

论著 · 基础研究      doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.02.007

# 长链非编码 RNA-UBC1 对膀胱癌细胞生物学功能的影响

朱晨曦,李文洲,郭永连,余家俊,舒 博,陈 琳,李国灏,卫 丹  
(湖北省武汉市中心医院泌尿外科 430014)

**[摘要]** **目的** 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)-尿路上皮癌相关基因 1(UBC1)对膀胱癌细胞增殖、凋亡和侵袭转移的作用及其可能的机制。**方法** 采用 siRNA 干扰技术沉默膀胱癌细胞系 T24 细胞的 lncRNA-UBC1,设置阴性对照组,CCK-8 检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞凋亡,Transwell 检测细胞侵袭能力,Western blot 印迹法检测与转移相关的基质金属蛋白 2(MMP-2)与 zeste 基因增强子同源 2(EZH2)。**结果** lncRNA-UBC1 在 T24 细胞株中表达明显高于人胚胎膀胱组织来源细胞;与阴性对照组和空白对照组相比,沉默 UBC1 后,UBC1 沉默组膀胱癌细胞增殖速率慢于对照组,UBC1 沉默组膀胱癌细胞凋亡细胞比例高于阴性对照组 $[(18.72\pm 7.79)\% \text{ vs. } (13.09\pm 5.66)\%, P<0.05]$ ,UBC1 沉默组细胞侵袭能力受到抑制,T24 细胞 MMP-2 与 EZH2 表达降低。**结论** 沉默 lncRNA-UBC1 可抑制 T24 细胞增殖、凋亡及侵袭能力,其机制可能是通过 MMP-2 与 EZH2 途径。**[关键词]** RNA;膀胱肿瘤;长链非编码 RNA-UBC1;肿瘤浸润;细胞增殖;基质金属蛋白酶 2;zeste 基因增强子同源物 2**[中图分类号]** R737.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2017)02-0169-03

Effect of long-chain non-coding RNA UBC1 on biological function of bladder cancer cells  
Zhu Chenxi, Li Wenzhou, Guo Yonglian, Yu Jiajun, Shu Bo, Chen Lin, Li Guohao, Wei Dan  
(Department of Urology, Wuhan Municipal Central Hospital, Wuhan, Hubei 430014, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the effect of long-chain non-coding RNA-UBC1(lncRNA-UBC1) on proliferation, apoptosis, invasion and metastasis of bladder cancer cells and its possible mechanism. **Methods** The siRNA was used to silence lncRNA-UBC1 in bladder cancer cell line T24 cells. The negative control group was set. CCK-8 was used to detect cell proliferation, flow cytometry was used to detect cell apoptosis, Transwell assay was used to detect the invasion ability and the expression of EZH2 and MMP-2 was detected by Western blot. **Results** The lncRNA-UBC1 expression in T24 cell lines was significantly higher than that in human embryonic bladder tissue derived cells. Compared with the negative control group and blank control group, T24 bladder cancer cell proliferation rate in the UBC1 silence group was slower than that of the control groups. T24 bladder cancer cell apoptosis cell percentage in the UBC1 silence group was higher than that in the negative control group $[(18.72\pm 7.79)\% \text{ vs. } (13.09\pm 5.66)\%, P<0.05]$ . The T24 bladder cancer cell invasion ability in the UBC1 silence group was inhibited. Expression of MMP-2 and EZH2 of T24 cell in UBC1 silence group was decreased. **Conclusion** Silencing lncRNA-UBC1 can inhibit the proliferation, apoptosis and invasion ability of T24 cells and its mechanism may be through MMP-2 and EZH2 pathway. **[Key words]** RNA; urinary bladder neoplasms; long-chain non-coding RNA UBC1; neoplasm invasiveness; cell proliferation; matrix metalloproteinase 2; enhancer of zeste homolog 2

