



doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.012
http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.012
Chinese Journal of General Surgery, 2016, 25(11):1590–1595.

· 基础研究 ·

LncRNA SNHG15 在甲状腺癌细胞中的表达及作用

帅勇锋¹, 占大钱², 王小军¹, 张一中¹

(1. 宁波大学医学院附属医院 胃肠外科, 浙江 宁波 315000; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院 重症医学科, 湖北 武汉 430000)

摘要

目的: 探讨 LncRNA SNHG15 在甲状腺癌细胞中的表达及作用。

方法: qRT-PCR 检测人未分化甲状腺癌 FRO 细胞、人甲状腺鳞癌 SW579 细胞、人甲状腺导管癌 TT 细胞及正常甲状腺 HT-ori3 细胞中 LncRNA SNHG15 表达水平; 将 FRO 细胞分别转染 SNHG15 siRNA 及阴性对照 siRNA 后, CCK8 实验和克隆形成实验检测细胞增殖, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western Blot 检测凋亡相关蛋白的表达。

结果: LncRNA SNHG15 在 FRO 细胞、SW579 细胞和 TT 细胞中的表达量均明显高于正常甲状腺 HT-ori3 细胞, 且在 FRO 细胞中表达量最高 (均 $P < 0.05$); 与转染阴性对照 siRNA 的 FRO 细胞比较, 转染 SNHG15 siRNA 的 FRO 细胞增殖能力与克隆形成率均明显降低、细胞凋亡率明显增高、caspase-3 与 Bax 蛋白表达量明显上调, 而 Bcl-2 蛋白表达量明显下调 (均 $P < 0.05$)。

结论: LncRNA SNHG15 在甲状腺癌细胞中表达升高, 且细胞分化程度越低表达越高, 沉默 LncRNA SNHG15 表达可抑制抑制甲状腺癌细胞增殖并促进凋亡。

关键词

甲状腺肿瘤; RNA, 长链非编码; 细胞增殖; 细胞凋亡
中图分类号: R736.1

Expression and action of LncRNA SNHG15 in thyroid cancer cells

SHUAI Yongfeng¹, ZHAN Daqian², WANG Xiaojun¹, ZHANG Yizhong¹

(1. Department of Gastrointestinal Surgery, the Affiliated Hospital, School of Medicine, Ningbo University, Ningbo, Zhejiang 315000, China; 2. Intensive Care Unit, Affiliated Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430000, China)

Abstract

Objective: To investigate the expression and action of LncRNA SNHG15 in thyroid cancer cells.

Methods: The LncRNA SNHG15 expressions in human undifferentiated thyroid carcinoma FRO cells, thyroid squamous cell carcinoma SW579 cells and human thyroid ductal carcinoma TT cells as well as normal thyroid HT-ori3 cells were determined by qRT-PCR. In FRO cells after transfection with SNHG15 siRNA or negative control siRNA sequences, the cell proliferation was tested by CCK8 assay and colony-forming assay, the cell apoptosis was measured by flow cytometry, and the expression levels of apoptosis-related protein were analyzed by Western blot, respectively.

Results: The expression levels of LncRNA SNHG15 in FRO, SW579 and TT cells were all significantly higher than that in HT-ori3 cells, with the highest level in PRO cells (all $P < 0.05$). In FRO cells transfected with SNHG15 siRNA compared with those transfected with negative control sequences, the proliferative and colony-forming

收稿日期: 2016-09-04; 修订日期: 2016-10-16。

作者简介: 帅勇锋, 宁波大学医学院附属医院主治医师, 主要从事普外科常见疾病临床与基础方面的研究。

通信作者: 张一中, Email: shuaiyongfeng888@126.com

abilities were significantly decreased, apoptosis rate was significantly increased, and the protein expressions of caspase-3 and Bax were up-regulated, while Bcl-2 protein expression was down-regulated significantly (all $P < 0.05$).

Conclusion: LncRNA SNHG15 expression is increased in thyroid cancer cells, and moreover, the poorer the differentiation of the cells, the higher is the expression of LncRNA SNHG15. LncRNA SNHG15 silencing can inhibit proliferation and promote apoptosis of thyroid cancer cells.

