

# 长链非编码 RNA FLJ37505 对膀胱癌细胞增殖和迁移影响的作用机制

向涵<sup>1</sup> 刘铮<sup>2</sup> 周毅彬<sup>1</sup> 姚裘<sup>1</sup> 金露<sup>1</sup> 薛波新<sup>1</sup>

<sup>1</sup>苏州大学附属第二医院泌尿外科, 苏州 215004; <sup>2</sup>苏州大学附属第一医院内分泌科, 苏州 215006

通信作者: 薛波新, Email: xhsdfey@163.com

**【摘要】目的** 检测膀胱癌组织及细胞株中长链非编码 RNA(lncRNA) FLJ37505 的表达, 分析 FLJ37505 对膀胱癌细胞增殖和迁移影响的作用机制。**方法** 实时荧光定量 PCR(qPCR) 分析 63 例膀胱癌和癌旁组织(来自 2018 年 1 月至 2019 年 3 月苏州大学附属第二医院泌尿外科膀胱癌手术切除的标本)和膀胱癌细胞株(T24、J82、5637、BIU-87 和 UM-UC-3, 均购自上海生命科学院细胞所)中 FLJ37505 的相对表达。将 FLJ37505 相对表达最少的膀胱癌细胞株根据随机数字法分为对照组(转染空白质粒)和 FLJ37505 组(转染载有 FLJ37505 序列的质粒)。MTS 法和划痕实验分别检测上调 FLJ37505 的表达对细胞增殖和迁移能力的影响。生物信息学预测 FLJ37505 的靶基因。双荧光素酶报告基因系统检测 FLJ37505 与靶基因的结合。qPCR 和 Western 印迹分别检测上调 FLJ37505 对靶基因表达的影响。**结果** 与癌旁组织相比, FLJ37505 在膀胱癌组织表达较低[(4.90±0.79)比(0.89±0.28),  $P<0.05$ ]。与人正常膀胱上皮细胞相比, FLJ37505 在膀胱癌细胞株表达较低( $P<0.05$ ), 其中 FLJ37505 在 UM-UC-3 细胞中的表达最低( $P<0.01$ )。与对照组相比, FLJ37505 组 UM-UC-3 细胞中 FLJ37505 表达较高[(0.79±0.04)比(9.92±1.17),  $P<0.01$ ]。与对照组相比, FLJ37505 组 UM-UC-3 细胞的增殖能力和迁移能力均被抑制(均  $P<0.01$ )。生物信息学显示, FLJ37505 的靶基因是 miR-203a-3p, miR-203a-3p 的靶基因是二型磷脂酰肌醇 4 磷酸酶(INPP4B)。双荧光素酶报告基因系统显示 FLJ37505 可互补结合 miR-203a-3p( $P<0.01$ ), miR-203a-3p 可互补结合 INPP4B mRNA( $P<0.01$ )。与对照组相比, FLJ37505 组 UM-UC-3 细胞中 miR-203a-3p 的表达较低[(1.00±0.05)比(0.20±0.02),  $P<0.01$ ], INPP4B 在 mRNA 和蛋白水平的表达均明显增加(均  $P<0.01$ )。**结论** 膀胱癌组织和膀胱癌细胞中 FLJ37505 的表达较低, 上调 FLJ37505 可显著抑制膀胱癌 UM-UC-3 细胞的增殖能力和迁移能力, 其作用机制可能是通过吸附 miR-203a-3p 而上调 INPP4B 基因的表达。

**【关键词】** 膀胱癌; 长链非编码 RNA; 细胞增殖; 细胞迁移

**基金项目:** 国家自然科学基金(81802524)

DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20190728-01676

## Effects of long non-coding RNA FLJ37505 on the proliferation and migration of bladder cancer cells

Xiang Han<sup>1</sup>, Liu Zheng<sup>2</sup>, Zhou Yibin<sup>1</sup>, Yao Qiu<sup>1</sup>, Jin Lu<sup>1</sup>, Xue Boxin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Urology, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, China; <sup>2</sup>Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215006, China

