

- 床医药文献电子杂志, 2019, 6(54): 24. DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2019.54.018.
- [16] 高燕, 方立群, 张勇, 等. 中国大陆季节性流感活动的时空分布特征[J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(11): 1097-1101.
- [17] 刘利君, 谈敦芳. 2015—2019年北京市顺义区15岁以下学生和婴幼儿传染病发病特征分析[J]. 首都公共卫生, 2022, 16(1): 52-55.
- [18] 陈万庚, 何飞, 杨书宏, 等. 一起托幼机构甲型流感暴发调查[J]. 疾病监测, 2011, 26(7): 586.
- [19] 张晓峰, 尤爱国, 安勇进, 等. 三门峡市某中学一起H₃N₂流感暴发疫情调查[J]. 河南医学研究, 2021, 30(27): 5035-5039.
- [20] 叶勇, 刘红艳, 李黎莎, 等. 普洱市一起某中学甲型H1N1流感暴发疫情调查分析[J]. 应用预防医学, 2019, 25(6): 477-479.
- (收稿日期: 2022-06-22, 修回日期: 2022-07-12)

引用本文: 刘莹, 连海伟, 易伟, 等. 环状RNA 同源性蛋白激酶3 靶向微RNA-338 促进胶质瘤细胞侵袭、迁移的实验研究[J]. 安徽医药, 2024, 28(1): 138-142. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6469.2024.01.029.

◇ 临床医学 ◇



环状RNA 同源性蛋白激酶3 靶向微RNA-338 促进胶质瘤细胞侵袭、迁移的实验研究

刘莹, 连海伟, 易伟, 张淑娣, 朱晓楠

作者单位: 武汉大学人民医院神经外科, 湖北 武汉 430060

通信作者: 张淑娣, 女, 副主任护师, 研究方向为神经外科解剖与组织胚胎学, Email: rm000697@whu.edu.cn

基金项目: 湖北省自然科学基金(2020CFB256)

摘要 目的 探讨人血清环状RNA 同源性蛋白激酶3(CircHIPK3)靶向微RNA-338(miR-338)对胶质瘤细胞U251细胞侵袭、迁移的影响。**方法** 2021年2—12月,在武汉大学人民医院科研中心将U251细胞分为空白(NG)组、CircHIPK3阴性对照(sh-control)组、HIPK3敲减(sh-CircHIPK3)组,实时荧光定量PCR(qRT-PCR)检测U251细胞中CircHIPK3、miR-338表达水平;Transwell检测细胞迁移与侵袭;划痕法检测细胞迁移;流式细胞术检测细胞周期;通过Circular RNA Interactome、RegRNA2.0、CircBank Database网站预测CircHIPK3(ID: hsa_circ_0000284)的靶向miRNA并用双萤光素酶实验验证,蛋白质印迹法检测基质金属蛋白酶(MMP)-2、MMP-9蛋白表达。**结果** 与NG组、sh-control组比较,sh-CircHIPK3组中CircHIPK3(1.00±0.00、1.06±0.26比0.56±0.06)表达水平显著降低($P<0.05$),miR-338(1.00±0.00、1.12±0.19比1.89±0.28)表达、G₁期细胞比例[(58.72±0.36)%、(58.45±0.27)%比(64.72±0.47)%]升高($P<0.05$),U251细胞侵袭数目[(164.89±12.55)个、(165.77±12.16)个比(80.13±11.37)个]、划痕愈合率[(25.66±2.37)%、(26.38±2.53)%比(10.36±1.53)%]、迁移细胞数目[(196.72±18.75)个、(194.65±17.86)个比(95.58±8.66)个]、S期细胞比例[(26.45±0.39)%、(26.57±0.41)%比(20.72±0.18)%]明显降低($P<0.05$);miR-338是CircHIPK3的靶基因。与NG组、sh-control组比较,sh-CircHIPK3组MMP-2(1.31±0.23、1.33±0.20比0.61±0.05)、MMP-9(1.16±0.22、1.15±0.21比0.85±0.19)蛋白表达水平均显著降低($P<0.05$)。**结论** 沉默CircHIPK3通过靶向上调miR-338表达能抑制胶质瘤细胞U251细胞迁移和侵袭。

关键词 神经胶质瘤; 微RNA-338; 人血清环状RNA 同源性蛋白激酶3; 迁移; 侵袭; U251细胞

Experimental study on CircHIPK3 targeting mir-338 promoting invasion and migration of glioma cells

