

· 实验研究 ·

# LncRNA LUCAT1 靶向 miR-502-5p 对人视网膜母细胞瘤细胞生物学行为的影响

邢枫<sup>1</sup> 李永明<sup>2</sup> 高明敏<sup>1</sup><sup>1</sup>河南省人民医院眼科 河南省立眼科医院, 郑州 450003; <sup>2</sup>河南省人民医院神经外科, 郑州 450003

通信作者: 李永明, Email: liyongming005195@163.com

**【摘要】** 目的 研究长链非编码 RNA (LncRNA) 肺癌相关转录产物 1 (LUCAT1) 靶向微小 RNA (miR)-502-5p 对人视网膜母细胞瘤 (RB) 细胞增殖、迁移和侵袭的影响。方法 收集 2019 年 5 月至 2021 年 1 月在河南省立眼科医院确诊并行眼球摘除术的 27 例 RB 患者的 RB 组织样本, 正常视网膜组织标本 (12 例眼球破裂伤、7 例眼球萎缩、8 例眼球穿通伤合并有色素膜嵌顿) 取自同期在河南省立眼科医院行眼球摘除术的 27 例患者。采用实时荧光定量 PCR 检测 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 在 RB 组织、细胞系 (Y-79、WERI-Rb-1、HXO-RB44) 及人视网膜上皮细胞 (ARPE-19) 中的表达。将 RB 细胞 Y-79 分为对照组、小干扰 RNA (si)-LncRNA LUCAT1 组、si-对照 (con) 组、pcDNA 组、pcDNA-LncRNA LUCAT1 组、miR-con 组、miR-502-5p 组、si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组和 si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p 组, 分别转染相应试剂。采用 Western blot 法检测 MMP2 和 MMP9 蛋白表达; 采用细胞计数试剂盒 8 法检测细胞增殖活力; 采用克隆形成实验检测细胞增殖能力; 采用 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力。采用双荧光素酶报告实验和实时荧光定量 PCR 验证 LncRNA LUCAT1 对 miR-502-5p 的靶向调控作用。结果 RB 组织中 LncRNA LUCAT1 表达量为  $2.73 \pm 0.34$ , 明显高于正常视网膜组织的  $1.00 \pm 0.15$ ; miR-502-5p 表达量为  $0.42 \pm 0.06$ , 明显低于正常视网膜组织的  $1.00 \pm 0.13$ , 差异均有统计学意义 ( $t = 24.190, 21.049$ , 均  $P < 0.001$ )。人 RB 细胞系 Y-79、WERI-Rb-1 和 HXO-RB44 中 LncRNA LUCAT1 表达水平明显高于 ARPE-19 细胞, miR-502-5p 表达水平明显低于 ARPE-19 细胞, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。si-LncRNA LUCAT1 组 LncRNA LUCAT1 表达量, MMP2、MMP9 蛋白相对表达量, 吸光度 (A) 值, 细胞增殖、迁移、侵袭数量较对照组均明显减少, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。miR-502-5p 组 miR-502-5p 表达量高于 miR-con 组, MMP2、MMP9 蛋白相对表达量, 细胞活力 A 值, 细胞增殖、迁移、侵袭数量少于 miR-con 组, 差异均有统计学意义 ( $t = 20.274, 14.884, 14.181, 12.692, 17.749, 20.889, 21.913$ , 均  $P < 0.001$ )。si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p 组 miR-502-5p 表达量低于 si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组, MMP2、MMP9 蛋白相对表达量, 细胞活力 A 值, 细胞增殖、迁移、侵袭数量高于 si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组, 差异均有统计学意义 ( $t = 14.097, 15.839, 15.757, 11.860, 16.235, 16.565, 16.487$ , 均  $P < 0.001$ )。与 LncRNA LUCAT1-野生型共转染时, miR-502-5p 组相对荧光素酶活性值低于 miR-con 组, 差异有统计学意义 ( $t = 16.379, P < 0.001$ )。pcDNA-LncRNA LUCAT1 组 LncRNA LUCAT1 表达量高于 pcDNA 组, miR-502-5p 表达量低于 pcDNA 组, si-LncRNA LUCAT1 组 LncRNA LUCAT1 表达量低于 si-con 组, miR-502-5p 表达量高于 si-con 组, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ )。结论 抑制 LncRNA LUCAT1 表达通过靶向上调 miR-502-5p 可减弱人 RB 细胞的增殖、迁移和侵袭能力。

**【关键词】** 视网膜母细胞瘤; miR-502-5p; 增殖; 迁移; 侵袭; 长链非编码 RNA; 肺癌相关转录因子 1  
DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20210826-00481

## Effect of LncRNA LUCAT1 targeting miR-502-5p on the biological behavior of human retinoblastoma cells

Xing Feng<sup>1</sup>, Li Yongming<sup>2</sup>, Gao Mingmin<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Ophthalmology, Henan Provincial People's Hospital, Henan Eye Hospital, Zhengzhou 450003, China; <sup>2</sup>Department of Neurosurgery, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, China

Corresponding author: Li Yongming, Email: liyongming005195@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the effects of long noncoding RNA (LncRNA) lung cancer associated transcript 1 (LUCAT1) targeting microRNA (miR)-502-5p on the proliferation, migration and invasion of human retinoblastoma (RB) cells. **Methods** RB tissue samples were collected from 27 RB patients who underwent

