

引用本文:张来鑫,谢大伟,李青松,等.长链非编码前列腺癌相关转录因子6靶向微小RNA-139-3p对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响[J].安徽医药,2021,25(8):1632-1636.DOI:10.3969/j.issn.1009-6469.2021.08.037.

◇临床医学◇



长链非编码前列腺癌相关转录因子6靶向微小RNA-139-3p对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响

张来鑫¹,谢大伟¹,李青松¹,邢家辉¹,钱伟萍²

作者单位:¹秦皇岛市中医医院手足外科 河北 秦皇岛 066000;

²秦皇岛市职业技术学校医务室 河北 秦皇岛 066000

摘要: 目的 探讨长链非编码RNA(LncRNA)前列腺癌相关转录因子6(PCAT6)对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响和分子机制。方法 实时荧光定量PCR(RT-qPCR)检测20例骨肉瘤组织和与其对应的癌旁组织中PCAT6和微小RNA-139-3p(miR-139-3p)的表达水平。双荧光素酶报告基因实验和RT-qPCR验证PCAT6对miR-139-3p的靶向调控关系。将PCAT6小干扰RNA(si-PCAT6)、miR-139-3p模拟物(miR-139-3p mimics)分别转染骨肉瘤细胞SAOS2,细胞计数试剂盒(CCK-8)检测SAOS2细胞增殖活力,流式细胞术检测SAOS2细胞凋亡,蛋白质印迹法检测B细胞淋巴瘤/白血病-2(Bcl-2)、细胞周期素D1(Cyclin D1)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)和P21的表达水平。将si-PCAT6和miR-139-3p抑制物(anti-miR-139-3p)共转染至SAOS2细胞,采用上述方法检测细胞增殖、迁移侵袭能力以及凋亡变化。结果 与癌旁组织相比,骨肉瘤组织中PCAT6的表达水平[(2.76±0.27)比(1.01±0.09)]显著升高,miR-139-3p的表达水平[(0.51±0.05)比(1.00±0.08)]显著降低($P < 0.05$)。miR-139-3p是PCAT6的靶基因,PCAT6靶向负性调控miR-139-3p表达。抑制PCAT6表达或过表达miR-139-3p均可下调SAOS2细胞CyclinD1和Bcl-2蛋白表达,上调p21和Bax蛋白表达,降低细胞活力,促进细胞凋亡($P < 0.05$)。抑制miR-139-3p表达可逆转si-PCAT6对骨肉瘤SAOS2细胞增殖抑制和凋亡的影响($P < 0.05$)。结论 LncRNA PCAT6在骨肉瘤组织中表达上调,抑制miR-139-3p通过靶向miR-139-3p抑制骨肉瘤细胞增殖,诱导骨肉瘤细胞凋亡。

关键词: 骨肉瘤; 前列腺癌相关转录因子6; 微小RNA-139-3p; 细胞增殖; 凋亡

Effect of lncRNA PCAT6 on proliferation and apoptosis of osteosarcoma cells by targeting miR-139-3p