LIU Ying, LIAN Haiwei, YI Wei, ZHANG Shudi, ZHU Xiaonan

Author Affiliation: Neurosurgery Department of Wuhan University People's Hospital, Wuhan, Hubei 430060, China

Abstract Objective To investigate the effect of human serum cyclic RNA homologous protein kinase 3 (CircHIPK3) targeting microRNA-338 (miR-338) on the migration and invasion of glioma cells U251. **Methods** Glioma cells U251 were assigned into blank (NG) group, CircHIPK3 negative control (sh-control) group and HIPK3 knockdown (sh-CircHIPK3) group at the Scientific Research Center of the People's Hospital of Wuhan University from February to December 2021. The expression levels of CircHIPK3 and miR-338 in U251 cells were detected by real-time PCR (qRT-PCR); the migration and invasion ability of cells were detected by Transwell; the migration ability of cells was detected by scratch method; the cell cycle was detected by flow cytometry; CircHIPK3 was predicted by circular RNA interactome, RegRNA2.0 and CircBank Database website (ID: hsa_circ_0000284) and verified by double luciferase

experiment. The expression of matrix metalloproteinase (MMP)-2 and MMP-9 protein were detected by Western blotting. **Results** Compared with NG group and sh-control group, the expression level of CircHIPK3 (1.00 ± 0.00 , 1.06 ± 0.26 vs. 0.56 ± 0.06) in sh-CircHIPK3 group was decreased significantly ($P < 0.05$); the expression of mir-338 (1.00 ± 0.00 , 1.12 ± 0.19 vs. 1.89 ± 0.28) and the proportion of cells in G1 phase [$(58.72\pm 0.36)\%$, $(58.45\pm 0.27)\%$ vs. $(64.72\pm 0.47)\%$] increased significantly ($P < 0.05$), the number of invasion (164.89 ± 12.55 , 165.77 ± 12.16 vs. 80.13 ± 11.37) and scratch healing rate [$(25.66\pm 2.37)\%$, $(26.38\pm 2.53)\%$ vs. $(10.36\pm 1.53)\%$], the number of migrating cells (196.72 ± 18.75 , 194.65 ± 17.86 vs. 95.58 ± 8.66), the proportion of cells in S phase [$(26.45\pm 0.39)\%$, $(26.57\pm 0.41)\%$ vs. $(20.72\pm 0.18)\%$] of U251 cells were significantly decreased ($P < 0.05$); mir-338 was target gene of CircHIPK3. Compared with NG group and sh-control group, the expression levels of MMP-2 (1.31 ± 0.23 , 1.33 ± 0.20 vs. 0.61 ± 0.05) and MMP-9 (1.16 ± 0.22 , 1.15 ± 0.21 vs. 0.85 ± 0.19) in the sh-CircHIPK3 group were significantly decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Silencing CircHIPK3 inhibits glioma cell U251 cell migration and invasion by targeting the up-regulation of miR-338 expression.

Keywords Glioma; MicroRNA-338; Human serum cyclic RNA homologous protein kinase 3; Migration; Invasion; U251 cells

胶质瘤是最常见的颅内原发性肿瘤,具有较高的病死率^[1-2]。目前对于胶质瘤的治疗方法主要包括手术切除、放疗、化疗和肿瘤电场治疗(TTfields)等综合治疗方案,虽然取得了很大进展,但由于胶质瘤具有很强的转移能力,病人生存率依然很低^[3]。所以探究胶质瘤转移的分子机制可能为胶质瘤的诊断和治疗提供更多的方向。越来越多的研究表明, circRNA 在各种疾病尤其是癌症的发展中发挥重要作用^[4]。CircHIPK3作为一种 circRNA,已有研究报道, CircHIPK3在神经胶质瘤组织和细胞中高表达,沉默CircHIPK3抑制了胶质瘤细胞增殖和侵袭能力^[5]。表明沉默CircHIPK3可抑制胶质瘤的进展。但具体机制尚不完全清楚。本研究通过生物信息学分析发现CircHIPK3与miR-338存在结合位点。相关研究显示,上调miR-338可抑制胶质瘤细胞增殖^[6]。但CircHIPK3能否通过调控miR-338影响胶质瘤细胞的恶性生物学行为尚不清楚。因此,2021年2—12月进行本研究,旨在通过体外研究深入探究CircHIPK3对胶质瘤细胞U251细胞迁移、侵袭的影响以及其作用的分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞与试剂 胶质瘤细胞(U251)(上海复祥生物公司,货号CL-0014)。胎牛血清(货号10100147)、DMEM培养基(货号31331093)、0.25%胰蛋白酶(货号12605036)等,购自美国Gibco公司;兔抗人基质金属蛋白酶(MMP)-2(货号ab92536)、MMP-9(货号ab228402)、GAPDH(货号ab181602)及山羊抗兔IgG二抗(货号ab205718)购自英国Abcam公司。