Key words Thyroid Neoplasms; RNA, Long Noncoding; Cell Proliferation; Apoptosis

CLC number: R736.1

甲状腺癌是世界范围内最常见的内分泌肿瘤之一, 得益于早期防癌筛查, 在过去的30年中, 甲状腺癌的发病率至少增加了300%^[1]。据2012年国际肿瘤研究机构 (International Agency for Research on Cancer, IARC) 数据表明, 在发达国家, 男性发病率为3.6/10万, 病死率为0.3/10万; 女性发病率为11.1/10万, 病死率为0.4/10万^[2]。甲状腺癌可分为分化型和未分化型, 分化型甲状腺癌5年生存率可达98%, 然而, 未分化型甲状腺癌预后较差, 5年生存率不足10%^[3], 深入研究未分化型甲状腺癌的发病机制, 对提高甲状腺癌的诊治水平具有重要的意义。

长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一类长度为200个核酸的保守非编码RNA^[4], 其广泛参与组织分化、细胞增殖、胚胎发育等过程^[5]。LncRNA SNHG15基因定位于7p13染色体上^[6], 在肝癌^[7]、胃癌^[6]等肿瘤中参与调节增殖、凋亡及肿瘤发生发展等过程。然而, LncRNA SNHG15在未分化甲状腺癌中所起的作用尚未见报道, 本研究于2015年1月至2016年6月间, 研究LncRNA SNHG15对未分化甲状腺癌细胞系增殖和凋亡的影响及其可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人未分化甲状腺癌细胞FRO、人甲状腺鳞癌细胞SW579、人甲状腺导管癌细胞TT及正常甲状腺细胞HT-ori3均购自武汉大学医学院实验中心; RPMI-1640培养基、胎牛血清均购自美国Hyclone公司; Western blot所用一抗购自美国BD公司; HRP标记的二抗购自武汉博士德生物科技有限公司; TRIzol试剂购自美国Invitrogen公司; SNHG15

siRNA和对照siRNA序列由上海吉玛生物技术合成。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养、转染及分组 细胞系均采用RPMI-1640培养基 (添加10%胎牛血清), 在37 °C、5% CO₂条件下进行培养。待细胞长至对数期后, FRO细胞以 3×10^5 个细胞/孔接种入6孔板并在37 °C保温过夜, 将FRO细胞系分成两组, 即SNHG15基因沉默组及对照组, 采用Lipofetamine 2000分别转染SNHG15的siRNA及阴性对照siRNA序列, 转染的siRNA浓度为300 nmol/孔; 转染后24 h行CCK8实验, 48 h后行克隆形成实验和流式细胞术。

1.2.2 RNA提取及qRT-PCR 总RNA由提取试剂TRIzol从细胞系中提取, 使用的NanoDrop1000分光光度计 (美国Thermo Scientific公司) 测定RNA浓度。qRT-PCR使用SYBR预混料EX Taq™ (Takara公司, 大连, 中国), 在7900HT荧光定量PCR系统 (美国Applied Biosystems) 进行。通过比较阈值分析循环数 (Ct) 法进行数据分析。引物序列如下: SNHG15正向引物: 5'-ACT GTC ACA GCA ACT CCT TT-3' 反向引物 5'-ACT GCT TGA ACA TGA GAC T-3'。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法定量, 以GAPDH作为内参, 计算SNHG15的相对表达量。

1.2.3 细胞增殖实验 采用CCK8法测定, 按试剂说明书进行, 将生长至对数期的细胞系FRO, 消化传代后, 分别将SNHG15基因沉默组及对照组按 2×10^3 个/孔细胞数量接种到96孔板, 每孔培养基体积100 μL, 在分别培养24 h后, 每孔加入10 μL CCK8溶液, 继续培养1 h后, 在450 nm波长下, 用酶标仪测定各孔吸光值, 实验重复3次, 取平均值, 以时间为横坐标, 吸光值为纵坐标绘制增殖曲线。

1.2.4 平板克隆形成实验 将SNHG15基因沉默组

及对对照组细胞消化成单细胞悬液,并按300个/孔接种至6孔板,常规培养10~14 d,当出现肉眼可见的细胞集落时终止培养,用PBS清洗3遍后,甲醇固定15 min, PBS清洗3遍后,加入0.1%结晶紫溶液室温染色30 min,蒸馏水缓慢冲洗后晾干,以大于50个细胞为一个形成克隆数,克隆形成率=形成克隆数/接种细胞数,实验重复3次,取平均值。

