

血浆长链非编码RNA HOTAIR对预测食管癌放疗敏感性的意义

叶婷¹,李皓¹,李伟珍¹,王祝青¹,高飞²,刘阳晨²

扬州大学附属泰兴市人民医院检验科¹、肿瘤放疗科²,江苏 泰兴 225400

【摘要】 目的 观察食管癌患者放疗前、后血浆长链非编码RNA HOX转录反义RNA(HOTAIR)的表达变化,并探讨其临床意义。方法 选择2017年5月至2018年12月扬州大学附属泰兴市人民医院肿瘤放疗科收治的50例食管癌患者作为研究对象(食管癌组),另选取同期健康体检者25例作为对照组,患者采用实时定量聚合酶链反应(PCR)检测其血浆HOTAIR的水平,分析HOTAIR表达水平与患者临床病理参数及放疗疗效的关联性。结果 食管癌组患者血浆中HOTAIR水平为0.14±0.10,明显高于健康对照组的0.03±0.02,差异有统计学意义($P<0.05$);Ⅲ期+Ⅳ期食管癌患者放疗前血浆中HOTAIR水平为0.21±0.10,明显高于Ⅰ期+Ⅱ期患者的0.07±0.02,差异有统计学意义($P<0.05$);有淋巴转移的食管癌患者放疗后血浆中HOTAIR水平为0.16±0.02,明显高于无淋巴转移患者的0.07±0.04,差异有统计学意义($P<0.05$);可评价疗效的50例患者根治性放疗后血浆HOTAIR水平较放疗前升高者24例,下降者26例,升高者与下降者的放疗有效率分别为41.67%和84.62%,差异有统计学意义($P<0.05$);有效者放疗后血浆中的HOTAIR水平为0.07±0.01,明显低于其放疗前的0.25±0.06,无效者放疗后血浆中的HOTAIR水平为0.13±0.04,明显高于其放疗前的0.07±0.03,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 检测食管癌患者血浆HOTAIR水平有助于放疗敏感性的早期判断,对临床上预测食管癌放疗效果有着举足轻重的作用。

【关键词】 食管癌;放疗敏感性;长链非编码RNA;HOX转录反义RNA;血浆

【中图分类号】 R735.1 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003—6350(2019)10—1273—04

Predictive value of plasma lncRNA HOTAIR in radiosensitivity of esophageal cancer. YE Ting ¹, LI Hao ¹, LI Wei-zhen ¹, WANG Zhu-qing ¹, GAO Fei ², LIU Yang-chen ². Department of Clinical Laboratory ¹, Department of Radiotherapy ², Taixing People's Hospital Affiliated to Yangzhou University, Taixing 225400, Jiangsu, CHINA

【Abstract】 Objective To investigate the expression and clinical value of plasma long non-coding RNA (lncRNA) HOTAIR level before and after radiotherapy in patients with esophageal carcinoma. **Methods** From May 2017 to December 2018, 50 patients with esophageal carcinoma were selected as research objects from Department of Radiotherapy, Taixing People's Hospital Affiliated to Yangzhou University (esophagus cancer group), and 25 healthy individuals were enrolled as the control group. The HOTAIR level in plasma samples were measured with quantitative real-time PCR method. The relationships among HOTAIR level expression changes, clinical stages and radiotherapy effect were analyzed. **Results** The plasma HOTAIR levels of patients with esophagus cancer was 0.14±0.10, significantly higher than 0.03±0.02 in control group ($P<0.05$). The plasma HOTAIR level before radiotherapy in patients with stage III and stage IV was 0.21±0.10, significantly higher than 0.07±0.02 of patients with stage I and stage II ($P<0.05$). The plasma HOTAIR level after radiotherapy in patients with lymph node metastasis was 0.16±0.02, significantly higher than (0.07±0.04) of patients without lymph node metastasis ($P<0.05$). In 50 evaluated patients, the plasma HOTAIR level increased in 24 cases but decreased in 26 cases after radical radiotherapy, and the radiotherapy efficiency was 41.67% and 84.62%, respectively ($P<0.05$). In effective group, the plasma HOTAIR level after radiotherapy was 0.07±0.01, significantly lower than 0.25±0.06 before radiotherapy, while in ineffective group, the level after radiotherapy was 0.13±0.04, significantly higher than 0.07±0.03 before radiotherapy ($P<0.05$). **Conclusion** The plasma HOTAIR level of patients with esophagus cancer can help evaluate the radiosensitivity, which has great significance in predicting the efficacy of radiotherapy.

