

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.03.01

❖ 基础研究 ❖

长链非编码 RNA THOR 在食管鳞状细胞癌中的表达及作用机制研究

蒲文杰^{1,2}, 钟晓武^{1,2,3}, 徐磊³, 高川力², 李青容², 程吉兵^{1,2}, 周锡², 杨密渊², 郭晓兰^{1,2,3}

(川北医学院, 1. 附属医院检验科; 2. 检验系; 3. 转化医学研究中心, 四川 南充 637000)

【摘要】目的: 探究睾丸相关的高保守的致癌长链非编码 RNA (LncRNA THOR) 在食管鳞状细胞癌 (ESCC) 中的表达及对 ESCC 细胞功能的影响。**方法:** 利用生物信息学结合 qRT-PCR 分析 LncRNA THOR 在 ESCC 中的表达情况。在 ESCC 细胞系 TE1 中, siRNA 沉默 LncRNA THOR 后, 使用 CCK-8 和划痕试验分别检测细胞增殖及迁移, qRT-PCR 和 Western blot 检测 IGF2BP1 依赖基因 GLI-1 和 MYC mRNA 及蛋白质的表达。**结果:** UALCAN 分析结果显示, LncRNA THOR 在食管癌患者的表达显著高于正常人。qRT-PCR 验证发现 LncRNA THOR 在 ESCC 组织的表达显著高于癌旁组织, 在 ESCC 细胞系 TE1 和 EC109 中显著高于正常人食管鳞状上皮细胞 HET-1A。在 TE1 中敲减 LncRNA THOR 后, CCK8 实验显示细胞增殖被抑制, 划痕实验显示细胞迁移能力降低。qRT-PCR 和 Western blot 实验显示 GLI-1 和 MYC mRNA 及蛋白质都显著下调。**结论:** LncRNA THOR 在 ESCC 癌组织和细胞中的表达显著升高, 沉默 LncRNA THOR 可以抑制 ESCC 细胞增殖及迁移, 暗示 LncRNA THOR 可能作为 ESCC 治疗的新靶标。

【关键词】 食管鳞状细胞癌; 长链非编码 RNA; 胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 1

【中图分类号】 R735.1 **【文献标志码】** A

Expression and the mechanism of THOR in esophageal squamous cell carcinoma

PU Wen-jie^{1,2}, ZHONG Xiao-wu^{1,2,3}, XU Lei³, GAO Chuan-li², LI Qing-rong², CHENG Ji-bing^{1,2}, ZHOU Xi², YANG Mi-yuan², GUO Xiao-lan^{1,2,3}

(1. Department of Clinical Laboratory of Affiliated Hospital; 2. Department of Laboratory Medicine; 3. Translational Medicine Research Center, North Sichuan Medical College, Nanchong 637000, Sichuan, China)

【Abstract】 Objective: To investigate the expression of testis associated highly conserved oncogenic long non coding RNA (LncRNA THOR) in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) and its effect on the mechanism of ESCC. **Methods:** The expression of LncRNA THOR gene in ESCC was analyzed by bioinformatics and qRT-PCR. After silencing the LncRNA THOR in TE1 cells using siRNA, the changes of cell proliferation and migration were further detected by CCK-8 and wound healing assay, respectively. IGF2BP1-dependent gene GLI-1 and MYC mRNA and protein levels were investigated by qRT-PCR and western blot. **Results:** UALCAN analysis showed that the expression of LncRNA THOR gene in patients with esophageal cancer was significantly higher than that in normal people. QRT-PCR results showed that the expression of LncRNA THOR was significantly up-regulated in ESCC tissues compared to that in paracarcinoma tissue and in TE1 and EC109 cells comparing with HET1A. After siRNA knockdown of LncRNA THOR in TE1, cell proliferation and migration were suppressed as CCK-8 and wound healing assay showed, respectively. According to the results of qRT-PCR and western blot, the mRNA and protein expression levels of GLI-1 and MYC were significantly decreased. **Conclusion:** The expression of LncRNA is significantly increased in ESCC tissues and cells. Silencing LncRNA THOR can inhibit the proliferation and migration of ESCC cells, suggesting LncRNA THOR may be a new target for the treatment of ESCC.

