



· 论 著 ·

# LncRNA ANCR调控miR-331表达影响胃癌细胞的生物学行为

刘玉华<sup>1</sup>, 魏 蔚<sup>1</sup>, 崔淑萍<sup>2</sup>

1. 平顶山学院医学院, 河南 平顶山 467000 ;
2. 河南省肿瘤医院胸外科, 河南 郑州 450008

**[摘要]** 背景与目的: 胃癌是导致癌症死亡的第二大原因, 是东亚、东欧及中南美洲部分地区最常见的胃肠道恶性肿瘤。该研究旨在探讨长链非编码RNA (long-chain noncoding RNA, lncRNA) 抗分化非编码RNA (antidifferentiation noncoding RNA, ANCR) 靶向miR-331调节胃癌细胞的增殖、侵袭行为及其机制。方法: 河南省肿瘤医院2016年1月1日—2016年12月1日获得60例临床胃癌样本和20例对应的癌旁组织标本(距癌组织2 cm)。实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR) 检测ANCR在胃癌组织和不同胃癌细胞株中的表达情况; 分析ANCR的表达和胃癌患者临床病理学特征之间的关系; 平板克隆实验检测ANCR对胃癌细胞增殖能力的影响; Transwell侵袭实验检测ANCR对胃癌细胞侵袭能力的影响; 裸鼠成瘤实验检测ANCR对胃癌细胞肿瘤异种移植的影响; 双荧光素酶报告基因检测ANCR与miR-331之间的相互作用。结果: 胃癌组织中ANCR的表达 ( $4.18 \pm 0.28$ ) 高于正常组织 ( $1.45 \pm 0.15$ ), 差异有统计学意义 ( $t=12.36, P=0.045$ ); 与其他胃癌细胞株相比, BGC-823和MGC-803细胞中ANCR的表达水平较高 ( $9.12 \pm 0.52$ ), 差异有统计学意义 ( $P=0.019$ ); 抑制ANCR的表达可以减弱胃癌细胞的增殖能力 ( $98.8 \pm 10.4$ ) 和侵袭能力 ( $175.9 \pm 5.7$ ); 抑制ANCR的表达后胃癌细胞在裸鼠体内异种移植能力 ( $223.4 \pm 13.4$ ) 弱于NC组 ( $115.6 \pm 10.7$ ), 差异有统计学意义 ( $t=13.28, P=0.014$ ); 双荧光素酶实验证实ANCR可以直接调控miR-331的表达及荧光活性。结论: ANCR可以靶向调节miR-331的表达影响胃癌细胞的增殖、侵袭行为, 影响胃癌细胞在裸鼠体内的生长情况。

**[关键词]** 抗分化非编码RNA; miR-331; 胃癌; 增殖; 侵袭

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2019.01.003

中图分类号: R735.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2019)01-0019-07

**LncRNA ANCR regulates the biological behavior of gastric cancer cells through miR-331 expression** LIU Yuhua<sup>1</sup>, WEI Wei<sup>1</sup>, CUI Shuping<sup>2</sup> (1. School of Medicine, Pingdingshan University, Pingdingshan 467000, Henan Province, China; 2. Department of Thoracic Surgery, Henan Cancer Hospital, Zhengzhou 450008, Henan Province, China)

Correspondence to: WEI Wei E-mail: 553096691@qq.com

**[Abstract]** **Background and purpose:** Gastric cancer is the second leading cause of cancer death. It is the most common gastrointestinal malignant tumor in East Asia, Eastern Europe and parts of Central and South America. This study aimed to explore the role of long-chain noncoding RNA (lncRNA) antidifferentiation noncoding RNA (ANCR) targeting miR-331 in regulating the proliferation and invasion of gastric cancer cells and its mechanism. **Methods:** Sixty cases of clinical gastric cancer samples and 20 cases of corresponding non-tumor tissue specimens were collected in Henan Cancer Hospital from January 1, 2016 to December 1, 2016. The expression levels of ANCR in gastric cancer tissues and different gastric cancer cell lines were detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR). The relationship between the expression of ANCR and the clinicopathological features of gastric cancer patients was analyzed. The effect of ANCR on the proliferation of gastric cancer cells was detected by plate clone assay. Transwell assay was used to detect the effect of ANCR on the invasiveness of gastric cancer cells. Tumor formation assay in nude mouse models detected effect of ANCR on xenograft. The dual luciferase reporter assay detected the interaction between ANCR and miR-331. **Results:** The expression of ANCR in gastric cancer tissues was significantly