膀胱癌是最为常见的泌尿系统恶性肿瘤之一,其特点是复发率高和恶性程度高,尤其是浸润性膀胱癌,恶性程度极高,预后不佳,5 年生生存率不超过 50%<sup>[1]</sup>。近年来,众多研究正深入探索膀胱癌发生、发展的分子机制,寻找可信度高的生物标志物和有效的治疗靶点成为膀胱癌诊治的突破点之一。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA)已成为当前全球基因领域研究的热点内容之一<sup>[2]</sup>, lncRNA 可通过表观遗传学相关的修饰在肿瘤的发生、发展中发挥重要作用,部分 lncRNA 具有重要的潜在临床应用价值,有望成为人类癌症新的诊断标志物及分子治疗靶点<sup>[3]</sup>。有研究从临床组织学水平检测并筛查发现长链非编码 RNA(lncRNA)-尿路上皮癌相关基因 1(UBC1)表达与膀胱癌患者淋巴转移及预后密切相关,而且,术前检测 UBC1 表达水平可为膀胱癌淋巴结清扫范围提供有力参考依据<sup>[4-5]</sup>。UBC1 可能通过调控下游基因表达来发挥作用,但其具体机制尚在研究当中。本研究拟从细胞水平探讨 UBC1 与膀胱癌细胞增殖、凋亡和侵袭转移的关系及其可能的机制,现报道如下。

**1 材料与方法**  
**1.1 材料** 膀胱癌细胞系 T24 细胞株和人胚胎膀胱组织来源细胞(CCC-HB-2)购自美国典型培养物保藏中心(ATCC);DMEM 和 RPMI-1640 均购自 Hyclone 公司;胎牛血清(FBS)购自 Gibco 公司;UBC1 siRNA 和 negative siRNA 由广州市锐博生物科技有限公司合成;磷酸盐缓冲液(PBS)、0.25%胰蛋白酶和 RIPA 组织细胞快速裂解液等购自武汉华联科生物技术有限公司;SYBR Green 染料购自天根生化科技有限公司;CCK-8 试剂盒购自株式会社日本同仁;AnnexinV-异硫氰酸荧光素(FITC)/碘化丙啶(PI)凋亡检测试剂盒、Matrigel 基质胶均购自 BD 公司;各种孔板、Transell 小室及其他细胞培养所需耗材为 Corning 公司产品。Lipofectamine™ 2000、TRIzol 试剂和 DNase I 酶等购自 Invertogen 公司;引物合成委托广州市锐博生物科技有限公司;CO<sub>2</sub> 恒温培养箱(Thermo)、酶标仪(芬兰雷勃)、移液枪(吉尔森)、流式细胞仪(BD 公司)均由本院科研中心提供使用。蛋白质标记物(Promega)、脱脂奶粉(BD 公司)、十二烷基硫酸钠(SDS)(Sigma)和硝酸纤维素膜(milli-

pore)均购自武汉谷歌生物公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染 人胚胎膀胱组织来源细胞 CCC-HB-2 用 DMEM+10%胎牛血清+双抗培养。T24 人膀胱癌细胞用 DMEM+10%胎牛血清培养,常规细胞培养方法培养细胞,操作过程严格遵循无菌操作原则,细胞培养条件为 37℃、5% CO<sub>2</sub>。取对数生长期生长状态最佳的细胞,接种于 6 孔板中,每孔 2 mL 细胞悬液,待细胞长满 70%~80%时,参照 Lipofectamine™2000 转染试剂操作说明书进行 siRNA 瞬时转染操作,转染终浓度为 100 nmol/L,在转染进行 48 h 后收集细胞进行下一步实验。实验分为空白对照组,阴性对照组(转染 negative siRNA)和 UBC1 沉默组(转染 UBC1-siRNA)。

1.2.2 逆转录 PCR(RT-PCT)检测 RNA 表达水平 转染 48 h 后,采用 Trizol 法提取总 RNA,用逆转录试剂盒对总 RNA 进行逆转录得到总 cDNA,然后按选定引物采用 TaqPCR MasterMix(Toyobo)进行下一步荧光定量 PCR 操作。随后进行目的基因片段的扩增,以 U6 基因为内参。lncRNA UBC1 基因引物序列:上游引物 5'-CCU GUC UAC AGA CUG AAU ATT-3',下游引物 5'-CCG GAA CAA AUG GCU UCA UTT-3'),阴性对照 siRNA 序列 5'-UUC UCC GAA CGU GUC ACG UTT-3',各组设置 3 个复孔进行重复试验。采用 RT-PCR 法检测 CCC-HB-2-人胚胎膀胱组织来源细胞株(CH2 组)和 T24 膀胱癌细胞株(T24 组)中的 UBC1 表达水平,方法同前。

