

引用本文:郭春辉,梁科峰,张小伟.长链非编码RNA LINC00662靶向微小RNA-103a-3p对黑色素瘤细胞增殖和周期的影响[J].安徽医药,2022,26(10):2058-2062.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2022.10.035.



◇临床医学◇

长链非编码RNA LINC00662靶向微小RNA-103a-3p对黑色素瘤细胞增殖和周期的影响

郭春辉¹,梁科峰²,张小伟²

作者单位:¹平煤神马医疗集团总医院皮肤性病科,河南 平顶山 467000;

²平顶山煤业(集团)十二矿医院内科,河南 平顶山 467000

摘要: 目的 探究长链非编码RNA LINC00662对黑色素瘤细胞增殖和周期的影响,以及分子机制。方法 本研究于2018年10月至2020年2月进行。以体外培养的人皮肤黑色素瘤细胞A375为研究对象,然后将其分为四组,分别为si-NC、si-LINC00662、si-LINC00662+anti-miR-NC和si-LINC00662+anti-miR-103a-3p转染A375细胞。采用RT-PCR检测皮肤黑色素瘤组织中LINC00662和miR-103a-3p的表达水平,CCK-8法检测细胞增殖,流式细胞仪检测细胞周期,蛋白质印迹法(western blotting)检测细胞周期蛋白1(CyclinD1)、增殖细胞核抗原(PCNA)的蛋白表达。结果 与正常组织和正常皮肤细胞相比,在皮肤黑色素瘤组织和细胞株中LINC00662表达 $[1.24\pm 0.50$ 比 $4.17\pm 1.27]$ 上调,miR-103a-3p表达 $[1.17\pm 0.32$ 比 $0.64\pm 0.21]$ 显著下调。LINC00662与miR-103a-3p靶向结合。与si-NC组相比,si-LINC00662组LINC00662表达 $[1.00\pm 0.06$ 比 $0.48\pm 0.06]$ 、OD值和S期细胞比例 $[(34.7\pm 3.5)\%$ 比 $(20.5\pm 3.0)\%]$ 降低,G0/G1期细胞比例 $[(57.4\pm 5.2)\%$ 比 $(74.7\pm 4.8)\%]$ 增高,Cyclin D1 $[1.00\pm 0.01$ 比 $0.56\pm 0.06]$ 、PCNA蛋白表达 $[0.99\pm 0.05$ 比 $0.53\pm 0.06]$ 下降。抑制miR-103a-3p表达可以部分恢复沉默LINC00662对黑色素瘤的细胞增殖、周期的影响。结论 长链非编码RNA LINC00662通过靶向负调控miR-103a-3p的表达,抑制皮肤黑色素瘤细胞的增殖,并诱导细胞周期阻滞。

关键词: 黑色素瘤; 长链非编码RNA LINC00662; 微小RNA-103a-3p; 细胞增殖; 细胞周期蛋白D1; 增殖细胞核抗原

Effect of lncRNA LINC00662 targeting microRNA-103a-3p on the proliferation and cell cycle of cutaneous melanoma cells

