

lncRNA MALAT1 通过 miR-211 靶向调控 PI3K/Akt 信号通路对食管癌细胞凋亡及侵袭的影响

李学灿¹, 李俊杰¹, 徐恒¹, 吴小源²

(1. 焦作市人民医院, 河南 焦作 454002; 2. 河南省肿瘤医院, 河南 郑州 450003)

摘要: [目的] 探讨肺腺癌转移相关转录物 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 通过 miR-211 靶向调控磷脂酰肌醇-3-激酶 (phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路对食管癌 (esophagus cancer, EC) 细胞凋亡及侵袭的影响。[方法] 选取 2018 年 10 月至 2020 年 8 月在焦作市人民医院肿瘤外科行 EC 根治术治疗的 25 例 EC 患者的癌组织和癌旁组织 (癌周 3 cm 以上)。使用定量聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 检测 EC 患者癌灶、相对癌旁组织和人食管癌细胞 KYSE30、KYSE150、KYSE450 和 Ec109 细胞中 MALAT1 的表达。依据转染不同将细胞分为 NC 组 (阴性对照 sh-NC)、sh-MALAT1 组 (转染 sh-MALAT1)、miR-211 mimics 组 (转染 miR-211 mimics)、sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组 (转染 sh-MALAT1+miR-211 inhibitor)。使用 EDU 实验、Transwell、Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术检测各组细胞的增殖、侵袭和凋亡能力; 使用荧光素酶报告分析荧光素酶活性; 通过 Western blot 分析各组细胞中 lncRNA MALAT1、miR-211、基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase-9, MMP-9)、基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2)、血管内皮生长因子-A (vascular endothelial growth factor-A, VEGF-A)、PI3K/Akt 的表达情况。[结果] 与癌旁组织相比, lncRNA MALAT1 在 EC 组织中明显高表达, 且 Ec109 细胞系中 lncRNA MALAT1 的表达明显高于其他细胞系, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。双荧光素酶报告分析表明, miR-211 是 lncRNA MALAT1 潜在的靶向 microRNAs。与 NC 组相比, sh-MALAT1 组和 miR-211 mimics 组 EDU 阳性细胞率和侵袭细胞数均明显降低, 凋亡细胞数明显增加; 与 sh-MALAT1 组相比, sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组 EDU 阳性细胞率和侵袭细胞数均明显升高, 凋亡细胞数明显增加, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 NC 组相比, sh-MALAT1 组和 miR-211 mimics 组的 MMP-9、MMP-2、VEGF-A、PI3K 和 p-Akt 表达明显降低; 与 sh-MALAT1 组相比, sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组的 MMP-9、MMP-2、VEGF-A、PI3K 和 p-Akt 表达明显增加, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。[结论] lncRNA MALAT1 可通过靶向 miR-211, 激活 PI3K/Akt 信号通路, 促进 MMP-9、MMP-2 和 VEGF-A 的表达, 从而促进细胞增殖和侵袭, 抑制细胞凋亡。

关键词: lncRNA MALAT1; miR-211; PI3K/Akt 信号通路; 食管癌; 凋亡; 侵袭

中图分类号: R735.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-170X (2022) 03-0204-08

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2022.03.B008

Study on the Effect of lncRNA MALAT1 Targeting PI3K/Akt Signal Pathway on Apoptosis and Invasion of Esophageal Cancer Cells Through miR-211 Targeting

LI Xue-can¹, LI Jun-jie¹, XU Heng¹, WU Xiao-yuan²

(1. Jiaozuo People's Hospital, Jiaozuo 454002, China;

2. Henan Tumor Hospital, Zhengzhou 450003, China)

Abstract: [Objective] To explore the effect of lncRNA MALAT1 targeting PI3K/Akt signal pathway on apoptosis and invasion of esophageal cancer cells through miR-211 targeting. [Methods] Cancerous tissues and paracancerous tissues of 25 patients with EC who underwent EC radical resection in Tumor Surgery Department, Jiaozuo People's Hospital from October 2018 to August 2020 were selected. qPCR was used to detect the expression of lncRNA MALAT1 in cancer foci and paracancerous tissues of EC patients, human esophageal cancer cells KYSE30, KYSE150, KYSE450 and Ec109 cells. According to different transfection, the cells were divided into NC group (negative control sh-NC), sh-MALAT1 group (transfection sh-MALAT1), miR-211 mimics group (transfection miR-211 mimics) and sh-MALAT1+miR-211 inhibitor group (transfection sh-MALAT1+miR-211 inhibitor). The proliferation, invasion and apoptosis of cells in each group were detected by EDU test, Transwell and Annexin V-FITC/PI double staining flow cytometry, and luciferase activity was analyzed by luciferase report. The expressions of lncRNA MALAT1, miR-211, MMP-9, MMP-2, VEGF-A and PI3K/Akt were analyzed by Western blot. [Results] The expression of lncRNA MALAT1 in EC was significantly higher than

基金项目: 2019 年河南省医学科技攻关计划联合共建项目 (LHGJ20190634)

