

引用本文:陈朝琴,薛治乾,李文霞.长链非编码SNHG15靶向miR-141对甲状腺癌细胞侵袭及凋亡的影响研究[J].安徽医药,2021,25(10):2075-2079.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.10.039.

◇临床医学◇



## 长链非编码SNHG15靶向miR-141对甲状腺癌细胞侵袭及凋亡的影响研究

陈朝琴<sup>a</sup>,薛治乾<sup>b</sup>,李文霞<sup>a</sup>

作者单位:儋州市人民医院,<sup>a</sup>内分泌科,<sup>b</sup>病理科,海南 儋州 571700

通信作者:李文霞,女,副主任医师,研究方向为常见老年病的临床与基础,Email:yo75ye@163.com

**摘要:** **目的** 探讨长链非编码(lncRNA)核仁小RNA宿主基因15(SNHG15)靶向调节微小RNA-141(miR-141)对甲状腺癌细胞侵袭、凋亡影响及机制。**方法** 本研究起止时间为2018年10月至2019年5月,参照Lipofectamine 2000说明将SNHG15小干扰RNA(siRNA)、siRNA阴性对照(siRNA control)、miR-141抑制剂(miR-141 inhibitor)或抑制剂阴性对照(inhibitor control)转染至甲状腺癌FRO细胞,细胞随机分组空白对照(si-control)组、转染阴性对照(si-NC)组、转染SNHG15 siRNA(si-SNHG15)组、转染SNHG15 siRNA和inhibitor control(si-SNHG15+anti-control)组和转染SNHG15 siRNA和miR-141 inhibitor(si-SNHG15+anti-miR-141)组,转染48 h,qRT-PCR检测SNHG15和miR-141 mRNA表达;Transwell小室及流式细胞术分别检测细胞侵袭能力及凋亡率;双荧光素酶报告系统检测SNHG15和miR-141的靶向关系。Western blotting检测上皮钙黏素(E-cadherin)、B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)和Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白表达。**结果** 与si-control组比较,si-SNHG15组中SNHG15 mRNA表达[(1.000)比(0.263±0.032)]明显降低,细胞侵袭能力[(168.6±7.1)个比(78.2±3.3)个]明显降低,凋亡率[(4.31±0.42)%比(33.11±1.69)%]明显升高,E-cadherin[(0.105±0.011)比(0.602±0.058)]和Bax表达[(0.049±0.008)比(0.263±0.028)]明显升高,Bcl-2表达[(0.587±0.063)比(0.131±0.015)]明显降低( $P<0.05$ )。SNHG15与miR-141存在靶向关系。与si-SNHG15+anti-control组比较,si-SNHG15+anti-miR-141组细胞侵袭能力[(79.9±4.2)个比(130.3±5.2)个]明显升高,凋亡率[(34.08±1.63)%比(15.66±0.87)%]降低,E-cadherin[(0.641±0.062)比(0.309±0.032)]和Bax表达[(0.282±0.030)比(0.144±0.015)]明显降低,Bcl-2表达[(0.138±0.017)比(0.478±0.052)]明显升高( $P<0.05$ )。**结论** lncRNA SNHG15可靶向调节miR-141影响甲状腺癌细胞侵袭和凋亡,机制与调节E-cadherin、Bcl-2和Bax表达有关。

**关键词:** 甲状腺肿瘤; RNA,长链非编码; RNA,小核仁; 长链非编码核仁小RNA宿主基因15; 微小RNA-141; 侵袭; 凋亡

### Effects of long-chain non-coding SNHG15 targeting miR-141 on invasion and apoptosis of thyroid cancer cells

CHEN Chaoqin<sup>a</sup>,XUE Zhiqian<sup>b</sup>,LI Wenxia<sup>a</sup>

Author Affiliation:<sup>a</sup>Department of Endocrinology,<sup>b</sup>Department of Pathology, Danzhou People's Hospital, Danzhou, Hainan 571700,China

