长链非编码 RNA ERVH48 -1 在膀胱癌中的表达及对膀胱癌细胞增殖和迁移的影响

杨金辉　胡海龙　孙建涛　郝彤彤　李小辉　张　寒

摘　要　目的　观察长链非编码 RNA ERVH48 - 1 在膀胱癌中的表达,探讨其对膀胱癌细胞增殖和迁移的影响及作用机制。**方法**　荧光实时定量 PCR 检测 ERVH48 - 1 在 16 例膀胱癌组织和癌旁组织、膀胱癌细胞株(BIU87、T24、5637、UM - UC - 3)和正常膀胱上皮细胞 SV - HUC - 1 的表达水平,以 ERVH48 - 1 表达水平最低的细胞为后续实验对象。脂质体转染 ERVH48 - 1 质粒或阴性对照质粒至细胞。荧光实时定量 PCR 检测 ERVH48 - 1 的转染效率。MTT 法和 Transwell 迁移实验分别检测高表达 ERVH48 - 1 对膀胱癌细胞增殖和迁移的能力。荧光实时定量 PCR 和 Western blot 法分别检测 ERVH48 - 1 下游基因在 mRNA 和蛋白水平上的表达。**结果**　膀胱癌组织中 ERVH48 - 1 的表达量低于癌旁组织($P<0.01$),膀胱癌细胞株中 ERVH48 - 1 的表达量低于正常膀胱上皮细胞($P<0.05$),在 5637 细胞中的表达水平最低($P<0.01$)。转染 ERVH48 - 1 质粒可明显升高 5637 细胞中 ERVH48 - 1 的表达水平($P<0.01$)。高表达 ERVH48 - 1 的表达可抑制膀胱癌细胞的增殖能力($P<0.05$)和迁移能力($P<0.01$)。高表达 ERVH48 - 1 的表达后,膀胱癌 5637 细胞中 TCF21 基因在 mRNA 和蛋白水平的表达量降低($P<0.01$)。**结论**　ERVH48 - 1在膀胱癌中呈低表达,高表达 ERVH48 - 1 的表达可抑制膀胱癌 5637 细胞的增殖能力和迁移能力,其作用机制可能为 ERVH48 - 1 促进 TCF21 基因的表达。

关键词　长链非编码 RNA　转录因子 21　膀胱肿瘤　增殖　迁移

中图分类号　R737.14　　**文献标识码**　A　　**DOI**　10.11969/j.issn.1673-548X.2019.05.027

Expression of Long - chain Non - coding RNA ERVH48 - 1 in Bladder Cancer and its Effect on Proliferation and Migration of Bladder Cancer Cells. *Yang Jinhui, Hu Hailong, Sun Jiantao, et al. Department of Urology, Luoyang Central Hospital, Zhengzhou University, Henan 471000, China*

Abstract　Objective　To observe the expression of long - chain non - coding RNA ERVH48 - 1 in bladder cancer, and to explore its effect on the proliferation and migration of bladder cancer cells and its mechanism. **Methods**　Real - time quantitative PCR was used to detect the expression level of ERVH48 - 1 in 16 bladder cancer tissues and adjacent tissues, bladder cancer cell lines (BIU87, T24, 5637, UM - UC - 3) and normal bladder epithelial cells SV - HUC - 1. The cells with the lowest expression level of ERVH48 - 1 were used as follow - up subjects. The ERVH48 - 1 plasmid or negative control plasmid was transfected into the cells by liposome. Fluorescence real - time quantitative PCR was used to detect the transfection efficiency of ERVH48 - 1. MTT assay and Transwell migration assay were used to detect the ability of ERVH48 - 1 to proliferate and migrate bladder cancer cells, respectively. Real - time quantitative PCR and Western blot were used to detect the expression of downstream genes of ERVH48 - 1. **Results**　The expression level of ERVH48 - 1 in bladder cancer tissues was lower than that in adjacent tissues ($P<0.01$). The expression level of ERVH48 - 1 in bladder cancer cell lines was lower than that in normal bladder epithelial cells ($P<0.05$), and the expression level was the lowest in 5637 cells ($P<0.01$). Transfection of ERVH48 - 1 plasmid significantly increased the expression level of ERVH48 - 1 in 5637 cells ($P<0.01$). Up - regulation of ERVH48 - 1 expression inhibits the proliferation ($P<0.05$) and migration ($P<0.01$) of bladder cancer cells. After up - regulating the expression of ERVH48 - 1, the expression level of TCF21 gene in bladder cancer 5637 cells was decreased at mRNA and protein levels ($P<0.01$). **Conclusion**　ERVH48 - 1 is down - regulated in bladder cancer. Up - regulation of ERVH48 - 1 expression may inhibit the proliferation and migration of bladder cancer 5637 cells. The mechanism may be that ERVH48 - 1 promotes the expression of TCF21 gene.

