

研究论文

长非编码RNA-UCA 1影响红细胞增殖

刘金花[#] 张英楠[#] 徐长禄 王冰蕊 黄鑫 赵艳红 马艺戈 高洁 佟静媛 李亚朴 石莉红*
(实验血液学国家重点实验室, 中国医学科学院/北京协和医学院血液病医院(血液学研究所), 天津 300020)

摘要 造血是一个高度协调、精密调控的过程。在正常造血分化过程中, lncRNA不仅调控造血干/祖细胞自我更新、分化、凋亡等过程, 还决定造血谱系分化命运。关于lncRNA在人的不同造血谱系分化中的功能以及作用机制的研究已比较深入, 但其在红系分化过程中的功能和机制的研究很少, 仍处于建立差异基因表达谱的阶段。现有的研究表明, lncRNA-UCA 1(urothelial cancer associated 1)作为原癌基因与多种癌症的发生、发展、转移、产生化疗耐药性等密切相关。该研究发现, 在体外诱导脐带血来源的CD34⁺干/祖细胞向红细胞分化的过程中, 采用慢病毒感染的方法敲降UCA 1的表达抑制了红细胞的增殖及活力, 对RNA-seq数据进一步分析发现, 降低UCA1的表达会影响与细胞周期相关基因的表达。

关键词 UCA 1; 红细胞; 增殖

LncRNA UCA 1 Regulates Erythrocyte Proliferation

Liu Jinhua[#], Zhang Yingnan[#], Xu Changlu, Wang Bingrui, Huang Xin, Zhao Yanhong,
Ma Yige, Gao Jie, Tong Jingyuan, Li Yapu, Shi Lihong*

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology, Blood Disease Hospital,
Chinese Academy of Medical Science & Peking Union Medical College, Tianjin 300020, China)

Abstract Hematopoietic system is a highly coordinated and precisely regulated process. It has been shown that lncRNAs are highly involved in hematopoietic development, including apoptosis, proliferation, differentiation of hematopoietic stem/progenitor cells and precursors of multi-lineage mature blood cells, which include lymphocytes (B-cell and T-cell), myelocytes (neutrophil, monocyte and macrophage), erythrocytes and megakaryocytes. The function and mechanism of lncRNAs in the different hematopoietic lineages of human were studied deeply. However, few studies have been reported on the function or mechanism of the regulation of lncRNAs in human erythrocyte development. UCA 1 is a long noncoding RNA (lncRNA) aberrantly expressed in a broad range of cancer tissues and cells, involving tumorigenic processes and regulating tumor cell proliferation

收稿日期: 2018-11-29 接受日期: 2018-12-17

国家重点研发计划(批准号: 2016YFA0102300、2017YFA0103100)、国家自然科学基金(批准号: 81870089、81700105)、中国医学科学院中央级公益性科研院所基本科研业务费(批准号: 2018PT31033)、开放课题(批准号: 157-Zk18-06)和中国医学科学院医学与健康科技创新工程(批准号: 2016-I2M-3-002、2016-I2M-1-018、2017-I2M-1-015)资助的课题

[#]共同第一作者

*通讯作者。Tel/Fax: 022-23909448, E-mail: shilihongxys@ihcams.ac.cn

Received: November 29, 2018 Accepted: December 17, 2018

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China Stem Cell and Translational Research (Grant No.2016YFA0102300, 2017YFA0103100), National Natural Science Foundation of China (Grant No.81870089, 81700105), CAMS Medical Epigenetics Research Center (Grant No.2018PT31033), Open Project (Grant No.157-Zk18-06) and CAMS Initiative for Innovative Medicine (Grant No.2016-I2M-3-002, 2016-I2M-1-018, 2017-I2M-1-015)

[#]These authors contributed equally to this work

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-22-23909448, E-mail: shilihongxys@ihcams.ac.cn

网络出版时间: 2019-02-21 11:09:41 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20190221.1109.006.html>

and metastasis. Here, our results show that UCA 1 depletion inhibits proliferation and cell vitality and further study reveal that cell cycle related genes are affected.