**Abstract:** **Objective** To explore the effect of long-chain non-coding RNA (lncRNA) small nucleolar RNA host gene 15 (SNHG15) targeting miR-141 on invasion and apoptosis of thyroid cancer and its mechanism.**Methods** This research started from October 2018 and ended in May 2019. According to Lipofectamine 2000, SNHG15 small interfering RNA (siRNA), siRNA negative control (siRNA control), miR-141 inhibitor (miR-141 inhibitor) or Inhibitor negative control (inhibitor control) was transfected into thyroid cancer FRO cells. The cells were randomly assigned into blank control (si-control) group, transfection negative control (si-NC) group, transfection of SNHG15 siRNA (si-SNHG15) group, transfection of SNHG15 siRNA and inhibitor control (si-SNHG15+anti-control) group and transfection of SNHG15 siRNA and miR-141 inhibitor (si-SNHG15+anti-miR-141) group. Cells were transfected for 48 hours, and the expressions of SNHG15 and miR-141 were detected by qRT-PCR. The invasive ability and apoptotic rate of cells were detected by Transwell chamber and flow cytometry. The targeting relationship between SNHG15 and miR-141 was detected by double luciferase reporting system. Western blotting was used to detect the expressions of E-cadherin, B-cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2) and Bcl-2 related X protein (Bax) proteins.**Results** In the si-SNHG15 group, by comparison with the si-control group, the expressions of SNHG15 mRNA [(1.000) vs (0.263±0.032)] and Bcl-2 [(0.587±0.063) vs (0.131±0.015)] and the cell invasion ability [(168.6±7.1) vs (78.2±3.3)] were significantly lower, , while the apoptotic rate [(4.31±0.42) % vs (33.11±1.69)%], and the expressions of E-cadherin [(0.105±0.011) vs (0.602±0.058)] and Bax [(0.049±0.008) vs (0.263±0.028)] were significantly higher ( $P<0.05$ ). SNHG15 had a targeting relationship

with miR-141. In the si-SNHG15+anti-miR-141 group, by comparison with the si-SNHG15+anti-control group, the cell invasion ability  $[(79.9 \pm 4.2) \text{ vs } (130.3 \pm 5.2)]$  and Bcl-2 expression  $[(0.138 \pm 0.017) \text{ vs } (0.478 \pm 0.052)]$  were significantly higher, while the apoptosis rate  $[(34.08 \pm 1.63)\% \text{ vs } (15.66 \pm 0.87)\%]$ , and the expressions of E-cadherin  $[(0.641 \pm 0.062) \text{ vs } (0.309 \pm 0.032)]$  and Bax  $[(0.282 \pm 0.030) \text{ vs } (0.144 \pm 0.015)]$  were significantly lower ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** lncRNA SNHG15 can target miR-141 to affect the invasion and apoptosis of thyroid cancer cells, and its mechanism is related to regulating the expressions of E-cadherin, Bcl-2 and Bax.

**Key words:** Thyroid neoplasms; RNA, long noncoding; RNA, small nucleolar; LncRNA SNHG15; MicroRNA-141; Invasion; Apoptosis

甲状腺癌是头颈部肿瘤及内分泌系统中最常见的恶性肿瘤,女性发病率高于男性。甲状腺癌的发病率在全球范围内呈现持续快速增长趋势<sup>[1]</sup>。近些年来,分子靶向治疗肿瘤成为研究热点。长链非编码RNA(lncRNA)是一类转录本长度大于200 nt的非编码RNA,在多种肿瘤中以原癌基因或抑癌基因形式存在,参与肿瘤发生和发展<sup>[2-3]</sup>。lncRNA核仁小RNA宿主基因15(SNHG15)定位于7p13染色体上,与乳腺癌、胰腺癌、骨肉瘤等多种肿瘤细胞生长有关<sup>[4-6]</sup>。研究显示,lncRNA SNHG15在甲状腺癌细胞中表达升高,抑制lncRNA SNHG15表达可降低细胞增殖能力,并诱导细胞凋亡<sup>[7]</sup>,但其对甲状腺癌细胞侵袭、凋亡的分子机制尚未明确。生物信息学预测显示,miR-141是lncRNA SNHG15的靶基因。本研究起止时间为2018年10月至2019年5月,以甲状腺癌FRO细胞为研究对象,旨在探讨lncRNA SNHG15是否通过调控miR-141表达影响甲状腺癌细胞的侵袭和凋亡。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂和仪器** 人甲状腺癌FRO细胞购自美国ATCC。DMEM培养基、FBS均购自美国Gibco公司;实时荧光定量PCR试剂盒及反转录试剂盒均购自日本TaKaRa公司;SNHG15小干扰RNA(si-SNHG15)、miR-141抑制剂inhibitor(anti-miR-141)及miR-141模拟物(mimics)均由上海吉玛制药技术有限公司合成;Transwell小室购自美国corning公司;细胞凋亡试剂盒及流式细胞仪均购自美国BD公司;鼠抗人上皮钙黏素(E-cadherin)单抗、鼠抗人B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)单抗、鼠抗人Bcl-2相关X蛋白(Bax)单抗及HRP标记的二抗均购自美国CST;二喹啉甲酸(BCA)蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天公司。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

