

·基础研究·

LncRNA NEAT1 靶向 miR-185-5p 调控骨肉瘤的机制研究

邱明宪¹ 康肖¹ 王磊²

【摘要】 目的 探究 LncRNA NEAT1 对骨肉瘤细胞的调控机制。方法 采用 qRT-PCR 检测正常人成骨细胞和骨肉瘤细胞中 LncRNA NEAT1 的差异表达, 构建 siRNA-NEAT1#1、siRNA-NEAT1#2、siRNA-NEAT1#3 转染至骨肉瘤细胞并验证其转染效率。通过 CCK-8 法、流式细胞术、Transwell 实验分别检测细胞活力、凋亡、迁移和侵袭能力。使用核质分离实验验证 NEAT1 定位。利用生物信息学预测网站预测 LncRNA NEAT1 的靶基因, 继而采取双荧光素酶精准靶点验证实验。miR-185-5p inhibitor 和 siRNA-NEAT1 共同转染至骨肉瘤细胞中验证 LncRNA NEAT1 通过海绵结合靶基因 miR-185-5p 对骨肉瘤细胞生物学行为进行调控。结果 LncRNA NEAT1 在骨肉瘤组织及细胞中高表达, 在骨肉瘤细胞中敲低 LncRNA NEAT1 表达抑制细胞活力、迁移、侵袭, 促进细胞凋亡, LncRNA NEAT1 竞争性结合 miR-185-5p, 同时敲低骨肉瘤细胞 LncRNA NEAT1 与 miR-185-5p 的表达部分逆转了以上细胞行为。结论 敲低 miR-185-5p 的表达水平可部分逆转 siRNA-NEAT1 对骨肉瘤细胞活力的抑制作用

【关键词】 骨肉瘤; LncRNA NEAT1; miR-185-5p; 细胞活力

Expression of LncRNA NEAT1 in osteosarcoma cells and study of the mechanism of cellular activity via miR-185-5p Qiu Mingxian¹, Kang Xiao¹, Wang Lei². ¹Department of Orthopaedics, ²Department of internal medicine, the Fourth People's Hospital of Hengshui City, Hengshui 053000, China
Corresponding author: Qiu Mingxian, Email: sasmees002@21cn.com

【Abstract】 Objective To investigate the regulatory mechanism of LncRNA NEAT1 on osteosarcoma cells. **Methods** qRT-PCR was used to detect the differential expression of LncRNA NEAT1 in normal human osteoblasts and osteosarcoma cells. siRNA-NEAT1#1, siRNA-NEAT1#2 and siRNA-NEAT1#3 were constructed and transfected into osteosarcoma cells and their transfection efficiency was verified. Cell viability, apoptosis, migration and invasion ability were detected by CCK-8 assay, flow cytometry and transwell assay, respectively. NEAT1 localization was verified using nucleoplasmic isolation experiments. Predicted target genes of LncRNA NEAT1 was detected by bioinformatics prediction website, followed by dual luciferase assay to verify. Co-transfection of miR-185-5p inhibitor and siRNA-NEAT1 into osteosarcoma cells was applied to verify that LncRNA NEAT1 regulated the biological behavior of osteosarcoma cells through sponge binding of the target gene miR-185-5p. **Results** LncRNA NEAT1 was highly expressed in osteosarcoma cells. Knockdown of LncRNA NEAT1 expression in osteosarcoma cells inhibited cell viability, migration, invasion and promoted apoptosis. LncRNA NEAT1 sponged binding to miR-185-5p, knockdown of LncRNA NEAT1 expression with miR-185-5p in osteosarcoma cells partially reversed the above cellular behaviors. **Conclusion** Knockdown of miR-185-5p expression level could partially reverse the inhibitory effect of siRNA-NEAT1 on osteosarcoma cell viability.

【Key words】 Osteosarcoma; LncRNA NEAT1; MiR-185-5p; Cell viability

骨肉瘤(osteosarcoma, OS), 也称为成骨性肉瘤, 被证实是最常见的恶性骨肿瘤类型^[1]。骨肉瘤

是起源于原始成骨细胞的最恶性的原发性骨肿瘤, 其特征是产生骨样物质^[2]。临床上, 骨肉瘤的病理特征是下肢疼痛、肿块、贫血, 甚至影响到行动^[3]。尽管早期诊断和及时治疗使得骨肉瘤的总生存率已有显著提高, 但儿童和青少年骨肉瘤的死亡率仍然很高^[4]。因此, 揭示预测骨肉瘤发生发展的基因具