基金项目: 2015年河南省医学科技攻关计划项目(201504H013)。

通信作者: 魏 蔚 E-mail: 553096691@qq.com

higher than that in normal tissues ( $4.18 \pm 0.28$  vs  $1.45 \pm 0.15$ ,  $t=12.36$ ,  $P=0.045$ ). Compared with other gastric cancer cell lines, the expression levels of ANCR in BGC-823 and MGC-803 cells were significantly higher ( $9.12 \pm 0.52$ ,  $t=14.51$ ,  $P=0.019$ ). Inhibiting the expression of ANCR attenuated the proliferation ( $98.8 \pm 10.4$ ) and invasive ability ( $175.9 \pm 5.7$ ) of the gastric cancer cells. The ability of gastric cancer cells to form xenograft in nude mice was inhibited by suppressing the expression of ANCR ( $223.4 \pm 13.4$  vs  $115.6 \pm 10.7$ ,  $t=13.28$ ,  $P=0.014$ ). Dual luciferase assay results confirmed that ANCR could directly regulate the expression of miR-331 and its fluorescence activity. **Conclusion:** ANCR can regulate the expression of miR-331 and affect the proliferation and invasion of gastric cancer cells.

[Key words] Antidifferentiation noncoding RNA; miR-331; Gastric cancer; Proliferation; Invasion

胃癌是导致癌症死亡的第二大原因<sup>[1]</sup>, 是东亚、东欧及中南美洲部分地区最常见的胃肠道恶性肿瘤<sup>[2]</sup>。尽管诊断手术技术和新型分子靶向药物有了较快的发展, 但胃癌患者的5年总生存率仍较低<sup>[3-4]</sup>。长链非编码RNA (long-chain noncoding RNA, lncRNA) 抗分化非编码RNA (antidifferentiation noncoding RNA, ANCR) 是调节性RNA成员之一, 长度大于200个核苷酸, 并且不具有蛋白质编码能力<sup>[5-6]</sup>。有研究表明, lncRNA ANCR参与广泛的生物学过程, 其失调涉及多种人类疾病的发生、发展<sup>[7-8]</sup>。本研究通过对胃癌组织和细胞株的研究, 探讨其对胃癌进展和体内转移的影响及其机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 细胞培养和临床标本

人胃癌细胞系BGC-823、MGC-803、AGS、SGC-7901和正常胃上皮细胞GES-1购自武汉大学中国典型培养物保藏中心, 胃癌细胞在含有10%胎牛血清和1%青霉素-链霉素的DMEM培养基中培养, 正常胃上皮细胞在1:1混合精制的KSPM培养基中培养。河南省肿瘤医院2016年1月1日—2016年12月1日获得60例临床胃癌样本和20例对应的癌旁组织标本(距癌组织2 cm)。患者年龄38~74岁, 中位年龄59岁。si-ANCR和si-NC(阴性对照)购自上海吉玛制药技术有限公司。患者参与前均签署知情同意书, 标本收集符合伦理委员会的要求(伦理编号: SYXK(豫)2015-0009)。

### 1.2 实时荧光定量聚合酶链反应(real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR)分析

上海吉玛制药技术有限公司设计ANCR

引物的正义链: ACAGGACTCCATGGCAA ACG, 反义链: ATGAAGAAAGCCTGGTGC AGT; GAPDH的正义链: ACCACAGTCC ATGCCATCAC, 反义链: TCCACCACCCT GTTGCTGTA。使用TRIzol试剂从组织或细胞中分离总RNA, 并按照制造商的说明书用反转录酶[购自宝生物工程(大连)有限公司]和寡核苷酸(dT)合成cDNA。使用SYBR Premix Ex TaqTM II试剂盒进行RTFQ-PCR。RTFQ-PCR的条件如下: 94 °C 10 s; 94 °C 5 s, 52 °C 30 s退火, 72 °C 15 s, 40个循环。

### 1.3 平板克隆实验

将胃癌细胞以 $5 \times 10^3$ 个细胞/孔的密度接种到6孔板上并再培养2周, 中间每隔1周更换新鲜培养液, 2周后使用考马斯亮蓝染色细胞形成菌落, 并在显微镜下计数, 对比两组之间的差距。