1.2.5 流式细胞术 取SNHG15基因沉默组及对照组细胞消化成单细胞悬液,调整细胞浓度为 5×10^5 个/mL,取1 mL细胞,4 °C、1 000 r/min离心10 min,弃上清,加入1 mL冷的PBS,轻微震荡,4 °C、1 000 r/min离心10 min,弃上清,将细胞重悬于200 μ L结合缓冲液,加入10 μ L Annexin V-FITC和5 μ L PI,轻轻混匀,避光室温反应15 min,1 h内上流式细胞仪检测。实验重复3次,取平均值,计算凋亡率。

1.2.6 Western blot 加入裂解液提取两组细胞总蛋白,以每孔30 μ g总蛋白上样,浓缩胶80 V电泳40 min,分离胶100 V电泳2 h。常规湿法转膜,5%脱脂奶粉封闭2 h。加入caspase-3、Bax-2、Bcl-2、GAPDH一抗(1:200),二抗羊抗兔1:1 000,孵育2 h,加入ECL液,凝胶成像系统曝光,用Quantity One 1-D分析软件对蛋白质印迹条带进行定量。目标蛋白的相对表达量=目的蛋白测定值/GAPDH测定值。

1.3 统计学处理

采用Graphpad 6.0统计作图软件,计量资料用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组均数采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LncRNA SNHG15在甲状腺癌细胞系FRO中高表达

qRT-PCR结果显示,LncRNA SNHG15在甲状腺癌细胞系FRO、SW579和TT中的表达量均明显高于正常甲状腺细胞HT-ori3,分别为:(4.97 ± 0.44) vs. (1.00 ± 0.00)、(3.85 ± 0.12) vs. (1.00 ± 0.00)、(3.71 ± 0.22) vs. (1.00 ± 0.00),差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$) (图1)。

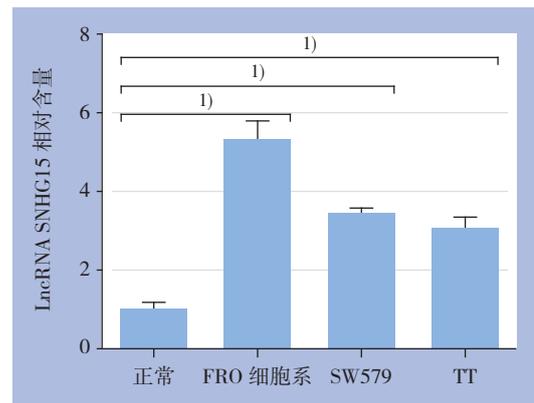


图1 qRT-PCR检测LncRNA SNHG15的表达 1) $P < 0.01$
Figure 1 LncRNA SNHG15 expressions detected by qRT-PCR
1) $P < 0.01$

2.2 LncRNA SNHG15沉默抑制甲状腺癌细胞系FRO增殖

RT-PCR结果显示,基因沉默组的SNHG15 mRNA表达量明显低于对照组[(0.22 ± 0.02) vs. (1.00 ± 0.00), $P < 0.001$]; CCK8法测定两组细胞增殖,转染后0、12、24、48、72 h后,SNHG15基因沉默组与对照组的OD 450 nm值分别为:(0.33 ± 0.03) vs. (0.35 ± 0.04), $P > 0.05$ 、(0.43 ± 0.04) vs. (0.68 ± 0.07), $P < 0.05$ 、(0.72 ± 0.06) vs. (1.52 ± 0.18), $P < 0.05$ 、(1.23 ± 0.11) vs. (2.13 ± 0.19), $P < 0.01$ 、(1.92 ± 0.15) vs. (3.78 ± 0.32), $P < 0.01$];克隆形成实验示,SNHG15基因沉默组的克隆形成率明显低于对照组[(20.42 ± 1.76)% vs. (43.72 ± 4.13)%, $P < 0.01$] (图2)。

2.3 LncRNA SNHG15沉默诱导甲状腺癌细胞系FRO凋亡

流式细胞术检测结果发现,SNHG15基因沉默组凋亡率明显高于对照组[(38.2 ± 4.7)% vs. (3.1 ± 0.6)%, $P < 0.01$] (图3)。

2.4 凋亡相关基因的表达

Western blot结果显示,SNHG15基因沉默组的裂解型caspase-3蛋白水平明显高于对照组[(4.4 ± 0.3) vs. (1.0 ± 0.0), $P < 0.01$], Bax蛋白表达量明显高于对照组[(3.6 ± 0.0) vs. (1.0 ± 0.0), $P < 0.05$], Bcl-2蛋白表达量明显低于对照组[(0.4 ± 0.0) vs. (1.0 ± 0.0), $P < 0.05$] (图4)。

