

[文章编号] 1671-587X(2024)04-1109-07

DOI:10.13481/j.1671-587X.202404025

lncRNA H19和IGF2基因在乳腺癌组织中的表达水平及印记状态

魏雪¹, 文雪², 谢潇¹, 王月媛¹, 黄丹¹, 杨明¹

(1. 吉林大学第一医院普外科中心乳腺外科, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学第一医院肿瘤中心器官再生与移植教育部重点实验室, 吉林 长春 130061)

[摘要] **目的:** 研究长链非编码RNA (lncRNA) H19和胰岛素样生长因子2 (IGF2) 基因在乳腺癌组织中的表达水平, 分析其印记状态。**方法:** 采用实时荧光定量PCR (RT-qPCR) 法检测乳腺癌组织及癌旁组织中H19和IGF2 mRNA表达水平, 分析H19和IGF2 mRNA在乳腺癌组织及癌旁组织中的表达差异, 利用单核苷酸多态性 (SNP) 区分等位基因表达情况 (纯合或杂合), 基因组DNA中IGF2 (Apa I 位点) 或H19 (Alu I 位点) 为杂合则进行印记分析, 确定H19和IGF2在乳腺癌组织中的印记状态, 即印记保持 (MOI) 或印记丢失 (LOI)。分析乳腺癌组织中H19和IGF2表达与分子分型的关系。**结果:** RT-qPCR法检测, 乳腺癌组织中H19和IGF2 mRNA表达水平高于癌旁组织 ($P < 0.01$), H19 mRNA表达水平与IGF2 mRNA表达水平呈正相关关系 ($r = 0.567$, $P < 0.01$)。不同分子分型乳腺癌患者癌组织中H19 mRNA表达水平均高于癌旁组织 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。H19和IGF2在乳腺癌组织中均存在LOI, IGF2的LOI发生率为36.7%, 高于H19的LOI发生率 (4.3%)。RT-qPCR法检测, IGF2 LOI组乳腺癌组织中IGF2 mRNA表达水平明显高于IGF2 MOI组 ($P < 0.01$)。**结论:** 乳腺癌组织中H19和IGF2 mRNA表达水平明显高于癌旁组织, IGF2的LOI发生率高于H19的LOI发生率, IGF2的LOI可能是乳腺癌发病的关键因素之一。

[关键词] 乳腺肿瘤; 长链非编码RNA; H19; 胰岛素样生长因子2; 印记丢失; 单核苷酸多态性

[中图分类号] R737.9 **[文献标志码]** A

Expression levels and imprinting status of lncRNA H19 and IGF2 genes in breast cancer tissue

WEI Xue¹, WEN Xue², XIE Xiao¹, WANG Yueyuan¹, HUANG Dan¹, YANG Ming¹

(1. Department of Breast Surgery, General Surgery Center, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China; 2. Key Laboratory of Organ Regeneration and Transplantation, Ministry of Education, Cancer Center, First Hospital, Jilin University, Changchun 130061, China)

ABSTRACT **Objective:** To study the expression levels of long non-coding RNA (lncRNA) H19 and insulin-like growth factor 2 (IGF2) genes in breast cancer tissue, and to analyze their imprinting status. **Methods:** Real-time fluorescence quantitative PCR (RT-qPCR) method was used to detect the expression levels of H19 and IGF2 mRNA in breast cancer tissue and adjacent tissue, and the differences in the expressions of H19 and IGF2 mRNA in breast cancer tissue and adjacent tissue were analyzed; single nucleotide polymorphism (SNP) was used to distinguish the allele expression status (homozygous or heterozygous). For heterozygous IGF2 (Apa I site) or H19 (Alu I site) in genomic

[收稿日期] 2023-08-16

[基金项目] 吉林省财政厅科研基金资助项目 (JLSCZD2019-042)

[作者简介] 魏雪 (1993—), 女, 吉林省长春市人, 主治医师, 医学博士, 主要从事乳腺疾病早期诊断和治疗方面的研究。

[通信作者] 杨明, 教授, 主任医师, 博士研究生导师 (E-mail: yangming@jlu.edu.cn)