Corresponding author: Xue Boxin, Email: xhsdfey@163.com

**【Abstract】 Objective** To examine the expression of long-chain non-coding RNA (lncRNA) FLJ37505 in bladder cancer tissues and cell lines, and to analyze the molecular mechanism of FLJ37505 to inhibit the proliferation and migration of bladder cancer cells. **Methods** Quantitative Real-time PCR (qPCR) was used to analyze the relative expression of FLJ37505 in 63 cases of bladder cancer tissues and bladder cancer cell lines (T24, J82, 5637, BIU-87 and UM-UC-3). The bladder cancer cell lines with the least expression of FLJ37505 were divided into control group (transfected with blank plasmid) and FLJ37505 group (transfected with a plasmid carrying the FLJ37505 sequence) according to random number method. MTS assay and scratch assay were used to detect the effect of up-regulation of FLJ37505 expression on cell

proliferation and migration. Bioinformatics predicts the target gene of FLJ37505. The dual luciferase reporter system detects the binding of FLJ37505 to the target gene. qPCR and Western blot were used to detect the effect of FLJ37505 on the expression of target gene. **Results** Compared with adjacent tissues, FLJ37505 expression was lower in bladder cancer tissue [(4.90±0.79) vs (0.89±0.28),  $P<0.05$ ]. Compared with human normal bladder tubular epithelial cells, the expression of FLJ37505 was lower in bladder cancer cell lines ( $P<0.05$ ), and FLJ37505 has the lowest expression in UM-UC-3 cells ( $P<0.01$ ). Compared with the control group, the expression of FLJ37505 in UM-UC-3 cells of FLJ37505 group was higher [(0.79±0.04) vs (9.92±1.17),  $P<0.01$ ]. Compared with the control group, the proliferation ability of UM-UC-3 cells in FLJ37505 group was inhibited ( $P<0.05$ ), and the cell migration ability was also inhibited ( $P<0.01$ ). Bioinformatics showed that the target gene of FLJ37505 is miR-203a-3p, and the target gene of miR-203a-3p is inositol polyphosphate 4-phosphatase type II (INPP4B). The dual luciferase reporter gene system showed that FLJ37505 could complement the miR-203a-3p ( $P<0.01$ ), and miR-203a-3p could complement the INPP4B mRNA ( $P<0.01$ ). Compared with the control group, the expression of miR-203a-3p was lower [(1.00±0.05) vs (0.20±0.02),  $P<0.01$ ], the expression of INPP4B in mRNA and protein levels of UM-UC-3 cells in FLJ37505 group was significantly increased (all  $P<0.01$ ). **Conclusions** The expression of FLJ37505 was significantly decreased in bladder cell carcinoma and bladder cancer cells. Up-regulation of FLJ37505 significantly inhibits the proliferation and migration of bladder cell carcinoma UM-UC-3 cells, and the mechanism might be up-regulating the expression of the INPP4B gene by adsorbing miR-203a-3p.

**【 Key words 】** Bladder cancer; Long noncoding RNA; Cell proliferation; Cell migration

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China(81802524)

DOI: 10.3760/cma.j.cn112137-20190728-01676

膀胱癌是最常见的泌尿系肿瘤之一,发源于膀胱上皮,晚期膀胱癌患者的生存率很低<sup>[1-2]</sup>。膀胱癌的发病机制至今仍不明确,寻找用于早期诊断、治疗和判断预后膀胱癌标志物具有重要的临床意义。长链非编码 RNA (lncRNA) 是长度大于 200 个核苷酸的 RNA 序列,本身不具有编码蛋白质的功能<sup>[3]</sup>。lncRNA 具有调控基因表达的作用,在肿瘤的发生、发展过程中发挥癌基因或抑癌基因的作用<sup>[4]</sup>。近年来的研究表明,膀胱癌中存在很多异常表达的 lncRNA,与膀胱癌的分期、分级和预后密切相关<sup>[5]</sup>。FLJ37505 是一种新发现的 lncRNA,其在肿瘤特别是膀胱癌中的表达模式和功能并不清楚。本研究通过分析膀胱癌组织和细胞株中 FLJ37505 的表达,观察上调 FLJ37505 对膀胱癌细胞增殖和迁移能力的影响并探讨其分子作用机制。

## 对象与方法

1. 病例来源: 63 例膀胱癌组织和癌旁组织来自 2018 年 1 月至 2019 年 3 月苏州大学附属第二医院泌尿外科膀胱癌手术切除的标本。所有患者术前均未行放疗和化疗。所有组织标本均经两位以上病理科专家鉴定。本研究经本院伦理委员会批准(2017 年伦研批第 12 号),患者均签署知情同意书。

