

长链非编码RNA *PCGEM1*促进胰腺癌细胞增殖和迁移

徐 岷¹ 倪 鑫¹ 葛 璐¹ 刘 鑫¹ 周海浪¹ 黄红梅¹ 蒋小猛¹
彭琬昕² 张允历¹ 龚爱华^{2*}

(¹江苏大学附属医院消化内科, 镇江 212001; ²江苏大学医学院基础医学系, 镇江 212013)

摘要 该文的目的是探讨长链非编码RNA *PCGEM1* (long non-coding RNA *PCGEM1*, lncRNA *PCGEM1*)对胰腺癌细胞增殖和迁移的影响。通过荧光定量PCR检测三种胰腺癌细胞以及人胰腺癌组织和癌旁组织中*PCGEM1*的表达水平, 分别在BxPC3和PaTu8988细胞中转染pCDH-*PCGEM1*及其空载质粒pCDH, 在SW1990细胞中转染siRNA和其对照siRNA, 分别上调或下调*PCGEM1*在不同胰腺癌细胞中的表达; 细胞克隆形成、CCK-8实验检测细胞增殖能力; Transwell实验检测细胞迁移能力; Western blot法检测MMP2、MMP9和E-钙黏着蛋白的蛋白表达以及荧光定量PCR检测MMP2和MMP9水平。结果表明, *PCGEM1*差异性表达于三种胰腺癌细胞中, 其中SW1990表达水平相对较高, BxPC3和PaTu8988表达水平相对较低。胰腺癌组织中*PCGEM1*水平高于癌旁组织。过表达*PCGEM1*后, 细胞增殖和迁移能力增强, MMP2和MMP9的蛋白质水平增加, E-钙黏着蛋白的蛋白质水平降低; 相反, 降低*PCGEM1*表达, 细胞增殖和迁移能力减弱, MMP2和MMP9的蛋白质水平降低, E-钙黏着蛋白的蛋白质水平升高。由此说明, lncRNA *PCGEM1*可促进胰腺癌细胞的增殖和迁移。

关键词 长链非编码RNA; *PCGEM1*; 胰腺癌; 增殖; 迁移

Long Non-coding RNA *PCGEM1* Promotes the Proliferation and Migration of Human Pancreatic Cancer Cells

Xu Min¹, Ni Xin¹, Ge Lu¹, Liu Xin¹, Zhou Hailang¹, Huang Hongmei¹, Jiang Xiaomeng¹,
Peng Wanxin², Zhang Youli¹, Gong Aihua^{2*}

(¹Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China;

²Department of Basic Medical Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212001, China)

Abstract The aim of the present study was to investigate the effect of lncRNA *PCGEM1* on proliferation and migration in pancreatic cancer cells in human pancreatic cancer cells. The expression level of *PCGEM1* in SW1990, BxPC3 and PaTu8988 cell lines and in human pancreatic cancer tissues and their adjacent non-cancer tissues were detected by qRT-PCR. The pCDH-*PCGEM1* was transfected into either BxPC3 or PaTu8988 to increase the expression level of *PCGEM1*. Meanwhile, SW1990 transfected with siRNA to decrease the expression level of *PCGEM1*. Then, the abilities of the proliferation and migration were determined using clone formation assay,

收稿日期: 2015-10-14 接受日期: 2015-12-31

江苏省卫生厅科研项目(批准号: H201434)、江苏省“六大人才高峰”高层次人才选拔培养对象项目(批准号: 2014-WSW-038)和镇江市科技支撑计划项目(批准号: SH2014024)资助的课题

*通讯作者。Tel: 0511-85038449, E-mail: ahg5@mail.ujs.edu.cn

Received: October 14, 2015 Accepted: December 31, 2015

This work was supported by Scientific Research Project of Jiangsu Provincial Health Department (Grant No.H201434), “the Six Big Talents” High Level Personnel Selection and Training Object Project of Jiangsu Province (Grant No.2014-WSW-038) and Zhenjiang Science and Technology Support Program (Grant No.SH2014024)