1.2.3 CCK-8 检测细胞增殖试验 取处于对数生长期的对照组和实验组的细胞,用胰蛋白酶消化后重悬,调整细胞浓度为(1~5)×10<sup>4</sup>/mL,取 96 孔培养板,每组设置 6 个复孔,每孔加入 100 μL 细胞悬浮液,种植细胞浓度为(1~5)×10<sup>3</sup>/孔,并设置空白对照。37℃培养过夜,按照每孔 100 μL CCK-8,37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵育 1~4 h;用分光光度计测定 450 nm 波长光密度值(OD 值)。记录每块板的数值,以培养处理的时间为横轴,以平均 OD 值为纵轴,制作处理后 T24 人膀胱癌细胞生长曲线。

1.2.4 流式细胞仪检测凋亡实验 转染 48 h 后,移去各组细胞上液,采用 PBS 洗涤 1 次,用胰酶消化液消化后重悬细胞,调整细胞浓度 1×10<sup>5</sup>/mL。用预冷的 PBS 洗涤 2 次,每次加入 1 mL 预冷的 PBS,轻轻震荡操作,使细胞充分悬浮,1 000 g、4℃条件离心 5 min,弃上清液。将细胞重悬于 200 μL,注意调整细胞浓度;加入 10 μL Annexin V-FITC 和 10 μL PI,轻轻混匀,注意不要用力震荡,在 4℃避光孵育 30 min 后加入 300 μL 结合缓冲液(Binding Buffer),随即进行流式细胞仪上机检测。

1.2.5 Transwell 侵袭实验 用无血清 DMEM 培养基进行细胞血清饥饿处理 24 h,将 24 孔板和 Transwell 小室用 1×PBS 浸泡 5 min;用不含血清的 DMEM 培养液洗涤细胞,然后用含有 1%FBS 的 DMEM 培养基重悬处理后的细胞,调整细胞浓度至 1×10<sup>5</sup>/mL,注意细胞浓度不可太高,接种到 Transwell 小室上层内,每个小室上层加 0.50 mL 细胞悬液,下层加入 500 μL 含 10%FBS 的 DMEM 培养液,每组 3 复孔。培养箱中继续培养 48 h 后每孔加入 1 mL 4%甲醛溶液,室温下固定 10 min 后吸去固定液,用 1×PBS 洗涤 1 次,用 0.5%结晶紫溶液进行染色,处理至少 30 min 后用 1×PBS 洗 3 次,晾干后观

察。观察前用棉签小心擦去 Transwell 小室内没有迁移的细胞,注意不要擦掉小室牵引过去的细胞,不要残留棉花碎屑,然后将小室置于 200 倍的显微镜下观察,计数每个视野中的细胞数。

1.2.6 Western blot 细胞传代培养至 70%~80%融合时进行转染,48 h 后,胰酶消化并重悬细胞,采用 RIPA 试剂裂解法提取总蛋白,并用二喹啉甲酸(BCA)蛋白试剂盒检测蛋白浓度,达标蛋白浓度方可进行下一步实验。水浴法变性蛋白后,加入 5×SDS-聚丙烯酰胺凝胶(PAGE)蛋白上样缓冲液,取含相同量蛋白的蛋白裂解液,采用 10%的 SDS-PAGE 胶进行电泳分离,注意调整电泳电压和时间,用电转印到尼龙膜上,用脱脂牛奶室温封闭 1 h,免疫印迹的一抗用按 1:1 000 稀释的抗人基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、zeste 基因增强子同源物 2(EZH2)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体过夜孵育,在室温下用 PBS-Tween 洗膜 3 次,每次 10 min;印迹膜用按 1:3 000 的抗鼠或抗兔 IgG 耦联的辣根过氧化物酶作为二抗,室温孵育 1 h,用 PBS-Tween 洗膜 3 次,室温下每次 10 min。用增强型化学发光液检测试剂盒化学发光显色。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计分析,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料用率表示,组间采用  $\chi^2$  检验,检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RT-PCR 检测细胞系 UBC1 基因表达 T24 组细胞 UBC1 表达水平高于 CH2 组近 3 倍,差异有统计学意义( $P<0.05$ );T24 膀胱癌细胞 UBC1 沉默组与阴性对照组及空白对照组相比,UBC1 相对表达明显较低( $P<0.05$ ),见图 1。