【Key words】 Esophageal squamous cell carcinoma; Long non-coding RNA; Insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 1

食管癌 (esophageal carcinoma, EC) 是全球第 8 大恶性肿瘤, 也是第 6 大肿瘤死亡原因^[1]。2018 年全世界新增确诊食管癌患者约 572 034 人, 死于约 508 585 人, 其中近一半发生在中国, 且主要以食管

基金项目: 四川省科技厅应用基础项目 (2021YJ0202); 南充市市校科技战略合作项目 (18SXHZ0514); 川北医学院附属医院科技发展计划项目 (2020ZD200)

作者简介: 蒲文杰 (1993 -), 女, 硕士研究生。E-mail: 13038201697@163.com

通讯作者: 郭晓兰, 博士, 教授。E-mail: alan5200@hotmail.com

鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的病理类型出现,其相关死亡率位居恶性肿瘤致死的第四位,是造成人类死亡的主要原因之一^[2-4]。近年来,虽然外科手术、放疗、化疗、免疫治疗等治疗方法不断改进,但由于 EC 发病隐匿且缺乏有效用于 EC 早期诊断的分子生物标记物,导致 EC 早期诊断困难,约 50% 的 EC 患者在疾病后期或晚期接受诊断时已出现转移^[5]。

长链非编码 RNA (long non-coding RNA, LncRNA) 是一类长度大于 200 个核苷酸的非编码 RNA,是基因组转录产物中不具有编码蛋白质的基因序列,广泛存在于所有真核生物的细胞核与细胞质中,且在不同组织中表达具有特异性^[6]。已有研究表明 LncRNA 可通过多种形式参与转录调控,如染色质修饰、染色体沉默、基因组印记等多种生物学功能,进而参与调节细胞增殖和凋亡、细胞周期、细胞代谢等生命活动过程^[7-10]。LncRNA 的多功能的生物学特征,决定了其异常表达将与各类疾病特别是恶性肿瘤密切相关。睾丸相关的高保守的致癌长非编码 RNA (testis-associated highly-conserved oncogenic long non-coding RNA, LncRNA THOR) 属于基因间型的 LncRNA,具有序列保守的特性且主要表达于正常睾丸和肿瘤组织中。研究发现 LncRNA THOR 能够促进肾癌细胞和骨肉瘤细胞在体内外的增殖生长。还能通过提高鼻咽癌细胞干性,降低鼻咽癌细胞对顺铂的敏感性^[11-13]。LncRNA THOR 还可以直接与胰岛素样生长因子 2 mRNA 结合蛋白 1 (insulin-like growth factor 2 mRNA binding protein 1, IGF2BP1) 结合,并调控胰岛素样生长因子 2 (insulin-like growth factor 2, IGF2)、胶质瘤相关癌基因同系物 1 (gliom-associated oncogene homolog 1, GLI-1) 与 MYC 等下游靶基因,最终影响肿瘤发生的进展。然而,LncRNA THOR 在 ESCC 中表达情况及其可能的作用机制尚未有报道。本研究旨在分析 ESCC 中 LncRNA THOR 的表达情况,并且进一步探讨其在 ESCC 中的潜在功能。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 组织 收集川北医学院附属医院胸外科食管癌病例 20 例,所有病例均由经验丰富的病理医师确诊,组织标本经手术离体 30 min 内剪取适量肿瘤中心组织,同时剪取距离切缘 5 cm 的癌旁正常食管上皮组织,立即浸在装有 RNAlater solution 的 EP 管中放入冰盒中运输,置于 -80 °C 保存。该项研究符合《赫尔辛基宣言》,在获得伦理审查委员会批准及每一位患者知情同意的前提下进行组织标本及患者信息的收集。

1.1.2 细胞株 人食管鳞状细胞癌细胞系 TE1、EC109、KYSE150 以及正常食管鳞状上皮细 HET-1A 由川北医学院转化医学研究中心提供。

1.2 方法

1.2.1 UALCAN 分析 UALCAN (http://ualcan.path.uab.edu/index.html) 是一个基于癌症基因组图谱 (TCGA) 数据库,具备在线分析目的基因表达、相关性、预后分析和挖掘等功能的网站。首先登陆 UALCAN,点击 TCGA analysis,输入 Gene names 为 LncRNA THOR,在 TCGA dataset 选择 Esophageal carcinoma,然后点击 Expression,分析 LncRNA THOR 在 TCGA 数据库中食管癌不同亚组中的表达情况。

1.2.2 RNA 提取 提取细胞/组织总 RNA 时,先预冷 PBS 清洗 2~3 遍,加入 1 mL Trizol 裂解细胞 15 min,待贴壁细胞完全脱落后,移至 2 mL EP 管。使用美国 Thermo Fisher 公司核酸浓度检测仪检测 RNA 浓度和吸光度(A 值),再应用德国 Roche 公司 Transcriptor FirstStrand cDNA Synthesis 试剂盒将 RNA 逆转录成 cDNA。

