

·信息研究·

长链非编码 RNA 在舌鳞癌中的表达谱特征

贾 搏, 赵建江*, 郑相淮, 盘 杰, 陈 军, 邱小玲, 韩久松, 褚洪星
(南方医科大学附属口腔医院//广东省口腔医院 口腔颌面外科, 广东 广州 510280)

摘 要:【目的】观察长链非编码 RNA(lncRNA)在正常舌组织和舌鳞癌组织中表达谱的变化。【方法】利用 lncRNA 表达谱芯片检测技术,筛查 3 例舌鳞癌组织及 3 例正常舌组织中 lncRNA 表达谱的变异,通过对原始数据进行预处理达到均一化后,确定舌鳞癌组织中 2 倍以上变化并有显著差异 ($P < 0.05$) 的 lncRNA 为差异表达 lncRNA,筛选出差异表达的 lncRNA;分别在 scc-9、cal-27、um-1 和 um-2 共 4 种人舌鳞癌细胞和 1 种人正常舌细胞以及在 35 例舌鳞癌组织和 12 例正常舌组织中,利用实时荧光定量逆转录-多聚酶链反应 (qRT-PCR) 对芯片结果进行验证;对筛选所得的部分差异表达的 lncRNA,利用 lncRNA 与 mRNA 特异性表达的标准化信号强度,构建基因共表达网络,并进行分析。【结果】芯片共筛选差异表达 lncRNA 3590 条,其中上调的共 1785 条,降低的共 1805 条;选取其中部分 lncRNA,qRT-PCR 进一步证实了芯片结果的准确性;共表达网络构建提示某些 lncRNA 可能在参与舌鳞癌发生发展过程中发挥重要调控作用。【结论】与正常舌组织比较,舌鳞癌组织 lncRNA 表达谱发生显著变化,提示差异表达的 lncRNA 可能与舌鳞癌的多种恶性表型有着密切联系。

关键词:长链非编码 RNA;舌鳞癌;lncRNA 芯片

中图分类号:R78 文献标志码:A 文章编号:1672-3554(2014)03-0469-07

Expression Profile of Long Non-coding RNA in Tongue Squamous Cell Carcinoma

JIA Bo, ZHAO Jian-jiang*, ZHENG Xiang-huai, PAN Jie, CHEN Jun, QIU Xiao-ling, HAN Jiu-song,
CHU Hong-xing

(Department of Surgery, The Affiliated Stomatological Hospital of Southern Medical University//Guangdong Provincial Stomatological Hospital, Guangzhou 510280, China)

Abstract:【Objective】To analyze the expression profile variation of long non-coding RNA (lncRNA) in tongue squamous cell carcinoma (TSCC) and normal tongue tissue (NTT).【Methods】To use lncRNA microarray technology to inspect the difference of lncRNA expression in 3 cases of TSCC tissues and 3 cases of normal tongue tissues, and then make analysis after pretreatment and homogenization of raw data, to identify which have more than 2 times variation and significant difference ($P < 0.05$) by statistical analysis as lncRNA with differential expression. The lncRNA expression was confirmed by quantitative real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) in four kinds of human tongue squamous cell carcinoma cell lines (scc-9, cal-27, um-1, um-2) and 1 case of normal tongue cell line, but also in 35 cases of TSCC tissues and 12 cases of normal tongue tissues. Gene co-expression network was constructed according to the normalized signal intensity of specific expression lncRNA and mRNA.【Results】Compared with NTT, there are 3590 lncRNA differential expressed, while 1785 increase more than 2 times and 1805 reduce more than 2 times. Some of these lncRNA were chosen, the accuracy of the results was verified by qRT-PCR. Gene co-expression network prompted that some lncRNA may play an important role in the process of in TSCC.【Conclusion】lncRNA expression profile of the TSCC changes significantly in comparison with the NTT, the different lncRNA may have a close connection with many kinds of malignant phenotype in the TSCC.

