

基础研究

论著

长链非编码RNA HCG18对人卵巢癌细胞顺铂耐药性的影响及其机制

蔡春蕾, 蔡国青, 徐佳, 郭倩*

空军军医大学第一附属医院妇产科, 陕西西安 710032

[中图分类号] R737.31

[文献标志码] A

[DOI]

10.11855/j.issn.0577-7402.2022.11.1108

[声明]

本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文]

蔡春蕾, 蔡国青, 徐佳, 等. 长链非编码RNA HCG18对人卵巢癌细胞顺铂耐药性的影响及其机制[J]. 解放军医学杂志, 2022, 47(11): 1108-1115.

[收稿日期] 2021-06-21

[录用日期] 2021-07-28

[上线日期] 2022-09-02

[摘要] **目的** 探讨长链非编码RNA人类白细胞抗原复合体18(HCG18)对人卵巢癌细胞SKOV3及顺铂耐药细胞SKOV3/DDP耐药性的影响及其作用机制。**方法** 采用RT-PCR检测SKOV3及SKOV3/DDP细胞中HCG18和miR-449的表达水平。采用HCG18 siRNA转染细胞, 经12.5 μg/ml顺铂处理48 h后, MTT法检测细胞活性, 流式细胞术检测细胞凋亡情况及细胞周期, 荧光素酶报告基因实验检测HCG18、miR-449和Wnt1基因之间的靶向作用。**结果** 与人正常卵巢上皮细胞NOEC比较, SKOV3中HCG18表达明显增高($P<0.05$), 而miR-449的表达明显降低($P<0.05$)。HCG18 siRNA转染后, 顺铂处理后的SKOV3和SKOV3/DDP细胞活性均明显低于对照组($P<0.05$), 细胞凋亡率和G₂/M期细胞占比均明显高于对照组($P<0.05$)。miR-449 inhibitor转染SKOV3及SKOV3/DDP细胞后, HCG18 siRNA对细胞活性、凋亡和细胞周期的不利影响均被部分逆转($P<0.05$)。荧光素酶报告基因实验结果显示, HCG18可靶向结合miR-449的3'-UTR区, miR-449可靶向结合Wnt1基因的3'-UTR区。转染HCG18 siRNA可明显上调miR-449的表达水平($P<0.05$)。单独转染HCG18 siRNA或miR-449 mimic均可明显下调Wnt1的mRNA表达水平($P<0.05$)。**结论** 下调HCG18可通过miR-449/Wnt1信号通路抑制人卵巢癌细胞活性, 促进癌细胞凋亡, 诱导细胞周期G₂/M期阻滞, 进而提高卵巢癌细胞对顺铂的敏感性。

[关键词] 卵巢癌; 长链非编码RNA人类白细胞抗原复合体18; microRNA-449; 基因, Wnt1

The effect and mechanism of long non-coding RNA HCG18 on the cisplatin resistance of ovarian cancer cells

Qi Chun-Lei, Cai Guo-Qing, Xu Jia, Guo Qian*

Department of Gynaecology and Obstetrics, the First Affiliated Hospital of Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi 710032, China

*Corresponding author, E-mail: gqian_32@163.com

This work was supported by the Key Research and Development Plan of Shaanxi Province (2019SF-165)

[Abstract] **Objective** To explore the effects and mechanism of long non-coding RNA HLA complex group 18 (HCG18) on human ovarian cancer cell SKOV3 and its cisplatin resistance cell line SKOV3/DDP. **Methods** RT-PCR was used to detect the expression levels of HCG18 and miR-449 in SKOV3 and SKOV3/DDP cells. Cells were transfected with HCG18 siRNA and treated with DDP (12.5 μg/ml). After 48 h, we evaluated cell viability using the MTT assay, examined cell apoptosis and cell cycle through flow cytometry, and confirmed targeting binding of HCG18, miR-449, and Wnt1 with luciferase reporter assay. **Results** Compared with the human normal ovarian epithelial cell line NOEC, the HCG18 level was significantly increased ($P<0.05$), and the miR-449 level was significantly decreased in SKOV3 ($P<0.05$). Compared with the transfection control group, in the DDP-treated cells (both

[基金项目] 陕西省重点研发计划(2019SF-165)