有深远而广泛的意义。

长非编码RNA (LncRNA)是一种长度超过200个核苷酸的RNA分子^[5-6],由于保守的二级结构,LncRNA已被发现与蛋白质、DNA和RNA相互作用^[7]。并且在功能上有助于多种生物过程,特别是细胞生物行为,如增殖、凋亡、迁移和入侵。Wang等^[8]指出,Lnc-CTSLP8可以通过在功能上充当内源性因子而有效地促进卵巢癌中的细胞迁移和侵袭。Zhang等^[9]指出,LncRNA-ALC能以DNA甲基化依赖的方式表现遗传性下调LZTS1,从而促进结直肠癌的细胞转移。LncRNA核副斑组装转录本1(nuclear paraspeckle assembly transcript 1, NEAT1),位于11号染色体上,已被证实包括OS在内的多种癌症中的表达上调。然而,其调控OS发生进展的机制尚未完全阐明。本研究旨在探究LncRNA NEAT1对骨肉瘤细胞的调控机制。

材料与方法

一、细胞培养和转染

骨肉瘤细胞系(U2OS、Saos2、OS 99-1)和正常人骨成骨细胞系(hFOB1.19)购于中国科学院细胞库(上海),使用添加10%的胎牛血清(FBS, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)的Roswell Park Memorial Institute-1640-1640(RPMI-1640)培养基(Thermo Fisher Scientific, Inc., Waltham, MA, USA)对细胞进行培养,置于37℃、5% CO₂的培养箱中。

siRNA-NEAT1#1、siRNA-NEAT1#2、siRNA-NEAT1#3、siRNA-NC、inhibitor-NC、miR-185-5p inhibitor均购自生工生物工程(上海)股份有限公司(上海,中国)。将细胞以1×10⁶细胞/mL的密度置于6孔板上,按照操作说明书,使用LiPofectamine 2000(11668-019, Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)将1μg siRNA-NEAT1, 1μg miR-185-5p inhibitor转染到骨肉瘤细胞以期敲低LncRNA NEAT1、miR-185-5p表达水平(培养至融合度80%以上)中,转染48 h

后进行后续实验。

二、qRT-PCR

采用TRIzol(15596-018, 北京索莱宝科技有限公司,中国)试剂盒提取细胞中总RNA。使用Prime Script逆转录试剂试剂盒(Takara, China Dalian, China)说明书合成cDNA。然后使用TaqMan通用PCR Master Mix试剂盒(Thermo Fisher Scientific, Inc.)进行Real-time PCR。GAPDH或U6作为内参。采用相对定量法(2^{-ΔΔCt}法)^[14]计算目的基因相对表达量,qPCR扩增参数为:25℃退火10 min, 42℃延伸30 min; 85℃灭活10 min, 延长荧光信号检测后,共40个循环。引物如表1所示。

三、核质分离实验

悬浮细胞并计数,每10⁶个细胞加入300 μL Cell Disruption Buffer(FNN0011, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA),冰上孵育10 min, 4℃下500 g离心3 min,上清为细胞质,沉淀为细胞核,吸取上清液于无酶管中,置于冰上,立即进行RNA提取。细胞核质分离具体步骤及核质RNA提取参照核质分离试剂盒(NUC201, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)说明书进行。以核质分离得到的核质RNA为模板,参照SuperScript™ IV CellsDirect™ cDNA合成试剂盒(11750150, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA)说明书进行反转录,实时荧光定量PCR检测细胞核和细胞质中LncRNA NEAT1的表达。

四、RIP实验

根据制造商的说明,使用EZ-Magna RIP试剂盒(17-701, Millipore, Billerica, MA, USA)进行RIP测定。使用含有蛋白酶和磷酸酶抑制剂混合物(Sigma-Aldrich)的RIP裂解缓冲液裂解大鼠海马神经元。磁珠与AGO2抗体(ab32381, 1:30, Abcam)或抗兔IgG(ab6721, 1:30, Abcam)预孵育(Invitrogen)30 min,用裂解物免疫沉淀,并在4℃下离心过夜。从与磁珠结合的RNA-蛋白质复合物中纯化RNA,然后通过qRT-PCR对沉淀物中LncRNA NEAT1和

表1 qRT-PCR引物序列

Gene	Forward primer(5'-3')	Reverse primer(5'-3')
NEAT1	GCGAGGTGCCTTTACTACAT	TGGAACCCAGAAGACAGA
miR-185-5p	CGTGCTGAGAGAAAGGCAGT	GTGCAGGGTCCGAGGT
GAPDH	ACGGCAAGTTCAACGGCACAG	GACGCCAGTAGACTCCACGACA
U6	CTCGCTTCGGCAGCACA	AACGCTTCACGAATTTGCGT

miR-185-5p 的水平进行分析。

五、CCK-8检测

使用 Cell Counting Kit-8 (CCK-8; Dojindo Molecular Technologies, Gaithersburg, MD, USA) 进行对细胞活力测定。步骤如下, 将细胞接种到 96 孔板中(每孔 2×10^3 个细胞)。细胞在 RPMI1640 培养基(含 10% FBS)中培养。转染后 24、48、72 h, 每孔加入 10 μ L CCK-8 试剂, 37°C 再孵育 3 h。使用 Microplate Reader (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 测量 450 nm 处的吸光度。