eyeball enucleation in Henan Eye Hospital from May 2019 to January 2021. Another 27 normal retinal tissue specimens were collected from 12 patients with eyeball rupture, 7 with eyeball atrophy, and 8 with eyeball penetrating injury combined with pigment film incarceration who underwent the eyeball enucleation in Henan Eye Hospital during the same period. The expressions of LncRNA LUCAT1 and miR-502-5p in RB tissues, cell lines (Y-79, WERI-Rb-1, HXo-RB44) and human retinal epithelial cells (ARPE-19) were detected by real-time quantitative PCR. Y-79 RB cell was divided into control group, small interfering RNA (si)-LncRNA LUCAT1 group, si-control (con) group, pcDNA group, pcDNA-LncRNA LUCAT1 group, miR-con group, miR-502-5p group, si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con group and si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p group, and cells in different groups were transfected with corresponding reagents. The expressions of MMP2 and MMP9 proteins were detected by Western blot. Cell proliferation activity was assayed by cell counting kit 8. Cell proliferation capability was detected by colony formation assay. Cell migration and invasion ability were determined by Transwell assay. The targeting regulation of LncRNA LUCAT1 against miR-502-5p was confirmed by dual luciferase reporter assay and real-time quantitative PCR. The study protocol was approved by the Ethics Committee of Henan Eye Hospital (No. HNEECKY-2021 [32]). Written informed consent was obtained from guardians of subjects. **Results** LncRNA LUCAT1 expression level in RB tissue was  $2.73 \pm 0.34$ , which was significantly higher than  $1.00 \pm 0.15$  in normal retinal tissue ( $t = 24.190$ ,  $P < 0.001$ ). The miR-502-5p expression level in RB tissues was  $0.42 \pm 0.06$ , which was significantly lower than  $1.00 \pm 0.13$  in normal retinal tissue ( $t = 21.049$ ,  $P < 0.001$ ). LncRNA LUCAT1 expression level was significantly higher and the miR-502-5p expression level was significantly lower in human RB cell lines Y-79, WERI-Rb-1 and HXO-RB44 than those in ARPE-19 cells, with statistically significant differences (all at  $P < 0.05$ ). The LncRNA LUCAT1 expression, the relative expressions of MMP2 and MMP9 proteins, the absorbance (A) value, and the number of proliferated, migrating and invading Y-79 cells in si-LncRNA LUCAT1 group were significantly reduced in comparison with control group, and the differences were statistically significant (all at  $P < 0.05$ ). The miR-502-5p expression level was higher, and the relative expression levels of MMP2 and MMP9, A value, as well as the number of proliferated, migrating and invading Y-79 cells were lower in miR-502-5p group than in miR-con group, showing statistically significant differences ( $t = 20.274, 14.884, 14.181, 12.692, 17.749, 20.889, 21.913$ ; all at  $P < 0.001$ ). The miR-502-5p expression level was lower and the relative expression levels of MMP2 and MMP9, A value as well as the number of proliferated, migrating and invading Y-79 cells were higher in si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p group than in si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con group, showing statistically significant differences ( $t = 14.097, 15.839, 15.757, 11.860, 16.235, 16.565, 16.487$ ; all at  $P < 0.001$ ). When co-transfected with LncRNA LUCAT1-wild type, the relative luciferase activity of miR-502-5p group was lower than that of miR-con group, and the difference was statistically significant ( $t = 16.379$ ,  $P < 0.001$ ). The LncRNA LUCAT1 expression level was higher and the miR-502-5p expression level was lower in pcDNA-LncRNA LUCAT1 group than in pcDNA group, and the differences were statistically significant (both at  $P < 0.05$ ). The LncRNA LUCAT1 expression level was lower and the miR-502-5p expression level was higher in si-LncRNA LUCAT1 group than in si-con group, and the differences were statistically significant (both at  $P < 0.05$ ). **Conclusions** Inhibition of LncRNA LUCAT1 can attenuate the proliferation, migration and invasion ability of human RB cells by the targeting up-regulation of miR-502-5p.

[Key words] Retinoblastoma; miR-502-5p; Proliferation; Migration; Invasion; RNA, long noncoding; Lung cancer associated transcript 1

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20210826-00481

视网膜母细胞瘤 (retinoblastoma, RB) 是儿童常见的眼内恶性肿瘤, 其主要发生于视网膜核层, 容易发生颅内及远处转移, 严重影响儿童视力, 甚至危及生命。目前临床已有的眼球摘除术、化学疗法、放射疗法、激光光凝和基因治疗等 RB 治疗方法均存在一定的不足, 基因治疗由于具有靶向作用及不良反应较小的特点而逐渐成为众多研究的焦点<sup>[1-4]</sup>。长链非编码 RNA (long noncoding RNA, LncRNA) 是一类长度超过 200 个核苷酸的调节性 RNA, 其可通过吸附微小 RNA

(microRNA, miRNA) 调控靶 mRNA 表达, 参与肿瘤的迁移和侵袭过程。LncRNA 已在多种类型肿瘤中用作治疗靶点及预后标志物<sup>[5-6]</sup>。肝癌组织中 LncRNA 肺癌相关转录产物 1 (lung cancer associated transcript 1, LUCAT1) 表达增加, LncRNA LUCAT1 高表达与肝癌患者总生存期较差相关<sup>[7]</sup>。LncRNA LUCAT1 通过靶向 miR-5702 促进肿瘤细胞增生、细胞周期进程和转移以及减少细胞凋亡, 进而促进三阴性乳腺癌的进展<sup>[8]</sup>。RB 细胞与上述肿瘤细胞生物学行为相似, 但

LncRNA LUCAT1 在 RB 中的表达和调节作用并不清楚。miR-502-5p 是一种抑癌因子, 研究报道 miR-502-5p 可促进乳腺癌细胞早期凋亡, 抑制其增生<sup>[9]</sup>。在卵巢癌中, miR-502-5p 可通过靶向 GINS2 抑制癌细胞的体外增生、迁移和侵袭能力<sup>[10]</sup>。生物信息学分析显示, miR-502-5p 是 LncRNA LUCAT1 的潜在靶点。因此, 本研究旨在阐明 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 在人 RB 细胞增生、迁移和侵袭中的作用, 探讨 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 的靶向关系, 为 RB 靶向治疗提供新的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 RB 组织及细胞来源** 收集 2019 年 5 月至 2021 年 1 月在河南省立眼科医院确诊并行眼球摘除术的 27 例 RB 患者的 RB 组织样本, 其中男 15 例, 女 12 例; 年龄 6 个月~7 岁, 平均  $(3.88 \pm 1.02)$  岁。所有临床标本均在液氮中快速冷冻保存。正常视网膜组织标本取自同期在河南省立眼科医院行眼球摘除术的 27 例患者, 其中眼球破裂伤患者 12 例, 眼球萎缩患者 7 例, 眼球穿通伤合并有色素膜嵌顿患者 8 例, 经病理检验证实为正常视网膜组织; 男 15 例, 女 12 例; 年龄 9 个月~8 岁, 平均  $(4.02 \pm 1.13)$  岁, 与 RB 患者年龄比较差异无统计学意义 ( $t = 0.478, P = 0.635$ )。所有患者术前均未接受化学疗法或局部放射线治疗。本研究经河南省立眼科医院伦理委员会审核批准 [批文号: HNEECKY-2021(32)], 所有入组患儿监护人均签署知情同意书。人 RB 细胞系 Y-79、WERI-Rb-1、HXO-RB44 以及人视网膜色素上皮细胞 (human retinal pigment epithelial cells, ARPE-19) 均购自美国菌种保藏中心。

**1.1.2 主要试剂及仪器** PrimerScript 逆转录试剂盒、miRNA cDNA 合成试剂盒、SYBR green Premix Ex Taq II (大连 Takara 公司); 羊抗兔 IgG 二抗 (ab205718)、兔源基质金属蛋白酶 2 (matrix metalloproteinase-2, MMP2) 多克隆抗体 (ab97779)、兔源 MMP9 多克隆抗体 (ab38898)、鼠源  $\beta$  肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 多克隆抗体 (ab115777)、细胞计数试剂盒 8 (cell counting kit-8, CCK-8) (美国 Abcam 公司); 小干扰 RNA (small interfering RNA, si)-LncRNA LUCAT1、si-对照 (control, con)、pcDNA-LncRNA LUCAT1、pcDNA、miR-con、miR-502-5p 拟似物、anti-miR-con、anti-miR-502-5p、荧光素酶报告载体 (南京金斯瑞生物公司)、Transwell 小室 (北京优尼康生物公司); ABI 7500 荧光

定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司); VARIOSKAN FLASH 多功能酶标仪 (美国 Thermo Fisher Scientific 公司); 垂直电泳槽、转印槽、电泳仪 (北京六一生物科技有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养** Y-79、WERI-Rb-1、HXO-RB44、ARPE-19 细胞在含体积分数 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基中培养, 培养箱条件为 37 °C、含体积分数 5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度, 待细胞培养至 85% 融合, 胰蛋白酶消化并传代培养。