2. 细胞株和主要试剂: 膀胱癌细胞株(T24、

J82、5637、BIU-87 和 UM-UC-3) 以及人正常膀胱上皮细胞(SV-HUC-1) 购自上海生命科学院细胞所。载有无意义序列的阴性对照质粒、载有 FLJ37505 序列的质粒、pmirGLO-FLJ37505-野生型(WT)、pmirGLO-FLJ37505-突变型(Mut)、pmirGLO-二型磷脂酰肌醇 4 磷酸酶(INPP4B)-WT 和 pmirGLO-INPP4B-Mut 荧光报告载体购自上海吉玛公司。DMEM 培养基、RPMI 1640 培养基和胎牛血清购自美国 Gibco 公司。qPCR 引物购自上海生物工程股份有限公司。qPCR 试剂盒购于日本 TaKaRa 公司。Lipofectamine™2000 购自美国 Invitrogen 公司。双荧光素酶报告基因系统试剂盒购自美国 Promega 公司。四甲基偶氮唑蓝(MTS) 试剂盒购自美国 Sigma 公司。GAPDH、INPP4B、PI3K、Akt、p-Akt、mTOR 蛋白抗体购自英国 Abcam 公司。

3. 细胞培养和转染: 在加入 10% 胎牛血清和 2% 双抗的 DMEM 培养基中培养细胞系 UM-UC-3 和 SV-HUC-1, 在加入 10% 胎牛血清和 2% 双抗的 RPMI 1640 培养基中培养细胞系 T24、J82、5637、BIU-87。培养箱条件设置为 37℃、5% CO<sub>2</sub>。在显微镜下观察 UM-UC-3 细胞生长状态, 选取处于对数生长期且状态良好的细胞转染, 根据 Lipofectamine™2000 说明书转染。细胞随机分为对照组(转染载有无意义序列的空白质粒) 和 FLJ37505 组(转染载有 FLJ37505 序列的质粒), 以

50 ng/ml 的浓度转染细胞, 12 h 后更换新鲜培养基, 细胞继续常规培养 72 h, 进行后续实验。

4. qPCR 检测组织或细胞中 FLJ37505 和 INPP4B mRNA 的表达: 采用 Trizol 法组织和细胞中的总 RNA, 进一步逆转录为 cDNA 后, 采用 qPCR 试剂盒检测组织和细胞中 FLJ37505、miR-203a-3p 和 INPP4B mRNA 的相对表达, 分别以 U6 和 GAPDH 为内参。qPCR 反应条件为 95 °C 3 min、95 °C 10 s、63 °C 35 s、72 °C 35 s, 35 个循环。采用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算 qPCR 荧光值。qPCR 引物见表 1。

表 1 FLJ37505 和 INPP4B mRNA 表达的 qPCR 引物序列

基因	序列(5'-3')
FLJ37505	上游: ACCAGGAGACATCAGGATCAA
	下游: TGAATTTGCATGTGTGCATC
INPP4B	上游: CCAGAAGACTCCAAATGAACCG
	下游: ACGGGTGGATTACGGAGA
GAPDH	上游: CTGTGGGAGCGAATCGAGG
	下游: CAGCGCAAGATGTCCATCA
U6	上游: CTCGCTTCGGCAGCACA
	下游: AACGCTTCACGAATTTGCGT
miR-203a-3p	上游: GGGAGTGGTTCTTAACAGTTCA
	下游: CAGTGCCTGTCGTGGACT

5. MTS 法检测 UM-UC-3 细胞增殖: 转染 48 h 后, 取对数生长期且状态良好的各组细胞制备单细胞悬液, 采用 96 孔板以  $5 \times 10^3$  个/孔进行接种, 每组设置 4 个复孔。分别于第 1、2、3、4、5 天进行 MTS 检测, 每孔加入 20  $\mu$ l MTS 试剂, 在培养箱中避光培养 4 h 后, 酶标仪检测每孔在 450 nm 波长下的吸光度, 绘制 UM-UC-3 细胞的生长曲线。

6. 划痕实验检测 UM-UC-3 细胞迁移: 转染 48 h 后, 取对数生长期且状态良好的各组细胞制备单细胞悬液, 以  $5 \times 10^5$  个/孔接种于 6 孔板内。采用记号笔在 6 孔板的底面划出宽度均匀的线条。细胞培养至融合度为 95%, 采用磷酸盐缓冲液洗 1 次, 采用 200  $\mu$ l 移液枪枪头进行划痕。采用磷酸盐缓冲液洗 3 次, 加入无血清培养基, 培养箱中连续培养 24 h, 在显微镜下拍照并统计细胞迁移率。