*Corresponding author. Tel: +86-511-85038449, E-mail: ahg5@mail.ujs.edu.cn

网络出版时间: 2016-02-22 16:56:15

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20160222.1656.006.html>

CCK-8 assay and cell migration assay, respectively. Furthermore, the protein levels of MMP2, MMP9 and E-cadherin were examined by Western blot and the expression levels of MMP2 and MMP9 were detected by qRT-PCR. The results showed there were significant differences of *PCGEMI* expression level in three kinds of human pancreatic cancer cell lines. The expression level of *PCGEMI* in SW1990 was relatively high, compared with which was in BxPC3 and PaTu8988. The level of *PCGEMI* in pancreatic cancer tissues was higher than that in adjacent non-cancer tissues. Here, it was shown that knockdown of *PCGEMI* suppressed proliferation *in vitro*. In contrast, the overexpression of *PCGEMI* stimulated these processes. The expression level of *PCGEMI* was positively correlated with the migration ability of human pancreatic cancer cells. In addition, after up regulation of *PCGEMI*, the expression of MMP2 and MMP9 increased while the expression of E-cadherin decreased. Conversely, the expression of MMP2 and MMP9 decreased and E-cadherin decreased after down regulation of *PCGEMI*. Taken together, lncRNA *PCGEMI* promotes the proliferation and migration of human pancreatic cancer cells.

Keywords lncRNA; *PCGEMI*; pancreatic neoplasm; proliferation; migration

胰腺癌是恶性程度最高的胃肠道肿瘤之一, 早期诊断困难, 死亡率高, 预后差^[1]。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是长度在200~100 000 nt之间不编码蛋白的RNA分子, 在多个层面调控基因的表达, 参与胚胎发育、细胞生长、分化、代谢等多种生理过程^[2]。

最近的研究发现, lncRNA在胰腺癌中有异常上调或下调的表现, 可促进或者抑制肿瘤的发生和发展, 其作用类似于癌基因或是抑癌基因。如在胰腺癌中, lncRNA HOTAIR的表达明显升高, 能特异性地沉默干扰素和细胞周期因子, 最终促进癌细胞侵袭^[3]。*PCGEMI*是一种在前列腺癌中特异性高表达的lncRNA, 由Srikantan等^[4]在前列腺癌LNCaP细胞中首次发现和报道, 可促进前列腺癌细胞的增殖和迁移, 但*PCGEMI*在胰腺癌中的作用至今尚未有报道。本研究以人胰腺癌细胞为主要研究对象, 通过转染取得*PCGEMI*相对高表达与相对低表达的人胰腺癌细胞, 研究*PCGEMI*在胰腺癌增殖和迁移过程中的作用, 为寻找临床胰腺癌的治疗靶点提供依据。

1 材料与方法

1.1 主要材料和试剂

人胰腺癌细胞系SW1990、BxPC3、PaTu8988由本实验室冻存。14例胰腺癌组织和对应癌旁组织样本由上海长海医院提供。*PCGEMI*表达质粒和相应的空白载体pCDH由美国密西西比大学医学中心Mo Yin-Yuan教授惠赠。材料和试剂主要有: DMEM培养基(高糖)(Hyclone公司)、胎牛血清(Gibco公司)、

Lipofectamine™ 2000(Invitrogen公司)、siRNA和negative control(上海吉玛制药技术有限公司)、Transwell小室(BD公司)和CCK-8试剂盒(康为世纪生物公司)。兔抗人MMP2、MMP9单克隆抗体、鼠抗人β-actin单克隆抗体、羊抗鼠二抗、羊抗兔二抗均购自Affinity公司。

1.2 荧光定量PCR

按照Trizol试剂说明书提取各组细胞的总RNA, 按照逆转录试剂盒说明书合成cDNA, 进行荧光定量PCR。*PCGEMI*的上游引物序列: 5'-AAG ACC AGT CTC GCC AAC AT-3', 下游引物序列: 5'-GTG GCT CGA CGA CAT CGG TTA AT-3'; *MMP2*的上游引物序列: 5'-TGA TCT TGA CCA GAA TAC CAT CGA-3', 下游引物序列: 5'-GGC TTG CGA GGG AAG AAG TT-3'; *MMP9*的上游引物序列: 5'-CCT GGA GAC CTG AGA ACC AAT C-3', 下游引物序列: 5'-GGC TTG CGA GGG AAG AAG TT-3'; 内参照物U6的上游引物序列: 5'-CTC GCT TCG GCA GCA CA-3', 下游引物序列: 5'-CCA CCC GAG TGT AAC CAT AGC-3'。反应条件为: 95 °C预变性30 s, 95 °C 5 s, 60 °C退火20 s, 72 °C延伸1 min, 40个循环。*PCGEMI*引物及内参引物U6由广州锐博生物公司设计合成, *MMP2*和*MMP9*引物由生工生物工程(上海)股份有限公司设计合成。所有数据均采用2^{-ΔΔCt}法进行相对定量分析。实验重复3次。