通信作者: 李学灿, E-mail: fangsh33351@163.com

收稿日期: 2021-09-17; **修回日期:** 2021-12-22

that in paracancerous tissues, and the expression of lncRNA MALAT1 in Ec109 cell line was significantly higher than that in other cell lines. Double luciferase report analysis showed that miR-211 was a potential targeting microRNAs for lncRNA MALAT1. Compared with NC group, the rate of EDU positive cells and the number of invasive cells in sh-MALAT1 group and miR-211 mimics group were significantly lower and the number of apoptotic cells was significantly higher than that in sh-MALAT1 group. Compared with sh-MALAT1 group, the rate of EDU positive cells and invasive cells and the number of apoptotic cells in sh-MALAT1+miR-211 inhibitor group were significantly higher than those in sh-MALAT1+miR-211 inhibitor group. Compared with NC group, the expression of MMP-9, MMP-2, VEGF-A, PI3K and p-Akt in sh-MALAT1 group and miR-211 mimics group decreased significantly, while the expression of MMP-9, MMP-2, VEGF-A, PI3K and p-Akt in sh-MALAT1+miR-211 inhibitor group increased significantly compared with sh-MALAT1 group. [Conclusion] lncRNA MALAT1 can target miR-211, activate PI3K/Akt signal pathway and promote the expression of MMP-9, MMP-2 and VEGF-A, so as to promote cell proliferation, invasion and inhibit apoptosis.

Subject words: lncRNA MALAT1; miR-211; PI3K/Akt signal pathway; esophageal carcinoma; apoptosis; invasion

肺腺癌转移相关转录物 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 是最早被定义为癌症启动子的长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 之一, 它也参与调控前体 mRNA 的加工和基因表达^[1]。研究发现 lncRNA MALAT1 在食管癌(esophageal cancer, EC)患者中表达上调^[2], 但在 EC 中的确切调控机制尚不清楚。lncRNA 和 miRNA 之间通过竞争机制相互作用, 研究 lncRNA 和 miRNA 之间的相互作用非常重要^[3]。miRNA 在转录后基因调控和 RNA 沉默中发挥着重要作用^[4]。相关分析显示, miR-211 与 lncRNA MALAT1 在卵巢癌中呈负相关^[5]。然而, miR-211 与 lncRNA MALAT1 在 EC 中的关系尚缺乏研究。磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路在调节细胞增殖和凋亡中起核心作用^[6]。研究报道, miR-211 通过磷酸化 PI3K/Akt 通路调控血管生成过程^[7]。然而, PI3K/Akt 通路、miR-211 和 lncRNA MALAT1 在 EC 病理中的作用尚不清楚。本研究分析 lncRNA MALAT1 在 EC 中的作用及其对 miR-211 的调控作用, 以及与 PI3K/Akt 通路的关系, 以期对 EC 治疗提供新的靶点。

1 材料与方法

1.1 细胞与主要试剂

人食管癌细胞系 KYSE30、KYSE150、KYSE450 和 Ec109 均购自复旦大学细胞培养中心, DMEM 培

养基购自美国 UT 公司, pmir-GLO 质粒购自美国 Promega 公司, 鼠抗人 PI3K、p-Akt 和 Akt 多克隆抗体均购自上海艾比玛特医药科技有限公司, 荧光定量 PCR 和低温高速离心机均购自德国 Eppendorf 公司, Biosciences FACSAria III 流式细胞仪购自美国 BD, miR-211 和 miR-211-NC 及其引物序列由上海英俊生物技术有限公司合成。

1.2 一般资料

选取 2018 年 10 月至 2020 年 8 月在焦作市人民医院肿瘤外科行 EC 根治术治疗的 25 例 EC 患者的癌组织和癌旁组织(癌周 3 cm 以上)。患者平均年龄(64.19±2.83)岁。纳入标准:(1)年龄≤80 岁;(2)病理学确诊为 EC;(3)无放、化疗及其他抗癌治疗史;(4)签署知情同意书。排除标准:(1)合并其他恶性肿瘤;(2)有精神疾病, 无法正常沟通;(3)合并感染性疾病。术中留取癌组织和癌旁组织, 并置于液氮罐中 10 min 后取出, 置于-80℃保存, 用于抽取 RNA。本研究经焦作市人民医院伦理委员会批准。

1.3 研究方法

1.3.1 细胞培养与转染

使用高葡萄糖的 DMEM 培养基培养人食管癌细胞 KYSE30、KYSE150、KYSE450 和 Ec109 细胞, 细胞保持在 5%CO₂、37℃潮湿环境中。

对 Ec109 细胞系进行转染, miR-211 模拟物、抑制剂、sh-MALAT1 和相应的阴性对照(NC)均来自 GenePharma (上海, 中国)。序列为: sh-NC: 5'-TTCTCCGAACGTGTCACGTTTCAAGAGAACGTGACACGTT-