ZHANG Laixin¹,XIE Dawei¹,LI Qingsong¹,XING Jiahui¹,QIAN Weiping²

Author Affiliation:¹Department of Hand and Foot Surgery, Qinhuangdao Hospital of Traditional Chinese Medicine, Qinhuangdao, Hebei 066000,China;²Infirmery, Qinhuangdao Vocational and Technical School, Qinhuangdao, Hebei 066000,China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of long-chain non-coding RNA (LncRNA) prostate cancer associated transcript 6 (PCAT6) on proliferation and apoptosis of osteosarcoma cells and its molecular mechanisms. **Methods** Real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression levels of PCAT6 and miR-139-3p in 20 osteosarcoma tissues and their corresponding adjacent tissues. The dual luciferase reporter gene assay and RT-qPCR were applied to verify the targeted and regulatory relationship between PCAT6 and miR-139-3p. PCAT6 small interfering RNA (si-PCAT6) and miR-139-3p mimic (miR-139-3p mimics) were transfected into osteosarcoma cell SAOS2, respectively, and cell proliferation activity was detected by cell proliferation kit (CCK-8), apoptosis was detected by flow cytometry, and the expression levels of B cell lymphoma/leukemia-2 (Bcl-2), Cyclin D1, Bcl-2 related X protein (Bax) and P21 were detected by Western blot. The si-PCAT6 and miR-139-3p inhibitors (anti-miR-139-3p) were co-transfected into SAOS2 cells, and cell proliferation, migration-invasive ability and apoptosis were detected by the above methods. **Results** Compared with paraneoplastic tissues, the expression level of PCAT6 was significantly higher in osteosarcoma tissues [(2.76±0.27) vs. (1.01±0.09)], while the expression level of miR-139-3p was significantly lower [(0.51±0.05) vs. (1.00±0.08)] ($P < 0.05$). miR-139-3p was a target gene of PCAT6, and PCAT6 targeted and negatively regulated the expression of miR-139-3p. Inhibition of PCAT6 or overexpression of miR-139-3p down-regulated the expression of CyclinD1 and Bcl-2 proteins in SAOS2 cells, up-regulated the expression of p21 and Bax proteins, reduced cell viability and promoted apoptosis ($P < 0.05$). Inhibition of miR-139-3p reversed the effect of si-PCAT6 on proliferation and apoptosis of osteosarcoma SAOS2 cells ($P < 0.05$). **Conclusion** The expression of lncRNA PCAT6 is up-regulated in osteosarcoma tissues, inhibiting miR-139-3p inhibits the proliferation and induces apoptosis of osteosarcoma cells by targeting miR-139-3p.

Key words: Osteosarcoma; Prostate cancer associated transcript 6; miR-139-3p; Cell proliferation; Apoptosis

骨肉瘤是一种原发性骨骼恶性肿瘤,常见于儿童、青少年和老年人,约占所有骨骼恶性肿瘤的15%^[1]。其多发于四肢管状骨,导致关节活动受限、骨折,甚至发生肺部转移,发病率高,预后较差。近年来尽管手术和术后辅助化疗在一定程度上提高了骨肉瘤病人生存率,但复发或转移性骨肉瘤病人的5年生存率仅为30%^[2-3]。因此,探索新的治疗靶点对骨肉瘤病人的治疗至关重要。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是长度大于200 nt转录本RNA,在肿瘤细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭过程中起着重要的调控作用^[4]。研究显示lncRNA前列腺癌相关转录因子6(prostate cancer associated transcript 6, PCAT6)在结肠癌组织中上调表达,促进结肠癌细胞的生长,抑制细胞凋亡^[5]。lncRNA PCAT6在肺癌中也呈高表达,下调PCAT6能够诱导肺癌细胞早期凋亡,抑制其增殖和转移^[6]。然而,其在骨肉瘤中的作用尚未被研究。生物信息学分析显示,PCAT6可能与miR-139-3p之间存在相互作用。miR-139-3p已被证实可在骨肉瘤中具有增殖抑制和凋亡诱导作用^[7]。于是推测PCAT6可能靶向miR-139-3p参与骨肉瘤进展。因此,本研究拟通过检测骨肉瘤组织以及瘤旁组织中PCAT6和miR-139-3p的表达水平,旨在揭示PCAT6调控miR-139-3p对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年1月至2018年1月秦皇岛市中医医院收治的骨肉瘤病人20例为研究对象。其中男性14例,女性6例,年龄25岁,年龄范围为10~55岁。选取活检得到的肿瘤组织及瘤旁组织,肿瘤标本经病理诊断均为骨肉瘤,瘤旁组织为正常组织。纳入标准:病人术前均未接受放疗、化疗或其他治疗;于我院拟采取新辅助化疗后手术治疗。入组病人均同意使用组织样本,且签订知情同意书。本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》的相关要求。

骨肉瘤细胞SAOS2购于中国科学院上海生物化学与细胞生物学研究所;含有青链霉素双抗的DMEM培养液购于美国Hyclone公司;脂质体Lipofectamine™ 2000购于美国Invitrogen公司;PCAT6小干扰RNA(si-PCAT6)、小干扰RNA阴性对照(si-NC)、抑制物阴性对照(anti-miR-NC)、miR-139-3p模拟物(miR-139-3p mimics)、模拟物阴性对照(miR-NC)、空载体质粒(pcDNA)、miR-139-3p抑制物(anti-miR-139-3p)、PCAT6过表达载体(pcDNA-PCAT6)、含miR-139-3p结合位点的野生型PCAT6荧光素酶报告基因载体(WT-PCAT6)、突变型荧光