DNA, imprinting analysis was used to detect the imprinting status of H19 and IGF2 in breast cancer tissue, that were maintenance of imprinting (MOI) or loss of imprinting (LOI); the relationship between the expressions of H19 and IGF2 and molecular subtypes in breast cancer tissue were also analyzed. **Results:** The RT-qPCR results showed that the expression levels of H19 and IGF2 mRNA in breast cancer tissue were higher than those in adjacent tissue ($P < 0.01$). There was a positive correlation between the expression levels of H19 mRNA and IGF2 mRNA ($r = 0.567$, $P < 0.01$). Compared with adjacent tissue, the expression levels of H19 mRNA in cancer tissue of the breast cancer patients with various molecular subtypes were increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). LOI was observed in both H19 and IGF2 in breast cancer tissue, and the incidence of IGF2 LOI was 36.7%, which was higher than that of H19 LOI (4.3%). The RT-qPCR results showed that the expression level of IGF2 mRNA in breast cancer tissue in IGF2 LOI group was significantly higher than that in IGF2 MOI group ($P < 0.01$). **Conclusion:** The expression levels of H19 and IGF2 mRNA in breast cancer tissue are significantly higher than those in adjacent tissue. The incidence of IGF2 LOI is higher than that of H19 LOI, and IGF2 LOI may be one of the key factors in the pathogenesis of breast cancer.

KEYWORDS Breast neoplasm; Long chain non-coding RNA H19; Insulin-like growth factor 2; Loss of imprinting; Single nucleotide polymorphism

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,同时也是女性因癌症死亡的主要原因^[1]。尽管个体化靶向治疗和分子生物学技术的进步已经使部分乳腺癌患者的生存期得到延长,但其复发率和死亡率仍高居不下^[2],主要是因为乳腺癌表现出高异质性,其转移和对化疗的耐药性仍是目前治疗的主要难题。

基因印记是一种重要的表观遗传调控机制^[3]。印记基因是仅一方亲本来源的同源基因表达,而来自另一亲本的同源基因不表达的一种基因。印记基因的双等位基因表达即印记丢失(loss of imprinting, LOI)在多种恶性肿瘤中存在,长链非编码RNA(long non-coding RNA) H19和胰岛素样生长因子2(insulin-like growth factor 2, IGF2)是最早被研究的印记基因,二者位于11号染色体p15.5的同一印记结构域内,受印记控制区(imprinting control region, ICR)的调控,并共同受H19下游的增强子调节。lncRNA H19为母源等位基因表达,IGF2为父源等位基因表达^[4-5]。H19和IGF2交互印记,其适度的表达在生长发育过程中的多个信号通路中发挥作用,且在肿瘤中的印记状态呈现多样性。研究^[6]表明:H19启动子可被转录因子E2F1激活,加速乳腺癌细胞周期进展并进入S期,促进癌细胞增殖和肿瘤的发生。但关于H19在乳腺癌中是促癌还是抑癌的作用目前尚存争议。研究^[7]显示:IGF2 LOI引起双等位基因表达,参与肿瘤的发生并加速肿瘤的进展,IGF2过表达既可以阻止细胞凋亡,也能促进细胞的增殖。在乳

腺癌组织中H19和IGF2的表达情况与基因印记是否具有相关性,基因印记在乳腺癌中是否具有潜在联系,尚有待进一步探讨。本研究通过实时荧光定量PCR(real-time fluorescence quantitative PCR, RT-qPCR)法检测乳腺癌组织中H19和IGF2 mRNA表达水平,分析IGF2(Apa I位点)和H19(Alu I位点)的印记状态及其潜在关联。

1 资料与方法

1.1 临床资料 收集2017年1月—2019年6月于吉林大学第一医院乳腺外科行乳腺癌改良根治术和单纯乳房切除术191例患者的组织样本,所有样本均经病理学检查明确诊断为乳腺癌。分子分型:管腔A/B型(Luminal型)100例,即雌激素受体(estrogen receptor, ER)和孕激素受体(progesterone receptor, PR)均阳性;人表皮生长因子受体2(human epithelial growth factor receptor 2, HER2)阳性型48例;三阴性乳腺癌43例,即ER、PR和HER2均阴性。癌组织及癌旁组织均由病理学专家认定。191例患者均为女性,平均年龄52.5岁(30~85岁),其中浸润性导管癌174例,浸润性小叶癌3例,其他类型癌13例,浸润性混合癌1例。纳入标准:①患者均经病理检查确诊为乳腺癌;②患者的病历和病理资料均齐全;③患者术前未经激素治疗、放疗和化疗等。排除标准:①并发其他恶性肿瘤者;②并发精神障碍者;③妊娠或哺乳期女性。本研究经吉林大学第一医院伦理委员会批准,所有患者均签署知情同意书。

