引用本文:邹学红,汪俊,王芳,等.微小RNA-338-3p靶向调控高迁移率族蛋白B1增强子宫内膜癌对紫杉醇敏感性的研究[J].安徽医药,2021,25(8):1613-1618.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.033.**

◇临床医学◇

微小RNA-338-3p靶向调控高迁移率族蛋白B1增强子宫内膜癌对紫杉醇敏感性的研究

邹学红,汪俊,王芳,谢环

作者单位:武汉科技大学附属汉阳医院妇科,湖北 武汉 433000

摘要: 目的 探讨miR-338-3p靶向调控高迁移率族蛋白B1(HMGB1)影响子宫内膜癌对紫杉醇(Paclitaxel, PTX)敏感性的分子机制。**方法** 实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)和蛋白印迹法(Western blottingting)检测miR-338-3p和HMGB1在子宫内膜癌细胞Ishikawa和HEC-1B中的表达;双荧光素酶报告基因实验验证miR-338-3p和HMGB1之间的靶向关系;将Ishikawa和HEC-1B细胞分为如下5组:miR-338-3p组(转染miR-338-3p mimics组)、miR-NC组(转染miRNA阴性对照组)、si-HMGB1组(转染干扰RNA)、si-NC组(转染siRNA阴性对照)、miR-338-3p+HMGB1组(共转染miR-338-3pmimics和pcDNA3.0 HMGB1组)。将各组用转染试剂转染至细胞,用不同浓度的PTX处理上述转染组细胞,CCK-8法检测Ishikawa和HEC-1B细胞增殖,Annexin V-FITC/PI检测细胞凋亡,Western blotting检测HMGBI蛋白表达。**结果** 与人正常子宫内膜上皮细胞ESC相比,miR-338-3p在子宫内膜癌细胞Ishikawa和HEC-1B中表达下调[(1.00±0.10)比(0.51±0.04)、(0.46±0.04)],而HMGB1则相反;miR-338-3p靶向并负性调节HMGB1表达;过表达miR-338-3p抑制子宫内膜癌细胞Ishikawa和HEC-1B增殖,促进凋亡,增加其对PTX敏感,与敲低HMGB1结果一致;HMGB1可部分逆转miR-338-3p对子宫内膜癌细胞增殖,凋亡以及对PTX敏感性的影响。**结论** miR-338-3p通过负性调控HMGB1抑制子宫内膜癌细胞Ishikawa和HEC-1B增殖,促进凋亡和增强其对PTX敏感性。

关键词: 子宫内膜肿瘤; miR-338-3p; 高迁移率族蛋白B1; 紫杉醇

MiR-338-3p enhances the sensitivity of endometrial carcinoma to paclitaxel by targeting HMGB1

ZOU Xuehong,WANG Jun,WANG Fang,XIE Huan

Author Affiliation:Department of Gynaecology,Hanyang Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan, Hubei 433000,*China*

Abstract: Objective To investigate the molecular mechanism of the effect of miR-338-3p on the sensitivity of endometrial carcinoma to paclitaxel (PTX) by targeting HMGB1.**Methods** The expression of miR-338-3p and HMGB1 in endometrial carcinoma cells Ishikawa and HEC-1B was detected by RT-qPCR and western blotting. The dual luciferase reporter gene assay was performed to confirm the relationship between miR-338-3p and HMGB1. Ishikawa and HEC-1B cells were divided into the following five groups: miR-338-3p group (transfected with miR-338-3p mimics group), miR-NC group (transfected with miR-NC group), si-HMGB1 group (transfected with interfering RNA), si-NC group (transfected with siRNA negative control group), miR-338-3p+HMGB1 group (co-transfected with miR-338-3p mimics and pcDNA3.0 HMGB1 group). The cells were treated with different concentrations of PTX. CCK-8 was used to detect the proliferation of Ishikawa and HEC-1B cells. Annexin V-FITC/PI was conducted to detect apoptosis. The expression of HMGBI protein was detected by western blotting.**Results** miR-338-3p expression was down-regulated, while HMGB1 was upregulated in endometrial carcinoma cells Ishikawa and HEC-1B[(1.00±0.10) *vs*. (0.51±0.04),(0.46±0.04)]. miR-338-3p targeted and negatively regulated the expression of HMGB1. Overexpression of miR-338-3p inhibited the proliferation of Ishikawa and HEC-1B, promoted apoptosis and increased their sensitivity to PTX, which was consistent with knock down of HMGB1. HMGB1 can attenuated the effect of miR-338-3p on the proliferation, apoptosis and PTX sensitivity of endometrial carcinoma cells.**Conclusion** miR-338-3p can target HMGB1 to inhibit the proliferation of Ishikawa and HEC-1B cells, promote apoptosis and enhance their sensitivity to PTX.