Key words: long non-coding RNA; tongue squamous cell carcinoma (TSCC); lncRNA microarray

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2014, 35(3):469-475]

收稿日期:2014-01-16

基金项目:广东省级财政技术研究开发与推广应用专项资金(2013年);广州市科技计划项目科技惠民专项

作者简介:贾搏,硕士研究生, E-mail: dentist-jia@163.com; *通信作者:赵建江,博士生导师,主任医师, E-mail: zjj2521@sina.com

口腔颌面部头颈癌是我国主要的恶性肿瘤之一,发病率居全身癌的第六位,舌鳞癌占口腔颌面部头颈癌的 80%以上^[1]。研究表明,大多数恶性肿瘤的形成是一种基因多阶段的演变过程^[2],其中,癌基因和抑癌基因是当前研究的热点,在正常情况下它们处于正负调控的平衡关系,一旦这种平衡关系被打破如癌基因和抑癌基因突变将促进癌瘤的发生发展^[3],而据最近的研究发现,单独基因突变本身并不足以最终导致癌瘤的形成,表观遗传学修饰及其后调控基因表达水平的任一过程的改变都将对癌瘤的发生发展起到重要作用^[4-6]。lncRNA 是一类转录本长度超过 200 nt 的 RNA 分子^[7],占非编码 RNA 80%以上^[8],主要从表观遗传学调控、转录调控、转录后调控^[9-11]三个层面实现对基因表达的调控,研究显示 lncRNA 与肝癌、肺癌、乳腺癌等多种肿瘤的发生发展密切相关^[12-15]。截至目前,lncRNA 与舌鳞癌之间的关系未见报道,本研究首次采用 lncRNA 表达谱芯片技术筛选舌鳞癌患者差异表达 lncRNA 并对其进行分析,旨在筛选出与舌鳞癌相关的 lncRNA,为探讨 lncRNA 参与舌鳞癌的发生发展提供实验依据,以期进一步阐明舌鳞癌发病的分子机制,明确这些差异表达的 lncRNA 在舌鳞癌发生发展过程中的作用,将可能使得 lncRNA 作为一类肿瘤分子标记物或治疗靶点,为肿瘤的诊断和治疗提供新的思路。

1 材料和方法

1.1 样本收集

收集 2013 年 1 月-2013 年 6 月在广东省口腔医院手术切除的舌鳞癌组织 35 例以及健康志愿者舌组织 12 例。所有患者术前未行放化疗,排除其他系统性病史,各重要器官功能在正常范围,健康志愿者排除系统性病史,各重要器官功能在正常范围,选择其中舌鳞癌组织和健康组织各 3 例用于芯片研究,其余组织用于进一步验证,3 例舌鳞癌患者中:男性 2 名,女性 1 名,含 T1、T2 和 T4 期各 1 例(据 TNM 分类法),年龄为 33 岁、46 岁和 65 岁;3 例健康志愿者中,男性 2 名,女性 1 名,年龄依次为 25 岁、28 岁和 36 岁。所有组织标本取得后立即放入液氮中保存备用。试验中涉及人类受试者,取得病人知情同意并从广东省口腔医院伦理委员会得到认可授权。

1.2 细胞培养

正常舌细胞的培养:从 3 例正常舌组织中选择 1 例,并切成 1 mm³ 组织块置于培养皿中,培养液为 2 mL RPMI-1640 (GIBCO, Invitrogen 公司,美国)加上 1% 小牛血清(GIBCO, Invitrogen 公司,美国)和青霉素、链霉素(分别为 100 U/mL 和 100 μg/mL),培养皿静置于 37℃,体积分数为 5%的 CO₂ 孵箱 5 d,当上皮样细胞在组织块边缘生长以后,将培养液更换为 DKSFM (GIBCO, Invitrogen 公司,美国),当细胞生长至 80% 融合后,用 0.05% 胰蛋白酶(Trypsin) — 乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 消化将其转移至预铺有胶原的 25 mm² 培养瓶,每 2 ~ 3 d 更换培养液,生长至 80% 融合后按 1:2 的比例传代培养,传代后,观察细胞状态,隔天换液,取第 3 代细胞进行后续研究。

cal-27 (上海交通大学附属第九人民医院惠赠)、sec-9、um-1 及 um-2 (中山大学第一附属医院惠赠)培养:37℃,5% CO₂ 浓度,饱和湿度,含 10%胎牛血清的 DMEM-F12 培养基。传代时,弃去原培养液,PBS 漂洗 2 次,再行胰酶消化 2 ~ 3 min,加入 1 ~ 2 mL 完全培养基终止消化,然后分瓶传代培养。传代后,观察细胞状态,隔天换液,取对数生长期的细胞进行实验。