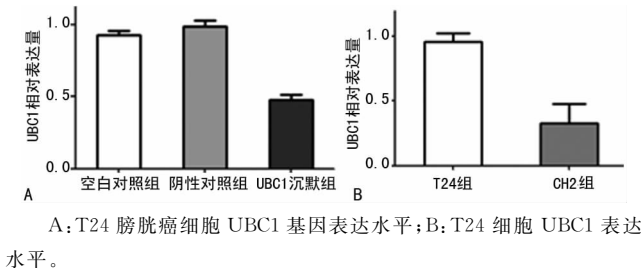


图 1 RT-PCR 检测细胞系 UBC1 基因表达水平

2.2 沉默 UBC1 对膀胱癌细胞增殖影响结果 与阴性对照组及空白对照组相比,24、48 和 72 h 时 UBC1 沉默组细胞 OD 值均降低,T24 膀胱癌细胞增殖受到抑制,且差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见图 2。

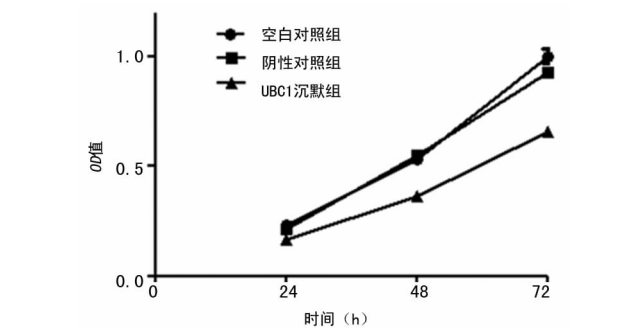


图 2 CCK-8 检测 T24 膀胱癌细胞增殖情况

2.3 沉默 UBC1 对膀胱癌细胞凋亡影响 人 T24 膀胱癌细胞转染 UBC1-siRNA 24 h 后,流式细胞术检测膀胱癌细胞凋亡情况,结果显示,UBC1 沉默组膀胱癌细胞凋亡细胞比例高

于阴性对照组 $[(18.72 \pm 7.79)\% \text{ vs. } (13.09 \pm 5.66)\%, P < 0.05]$ ,见图 3。

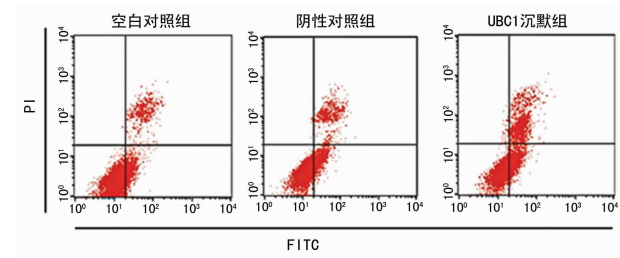


图 3 流式细胞仪检测 T24 膀胱癌细胞增殖情况

**2.4 沉默 UBC1 对膀胱癌细胞侵袭转移影响** Transwell 小室实验检测膀胱癌细胞侵袭转移情况,结果显示,穿膜细胞数目分别为:空白对照组 $(333.0 \pm 22.3)$ 、阴性对照组 $(310.0 \pm 30.5)$ 和 UBC1 沉默组 $(172.0 \pm 20.9)$ ,与阴性对照组比较,UBC1 沉默组细胞侵袭能力受到抑制 $(P < 0.05)$ ,见图 4。

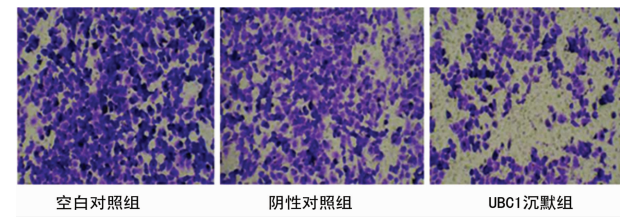


图 4 Transwell 检测 T24 膀胱癌细胞侵袭情况( $\times 100$ )

