



· 论 著 ·

LncRNA LINC00152过表达在替莫唑胺诱导脑胶质瘤干细胞周期阻滞中的作用机制探讨

张良龙¹, 安宏伟², 赵立智¹, 董倩¹, 高桂艳¹

1. 沧州市人民医院神经外科, 河北 沧州 061000;
2. 德州市陵城区中医院神经外科, 山东 德州 253500

[摘要] 背景与目的: LINC00152是异常表达于肝癌、胃癌及结肠癌等恶性肿瘤中的长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 之一, 参与增殖、迁移及凋亡等生物学行为, 观察LINC00152在替莫唑胺 (temozolomide, TMZ) 诱导脑胶质瘤干细胞 (glioblastoma stem cell, GSC) 周期阻滞中的作用及其机制。方法: 神经干细胞培养液培养脑胶质瘤U251细胞, 并提取成球生长的GSC作为研究对象, 慢病毒转染法外源性上调模型细胞LINC00152表达水平并以嘌呤霉素筛选稳定表达的细胞株, 实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR) 检测LINC00152表达水平, 细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8) 法检测细胞活力变化, 流式细胞术检测细胞周期变化, 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测P53、Cyclin A、CDC25A及CDK2蛋白水平变化。结果: 分离提取的GSC呈球状生长, 细胞球CD133和Oct-4呈阳性表达。慢病毒转染明显上调GSC中LINC00152表达水平 ($P < 0.000 1$)。TMZ ($200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) 处理48 h明显降低GSC活力 ($P < 0.000 1$), 而与空载对照组相比, LINC00152过表达能抵抗TMZ的诱导效应 ($P < 0.000 1$)。TMZ处理48 h明显增加GSC的S期比例 ($P < 0.000 1$), 而与空载对照组相比, LINC00152过表达能抵抗TMZ的诱导效应 ($P < 0.000 1$)。TMZ处理48 h明显下调GSC中Cyclin A、CDC25A、CDK2蛋白表达 ($P < 0.000 1$), 上调P53蛋白表达 ($P < 0.000 1$); 而与空载对照组相比, LINC00152过表达能抵抗TMZ的诱导效应 ($P < 0.000 1$)。结论: LncRNA LINC00152过表达可抑制TMZ诱导的P53蛋白水平上调和CyclinA、CDC25A、CDK2蛋白水平下调, 拮抗S期阻滞。

[关键词] 长链非编码RNA; LINC00152; 替莫唑胺; 细胞周期; 脑胶质瘤

DOI: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2020.05.002

中图分类号: R739.41 文献标志码: A 文章编号: 1007-3639(2020)05-0328-07

Mechanism of overexpression of lncRNA LINC00152 in temozolomide-induced stem cell cycle arrest in glioma ZHANG Lianglong¹, AN Hongwei², ZHAO Lizhi¹, DONG Qian¹, GAO Guiyan¹ (1. Department of Neurosurgery, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou 061000, Hebei Province, China; 2. Department of Neurosurgery, Dezhou Lingcheng Hospital of Traditional Chinese Medicine, Dezhou 253500, Shandong Province, China)

Correspondence to: ZHANG Lianglong E-mail: zhangweihospital@sina.cn

[Abstract] **Background and purpose:** LINC00152 is a long non-coding RNA (lncRNA) that is abnormally expressed in malignant tumors such as liver cancer, gastric cancer and colon cancer. LINC00152 is involved in biological activities such as proliferation, migration and apoptosis. This study mainly investigated the role and mechanism of LINC00152 in temozolomide (TMZ)-induced gliosis of glioblastoma stem cell (GSC). **Methods:** Glioma U251 cells were cultured in the neural stem cell culture medium, and the GSC growing into the sphere were extracted as a research object. The expression level of the model cell LINC00152 was externally up-regulated using the lentiviral transfection method, and we screened the stably expressed cell line with puromycin. The expression level of LINC00152 was detected by real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction (RTFQ-PCR). The cell viability was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) method. The cell cycle was detected by flow cytometry. The expressions of P53, Cyclin A, CDC25A and CDK2 proteins were detected by Western blot. **Results:** The extracted GSC grew in a spherical shape, and the cell spheres CD133 and Oct-4 were positively expressed. Lentiviral transfection significantly up-regulated the expression level of LINC00152 in GSC ($P < 0.000 1$). The treatment of TMZ ($200 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) for 48 h significantly reduced the viability of GSC