7. 生物信息学预测 FLJ37505 的靶基因和双荧光素酶报告基因系统验证基因结合: 使用生物信息学网站 starBase v3.0 预测 FLJ37505 可互补结合的 miRNA。使用生物信息学网站 miRTarBase 预测可互补结合的 mRNA。取对数生长期的 UM-UC-3 细胞, 每孔以  $3 \times 10^4$  个细胞接种于 96 孔板。为了验证

FLJ37505 与 miR-203a-3p 的结合, 将荧光素酶报告载体与 miR-203a-3p 或 miR-NC 共转染 UM-UC-3 细胞, 分为 4 组: miR-NC+FLJ37505-WT、miR-203a-3p+FLJ37505-WT、miR-NC+FLJ37505-Mut、miR-203a-3p+FLJ37505-Mut。为了验证 miR-203a-3p 与 INPP4B 的结合, 将荧光素酶报告载体与 miR-203a-3p 或 miR-NC 共转染 UM-UC-3 细胞, 分为 4 组: miR-NC+INPP4B -WT、miR-203a-3p+INPP4B -WT、miR-NC+INPP4B -Mut、miR-203a-3p+INPP4B -Mut。48 h 后收集细胞, 依据双荧光素酶报告基因系统试剂盒说明书分析相对荧光素酶活性。相对荧光素酶活性=萤火虫荧光素酶活性值/海肾荧光素酶活性值。

8. Western 印迹检测细胞 INPP4B 及下游蛋白的表达: 转染 48 h 后, 采用全细胞裂解液提取对照组和 FLJ37505 组的 UM-UC-3 细胞蛋白质, BCA 法检测蛋白浓度, 采用 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 硝酸纤维素膜转膜后采用 5% 脱脂奶粉进行封闭, 以 GAPDH 作为内参。分别与一抗 GAPDH(1:1 000)、INPP4B(1:3 000)、PI3K(1:2 000)、Akt(1:2 000)、p-Akt(1:2 000)、mTOR(1:2 000) 在 4 °C 下孵育过夜, 分别与二抗在室温下孵育, 采用 Bio-rad 图像扫描分析系统拍照并观察条带。

9. 统计学分析: 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析, 经正态性检验, 基因表达量和细胞迁移率符合正态分布, 采用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间数据比较采用 *t* 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

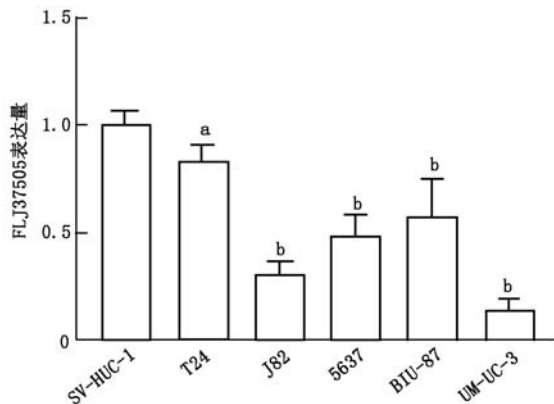
## 结 果

1. FLJ37505 在膀胱癌组织和癌旁组织中的表达: 通过 qPCR 检测组织中 FLJ37505 相对表达量, 与癌旁组织相比, 在膀胱癌组织中 FLJ37505 表达水平较低 [ $4.90 \pm 0.79$ ] 比 [ $0.89 \pm 0.28$ ],  $P < 0.05$ 。

2. FLJ37505 在正常膀胱上皮细胞和膀胱癌细胞株的表达: 通过 qPCR 检测细胞株中 FLJ37505 相对表达量, 膀胱癌细胞株中 FLJ37505 表达水平低于正常膀胱上皮细胞 ( $P < 0.05$ ), UM-UC-3 细胞中 FLJ37505 的表达最低 ( $P < 0.01$ ) (图 1)。