Key words: Endometrial neoplasms; miR-338-3p; High-mobilitygroupboxprotein-1; Paclitaxel

子宫内膜癌是女性常见的恶性肿瘤之一,其发病率呈逐年上升趋势[1],但关于子宫内膜癌的发病机制仍不明确。有研究发现紫杉醇(paclitaxel, PTX)可抑制乳腺癌等肿瘤细胞[2],PTX可联合顺铂用于子宫内膜癌的治疗[3]。有多项研究表明miRNAs可影响癌细胞对PTX药物敏感性,如miRNA-

101增强乳腺癌MDA-MB-231细胞对PTX的药物敏感性[4]。有报道称miR-338-3p可靶向FOXP4抑制肝癌细胞的增殖[5],miR-338-3p通过调控ZEB2和MACC1信号通路影响胃癌细胞上皮间质转化[6],但关于miR-338-3p在子宫内膜癌的表达相关研究仍较少。有研究发现高迁移率蛋白B1(high-mobility-groupboxprotein-1,HMGB1)在子宫内膜癌中表达上调,发挥促癌基因作用[7]。但miR-338-3p是否通过调控HMGB1表达增强子宫内膜癌对PTX的敏感性仍未可知。本研究自2019年1-6月通过流式细胞术和CCK-8实验,探讨miR-338-3p调控人子宫内膜癌细胞HEC-1B和ishikawa对PTX敏感性的影响分子机制,为深入探讨人子宫内膜癌发病和耐药机制以及改善子宫内膜癌患者的预后提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器 DMEM培养基(C11965500BT)、青霉素和链霉素(15140122)为美国Gibco公司产品;ECL试剂(P0018)、RIPA蛋白裂解液(P0013B)、HMGB1抗体(AF1174)和蛋白印迹法(Western blottingting)所用试剂为碧云天公司产品;β-肌动蛋白(β-actin)为德国Merck公司产品(A4700);Trizol试剂为英潍捷基公司产品(15596026);CCK-8试剂盒(CA1210)为索莱宝公司产品;mirPremiemicro RNA Isolation Kit(SNC50)为德国Merck公司产品;一步法miRNA反转录试剂盒(D1801)为新海基因公司产品;mirVana™实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR) miRNA detection Kit(AM1558)为赛默飞公司产品;双荧光素酶报告基因质粒(E1751)为美国Promega公司产品;Annexin V-FITC/PI检测试剂(CA1020)、CCK8试剂盒(CA1210)为北京Solarbio公司产品;PTX(33069-62-4,纯度≥98%)为成都德锐可生物科技有限公司;实验中所用引物、质粒均由江苏金唯智公司合成制备。

1.2 方法

1.2.1 *细胞培养及转染* 人子宫内膜癌细胞株Ishikawa细胞株由中国人民解放军武汉总医院医院妇产科实验室保存,人正常子宫内膜上皮细胞ESC和子宫内膜癌细胞株HEC-1B购于北京细胞中心,细胞培养于含有10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 μg/mL链霉素的DMEM培养基中,在37 ℃、5%二氧化碳及饱和湿度培养箱中培养;将细胞分为如下5组:miR-338-3p组(转染miR-338-3p mimics组)、miR-NC(转染miRNA阴性对照组)、si-HMGB1组(转染干扰RNA)、si-NC组(转染siRNA阴性对照)和miR-338-3p+HMGB1组(共转染miR-338-3pmimics和pcDNA3.0 HMGB1组),将各组用转染试剂转染至Ishikawa和HEC-1B细胞,培养6 h后更换为完全培养基用于后续实验。

1.2.2 *Ishikawa和HEC-1B细胞PTX敏感性的检测* 将上述转染组细胞接种至96孔板中,细胞密度为8×10^4个/mL,24 h后,各孔加入相应浓度的PTX(终浓度分别为0、0.5、1.0、1.5、2.0 μg/mL)继续培养24 h后,弃去培养基,加入完全培养基100 μL和10 μL CCK-8溶液继续培养1 h,按照1.2.4中方法检测细胞增殖,并计算细胞存活分数,绘制拟合曲线。