基金项目: 2018年沧州市科技计划项目 (183302129); 2016年沧州市科技计划项目 (162302072)。

通信作者: 张良龙 E-mail: zhangweihospital@sina.cn

($P < 0.0001$), while the overexpression of LINC00152 was resistant to the induction effect of TMZ compared with the no-load control ($P < 0.0001$). TMZ treatment for 48 h significantly increased the S phase ratio of GSC ($P < 0.0001$), while LINC00152 overexpression was resistant to TMZ induction compared with the empty control ($P < 0.0001$). The expressions of Cyclin A, CDC25A and CDK2 in GSC were significantly down-regulated by TMZ for 48 h ($P < 0.0001$), while the expression of P53 protein was up-regulated ($P < 0.0001$). Compared with the empty control, overexpression of LINC00152 was resistant to the induction of TMZ ($P < 0.0001$). **Conclusion:** Overexpression of lncRNA LINC00152 inhibited TMZ-induced up-regulation of P53 protein expression and down-regulation of Cyclin A, CDC25A and CDK2 protein expressions, and antagonized S phase arrest of GSC.

[Key words] Long non-coding RNA; LINC00152; Temozolomide; Cell cycle; Glioma

脑胶质瘤是常见的颅内原发性恶性肿瘤,患者的中位生存期仅为15~19个月^[1-2]。替莫唑胺(temozolomide, TMZ)属第二代烷化剂类抗肿瘤药物,不经过肝脏代谢、易于通过血脑屏障进入脑脊液,能引起脑胶质瘤细胞周期阻滞和凋亡,疗效确切^[3]。但TMZ单独使用对恶性脑胶质瘤的有效率仍不足50%,这是临床治疗所面临的严重挑战。LINC00152是异常表达于肝癌、胃癌及结肠癌等恶性肿瘤中的长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)之一,参与细胞增殖、迁移及转移等生物学行为^[4-6]。最新研究显示,LINC00152与脑胶质瘤患者不良预后相关,下调LINC00152基因表达可抑制脑胶质瘤细胞的体内生长^[7]。还有研究显示,上调LINC00152可促进胶质瘤细胞侵袭^[8],提示LINC00152参与胶质瘤细胞的恶性生物学行为。脑胶质瘤干细胞(glioblastoma stem cell, GSC)是存在于脑胶质瘤中的一类细胞,具有自我更新迅速、无限增殖及多向分化潜能^[9]。并且GSC与神经干细胞类似,在脑胶质瘤耐药和复发中起到关键性作用^[10],但LINC00152与TMZ诱导的GSC周期阻滞的关系尚未见报道。本研究以神经干细胞培养液培养脑胶质瘤U251细胞,提取成球生长的GSC作为研究对象,以重组LINC00152基因慢病毒表达载体转染GSC,获得过表达LINC00152的GSC,并以嘌呤霉素筛选过表达LINC00152的细胞株,观察LINC00152在TMZ诱导GSC周期阻滞中的作用及其机制。

1 材料和方法

1.1 细胞株及主要试剂

人脑胶质瘤U251细胞购自中国科学院典型

培养物保藏委员会细胞库; TMZ(货号34219)购自美国Sigma公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、MEM全培养基、无血清干细胞MEM培养基、PBS、重组碱性成纤维细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)和表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)购自美国Gibco公司; CD133抗体(货号64326S)和Oct-4抗体(货号2750S)购自美国CST公司; GAPDH抗体(货号AP0063)、抗兔IgG-HRP二抗(货号BS13278)、抗小鼠IgG-HRP二抗(货号BS12478)购自南京巴傲得生物科技有限公司;总蛋白提取试剂盒和细胞裂解液购自上海碧云天生物技术有限公司;聚偏二氟乙烯(polyvinylidene difluoride, PVDF)膜购自美国Millipore公司; LINC00152慢病毒表达载体转染试剂盒购自上海吉凯基因化学技术有限公司。

1.2 细胞培养、GSC提取

U251细胞以含15%FBS及1%青链霉素的MEM培养基培养细胞放置于37℃、CO₂体积分数为5%的培养箱中。将U251细胞转至无血清的神经干细胞培养液(含20 pg/L bFGF和20 pg/L EGF)中并加入B27补充剂培养并分离GSC。

1.3 免疫荧光鉴定GSC标志蛋白表达

GSC在4%多聚甲醛中固定30 min后,室温下用Triton X-100透核膜10 min。用含5%牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA)的PBS封闭2 h,于4℃下温育一抗CD133(1:400)和Oct-4(1:500)过夜,同时以4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)染核。室温温育荧光二抗2 h, PBS洗片后应用荧光显微镜观察拍照。

