



## 肺癌中 *PVT1* 的表达及调控机制

蒋 嘉, 李卫东, 丁先锋

(浙江理工大学生命科学与医药学院, 杭州 310018)

**摘 要:** 长非编码 RNA (Long non-coding RNA, lncRNA) 是非编码 RNA 家族中的一员, 近期的研究发现 lncRNA 在许多癌症的发生发展中起重要作用。从 TCGA 数据库中筛选出在肺癌样本中具有较大差异表达的 5 条 lncRNA, 利用 RT-qPCR 检测临床肺癌、癌旁组织以及肺部陈旧性病灶患者血浆中这些 lncRNA 表达变化, 并对其中差异表达最显著的一条 lncRNA 进行生物信息学分析。RT-qPCR 结果显示: *LINC00467* 在肺癌和癌旁组织中无显著差异, *CDKN2A-AS1* 与 *MIR31HG* 在肺癌组织中呈现表达下调, 而 *EXOC3-AS1* 和 *PVT1* 在肺癌组织中表达上调, 其中 *PVT1* 在肺癌中表达上调最为明显。预测结果显示有 5 条肺癌相关的 miRNA 可以与 *PVT1* 相互作用, 并且存在 92 条 miRNA 的潜在靶标, 揭示肺癌中 *PVT1* 竞争性内源 RNA 的调节机制, 为进一步了解肺癌的发生和发展奠定了基础。

**关键词:** 肺癌; lncRNA; *PVT1*; 调控机制

中图分类号: R730.2

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851 (2020) 03-0246-07

## Expression and regulation mechanism of *PVT1* in lung cancer

JIANG Jia, LI Weidong, DING Xianfeng

(School of Life Science and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China)

**Abstract:** Long non-coding RNA (lncRNA) is a member of the non-coding RNA family. Recent studies have found that lncRNA plays an important role in the occurrence and development of many tumors. In this study, 5 lncRNAs with large expression differences in lung cancer samples were screened out from the TCGA database, and lncRNA expression changes in clinical lung cancer, para-carcinoma tissues and the plasma of old lung lesions were detected by RT-qPCR. Besides, one lncRNA with the most significant expression was analyzed by bioinformatics. The results of RT-qPCR showed that the *LINC00467* had no significant difference in lung carcinoma tissue and para-carcinoma tissue. The expression of *CDKN2A-AS1* and *MIR31HG* in lung cancer tissues was reduced, while the expression of *EXOC3-AS1* and *PVT1* increased in lung cancer tissues, and *PVT1* was most significantly up-regulated in lung cancer. The predicted results showed that 5 miRNAs related to lung cancer could interact with *PVT1*, and the potential target genes of 92 mRNAs were predicted, revealing the regulation mechanism of *PVT1* competitive endogenous RNA in lung cancer. This paper lays the foundation for further understanding the occurrence and development of lung cancer.

**Key words:** lung cancer; lncRNA; *PVT1*; regulation mechanism

收稿日期: 2019-03-07 网络出版日期: 2019-09-03

基金项目: 浙江省自然科学基金项目 (LY18C050006); 国家自然科学基金项目 (81602648)

作者简介: 蒋 嘉 (1997-), 女, 广东中山人, 本科生, 主要从事分子生物学方面的研究。

通信作者: 丁先锋, E-mail: bdd114@163.com

## 0 引言

肺癌是常见的恶性肿瘤之一,据2017年美国癌症协会资料统计,肺癌在所有新发恶性肿瘤中发生率排第二位,死亡率排第一位。对人们的生命健康是一种巨大的威胁<sup>[1]</sup>。肺癌的发生因素是多方面的,主要包括易感基因的遗传、环境污染以及吸烟饮食等生活方式等<sup>[2-3]</sup>。手术、化疗和放疗为现阶段肺癌的主要治疗方法,但对肺癌患者机体本身存在较大的杀伤性。分子靶向治疗已经被证明具有高效性、高度选择性等优良特点,但由于缺乏可靠靶点在临床运用中并不广泛,因此寻找肺癌治疗的新靶点对于分子靶向治疗十分重要。