1.2.3 *RT-qPCR检测miR-338-3p mRNA水平* 采用TRIZOL法提取细胞总RNA,mirPremiemicro RNA Isolation Kit分离miRNA,利用一步法miRNA反转录试剂盒进行反转录,用mirVana™qRT-PCR miRNA detection试剂盒进行RT-qPCR检测,以U6为内参,$2^{-\triangle\triangle Ct}$法检测miR-338-3p mRNA水平,步骤参照各试剂盒方法。MiRNA-338-3p(退火温度为60 ℃)的SRT引物:TCAACTGGTGTCGTGGAGTCG-GCAAT-TCAGTTGAGCAACAA;特异性性引物:AUGACUCAGGCGACTCCAGC-ATCAGTGATT;通用引物:TGGTGTCGTGGAGTCG;U6(退火温度为58 ℃)引物:F:GCGGTCTGCGCGATCAAG,R:TTCCCCTCGAGCTCATTGCC。

1.2.4 *CCK-8法检测细胞增殖* 将上述处理组细胞消化后接种至96孔板中,每孔100 μL,每孔细胞为6×10^3个,每组设置5个复孔,待细胞培养0、24、48、72 h后,每孔加入10 μL CCK-8溶液,继续培养1 h,在酶标仪选择450 nm波长,测定并记录各孔吸光度值(OD),实验重复3次,求平均值,绘制细胞增殖曲线。

1.2.5 *双荧光素酶报告基因实验* 采用TargetScan预测HMGB1可能是miR-338-3p的靶基因。分别将含有与miR-338-3p结合位点的HMGB1 3'UTR片段及突变体插入到pGL3荧光报告载体基因下游,分别记为HMGB1-WT(野生型)和HMGB1-Mut(突变型)。将测序鉴定正确的HMGB1-WT和HMGB1-Mut质粒分别与miR-NC和miR-338-3p mimics共转染Ishikawa和HEC-1B细胞,常规培养24 h后,参照双荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书步骤进行检测。

1.2.6 *Annexin V-FITC/PI检测细胞凋亡* 收集上述处理组细胞,用胰蛋白酶将细胞消化,取1×10^6个细胞,加入300 μL的DMEM重悬细胞,加入5 μL Annexin V-FITC,室温避光孵育15 min,加入5 μL PI混匀,再补加200 μL的DMEM后,上流式细胞仪进行检测,重复3次,求平均值。

1.2.7 *Western blotting检测HMGBI蛋白表达* 将

上述处理组细胞用预冷PBS洗涤3遍，加入含有PMSF（100倍稀释）的细胞裂解液，利用BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度，然后进行SDS-PAGE电泳，采用湿转法将蛋白转至PVDF膜上，用5%脱脂奶粉4 ℃过夜封闭，用HMGB1和β-actin的一抗进行4 ℃过夜孵育，用辣根过氧化物标记山羊抗鼠二抗进行37 ℃温箱孵育，PBST洗膜3次，用混好的ECL化学发光液滴加至膜上，化学发光成像仪下扫描并拍照，同时以β-actin为内参，对目的蛋白HMGB1做相对定量分析。

1.3 统计学方法 应用SPSS 20.0软件对实验中所得原始数据进行统计学分析，检测结果以$\bar{x} \pm s$表示，两组之间比较采用独立t检验；多组之间比较采用one-way ANOVA分析，其中两两比较采用LSD法。P<0.05表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 miR-338-3p在子宫内膜癌细胞中低表达 RT-qPCR检测miR-338-3p在人正常子宫内膜上皮细胞ESC及子宫内膜癌细胞HEC-1B和Ishikawa的表达，结果显示，与人正常子宫内膜上皮细胞ESC相比，miR-338-3p在子宫内膜癌细胞HEC-1B和Ishikawa中表达显著下调[（1.00±0.10）比（0.51±0.04），（0.46±0.04），F=182.114，P=0.000；t_{HEC-1B}=13.649，P_{HEC-1B}=0.000，$t_{Ishikawa}$=15.041，$P_{Ishikawa}$=0.000]。