1.3 细胞转染

1.3.1 质粒转染 取对数生长期的BxPC3和PaTu8988细胞接种于6孔板, 分为对照组和实验组,

每孔约 5×10^5 细胞, 当细胞达到70%~90%时进行转染。将Lipofectamine™ 2000与质粒按1:2.5($\mu\text{g}:\mu\text{L}$)比例转染。转染72 h后, 观察转染率及细胞形态, 并收集细胞备用。

1.3.2 siRNA转染 取对数生长期的SW1990细胞接种于6孔板, 分为对照组和实验组, 每孔约 5×10^5 细胞, 当细胞达到50%~70%时进行转染。将Lipofectamine™ 2000与质粒按1:2.5($\mu\text{L}:\mu\text{g}$)比例转染。转染72 h后观察转染率及细胞形态, 并收集细胞备用。

1.4 克隆形成实验

取转染48 h后的实验组及对照组细胞, 接种于6孔板(1×10^3 /孔), 每组设3个重复孔, 当6孔板上出现肉眼可见的克隆时终止培养。PBS清洗后, 以4%多聚甲醛溶液固定细胞, 结晶紫染色。计数细胞, 取平均值。实验重复3次。

1.5 Transwell实验

取转染48 h后的实验组及对照组细胞用无血清DMEM培养液重悬细胞, 调整细胞密度为 $4 \times 10^5/\text{mL}$ 。取100 μL 细胞悬液加入上室中, 下室加入含10%胎牛血清的完全培养液, 每组设3个重复孔。细胞继续培养48 h后, 取出小室, 用医用棉签擦除小室内未迁移的细胞, PBS洗涤3次, 以4%多聚甲醛溶液固定细胞, 结晶紫染色。在光学显微镜下随机选取8个高倍视野($200\times$)计数细胞, 取平均值。实验重复3次。

1.6 CCK-8实验检测细胞增殖能力

取转染48 h后的实验组及对照组细胞, 以2 000/孔接种于96孔板中, 设立5个复孔, 分别于1、2、3、4、5 d加入10 μL CCK-8溶液, 继续孵育2 h, 在酶联免疫检测仪490 nm处测量各孔的吸光度(D)值。实验重复3次取平均值, 以时间为横坐标、相对增殖率为纵坐标绘制生长曲线图。

1.7 Western blot检测MMP2和MMP9蛋白质水平

转染48~72 h后终止培养细胞, 提取细胞总蛋白质, BCA法定量, 各取等量样品经10%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离后电转移至PVDF膜上, 5%脱脂奶粉室温摇床上封闭2 h, 加一抗(MMP2、MMP9抗体1:1 000稀释, β -actin抗体1:10 000稀释)于4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, 加二抗于37 $^{\circ}\text{C}$ 温箱孵育1 h, ECL化学发光显色, 凝胶成像系统分析处理, 取各目的蛋白质与内参照吸光度的比值作为目的蛋白质的相对表达量。实验重复3次。

1.8 统计学处理

采用SPSS 14.0软件进行统计学分析, 实验数据

均采用均数标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两样本均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同胰腺癌细胞及癌组织和癌旁组织中 *PCGEM1* 的表达

选择BxPC3、SW1990和PaTu8988三种胰腺癌细胞。qRT-PCR测定不同细胞中*PCGEM1*及其内参照物的相对表达量。结果显示, 三种胰腺癌细胞*PCGEM1*呈现差异性表达, 其中, SW1990的*PCGEM1*表达水平最高, 而BxPC3和PaTu8988表达相对较低(图1)。

qRT-PCR检测14例胰腺癌组织和对应癌旁组织中*PCGEM1*的表达, 其中, 71.43%(10/14)的胰腺癌组织中*PCGEM1*水平高于癌旁组织(图2)。