GUO Chunhui¹, LIANG Kefeng², ZHANG Xiaowei²

Author Affiliations:¹Department of Dermatology, Pingmei Shenma Medical Group General Hospital, Pingdingshan, Henan, 467000, China;²Department of Internal Medicine, No.12 Mine Hospital, Pingdingshan Coal Industry Group, Pingdingshan, Henan, 467000, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of LINC00662 on the proliferation and cell cycle of cutaneous melanoma cells and its potential mechanism. **Methods** The study was conducted from October 2018 to February 2020. Human skin cutaneous melanoma cell line A375 cultured *in vitro* was used as the research object, then it was divided into four groups, and cells were transfected with si-NC, si-LINC00662, si-LINC00662+anti-miR-NC, and si-LINC00662+anti-miR-103a-3p. The expression levels of LINC00662 and miR-103a-3p were detected by RT-PCR, cell proliferation was detected by CCK-8 method, cell cycle was detected by flow cytometry, and the expression of CyclinD1 and PCNA were detected by Western blotting. **Results** Compared with normal tissues and normal skin cells, the expression of LINC00662 $[(1.24\pm 0.50)$ vs. $(4.17\pm 1.27)]$ was significantly up-regulated and the expression of miR-103a-3p $[(1.17\pm 0.32)$ vs. $(0.64\pm 0.21)]$ was significantly down-regulated in skin cutaneous melanoma tissues and cell lines. LINC00662 binded to miR-103a-3p. Compared with si-NC group, the expression of LINC00662 $[(1.00\pm 0.06)$ vs. $(0.48\pm 0.06)]$, OD value and the proportion of cells in S phase $[(34.7\pm 3.5)\%$ vs. $(20.5\pm 3.0)\%]$ were decreased in si-LINC00662 group, the proportion of cells in G0/G1 phase $[(57.4\pm 5.2)\%$ vs. $(74.7\pm 4.8)\%]$ was increased, and the protein expression of Cyclin D1 $[1.00\pm 0.01)$ vs. $(0.56\pm 0.06)]$ and PCNA $[(0.99\pm 0.05)$ vs. $(0.53\pm 0.06)]$ was decreased. Inhibition of miR-103a-3p expression partially restored the effect of LINC00662 on the proliferation and cell cycle of melanoma cells. **Conclusion** LINC00662 negatively regulates the expression of miR-103a-3p, and inhibits skin cutaneous melanoma cell proliferation and induces cell cycle arrest.

Key words: Melanoma; LINC00662; miR-103a-3p; Cell proliferation; Cyclin D1; Proliferating cell nuclear antigen

皮肤黑色素瘤在皮肤恶性肿瘤中排行第三,大约占皮肤癌的10%,具有高侵袭、恶化程度高、预后

差等特点^[1-2]。据报道,在亚洲国家黑色素瘤的发病率远低于欧非国家,而现在中国黑色素瘤新发现的病例以每年约2万例的趋势上升^[3-5]。目前关于黑色素瘤的治疗首选还是以临床外科治疗为主,以延长病人的生存时间^[6]。虽然黑色素瘤在治疗方面取得了较大的进展,但是其发病率和死亡率依然居高不下^[7]。因此,需要寻找与皮肤黑色素治疗相关的新靶标以及分子机制。

大多数研究表明,长链非编码RNA(long non-coding RNAs, lncRNAs)和miRNA(MicroRNAs)在人类疾病的发生和发展中发挥着重要作用^[8-9],且长链非编码RNA可以通过调控miRNA的表达参与癌症细胞的增殖、凋亡、周期和转移等。研究表明,LINC00662在结肠癌^[9]、宫颈癌^[11]、肺癌^[12]、胃癌^[13]等肿瘤中有相关的报道,而在皮肤黑色素瘤中的表达和作用机制研究未见报道。本研究通过生物信息学网站预测了LINC00662的3' UTR存在miR-103a-3p连续的结合位点。有研究表明,miR-103a-3p在肺癌中表达下调,过表达miR-103a-3p能够抑制肺癌细胞的增殖、迁移等^[14]。杨雨澎等^[15]研究表明,过表达miR-103a-3p抑制肝癌细胞的增殖、阻止细胞周期阻滞。关于LINC00662和miR-103a-3p在皮肤黑色素瘤中功能尚不清楚。因此,本研究于2018年10月至2020年2月,以黑色素瘤为研究对象,观察沉默LINC00662、抑制miR-103a-3p对黑色素瘤细胞增殖、周期的影响,为黑色素瘤的治疗提供新的作用靶点。