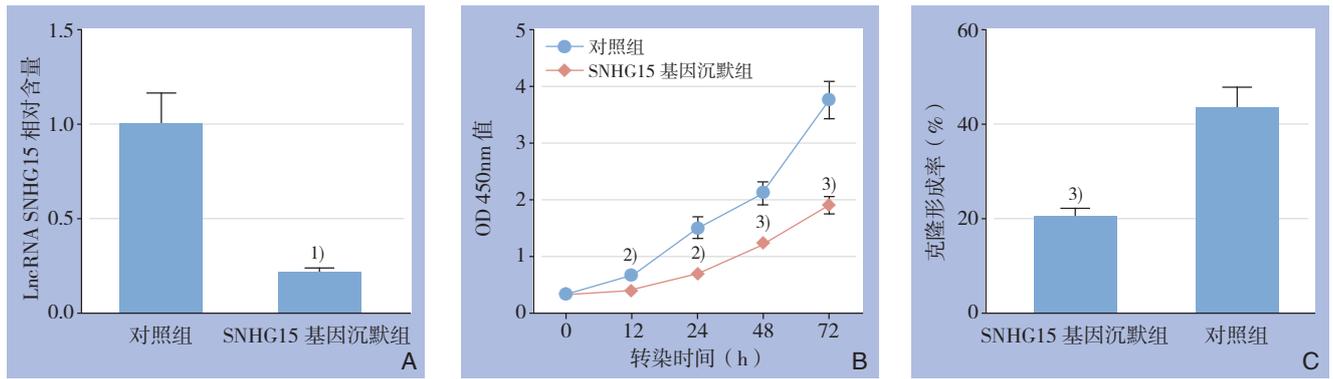


图 2 LncRNA SNHG15 沉默抑制对 FRO 细胞的影响 A: LncRNA SNHG15 相对表达量; B: 增殖曲线; C: 克隆形成率
1) $P < 0.001$; 2) $P < 0.05$; 3) $P < 0.01$

Figure 2 Effects of LncRNA SNHG15 silencing on FRO cells A: LncRNA SNHG15 relative expression levels; B: Proliferation curves; C: Colony formation rates 1) $P < 0.001$; 2) $P < 0.05$; 3) $P < 0.01$

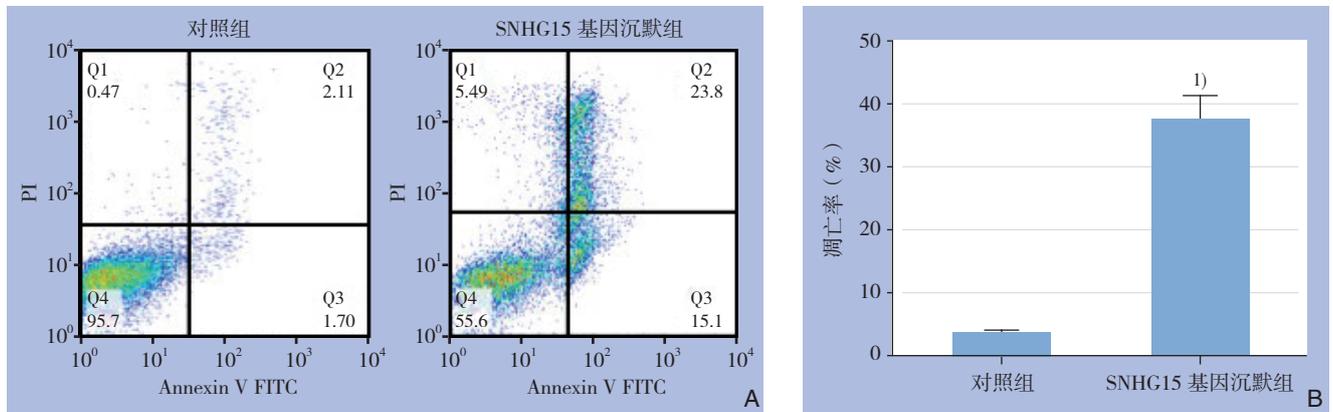


图 3 细胞凋亡检测 A: 细胞凋亡流式图; B: 凋亡率比较 1) $P < 0.01$

Figure 3 Apoptosis assay A: Representative images and flow cytometry results; B: Comparison of apoptosis rates 1) $P < 0.01$

