

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202005003

· 鼻咽癌专栏 ·

沉默变异性浆细胞瘤异位1抑制鼻咽癌细胞增殖作用的机制研究

万仁强¹, 翁泽平², 师小径¹, 裴娜娜²

(1. 广东省第二人民医院耳鼻咽喉头颈外科, 广东 广州 510317; 2. 暨南大学附属第一医院 病理科, 广东 广州 510630)

摘要: **目的** 探讨变异性浆细胞瘤异位1(plasmacyto-mavarianttranslocation1, PVT1)抑制鼻咽癌细胞增殖的分子机制。**方法** 构建特异性的shRNA PVT1慢病毒载体,包装慢病毒(LV/shRNA PVT1)并转导鼻咽癌C666-1细胞,检测Smad4的表达;LV/shRNA PVT1转导C666-1细胞24h后转染Smad4 siRNA,通过细胞计数、四甲基偶氮唑蓝(MTT)法及流式细胞术分析沉默Smad4对LV/shRNA PVT1介导的鼻咽癌细胞生长及细胞周期的影响,并检测细胞周期相关调控因子的表达。**结果** 下调PVT1后鼻咽癌细胞中Smad4的表达升高,而用siRNA沉默Smad4表达后,结果显示,抑制Smad4表达可阻断LV/shRNA PVT1介导的细胞生长抑制效应,同时细胞周期结果显示,与对照组相比,shRNA PVT1/Smad4 siRNA组细胞G1期比例降低,S期和G2期比例升高,并且CDK4、CDK6及c-myc的mRNA水平升高。**结论** 下调PVT1可抑制鼻咽癌细胞增殖,并升高Smad4的表达,沉默Smad4可阻断shRNA PVT1对鼻咽癌细胞增殖的抑制效应;提示Smad4可能是PVT1作用的一个下游靶基因,下调PVT1可能通过Smad4抑制鼻咽癌细胞增殖。

关键词: 鼻咽癌;变异性浆细胞瘤异位1;Smad4;细胞增殖;细胞周期
中图分类号:R739.63

The mechanisms of PVT1 downregulation on the cell proliferation of nasopharyngeal carcinoma

WAN Renqiang¹, WENG Zeping², SHI Xiaojing¹, PEI Nana²

(1. Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Guangdong Second Provincial General Hospital, Guangzhou 510317, China; 2. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China)

Abstract: **Objective** To investigate the molecular mechanisms of plasmacytoma variant translocation 1 (PVT1) downregulation on the cell proliferation of nasopharyngeal carcinoma (NPC). **Methods** Recombinant lentivirus that encoded PVT1 shRNA (LV/shRNA PVT1) was prepared. The NPC C666-1 cells were transduced with LV/shRNA PVT1 and then the expression of Smad4 was detected. Twenty-four hours after transduction, the C666-1 cells were transfected with Smad4 siRNA or control siRNA following the manufacturer's protocol. And then cytometry, tetramethylazololam (MTT) method, and flow cytometry were adopted to detect the effects of silence of Smad4 on the cell growth and cell cycle of PVT1-induced C666-1 cells as well as the expressions of cell cycle regulators. **Results** The PVT1 expression was reduced while the Smad4 expression was increased after LV/shRNA PVT1 transduction. Transfection of Smad4 siRNA into C666-1 cells reduced the level of Smad4 expression and caused a significant blockage on the downregulation of PVT1-induced cell growth inhibition. Compared with the control cells, the number of S and G2-phase cells was significantly increased and that of G1-phase cells was reduced with significant increase in the expression of CDK4, CDK6 and c-myc in the PVT1-induced C666-1 cells. **Conclusion** Downregulation of PVT1 can inhibit the cell growth and increase the expression of Smad4. Silence of Smad4 may block the PVT1-induced cell growth inhibition. All these suggest that Smad4 maybe a downstream target gene of PVT1 and down-regulation of PVT1 expression may inhibit the cell growth via Smad4.