2.2 上调或下调 *PCGEM1* 的表达

2.2.1 质粒转染 荧光定量PCR结果显示, 转染*PCGEM1*后, 实验组BxPC3与PaTu8988的*PCGEM1*

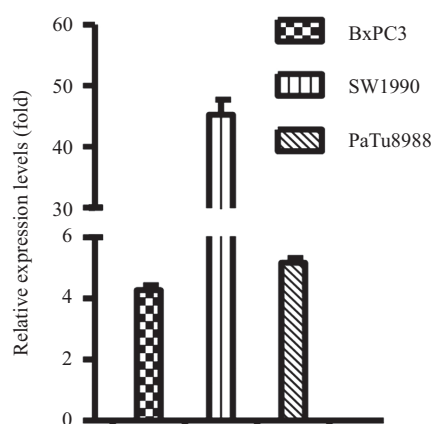


图1 荧光定量PCR检测三种人胰腺癌细胞中*PCGEM1*表达
Fig.1 Detection of the expression of *PCGEM1* in three human pancreatic cancer cells by qRT-PCR

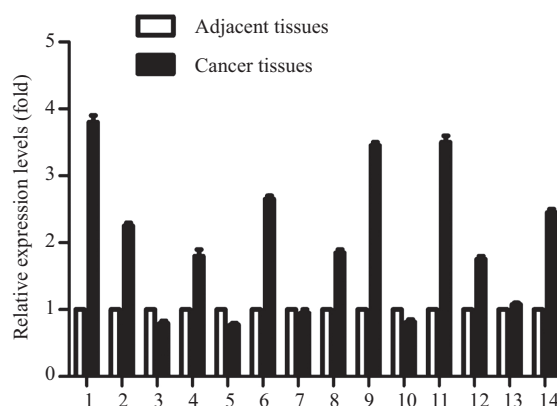
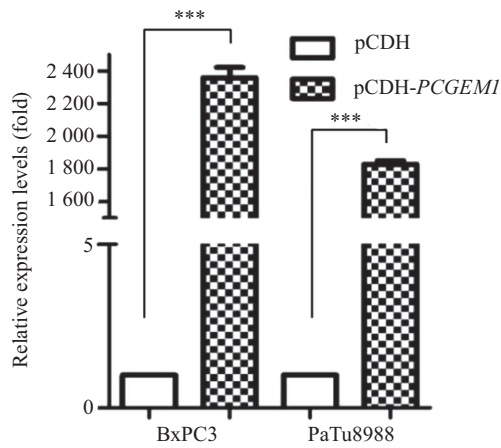


图2 荧光定量PCR检测人胰腺癌和癌旁组织中*PCGEM1*表达
Fig.2 Detection of the expression of *PCGEM1* in human pancreatic cancer tissues and adjacent tissues by qRT-PCR