六、细胞凋亡检测

转染 48 h 后, 使用膜联蛋白 V-异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 细胞凋亡检测试剂盒 (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ, USA) 检查细胞凋亡。收集细胞后重悬于 500 μ L 1 \times Binding 缓冲液中。然后, 在室温下, 在黑暗条件下, 用 5 μ L Annexin V-FITC 和 5 μ L PI (50 μ g/mL) 对细胞染色 15 min。最后, 使用 FACS Calibur™ 流式细胞仪 (BD Biosciences) 确定细胞凋亡。

七、细胞迁移、侵袭实验

使用 Transwell 测定法测量细胞迁移和侵袭。将 U2O 细胞浓度调整至 1×10^5 /mL, 然后将细胞接种在无血清 DMEM 中带有或不带有基质胶的上部 Transwell 小室中。将含有 10% FBS 的 500 μ L DMEM 补充到下层小室中。再孵育 24 h 后, 上室中未迁移或未侵入的细胞被擦拭。然后将侵入的细胞用 90% 乙醇固定, 用 0.1% 结晶紫染色。使用倒置显微镜对五个随机选择的视野进行计数。

八、双荧光素酶报告基因检测

通过 starbase (<https://starbase.sysu.edu.cn/index.php>) 预测 miR-185-5p 与 LncRNA NEAT1 存在结合位点。将 miR-185-5p 与 NEAT1 的互补结合序列及其突变序列进行扩增, 克隆至 pmiR-GLO luciferase 载体上 (Promega, Madison, WI, USA), 构建野生型质粒 NEAT1-WT 和对应的突变型质粒 NEAT1-MUT。按照操作说明使用 Lipofectamine™ 3000 (Invitrogen, Carlsbad, USA), 分别与 mimic-NC 和 miR-185-5p mimic 共转染至 OS 细胞中, 48 h 后通过 Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega, Madison, WI, USA) 检测荧光素酶活性。

九、统计学分析

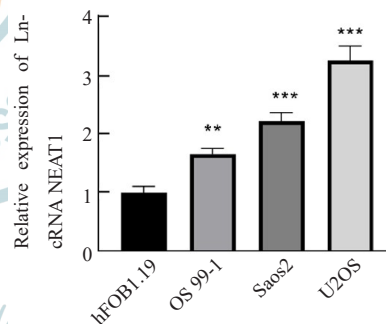
采用 SPSS 21.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL, USA) 统计学软件对数据进行分析。首先进行正态性和方

差齐性检验, LncRNA NEAT1 表达水平、siRNA-NEAT1 转染效率, OS 细胞迁移和侵袭能力、miR-185-5p 水平等检验数据符合正态分布且方差齐, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用独立样本 *t* 检验分析, 多组之间的比较采用 One-Way ANOVA 单因素方差分析, 两两比较采用 *T* 多重比较法。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、LncRNA NEAT1 表达水平在骨肉瘤组织及细胞中上调

为评估 LncRNA NEAT1 在骨肉瘤发生发展中的作用, 我们使用 qRT-PCR 检测 LncRNA NEAT1 在正常人成骨细胞株与骨肉瘤细胞中的表达水平。与正常人成骨细胞株 (hFOB1.19) 相比, LncRNA NEAT1 的表达在 3 种骨肉瘤细胞 (U2OS、Saos2、OS 99-1) 中均显著增加 ($P < 0.01$, 图 1), 其中 LncRNA



注: qRT-PCR 检测 LncRNA NEAT1 在骨肉瘤细胞系中的表达。**代表与正常人成骨细胞系进行比较 $P < 0.01$, ***代表与正常人成骨细胞系进行比较 $P < 0.001$

图 1 LncRNA NEAT1 表达水平在骨肉瘤细胞中上调

NEAT1 表达水平在 U2OS 中最高, 因此后续研究中, 我们采取 U2OS 作为研究对象。

二、LncRNA NEAT1 提升骨肉瘤细胞活力并抑制凋亡

为了探索 LncRNA NEAT1 在骨肉瘤细胞中的作用, 我们分别使用 siRNA-NEAT1#1、siRNA-NEAT1#2、siRNA-NEAT1#3 转染至 U2OS 细胞。我们采取 qRT-PCR 检测各 siRNA-NEAT1 转染效率, 结果显示 siRNA-NEAT1#1 转染效率最高