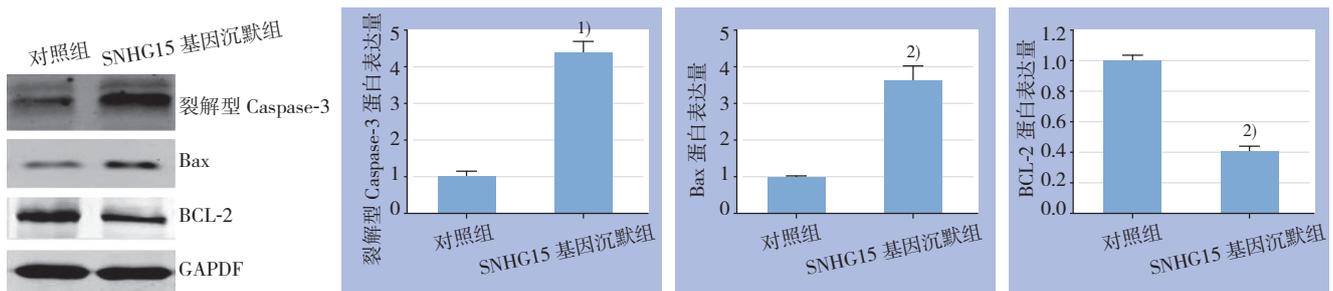


图 4 Western blot 检测凋亡相关蛋白 1) $P < 0.01$; 2) $P < 0.05$

Figure 4 Western blot analysis for apoptosis-related proteins 1) $P < 0.01$; 2) $P < 0.05$

3 讨论

甲状腺癌是常见的内分泌器官肿瘤，其起源于甲状腺滤泡细胞或滤泡旁细胞，依据病理类型可分为乳头状腺癌、滤泡状癌、髓样癌及未分化癌^[8]。未分化癌在所有甲状腺癌中占1.7%，但是其死亡率最高的甲状腺癌，平均生存时间仅

5个月，1年生存率仅20%^[9]。现代肿瘤学认为，肿瘤的发生涉及到一系列的关键分子及信号通路突变，比如肿瘤干细胞、miRNA、LncRNA及肿瘤微环境^[10-11]等。

LncRNA是近年来肿瘤研究的热点，其长度约200个核酸，为非编码蛋白的RNA，其可通过调节下游的miRNA而参与调控细胞增殖、凋亡、肿瘤

形成等肿瘤生物学过程^[6-7, 12-15]。Tuo^[16]等报道长链非编码RNA UCA1在乳腺癌中上调表达,是个癌基因, UCA1可通过下调miR-143调控乳腺癌细胞增殖和凋亡。在肺癌中, lncRNA GAS5 在癌组织中低表达, 并且与肿瘤分期和大小相关, 过表达GAS5引起肿瘤增长停滞并诱导凋亡, 而敲低GAS5表达可促进肿瘤生长, 其通过P53、E2F1信号通路调控增殖和凋亡过程^[17]。lncRNA PVT1在肝癌组织中表达量高于癌旁组织, PVT1高表达与AFP及高复发率相关, PVT1是肝癌复发的一个独立危险因素^[18]。lncRNA SNHG15在肝癌组织中表达量显著高于癌旁组织, SNHG15的表达与组织分级、TNM分期、血管侵犯相关, SNHG15高表达与肝癌患者预后差相关, 且SNHG15是影响肝癌预后的一个独立危险因素^[7]。在胃癌中, SNHG15高表达于胃癌组织, SNHG15高表达与肿瘤浸润的深度、TNM分期及淋巴结转移相关, 并且SNHG15是影响胃癌预后的独立危险因素, 在体外RNAi干扰敲低SNHG15表达可抑制胃癌细胞增殖和侵袭, 并诱导凋亡, 而转染SNHG15至胃癌细胞系, 上调其表达, 可通过调节MMP2和MMP9表达促进胃癌细胞增殖和侵袭^[6]。