1.2 方法

1.2.1 生物信息学分析 通过Circular RNA Interactome、RegRNA2.0、CircBank Database网站预测CircHIPK3(ID:hsa_circ_0000284)的靶向miRNA,然后将3个网站预测得到的靶向miRNA进行交集。

1.2.2 细胞培养 将U251细胞株置于37℃水浴锅中快速融化,移至EP管中,悬浮接种于培养瓶,培养过程均用含1%双抗、10%胎牛血清的DMEM培养液,于37℃、5%二氧化碳的条件下培养,每两天更换一次培养液,传代培养。

1.2.3 细胞转染及分组 将对数生长期的U251细胞分别转染用羧基荧光素(绿色荧光)标记的sh-control、sh-CircHIPK3,并命名为sh-control组、sh-CircHIPK3组,另取正常培养的U251细胞作为空白(NG)组。转染48h后,利用荧光显微镜观察细胞转染效率。转染效率=(绿色荧光细胞数/总细胞数)×100%。

1.2.4 实时定量聚合酶链反应(quantitative real-time PCR, qRT-PCR)检测CircHIPK3、miR-338表达水平变化 Trizol试剂提取U251细胞中总RNA,使用Nanodrop™ 2000分光光度计测量RNA的浓度和纯度。用RNA逆转录试剂盒将RNA逆转录为cDNA后,以cDNA为模板进行qRT-PCR反应。扩增条件如下:95℃, 10 min; 95℃, 10 s; 60℃, 60 s; 40个循环。GAPDH、U6分别作为CircHIPK3、miR-338的内参,通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算CircHIPK3、miR-338的表达。引物序列见表1。

表1 CircHIPK3、miR-338、GAPDH、U6 qRT-PCR引物序列

基因	引物5'-3'
CircHIPK3	正向 GAACGAGAGGACCGAAG
	反向 CCAAGTCTAGATAAGC
miR-338	正向 ATATCCTGCTGCTGAGTG
	反向 GAACATGTCTGCCTATCTC
GAPDH	正向 AGAAGGCTGGGCTCATTTC
	反向 GCAGGAGGCATTGCTGATGAT
U6	正向 TCGGGTGCTCGCTTCGGCAGC
	反向 CCAAGTGCAGGGTCCGAGGT

注: CircHIPK3为环状RNA同源域相互作用蛋白激酶3, miR-338为微核糖核酸-338, GAPDH为甘油醛-3-磷酸脱氢酶, U6为小核糖核蛋白。

1.2.5 Transwell法检测各组U251细胞侵袭、迁移能力 细胞侵袭的测定,按方法“1.2.2”进行分组,将各组细胞以 2×10^5 个/孔悬浮于预涂有Matrigel的Transwell上室中。再将含有10%胎牛血清的500 μ L DMEM培养基加入到下室中。孵育48 h后,用棉签除去上室下表面未侵袭的细胞,将侵袭的细胞用甲醇固定30 min,0.1%结晶紫染色20 min。利用倒置显微镜观察侵袭细胞数。

细胞迁移的测定,按方法“1.2.2”进行分组,将各组细胞以 2×10^5 个/孔悬浮于Transwell上室中。再将含有10%胎牛血清的500 μ L DMEM培养基加入到下室中。孵育48 h后,用棉签除去上室下表面未迁移的细胞,将迁移的细胞用甲醇固定30 min,0.1%结晶紫染色20 min。利用倒置显微镜观察迁移细胞数。

1.2.6 划痕愈合实验检测各组U251细胞迁移能力 将 1×10^6 个细胞接种到6孔板中,当其汇合度达到90%时,使用10 μ L无菌移液管尖端刮擦细胞层表面以产生划痕。孵育24 h后,利用倒置显微镜观察划痕宽度。用W0、W24分别表示0 h、24 h的划痕宽度。划痕愈合率(%)=(1-W24/W0)×100%。