1.4 构建LINC00152过表达细胞株

以重组LINC00152基因慢病毒表达载体转染GSC细胞构建LINC00152过表达细胞株,设立

过表达 (LV-LINC00152) 组和空载对照 (LV) 组, 同时以正常GSC作为空白对照组。将U251细胞以每孔 3×10^6 个接种于6孔板中, 当细胞汇合度达50%时进行转染。转染前配制病毒稀释液, 各配备两管1 mL含10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 聚凝胺的MEM全培养基, 分别加入100 μL 重组LINC00152基因慢病毒原液和空载病毒原液, 轻轻混匀。LV-LINC00152组加入重组LINC00152基因慢病毒稀释液, LV组加入空载病毒稀释液, 空白对照组细胞加入等量培养基, 在37 $^{\circ}\text{C}$ 、 CO_2 体积分数为5%的条件下过夜培养, 12 h时更换为MEM全培养基, 继续培养至对数期传代, 嘌呤霉素筛选稳定过表达LINC00152的细胞株。

1.5 实时荧光定量聚合酶链反应 (real-time fluorescence quantitative polymerase chain reaction, RTFQ-PCR) 检测LINC00152表达水平

收集LV-LINC00152组、LV组和空白对照组细胞, TRIZOL法提取细胞总RNA, 用酶标仪对各组细胞总RNA浓度进行定量, 各取1 μg 进行反转录, 稀释cDNA至500 μL , 充分混匀备用。各引物按正向引物与反向引物1:1稀释, 利用SYBR Premix Ex TaqTM II在ABI 7300型RTFQ-PCR系统中进行扩增, 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 95 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 共40个循环, 每组设置6个复孔。 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算LINC00152的相对表达水平。

1.6 TMZ处理

取空白对照组、LV组及LV-LINC00152组细胞, TMZ (200 $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 处理LV组及LV-LINC00152组细胞48 h, 设立TMZ+LV组和TMZ+LV-LINC00152组。空白对照组和LV组以等量TMZ溶剂处理48 h。

1.7 细胞计数试剂盒 (cell counting kit-8, CCK-8) 法检测细胞活力

取所需空白对照组、LV组及LV-LINC00152组细胞, 铺于96孔板中, 每孔细胞数为 6×10^3 个, 培养过夜后以TMZ处理细胞, 每组设置5个复孔, 同时设立调零孔和对照孔。继续培养48 h后每孔加入10 μL CCK-8溶液, 培养箱温育3 h, 酶标仪测定450 nm处的吸光度 (D) 值, 计算细

胞活力。

1.8 流式细胞术检测细胞周期

将处理好的各组细胞用不含乙二胺四乙酸 (ethylenediaminetetraacetic acid, EDTA) 的胰酶消化。收集细胞于离心管中, 1 200 rpm离心5 min, PBS洗2次后用70%乙醇在4 $^{\circ}\text{C}$ 环境中固定30 min, 固定结束后1 200 rpm离心5 min, PBS洗2次, 1 200 rpm离心5 min, 加入300 μL PI/RNase染色液, 室温避光温育60 min, 将温育好的细胞悬液加入样品管中, 用流式细胞仪在488 nm激发光处检测。

1.9 蛋白质印迹法 (Western blot) 检测蛋白水平

药物处理各组细胞48 h后, 取出细胞并以蛋白刮刀将贴壁细胞刮下, 收集细胞悬液并1 200 rpm离心5 min, 弃去上清液, PBS清洗1遍, 1 200 rpm离心5 min, 弃去上清液, 将管内液体吸净, 各组细胞加入含1 mmol/L苯甲基磺酰氟的RIPA细胞裂解液, 冰上裂解液裂解10 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 下12 000 rpm离心20 min, 吸取上清液置于冰上备用, 二喹啉甲酸 (bicinchoninic acid, BCA) 法进行定量, 制备样品。十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE) 分离蛋白 (各样品上样量为30 μg), 转膜, 5%脱脂牛奶封闭PVDF膜4 h, 洗膜缓冲液 (tris buffered saline Tween, TBST) 洗膜3次, 每次10 min; 然后按要求加入CD133 (1:2 000)、Oct-4 (1:1 000) 或GAPDH抗体 (1:1 000) 4 $^{\circ}\text{C}$ 温育过夜。第2天, TBST洗膜3次, 再加入相应的二抗 (1:5 000), 室温温育1 h, 以ECL化学发光液进行显色, 凝胶成像仪进行成像并检测灰度值。