**1.2 细胞培养** FRO细胞在含10% FBS的DMEM培养基中,于5%体积分数二氧化碳、饱和湿度及37℃培养箱中常规培养、传代。选择生长至对数期的细胞进行试验研究。

**1.3 转染** 待FRO细胞生长至对数期后,以 $3 \times 10^5$ 个/孔接种于6孔板中,37℃培养箱过夜,使转染时

细胞达到70%~80%的生长融合度。参照Lipofectamine 2000试剂盒(美国Invitrogen)说明,将SNHG15小干扰RNA(siRNA)、siRNA阴性对照(siRNA control)、miR-141抑制剂(miR-141 inhibitor)或抑制剂阴性对照(inhibitor control)转染至甲状腺癌FRO细胞,细胞随机分组空白对照(si-control)组、转染阴性对照(si-NC)组、转染SNHG15 siRNA(si-SNHG15)组、转染SNHG15 siRNA和inhibitor control(si-SNHG15+anti-control)组和转染SNHG15 siRNA和miR-141 inhibitor(si-SNHG15+anti-miR-141)组。转染48 h,收集细胞用于后续研究。

**1.4 qRT-PCR实验** 提取细胞总RNA,并逆转录合成cDNA。以cDNA为模板,参照PCR试剂盒设置反应条件,反应体系为20 μL,采用实时荧光定量PCR仪进行扩增。SNHG15:正向引物5'-CAACCATAGCGGTGCAAC TGTGC-3',反向引物3'-GGCTGAACCAAGTTGCAAGTC ATG-5'。SNHG15内参GAPDH:正向引物5'-CAGTGCCAGCCTCGCTTAT-3',反向引物:3'-AGGGGCCATCCACAGTCTTC-5'。miR-141:正向引物5'-GGGCATCTTCCAGTACAGT-3',反向引物3'-CAGTGCGTGTCTG TGGAGT-5'。miR-141内参U6:正向引物5'-CTCGCTTCGGCAGCACATATACT-3',反向引物3'-ACGCTTCACGAATTTGCGTGTC-5'。

以检测所得到的Ct均值,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算SNHG15和miR-141的相对表达量。每组设置6个复孔,实验重复3次。

**1.5 细胞侵袭能力检测** 采用Transwell实验检测甲状腺癌细胞的侵袭能力。Transwell小室上室接种 $5 \times 10^4$ 个含无血清培养基的细胞,下室装含有10% FBS的培养基。37℃条件下孵育细胞48 h,甲醇固定,结晶紫染色,棉签轻轻擦除小室内基底膜的细胞。显微镜下每膜随机选择5个视野,计数穿膜细胞数。取均值,实验重复3次。

**1.6 细胞凋亡检测** 收集转染后的细胞,制备成单细胞悬液,并将细胞浓度调整为 $5 \times 10^5$ 个/毫升。取1 mL细胞,离心,弃掉上清,预冷的PBS洗涤细胞,离心,弃掉上清,加200 μL的结合缓冲液重悬细胞,然后再加入Annexin V-FITC和PI各5 μL,轻柔混匀,室