Keywords UCA 1; erythrocyte; proliferation

红细胞在体外分化过程依次经历红系爆式集落形成单位(BFU-E)、红系集落形成单位(CFU-E)、原始红、早幼红、中幼红、晚幼红、网织红细胞阶段并最终生成成熟的红细胞。BFU-E的生成标志着红细胞定向分化开始;网织红细胞脱核是红系终末分化结束的标志。BFU-E、CFU-E及部分原始红细胞是红细胞快速自我更新增殖阶段;红细胞分化成熟过程中,细胞体积逐渐缩小、胞核浓缩、富集血红蛋白,各种细胞器及核被“抛弃”最终变成只含有血红蛋白的成熟红细胞。体外诱导红细胞分化始终面临的两大难题:造血干/祖细胞增殖速率缓慢以及晚幼期红细胞的脱核率低。因此,体外培养的红细胞不能进行规模化、批量化生产且难以产生具有生理功能的成熟红细胞。

lncRNA作为转录调控网络的精细化调控元件和重要新成员,其在维持胚胎干细胞全能性、决定谱系分化命运、组织干细胞的多能性等生理过程中发挥作用^[1-5]。目前的研究结果表明,lncRNA在小鼠红系分化中有重要调控作用,但是绝大多数的作用机制仍不清楚。2011年,Hu等^[4]的研究发现,lncRNA-EPS通过抑制促凋亡基因*Pycard*的表达来抑制小鼠红细胞发生凋亡,促进其增殖和分化。2013年,Alvarez-Dominguez等^[6]在小鼠胎肝红细胞中发现了132个新的、红系特异的lncRNA,对其中12个进行了简单的功能验证,发现它们均在不同程度上影响红细胞的分化成熟。2015年,深入研究发现,其中的lncRNA EC6特异性结合*Rac1* mRNA 3'UTR区在转录后水平上抑制其表达,而减少的*Rac1*蛋白进一步抑制下游蛋白PIP5K表达,最终促进小鼠胎肝红细胞脱核^[7]。lncRNA在物种之间的保守性很差,在小鼠中对红系分化起重要调控作用的lncRNA在人类红细胞中大部分不表达^[8]。因此,小鼠红细胞分化过程中lncRNA的功能研究对人红细胞研究的借鉴意义不大。2016年,Villamizar等^[9]首次发现,lncRNA-Saf参与调控人红细胞分化中的凋亡过程。总之,关于lncRNA在红系分化中的功能和机制的研究很少,其研究状态仍处于建立差异基因表达谱的阶段。

LncRNA UCA 1(urothelial cancer associated 1)含有3个外显子及2个内含子,位于人染色体19p13.12上,是由Wang等^[10]于2006年首次提出并发现的,其在膀胱癌中高表达。随后在两个膀胱癌细胞系BLS-211及BLZ-211中证实了UCA 1的表达^[10]。UCA 1基因序列中含有多个终止密码子且不含有任何开放读码框(ORFs)。UCA 1含有3个不同的亚型,长度分别为1.4、2.2、2.7 Kb。大量的数据表明,UCA 1作为原癌基因与多种癌症(白血病、膀胱癌、乳腺癌、结肠癌、胃癌、卵巢癌、食管癌、肝癌、黑素瘤)的发生、发展、迁移、侵袭、耐药性的产生密切相关。UCA 1在这些发生癌症的组织中特异高表达,并作为诊断多种癌症的表面Marker以及治疗检测指标(膀胱癌、乳腺癌、结肠癌等)^[10-18]。在正常生理情况下,UCA 1仅在心脏和脾脏中特异性的表达^[11]。目前的研究主要集中在UCA 1在病理条件下发挥重要的功能,对其在正常生理条件下的功能鲜有研究报告。

我们前期的研究发现,UCA 1通过调控血红素的代谢过程影响了红细胞的分化进程^[19]。本研究发现,体外诱导脐带血来源的CD34⁺细胞向红细胞分化的过程中,采用慢病毒介导的UCA 1的敲减后,显著的抑制了红细胞的增殖、细胞的活力。在已发表的RNA-seq数据基础上进一步分析发现,降低UCA 1的表达影响了大部分与细胞周期相关基因的表达^[19]。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 HEK293T细胞购自美国ATCC公司并由本实验室保存。

1.1.2 实验材料 细胞培养基础培养基DMEM、胎牛血清、L-谷氨酰胺、青霉素-链霉素、丙酮酸钠等均购自美国Gibco公司;Ficol分离液、红细胞分化的基础培养液、Benzidine购自Sigma公司;CD34 Microbeads购自Miltenyi Biotec;FuGENEE HD转染试剂、T4 DNA ligase购自Promega公司;Wright-Giemsa购自Baso公司;纯化试剂盒购自康为世纪生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 体外分离脐带血来源的CD34⁺细胞 在获得家属知情同意后,我们将从天津妇产医院获得的脐带血与羟乙基淀粉按5:1比例置于血浆瓶中充分混匀,静置沉降40 min;将去除红细胞的脐血置于含有Ficol分离液的50 mL离心管中,1 700 r/min离心20 min;弃上清后小心收集单个核细胞(白层膜)于新的50 mL离心管中,并用分选buffer重悬后于2 000 r/min离心10 min;弃上清,每10⁸个细胞按300 μL分选buffer重悬同时加入100 μL Fc-R阻断剂和100 μL CD34磁珠,充分混匀后4 °C避光孵育30 min,孵育结束后用分选buffer重悬,离心。弃上清,用500 μL分选buffer重悬,用MS柱通过梯度磁场分离CD34⁺细胞。