### 1.4 Transwell侵袭试验

将胃癌细胞转染后24 h, 将无血清培养基中的 $1 \times 10^5$ 个细胞接种在Transwell迁移室中。Transwell的上室用基质胶涂覆。含有20%胎牛血清的培养基加入到下室中。24 h后, 用棉绒除去未侵入的细胞。位于小室下表面的侵袭性细胞用结晶紫染色液染色, 然后用显微镜计数并统计。

### 1.5 荧光素酶报告基因测定

从正常人基因组DNA扩增含有lncRNA ANCR互补位点的miR-331, 并克隆到荧光素酶报告基因载体psi-CHECK载体中, 将该结合位点作为miR-331野生型。使用miR-331突体重组质粒。在转染不同质粒组合后48 h, 根据制造商的说明使用双荧光素酶测定试剂盒检测荧光素酶活性, 共转染的海肾荧光素酶质粒用作确定转染效率的内部对照, 使用双荧光素酶报告分析系统检测荧光强度。实验重复

3次。miR-331克隆的引物如下：5'-GCTCTAGAGCTTCGGCTGGGACCTT-3'；3'-ATAAGAATGCGGCCGCGGGCCTTCTG-5'。

### 1.6 裸鼠肿瘤异种移植模型

从河南中医药大学第一附属医院购买12只雌性裸鼠，在SPF级屏障系统中饲养〔SYXK（豫）2017—0001〕。将 $1 \times 10^6$ 浓度的si-NC组和ANCR-si组MGC-803细胞分别注射到12只4周龄裸鼠的腋窝中。饲养5周后检测裸鼠肿瘤异种移植物的体积和质量生长情况。异体移植植物大小根据以下公式测量：体积=1/2（最短直径）<sup>2</sup>×（最长直径）。

### 1.7 统计学处理

用SPSS 17.0对记录数据进行统计学分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用Student's *t*检验进行分

析；所有数据符合正态分布检验，计数资料采用 $\chi^2$ 检验进行分析， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 LncRNA ANCR在胃癌组织和细胞株中的表达

RTFQ-PCR结果见表1，LncRNA ANCR在胃癌组织中的表达明显高于癌旁正常组织，差异有统计学意义（ $t=12.36$ ， $P=0.045$ ）；LncRNA ANCR在肿瘤细胞株中的表达显著高于正常胃上皮细胞GES-1（ $t=12.96$ ， $P=0.024$ ），而且LncRNA ANCR在BGC-823和MGC-803细胞中的表达高于其他细胞株（ $t=14.51$ ， $P=0.019$ ）。所以本研究选择LncRNA ANCR表达较高的BGC-823和MGC-803细胞做进一步实验。

表 1 LncRNA ANCR在不同组织与细胞株中的表达情况

Tab. 1 Expression of lncRNA ANCR in different tissues and cell lines

Item	Expression $c_B/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$	<i>t</i> value	<i>P</i> value
Tissue		12.36	0.045
Normal tissues adjacent to cancer	$1.45 \pm 0.15$		
Gastric cancer tissue	$4.18 \pm 0.28$		
Cell line		12.96	0.024
Tumor cell lines (BGC-823, MGC-803, AGS and SGC-7901)	$8.36 \pm 0.21$		
Normal gastric epithelial cell GES-1	$3.26 \pm 0.19$		
Tumor cell line		14.51	0.019
BGC-823, MGC-803 cell lines	$9.12 \pm 0.52$		
Other cell lines (AGS, SGC-7901)	$4.32 \pm 0.24$		

### 2.2 LncRNA ANCR的表达与胃癌患者临床病理资料的相关性

本研究分析了60例胃癌患者的临床病理资料及其LncRNA ANCR的表达，结果见表2，ANCR的表达水平以所收集数据总体水平的70%为对应分界线，分为高表达和低表达。在肿瘤体积、临床病理分期及淋巴结转移与否上，患者的LncRNA ANCR表达差异有统计学意义（ $P$ 均 $< 0.05$ ）。