LncRNA(Long non-coding RNA)是人体内一大类复杂的RNA分子,其长度大于200 nt,不编码任何蛋白质<sup>[4]</sup>。早期的研究认为lncRNA属于RNA“噪声”,现有许多研究表明,lncRNA可通过多种机制在转录水平以及转录后水平调控细胞生命活动,而且与多种癌症的发生发展有密切关系,这为肺癌的诊断和治疗提供新的理论依据<sup>[5]</sup>。*PVT1*(Plasmacytoma variant translocation 1)是一段长度为1957 nt的重要lncRNA分子,目前已有较多研究证实*PVT1*在癌症的发生过程中充当促癌因子,*PVT1*在乳腺癌、卵巢癌及宫颈癌等许多癌症细胞中都呈现高表达趋势,因频繁出现变异位点导致原癌基因的激活,与肿瘤发展密切相关<sup>[6-7]</sup>。MTT法检测分析得出结论,*PVT1*可增强乳腺癌细胞的增殖能力,干扰*PVT1*后可使乳腺癌细胞的增殖和侵袭能力均下降,因此*PVT1*可以作为一种新型分子标记物。目前关于*PVT1*影响肿瘤发生的作用机制研究侧重于*PVT1*与其邻居基因*MYC*的互相影响<sup>[8]</sup>,加上其自身能编码miRNA,*PVT1*与其编码的miRNA(如miR-1204、miR-1207)也是当前研究的热点<sup>[9-10]</sup>。Yang等<sup>[11]</sup>发现,*PVT1*在非小细胞肺癌组织中的表达明显高于邻近的正常组织和正常支气管上皮细胞,但*PVT1*具体如何调控肺癌的发生发展,其如何促进肺癌肿瘤的恶化,在肺癌中与哪些基因进行相互作用,其内源竞争ceRNA(Competing endogenous RNAs)作用机制是否在肺癌中扮演重要角色,这些都尚未可知。因此,深入的研究*PVT1*在肺癌中的调控机制具有重要意义,且根据调控机制可能获得潜在的诊断或预后指标及基因治疗的靶点。

本文通过TCGA数据库筛选出差异表达显著的lncRNA,以*PVT1*基因为研究对象,分析其在肺

癌中分子调控机制,探讨*PVT1*与miRNAs、mRNAs以及蛋白质之间的关系,为更深层次地研究肺癌发生发展中分子调控机制提供数据支撑和理论参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

石蜡样本组织总RNA提取试剂盒购自life公司(AM1975),逆转录和RT-qPCR所用试剂均购自南京Vazyme公司,引物由上海生工公司合成。

### 1.2 肺癌患者组织样本的收集

收集来自浙江省肿瘤医院的单原发性肺癌组织及癌旁组织(共7例),入选标准:a)入组患者有完整的病理信息、治疗资料;b)术前未接受任何治疗;c)经手术及术后病理信息证实为浸润性肺腺癌。同时实验开展过程中收集到1例肺部陈旧性病灶患者与1例健康血浆样本。

### 1.3 TCGA数据库筛选肺癌中差异表达的lncRNA

利用TCGA数据库已收纳的肺癌患者样本,通过cBioportal分析工具检测已正式命名的全部lncRNA的变化情况。根据患者样本信息,将肺癌患者中高遗传变化率的lncRNA作为可能发挥作用的目标lncRNA。分析目标lncRNA与患者群体生存率、遗传变异率等指标的相关性。

### 1.4 实时荧光定量PCR检测肺癌组织中lncRNA的表达水平

提取由石蜡包被的样本组织中的总RNA。将提取的总RNA进行定量和质检,通过1%甲醛变性凝胶电泳对所提取总RNA的完整性进行测定;利用Primer Premier 5设计RT-qPCR引物,引物信息见表1。参照HiScript II 1st Strand cDNA Synthesis kit使用说明书中的方法获得cDNA;根据SYBR Green染料法进行相对定量,选择*GAPDH*为内参基因,每个反应重复3次。qPCR反应在ABI 7500上运行,反应条件为:95℃,1 min;95℃,10 s,60℃,30 s,循环40次。