1 材料与方法

1.1 材料 皮肤黑色素瘤组织及正常组织的样本均从平煤神马医疗集团总医院于2018年10月至2020年2月确诊的26例皮肤黑色素瘤病人中获得,切除后立即存放到液氮中,-80℃保存,直至实验使用。所有病人或其近亲属知情同意,且本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

1.2 试剂与细胞 人皮肤黑色素瘤细胞株A375、A875、B16、SK-MEL-2和HEMa-LP均购自复旦大学细胞库;10%胎牛血清、青霉素、链霉素购自美国Gibco公司;小干扰RNA阴性对照(si-NC)、LINC00662小干扰RNA(si-LINC00662)、miRNA抑制剂阴性对照(anti-miR-NC)和miR-103a-3p抑制剂(anti-miR-103a-3p)购于上海吉玛公司;LipofectamineTM2000试剂盒均购自美国Invitrogen公司;逆转录试剂盒、CCK-8试剂盒、RIPA缓冲液均购自上海碧云天生物科技有限公司;细胞周期蛋白1(Cyclin D1)、增殖细胞核抗原(PCNA)和β-肌动蛋白(β-actin)抗体均自美国Abcam公司。

1.3 细胞培养与转染 将解冻后的人皮肤黑色素瘤细胞株A375、A875、B16、SK-MEL-2和HEMa-LP分别接种于含10%胎牛血清,1×10⁵ U/L青霉素和100 mg/L链霉素于5%二氧化碳37℃条件下培养箱中进行孵育。取对数生长期A375细胞,接种到6孔细胞培养板中,密度为2.5×10⁵,待细胞密度融合至70%~80%时,按照LipofectamineTM2000试剂盒说明书操作,分别将si-NC、si-LINC00662、anti-miR-NC和anti-miR-103a-3p转染至A375细胞。然后随机分四组:si-NC组、si-LINC00662组、si-LINC00662+anti-miR-NC组和si-LINC00662+anti-miR-103a-3p组。转染48 h后,检查转染效率。

1.4 qRT-PCR检测LINC00662和-miR-103a-3p表达水平 按照Trizol法提取各组A375细胞的总RNA,测定浓度和纯度,按照逆转录试剂盒操作步骤进行合成cDNA,按照实时荧光定量PCR试剂盒步骤进行操作。LINC00662正向引物为:5'-TGGA-CATCTGTCTGGAGG-3',反向引物为:5'-GGCTGAG-GCATAAGAATCG-3';β-actin正向引物为:5'-GGGAAATCGTGCGTGACATTAAG-3';反向引物为:5'-TGTGTTGGCGTACAGGTCTTTG-3';miR-103a-3p正向引物为:5'-ACACTCCAGCTGGGAGCAGCATT-GTACAGGG-3',反向引物为:5'-TGGTGTCGCGTG-GAGTCG-3';U6正向引物为:5'-CTCGCTTCG-GCAGCACA-3',反向引物为:5'-AACGCTTCAC-GAATTTGCGT-3'。LINC00662和miR-103a-3p分别以β-actin和U6为内参,采用2^{-ΔΔCt}法计算LINC00662和miR-103a-3p表达水平。

1.5 CCK-8检测细胞增殖 收集A375细胞,制备单细胞悬液,加入到96孔板中,5×10³个/孔,并设置6个重复。分别在培养24 h、48 h、72 h时,每孔加入10 μL CCK-8溶液,孵育4 h。按照CCK-8试剂盒步骤进行操作,使用酶标仪在450 nm下检测光密度(OD)值。

1.6 流式细胞术检测细胞周期 收集转染48 h后的A375细胞,用胰蛋白酶消化细胞,PBS重悬细胞,4℃静置24 h后,离心弃上清,PBS洗涤2次,1 000 μL PBS重悬,转管,室温下Annexin-V-FITC和PI进行染色15 min,流式细胞仪检测细胞周期情况。