(图2)。故我们在之后的研究中,选取 siRNA-

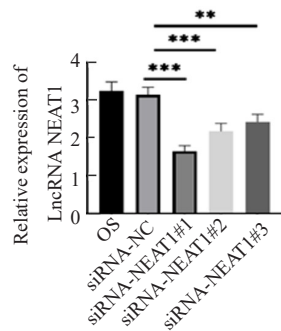


图2 qRT-PCR检测 siRNA-NEAT1的转染效率

NEAT1#1 作为 siRNA-NEAT1,用于后续敲低 NEAT1 表达水平的干扰 RNA。随后,我们分别采取 CCK-8 和流式细胞术探究细胞活力和凋亡,结果显示,与 siRNA-NC 组相比,敲低 LncRNA NEAT1 显著抑制 OS 细胞活力、促进细胞凋亡(图3~4, $P < 0.05$)。此外,在 OS 细胞中敲低 LncRNA NEAT1 后,OS 细胞迁移和侵袭能力均显著下降(图5, $P < 0.05$)。以上结果表明,敲低 LncRNA NEAT1 抑制骨肉瘤进展。

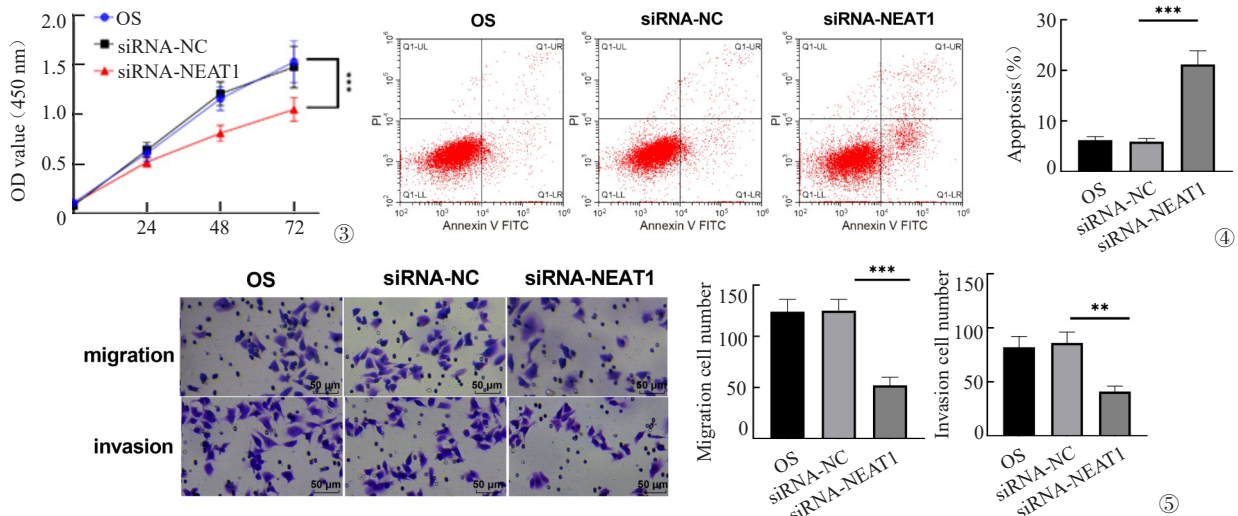
三、LncRNA NEAT1 与 miR-185-5p 竞争性结合

接下来,我们通过上海交通大学模式识别与信息学数据库(<http://www.csbio.sjtu.edu.cn/>)预测发现 NEAT1 主要定位于细胞质中(图6),且通过核质分离实验验证了 NEAT1 主要定位于神经元的

细胞质中(图7),表明其可通过 ceRNA 机制在神经元中发挥调控作用。随后,我们使用 StarBase 在线网站预测 NEAT1 的靶点,我们注意到 miR-185-5p 与 NEAT1 具有结合位点(图8)。我们通过双荧光素酶实验和 RIP 实验验证了 NEAT1 与 miR-185-5p 之间存在直接结合关系(图9~10)。进一步,我们通过 qRT-PCR 检测 miR-185-5p 的表达。结果显示,与正常人成骨细胞株(hFOB1.19)相比,miR-185-5p 水平在骨肉瘤细胞系中显著下降,而在 OS 细胞中敲低 LncRNA NEAT1 后,miR-185-5p 水平得到部分逆转(图11, $P < 0.05$)。以上结果显示,LncRNA NEAT1 与 miR-185-5p 海绵结合。

四、敲低 miR-185-5p 的表达水平可部分逆转 siRNA-NEAT1 对骨肉瘤细胞活力的抑制作用

为了进一步探究 miR-185-5p 是否参与 NEAT1 介导骨肉瘤细胞生长过程,我们在 siRNA-NEAT1 处理的骨肉瘤细胞 U2OS 中下调 miR-185-5p 的表达(图12)。随后观察不同处理组骨肉瘤细胞生物学行为的变化,CCK-8 和流式细胞术探究细胞活力和凋亡结果显示,与转染 siRNA-NEAT1 组相比,同时敲低 NEAT1 及 miR-185-5p 表达水平显著提升 OS 细胞活力、抑制细胞凋亡(图13~14, $P < 0.05$)。此外,transwell 结果显示 OS 细胞迁移和侵袭能力均显著上升(图15, $P < 0.05$)。以上结果表明,敲低 miR-185-5p 的表达水平可部分逆转 siRNA-NEAT1 对骨肉瘤细胞活力的抑制作用。