1.3 芯片选择

芯片采用 Agilent 公司 4 * 180K LncRNA Array,覆盖主流数据库所有 lncRNA,可同时检测 lncRNA(38942 个)和 mRNA(41712 个),并挖掘两者之间的关联,其中 lncRNA 覆盖目前 NCBI RefSeq、NCBI Other、UCSC、ENSEMBL、Homolog LncRNA-DB、ncRNA-SCAN、Agilent-G3、Agilent Other 及 Other Database 等多个数据库的。芯片的探针设计为 60 mer 的长寡核苷酸。

1.4 组织、细胞 RNA 的提取与检测

细胞、组织 RNA 的提取均使用 Invitrogen 公司的 Trizol 试剂,所有使用的试剂和材料均通过 DEPC 处理,为 RNAe-free。组织样本准备:每 50 ~ 100 mg 人组织标本在液氮中研磨粉碎,待液氮挥发后迅速加入 1 mL Trizol 总 RNA 提取试剂(Invitrogen, USA)。细胞样本准备:按照培养皿面积加入 Trizol 试剂(每 10 cm² 添加 1 mL Trizol)直接裂解细胞。之后根据生产厂商提供的标准操作流程进行 RNA 抽提,抽提所得 total RNA 质量

检测,细胞以琼脂糖凝胶电泳和 D_{260}/D_{280} 的比值来判断,组织以 Agilent 2100 Bioanalyzer 来判断。

1.5 cDNA 样品合成、标记和杂交

对 RNA 质量鉴定合格的组织样品,按照 Agilent 公司的 Quick Amp Labeling (Version 5.7, Agilent Technologies) 标记方法对 RNA 进行扩增 cDNA 和荧光标记,标记后的样品于 Agilent 公司 $4 \times 180K$ lncRNA Array 芯片上杂交。

1.6 图像采集和数据分析

完成杂交的芯片采用 Agilent Microarray Scanner 进行扫描,用 Feature Extraction software 10.7 读取数据,最后采用 Gene Spring Software 11.0 进行归一化处理,由散点图(Scatter Plot)和火山图(Volcano Plot)筛选差异表达基因,差异基因的标准为舌鳞癌组织相对正常舌组织表达变化 2 倍以上及 P 值 < 0.05 。

1.7 Real-time PCR 验证

根据芯片分析的结果,采用 Realtime-PCR 在四种舌鳞癌细胞和 1 种正常舌细胞中以及上述组织中验证。总 RNA 的提取采用 Trizol-氯仿-异丙醇提取法。Trizol 购买自 TaKaRa 公司,cDNA 由购自 Invitrogen 公司的反转录试剂盒合成。反应体系为: $2 \mu\text{L}$ Radom primer 6, $1 \mu\text{L}$ dNTPs, RNA, DEPC 水补充至 $12 \mu\text{L}$, $65 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 min; 反应后立刻置于冰上,加入 $4 \mu\text{L}$ $5 \times$ first strand buffer, $2 \mu\text{L}$ 0.1 mol/L DTT, $1 \mu\text{L}$ RNAin Inhibitor, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 2 min; 反应后立刻置于冰上,加入 $1 \mu\text{L}$ M-MLV, $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 10 min, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 50 min, $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 15 min, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 。Realtime-PCR 用美国 ABI 公司 Step One Real-Time PCR System 进行反应,反应所需酶为 TaKaRa 公司的 SYBR Green,相关引物由 Primer5.0 设计,内参使用人的 GAPDH。

1.8 分层聚类分析以及共表达网络构建

分层聚类分析使用数据是基于筛选所得的差异表达编码蛋白及非编码 RNA 的原始表达值,工具使用 Stanford 大学的 Cluster Treeview software 软件完成。共表达网络根据校正过的基因表达信号完成,计算每一对基因间的 Pearson 相关系数,并根据 Pearson 相关系数的大小筛选有共表达关系的基因用于构建网络。

2 结果

2.1 样本 RNA 样本质量分析

用于 lncRNA 芯片分析的组织样本总 RNA 的质检用 Agilent 2100 Bioanalyzer 进行,质检标准为 $\text{RIN} \geq 7.0$ 和 $28\text{S}/18\text{S} > 0.7$,所有样本的 RNA 质量均满足检测要求。