1.2 主要试剂和仪器 细胞/组织基因组DNA提取试剂和细胞总RNA提取试剂(美国Thermo Fisher公司), Fast start Universal SYBR Green Master试剂盒(瑞士Roche公司), 逆转录试剂盒(美国Invitrogen公司)。PCR扩增仪(美国Perkin-Elmer公司), 凝胶成像分析系统(美国Bio-Rad公司)。

1.3 乳腺癌组织和癌旁组织中DNA的提取 按照细胞/组织基因组DNA提取试剂说明书中的步骤, 从乳腺组织和癌旁组织中提取患者全基因组DNA。在液氮中将组织研磨成粉末状, 将50 mg组织转移至1.5 mL离心管中, 加入0.6 mL dBIOZOL试剂, 充分混匀, 室温放置10 min。4 °C~25 °C、13 000 g离心10 min。将上清液转移至1.5 mL无菌离心管中。DNA沉淀向裂解混合物内加入0.7 mL异丙醇, 颠倒混匀, 室温放置5 min后室温下6 000 g离心10 min, 弃上清液。在含有DNA沉淀的离心管中加入1 mL 75%乙醇, 颠倒混匀, 室温下2 000 g离心2 min, 弃上清。将DNA溶解于50 μ L缓冲液中并测定浓度。

1.4 总RNA提取和逆转录合成cDNA 按照TRI Reagent操作说明提取细胞总RNA, 具体操作步骤如下: 加入TRI Reagent 1 mL, 室温放置5 min, 反复吹打而后用吸头转移至1.5 mL刻度离心管中, 吹打使其充分消化裂解。加入200 μ L氯仿, 使用涡旋振荡器振荡混匀15 s, 室温放置15 min。4 °C、12 000 g离心5 min, 混合物分为3个液相, RNA在上层水中。吸取上层水相时勿吸取中间界面, 至另一个离心管中, 加入0.5 mL异丙醇, 室温放置10 min。4 °C、12 000 g离心10 min, 白色沉淀物即RNA。弃上清, 加入预冷的75%乙醇1 mL, 温和振荡离心管, 悬浮沉淀。4 °C、7 500 g离心5 min, 弃上清液。室温晾干或真空干燥5~10 min。用30 μ L DEPC水溶解RNA样品, 55 °C~60 °C金属浴10 min。检测吸光度(A)值定量RNA(A₂₆₀)浓度, -80 °C保存。采用cDNA逆转录试剂盒进行cDNA的合成, 取500 ng总RNA在终体积为6 μ L的反应体系中进行逆转录。

1.5 PCR法和基因测序法检测乳腺癌组织中H19和IGF2基因多态性及印记表达分析 在美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库中搜索位于H19和IGF2表达区域内的单核苷酸多态性

(single nucleotide polymorphism, SNP)位点, 针对该SNP位点设计引物, PCR覆盖此SNP位点的目的条带。采用RT-PCR法扩增目的基因转录产物(72 °C、3 min; 96 °C、20 s, 58 °C、20 s, 72 °C、20 s, 共40个循环), 特异性扩增人H19和IGF2基因最后一个外显子片段, 包括2个具有多态性的限制性内切酶(Apa I和Alu I)位点。

印记表达分析方法: 将目的条带胶回收纯化, 克隆后进行测序, 直接鉴定其基因表达。印记保持(maintenance of imprinting, MOI)的细胞为单等位基因表达, LOI细胞为双等位基因表达。H19基因组DNA同时携带A和C等位基因, 而cDNA只表达A等位基因或C等位基因, 另一个则被沉默。在cDNA样本中均检测到了A和C等位基因, 显示H19发生了LOI。IGF2基因组DNA同时携带T和C等位基因, 而cDNA只表达T等位基因或C等位基因, 另一个则被沉默。在cDNA样本中均检测到了T和C等位基因, 显示IGF2发生LOI。用于印记检测的PCR引物见表1。