1.2.7 流式细胞术检测细胞周期 收集各组细胞,用PBS洗涤1次后用PBS制成细胞悬液,再加入体积分数为70%的乙醇,在4 $^{\circ}$ C下避光过夜孵育。次日,经1 000 r/min离心5 min并收集细胞沉淀,用PBS重悬细胞,再加入PI染液,室温避光孵育15 min后,利用流式细胞仪检测细胞周期。

1.2.8 双荧光素酶报告基因

1.2.8.1 突变型载体的制备 TargetScan数据库显示人CircHIPK3基因3'UTR区域含有miR-338结合位点。对CircHIPK3 3'-UTR区域进行扩增、酶切连至pGL4荧光素酶报告载体,构建p-GL4-HIPK3-WT质粒,以此质粒为模板进行定点突变,测序确认突变成功,构建p-GL4-HIPK3-MUT质粒。

1.2.8.2 荧光素酶报告基因实验 U251细胞铺48孔板,24 h后,将miR-338 NC和miR-338 mimics分别与p-GL4-HIPK3-WT和p-GL4-HIPK3-MUT共转染,24 h后,观察荧光素酶相对活性变化。

1.2.9 蛋白质印迹法检测 RIPA裂解液提取各组细胞总蛋白,使用BCA蛋白测定试剂盒对总蛋白进行定量。10% SDS-PAGE分离30 μ g蛋白质,然后将分离的蛋白质转移到PVDF膜上。将膜在室温下用5%脱脂牛奶封闭1 h,再向膜中加入一抗MMP-2(1:1 000)、MMP-9(1:500)、GAPDH(1:500)在4 $^{\circ}$ C中孵育过夜,用TBST洗涤后添加兔二抗(1:5 000)常温下孵育2 h。采用蛋白成像凝胶仪对MMP-2、MMP-9

蛋白水平进行半定量分析。实验重复3次。

1.3 统计学方法 采用SPSS 19.0(SPSS Inc.Chicago,IL,USA,2011)进行统计学分析。计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采SNK-*q*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CircHIPK3靶向miRNA的预测 通过Circular RNA Interactome、RegRNA2.0、CircBank Database网站预测CircHIPK3(ID:hsa_circ_0000284)的靶向miRNA,然后将3个网站预测得到的靶向miRNA进行交集,发现3个网站同时预测到的miRNA中有感兴趣的miR-338,因此选用miR-338进行后续研究。

2.2 细胞转染效率的检测 NG组、sh-control组、sh-CircHIPK3组细胞转染效率分别为0%、(86.52±6.42)%、(89.73±7.21)% ,见图1。

2.3 qRT-PCR检测CircHIPK3、miR-338表达水平 与NG组相比,sh-control组CircHIPK3、miR-338表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$);与NG组、sh-control组相比,sh-CircHIPK3组CircHIPK3表达水平显著下降($P < 0.05$),miR-338表达水平显著升高($P < 0.05$)。见表2。

表2 qRT-PCR检测CircHIPK3、miR-338表达水平 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	CircHIPK3	miR-338
NG组	6	1.00±0.00	1.00±0.00
sh-control组	6	1.06±0.26	1.12±0.19
sh-CircHIPK3组	6	0.56±0.06 ^①	1.89±0.28 ^②
F值		19.47	46.42
P值		<0.001	<0.001

注:NG组为空白组,Sh-control为转染对照组,Sh-CircHIPK3为环状RNA同源域相互作用蛋白激酶3转染组,CircHIPK3为环状RNA同源域相互作用蛋白激酶3,miR-338为微核糖核酸-338。

①与NG组比较, $P < 0.05$ 。②与sh-control组比较, $P < 0.001$ 。

2.4 敲减CircHIPK3对U251细胞迁移、侵袭能力的影响 与NG组相比,sh-control组U251细胞划痕愈合率、迁移细胞数没有显著变化;与NG组、sh-control组比较,CircHIPK3敲减组U251细胞划痕愈合率、迁移细胞数显著降低($P < 0.05$),见表3;图2,3。

与NG组相比,sh-control组U251细胞侵袭细胞数没有显著变化;与NG组、sh-control组比较,CircHIPK3敲减组U251细胞侵袭数明显减少($P < 0.05$),见表3,图4。