**2.5 Western blot 检测 MMP-2 和 EZH2 蛋白的表达水平** 转染 24 h 后,Western blot 结果显示,与阴性对照组和空白对照组相比,UBC1 沉默组细胞 MMP-2 和 EZH2 蛋白水平降低,见图 5。

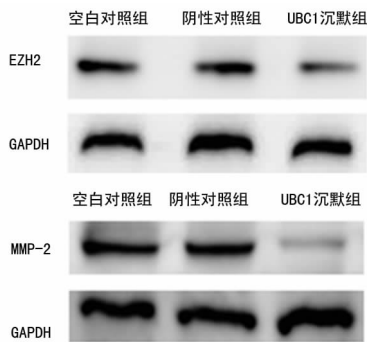


图 5 Western blot 检测 T24 肿瘤细胞 MMP-2 和 EZH2 蛋白的表达水平

3 讨 论

lncRNA 是一类转录本长度大于 200 nt 单位的 RNA,普遍存在于细胞中,它们起初被认为是基因组转录的“转录垃圾”,不具有生物学功能<sup>[6-7]</sup>。然而,近年来研究表明,lncRNA 参与了基因组印记、染色质修饰、转录干扰及转录激活等多种重要的调控过程<sup>[7]</sup>。lncRNA 在膀胱癌中的研究既可以丰富非编码 RNA 的研究内容,到目前为止,已发现的与膀胱癌疾病密切相关的 lncRNA 有 H19<sup>[8]</sup>、UCA1<sup>[9]</sup>、ncRAN<sup>[10]</sup>、MALAT-1<sup>[11]</sup> 和 MEG3<sup>[12]</sup> 等。它们与膀胱癌疾病的发病机制、复发转移、诊断治疗及预后都有着一定的相关性<sup>[13]</sup>。

UBC1 是新近发现的与膀胱癌疾病相关的又一 lncRNA,He 等<sup>[5]</sup>采用 qRT-PCR 检测 102 名膀胱癌患者的癌组织和癌旁组织 UBC1 的表达,发现 UBC1 在膀胱癌组织中呈现高表

达,而且这种高表达与预后密切相关,其表达越高,患者预后越差,是可能的致癌基因或基因干预治疗的靶点。本实验在此基础上进行细胞实验,结果表明,在膀胱癌细胞系中 UBC1 表达明显高于人胚胎膀胱组织源性细胞中,这与 He 等<sup>[5]</sup>研究一致。当下调 UBC1 后,膀胱癌细胞的增殖、凋亡和侵袭能力均受到抑制。而在关于 UBC1 与胃肠道癌症关系的一项研究中,Hu 等<sup>[4]</sup>也证实,在胃肠道癌组织中 UBC1 呈现高表达,下调 UBC1 后,胃肠道癌症细胞株 BGC-823,SGC-7901 的增殖、侵袭和转移均受到抑制。因此,结合以往研究不难得出,UBC1 可能在膀胱癌的发生、发展中有致癌作用,若干扰 UBC1 的表达,可能对膀胱癌具有一定的治疗意义。

本实验研究结果还表明,下调 UBC1 后,膀胱癌细胞 MMP-2 和 EZH2 基因相关蛋白表达也随之下降。lncRNA 并不直接参与调控蛋白的翻译合成,但其在 mRNA 前体的剪辑的调节和活性丝氨酸/精氨酸剪接因子水平的调控起着至关重要的作用,从而进一步影响蛋白的表达。虽然本项目研究的是 UBC1,但是有关 lncRNA 调控 MMPs 基因的研究并不陌生,Dong 等<sup>[11]</sup>下调肝癌细胞中的 lncRNA-MALAT1 后发现,MMP-9 基因相关蛋白被明显下调<sup>[10]</sup>。Ji 等<sup>[13]</sup>研究发现,MALAT1 调控 c-Myc 和 MMP-7 基因的表达抑制结肠癌细胞的转移。已知 MMPs 蛋白家族参与多种癌症细胞的转移过程<sup>[14-15]</sup>。因此,UBC1 可能通过 MMP-2 途径调控膀胱癌细胞的侵袭转移。此外,本研究还发现 UBC1 干扰组的膀胱癌细胞 EZH2 蛋白水平的降低。以往研究发现 lncRNA-MALAT1 可以通过调控 EZH2 而调控前列腺癌细胞的生物学功能<sup>[16]</sup>,EZH2 在膀胱癌增殖和侵袭转移过程中起到重要作用,EZH2 在膀胱癌中呈现高表达,其表达水平的高低与预后成反比,但可能作为治疗的干预靶点<sup>[17-18]</sup>。因此,参与 UBC1 调控膀胱癌细胞的侵袭转移等生物学功能的蛋白途径除了 MMP-2 之外,还可能有 EZH2 途径。