【Key words】 Esophageal cancer; Radiosensitivity; Long non-coding RNA; HOX transcript antisense RNA; Plasma

通讯作者:刘阳晨,E-mail: liuyctx@163.com

[11] 贾会玉,李中南,陈光亮. 糖尿病肾病中转化生长因子β-1/Sma和Mad相关蛋白信号通路的作用及其相关药物研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2016, 30(3): 266-271.

[12] MAGLIAH SF, BARDISI W, AL ATTAH M, et al. The prevalence and risk factors of diabetic retinopathy in selected primary care centers during the 3-year screening intervals [J]. J Family Med Prim Care, 2018, 7(5): 975-981.

[13] 肖艳春, 闻春艳. 诺和龙与阿托伐他汀联合治疗糖尿病肾病的临床

疗效[J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(11): 2672-2673.

[14] 韦秀芳, 阮素莲. 尿毒清颗粒联合奥美沙坦治疗早期糖尿病肾病的疗效及对肝肾功能的影响[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(4): 874-876.

[15] ONOJA SO, UDEM SC, ANAGA AO. Ameliorative effects of helianthus annuus against nephrotoxic, cardiac, and haematological disorders in alloxan-induced hyperglycaemia in albino rats [J]. J Vet Res, 2018, 62(3): 371-377.

(收稿日期:2019-02-14)

液体活检技术是体外诊断的重要分支,通过检测血液中的循环肿瘤细胞(CTC)和 DNA(ctDNA)或者 RNA 等标本,对肿瘤等疾病进行诊断与监测。有研究指出,食管肿瘤组织中长链非编码 RNA HOX 转录反义 RNA (Long non-coding RNA HOX transcript antisense RNA, lncRNA HOTAIR) 的表达、TNM 分期及淋巴结转移是食管癌患者总存活期的独立预后因素^[1]。放射治疗是食管癌的重要治疗措施,而食管癌患者血浆中 lncRNA HOTAIR 的表达水平是否与放疗敏感性相关目前尚不清楚。本研究使用实时荧光定量 PCR 方法对食管癌患者放疗前后血浆中 lncRNA HOTAIR 的水平进行测定,以探究血浆 lncRNA HOTAIR 在预测食管肿瘤放疗效果的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 5 月至 2018 年 12 月扬州大学附属泰兴市人民医院肿瘤放疗科收治实施根治性放疗的 50 例食管癌患者作为研究对象(食管癌组),所有患者均经病理确诊,其中男性 34 例,女性 16 例;年龄 56~89 岁,中位年龄 71 岁;病理类型均为鳞癌。另选取同期健康体检者 25 例作为对照组,其中男性 18 例,女性 7 例;年龄 50~75 岁,中位年龄 64 岁。

1.2 治疗方法 患者取仰卧位,双手交叉放于头顶并用体膜固定。18 例患者采用 X 射线模拟定位机进行定位,照射采用一前两后斜 3 野,放射野上下界分别上下各放 3~5 cm。前野宽 6 cm,后斜野宽 4.5~5.5 cm。其他 32 例患者采取 CT 模拟定位,三维适形放疗,肿瘤体积(GTV)包含参照食道片和食道镜检查的 CT 呈现的管壁增厚的食管,以及短径 ≥ 1 cm 的肿大淋巴结;临床靶体积(CTV)为 GTV 前后左右外放 1.2 cm,头脚方向外放 0.5 cm。处方剂量 90% 不同计划靶体积(PTV),最大剂量不超过处方剂量的 5%,脊髓 ≤ 45 Gy,心脏 $V_{40} \leq 50\%$,双肺 $V_{20} \leq 28\%$ 。患者均采用 6MV X 射线,分次剂量为 1.8~2.0 Gy,一周照 5 次,总剂量为 50.4~66 Gy。

