

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.18.005

长链非编码 RNA SNHG6 在结肠癌中的表达及其生物学意义

黎丰华, 古国财, 庄雄标, 吴印爱, 刘献棠, 王志伟[△]
(广州军区广州总医院 157 分院普通外科, 广州 510515)

[摘要] **目的** 探索核仁小分子 RNA 宿主基因 6(SNHG6)在结肠癌组织中的表达特点,以及其对结肠癌细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响。**方法** 采用荧光定量 PCR 检测 25 例患者结肠癌组织及对应癌旁组织中 SNHG6 mRNA 的表达水平。将 LoVo 细胞分成 Blank 组、NC 组、siRNA-1 组和 siRNA-2 组,其中 Blank 组不作任何处理,另外 3 组依次使用 Lipofectamine 2000 转染 NC-siRNA、SNHG6-siRNA-1 及 SNHG6-siRNA-2;通过 CCK-8 实验测定细胞增殖能力,通过 Transwell 实验测定细胞迁移及侵袭能力;通过荧光定量 PCR 和蛋白质印迹法(Western blot)检测上皮-间质转化(EMT)标志物上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、Snail 的 mRNA 及蛋白表达水平。**结果** 患者结肠癌组织 SNHG6 mRNA 表达水平高于对应癌旁组织($U=138.0, P=0.0007$)。siRNA-1 组和 siRNA-2 组细胞增殖活性较 Blank 组明显下降($P<0.05$);siRNA-1 组和 siRNA-2 组细胞的迁移和侵袭数量较 Blank 组明显减少($P<0.05$);siRNA-1 组、siRNA-2 组与 Blank 组比较,E-Cadherin mRNA 及蛋白表达上调,N-Cadherin、Vimentin 及 Snail mRNA 及蛋白表达下调,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** SNHG6 在结肠癌组织中高表达,敲低 SNHG6 表达能够抑制结肠癌细胞 EMT 进程,进而抑制细胞的增殖、迁移及侵袭能力。

[关键词] 结肠肿瘤;核仁小分子 RNA 宿主基因 6;上皮-间质转化;细胞增殖;细胞迁移;侵袭**[中图分类号]** R735.3+5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2018)18-2413-05**The expression of SNHG6 and its biological significance in colon cancer**LI Fenghua, GU Guocai, ZHUANG Xiongbiao, WU Yin'ai, LIU Xiantang, WANG Zhiwei[△]
(Department of General Surgery, 157 Branch Hospital, General Hospital of Guangzhou
Military Command of PLA, Guangzhou, Guangdong 510515, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the expression characteristics of small-nucleolar-RNA host gene 6 (SNHG6) in colon cancer tissues, and explore its biological function on colon cancer cell lines LoVo, including the cell proliferation, migration and invasion. **Methods** The expression levels of SNHG6 mRNA in colon cancer tissues and corresponding adjacent normal tissues obtained from 25 patients were detected by real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR). The LoVo cells were divided into four groups, including the blank group, the negative control (NC) group, the siRNA-1 group and the siRNA-2 group. Using lipofectamine 2000, the NC group, the siRNA-1 group and the siRNA-2 group were respectively transfected with NC-siRNA, SNHG6-siRNA-1 and SNHG6-siRNA-2, while the blank group was not transfected. The ability of cell proliferation was measured by cell counting kit-8 (CCK-8). The abilities of cell migration and invasion were measured by transwell. The expression levels of mRNA and protein of epithelial-mesenchymal transition (EMT) markers, including E-cadherin, N-cadherin, Vimentin and Snail, were detected by both qRT-PCR and western blot. **Results** The expression level of SNHG6 mRNA was higher in colon cancer tissues than that in the corresponding adjacent normal tissues ($U=138.0, P=0.0007$). LoVo cells in the siRNA-1 group and the siRNA-2 group were suppressed when compared with the blank group ($P<0.05$). The number of cells migrated and invaded in the siRNA-1 group and siRNA-2 group were significantly smaller than those in the blank group ($P<0.05$). The expression levels of E-cadherin mRNA and protein in the siRNA-1 group and the siRNA-2 group were significantly up-regulated, while N-cadherin, Vimentin and Snail mRNA and protein in the siRNA-1 group and the siRNA-2 group were down-regulated, compared with the blank group, there were statistically significant differences ($P<0.05$). **Conclusion** SNHG6 is highly expressed in colon cancer tissues. Down-regulating the expression of SNHG6 could inhibit progression of EMT, and inhibit cell proliferation, migration and invasion.