结合 Agilent 2100 Bioanalyzer 的检测结果,我们能得出正常组织-1 ($\text{RIN}=7.6$ 和 $28\text{S}/18\text{S}=1.2$); 正常组织-2 ($\text{RIN}=7.2$ 和 $28\text{S}/18\text{S}=1.3$); 正常组织-3 ($\text{RIN}=8.7$ 和 $28\text{S}/18\text{S}=1.7$); 舌鳞癌组织-1 ($\text{RIN}=8.1$ 和 $28\text{S}/18\text{S}=1.9$); 舌鳞癌组织-2 ($\text{RIN}=8.1$ 和 $28\text{S}/18\text{S}=2.1$); 舌鳞癌组织-3 ($\text{RIN}=7.9$ 和 $28\text{S}/18\text{S}=1.5$),均达到质检标准,符合检测要求。

2.2 芯片检测结果

采用芯片杂交的方法对 3 例舌鳞癌组织及 3 例正常舌组织中的 lncRNA 的表达差异进行筛选,差异 lncRNA 的标准为舌鳞癌组织相对正常舌组织表达变化 2 倍以上且 P 值 < 0.05 。结果显示:共筛选出差异 lncRNA 3590 条,占有可检测 lncRNA 的 9.2%,其中差异 2 倍以上上调的 1785 条,2 倍以上降低的 1805 条; 4 倍以上上调的 716 条; 4 倍以上降低的 476 条; 8 倍以上上调的 239 条; 8 倍以上降低的 104 条。另外,我们对芯片的结果中差异较大的部分进行描述,如表 1。

2.3 Real-time PCR 结果

为验证芯片准确性,进一步随机选取芯片中上调的 lncRNA uc002ezo 和 NR_038257.1,采用 Real-time PCR 在细胞中和组织中进一步验证。以 GADPH 作为内参,细胞选取 1 种正常舌细胞和 4 种舌鳞癌细胞,组织选取 12 例正常舌组织和 35 例舌鳞癌组织。与正常舌细胞相比,uc002ezo 和 NR_038257.1 在舌鳞癌细胞中明显上调(图 1) ($P < 0.05$); 与正常舌组织相比,uc002ezo 和 NR_038257.1 在舌鳞癌组织中明显上调(图 2) ($P < 0.05$)。结果表明,Real-time PCR 结果与芯片检测结果一致。

2.4 分层聚类分析以及共表达网络构建

对六张芯片的数据进行分层聚类分析,结果显示差异表达的 lncRNA 和 mRNA 均能将正常舌组织和舌鳞癌组织进行正确的分类(图 3),同 mRNA 一样,在舌鳞癌组织中也存在特征性表达的 lncRNA。

对芯片的原始测量值进行归一化处理,计算任何两基因间的 Pearson 相关系数, Pearson 相关系数大于阈值的基因对(包括 mRNA 和 lncRNA)

表 1 芯片结果显示的部分差异的 lncRNA
Table 1 A subset of the differentially expressed profiles between the TSCC and NTT

Up-regulated lncRNA		Down-regulated lncRNA	
lncRNA	Log ₂ Fold change(T/N)	lncRNA	Log ₂ Fold change(T/N)
ENST00000532855	5.450640149	ENST00000449656	-3.216754559
ENST00000418352	4.633048289	BC031282	-3.222499691
BC015134	4.00069597	ENST00000521373	-3.230040736
ENST00000550177	3.994084325	BC039331	-3.236731236
NR_026796	3.917035398	ENST00000455232	-3.25521913
uc003aqz	3.570657626	uc010jtd	-3.292601386
NR_033319	3.521594049	ASO1796	-3.354211925
XR_111691	3.417760646	ENST00000452852	-3.439039238
AK127265	3.215599494	ENST00000443205	-3.474362999
HMlincRNA1338	3.166226303	AW275694	-3.589299268
BC020638	3.157211946	ENST00000417034	-3.602410474
NR_026775	3.155178518	uc010bad	-3.633954562
ENST00000553944	3.146088856	TCONS_12_00024745	-3.675059727
DB343762	3.048434534	X98307	-3.688783107
NR_033405	3.047218706	ENST00000543206	-3.705915586
AK125889	3.036732113	NR_024559	-3.783271975
uc003mjv	3.00438573	ENST00000414604	-4.307438523
NR_038257.1	3.001852691	ENST00000420502	-4.358281066
NR_033661.1	2.996690711	NR_027044.1	-5.067645576
ENST00000519603	2.889437593	NR_028346.1	-5.429999534