Key words　LncRNA; TCF21; Bladder carcinoma; Proliferation; Invasion

基金项目:天津市科技计划项目(15JCYBJC24600)

作者单位:471000　郑州大学附属洛阳中心医院泌尿外科(杨金辉、孙建涛、郝彤彤、李小辉、张寒);300211　天津医科大学第二医院泌尿外科(胡海龙)

通讯作者:杨金辉,电子信箱:princeps@163.com

膀胱癌是泌尿系统最常见的恶性肿瘤,其发生率呈逐年上升趋势,然而其确切的发病机制尚不明确[1]。长链非编码 RNA(long - chain non - coding RNA,lncRNA)是长度大于 200 个 nt 的不具有编码蛋白功能的 RNA,具有组织特异性[2]。lncRNA 参与调控细胞的增殖、分化、凋亡等方面有关,近年的研究成果表明 lncRNA 与多种恶性肿瘤的形成密切相关[3]。越来越多的 lncRNA 被发现与膀胱癌的发生、发展、转移等密切相关[4]。ERVH48 - 1 是一个全新的 lncRNA,在疾病特别是肿瘤中少有报道。本研究通过检测 ERVH48 - 1 在膀胱癌组织和细胞株中的表达水平,观察 ERVH48 - 1 与膀胱癌发生、发展的相关性。选取表达水平最低的膀胱癌细胞,向细胞株内转染 ERVH48 - 1 质粒,观察细胞株增殖、迁移和下游基因表达的改变,探讨 ERVH48 - 1 对膀胱癌细胞生物学行为的影响和可能的作用机制。

材料与方法

1. 材料:选取笔者医院泌尿外科 2017 年 2 月 ~ 2017 年 11 月收治的膀胱癌患者 16 例,所有患者术前均未接受过化学治疗、放射治疗、生物免疫治疗,所有组织标本均经病理证实,本研究经笔者医院伦理学委员会批准,所有患者均签署知情同意书。膀胱癌细胞(BIU87、T24、5637、UM - UC - 3)和正常膀胱上皮细胞(SV - HUC - 1)购自中国科学院上海细胞库。Lipofectamine™ 3000 购自美国 Invitrogen 公司。长链非编码 RNA ERVH48 - 1 质粒和阴性对照质粒购自上海吉玛制药技术有限公司。DMEM 高糖培养基、RPMI 1640 培养基和胎牛血清购自美国 Hyclone 公司。Transwell 小室购自美国康宁公司。荧光定量 PCR 试剂盒和噻唑蓝(methyl thiazol tetrazolium,MTT)试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司。一抗 TCF21、CDK4、CDK6、Cyclin D1、N - cadherin、Vimentin 和 α - Tubulin 购自美国 Cell Signaling Technology 公司。ECL 显影液购自美国 Thermo 公司。辣根过氧化物酶标记的二抗购自武汉博士德生物有限公司。

2. 细胞培养与转染:在 37℃、5% CO_2 的培养箱内,使用含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 RPMI - 1640 培养基培养膀胱癌细胞 BIU87、T24 和 5637,使用含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 高糖培养基培养膀胱癌细胞 UM - UC - 3 和正常膀胱上皮细胞 SV - HUC - 1。在转染前 1 天,将 5637 细胞使用不含双抗的培养基重悬后接种到 6 孔板中,当细胞融合度达到 60% 时,根据 Lipofectamine™ 3000 转染试剂说明书进行转染,分别转染 ERVH48 - 1 质粒(实验组)和阴性对照质粒(对照组),lncRNA 的终浓度为 15nmol/L。18h 后吸去培养基,加入新鲜培养基继续培养。