Keywords: Nasopharyngeal carcinoma; PVT1; Smad4; Cell proliferation; Cell cycle

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(81702688);广东省医学科学技术研究基金项目(A2018351,A2017126);广东省第二人民医院青年基金(YQ2017-004)。

第一作者简介:万仁强,男,硕士,主治医师。

通信作者:裴娜娜,Email: peinana1@163.com

研究发现, 变异性浆细胞瘤异位 1 (plasmacytoma variant translocation 1, PVT1) 在多种肿瘤中发挥致癌作用, PVT1 在非小细胞肺癌、肠癌和胃癌中高表达^[1-3], 并且其表达水平与肠癌、肺癌及乳腺癌患者的预后相关^[4-6]; 另有研究显示, PVT1 在鼻咽癌组织中的表达升高^[7-8], 我们前期研究显示, PVT1 在鼻咽癌细胞中高表达^[9]。过表达 PVT1 可促进非小细胞肺癌细胞的增殖^[10], 并且通过诱导上皮间质转化 (epithelial mesenchymal transition, EMT) 促进食管癌的侵袭^[11], 而沉默 PVT1 可抑制胰腺癌、结肠癌细胞增殖及 EMT, 其机制可能与 TGF- β /Smad 信号通路相关^[12-13]。在我们前期研究中显示, 用 siRNA 沉默 PVT1 的表达可抑制鼻咽癌 C666-1 细胞的增殖、迁移及 EMT^[9], 但是机制尚未阐明。因此, 在本研究中, 我们将初步探讨下调 PVT1 抑制鼻咽癌细胞增殖作用的分子机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株和主要试剂 鼻咽癌细胞 C666-1 购买自中科院上海细胞库; 总 RNA 提取试剂盒 Rneasy Plus Universal MiNi Kit、荧光定量 PCR 试剂盒 Quantinova SYBR Green PCR Kit 均购自 Qiagen 公司; 逆转录试剂盒 PrimeScriptTM RT Reagent Kit 购自 TakaRa 公司; 0.25% 胰蛋白酶溶液、RPMI-1640 培养基和胎牛血清均购自 Gibco 公司; Smad4 和 β -actin 一抗购自 Santa Cruz 公司; LipofectamineTM 2000 试剂购自 Invitrogen 公司; 噻唑蓝 (MTT) 和磷酸钙法细胞转染试剂盒均购自碧云天公司; 携带绿色荧光蛋白 GFP 的第二代慢病毒包装系统 (pLVTHM、psPAX2、pMD2. G) 购自赛默飞公司; 细胞周期检测试剂盒购自凯基公司。

1.1.2 siRNA 的设计 采用 Clontech 公司的在线设计软件设计靶向 Smad4 基因的 siRNA, siRNA 的序列为 5'-GCCCUAUUGUUACUGUUGAUGGAUA-3'。以上引物由上海英骏生物技术投限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人鼻咽癌 C666-1 细胞置于 RPMI-1640 培养基 (含 10% 胎牛血清) 中, 于 37 °C、5% CO₂、饱和湿度的培养箱中培养。

1.2.2 病毒包装及浓缩 HEK293T 对数期细胞接种于 10 cm 的细胞培养皿中, 50% ~ 60% 融合度时, 将慢病毒载体质粒 (pLVTHM 及带有目的片段的

pLVTHM/shRNA PVT1) 与辅助质粒 (psPAX2 质粒与 pMD2. G 质粒) 共转染, 依磷酸钙法细胞转染试剂盒操作说明, 包装慢病毒 LV/Control 和 LV/shRNA PVT1。转染后 6 ~ 12 h 换液, 48 ~ 72 h 后观察绿色荧光蛋白表达情况并收集病毒上清, 8 000 rpm、4 °C 离心 30 min 去除细胞及其碎片, 收集上清并进一步超速离心 (19 500 rpm、20 °C 3 h), 用适量 PBS 重悬沉淀 (即病毒), 分装后 -80 °C 保存。