CGGAGAA-3'; sh-MALAT1: 5'-GTAAGTGGCATGTG-AGCAA-3'; miR-211 mimics: 5'-UCGUACCGUGAGU-AAUAAUGCG-3'; miR-211 inhibitor: 5'-CGCAUUAU-UACUCACGGUACGA-3'。按照说明书使用 Lipofectamine 2000 转染试剂(Thermo Fisher scientific)进行细胞转染。转染 48 h 后,收集细胞及上清进行检测。将细胞分为 NC 组(阴性对照 sh-NC)、sh-MALAT1 组(转染 sh-MALAT1)、miR-211 mimics 组(转染 miR-211 mimics)、sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组(转染 sh-MALAT1+miR-211 inhibitor)。

1.3.2 实时定量 PCR 分析

采用 Trizol 试剂提取相应组织和细胞中总 RNA,采用反转录试剂盒合成 cDNA 后进行 PCR 扩增,并采用 U6 基因作为内参基因,采用 Smart View 凝胶成像对系统拍照分析以检测 lncRNA MALAT1 表达,或用 SYBR PCR Master Mix 试剂盒对 lncRNA MALAT1 和 miR-211 表达进行检测。RT-qPCR 反应条件:95℃预变性 10 min;95℃变性 50 s,60℃退火 25 s,72℃延伸 15 s,40 次循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算 lncRNA MALAT1 和 miR-211 的表达量。每个样本重复 3 次,取平均值。

lncRNA MALAT1 上游引物:5'-TGGATTTCGTG-GCCCCAGTGCTA-3',下游引物:5'-TTCATCCTGTT-CTTCCTCGGCG-3'。miR-211 上游引物:5'-ATTGCT-CAGGAATGGGTAT-3',下游引物:5'-AGGTTACCA-ACAGAGTGTCTTG-3'。U6 上游引物:5'-GAGAGAA-GCCGTCGTGT-3',下游引物:5'-TTGC-GAAGTGCT-TAAACGCA-3'。

1.3.3 荧光素酶报告实验检测 lncRNA MALAT1 对 miR-211 的靶向性

通过 PCR 扩增 lncRNA MALAT1 的推测结合位点,然后插入 pmir-GLO 质粒。用 Lipofectamine 2000 共转染 mimic NC、lncRNA MALAT1 WT 或 lncRNA MALAT1 MUT 和 miR-211 mimics, lncRNA MALAT1 WT 或 lncRNA MALAT1 MUT。转染 48 h 后,用双荧光素酶报告基因检测系统 (Promega, 北京, 中国)裂解细胞并检测荧光素酶活性。

1.3.4 采用 EDU 实验检测细胞增殖

各组细胞经胰蛋白酶消化后接种于 96 孔板,密度为 5×10^3 细胞/孔。细胞培养 24 h,按 EDU 试剂说明染色、洗涤。显微镜下随机选取 5 个视野,计算阳

性细胞数及细胞增殖率。

细胞增殖率=阳性细胞数/总细胞数 $\times 100\%$ 。

1.3.5 Transwell 方法检测 Ec109 细胞侵袭能力

细胞分组处理同上,以 1×10^5 个/mL 的密度将 Ec109 细胞接种于 12 孔板中。转染 48 h 后用 10 μ L 枪头进行划痕,后用预冷的 PBS 洗涤 3 次。加入无血清培养基继续培养 24 h 后于 0 h 和 24 h 在荧光倒置显微镜下随机选取 3 个视野进行记录统计。

1.3.6 采用 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞术检测细胞凋亡

收集转染 48 h 后的各组细胞,将不同组细胞接种于 6 孔板内,每组均设 3 个复孔,经 0.25%胰蛋白酶消化后,按照凋亡检测试剂盒说明书进行操作,向细胞中加入 5 μ L Annexin V-FITC 和 10 μ L PI 混匀,室温避光反应 15 min 后用 FACS Calibur 流式细胞仪检测凋亡率。每组设 3 个复孔。

1.3.7 Western blot 法检测 MMP-9、MMP-2、VEGF-A、PI3K、p-Akt 和 Akt 蛋白表达

分别收集各组样本,用总蛋白提取试剂盒分别提取组织及细胞中总蛋白,BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白含量。制备蛋白样品并进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,然后转至 PVDF 膜,加含有 5%BSA 的封闭液室温下封闭 2 h。加入适宜浓度一抗,4℃封闭过夜。次日用缓冲液清洗 PVDF 膜 3 次,加入二抗,室温孵育 1 h 后,加入显色液曝光显影。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 21.0 软件(美国 IBM 公司)进行数据分析;采用 Graphpad 5.01 软件作图;使用均数 $\pm$ 标准差表示计量资料,两个及两个以上样本均数比较采用方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA MALAT1 在 EC 组织和细胞系中的表达

与癌旁组织(1.33 ± 0.71)相比, lncRNA MALAT1 在 EC 组织(1.90 ± 0.77)中明显高表达,差异具有统计学意义($t = 2.721$, $P = 0.009$) (Figure 1A)。lncRNA MALAT1 在 Ec109、KYSE30、KYSE150、KYSE450 细胞系中的表达分别为 4.99 ± 1.13 、 2.20 ± 0.72 、 2.45 ± 0.85 、 2.16 ± 0.67 , Ec109 细胞系中 lncRNA MALAT1