1.3 样本收集 所有患者均在放疗前及放疗后 4 周进行采样,对照组于体检时采样,空腹无菌采取静脉血 3~5.0 mL 于乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管中,混匀静置 30 min 后 1200 \times g 离心 10 min,收集上清放入离心管中,4 $^{\circ}$ C 12 000 \times g, 10 min,收集上清至新的离心管中,取 250 μ L 血浆加入 750 μ L TRIzol[®] L S 试剂(美国 Invitrogen 公司),-80 $^{\circ}$ C 保存待用。

1.4 提取总 RNA 和合成 cDNA 第一链 采用 TRIzol 法提取总 RNA,方法如下:首先取血浆和 TRIzol 混合液,混匀,常温静置 5 min;而后加 0.2 mL 氯仿(三氯甲烷),盖紧盖子,充分激烈震动 30 s,常温静置 3 min;4 $^{\circ}$ C 12 000 \times g, 15 min,此时可见混浊液分成自上而下核酸、蛋白层、有机相三层。取 500 L 上清放

入新 EP 管,向其中添加 500 μ L 异丙醇,轻轻混合使其均匀,常温静置 10 min;4 $^{\circ}$ C 12 000 \times g, 10 min,弃上清,此时可见 EP 管底部有白色胶状沉淀;最后向沉淀中加 1 mL 75% 乙醇,轻轻混匀(沉淀不溶解),4 $^{\circ}$ C 7 500 \times g, 5 min,弃去上清液,此步可进行两遍;敞盖将 RNA 样品晾干(不要彻底干燥),加入适量 DEPC 水溶解。血浆总 RNA,分析鉴定其纯度和浓度后按照 PrimeScript TM RT Master Mix 逆转录试剂盒说明书,预先混好的 Premix,加入模板 RNA 和水,按照 37 $^{\circ}$ C 15 min, 85 $^{\circ}$ C 5 s, 4 $^{\circ}$ C 5 s 程序上机,可快速获取 cDNA,-80 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.5 实时定量 PCR 检测血浆中 lncRNA HOTAIR 表达 按照 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒说明书步骤进行 qRT-PCR,引物序列(由上海生工合成)如下:lncRNA HOTAIR 正向引物:5'-GGTAGAAAAAGCAAC-CACGAAGC-3',反向引物:5'-ACATA AACCTCTGTCTGTGAGTGCC-3';GAPDH 正向引物:5'-GGAGTCCA CTGGCGTCTT-3',反向引物:5'-GAGTCCTTC-CACGATACCAA-3'。用定量 PCR 扩增仪(CFX96,美国 Bio-Rad 公司)检测 lncRNA HOTAIR 表达。总反应体系为 25 L:cDNA 2 L,上下游引物各 1 L,灭菌 DEPC 水 8.5 L,SYBR Premix Ex Taq II 12.5 L。反应条件:预变性 95 $^{\circ}$ C 30 s 后进行 40 个循环反应:95 $^{\circ}$ C 5 s, 60 $^{\circ}$ C 30 s,运用熔解曲线检测 PCR 产物的特异性。每孔均设 3 个重复,取平均 CT 值作为该样本的最后 CT 值,以 GAPDH 作为内参,采用相对定量 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 的方法对获得的 CT 值进行统计分析。

1.6 近期疗效评价 放疗第 4 周复查食管 X 射线钡剂造影。按照 UICC(国际抗癌联盟)疗效标准以食管 X 射线片评估近期疗效^[2]:完全缓解(CR)、部分缓解(PR)、小部分缓解(MR)、无缓解(NC),以 CR+PR 计算有效率。

1.7 统计学方法 应用 SPSS23.0 统计软件进行统计学分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组受检者的血浆 HOTAIR 水平比较 食管癌组患者顺利完成根治性放疗及血浆 HOTAIR 检测。食管癌组患者血浆 HOTAIR 水平为(0.14 \pm 0.10),明显高于健康对照组的(0.03 \pm 0.02),差异有统计学意义($t = -2.764, P < 0.05$)。食管癌组患者放疗前和放疗后血浆 HOTAIR 水平分别为(0.14 \pm 0.10)和(0.12 \pm 0.05),差异无统计学意义($t = 0.530, P > 0.05$)。