1.10 统计学处理

应用SPSS 11.0软件进行统计学分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用两独立样本资料的 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两多重比较方法用LSD- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义 (双尾)。

2 结 果

2.1 GSC的分离鉴定

U251细胞在含有10%FBS的MEM培养基中以

单层细胞贴壁生长。生长24 h后用干细胞培养液进行分离培养，细胞以球形悬浮状态生长。免

疫荧光染色发现GSC表达干细胞标志物CD133和Oct-4，表明GSC分离培养成功（图1）。

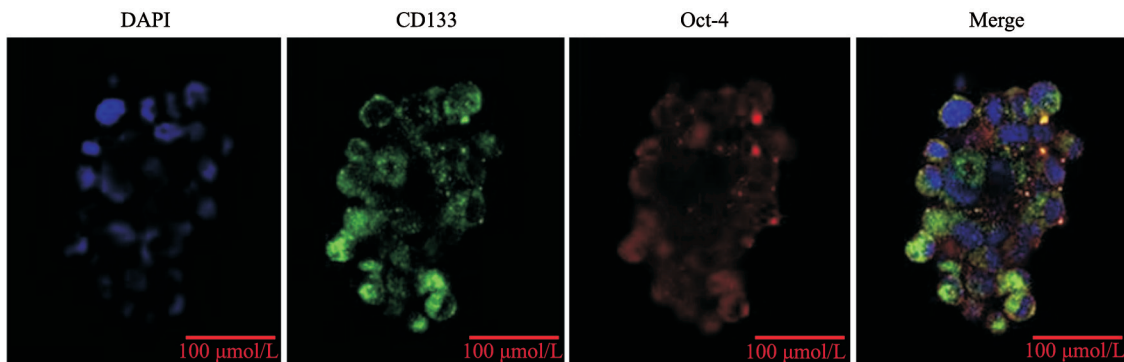


图1 GSC中CD133和Oct-4蛋白表达变化

Fig. 1 Changes in CD133 and Oct-4 protein expressions in GSC

2.2 各组GSC中LINC00152表达水平

各组细胞生长至对数期后以RTFQ-PCR检测LINC00152水平，结果显示，空白对照组、LV组和LV-LINC00152组GSC中LINC00152 RNA相对表达水平分别为 0.32 ± 0.02 、 0.33 ± 0.03 和 1.56 ± 0.12 ，组间总体比较存在差异（ $F=519.3$ ， $P < 0.0001$ ），与LV组相比，LV-LINC00152组LINC00152 RNA相对表达水平明显上调（ $P < 0.0001$ ，图2）。

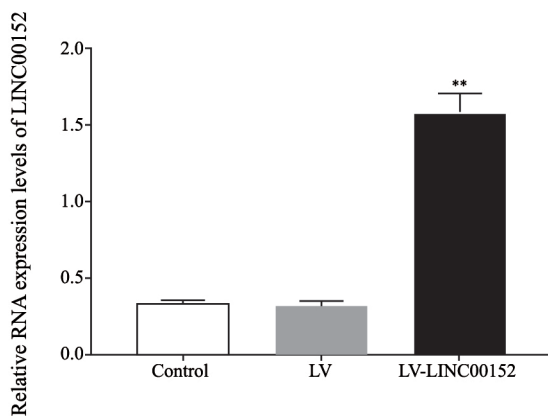


图2 各组LINC00152表达水平

Fig. 2 Expression level of LINC00152 in each group

**： $P < 0.0001$ ， compared with LV group

2.3 LINC00152抵抗TMZ诱导的GSC细胞活力降低

TMZ处理48 h后，CCK-8结果显示，空白对照组、LV组、TMZ+LV组和TMZ+LV-LINC00152组GSC细胞活力分别

为100.0%、 $(98.2 \pm 9.6)\%$ 、 $(46.2 \pm 4.5)\%$ 和 $(77.3 \pm 6.8)\%$ ，组间总体比较存在差异（ $F=62.76$ ， $P < 0.0001$ ），空白对照组和LV组无明显差异；与LV组相比，TMZ+LV组细胞活力明显降低（ $P < 0.0001$ ）；而与TMZ+LV组相比，TMZ+LV-LINC00152组细胞活力明显升高（ $P=0.0001$ ，图3）。