湿条件下避光反应 15 min, 1 h 内, 通过流式细胞仪检测。实验重复 3 次, 取均值, 计算细胞的凋亡率。

**1.7 荧光素酶报告实验** Diana Tools、Starbase 和 TargetScan 靶基因软件显示 SNHG15 与 miR-141 有可结合的位点, 构建野生型 (WT) 及突变型 (MUT) SNHG15 载体, 与 miR-141 mimics 共转染进 FRO 细胞。按照荧光素酶活性检测试剂盒说明检测 FRO 细胞荧光素酶活性。相对荧光素酶活性=萤火虫荧光素酶活性值/海參荧光素酶活性值。

**1.8 蛋白表达检测** 细胞中加入适量蛋白裂解液提取总蛋白, BCA 法测定蛋白浓度。蛋白于 100 ℃ 变性 5 min, 每孔道上样 30 μg 变性蛋白, 12% SDS-PAGE 分离蛋白, 常规湿法转膜, 然后加 5% 脱脂奶粉封闭膜 2 h, 洗膜, 加 E-cadherin、Bcl-2、Bax 及内参 GAPDH 一抗 (1:500), 4 ℃ 孵育过夜, 洗膜, 加二抗 (HRP 标记的羊抗鼠), 37 ℃ 摇床震荡封闭 1 h, 加入 ECL 液, 凝胶成像系统曝光, Quantity One 软件对蛋白印迹条带定量。以检测的目的蛋白与 GAPDH 蛋白灰度值比值为各蛋白的相对表达量。实验重复 3 次。

**1.9 统计学方法** 所有实验数据采用 SPSS 21.0 软件进行分析。观测资料主要为计量资料, 用  $\bar{x} \pm s$  表示, 多组差异比较采用单因素方差分析, 两两比较采 SNK-*q* 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 抑制 SNHG15 表达对 FRO 细胞侵袭能力的影响** qRT-PCR 结果显示, si-SNHG15 转染 FRO 细胞 48 h, SNHG15 mRNA 表达明显低于 si-control 组 ( $P < 0.05$ ), 而 si-NC 组 SNHG15 mRNA 表达与 si-control 组差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。Transwell 小室检测细胞侵袭结果显示, 与 si-control 组比较, si-SNHG15 组细胞侵袭能力明显降低 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 抑制 SNHG15 表达后 FRO 细胞 SNHG15 mRNA 表达及侵袭细胞数  $\bar{x} \pm s$

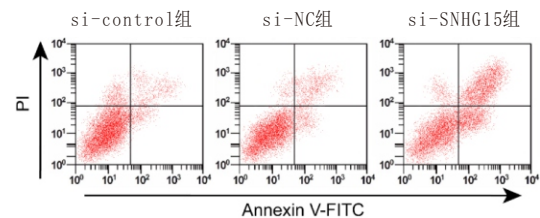
| 组别         | 重复次数 | SNHG15 mRNA              | 侵袭细胞数                 |
|------------|------|--------------------------|-----------------------|
| si-control | 6    | 1                        | 168.6±7.1             |
| si-NC      | 6    | 0.991±0.099              | 165.9±6.4             |
| si-SNHG15  | 6    | 0.263±0.032 <sup>①</sup> | 78.2±3.3 <sup>①</sup> |
| <i>F</i> 值 |      | 119.542                  | 256.934               |
| <i>P</i> 值 |      | 0.000                    | 0.000                 |

注: SNHG15 为 lncRNA 核仁小 RNA 宿主基因 15, si-control 为空白对照组, si-NC 为转染阴性对照组, si-SNHG15 为转染 SNHG15 siRNA 组。

①与 si-control 组比较,  $P < 0.05$ 。

**2.2 抑制 SNHG15 表达对 FRO 细胞凋亡的影响** Annexin V-FITC/PI 双染后流式细胞仪检测结果显示, 与 si-control 组 (4.31±0.42)% 和 si-NC 组 (4.68±0.53)% 比较, si-SNHG15 组 FRO 细胞凋亡率 (33.11±

1.69)% 明显升高 ( $P < 0.05$ )。见图 1。



注: SNHG15 为 lncRNA 核仁小 RNA 宿主基因 15, si-control 为空白对照组, si-NC 为转染阴性对照组, si-SNHG15 为转染 SNHG15 siRNA 组。

