



doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.005
http://dx.doi.org/10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.005
Chinese Journal of General Surgery, 2020, 29(5):549-555.

· 基础研究 ·

长链非编码 RNA RP1-85F18.6 在乳腺癌细胞中的表达及其对增殖和细胞周期的影响

程虎, 刘名奎

(武汉科技大学附属武昌医院 普通外科, 湖北 武汉 430063)

摘要

背景与目的: 近年来, 大量研究表明长链非编码 RNA (lncRNA) 在肿瘤发生、发展中起着重要作用。lncRNA RP1-85F18.6 是新近发现的非编码 RNA, 其在结肠癌组织和细胞系中高表达, 并可促进肿瘤细胞增殖和侵袭, 抑制凋亡及调控细胞周期。然而, 目前尚无 lncRNA RP1-85F18.6 在乳腺癌中的研究报道, 因此, 本研究初步探讨 lncRNA RP1-85F18.6 在乳腺癌细胞中的表达及其对增殖和细胞周期的影响。

方法: qRT-PCR 法检测 lncRNA RP1-85F18.6 在乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、MBA-MD-468、MCF-7 及正常乳腺上皮细胞系 MCF-10A 中的表达。将 MDA-MB-231 细胞分别转染 RP1-85F18.6 沉默序列 (沉默组) 与阴性对照序列 (阴性对照组), 将无处理的 MDA-MB-231 细胞作为空白对照组, 在各组细胞中采用 MTT 法测定增殖能力, PI 染色流式细胞仪检测法测定细胞周期, Western blot 法测定 Ki-67、增殖细胞核抗原 (PCNA)、cyclin A1 和 p21^{CIP1} 蛋白的表达。

结果: 乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、MBA-MD-468 及 MCF-7 中 lncRNA RP1-85F18.6 相对表达量均高于正常乳腺上皮细胞系 MCF-10A (均 $P < 0.05$)。沉默组在转染后 24、48、72、96 h 的 OD_{490 nm} 值均明显低于空白对照组 (均 $P < 0.05$)。与空白对照组比较, 沉默组的 G₁/G₀ 期细胞比例无明显变化 ($P > 0.05$), 但 S 期细胞比例明显升高、G₂/M 期细胞比例明显降低 (均 $P < 0.05$); 沉默组 Ki67、PCNA 及 cyclin A1 蛋白表达量明显下调, 而 p21^{CIP1} 蛋白表达量明显上调 (均 $P < 0.05$)。阴性对照组与空白对照组间以上指标差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。

结论: lncRNA RP1-85F18.6 在乳腺癌细胞系中高表达, 其可能通过调节增殖相关蛋白及细胞周期蛋白的表达而参与乳腺癌的发生与发展, 对 lncRNA RP1-85F18.6 及其相关靶基因的干预可能为乳腺癌的治疗提供新的途径。

关键词

乳腺肿瘤; RNA, 长链非编码; 细胞增殖; 细胞周期
中图分类号: R737.9

Expression of long non-coding RNA RP1-85F18.6 in breast cancer cells and its influence on proliferation and cell cycle control

CHENG Hu, LIU Mingkui

(Department of General Surgery, Wuchang Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430063, China)

收稿日期: 2019-10-31; 修订日期: 2020-04-19。

作者简介: 程虎, 武汉科技大学附属武昌医院主治医师, 主要从事甲乳外科和腹腔镜胃肠外科临床与基础方面的研究。

通信作者: 刘名奎, Email: alandoctor@sina.com

Abstract

Background and Aims: A great number of studies have demonstrated that long non-coding RNAs (lncRNAs) play important roles in the occurrence and development of cancers in recent years. lncRNA RP1-85F18.6 is a newly discovered non-coding RNA, which is overexpressed in colon cancer tissues and cells, and can promote the proliferation and invasion, inhibit the apoptosis and regulate the cell cycle of the cancer cells. However, there are no reports of studies about the lncRNA RP1-85F18.6 in breast cancer so far. So, this study was conducted to preliminarily investigate the expression of lncRNA RP1-85F18.6 in breast cancer cells and its effect on proliferation and cell cycle.