素酶报告基因载体(MUT-PCAT6)购自上海吉玛制药有限公司;实时荧光定量PCR试剂盒(Real-time fluorescent quantitative PCR kit, RT-qPCR)试剂盒购于大连TAKARA公司;RIPA裂解液购于北京索莱宝公司;细胞计数试剂盒(Cell Counting Kit 8, CCK-8)试剂盒购于美国MCE公司;兔源磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)、P21、B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukaemia -2, Bcl-2)、细胞周期素D1(Cyclin D1)以及Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体购于美国Abcam公司;山羊抗兔Ⅱ抗购于南京金斯瑞生物科技有限公司;膜联蛋白异硫氰酸荧光素/碘化丙啶(Annexin V-FITC/PI)双染细胞凋亡检测试剂盒购于杭州贝博生物公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养和实验分组 SAOS2细胞采用DMEM培养基在37℃、5%二氧化碳的细胞培养箱中进行培养。每2 d换液1次,待细胞贴壁达到80%时,采用胰酶消化传代。收集 5×10^3 个生长状态良好的第3~5代对数期SAOS2细胞接种96孔板,参照Lipofectamine™ 2000试剂盒步骤进行瞬时转染。将si-PCAT6、si-NC、miR-139-3p mimics、miR-NC分别转染至60%融合的SAOS2细胞,并标记为si-PCAT6组、si-NC组、miR-139-3p组、miR-NC组。转染6 h后更换新鲜细胞培养液,转染48 h收集各组细胞,检测lncRNA PCAT6和miR-139-3p的表达、以及细胞的增殖活力及凋亡情况。为验证lncRNA PCAT6是通过调控miR-139-3p表达进而影响SAOS2细胞的增殖和凋亡,将si-PCAT6分别与anti-miR-NC、anti-miR-139-3p共转染至SAOS2细胞,并标记为si-PCAT6+anti-miR-NC组、si-PCAT6+anti-miR-139-3p组,转染48 h检测细胞活力和凋亡情况。

1.2.2 RT-qPCR检测lncRNA PCAT6和miR-139-3p的表达 以TRIzol法分别提取骨肉瘤组织和各组SAOS2细胞的总RNA后,参照逆转录试剂盒说明书步骤合成cDNA,参照RT-qPCR试剂盒说明书以cDNA为模板进行PCR扩增。其中PCR引物由上海生工公司合成。序列如下(5'-3'):PCAT6正向引物CAGGAACCCCCTCCTTACTC,反向引物CTAGGGATGTGTCCGAAGGA;GAPDH正向引物GGGAGCCAAAAGGGTCAT,反向引物GAGTCCTTCCACGATACCAA。miR-139-3p上游引物pGGAGACGCGGCCCTGTTGGAGT;U6正向引物上游引物ACGCAAATTCGTGAAGCGTT;miR-139-3p和U6反向引物为试剂盒提供的通用引物。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法检测骨肉瘤组织和各组SAOS2细胞中lncRNA PCAT6和miR-139-3p的表达水平。

1.2.3 CCK-8试剂盒检测细胞活力 将 5×10^3 cells/孔接种到96孔板,分别在转染24、48、72 h取10 μ L的CCK-8试剂加到96孔板各孔细胞中,缓慢晃动培养板,混匀后继续孵育2 h,在450 nm处检测各孔的吸光度值。

1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡 用1 $\times$ 结合缓冲液调整转染48 h细胞浓度为 1×10^5 cells/mL。分别取5 μ L的Annexin V-FITC和5 μ L的PI加入100 μ L细胞悬液中,避光条件下孵育15 min,1 h内上机检测各组SAOS2细胞凋亡情况。

1.2.5 蛋白质印迹法(Western blotting)检测Cyclin D1、Bcl-2、P21和Bax蛋白的表达 利用RIPA裂解液提取各组SAOS2细胞总蛋白。蛋白定量后,将2 $\times$ 蛋白上样缓冲液以1:1比例与蛋白样品混合,100 $^{\circ}$ C孵育5 min变性细胞蛋白,配制分离胶和浓缩胶后进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,随后湿法转移蛋白到硝酸纤维素膜。用5%脱脂牛奶在25 $^{\circ}$ C封闭膜1 h, TBST洗膜2 min,加入I抗室温孵育2 h, TBST洗膜10 min,洗涤3次,加入II抗在25 $^{\circ}$ C孵育1 h, TBST洗膜10 min,洗涤3次后,用化学发光试剂于暗盒内显色,应用ImageJ软件测定各组SAOS2细胞目的蛋白灰度值。GAPDH作为内参。