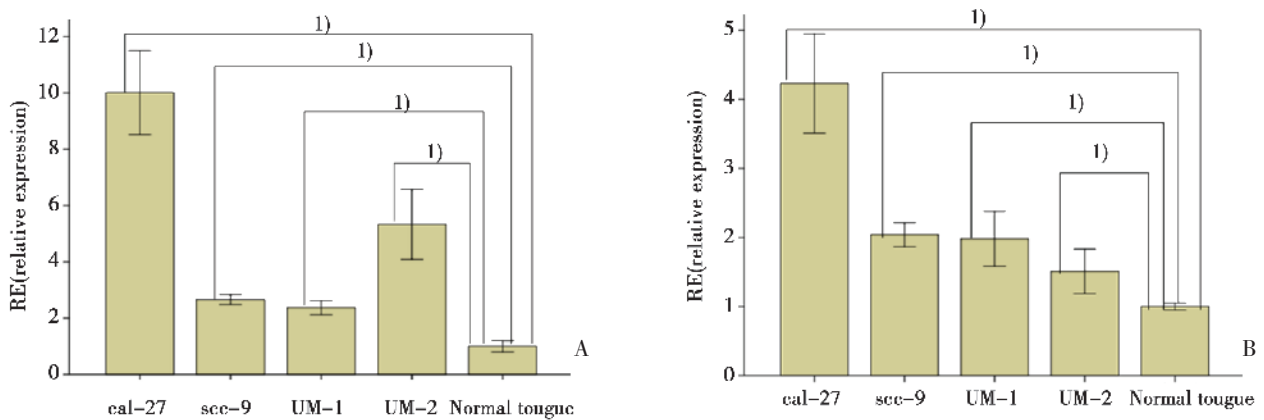


图 1 Realtime-PCR 检测舌鳞癌细胞和正常舌细胞中差异表达的 lncRNA 分子

Fig.1 The lncRNA differentially expressed was confirmed by qRT-PCR

A: The relative expression of uc002ezo in 4 kinds of human tongue squamous carcinoma cell lines was significant different compared with 1 case of normal tongue cell line (1) $P < 0.05$). B: The relative expression of NR_038257.1 in 4 kinds of human tongue squamous carcinoma cell lines was significant different compared with 1 case of normal tongue cell line. 1) $P < 0.05$). error bar: \pm SD.

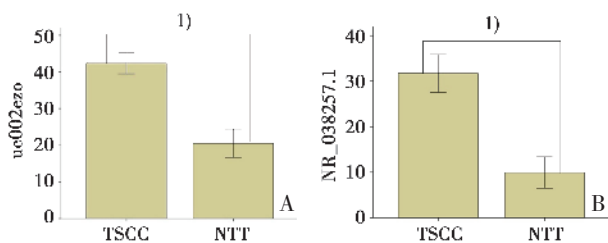


图 2 Realtime-PCR 检测舌鳞癌组织和正常舌组织中差异表达的 lncRNA 分子

Fig.2 The lncRNA differentially expressed was confirmed by qRT-PCR

A: The relative expression of uc002ezo in 35 kinds of tongue squamous cell carcinoma tissues was significant different compared with 12 cases of normal tongue tissue. B: The relative expression of NR_038257.1 in 35 kinds of tongue squamous cell carcinoma tissues was significant different compared with 12 cases of normal tongue tissue. 1) $P < 0.05$. error bar: \pm SD.

用于构建共表达网络, 并将多个基因划分到各个与表型功能相关的子网络中去 (如图 4)。通过分层聚类的方法分析了不同样本间有差异的 lncRNA 表达, 由图可见在正常舌组织和舌鳞癌组织之间存在着差异的 lncRNA, 并能将两者很好的区分。