1.2.3 qRT-PCR 首先通过生工生物工程(上海)股份有限公司合成目的基因 LncRNA THOR、GLI-1、MYC 和内参基因 GAPDH 的基因引物序列,见表 1。再利用 qRT-PCR 将获取的组织、细胞 cDNA 分别进行 mRNA 检测。扩增反应总体积为 20 μL,包括 Fast SYBR Green Master mix 10 μL,上、下游引物各 0.2 μL,cDNA 模板 1 μL,加入灭菌灭酶 ddH₂O 至总体积 20 μL,每个样本上 3 个复孔。qRT-PCR 反应结果数据采用德国 Roche 公司 Light Cycler 96 系统分析,按照公式 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 计算组织和细胞中目的基因的 mRNA 相对表达量。

表 1 LncRNA THOR、GLI-1、MYC 和内参基因 GAPDH 的基因引物序列

基因	引物序列	片段大小(bp)
LncRNA THOR	正向引物:5'-CAAGGTGCTTCTCTCTGGATT-3'	98
	反向引物:5'-GCCAAAGTCATTGTGGGTAT-3'	
GLI-1	正向引物:5'-ACGGACTGCAGCCAATACAG-3'	171
	反向引物:5'-ATTGCCCGAGTGTAGTAG-3'	
MYC	正向引物:5'-CTTCTCTCCGTCCTCGGATTCT-3'	204
	反向引物:5'-GAAGGTGATCCAGACTCTGACCTT-3'	
GAPDH	正向引物:5'-TGCACCACCACTGCTTAGC-3'	146
	反向引物:5'-GCCATGGACTGTGGTCATGAG-3'	

1.2.4 siRNA 实验 两条不同 LncRNA THOR siRNA 序列,5'-CUACAUGGGUAAUCAAUUAU-3' (si-LncRNA THOR-1),5'-CUAUGGUGUGUGAACAUAU-3' (si-LncRNA THOR-2) 及其对照序列购于生工生物

工程(上海)股份有限公司, Viafect 转染试剂购于 Promega 公司。将处于对数期增殖的食管癌细胞按 3×10^6 个/孔均匀平铺在六孔板, 细胞生长密度达到 50% 时, 开始进行转染。更换为不含胎牛血清和双抗的 DMEM 培养基, 把 si-NC (对照)、si-LncRNA THOR-1、si-LncRNA THOR-2 和 Viafect 转染试剂, 加入食管鳞状细胞癌细胞系 TE1 中, 在 37°C 、5% CO_2 的培养箱培养 48 h 后检测转染效率。

1.2.5 CCK-8 实验 取对数生长期食管癌 TE1 细胞, 经胰蛋白酶-EDTA 消化液消化后制成单细胞悬液, 计数细胞, 调整浓度为 $5 \times 10^4/\text{mL}$, 96 孔板每孔接种 100 μL 细胞悬液, 设置 4 个平行组, 每组设 3 个复孔和一个空白孔 (只加 100 μL 培养基), 待细胞贴壁后, 继续培养 0 h、12 h、24 h、48 h。每个时间点取出一组细胞, 每孔加入 10 μL CCK8 试剂, 细胞培养箱内孵育 1 h 后放入酶标仪于 450 nm 波长处测定吸光度值(A), 以时间(h)为横坐标, A 为纵坐标绘制生长曲线, 实验重复 3 次。

1.2.6 划痕试验 转染细胞传代至 6 孔板内, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基培养, 待细胞单层融合度达 90% 左右时用 10 μL 枪头垂直桌面在六孔板孔内划井字, 完成后用 PBS 洗去孔内的悬浮细胞, 选取划痕整齐的部位拍照, 并标记拍照点, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM 完全培养基继续培养, 划痕 12 h、24 h、48 h 后, 观察选取位置划痕宽度变化并拍照保存。

1.2.7 Western blot 使用 RIPA 试剂裂解转染成功后的肿瘤细胞, 冰上孵育至完全裂解, 4°C 、12 000 rpm, 离心 30 min, 采用 BCA 法蛋白浓度测定试剂盒 (美国 Thermo Fisher 公司) 检测蛋白浓度。配置 10% 凝胶, 按照总蛋白 40 μg , 总体积 10 μL 上样, 恒压 80 V 电泳至浓缩胶和分离胶交界处时, 调整电压至 120 V 继续电泳至样本迁移至凝胶末端处。在 250 mA 恒流下转膜 90 min, 5% 脱脂奶粉室温封闭 60 min, PBST 洗 PVDF 膜 3 次, 5 min/次, 按说明书稀释一抗 GLI-1 (兔源, 货号: ET1702-85)、MYC (鼠源, 货号: EM1902-38), 抗体购自杭州华安生物技术有限公司。将 PVDF 膜平整放置于孵育盒中, 4°C 振摇过夜。PBST 洗 PVDF 膜 3 次, 5 min/次, 孵育对应的兔源/鼠源二抗 (杭州华安生物技术有限公司) 60 min 后避光显影。