1.2.2 体外诱导CD34⁺向红细胞分化 将分离出来的脐血CD34⁺细胞在体外诱导向红系分化^[20]。分化的第一阶段(第0天到第7天)添加5 ng/mL的白介素-3(IL-3)、1 μmol/L氢化可的松、100 ng/mL的干细胞因子和3 U/mL的促红细胞生成素。分化的第二阶段(第8天到第13天),基本培养液中仅含有3 U/mL的促红细胞生成素和100 ng/mL的干细胞因子。分化的第三阶段(第14天到第18天),基本培养液仅含有3 U/mL的促红细胞生成素。基本培养液是在IMDM细胞培养液中补充10% BIT、200 mmol/L的L-谷氨酰胺、40 μg/mL的肌醇、10 μg/mL叶酸、900 ng/mL的硝酸亚铁、90 ng/mL的硫酸亚铁和160 μmol/L硫代甘油。

1.2.3 Wright-Giemsa、Benzidine染色 Wright-Giemsa染色用来观察红细胞形态变化(细胞大小、核大小、核浓缩情况),将100 μL瑞士染液滴加于细胞玻片上染色30 s后,滴加200 μL磷酸缓冲液并用洗耳球与瑞士染液吹匀,染色20 min;用水冲洗干净细胞玻片后晾干,于显微镜下观察。

Benzidine染色将细胞玻片用甲醇固定4 min,将玻片转移到Benzidine染液中,染色2 min;H₂O₂溶液染色1.5 min;去离子水洗30 s;取出晾干,于显微镜下观察。

1.2.4 质粒构建 将设计好的寡核苷酸单链退火形成双链。用Age I和EcoR I对pLKO.1空载进行双酶切后采用纯化试剂盒进行纯化。将纯化后产物与退火双链产物采用T4 DNA ligase进行4 °C连接过夜。连接产物转化后进行阳性克隆鉴定并测序验证。测序成功后中提质粒,以备病毒包装。

1.2.5 病毒包装及感染 将293T细胞种在10 cm的平皿里,24 h后待细胞密度达到80%以上开始进行转染。4.5 μg pPSPAX2、1.5 μg pMD2G两个包装质粒分别与6 μg pLKO.1对照组及sh-UCA1组合,采用FuGENEE HD转染试剂进行转染。12 h后换成含30% FBS的培养液,48 h后收集上清进行超高速离心,并将病毒沉淀进行100倍浓缩。体外培养的CD34⁺细胞在分化的第4天开始添加病毒以及8 ng/mL聚凝胺,在1 420 ×g、37 °C条件下离心60 min进行病毒感染。感染48 h后开始采用嘌呤霉素持续药筛。