[作者简介] 蔡春蕾, 医学硕士, 主治医师, 主要从事妇科肿瘤的临床治疗及基础研究

[通信作者] 郭倩, E-mail: gqian_32@163.com

SKOV3 and SKOV3/DDP), we observed significantly reduced cell viability, enhanced cell apoptosis, and cell cycle G₂/M phase arrest ($P < 0.05$). Transfection of MiR-449 inhibitor partly reversed the effects of HCG18 siRNA on cell viability, cell apoptosis, and cell cycle in both SKOV3 and SKOV3/DDP cells ($P < 0.05$). The luciferase reporter results showed that HCG18 could bind to the 3'-UTR of miR-449, and miR-449 could bind to the 3'-UTR of *Wnt1*. Transfection of HCG18 siRNA significantly increased the levels of miR-449 ($P < 0.05$). Transfection of HCG18 siRNA or miR-449 mimic significantly decreased the mRNA levels of *Wnt1* ($P < 0.05$). **Conclusions** HCG18 knockdown could inhibit cell viability, promote cell apoptosis and cell cycle G₂/M phase arrest through miR-449/*Wnt1* signaling pathway, and thus promote cisplatin sensitivity of human ovarian cancer cells.

[Key words] ovarian cancer; lncRNA HCG18; microRNA-449; genes, *Wnt1*

在常见的妇科恶性肿瘤中，卵巢癌的发病率居第三位，病死率居首位^[1]。化疗耐药是卵巢癌疗效不佳的重要原因^[2-3]。据统计，约75%的卵巢癌患者在化疗过程中会产生耐药性^[4]。因此，逆转耐药、提高药物敏感性是卵巢癌治疗中亟待解决的难题^[5]。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一段没有固定开放阅读框的RNA序列，长度大于200个核苷酸。lncRNA在核苷酸序列、空间结构、表达水平及蛋白结合力等方面的异常会影响多种肿瘤的发生与发展^[6-7]。lncRNA人类白细胞抗原复合体18(lncRNA HCG18)是一种免疫相关基因，在间变性胶质瘤中呈高表达并可作为预后标志物^[8]，但其在卵巢癌中的作用报道较少。微小RNA(microRNA, miRNA)可通过与下游靶基因3'-UTR靶向结合而抑制靶基因的表达，参与调控生物功能。异常表达的miRNA与肿瘤的发生、转移和耐药等过程密切相关，有望用于肿瘤的诊断、治疗及预后评估^[9-10]。研究显示，miR-449在卵巢癌中表达下调，并能阻滞卵巢癌的细胞周期^[11-12]。我们通过数据库预测发现，HCG18与miR-449存在靶向关系，因此，本研究旨在观察HCG18与miR-449在卵巢癌化疗耐药中的作用并探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 材料 人正常卵巢上皮细胞株NOEC、人卵巢癌细胞株SKOV3购自中国微生物菌种资源库，对顺铂(DDP)耐药的人卵巢癌细胞株SKOV3/DDP为本实验室前期建立。RPMI 1640培养基、胎牛血清(FBS)购自浙江天杭生物科技公司；脂质体LipofetamineTM 2000购自美国Invitrogen公司；MTT试剂盒购自北京康为世纪公司；Trizol试剂盒购自美国Sigma公司；RNA提取试剂盒购自德国QIAGEN公司；反转录酶和Taq酶购自美国Promega公司；Annexin V-FITC /PI双染细胞凋亡检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司；重组载体质粒HCG18小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)、NC siRNA、mimic NC、miR-449 mimic及miR-449 inhibitor均购自上海吉凯基因化学技术有限公司；兔抗Wnt1多克隆抗体(27935-1-AP)、小鼠抗β-actin

单克隆抗体(T0022)、辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔IgG(S0001)均购自Proteintech公司；HRP标记的兔抗小鼠IgG(ab6728)购自Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染 NOEC、SKOV3和SKOV3/DDP细胞分别常规培养于RPMI 1640培养基，内含10% FBS、100 U/ml青霉素及100 U/ml链霉素，置于湿度95%、5% CO₂及37 °C培养箱中恒温培养。每隔3 d以0.25%胰蛋白酶消化细胞并传代1次。实验采用活力良好的对数生长期细胞。转染前1 d分别将SKOV3和SKOV3/DDP细胞用胰蛋白酶消化成单细胞悬液，接种于6孔板中，密度为3 × 10⁵个/孔，加入不含抗生素、含体积分数10% FBS的RPMI 1640培养基培养过夜，待细胞生长至40%融合时，将特异性沉默lncRNA HCG18基因的重组载体质粒HCG18 siRNA和阴性对照NC siRNA分别转染至SKOV3和SKOV3/DDP细胞。采用同样的方法将mimic NC、miR-449 mimic或miR-449 inhibitor转染进细胞。