的表达明显高于其他细胞系,差异具有统计学意义 ($t=3.607, 3.111, 3.731, P=0.015, 0.027, 0.014$)(Figure 1B)。

2.2 lncRNA MALAT1 对 miR-211 的靶向性

为探讨 MALAT1 和 miR-211 的潜在关系,使用 Starbase 软件预测 MALAT1 和 miR-211 的假定结合位点(Figure 2A),并使用荧光素酶实验验证它们的预测相互作用。在 Ec109 细胞中,转染 miR-211 mimics 后,与 mimic NC(1.02 ± 0.25)相比,miR-211 的表达(2.10 ± 0.56)增强了约 2 倍;转染 miR-211 inhibitor 后,与 inhibitor NC(0.97 ± 0.24),miR-211 表达(0.49 ± 0.17)被抑制了 50%以上(Figure 2B)。荧光素酶实验显示,转染 miR-211 mimics 后,与 mimic NC(0.96 ± 0.35)相比,在转染 lncRNA MALAT1 WT 的 Ec109 细胞中荧光素酶活性降低近 50%(0.46 ± 0.22),而 miR-211 在 lncRNA MALAT1 MUT 中作用消失(0.76 ± 0.28 vs 0.75 ± 0.26)(Figure 2C)。qPCR 检测结果显示,过表达 lncRNA MALAT1 导致 miR-211 表达(0.46 ± 0.18)明显降低,而 lncRNA MALAT1 敲低 miR-211 表达则明显增加(2.04 ± 0.48)(Figure 2D)。数据表明,lncRNA MALAT1 与 miR-211 直接结合并负调控 miR-211。

2.3 lncRNA MALAT1 和 miR-211 对 Ec109 细胞增殖的影响

与 NC 组($59.37\% \pm 11.45\%$)相比,sh-MALAT1 组($43.28\% \pm 9.05\%$)和 miR-211 mimics 组($38.64\% \pm 8.25\%$)EDU 阳性细胞率明显降低,差异有统计学意义 ($t=2.465, 3.285, P=0.036, 0.009$)。与 sh-MALAT1 组相比,sh-MALAT1 + miR-211 inhibitor 组($62.53\% \pm 12.37\%$)EDU 阳性细胞率明显升高,差异有统计学意义 ($t=2.808, P=0.020$)(Figure 3)。

2.4 lncRNA MALAT1 和 miR-211 对 Ec109 细胞侵袭能力的影响

Transwell 实验结果显示,与 NC 组($115.27\% \pm 18.34\%$)相比,sh-MALAT1 组($54.52\% \pm 11.91\%$)和