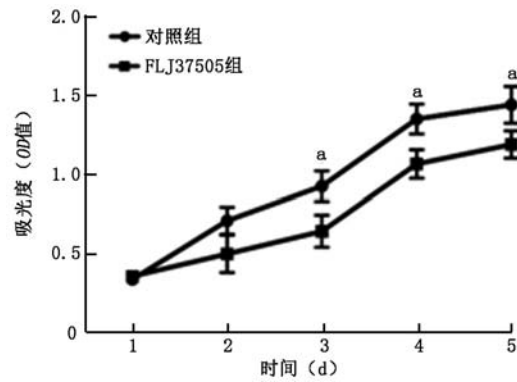
3. 检测 FLJ37505 质粒的转染效率: 对照组和 FLJ37505 组 UM-UC-3 细胞中 FLJ37505 相对表达量分别为  $0.79 \pm 0.04$  和  $9.92 \pm 1.17$  ( $t = 7.83$ ,  $P < 0.01$ ), 表明上调 FLJ37505 的表达成功。

4. 上调 FLJ37505 对 UM-UC-3 细胞增殖的影响: MTS 检测结果显示, 与对照组相比, FLJ37505 组



注:与SV-HUC-1细胞相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$

图1 FLJ37505在正常膀胱上皮细胞和膀胱癌细胞株中的表达



注:与对照组相比,<sup>a</sup> $P < 0.05$

图2 对照组和FLJ37505组UM-UC-3细胞增殖能力的变化曲线

的UM-UC-3细胞从第3天开始,增殖能力明显降低( $P < 0.05$ )(图2)。

5. 上调FLJ37505对UM-UC-3细胞迁移的影响:划痕实验显示,对照组和FLJ37505组UM-UC-3细胞迁移率分别为 $(61.19 \pm 6.90)\%$ 和 $(28.94 \pm 4.11)\%$ ( $P < 0.01$ )。与对照组相比,转染FLJ37505后的膀胱癌细胞迁移能力被明显抑制(图3)。

6. 生物信息学和双荧光素酶报告基因系统预测及验证FLJ37505的靶基因:使用生物信息学网站starBase v3.0预测及双荧光素酶报告基因系统验证,FLJ37505可互补结合miR-203a-3p( $P < 0.01$ )(图4)。使用生物信息学网站miRTarBase预测及双荧光素酶报告基因系统验证,miR-203a-3p可互补结合INPP4B mRNA( $P < 0.01$ )(图5)。

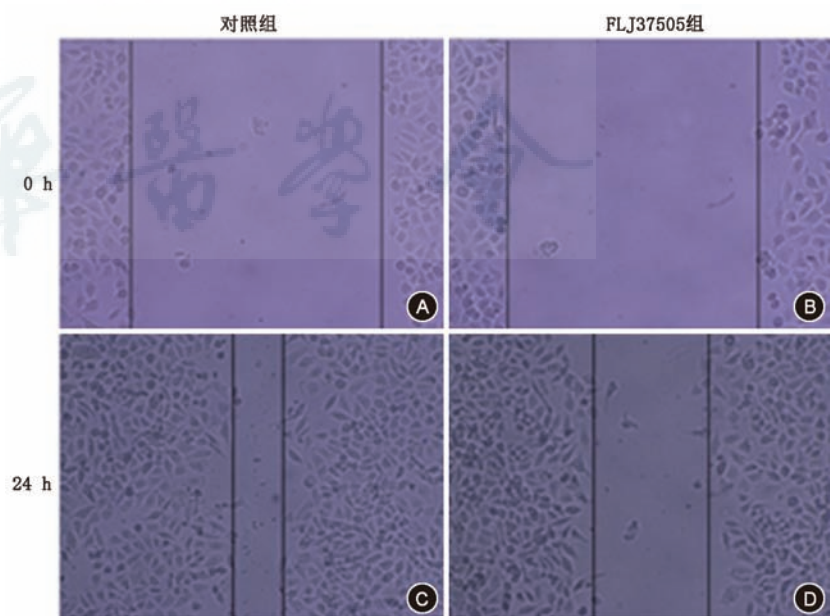
7. 两组细胞中miR-203a-3p和INPP4B mRNA的表达:对照组和FLJ37505组UM-UC-3细胞中miR-203a-3p相对表达量分别为 $1.00 \pm 0.05$ 和 $0.20 \pm 0.02$ ( $t = 15.36$ ,  $P < 0.01$ )。与对照组相比,FLJ37505组细胞中miR-203a-3p的表达明显较低。对照组和FLJ37505组UM-UC-3细胞中INPP4B mRNA相对表达量分别为 $1.01 \pm 0.07$ 和 $5.11 \pm 0.61$ ( $t = 6.68$ ,  $P < 0.01$ )。与对照组相比,FLJ37505组细胞中INPP4B mRNA的表达显著高于对照组。