2.2 食管癌患者根治性放疗前后的血浆 HOTAIR 水平与临床病理参数的关系 食管癌患者放疗前和放疗后血浆中 HOTAIR 水平与患者性别、年龄

无明显相关($P>0.05$),而Ⅲ期+Ⅳ期食管癌患者放疗前血浆中HOTAIR水平明显高于Ⅰ期+Ⅱ期患者,有淋巴转移的食管癌患者放疗后血浆中HOTAIR水平明显高于无淋巴转移的患者,差异均具有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 食管癌患者根治性放疗前后的血浆lncRNA HOTAIR水平与临床病理参数的关系($\bar{x}\pm s$)

项目	例数	HOTAIR (放疗前)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值	HOTAIR (放疗后)	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
性别			0.074	0.943		0.697	0.521
男	34	0.12±0.11			0.12±0.06		
女	16	0.11±0.09			0.10±0.03		
年龄(岁)			0.148	0.887		0.450	0.676
≥70	36	0.13±0.10			0.12±0.06		
<70	14	0.12±0.11			0.10±0.02		
TNM分期			-3.205	0.020		-0.726	0.486
Ⅰ+Ⅱ	32	0.07±0.02			0.08±0.04		
Ⅲ+Ⅳ	18	0.21±0.10			0.10±0.05		
淋巴结转移			0.047	0.965		-3.417	0.014
阴性	26	0.14±0.11			0.07±0.04		
阳性	24	0.12±0.12			0.16±0.02		

2.3 食管癌患者血浆HOTAIR水平与放疗疗效的关系 50例患者根治性放疗后血浆HOTAIR水平与放疗前相比升高者24例,下降者26例;升高者与下降者的放疗有效率分别为41.67%和84.62%,差异有统计学意义($\chi^2=4.996, P<0.05$)。50例患者中放疗有效者32例,无效者18例;有效者放疗前血浆HOTAIR水平为 0.25 ± 0.06 ,明显高于健康对照组的 0.03 ± 0.02 ,差异具有统计学意义($t=-6.307, P<0.05$);而无效者放疗前血浆HOTAIR水平为 0.07 ± 0.03 ,与健康对照组的 0.03 ± 0.02 比较差异无统计学意义($t=-2.219, P>0.05$)。有效者与无效者放疗前血浆HOTAIR水平比较差异有统计学意义($t=3.901, P<0.05$)。有效者放疗后血浆中的HOTAIR水平为 0.07 ± 0.01 ,较放疗前的 0.25 ± 0.06 明显降低,差异有统计学意义($t=5.391, P<0.05$),无效者放疗后血浆中的HOTAIR水平为 0.13 ± 0.04 ,较放疗前的 0.07 ± 0.03 明显升高,差异具有统计学意义($t=-2.658, P<0.05$)。

3 讨论

食管癌早期病症隐匿,很多食管癌患者检出或者确诊时已属中晚期,总体5年存活率为15%~25%^[3]。食管鳞癌(ESCC)是食道癌的重要组织学亚型。临床上用于筛查ESCC的分子标记物的有癌胚抗原(CEA)、p53和鳞状细胞癌抗原(SCC)等^[4],但是这些标志物不足以鉴定早期肿瘤的亚临床患者和预测疾病复发。当前,对中晚期已经失去手术根治机会的食管癌患者,多选用以放疗为主联合其他学科的综合治疗。然而,由于发生放射抵抗性,ESCC的复发率较高。因此,研究ESCC的生物学标志以及放疗预后指标,可以