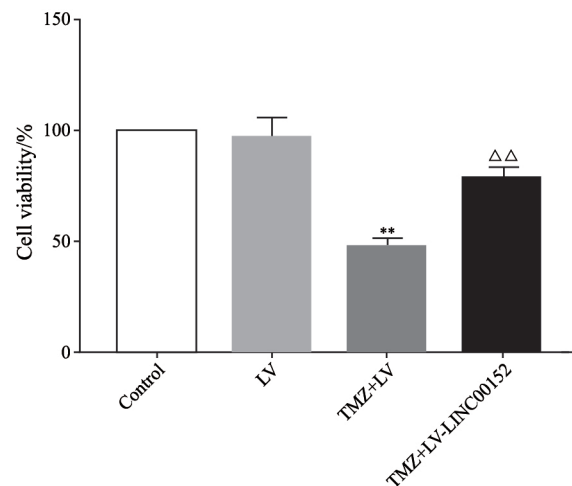


图3 各组细胞活力变化

Fig. 3 Changes in cell viability of each group

**： $P < 0.0001$ ， compared with LV group； △△： $P=0.0001$ ， compared with TMZ+LV group

2.4 LINC00152抵抗TMZ诱导的GSC周期改变

TMZ处理48 h后，以流式细胞术检测细胞周期，结果显示，空白对照组、LV组、TMZ+LV组和TMZ+LV-LINC00152组S期GSC细胞比例分别为 $(9.88 \pm 2.26)\%$ 、 $(10.21 \pm 3.16)\%$ 、

(37.28 ± 5.12)%和(17.75 ± 4.06)%,各组间总体比较差异明显($F=34.33$, $P < 0.0001$),空白对照组和LV组相比无明显差异;与LV组相比, TMZ+LV组S期细胞比例明显增加