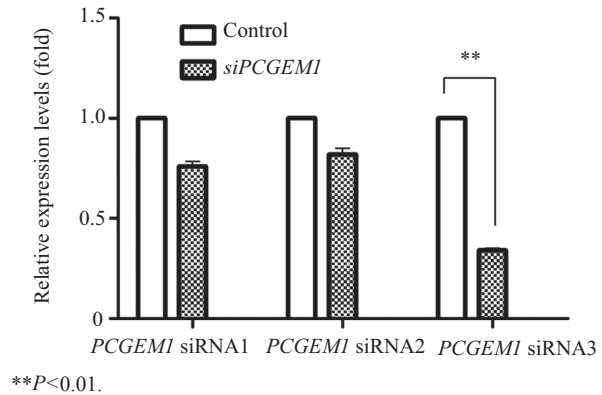


*** $P < 0.001$.

图3 荧光定量PCR检测胰腺癌细胞转染效率

Fig.3 Detection of pancreatic cancer cell transfection efficiency by qRT-PCR

相对表达量明显高于对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.001$)(图3)。

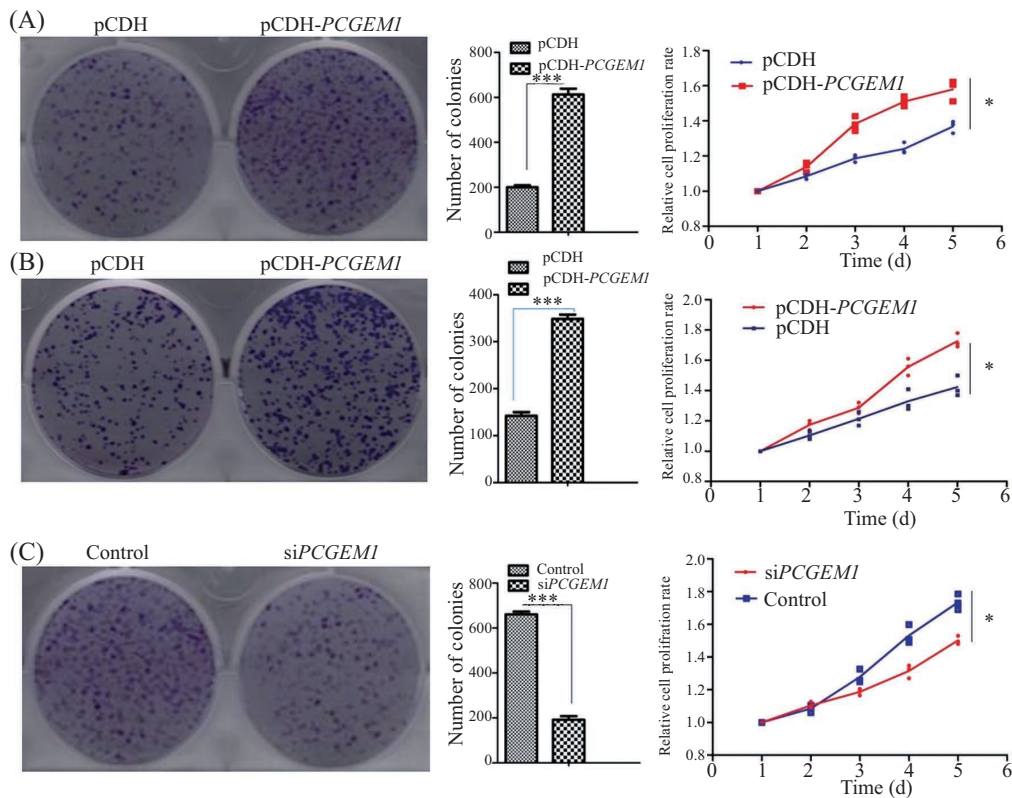


** $P < 0.01$.

图4 荧光定量PCR检测胰腺癌细胞转染效率

Fig.4 Detection of pancreatic cancer cell transfection efficiency by qRT-PCR

2.2.2 siRNA转染 对SW1990转染阴性对照siRNA以及PCGEMI siRNA1、PCGEMI siRNA2和PCGEMI siRNA3。转染四组siRNA后, PCGEMI siRNA3的差异具有统计学意义($P < 0.01$)。因此, 本研究选用PC-