1.2.2 RT-PCR检测细胞中HCG18、Wnt1、miR-449、β-actin、U6的表达水平 以Trizol试剂盒提取细胞中总RNA。为检测miR-449的表达水平，采用特异性反转录引物5'-CTCAACTGGTGTCTGGAGTCGGCAATTCAGTTGAGACCAGCTA-3'进行反转录合成cDNA。为检测HCG18、Wnt1、β-actin、U6 snRNA的表达水平，采用Oligo dT Primer反转录合成cDNA。以反转录合成的cDNA为模板，采用RT-PCR试剂盒SYBR@ Premix Ex TaqTM进行PCR扩增，反应总体积25 μl；反应条件为：95 °C 10 min预变性；95 °C 15 s变性，56 °C 30 s退火，72 °C 45 s延伸，进行40个循环。引物均由上海生工生物公司合成(表1)。每个样本检测均重复3次，采用2^{-ΔΔCt}法计算目的基因mRNA的相对表达量。

1.2.3 MTT法检测细胞活性 将转染后的各组SKOV3及SKOV3/DDP细胞分别以1 × 10⁵个/孔接种于96孔板，每孔终体积为200 μl。待细胞贴壁后，每孔加入12.5 μg/ml顺铂，各组细胞均设置3个复孔；48 h后，每孔加入10 μl MTT溶液(5 mg/ml)，于37 °C避光孵育4 h；每孔继续加入10 μl二甲基亚

表1 RT-PCR引物序列

Tab. 1 Primer sequences for RT-PCR

基因	引物序列
HCG18	正义: 5'-ATCCTGCCAATAGATGCTGCTCAC-3'
	反义: 5'-AGCCACCTTGGTCTCCAGTCTC-3'
miR-449	正义: 5'-ACACTCCAGCTGGGTGGCAGTGTATTGTA-3'
	反义: 5'-TGGTGTCTGGAGTCG-3'
Wnt1	正义: 5'-CCCTAACCGGTGCGCCCTGGTGCC-3'
	反义: 5'-AGCGCCAGAGCCCCATGGCCTGC-3'
β -actin	正义: 5'-GCGAGAAGATGACCCAGGTGAGTGG-3'
	反义: 5'-GAAAGTGCAAAGAACACGGCTAATT-3'
U6 snRNA	正义: 5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3'
	反义: 5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'

砒(DMSO), 避光震荡10 min。应用酶标仪于570 nm波长下读取吸光度值(A值)。细胞活性(%)=实验组A值/对照组A值 \times 100%。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡情况及细胞周期

(1)检测细胞凋亡: 将转染后的各组SKOV3和SKOV3/DDP细胞分别以 4×10^5 个/孔接种于6孔板, 待细胞贴壁后, 分别加入终浓度为12.5 μ g/ml的顺铂; 药物处理48 h后, 收集并重悬细胞, 按照Annexin V-FITC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒说明加入Annexin V-FITC和PI, 避光孵育后于流式细胞仪中进行双色荧光细胞流式计数, 计算凋亡细胞百分比。(2)检测细胞周期: 将转染后的各组细胞分别以 4×10^5 个/孔接种于6孔板, 待细胞贴壁后, 分别以12.5 μ g/ml顺铂处理48 h; 收集细胞, 按照细胞周期检测试剂盒说明处理待测细胞, 采用流式细胞仪检测细胞周期的变化并分析结果。

1.2.5 荧光素酶报告基因实验 分别构建HCG18和Wnt1野生型质粒及突变型质粒(HCG18 3'-UTR wt/mut, Wnt1 3'-UTR wt/mut); 分别以mimic NC/miR-449 mimic与HCG18 3'-UTR wt/mut或Wnt1 3'-UTR wt/mut共转染SKOV3和SKOV3/DDP细胞。转染48 h后, 采用双荧光素酶报告基因检测试剂盒

检测荧光素酶活性。各组独立实验均重复3次。

1.2.6 Western blotting检测细胞中Wnt1蛋白的表达水平 收集细胞, 弃掉培养液后每孔加入1 ml RIPA裂解液, 充分混悬, 冰上裂解0.5 h, 离心, 取上清, 采用BCA试剂盒检测蛋白浓度。每孔上样20 μ g蛋白, 进行10% SDS-PAGE凝胶电泳, 结束后电转至PVDF膜上, 随后用5%脱脂奶粉室温封闭1 h。TBST清洗, 加入一抗Wnt1(1:1000)或 β -actin(1:10000), 4 $^{\circ}$ C过夜孵育。TBST清洗4次, 加入HRP标记的二抗(1:10000), 室温孵育2 h, 洗膜, 显影。用ImageJ软件进行灰度分析。以目的条带和 β -actin条带的灰度值比值作为蛋白相对表达量。实验重复3次。