表1 H19和IGF2印记表达检测的PCR引物序列

Tab.1 PCR primer sequences for detecting imprinting expressions of H19 and IGF2

Primer	Primer sequence(3'-5')
IGF2	Forward: CTTGGACTTTGAGTCAAATTGGCCT
	Reverse: GAGGAGCCAGTCTGGGTTGTTGCTA
H19	Forward: CTTTACAACCACTGCACTACCTG
	Reverse: GCCATGAAGATGGAGTCGCCG

1.6 RT-qPCR法检测乳腺癌组织和癌旁组织中IGF2和H19 mRNA表达水平 采用Fast start Universal SYBR Green Master试剂盒进行RT-qPCR检测, 反应过程在ABI Prism 7900HT PCR扩增仪上进行。RT-qPCR反应体系20 μ L: 10 μ L 2 \times KAPA SYBR mix, 4 μ L cDNA, 2 μ L Primer, 4 μ L H₂O。整个体系的配制在冰上避光操作, 体系加入PCR仪器前离心避免产生气泡, 每个反应设3个复孔。实验重复3次, 结果取平均值。反应结束后, 采用Applied Biosystems 7300 Real-Time PCR系统进行分析, 并绘制熔解曲线, 确定RT-qPCR产物的同质性。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因表达水平, 以 β -actin作为内参。扩增H19、IGF2和 β -actin基因所用的引物见表2。

1.7 统计学分析 采用SPSS 22.0统计软件进行

表2 RT-qPCR引物序列
Tab. 2 Primer sequences of RT-qPCR

Primer	Primer sequence(3'-5')
IGF2	Forward: CTTGGACTTTGAGTCAAATTGGCCT
	Reverse: GAGGAGCCAGTCTGGGTTGTTGCTA
H19	Forward: GATCGGTGCCTCAGCGTTCG
	Reverse: GTCCTGCTTGTACGTCCAC
β -actin	Forward: CAGGTCATCACCATTGGCAATGAGC
	Reverse: CGGATGTCCACGTCACTTCATGA

统计学分析,所有实验均重复3次。乳腺癌组织和癌旁组织中H19和IGF2 mRNA表达水平呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2组间样本均数比较采用 t 检验,多组间样本均数比较采用单因素方差分析,组间样本均数两两比较采用LSD- t 检验;H19与IGF2

mRNA表达水平相关性采用Pearson相关分析;不同分子分型乳腺癌患者H19和IGF2基因多态性以百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌患者癌组织和癌旁组织中H19和IGF2 mRNA表达水平及两者相关性 134例乳腺癌患者癌组织中H19 mRNA表达水平(0.088 ± 0.014)高于癌旁组织(0.024 ± 0.005)($P < 0.01$);120例乳腺癌患者癌组织中IGF2 mRNA表达水平(0.348 ± 0.036)高于癌旁组织(0.095 ± 0.018)($P < 0.01$)。见图1。乳腺癌患者癌组织中H19 mRNA表达水平与IGF2 mRNA表达水平呈正相关关系($r = 0.567$, $P < 0.01$)。