图 1 抑制 SNHG15 表达后 FRO 细胞凋亡图

**2.3 靶向关系验证** 经生物信息学分析发现, SNHG15 和 miR-141 存在可结合的位点 (图 2)。将 SNHG15 野生型 (SNHG15-WT) 及 SNHG15 突变型 (SNHG15-MUT) 分别与 miR-141 mimics 共转染 FRO 细胞, 双荧光素酶报告实验显示, SNHG15-WT 与 miR-141 mimics 共转染 FRO 细胞后, 荧光素酶活性明显降低 ( $P < 0.05$ ), 而 SNHG15-MUT 与 miR-141 mimics 共转染 FRO 细胞后, 荧光素酶活性无明显变化 ( $P > 0.05$ ) (表 2), 说明 SNHG15 与 miR-141 存在靶向关系。qRT-PCR 结果显示, 与 si-control 组 (1.000) 相比, si-SNHG15 组细胞中 miR-141 mRNA 表达 (3.012±0.187) 明显升高 ( $P < 0.05$ ), 而与 si-SNHG15+anti-control 组 (3.045±0.172) 相比, si-SNHG15+anti-miR-141 组相比中 miR-141 mRNA 表达 (1.413±0.067) 明显降低 ( $P < 0.05$ )。说明 SNHG15 靶向负调控 miR-141 表达。

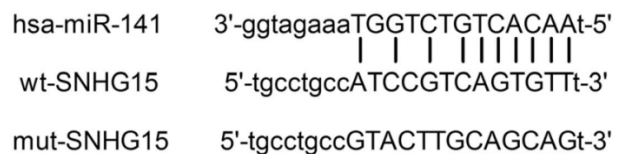


图 2 生物信息学预测 SNHG15 和 miR-141 的结合位点

表 2 荧光素酶活性检测结果  $\bar{x} \pm s$

| 组别             | 重复次数 | SNHG15 野生型               | SNHG15 突变型  |
|----------------|------|--------------------------|-------------|
| miR-control    | 6    | 1.000±0.026              | 1.000±0.018 |
| miR-141 mimics | 6    | 0.326±0.036 <sup>①</sup> | 0.991±0.015 |
| <i>t</i> 值     |      | 26.289                   | 0.665       |
| <i>P</i> 值     |      | 0.000                    | 0.542       |

①与 miR-control 组比较,  $P < 0.05$ 。

**2.4 抑制 miR-141 表达可减弱 SNHG15 对 FRO 细胞侵袭和凋亡的影响** 如表 3 所示, si-SNHG15 转染 FRO 细胞后, 与 si-control 组比较, si-SNHG15 组细胞侵袭能力明显降低, 凋亡率升高 ( $P < 0.05$ ), 而将 si-SNHG15 与 anti-miR-141 共同转染 FRO 细胞后, 与 si-SNHG15+anti-control 组比较, 细胞侵袭能力明显升高, 凋亡率降低 ( $P < 0.05$ )。

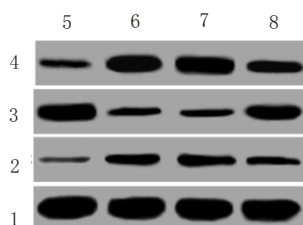
**表3** SNHG15靶向miR-141对FRO细胞侵袭和凋亡影响 $\bar{x} \pm s$ 

| 组别                     | 重复次数 | 侵袭细胞数                  | 凋亡率/%                   |
|------------------------|------|------------------------|-------------------------|
| si-control             | 6    | 167.9±6.8              | 4.38±0.45               |
| si-SNHG15              | 6    | 78.8±3.9 <sup>①</sup>  | 33.86±1.77 <sup>①</sup> |
| si-SNHG15+anti-control | 6    | 79.9±4.2               | 34.08±1.63              |
| si-SNHG15+anti-miR-141 | 6    | 130.3±5.2 <sup>②</sup> | 15.66±0.87 <sup>②</sup> |
| F值                     |      | 210.027                | 377.672                 |
| P值                     |      | 0.000                  | 0.000                   |

注: si-control 为空白对照组, si-SNHG15 为转染 SNHG15 siRNA 组, si-SNHG15+anti-control 为转染 SNHG15 siRNA 和 inhibitor control 组, si-SNHG15+anti-miR-141 为转染 SNHG15 siRNA 和 miR-141 inhibitor 组。