1.2.6 双荧光素酶报告基因实验验证lncRNA PCAT6和miR-139-3p的靶向关系 采用生物信息学分析工具LncBase Predicted v.2进行靶基因预测显示,lncRNA PCAT6和miR-139-3p之间存在部分特异性结合位点,推测lncRNA PCAT6和miR-139-3p存在相互作用。将WT-PCAT6与miR-139-3p mimics、WT-PCAT6与miR-NC、MUT-PCAT6与miR-139-3p mimics、MUT-PCAT6与miR-NC分别共转染SAOS2细胞,转染48 h时检测各组SAOS2细胞的荧光素酶活性。为验证lncRNA PCAT6对miR-139-3p的调控作用,分别将pcDNA、pcDNA-PCAT6、si-NC、si-PCAT6转染SAOS2细胞,转染48 h,参照上述RT-qPCR方法检测各组细胞miR-139-3p的表达水平。

1.3 统计学方法 采用SPSS 18.0进行统计学分析。每组实验均设置3个复孔或平行实验并重复3

次,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较行独立样本 t 检验,多组间比较行单因素方差分析和SNK- q 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨肉瘤组织中lncRNA PCAT6和miR-139-3p的表达 骨肉瘤组织中PCAT6表达水平显著高于癌旁组织,miR-139-3p表达水平显著低于癌旁组织($P < 0.05$)。见表1。

表1 骨肉瘤组织中长链非编码RNA(LncRNA)前列腺癌相关转录因子6(PCAT6)和微小RNA-139-3p(miR-139-3p)的

表达/ $\bar{x} \pm s$			
组别	例数	PCAT6	miR-139-3p
癌旁组织	20	1.01 $\pm$ 0.09	1.00 $\pm$ 0.08
骨肉瘤组织	20	2.76 $\pm$ 0.27	0.51 $\pm$ 0.05
t 值		27.498	23.228
P 值		0.000	0.000

2.2 抑制lncRNA PCAT6表达对骨肉瘤SAOS2细胞增殖和凋亡的影响 转染si-PCAT6后SAOS2细胞PCAT6表达、CyclinD1和Bcl-2蛋白表达、细胞活力(48、72 h)显著降低,p21蛋白表达、细胞凋亡率、Bax蛋白表达显著升高($P < 0.05$)。见表2。

2.3 lncRNA PCAT6靶向调控miR-139-3p的表达 采用生物信息学分析工具LncBase Predicted v.2进行靶基因预测显示PCAT6和miR-139-3p之间存在互补序列,见图1。双荧光素酶报告实验显示,同与WT-PCAT6共转染,转染miR-139-3p mimics与转染miR-NC比较SAOS2细胞荧光素酶活性显著降低($P < 0.05$),见表3。RT-qPCR检测显示,过表达PCAT6后SAOS2细胞miR-139-3p的表达水平显著降低;抑制PCAT6后SAOS2细胞miR-139-3p的表达水平显著升高,见表4。

2.4 miR-139-3p过表达对骨肉瘤SAOS2细胞增殖和凋亡的影响 转染miR-139-3p mimics后SAOS2细胞miR-139-3p表达、p21和Bax蛋白表达、细胞凋亡率显著升高,CyclinD1和Bcl-2蛋白表达、细胞活力(48、72 h)显著降低($P < 0.05$)。见表5。

表2 抑制长链非编码RNA(LncRNA)前列腺癌相关转录因子6(PCAT6)表达对骨肉瘤SAOS2细胞增殖和凋亡的影响/ $(\bar{x} \pm s, n=9)$