本研究通过体外实验, 发现lncRNA SNHG15在甲状腺癌细胞系的表达量显著高于甲状腺正常细胞系HT-ori3, 将FRO细胞分为SNHG15基因沉默组及对照组, 分别转染SNHG15的siRNA及阴性对照siRNA序列, 发现SNHG15基因沉默组OD 450 nm值在12、24、48、72 h显著小于对照组; 克隆形成实验示, SNHG15基因沉默组的克隆形成率显著低于对照组, 提示SNHG15基因沉默可抑制甲状腺癌细胞增殖。这与Chen等^[6]在胃癌中的报道结果一致。细胞凋亡的检测方法包括电镜形态学观察、DNA凝胶电泳、酶联免疫吸附法、检测DNA裂点及流式细胞仪分析。准确度、灵敏度较高的是Annexin V/PI技术, 其通过Annexin V染色标记胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸检测凋亡细胞, 通过PI染色区分坏死和凋亡。本研究用Annexin V/PI技术行流式细胞术发现, SNHG15基因沉默组凋亡率显著高于对照组[(38.2 ± 4.7) % vs. (3.1 ± 0.6) %], 提示SNHG15基因沉默可诱导凋亡, 这与胃癌中的结果相似^[6]。

细胞凋亡主要包括两条途径, 外源性途径

和内源性途径^[19], 外源性途径由肿瘤坏死因子受体1、Fas/CD95、DR3和TRAIL-R1等死亡受体介导, 当配体和受体结合后, 进而激活caspase-3、caspase-8诱导凋亡^[20]; 内源性途径, 即线粒体途径, 各种凋亡刺激导致线粒体外膜通透性改变, 进一步激活caspase-3、caspase-8、caspase-9, 裂解多聚(ADP-核糖)聚合酶, 使DNA修复终止, 活化核酸内切酶, 并将DNA裂解为180~200 bp大小的片段, 同时破坏细胞骨架蛋白、细胞外基质蛋白、核蛋白等, 使细胞失去正常形态, 最终诱导细胞走向凋亡^[21-22]。BCL-2家族在线粒体外膜通透性改变中起着重要的作用, 其包括BCL-2亚家族和BAX亚家族, BCL-2亚家族包括BCL-2、BCL-xL、A1等分子^[23], 起抗凋亡作用; BAX亚家族起促凋亡的作用, 主要包括BAK和BAX^[24]。本研究进一步行蛋白印迹检测凋亡相关分子发现, SNHG15基因沉默组的裂解型caspase-3蛋白水平显著高于对照组, SNHG15基因沉默组Bax蛋白表达量显著高于对照组; SNHG15基因沉默组Bcl-2蛋白表达量显著低于对照组, SNHG15基因沉默诱导凋亡的原因可能与caspase-3及Bax蛋白上调, Bcl-2蛋白下调表达有关。

当然, 本研究尚存在一些不足, lncRNA SNHG15虽对甲状腺癌细胞起抑制增殖、促进凋亡的作用, 并与caspase-3及Bax蛋白上调, Bcl-2蛋白下调表达有关, 但是其具体作用的信号通路机制目前尚不清楚, 在动物实验上的结果如何, 值得进一步研究。

综上, 本研究首次在甲状腺癌细胞系中发现lncRNA SNHG15基因沉默可抑制甲状腺癌细胞增殖、诱导凋亡, 其机制可能与caspase-3及Bax蛋白上调, Bcl-2蛋白下调表达有关, 这加深了甲状腺癌发病机制的理解, 可能成为靶向治疗新的靶标。

参考文献

- [1] Davies L, Welch HG. Current thyroid cancer trends in the United States[J]. JAMA Otolaryngol Head Neck Surg, 2014, 140(4):317-322.
- [2] Torre LA, Bray F, Siegel RL, et al. Global cancer statistics, 2012[J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(2):87-108.
- [3] Nikiforova MN, Tseng GC, Steward D, et al. MicroRNA expression profiling of thyroid tumors: biological significance and diagnostic