[Key words] colonic neoplasms; small-nucleolar-RNA host gene 6; epithelial-mesenchymal transition; cell proliferation; cell migration; invasiveness

结肠癌是人类主要恶性肿瘤之一,其发病率和病死率分别位于第 3 位和第 4 位。每年约有 120 万新确诊的结肠癌患者,并且有超过 60 万例患者死于结肠癌^[1]。肿瘤转移与肿瘤患者的预后直接相关,当结肠癌确诊时,已经有 20%~40% 患者发生远处转移,目前结肠癌外科手术的 5 年生存率在 50% 左右^[2-3]。因此,分析结肠癌的生物学特性,探索其复发转移机制是临床研究关注的问题。核仁小分子 RNA 宿主基因(SNHG)是一类对恶性肿瘤具有重要生物学调控作用的长链非编码 RNA(lncRNAs)^[4-7]。既往报道 SNHG6 在肝细胞癌中表达明显上调,并提示肿瘤患者的高复发可能性^[8]。然而,目前尚缺少 SNHG6 对结肠癌生物学作用影响的报道,本文将探究 SNHG6 在结肠癌组织中的表达特点,及其对结肠癌细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响。

1 资料与方法

1.1 细胞与组织来源 试验所用结肠癌组织和相应癌旁组织(距癌灶边缘至少 2 cm)均为离体 30 min 内转移至 -80 °C 冰箱保存的新鲜标本,取自 2014 年 1 月至 2015 年 10 月在本院行根治性手术治疗的 25 例结肠癌患者,所有患者术后均经病理学检查确诊,术前行放疗化疗等抗肿瘤治疗。LoVo 结肠癌细胞购自中国科学院上海细胞库。

1.2 仪器与试剂 RNA 提取试剂盒、反转录试剂盒和荧光定量 PCR 试剂盒(日本 Takara 公司),荧光定量 PCR 引物序列(上海生工公司),DMEM 高糖培养基、胎牛血清、胰蛋白酶(美国 HyClone 公司),Lipofectamine 2000 转染试剂(美国 Invitrogen 公司),SNHG6-siRNA 干扰序列(广州锐博公司),CCK-8 (cell counting kit 8)细胞增殖检测试剂盒(上海碧云天公司),Matrigel 基质胶和 Transwell 培养板(美国 Corning 公司),上皮型钙黏蛋白(E-cadherin)、神经型钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、Snail 和 β -actin 兔抗人多克隆抗体(美国 Abclonal 公司)。CO₂ 培养箱(美国 Thermo Fisher 公司),倒置显微镜(日本 Nikon 公司),实时荧光定量 PCR 检测系统(美国 ABI 公司),蛋白质印迹法(Western blot)检测系统(美国 Bio-rad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 LoVo 细胞培养、转染和分组 LoVo 细胞使用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,置于 37 °C 5%CO₂ 培养箱中培养。为探讨敲低 SNHG6 表达对 LoVo 细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响,取对数生长期细胞按照 Lipofectamine 2000 说明书进行细胞转染

处理,分为 4 组:空白组(Blank 组,不加任何处理),阴性对照组(NC 组;5 μ L Lipofectamine 2000+50 pmol NC-siRNA),第 1 干扰组(siRNA-1 组,5 μ L Lipofectamine 2000+50 pmol SHNG6-siRNA-1)及第 2 干扰组(siRNA-2 组,5 μ L Lipofectamine 2000+50 pmol SHNG6-siRNA-2)。4 组分别处理 48 或 72 h 后进行下一步实验。