分组	PCAT6	OD值(490 nm)			凋亡率/%	CyclinD1蛋白	p21蛋白	Bcl-2蛋白	Bax蛋白
		24 h	48 h	72 h					
si-NC	1.00 $\pm$ 0.08	0.32 $\pm$ 0.03	0.59 $\pm$ 0.05	0.97 $\pm$ 0.08	7.65 $\pm$ 0.77	0.67 $\pm$ 0.06	0.32 $\pm$ 0.03	0.62 $\pm$ 0.06	0.25 $\pm$ 0.03
si-PCAT6	0.47 $\pm$ 0.05	0.29 $\pm$ 0.03	0.38 $\pm$ 0.04	0.52 $\pm$ 0.05	23.54 $\pm$ 2.49	0.28 $\pm$ 0.03	0.79 $\pm$ 0.06	0.22 $\pm$ 0.03	0.64 $\pm$ 0.05
t 值	16.854	2.121	9.839	14.310	18.290	17.441	21.019	17.888	20.065
P 值	0.000	0.049	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:Cyclin D1为细胞周期素D1,Bcl-2为B细胞淋巴瘤/白血病-2,Bax为Bcl-2相关X蛋白。

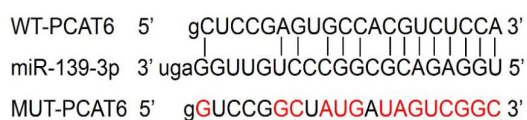


图1 前列腺癌相关转录因子6(PCAT6)和miR-139-3p预测结合位点

表3 双荧光素酶报告实验/(\(\bar{x} \pm s, n=9\))

组别	WT-PCAT6	MUT-PCAT6
miR-NC	1.02±0.08	1.04±0.09
miR-139-3p	0.47±0.05	1.01±0.07
<i>t</i> 值	17.490	0.789
<i>P</i> 值	0.000	0.441

表4 长链非编码RNA(LncRNA)前列腺癌相关转录因子6(PCAT6)调控miR-139-3p/(\(\bar{x} \pm s, n=9\))

组别	miR-139-3p
pcDNA	1.00±0.08
pcDNA-PCAT6	0.49±0.05 ^①
si-NC	1.01±0.09
si-PCAT6	2.55±0.25 ^②
<i>F</i> 值	360.313
<i>P</i> 值	0.000

注:与pcDNA组比较,① $P < 0.05$;②与si-NC组比较, $P < 0.05$ 。

2.5 抑制miR-139-3p减弱了抑制lncRNA PCAT6对骨肉瘤SAOS2细胞增殖和凋亡的作用 与si-PCAT6组比较,si-PCAT6组SAOS2细胞miR-139-3p表达、p21和Bax蛋白表达、细胞凋亡率显著升高,CyclinD1和Bcl-2蛋白表达、细胞活力(48、72 h)显

著降低;与si-PCAT6+anti-miR-NC组比较,si-PCAT6+anti-miR-139-3p组SAOS2细胞miR-139-3p表达、p21和Bax蛋白表达、细胞凋亡率显著降低,CyclinD1和Bcl-2蛋白表达、细胞活力(48、72 h)显著升高,凋亡率显著降低($P < 0.05$)。见表6。

3 讨论

lncRNA广泛参与细胞生长、分化和代谢等生物学过程,与骨肉瘤等多种疾病的进展关系密切^[4]。本研究旨在揭示lncRNA PCAT6在骨肉瘤进展中的作用。

肿瘤中异常表达的lncRNA在调节肿瘤细胞恶性生物表型中发挥重要作用。研究发现lncRNA PCAT6在卵巢癌组织中表达上调,与远处转移或淋巴结转移密切相关,干扰PCAT6表达后卵巢癌细胞的增殖、迁移和侵袭能力显著降低^[8]。胃癌中lncRNA PCAT6高表达与胃癌病人预后、胃癌转移、临床病理分期呈负相关,过表达PCAT6增加了胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭,而减少了胃癌细胞的凋亡^[9]。此外,lncRNA PCAT6高表达与宫颈浸润深度及淋巴结转移呈正相关,与总生存期和无病生存期呈负相关,lncRNA PCAT6高表达是宫颈癌病人不良预后的生物标志物^[10]。本研究发现lncRNA PCAT6在骨肉瘤组织中表达较低,提示lncRNA PCAT6可能在骨肉瘤的进展中发挥重要作用。进一步研究显示抑制PCAT6表达可下调骨肉瘤细胞CyclinD1和Bcl-2蛋白表达,降低细胞活力,上调p21