($P < 0.0001$);而与TMZ+LV组相比, TMZ+LV-LINC00152组S期细胞比例明显降低($P=0.0002$,图4)。

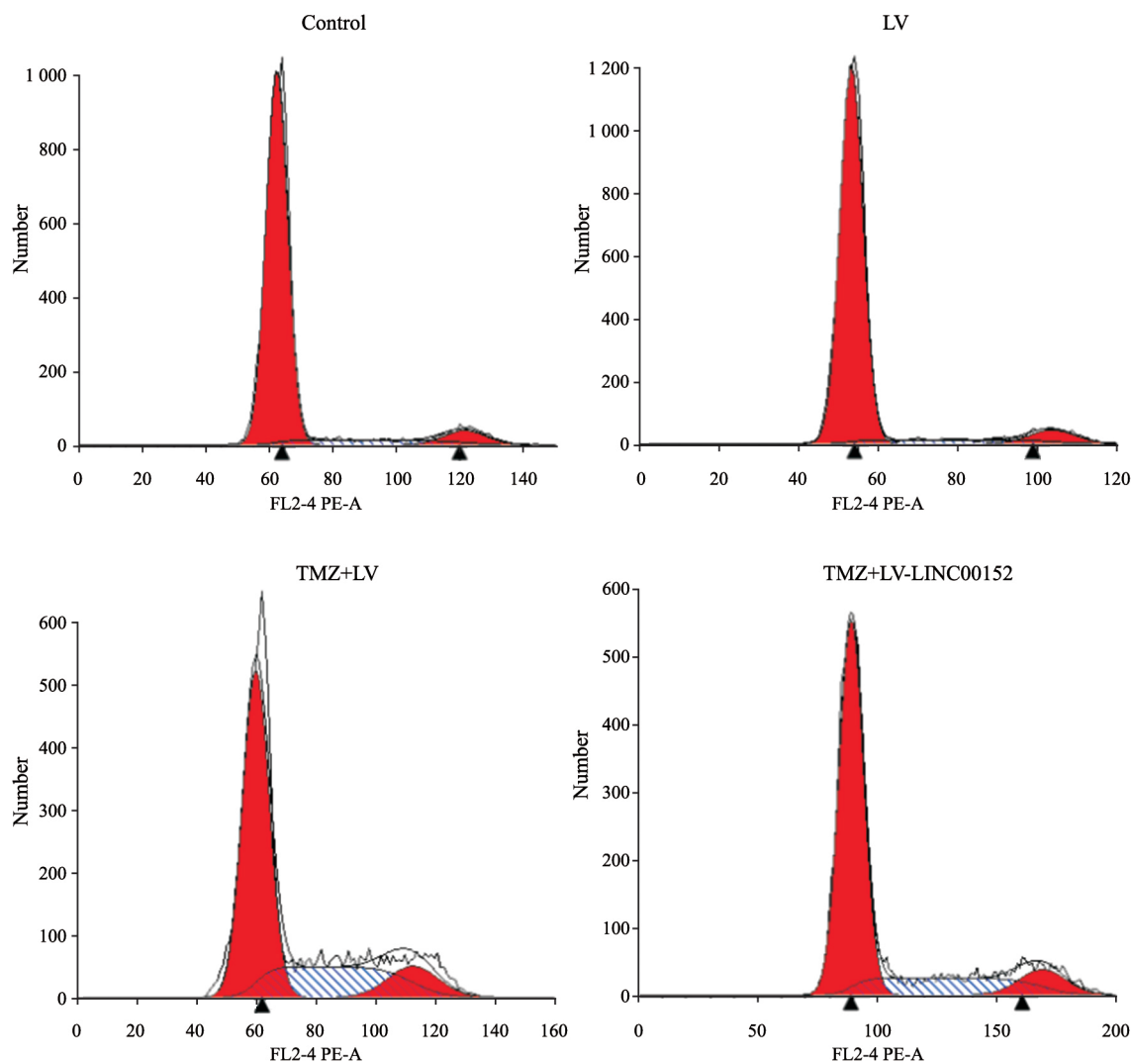


图4 各组细胞周期变化

Fig. 4 Cell cycle changes in each group

2.5 LINC00152逆转TMZ诱导的GSC中S期相关蛋白水平

TMZ处理48 h后, Western blot检测各组P53、Cyclin A、CDC25A和CDK2蛋白水平变化,结果显示,空白对照组、LV组、TMZ+LV组和TMZ+LV-LINC00152组组间P53($F=65.23$, $P < 0.0001$)、CyclinA($F=41.85$, $P=0.0001$)、CDC25A($F=34.38$, $P < 0.0001$)、CDK2

($F=52.22$, $P < 0.0001$)蛋白水平总体差异明显。空白对照组和LV组相比无明显差异;与LV组相比, TMZ+LV组Cyclin A、CDC25A、CDK2蛋白水平明显下调($P < 0.0001$), P53蛋白表达明显上调($P < 0.0001$);而与TMZ+LV组相比, TMZ+LV-LINC00152组Cyclin A、CDC25A、CDK2蛋白表达明显上调($P < 0.0001$), P53蛋白水平明显下调($P < 0.0001$,图5)。

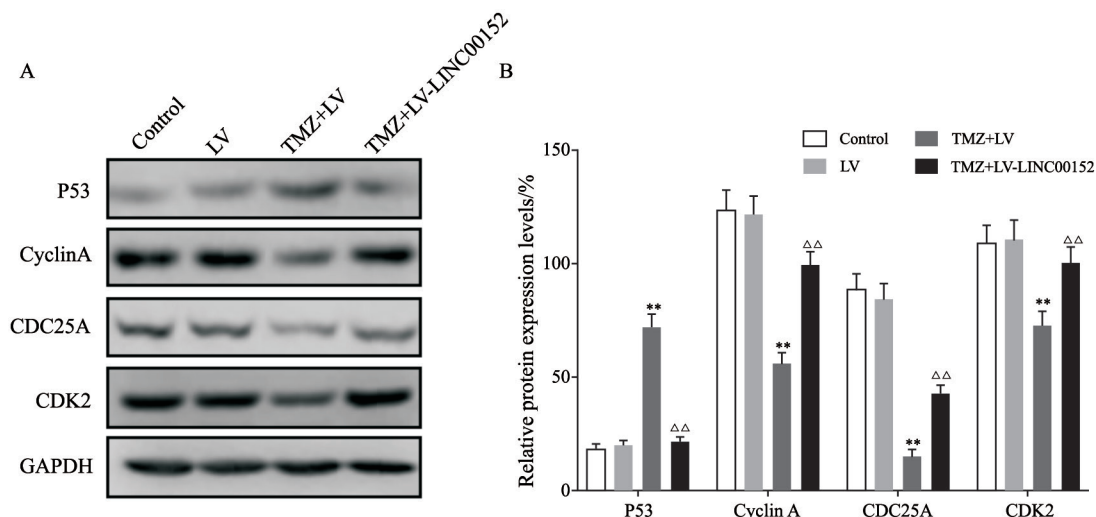


图5 各组细胞S期相关蛋白表达变化

Fig. 5 Changes of S-phase related protein expression in each group

A: Cell protein imprints of each group; B: Relative protein expression levels of each group; **: $P < 0.0001$, compared with LV group; $\Delta\Delta$: $P < 0.0001$, compared with TMZ+LV group