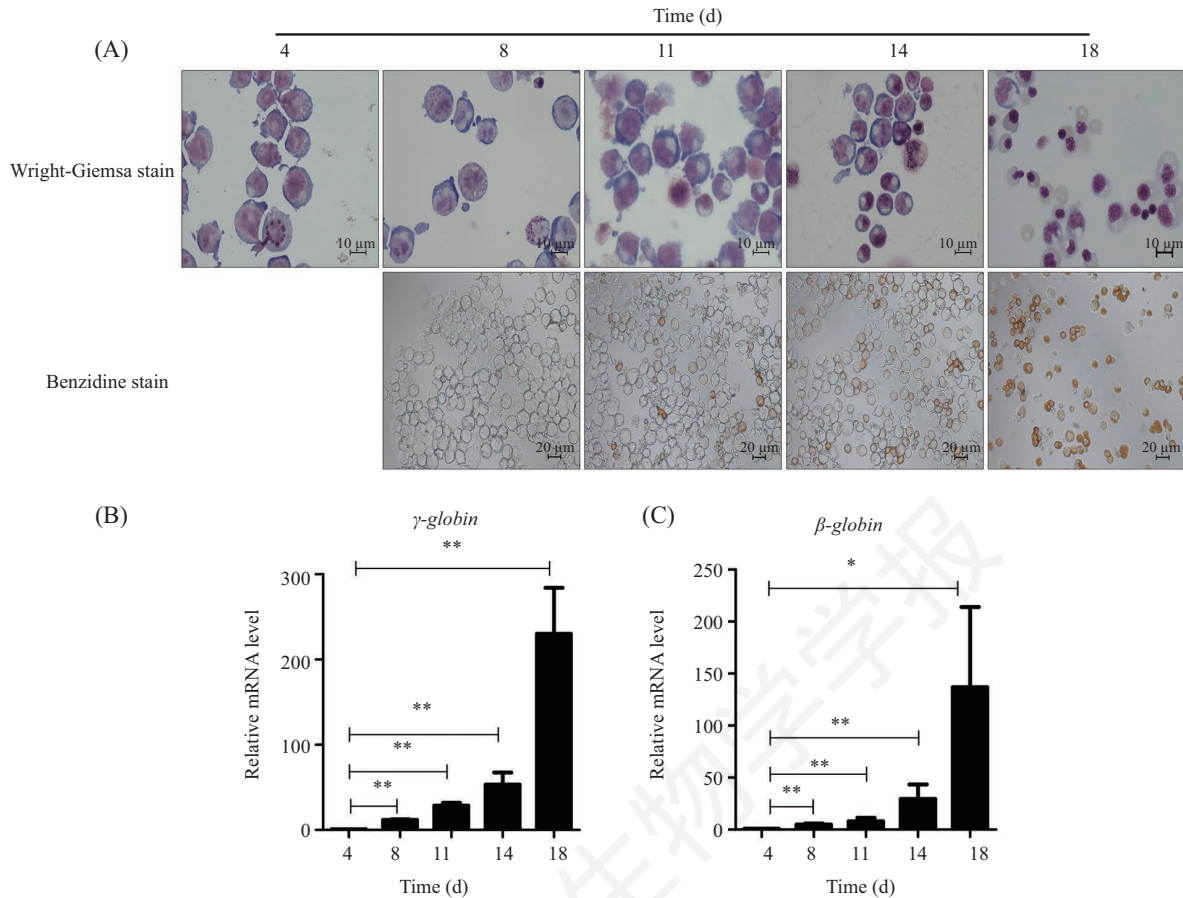
2 结果

2.1 体外成功构建了脐带血来源的造血前体细胞向红细胞分化的模型体系

利用Wright-Giemsa染色方法从形态学上观察红细胞的定向分化,在这一诱导分化体系中:第4天,绝大部分细胞处于CFU-E阶段;第8天,90%的细胞处于原始红细胞阶段;第11天,细胞处于分化中期,包括了大部分的早幼红细胞和大约30%的中幼红细胞;第14天,绝大部分细胞是晚幼红细胞并包括约25%的网织红细胞(图1A);第18天,有脱核的红细胞产生。采用该方法可以观察到随着红细胞分化成熟,细胞以及核在逐渐缩小;采用Benzidine染色法,发现随着分化成熟,红细胞中血红蛋白含量逐渐升高(图1A)。另外,在红系分化过程中,γ-globin、β-globin的表达也是随着红系分化成熟而显著上调(图1B和图1C)。因此,我们成功构建了脐带血来源的CD34⁺造血前体细胞向红细胞分化的模型体系:红细胞分化过程中细胞以及核的体积逐渐变小、血红蛋白含量升高以及发生脱核。

2.2 敲降UCA 1的表达抑制红细胞增殖

为了探索UCA 1在红细胞分化中的功能,我们首先采用慢病毒对脐带血来源的CD34⁺向红系分化第4天的细胞进行感染以敲降UCA 1的表达,并分别对第8、11、14天细胞进行计数及细胞中RNA的提取(图2A)。qRT-PCR结果显示,加入慢病毒感染后在红细胞分化的第8、11、14天,UCA 1的敲降效果高于50%(图2B)。利用锥虫蓝染色法对分化到第8、11、14天细胞的增殖情况以及细胞的活力进行检测。实验结果显示,从分化的第11天开始UCA 1敲降细胞株的增殖速度显著低于对照组细胞(图2C),而在分化的第11、14天UCA 1敲降的细胞株的存活



A: Wright-Giemsa染色显示, 随着细胞分化的进程红细胞形态的变化; Benzidine染色显示, 随着红细胞分化细胞中血红蛋白表达含量显著上升; B、C: qRT-PCR方法显示, 随着红细胞的分化成熟 γ -globin和 β -globin的表达显著上调。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