表5 miR-139-3p过表达对骨肉瘤SAOS2细胞增殖和凋亡的影响/(\(\bar{x} \pm s, n=9\))

分组	miR-139-3p	OD 值(490 nm)			凋亡率/%	CyclinD1 蛋白	p21 蛋白	Bcl-2 蛋白	Bax 蛋白
		24 h	48 h	72 h					
miR-NC	1.01±0.09	0.33±0.03	0.62±0.06	0.99±0.09	8.32±0.81	0.69±0.06	0.31±0.03	0.61±0.06	0.24±0.03
miR-139-3p	2.67±0.25	0.31±0.03	0.44±0.04	0.58±0.05	20.14±2.11	0.32±0.03	0.73±0.07	0.28±0.03	0.61±0.05
<i>t</i> 值	18.742	1.414	7.488	11.946	15.689	16.549	16.544	14.758	19.036
<i>P</i> 值	0.000	0.176	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:Cyclin D1为细胞周期素D1,Bcl-2为B细胞淋巴瘤/白血病-2,Bax为Bcl-2相关X蛋白。

表6 抑制miR-139-3p减弱了抑制lncRNA PCAT6对骨肉瘤SAOS2细胞增殖和凋亡的作用/(\(\bar{x} \pm s, n=9\))

分组	miR-139-3p	OD 值(490 nm)			凋亡率/%	CyclinD1 蛋白	p21 蛋白	Bcl-2 蛋白	Bax 蛋白
		24h	48h	72h					
si-NC	1.01±0.09	0.34±0.03	0.61±0.05	0.98±0.08	6.98±0.69	0.68±0.06	0.33±0.03	0.63±0.06	0.24±0.03
si-PCAT6	2.53±0.24 ^①	0.31±0.03	0.39±0.04 ^①	0.54±0.05 ^①	22.65±2.24 ^①	0.29±0.03 ^①	0.78±0.06 ^①	0.23±0.03 ^①	0.65±0.05 ^①
si-PCAT6+anti-miR-NC	2.51±0.25	0.29±0.03	0.37±0.04	0.51±0.05	24.36±2.41	0.27±0.03	0.77±0.07	0.21±0.03	0.66±0.06
si-PCAT6+anti-miR-139-3p	1.36±0.14 ^②	0.33±0.03 ^②	0.53±0.05 ^②	0.87±0.07 ^②	14.65±1.54 ^②	0.56±0.05 ^②	0.42±0.04 ^②	0.52±0.05 ^②	0.35±0.03 ^②
<i>F</i> 值	149.689	4.916	57.804	122.576	168.425	186.835	179.018	200.924	206.126
<i>P</i> 值	0.000	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与si-NC组比较,① $P < 0.05$;②与si-PCAT6+anti-miR-NC组比较, $P < 0.05$ 。

Cyclin D1为细胞周期素D1,Bcl-2为B细胞淋巴瘤/白血病-2,Bax为Bcl-2相关X蛋白。

和 Bax 蛋白表达,诱导细胞凋亡。提示 lncRNA PCAT6 在骨肉瘤进展中发挥癌基因作用。

研究表明 lncRNA 具有 miRNA 分子海绵吸附作用,从而参与对多种肿瘤进展的调控^[11]。例如 lncRNA PCAT6 通过调控 miR-330-5p 促进了胆管癌细胞的增殖和侵袭^[12]。lncRNA PCAT6 还可通过与 miR-204 相互作用调节结直肠癌细胞对 5-氟尿嘧啶的耐药性^[13]。为揭示 lncRNA PCAT6 在骨肉瘤中的作用机制,利用在线生物信息学分析工具发现 miR-139-3p 和 PCAT6 之间存在部分连续结合位点。研究发现 miR-139-3p 表达水平与骨肉瘤组织中 PCAT6 表达呈负相关,并证实 miR-139-3p 是 lncRNA PCAT6 的靶基因,且 miR-139-3p 的表达受到 lncRNA PCAT6 负性调控。研究报道 miR-139-3p 过表达可抑制胶质母细胞瘤细胞的生长和转移^[14]。此外,miR-139-3p 在乳腺癌和结肠癌中也发挥抑癌基因作用,miR-139-3p 表达下降与乳腺癌和结肠病人预后较差显著相关,是乳腺癌和结肠病人潜在预后标志物^[15-16]。本研究发现过表达 miR-139-3p 可下调骨肉瘤细胞 CyclinD1 和 Bcl-2 蛋白表达,上调 p21 和 Bax 蛋白表达,降低胞活力,诱导细胞凋亡,与前人研究结论相吻合^[7]。进一步研究显示抑制 miR-139-3p 表达可逆转抑制 PCAT6 对骨肉瘤细胞的增殖抑制和凋亡促进作用。以上结果提示在骨肉瘤中 lncRNA PCAT6 通过靶向负性调控 miR-139-3p 发挥其致癌作用。