1.3.2 结肠癌组织和 LoVo 细胞 SNHG6 及细胞上皮-间质转化(EMT)标志物 mRNA 表达水平的检测 Trizol 法提取组织或者细胞总 RNA,按照反转录试剂盒说明书将总 RNA 反转录成 cDNA,再以 cDNA 为模板按照 SYBR Green I 法进行目的基因的荧光定量 PCR 反应。SNHG6 引物:上游 5'-ATA CTT CTG CTT CGT TAC CT-3',下游 5'-CTC ATT TTC ATC ATT TGC T-3';EMT 标志物能够反映细胞的 EMT 进程,主要包括上皮细胞标志物 E-cadherin、间质细胞标志物 N-cadherin 和 Vimentin,以及抑制上皮细胞特性的转录因子 Snail。各目的基因引物序列见表 1,采用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法表示目的基因的相对表达水平,以 β -actin 作为内参。

表 1 EMT 标志物的引物序列

目的基因	方向	序列
SNHG6	上游	5'-ATA CTT CTG CTT CGT TAC CT-3'
	下游	5'-CTC ATT TTC ATC ATT TGC T-3'
E-Cadherin	上游	5'-CTT GCG GAA GTC AGT TCA GA-3'
	下游	5'-CAC CGT GAA CGT GTA GCT CT-3'
N-Cadherin	上游	5'-TTC GGG TAA TCC TCC CAA ATC-3'
	下游	5'-CCA CAA TCC TGT CCA CAT CT-3'
Vimentin	上游	5'-CAG GAA CAG CAT GTC CAA ATC-3'
	下游	5'-GGC AGC CAC ACT TTC ATA TTG-3'
Snail	上游	5'-CAG CTA TTT CAG CCT CCT GTT-3'
	下游	5'-CCG ACA AGT GAC AGC CAT TA-3'
β -actin	上游	5'-AGC GAG CAT CCC CCA AAG TT-3'
	下游	5'-GGG CAC GAA GGC TCA TCA TT-3'

1.3.3 LoVo 细胞增殖能力的检测 采用 CCK-8 法,收集处理 24 h 后的细胞接种于 96 孔板,接种密度为 1 000 个/孔,培养体系为 100 μ L,继续常规培养,分别取 0、24、48、72 h 等培养时间点,加入 10 μ L CCK-8 试剂,培养箱孵育 2 h 后,450 nm 波长下测定光密度值(OD 值),绘制细胞生长曲线。

1.3.4 LoVo 细胞迁移和侵袭能力的检测 采用 Transwell 法检测,收集处理 48 h 后的细胞,将不含胎牛血清的 DMEM 培养基重悬细胞接种于 Transwell

培养板上室,接种密度为 5×10^4 个/孔,培养体系为 $200 \mu\text{L}$,下室加入 $500 \mu\text{L}$ 含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,常规培养 24 h 后取出上室,以 4% 多聚甲醛固定细胞 20 min, 0.5% 结晶紫染色 25 min,以棉签擦去上室内侧细胞,充分洗涤,干燥后倒置显微镜下随机选择 5 个高倍视野进行观察,统计穿膜细胞数。迁移实验和侵袭实验方法基本一样,后者所使用小室经 10% Matrigel 基质胶包被处理。

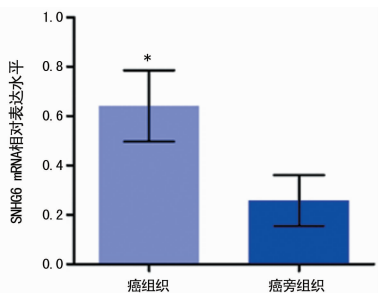
1.3.5 LoVo 细胞 EMT 标志物表达水平的检测

采用 Western blot 检测,收集处理 72 h 后的细胞,提取细胞总蛋白,采用二喹啉甲酸(BCA)法进行蛋白定量,取 $30 \mu\text{g}$ 样品进行 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),电泳后转移到聚偏氟乙烯(PVDF)膜, 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,E-cadherin (1 : 1 000)、N-cadherin (1 : 1 000)、Vimentin (1 : 1 000)、Snail (1 : 1 000) 及 β -actin (1 : 2 000) 等一抗 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜,PBST 漂洗 3 次,辣根过氧化物酶(HRP)标记兔二抗 (1 : 15 000) 室温孵育 1 h,PBST 漂洗 3 次,电化学发光法(ECL)显色并采集图像。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism5.0 统计软件进行统计分析。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析;非正态分布计量资料以中位数及四分位数间距表示 [$M(P_{25}, P_{75})$],组间比较采用 Mann-Whitney U 检验;组间两两比较方差齐则采用 LDS 检验,方差不齐则采用 Dunnett's 检验;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