### 2.3 LncRNA ANCR对胃癌细胞株MGC-803和BGC-823增殖能力的影响

本实验通过平板克隆实验检测LncRNA ANCR对胃癌细胞MGC-803与BGC-823增殖能

力的影响。在MGC-803细胞中，si-ANCR组的细胞克隆数（ $98.8 \pm 10.4$ ）显著少于si-NC组（ $175.9 \pm 5.7$ ），差异有统计学意义（ $t=14.16$ ， $P=0.013$ ，图1A）。类似的结果在BGC-823细胞中也得到证实，si-ANCR组的细胞克隆数（ $67.3 \pm 9.2$ ）显著也少于si-NC组（ $142.1 \pm 6.6$ ），差异有统计学意义（ $t=11.93$ ， $P=0.026$ ，图1B）。这提示LncRNA能促进胃癌细胞株MGC-803和BGC-823的增殖。

### 2.4 LncRNA ANCR对胃癌细胞株MGC-803和BGC-823侵袭能力的影响

Transwell侵袭结果显示，在MGC-803细

表 2 LncRNA ANCR的表达与胃癌患者临床病理特征的关系

Tab. 2 Relationship between LncRNA ANCR expression and clinicopathological features of gastric cancer patients

Clinicopathological feature	N	High expression of ANCR n (%)	Low expression of ANCR n (%)	$\chi^2$	P value
Gender				0.06	0.809
Male	32	15 (46.88)	17 (53.12)		
Female	28	14 (50.00)	14 (50.00)		
Age/year				0.49	0.484
$\leq 60$	25	12 (48.00)	13 (52.00)		
$> 60$	35	20 (57.14)	15 (42.86)		
Tumor volume $l/cm^3$				14.36	$< 0.001$
$\leq 2$	19	15 (78.95)	4 (11.05)		
$> 2$	41	11 (26.83)	30 (73.17)		
Clinical staging					0.015
I	13	6 (46.15)	7 (53.85)		
II	10	8 (80.00)	2 (20.00)		
III	32	26 (81.25)	7 (18.75)		
IV	5	4 (80.00)	1 (20.00)		
Lymph node metastasis				5.28	0.022
Without	24	11 (45.83)	13 (54.17)		
With	36	27 (75.00)	9 (25.00)		

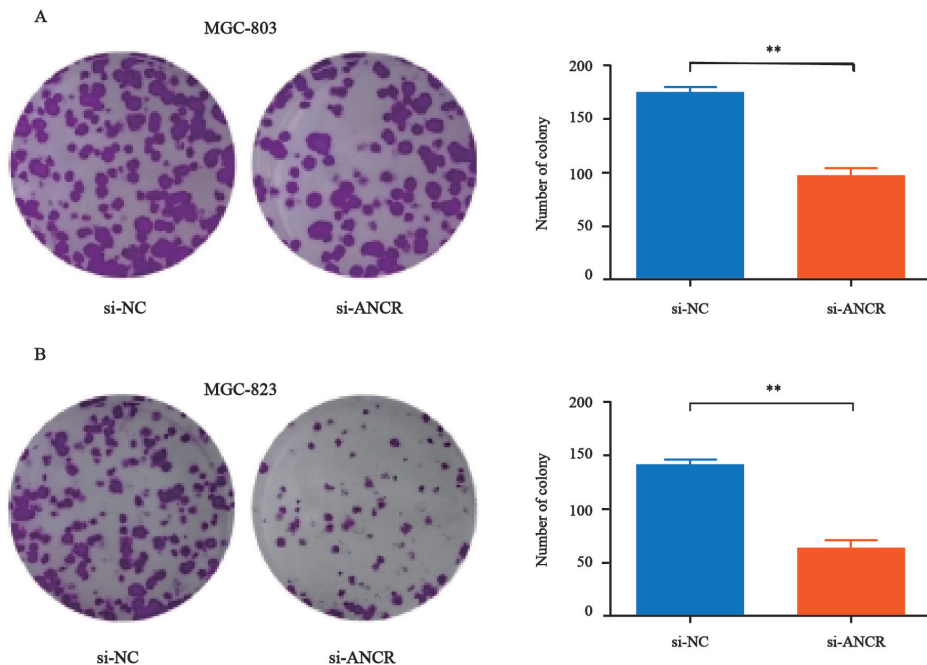


图1 LncRNA ANCR对胃癌细胞株MGC-803与BGC-823增殖能力的影响

Fig. 1 Effect of LncRNA ANCR on the proliferation of gastric cancer cell lines MGC-803 and BGC-823