1.7 Western blotting检测Cyclin D1、PCNA表达 使用RIPA缓冲液试剂盒提取A375细胞的总蛋白,用BCA法检查蛋白的浓度。经10%SDS-PAGE电泳转移到PVDF膜上。用5%脱脂牛奶封闭2 h,取膜,4℃标记一抗过夜孵育,PBS清洗3次,1 h室温下进行二抗孵育,取膜。PBS清洗3次,加入ECL化学发光液,显色,曝光。计算分析Cyclin D1和PC-

NA蛋白的相对表达量。

1.8 荧光素酶报告基因实验验证靶向关系 将构建的LINC00662-WT(突变型)和LINC00662-MUT(野生型)载体,分别将miR-NC或miR-103a-3p转染到A375细胞。转染48 h后,收集细胞,加入裂解液,离心收集上清,使用双荧光素酶报告基因检查系统检测荧光素酶活性。

1.9 统计学方法 所有试验数据均采用SPSS 21.0和GraphPad Prism 7.0软件进行统计分析与作图,数据表示均为3个独立实验的 $\bar{x} \pm s$,两组间比较通过t检验,多组间比较通过单因素方差分析。通过Pearson分析两组之间的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LINC00662在皮肤黑色素瘤的组织和细胞中的表达 qRT-PCR结果显示,与正常组织 1.24 ± 0.50 相比,皮肤黑色素瘤组织的LINC00662表达 4.17 ± 1.27 ,显著升高($t = 10.95, P < 0.001$),而人皮肤黑色素瘤细胞株A375、A875、B16和SK-MEL-2中的LINC00662的表达量($5.62 \pm 0.43, 5.01 \pm 0.83, 2.94 \pm 0.53, 4.97 \pm 0.43$)均显著高于HEMa-LP细胞 1.00 ± 0.07 ($F = 40.91, P < 0.001$)。

2.2 沉默LINC00662对皮肤黑色素瘤细胞增殖和周期的影响 结果显示,与si-NC组相比,si-LINC00662组的LINC00662表达、细胞增殖水平显著降低(表1)。流式细胞术检测结果显示,相较于si-NC组,si-LINC00662组G0/G1期的细胞比例增多、S期细胞比例减少。

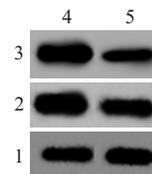
Western blotting检测结果显示,与si-NC组相比,si-LINC00662组的Cyclin D1、PCNA蛋白表达显著降低,见表2,图1。

2.3 miR-103a-3p在黑色素瘤组织和细胞中的表达 qRT-PCR检测显示,与正常组织 1.17 ± 0.32 相比,黑色素瘤组织中的miR-103a-3p为 0.64 ± 0.21 ,明显降低($t = 7.06, P < 0.001$);而人皮肤黑色素瘤细胞株A375、A875、B16和SK-MEL-2的miR-103a-3p的表达水平($0.32 \pm 0.04, 0.38 \pm 0.03, 0.59 \pm 0.10, 0.40 \pm 0.06$)均显著低于HEMa-LP细胞 0.99 ± 0.04 ($F =$

表2 沉默LINC00662对细胞周期和增殖相关蛋白表达的影响/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	G0/G1	S	G2/M	PCNA	Cyclin D1
si-NC	3	57.4±5.2	34.7±3.5	7.8±0.6	0.99±0.05	1.00±0.01
si-LINC00662	3	74.7±4.8	20.5±3.0	7.4±0.5	0.53±0.06	0.56±0.06
t值		4.23	5.34	0.89	10.20	12.53
P值		0.013	<0.001	0.425	0.001	<0.001