1.3 统计学处理 采用SPSS 19.0软件进行统计分析。所有实验均重复进行3次, 符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用SNK-q检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA HCG18和miR-449在人卵巢癌细胞中的表达情况 RT-PCR检测结果显示, 与正常细胞NOEC比较, 卵巢癌SKOV3细胞中lncRNA HCG18相对表达水平明显增高($P < 0.05$, 图1A), 而miR-449相对表达水平明显降低($P < 0.05$, 图1B)。

2.2 HCG18 siRNA转染对顺铂处理的人卵巢癌细胞存活的抑制作用 经12.5 μ g/ml顺铂处理48 h后, 对HCG18 siRNA转染的SKOV3和SKOV3/DDP细胞进行RT-PCR检测显示, 与对照组比较, HCG18的表达水平均明显降低($P < 0.05$, 图2A); MTT法检测结果显示, 与对照组比较, SKOV3和SKOV3/DDP细胞活性均明显降低($P < 0.05$, 图2B)。

2.3 HCG18 siRNA转染对顺铂处理的人卵巢癌细胞凋亡的促进作用 经12.5 μ g/ml顺铂处理48 h后, 采用流式细胞术检测各组HCG18 siRNA转染后细胞

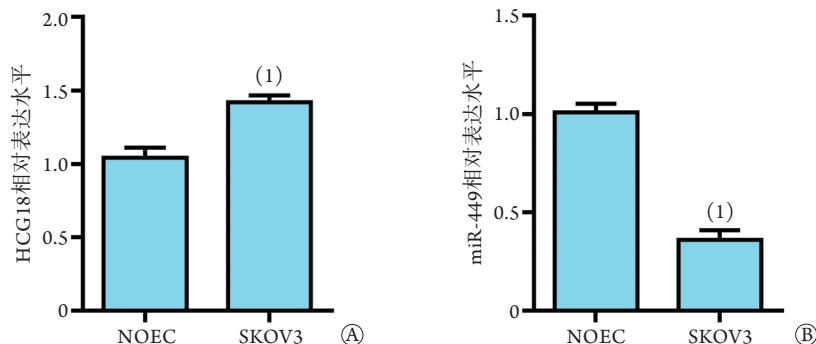


图1 正常人卵巢上皮细胞NOEC和卵巢癌细胞SKOV3中HCG18和miR-449的表达

Fig. 1 Expression of lncRNA HCG18 and miR-449 in normal epithelial ovarian cells (NOEC) and ovarian cancer SKOV3 cells 与NOEC比较, (1) $P < 0.05$

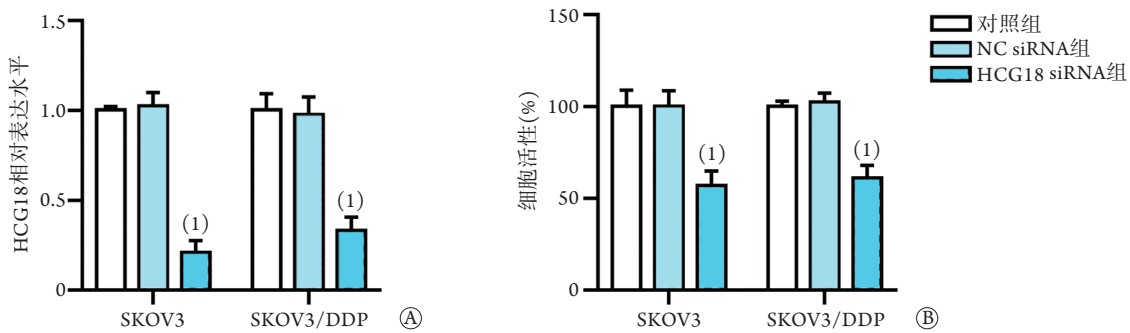


图2 HCG18 siRNA转染对人卵巢癌细胞活性的影响

Fig.2 Effects of HCG18 siRNA transfection on cell viability of human ovarian cancer cells

SKOV3. 人卵巢癌细胞; SKOV3/DDP. 对顺铂耐药的人卵巢癌细胞; A. HCG18 siRNA转染后的HCG18表达水平; B. HCG18 siRNA转染后的细胞活性; 与对照组比较, (1) $P < 0.05$