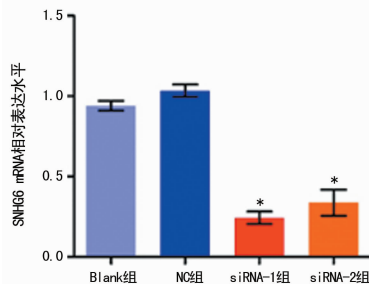
2.1 结肠癌组织和癌旁组织中 SNHG6 mRNA 表达水平比较 荧光定量 PCR 结果显示,结肠癌组织 SNHG6 mRNA 相对表达水平 $2.37(0.93, 3.66)$ 高于癌旁组织 $1.5(1.00, 2.00)$,差异有统计学意义 ($U = 138.0, P = 0.0007$),见图 1。



*: $P < 0.01$, 与癌旁组织比较

图 1 结肠癌组织和癌旁组织 SNHG6 水平比较

2.2 SNHG6-siRNA 对 LoVo 细胞 SNHG6 mRNA 表达水平的影响 LoVo 细胞转染 siRNA 后,Blank 组 SNHG6 mRNA 相对表达水平为 (0.94 ± 0.05) ,NC 组为 (1.03 ± 0.07) ,siRNA-1 组为 (0.24 ± 0.07) ,siRNA-2 组为 (0.34 ± 0.14) ,组间比较差异有统计学意义 ($F = 63.04, P = 0.000$);进一步两两比较,siRNA-1 组、siRNA-2 组 SNHG6 mRNA 相对表达水平较 Blank 组明显下调,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),SNHG6 低表达细胞模型构建成功,满足下一步功能实验需要,见图 2。



*: $P < 0.05$, 与 Blank 组比较

图 2 4 组 LoVo 细胞 SNHG6 相对表达水平比较

2.3 敲低 SNHG6 表达对 LoVo 细胞增殖能力的影响 LoVo 细胞转染 siRNA 后,4 组细胞培养 24、48、72 h 后的增殖活性比较,差异有统计学意义 ($F = 18.6, 160.3, 32.7, P = 0.000$),见表 2;进一步两两比较,siRNA-1 组、siRNA-2 组细胞的增殖活性较 Blank 组明显下降,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 2 4 组细胞的增殖活性比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	24 h	48 h	72 h
Blank 组	1.44 ± 0.05	2.14 ± 0.04	2.40 ± 0.08
NC 组	1.33 ± 0.11	1.96 ± 0.09	2.31 ± 0.24
siRNA-1 组	1.04 ± 0.10*	1.15 ± 0.04*	1.42 ± 0.06*
siRNA2 组	0.98 ± 0.11*	1.38 ± 0.09*	1.72 ± 0.11*
F	18.6	160.3	32.7
P	0.000	0.000	0.000

*: $P < 0.05$, 与 Blank 组比较

2.4 敲低 SNHG6 表达对 LoVo 细胞的迁移和侵袭能力的影响 LoVo 细胞转染 siRNA 后,Transwell 迁移实验显示,Blank 组穿膜细胞数为 (148.6 ± 10.9) 个,NC 组为 (150.2 ± 11.9) 个,siRNA-1 组为 (53.0 ± 14.1) 个,siRNA-2 组为 (35.4 ± 20.5) 个,组间比较差异有统计学意义 ($F = 85.38, P = 0.000$);进一步两两比较,siRNA-1 组、siRNA-2 组细胞发生迁移的数量较 Blank 组明显减少,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。Tranwell 侵袭实验显示,Blank 组穿膜细胞数为 (126.8 ± 6.9) 个,NC 组为 (139.6 ± 4.2) 个,siRNA-1 组为 (40.2 ± 7.5) 个,siRNA-2 组为 (42.8 ± 8.6) 个,组间比较差异有统计学意义 ($F = 289.8, P = 0.000$);进一步两两比较,siRNA-1 组、siRNA-2 组细胞发生侵袭的数量较 Blank 组明显减少,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 3。

2.5 敲低 SNHG6 表达对 LoVo 细胞 EMT 进程的影响 LoVo 细胞转染 siRNA 后,荧光定量 PCR 结果显示,4 组细胞 EMT 标志物 mRNA 相对表达水平比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);进一步两两比较,siRNA-1 组、siRNA-2 组 E-cadherin 相对表达水