注: Cyclin D1为细胞周期蛋白1, PCNA为增殖细胞核抗原。



注: 1— β -肌动蛋白; 2—细胞周期蛋白1; 3—增殖细胞核抗原; 4—si-NC; 5—si-LINC00662。

图1 各组细胞增殖相关蛋白表达

63.25, $P < 0.001$)。

2.4 LINC00662与miR-103a-3p靶向结合 利用在线软件Starbase预测LINC00662与miR-103a-3p靶向结合位点(图2),双荧光素酶报告实验进一步验证其靶向关系,结果显示,miR-103a-3p显著降低了LINC00662-WT的荧光素酶活性,但对LINC00662-MUT的荧光素酶活性无明显影响(表3)。对LINC00662和miR-103a-3p进行相关分析,显示LINC00662和miR-103a-3p负相关。

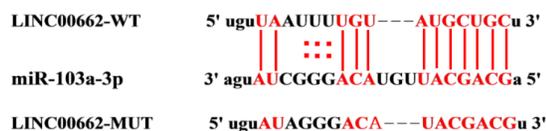


图2 Starbase软件预测LINC00662与miR-103a-3p靶向结合位点

表3 双荧光素酶报告基因实验验证LINC00662与miR-103a-3p靶向关系/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	LINC00662-WT	LINC00662-MUT
miR-NC	3	1.01±0.02	0.99±0.07
miR-103a-3p	3	0.46±0.05	0.99±0.06
t值		17.69	0.00
P值		<0.001	>0.999

表1 沉默LINC00662对细胞增殖的影响/ $\bar{x} \pm s$

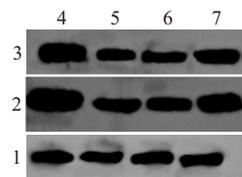
组别	重复次数	LINC00662	OD值			
			0 h	24 h	48 h	72 h
si-NC	3	1.00±0.06	0.29±0.04	0.52±0.03	0.71±0.05	0.84±0.04
si-LINC00662	3	0.48±0.06	0.28±0.04	0.38±0.04	0.50±0.08	0.59±0.07
t值		10.61	0.31	4.85	3.86	5.37
P值		<0.001	0.775	0.008	0.018	0.006

2.5 抑制 miR-103a-3p 部分回复了沉默 LINC00662 对皮肤黑色素瘤细胞增殖和周期的影响

qRT-PCR 结果显示, si-LINC00662 组的 miR-103a-3p 的表达明显高于 si-NC 组(表 4)。与 si-LINC00662+anti-miR-NC 相比, si-LINC00662+anti-miR-103a-3p 组的 miR-103a-3p 表达降低、G0/G1 期细胞比例减少, 细胞增殖水平升高、S 期细胞比例增加以及 Cyclin D1、PCNA 蛋白表达也明显升高(图 3, 表 5)。

3 讨论

皮肤黑色素瘤是由黑色素细胞中的黑色素生成的, 是一种常见的恶性皮肤肿瘤, 处于晚期的皮肤黑色素病人, 目前尚无有效的治疗途径^[16]。lncRNA 在恶性黑色素瘤的细胞功能研究中起着至关重要的作用。有研究表明, 抑制 lncRNA TUG1 表达能以抑制黑色素瘤细胞生长^[17]。袁春蓉、刘勇宁^[18]研究表明, SNHG3 通过调节 miR-186-5p, 抑制黑色素瘤的生长。lncRNA-MEG3 在黑色素瘤组织和细胞中表达下调, 与不良的预后显著相关, 通过 miR-499-5p 的过表达抑制了黑色素瘤细胞的增殖和细胞周期阻滞^[9], 这与前人的研究结果^[18]相反。LINC00662 作为新发现 lncRNA, 有研究表明, 通过 LINC00662 在前列腺细胞表达上调, 可促进细胞的增殖^[20]。王君莲等^[11]研究表明, LINC00662 通过 miR-409-5p 在宫颈癌中发挥着致癌作用。LINC00662 在结肠癌中表达上调, 高表达 LINC00662 通过上调 miR-340-5p 的表达, 抑制结肠癌细胞的生长^[21]。以