1.2.3 荧光定量 RT-PCR 检测 Smad4 的表达 依总 RNA 提取试剂盒提取慢病毒 LV/shRNA PVT1 感染的 C666-1 细胞中总 RNA, 并逆转录为 cDNA, -80 °C 保存。荧光定量 RT-PCR 检测 PVT1 和 Smad4 的相对表达。qPCR 的反应条件: 95 °C 15 min, 95 °C 5 s, 60 °C 45 s, 共 40 个循环, 最后 72 °C 延伸 10 min。PVT1 上游引物 5'-GTCTTGGTGCTCTGTGTC-3', 下游引物 5'-CCCGTTATTCTGTCCTTCT-3'; Smad4 上游引物 5'-TGGCCTGTTTCAATGAGCTT-3', 下游引物 5'-ACCAATACTCAGGAGCAGGATGA-3'。

1.2.4 细胞转染及 RT-PCR 检测 慢病毒 LV/shRNA PVT1 感染 C666-1 细胞 24 h 后用 LipofectamineTM 2000 转染试剂盒转染 Smad4 及对照 siRNA, 48 h 后收集细胞 (实验组细胞 shRNA PVT1/Smad4 siRNA; 对照组细胞 shRNA PVT1/Control siRNA), 提取总 RNA 并逆转录为 cDNA, RT-PCR 检测 Smad4 的表达。

1.2.5 细胞生长曲线测定 C666-1 细胞生长至对数生长期, 胰酶消化并计数细胞, 铺 12 孔板 (重复 3 孔), 1 × 10⁴ 个细胞/孔, 慢病毒 LV/shRNA PVT1 感染细胞 24 h 后转染 Smad4 及对照 siRNA, 分别在转染 siRNA 后 24、48、72、96 h 行细胞计数, 取均值绘制细胞的生长曲线。

1.2.6 MTT 比色实验 C666-1 细胞生长至对数期, 铺至 96 孔板内 (重复 5 孔), 1 × 10³ 个细胞/孔, 慢病毒转导细胞 24 h 后转染 siRNA, 分别继续培养 24、48、72、96 h 后弃培养基, 每孔加入 MTT 20 μ L (5 mg/mL), 37 °C 继续培养 4 h 后终止培养, 加入 150 μ L 二甲基亚砷 (DMSO) 溶液, 酶标仪 570 nm 处测各孔吸光度 (OD) 值, 取均值绘制细胞的增殖曲线。

1.2.7 细胞周期检测 对数期生长的实验组细胞和对照组细胞的细胞, 用 0.25% 胰蛋白酶消化并收集细胞, 置于冰 PBS 中洗涤, 并用 75% 冰乙醇振荡混匀, 4 °C 过夜固定后洗涤离心细胞, PBS 重悬细胞, 加 RNA 水解酶 37 °C 水浴 30 min, 之后碘化丙啶

(PI)室温避光孵育 30 min 至 1 h,流式检测结果。

1.2.8 细胞周期相关调控因子检测 提取两组细胞的总 RNA,以 GAPDH 作为内对照,利用荧光定量 PCR 检测 CDK2、CDK4、CDK6、p14、p16、p21、p53、c-myc 及 pRb 等基因的 mRNA 表达变化,引物序列详见表 1。反应条件:热启动 95℃ 30 s;变性 95℃ 5 s,退火延伸 60℃ 60 s,共 40 循环次数。