平高于 Blank 组, N-cadherin、Vimentin、Snail 表达水平低于 Blank 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。Western blot 结果显示, LoVo 细胞转染 siRNA 后, siRNA-1 组、siRNA-2 组 E-cadherin 蛋白表达上调, N-Cadherin、Vimentin、Snail 蛋白表达下调, 见图 4。

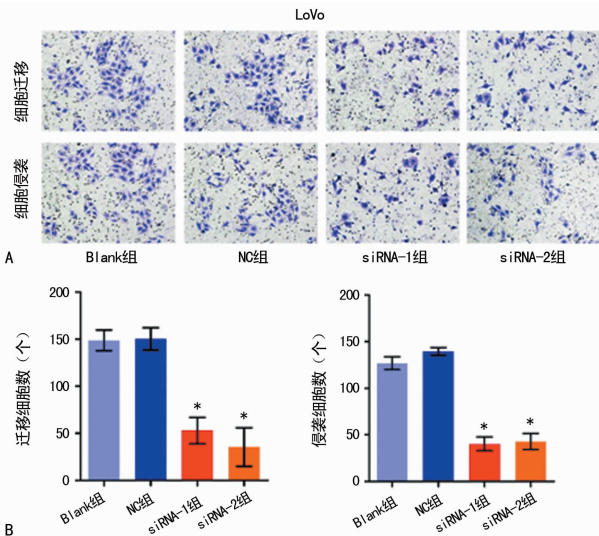


图 3 4 组 LoVo 细胞的迁移和侵袭细胞数比较

表 3 4 组 LoVo 细胞 EMT 标志物 mRNA 相对表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	E-cadherin	N-cadherin	Vimentin	Snail
Blank 组	0.97 ± 0.11	0.96 ± 0.12	0.93 ± 0.10	0.93 ± 0.13
NC 组	1.01 ± 0.08	1.01 ± 0.08	0.94 ± 0.06	0.95 ± 0.05
siRNA-1 组	1.89 ± 0.12*	0.46 ± 0.08*	0.56 ± 0.23*	0.37 ± 0.14*
siRNA2 组	1.56 ± 0.05*	0.59 ± 0.07*	0.53 ± 0.17*	0.65 ± 0.10*
P	66.16	28.52	6.54	19.95
F	0.000	0.000	0.015	0.000

*: $P < 0.05$, 与 Blank 组比较

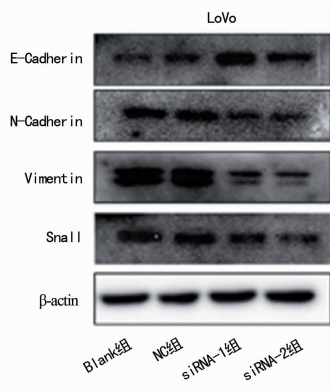


图 4 4 组 LoVo 细胞 EMT 标志物蛋白表达水平比较

3 讨论

非编码 RNAs(ncRNAs)是不具有蛋白质编码功能的 RNAs, 其中长度超过 200 个核苷酸的 ncRNAs

称为 lncRNAs。通过高通量测序和组织芯片技术, 研究者发现了成千上万的 lncRNAs。越来越多的研究表明, lncRNAs 参与了各种生理或病理过程的调节, 其异常表达与多种人类疾病有关, 如癌症^[9]、阿尔茨海默症^[10]及心脏病^[11]。目前只发现少数 lncRNAs 与人类癌症的发生、发展有关, lncRNAs 在癌症中的生物学功能尚不明确^[12-13]。近期研究显示, SNHG6 在恶性肿瘤的病理过程中存在差异表达。ZHAO 等^[7]发现 SNHG5 具有抑制胃癌发生的作用, 其在胃癌组织的表达水平较癌旁组织下调; 而陈宝珍等^[14]报道, SNHG8 在胃癌发生、发展中可能扮演原癌基因角色。本研究发现, SNHG6 mRNA 高表达于结肠癌组织, 与既往对肝细胞癌的研究报道一致^[15]。该研究也指出, SNHG6 可参与调节肝癌细胞的增殖和凋亡等过程; 进一步研究发现, SNHG6 通过与 ZEB1、miR-101-3p 等分子相互作用, 调节肝癌细胞周期、凋亡等多种通路, 从而引起肿瘤细胞的增殖、迁移等多种生物行为的改变^[15]。本研究也发现, 下调 SNHG6 的表达能够明显抑制结肠癌细胞的增殖、迁移及侵袭能力, 提示 SNHG6 通过调控结肠癌的增殖和迁移影响肿瘤的发生、发展。