Methods: The expressions of lncRNA RP1-85F18.6 in breast cancer cell lines MDA-MB-231, MBA-MD-468, MCF-7 and normal mammary cell line MCF-10A were detected by qRT-PCR. MDA-MB-231 cells were transfected with RP1-85F18.6 silencing sequence (silencing group) and negative control sequence (negative control group), respectively, using the untreated MDA-MB-231 cells as blank control group. In the three groups of cells, the proliferation abilities were measured by MTT assay, the cell-cycle distributions were examined by PI staining flow cytometry, and protein expressions of Ki67, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), cyclin A1 and p21^{CIP1} were determined by Western blot analysis.

Results: The relative expression levels of lncRNA RP1-85F18.6 in MDA-MB-231, MBA-MD-468 and MCF-7 were all significantly higher than that in the normal mammary cell line MCF-10A (all $P < 0.05$). The OD_{490nm} values at 24, 48, 72 and 96 h after transfection in silencing group were all significantly lower than those in blank control group (all $P < 0.05$). In silencing group compared with blank control group, the proportion of G₁/G₀ phase cells showed no significant change ($P > 0.05$), but the proportion of S phase cells was significantly increased, and the proportion of G₂/M phase cells were significantly decreased (both $P < 0.05$); the expression levels of Ki67, PCNA and cyclin A1 proteins were significantly down-regulated, while the expression of p21^{CIP1} protein was significantly up-regulated (all $P < 0.05$). No statistical differences were noted in all above indexes between negative control group and blank control group (all $P > 0.05$).

Conclusion: lncRNA RP1-85F18.6 is highly expressed in breast cancer cells, which may participate the occurrence and development of breast cancer through regulating the expressions of proliferation-promoting and cell-cycle-controlling proteins. Intervention of lncRNA RP1-85F18.6 and its target genes may be a new therapeutic approach for the treatment of breast cancer.

Key words

Breast Neoplasms; RNA, Long Noncoding; Cell Proliferation; Cell Cycle

CLC number: R737.9

乳腺癌是全球范围内女性常见的恶性肿瘤^[1-2]。据2018年全球癌症数据统计显示,乳腺癌新发210万例,占全年所有新发肿瘤例数的11.6%,新发死亡例数63万,占全球肿瘤死亡例数的6.6%。乳腺癌占860万女性癌症新发病例的24.2%,420万女性癌症死亡病例的15.0%,均居首位^[3]。在我国,情况亦不容乐观,据最新统计数据2014年中国女性乳腺癌发病率为每10万例28.77,病死率为6.35每10万例,发病率居女性首位,病死率居第2位^[4]。随着手术、新辅助化疗及分子靶向治疗的进步,早期乳腺癌预后有了很大程度的改善^[5-6],但乳腺癌晚期预后仍不佳,深入研究乳腺癌的发病机制对提高乳腺癌的诊治水平具有重要意义。

长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度为200 nt的不具有编码功能的RNA分子^[7],广泛调控组织分化、细胞增殖、胚胎发育等过程^[8],参与调控多种肿瘤增殖、凋亡、侵袭及转移等过程^[9-10]。lncRNA RP1-85F18.6是个新发现的分子,基因定位于人类22号染色体上^[11]。在结直肠癌中首先报道,其在结肠癌组织和细胞系中高表达,并可促进肿瘤细胞增殖和侵袭,抑制凋亡及调控细胞周期^[12]。然而,目前尚无文献报道lncRNA RP1-85F18.6在乳腺癌细胞系中的表达及功能。本研究旨在研究lncRNA RP1-85F18.6在乳腺癌细胞系中的表达,及其对细胞增殖和细胞周期的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料

人正常乳腺上皮细胞系MCF-10A及乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MBA-MD-468、MCF-7均购自美国ATCC公司。检测所需的Ki-67、增殖细胞核抗原(Proliferating Cell Nuclear Antigen, PCNA)、细胞周期蛋白A1(cyclin A1)、p21^{CIP1}和GAPDH一抗及羊抗兔二抗购自美国Abcam公司。DMEM细胞培养基购自Gibco公司, Lipofectamine™ 3000 Transfection Reagent购自Thermo Fisher公司, RP1-85F18.6沉默序列(RP1-85F18.6-siRNA)与阴性对照序列均由上海吉玛生物科技公司合成。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养及转录 实验所需的细胞系均在37℃、5%CO₂条件下培养于无菌细胞培养箱中,所有细胞均使用含有10%FBS的D-MEM细胞培养基,每3天消化传代1次。RP1-85F18.6-siRNA与阴性对照序列均稀释至终浓度60 nmol/L用于转染,MDA-MB-231细胞系经培养后取对数期细胞分成3组,沉默组、阴性对照组及空白对照组,根据试剂盒说明书在37℃条件下使用Lipofectamine™3000(Thermo Fisher Scientific公司,美国)分别转染RP1-85F18.6-siRNA序列、阴性对照序列及空白对照。转染所用siRNA序列如下:RP1-85F18.6 siRNA, 5'-GAC TCC GCC GTG AAC CCT TCA-3', scramble siRNA (siN05815122147)为阴性对照siRNA序列。