3 讨 论

GSC是存在于脑胶质瘤中的一类自我更新迅速、无限增殖及具有多向分化潜能的细胞^[9]。研究^[10]显示, GSC与神经干细胞类似, 在脑胶质瘤耐药和复发中起到关键性作用。文献^[11-12]报道, lncRNA LINC00152异常表达于胶质瘤、肝癌、胃癌及结肠癌等恶性肿瘤中。最新研究^[7]显示, LINC00152与脑胶质瘤临床不良预后相关, 下调LINC00152基因表达可抑制脑胶质瘤细胞的体内生长, 提示LINC00152在胶质瘤中可能发挥促癌效应。本研究以神经干细胞培养液培养脑胶质瘤U251细胞, 分离成球生长的细胞球。免疫荧光实验发现, 细胞CD133和Oct-4蛋白水平明显上调。CD133和Oct-4已被公认为干细胞标志物用于多种肿瘤干细胞研究^[13]。有研究显示, CD133或Oct-4阳性表达是肿瘤细胞获得干细胞特性的标志之一, 提示本研究^[14-15]成功提取了GSC细胞球。

TMZ作为脑胶质瘤的一线化疗药物, 能引起脑胶质瘤细胞周期阻滞和凋亡, 具有确切的疗效^[3], 但TMZ治疗一段时间后往往会失去疗效。为观察LINC00152在TMZ诱导GSC周期阻滞中的作用, 本研究以慢病毒转染法外源性上调

LINC00152表达水平并以嘌呤霉素筛选稳定表达的GSC细胞株。结果发现, TMZ能诱导GSC细胞活力降低和S期阻滞, 而LINC00152过表达能抑制上述效应, 提示LINC00152可能通过减少S期阻滞从而抵抗TMZ诱导的GSC细胞活力降低。本研究进一步观察了S期相关蛋白的表达变化, 结果显示, TMZ能诱导Cyclin A、CDC25A、CDK2蛋白表达下调以及P53蛋白表达上调, 而LINC00152过表达可抑制上述效应。研究^[16-17]表明, Cyclin A-CDK2是细胞S期启动DNA复制的重要复合物。另有文献^[18]报道, 多柔比星可诱导肝癌HepG-2细胞S期阻滞, 从分子水平上发现细胞Cyclin A、CDK2及CDC25A表达下调。还有研究^[19]显示, miR-155可通过上调P53蛋白表达诱导前列腺癌细胞周期阻滞, 提示本研究中的TMZ可能通过下调Cyclin A、CDK2、CDC25A蛋白表达及上调P53蛋白表达, 从而诱导GSC细胞S期周期阻滞, 而过表达LINC00152可抑制上述效应。

综上所述, TMZ可通过下调Cyclin A、CDC25A、CDK2蛋白表达及上调P53蛋白表达, 进而诱导GSC细胞S期阻滞。本研究发现, lncRNA LINC00152可抑制TMZ诱导的GSC细胞P53、Cyclin A、CDC25A、CDK2蛋白表达变化及S期阻滞, 这些研究结果有望为临床治疗脑胶

质瘤提供新的思路。但lncRNA LINC00152在脑胶质瘤中的生物学功能还有待于更多研究证实。

[参 考 文 献]