**1.2.2 实时荧光定量 PCR 法检测组织和细胞系中 LncRNA LUCAT1、miR-502-5p 表达水平** Trizol 试剂提取 RB 组织、细胞系以及正常视网膜组织、ARPE-19 细胞的总 RNA。采用 PrimerScript 逆转录试剂盒、miRNA cDNA 合成试剂盒分别合成 LncRNA 和 miRNA 的 cDNA。采用 SYBR green Premix Ex Taq II 进行实时荧光定量 PCR。LncRNA LUCAT1 正向引物序列: 5'-ACCAGCTGTCCCTCAGTGTCT-3', 反向引物序列: 5'-AGGCCTTTATCCTCGGGTTCCT-3'; GAPDH 正向引物序列: 5'-GTCAACGATTTGGTCTGTATT-3', 反向引物序列: 5'-AGTCTTCTGGGTGGCAGTAT-3'; U6 正向引物序列: 5'-CTCGCTTCGGCAGCAC-3', 反向引物序列: 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'; miR-502-5p 正向引物序列: 5'-CGGGCATCCTTGCTATCTG-3', 反向引物序列: 5'-CAGCCACAAAAGAGCACAAT-3'。反应条件为 42 °C 30 min; 95 °C 10 min; 95 °C 20 s; 60 °C 30 s; 72 °C 30 s, 共 40 个循环。GAPDH 为 LncRNA LUCAT1 内参, U6 为 miR-502-5p 内参。采用 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 法计算目的基因相对表达量。

**1.2.3 实验分组** 将对数期 Y-79 细胞以  $5 \times 10^2$  个/孔接种至 24 孔板中培养, 用无血清培养基稀释 siRNA、miRNA 或 pcDNA; 同时用无血清培养基稀释适量的 Lipofectamine 2000; 室温静置 5 min 后, 将上述稀释液混合, 室温静置 20 min。将上述混合物加入 70% 融合的 Y-79 细胞中, 培养 6 h 后更换为含血清培养液, 转染细胞 48 h, 采用实时荧光定量 PCR 法检测 LncRNA LUCAT1 或 miR-502-5p 水平验证抑制或过表达效果。根据转染寡核苷酸或质粒不同分为对照组、si-LncRNA LUCAT1 组、si-con 组、pcDNA 组、pcDNA-LncRNA LUCAT1 组、miR-con 组、miR-502-5p 组、si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组和 si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p 组。

**1.2.4 Western blot 法检测 MMP2 和 MMP9 蛋白表达** 在各组 Y-79 细胞中加入 RIPA 试剂提取总蛋白, BCA 法检测定量, 煮沸变性后使用 SDS-PAGE 进行分



离,转印至 PVDF 膜,质量分数 5%脱脂奶粉封闭 2 h,将膜置于稀释的 MMP2 (1:2 500 稀释)、MMP9 (1:1 000 稀释)和  $\beta$ -actin (1:1 000) 一抗室温孵育 2 h, TBST 洗膜 3 次,将膜置于二抗 (1:3 000 稀释) 室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次,用增强型化学发光试剂显色、定影。采用 ImageJ 软件分析蛋白条带灰度值,计算 MMP2 和 MMP9 相对  $\beta$ -actin 的灰度值以表示目的蛋白表达水平。

**1.2.5 CCK-8 法检测 Y-79 细胞活力** 将各组 Y-79 细胞以  $5 \times 10^3$  个/孔接种至 96 孔板中培养 24 h,当融合度达 85%,每孔加入 10  $\mu$ l CCK-8 试剂孵育 2 h。使用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度 (absorbance, A) 值以表示细胞活力。

**1.2.6 克隆形成实验检测 Y-79 细胞的增生能力** 将各组 Y-79 细胞以  $5 \times 10^2$  个/孔接种至 6 孔板中培养,每隔 2 d 换液 1 次,直到出现肉眼可见的细胞集落。移除培养基,磷酸盐缓冲液洗涤 3 次,质量分数 4%多聚甲醛固定 20 min,质量分数 0.1%结晶紫染色 10 min。显微镜下观察并拍照,计数超过 50 个细胞的集落。

**1.2.7 Transwell 实验检测 Y-79 细胞的迁移和侵袭能力** 采用无血清培养液重悬各组 Y-79 细胞,密度为  $2.5 \times 10^5$  个细胞/ml,取 200  $\mu$ l 细胞悬液、500  $\mu$ l 含血清培养基分别接种至 Transwell 装置上、下部腔室。培养 24 h 后,擦去未穿膜细胞,用 4%多聚甲醛固定 20 min,质量分数 0.1%结晶紫染色。显微镜下随机选择 5 个 100 倍视野进行细胞计数,以细胞数平均值表示细胞迁移能力。侵袭测定时取 50  $\mu$ l 稀释的基质胶加入 Transwell 装置上部腔室,培养箱孵育至基质胶凝固后备用,其余步骤与细胞迁移实验一致。

**1.2.8 双荧光素酶报告实验验证 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 靶向关系** 根据 LncBase Predicted v. 2 预测结果将 LncRNA LUCAT1 野生型 (wild type, WT) 和突变型 (mutant type, MT) 序列分别克隆到 pmirGLO 双荧光素酶载体,构建报告载体 LncRNA LUCAT1-WT 和 LncRNA LUCAT1-MUT。用 Lipofectamine 2000 将报告载体分别与 miR-502-5p 拟似物、miR-con 共转染到 Y-79 细胞。转染后 48 h,通过双荧光素酶报告检测试剂盒测定相对荧光素酶活性。

### 1.3 统计学方法

采用 SPSS 20.0 统计学软件进行统计分析。计量资料数据经 Kolmogorov-Smirnov 检验证实呈正态分布,以  $\bar{x} \pm s$  表示。2 个组间各指标的差异比较采用独立样本  $t$  检验;多组间总体差异比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD- $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 人 RB 组织和正常视网膜组织中 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 表达比较

RB 组织中 LncRNA LUCAT1 相对表达量明显高于正常视网膜组织,miR-502-5p 相对表达量明显低于正常视网膜组织,差异均有统计学意义 ( $t = 24.190$ 、 $21.049$ , 均  $P < 0.001$ ) (表 1)。

### 2.2 人 RB 细胞系和 ARPE-19 细胞中 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 相对表达量比较

人 RB 细胞系 Y-79、WERI-Rb-1、HXO-RB44 和 ARPE-19 细胞中 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 相对表达量总体比较,差异均有统计学意义 ( $F = 143.729$ 、 $151.088$ , 均  $P < 0.001$ ),其中 Y-79、WERI-Rb-1 和 HXO-RB44 中 LncRNA LUCAT1 相对表达量明显高于 ARPE-19 细胞,miR-502-5p 相对表达量明显低于 ARPE-19 细胞,差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ) (表 2)。

表 1 人 RB 组织和正常视网膜组织中 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of the relative expression of LncRNA LUCAT1 and miR-502-5p between human RB tissue and normal retinal tissue ( $\bar{x} \pm s$ )

组织	样本量	LncRNA LUCAT1	miR-502-5p
正常视网膜组织	27	1.00 $\pm$ 0.15	1.00 $\pm$ 0.13
RB 组织	27	2.73 $\pm$ 0.34	0.42 $\pm$ 0.06
$t$ 值		24.190	21.049
$P$ 值		<0.001	<0.001