注: 1— β -肌动蛋白; 2—细胞周期蛋白 1; 3—增殖细胞核抗原; 4—si-NC; 5—si-LINC00662; 6—si-LINC00662+anti-miR-NC; 7—si-LINC00662+anti-miR-103a-3p。

图 3 各组细胞增殖相关蛋白表达

上研究表明 LINC00662 在癌症中发挥着重要作用。

本研究结果表明, 与正常组织和皮肤黑色素瘤细胞, 通过检测 LINC00662 表达量, 发现皮肤黑色素瘤组织和细胞中高表达, 表明 LINC00662 可能在皮肤黑色素瘤组织中发挥着一定的作用。进一步研究表明, 沉默 LINC00662 的表达, 与 si-NC 组相比, LINC00662 表达水平降低, 细胞增殖受到抑制, 细胞 G0/G1 期的细胞比例增多、S 期细胞比例减少, 与增殖、周期相关蛋白 Cyclin D1、PCNA 表达水平降低。lncRNA 可以海绵吸附下游的 miRNA, 调控 miRNA 的表达进而影响肿瘤的发生与发展^[22]。有研究表明, AGAP2-AS1 通过调节下游 miR-16-5p, 促进肝癌的转移和复发^[23]。为了进一步探究 LINC00662 在皮肤黑色素瘤中调控的下游靶基因, 本研究通过在线预测软件和双荧光素酶实验验证了 LINC00662 与 miR-103a-3p 可以靶向结合, 且呈负相关。有研究表明, LINC00662 靶向调控 miR-497-5p 表达, 抑制 LINC00662 的表达可以抑制结直肠癌细胞生长, 阻

表 4 抑制 miR-103a-3p 逆转了沉默 LINC00662 对细胞的增殖作用/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	miR-103a-3p	OD 值			
			0 h	24 h	48 h	72 h
si-NC	3	1.00±0.06	0.33±0.02	0.54±0.06	0.74±0.03	0.93±0.03
si-LINC00662	3	1.83±0.20 ^①	0.31±0.05	0.40±0.05	0.52±0.03 ^①	0.58±0.06 ^①
si-LINC00662+anti-miR-NC	3	1.86±0.07	0.28±0.04	0.42±0.05	0.55±0.05	0.64±0.05
si-LINC00662+anti-miR-103a-3p	3	1.33±0.07 ^②	0.31±0.04	0.47±0.05	0.68±0.05 ^②	0.78±0.05 ^②
F 值		38.75	0.84	4.21	19.34	30.77
P 值		<0.001	0.511	0.046	0.001	<0.001

注: ①与 si-NC 组比较, $P < 0.05$ 。②与 si-LINC00662+anti-miR-NC 组比较, $P < 0.05$ 。

表 5 抑制 miR-103a-3p 逆转了沉默 LINC00662 对细胞周期和增殖相关蛋白表达的作用/ $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	G0/G1	S	G2/M	PCNA	Cyclin D1
si-NC	3	55.8±2.4	36.2±2.5	8.0±0.6	1.00±0.05	0.99±0.06
si-LINC00662	3	70.1±3.2 ^①	21.8±2.8 ^①	8.1±0.8	0.51±0.05 ^①	0.52±0.01 ^①
si-LINC00662+anti-miR-NC	3	71.1±4.1	21.5±2.5	7.4±1.1	0.48±0.06	0.51±0.07
si-LINC00662+anti-miR-103a-3p	3	59.2±1.8 ^②	32.7±3.0 ^②	8.0±0.5	0.69±0.08 ^②	0.73±0.05 ^②
F 值		19.74	23.18	0.50	45.60	55.09
P 值		<0.001	<0.001	0.693	<0.001	<0.001