1.2.2 qRT-PCR 使用RNeasy Mini Kit试剂盒(北京碧云天生物公司)提取各组细胞总miRNA,使用qRT-PCR仪检测各组样品表达量,以GAPDH为内参。PCR引物序列如下:lncRNA RP1-85F18.6正向:GGC TCT TTG CTC ACA TCG,逆向:AAG GAA ACC ACA GGC TCA; GAPDH正向:ACC ACA GTC CAT GCC ATC AC,逆向:TCC ACC ACC CTG TTG CTG TA。反应条件为95℃ 30 s、95℃ 5 s、60℃ 20 s共35循环,获取各组样品CT值,采用2^{-ΔΔCT}算法计算lncRNA RP1-85F18.6的相对表达量。

1.2.3 细胞增殖能力测定 使用MTT法测定沉默组、阴性对照组及空白对照组3组细胞增殖能力,使用96孔板培养细胞,细胞数目为2×10³个/孔,

0、24、48、72、96 h后分别加入10 μL MTT溶液,用DNM-9606酶标仪检测各组的OD_{490 nm},以OD_{490 nm}为纵坐标,转染时间为横坐标,绘制细胞增殖曲线。

1.2.4 流式细胞仪测定细胞周期 采用PI染色法测定细胞周期,将沉默组、阴性对照组及空白对照组取转染培养后对数生长期细胞,以800 r/min离心5 min,收集细胞沉淀,弃上清,用预冷PBS洗涤2次,加入预冷75%乙醇,于4℃固定4 h以上。1 500 r/min离心5 min,弃上清,PBS洗涤,加入400 L的PI染液和100 L RNase A(100 μg/mL),于4℃避光孵育30 min。上机,按照标准程序用流式细胞仪检测各组细胞周期,结果用细胞周期拟合软件ModFit进行分析,实验重复3次,取平均值。

1.2.5 Western blot 测定增殖及细胞周期蛋白表达

将沉默组、阴性对照组及空白对照组细胞培养24 h后,裂解提取各组细胞总蛋白,BCA法测定总蛋白含量。Western blot电泳条件:浓缩胶80 V 60 min,分离胶100 V 90 min,使用半干法转膜,一抗(1:200)于4℃孵育过夜,二抗(1:500)于37℃孵育2 h,PBS漂洗,ECL发光液显影后使用胶片曝光,扫描仪导入胶片图片后使用Image J软件分析蛋白灰度值,实验重复3次,取平均值。

1.3 统计学处理

统计分析采用SPSS 20.0版本分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间的数据比较采用t检验,3组间的比较采用方差分析,在有意义的基础上再采用LSD-t检验行两组间的比较,P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA RP1-85F18.6在乳腺癌细胞系及正常乳腺癌细胞系中的表达

qRT-PCR示,正常乳腺上皮细胞系MCF-10A中lncRNA RP1-85F18.6相对表达量为1.03±0.04,乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MBA-MD-468及MCF-7中lncRNA RP1-85F18.6相对表达量分别为2.58±0.81、3.33±0.53、3.34±0.76,乳腺癌细胞系MDA-MB-231、MBA-MD-468及MCF-7中lncRNA RP1-85F18.6相对表达量均高于正常乳腺上皮细胞系MCF-10A(均P<0.05)(图1)。

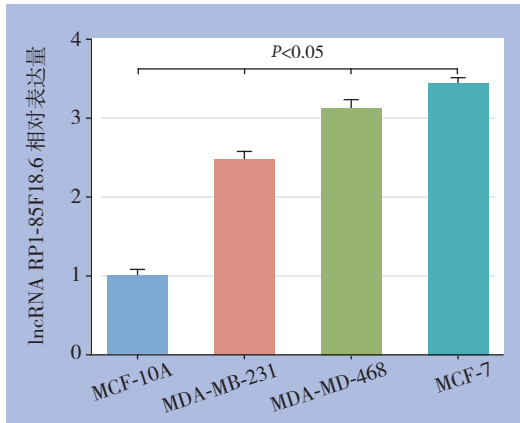


图 1 lncRNA RP1-85F18.6 在正常乳腺上皮及乳腺癌细胞系中的表达

Figure 1 The expressions of lncRNA RP1-85F18.6 in normal mammary cell line and breast cancer cell lines