表 1 荧光定量 RT-PCR 引物序列

引物名称	引物序列
CDK2	上游:5'-TTCTGCCATTCTCATCGG-3'; 下游:5'-ATGGGTGTAAGTACGAACAGG-3'
CDK4	上游:5'-TTCGTGAGGTGGCTTTACTG-3'; 下游:5'-GATATGTCCTTAGGCTCTGGT CT-3'
CDK6	上游:5'-CTCCGAGGTCTGGACTTTCT-3'; 下游:5'-TGCTCTGTACCACAGCGTGA-3'
p14	上游:5'-GTGGTCCCAGTCTGCAGTTAAG-3'; 下游:5'-CATCATCATGACCTGGTCTTCTAGG-3'
p16	上游:5'-ACCGAATACTTTACGGTCGGAGG-3'; 下游:5'-CATCATCATGACCTGGTCTTCTAGG-3'
p21	上游:5'-GGCAGACCAGCATGACAGATT-3'; 下游:5'-GCGGATTAGGCTTCTCTCT-3'
p53	上游:5'-GAAATTTGCGTGTGGAGTATTTG-3'; 下游:5'-GTTCCGTCGCCAGTAGATTACCAC-3'
c-myc	上游:5'-GGACGACGAGACCTTCATCAA-3'; 下游:5'-CCAGCTTCTCTGAGACGAGCTT-3'
pRb	上游:5'-GCAGTATGCTTCCACCAGGC-3'; 下游:5'-AAGGGCTTCGAGGAATGTGAG-3'
GAPDH	上游:5'-GGTGAAGGTCGGAGTCAACGGA-3'; 下游:5'-GTCATGGATGACCTTGCCAG G-3'

1.2.9 统计学方法 用 SPSS 21.0 统计软件分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采取两样本 *t* 检验的统计学方法, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 慢病毒感染后 PVT1 及 Smad4 的表达

通过磷酸钙-DNA 沉淀法包装慢病毒,病毒浓缩感染细胞后行滴度检测,LV/Control 和 LV/shRNA PVT1 两组病毒滴度均在 107 ~ 108 TU/mL。将浓缩后的病毒感染 C666-1 细胞,细胞生长受抑,24 h 后 LV/shRNA PVT1 细胞的 OD 值为 0.17 ± 0.04 ,LV/Control 组细胞的 OD 值为 0.19 ± 0.03 ,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),慢病毒转导 48、72、96 h 后,LV/shRNA PVT1 组细胞的 OD 值分别为 (0.33 ± 0.04)、(0.57 ± 0.06)、(0.93 ± 0.07),LV/Control 组细胞的 OD 值为 (0.43 ± 0.06)、(0.81 ± 0.07)、(1.31 ± 0.11),差异均具有统计学意义

($P < 0.05$),并且 PVT1 的表达较对照组下降,同时 Smad4 的表达升高(图 1)。

2.2 转染 Smad4 siRNA 后 Smad4 的表达

慢病毒 LV/shRNA PVT1 感染 C666-1 细胞 24 h 后转染 Smad4 siRNA,实时定量 PCR 结果显示,转染 Smad4 siRNA 48 h 后 Smad4 的相对表达量显著降低(图 2)。

2.3 沉默 Smad4 对 LV/shRNA PVT1 介导的鼻咽癌细胞生长的影响

细胞计数:LV/shRNA PVT1 感染 C666-1 细胞 24 h 后转染 Smad4 siRNA 及对照 siRNA,在转染 siRNA 后 1 ~ 4 d 的细胞计数结果显示,在 48、72、96 h 的实验组细胞数较对照组明显增加(图 3A)。

细胞增殖率检测:MTT 结果显示,LV/shRNA PVT1 感染 C666-1 细胞 24 h 后转染 Smad4 siRNA 及对照 siRNA,24 h 后实验组细胞的 OD 值为 0.27 ± 0.05 ,对照组细胞的 OD 值为 0.23 ± 0.06 ,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),转染 48、72、96 h 后,Smad4 siRNA 组细胞的 OD 值分别为 (0.60 ± 0.04)、(0.87 ± 0.10)、(1.30 ± 0.15),对照组细胞的 OD 值为 (0.43 ± 0.09)、(0.67 ± 0.06)、(0.91 ± 0.11),差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$),见图 3B。

2.4 沉默 Smad4 对 LV/shRNA PVT1 介导的细胞周期分布的影响

抑制 Smad4 的表达可显著影响 LV/shRNA PVT1 介导的鼻咽癌细胞周期分布(图 4),G1 期比例由 (89.16 ± 2.64)% 降低到 (50.23 ± 4.26)%,S 期与 G2 期比例分别由 (6.56 ± 1.40)%、(8.34 ± 1.23)% 升高到 (30.34 ± 2.10)%、(22.23 ± 1.14)%。