1.3 数据分析

使用 Graphpad prism 5.0 软件对组织和细胞水平检测得到的 qRT-PCR 数据进行处理分析。每组独立实验重复 3 次取平均值, 连续变量资料使用 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较应用 *t* 检验进行。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 LncRNA THOR 与 EC 患者临床数据的相关性分析

利用 UALCAN 数据库在线分析 LncRNA THOR 的表达情况, 分别从 EC 的 LncRNA THOR 在不同样本类型、肿瘤分期、肿瘤分级、性别、年龄、体重、种族、吸烟、肿瘤亚型等几个方面进行统计分析, 结果如图 1 所示; LncRNA THOR 在 EC 患者的表达显著高于正常人, 肿瘤分期为 II 和 III 期, 肿瘤分级为 II 和 III 级, 年龄段为 40 ~ 80 岁, 种族为高加索人和亚洲人的食管腺癌 (esophageal adenocarcinoma, EAC) 和 ESCC 男性患者也显著高表达。

2.2 LncRNA THOR 在 ESCC 癌组织和细胞的表达都升高

通过 qRT-PCR 检测 20 例 ESCC 癌组织和癌旁组织的 LncRNA THOR 表达, 发现 ESCC 癌组织中 LncRNA THOR 表达水平对比癌旁组织显著升高 ($P < 0.05$) (图 2)。实验结果与 TCGA 的数据一致都印证 LncRNA THOR 在 ESCC 中高表达, 暗示 LncRNA THOR 可能是 ESCC 的促癌基因。

通过 qRT-PCR 检测 ESCC 细胞系 TE1、EC109 和 KYSE150 和正常食管上皮细胞 HET-1A 中 LncRNA THOR 的表达情况, 结果显示 TE1 和 EC109 中 LncRNA THOR 表达水平对比 HET-1A 明显上调 ($P < 0.05$) (图 3)。

2.3 siRNA-LncRNA THOR 敲降 TE1 细胞中 LncRNA THOR 的表达水平

将化学合成 2 个靶点 siRNA (siRNA-LncRNA THOR-1 和 siRNA-LncRNA THOR-2) 转染 TE1 细胞后, LncRNA THOR 的表达量均降低 ($P < 0.01$) (图 4)。结果表明, 本实验成功构建 LncRNA THOR 敲降的 TE1 细胞。

2.4 敲降 LncRNA THOR 抑制 TE1 细胞增殖及迁移

为了探究 LncRNA THOR 对 TE1 细胞的影响, 在 TE1 细胞中敲降 LncRNA THOR 以检测其对 TE1 细胞的影响。si-LncRNA THOR-1 和 si-LncRNA THOR-2 转染 TE1 细胞后, 通过 CCK8 实验结果证实实验组的细胞增殖受到抑制 (图 5), 差异具有统计学意义。划痕实验显示 (图 6), 与无意义对照组 (si-NC) 相比, 2 个靶点 (si-LncRNA THOR-1、si-LncRNA THOR-2) 进行转染的 TE1 细胞在 12 h、24 h、48 h 几个时间位点均表现为迁移能力明显受到抑制。结果表明, 敲降 LncRNA THOR 能够抑制 TE1 细胞增殖及迁移能力。