指导临床采取针对性治疗措施,将ESCC患者复发的风险降至最低。

长链非编码RNA(lncRNA)由长度>200 nt的单链的非编码RNA分子组成。迄今为止,大量的研究表明,lncRNA参与了表观遗传学水平、转录水平、转录后及翻译水平的肿瘤抑制及致癌途径中基因表达的调节^[5],其表达失调与癌症的复发、转移和患者的预后紧密相连^[6-7]。HOX反义中间体RNA(HOTAIR)位于同源异构体C(HOXC)基因簇内的染色体上的lncRNA,最初被发现为HOXD基因的阻遏物,其生物学作用是通过募集一系列复杂蛋白复合体实现对下游靶标癌基因和抑癌基因调控^[8]。目前的研究显示,HOTAIR在乳腺癌^[9]、非小细胞肺癌^[10]、胃癌^[11]等诸多肿瘤组织中异常表达,呈现致癌作用。报道不同肿瘤血浆中HOTAIR表达的研究也日益增多,例如非小细胞肺癌患者术后血浆中HOTAIR与术前相比明显降低,可应用于疾病的诊断与监测^[12]。乳腺癌患者血浆HOTAIR高表达,且与ER、c-erbB-2和淋巴结转移相关联,是乳腺癌潜在的生物标志物^[13]。此外,在宫颈癌中,血浆HOTAIR促进了癌症的进程,诱导了放疗耐受,同时高表达的HOTAIR与肿瘤分期、淋巴结转移、肿瘤复发显著相关^[14]。然而,目前鲜见血浆HOTAIR在食管癌的表达与放疗敏感性关联的报道。

初期机制研究表明高表达的HOTAIR通过HOTAIR 5'结构域招募多梳复合抑制物2(PRC2)加强H3组蛋白第27位赖氨酸三甲基化,以及HOTAIR 3'结构域募集赖氨酸特异性组蛋白去甲基化酶1(LSD1)/CoREST/REST复合物,发挥组蛋白H3第4位赖氨酸去甲基化作用,以此实现染色质重塑及加速肿瘤的发生、转移。最初关于食管癌长链非编码RNA HOTAIR的研究集中在分子机制上,研究对象多为细胞系和患者组织,已有研究证实在食管癌细胞系和患者的肿瘤组织中HOTAIR表达明显升高;同时,HOTAIR的表达与TNM分期、生存时间及ESCC的转移密切相关;敲除ESCC细胞中的HOTAIR,可以降低细胞的侵袭和迁移,同时增加了细胞凋亡的反应^[15]。HOTAIR过表达是食道癌患者预后不良的独立危险因子^[16]。

本研究表明,食管癌放疗后效果满意的患者血浆HOTAIR水平放疗后相比放疗前下降,血浆HOTAIR水平升高的患者疗效欠佳,说明HOTAIR表达降低的患者对放疗敏感,疗效好,而HOTAIR水平升高患者放疗不敏感,对放疗抗拒。血浆HOTAIR水平与临床病理参数的关系表现为HOTAIR与食管癌患者的TNM分期和淋巴结转移紧密相连,反映了HOTAIR与肿瘤侵袭性相关,可以推测血浆HOTAIR水平在治疗前明显升高者食管癌转移复发的概率会明显增加,应高度重视这部分患者并给予更高强度的治疗。这一结果

可参照 DA 等^[17-18]的最新研究来解释,他们发现高表达的 HOTAIR 通过重排基因表达模式,在表观遗传水平引起上皮间质化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)进程中相关因子的表达异常,具体表现为上皮化表型标记如 E-cadherin 缺失,细胞间质化表型标记如 Snail 表达升高,继而参与诱导食管癌上皮细胞向间质细胞转化,最终诱导肿瘤的复发、转移及放疗抵抗。

综上所述,HOTAIR 能够作为一个预测放射治疗敏感性的有用标记物,在食管癌的治疗和判断预后中起举足轻重的作用,以 HOTAIR 为候选靶点的治疗可以提高肿瘤的放疗敏感性^[19]。由于本研究纳入的患者例数较少,且患者来自同一个医疗单位,可能存在研究对象的选择性偏倚,未来可扩大样本量,进一步明确 lncRNA HOTAIR 作为预测食管癌放疗敏感性标记物的可行性。