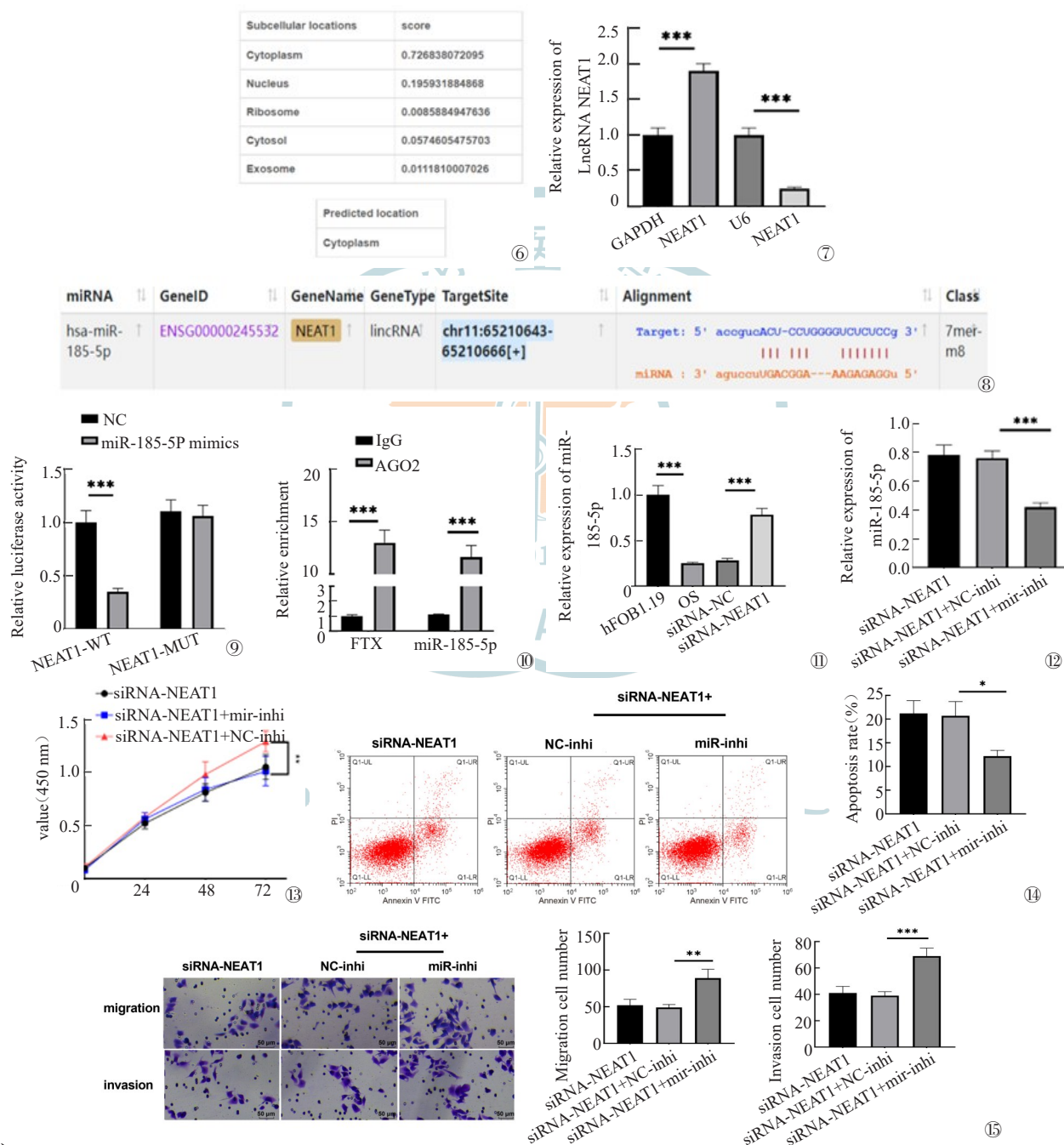
注: OS: 正常培养的 U2OS 细胞, siRNA-NEAT1/NC: siRNA-NEAT1 (或其阴性对照 NC) 转染至 U2OS 细胞, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

图2~5 LncRNA NEAT1 提升骨肉瘤细胞活力并抑制凋亡。图3 CCK-8 检测细胞活力;图4 流式细胞术检测细胞凋亡;图5 transwell 迁移实验检测细胞迁移、侵袭能力

讨 论

OS是最常见于儿童和青少年患者的骨恶性肿瘤,常通过肺转移致死,在儿童和青少年群体中的发病率最高。OS主要发生在长骨(股骨、胫骨、肱骨),

靠近骨骺的生长板,较少发生在颅骨、颌骨和骨盆。自70年代末引入化疗治疗OS以来,新辅助化疗及手术后的辅助治疗已将儿童和青少年的5年生存率提高至78%,但在诊断时或复发时出现转移的患者中仍只有20%^[10]。然而,在过去40多年里,尽管放疗、化疗以