2.2 过表达miR-338-3p抑制子宫内膜癌细胞增殖、促进凋亡和增加子宫内膜癌细胞对PTX的敏感性 将miR-338-3p mimics转染至HEC-1B和Ishikawa细胞中，RT-qPCR检测结果显示，miR-338-3p在HEC-1B[（1.00±0.10）比（4.87±0.31），t=35.643，P=0.000]和Ishikawa[（1.00±0.09）比（6.11±0.43），t=34.895，P=0.000]细胞中表达显著上调；CCK-8法检测结果和流式细胞术结果显示：与miR-NC组相比，miR-338-3p组细胞的增殖能力降低（表1），而细胞凋亡率显著增加[HEC-1B：（10.02±0.86）比（23.10±1.86），t=19.149，P=0.001；Ishikawa：（10.01±0.91）比（25.43±2.01），t=20.966，P=0.000]；不同浓度的PTX联合miR-338-3p对子宫内膜癌细胞增殖能力的影响：CCK-8实验结果显示，HEC-1B和Ishikawa细胞的存活分数随着紫杉醇浓度的增加而逐渐下降，与miR-NC组相比，miR-338-3p组细胞存活分数均明显下降（HEC-1B：t_1=1.401，P_1=0.925，t_2=1.234，P_2=0.051，t_3=5.152，P_3=0.006，t_4=14.787，P_4=0.004，t_5=14.482，P_5=0.004，t_6= 15.614，P_6=0.000，t_7=14.221，P_7=0.003，t_8=0.152，P_8=0.473），（Ishikawa：t_1=1.663，P_1=0.825，t_2=3.35，P_2=0.041，t_3=6.176，P_3=0.012，t_4=7.944，P_4=0.008，t_5=15.013，P_5=0.001，t_6=16.063，P_6=0.000，t_7=15.022，P_7=0.001，t_8=0.676，P_8=0.758）。

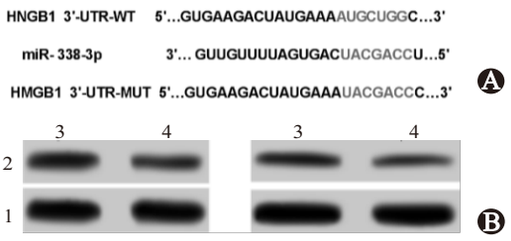
2.3 miR-338-3p的靶基因HMGB1 RT-qPCR检测HMGB1表达，与人正常子宫内膜上皮细胞ESC相比，HMGB1在子宫内膜癌细胞HEC-1B和ishikawa中表达上调[（1.00±0.10）比（4.31±0.32）、（3.24±0.26），F= 64.240，P=0.000]；生物学在线预测分析软件Targetscan预测到miR-338-3p与HMGB1的3’UTR存在结合位点（图1A）；双荧光素报告基因实验验证miR-338-3p与HMGB1之间的靶向关系，结果显示：miR-338-3p能显著降低野生型HMGB1-3’UTR WT的荧光活性[HEC-1B：（1.00±0.11）比（0.44±0.03），t=17.709，P=0.000；ishikawa：（1.00±0.11）比（0.47±0.04），t=13.584，P=0.000]，但却不影响HMGB1-3’UTR MUT的荧光活性[HEC-1B：（1.00±0.12）比（1.01±0.10），t=0.212，P=0.835；ishikawa：（1.00±0.12）比（1.01±0.10），t=0.192，P=0.850]；Western blotting检测结果显示，与miR-NC组相比，过表达miR-338-3p可显著降低HMGB1在HEC-1B[（1.00±0.10）比（0.44±0.03），t=16.091，P=0.000]和ishikawa[（1.02±0.11）比（0.47±0.04），t=14.097，P=0.000]细胞中的表达（图1B）。

2.4 敲低HMGB1抑制子宫内膜癌细胞增殖、促进凋亡和增加子宫内膜癌细胞对PTX的敏感性 将si-HMGB1转染至HEC-1B和ishikawa细胞，Western blotting结果显示，与si-NC组相比，si-HMGB1组细胞中HMGB1表达显著降低[HEC-1B：（1.00±0.10）比（0.44±0.03），t=16.091，P=0.000；ishikawa：（1.00±0.09）比（0.48±0.04），t_2=15.839，P=0.000]；CCK-8法检测结果和流式细胞术结果显示：与si-NC组相

表1 CCK-8检测细胞增殖活力/（$\bar{x} \pm s$，n=9）

组别	HEC-1B				Ishikawa			
	miR-NC	miR-338-3p	t值	P值	miR-NC	miR-338-3p	t值	P值
0 h	0.21±0.02	0.20±0.02	1.061	0.305	0.28±0.01	0.29±0.02	1.342	0.198
24 h	0.47±0.04	0.32±0.03①	9.000	0.000	0.41±0.04	0.30±0.02①	7.379	0.000
48 h	0.71±0.07	0.43±0.05①	9.765	0.000	0.65±0.07	0.35±0.03①	11.818	0.000
72 h	1.21±0.10	0.55±0.04①	18.384	0.000	1.15±0.09	0.48±0.04①	20.408	0.000