A: Effect of LncRNA ANCR on the number of MGC-803 cell clones; B: Effect of LncRNA ANCR on the number of BGC-823 cell clones; \*\*:  $P < 0.05$

胞中，si-NC组通过Matrigel基质胶的细胞数量为(231.5±23.2)，明显多于si-ANCR组(165.4±81.1)，差异有统计学意义( $t=13.64$ ,  $P=0.028$ , 图2A)，提示抑制lncRNA ANCR的表达可以减弱胃癌MGC-803细胞的侵袭能力；在BGC-823细胞中，si-NC组(223.4±13.4)的细胞侵袭能力也显著高于si-ANCR组(115.6±10.7)，差异有统计学意义( $t=13.28$ ,  $P=0.014$ , 图2B)，提示lncRNA ANCR能提升胃癌细胞株MGC-803和BGC-823的侵袭能力。

### 2.5 lncRNA ANCR对裸鼠成瘤的影响

通过裸鼠成瘤实验检测lncRNA ANCR对

裸鼠成瘤的影响(图3A)。5周后裸鼠内移植瘤的重量与NC组[(1.52±0.14)g]相比，si-ANCR组的裸鼠体内肿瘤的质量[(0.61±0.11)g]缩小，差异有统计学意义( $t=12.32$ ,  $P=0.043$ , 图3B)；si-ANCR组的肿瘤体积的增长[(1.58±0.21)cm<sup>3</sup>]也随着时间的推进小于si-NC组[(0.63±0.09)cm<sup>3</sup>]，差异有统计学意义( $t=13.31$ ,  $P=0.016$ , 图3C)。结果表明，抑制ANCR的表达后在裸鼠体内肿瘤抑制模型得到同样的实验验证，抑制ANCR后可以有效减少胃癌细胞在体内的增殖。

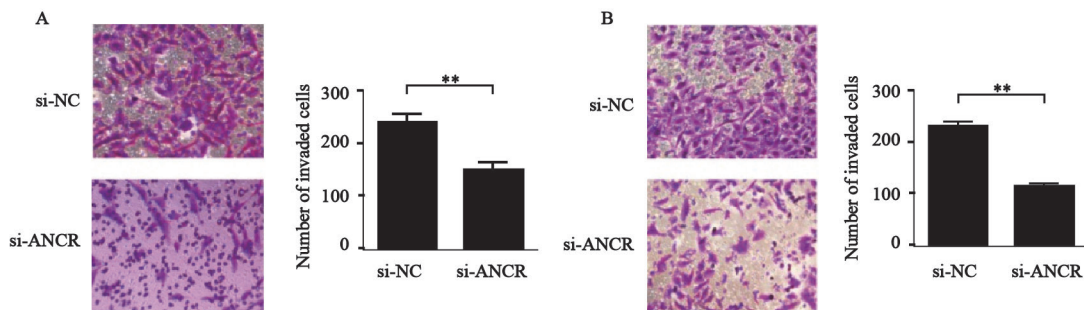


图2 lncRNA ANCR对胃癌细胞株MGC-803与BGC-823侵袭能力的影响

Fig. 2 Effect of lncRNA ANCR on the invasion of gastric cancer cell lines MGC-803 and BGC-823

A: Effect of lncRNA ANCR on invasion ability of MGC-803 cells (×40); B: Effect of lncRNA ANCR on invasion ability of BGC-823 cells (×40); \*\*:  $P<0.05$