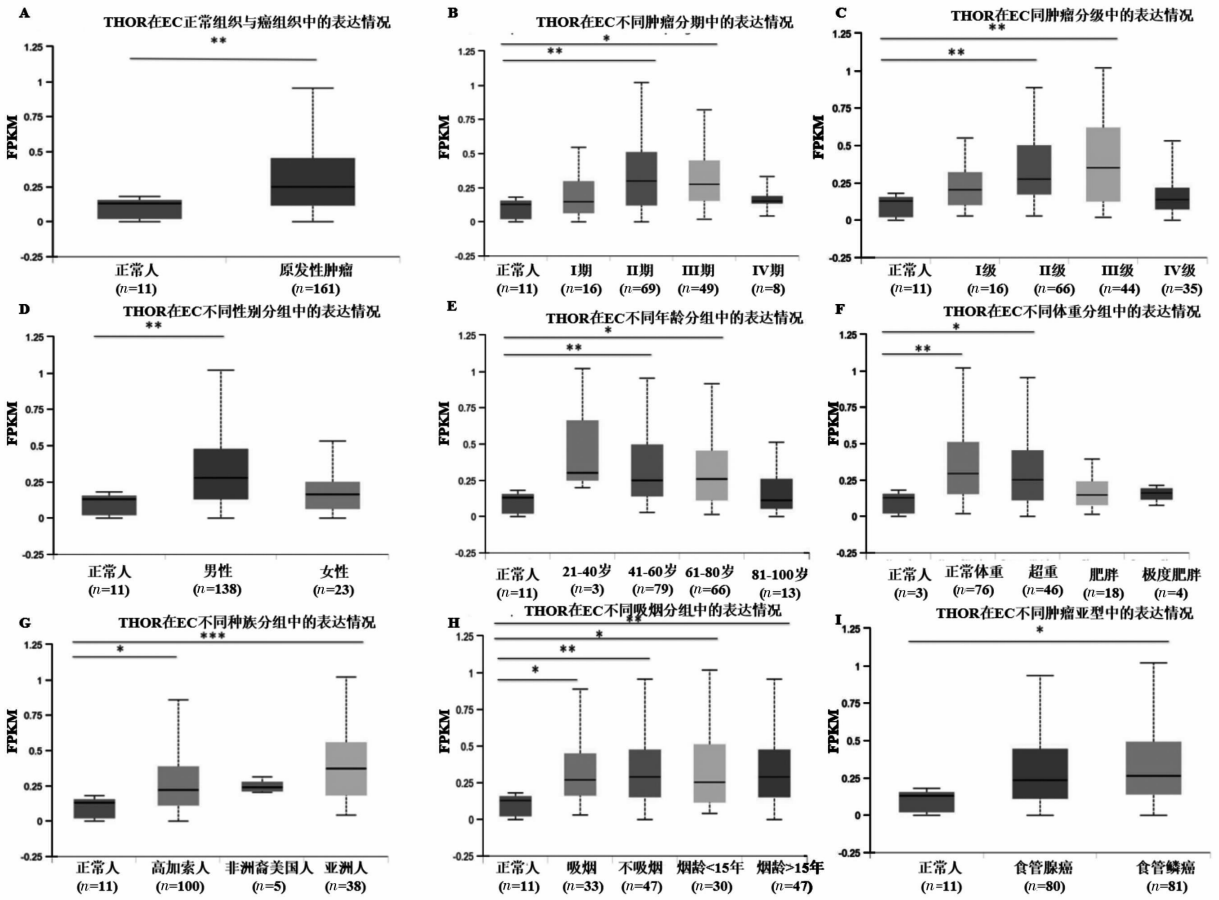


图 1 LncRNA THOR 在 EC 各亚组中的表达情况

A-I. LncRNA THOR 在不同样本类型、肿瘤分期、肿瘤分级、性别、年龄、体重、种族、吸烟、肿瘤亚型分组中的表达。FPKM 为每千个碱基的转录每百万映射读取的碎片。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

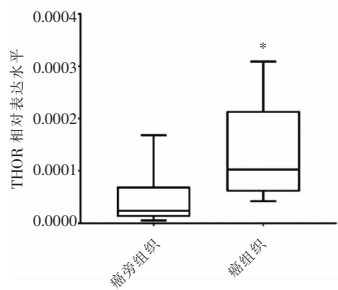


图 2 LncRNA THOR 在 ESCC 癌组织及癌旁组织的表达水平
* $P < 0.05$, 与癌旁组织相比。

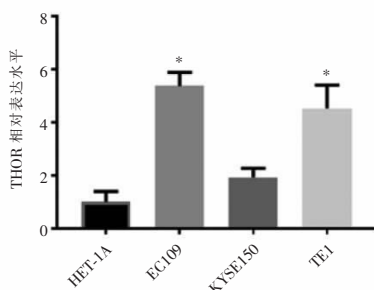


图 3 LncRNA THOR 在 ESCC 细胞系 TE1、EC109 和 KYSE150 及正常食管上皮细胞 HTE1A 中的表达
* $P < 0.05$, 与正常食管细胞系相比。