注: PCNA 为增殖细胞核抗原, Cyclin D1 为细胞周期蛋白 1。

①与 si-NC 组比较, $P < 0.05$ 。②与 si-LINC00662+anti-miR-NC 组比较, $P < 0.05$ 。

滞细胞周期^[24]。在骨肉瘤的研究中, LINC00662 表达上调, 通过干扰 LINC00662 调控 miR-15a-5p 对骨肉瘤细胞的增殖、迁移等^[25]。miR-103a-3p, 也可称为 miR-103, 可以调节肿瘤细胞分子机制, 如增殖、凋亡、周期等^[26-27]。有研究表明, 过表达 miR-103a-3p 可以抑制甲状腺癌细胞、肺癌细胞的生长和转移^[14, 28]。本研究结果发现, 与正常组织和皮肤黑色素细胞, miR-103a-3p 在皮肤黑色素瘤组织和细胞株中的表达下调, 这与多人的研究结果一致, 在此证实了 miR-103a-3p 在癌症中的抑癌作用。进一步实验证明, 抑制 miR-103a-3p 可以逆转沉默 LINC00662 对皮肤黑色素瘤细胞的增殖、周期的影响, 说明 LINC00662 可以通过调控 miR-103a-3p 的表达进而影响皮肤黑色素瘤中的作用。

综上所述, 沉默 lncRNA LINC00662 的表达可以抑制皮肤黑色素瘤的增殖, 以及细胞周期阻滞, 其机制可能与 miR-103a-3p 有关, 为皮肤黑色素的靶向治疗提供合理依据。