- [1] OSSWALD M, JUNG E, SAHM F, et al. Brain tumour cells interconnect to a functional and resistant network [J]. *Nature*, 2015, 528(7580): 93–98.
- [2] 许 蓓, 江高峰, 李爱群. 胶质瘤干细胞微环境及其治疗靶点的研究进展 [J]. *肿瘤防治研究*, 2017, 44(11): 764–768.
XU B, JIANG G F, LI A Q. Research Progress of Glioma Stem Cells Microenvironment and Therapeutic Targets [J]. *Cancer Res Prev Treat*, 2017, 44(11): 764–768.
- [3] 李根华, 冯 嵩, 刘 阳, 等. 替莫唑胺对胶质瘤干细胞抗凋亡与多重耐药基因及细胞周期的影响 [J]. *中华神经外科杂志*, 2015, 31(7): 723–731.
LI G H, FENG S, LIU Y, et al. Effects of temozolomide on anti-apoptosis of glioma stem cells, multiple drug-resistant genes and cell cycle [J]. *Chin J Neurosurg*, 2015, 31(7): 723–731.
- [4] NÖTZOLD L, FRANK L, GANDHI M, et al. The long non-coding RNA LINC00152 is essential for cell cycle progression through mitosis in HeLa cells [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2265.
- [5] JI J, TANG J, DENG L, et al. LINC00152 promotes proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting EpCAM via the mTOR signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(40): 42813–42824.
- [6] YUE B, CAI D, LIU C, et al. Linc00152 functions as a competing endogenous RNA to confer oxaliplatin resistance and holds prognostic values in colon cancer [J]. *Mol Ther*, 2016, 24(12): 2064–2077.
- [7] WANG W, WU F, ZHAO Z, et al. Long noncoding RNA LINC00152 is a potential prognostic biomarker in patients with high-grade glioma [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2018, 24(10): 957–966.
- [8] REON B J, TAKAO REAL KARIA B, KIRAN M, et al. LINC00152 promotes invasion through a 3'-hairpin structure and associates with prognosis in glioblastoma [J]. *Mol Cancer Res*, 2018, 16(10): 1470–1482.
- [9] SAKAMOTO D, TAKAGI T, FUJITA M, et al. Basic gene expression characteristics of glioma stem cells and human glioblastoma [J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(2): 597–607.
- [10] WANG Z, LIANG P, HE X, et al. Etoposide loaded layered double hydroxide nanoparticles reversing chemoresistance and eradicating human glioma stem cells *in vitro* and *in vivo* [J]. *Nanoscale*, 2018, 10(27): 13106–13121.
- [11] SHEN X, ZHONG J, YU P, et al. YY1-regulated LINC00152 promotes triple negative breast cancer progression by affecting on stability of PTEN protein [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509(2): 448–454.
- [12] MA P, WANG H, SUN J, et al. LINC00152 promotes cell cycle progression in hepatocellular carcinoma via miR-193a/b-3p/CCND1 axis [J]. *Cell Cycle*, 2018, 17(8): 974–984.
- [13] ZHANG X, SHAO J, LI X, et al. Docetaxel promotes cell apoptosis and decreases SOX2 expression in CD133-expressing hepatocellular carcinoma stem cells by suppressing the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(2): 1067–1074.
- [14] 汪思桦, 许 锐, 何诗敏, 等. CD133⁺皮肤鳞状细胞癌细胞的增殖与自我更新和转移能力 [J]. *中山大学学报(医学版)*, 2018, 39(2): 220–226.
WANG S H, XU R, HE S M, et al. Proliferation, Self-renewal and Metastasis Ability of CD133⁺ cells in cutaneous squamous cell carcinoma [J]. *J Sun Yat-sen Univers (Med Sci)*, 2018, 39(2): 220–226.
- [15] 陈 辰, 孙慧志, 刘铁菊, 等. IQGAP1诱导肝细胞肝癌干性促进血管生成拟态形成的实验研究 [J]. *中国肿瘤临床*, 2018, 45(7): 339–344.
CHEN C, SUN H Z, LIU T J, et al. IQGAP1 promotes vasculogenic mimicry by increasing stemness in hepatocellular carcinoma [J]. *Chin J Clin Oncol*, 2018, 45(7): 339–344.
- [16] POZO-MOLINA G, PONCIANO-GÓMEZ A, HERNÁNDEZ-ZAVALA A, et al. Arsenic-induced S phase cell cycle lengthening is associated with ROS generation, p53 signaling and CDC25A expression [J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 238(238): 170–179.
- [17] KOKONTIS J M, LIN H P, JIANG S S, et al. Androgen suppresses the proliferation of androgen receptor-positive castration-resistant prostate cancer cells via inhibition of Cdk2, CyclinA, and Skp2 [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109170.
- [18] 凌 娜, 孙庆岩, 徐艳艳, 等. 硒化卡拉胶联合表多柔比星对肝癌HepG-2细胞增殖及细胞周期的影响 [J]. *食品与药品*, 2014, 16(2): 81–84.
LING N, SUN Q Y, XU Y Y, ET AL. Effect of kappa-selenocarrageenan combined with epirubicin on proliferation and cell cycle of HepG-2 cells [J]. *Food Drug*, 2014, 16(2): 81–84.
- [19] DONG Q C, CHENG J, WANG Z G, et al. Effect of miR-155 on the cell cycle of prostate cancer by p53/p21 pathways [J]. *Prog Mod Biomed*, 2016, 16(29): 5640–5643.

(收稿日期: 2019-04-19 修回日期: 2019-06-18)