参考文献

- [1] CHEN FJ, SUN M, LI SQ, et al. Upregulation of the long non-coding RNA HOTAIR promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis and poor prognosis [J]. *Mol Carcinog*, 2013, 52(11): 908-915.
- [2] MARIN FA, LAMÓNICA-GARCIA VC, HENRY MA, et al. Grade of esophageal cancer and nutritional status impact on postsurgery outcomes [J]. *Arq Gastroenterol*, 2010, 47(4): 348-353.
- [3] PENNATHUR A, GIBSON MK, JOBE BA, et al. Oesophageal carcinoma [J]. *Lancet*, 2013, 381 (9864): 400-412.
- [4] SHIMADA H, TAKEDA A, ARIMA M, et al. Serum p53 antibody is a useful tumor marker in superficial esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cancer*, 2000, 89(8): 1677-1683.
- [5] SUN W, YANG Y, XU C, et al. Regulatory mechanisms of long non-coding RNAs on gene expression in cancers [J]. *Cancer Genet*, 2017, 216-217: 105-110.
- [6] YAN TH, LU SW, HUANG YQ, et al. Upregulation of the long non-coding RNA HOTAIR predicts recurrence in stage Ta/T1 bladder cancer [J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(10): 10249-10257.
- [7] WU J, CHENG G, ZHANG C, et al. Long noncoding RNA LINC01296 is associated with poor prognosis in prostate cancer and promotes cancer-cell proliferation and metastasis [J]. *Onco Targets Ther*, 2017, 10: 1843-1852.
- [8] RINN JL, KERTESZ M, WANG JK, et al. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs [J]. *Cell*, 2007, 129(7): 1311-1323.
- [9] ZHAO W, GENG D, LI S, et al. LncRNA HOTAIR influences cell growth, migration, invasion, and apoptosis via the miR-20a-5p/HMGA2 axis in breast cancer [J]. *Cancer Med*, 2018, 7(3): 842-855.
- [10] JIANG C, YANG Y, YANG Y, et al. Long noncoding RNA (lncRNA) HOTAIR affects tumorigenesis and metastasis of non-small cell lung cancer by upregulating miR-613 [J]. *Oncol Res*, 2018, 26(5): 725-734.
- [11] ENDO H, SHIROKI T, NAKAGAWA T, et al. Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer [J]. *PLoS One*, 2013, 8(10): e77070.
- [12] LI N, WANG Y, LIU X, et al. Identification of circulating long non-coding RNA HOTAIR as a novel biomarker for diagnosis and monitoring of non-small cell lung cancer [J]. *Technol Cancer Res Treat*, 2017, 1: 1533034617723754.
- [13] ZHANG Y, ZHANG K, LUO Z, et al. Circulating long non-coding HOX transcript antisense intergenic ribonucleic acid in plasma as a potential biomarker for diagnosis of breast cancer [J]. *Thorac Cancer*, 2016, 7(6): 627-632.
- [14] LI J, WANG Y, YU J, et al. A high level of circulating HOTAIR is associated with progression and poor prognosis of cervical cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(3): 1661-1665.
- [15] LI X, WU Z, MEI Q, et al. Long non-coding RNA HOTAIR, a driver of malignancy, predicts negative prognosis and exhibits oncogenic activity in oesophageal squamous cell carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2013, 109(8): 2266-2278.
- [16] LV XB, LIAN GY, WANG HR, et al. Long noncoding RNA HOTAIR is a prognostic marker for esophageal squamous cell carcinoma progression and survival [J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e63516.
- [17] DA C, ZHAN Y, LI Y, et al. The expression and significance of HOX transcript antisense RNA and epithelial-mesenchymal transition-related factors in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2017, 15: 1853-1862.
- [18] DA C, WU L, LIU Y, et al. Effects of irradiation on radioresistance, HOTAIR and epithelial-mesenchymal transition/cancer stem cell marker expression in esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(4): 2751-2757.
- [19] JIANG Y, LI Z, ZHENG S, et al. The long non-coding RNA HOTAIR affects the radiosensitivity of pancreatic ductal adenocarcinoma by regulating the expression of Wnt inhibitory factor 1 [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(3): 3957-3967.

(收稿日期:2019-01-30)