3. 荧光实时定量 PCR 检测 ERVH48 - 1、TCF21 mRNA 的表达量:采用 TRIzol 法提取组织和细胞的总 RNA,检测 RNA 浓度和纯度,反转录为 cDNA。以 GAPDH 为内参,采用荧光定量 PCR 试剂盒检测组织和细胞中 ERVH48 - 1 或 TCF21 mRNA 的表达水平。反应条件为:94℃ 10min、60℃ 1min、72℃ 1min,35 个循环。实时定量 PCR 引物序列详见表 1,每个样品设置 4 个复孔,检测得到的荧光信号值采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法进行统计分析。

表 1　实时定量 PCR 引物序列

基因	引物(5′→3′)
GAPDH	正向引物:CTGGGCTACACTGAGCACC
	反向引物:AAGTGGTCGTTGAGGGCAATG
TCF21	正向引物:TCCTGGCTAACGACAAATACGA
	反向引物:TTTCCCGGCCACCATAAAGG
ERVH48 - 1	正向引物:GTCGTAATGGGGCTATTTGC
	反向引物:TGTCCAATTTTGGTGAAGCA

4. MTT 法检测高表达 ERVH48 - 1 对 5637 细胞增殖能力的影响:实验组细胞转染 ERVH48 - 1 质粒,对照组细胞转染阴性对照质粒,24h 后收集细胞,调整细胞密度重铺至 96 孔板(4000 个/孔),每组设置 4 个复孔,在培养箱内连续培养 5 天。在每天的检测时间点,每孔分别加入 20μl MTT 试剂,在培养箱内孵育 4h 后,吸净孔内培养基,每孔加入 100μl 二甲基亚砜,96 孔板在摇床上振荡 15min,在酶联免疫检测仪上检测各孔在 490nm 波长处的吸光度(A)值,绘制生长曲线。

5. Transwell 实验检测高表达 ERVH48 - 1 对 5637 细胞迁移能力的影响:转染 48h 后消化收集各组 5637 细胞,使用无血清培养基重悬细胞,细胞计数并调整细胞浓度至 2×10^5/ml,取 200μl 细胞悬液加入上室,下室内加入 600μl 含 10% 胎牛血清的培养基,培养箱内连续培养 18h 后。使用 PBS 溶液清洗 Transwell 小室,使用95% 甲醇固定 20min,使用 0.3% 结晶紫染液染色 20min,使用 PBS 溶液清洗,使用棉签擦去未穿过滤膜的细胞。显微镜计数穿过滤膜的细胞,以 4 个视野的细胞平均数为准。

6. Western blot 法检测高表达 ERVH48 - 1 对

5637 细胞相关蛋白表达的影响:转染 48h 后消化收集各组 5637 细胞,使用 PBS 溶液洗涤细胞,提取总蛋白。蛋白样品经 10% SDS – PAGE 跑胶后转膜电至 PVDF 膜上。各组蛋白样品经 SDS – PAGE 电泳后,电转至 PVDF 膜,室温下使用含 5% 牛血清白蛋白的封闭液封闭 3h,4℃ 下分别与一抗 TCF21、CDK4、CDK6、Cyclin D1、N – cadherin、Vimentin 和 α – Tubulin 孵育过夜,洗膜后室温下与二抗孵育 3h,洗膜后滴加 ECL 显影液显影。

7.统计学方法:应用 SPSS 17.0 统计学软件对数据进行统计分析,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间均数比较采用 t 检验,多组间均数比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结　　果

1.膀胱癌组织和癌旁组织中 ERVH48 – 1 的表达量:膀胱癌组织和癌旁组织中 ERVH48 – 1 的表达量分别为 1.65 ± 0.23 和 5.41 ± 0.40,膀胱癌组织中 ERVH48 – 1 表达量明显低于癌旁组织($P<0.01$,图 1)。