3 讨 论

自从学者 Schena 等^[12]发表了第一篇关于基

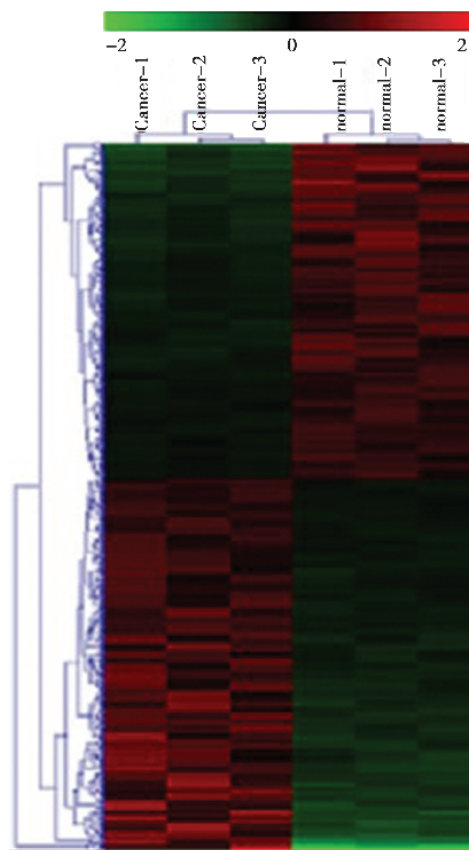


图 3 lncRNA 微阵列芯片检测

Fig.3 differentially expressed lncRNA were analyzed using hierarchical clustering

Hierarchical clustering analysis arrange samples into groups based on their expression level, which allows us to hypothesize the relationships among samples. “Red” indicates high relative expression, and “Green” indicates low relative expression.

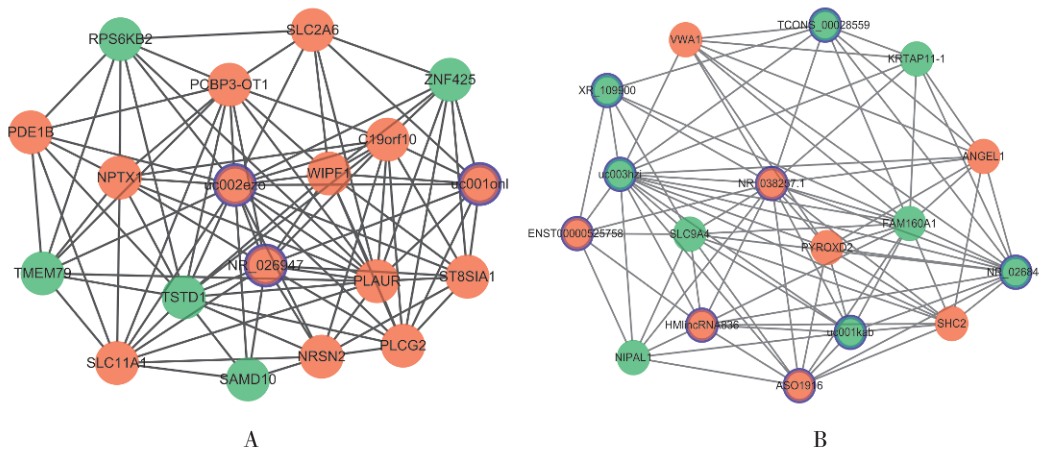


图 4 lncRNA-mRNA 共表达网络调控图

Fig.4 lncRNA-mRNA association network

A: The lncRNA-mRNA association network based on uc002ezo. B: The lncRNA-mRNA association network based on NR_038257.1. Genes in red and green are lncRNA and coding mRNA respectively.

因芯片研究的文章后,基因芯片开始成为研究基因功能的重要工具,尤其是在肿瘤研究领域,对我们研究肿瘤的发病机制、早期诊断和基因靶向治疗具有重要意义。正是因为基因芯片高通量、高效率以及信息量丰富等优势,使得其在肿瘤学的研究中得到广泛应用。2012年学者 Gan 等^[13]利用基因芯片对 6 对肾透明细胞癌组织及其癌旁的正常组织进行检测,筛选标准设定为 $\text{foldchange} > 2, P < 0.05$, 筛选得到差异的 lncRNA 916 个,其中下调的 lncRNA 相对上调的 lncRNA 多。另外,2012 年有学者^[14]对尿毒症患者外周血单核细胞进行芯片检测,实验选择 20 例患者作为实验组,选择 20 例健康人作为对照组,筛选标准设定为 $\text{foldchange} > 4, P < 0.05$, 筛选得到差异的 lncRNA 3740 个,其中上调的 lncRNA 和下调的 lncRNA 数量大致相当。在本实验中芯片共筛选差异表达 lncRNA 3590 条,其中上调的共 1785 条,降低的共 1805 条,因而在后续实验中我们进一步的明确这些差异表达的 lncRNA 在肿瘤发生发展过程中的机制及功能,将可能使得 lncRNA 作为一类肿瘤早期诊断和治疗的靶点,对肿瘤的诊治具有重要意义。