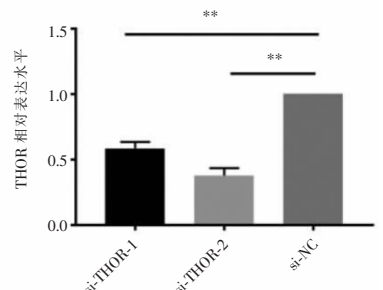


图 4 敲降 LncRNA THOR 后 TE1 细胞中 LncRNA THOR 的表达情况
** $P < 0.01$ 。

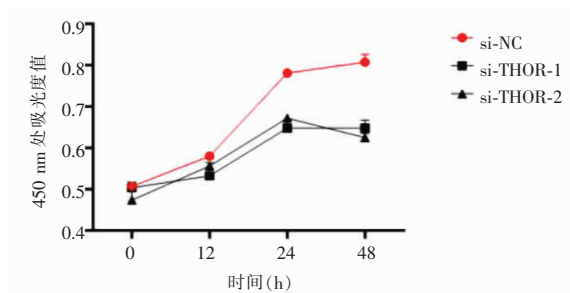


图 5 敲降 LncRNA THOR 后 TE1 细胞的增殖情况

2.5 敲降 LncRNA THOR 下调 TE1 细胞中 GIL-1 和 MYC mRNA 和蛋白质的表达水平

siRNA-LncRNA THOR-1 和 siRNA-LncRNA THOR-2 转染 TE1 细胞后, 与无意义转染对照细胞 (si-NC) 相比, GIL-1 和 MYC mRNA 和蛋白质表达水平均下降 ($P < 0.05$) (图 7-图 8)。结果表明, 敲降 LncRNA THOR 能够显著下调 TE1 细胞中 GIL-1 和 MYC 的 mRNA 及蛋白的表达水平。