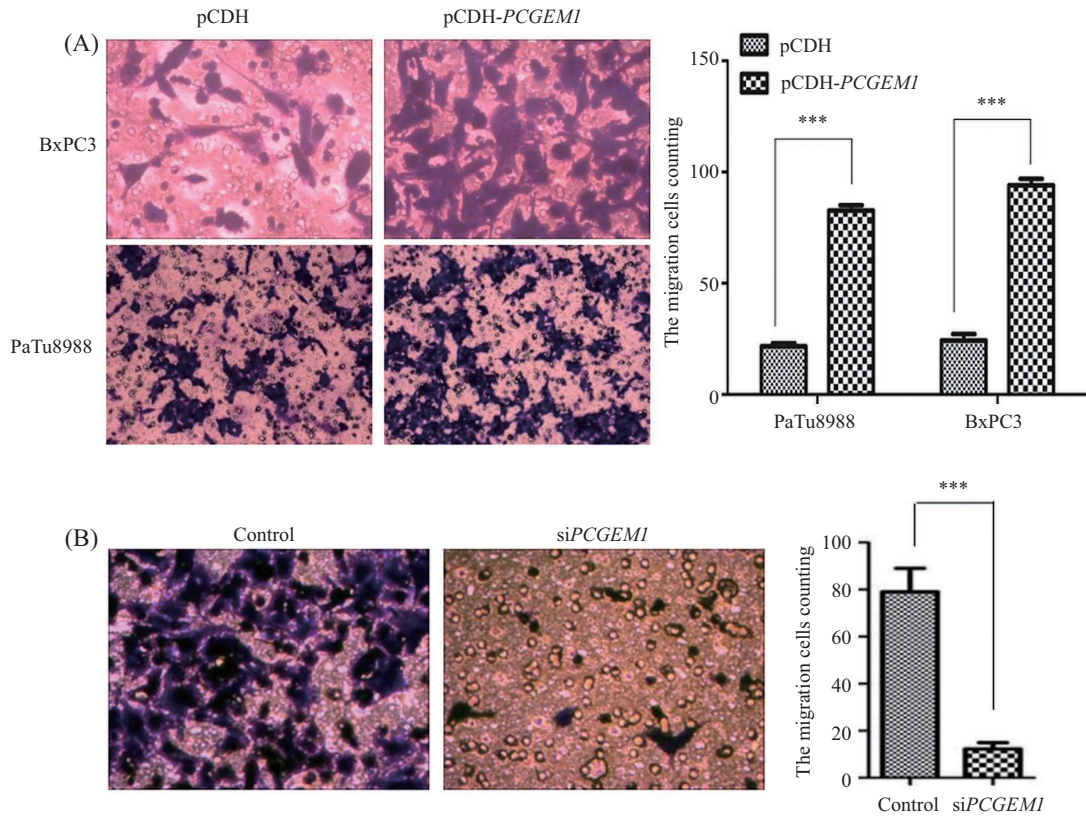


A: 克隆形成实验和CCK-8实验检测过表达PCGEMI对BxPC3细胞增殖的影响, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$; B: 克隆形成实验和CCK-8实验检测过表达PCGEMI对PaTu8988细胞增殖的影响, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$; C: 克隆形成实验和CCK-8实验检测下调PCGEMI表达对SW1990细胞增殖的影响, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$ 。

A: the effects of PCGEMI overexpression on cell proliferation in BxPC3 cells detected by clone formation assay and CCK-8 assay, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$; B: the effects of PRMT5 overexpression on cell proliferation in PaTu8988 cells detected by clone formation assay and CCK-8 assay, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$; C: the effects of PCGEMI downregulation on cell proliferation in SW1990 cells detected by clone formation assay and CCK-8 assay, *** $P < 0.001$, * $P < 0.05$.

图5 PCGEMI对胰腺癌细胞增殖能力的影响

Fig.5 Effect of PCGEMI on the proliferation of transfected pancreatic cancer cells

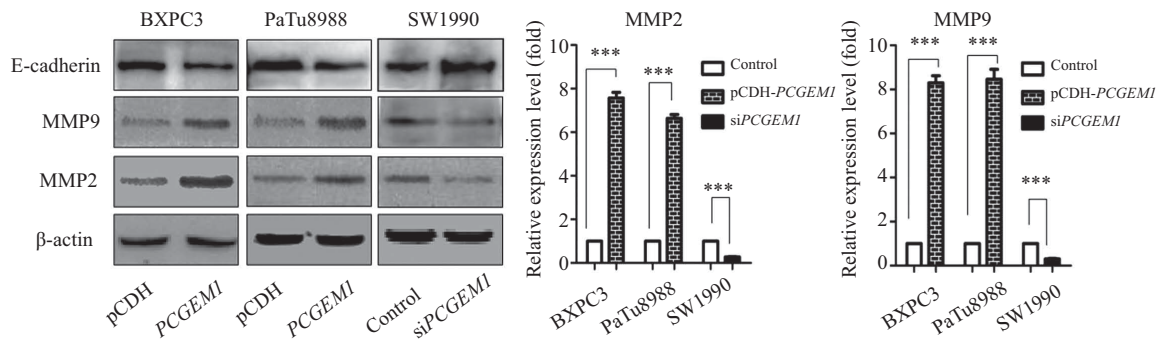


A: Transwell实验检测过表达*PCGEMI*对BxPC3细胞和PaTu8988细胞迁移的影响, *** $P<0.001$; B: Transwell实验检测下调*PCGEMI*表达对SW1990细胞增殖的影响, *** $P<0.001$ 。

A: the effects of *PCGEMI* overexpression on cell migration in BxPC3 cells and in PaTu8988 cells detected by Transwell assay, *** $P<0.001$; B: the effects of *PCGEMI* downregulation on cell migration in SW1990 cells detected by Transwell assay, *** $P<0.001$ 。