2.2 转染效率检测

qRT-PCR结果显示, 转染24 h后, 沉默组 lncRNA RP1-85F18.6 相对表达量明显低于空白对照组 ($P < 0.01$), 而阴性对照组 lncRNA RP1-85F18.6 相对表达量与空白对照组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图2), 提示转染成功, 可行下一步实验。

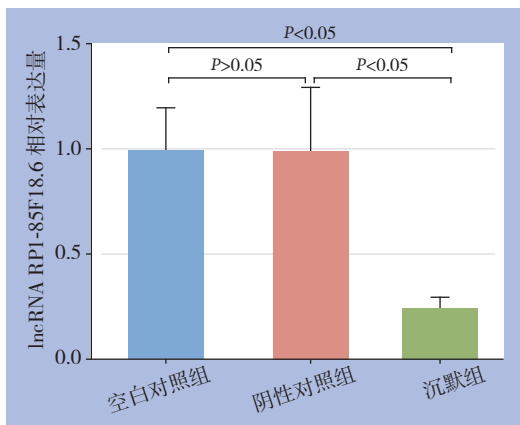


图 2 转染效率检测结果

Figure 2 Analysis of the transfection efficiency

2.3 lncRNA RP1-85F18.6 对乳腺癌细胞增殖的影响

MTT结果显示, 在转染后24、48、72、96 h, 沉默组 $OD_{490\text{ nm}}$ 值均明显低于空白对照组 (均 $P < 0.05$), 而阴性对照组各时间点 $OD_{490\text{ nm}}$ 与空白对照组间差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (图3)。

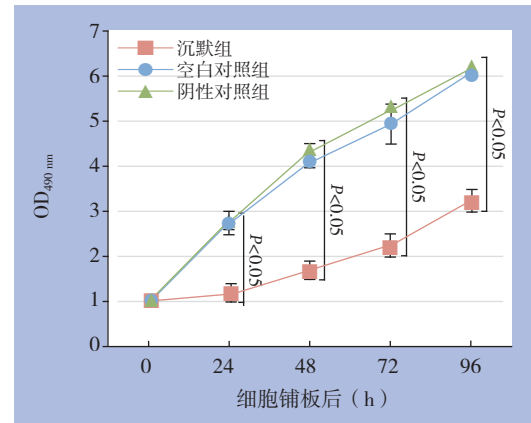


图 3 各组乳腺癌细胞的增殖曲线

Figure 3 The proliferation curve of each groups of breast cancer cells

2.4 lncRNA RP1-85F18.6 对细胞周期的影响

转染24 h后, 空白对照组 G_0/G_1 期 (49.51 ± 5.12)%, S期 (21.26 ± 5.13)%, G_2/M 期 (29.24 ± 1.69)%; 阴性对照组 G_0/G_1 期 (51.91 ± 8.12)%, S期 (18.98 ± 3.23)%, G_2/M 期 (30.54 ± 1.89)%; 沉默组 G_0/G_1 期 (50.01 ± 7.54)%, S期 (29.96 ± 0.13)%, G_2/M 期 (10.34 ± 1.39)%。与空白对照组比较, 沉默组的 G_1/G_0 期细胞数比例无明显变化 ($P > 0.05$), S期细胞数比例升高 ($P < 0.05$), G_2/M 期细胞数比例降低 ($P < 0.05$)。阴性对照与空白对照组间各期细胞比例差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (图4)。