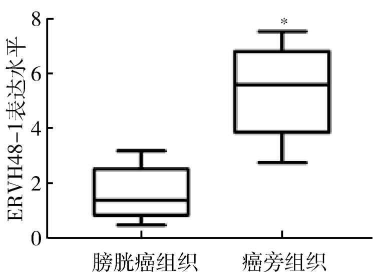

图 1　膀胱癌组织和癌旁组织中 ERVH48 – 1 表达水平检测

与癌旁组织比较,* $P<0.01$

2.膀胱癌细胞和正常膀胱上皮细胞中 ERVH48 – 1 的表达量:与 SV – HUC – 1 正常膀胱上皮细胞比较,膀胱癌细胞中的 ERVH48 – 1 表达量明显降低,膀胱癌细胞 BIU87、T24、5637、UM – UC – 3 和正常膀胱上皮细胞 SV – HUC – 1 中 ERVH48 – 1 的表达量分别为 0.60 ± 0.04、0.36 ± 0.04、0.17 ± 0.03、0.78 ± 0.02 和 1.01 ± 0.07,膀胱癌细胞株中 ERVH48 – 1 表达量均低于正常膀胱上皮细胞($P<0.05$)。其中 5637 细胞中 ERVH48 – 1 的表达水平最低($P<0.01$,图 2)。

3.各组 5637 细胞中 ERVH48 – 1 的表达量:转染 48h 后收集各组 5637 细胞,对照组和实验组 5637 细胞中 ERVH48 – 1 表达量分别为 1.01 ± 0.06 和 6.27 ± 0.44,实验组明显高于对照组($P<0.01$),ERVH48 – 1 质粒使细胞中 ERVH48 – 1 的表达明显增加(图 3)。

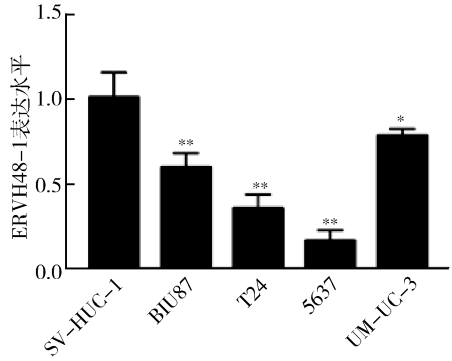

图 2　正常膀胱上皮细胞和膀胱癌细胞中 ERVH48 – 1 表达水平检测

与 SV – HUC – 1 细胞比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

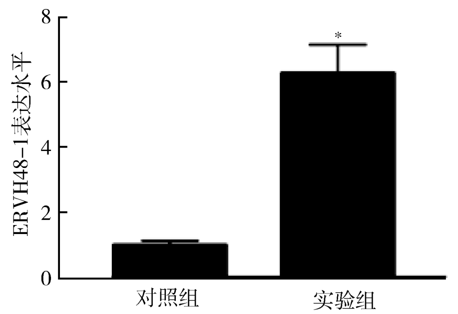

图 3　实验组和对照组 5637 细胞中 ERVH48 – 1 的表达量

与对照组比较,* $P<0.01$

4.高表达 ERVH48 – 1 抑制 5637 细胞的增殖能力:通过 MTT 法连续 5 天检测各组 5637 细胞的增殖能力,以时间(天)为横轴、吸光度(A)值为纵轴绘制生长曲线。与对照组比较,从第 3 天起,实验组细胞增殖能力明显受到抑制($P<0.05$,图 4)。

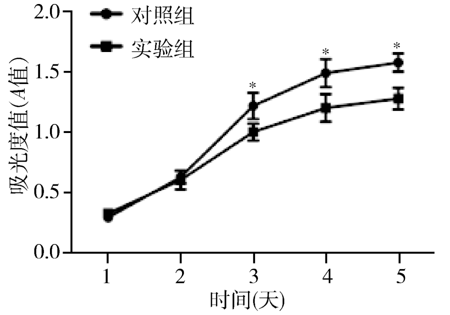

图 4　MTT 检测各组膀胱癌细胞增殖能力

与对照组比较,* $P<0.05$

5.高表达 ERVH48 – 1 抑制 5637 细胞的迁移能力:Transwell 实验检测各组 5637 细胞的迁移能力。

实验组和对照组 5637 细胞穿过滤膜细胞数分别为 69.74 ± 17.95 和 192.20 ± 27.56,表明 ERVH48 - 1 能够抑制 5637 细胞的迁移能力,差异有统计学意义($P<0.01$,图 5)。