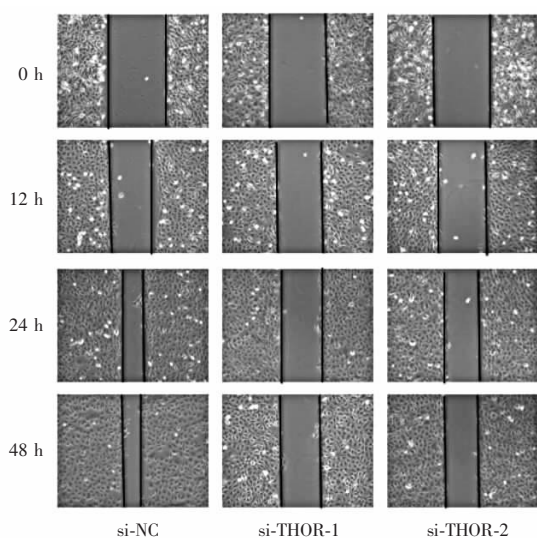


图6 敲降 LncRNA THOR 后 TE1 细胞的迁移能力情况

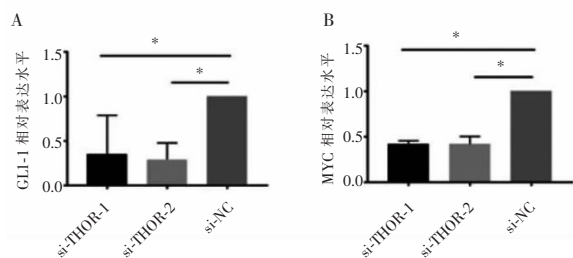


图7 敲降 LncRNA THOR 后 TE1 细胞中 IGF2BP1 依赖基因的表达情况

A. GLI-1 mRNA 的表达水平; B. MYC mRNA 表达水平。
* $P < 0.05$ 。

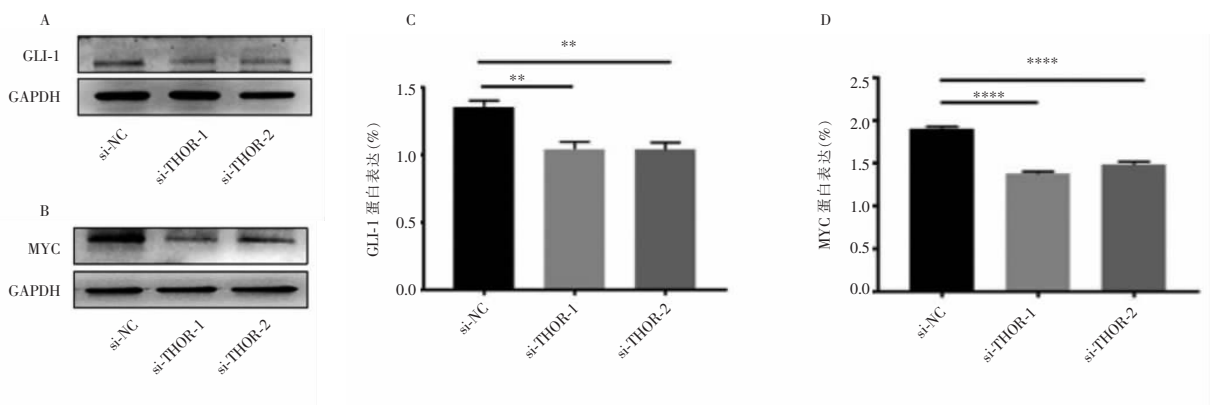


图8 敲降 LncRNA THOR 后 TE1 细胞中 IGF2BP1 依赖基因的蛋白表达情况

A、C. GLI-1 蛋白质的表达情况; B、D. MYC 蛋白质的表达情况。 ** $P < 0.01$, **** $P < 0.0001$ 。

3 讨论

ESCC 是一种常见的恶性肿瘤,其发病隐匿,早期诊断困难是食管癌发病率居高不下的主要原因;而晚期发现的食管癌患者往往已经失去手术治疗的最佳时机,放化疗的预后均令人堪忧,导致死亡率极难下降。因此,需要寻找 ESCC 的早期诊断标志物和治疗靶点。研究表明,ESCC 的发生发展与 lncRNA 密切相关,许多 lncRNA 参与了 ESCC 的疾病进程。Yao 等^[14]报道发现 MALAT-1 的上调与 ESCC 患者的生存率降低有关。抑制 MALAT-1 可影响 ESCC 细胞凋亡、迁移/侵袭、集落形成和细胞周期阻滞等。HOTAIR 通过诱导启动子区组蛋白 H3K27 甲基化,从而降低 WIF-1 的表达,激活 Wnt/catenin 信号通路参与 ESCC 细胞的增殖和侵袭^[15]。LncRNA THOR 是近年来新发现的一种非常保守的长非编码 RNA,具有睾丸组织特异性,并广泛存在于人类多种肿瘤组织中。已经有研究报道 LncRNA THOR 能够在基因水平调控多个肿瘤的增殖, Ln-

cRNA THOR 在肾细胞癌、胃癌、舌鳞状细胞癌、肝癌等多种肿瘤中呈现异常高表达,并在其发生发展中发挥重要作用。然而,LncRNA THOR 与 ESCC 之间的关系尚未研究。为了探究 LncRNA THOR 和 ESCC 之间的关系,本研究首先检测了 LncRNA THOR 在 ESCC 中的表达情况,再利用 siRNA 敲降 LncRNA THOR 后检测 ESCC 细胞生物学功能的变化。

已有的研究发现肾细胞癌组织标本中 LncRNA THOR 异常高表达,同样的发现 LncRNA THOR 在肾细胞癌细胞高表达^[12]。体内外研究均证实,靶向沉默 LncRNA THOR 可以抑制肾癌细胞的生长、增殖和存活,而过表达 LncRNA THOR 则可以增强细胞的活力和增殖能力。Song 等^[16]研究发现 LncRNA THOR 在胃癌中存在高表达的情况。Yang 等^[17]检测到舌鳞状细胞癌中 LncRNA THOR 表达上调。体内外研究均证实,敲低 LncRNA THOR 可以抑制舌鳞状细胞癌细胞的生长、减少克隆形成和诱导 G0/G1 阻滞,而过表达 LncRNA THOR 可以促进细胞的增殖和诱导 G0/G1 期细胞数量增加。

Cheng^[18] 等通过 qRT-PCR 检测发现, LncRNA THOR 在肝癌组织中的表达水平相对比正常肝组织呈显著上调, 且 LncRNA THOR 的表达水平与肝癌复发率和术后生存时间密切相关。该研究进一步证实, 沉默 LncRNA THOR 可显著抑制肝癌细胞的生长、增殖、克隆形成、转移、侵袭等能力。然而, LncRNA THOR 的异常表达在 ESCC 发生发展中的具体机制尚不明确。本研究发现在 ESCC 癌组织和 ESCC 细胞系 TE1 和 EC109、中 LncRNA THOR 表达显著上调, 提示 LncRNA THOR 可能参与 ESCC 的发生发展过程。在 ESCC 细胞系 TE1 中敲减 LncRNA THOR 后, 通过 CCK8 和划痕实验发现细胞增殖和迁移能力都受到抑制, 表明 LncRNA THOR 能够参与调节细胞增殖和迁移能力, 进而参与 ESCC 的迁移和侵袭过程。

LncRNA THOR 能够与 IGF2BP1 结合, 并调控其依赖基因 IGF2、GLI-1、MYC 等, 最终影响肿瘤发生的进展。敲除肾癌细胞中的 LncRNA THOR 可以显著下调 IGF2BP1 依赖基因 IGF2、GLI-1 和 MYC 的 mRNA 和蛋白质表达水平。而过表达 LncRNA THOR 则可以上调 IGF2BP1 依赖基因的 mRNA 和蛋白质表达水平。因此, 在肾癌细胞中, LncRNA THOR 通过对 IGF2BP1 相关依赖基因调控, 进一步影响肾癌细胞的细胞生物学表现^[12]。LncRNA THOR 和 IGF2BP1 在舌鳞状细胞癌组织中均表达上调, 且在 mRNA 水平上表达呈正相关。LncRNA THOR 通过与 IGF2BP1 相互作用调节 IGF2 的表达, 影响下游信号通路 MEK-ERK, 进而调控舌鳞状细胞癌细胞的增殖^[17]。本研究发现沉默 LncRNA THOR 后, TE1 细胞中 GLI-1 和 MYC 的 mRNA 及蛋白的表达水平都显著降低, 提示 LncRNA THOR 可能通过 IGF2BP1 相互作用调控 GLI-1 和 MYC 的表达水平, 参与 ESCC 细胞的细胞增殖和迁移等, 从而调控 ESCC 发展进展。