A: Wright-Giemsa and benzidine staining showed the morphological changes and hemoglobin production during erythroid differentiation; B,C: qRT-PCR showed that γ -globin and β -globin expression was significantly increased during erythroid differentiation. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图1 建立脐带血造血前体CD34⁺细胞向红细胞分化体系

Fig.1 Establishment the system of human erythroid differentiated from hematopoietic cord blood progenitor CD34⁺ cells *ex vivo*

率降低(由80%左右降低到65%)(图2D)。因此, 在脐带血来源的CD34⁺细胞向红细胞分化的过程中, 敲降UCA 1的表达抑制了红细胞的增殖并影响了细胞的活力。

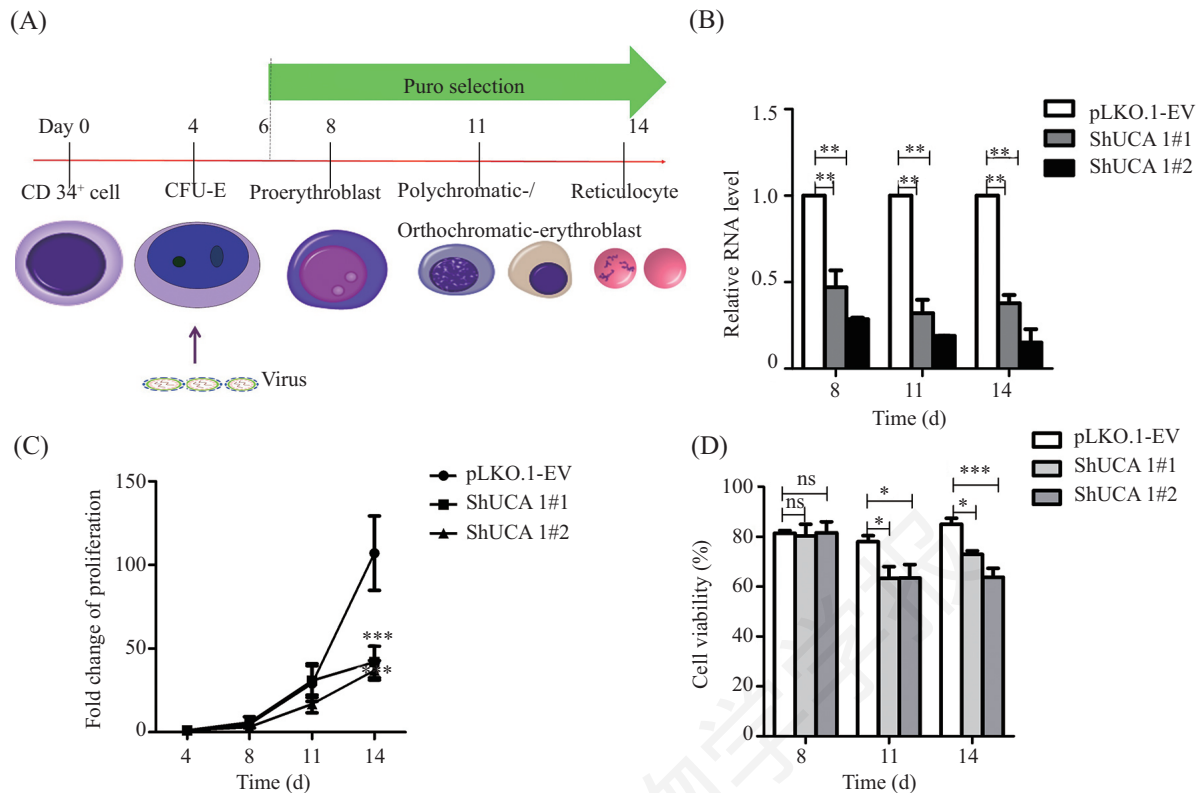
2.3 敲降UCA 1的表达抑制细胞周期相关基因表达

为了探索UCA 1影响红细胞增殖的机制, 我们对已有的敲降UCA 1并分化到第8天的红细胞的RNA-seq数据进行了进一步的分析^[19]。细胞的增殖是受细胞周期严格调控的, 因此我们富集了与细胞周期调控相关的基因并制作了热图(heatmap), 其中UCA 1敲降组和对照组均有两个生物学重复(图3A)。分析heatmap结果发现, 细胞周期相关的基因在UCA 1敲降后大部分呈显著下调。其中调控细胞周期的重要基因CDK1、CDK2、CDCA8、CDC7、