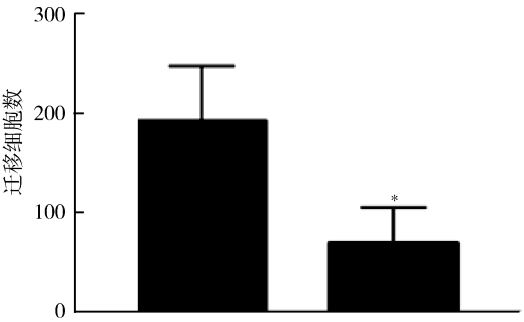

图 5 Transwell 实验检测 ERVH48 - 1 对膀胱癌细胞迁移能力的影响

与对照组比较,$^{*}P<0.01$

6. 高表达 ERVH48 - 1 促进膀胱癌 5637 细胞中 TCF21 mRNA 的表达:荧光实时定量 PCR 检测各组 5637 细胞 TCF21 mRNA 的表达水平,结果显示,实验组和对照组 5637 细胞 TCF21 mRNA 的表达分别为 9.97 ± 0.74 和 1.01 ± 0.06, ERVH48 - 1 能够促进 TCF21 mRNA 的表达($P<0.01$)。

7. 高表达 ERVH48 - 1 对膀胱癌 5637 细胞下游蛋白表达的影响:Western blot 法检测各组 5637 细胞下游蛋白的表达,结果显示高表达 ERVH48 - 1 诱导 TCF21 蛋白表达升高,TCF21 蛋白表达升高引起细胞增殖相关蛋白 CDK4、CDK6、Cyclin D1 表达明显降低,细胞迁移相关蛋白 N - cadherin、Vimentin 表达明显降低(图 6)。

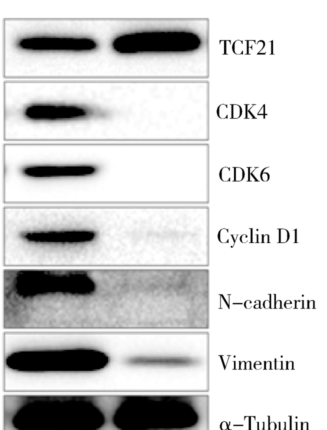

图 6 Western blot 法检测 ERVH48 - 1 下游蛋白表达水平

讨 论

长链非编码 RNA(long - chain non - coding RNA, lncRNA)是一类长度超过 200 个核苷酸的非编码 RNA,广泛分布于真核细胞的细胞质和细胞核内[5]。lncRNA 可在转录后水平通过多种方式如加帽、加尾、选择性剪接促进或抑制下游基因的表达[6]。近年来研究表明,大量 lncRNA 在正常组织和肿瘤组织中存在异常的差异性表达,lncRNA 在肿瘤的发生、发展过程中可能起着抑癌作用[7]。膀胱癌的发生、发展过程中受到很多 lncRNA 的调控,MALAT1、XIST 可促进膀胱癌细胞的增殖和转移,HULC、DUXAP10、SNHG16 可促进膀胱癌细胞的增殖[8~12]。目前有关长链非编码 RNA ERVH48 - 1 在肿瘤中的作用未见报道。

本研究通过检测 ERVH48 - 1 在膀胱癌组织和膀胱癌细胞株中的表达水平,发现 ERVH48 - 1 在膀胱癌组织和膀胱癌细胞株中表达水平下调,提示 ERVH48 - 1 可能在膀胱癌中发挥类似抑癌基因的作用。本研究通过转染实验证明了高表达 ERVH48 - 1 能够抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移,说明 ERVH48 - 1 可能通过抑制增殖和迁移调控膀胱癌的形成,这对于揭示膀胱癌的发生、发展机制具有重要意义。转录因子 21(TCF21)基因定位于 6q23 - q24,是一种新发现的抑癌基因[13]。TCF21 在多种肿瘤如肺癌、乳腺癌、肾癌等中表达明显下调,可显著抑制肿瘤细胞的增殖和迁移能力,且与患者的低生存率明显相关[14~16]。有研究显示,TCF21 在膀胱癌中的表达水平明显降低[17]。本研究发现,高表达膀胱癌细胞中 ERVH48 - 1 的表达后,TCF21 基因在 mRNA 和蛋白的表达水平明显升高。TCF21 蛋白表达升高后,细胞增殖相关蛋白 CDK4、CDK6、Cyclin D1 表达明显降低,细胞迁移相关蛋白 N - cadherin、Vimentin 表达明显降低,与细胞功能实验结果一致。长链非编码 RNA ERVH48 - 1 调控 TCF21 基因的分子机制和信号通路是本研究下一步研究的重点。