凋亡情况, 结果显示, 与对照组比较, SKOV3和SKOV3/DDP细胞凋亡率均明显增高($P < 0.05$, 图3)。

2.4 HCG18 siRNA转染对顺铂处理的人卵巢癌细胞G₂/M期阻滞的促进作用 经12.5 μg/ml 顺铂处理48 h后, 以流式细胞术检测HCG18 siRNA转染的各组细胞周期, 结果显示, 与对照组比较, SKOV3和SKOV3/DDP的G₂/M期细胞占比均明显增多(28.7% vs. 19.8%, 23.4% vs. 10.6%, $P < 0.05$, 图4)。

2.5 HCG18靶向miR-449对Wnt1表达的调节作用

Starbase2.0预测结果显示, HCG18上存在miR-449的潜在结合位点(图5A); 而TargetScan预测显示, Wnt1基因的3'-UTR也存在miR-449的潜在结合位点(图5B)。荧光素酶报告基因实验结果显示, miR-449 mimic与HCG18或Wnt1 3'-UTR的野生型质粒共转染后荧光强度均明显降低($P < 0.05$, 图5C-D)。RT-PCR结果显示, HCG18 siRNA转染后miR-449表达水平明显增高($P < 0.05$, 图5E); miR-449 mimic转

染后miR-449表达水平明显增高($P < 0.05$), miR-449 inhibitor转染后miR-449表达水平明显降低($P < 0.05$, 图5F)。RT-PCR和Western Blotting结果显示, HCG18 siRNA或miR-449 mimic单独转染均可显著下调Wnt1的mRNA和蛋白表达水平($P < 0.05$, 图5G)。

2.6 下调miR-449可逆转HCG18 siRNA对顺铂处理的卵巢癌细胞的影响 与HCG18 siRNA单独转染比较, miR-449 inhibitor与HCG18 siRNA同时转染后, 顺铂处理48 h后的SKOV3和SKOV3/DDP细胞中miR-449表达水平下降, 细胞活性增高, 细胞凋亡率下降, G₂/M期细胞占比增高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$, 图6)。

3 讨论

顺铂是目前治疗卵巢癌的一线化疗药物, 其主要作用机制为抑制DNA复制和转录, 阻滞细胞停滞于G₂期, 但其耐药性可影响治疗效果。这可能与抗

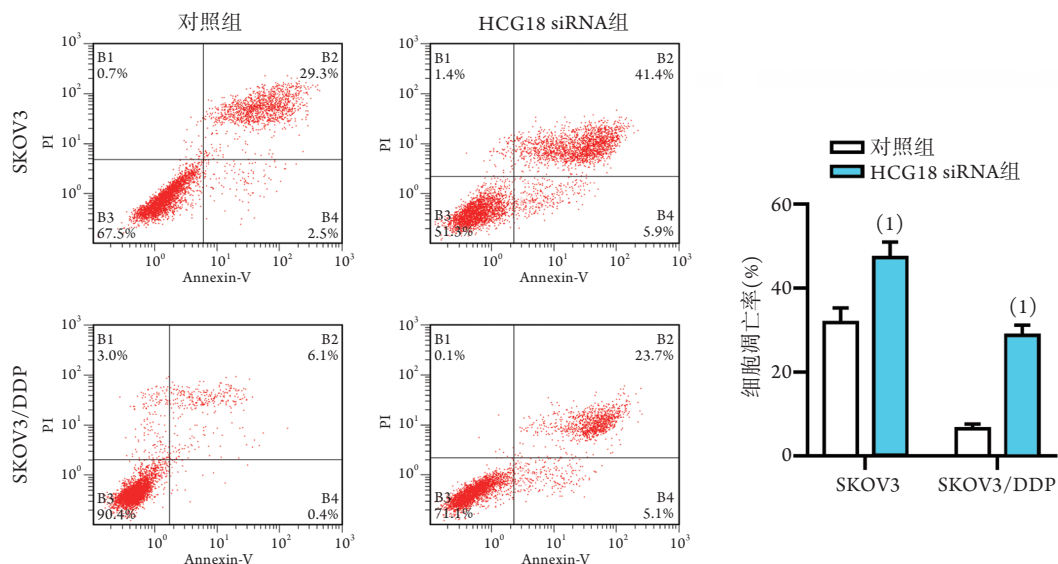


图3 HCG18 siRNA转染对人卵巢癌细胞凋亡的影响

Fig.3 Effects of HCG18 siRNA transfection on cell apoptosis of human ovarian cancer cells