2.5 沉默 Smad4 对 LV/shRNA PVT1 介导的细胞周期调控因子表达的影响

应用荧光定量 RT-PCR 法检测多种细胞周期调控因子的表达,结果显示,Smad4 siRNA 转染后,CDK4、CDK6 及 c-myc 的 mRNA 水平升高(图 5)。

3 讨论

鼻咽癌是我国南方及东南亚地区常见的一种恶性肿瘤,其恶性程度高,早期极易发生淋巴结转移,且发生部位较为隐蔽,致使 60% 以上的鼻咽癌患者由于在早期无明显症状很容易被忽视而发展到高级阶段。究其原因,主要是其发病机制尚不完全明确,尚未明确调控鼻咽癌发生发展过程中的关键分子,缺少有效的抗肿瘤靶点。

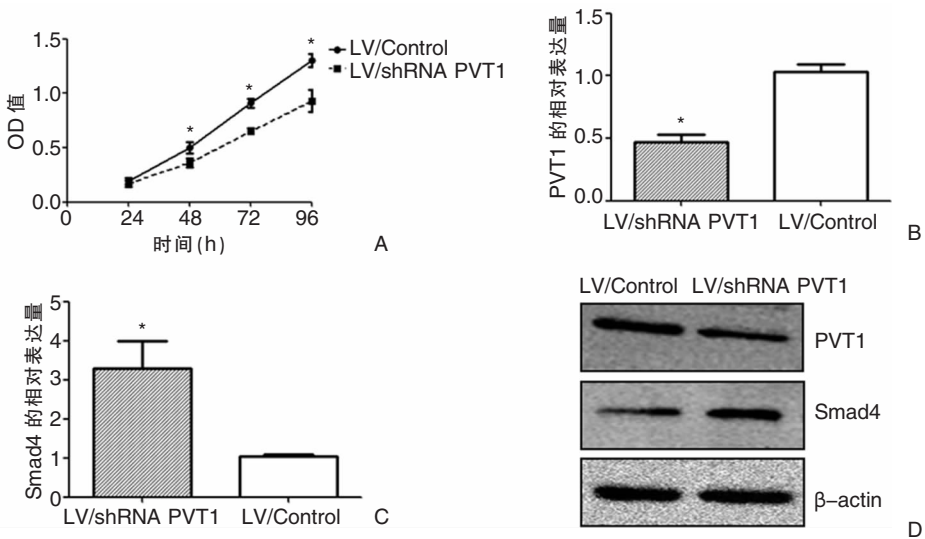


图1 慢病毒感染后 PVT1 及 Smad4 的表达 A: LV/shRNA PVT1 抑制 C666-1 细胞生长; B: PVT1 表达降低; C、D: LV/shRNA PVT1 转导细胞后 PVT1 表达降低, Smad4 的表达的升高

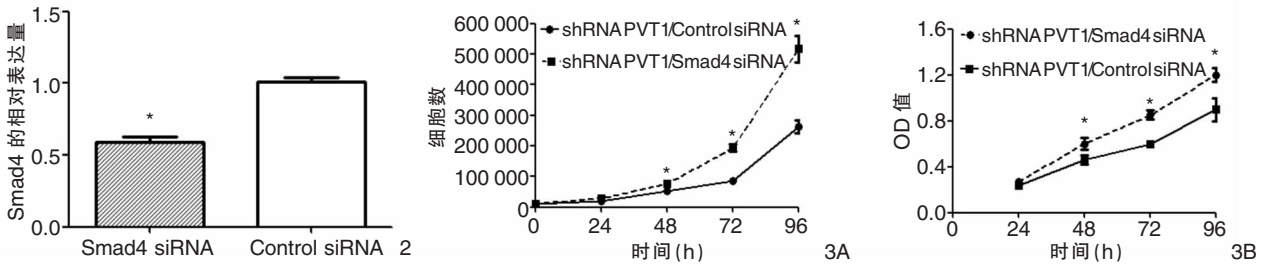


图2 转染 Smad4 siRNA 显示 Smad4 的表达降低 图3 Smad4 siRNA 对 LV/shRNA PVT1 介导的鼻咽癌细胞生长的影响 3A: 细胞计数结果; 3B: MTT 结果