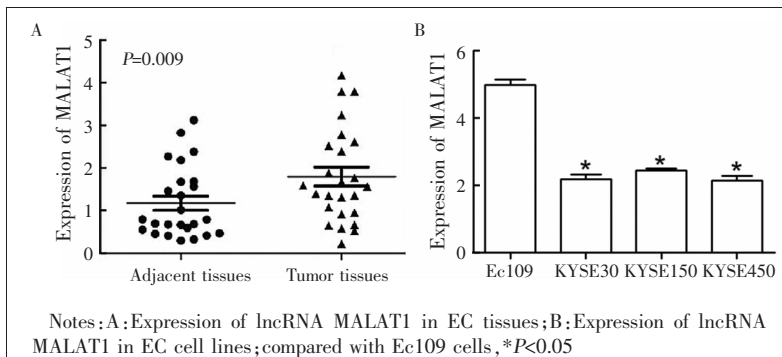


Figure 1 Expression of lncRNA MALAT1 in EC tissues and cell lines

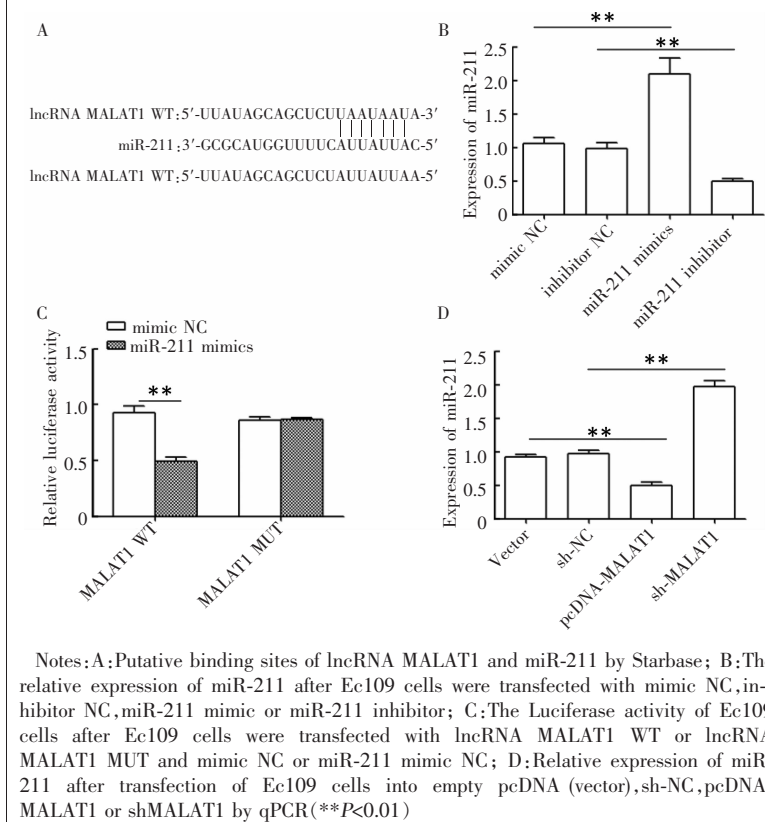
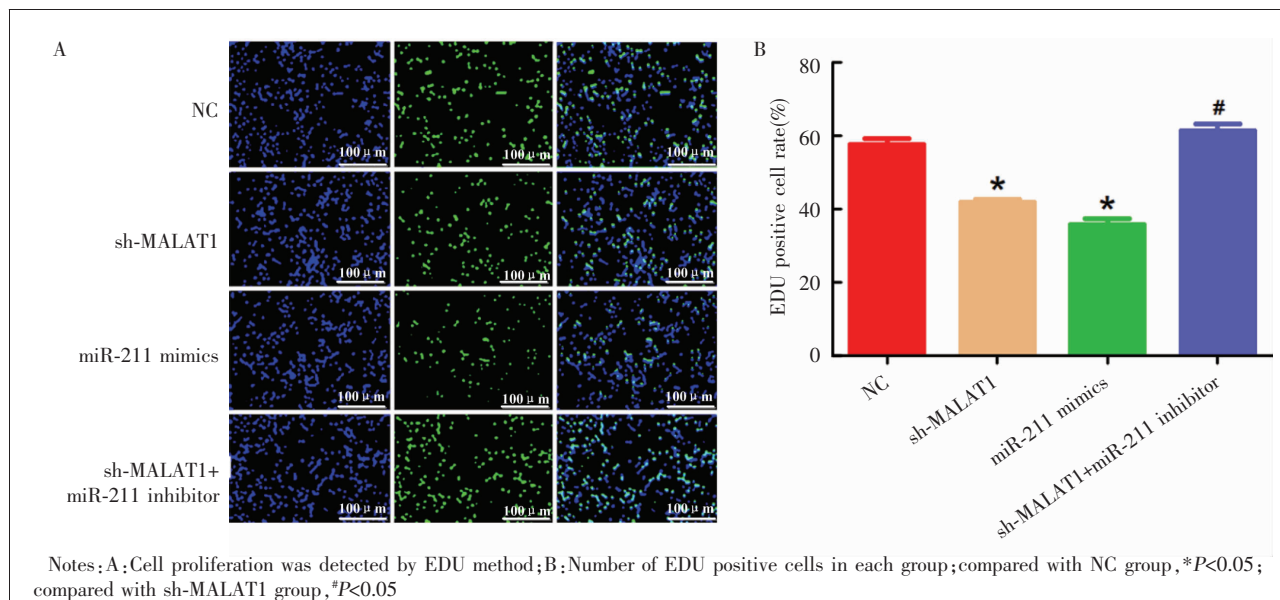
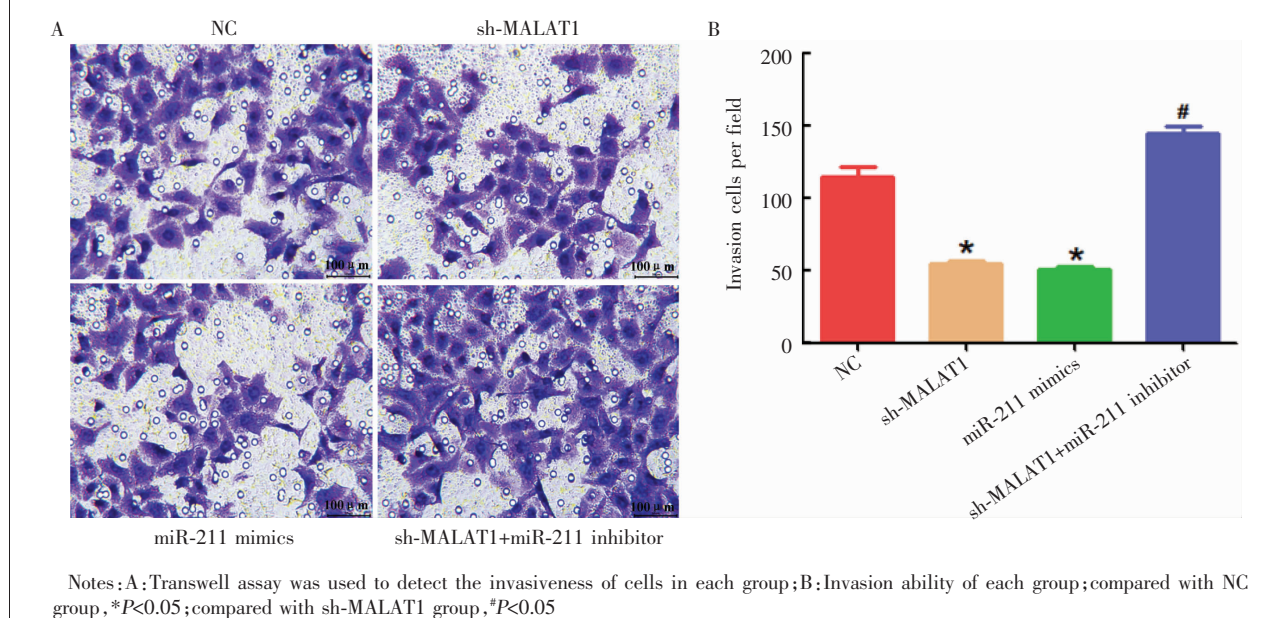