注: *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

图6~11 lncRNA NEAT1与miR-185-5p竞争性结合 图6 数据库预测NEAT1的细胞定位;图7 核质分离检测NEAT1在细胞中的定位;图8 starbase网站预测NEAT1与miR-185-5p结合位点;图9~10 双荧光素酶实验和RIP实验验证NEAT1与miR-185-5p之间的结合;图11 qRT-PCR检测miR-185-5p在不同处理组U2OS细胞中的表达 图12~15 敲低miR-185-5p的表达水平可部分逆转siRNA-NEAT1对骨肉瘤细胞活力的抑制作用。图12 qRT-PCR检测miR-185-5p在不同处理组U2OS细胞中的表达;图13 CCK-8检测细胞活力;图14 流式细胞术检测细胞凋亡;图15 transwell迁移实验检测细胞迁移、侵袭能力

及分子靶向治疗取得了较大进展,但无转移和有转移患者的生存率均没有任何改善。探索改善OS的治疗方法仍然是世界范围内研究的重点。

OS的一个主要特征是其异质性,既包括肿瘤内部的异质性,也包括个体之间的异质性。OS体细胞基因组的复杂性是造成肿瘤内异质性的主要原因。随着对肿瘤认知的深入,机体内大量的非编码RNA在肿瘤进展中的重要作用逐渐被认识,尤其是LncRNA在肿瘤中的作用受到广泛的关注^[11]。LncRNA起初被认为是基因转录的“噪声”,是RNA聚合酶II转录的副产物,不具备生物学功能。然而,近年研究表明LncRNA参与了X染色体沉默、基因组印迹以及染色质修饰、转录激活、转录干扰和核内运输等多种重要的调控作用^[12]。LncRNA与肿瘤的发生发展密切相关,在乳腺癌、胃癌、OS中均已发现一些LncRNA存在异常表达。例如,Kong等^[13]发现,LncRNA CDC6可以促进乳腺癌细胞的增殖和转移,可能是乳腺癌新的预后标志物;Han等^[14]证实LncRNA PART1通过PLZF介导的EZH2募集对PDGFB进行表观沉默,从而抑制胃癌细胞的侵袭性表型;Yu等^[15]发现LncRNA TUG1通过miR-143-5p/HIF-1 α 通路促进OS细胞转移;Wang等^[16]揭示LncRNA SNHG16在OS中高表达,并通过海绵结合miR-1301促进BCL9表达而促进OS的生长。此外,LncRNA的异常表达在肿瘤进展中起着实质性的作用,可以作为肿瘤进展的预测因素^[17]。例如,基于驱动人类癌症常见生物过程有关的5个LncRNA构建的特征模型在预测泛癌预后方面具有较高价值^[18]。然而,LncRNA在OS中的功能尚未完全阐明。核体的结构特征和非编码RNA之间的串联导致了对其靶基因表达的精确控制^[19]。NEAT1作为核富集转录物,已被证实是核体结构的重要组成部分之一,参与调控多种病理生理过程,包括细胞分化和应激反应^[20]。NEAT1还被发现通过改变其启动子的表观遗传结构促进致癌基因的转录,从而推动癌细胞的生长。此外,NEAT1在乳腺癌、非小细胞肺癌中的表达上调,其高表达与患者不良预后呈正相关^[21-22]。与既往研究一致,本研究也发现NEAT1在OS细胞中呈高表达,且NEAT1敲低可显著抑制OS细胞的增殖,并促进细胞凋亡。侵袭和转移是包括OS在内的恶性肿瘤的最基本生物学特性,也是导致癌症患者预后差的主要原因。本研究发现,NEAT1敲低能够抑制OS细胞的迁移和侵袭。因此推测NEAT1可能作为