①与 si-control 组比较,  $P<0.05$ 。②与 si-SNHG15+anti-control 组比较,  $P<0.05$ 。

**2.5 抑制 miR-141 表达可减弱 SNHG15 对 FRO 细胞 E-cadherin、Bcl-2 和 Bax 表达的影响** Western blotting 检测抑制 SNHG15 或共同抑制 SNHG15 和 miR-141 表达后 FRO 细胞侵袭相关的 E-cadherin 及与凋亡相关的 Bcl-2 和 Bax 表达, 结果如图 3 和表 4 所示, 与 si-control 组比较, si-SNHG15 组 E-cadherin 和 Bax 表达明显升高, Bcl-2 表达明显降低 ( $P<0.05$ ), 将 si-SNHG15 与 anti-miR-141 共同转染 FRO 细胞后, 与 si-SNHG15+anti-control 组比较, E-cadherin 和 Bax 表达明显降低, Bcl-2 表达明显升高 ( $P<0.05$ )。



注: 1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶; 2—Bcl-2 相关 X 蛋白; 3—B 细胞淋巴瘤/白血病-2; 4—上皮钙黏素; 5—空白对照组; 6—转染 SNHG15 siRNA 组; 7—转染 SNHG15 siRNA 和 inhibitor control 组; 8—转染 SNHG15 siRNA 和 miR-141 inhibitor 组。

**图3** FRO 细胞 E-cadherin、Bcl-2 和 Bax 蛋白表达条带

### 3 讨论

作为一种新近发现的非编码 RNA 类, lncRNA 在人类疾病诊断及肿瘤治疗中应用广泛。lncRNA 可通过多种分子机制及途径对基因表达进行调控, 进而影响多种生物学功能, 其表达及调控异常与多种恶性肿瘤发生及发展密切相关。目前大量研究表明 lncRNA 可作为肿瘤诊疗的一种生物标志物<sup>[8-10]</sup>。因此, 研究 lncRNA 在甲状腺癌中的作用对于其治疗尤为重要。有研究显示, 肝癌组织中 lncRNA SNHG15 表达高于临近非肿瘤组织, 其表达与组织学分级、TNM 分期及静脉侵袭有关<sup>[11]</sup>; lncRNA SNHG15 可通过调节 miR-153 影响胶质瘤微血管内

**表4** SNHG15靶向miR-141对FRO细胞E-cadherin、Bcl-2和Bax蛋白表达的影响 $\bar{x} \pm s$ 

| 组别                     | 重复次数 | E-cadherin               | Bcl-2                    | Bax                      |
|------------------------|------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| si-control             | 6    | 0.105±0.011              | 0.587±0.063              | 0.049±0.008              |
| si-SNHG15              | 6    | 0.602±0.058 <sup>①</sup> | 0.131±0.015 <sup>①</sup> | 0.263±0.028 <sup>①</sup> |
| si-SNHG15+anti-control | 6    | 0.641±0.062              | 0.138±0.017              | 0.282±0.030              |
| si-SNHG15+anti-miR-141 | 6    | 0.309±0.032 <sup>②</sup> | 0.478±0.052 <sup>②</sup> | 0.144±0.015 <sup>②</sup> |
| F值                     |      | 92.603                   | 91.481                   | 72.314                   |
| P值                     |      | 0.000                    | 0.000                    | 0.000                    |

注: si-control 为细胞随机分组空白对照组, si-SNHG15 为转染 SNHG15 siRNA 组, si-SNHG15+anti-control 为转染 SNHG15 siRNA 和 inhibitor control 组, si-SNHG15+anti-miR-141 为转染 SNHG15 siRNA 和 miR-141 inhibitor 组, E-cadherin 为上皮钙黏素, Bcl-2 为 B 细胞淋巴瘤/白血病-2, Bax 为 Bcl-2 相关 X 蛋白。