参考文献

- [1] VOLPE VO, KLUFAS DM, HEGDE U, et al. The new paradigm of systemic therapies for metastatic melanoma [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2017, 77(2): 356-368.
- [2] RIGEL DS. Trends in dermatology: melanoma incidence [J]. *Arch Dermatol*, 2010, 146(3): 318.
- [3] 刘杰, 朱丽萍, 杨旭丽, 等. 2014年中国皮肤黑色素瘤发病与死亡分析[J]. *中国肿瘤*, 2018, 27(4): 241-245.
- [4] MATSON VF, ESSLER J, BAO R, et al. The commensal microbiome is associated with anti-PD-1 efficacy in metastatic melanoma patients [J]. *Science*, 2018, 359(6371): 104-108.
- [5] 杨凌舸, 王春萌. 恶性黑色素瘤免疫治疗现状与进展[J]. *中国肿瘤*, 2018, 27(1): 54-60.
- [6] 代强, 孙允洲, 王帅道, 等. 皮肤恶性黑色素瘤的治疗进展 [J]. *医学综述*, 2020, 26(15): 2982-2985, 2991.
- [7] CHOW P, ANGULO P, ADKINS KK. Current therapy for advanced melanoma and a look at future signaling pathways to target [J]. *SKIN The Journal of Cutaneous Medicine*, 2018, 2(4): 224-235.
- [8] ESTELLER M. Non-coding RNAs in human disease [J]. *Nat Rev Genet*, 2011, 12(12): 861-874.
- [9] LONG J, MENGGEN Q, WUREN Q, et al. Long noncoding RNA taurine-upregulated gene1 (TUG1) promotes tumor growth and metastasis through TUG1/Mir-129-5p/astrocyte-elevated gene-1 (AEG-1) axis in malignant melanoma [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 1547-1559.
- [10] 何冬梅, 张涓. RNA干涉及其在肿瘤研究中的应用 [J]. *暨南大学学报(自然科学与医学版)*, 2004, 24(6): 729-733.
- [11] 王君莲, 宋晓晖, 吴波, 等. 长链非编码 RNA LINC00662 通过调控 miR-409-5p 对宫颈癌细胞增殖和侵袭的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2019, 35(13): 2120-2124.
- [12] LIU Z, YAO YY, HUANG SS, et al. LINC00662 promotes gastric cancer cell growth by modulating the Hippo-YAP1 pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 505(3): 843-849.
- [13] GAO YL, ZHAO ZS, ZHANG MY, et al. Long noncoding RNA PVT1 facilitates cervical cancer progression via negative regulating of miR-424 [J]. *Oncol Res*, 2017, 25(8): 1391-1398.
- [14] 徐鑫鑫, 林兰, 王旭东, 等. miR-103a-3p 对肺癌 A549 细胞增殖、迁移和侵袭的影响 [J]. *临床检验杂志*, 2018, 36(8): 583-588.
- [15] 杨雨澎, 杨志, 李晓冬. miR-103a-3p 通过调控 FEZF1/CDC25A 途径影响肝癌细胞的增殖和凋亡 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(11): 1158-1163.
- [16] TSAO H, CHIN L, GARRSWAY LA, et al. Melanoma: from mutations to medicine [J]. *Genes Dev*, 2012, 26(11): 1131-1155.
- [17] WU LC, ZHU LF, LI YC, et al. LncRNA MEG3 promotes melanoma growth, metastasis and formation through modulating miR-21/E-cadherin axis [J/OL]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 12. DOI: 10.1186/s12935-019-10874-4.
- [18] 袁春蓉, 刘勇宁. 长链非编码 RNA SNHG3 通过靶向调节 miR-186-5p 调控 WNT5A 对黑色素瘤增殖和侵袭的影响 [J]. *肿瘤药理学*, 2020, 10(3): 304-312.
- [19] 周英丽, 张少君, 王渭玲, 等. 长链非编码 RNA FEZF1-AS1 靶向 miR-4443 促进非黑色素瘤皮肤癌转移 [J]. *中国中西医结合皮肤性病学期刊*, 2019, 18(6): 562-566.
- [20] 姚志峰, 潘志尧, 姚毅文, 等. 长链非编码 RNA Linc00662 促进前列腺癌细胞生长的研究 [J]. *中华男科学杂志*, 2020, 26(7): 588-594.
- [21] CHENG B, RONG AM, ZHOU QB, et al. LncRNA LINC00662 promotes colon cancer tumor growth and metastasis by competitively binding with miR-340-5p to regulate CLDN8/IL22 co-expression and activating ERK signaling pathway [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 5-26.
- [22] HAO NB, HE YF, LI XQ, et al. The role of miRNA and lncRNA in gastric cancer [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(46): 81572-81582.
- [23] WANG HM, YU MY, HU WX, et al. Linc00662 promotes tumorigenesis and progression by regulating miR-497-5p/AVL9 axis in colorectal cancer [J]. *Front Genet*, 2019, 10: 1385-1398. DOI: 10.3389/fgene.2019.01385.
- [24] LIU ZK, WANG YF, WANG L, et al. Long non-coding RNA AGAP2-AS1, functioning as a competitive endogenous RNA, up-regulates ANXA11 expression by sponging miR-16-5p and promotes proliferation and metastasis in hepatocellular carcinoma [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 194-209.
- [25] LIU SH, MENG XH. LINC00662 Long non-coding RNA knock-down attenuates the proliferation, migration, and invasion of osteosarcoma cells by regulating the microRNA-15a-5p/Notch2 Axis [J]. *Onco Targets Ther*, 2020, 13: 7517-7530. DOI: 10.2147/OTT.S256464.
- [26] 郭秀珍, 高斌礼, 郭文, 等. LncRNA FGD5-AS1 靶向 miR-103a-3p 对 IL-1 β 诱导的关节软骨细胞凋亡的机制研究 [J]. *中国骨质疏松杂志*, 2020, 26(6): 832-837.
- [27] 黄耿, 叶志华, 付金伦, 等. miR-103b 通过激活 P21 蛋白的表达对肾癌细胞生长的影响 [J]. *国际外科学杂志*, 2018, 45(1): 20-24.
- [28] 刘兵雄, 李学刚. MiR-103a-3p 靶向 FLOT2 调控甲状腺癌细胞增殖、凋亡的分子机制 [J]. *临床与病理杂志*, 2020, 40(7): 1668-1675.

(收稿日期: 2020-10-23, 修回日期: 2021-01-06)