综上所述,长链非编码 RNA ERVH48 - 1 在膀胱癌中低表达。高表达 ERVH48 - 1 可明显抑制膀胱癌细胞的增殖和迁移,其作用机制可能通过促进抑癌基因 TCF21 的表达。ERVH48 - 1 可能为膀胱癌的诊治提供新的治疗靶标和分子标志物。

参考文献

1 Xiang X, Huang J, Mo W, *et al*. Long non - coding RNA cartilage injury - related promotes malignancy in bladder cancer[J]. Oncol Lett,2018,15(3):3049 - 3055

(下转第 125 页)

(16): 60 - 61
8 矫健, 孙欣, 徐晓慧, 等. 超声自动乳腺全容积成像与钼靶联合诊断乳腺肿瘤的价值[J]. 现代肿瘤医学, 2015, 23(6): 798 - 802
9 Wu J, Wang Y, Yu J, *et al*. Identification of implanted mesh after incisional hernia repair using an automated breast volume scanner[J]. J Ultrasound Med, 2015, 34(6): 1071 - 1081
10 包凌云, 谭艳娟, 朱罗茜, 等. 自动乳腺全容积成像在乳腺导管原位癌诊断中的应用价值[J]. 中华医学超声杂志: 电子版, 2015, 11(1): 53 - 56
11 Schmachtenberg C, Fischer T, Hamm B, *et al*. Diagnostic performance of automated breast volume scanning (ABVS) compared to handheld ultrasonography with breast MRI as the gold standard[J]. Acad Radiol, 2017, 24(8): 954 - 961
12 张超, 骆瑞珍, 李静艳, 等. 自动乳腺全容积成像在乳腺癌诊断中的应用[J]. 实用临床医药杂志, 2016, 20(23): 68 - 71
13 Zheng FY, Lu Q, Huang BJ, *et al*. Imaging features of automated breast volume scanner: correlation with molecular subtypes of breast cancer[J]. Eur J Radiol, 2017, 8(6): 267 - 275
14 何其佳, 赵玉珍. 自动乳腺全容积成像技术诊断乳腺病灶的研究进展[J]. 中国医疗设备, 2015, 30(12): 79 - 82
15 谭艳娟, 包凌云, 黄安茜, 等. 乳腺恶性肿瘤冠状面汇聚征与临床病理学相关因素分析[J]. 中国超声医学杂志, 2015, 31(7): 587 - 589
16 Zheng FY, Yan LX, Huang BJ, *et al*. Comparison of retraction phenomenon and BI - RADS - US descriptors in differentiating benign and malignant breast masses using an automated breast volume scanner [J]. Eur J Radiol, 2015, 84(11): 2123 - 2129
17 王炜, 包凌云, 谭艳娟, 等. 冠状面引导下乳腺非肿块性病变穿刺活检的应用价值[J]. 中国超声医学杂志, 2017, 17(1): 15 - 18
18 陈森, 陈铃, 张建兴, 等. 自动乳腺全容积成像的冠状面特征对改良 BI - RADS 分类的临床研究[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(5): 797 - 800
19 Xu C, Wei S, Xie Y, *et al*. Three - dimensional assessment of automated breast volume scanner compared with handheld ultrasound in pre - operative breast invasive ductal carcinomas: a pilot study of 51 cases[J]. Ultrasound Med Biol, 2016, 42(9): 2089 - 2096
20 Van LE, Lagendijk M, Heijkoop E, *et al*. Three - dimensional ultrasonography of the breast; an adequate replacement for MRI in neoadjuvant chemotherapy tumour response evaluation? - RESPONDER trial[J]. Eur J Radiol, 2018, 104(12): 94 - 100