综上所述, LncRNA THOR 在 ESCC 中异常高表达, 且可能通过 IGF2BP1 相互作用调控 GLI-1 和 MYC 的表达, 进而参与 ESCC 的增殖与迁移过程, 但具体调控机制尚需要体内外实验进一步研究证实。本研究同时发现 LncRNA THOR 在 ESCC 中扮演着促癌基因的作用, 暗示其可能成为 ESCC 潜在早期诊断分子标志物及治疗靶点。

参考文献

[1] Scelo G, Hofmann JN, Banks RE, et al. International cancer seminars: a focus on kidney cancer[J]. *Annals of oncology*, 2016, 27(8): 1382 - 1385.

[2] Yang CS, Chen XL. Research on esophageal cancer: with personal perspectives from studies in China and Kenya[J]. *International journal of cancer*, 2020; 1 - 13.

[3] Islami F, Kamangar F, Aghcheli K, et al. Epidemiologic features of upper gastrointestinal tract cancers in Northeastern Iran[J]. *British journal of cancer*, 2004, 90(7): 1402 - 1406.

[4] Arnold M, Soerjomataram I, Ferlay J, et al. Global incidence of oesophageal cancer by histological subtype in 2012[J]. *Gut*, 2015, 64(3): 381 - 387.

[5] Lin Y, Totsuka Y, Shan B, et al. Esophageal cancer in high-risk areas of China: research progress and challenges[J]. *Annals of epidemiology*, 2017, 27(3): 215 - 221.

[6] Enzinger PC, Mayer RJ. Cell biology. Lengthy RNAs earn respect as cellular players[J]. *Science*, 2014, 344(6188): 1072.

[7] Dinger ME, Amaral PP, Mercer TR, et al. Long noncoding RNAs in mouse embryonic stem cell pluripotency and differentiation[J]. *Genome research*, 2008, 18(9): 1433 - 1445.

[8] Shi X, Sun M, Wu Y, et al. Post-transcriptional regulation of long noncoding RNAs in cancer[J]. *Tumour biology*, 2015, 36(2): 503 - 513.

[9] Zhao X, Tang Z, Zhang H, et al. A long noncoding RNA contributes to neuropathic pain by silencing Kcna2 in primary afferent neurons[J]. *Nature neuroscience*, 2013, 16(8): 1024 - 1031.

[10] Pang KC, Dinger ME, Mercer TR, et al. Genome-wide identification of long noncoding RNAs in CD8+ T cells[J]. *Journal of immunology*, 2009, 182(12): 7738 - 7748.

[11] Chen W, Chen M, Xu Y, et al. Long non-coding RNA THOR promotes human osteosarcoma cell growth in vitro and in vivo[J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2018, 499(4): 913 - 919.

[12] Ye XT, Huang H, Huang WP, et al. LncRNA THOR promotes human renal cell carcinoma cell growth[J]. *Biochemical and biophysical research communications*, 2018, 501(3): 661 - 667.

[13] Gao L, Cheng XL, Cao H. LncRNA THOR attenuates cisplatin sensitivity of nasopharyngeal carcinoma cells via enhancing cells stemness[J]. *Biochimie*, 2018, 152: 63 - 72.

[14] Yao W, Bai Y, Li Y, et al. Upregulation of MALAT-1 and its association with survival rate and the effect on cell cycle and migration in patients with esophageal squamous cell carcinoma[J]. *Tumour Biology*, 2016, 37(4): 4305 - 4312.

[15] Li X, Wu Z, Mei Q, et al. Long non-coding RNA HOTAIR, a driver of malignancy, predicts negative prognosis and exhibits oncogenic activity in oesophageal squamous cell carcinoma[J]. *British Journal of Cancer*, 2013, 109(8): 2266 - 2278.

[16] Song H, Xu Y, Shi L, et al. LncRNA THOR increases the stemness of gastric cancer cells via enhancing SOX9 mRNA stability[J]. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 2018, 108: 338 - 346.

[17] Yang H, Fu G, Liu F, et al. LncRNA THOR promotes tongue squamous cell carcinomas by stabilizing IGF2BP1 downstream targets[J]. *Biochimie*, 2019, 165: 9 - 18.

[18] Cheng Z, Lei Z, Yang P, et al. Long non-coding RNA THOR promotes cell proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma[J]. *Gene*, 2018, 678: 129 - 136.

(收稿日期: 2020 - 12 - 10

修回日期: 2021 - 01 - 08)