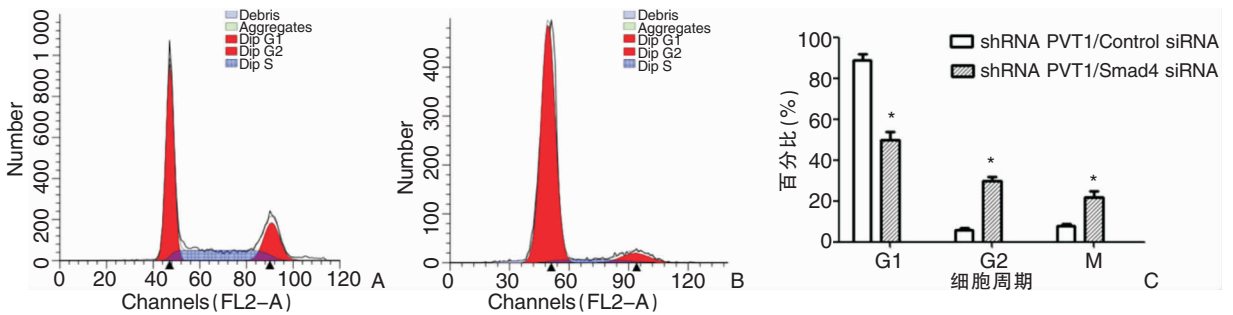


图4 沉默 Smad4 对 LV/shRNA PVT1 介导的鼻咽癌细胞细胞周期的影响 A: LV/shRNA PVT1 + Smad4 siRNA; B: LV/shRNA PVT1 + Control siRNA; C: 细胞周期分布

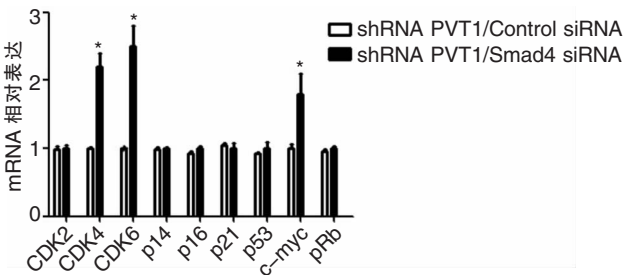


图5 Smad4 siRNA 对 LV/shRNA PVT1 介导的细胞周期调控因子的影响

研究发现, PVT1 在多种肿瘤中发挥着癌基因的作用, PVT1 可通过 STAT3/VEGFA 途径促进胃癌的血管生成, 促进癌细胞的增殖及肿瘤的生长^[14], PVT1 可促进卵巢癌细胞增殖并且抑制细胞凋亡^[15], 高表达 PVT1 可促进肝癌细胞迁移^[16], 但是, 降低 PVT1 的表达通过 microRNA-3666 降低 Sirtuin 7 的表达抑制肝癌细胞的生^[17], 同时, 降低 PVT1 可通过 microRNA-149 抑制食管癌细胞生长和迁移^[18]。这