注:(独立样本  $t$  检验) RB:视网膜母细胞瘤;LncRNA:长链非编码 RNA;LUCAT1:肺癌相关转录产物 1;miR:微小 RNA

Note:(Independent samples  $t$ -test) RB:retinoblastoma;LncRNA:long noncoding RNA;LUCAT1:lung cancer associated transcript 1;miR: microRNA

表 2 人 RB 细胞系和 ARPE-19 细胞中 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of the relative expression of LncRNA LUCAT1 and miR-502-5p among human RB cell lines and ARPE-19 cell ( $\bar{x} \pm s$ )

细胞	样本量	LncRNA LUCAT1	miR-502-5p
ARPE-19	9	1.00 $\pm$ 0.10	1.00 $\pm$ 0.11
Y-79	9	2.36 $\pm$ 0.17 <sup>a</sup>	0.41 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>
WERI-Rb-1	9	2.03 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>	0.48 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
HXO-RB44	9	1.83 $\pm$ 0.16 <sup>a</sup>	0.53 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>
$F$ 值		143.729	151.088
$P$ 值		<0.001	<0.001

注:与 ARPE-19 比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$  (单因素方差分析, LSD- $t$  检验) RB:视网膜母细胞瘤;ARPE-19:人视网膜色素上皮细胞;LncRNA:长链非编码 RNA;LUCAT1:肺癌相关转录产物 1;miR:微小 RNA

Note:Compared with ARPE-19,<sup>a</sup> $P < 0.05$  (One-way ANOVA, LSD- $t$  test) RB:retinoblastoma;ARPE-19:human retinal pigment epithelial cells;LncRNA:long noncoding RNA;LUCAT1:lung cancer associated transcript 1;miR: microRNA

### 2.3 抑制 LncRNA LUCAT1 表达后各组细胞增生、迁移和侵袭指标及 MMP2、MMP9 蛋白表达比较

与对照组比较, si-LncRNA LUCAT1 组 Y-79 细胞增生、迁移、侵袭数量均减少, MMP2 和 MMP9 蛋白表达条带强度减弱。对照组、si-con 组和 si-LncRNA LUCAT1 组 Y-79 细胞 LncRNA LUCAT1 相对表达量, MMP2、MMP9 蛋白相对表达量, 细胞活力 A 值, 细胞增生、迁移、侵袭数量总体比较差异均有统计学意义 ( $F = 128.878、118.453、131.299、105.505、154.836、163.717、180.209$ , 均  $P < 0.001$ ), 其中 si-LncRNA LUCAT1 组 LncRNA LUCAT1 相对表达量, MMP2、MMP9 蛋白相对表达量, 细胞活力 A 值, 细胞增生、迁移、侵袭数量较对照组均明显减少, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ) (图 1, 2, 表 3)。

### 2.4 过表达 miR-502-5p 后各组细胞增生、迁移和侵袭指标及 MMP2、MMP9 蛋白表达比较

与 miR-con 组比较, miR-502-5p 组 Y-79 细胞增生、迁移、侵袭数量均减少, MMP2 和 MMP9 蛋白表达条带强度均明显减弱。与 miR-con 组比较, miR-502-5p 组 miR-502-5p 相对表达量较高, MMP2、MMP9 蛋白相对表达量, 细胞活力 A 值, 细胞增生、迁移、侵袭数量较少, 差异均有统计学意义 ( $t = 20.274、14.884、14.181、12.692、17.749、20.889、21.913$ , 均  $P < 0.001$ ) (图 3, 4, 表 4)。

### 2.5 LncRNA LUCAT1 靶向 miR-502-5p 表达

LncBase Predicted v. 2 预测到 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 存在结合位点 (图 5)。与 LncRNA LUCAT1-WT 共转染时, miR-502-5p 组相对荧光素酶活性值低于 miR-con 组, 差异有统计学意义 ( $t = 16.379, P < 0.001$ ); 与 LncRNA LUCAT1-MUT 共转染时, miR-502-5p 组和 miR-con 组相对荧光素酶活性值比较差异无统计学意义 ( $t = 0.446, P = 0.662$ )

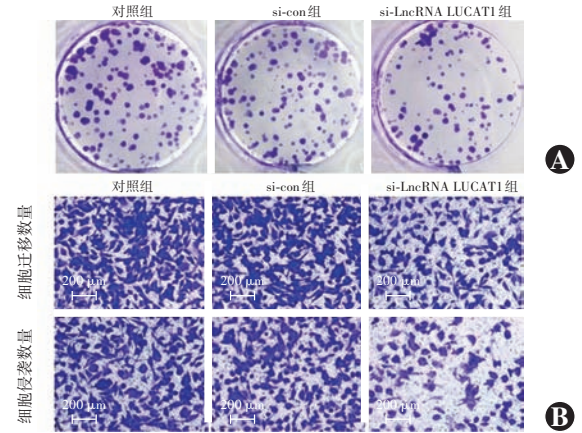


图 1 抑制 LncRNA LUCAT1 表达对人 RB 细胞 Y-79 增生、迁移和侵袭的影响 A: 克隆形成实验 与对照组比较, si-LncRNA LUCAT1 组 Y-79 细胞集落数量减少 B: 细胞迁移和侵袭实验 (结晶紫  $\times 200$ , 标尺 =  $200 \mu\text{m}$ ) 与对照组比较, si-LncRNA LUCAT1 组 Y-79 细胞迁移和侵袭数量均减少 si: 小干扰 RNA; con: 对照; LncRNA: 长链非编码 RNA; LUCAT1: 肺癌相关转录产物 1

Figure 1 Effects of inhibiting LncRNA LUCAT1 on the proliferation, migration and invasion in Y-79 human RB cells A: Clone formation assay There were fewer proliferated Y-79 cells in si-LncRNA LUCAT1 group than in control group B: Migration and invasion assay (Crystal violet  $\times 200$ , bar =  $200 \mu\text{m}$ ) There were fewer migrating and invading Y-79 cells in si-LncRNA LUCAT1 group than in control group si: small interfering RNA; con: control; LncRNA: long noncoding RNA; LUCAT1: lung cancer associated transcript 1

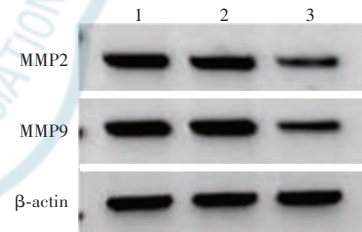


图 2 抑制 LncRNA LUCAT1 表达后人 RB 细胞 Y-79 中 MMP2、MMP9 蛋白表达电泳图 与对照组比较, si-LncRNA LUCAT1 组 MMP2 和 MMP9 蛋白表达条带强度减弱 1: 对照组; 2: si-con 组; 3: si-LncRNA LUCAT1 组 MMP: 基质金属蛋白酶;  $\beta$ -actin:  $\beta$ -肌动蛋白

Figure 2 Electrophoretogram of MMP2 and MMP9 protein expressions after inhibiting LncRNA LUCAT1 in Y-79 human RB cells The MMP2 and MMP9 protein expression bands were weakened in si-LncRNA LUCAT1 group than in control group 1: control group; 2: si-con group; 3: si-LncRNA LUCAT1 group MMP: matrix metalloproteinase