致癌基因参与OS的发生发展。然而,其参与肿瘤发生的潜在机制仍有待阐明。

许多研究证实了ceRNA假说,即除了通过LncRNA直接调节基因表达外,它们还作为ceRNAs与靶miRNA相互作用并进一步介导靶基因表达,ceRNA假说在恶性肿瘤的调控中至关重要^[23]。miRNA是一类小的非编码RNA分子,通常长度为18-25个核苷酸,其转录后通过与mRNA的3'-非翻译区(3'-UTR)结合来调节基因表达,随后导致mRNA降解或翻译抑制^[24]。有充分的证据表明,miRNA的表达失调在调节各种关键生物过程中起着关键作用,包括细胞发育,分化,增殖和凋亡^[25]。理论上,含有miRNA结合位点的RNA都可以与miRNA结合,然后以ceRNA模式发挥功能,ceRNA调控模式下的LncRNA/miRNA/mRNA网络是对miRNA功能的补充^[26]。在本研究中,首先我们预测NEAT1在细胞中的位置,随后通过核质分离检测NEAT1在细胞核和细胞质中的表达水平,证实NEAT1主要分布在细胞质中,表明NEAT1可以作为ceRNA和miRNA竞争性结合。Du等^[27]发现NEAT1可作为miR-337的ceRNA来调控食管癌细胞的增殖、迁移和侵袭。Zhang等^[28]发现,NEAT1通过与miR-362-3p竞争性结合来促进MIOX的表达,从而在铁死亡中发挥重要作用。Lv等^[29]证实,NEAT1可通过靶向miR-27a来调控PTEN的表达,从而促进脓毒症诱导的肺损伤。miR-185-5p是最早发现的肿瘤抑制基因之一,通常在许多肿瘤中表现出低表达,例如乳腺癌,肺癌和急性髓系白血病^[30]。miR-185-5p参与许多细胞进展,如p53诱导的细胞周期停滞、细胞凋亡和负调节的SIRT1。miR-185-5p在骨肉瘤发生进展中的作用也被研究。有报道,miR-185-5p通过靶向组织蛋白酶E抑制骨肉瘤细胞生长和转移^[31];circ_001569通过介导miR-185-5p促进骨肉瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和上皮-间质转化^[32],这与本研究结果有相似之处。因此,我们进一步探讨了NEAT1是否靶向调控了OS细胞中的miR-185-5p。我们观察到,响应于NEAT1沉默,在OS细胞中观察到显著上调的miR-185-5p表达。同时,NEAT1敲除介导的抗增殖和抗迁移和侵袭作用被miR-185-5p抑制剂消除。因此NEAT1可能作为OS中miR-185-5p的ceRNA。

然而,本研究仍存在许多不足。首先,本研究未对miR-185-5p调控的下游靶基因进行探究。在ceRNA假说中,LncRNA可以与miRNA竞争性结

合,间接地抑制 miRNA 对靶基因的负向调节;miRNA 可以通过类似于 mRNA 的机制对 lncRNA 进行负向调节,或者通过表观遗传学调节对 lncRNA 进行正向调节。第二,本研究仍需要构建 OS 裸鼠移植瘤模型,进一步通过动物模型在体内验证 NEAT1 在 OS 中的作用。最后,NEAT1/miR-185-5p 轴在 OS 患者中的表达谱仍需要进一步研究。