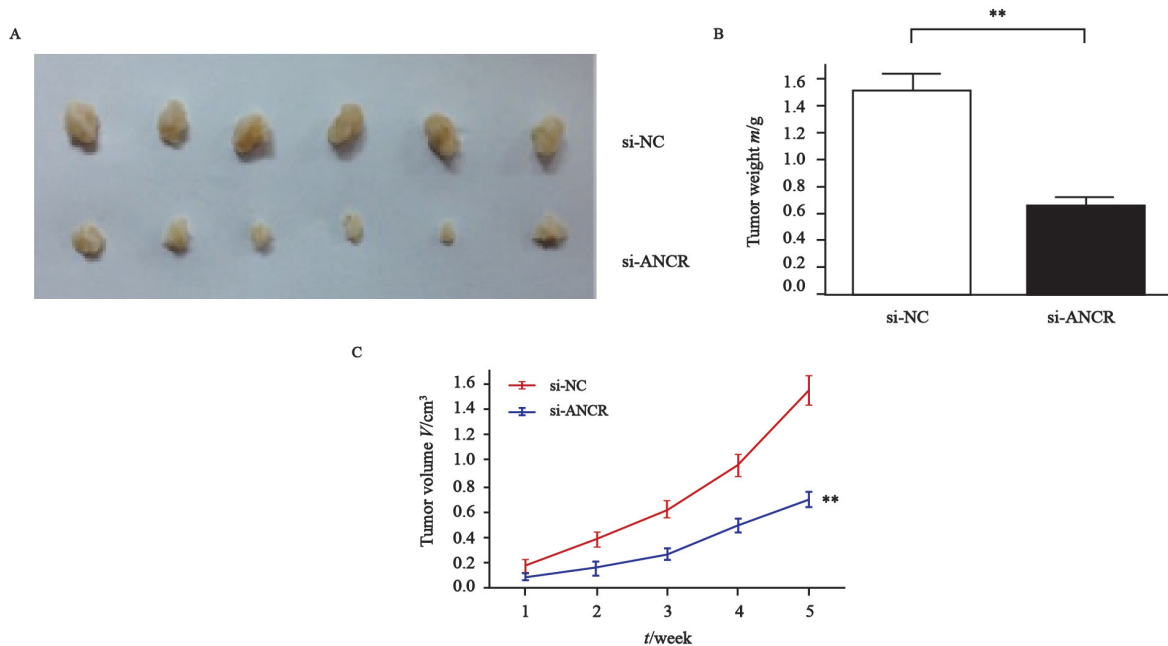


图3 lncRNA ANCR对裸鼠成瘤的影响

Fig. 3 Effect of lncRNA ANCR on tumor formation in nude mice

A: Effect of lncRNA ANCR on tumor formation in nude mice; B: Comparison of tumor quality between si-NC group and si-ANCR group; C: Effect of lncRNA ANCR on tumor volume in nude mice; \*\*:  $P<0.05$

## 2.6 LncRNA ANCR与miR-331的直接作用关系

本研究通过Targetscan网站发现ANCR与miR-331具有一定的结合位点, 两者可能有内在调控关联(图4A)。为了验证ANCR能否与miR-331结合, 我们将ANCR与miR-331共转染到293T细胞中, 通过双荧光素酶报告基因结果显示, ANCR可以抑制野生型miR-331的荧光素酶活性( $t=13.25$ ,  $P=0.024$ ), 而对突变型miR-331的荧光素酶活性影响不大( $t=11.58$ ,  $P=0.095$ , 图4B); 抑制ANCR的表达后可以一定程度上上调miR-331的表达水平(图4C), 表明ANCR的确可以与miR-331特异性结合, 从而证实ANCR与miR-331之间的相互作用关系。

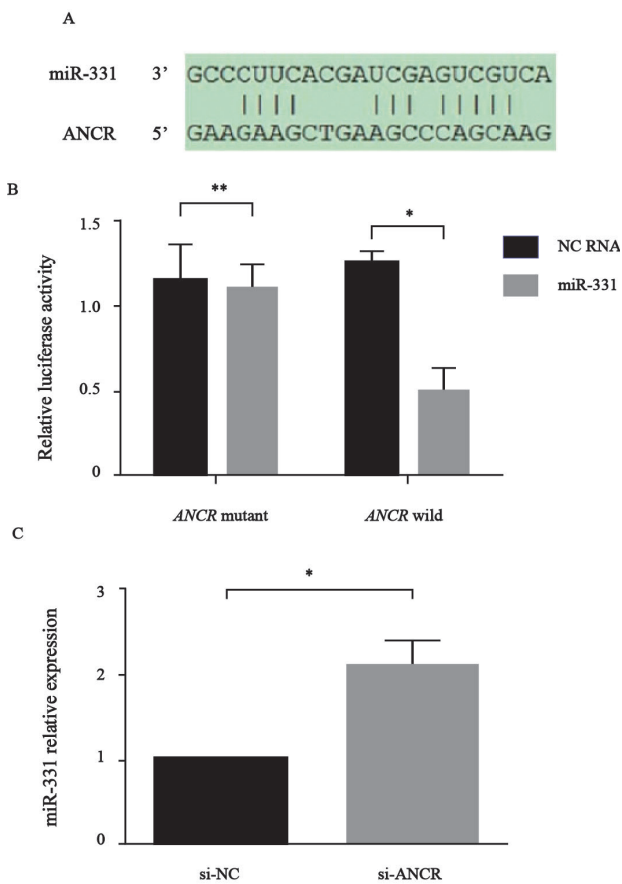


图4 LncRNA ANCR与miR-331的直接作用关系

Fig. 4 Direct interaction between lncRNA ANCR and miR-331

A: The binding site between ANCR and miR-331; B: Double luciferase assay was performed to detect the effect of ANCR on the expression activity of miR-331; C: Effect of ANCR on the expression level of miR-331; \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P>0.05$