2.5 lncRNA RP1-85F18.6 对细胞增殖及细胞周期相关蛋白表达的影响

Western blot结果显示, 沉默组 Ki-67 蛋白表达量为 0.42 ± 0.25 , 阴性对照组为 1.02 ± 0.56 , 空白对照组为 1.09 ± 0.31 ; 沉默组 PCNA 蛋白表达量为 0.39 ± 0.14 , 阴性对照组为 1.04 ± 0.23 , 空白对照组为 1.12 ± 0.25 ; 沉默组 cyclin A 蛋白表达量为 0.33 ± 0.20 , 阴性对照组为 1.06 ± 0.35 , 空白对照组为 0.95 ± 0.65 ; 沉默组 $p21^{CIP1}$ 蛋白表达量为 2.87 ± 0.49 , 阴性对照组为 1.05 ± 0.45 , 空白对照组为 1.11 ± 0.24 。沉默组 Ki-67、PCNA、cyclin A 蛋白表达量明显低于空白对照组 (均 $P < 0.05$), 沉默组 $p21^{CIP1}$ 蛋白表达量高于空白对照组 ($P < 0.05$); 阴性对照组与空白对照组 Ki-67、PCNA 及 cyclin A 及 $p21^{CIP1}$ 蛋白相对表达量差异均无统计学意义 (均 $P > 0.05$) (图5)。

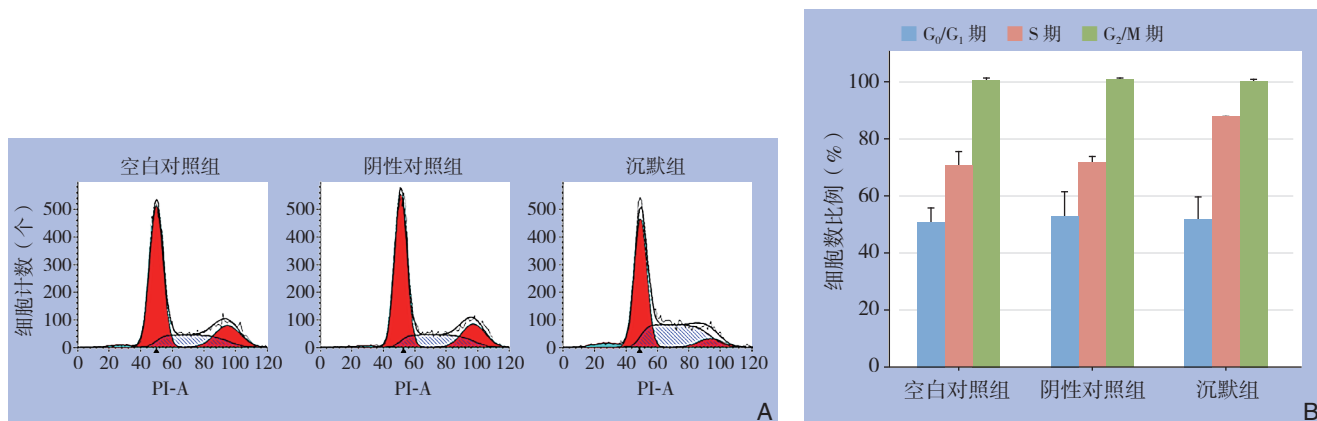


图4 细胞周期检测结果 A: PI染色流式细胞周期图 B: 各组细胞周期比例比较

Figure 4 Results of cell cycle analysis A: Flow cytometry cell cycle analysis using PI staining; B: Comparison of cell-cycle distributions of three groups of cells

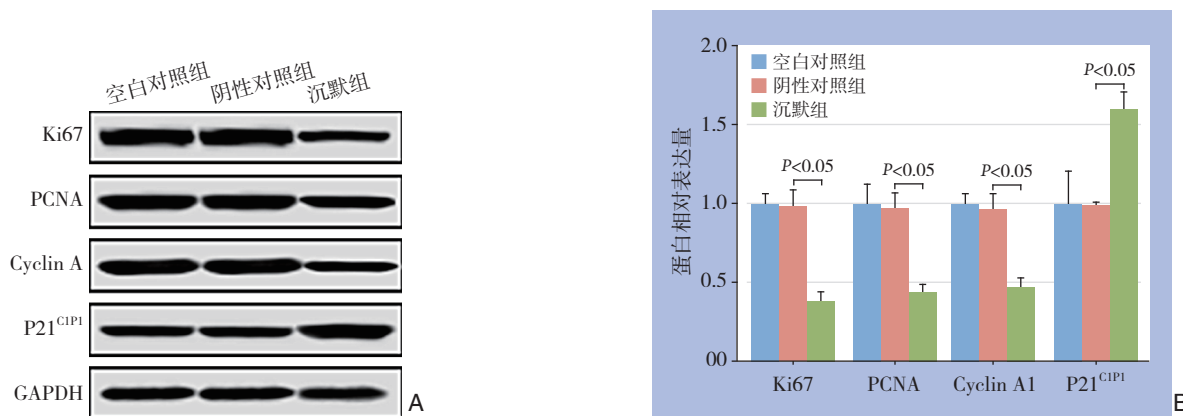


图5 细胞增殖及细胞周期相关蛋白表达检测 A: Western blot检测Ki67、PCNA、cyclin A1和p21^{CIP1}蛋白表达; B: 各组Ki67、PCNA、cyclin A1和p21^{CIP1}蛋白表达量比较