(收稿日期:2018 - 07 - 12)
(修回日期:2018 - 08 - 16)

(上接第 115 页)

2 Xie D, Zhang H, Hu X, *et al*. Knockdown of long non - coding RNA taurine Up - regulated 1 inhibited doxorubicin resistance of bladder urothelial carcinoma via Wnt/beta - catenin pathway[J]. Oncotarget, 2017, 8(51): 88689 - 88696
3 Luo J, Chen J, Li H, *et al*. LncRNA UCA1 promotes the invasion and EMT of bladder cancer cells by regulating the miR - 143/HMGB1 pathway[J]. Oncol Lett, 2017, 14(5): 5556 - 5562
4 Yang L, Xue Y, Liu J, *et al*. Long noncoding RNA ASAP1 - IT1 promotes cancer stemness and predicts a poor prognosis in patients with bladder cancer[J]. Neoplasma, 2017, 64(6): 847 - 855
5 Zhan Y, Li Y, Guan B, *et al*. Long non - coding RNA HNF1A - AS1 promotes proliferation and suppresses apoptosis of bladder cancer cells through upregulating Bcl - 2[J]. Oncotarget, 2017, 8(44): 76656 - 76665
6 Li HJ, Sun XM, Li ZK, *et al*. LncRNA UCA1 promotes mitochondrial function of bladder cancer via the MIR - 195/ARL2 signaling pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43(6): 2548 - 2561
7 Ma Z, Xue S, Zeng B, *et al*. lncRNA SNHG5 is associated with poor prognosis of bladder cancer and promotes bladder cancer cell proliferation through targeting p27[J]. Oncol Lett, 2018, 15(2): 1924 - 1930
8 Hu Y, Deng C, Zhang H, *et al*. Long non - coding RNA XIST promotes cell growth and metastasis through regulating miR - 139 - 5p mediated Wnt/beta - catenin signaling pathway in bladder cancer[J]. Oncotarget, 2017, 8(55): 94554 - 94568
9 Xie H, Liao X, Chen Z, *et al*. LncRNA MALAT1 inhibits apoptosis and promotes invasion by antagonizing miR - 125b in bladder cancer cells[J]. J Cancer, 2017, 8(18): 3803 - 3811
10 Lv XY, Ma L, Chen JF, *et al*. Knockdown of DUXAP10 inhibits proliferation and promotes apoptosis in bladder cancer cells via PI_3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. Int J Oncol, 2018, 52(1): 288 - 294
11 Wang J, Ma W, Liu Y. Long non - coding RNA HULC promotes bladder cancer cells proliferation but inhibits apoptosis via regulation of ZIC2 and PI_3K/AKT signaling pathway[J]. Cancer Biomark, 2017, 20(4): 425 - 434
12 Cao X, Xu J, Yue D. LncRNA - SNHG16 predicts poor prognosis and promotes tumor proliferation through epigenetically silencing p21 in bladder cancer[J]. Cancer Gene Ther, 2018, 25(1 - 2): 10 - 17
13 Dai Y, Duan H, Duan C, *et al*. Down - regulation of TCF21 by hypermethylation induces cell proliferation, migration and invasion in colorectal cancer[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2016, 469(3): 430 - 436
14 Chen B, Zeng C, Ye Y, *et al*. Promoter methylation of TCF21 may repress autophagy in the progression of lung cancer[J]. J Cell Commun Signal, 2018, 12(2): 423 - 432
15 Gooskens SL, Klasson TD, Gremmels H, *et al*. TCF21 hypermethylation regulates renal tumor cell clonogenic proliferation and migration [J]. Mol Oncol, 2018, 12(2): 166 - 179
16 Wang J, Gao X, Wang M, *et al*. Clinicopathological significance and biological role of TCF21 mRNA in breast cancer[J]. Tumour Biol, 2015, 36(11): 8679 - 8683
17 Wang Y, Yu Y, Ye R, *et al*. An epigenetic biomarker combination of PCDH17 and POU4F2 detects bladder cancer accurately by methylation analyses of urine sediment DNA in Han Chinese[J]. Oncotarget, 2016, 7(3): 2754 - 2764

(收稿日期:2018 - 08 - 19)
(修回日期:2018 - 08 - 29)