### 1.5 数据处理与分析

在qPCR定量检测lncRNA的相对表达变化量过程中,以*GAPDH*作为内参基因对所研究的目标lncRNA进行归一化处理,以确保在相等数量的样本中比较基因的表达量。lncRNA的相对表达量计算根据公式( $RQ = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ ,其中: $RQ$ 表示相对表达量, $C_t$ 表示循环阈值)获得,具体方法参考文献<sup>[12]</sup>;通过SPSS 17工具对荧光定量所得数据进行统计学分析,对目标lncRNA分别进行卡方检验和*t*检验<sup>[13]</sup>, $p < 0.05$ 认为差异具有显著性。

表1 qPCR 引物设计

lncRNA	引物类型	引物序列(5'-3')
EXOC3-AS1	上游引物	CGAAACCAAAGCGGAGAAGG
	下游引物	TCCCACGAGGGTGCCAAT
PVT1	上游引物	GGACGGACTTGAGAACTGT
	下游引物	GGCTTGTGAATCTGGGAG
CDKN2A-AS1	上游引物	CAGCAGTCATTGCAACC
	下游引物	CTGAATCCAGCCAACCCT
LINC00467	上游引物	GGTTGTTTCAGCACCTTCG
	下游引物	AGCCCAGTTTTCAGTCCCT
MIR31HG	上游引物	TGCCCTCAATCACCCACT
	下游引物	CCAGGCTATGTCTTTCCTCTAT
GAPDH	上游引物	AACGGATTTGGTCGTATTG
	下游引物	GGAAGATGGTGATGGGATT

## 1.6 PVT1 调控机制的生物信息学分析

### 1.6.1 PVT1 相互作用的 miRNAs 的预测分析

利用 regRNA 软件预测 PVT1 可能存在的 miRNA 结合位点。根据预测比对选择最小折叠自由能(MEF)小于-25 并且评分大于150 的 miRNAs。同时运用 RNAhybrid 软件预测 PVT1 上的靶 miRNA 结合区域。两个数据库预测结果重合的靶 miRNAs 作为潜在的可靠性 PVT1 靶 miRNA 基因。

### 1.6.2 miRNAs 靶基因预测及功能分析

利用 Targetscan、MicroCosm Targets 和 miRDB 三个数据库预测 miRNAs 的靶基因。通过选取三个数据库预测结果的交集部分以减少假阳性靶 mRNA 的出现。利用 GORILLA 分析软件对肺癌相关的靶 mRNAs 生物学功能进行预测。

### 1.6.3 构建 PVT1-miRNAs-mRNAs 调控网络

选取 PVT1 潜在的结合 miRNAs 分子,分别预测 miRNAs 调控的靶基因。利用 Cytoscape 软件合并 PVT1-miRNAs 和 miRNAs-mRNAs 网络,构建 PVT1-miRNAs-mRNAs 调控网络关系图。

## 2 结果和分析

### 2.1 总 RNA 样本质量分析

经实验提取的样本总 RNA 通过核酸定量仪(NanoDrop 2000, Thermo)测定结果表明该临床样本组织总 RNA 的 A260/280 在 1.67~2.00 之间,如表 2 所示,其中 C 代表肺癌组织,P 代表癌旁组织。随机抽取 4 例肺癌组织和对应的癌旁组织 RNA 样本进行检测,1% 甲醛变性凝胶电泳的结果显示条带清晰明亮,包括 28SrRNA、18SrRNA 和 5SrRNA 三条带,且 18SrRNA 条带亮度大约为

28SrRNA 的一半(图 1)。以上结果表明,RNA 的提取质量与完整性符合后续 qPCR 实验要求。

表2 样本组织总 RNA 分析

样本	浓度/(ng·μL <sup>-1</sup> )	A260/280	体积/μL	总质量/μg
C1	485.24	2.00	60	29.114
P1	121.73	1.89	60	7.304
C2	182.56	1.91	60	10.954
P2	98.70	1.84	60	5.922
C3	515.04	1.88	60	30.902
P3	184.92	1.90	60	11.095
C4	137.12	1.88	60	8.227
P4	106.76	1.85	60	6.406
C5	224.95	2.00	60	13.497
P5	52.60	1.67	60	3.156
C6	85.32	1.81	60	5.119
P6	63.03	1.76	60	3.782
C7	107.07	1.92	60	6.424
P7	48.03	1.78	60	2.882
肺病患者	395.50	1.82	20	7.910
健康人	347.10	1.73	20	6.942