## 3 讨 论

LncRNA ANCR是由855个核苷酸组成的lncRNA<sup>[9]</sup>。它是在USP46基因上游的人染色体4上发现的lncRNAs的成员, 并且在其第一和第二内含子中嵌入miR4449和SNORNA26<sup>[10]</sup>。ANCR可以通过不同的模式进行调控, 包括信号通道、分子诱饵及蛋白质与蛋白质相互作用的支架<sup>[11]</sup>, 增强RNA以调节多种生物学过程, 包括细胞生长、转录调控、分化、侵袭和转移<sup>[12]</sup>。有研究已经证明, ANCR与EZH2相互作用并促进CDK1-EZH2结合, 以增加其在Thr-345处的磷酸化Thr-487残基, 导致EZH2泛素化和降解乳腺癌细胞<sup>[13]</sup>。这项研究旨在阐明lncRNA ANCR在乳腺癌转移中的生理和病理过程。还有研究显示, lncRNA ANCR的下调能抑制结直肠癌的侵袭和迁移, 而且也是通过调节EZH2的表达而造成的<sup>[14]</sup>。在本研究中, 首先证实了lncRNA ANCR在胃癌组织中呈现出高表达的状态, 而且与胃癌的分期、淋巴结转移状态密切相关, 推测其可能是一个促癌分子。此外, lncRNA ANCR的低表达减弱了胃癌细胞的增殖和侵袭能力, 减缓了胃癌细胞在体内和体外的生长转移。结果表明, lncRNA ANCR可能是胃癌发病过程中的一个重要调节分子, 具有成为一个新的预后指标或靶向治疗因子的潜力。

miRNA是18~23个核苷酸的小RNA, 通过结合mRNA的3'非翻译区进行调控<sup>[15]</sup>。越来越多的miRNA被发现涉及到人类肿瘤的发展<sup>[16]</sup>。miR-331位于染色体的12q22n, 在前列腺癌中已被证明是一种肿瘤抑制miRNA<sup>[17]</sup>。除此之外, miR-331的异常表达在淋巴细胞白血病中也被证实, 它参与细胞的增殖和迁移<sup>[18]</sup>。然而, miR-331在胃癌的肿瘤发生中的作用仍然未知。因此本研究进一步对lncRNA ANCR与miR-331的相互作用机制进行探究, 检测lncRNA ANCR的表达水平, 发现其在胃癌组织及胃癌细胞中表达明显升高, 进一步抑制lncRNA ANCR的表达后, 细胞的增殖、侵袭受到明显抑制, 这也验证lncRNA ANCR在胃癌的进展过程中起着促

癌基因的作用,同时使用TargetScan数据库预测lncRNA ANCR的靶基因,发现lncRNA ANCR与miR-331具有互补结合序列,推测miR-331为lncRNA ANCR的下游靶基因。lncRNA在人类疾病中的重要性可能与其多向调节不同细胞功能的能力有关<sup>[19]</sup>。最近,一个新的调控机制已经被证明,在lncRNA和mRNA之间通过竞争共同的miRNA反应元件而相互影响<sup>[20]</sup>。在这种情况下,lncRNA可能作为竞争性内源性RNA发挥功能,通过吸附miRNA,从而调控miRNA靶标,并增加额外的转录后调控水平<sup>[21]</sup>。采用生物信息学分析和荧光素酶测定来验证miRNA应答元件在全lncRNA ANCR的转录本上的结合能力。结果与预期一致,我们发现miR-331可以与lncRNA ANCR形成互补碱基配,证实了lncRNA ANCR与miR-331之间的相互作用关系。