Figure 2 Targeting of lncRNA MALAT1 to miR-211

miR-211 mimics 组($50.84\% \pm 10.15\%$)侵袭细胞数明显减少,差异有统计学意义($t=4.812, 5.324, P=0.005, 0.003$)。与 sh-MALAT1 组相比,sh-MALAT1 + miR-211 inhibitor 组($145.06\% \pm 25.18\%$)侵袭细胞数明显增加,差异有统计学意义($t=5.630, P=0.002$)(Figure 4)。

2.5 lncRNA MALAT1 和 miR-211 对 Ec109 细胞凋亡的影响

与 NC 组($20.25\% \pm 3.67\%$)相比,sh-MALAT1 组($39.20\% \pm 6.88\%$)和 miR-211 mimics 组($38.56\% \pm 6.02\%$)的凋亡细胞数量明显增加,差异均有统计学意义($t=$

Figure 3 Effects of lncRNA MALAT1 and miR-211 on Ec109 cell proliferation($\times 100$)Figure 4 Effects of lncRNA MALAT1 and miR-211 on invasion ability of Ec109 cells($\times 200$)

4.209、4.498, $P=0.008$ 、0.006)。与 sh-MALAT1 组相比, sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组(18.86% $\pm$ 3.11%)的凋亡细胞明显减少, 差异有统计学意义($t=4.666$, $P=0.006$)(Figure 5)。

2.6 lncRNA MALAT1 和 miR-211 对 Ec109 细胞侵袭、转移相关蛋白表达的影响

NC 组、sh-MALAT1 组、miR-211 mimics 组和 sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组中, MMP9 蛋白表达水平分别为 0.79 ± 0.16 、 0.43 ± 0.09 、 0.42 ± 0.08 、

1.00 ± 0.20 , MMP2 蛋白表达水平分别为 1.03 ± 0.21 、 0.62 ± 0.14 、 0.61 ± 0.13 、 1.29 ± 0.26 , VEGF-A 蛋白表达水平分别为 0.90 ± 0.18 、 0.57 ± 0.12 、 0.56 ± 0.11 、 0.92 ± 0.18 。与 NC 组相比, sh-MALAT1 组和 miR-211 mimics 组的 MMP-9 ($t=3.397$ 、 3.583 , $P=0.019$ 、 0.016)、MMP-2 ($t=2.814$ 、 2.945 , $P=0.037$ 、 0.032)和 VEGF-A ($t=2.642$ 、 2.792 , $P=0.046$ 、 0.038)表达明显降低; 与 sh-MALAT1 组相比, sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组的 MMP-9 ($t=4.502$, $P=0.006$)、MMP-2 ($t=3.930$, $P=0.011$)和 VEGF-A