lncRNA 并不直接参与蛋白质的编码,起初一直被认为是基因组转录的“噪音”,是转录的副产物,并不具备生物学功能,但近年来越来越多的研究表明许多 lncRNA 都具有保守的二级结构、剪切形式以及亚细胞定位,这种保守性和特异性表明它们是具有功能的^[15]。另一方面,近年来研究发现,lncRNA 参与了 X 染色体沉默、基因组印记以及染色质修饰、转录激活、转录干扰、核内运输等重要的调控过程,以 RNA 的形式在表观遗传调控、转录调控以及转录后调控等多种层面上调控着基因的表达水平^[16]。随着人类基因组内越来越多的 lncRNA 被鉴定出来,人们发现 lncRNA 所介导的复杂网络调控着数量众多的编码基因,寻找 lncRNA 分子及其靶基因的研究已成为基因调控和肿瘤学研究领域的重要分支和热点。目前在肿瘤学研究中,人们发现 lncRNA 与肝癌、肺癌、乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌等多种肿瘤的发生发展密切相关^[17-20],作为恶性肿瘤最重要生物学特征的侵袭转移是肿瘤患者临床致死的主要原因。近年来越来越多的研究表明 lncRNA 在肿瘤的侵袭、转移中发挥着重要作用,如 MALAT1 促进肺癌细胞的

侵袭转移^[17],HOTAIR 表达水平与乳腺癌的侵袭转移高度相关^[18]。截至目前,关于 lncRNA 与舌鳞癌恶性表型的研究还未见报道,深入探讨参与舌鳞癌发生发展过程中的 lncRNA 及其作用机制具有重要意义。

在本实验中,我们采用的表达谱芯片技术首次在全基因组水平上筛选舌鳞癌差异表达基因,结果也证实得到了大量差异表达基因,有些还可能是参与舌鳞癌发生发展过程的重要基因,说明该方法具有极高的高通量筛选效率。由于 lncRNA 的转录模式很复杂,能够形成多种二级功能结构,因而无法根据核酸序列来预测其生物学功能。而 lncRNA 基因座常定位于编码基因内含子区域,会影响其相邻编码基因的表达,因此,我们通过对差异表达的 mRNA 和 lncRNA 构建共表达网络,并将差异基因划分到各个与表型功能相关的子网络中去^[21],从而可最终大致推断参与构成该子网络的 lncRNA 的功能,预测 lncRNA 可能相关调节机制,在本实验中,我们通过构建基因的共表达网络调控图,发现了部分 lncRNA 如 lncRNAuc002ezo 的可能会调控包括 c19orf10 在内的众多基因,而已有研究表明 c19orf10 能通过 MAPK 信号通路在肿瘤的发生发展过程中发挥着重要作用^[22],这就提示 lncRNA uc002ezo 可能与 MAPK 信号通路有着密切关联,并对舌鳞癌的发生发展发挥着重要作用。通过本实验,有望进一步完善舌鳞癌发生发展的分子调控机制,并为舌鳞癌的诊治提供新的靶点。

今后我们将从前期工作的基础上挑选出部分 lncRNA 进一步研究,探讨这些 lncRNA 在舌鳞癌的生物学进程中的作用机制,并进行功能学验证,在此基础之上,借助于生物信息学工具,预测其相应靶基因,并在体内外进行验证,以期阐明这些差异表达的 lncRNA 在舌鳞癌发生发展过程中的作用,为肿瘤发生发展的分子机制提出新的理念并为肿瘤的诊治提供新的研究策略。

参考文献:

- [1] Scully C, Bagan J. Oral squamous cell carcinoma overview[J]. Oral Oncol, 2009, 45(4/5): 301-308.
- [2] Haddad RI, Shin DM. Recent advances in head and neck cancer[J]. N Engl J Med, 2008, 359(11): 1143-1154.
- [3] 褚洪星, 赵建江, 盘杰, 等. α 亚族趋化因子受体 3