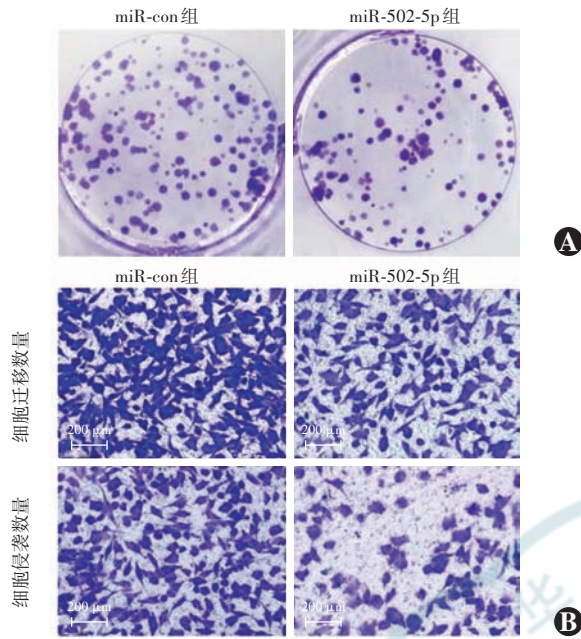
表 3 抑制 LncRNA LUCAT1 表达后各组细胞增生、迁移和侵袭指标及 MMP2、MMP9 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 3 Comparison of the proliferation, migration and invasion indexes, MMP2 and MMP9 protein expressions in Y-79 human RB cells after inhibiting LncRNA LUCAT1 among different groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	LncRNA LUCAT1 相对表达量	MMP2 蛋白 相对表达量	MMP9 蛋白 相对表达量	细胞活力 A 值	细胞集落 数量(个)	细胞迁移 数量(个)	细胞侵袭 数量(个)
对照组	9	1.00 $\pm$ 0.09	0.89 $\pm$ 0.08	0.76 $\pm$ 0.07	1.13 $\pm$ 0.11	134.12 $\pm$ 10.14	243.35 $\pm$ 19.43	173.24 $\pm$ 15.94
si-con 组	9	0.96 $\pm$ 0.10	0.87 $\pm$ 0.09	0.75 $\pm$ 0.07	1.12 $\pm$ 0.10	131.11 $\pm$ 10.36	241.02 $\pm$ 16.03	178.18 $\pm$ 13.61
si-LncRNA LUCAT1 组	9	0.45 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.42 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.36 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	0.59 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>	68.69 $\pm$ 5.27 <sup>a</sup>	127.11 $\pm$ 9.68 <sup>a</sup>	78.06 $\pm$ 6.15 <sup>a</sup>
F 值		128.878	118.453	131.299	105.505	154.836	163.717	180.209
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注: 与对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$  (单因素方差分析, LSD-t 检验) LncRNA: 长链非编码 RNA; LUCAT1: 肺癌相关转录产物 1; MMP: 基质金属蛋白酶; A: 吸光度; si: 小干扰 RNA; con: 对照

Note: Compared with respective control group, <sup>a</sup> $P < 0.05$  (One-way ANOVA, LSD-t test) LncRNA: long noncoding RNA; LUCAT1: lung cancer associated transcript 1; MMP: matrix metalloproteinase; A: absorbance; si: small interfering RNA; con: control





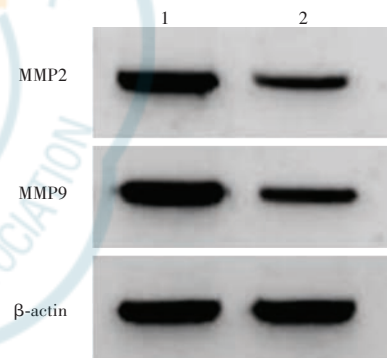
**图 3 过表达 miR-502-5p 对人 RB 细胞 Y-79 增生、迁移和侵袭的影响** A:克隆形成实验 过表达 miR-502-5p 后细胞集落数量减少 B:细胞迁移和侵袭实验(结晶紫 ×200, 标尺 = 200 μm) 过表达 miR-502-5p 后细胞迁移和侵袭数量减少 miR:微小 RNA; con:对照  
**Figure 3 Effects of miR-502-5p overexpression on the proliferation, migration and invasion in Y-79 human RB cells** A: Clone formation assay Proliferation of Y-79 human RB cells was reduced after miR-502-5p overexpression B: Migration and invasion assay (Crystal violet ×200, bar = 200 μm) The number of migrating and invading cells was decreased after miR-502-5p overexpression miR: microRNA; con: control

(表 5)。pcDNA 组、pcDNA-LncRNA LUCAT1 组、si-con 组和 si-LncRNA LUCAT1 组 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 相对表达量总体比较差异均有统计学意义 ( $F = 522.585, 404.827$ , 均  $P < 0.001$ ), 其中 pcDNA-LncRNA LUCAT1 组 LncRNA LUCAT1 相对表达量高于 pcDNA 组, miR-502-5p 相对表达量低于 pcDNA 组, si-LncRNA LUCAT1 组 LncRNA LUCAT1 相对表达量

低于 si-con 组, miR-502-5p 相对表达量高于 si-con 组, 差异均有统计学意义(均  $P < 0.05$ )(表 6)。

**2.6 抑制 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 表达后各组细胞增生、迁移和侵袭指标及 MMP2、MMP9 蛋白表达比较**

与 si-LncRNA LUCAT1 + anti-miR-con 组比较, si-LncRNA LUCAT1 + anti-miR-502-5p 组 Y-79 细胞增生、迁移、侵袭数量均明显增多, MMP2 和 MMP9 蛋白表达条带强度均明显增强。si-LncRNA LUCAT1 + anti-miR-502-5p 组 miR-502-5p 相对表达量低于 si-LncRNA LUCAT1 + anti-miR-con 组, MMP2、MMP9 蛋白相对表达量, 细胞活力 A 值, 细胞增生、迁移、侵袭数量高于 si-LncRNA LUCAT1 + anti-miR-con 组, 差异均有统计学意义 ( $t = 14.097, 15.839, 15.757, 11.860, 16.235, 16.565, 16.487$ , 均  $P < 0.001$ ) (图 6, 7, 表 7)。



**图 4 过表达 miR-502-5p 后人 RB 细胞 Y-79 中 MMP2、MMP9 蛋白表达电泳图** 过表达 miR-502-5p 后 MMP2 和 MMP9 蛋白表达条带减弱 1:miR-con 组; 2:miR-502-5p 组 MMP:基质金属蛋白酶  
**Figure 4 Electrophoretogram of MMP2 and MMP9 protein with miR-502-5p overexpression in Y-79 human RB cells** The protein bands of MMP2 and MMP9 were weakened after miR-502-5p overexpression 1: miR-con group; 2: miR-502-5p group MMP: matrix metalloproteinase

**表 4 过表达 miR-502-5p 后各组细胞增生、迁移和侵袭指标及 MMP2、MMP9 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )**  
**Table 4 Comparison of the proliferation, migration and invasion indexes, MMP2 and MMP9 protein expressions in Y-79 cells after miR-502-5p overexpression ( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	样本量	miR-502-5p	MMP2	MMP9	A 值	细胞集落数量(个)	细胞迁移数量(个)	细胞侵袭数量(个)
miR-con 组	9	1.00 ± 0.09	0.86 ± 0.07	0.74 ± 0.07	1.13 ± 0.10	128.23 ± 9.76	239.11 ± 17.83	173.36 ± 13.29
miR-502-5p 组	9	2.36 ± 0.18	0.46 ± 0.04	0.38 ± 0.03	0.65 ± 0.05	63.05 ± 5.11	105.45 ± 7.11	69.28 ± 5.14
t 值		20.274	14.884	14.181	12.692	17.749	20.889	21.913
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:(独立样本 t 检验) miR:微小 RNA; MMP:基质金属蛋白酶; A:吸光度; con:对照  
 Note:(Independent samples t-test) miR: microRNA; MMP: matrix metalloproteinase; A: absorbance; con: control