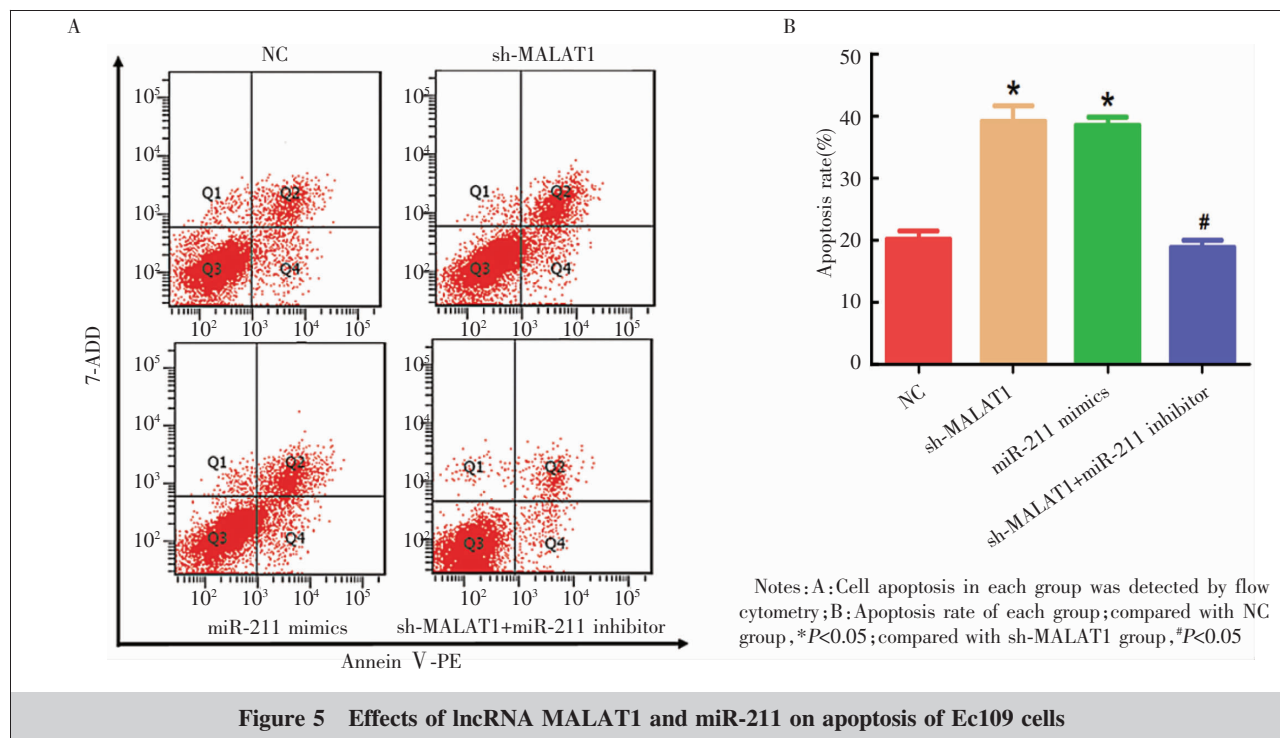


Figure 5 Effects of lncRNA MALAT1 and miR-211 on apoptosis of Ec109 cells

($t=2.802, P=0.038$)表达明显增加(Figure 6)。

2.7 lncRNA MALAT1 和 miR-211 对 PI3K/Akt 通路相关蛋白表达的影响

NC 组、sh-MALAT1 组、miR-211 mimics 组和 sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组中, PI3K 蛋白表达水平分别为 $0.88 \pm 0.18, 0.51 \pm 0.13, 0.50 \pm 0.12, 0.84 \pm 0.17$, Akt 蛋白表达水平分别为 $0.46 \pm 0.09, 0.44 \pm 0.08, 0.43 \pm 0.08, 0.47 \pm 0.09$, p-Akt 蛋白表达水平分别为 $0.98 \pm 0.20, 0.59 \pm 0.12, 0.61 \pm 0.13, 0.96 \pm 0.19$ 。与 NC 组相比, sh-MALAT1 组和 miR-211 mimics 组的

PI3K ($t=2.886, 3.042, P=0.034, 0.029$) 和 p-Akt ($t=2.896, 2.687, P=0.034, 0.043$)表达明显降低; 与 sh-MALAT1 组相比, sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组的 PI3K ($t=2.671, P=0.044$) 和 p-Akt ($t=2.852, P=0.036$)表达明显增加($P < 0.05$)(Figure 7)。