SKOV3. 人卵巢癌细胞; SKOV3/DDP. 对顺铂耐药的人卵巢癌细胞; 与对照组比较, (1) $P < 0.05$

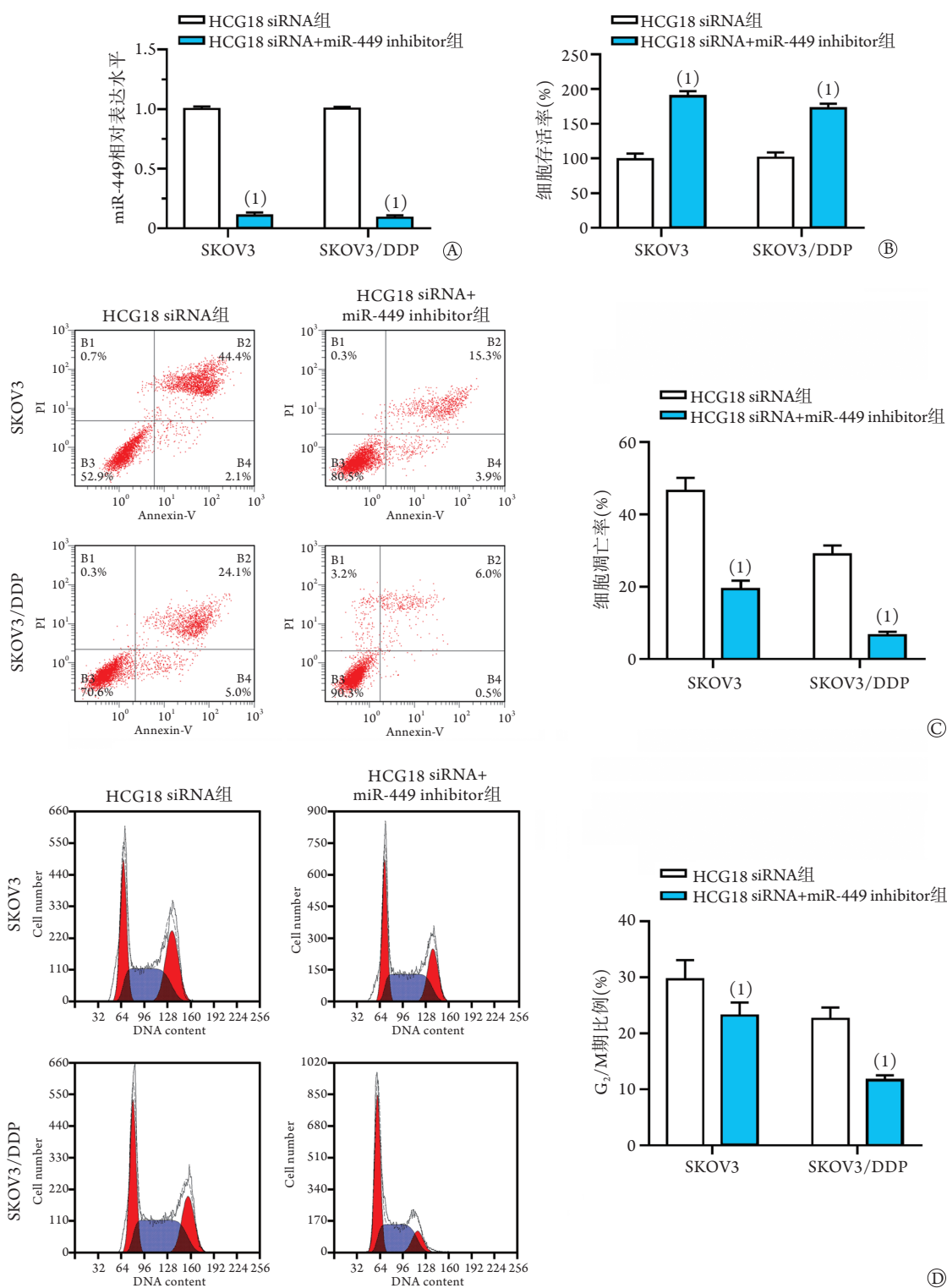


图6 miR-449 inhibitor转染可部分逆转HCG18 siRNA对卵巢癌细胞的影响

Fig.6 miR-449 inhibitor transfection reversed the effect of HCG18 siRNA on human ovarian cancer cells

SKOV3. 人卵巢癌细胞; SKOV3/DDP. 对顺铂耐药的人卵巢癌细胞; A. miR-449表达水平; B.细胞活性; C. 细胞凋亡率; D. G₂/M期细胞占比; 与HCG18 siRNA组比较, (1)*P*<0.05

肿瘤药物引起的细胞凋亡程序缺陷有关^[13]。越来越多的研究显示, lncRNA-miRNA轴与卵巢癌耐药性相关^[14-15]。有研究报道, lncRNA DANCR在卵巢癌中能够通过靶向调节miR-145促进肿瘤增长和血管