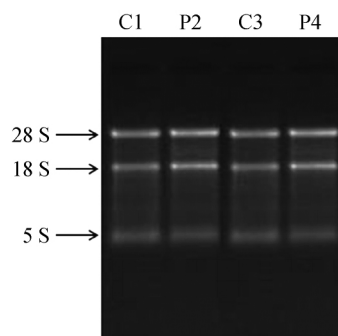


图1 样本组织总 RNA 经甲醛变性凝胶电泳结果

### 2.2 TCGA 数据库中 lncRNA 的筛选结果

通过对 TCGA 数据库中已有的 520 例肺癌患者中差异表达的 lncRNA 进行分析,结果发现:在已被命名的 lncRNA 中,有 646 条 lncRNA 表达发生变化,波动范围为 0~30%,排名前五的 lncRNA 分别为 EXOC3-AS1、PVT1、CDKN2A-AS1、LINC00467 和 MIR31HG(图 2)。初步分析目标 lncRNA 对 520 例肺癌患者生存期的影响,发现这 5 个基因表达变化后患者生存期变短。具体表现为基因无差异变化时平均生存期为 49.24 月,lncRNA 差异表达后平均生存期为 32.69 月。同时无疾病生存期也变短(无变异:39.49 月,基因差异表达:25.36 月)(图 3)。初步判断筛选的排名前五的 lncRNA 的差异表达会对肺癌患者的预后产生影响,可进一步在肺癌组织和肺部陈旧性病灶患者血浆中验证筛选 lncRNA 的表达水平。

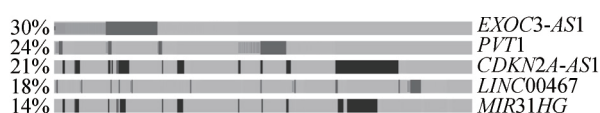
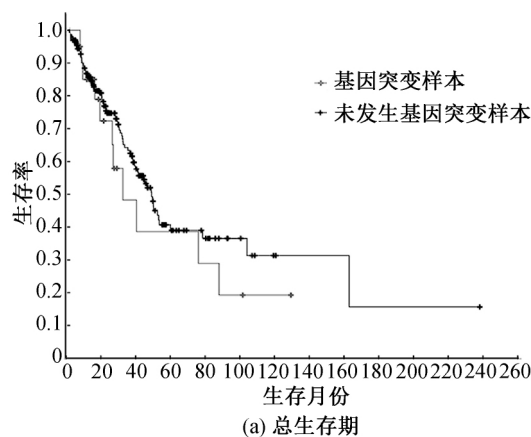
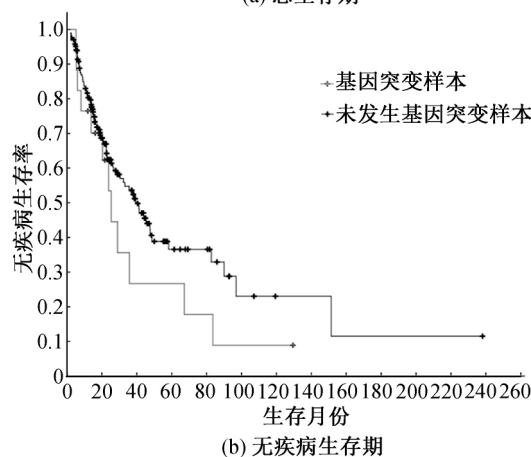