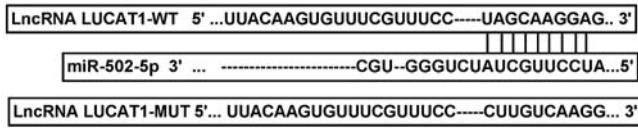


图 5 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 结合位点预测示意图  
LncRNA:长链非编码 RNA;LUCAT1:肺癌相关转录产物 1;WT:野生型;miR:微小 RNA;MUT:突变型

Figure 5 Schematic diagram of the predicted binding sites of LncRNA LUCAT1 and miR-502-5p LncRNA:long noncoding RNA; LUCAT1:lung cancer associated transcript 1; WT:wild type; miR:microRNA;MUT:mutant type

表 5 各组相对荧光素酶活性值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 5 Comparison of relative luciferase activity between two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	相对荧光素酶活性值	
		LncRNA LUCAT1-WT	LncRNA LUCAT1-MUT
miR-con 组	9	1.00±0.10	1.00±0.09
miR-502-5p 组	9	0.43±0.03	1.02±0.10
<i>t</i> 值		16.379	0.446
<i>P</i> 值		<0.001	0.662

注:(独立样本 *t* 检验) LncRNA:长链非编码 RNA;LUCAT1:肺癌相关转录产物 1;WT:野生型;MUT:突变型;miR:微小 RNA;con:对照

Note:(Independent samples *t*-test) LncRNA:long noncoding RNA; LUCAT1:lung cancer associated transcript 1; WT:wild type; MUT:mutant type; miR:microRNA; con:control

表 6 各组 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 6 Comparison of LncRNA LUCAT1 and miR-502-5p expressions among four groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	LncRNA LUCAT1	miR-502-5p
pcDNA 组	9	1.00±0.10	1.00±0.08
pcDNA-LncRNA LUCAT1 组	9	2.35±0.16 <sup>a</sup>	0.41±0.04 <sup>a</sup>
si-con 组	9	1.02±0.09	0.98±0.09
si-LncRNA LUCAT1 组	9	0.46±0.03 <sup>b</sup>	2.11±0.17 <sup>b</sup>
<i>F</i> 值		522.585	404.827
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001

注:与 pcDNA 组比较,<sup>a</sup>*P*<0.05;与 si-con 组比较,<sup>b</sup>*P*<0.05(单因素方差分析,LSD-*t* 检验) LncRNA:长链非编码 RNA;LUCAT1:肺癌相关转录产物 1;miR:微小 RNA;si:小干扰 RNA;con:对照

Note:Compared with respective pcDNA group,<sup>a</sup>*P*<0.05;compared with respective si-con group,<sup>b</sup>*P*<0.05(One-way ANOVA,LSD-*t* test) LncRNA:long noncoding RNA;LUCAT1:lung cancer associated transcript 1;miR:microRNA;si:small interfering RNA;con:control

表 7 抑制 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 表达后各组细胞增殖、迁移和侵袭指标及 MMP2、MMP9 蛋白表达比较 ( $\bar{x} \pm s$ )  
Table 7 Comparison of the proliferation, migration and invasion indexes, MMP2 and MMP9 protein expressions in Y-79 cells after inhibiting LncRNA LUCAT1 and miR-502-5p between two groups ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	miR-502-5p	MMP2 蛋白 相对表达量	MMP9 蛋白 相对表达量	细胞活力 A 值	细胞增殖 数量(个)	细胞迁移 数量(个)	细胞侵袭 数量(个)
si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组	9	1.00±0.11	0.41±0.04	0.38±0.03	0.58±0.05	66.06±5.18	124.22±9.71	76.32±6.25
si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p 组	9	0.45±0.04	0.93±0.09	0.78±0.07	1.02±0.10	125.38±9.66	244.16±19.43	153.37±12.55
<i>t</i> 值		14.097	15.839	15.757	11.860	16.235	16.565	16.487
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:(独立样本 *t* 检验) miR:微小 RNA;MMP:基质金属蛋白酶;A:吸光度;si:小干扰 RNA;LncRNA:长链非编码 RNA;LUCAT1:肺癌相关转录产物 1;con:对照

Note:(Independent samples *t*-test) miR:microRNA;MMP:matrix metalloproteinase;A:absorbance;si:small interfering RNA;LncRNA:long noncoding RNA;LUCAT1:lung cancer associated transcript 1;con:control

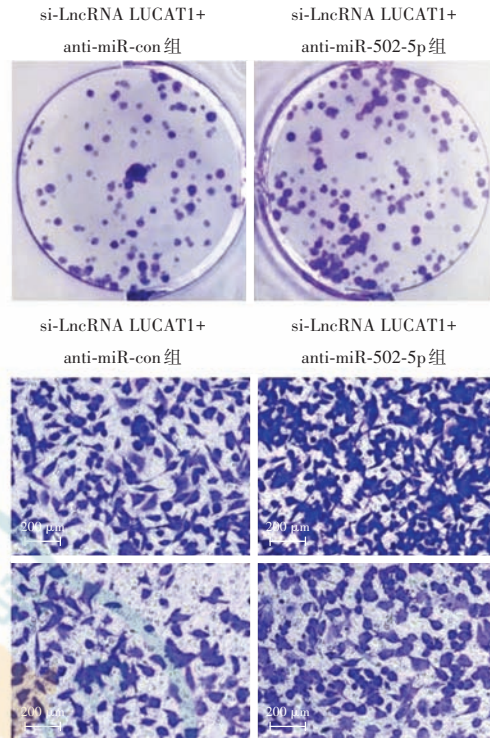


图 6 抑制 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 表达对 Y-79 细胞增殖、迁移和侵袭的影响 A:克隆形成实验 与 si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组比较,si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p 组 Y-79 细胞增殖数量增多 B:细胞迁移和侵袭实验(结晶紫 ×200,标尺=200 μm) 与 si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组比较,si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p 组 Y-79 细胞迁移和侵袭数量增多 si:小干扰 RNA;LncRNA:长链非编码 RNA;LUCAT1:肺癌相关转录产物 1;con:对照

Figure 6 Effects of inhibiting miR-502-5p and LncRNA LUCAT1 on proliferation, migration and invasion in Y-79 cells A: Clone formation assay There were more proliferated Y-79 cells in si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p group than in si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con group B:Migration and invasion assay (Crystal violet ×200, bar=200 μm) There were more migrating and invading Y-79 cells in si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p group than in si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con group si:small interfering RNA;LncRNA:long noncoding RNA;LUCAT1:lung cancer associated transcript 1;con:control