图6 *PCGEMI*对胰腺癌细胞迁移能力的影响

Fig.6 Effect of *PCGEMI* on the migration of transfected pancreatic cancer cells



*** $P<0.001$ 。

图7 通过Western blot和荧光定量PCR检测*PCGEMI*对胰腺癌细胞MMP2、MMP9和E-钙黏着蛋白的影响

Fig.7 Effect of *PCGEMI* on the protein levels of MMP2, MMP9 and E-cadherin in transfected pancreatic cancer cells measured by Western blot and qRT-PCR

GEMI siRNA3进行后续实验(图4)。

2.3 上调或下调*PCGEMI*对胰腺癌细胞增殖的影响

克隆形成实验结果显示, 上调*PCGEMI*后实验组形成的集落数多于对照组, 差异具有统计学意义($P<0.001$); 下调*PCGEMI*后, control组形成的集

落数明显少于si*PCGEMI*组, 差异具有统计学意义($P<0.001$, 图5); CCK-8实验结果显示, 与对照组相比, 上调*PCGEMI*后实验组的细胞增殖能力变强, 并随时间延长增殖能力增强更加明显, 下调后结果相反($P<0.05$, 图5)。以上结果说明, 上调*PCGEMI*可以促进胰腺癌细胞的增殖, 而下调则抑制了其生长。

2.4 Transwell迁移实验检测细胞迁移能力

如图6A所示,上调*PCGEMI*增加了BxPC3和PaTu8988细胞的迁移能力,迁移细胞数多于对照组,差异具有统计学意义($P<0.001$);下调*PCGEMI*抑制了SW1990细胞迁移能力,对照组较si*PCGEMI*组的迁移细胞数显著增多,差异具有统计学意义($P<0.001$)(图6B)。

2.5 *PCGEMI*对胰腺癌细胞的MMP2、MMP9和E-钙黏着蛋白蛋白水平的影响

如图7所示,上调BxPC3和PaTu8988细胞*PCGEMI*水平, MMP2和MMP9的表达量分别高于对照组而E-钙黏着蛋白的表达量分别低于对照组;降低SW1990细胞*PCGEMI*表达, si*PCGEMI*组中MMP2和MMP9的表达量明显低于对照组, E-钙黏着蛋白的表达量明显高于对照组。

3 讨论

胰腺癌是最常见的消化系统肿瘤之一,恶性程度极高^[5]。胰腺癌的发病机制一直是近些年的研究热点,越来越多的证据表明, lncRNA的表达异常可能引起多种疾病和功能障碍,尤其是肿瘤^[6-7]。*PCGEMI*是前列腺癌的特异性lncRNA,在前列腺癌LNCaP细胞和小鼠成纤维NIH3T3细胞中高表达,位于染色体2q32位点,但不编码蛋白质,能促进前列腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭,抑制肿瘤细胞的凋亡,可作为评价前列腺癌风险极其预后的可靠指标,是前列腺癌基因治疗潜在的药物治疗靶点^[8-9]。但*PCGEMI*在胰腺癌中的表达情况及作用尚不清楚。

Petrovics等^[8]发现, *PCGEMI*在前列腺癌LNCaP细胞和小鼠胚胎成纤维NIH3T3细胞中高表达,并可促进细胞增殖和增加克隆形成,其过度表达导致前列腺癌细胞的增殖,且该指标在高风险的前列腺癌患者中持续高表达,说明*PCGEMI*具有调控细胞生长的生物学功能。为了研究*PCGEMI*在人胰腺癌细胞中的作用,本研究上调了BxPC3和PaTu8988细胞中*PCGEMI*的表达,降低了SW1990细胞中*PCGEMI*的表达,分别检测了*PCGEMI*表达增高和降低对胰腺癌细胞增殖与迁移的影响。结果发现,上调*PCGEMI*的表达促进胰腺癌细胞的增殖与迁移,而下调*PCGEMI*的表达抑制了胰腺癌细胞的增殖与迁移。为进一步证明*PCGEMI*增强了胰腺癌细胞的迁移能力,通过Western blot实验检测了转染后的胰腺癌