些研究与我们在鼻咽癌中的研究结果相一致,然而,目前国内外关于PVT1在鼻咽癌中作用机制的研究还比较少,因此,本研究将重点探讨其在鼻咽癌中作用的分子机制。

Smad4是一个抑癌基因,是TGF- β 信号转导通路的关键分子,参与调控细胞的生长、分化和凋亡等。文献报道,Smad4在鼻咽癌组织中的阳性表达率低于非肿瘤性鼻咽组织,且随N分期的进展,Smad4蛋白阳性表达率逐渐降低^[19]。研究证实,TGF- β 通过诱导EMT促进肿瘤的进展^[20],并且TGF- β 诱导EMT是通过调节Smad的表达实现的^[21]。我们前期研究发现,下调PVT1可抑制鼻咽癌细胞的生长、迁移,并逆转EMT,在本研究中我们发现下调PVT1可升高Smad4的表达;另有文献报道,沉默PVT1可抑制结肠癌、胰腺癌的生长、迁移,并升高Smad4的表达^[12-13],这与我们的研究结果相一致。为证实Smad4是否参与沉默PVT1抑制鼻咽癌细胞增殖的作用,在本研究中,我们采用siRNA的方法沉默Smad4的表达,验证Smad4是否是PVT1作用的一个下游靶点,进而探讨下调PVT1抑制鼻咽癌细胞增殖的机制。

本研究中,我们在前期研究基础之上,构建低表达PVT1的慢病毒LV/shRNA PVT1,感染鼻咽癌C666-1细胞,结果显示,C666-1细胞增殖能力降低并且Smad4的表达升高。为了验证PVT1是否通过Smad4调节鼻咽癌细胞增殖,我们利用RNA干扰技术,设计合成Smad4 siRNA,LV/shRNA PVT1感染C666-1细胞24h后转染Smad4 siRNA,结果显示,抑制Smad4表达后与对照组仅感染LV/shRNA PVT1的细胞相比,其增殖能力增强,细胞周期结果显示,G1期比例降低,S期和G2期比例升高。为了进一步探讨沉默Smad4对LV/shRNA PVT1介导的细胞周期影响的机制,我们检测了细胞周期网络中G1-S调控点上的细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK2、CDK4、CDK6),以及其上游的p14、p16、p21、p53、c-myc,下游的磷酸化的pRb等多个基因的表达,荧光定量PCR显示,CDK4、CDK6及c-myc的mRNA水平升高,研究结果表明,沉默Smad4可能通过影响CDK4、CDK6及c-myc的表达来阻断LV/shRNA PVT1对C666-1细胞增殖的抑制。

以上研究结果表明,抑制Smad4的表达可阻断沉默PVT1对鼻咽癌细胞增殖的抑制效应,提示Smad4是PVT1作用的一个下游靶点,推测在鼻咽癌中PVT1通过Smad4发挥作用。但是PVT1涉及

的信号转导通路众多且复杂,明确信号转导机制及关键靶点将对鼻咽癌的靶向治疗有重要的作用,下一步研究中我们将在本研究基础上进一步探讨PVT1发挥作用的信号转导通路。

综上所述,PVT1在鼻咽癌中发挥着重要的作用,有可能参与鼻咽癌的发生发展。本研究的完成为鼻咽癌的靶向治疗提供一个潜在的新的治疗靶点,也可为PVT1在其他肿瘤中的研究提供理论基础和参考。

参考文献:

- [1] Cui D, Yu CH, Liu M, et al. Long non-coding RNA PVT1 as a novel biomarker for diagnosis and prognosis of non-small cell lung cancer [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 4127-4134.
- [2] Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, et al. Amplification of PVT-1 is involved in poor prognosis via apoptosis inhibition in colorectal cancers [J]. *Br J cancer*, 2014, 110(1): 164-171.
- [3] Yuan CL, Li H, Zhu L, et al. Aberrant expression of long non-coding RNA PVT1 and its diagnostic and prognostic significance in patients with gastric cancer [J]. *Neoplasma*, 2016, 63(3): 442-449.
- [4] Fan H, Zhu JH, Yao XQ. Long non-coding RNA PVT1 as a novel potential biomarker for predicting the prognosis of colorectal cancer [J]. *Int J Biol Markers*, 2018, 33(4): 415-422.
- [5] Huang C, Liu S, Wang H, et al. LncRNA PVT1 overexpression is a poor prognostic biomarker and regulates migration and invasion in small cell lung cancer [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(11): 5025-5034.
- [6] Tang J, Li Y, Sang Y, et al. LncRNA PVT1 regulates triple-negative breast cancer through KLF5/beta-catenin signaling [J]. *Oncogene*, 2018, 37(34): 4723-4734.
- [7] He Y, Jing YZ, Wei F, et al. Long non-coding RNA PVT1 predicts poor prognosis and induces radioresistance by regulating DNA repair and cell apoptosis in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 235.
- [8] Wang Y, Chen W, Lian J, et al. The lncRNA PVT1 regulates nasopharyngeal carcinoma cell proliferation via activating the KAT2A acetyltransferase and stabilizing HIF-1 α [J]. *Cell Death Differ*, 2020, 27(2): 695-710.
- [9] 万仁强,林勇,肖平,等.沉默lncRNA PVT1对鼻咽癌细胞C666-1增殖、侵袭转移的影响 [J]. *实用医学杂志*, 2018, 34(10): 1613-1617.
- [10] Wan L, Sun M, Liu GJ, et al. Long noncoding RNA PVT1 promotes non-small cell lung cancer cell proliferation through epigenetically regulating LATS2 expression [J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(5): 1082-1094.
- [11] Zheng X, Hu H, Li S. High expression of lncRNA PVT1 promotes invasion by inducing epithelial to-mesenchymal transition in esophageal cancer [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(4): 2357-2362.