图2 TCGA中lncRNAs在肺癌中差异性表达的筛选结果



(a) 总生存期



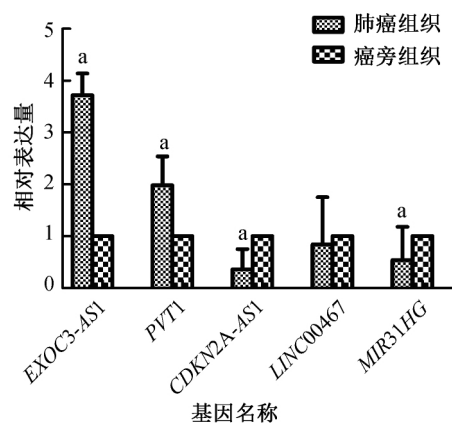
(b) 无疾病生存期

图3 lncRNAs表达变化与肺癌总生存期和  
无疾病生存期的关系

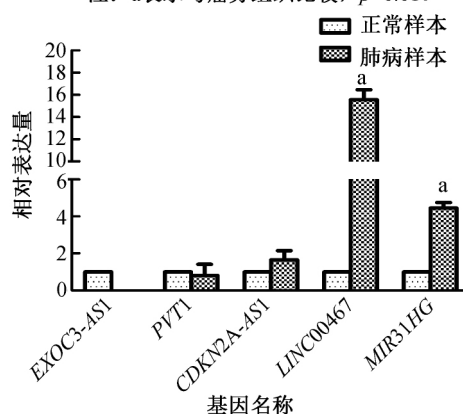
### 2.3 RT-qPCR 结果

qPCR 检测结果如图 4(a) 所示, *EXOC3-AS1* ( $RQ = 3.72$ ), *PVT1* ( $RQ = 1.98$ ) 在肺癌组织中表达较癌旁组织上调, *CDKN2A-AS1* 和 *MIR31HG* 在肺癌组织中表达下调, 这与 TCGA 数据库结果相一致。 *LINC00467* 在肺癌和癌旁组织中表达差异不明显, 其原因可能是由于实验样本较少, 样本自身差异性较大, 导致数据波动性较大。同时在收集的一例男性肺部陈旧性病灶患者中检测这 5 条 lncRNA 的表达水平, 如图 4(b) 所示在该患者中未检测到 *EXOC3-AS1* 基因的表达, *PVT1* ( $RQ = 0.81$ ) 基因在和正常对照组表达中无明显差异, 而 *CDKN2A-AS1* ( $RQ = 1.64$ )、*LINC00467* ( $RQ = 15.56$ ) 和 *MIR31HG* ( $RQ = 4.45$ ) 基因表达明显上调。 *LINC00467*、*MIR31HG* 的高表达可能由受样本数量限制波动较为明显。结果与肺癌中

*CDKN2A-AS1* 为抑癌基因相符, *PVT1* 无明显的对比结果可能由该肺部陈旧性病灶患者因肺炎或肺结核等留下病灶, 基因表达出现紊乱所致, 但相比肺癌患者 lncRNA 表达出现了明显差异。由于样本数量有限, 对照组和患者自身的个体差异也会对实验结果产生一定的波动, 该实验结果仅作为参考, 表明 lncRNA 的异常表达在肺癌的发生发展过程中起关键作用。



(a) 肺癌样本中lncRNA的表达情况

注: a表示与癌旁组织比较,  $p < 0.01$ 。

(b) 肺部陈旧性病灶患者样本中lncRNA的表达情况

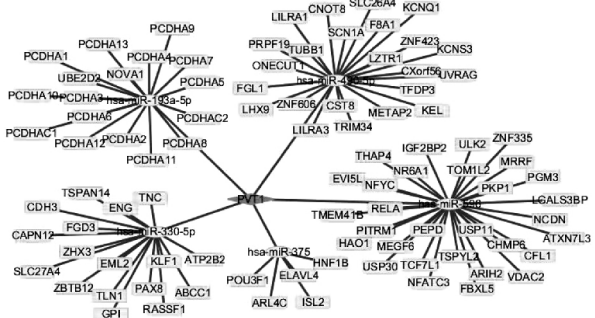
注: a表示与正常样本比较,  $p < 0.01$ 。

图4 肺癌组织和肺部陈旧性病灶中 lncRNAs 的差异表达

### 2.4 *PVT1* 在肺癌中的 ceRNA 调控机制分析

在上述 TCGA 数据库筛选的 5 条 lncRNA 中, *PVT1* 在肺癌组织中呈现高表达, 具有作为恶性肿瘤辅助诊断、疗效判断及预后预测的新的分子标记物的潜力, 因此本文选择 *PVT1* 为研究对象进一步探究其分子调控机制。通过 RegRNA 软件预测能够与 *PVT1* 相互结合的 miRNAs 共 165 条, 利用数据库检索最终筛选出 5 条 miRNAs 与肺癌疾病相关 (miR-330-5p、hsa-miR-193a-5p、hsa-miR-375、hsa-miR-490-5p、has-miR-596)。运用 Targetscan、MicroCosm Targets 和 miRDB 软件共同分析 5 条目标靶 miRNA 的靶基因, 预测结果中共有 92 个