8. 上调FLJ37505对INPP4B蛋白及下游蛋白表达的影响:Western

印迹结果显示,与对照组相比,转染FLJ37505后,INPP4B蛋白表达明显较高,PI3K/AKT信号通路蛋白如PI3K、p-Akt、mTOR蛋白表达明显较低,PI3K/AKT信号通路转导被抑制(图6)。

## 讨论

lncRNA由RNA聚合酶II合成,虽然不能编码蛋白质,但在转录水平、转录后水平均可发挥调控基因表达的作用<sup>[6]</sup>。lncRNA在细胞中参与多种生命活动的调节,其功能失调与乳腺癌、肺癌、肝癌、结直肠癌等多种肿瘤的发生发展显著相关<sup>[7-9]</sup>。lncRNA近年来已成为膀胱癌防治研究的热点,越



注:A:对照组UM-UC-3细胞在0h的划痕;B:FLJ37505组UM-UC-3细胞在0h的划痕;C:对照组UM-UC-3细胞在24h的划痕;D:FLJ37505组UM-UC-3细胞在24h的划痕

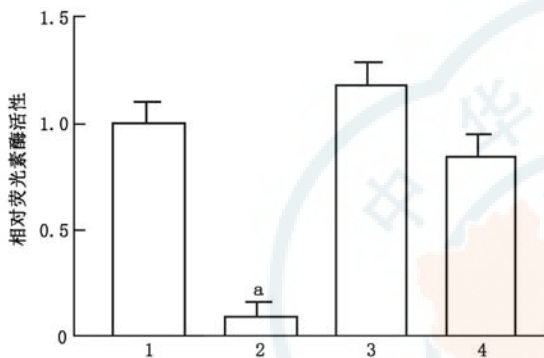
图3 划痕实验检测对照组和FLJ37505组UM-UC-3细胞的迁移能力

来越多的 lncRNA 如 LINC00641、TP73-AS1、UCA1、ZFAS1、FGFR3-AS1、DANCR 被证实在膀胱癌的发生、发展中表现为癌基因或抑癌基因的作用<sup>[10-15]</sup>。FLJ37505 是一种新发现的 lncRNA, 其在肿瘤特别是膀胱癌中的作用尚不明确。

5'...GGUUCAUAACAAAUAACAUAUUUCA...3' FLJ37505-WT  
 |||||  
 3'GAUCACCAGG---AUUGUAAAGU 5' miR-203a-3p

5'...GGUUCAUAACAAAUAUGUAAAGU...3' FLJ37505-Mut

图 4 生物信息学网站 starBase v3.0 预测 FLJ37505 和 miR-203a-3p 的互补结合序列



注: 1 为 miR-NC + FLJ37505-WT; 2 为 miR-203a-3p + FLJ37505-WT; 3 为 miR-NC+FLJ37505-Mut; 4 为 miR-203a-3p+FLJ37505-Mut; 与 1 相比, \*P<0.01

图 5 双荧光素酶报告基因系统验证 FLJ37505 与 miR-203a-3p 的互补结合

本研究结果显示, 膀胱癌组织和细胞株中 FLJ37505 的表达较低, FLJ37505 可能在膀胱癌中表现为抑癌基因的作用。MTS 法和划痕实验进一步显示, 上调 FLJ37505 可抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移能力。作为一种线性 RNA, lncRNA 可作为海绵一样竞争结合细胞内 miRNA, 发挥“内源性竞争 RNA”作用, 下调 miRNA 的表达, 抑制其活性<sup>[14]</sup>。生物信息学网站 starBase v3.0 预测显示, miR-203a-3p 是 FLJ37505 的潜在靶基因。有研究表明, miR-203a-3p 在结直肠癌中表达明显增加, 参与结直肠癌的进展, 与结直肠癌的不良预后密切相关, 发挥癌基因的作用<sup>[16]</sup>。双荧光素酶报告基因系统证实 FLJ37505 能直接与 miR-203a-3p 相结合, miR-203a-3p 是 FLJ37505 的靶基因。本研究表明, 上调 FLJ37505 的 UM-UC-3 细胞中 miR-203a-3p 表达明显增加, 表明 FLJ37505 可抑制 miR-203a-3p 的表达。miRNA 通过与靶基因 mRNA 的 3' 端非翻译区结合, 招募多种蛋白, 引起 mRNA 的降解或直接抑制其翻译成蛋白质<sup>[17]</sup>。lncRNA 通过抑制 miRNA