生成^[16]; 上调lncRNA ANRIL水平可以促进卵巢癌细胞的增殖、迁移和侵袭^[17]。然而, 许多异常表达的lncRNA在卵巢癌中的作用还不清楚^[18]。

lncRNA HCG18与多种疾病的病理过程相关,

例如,在腰椎间盘突出中参与炎症反应和细胞增生过程,而在胃癌、肝癌中高表达,并与患者的不良预后显著相关^[19-20]。另外,在结直肠癌中HCG18可通过靶向miR-1271增强MTDH/Wnt/ β -catenin信号通路的作用,从而促进结直肠癌的发生发展^[21];在胃癌细胞中敲除HCG18,胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭均受到抑制^[22]。

本研究结果显示, lncRNA HCG18在卵巢癌细胞中的表达水平明显高于正常卵巢上皮细胞;下调HCG18在卵巢癌细胞及其耐药细胞中的表达水平,可明显降低两组细胞顺铂处理后的细胞活性,并可促进细胞凋亡和G₂/M期阻滞。应用公共数据库Starbase2.0分析结果显示, HCG18下游靶向调控的miRNA中, miR-449在卵巢癌细胞中的表达水平降低; miR-449具有阻滞肿瘤细胞周期的作用。双荧光素酶报告基因实验结果显示, HCG18与miR-449存在靶向结合。以往研究显示, Wnt/ β -catenin信号通路在细胞增殖和肿瘤发生过程中发挥重要作用,提示HCG18可能通过miR-449调控Wnt1,也提示miR-449与HCG18和Wnt1之间可能均存在靶向调控关系。有研究显示, miR-449可通过靶向调节Wnt/ β -catenin通路抑制甲状腺乳头状癌细胞的增殖^[23]。本研究经TargetScan网站预测miR-449可以靶向调节Wnt1,随后通过双荧光素酶报告基因实验、RT-PCR及Western blotting检测发现, miR-449可靶向抑制Wnt1的表达。由此推测, HCG18可能通过调控miR-449/Wnt1轴调节卵巢癌细胞的耐药性。为了验证这一推测,将miR-449 inhibitor转染入HCG18敲除的卵巢癌耐药细胞内,结果显示, miR-449 inhibitor可逆转HCG18敲除对顺铂处理后卵巢癌细胞活性、细胞凋亡和细胞周期的影响,降低卵巢癌细胞对顺铂的敏感性。

综上所述,本研究结果显示,下调HCG18可通过miR-449/Wnt1信号通路抑制卵巢癌细胞顺铂处理后的细胞活性并促进其凋亡,诱导细胞周期G₂/M期阻滞,进而提高卵巢癌细胞对顺铂的敏感性。