EMT 是指上皮细胞失去其上皮特性, 而向间质细胞转化的过程, 该转变有助于肿瘤获得更强的迁移和侵袭能力, 是肿瘤发生转移和复发的关键环节^[16-17]。细胞发生 EMT 时, 往往表现为 E-cadherin 等上皮表型表达下调, 而 N-cadherin、Vimentin 等间质表型表达上调^[18], 该过程可以受许多因素调控, 其中 EMT 相关转录因子 Snail 可以通过抑制 E-cadherin 的表达而促进 EMT^[19]。本研究发现, 下调 SNHG6 表达后, LoVo 细胞内 E-cadherin 表达上调, 而 N-cadherin、Vimentin 及 Snail 均表达下调, 说明敲低 SNHG6 的表达可以抑制结肠癌细胞的 EMT 过程, 该抑制作用可能导致细胞迁移和侵袭等恶性生物学特性下降。

综上所述, 本研究发现 SNHG6 在结肠癌中高表达, 并可能通过调节结肠癌的增殖、迁移及侵袭能力而发挥促癌作用; SNHG6 参与调节肿瘤的 EMT 过程, 这是其促进结肠癌增殖和转移的可能机制之一。但本研究也存在诸多不足, 如研究样本量还不够大、缺少 FISH 实验证实 SNHG6 基因的高表达、细胞实验深度不够等; SNHG6 通过何种机制调控结肠癌进展, 也需要继续深入研究。

参考文献

- [1] SEKIGUCHI M, MATSUDA T, SAITO Y. What is the optimal colorectal cancer screening program for an average-risk population? [J]. Transl Gastroenterol Hepatol, 2017, 2(3):17.

- [2] GRAY R T, CANTWELL M M, COLEMAN H G, et al. Evaluation of PTGS2 expression, PIK3CA mutation, aspirin use and colon cancer survival in a population-based cohort study[J]. *Clin Transl Gastroenterol*, 2017, 8(4): e91.
- [3] LI T, LIU X, JIANG Q, et al. High expression of partitioning defective 3-like protein is associated with malignancy in colorectal cancer [J]. *Tumour Biol*, 2017, 39 (4): 1010428317698393.
- [4] 全伟兵, 刘志苏. 长链非编码 RNA 核仁小分子 RNA 宿主基因 12 在肝细胞癌的表达及作用机制[J]. *中华实验外科杂志*, 2017, 34(3): 87-92.
- [5] WANG Q, LI Q, ZHOU P, et al. Upregulation of the long non-coding RNA SNHG1 predicts poor prognosis, promotes cell proliferation and invasion, and reduces apoptosis in glioma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91: 906-911.
- [6] LIU J, LU C, XIAO M, et al. Long non-coding RNA SNHG20 predicts a poor prognosis for HCC and promotes cell invasion by regulating the epithelial-to-mesenchymal transition[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 89: 857-863.
- [7] ZHAO L, GUO H, ZHOU B, et al. Long non-coding RNA SNHG5 suppresses gastric cancer progression by trapping MTA2 in the cytosol [J]. *Oncogene*, 2016, 35 (44): 5770-5780.
- [8] BIRGANI M T, HAJJARI M, SHAHRISA A, et al. Long Non-Coding RNA SNHG6 as a potential biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. *Pathol Oncol Res*, 2018, 24 (2): 329-337.
- [9] LIU Y, PAN S, LIU L, et al. A genetic variant in long non-coding RNA HULC contributes to risk of HBV-related hepatocellular carcinoma in a Chinese population [J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35145.
- [10] TAN L, YU J T, HU N, et al. Non-coding RNAs in Alzheimer's Disease[J]. *Mol Neurobiol*, 2013, 47(1): 382-393.
- [11] SCHONROCK N, HARVEY R P, MATTICK J S. Long noncoding RNAs in cardiac development and pathophysiology[J]. *Circ Res*, 2012, 111(10): 1349-1362.
- [12] HE Y, MENG X M, HUANG C, et al. Long noncoding RNAs: novel insights into hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Lett*, 2014, 344(1): 20-27.
- [13] FANG X Y, PAN H F, LENG R X, et al. Long noncoding RNAs: novel insights into gastric cancer[J]. *Cancer Lett*, 2015, 356(2 Pt B): 357-366.
- [14] 陈宝珍, 林贤东, 陈刚, 等. 长链非编码 RNA SNHG8 在 EB 病毒相关胃癌中的表达及其临床意义[J]. *中华病理学杂志*, 2017, 46(2): 89-92.
- [15] CHANG L, YUAN Y, LI C, et al. Upregulation of SNHG6 regulates ZEB1 expression by competitively binding miR-101-3p and interacting with UPF1 in hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2016, 383(2): 183-194.
- [16] MARCHESI V. Breast cancer: epithelial-mesenchymal transitions in human breast cancer samples[J]. *Nat Rev Clin Oncol*, 2013, 10(4): 184.
- [17] WAY T D, HUANG J T, CHOU C H, et al. Emodin represses TWIST1-induced epithelial-mesenchymal transitions in head and neck squamous cell carcinoma cells by inhibiting the β -catenin and Akt pathways [J]. *Eur J Cancer*, 2014, 50(2): 366-378.
- [18] MOODY S E, PEREZ D, PAN T C, et al. The transcriptional repressor Snail promotes mammary tumor recurrence[J]. *Cancer Cell*, 2005, 8(3): 197-209.
- [19] 代剑波, 王继见, 郝亚琴. 探讨 Snail 调控上皮间质转化在结直肠癌侵袭、转移方面的作用及意义[J]. *重庆医科大学学报*, 2011, 36(6): 645-649.