CDC73、MYC的FPKM(fragments per kilobase of transcript per million)值显著下降(图3B~图3G)。因此推断, UCA 1的敲降直接或者间接影响了周期相关基因的表达进而影响了红细胞的增殖。

3 讨论

随着全球经济飞速发展以及医疗水平的不断提高, 全世界均面临着血液供应不足的困境^[21]。血液输注主要是红细胞, 是临床上治疗严重贫血和急性失血的有效手段, 而体外诱导造血前体CD34⁺细胞分化为红细胞可成为有效解决问题的方法之一。目前此技术用于临床面临的两大难题分别是造血干/祖细胞增殖速率缓慢以及晚幼期红细胞的脱核率低, 难以产生生理功能成熟的红细胞, 因此产生红细胞的数量难以达到输血的标准。我们的研究发现,



A: UCA 1病毒感染细胞并加药的流程图, 即在红细胞分化的第4天感染病毒, 并在第6天开始持续用嘌呤霉素进行药筛; B: qRT-PCR方法检测UCA 1病毒感染红细胞后其敲降效果; C、D: 细胞计数以及台盼蓝染色法检测UCA 1敲降后细胞的增殖以及活力。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns: 无显著性差异。

A: chart showed the process of CD34⁺ infected with lentiviral and selected with puromycin; B: the relative UCA 1 expression was quantitated by qRT-PCR with lenti-ctrl or lenti-shUCA 1 infected primary erythroid cells; C,D: cell counts and trypan blue staining analysis the proliferation and cell vitality after knockdown UCA 1. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns: no significance.

图2 红细胞分化过程中降低UCA 1的表达抑制红细胞的增殖以及细胞的活力

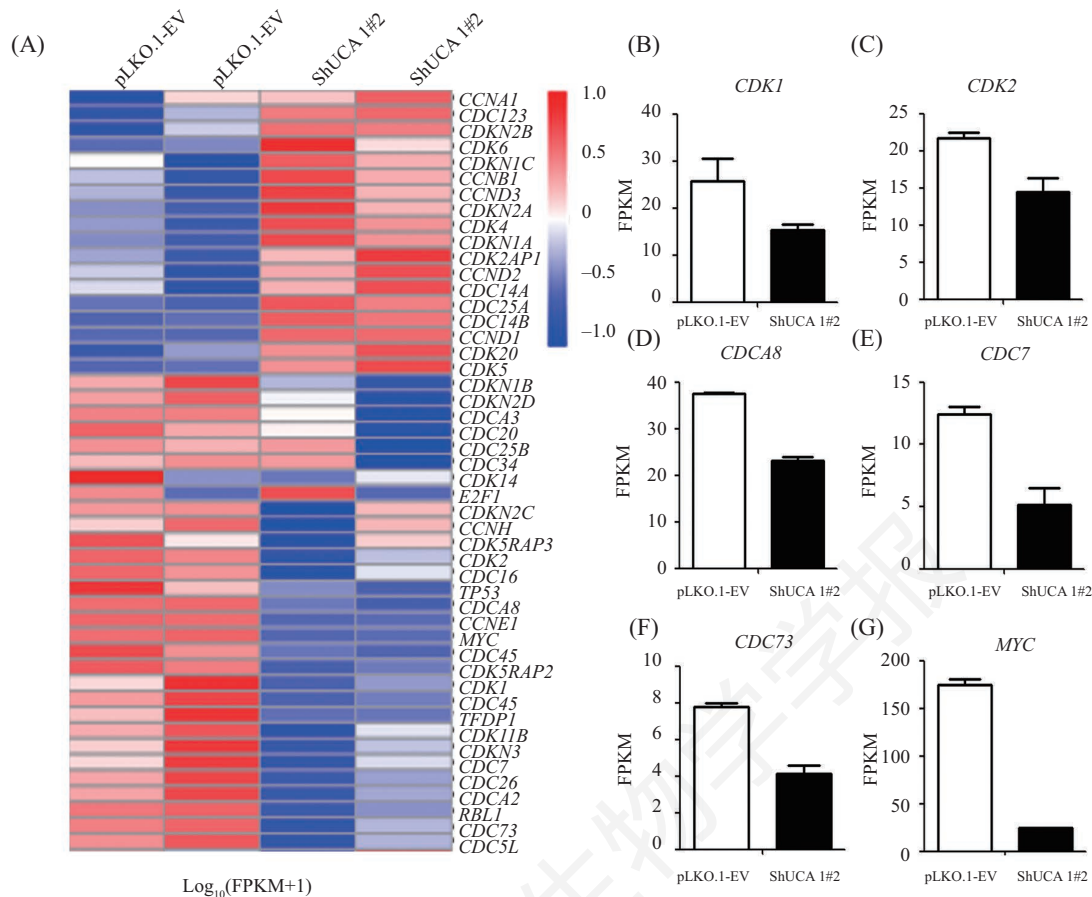
Fig.2 UCA 1 depletion inhibits proliferation and cell vitality during erythroid maturation