2.5 敲减CircHIPK3对U251细胞MMP-2、MMP-9蛋白表达的影响 与NG组、sh-control组相比,sh-CircHIPK3组MMP-2、MMP-9蛋白表达显著降低($P < 0.05$),见表4,图5。

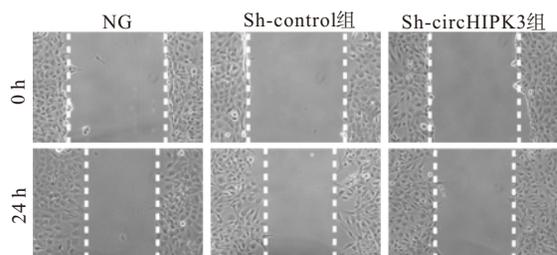


图2 划痕实验检测敲减 CircHIPK3 对 U251 细胞迁移能力的影响 (结晶紫染色×200)

表3 敲减 CircHIPK3 对 U251 细胞迁移、侵袭能力的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	划痕愈合率/%	迁移细胞数/个	侵袭细胞数/个
NG	6	25.66±2.37	196.72±18.75	164.89±12.55
sh-control	6	26.38±2.53	194.65±17.86	165.77±12.16
sh-CircHIPK3	6	10.36±1.53 ^{①②}	95.58±8.66 ^{①②}	80.13±11.37 ^{①②}
F 值		104.42	88.61	101.74
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注: NG 组为空白组, Sh-control 为转染对照组, Sh-CircHIPK3 为环状 RNA 同源域相互作用蛋白激酶 3 转染组。

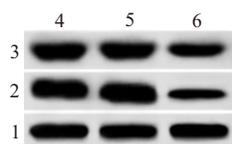
①与 NG 组比较, $P < 0.001$ 。②与 sh-control 组比较, $P < 0.001$ 。

表4 敲减 CircHIPK3 对 MMP-2、MMP-9 蛋白表达的影响 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	MMP-2/GAPDH	MMP-9/GAPDH
NG 组	6	1.31±0.23	1.16±0.22
sh-control 组	6	1.33±0.20	1.15±0.21
sh-CircHIPK3 组	6	0.61±0.05 ^{①②}	0.75±0.19 ^{①②}
F 值		31.59	8.32
P 值		<0.001	0.004

注: NG 组为空白组, Sh-control 为转染对照组, Sh-CircHIPK3 为环状 RNA 同源域相互作用蛋白激酶 3 转染组, MMP-9 为基质金属蛋白酶-9, MMP-2 为基质金属蛋白酶-2, GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

①与 NG 组比较, $P < 0.05$ 。②与 sh-control 组比较, $P < 0.05$ 。



注: 1—甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH); 2—基质金属蛋白酶(MMP)-2; 3—MMP-9; 4—空白组(NG 组); 5—转染对照组(Sh-control); 6—环状 RNA 同源域相互作用蛋白激酶 3 转染组(Sh-CircHIPK3)。

图5 敲减 CircHIPK3 对 MMP-2、MMP-9 蛋白表达的影响

2.6 敲减 CircHIPK3 对 U251 细胞周期的影响 与 NG 组、sh-control 组相比, sh-CircHIPK3 组中 G₁ 期细胞比例升高, S 期细胞比例降低 ($P < 0.05$), 而 G₂ 期细胞比例变化差异无统计学意义, 见表 5。

2.7 CircHIPK3 靶向调控基因的关系验证 TargetScan 数据库预测结果显示, mir-338 在 CircHIPK3 3'UTR 有相应的结合位点; 萤光素酶报告实验

表5 敲减 CircHIPK3 对 U251 细胞周期的影响 ($n=6$)/(%、 $\bar{x} \pm s$)

组别	重复次数	G ₁ 期细胞比例	G ₂ 期细胞比例	S 期细胞比例
NG 组	6	58.72±0.36	14.83±0.15	26.45±0.39
sh-control 组	6	58.45±0.27	14.98±0.14	26.57±0.41
sh-CircHIPK3 组	6	64.72±0.47 ^{①②}	14.56±0.16	20.72±0.18 ^{①②}
F 值		588.06	10.26	567.82
P 值		<0.001	0.002	<0.001