【参考文献】

- [1] Webb PM, Jordan SJ. Epidemiology of epithelial ovarian cancer[J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2017, 41: 3-14.
- [2] Holmes D. Ovarian cancer: beyond resistance[J]. Nature, 2015, 527(7579): S217.
- [3] Ren FF, Zhao TQ. Effect of proteasome inhibitor Oprozomib on ovarian cancer cells to cis-platinum[J]. Med J Chin PLA, 2020, 45(4): 405-410. [任方芳, 赵太强. 蛋白酶体抑制剂Oprozomib对顺铂耐药卵巢癌细胞的作用及机制研究[J]. 解放军医学杂志, 2020, 45(4): 405-410.]
- [4] Norouzi-Barough L, Sarookhani MR, Sharifi M, et al. Molecular mechanisms of drug resistance in ovarian cancer[J]. J Cell Physiol, 2018, 233(6): 4546-4562.
- [5] Ren YJ, Zhang H, Zhou Y. Inhibitory effects of centromere protein U knockdown on self-renewal, cisplatin resistance and Wnt/ β -catenin signaling activity in cisplatin resistant ovarian cancer cells[J]. J Jilin Univ (Med Ed), 2021, 47(3): 608-614. [任英俊, 张慧, 周颖. 敲低着丝粒蛋白U对顺铂耐药卵巢癌细胞自我更新、顺铂耐药和Wnt/ β -catenin信号活性的抑制作用[J]. 吉林大学学报(医学版), 2021, 47(3): 608-614.]
- [6] Tang GJ, Tian Y, Wang JT, et al. Advances in long non-coding RNA in chemotherapeutic resistance of hepatocellular carcinoma[J]. Med J Chin PLA, 2020, 45(5): 547-553. [唐贵菊, 田塬, 王继婷, 等. 长链非编码RNA在肝癌化疗耐药中的研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2020, 45(5): 547-553.]
- [7] Wang SY, Wang Y. Research progress of the action mechanism of lncRNA UCA1 and miRNAs in digestive system tumors[J]. Med J Chin PLA, 2021, 46(12): 1232-1238. [王思宇, 王宇. lncRNA UCA1和miRNAs在消化系统肿瘤中的作用机制研究进展[J]. 解放军医学杂志, 2021, 46(12): 1232-1238.]
- [8] Wang W, Zhao Z, Yang F, et al. An immune-related lncRNA signature for patients with anaplastic gliomas[J]. J Neurooncol, 2018, 136(2): 263-271.
- [9] Lu DX, Gao YX, Yu LF, et al. Effect of microRNA hsa-mir-301b on proliferation of breast cancer cells[J]. Chin J Pract Intern Med, 2021, 41(2): 141-145. [卢达新, 高艳霞, 于丽凤, 等. 微小RNA hsa-mir-301b对乳腺癌细胞增殖能力的影响研究[J]. 中国实用内科杂志, 2021, 41(2): 141-145.]
- [10] Khan S, Ayub H, Khan T, et al. MicroRNA biogenesis, gene silencing mechanisms and role in breast, ovarian and prostate cancer[J]. Biochimie, 2019, 167: 12-24.
- [11] Wang QY, Li XX, Zhu JY. Expression and clinical significance of miR-449a and PLAGL2 in ovarian cancer[J]. J Med Res, 2019, 48(3): 105-110. [王秋宇, 李晓翔, 朱军义. MiR-449a和PLAGL2在卵巢癌中的表达关系及临床意义[J]. 医学研究杂志, 2019, 48(3): 105-110.]
- [12] Jang SG, Yoo CW, Park SY, et al. Low expression of miR-449 in gynecologic clear cell carcinoma[J]. Int J Gynecol Cancer, 2014, 24(9): 1558-1563.
- [13] Lund RJ, Huhtinen K, Salmi J, et al. DNA methylation and transcriptome changes associated with cisplatin resistance in ovarian cancer[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 1469.
- [14] Wang H, Fang L, Jiang J, et al. The cisplatin-induced lncRNA PANDAR dictates the chemoresistance of ovarian cancer via regulating SFRS2-mediated p53 phosphorylation[J]. Cell Death Dis, 2018, 9(11): 1103.
- [15] Zhou Y, Zheng X, Xu B, et al. The identification and analysis of mRNA-lncRNA-miRNA cliques from the integrative network of ovarian cancer[J]. Front Genet, 2019, 10: 751.
- [16] Lin X, Yang F, Qi X, et al. lncRNA DANCR promotes tumor growth and angiogenesis in ovarian cancer through direct targeting of miR-145[J]. Mol Carcinog, 2019, 58(12): 2286-2296.
- [17] Qiu JJ, Lin YY, Ding JX, et al. Long non-coding RNA ANRIL predicts poor prognosis and promotes invasion/metastasis in serous ovarian cancer[J]. Int J Oncol, 2015, 46(6): 2497-2505.
- [18] Mitra R, Chen X, Greenawalt EJ, et al. Decoding critical long non-coding RNA in ovarian cancer epithelial-to-mesenchymal transition[J]. Nat Commun, 2017, 8(1): 1604.
- [19] Ma P, Li L, Liu F, et al. HNF1A-induced lncRNA HCG18

- facilitates gastric cancer progression by upregulating DNAJB12 via miR-152-3p[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 7641-7652.
- [20] Zou Y, Sun Z, Sun S. LncRNA HCG18 contributes to the progression of hepatocellular carcinoma via miR-214-3p/CENPM axis[J]. *J Biochem*, 2020, 168(5): 535-546.
- [21] Li S, Wu T, Zhang D, *et al.* The long non-coding RNA HCG18 promotes the growth and invasion of colorectal cancer cells through sponging miR-1271 and upregulating MTDH/Wnt/beta-catenin[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2020, 47(4): 703-712.
- [22] Ma F, An K, Li Y. Silencing of long non-coding RNA-HCG18 inhibits the tumorigenesis of gastric cancer through blocking PI3K/Akt pathway[J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 2225-2234.
- [23] Li Z, Huang X, Xu J, *et al.* miR-449 overexpression inhibits papillary thyroid carcinoma cell growth by targeting RET kinase-beta-catenin signaling pathway[J]. *Int J Oncol*, 2016, 49(4): 1629-1637.

(责任编辑: 张小利, 蒋铭敏)