注：①与miR-NC组相比，P<0.05。



注:1—β-actin,2—HMGB1,3—miR-NC,4—miR-338-3p mimics。

图1 miR-338-3p与HMGB1之间的靶向关系验证:A为miR-338-3p与HMGB1的3'UTR存在结合位点;B为过表达miR-338-3p对HMGB1表达的影响

比,si-HMGB1组细胞的增殖能力降低(表2),而细胞凋亡率显著增加[HEC-1B:(10.02±0.91)比(24.30±1.96),t=19.825,P=0.000,ishikawa:(10.01±1.01)比(22.72±1.76),t=18.791,P=0.000];不同浓度的PTX联合si-HMGB1对子宫内膜癌细胞增殖能力的影响:CCK-8实验结果显示,HEC-1B和Ishikawa细胞的存活分数随着紫杉醇浓度的增加而逐渐下降,与si-NC组相比,si-HMGB1组细胞存活分数均明显下降(HEC-1B:t_1=1.332,P_1=0.657,t_2=1.742,P_2=0.146,t_3=5.243,P_3=0.024,t_4=5.342,P_4=0.011,t_5=14.522,P_5=0.000,t_6=16.162,P_6=0.001,t_7=13.594,P_7=0.001,t_8=0.152,P_8=0.421;Ishikawa:t_1=1.356,P_1=0.745,t_2=3.321,P_2=0.086,t_3=6.313,P_3=0.016,t_4=8.224,P_4=0.016,t_5=15.175,P_5=0.000,t_6=16.394,P_6=0.000,t_7=14.943,P_7=0.001,t_8=0.974,P_8=0.343)。

2.5 HMGB1部分逆转miR-338-3p对子宫内膜癌细胞增殖、凋亡及对PTX敏感性的影响 将miR-338-3p和pcDNA3.0HMGB1共转染至HEC-1B和ishikawa细胞,与miR-338-3p组相比,miR-338-3p+HMGB1组细胞增殖能力升高(表3),细胞凋亡率降低(表4);不同浓度的PTX联合pcDNA3.0 HMGB1和miR-338-3p mimics对子宫内膜癌细胞增殖能力的影响:CCK-8实验结果显示,HEC-1B和Ishikawa细胞的存活分数随着紫杉醇浓度的增加而逐渐下降,与miR-338-3p组相比,miR-338-3p+HMGB1组细胞存活分数升高(HEC-1B:F_1=1.021,P_1=0.6425,F_2=0.493,P_2=0.326,F_3=22.943,P_3=0.000,F_4=42.070,P_4=0.000,F_5=85.374,P_5=0.000,F_6=188.411,P_6=0.000,F_7=90.020,P_7=0.000,F_8=0.682,P_8=0.216;ishikawa:F_1=1.011,P_1=0.689,F_2=0.301,P_2=0.281,F_3=19.020,P_3=0.000,F_4=35.882,P_4=0.000,F_5=83.360,P_5=0.000,F_6=243.824,P_6=0.000,F_7=127.017,P_7=0.000,F_8=0.694,P_8=0.846)。

3 讨论

MiRNAs是一类长度约为19至23个nt的高度保守的内源性非编码小分子RNA,能够通过与靶基因的mRNA的3'UTR不完全互补配对进而影响mRNA的降解或抑制其翻译[8]。研究表明有多种miRNAs通过调控子宫内膜癌的增殖,迁移侵袭和凋亡等种生物学过程,参与癌症的发生发展[9-11]。miR-338-3p在多种癌症中发挥多种调控作用,如Ju等发现miR-338-3p可抑制胃癌细胞的发展[12],Peng等发现miR-338-3p可通过IRS2抑制非小细胞肺癌的增殖和侵袭[13],但miR-338-3p在子宫内膜癌细胞中的研究较少。本研究以人子宫内膜癌细胞HEC-1B和ishikawa为研究对象,RT-qPCR检测发现,与人正常子宫内膜上皮细胞ESC相比,miR-338-3p在HEC-1B和ishikawa细胞中的表达显著下调,提示我

表2 CCK-8检测细胞增殖活力/($\bar{x}\pm s$,n=9)