总之,lncRNA-UBC1 是膀胱癌发生、发展,增殖浸润和转移复发的重要调控分子,lncRNA 与表观遗传学的调控是相互关联、相互影响的,并非独立存在于人体,随着研究的深入,lncRNA-UBC1 在膀胱癌中的作用机制将越来越明确,甚至可能作为膀胱癌诊断的特异性标志物和药物作用基因靶点,为膀胱癌诊断和治疗提供新策略。

参考文献

[1] 张志凌,周芳坚.膀胱癌的诊断和治疗进展[J].临床外科杂志,2015,23(2):91-92.  
[2] Martens-Uzunova ES,Böttcher R,Croce CM,et al. Long noncoding RNA in prostate,bladder,and kidney cancer [J].Eur Urol,2014,65(6):1140-1151.  
[3] Zhang Q,Su M,Lu G,et al. The complexity of bladder-cancer;long noncoding RNAs are on the stage[J].Mol Cancer,2013,12(1):101.  
[4] Hu Y,Pan J,Wang Y,et al. Long noncoding RNA linc-UBC1 is negative prognostic factor and exhibits tumor pro-oncogenic activity in gastric cancer[J].Int J Clin Exp Pathol,2015,8(1):594-600.  
[5] He W,Cai Q,Sun F,et al. linc-UBC1 physically associates with polycomb repressive complex 2(PRC2)(下转第 174 页)

胞因子信号抑制物 SOCS-3 蛋白在内的多种不同机制,造成 IR<sup>[12]</sup>。因此,在 NAFLD 的发生和发展过程中涉及 IR 和炎症反应的交互作用,构成复杂的网络体系。

综上所述,NAFLD 患者的血清 chemerin 水平与 HOMA-IR、hs-CR 呈正相关;NAFLD+IR 组的 chemerin 和 hs-CRP 水平显著高于 NAFLD 组,提示 chemerin 在 NAFLD 发病中的作用可能同时与 IR 及炎症反应相关。