①与 si-control 组比较,  $P<0.05$ 。②与 si-SNHG15+anti-control 组比较,  $P<0.05$ 。

皮细胞的生长<sup>[12]</sup>; 上调 lncRNA SNHG15 表达可通过调控基质金属蛋白酶 2 (MMP2)/基质金属蛋白酶 9 (MMP9) 促进胃癌细胞侵袭和迁移<sup>[13]</sup>。但 lncRNA SNHG15 对甲状腺癌的影响还未知。本研究将 SNHG15 特异性 siRNA 转染甲状腺癌 FRO 细胞, SNHG15 表达明显降低, 细胞侵袭能力降低, 凋亡率升高, 提示抑制 SNHG15 表达可明显降低甲状腺癌细胞生长。

微小 RNA (microRNA 或 miRNA) 是一类非编码小分子 RNA, 长度约为 18~22 nt, 可在转录后水平调节基因表达, miR-141 是微小 RNA 家族中的一员, 与结直肠癌、乳腺癌等多种肿瘤细胞生长有关<sup>[14-15]</sup>。研究显示, 甲状腺癌中 miR-141 表达降低, miR-141 可通过靶向胰岛素受体底物 2 抑制甲状腺癌细胞生长和转移<sup>[16]</sup>。生物信息学显示 SNHG15 与 miR-141 有可结合位点, 本研究通过荧光素酶报告实验进一步证实 SNHG15 靶向负调控 miR-141 表达。细胞侵袭及凋亡实验表明, 抑制 SNHG15 与 miR-141 表达可减弱抑制 SNHG15 对甲状腺癌细胞侵袭和凋亡的影响, 说明 SNHG15 可调控 miR-141 影响甲状腺癌细胞侵袭和凋亡。

肿瘤侵袭转移是一个复杂的过程, EMT 是影响肿瘤侵袭转移的一个关键步骤, 而 E-cadherin 的减少或丢失是 EMT 形成的一个最重要标志<sup>[17]</sup>。有研究显示, BCORL1 可通过下调 E-cadherin 促进甲状腺癌细胞侵袭转移<sup>[18]</sup>; Dickkopf-1 (DKK-1) 可通过抑制  $\beta$ -catenin/E-cadherin 促进甲状腺癌细胞存活和迁移<sup>[19]</sup>。本研究结果显示, 抑制 SNHG15 表达可上调 E-cadherin 表达, 而同时抑制 SNHG15 和 miR-141 表

达可降低 E-cadherin 表达,提示 SNHG15 调控 miR-141 对甲状腺癌侵袭影响与调节 E-cadherin 表达有关。诱导细胞凋亡是肿瘤治疗的主要机制。Bcl-2 和 Bax 均为 Bcl-2 家族成员,发挥抑凋亡和促凋亡作用,Bcl-2/Bax 比率是启动细胞凋亡的“分子开关”,是目前研究较多的与肿瘤凋亡相关的两个基因<sup>[20]</sup>。多项研究表明,对 Bcl-2 和 Bax 表达调节可影响肿瘤细胞凋亡<sup>[21-22]</sup>。本研究结果显示,抑制 SNHG15 表达可上调 Bax 表达,下调 Bcl-2 表达,而同时抑制 SNHG15 和 miR-141 表达可下调 Bax 表达,上调 Bcl-2 表达,提示 SNHG15 调控 miR-141 对甲状腺癌细胞凋亡影响与调节 Bcl-2 和 Bax 表达有关。

综上所述,SNHG15 可靶向调节 miR-141 表达,降低甲状腺癌细胞侵袭能力,诱导细胞凋亡,机制与调节 E-cadherin、Bcl-2 和 Bax 表达有关。本研究可能为甲状腺癌的诊疗提供理论依据,但仍需更深入的探究。