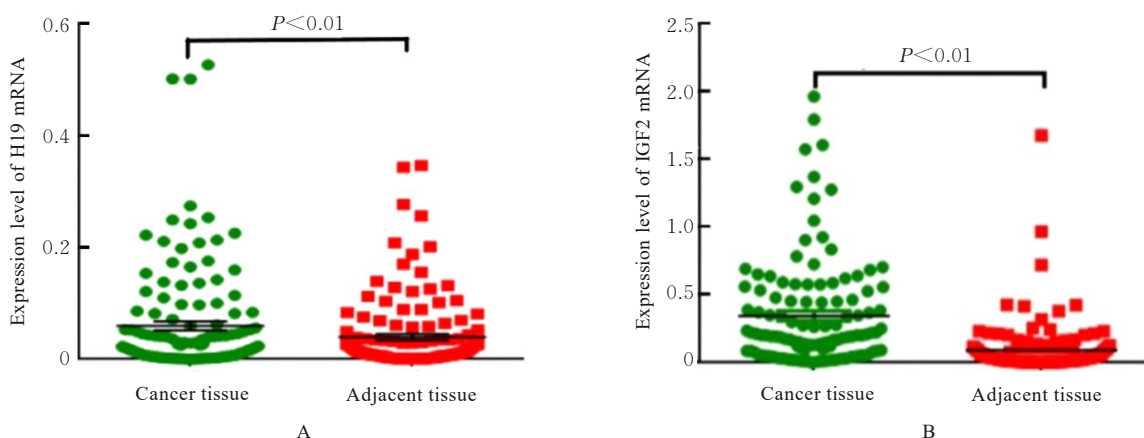
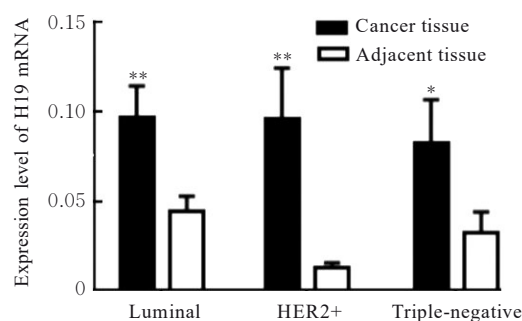


图1 乳腺癌患者癌组织和癌旁组织中H19 mRNA(A)和IGF2 mRNA(B)表达水平

Fig. 1 Expression levels of H19 mRNA (A) and IGF2 mRNA (B) in cancer tissue and adjacent tissue of patients with breast cancer

2.2 不同分子分型乳腺癌患者癌组织中H19 mRNA表达水平 Luminal型、HER2阳性型和三阴性乳腺癌患者癌组织中H19 mRNA表达水平均高于癌旁组织($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。见图2。

2.3 不同分子分型乳腺癌患者癌组织中H19和IGF2基因多态性 对117例乳腺癌患者乳腺癌组织中H19和IGF2基因多态性进行分析,结果显示:在不同分子分型乳腺癌患者癌组织中H19与IGF2基因多态性分布比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。Luminal型乳腺癌患者86例,基因多态性分析中H19和IGF2均为纯合状态占38.4%,H19和IGF2均为杂合状态占22.1%;HER2阳性型和三阴性乳腺癌患者中H19和IGF2纯合状态分别占



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ compared with adjacent tissue.

图2 不同分子分型乳腺癌患者癌组织和癌旁组织中H19 mRNA表达水平

Fig. 2 Expression levels of H19 mRNA in cancer tissue and adjacent tissue of patients with different molecular types

42.9%和35.3%, H19和IGF2杂合状态分别占42.9%和41.2%。见表3。

2.4 乳腺癌患者癌组织中IGF2和H19的印记状态 161例乳腺癌患者接受了SNP检测(位点: Alu I/Apa I)。IGF2 LOI发生率为36.7%(22例LOI, 38例MOI), 明显高于H19 LOI发生率(4.3%)(2例LOI, 45例MOI)。所有组织样本中H19或IGF2的基因组DNA (genomic DNA,

gDNA) 被鉴定为杂合子(A/G, T/C), 用于后续分析, H19和IGF2的基因分型及LOI见表4。H19和IGF2双基因同时LOI仅1例; IGF2 LOI而H19 MOI 22例, H19基因组DNA杂合子A/C共14例, 纯合子A 8例。H19 LOI的样本编号为R0242, IGF2 LOI的样本编号为R0249, 测序结果见图3。在不同分子分型乳腺癌患者癌组织中H19和IGF2基因印记状态(同一患者)构成见表5。

表3 不同分子分型乳腺癌患者癌组织中H19和IGF2基因多态性

Tab. 3 Polymorphisms of H19 and IGF2 genes in breast cancer patients with different molecular types [n(η/%)]

Group	n	H19/IGF2 homozygous	H19/IGF2 heterozygous	H19 homozygous / IGF2 heterozygous	H19 heterozygous / IGF2 homozygous
Luminal	86	33 (38.4)	19 (22.1)	15 (17.4)	19 (22.1)
HER2+	14	6 (42.9)	6 (42.9)	1 (7.1)	1 (7.1)
Triple-negative	17	6 (35.3)	7 (41.2)	3 (17.6)	1 (5.9)