参 考 文 献

- 侯立刚,杨建义,马云山.基于监测、流行病学和最终结果数据库的骨肉瘤临床预测模型的构建[J].中华实验外科杂志,2021,38(12):2518-2522.
- Sadykova LR, Ntekim AI, Muyangwa-Semenova M, et al. Epidemiology and risk factors of osteosarcoma [J]. Cancer Invest, 2020, 38(5): 259-269.
- 王生淋,余凤强,林建华.表皮生长因子受体家族在骨肉瘤中的研究进展[J].中华实验外科杂志,2018,35(4):793-798.
- 杨万波,施俊,何晶,等.术前中性粒细胞淋巴细胞、血小板淋巴细胞和淋巴细胞单核细胞比值对骨肉瘤患者预后的影响[J].中华实验外科杂志,2019,36(11):1963-1965.
- 任维聘,刘桂伟,冶浩鹏,等.长非编码 RNA TUSC7 对结直肠癌细胞奥沙利铂耐药性的影响及其机制[J].中华实验外科杂志,2021,38(8):1515-1519.
- 田亚明,赵辉,王淑娟,等.长链非编码 RNA 同源盒 D 基因簇反义生长相关长非编码 RNA 靶向微小 RNA-6516-5p 调控前列腺癌 DU145 细胞功能的实验研究[J].中华实验外科杂志,2021,38(4):703-707.
- 任维聘,刘桂伟,冶浩鹏,等.长非编码 RNA TUSC7 在结肠癌组织中的表达及其意义[J].中华普通外科杂志,2021,36(12):953-954.
- Wang XJ, Li XD, Lin FK, et al. The lnc-CTSLP8 upregulates CTSL1 as a competitive endogenous RNA and promotes ovarian cancer metastasis [J]. J Exp Clin Cancer Res, 2021, 40(1): 151.
- Zhang C, Wang L, Jin C, et al. Long non-coding RNA lnc-LALC facilitates colorectal cancer liver metastasis via epigenetically silencing LZTS1 [J]. Cell Death Dis, 2021, 12(2): 224.
- Corre I, Verrecchia F, Crenn V, et al. The osteosarcoma microenvironment: a complex but targetable ecosystem [J]. Cells, 2020, 9(4): 976.
- Bridges MC, Daulagala AC, Kourtidis A. LNCcation: lncRNA localization and function [J]. J Cell Biol, 2021, 220(2): e202009045.
- Ali T, Grote P. Beyond the RNA-dependent function of lncRNA genes [J]. Elife, 2020, 23(9): e60583.
- Kong XL, Duan Y, Sang YT, et al. lncRNA - CDC6 promotes breast cancer progression and function as ceRNA to target CDC6 by sponging microRNA-215 [J]. J Cell Physiol, 2019, 234(6): 9105-9117.
- Han H, Wang S, Meng J, et al. Long noncoding RNA PART1 restrains aggressive gastric cancer through the epigenetic silencing of PDGFB via the PLZF-mediated recruitment of EZH2 [J]. Oncogene, 2020, 39(42): 6513-6528.
- Yu X, Hu L, Li SY, et al. Long non-coding RNA Taurine upregulated gene 1 promotes osteosarcoma cell metastasis by mediating HIF-1 α via miR-143-5p [J]. Cell Death Dis, 2019, 10(4): 280.
- Wang XL, Hu KJ, Chao Y, et al. lncRNA SNHG16 promotes proliferation, migration and invasion of osteosarcoma cells by targeting miR-1301/BCL9 axis [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 114: 108798.
- Gu JX, Zhang X, Miao RC, et al. Six-long non-coding RNA signature predicts recurrence-free survival in hepatocellular carcinoma [J]. World J Gastroenterol, 2019, 25(2): 220-232.
- Yang M, Zheng H, Xu K, et al. A novel signature to guide osteosarcoma prognosis and immune microenvironment: Cuproptosis-related lncRNA [J]. 2022: 919231.
- Bao GQ, Xu R, Wang XY, et al. Identification of lncRNA signature associated with Pan-Cancer prognosis [J]. IEEE J Biomed Health Inform, 2021, 25(6): 2317-2328.
- Wen SM, Wei YL, Zen C, et al. Long non-coding RNA NEAT1 promotes bone metastasis of prostate cancer through N6-methyladenosine [J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 171.
- Li WJ, Zhang ZH, Liu XH, et al. The FOXN3-NEAT1-SIN3A repressor complex promotes progression of hormonally responsive breast cancer [J]. J Clin Invest, 2017, 127(9): 3421-3440.
- Jiang YH, Yang JJ, Gu KP. NEAT1 promotes proliferation of NSCLC cells via regulating miR-377-3p/E2F3 [J]. Minerva Surg, 2022, 77(6): 608-610.
- Wu X, Sui Z, Zhang H, et al. Integrated analysis of lncRNA-Mediated ceRNA network in lung adenocarcinoma [J]. Front Oncol, 2020: 554759.
- Hill M, Tran N. miRNA interplay: mechanisms and Consequences in cancer [J]. Dis Model Mech, 2021, 14(4): dmm047662.
- Diener C, Keller A, Meese E. Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic [J]. Trends Genet, 2022, 38(6): 613-626.
- Shetty A, Venkatesh T, Kabbekodu SP, et al. lncRNA-miRNA-mRNA regulatory axes in endometrial cancer: a comprehensive overview [J]. Arch Gynecol Obstet, 2022, 306(5): 1431-1447.
- Du WJ, Xu P, Yin H. lncRNA NEAT1 regulates the growth, migration, and invasion of the human esophageal cancer cells via the miR-377/E2F3 axis [J]. Acta Biochim Pol, 2022, 69(4): 731-736.
- Zhang Y, Luo M, Cui X, O'connell D, yang Y [J]. Long noncoding RNA NEAT1 promotes ferroptosis by modulating the miR-362-3p/MIOX axis as a ceRNA [J]. Cell Death Differ, 2022, 29(9): 1850-1863.
- Lv X, Zhang XY, Zhang Q, et al. lncRNA NEAT1 aggravates sepsis-induced lung injury by regulating the miR-27a/PTEN axis [J]. Lab Invest, 2021, 101(10): 1371-1381.
- Meng W, Xiao T, Liang XC, et al. The miR-182-5p/FGF21/acetylcholine axis mediates the crosstalk between adipocytes and macrophages to promote beige fat thermogenesis [J]. JCI Insight, 2021, 6(17): e150249.
- Wu Y, Zhou WL, Yang ZJ, et al. miR-185-5p represses cells growth and metastasis of osteosarcoma via targeting cathepsin E [J]. Int J Toxicol, 2022, 41(2): 115-125.
- Xiao B, Zhang X, Li X, et al. Circ_001569 regulates FLOT2 expression to promote the proliferation, migration, invasion and EMT of osteosarcoma cells through sponging miR-185-5p [J]. Open Life Sci, 2020: 476-487.

(收稿日期:2023-05-12)

(本文编辑:吕红芝)

邱明宪, 康肖, 王磊. lncRNA NEAT1 靶向 miR-185-5p 调控骨肉瘤的机制研究 [J/CD]. 中华老年骨科与康复电子杂志, 2023, 9(4): 233-239.