### 参考文献

- [1] ZHANG Y, SUI Y, JIANG L, et al. HOTAIR is a promising novel biomarker in patients with thyroid cancer [J]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(5): 2274-2278.
- [2] CUI Y, ZHANG F, ZHU C, et al. Upregulated lncRNA SNHG1 contributes to progression of non-small cell lung cancer through inhibition of miR-101-3p and activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(11): 17785-17794.
- [3] ZHANG W, YUAN W, SONG J, et al. LncRNA CPS1-IT1 suppresses cell proliferation, invasion and metastasis in colorectal cancer [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(2): 567-580.
- [4] KONG Q, QIU M. Long noncoding RNA SNHG15 promotes human breast cancer proliferation, migration and invasion by sponging miR-211-3p [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(2): 1594-1600.
- [5] MA Z, HUANG H, WANG J, et al. Long non-coding RNA SNHG15 inhibits P15 and KLF2 expression to promote pancreatic cancer proliferation through EZH2-mediated H3K27me3 [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(48): 84153-84167.
- [6] LIU K, HOU Y, LIU Y, et al. LncRNA SNHG15 contributes to proliferation, invasion and autophagy in osteosarcoma cells by sponging miR-141 [J]. *J Biomed Sci*, 2017, 24(1): 46-57.
- [7] 帅勇锋, 占大钱, 王小军, 等. LncRNA SNHG15 在甲状腺癌细胞中的表达及作用 [J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(11): 1590-1595.
- [8] ZHANG M, WU WB, WANG ZW, et al. LncRNA NEAT1 is closely related with progression of breast cancer via promoting proliferation and EMT [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(5): 1020-1026.
- [9] JIN Y, FENG SJ, QIU S, et al. LncRNA MALAT1 promotes proliferation and metastasis in epithelial ovarian cancer via the PI3K-AKT pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(14): 3176-3184.
- [10] WU D, LI Y, ZHANG H, et al. Knockdown of lncRNA PVT1 enhances radiosensitivity in non-small cell lung cancer by sponging miR-195 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 42(6): 2453-2466.
- [11] ZHANG JH, WEI HW, YANG HG. Long noncoding RNA SNHG15, a potential prognostic biomarker for hepatocellular carcinoma [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(9): 1720-1724.
- [12] MA Y, XUE Y, LIU X, et al. SNHG15 affects the growth of glioma microvascular endothelial cells by negatively regulating miR-153 [J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(5): 3265-3277.
- [13] CHEN SX, YIN JF, LIN BC, et al. Upregulated expression of long noncoding RNA SNHG15 promotes cell proliferation and invasion through regulates MMP2/MMP9 in patients with GC [J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(5): 6801-6812.
- [14] ZHU SH, HE XC, WANG L. Correlation analysis of miR-200b, miR-200c, and miR-141 with liver metastases in colorectal cancer patients [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(10): 2357-2363.
- [15] LU P, XUE Y, YANG Y, et al. Linc00472 suppresses breast cancer progression and enhances doxorubicin sensitivity through regulation of miR-141 and programmed cell death 4 [J]. *Rsc Advances*, 2018, 8(16): 8455-8468.
- [16] DONG S, MENG X, XUE S, et al. microRNA-141 inhibits thyroid cancer cell growth and metastasis by targeting insulin receptor substrate 2 [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(3): 1471-1481.
- [17] CHEN F, LIU X, CHENG Q, et al. RUNX3 regulates renal cell carcinoma metastasis via targeting miR-6780a-5p/E-cadherin/EMT signaling axis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(60): 101042-101056. DOI: 10.18632/oncotarget.13205.
- [18] 易敏, 王嵘, 沈婷婷. BCORL1 通过下调 E-cadherin 促进甲状腺癌细胞侵袭转移 [J]. *武汉大学学报(医学版)*, 2016, 37(6): 916-920.
- [19] CHO SW, LEE EJ, KIM H, et al. Dickkopf-1 inhibits thyroid cancer cell survival and migration through regulation of  $\beta$ -catenin/E-cadherin signaling [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 366(1): 90-98.
- [20] JIN SJ, YUN Y, LEI M, et al. In vivo and in vitro induction of the apoptotic effects of oxysophoridine on colorectal cancer cells via the Bcl-2/Bax/caspase-3 signaling pathway [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(6): 8000-8006.
- [21] AZIMIYAN H, DAYYANI M, TOOSSI M, et al. Bax/Bcl-2 expression ratio in prediction of response to breast cancer radiotherapy [J]. *Iran J Basic Med Sci*, 2018, 21(3): 325-332.
- [22] PAN Y, YE C, TIAN Q, et al. miR-145 suppresses the proliferation, invasion and migration of NSCLC cells by regulating the BAX/BCL-2 ratio and the caspase-3 cascade [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(4): 4337-4343.

(收稿日期: 2019-10-28, 修回日期: 2019-12-20)