mRNA 可能与靶 miRNA 相结合调控。利用 Cytoscape 最终建立 *PVT1* 在肺癌中的 lncRNA-miRNAs-mRNAs 的相互作用网络图,如图 5 所示,其中:菱形代表 *PVT1*,椭圆形代表 miRNAs,矩形代表 miRNA 靶基因的 mRNAs。以 *PVT1* 为该调控网络中心调节与之结合的 miR-330-5p、miR-596、miR-193a-5p、miR-490-5p、miR-375,进而对下游的 92 个靶基因进行调节,实现 lncRNA 竞争性结合 miRNA 从而诱导 mRNA 的沉默。所有相关基因构成复杂的网络调控,互相协调,这也说明 *PVT1* 可从不同层面上参与肺癌细胞发展过程。



注:菱形为 *PVT1*,椭圆为 miRNAs,矩形为 mRNAs  
图 5 lncRNA-miRNAs-mRNAs 调控网络图

为进一步了解 *PVT1* 在肺癌发生发展中的影响,利用分析工具对所预测的靶 mRNAs 可能参与的生物学功能进行富集分析,富集结果如图 6,其中富集相关性与颜色深浅成正比。由生物学过程到细胞过程相关性越来越强,深色较集中在细胞信号的传递以及黏附作用过程中。结果表明 miRNA 靶基因 *PCDHA* 家族基因以及 *NOVA1* 等高度富集到细胞与胞间信号传递、细胞间黏附作用和系统的发育过程等生物学进程,与癌症相通路相关。

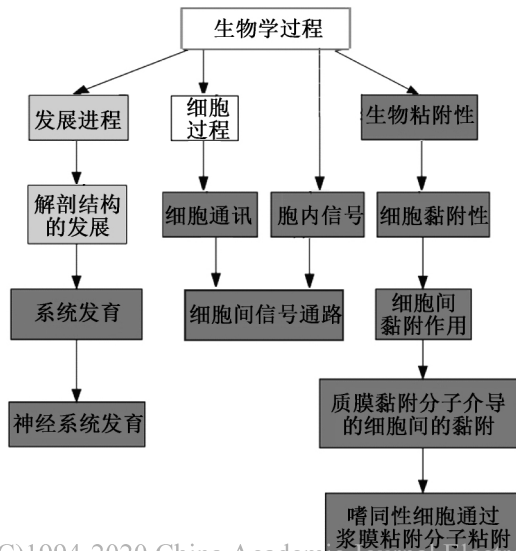


图 6 mRNAs 基因本体论富集分析结果

### 3 讨论

肺癌的发病由于较为隐匿,许多患者发现时已为晚期,这给提早治疗诊断肺癌带来了困难,而大多传统治疗手段副作用大且未取得明显疗效<sup>[14]</sup>,寻找新的治疗方法尤为重要。目前免疫治疗和分子治疗成为研究热点,因此探究分子机制、寻找新的标记物对肺癌的诊断、治疗以及预后具有重要意义。

*PVT1* 在各种癌症中<sup>[15-18]</sup> 都是一种重要的“瘤基因”,在恶性肿瘤中主要通过以下调控机制发挥作用:

a) *PVT1* 基因定位于人类染色体 8q24 区域,这一区域是常见的染色体脆性位点<sup>[19]</sup>,主要包含一个常发生突变的位点、多种疾病多个突变基因的危险位点、一个 1.8 Mb 的非转录区,在外来致癌因素的攻击下,该染色体位点容易发生断裂,导致基因扩增、染色体重排与易位等,进而导致 *PVT1* 拷贝数增加<sup>[20]</sup>。

b) *PVT1* 与 *MYC* 相互影响的机制。在原发性人类肿瘤中 *PVT1* 与 *MYC* 蛋白的表达相关,超过 98% 的 *MYC* 高表达癌中, *PVT1* 的拷贝数普遍增加。实验证明,从 *MYC* 驱动的结肠癌株 HCT116 中切除 *PVT1* 降低了其致癌性<sup>[20]</sup>。

