAY J, SOERJOMATARAM I, et al. Global cancer statistics 2018; GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. CA Cancer J Clin, 2020, 68(6): 394-424.
- [9] RAMMER M, WEBERSINKE G, HAITCHI-PETNEHAZY S, et al. MicroRNAs and their role for T stage determination and lymph node metastasis in early colon carcinoma [J]. Clin Exp Metastasis, 2017, 34: 431-440.
- [10] SHI X, SUN M, LIU H, et al. Long non-coding RNAs; a new frontier in the study of human diseases [J]. Cancer Lett, 2013, 339(2): 159-166.
- [11] DAN J, WANG J, WANG Y, et al. LncRNA-MEG3 inhibits proliferation and metastasis by regulating miRNA-21 in gastric cancer [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 99: 931-938.
- [12] CHEN Y, WEI G, XIA H, et al. Long noncoding RNA-ATB promotes cell proliferation, migration and invasion in gastric cancer [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(1): 1940-1946.
- [13] YAN L, WU X, YIN X, et al. LncRNA CCAT2 promoted osteosarcoma cell proliferation and invasion [J]. J Cell Mol Med, 2018, 22(5): 2592-2599.
- [14] ARNES L, LIU Z, WANG J, et al. Comprehensive characterisation of compartment-specific long non-coding RNAs associated with pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. Gut, 2019, 68(3): 499-511.
- [15] SHIH J W, CHIANG W F, WU A T H, et al. Long non-coding RNA lncHIFCAR/MIR31HG is a HIF-1 α co-activator driving oral cancer progression [J]. Nat Commun, 2017, 8: 15874.
- [16] MA Y K, SHEN T H, YANG X Y. Upregulation of lncRNA FAM83H-AS1 in hepatocellular carcinoma promotes cell proliferation, migration and invasion by Wnt/ β -catenin pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23: 7855-7862.
- [17] RADUNOVIC M, NIKOLIC N, MILENKOVIC S, et al. The MMP-2 and MMP-9 promoter polymorphisms and susceptibility to salivary gland cancer [J]. J BUON, 2016, 21(3): 597-602.
- [18] ZHANG Z, XU M, SUN X, et al. Naturally occurring glycyrrhizin triterpene exerts anticancer effects on colorectal cancer cells via induction of apoptosis and autophagy and suppression of cell migration and invasion by targeting MMP-9 and MMP-2 expression [J]. J BUON, 2020, 25(1): 188-193.
- [19] KANG H R, MOON J Y, EDIRIWEERA M K, et al. Dietary flavonoid myricetin inhibits invasion and migration of radioresistant lung cancer cells (A549-IR) by suppressing MMP-2 and MMP-9 expressions through inhibition of the FAK-ERK signaling pathway [J]. Food Sci Nutr, 2020, 8(4): 2059-2067.

(收稿日期: 2023-03-17 修回日期: 2023-06-29)

(上接第 2709 页)

- [15] HUANG Z, YAO F, LIU J, et al. Up-regulation of circRNA-0003528 promotes mycobacterium tuberculosis associated macrophage polarization via down-regulating miR-224-5p, miR-324-5p and miR-488-5p and up-regulating CTLA4 [J]. Aging (Albany NY), 2020, 12(24): 25658-25672.
- [16] 陈武奇, 谢佳佳, 杨瑶琳. 冠心病患者外周血 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 3 表达变化及临床意义 [J]. 山东医药, 2019, 59(34): 53-56.
- [17] SOLINAS C, DE SILVA P, BRON D, et al. Significance of TIM3 expression in cancer: from biology to the clinic [J]. Semin Oncol, 2019, 46(4): 372-379.
- [18] 唐新华, 张辉宏, 吴冬梅, 等. Tim3 在慢阻肺疾病患者外周血中的表达及其与疾病转归的相关性 [J]. 临床肺科杂志, 2020, 25(7): 1087-1090.
- [19] 刘叶, 王缚鲲, 汤菲. TIM-3 抑制对支气管哮喘患者免疫平衡功能的影响 [J]. 解放军医药杂志, 2019, 31(10): 43-46.
- [20] 高锋, 钱文霞, 冯一中. 非小细胞肺癌中 TIM-3、PD-1、PD-L1 的表达与临床意义 [J]. 海南医学, 2019, 30(2): 154-158.

(收稿日期: 2023-03-03 修回日期: 2023-06-11)