在体外诱导CD34⁺向红细胞分化过程中, 敲降UCA 1的表达显著抑制红细胞的增殖。因此, 在体外诱导CD34⁺红系分化过程中, 我们可以通过慢病毒介导过表达UCA 1, 或加入促UCA 1表达的可溶性分子, 或加入可以结合启动子区并激活UCA 1表达的sgRNA等方法来促进红细胞的增殖。

UCA 1是在膀胱癌中首次发现的, 随后大量的研究表明, UCA 1在多种癌症中异常高表达且参与癌症细胞的增殖、迁移、侵袭及产生耐药性过程^[22]。例如, UCA 1通过激活KLF4-KRT6/13信号通路促进前列腺癌细胞增殖, 且UCA 1的高表达加速了前列腺癌疾病的进程^[23]。肝癌细胞中UCA 1通过抑制miR-216b及激活FEFR1/ERK信号通路而促进肝癌细胞的增殖及癌症进展^[12]。尽管UCA 1在各种癌症中高表达, 但其在正常胚胎形成过程及后期的个体发育过程中在各个组织和器官中的表达是动态变化的。在妊娠期5~10周UCA 1是高

表达的, 28周后在膀胱、心脏、子宫中高表达, 在肾脏、肝脏、肺、肠、脾脏以及胃中低表达, 而在成人组织中仅在心脏和脾中高表达, 在其他组织的表达量很低^[10-11]。

尽管UCA 1的致癌功能已经得到了广泛的研究, 但其在机体正常发育以及在分化中的功能却鲜有报导。我们前期研究发现, UCA 1通过调控血红素的代谢过程而影响正常红细胞的分化过程^[19]。在本研究中我们发现, UCA 1促进红细胞的增殖, 进一步对RNA-seq数据分析发现, 与细胞周期相关的大部分基因都在下调。例如, 降低了UCA 1的表达显著的抑制了对细胞周期有重要调控作用的基因MYC、CDK1以及CDK2的表达。由此, UCA 1可能是因为影响了细胞周期相关蛋白的表达进而影响了红细胞的增殖。因此, 本研究进一步丰富了我们对于UCA 1在正常生理下的功能的认知, 也加深了对UCA 1在红细胞发育过程中的调控机制的了解。



A: Heatmap显示CD34⁺向红细胞分化过程中降低UCA 1的表达后与细胞周期相关基因的表达变化。对照组和UCA 1敲降组均含两个重复组。B-G: RNA-seq结果分析与细胞周期调控相关的基因CDK1、CDK2、CDC48、CDC7、CDC73、MYC的FPKM值。

A: the heatmap depicts cell cycle related genes profiling with two replicates after UCA 1 depletion in differentiated erythroblasts at day 8; B-G: RNA-seq data showing the expression of cell cycle related genes' expressions after UCA 1 depletion.

图3 红细胞分化过程中降低UCA 1的表达影响细胞周期相关基因的表达

Fig.3 UCA 1 depletion affects the expression of cell cycle related genes during erythroid differentiation

参考文献 (References)