注: NG 组为空白组, Sh-control 为转染对照组, Sh-CircHIPK3 为环状 RNA 同源域相互作用蛋白激酶 3 转染组。

①与 NG 组比较, $P < 0.001$ 。②与 sh-control 组比较, $P < 0.001$ 。

结果显示, 与 p-GL4-HIPK3-WT+miR-338 NC 组相比, p-GL4-HIPK3-WT+miR-338 mimics 组 U251 胶质瘤细胞萤光素酶活性显著降低 ($P < 0.05$), p-GL4-HIPK3-MUT+miR-338 NC 组与 p-GL4-HIPK3-MUT+miR-338 mimics 组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 6。

表6 萤光素酶报告实验检测 mir-338 与 CircHIPK3 的靶向作用关系 $\bar{x} \pm s$

组别	重复次数	相对萤光素酶活性
MiR-338 NC+WT 组	6	1.00±0.24
MiR-338 mimics+WT 组	6	0.51±0.11 ^①
MiR-338 NC+MUT 组	6	1.01±0.23
MiR-338 mimics +MUT 组	6	0.97±0.22
F 值		32.36
P 值		<0.001

注: ①与 miR-338 NC+WT 组相比, $P < 0.05$ 。

3 讨论

胶质瘤是最常见的侵袭性原发性脑肿瘤, 由于其很强的侵袭性, 导致预后较差^[7-8]。CircHIPK3 是一种长度为 1 099 bp 的环状 RNA, 对多种癌症(包括肺癌, 结肠直肠癌和神经胶质瘤)的进展具有显著的促进作用^[9-11]。CircHIPK3 能够通过结合许多肿瘤的 miRNA 来增强细胞生长和转移^[12-13]。例如, 在肝癌细胞中 CircHIPK3 可以吸附 miR-124, 从而调节 miR-124 的靶基因 PDK2 促进肝癌细胞的细胞增殖和侵袭^[14]; 在非小细胞肺癌中, CircHIPK3 可以吸附 miR-149 促进 FOXM1 的表达, 从而影响细胞增殖和凋亡^[15]。尽管已有研究证明在神经胶质瘤组织中 CircHIPK3 表达的增加可以作为预后生物标志物, 但是 CircHIPK3 在神经胶质瘤中的具体机制尚不完全清楚。本研究发现, 与 NG 组、sh-control 组相比, CircHIPK3 敲减组胶质瘤 U251 细胞划痕愈合率、迁移、侵袭细胞数明显减少, G₁ 期细胞比例升高, S 期细胞比例降低。说明沉默 CircHIPK3 可能通过抑制胶质瘤 U251 细胞侵袭、迁移能力与细胞周期, 进而

抑制胶质瘤的进展。

大量研究显示,环状RNA可以与miRNA相互作用来调节下游基因,进而促进许多癌症的发展。miRNA是一类小分子单链RNA,广泛存在于真核生物中。已有研究证明,miRNA可以直接参与肿瘤的发生发展^[16]。有研究报道,过表达miR-338-3p通过下调KIF2A抑制非小细胞肺癌细胞增殖、侵袭^[17-18]。miR-338通过下调ZEB2抑制肝癌细胞的侵袭与转移^[19-20]。本研究发现,miR-338是CircHIPK3潜在靶基因。当沉默CircHIPK3时,qPCR结果显示CircHIPK3表达水平显著下调,而miR-338表达水平显著升高。猜测CircHIPK3可能通过调控miR-338的表达进而在胶质瘤的发生发展中起到重要的作用。本研究通过双荧光素酶报告实验证实了CircHIPK3可靶向调控miR-338基因。此外,CircHIPK3敲减可显著抑制胶质瘤U251细胞中MMP-2、MMP-9蛋白表达,表明在胶质瘤U251细胞中,CircHIPK3敲减可显著促进miR-338基因表达,并可能通过抑制MMP-2、MMP-9蛋白表达来细胞侵袭、迁移。

综上所述,CircHIPK3在胶质瘤U251细胞中高表达,其可能通过靶向miR-338表达促进胶质瘤U251细胞的迁移、侵袭,并影响细胞周期,CircHIPK3可能成为治疗胶质瘤的潜在靶标。然而,本研究尚存在不足之处,关于胶质瘤中CircHIPK3靶向miR-338具体调控过程,需深入研究并进行验证。

(本文图1,3,4见插图1-3)