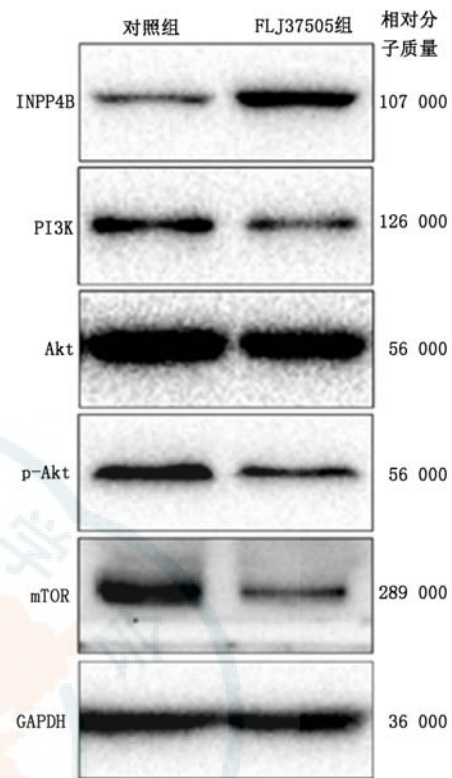


图 6 Western 印迹检测 FLJ37505 对 INPP4B 及 P13K/AKT 信号通路蛋白表达的影响

的表达, 进而调控 miRNA 的靶基因表达<sup>[12]</sup>。miRTarBase 预测显示, INPP4B 是 miR-203a-3p 的潜在靶基因。双荧光素酶报告基因系统证实 miR-203a-3p 能直接与 INPP4B mRNA 3' 非翻译区相结合, INPP4B 是 miR-203a-3p 的靶基因。INPP4B 是最新研究发现的脂质磷酸酶, INPP4B 在多种肿瘤中表达明显减少, 参与肿瘤的生长和转移, 被认为是一种潜在的抑癌基因<sup>[18-19]</sup>。INPP4B 在膀胱癌中呈低表达, 具有抑制膀胱癌恶性生物学行为的作用<sup>[20]</sup>。本研究表明, miR-203a-3p 的表达降低, UM-UC-3 细胞中 INPP4B 表达明显增加, 表明 miR-203a-3p 可抑制 INPP4B 的表达。有研究显示, INPP4B 可通过抑制 P13K/AKT 信号通路的传导抑制肿瘤细胞的生长和转移<sup>[21]</sup>。本研究结果表明, INPP4B 表达上调后, P13K/AKT 信号通路蛋白如 PI3K、p-Akt、mTORRb 蛋白表达明显降低, P13K/AKT 信号通路转导被抑制, 进一步提示膀胱癌 UM-UC-3 细胞的增殖和迁移能力可能降低。

综上所述, lncRNA FLJ37505 在膀胱癌组织和细胞株中表达降低, 上调 FLJ37505 抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移能力, 其作用机制可能是 lncRNA FLJ37505 可通过吸附 miR-203a-3p, 促进 INPP4B 的

表达。FLJ37505 有望成为膀胱癌的分子治疗靶点和诊断标志物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