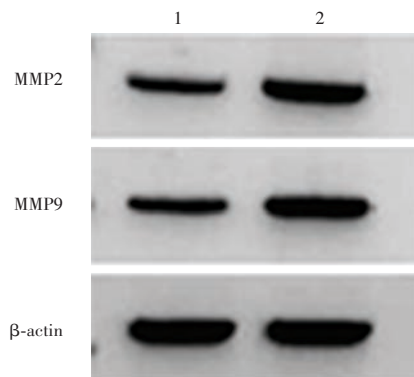


图7 抑制 LncRNA LUCAT1 和 miR-502-5p 表达后人 RB 细胞 Y-79 中 MMP2、MMP9 蛋白表达电泳图 与 si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组比较, si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p 组 MMP2 和 MMP9 蛋白表达条带增强 1: si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con 组; 2: si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p 组 MMP: 基质金属蛋白酶

**Figure 7 Electrophoretogram of MMP2 and MMP9 protein after inhibiting miR-502-5p and LncRNA LUCAT1 in Y-79 human RB cells** The protein bands of MMP2 and MMP9 were stronger in si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p than in si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con group 1: si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-con group; 2: si-LncRNA LUCAT1+anti-miR-502-5p group MMP: matrix metalloproteinase

### 3 讨论

LncRNA 在促进或抑制 RB 的进展、转移方面发挥着重要作用, 研究报道高水平的 LncRNA HEIH 与 RB 患者的 TNM 分期、视神经侵犯和脉络膜侵犯有关<sup>[11]</sup>。LncRNA ADPGK-AS 靶向 miR-623 促进 RB 细胞增生、迁移和侵袭<sup>[12]</sup>。LncRNA NKILA 和 MALAT1 在 RB 中表达下调, 过表达 LncRNA NKILA 和 MALAT1 能促进 RB 细胞凋亡, 抑制细胞生长<sup>[13]</sup>。然而, LncRNA 在 RB 进展中的作用并未完全阐明。LncRNA LUCAT1 在胰腺癌、卵巢癌、甲状腺癌中表达增加, 对癌症进展具有促进作用<sup>[14-16]</sup>。本研究检测到 RB 组织、细胞 (Y-79、WERI-Rb-1、HXO-RB44) 中 LncRNA LUCAT1 表达显著上调, 提示 LncRNA LUCAT1 高表达可能参与 RB 进展。选择表达差异较大的 Y-79 细胞进行功能测定, 结果显示抑制 LncRNA LUCAT1 表达可抑制 Y-79 细胞活力和细胞增生、迁移及侵袭能力。MMP2 和 MMP9 是 MMP 明胶酶, 其可降解基底膜和细胞外基质, 具有促进肿瘤转移的作用<sup>[17]</sup>。本研究中, 抑制 LncRNA LUCAT1 表达可下调 MMP2 和 MMP9 蛋白表达, 证实抑制 LncRNA LUCAT1 可抑制 RB 细胞转移。多项研究一致表明 LncRNA LUCAT1 表达上调可促进乳腺癌细胞恶性进程<sup>[18-19]</sup>。下调 LncRNA LUCAT1 表达还能降低胃癌和宫颈癌细胞的增生、集落形成和迁移能力<sup>[20-21]</sup>, 这些发现与 LncRNA LUCAT1 在 RB 中的致癌作用类似。

有研究报道 miR-502-5p 在多种类型肿瘤中具有广泛的调节功能, 其可通过靶向致癌基因程序性死亡配体-1、转录因子 SP1, 显著抑制胃癌细胞的侵袭、转移和进展<sup>[22-23]</sup>。在肺癌中, miR-502-5p 通过调节核苷酸切除修复交叉互补组 1 表达逆转替莫唑胺耐药<sup>[24]</sup>。另一项研究显示, miR-502-5p 通过调节肌球蛋白 6 表达抑制结肠癌细胞糖酵解和迁移<sup>[25]</sup>。此外, miR-502-5p 可作为 circ\_0000735 的下游靶点参与调控膀胱癌进展<sup>[26]</sup>。本研究显示, RB 组织、细胞 (Y-79、WERI-Rb-1、HXO-RB44) 中 miR-502-5p 表达显著降低, 过表达 miR-502-5p 明显抑制 MMP2 和 MMP9 蛋白表达, 并降低 Y-79 细胞活力及细胞增生、迁移和侵袭能力, 证实 miR-502-5p 在 RB 中的抑癌作用。过表达 LncRNA LUCAT1 后 Y-79 细胞中 miR-502-5p 表达降低, 抑制 LncRNA LUCAT1 后 miR-502-5p 表达升高, 证实 LncRNA LUCAT1 对 miR-502-5p 的负性调控作用。LncRNA LUCAT1 对 miRNA 的吸附作用是其生物学功能研究的热点, 已有研究报道 LncRNA LUCAT1 在乳腺癌、胃癌中的致癌作用分别与调控 miR-181a-5p、miR-134-5p 表达有关<sup>[18,20]</sup>。本研究证实 miR-502-5p 是 LncRNA LUCAT1 的直接靶点, 且抑制 LncRNA LUCAT1 表达和过表达 miR-502-5p 在 RB 中的抗癌作用一致, 提示 LncRNA LUCAT1 可能靶向 miR-502-5p 调控 RB 进展。进一步分析显示, 抑制 miR-502-5p 表达会减弱 LncRNA LUCAT1 对 Y-79 细胞生物学行为的抑制作用, 证实 LncRNA LUCAT1/miR-502-5p 通路在 RB 进展中起到一定作用。然而, 涉及 LncRNA 和 miRNA 的调控通路复杂, LncRNA LUCAT1 下游是否存在其他的 miRNA、miR-502-5p 的下游靶点以及可能信号通路仍有待进一步研究。

总之, 本研究结果显示抑制 LncRNA LUCAT1 通过靶向上调 miR-502-5p 表达能够抑制人 RB 细胞的增生、迁移和侵袭。因此, 靶向抑制 LncRNA LUCAT1/miR-502-5p 途径在 RB 治疗中具有重要意义。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**作者贡献声明** 邢枫: 直接参与选题、酝酿和设计实验、起草文章、对文章知识性内容的审阅; 李永明: 直接参与选题、酝酿和设计实验、对文章智力性内容的修改及定稿; 高明敏: 实施研究、采集数据、分析/解释数据

### 参考文献

- [1] Rao R, Honavar SG. Retinoblastoma [J]. Indian J Pediatr, 2017, 84(12): 937-944. DOI: 10.1007/s12098-017-2395-0.
- [2] Ancona-Lezama D, Dalvin LA, Shields CL. Modern treatment of retinoblastoma: a 2020 review [J]. Indian J Ophthalmol, 2020, 68(11): 2356-2365. DOI: 10.4103/ijo. IJO\_721\_20.