- utility[J]. *J Clin Endocr Metab*, 2008, 93(5):1600-1608.
- [4] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3):155-159.
- [5] Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas[J]. *Mol Cancer*, 2011, 10: 38. doi:10.1186/1476-4598-10-38
- [6] Chen S, Yin J, Lin B, et al. Upregulated expression of long noncoding RNA SNHG15 promotes cell proliferation and invasion through regulates MMP2/MMP9 in patients with GC[J]. *Tumor Biol*, 2016, 37:6801. doi:10.1007/s13277-015-4404-0
- [7] Zhang JH, Wei HW, Yang HG. Long noncoding RNA SNHG15, a potential prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(9):1720-1724.
- [8] Vriens MR, Suh I, Moses W, et al. Clinical features and genetic predisposition to hereditary nonmedullary thyroid cancer[J]. *Thyroid*, 2009, 19(12): 1343-1349.
- [9] Smallridge RC, Copland JA. Anaplastic thyroid carcinoma: Pathogenesis and emerging therapies[J]. *Clin Oncol*, 2010, 22(6):486-497.
- [10] 周璐璐, 李灼日. microRNA let-7a 对胆管癌细胞凋亡和周期的影响[J]. *中国普通外科杂志*, 2013, 22(8):988-993.
- Zhou LL, Li ZR. Effect of let-7a microRNA on apoptosis and cell cycle of cholangiocarcinoma cells[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2013, 22(8):988-993.
- [11] 孙思楠, 李建生, 蒺卫东, 等. DHA 对人肝癌细胞增殖与凋亡的影响及其机制的研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2013, 22(1):43-48.
- Sun SN, Li JS, Jia WD, et al. Effects of DHA on cell proliferation and apoptosis of human hepatocellular carcinoma cells[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2013, 22(1):43-48.
- [12] Gupta RA, Shah N, Wang KC, et al. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis[J]. *Nature*, 2010, 464:1071-1076. doi:10.1038/nature08975
- [13] Kotake Y, Nakagawa T, Kitagawa K, et al. Long non-coding RNA ANRIL is required for the PRC2 recruitment to and silencing of p15(INK4B) tumor suppressor gene[J]. *Oncogene*, 2011, 30(16):1956-1962.
- [14] Fan Y, Shen B, Tan M, et al. TGF-beta-induced upregulation of malat1 promotes bladder cancer metastasis by associating with suz12[J]. *Clin Cancer Res*, 2014, 20(6):1531-1541.
- [15] Prensner JR, Chen W, Iyer MK, et al. PCAT-1, a long noncoding RNA, regulates BRCA2 and controls homologous recombination in cancer[J]. *Cancer Res*, 2014, 74(6):1651-1660.
- [16] Tuo YL, Li Xm, Luo J. Long noncoding RNA UCA1 modulates breast cancer cell growth and apoptosis through decreasing tumor suppressive miR-143[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2015, 19(18):3403-3411.
- [17] Shi X, Sun M, Liu H, et al. A critical role for the long non-coding RNA GAS5 in proliferation and apoptosis in non-small-cell lung cancer[J]. *Mol Carcinog*, 2015, 54(Suppl 1):E1-12.
- [18] Ding C, Yang Z, Lv Z, et al. Long noncoding RNA PVT1 is associated with tumor progression and predicts recurrence in hepatocellular carcinoma patients[J]. *Oncol Lett*, 2015, 9(2):955-963.
- [19] 钟明, 魏玲玲, 杨显富, 等. 外源性及内源性细胞凋亡机制研究进展[J]. *实用医院临床杂志*, 2014, 11(2):170-174.
- Zhong M, Wei LL, Yang XF, et al. Research progress in intrinsic and extrinsic mechanism of cell apoptosis[J]. *Practical Journal of Clinical Medicine*, 2014, 11(2):170-174.
- [20] Wang L, Yang JK, Kabaleeswaran V, et al. The Fas-FADD death domain complex structure reveals the basis of DISC assembly and disease mutations[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 17(11):1324-1329.
- [21] Tait S WG, Green DR. Mitochondrial regulation of cell death[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(9):pii: a008706. doi: 10.1101/cshperspect.a008706.
- [22] McIlwain DR, Berger T, Mak TW. Caspase functions in cell death and disease[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2013, 5(4):a008656. doi: 10.1101/cshperspect.a008656..
- [23] Raghav PK, Verma YK, Gangenahalli GU. Molecular dynamics simulations of the Bcl-2 protein to predict the structure of its unordered flexible loop domain[J]. *J Mol Model*, 2012, 18(5):1885-1906.
- [24] Czabotar PE, Westphal D, Dewson G, et al. Bax crystal structures reveal how BH3 domains activate Bax and nucleate its oligomerization to induce apoptosis[J]. *Cell*, 2013, 152(3):519-531.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式: 帅勇锋, 占大钱, 王小军, 等. LncRNA SNHG15 在甲状腺癌细胞中的表达及作用[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(11):1590-1595. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.012

Cite this article as: Shuai YF, Zhan DQ, Wang XJ, et al. Expression and action of LncRNA SNHG15 in thyroid cancer cells[J]. *Chin J Gen Surg*, 2016, 25(11):1590-1595. doi:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.012