细胞中E-钙黏着蛋白的含量。E-钙黏着蛋白是钙依赖性黏附分子家族中最重要的成员,在癌组织中, E-钙黏着蛋白黏附系统通过不同的途径受到干扰和破坏,而这一功能的受损往往导致癌细胞的迁移^[10]。本实验结果显示,上调*PCGEMI*后, E-钙黏着蛋白水平降低;而降低*PCGEMI*后, E-钙黏着蛋白水平增多。这一结果进一步验证了*PCGEMI*可促进胰腺癌细胞的迁移。同时,通过Western blot和荧光定量PCR实验检测了转染后的胰腺癌细胞中MMP2与MMP9的含量。Lin等^[11]证明, MMP2和MMP9在胰腺癌转移中发挥重要作用,上调MMP2和MMP9促进了胰腺癌的转移。本实验结果显示,上调*PCGEMI*后, MMP2和MMP9水平增高;干扰*PCGEMI*后, MMP2和MMP9水平降低。以上研究提示我们,在胰腺癌的迁移与增殖过程中, *PCGEMI*可能扮演着重要的角色。

Fu等^[12]的研究结果表明,在雄激素依赖性前列腺癌细胞中*PCGEMI*的表达能够抑制抗肿瘤药物多柔比星所诱导的前列腺癌细胞中p53以及p21^{Waf1/Cip1}的表达,进而抑制肿瘤细胞的凋亡。由此,研究者认为, *PCGEMI*可能是未来前列腺癌诊断中较PSA更好的一种潜在肿瘤标志物,可作为评价前列腺癌风险及其预后的可靠指标,可将其作为前列腺癌基因治疗潜在的药物治疗靶点。本研究通过Transwell、克隆形成、CCK-8实验和Western blot等实验证明了*PCGEMI*可增强胰腺癌细胞的增殖和迁移功能,提示*PCGEMI*有可能成为胰腺癌的潜在治疗靶点。

综上所述,本研究发现, *PCGEMI*可提高胰腺癌细胞的增殖和迁移能力,为下一步深入研究*PCGEMI*在胰腺癌发生、发展中的作用机制提供了重要途径,为胰腺癌治疗提供了新的潜在分子靶点。

参考文献 (References)

- 1 Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin* 2014; 64(1): 9-29.
- 2 Guttman M, Rinn JL. Modular regulatory principles of large non-coding RNAs. *Nature* 2012; 482(7385): 339-46.
- 3 Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, *et al.* HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene* 2013; 32(13): 1616-25.
- 4 Srikantan V, Zou Z, Petrovics G, Xu L, Augustus M, Davis L, *et al.* PCGEM1, a prostate-specific gene, is overexpressed in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(22): 12216-21.
- 5 Katopodis O, Souglakos J, Stathopoulos E, Christopoulou A,

- Kontopodis E, Kotsakis A, *et al.* Frontline treatment with gemcitabine, oxaliplatin and erlotinib for the treatment of advanced or metastatic pancreatic cancer: A multicenter phase II study of the Hellenic Oncology Research Group (HORG). *Cancer Chemother Pharmacol* 2014; 74(2): 333-40.
- 6 Moran VA, Perera RJ, Khalil AM. Emerging functional and mechanistic paradigms of mammalian long non-coding RNAs. *Nucleic Acids Res* 2012; 40(14): 6391-400.
- 7 Fatima R, Akhade VS, Pal D, Rao SM. Long noncoding RNAs in development and cancer: Potential biomarkers and therapeutic targets. *Mol Cell Ther* 2015; 3: 5.
- 8 Petrovics G, Zhang W, Makarem M, Street JP, Connelly R, Sun L, *et al.* Elevated expression of PCGEM1, a prostate-specific gene with cell growth-promoting function, is associated with high-risk prostate cancer patients. *Oncogene* 2004; 23(2): 605-11.
- 9 Yang L, Lin C, Jin C, Yang JC, Tanasa B, Li W, *et al.* lncRNA-dependent mechanisms of androgen-receptor-regulated gene activation programs. *Nature* 2013; 500(7464): 598-602.
- 10 Shibata T, Hirohashi S. E-cadherin cell adhesion system in human cancer. *Seikagaku* 2006; 78(7): 647-56.
- 11 Lin Q, Aihara A, Chung W, Li Y, Chen X, Huang Z, *et al.* LRH1 promotes pancreatic cancer metastasis. *Cancer Lett* 2014; 350(1/2): 15-24.
- 12 Fu X, Ravindranath L, Tran N, Petrovics G, Srivastava S. Regulation of apoptosis by a prostate-specific and prostate cancer-associated noncoding gene, PCGEM1. *DNA Cell Biol* 2006; 25(3): 135-41.