组别	HEC-1B				Ishikawa			
	si-NC	si-HMGB1	t值	P值	si-NC	si-HMGB1	t值	P值
0 h	0.20±0.02	0.21±0.02	1.061	0.305	0.27±0.01	0.26±0.09	0.331	0.745
24 h	0.46±0.04	0.36±0.03①	6.000	0.000	0.40±0.04	0.32±0.02①	5.367	0.000
48 h	0.68±0.07	0.46±0.05①	7.672	0.000	0.60±0.07	0.35±0.03①	9.848	0.000
72 h	1.24±0.10	0.52±0.04①	20.055	0.000	1.17±0.09	0.49±0.04①	20.713	0.000

注:①与si-NC组相比,P<0.05。

表3 CCK-8检测细胞增殖活力/($\bar{x}\pm s$,n=9)

组别	HEC-1B					Ishikawa				
	miR-NC	miR-338-3p	miR-338-3p+HMGB1	F值	P值	si-NC	si-HMGB1	miR-338-3p+HMGB1	F值	P值
0 h	0.21±0.02	0.20±0.02	0.20±0.02	0.750	0.483	0.28±0.01	0.29±0.03	0.27±0.02	1.929	0.167
24 h	0.47±0.04	0.32±0.03①	0.43±0.03	47.912	0.000	0.41±0.04	0.30±0.02①	0.36±0.03	28.241	0.000
48 h	0.71±0.07	0.43±0.05①	0.65±0.05	59.273	0.000	0.65±0.07	0.35±0.03①	0.60±0.05	84.036	0.000
72 h	1.21±0.10	0.55±0.04①	1.08±0.09	167.528	0.000	1.15±0.09	0.48±0.04①	1.10±0.07	257.610	0.000

注:①与miR-NC组相比,P<0.05;②与miR-338-3p组相比,P<0.05。

表4 流式细胞仪检测细胞凋亡/($\bar{x} \pm s$,n=9)

组别	miR-NC	miR-338-3p	miR-338-3p+HMGB1	F值	P值
HEC-1B	10.05±0.85	32.10±2.86①	20.36±1.61②	285.924	0.000
Ishikawa	10.02±0.93	30.58±2.43①	22.13±1.72②	296.402	0.000

注:①与miR-NC组相比,P<0.05;②与miR-338-3p组相比,P<0.05。

们miR-338-3p可能在子宫内膜癌的发生发展中发挥重要作用。后续研究中在HEC-1B和ishikawa细胞中过表达miR-338-3p,检测发现过表达miR-338-3p可抑制HEC-1B和ishikawa细胞增殖,促进其凋亡,提示miR-338-3p可能成为子宫内膜癌潜在的治疗靶点。PTX是一种来自紫衫树皮的提取物,通过影响肿瘤细胞的有丝分裂和细胞周期发挥作用,是临床一线抗肿瘤药物,不断有研究表明PTX可联合其它化疗药物抑制子宫内膜癌的进展[14-16]。在本研究中,首先检测了不同浓度的PTX联合miR-338-3p对HEC-1B和ishikawa细胞增殖的影响,结果与前人研究一致,随着PTX的提高,HEC-1B和ishikawa细胞的增殖能力降低,表明PTX可抑制HEC-1B和ishikawa细胞的增殖,同时,与miR-NC组相比,miR-338-3p组的细胞增殖能力降低,表明过表达miR-338-3p可增加HEC-1B和ishikawa细胞对PTX的敏感性。

有研究表明HMGB1参与多种癌症的发生发展过程[17-18]。本研究首先检测了HMGB1在HEC-1B和ishikawa细胞中的表达,结果发现,与人正常子宫内膜上皮细胞ESC相比,HMGB1在HEC-1B和ishikawa细胞中的表达显著上调,提示我们HMGB1可能在子宫内膜癌的发生发展中发挥重要作用。而HMGB1对其他癌症的影响前人早有报道,如miR34a可靶向HMGB1抑制人宫颈癌和结肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭[19],HMGB1促进骨肉瘤细胞增殖和侵袭,抑制细胞凋亡[20]。这些数据表明HMGB1在多种癌症中可能扮演着促癌基因的角色。为了验证miR-338-3p是否可靶向HMGB1参与子宫内膜癌的发生发展以及其对PTX的敏感性,本研究通过生物信息学在线分析软件预测到HMGB1的3'UTR与miR-338-3p存在结合位点,双荧光素酶报告基因实验证实HMGB1是miR-338-3p的靶基因,且过表达miR-338-3p可抑制HMGB1表达,表明miR-338-3p可靶向并负性调节HMGB1表达。后续研究中在HEC-1B和ishikawa细胞中敲低HMGB1,敲低HMGB1可抑制HEC-1B和ishikawa细胞增殖,促进其凋亡,同时增加HEC-1B和ishikawa细胞对PTX的敏感性,与过表达miR-338-3p结果相一致。HMGB1和miR-338-3p共转染至HEC-1B和ishikawa细胞,结果发现HMGB1可部分逆转miR-338-3p对子宫内膜癌细胞增殖,凋亡以及对PTX敏感性的影响。