- [3] 柴勇,毛甜. 视网膜母细胞瘤基因遗传学及基因治疗新进展[J]. 江西医药,2017,52(7):704-707.
- [4] 姚娟,李永平. 视网膜母细胞瘤基因治疗研究进展[J]. 中华实验眼科杂志,2011,29(1):92-96. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.01.024.
- Yao J, Li YP. Current advance in gene therapy of retinoblastoma[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2011, 29(1):92-96. DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2011.01.024.
- [5] Mahmoudian-Sani MR, Jalali A, Jamshidi M, et al. Long non-coding RNAs in thyroid cancer: implications for pathogenesis, diagnosis, and therapy[J]. Oncol Res Treat, 2019, 42(3):136-142. DOI:10.1159/000495151.
- [6] 周翔平,魏琛. SNHG1 靶向调控 miR-145 对神经母细胞瘤细胞增殖、侵袭和迁移能力的影响[J]. 郑州大学学报:医学版,2020,55(1):69-73. DOI:10.13705/j.issn.1671-6825.2019.07.019.
- Zhou XP, Wei C. Effects of lncRNA SNHG1 targeting miR-145 on proliferation, invasion and migration of neuroblastoma cells[J]. J Zhengzhou Univ (Med Sci), 2020, 55(1):69-73. DOI:10.13705/j.issn.1671-6825.2019.07.019.
- [7] Jiao Y, Li Y, Ji B, et al. Clinical value of lncRNA LUCAT1 expression in liver cancer and its potential pathways[J]. J Gastrointest Liver Dis, 2019, 28(4):439-447. DOI:10.15403/jgl-356.
- [8] Mou E, Wang H. LncRNA LUCAT1 facilitates tumorigenesis and metastasis of triple-negative breast cancer through modulating miR-5702[J/OL]. Biosci Rep, 2019, 39(9):BSR20190489[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31399501/>. DOI:10.1042/BSR20190489.
- [9] Sun LL, Wang J, Zhao ZJ, et al. Suppressive role of miR-502-5p in breast cancer via downregulation of TRAF2[J]. Oncol Rep, 2014, 31(5):2085-2092. DOI:10.3892/or.2014.3105.
- [10] Zhan L, Yang J, Liu Y, et al. MicroRNA miR-502-5p inhibits ovarian cancer genesis by downregulation of GINS complex subunit 2[J]. Bioengineered, 2021, 12(1):3336-3347. DOI:10.1080/21655979.2021.1946347.
- [11] Gao S, Chu Q, Liu X, et al. Long noncoding RNA HEIH promotes proliferation, migration and invasion of retinoblastoma cells through miR-194-5p/WEE1 axis[J/OL]. Onco Targets Ther, 2020, 13:12033-12041[2022-08-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33262604/>. DOI:10.2147/OTT.S268942.
- [12] 张俊,刘彩林,卜战云. lncRNA ADPGK-AS1 对视网膜母细胞瘤细胞生物学行为的抑制作用及其调控机制[J]. 中华实验眼科杂志, 2021, 39(3):207-215. DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200819-00599.
- Zhang J, Liu CL, Bu ZY. Inhibitory effects of lncRNA ADPGK-AS1 on the biological behaviours of human retinoblastoma cells and its regulating mechanism[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2021, 39(3):207-215. DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20200819-00599.
- [13] Gao YX, Gao HX, Xu XY, et al. Effects of lncRNA MALAT1 and lncRNA NKILA on proliferation, invasion and apoptosis of retinoblastoma[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(16):8296-8307. DOI:10.26355/eurrev\_202008\_22626.
- [14] Nai Y, Pan C, Hu X, et al. LncRNA LUCAT1 contributes to cell proliferation and migration in human pancreatic ductal adenocarcinoma via sponging miR-539[J]. Cancer Med, 2020, 9(2):757-767. DOI:10.1002/cam4.2724.
- [15] Liu HZ, Liu GY, Pang WW, et al. LncRNA LUCAT1 promotes proliferation of ovarian cancer cells by regulating miR-199a-5p expression[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2020, 24(4):1682-1687. DOI:10.26355/eurrev\_202002\_20342.
- [16] Luzón-Toro B, Fernández RM, Martos-Martínez JM, et al. LncRNA LUCAT1 as a novel prognostic biomarker for patients with papillary thyroid cancer[J/OL]. Sci Rep, 2019, 9(1):14374[2022-08-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31591432/>. DOI:10.1038/s41598-019-50913-7.
- [17] 刁长英,王晓慧,谢艺林,等. 上调 THBS1 蛋白的表达对肺腺癌 H1975 细胞迁移能力的影响[J]. 郑州大学学报:医学版,2019,54(3):382-385. DOI:10.13705/j.issn.1671-6825.2018.05.071.
- Diao CY, Wang XH, Xie YL, et al. Effects of up-regulation of THBS1 on migration of lung adenocarcinoma H1975 cells[J]. J Zhengzhou Univ (Med Sci), 2019, 54(3):382-385. DOI:10.13705/j.issn.1671-6825.2018.05.071.
- [18] Liu Y, Cheng T, Du Y, et al. LncRNA LUCAT1/miR-181a-5p axis promotes proliferation and invasion of breast cancer via targeting KLF6 and KLF15[J/OL]. BMC Mol Cell Biol, 2020, 21(1):69[2022-08-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32998707/>. DOI:10.1186/s12860-020-00310-0.
- [19] Li YL, Wang XM, Qiao GD, et al. Up-regulated lnc-lung cancer associated transcript 1 enhances cell migration and invasion in breast cancer progression[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 521(2):271-278. DOI:10.1016/j.bbrc.2019.08.040.
- [20] Chi J, Liu T, Shi C, et al. Long non-coding RNA LUCAT1 promotes proliferation and invasion in gastric cancer by regulating miR-134-5p/YWHAZ axis[J/OL]. Biomed Pharmacother, 2019, 118:109201[2022-08-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31545227/>. DOI:10.1016/j.biopha.2019.109201.
- [21] Zhang L, Liu SK, Song L, et al. SP1-induced up-regulation of lncRNA LUCAT1 promotes proliferation, migration and invasion of cervical cancer by sponging miR-181a[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol, 2019, 47(1):556-564. DOI:10.1080/21691401.2019.1575840.
- [22] You W, Liu X, Yu Y, et al. miR-502-5p affects gastric cancer progression by targeting PD-L1[J/OL]. Cancer Cell Int, 2020, 20:395[2022-08-13]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32821248/>. DOI:10.1186/s12935-020-01479-2.
- [23] Peng X, Wu M, Liu W, et al. miR-502-5p inhibits the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells by targeting SP1[J]. Oncol Lett, 2020, 20(3):2757-2762. DOI:10.3892/ol.2020.11808.
- [24] 郭艳绒,石蕾,来静. miR-502 增强肺癌对替莫唑胺化疗敏感性的机制研究[J]. 中国药师, 2020, 23(11):2156-2161. DOI:10.3969/j.issn.1008-049X.2020.11.016.
- Guo YR, Shi L, Lai J. Mechanism of miR-502 enhancing the sensitivity of lung cancer to temozolomide chemotherapy[J]. China Pharm, 2020, 23(11):2156-2161. DOI:10.3969/j.issn.1008-049X.2020.11.016.
- [25] Liu Y, Li H, Ye X, et al. Hsa\_circ\_0000231 knockdown inhibits the glycolysis and progression of colorectal cancer cells by regulating miR-502-5p/MYO6 axis[J/OL]. World J Surg Oncol, 2020, 18(1):255[2022-08-15]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32993655/>. DOI:10.1186/s12957-020-02033-0.
- [26] Zheng H, Yang C, Tang J. Cyclic RNA circ\_0000735 sponges miR-502-5p to promote bladder cancer cell proliferation and invasion and inhibit apoptosis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2020, 13(12):2994-3003.

(收稿日期:2022-09-10 修回日期:2023-02-08)

(本文编辑:刘艳 施晓萌)