Figure 5 Determination of the expressions of proliferation-promoting and cell-cycle-controlling proteins A: Western blot analysis of the expressions of Ki67, PCNA, cyclin A1 and p21^{CIP1} proteins; B: Comparison of expression levels of Ki67, PCNA, cyclin A1 and p21^{CIP1} protein among the three groups

3 讨论

肿瘤的发生是个多步骤、多基因、多因素参与的过程^[13-14]。原癌基因的激活和抑癌基因的失活在其中起了关键性的作用,乳腺癌也不例外。乳腺癌的发生及进展涉及一系列的分子变异,包括P53、P21、lncRNA分子等。lncRNA是种不能编码蛋白质的RNA,可通过表观遗传调控,转录和转录后的产物调节许多细胞生物学过程。多种lncRNA分子在乳腺癌肿瘤组织中表达异常,可作为癌基因或抑癌基因参与乳腺癌的发生和进展^[15]。作为癌基因调控的关键参与者,lncRNA的异常表达与肿瘤筛查、诊断、预后及治疗紧密相关^[16]。lncRNA BCRT1通过靶向miR-1303/PTBP3信号轴促进乳腺癌进展^[17]。lncRNA NR2F1-AS1与雌激素

受体阳性的乳腺癌复发相关^[18]。

lncRNA RPI-85F18.6基因位于22号染色体蛋白质编码基因EP300上^[11, 19]。首次被发现后,lncRNA RPI-85F18.6被报道与肿瘤发展相关。有研究^[12]发现lncRNA RPI-85F18.6在结肠癌中高表达,并且在细胞实验中发现沉默lncRNA RPI-85F18.6表达能抑制癌细胞增殖、侵袭和阻滞细胞周期,促进癌细胞凋亡。在本研究中,通过比较lncRNA RPI-85F18.6在乳腺癌细胞和正常乳腺上皮细胞系内的表达量,我们发现lncRNA RPI-85F18.6的表达量在乳腺癌细胞系中也呈高表达,结果与结肠癌一致^[12]。同时,沉默lncRNA RPI-85F18.6后,MDA-MB-231乳腺癌细胞的增殖被显著抑制,提示沉默lncRNA RPI-85F18.6表达可抑制乳腺癌细胞增殖。

不受控的增殖和细胞周期异常是乳腺癌重要的发病机制。Ki-67和PCNA是反映细胞增殖的重要标志物^[20]。在乳腺癌中，Ki-67高表达提示乳腺癌恶性增殖能力强、侵袭力强，与乳腺癌预后不佳相关，为影响预后的独立危险因素^[21]。Petrelli等^[21]报道Ki-67高表达的乳腺癌患者病死率显著高于Ki-67低表达患者。PCNA是分子量为36kD的DNA聚合酶 δ 的辅助蛋白，其在细胞增殖启动阶段扮演者重要作用，在S期表达水平最高，G₀/G₁及G₂表达量较低^[22]。在结肠癌中，鬼臼苦素可通过下调PCNA、cyclin D1表达，进而抑制结肠癌细胞增殖^[23]。在口腔癌^[24]、肺癌^[25]等多种肿瘤组织中PCNA也呈高表达。本研究中，沉默组Ki-67及PCNA表达量显著低于阴性对照组，提示沉默lncRNA RP1-85F18.6的表达可能通过下调Ki-67及PCNA表达而抑制乳腺癌细胞增殖。

细胞增殖的主要方式为细胞分裂，细胞周期的调控与细胞增殖密切相关。细胞周期分为5期，分别是G₀、G₁、S、G₂和M期^[20]。本研究发现，沉默lncRNA RP1-85F18.6可增加MDA-MB-231在S期的细胞比例，并降低G₂/M期细胞比例，表明沉默lncRNA RP1-85F18.6可诱导S期细胞比例增加，并阻滞S期向G₂/M期进展及有丝分裂，细胞周期进程得以停滞。细胞周期调节复合物（cyclin A1/CDK2/PCNA复合物）的减少及p21^{CIP1}表达上调与细胞周期S期阻滞密切相关^[26]，与之相反，p21^{CIP1}可阻滞cyclin A1/CDK2/PCNA复合物，而阻滞细胞从S期进入G₂/M期^[27]。本研究发现沉默lncRNA RP1-85F18.6的表达后，cyclin A1表达下调，而p21^{CIP1}表达上调，表明沉默lncRNA RP1-85F18.6的表达可通过下调cyclin A1表达及上调p21^{CIP1}表达，而诱导乳腺癌细胞周期发生S期阻滞，并阻止S期进入G₂/M期，从而抑制乳腺癌细胞DNA的合成，抑制细胞增殖过程。