表4 乳腺癌患者癌组织的基因分型和LOI

Tab. 4 Genotyping and LOI of cancer tissue in patients with breast cancer

Group	n	H19 Polymorphism		IGF2 polymorphism	
		H19 genotype	Expressed	IGF2 genotype	Expressed
LOI of H19 and IGF2	1	A/C	a/c	T/C	t/c
LOI of IGF2	8	A/C	a	T/C	t/c
	6	A/C	c	T/C	t/c
	8	A	a	T/C	t/c

a/c: Double allele expression; a or c: Single allele expression; t/c: double allele expression.

2.5 IGF2 LOI与IGF2 mRNA表达的关系 SNP检测结果显示: IGF2 gDNA杂合子60例, 其中LOI 22例, MOI 38例。IGF2 LOI组乳腺癌患者癌组织中IGF2 mRNA表达水平(0.127 ± 0.226)明显高于IGF2 MOI组(0.053 ± 0.156) ($P < 0.01$), 表明IGF2的LOI可促进IGF2 mRNA表达。见图4。

3 讨论

肿瘤的发生发展与印记基因的调控有密切关联。许多肿瘤的发生, 如前列腺癌、结直肠癌、头颈部肿瘤和胚胎癌与LOI有关。lncRNA H19和IGF2为最早被研究的印记基因, 其相互作用在机体生长发育的多个信号通路中起关键作用^[8]。

在许多恶性肿瘤组织中存在H19和IGF2的LOI, 但不同组织的印记模式不同^[9]。本研究结果显示: H19在乳腺癌组织中的表达明显高于癌旁组织, 提示H19与乳腺癌的发生有关联。研究^[10]显

示: 乳腺癌组织中H19表达上调, 与本研究结果一致。WEI等^[11]研究显示: H19作为一种竞争性RNA, 通过隔离抑癌因子Let-7c来调节表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的高表达, 进而促进细胞增殖。H19可通过miR-200b/c和let-7b介导上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 参与肿瘤细胞从原发部位扩散到远处形成继发肿瘤的过程^[12]。H19还可在基因水平、转录水平和蛋白质翻译水平调控机体生物学活动, 如参与染色质重构、DNA甲基化和作为miRNA前体对组蛋白进行修饰。研究^[13]表明: H19基因沉默可降低乳腺癌细胞的增殖能力和皮下成瘤能力。

以往研究^[14]显示: H19作为ER调节剂介导雌二醇诱导的乳腺癌细胞增殖分化。研究^[14-15]表明: ER阳性乳腺癌细胞中H19表达水平是ER阴性乳腺癌细胞表达水平的10倍以上。H19通过影响雌

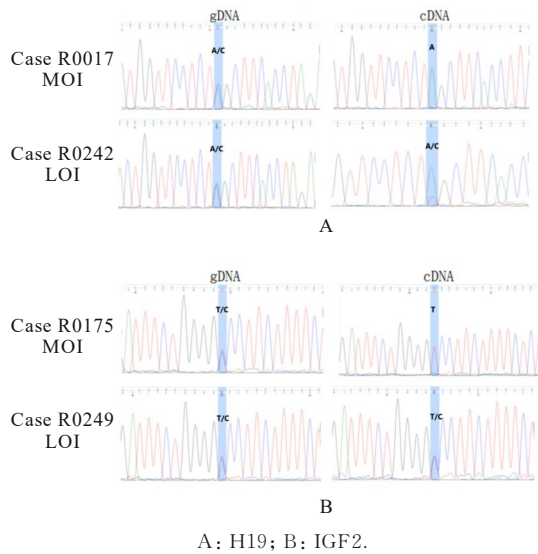


图3 不同分子分型乳腺癌患者癌组织中H19(A)和IGF2(B)印记状态测序图

Fig. 3 Sequencing maps of imprinting status of H19 (A) and IGF2(B) in cancer tissue of patients with different molecular types

表5 不同分子分型乳腺癌患者癌组织中H19和IGF2基因印记状态

Tab. 5 Imprinting status of H19 and IGF2 genes in breast cancer patients with different molecular types [n(η/%)]