### 参 考 文 献

- [1] Cao X, Xu J, Yue D. LncRNA-SNHG16 predicts poor prognosis and promotes tumor proliferation through epigenetically silencing p21 in bladder cancer[J]. *Cancer Gene Ther*, 2018, 25(1-2): 10-17. DOI: 10.1038 / s41417-017-0006-x.
- [2] Ge Q, Wang C, Chen Z, et al. The suppressive effects of miR-1180-5p on the proliferation and tumorigenicity of bladder cancer cells[J]. *Histol Histopathol*, 2017,32(1):77-86. DOI: 10.14670/HH-11-772.
- [3] Zhu F, Zhang X, Yu Q, et al. LncRNA AWPPH inhibits SMAD4 via EZH2 to regulate bladder cancer progression[J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(6): 4496-4505. DOI: 10.1002 / jcb.26556.
- [4] Quan J, Pan X, Zhao L, et al. LncRNA as a diagnostic and prognostic biomarker in bladder cancer: a systematic review and meta-analysis[J]. *Oncotargets Ther*, 2018,11:6415-6424. DOI: 10.2147/OTT.S167853.
- [5] Li J, Li Y, Meng F, et al. Knockdown of long non-coding RNA linc00511 suppresses proliferation and promotes apoptosis of bladder cancer cells via suppressing Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway[J]. *Biosci Rep*, 2018, 38(4)pii: BSR20171701. DOI: 10.1042/BSR20171701.
- [6] He W, Zhong G, Jiang N, et al. Long noncoding RNA BLACAT2 promotes bladder cancer-associated lymphangiogenesis and lymphatic metastasis[J]. *J Clin Invest*, 2018,128(2):861-875. DOI: 10.1172/JCI96218.
- [7] Jin B, Gong Y, Li H, et al. C/EBP $\beta$  promotes the viability of human bladder cancer cell by contributing to the transcription of bladder cancer specific lncRNA UCA1[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 506(3): 674-679. DOI: 10.1016 / j. bbr.2018.10.152.
- [8] 孙中仪, 晏鹏, 王圣杰, 等. 长链非编码 RNA 在人退变椎间盘组织中的基因表达谱[J]. *中华医学杂志*, 2017,97(33): 2582-2586. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.33.006.
- [9] 邓楨, 苏日古, 黄自坤. 循环 lncRNA 作为疾病诊断潜在标志物的研究进展[J]. *中华医学杂志*, 2017,97(24):1913-1917. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.24.017.
- [10] Zhan Y, Chen Z, Li Y, et al. Long non-coding RNA DANCR promotes malignant phenotypes of bladder cancer cells by modulating the miR-149/MSI2 axis as a ceRNA[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 37(1): 273. DOI: 10.1186 / s13046-018-0921-1.
- [11] Tuo Z, Zhang J, Xue W. LncRNA TP73-AS1 predicts the prognosis of bladder cancer patients and functions as a suppressor for bladder cancer by EMT pathway[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018,499(4):875-881. DOI: 10.1016/j. bbr.2018.04.010.
- [12] Wang JS, Liu QH, Cheng XH, et al. The long noncoding RNA ZFAS1 facilitates bladder cancer tumorigenesis by sponging miR-329[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103: 174-181. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.04.031.
- [13] Liao X, Chen J, Liu Y, et al. Knockdown of long noncoding RNA FGFR3-AS1 induces cell proliferation inhibition, apoptosis and motility reduction in bladder cancer[J]. *Cancer Biomark*, 2018,21(2):277-285. DOI: 10.3233/CBM-170354.
- [14] Li Z, Hong S, Liu Z. LncRNA LINC00641 predicts prognosis and inhibits bladder cancer progression through miR-197-3p/KLF10/PTEN/PI3K/AKT cascade[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(3): 1825-1829. DOI: 10.1016 / j. bbr.2018.07.120.
- [15] Gou L, Liu M, Xia J, et al. BMP9 promotes the proliferation and migration of bladder cancer cells through up-regulating lncRNA UCA1[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(4)pii: E1116. DOI: 10.3390/ijms19041116.
- [16] Chen L, Gao H, Liang J, et al. miR-203a-3p promotes colorectal cancer proliferation and migration by targeting PDE4D[J]. *Am J Cancer Res*, 2018,8(12):2387-2401.
- [17] Ge Q, Lu M, Ju L, et al. miR-4324-RACGAP1-STAT3-ESR1 feedback loop inhibits proliferation and metastasis of bladder cancer[J]. *Int J Cancer*, 2019, 144(12): 3043-3055. DOI: 10.1002/ijc.32036.
- [18] Chen H, Li H, Chen Q. INPP4B overexpression suppresses migration, invasion and angiogenesis of human prostate cancer cells[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2017, 44(6): 700-708. DOI: 10.1111/1440-1681.12745.
- [19] Ma Q, Wang Y, Zhang H, et al. miR-1290 contributes to colorectal cancer cell proliferation by targeting INPP4B[J]. *Oncol Res*, 2018, 26(8): 1167-1174. DOI: 10.3727 / 096504017X15051741798389.
- [20] Hsu I, Yeh CR, Slavin S, et al. Estrogen receptor alpha prevents bladder cancer via INPP4B inhibited akt pathway in vitro and in vivo[J]. *Oncotarget*, 2014,5(17):7917-7935. DOI: 10.18632/oncotarget.1421.
- [21] Chen Y, Sun Z, Qi M, et al. INPP4B restrains cell proliferation and metastasis via regulation of the PI3K/AKT/SGK pathway [J]. *J Cell Mol Med*, 2018, 22(5): 2935-2943. DOI: 10.1111 / jcm.13595.

(收稿日期:2019-07-28)

(本文编辑:周阳)