- [12] Zhang XX, Feng W, Zhang J, et al. Long non-coding RNA PVT1 promotes epithelial-mesenchymal transition via the TGF- β /Smad pathway in pancreatic cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2018, 40(2): 1093 – 1102.
- [13] Takahashi Y, Sawada G, Kurashige J, et al. Amplification of PVT-1 is involved in poor prognosis via apoptosis inhibition in colorectal cancers [J]. *Br J Cancer*, 2014, 110(1): 164 – 171.
- [14] Zhao J, Du P, Cui P, et al. LncRNA PVT1 promotes angiogenesis via activating the STAT3/VEGFA axis in gastric cancer [J]. *Oncogene*, 2018, 37(30): 4094 – 4109.
- [15] Sun X, Luo L, Gao Y. Circular RNA PVT1 enhances cell proliferation but inhibits apoptosis through sponging microRNA-149 in epithelial ovarian cancer [J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2020, 46(4): 625 – 635.
- [16] Liu H, Yin Y, Liu T, et al. Long non-coding RNA PVT1 regulates the migration of hepatocellular carcinoma HepG2 cells via miR-3619-5p/MKL1 axis [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2020. doi: 10.17305/bjms.2020.4641.
- [17] Li Y, Shi H, Yuan J, et al. Downregulation of circular RNA circPVT1 restricts cell growth of hepatocellular carcinoma through downregulation of Sirtuin 7 via microRNA-3666 [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2020, 47(7): 1291 – 1300.
- [18] Shen SN, Li K, Liu Y, et al. Silencing lncRNAs PVT1 upregulates miR-145 and confers inhibitory effects on viability, invasion, and migration in EC [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2020, 19(3): 668 – 682.
- [19] 张磊, 刘啸, 王艳军, 等. Smad4 蛋白在鼻咽癌组织中的表达及临床意义 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2017, 26(9): 939 – 941.
- [20] Katsuno Y, Lamouille S, Derynck R. TGF- β signaling and epithelial-mesenchymal transition in cancer progression [J]. *Curr Opin Oncol*, 2013, 25(1): 76 – 84.
- [21] 吴腾云, 张威, 曹冬梅. TGF- β 诱导上皮间充质转化的信号通路研究 [J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2011, 3(1): 81 – 86.

(收稿日期: 2020 – 03 – 19)

本文引用格式: 万仁强, 翁泽平, 师小径, 等. 沉默变异性浆细胞瘤异位 1 抑制鼻咽癌细胞增殖作用的机制研究 [J]. *中国耳鼻咽喉颅底外科杂志*, 2020, 26(5): 485 – 490. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202005003

Cite this article as: WAN Renqiang, WENG Zeping, SHI Xiaojing, et al. The mechanisms of PVT1 downregulation on the cell proliferation of nasopharyngeal carcinoma [J]. *Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg*, 2020, 26(5): 485 – 490. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202005003