c) 通过自身编码的 miRNAs 进行调节<sup>[21]</sup>, 目前以 miR-1204、miR-1208 等研究较多。 *PVT1* 与免疫球蛋白基因融合转录后,由于免疫球蛋白启动子的大量转录使自身转录加强,导致 *PVT1* 编码的 miR-1204 表达量上升,进而调控下游基因,促进肿瘤细胞增殖<sup>[22]</sup>。

d) *PVT1* 作为 ceRNA 海绵吸附 miRNA,与 mRNA 竞争性结合 miRNA,间接发挥功能。胰腺癌细胞中 *PVT1* 可作为分子海绵调节 miR-448,促进胰腺癌细胞的增殖和迁移<sup>[23]</sup>。一系列的研究表明,lncRNA 与 miRNA 相互作用参与肿瘤的发生发展过程。如脑胶质瘤细胞中 lncRNA *TP73-AS1* 表达上调并通过靶向 miR-124 促进瘤细胞生长, *TP73-AS1* 通过 miR-124 依赖性 p53 调控刺激蛋白 (iASPP) 调节作为 ceRNA 抑制脑胶质瘤生长和转移<sup>[24]</sup>; 髓核细胞中 lncRNA *HOTAIR* 可与 miR-130b 互作调节 PTEN/AKT 信号通路从而影响细胞增殖<sup>[25]</sup>。本文实验中发现肺癌细胞中 *PVT1* 高表达,具有成为肺癌临床标志物的潜力。

本研究结果发现 *PVT1* 在肺癌组织中呈高表达,预测并构建 lncRNA *PVT1*-miRNAs-mRNAs

网络和分析其功能。但本研究存在一些不足,例如:样本数量较少,实验结果存在一定局限性;*PVT1* 预测的互作因子在细胞中能否相互作用,可否直接影响肿瘤细胞的增殖迁移,还需要进一步深入实验和探讨。

#### 4 结 论

长链非编码 RNA 参与机体的多种复杂生物学行为过程当中,在肿瘤的形成与发展中起到重要作用。本文通过实验与生物信息学分析相结合研究 *PVT1* 在肺癌中的表达及调控机制得出如下结论:

a)采用 TCGA 数据库初步筛选出 5 条肺癌中差异表达的 lncRNA:*EXOC3-AS1*、*PVT1*、*CDKN2A-AS1*、*LINC00467*、*MIR31H*。

b)通过 RT-qPCR 技术在肺癌和肺部陈旧性病灶患者中验证 lncRNA 的表达变化,结果显示,*PVT1*、*EXOC3-AS1* 在肺癌组织中显著上调,可作为肺癌患者诊断的生物标记物。

c)*PVT1* 在肺癌的进展中充当促癌因子,且本次研究结果证实 *PVT1* 通过 *PVT1*-miRNAs-mRNAs 调控网络在肺癌中发挥作用,在肺癌肿瘤中高水平表达可能促进肺癌细胞的转移。

综上所述,本文的研究发现 *PVT1* 在肺癌的发生过程中起重要作用,通过构建以 *PVT1* 为 ceRNA 的调控网络,为研究其在肺癌中的发生机制提供基础,并可能为肺癌的治疗提供新的治疗靶点。