综上所述,本研究首次发现miR-338-3p靶向HMGB1可促进人子宫内膜癌细胞HEC-1B和ishikawa凋亡、抑制增殖,同时增加其对PTX的敏感性,为临床上miR-338-3p联合PTX治疗人子宫内膜癌提供了理论依据。

参考文献

[1] 魏丽惠. 关于子宫内膜癌筛查的思考[J]. 中国计划生育和妇产科, 2015, 34(1): 26-28.

[2] 郭莹, 罗雅玥, 董斌, 等. 抗人乙酰肝素酶单克隆抗体联合紫杉醇对人乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 肿瘤, 2015, 35(6):630-638.

[3] 毛玉荣, 浦红, 张振宇, 等. 紫杉醇联合顺铂治疗子宫内膜癌的用药效果及优越性分析[J]. 饮食保健, 2016, 3(22):94-95.

[4] 柯秋林. MicroRNA-101抑制细胞增殖促进细胞凋亡及增强乳腺癌MDA-MB-231细胞对紫杉醇的药物敏感性研究[J]. 海南医学院学报, 2016, 22(3):216-220.

[5] WANG G, SUN Y, HE Y, et al. MicroRNA-338-3p inhibits cell proliferation in hepatocellular carcinoma by target forkhead box P4 (FOXP4)[J]. IntJ ClinExp Pathol, 2015, 8(1):337-344.

[6] HUANG N, WU Z, LIN L, et al. MiR-338-3p inhibits epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells by targeting ZEB2 and MACC1/Met/Akt signaling[J]. Oncotarget, 2015, 6(17): 15222-15234.

[7] 栾允峰, 黄桂香. HMGB1在子宫内膜癌方面的研究进展[J]. 中国当代医药, 2010, 17(36):16.

[8] CROCE C M, CALIN G A. miRNAs, cancer, and stem cell division[J]. Cell, 2005, 122(1):6-7.

[9] 王淑芳, 冯玉珍, 霍新龙. MicroRNA在子宫内膜癌发生、发展及临床诊治中的研究[J]. 中国医药导报, 2013, 10(6):30-32.

[10] 布俏雯, 孙小丽, 罗喜平. MicroRNAs在子宫内膜癌中的研究进展[J]. 广东医学, 2017, 38增刊:276-278.

[11] LI Q, ZHANG C, CHEN R, et al. Disrupting MALAT1/miR-200c sponge decreases invasion and migration in endometrioid endometrial carcinoma[J]. Cancer Letters, 2016, 383(1):28-40.

[12] GUO B, LIU L, YAO J, et al. miR-338-3p suppresses gastric cancer progression through a PTEN-AKT axis by targeting P-REX2a [J]. Mol Cancer Res, 2014, 12(3):313-321.

[13] ZHANG P, SHAO G, LIN X, et al. MiR-338-3p inhibits the growth and invasion of non-small cell lung cancer cells by targeting IRS2[J]. Am J Cancer Res, 2017, 7(1):53-63.

[14] 朱莺, 陈燕, 郑敏宁, 等. 水胶体透明贴预防紫杉醇所致化疗性静脉炎的效果观察[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2013, 5(6): 395-396.

[15] 马丽华, 高文旭. 紫杉醇在子宫颈癌及子宫内膜癌治疗中的应用[J]. 中国现代医生, 2013, 51(2):64-65.

[16] 杨晓霞, 李美蓉. 姜黄素与紫杉醇联用对人子宫内膜癌细胞增殖的影响及其机制研究[J]. 中国当代医药, 2013, 20(17): 21-23.

[17] 陈艳美, 贺福初, 林成招. HMGB1在肿瘤转移中的作用及其

机制的研究进展[J]. 中国癌症杂志, 2012, 22(10):784-789.
[18] PALUMBO R, SAMPAOLESI M, MARCHIS F D, et al. Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation[J]. J Cell Biol, 2004, 164(3): 441-449.
[19] CHANDRASEKARAN KS, SATHYANARAYANAN A, KARUNAGARAN D. Downregulation of HMGB1 by miR-34a is sufficient to suppress proliferation, migration and invasion of human cervical and colorectal cancer cells[J]. Tumour Biol, 2016, 37(10):13155-13166.
[20] MENG Q, ZHAO J, LIU H, et al. HMGB1 promotes cellular proliferation and invasion, suppresses cellular apoptosis in osteosarcoma[J]. Tumor Biol, 2014, 35(12):12265-12274.