综上，本研究发现lncRNA RP1-85F18.6在乳腺癌细胞中上调表达，沉默lncRNA RP1-85F18.6可抑制乳腺癌细胞增殖，诱导细胞周期发生S期阻滞，其机制可能与Ki-67及PCNA下调表达，及cyclin A1下调和p21^{CIP1}上调有关。对lncRNA RP1-85F18.6及其相关靶基因的干预可能为乳腺癌的治疗提供新的途径。

本研究存在一定的不足，首先，细胞培养环境与细胞体内生长微环境有一定的不同，且本研究使用的细胞系只能代表一部分类型的乳腺癌细

胞；此外，lncRNA RP1-85F18.6调控机制及更多的上下游靶点，都需要进一步研究；未来笔者将在该领域进行更深入的探讨。

参考文献

- [1] DeSantis C, Ma J, Bryan L, et al. Breast cancer statistics, 2013[J]. *CA Cancer J Clin*, 2014, 64(1):52–62. doi: 10.3322/caac.21203.
- [2] 熊雄, 焉正庆, 张爱军. 长链非编码RNA CBR3-AS1在乳腺癌中的表达及其功能[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(11):1379–1385. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.010.
Xiong X, Yan ZQ, Zhang AJ. Expression of long non-coding RNA CBR3-AS1 in breast cancer and its function[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(11):1379–1385. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.010.
- [3] 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*, 2018, 68(6):394–424. doi: 10.3322/caac.21492.
- [4] Yang L, Zheng R, Wang N, et al. Incidence and mortality of stomach cancer in China, 2014[J]. *Chin J Cancer Res*, 2018, 30(3):291–298. doi: 10.21147/j.issn.1000-9604.2018.03.01.
- [5] Miller KD, Siegel RL, Lin CC, et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2016[J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(4):271–289. doi: 10.3322/caac.21349.
- [6] 朱月梅, 王国如, 张沂, 等. 表柔比星联合紫杉醇新辅助化疗治疗乳腺癌保乳术患者的疗效及安全性[J]. *中国普通外科杂志*, 2019, 28(11):1406–1413. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.014.
Zhu YM, Wang GR, Zhang Y, et al. Efficacy and safety of neoadjuvant chemotherapy with epirubicin plus paclitaxel in treatment of patients undergoing breast-preserving surgery for breast cancer[J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2019, 28(11):1406–1413. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2019.11.014.
- [7] Mercer TR, Dingler ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions[J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3):155–159. doi: 10.1038/nrg2521.
- [8] 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.
- [9] Chen SX, Yin JF, Lin BC, et al. Upregulated expression of long noncoding RNA SNHG15 promotes cell proliferation and invasion through regulates MMP2/MMP9 in patients with GC[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(5):6801–6812. doi: 10.1007/s13277-015-4404-0.
- [10] 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.
- [11] Eckner R, Ewen ME, Newsome D, et al. Molecular cloning and functional analysis of the adenovirus E1A-associated 300-kD protein (p300) reveals a protein with properties of a transcriptional adaptor[J]. *Genes Dev*, 1994, 8(8):869–884. doi: 10.1101/gad.8.8.869.
- [12] Ma Y, Chen Y, Lin C, et al. Biological functions and clinical significance of the newly identified long non-coding RNA RPI-85F18.6 in colorectal cancer[J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(5):2648–2658. doi: 10.3892/or.2018.6694.
- [13] 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. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2013.08.006.
- 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. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2013.08.006.
- [14] 孙思楠,李建生,莢卫东,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. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2013.01.011.
- 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. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2013.01.011.
- [15] Huang L, Liang G, Zhang Q, et al. The Role of Long Noncoding RNAs in Antiestrogen Resistance in Breast Cancer: An Overview and Update[J]. *J Breast Cancer*, 2020, 23(2):129–140. doi: 10.4048/jbc.2020.23.e10.