## 参考文献

- [1] 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南[J]. 肝脏,2006,11(1):68-70.
  - [2] Fan JG. Epidemiology of alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease in China[J]. J Gastroenterol Hepatol,2013,28(1):11-17.
  - [3] Zhang TS, Qin HL, Wang T, et al. Global publication trends and research hotspots of nonalcoholic fatty liver disease:a bibliometric analysis and systematic review[J]. Springerplus,2015(4):776.
  - [4] Bozaoglu K, Bolton K, Mcmillan J, et al. Chemerin is a novel adipokine associated with obesity and metabolic syndrome[J]. Endocrinology,2007,148(10):4687-4694.
  - [5] Zhuang X, Sun F, Li L, et al. Therapeutic effect of metformin on chemerin in non-obese patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) [J]. Clin Lab,2015,61(10):1409-1414.
  - [6] Bang KB, Cho YK. Comorbidities and metabolic derangement of NAFLD[J]. J lifestyle Med,2015,5(1):7-13.
  - [7] Weigert J, Neumeier M, Wanninger J, et al. Systemic chemerin is related to inflammation rather than obesity in type 2 diabetes[J]. Clin Endocrinol(Oxf),2010,72(3):342-348.
  - [8] Genc H, Dogru T, Kara M, et al. Association of plasma visfatin with hepatic and systemic inflammation in non-alcoholic fatty liver disease[J]. Ann Hepatol,2013,12(4):548-555.
  - [9] 黄泽峰, 谢鑫. Chemerin 通过核因子  $\kappa$ B 介导的炎症反应诱导 C2C12 细胞产生胰岛素抵抗[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2015,31(6):725-729.
  - [10] Kaneko K, Miyabe Y, Takayasu A, et al. Chemerin activates fibroblast-like synoviocytes in patients with rheumatoid arthritis [J]. Arthritis Res Ther,2011,13(5):R158.
  - [11] Ajmal MR, Yaccha M, Malik MA, et al. Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in patients of cardiovascular diseases and its association with hs-CRP and TNF- $\alpha$  [J]. Indian Heart J,2015,66(6):574-579.
  - [12] Rabe K, Lehrke M, Parhofer KG, et al. Adipokines and insulin resistance [J]. Mol Med,2008,14(11/12):741-751.
- (收稿日期:2016-07-15 修回日期:2016-09-12)
- 
- (上接第 171 页)
- and acts as a negative prognostic factor for lymph node metastasis and survival in bladder cancer [J]. Biochim Biophys Acta,2013,1832(10):1528-1537.
- [6] 郑雯雯, 张淑芳. 长链非编码 RNA 在膀胱癌中的研究进展[J]. 现代肿瘤医学,2015,23(24):3685-3690.
  - [7] Zhu YP, Bian XJ, Ye DW, et al. Long noncoding RNA expression signatures of bladder cancer revealed by microarray[J]. Oncol Lett,2014,7(4):1197-1202.
  - [8] Luo M, Li Z, Wang W, et al. Long non-coding RNA H19 increases bladder cancer metastasis by associating with EZH2 and inhibiting E-cadherin expression [J]. Cancer Lett,2013,333(2):213-221.
  - [9] Li Z, Li X, Wu S, et al. Long non-coding RNA UCA1 promotes glycolysis by upregulating hexokinase 2 through the mTOR-STAT3/microRNA143 pathway [J]. Cancer Sci,2014,105(8):951-955.
  - [10] Zhu Y, Yu M, Li Z, et al. ncRAN, a newly identified long noncoding RNA, enhances human bladder tumor growth, invasion, and survival [J]. Urology,2011,77(2):510.
  - [11] Dong Y, Liang G, Yuan B, et al. MALAT1 promotes the proliferation and metastasis of osteosarcoma cells by activating the PI3K/Akt pathway [J]. Tumour Biol,2015,36(3):1477-1486.
  - [12] Ying L, Huang Y, Chen H, et al. Downregulated MEG3 activates autophagy and increases cell proliferation in bladder cancer [J]. Mol Biosyst,2013,9(3):407-411.
  - [13] Ji Q, Liu X, Fu X, et al. Resveratrol inhibits invasion and metastasis of colorectal cancer cells via MALAT1 mediated Wnt/ $\beta$ -catenin signal pathway [J]. PLoS One,2013,8(11):e78700.
  - [14] Coccia A, Bastianelli D, Mosca L, et al. Extra virgin olive oil phenols suppress migration and invasion of T24 human bladder cancer cells through modulation of matrix metalloproteinase-2 [J]. Nutr Cancer,2014,66(6):946-954.
  - [15] Yan Y, Liang H, Li T, et al. The MMP-1, MMP-2, and MMP-9 gene polymorphisms and susceptibility to bladder cancer: a meta-analysis [J]. Tumour Biol,2014,35(4):3047-3052.
  - [16] Wang D, Ding L, Wang L, et al. LncRNA MALAT1 enhances oncogenic activities of EZH2 in castration-resistant prostate cancer [J]. Oncotarget,2015,6(38):41045-41055.
  - [17] Martínez-Fernández M, Rubio C, Segovia C, et al. EZH2 in bladder cancer, a promising therapeutic target [J]. Int J Mol Sci,2015,16(11):27107-27132.
  - [18] Wang HF, Yang H, Hu LB, et al. Effect of siRNA targeting EZH2 on cell viability and apoptosis of bladder cancer T24 cells [J]. Genet Mol Res,2014,13(4):9939-9950.
- (收稿日期:2016-07-03 修回日期:2016-08-26)