(收稿日期: 2018-01-01 修回日期: 2018-03-06)

(上接第 2412 页)

- LER G. Hematopoietic commitment during embryogenesis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 1999, 872: 9-16.
- [10] KOBAYASHI H, BUTLER J M, O'DONNELL R, et al. Angiocrine factors from Akt-activated endothelial cells balance self-renewal and differentiation of haematopoietic stem cells[J]. *Nat Cell Biol*, 2010, 12(11): 1046-1056.
- [11] LIU L Q, SPOSATO M, LIU H Y, et al. Functional cloning of IGFBP-3 from human microvascular endothelial cells reveals its novel role in promoting proliferation of primitive CD34⁺ CD38⁻ hematopoietic cells in vitro[J]. *Oncol Res*, 2003, 13(6/10): 359-371.
- [12] NOLAN D J, GINSBERG M, ISRAELY E, et al. Molecular signatures of tissue-specific microvascular endothelial cell heterogeneity in organ maintenance and regeneration [J]. *Dev Cell*, 2013, 26(2): 204-219.
- [13] ROSLER E, BRANDT J, CHUTE J, et al. Cocultivation of umbilical cord blood cells with endothelial cells leads to extensive amplification of competent CD34⁺ CD38⁻ cells [J]. *Exp Hematol*, 2000, 28(7): 841-852.
- [14] OGAWA M, TAJIMA F, ITO T, et al. CD34 expression by murine hematopoietic stem cells. Developmental changes and kinetic alterations[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2001, 938: 139-145.
- [15] SATO T, LAVER J H, OGAWA M. Reversible expression of CD34 by murine hematopoietic stem cells [J]. *Blood*, 1999, 94(8): 2548-2554.
- [16] DAO M A, AREVALO J, NOLTA J A. Reversibility of CD34 expression on human hematopoietic stem cells that retain the capacity for secondary reconstitution [J]. *Blood*, 2003, 101(1): 112-118.
- [17] MOREL F, GALY A, CHEN B, et al. Equal distribution of competitive long-term repopulating stem cells in the CD34⁺ and CD34⁻ fractions of Thy-1lowLin-/lowSca-1⁺ bone marrow cells [J]. *Exp Hematol*, 1998, 26(5): 440-448.

(收稿日期: 2017-09-18 修回日期: 2017-11-26)