- [16] Peng WX, Koirala P, Mo YY. LncRNA-mediated regulation of cell signaling in cancer [J]. *Oncogene*, 2017, 36(41):5661–5667. doi: 10.1038/onc.2017.184.
- [17] Liang Y, Song X, Li Y, et al. LncRNA BCRT1 promotes breast cancer progression by targeting miR-1303/PTBP3 axis[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):85. doi: 10.1186/s12943-020-01206-5.
- [18] Sanchez Calle A, Yamamoto T, Kawamura Y, et al. Long Non-coding NR2F1-AS1 is Associated with Tumor Recurrence in Estrogen Receptor-positive breast cancers[J]. *Mol Oncol*, 2020, doi: 10.1002/1878-0261.12704. [Epub ahead of print]
- [19] Mao Q, Zhang PH, Wang Q, et al. Ginsenoside F(2) induces apoptosis in human gastric carcinoma cells through reactive oxygen species-mitochondria pathway and modulation of ASK-1/JNK signaling cascade in vitro and in vivo[J]. *Phytomedicine*, 2014, 21(4):515–522. doi: 10.1016/j.phymed.2013.10.013.
- [20] Berlin A, Castro-Mesta JF, Rodriguez-Romo L, et al. Prognostic role of Ki-67 score in localized prostate cancer: A systematic review and meta-analysis[J]. *Urol Oncol*, 2017, 35(8):499–506. doi: 10.1016/j.urolonc.2017.05.004.
- [21] Petrelli F, Viale G, Cabiddu M, et al. Prognostic value of different cut-off levels of Ki-67 in breast cancer: a systematic review and meta-analysis of 64,196 patients [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 153(3):477–491. doi: 10.1007/s10549-015-3559-0.
- [22] Wang Q, Lu X, Li C, et al. Down-regulated long non-coding RNA PVT1 contributes to gestational diabetes mellitus and preeclampsia via regulation of human trophoblast cells[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 120:109501. doi: 10.1016/j.biopha.2019.109501.
- [23] 周丽丽,王瑞婷,赵杨,等. 鬼臼苦素对人结肠癌HCT-15细胞增殖和周期的影响及其作用机制[J]. *解剖学报*, 2020, 51(2):233–238. doi:10.16098/j.issn.0529-1356.2020.02.014.
- Zhou LL, Wang RT, Zhao Y, et al. Effects of picropodophyllin on proliferation and cell cycle of human colorectal cancer HCT-15 cells and its mechanism[J]. *Acta Anatomica Sinica*, 2020, 51(2):233–238. doi:10.16098/j.issn.0529-1356.2020.02.014.
- [24] Abdulkadir SN, Ali NR, Alchalabi NJ. Pathological Study of Oral Squamous Cell Carcinoma by Application of P53 and PCNA (Immunohistochemical Approach)[J]. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 2016, 5(4):91–100. doi:10.20546/ijemas.2016.504.013.
- [25] 任洁,程春来,芦兰,等. 肺癌血清标志物PCNA及Bax的表达及与预后的关系[J]. *重庆医学*, 2017, 46(10):1399–1401. doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.10.035.
- Ren J, Cheng CL, Lu L, et al. Expressions of lung cancer serum marker PCNA and Bax of and the association with prognosis[J]. *Chongqing Medicine*, 2017, 46(10):1399–1401. doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.10.035.
- [26] Annibaldi A, Widmann C. Glucose metabolism in cancer cells[J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2010, 13(4):466–470. doi: 10.1097/MCO.0b013e32833a5577.
- [27] Lee MH, Cho Y, Jung BC, et al. Parkin induces G2/M cell cycle arrest in TNF- α -treated HeLa cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464(1):63–69. doi: 10.1016/j.bbrc.2015.05.101.

(本文编辑 姜晖)

本文引用格式:程虎,刘名奎.长链非编码RNA RPI-85F18.6在乳腺癌细胞中的表达及其对增殖和细胞周期的影响[J].*中国普通外科杂志*, 2020, 29(5):549–555. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.005

Cite this article as: Cheng H, Liu MK. Expression of long non-coding RNA RPI-85F18.6 in breast cancer cells and its influence on proliferation and cell cycle control[J]. *Chin J Gen Surg*, 2020, 29(5):549–555. doi:10.7659/j.issn.1005-6947.2020.05.005