- Wagner LA, Christensen CJ, Dunn DM, Spangrude GJ, Georgelas A, Kelley L, *et al.* EGO, a novel, noncoding RNA gene, regulates eosinophil granule protein transcript expression. *Blood* 2007; 109(12): 5191-8.
- Zhang X, Lian Z, Padden C, Gerstein MB, Rozowsky J, Snyder M, *et al.* A myelopoiesis-associated regulatory intergenic noncoding RNA transcript within the human HOXA cluster. *Blood* 2009; 113(11): 2526-34.
- Aoki K, Harashima A, Sano M, Yokoi T, Nakamura S, Kibata M, *et al.* A thymus-specific noncoding RNA, Thy-ncR1, is a cytoplasmic riboregulator of MFAP4 mRNA in immature T-cell lines. *BMC Mol Biol* 2010; 11: 99.
- Hu W, Yuan B, Flygare J, Lodish HF. Long noncoding RNA-mediated anti-apoptotic activity in murine erythroid terminal differentiation. *Genes Dev* 2011; 25(24): 2573-8.
- Han BW, Chen YQ. Potential pathological and functional links between long noncoding RNAs and hematopoiesis. *Sci Signal* 2013; 6(289): re5.
- Alvarez-Dominguez JR, Hu W, Yuan B, Shi J, Park SS, Gromatzky AA, *et al.* Global discovery of erythroid long noncoding RNAs reveals novel regulators of red cell maturation. *Blood* 2014; 123(4): 570-81.
- Wang C, Wu X, Shen F, Li Y, Zhang Y, Yu D. Shlnc-EC6 regulates murine erythroid enucleation by Rac1-PIP5K pathway. *Dev Growth Differ* 2015; 57(6): 466-73.
- Paralkar VR, Mishra T, Luan J, Yao Y, Kossenkov AV, Anderson SM, *et al.* Lineage and species-specific long noncoding RNAs during erythro-megakaryocytic development. *Blood* 2014; 123(12): 1927-37.
- Villamizar O, Chambers CB, Mo YY, Torry DS, Hofstrand R, Riberdy JM, *et al.* Fas-antisense long noncoding RNA is differentially expressed during maturation of human erythrocytes and confers resistance to Fas-mediated cell death. *Blood Cells Mol Dis* 2016; 58: 57-66.
- Wang XS, Zhang Z, Wang HC, Cai JL, Xu QW, Li MQ, *et al.* Rapid identification of UCA1 as a very sensitive and specific unique marker for human bladder carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12(16): 4851-8.
- Wang F, Li X, Xie X, Zhao L, Chen W. UCA1, a non-protein-coding RNA up-regulated in bladder carcinoma and embryo, influencing cell growth and promoting invasion. *FEBS Lett* 2008;

- 582(13): 1919-27.
- 12 Wang F, Ying HQ, He BS, Pan YQ, Deng QW, Sun HL, *et al.* Upregulated lncRNA-UCA1 contributes to progression of hepatocellular carcinoma through inhibition of miR-216b and activation of FGFR1/ERK signaling pathway. *Oncotarget* 2015; 6(10): 7899-917.
- 13 Wang F, Zhou J, Xie X, Hu J, Chen L, Hu Q, *et al.* Involvement of SRPK1 in cisplatin resistance related to long non-coding RNA UCA1 in human ovarian cancer cells. *Neoplasma* 2015; 62(3): 432-8.
- 14 Huang J, Zhou N, Watabe K, Lu Z, Wu F, Xu M, *et al.* Long non-coding RNA UCA1 promotes breast tumor growth by suppression of p27 (Kip1). *Cell Death Dis* 2014; 5: e1008.
- 15 Han Y, Yang YN, Yuan HH, Zhang TT, Sui H, Wei XL, *et al.* UCA1, a long non-coding RNA up-regulated in colorectal cancer influences cell proliferation, apoptosis and cell cycle distribution. *Pathology* 2014; 46(5): 396-401.
- 16 Zheng Q, Wu F, Dai WY, Zheng DC, Zheng C, Ye H, *et al.* Aberrant expression of UCA1 in gastric cancer and its clinical significance. *Clin Transl Oncol* 2015; 17(8): 640-6.
- 17 Li JY, Ma X, Zhang CB. Overexpression of long non-coding RNA UCA1 predicts a poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7(11): 7938-44.
- 18 Tian Y, Zhang X, Hao Y, Fang Z, He Y. Potential roles of abnormally expressed long noncoding RNA UCA1 and Malat-1 in metastasis of melanoma. *Melanoma Res* 2014; 24(4): 335-41.
- 19 Liu J, Li Y, Tong J, Gao J, Guo Q, Zhang L, *et al.* Long non-coding RNA-dependent mechanism to regulate heme biosynthesis and erythrocyte development. *Nat Commun* 2018; 9(1): 4386.
- 20 Shi L, Cui S, Engel JD, Tanabe O. Lysine-specific demethylase 1 is a therapeutic target for fetal hemoglobin induction. *Nat Med* 2013; 19(3): 291-4.
- 21 Togarrati PP, Suknuntha K. Generation of mature hematopoietic cells from human pluripotent stem cells. *Int J Hematol* 2012; 95(6): 617-23.
- 22 Wang H, Guan Z, He K, Qian J, Cao J, Teng L. LncRNA UCA1 in anti-cancer drug resistance. *Oncotarget* 2017; 8(38): 64638-50.
- 23 Na XY, Liu ZY, Ren PP, Yu R, Shang XS. Long non-coding RNA UCA1 contributes to the progression of prostate cancer and regulates proliferation through KLF4-KRT6/13 signaling pathway. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8(8): 12609-16.