综上所述,lncRNA PCAT6 在骨肉瘤中表达上调,miR-139-3p 表达下调。抑制 lncRNA PCAT6 通过靶向 miR-139-3p 可抑制骨肉瘤细胞增殖并诱导细胞凋亡,lncRNA PCAT6 是骨肉瘤的潜在治疗靶点。

参考文献

- [1] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics, 2015 [J]. CA Cancer J Clin, 2015, 65(1): 5-29.
- [2] 邓必勇,邱冰,邓必强. 影响骨肉瘤生存率的多因素回归分析 [J]. 安徽医药, 2016, 20(6): 1127-1129.
- [3] YANG J, ZHANG W. New molecular insights into osteosarcoma targeted therapy [J]. Curr Opin Oncol, 2013, 25(4): 398-406
- [4] 白广建,韩智涛,刘戈,等. 骨肉瘤相关的 lncRNA 研究进展 [J]. 中国肿瘤临床, 2018, 45(6): 297-300.
- [5] HUANG W, SU G, HUANG X, et al. Long noncoding RNA PCAT6 inhibits colon cancer cell apoptosis by regulating anti-apoptotic protein ARC expression via EZH2 [J]. Cell Cycle, 2019, 18(1): 69-83.
- [6] WAN L, ZHANG L, FAN K, et al. Knockdown of Long Noncoding RNA PCAT6 Inhibits Proliferation and Invasion in Lung Cancer Cells [J]. Oncol Res, 2016, 24(3): 161-170.
- [7] 李志全,马龙,董晖,等. miR-139 对骨肉瘤细胞增殖和凋亡的影响 [J]. 山西医科大学学报, 2016, 47(3): 232-237.
- [8] KONG FR, LV YH, YAO HM, et al. LncRNA PCAT6 promotes occurrence and development of ovarian cancer by inhibiting PTEN [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(19): 8230-8238.
- [9] XU Y, SUN JY, JIN YF, et al. PCAT6 participates in the development of gastric cancer through endogenously competition with microRNA-30 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2018, 22(16): 5206-5213.
- [10] LV XJ, TANG Q, TU YQ, et al. Long noncoding RNA PCAT6 regulates cell growth and metastasis via Wnt/ β -catenin pathway and is a prognosis marker in cervical cancer [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(5): 1947-1956.
- [11] 皮益苑,周爽,简鸣,等. LncRNA 中 miRNA 海绵活性与肿瘤的研究进展 [J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(3): 230-234.
- [12] XIN Y, HE X, ZHAO W, et al. LncRNA PCAT6 increased cholangiocarcinoma cell proliferation and invasion via modulating miR-330-5p [J]. Am J Transl Res, 2019, 11(9): 6185-6195.
- [13] WU H, ZOU Q, HE H, et al. Long non-coding RNA PCAT6 targets miR-204 to modulate the chemoresistance of colorectal cancer cells to 5-fluorouracil-based treatment through HMGA2 signaling [J]. Cancer Med, 2019, 8(5): 2484-2495.
- [14] SHI L, YUAN Y, LI HY. MicroRNA-139-3p suppresses growth and metastasis of glioblastoma via inhibition of NIN1/RPNI2 binding protein 1 homolog [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019 23(10): 4264-4274.
- [15] ZHANG W, XU J, WANG K, et al. miR-139-3p suppresses the invasion and migration properties of breast cancer cells by targeting RAB1A [J]. Oncol Rep, 2019, 42(5): 1699-1708.
- [16] LIU X, DUAN B, DONG Y, et al. MicroRNA-139-3p indicates a poor prognosis of colon cancer [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(11): 8046-8052.

(收稿日期:2019-10-30,修回日期:2019-12-18)