- 在人舌鳞癌细胞株的表达及其配体干扰素诱导蛋白-10对CAL-27细胞增殖和凋亡的影响[J]. 广东牙病防治, 2013, 21(4): 183-188.
- Chu HX, Zhao JJ, Pan J, et al. Chemokine receptor CXCR3 expression in different human tongue squamous cell carcinoma cell lines and the effect of IP-10/CXCL-10 on the proliferation and apoptosis of CAL-27 tongue cancer cells[J]. J Dent Prev Treat, 2013, 21(4): 183-188.
- [4] Dalgliesh GL, Furge K, Greenman C, et al. Systematic sequencing of renal carcinoma reveals inactivation of histone modifying genes [J]. Nature, 2010, 463(7279): 360-363.
- [5] Varela I, Tarpey P, Raine K, et al. Exome sequencing identifies frequent mutation of the SWI/SNF complex gene PBRM1 in renal carcinoma[J]. Nature, 2011, 469(7392): 539-542.
- [6] Van RE, Voest EE, Logister I, et al. Von hippel-lindau tumor suppressor mutants faithfully model pathological hypoxia-driven angiogenesis and vascular retinopathies in zebrafish[J]. Dis Model Mech, 2010, 3(5/6): 343-353.
- [7] Ponting CP, Belgard TG. Transcribed dark matter: meaning or myth? [J]. Hum Mol Genet, 2010, 19(2): 162-168.
- [8] Yang L, Duff MO, Graveley BR, et al. Genomewide characterization of non-polyadenylated RNA [J]. Genome Biol, 2011, 12(2): R16.
- [9] Fossati A, Dolfini D, Donati G, et al. NF-Y recruits Ash2L to impart H3K4 trimethylation on CCAAT promoters[J]. Plos One, 2011, 6(3): e17220.
- [10] Nagano T, Fraser P. No-nonsense functions for long non-coding RNA[J]. Cell, 2011, 145(2): 178-181.
- [11] Beltran M, Puig I, Peña C, et al. A natural antisense transcript regulates Zeb2/Sip1 gene expression during Snail1-induced epithelial-mesenchymal transition [J]. Gen Dev, 2008, 22(6): 756-769.
- [12] Schena M, Shalon D, Davis RW, et al. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray [J]. Science, 1995, 270(5235): 467-470.
- [13] Gan Y, Wei MY, Ji W, et al. LncRNA expression signatures of renal clear cell carcinoma revealed by microarray[J]. Plos One, 2012, 7(8): e42377.
- [14] Sui W, Yan Q, Li H, et al. Genome-wide analysis of long noncoding RNA expression in peripheral blood mononuclear cells of uremia patients [J]. J Nephrol, 2013, 26(4): 731-738.
- [15] Niazi F, Valadkhan S. Computational analysis of functional long noncoding RNA reveals lack of peptide-coding capacity and parallels with 3' UTRs [J]. RNA, 2012, 18(4): 825-843.
- [16] Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNA: insights into functions[J]. Nat Rev Genet, 2009, 10(3): 155-159.
- [17] Lai MC, Yang Z, Zhou L, et al. Long non-coding RNA MALAT-1 overexpression predicts tumor recurrence of hepatocellular carcinoma after liver transplantation [J]. Med Oncol, 2012, 29(3): 1810-1816.
- [18] Schmidt LH, Spieker T, Koschmieder S, et al. The long noncoding MALAT-1 RNA indicates a poor prognosis in non-small cell lung cancer and induces migration and tumor growth[J]. J Thorac Oncol, 2011, 6(12): 1984-1992.
- [19] Augoff K, McCue B, Plow EF, et al. Mir-31 and its host gene lncRNA LOC554202 are regulated by promoter hypermethylation in triple-negative breast cancer [J]. Mol Cancer, 2012, 11: 5-12.
- [20] Gloss BS, Patterson KI, Barton CA, et al. Integrative genome-wide expression and promoter DNA methylation profiling identifies a potential novel panel of ovarian cancer epigenetic biomarkers[J]. Can Lett, 2012, 318(1): 76-85.
- [21] Nayak RR, Kearns M, Spielman RS, et al. Coexpression network based on natural variation in human gene expression reveals gene interactions and functions[J]. Geno Res, 2009, 19(11): 1953-1962.
- [22] Sunagozaka H, Honda M, Yamashita T, et al. Identification of a secretory protein c19orf10 activated in hepatocellular carcinoma[J]. Int J Cancer, 2011, 129(7): 1576-1585.