#### 参考文献:

- [1] Siegel R L, Miller K D, Fedewa S A, et al. Colorectal cancer statistics, 2017 [J]. *Ca A Cancer Journal for Clinicians*, 2017, 67(3):104-17
- [2] 姚晓军,刘伦旭. 肺癌的流行病学及治疗现状[J]. *现代肿瘤医学*, 2014,22(8): 1982-1986
- [3] 卢婉婷,陈明辉,黄丽萍,等. 行为与生活方式与肺癌的发病关系[J]. *海峡预防医学杂志*, 2018, 24(4): 23-26.
- [4] Kung J T, Colognori D, Lee J T. Long noncoding RNAs: past, present, and future[J]. *Genetics*, 2013, 193(3):651-669.
- [5] 张磊,肇毅. lncRNA 与非小细胞肺癌[J]. *中国肿瘤外科杂志*, 2015,7(3): 192-195
- [6] Li X, Chen W, Wang H, et al. Amplification and the clinical significance of circulating cell-free DNA of *PVT1* in breast cancer[J]. *Oncology Reports*, 2017, 38(1): 465-471
- [7] Gao Y L, Zhao Z S, Zhang M Y, et al. Long non-coding RNA *PVT1* facilitates cervical cancer progression via negative Regulating of miR-424[J]. *Oncology Research*, 2017, 25(8):1391-1398.
- [8] Dang C V. MYC on the path to cancer[J]. *Cell*, 2012, 149(1):22-35.
- [9] Huang J, Collisson E A, Gibb B, et al. Abstract 1948: *Pvt1*-encoded microRNA miR-1204 in tumorigenesis of human ovarian and breast cancer[J]. *Cancer Research*, 2011, 70(8):1948-1948.
- [10] Yan Chen, Chen Yaqing, Kong Weiwei, et al. *PVT1*-derived miR-1207-5p promotes breast cancer cell growth by targeting *STAT6* [J]. *Cancer Science*, 2017, 108(5), 868-876.
- [11] Yang Y R, Zang S Z, Zhong C L, et al. Increased expression of the lncRNA *PVT1* promotes tumorigenesis in non-small cell lung cancer [J]. *International Journal of Clinical & Experimental Pathology*, 2014, 7(10):6929-6935.
- [12] Schmittgen T D, Livak K J. Analyzing real-time PCR data by the comparative CT method [J]. *Nature Protocols*, 2008, 3(6):1101-1108.
- [13] Ding X, Zhu L, Ji T, et al. Long intergenic non-coding RNAs (lincRNAs) identified by RNA-seq in breast cancer[J]. *Plos One*, 9, 8 (2014-8-1), 2014, 9(8): e103270.
- [14] 何圆,尤长宣. 非小细胞肺癌免疫治疗进展[J]. *中国肺癌杂志*, 2014,17(3):277-281.
- [15] Huang C, Yu W, Wang Q, et al. Increased expression of the lncRNA *PVT1* is associated with poor prognosis in pancreatic cancer patients [J]. *Minerva Medica*, 2015, 106(3):143-9.
- [16] Wang X, Wang G, Zhang L, et al. lncRNA *PVT1* promotes the growth of HPV positive and negative cervical squamous cell carcinoma by inhibiting TGF- $\beta$ 1 [J]. *Cancer Cell International*, 2018, 18(1):70-77.
- [17] Huang T, Liu H W, Chen J Q, et al. The long noncoding RNA *PVT1* functions as a competing endogenous RNA by sponging miR-186 in gastric cancer[J]. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 2017, 88(3):302-308.
- [18] 潘雪峰,高春芳. lncRNA *PVT1* 与恶性肿瘤治疗的研究进展[J]. *肿瘤学杂志*, 2019,25(2):145-151.
- [19] Northcott P A, Shih D J H, Peacock J, et al. Subgroup-specific structural variation across 1,000 medulloblastoma genomes [J]. *Nature*, 2012, 488(7409):49-56.
- [20] Tseng Y Y, Moriarity B S, Gong W, et al. *PVT1*

- dependence in cancer with MYC copy-number increase [J]. *Nature*, 2014, 512(7512):82-86.
- [21] Beckengeser G B, Lum A M, Huppi K, et al. Pvt1-encoded microRNAs in oncogenesis[J]. *Retrovirology*, 2008, 5(1):4.
- [22] Jing H, Collisson E A, Gibb B, et al. Abstract 1948: Pvt1-encoded microRNA miR-1204 in tumorigenesis of human ovarian and breast cancer[J]. *Cancer Research*, 2011, 70(8):1948.
- [23] Zhao L, Kong H, Sun H, et al. LncRNA-PVT1 promotes pancreatic cancer cells proliferation and migration through acting as a molecular sponge to regulate miR-448[J]. *Journal of Cellular Physiology*, 2017, 233(5):4044-4055.
- [24] Xiao S, Wang R, Wu X, et al. The long noncoding RNA TP73-AS1 interacted with miR-124 to modulate glioma growth by targeting Inhibitor of apoptosis-stimulating protein of p53 [J]. *DNA & Cell Biology*, 2018, 37(2):117-125.
- [25] 陈文康. LncRNA HOTAIR 作为 miR-130b 的 ceRNA 调控 PTEN/AKT 信号通路影响髓核细胞增殖[D]. 衡阳:南华大学,2017:13-43.

(责任编辑:唐志荣)