Group	n	H19/IGF2 MOI	H19/IGF2 LOI	H19 MOI/IGF2 LOI
Luminal	19	4 (21.1)	2 (10.5)	13 (68.4)
HER2+	6	1 (16.7)	0 (0.0)	5 (83.3)
TNBC	7	1 (14.3)	0 (0.0)	6 (85.7)

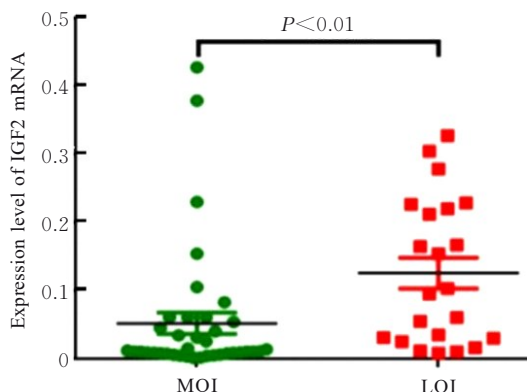


图4 IGF2基因不同印记状态乳腺癌患者癌组织中IGF2 mRNA表达水平

Fig. 4 Expression levels of IGF2 and mRNA in cancer tissue of breast cancer patients with different imprinting status of IGF2 gene

激素而发挥作用。由于本研究47例杂合病例中H19 LOI例数仅为2例,乳腺癌组织中H19高表达与LOI的相关性有待进一步研究,可能存在其他调控机制激活H19表达。研究^[16]显示: H19启动子可被转录因子E2F1激活,进而影响其印记状态。

研究^[8,17]显示: IGF2可促进肿瘤细胞的恶性增殖,其持续表达可促进肿瘤发展。在本研究中,乳腺癌组织中IGF2 mRNA表达水平高于癌旁组织。以往研究^[18]显示: IGF2表达水平上调并非在肿瘤组织,而是发生在肿瘤周围的正常组织,因此肿瘤能通过刺激旁分泌IGF2的方式,改善自身生存环境。HEFFELFINGER等^[19]证实: 在肿瘤与正常组织的过渡区IGF2表达水平明显升高。本研究结果显示: IGF2的LOI引起IGF2 mRNA表达水平升高,乳腺癌患者出现IGF2 LOI的比例约为36.7%。在乳腺癌转移过程中肿瘤相关成纤维细胞发挥着重要作用。研究^[20]表明: 乳腺癌患者转移部位的肿瘤相关成纤维细胞可通过增加IGF2的表达实现促进肿瘤进展的作用。

目前对于H19和IGF2印记基因间相互作用的研究较少。人类乳腺癌组织中高迁移率族AT Hook蛋白1 (high mobility group AT Hook protein HMGA1) P7表达与H19和IGF2表达有明显相关性, HMGA1P7表达上调可能通过内源性竞争RNA机制上调H19和IGF2的表达,进而促进癌症的进展^[21]。也有研究^[22]表明: H19基因反义转录本91H RNA不影响H19的表达和基因组印记,而是调节IGF2的表达。本研究乳腺癌患者癌组织中H19和IGF2 mRNA表达水平均高于癌旁组织,其机制有待进一步研究。

综上所述,本研究分析了印记基因H19和IGF2在乳腺癌组织中的表达水平及印记状态,初步验证了H19和IGF2 mRNA在乳腺癌组织中的表达水平明显高于癌旁组织,IGF2 LOI可能是促进乳腺癌发生的关键因素之一。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

魏雪和文雪参与文献检索、实验设计和论文撰写,谢潇、王月媛和黄丹参与数据收集整理、结果分析和讨论,杨明参与论文写作指导和论文审核。

[参考文献]