参考文献

- [1] XI Z, ZHANG R, ZHANG F, et al. KLF₁₁ expression predicts poor prognosis in glioma patients [J]. *Int J Gen Med*, 2021, 14: 2923-2929.
- [2] ZHANG ZQ, WHANG X, XUE BH, et al. Chronic stress promotes glioma cell proliferation via the PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Oncol Rep*, 2021, 46(3): 202-213.
- [3] XUE T, DING JS, LI B, et al. A narrative review of adjuvant therapy for glioma: hyperbaric oxygen therapy [J]. *Med Gas Res*, 2021, 11(4): 155-157.
- [4] HATIBARUAH A, RAHMAN M, AGARWALA S, et al. Circular RNAs in cancer and diabetes [J]. *J Genet*, 2021, 100(1): 21-30.
- [5] 夏立军,衣服新,翟旭,等.环状RNA同源域相互作用蛋白激酶3(circHIPK3)通过吸附miR-124-3p促进神经胶质瘤细胞增殖及转移[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2020, 36(7): 609-615.
- [6] WAN Y, LIANG F, WEI M, et al. Long non-coding RNA LINC00525 regulates the proliferation and epithelial to mesenchymal transition of human glioma cells by sponging miR-338-3p [J]. *AMB Express*, 2020, 10(1): 156-164.
- [7] WELLER M, WICK W, ALDAPE K, et al. Glioma [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2015, 1: 15017.
- [8] WHANG C, TU H, YHANG L, et al. FOXN3 inhibits cell proliferation and invasion via modulating the AKT/MDM2/p53 axis in human glioma [J]. *Aging (Albany NY)*, 2021, 13(17): 21587-21598.
- [9] ZHAO Y, ZHANG C, TANG H, et al. Mechanism of RNA circHIPK3 involved in resistance of lung cancer cells to gefitinib [J]. *Biomed Res Int*, 2022, 2022: 4541918. DOI: 10.1155/2022/4541918
- [10] YAN Y, SU M, QIN B. CircHIPK3 promotes colorectal cancer cells proliferation and metastasis via modulating of miR-1207-5p/FMNL2 signal [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 524(4): 839-846.
- [11] YIN H, CUI X. Knockdown of circHIPK3 facilitates temozolomide sensitivity in glioma by regulating cellular behaviors through miR-524-5p/KIF2A-mediated PI3K/AKT pathway [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2021, 36(7): 556-567.
- [12] HAN C, WANG S, WANG H, et al. Exosomal circ-HIPK3 facilitates tumor progression and temozolomide resistance by regulating miR-421/ZIC5 axis in glioma [J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2021, 36(7): 537-548.
- [13] JIN P, HUANG Y, ZHU P, et al. CircRNA circHIPK3 serves as a prognostic marker to promote glioma progression by regulating miR-654/IGF2BP3 signaling [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(3): 1570-1574.
- [14] YU Q, CHEN W, LI Y, et al. The novel circular RNA HIPK3 accelerates the proliferation and invasion of hepatocellular carcinoma cells by sponging the micro RNA-124 or micro RNA-506/pyruvate dehydrogenase kinase 2 axis [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 4717-4729.
- [15] LU H, HAN X, REN J, et al. Circular RNA HIPK3 induces cell proliferation and inhibits apoptosis in non-small cell lung cancer through sponging miR-149 [J]. *Cancer Biol Ther*, 2020, 21(2): 113-121.
- [16] HUSSEN BM, HIDAYAT HJ, SALIHI A, et al. MicroRNA: a signature for cancer progression [J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 138: 111528-111538. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111528.
- [17] ZHU Y, MA C, LV A, et al. Circular RNA circ_0010235 sponges miR-338-3p to play oncogenic role in proliferation, migration and invasion of non-small-cell lung cancer cells through modulating KIF2A [J]. *Ann Med*, 2021, 53(1): 693-706.
- [18] WANG YY, REN HJ, PAN ZH, et al. Relationship between miR-338-3p and clinicopathological parameters, prognosis, and STAT3 mRNA expression in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 2021: 2681683. DOI: 10.1155/2021/2681683.
- [19] LI WZ, XUE H, LI YC, et al. HIPK3 circular RNA promotes metastases of HCC through sponging miR-338-3p to induce ZEB2 expression [J]. *Dig Dis Sci*, 2021, 66(10): 3439-3447.
- [20] LIU FC, FAN Y, OU LP, et al. CircHIPK3 facilitates the G2/M transition in prostate cancer cells by sponging miR-338-3p [J]. *OncoTargets Ther*, 2020, 13: 4545-4558.

(收稿日期:2022-05-11,修回日期:2022-07-14)