综上所述,lncRNA ANCR能增加胃癌细胞的增殖和侵袭能力,能促进胃癌细胞在体内的生长转移,lncRNA ANCR可能作为内源因子调控miR-331的表达,为研究胃癌发生的分子机制和探索新的潜在治疗策略提供相应理论帮助,甚至可以提高胃癌的早期诊断和治疗效果。

#### [参 考 文 献]

- [1] GRAHAM D Y. Helicobacter pylori update: gastric cancer, reliable therapy, and possible benefits [J]. *Gastroenterology*, 2015, 148(4): 719-731.
- [2] Japanese Gastric Cancer Association. Japanese classification of gastric carcinoma: 3rd English edition [J]. *Gastric cancer*, 2011, 14(2): 101-112.
- [3] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2016 [J]. *CA Cancer J Clin*, 2016, 66(1): 7-30.
- [4] ORDITURA M, GALIZIA G, SFORZA V, et al. Treatment of gastric cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 56(7): 599-605.
- [5] SZÁSZ A M, LÁNCZKY A, NAGY Á, et al. Cross-validation of survival associated biomarkers in gastric cancer using transcriptomic data of 1 065 patients [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(31): 49322-49333.
- [6] MERCER T R, DINGER M E, MATTICK J S. Long non-coding RNAs: insights into functions [J]. *Nat Rev Genet*, 2009, 10(3): 155-159.
- [7] GIBB E A, BROWN C J, LAM W L. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas [J]. *Mol Cancer*, 2011, 10(1): 38.
- [8] Gutschner T, Diederichs S. The hallmarks of cancer: a long non-coding RNA point of view [J]. *RNA Biol*, 2012, 9(6): 703-719.
- [9] DAMAS N D, MARCATTI M, CÔME C, et al. SNHG5 promotes colorectal cancer cell survival by counteracting STAUI-mediated mRNA destabilization [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 13875.
- [10] SONG H, SUN W, YE G, et al. Long non-coding RNA expression profile in human gastric cancer and its clinical significances [J]. *J Transl Med*, 2013, 11: 225.
- [11] ZHU L, XU P C. Downregulated LncRNA-ANCR promotes osteoblast differentiation by targeting EZH2 and regulating Runx2 expression [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013, 432(4): 612-617.
- [12] KRETZ M, WEBSTER D E, FLOCKHART R J, et al. Suppression of progenitor differentiation requires the long noncoding RNA ANCR [J]. *Genes Dev*, 2012, 26(4): 338-343.
- [13] JIA Q, JIANG W, NI L. Down-regulated non-coding RNA (lncRNA-ANCR) promotes osteogenic differentiation of periodontal ligament stem cells [J]. *Arch Oral Biol*, 2015, 60(2): 234-241.
- [14] YANG Z Y, YANG F, ZHANG Y L, et al. LncRNA-ANCR down-regulation suppresses invasion and migration of colorectal cancer cells by regulating EZH2 expression [J]. *Cancer Biomark*, 2017, 18(1): 95-104.
- [15] LU J, GETZ G, MISKA E A, et al. MicroRNA expression profiles classify human cancers [J]. *Nature*, 2005, 435(7043): 834-838.
- [16] VITSIOS D M, DAVIS M P, VAN DONGEN S, et al. Large-scale analysis of microRNA expression, epi-transcriptomic features and biogenesis [J]. *Nucleic Acids Res*, 2017, 45(3): 1079-1090.
- [17] EPIS M R, GILES K M, BARKER A, et al. miR-331-3p regulates ERBB-2 expression and androgen receptor signaling in prostate cancer [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(37): 24696-24704.
- [18] FENG D D, ZHANG H, ZHANG P, et al. Down-regulated miR-331-5p and miR-27a are associated with chemotherapy resistance and relapse in leukaemia [J]. *J Cell Mol Med*, 2011, 15(10): 2164-2175.
- [19] GUO X, GUO L, JI J, et al. miRNA-331-3p directly targets E2F1 and induces growth arrest in human gastric cancer [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 398(1): 1-6.
- [20] TAY Y, RINN J, PANDOLFI P P. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition [J]. *Nature*, 2014, 505(7483): 344-352.
- [21] DENZLER R, AGARWAL V, STEFANO J, et al. Assessing the ceRNA hypothesis with quantitative measurements of miRNA and target abundance [J]. *Mol Cell*, 2014, 54(5): 766-776.

(收稿日期: 2018-07-23 修回日期: 2018-11-12)