(收稿日期:2019-08-22,修回日期:2019-10-15)

引用本文:贺伯伟,王鹏国.长链非编码RNA TPT1-AS1在非小细胞肺癌中的表达及临床意义[J].安徽医药,2021,25(8):1618-1621.**DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.034.**

◇临床医学◇

长链非编码RNA TPT1-AS1在非小细胞肺癌中的表达及临床意义

贺伯伟,王鹏国

作者单位:陕西省核工业二一五医院胸外科,陕西 咸阳 712000

通信作者:王鹏国,男,副主任医师,研究方向为肺食管肿瘤,Email:vsrnfd1@163.com

摘要: 目的 分析长链非编码RNA(lncRNA) TPT1-AS1在非小细胞肺癌中的表达及其与临床病理特征的关系。**方法** 收集2014年7月至2016年9月陕西省核工业二一五医院非小细胞肺癌标本及癌旁组织各100例,采用实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测非小细胞肺癌标本、癌旁组织中lncRNA TPT1-AS1表达情况,分析lncRNA TPT1-AS1表达水平与非小细胞肺癌病人临床病理特征及预后的关系。**结果** 与癌旁肺组织相比,lncRNA TPT1-AS1在肺癌组织的表达显著升高(P<0.05)。肺癌组织中lncRNA TPT1-AS1表达与TNM分期、淋巴转移有相关性(P<0.05)。与lncRNA TPT1-AS1低表达组生存率(41.46%)相比,lncRNA TPT1-AS1高表达组非小细胞肺癌病人生存率(10.17%)显著降低(χ^2=13.376,P<0.05)。多因素分析显示,lncRNA TPT1-AS1表达和TNM分期是影响非小细胞肺癌病人预后的独立危险因素(HR=1.954,95% *CI*:1.545-2.473,P<0.05;HR=2.013,95% *CI*:1.591-2.547,P<0.05)。**结论** lncRNA TPT1-AS1与非小细胞肺癌的发生发展及预后密切相关,可能作为临床预后判断的参考指标。

关键词: 癌,非小细胞肺; 长链非编码RNA; TPT1-AS1

Expression and clinical significance of long non-coding RNA TPT1-AS1 in non-small cell lung cancer

HE Bowei,WANG Pengguo

*Author Affiliation:Department of Thoracic Aurgery, No.*215 *Hospital of Shanxi Nuclear Industry, Xianyang, Shaanxi* 712000, *China*

Abstract: Objective To analyze the expression of long non-coding RNA (lncRNA) TPT1-AS1 in non-small cell lung cancer (NSCLC) and its relationship with clinicopathological features.**Methods** One hundred samples of NSCLC and 100 adjacent tissues were collected in No.215 Hospital of Shanxi Nuclear Industry from July 2014 to September 2016, the expression of lncRNA TPT1-AS1 in NSCLC and adjacent tissues was detected by real-time fluorescent quantitative PCR (qRT-PCR), and the relationships between the expression of lncRNA TPT1-AS1 and the clinicopathological features, prognosis of NSCLC were analyzed.**Results** The expression of lncRNA TPT1-AS1 in lung cancer tissue was significantly higher than that in paracancerous lung tissue (P<0.05). The expression of lncRNA TPT1-AS1 was correlated with TNM stage and lymph metastasis (P<0.05). Compared with the survival rate (41.46%) in the low expression group of lncRNA TPT1-AS1, the survival rate (10.17%) in the high expression group of lncRNA TPT1-AS1 was significantly lower (χ^2=13.376, P<0.05). Multivariate analysis showed that the expression of lncRNA TPT1-AS1 and TNM stage were independent risk factors for the prognosis of NSCLC (HR = 1.954, 95% *CI*:1.545-2.473, P<0.05; HR = 2.013, 95%*CI*:1.591-2.547, P<0.05).**Conclusion** lncRNA TPT1-AS1 is closely related to the occurrence, development and prognosis of NSCLC, which may be a reference index for clinical prognosis.

Key words: Carcinoma, non-small-cell lung; Long non-coding RNA; TPT1-AS1