- [1] SUNG H, FERLAY J, SIEGEL R L, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. *CA Cancer J Clin*, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] BREAST CANCER ASSOCIATION CONSORTIUM, MAVADDAT N, DORLING L, et al. Pathology of tumors associated with pathogenic germline variants in 9 breast cancer susceptibility genes[J]. *JAMA Oncol*, 2022, 8(3): e216744.
- [3] TUCCI V, ISLES A R, KELSEY G, et al. Genomic imprinting and physiological processes in mammals [J]. *Cell*, 2019, 176(5): 952-965.
- [4] WANG J, SUN J Y, YANG F. The role of long non-coding RNA H19 in breast cancer [J]. *Oncol Lett*, 2020, 19(1): 7-16.
- [5] LIVINGSTONE C. IGF2 and cancer [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2013, 20(6): R321-R339.
- [6] PEPPERSTRAETE E, LECERF C, COLLETTE J, et al. Enhancement of breast cancer cell aggressiveness by lncRNA H19 and its mir-675 derivative: insight into shared and different actions [J]. *Cancers*, 2020, 12(7): 1730.
- [7] CHAO W, D' AMORE P A. IGF2: epigenetic regulation and role in development and disease [J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2008, 19(2): 111-120.
- [8] RATAJCZAK M Z. IGF2-H19, an imprinted tandem gene, is an important regulator of embryonic development, a guardian of proliferation of adult pluripotent stem cells, a regulator of longevity, and a 'passkey' to cancerogenesis [J]. *Folia Histochem Cytobiol*, 2012, 50(2): 171-179.
- [9] GAILHOUSTE L, LIEW L C, YASUKAWA K, et al. MEG3-derived miR-493-5p overcomes the oncogenic feature of IGF2-miR-483 loss of imprinting in hepatic cancer cells [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(8): 553.
- [10] WANG Y, ZHOU P H, LI P, et al. Long non-coding RNA H19 regulates proliferation and doxorubicin resistance in MCF-7 cells by targeting PARP1 [J]. *Bioengineered*, 2020, 11(1): 536-546.
- [11] WEI Y G, LIU Z Y, FANG J H. H19 functions as a competing endogenous RNA to regulate human epidermal growth factor receptor expression by sequestering let-7c in gastric cancer [J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 2600-2606.
- [12] ZHOU W, YE X L, XU J, et al. The lncRNA H19 mediates breast cancer cell plasticity during EMT and MET plasticity by differentially sponging miR-200b/c and let-7b [J]. *Sci Signal*, 2017, 10(483): eaak9557.
- [13] LIU Y, SHARMA S, WATABE K. Roles of lncRNA in breast cancer [J]. *Front Biosci*, 2015, 7(1): 94-108.
- [14] SUN H, WANG G, PENG Y, et al. H19 lncRNA mediates 17 β -estradiol-induced cell proliferation in MCF-7 breast cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2015, 33(6): 3045-3052.
- [15] BASAK P, CHATTERJEE S, WEGER S, et al. Estrogen regulates luminal progenitor cell differentiation through H19 gene expression [J]. *Endocr Relat Cancer*, 2015, 22(4): 505-517.
- [16] BERTEAUX N, LOTTIN S, MONTÉ D, et al. H19 mRNA-like noncoding RNA promotes breast cancer cell proliferation through positive control by E2F1 [J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(33): 29625-29636.
- [17] YU H, ROHAN T. Role of the insulin-like growth factor family in cancer development and progression [J]. *J Natl Cancer Inst*, 2000, 92(18): 1472-1489.
- [18] EL-BADRY O M, HELMAN L J, CHATTEN J, et al. Insulin-like growth factor II-mediated proliferation of human neuroblastoma [J]. *J Clin Invest*, 1991, 87(2): 648-657.
- [19] HEFFELFINGER S C, MILLER M A, YASSIN R, et al. Angiogenic growth factors in preinvasive breast disease [J]. *Clin Cancer Res*, 1999, 5(10): 2867-2876.
- [20] GUI Y R, AGUILAR-MAHECHA A, KRZEMIEN U, et al. Metastatic breast carcinoma-associated fibroblasts have enhanced protumorigenic properties related to increased IGF2 expression [J]. *Clin Cancer Res*, 2019, 25(23): 7229-7242.
- [21] MARTINO M D, FORZATI F, MARFELLA M, et al. HMGA1P7-pseudogene regulates H19 and Igf2 expression by a competitive endogenous RNA mechanism [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 37622.
- [22] BERTEAUX N, APTEL N, CATHALA G, et al. A novel H19 antisense RNA overexpressed in breast cancer contributes to paternal IGF2 expression [J]. *Mol Cell Biol*, 2008, 28(22): 6731-6745.