3 讨论

lncRNA 作为一种参与肿瘤生物学的遗传分子已引起人们的广泛关注。作为 lncRNA 家族的一员,

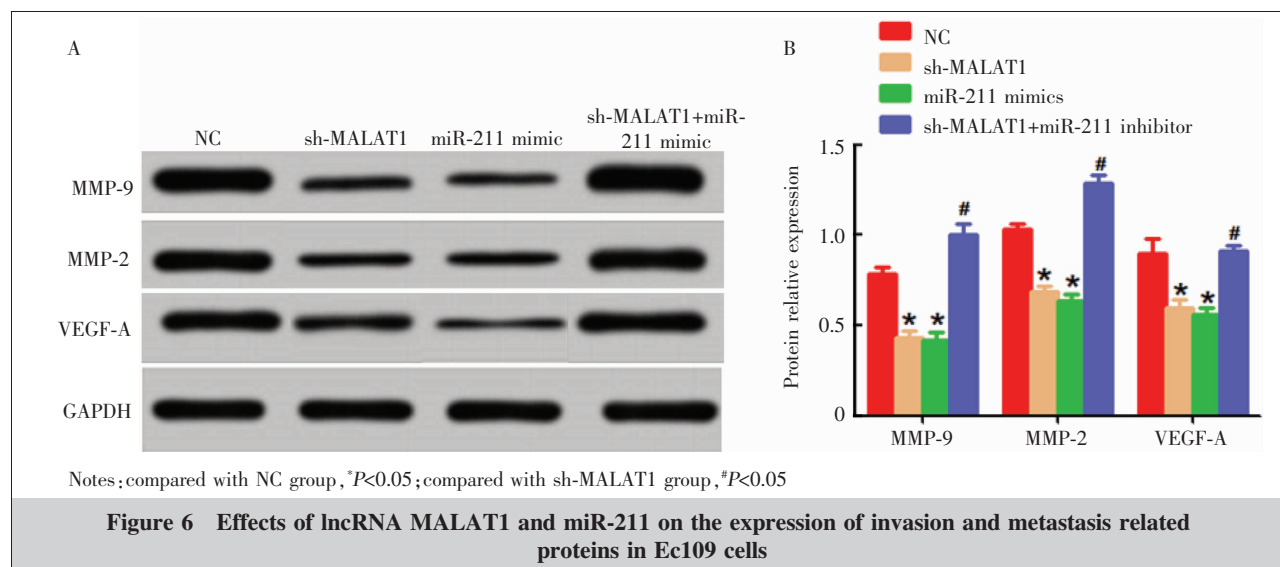
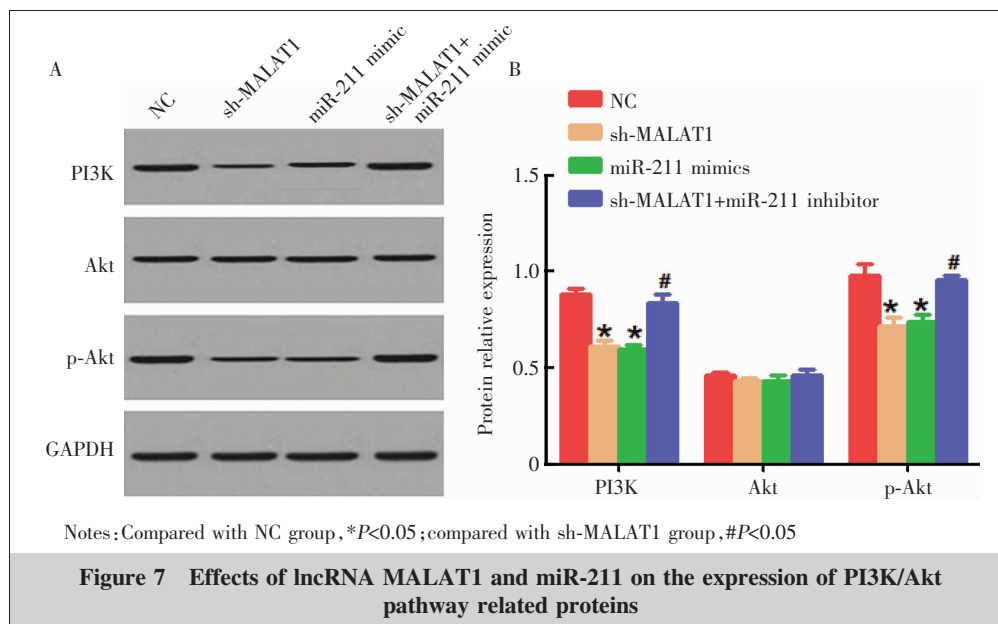


Figure 6 Effects of lncRNA MALAT1 and miR-211 on the expression of invasion and metastasis related proteins in Ec109 cells



lncRNA MALAT1 可促进细胞增殖、再生、侵袭和转移,影响血管重建,抑制细胞凋亡^[8],在不同肿瘤中都具有重要调控作用。lncRNA MALAT1 最初被报道在非小细胞肺癌中可促进肿瘤细胞迁移、侵袭。随着研究深入,在乳腺癌^[9]、前列腺癌^[10]、宫颈癌^[11]等肿瘤中也发现 lncRNA MALAT1 过度表达。然而, lncRNA MALAT1 在 EC 中的作用尚不明确。因此,本研究采用 RT-qPCR 方法检测 EC 患者癌组织中 lncRNA MALAT1 的表达情况,结果表明,与癌旁组织相比, lncRNA MALAT1 在 EC 组织中的表达明显增加,提示 lncRNA MALAT1 在 EC 中可能具有促癌作用。肿瘤的发生往往伴随着细胞增殖和生长方式的改变。为验证 lncRNA MALAT1 在 EC 发生、发展过程中的生物学行为,本研究在 Ec109 细胞系中抑制 lncRNA MALAT1 表达,采用 EDU 检验、Transwell 实验及流式细胞术分别检测细胞的增殖能力、侵袭和凋亡,结果发现抑制 lncRNA MALAT1 表达可抑制 Ec109 细胞增殖、侵袭,促进细胞凋亡。研究提示 lncRNA MALAT1 可促进 Ec109 细胞增殖、侵袭,并抑制癌细胞凋亡,加速 EC 进展。因此, lncRNA MALAT1 可能是 EC 的一个重要治疗靶点。

前期研究表明,miRNA 通过不完全碱基互补与靶基因结合,影响肿瘤细胞的凋亡、迁移和转移,触发周围细胞的坏死和凋亡^[12]。同时,miRNA 也是 lncRNA 作用的重要环节。本研究通过 Starbase 数据库预测,miR-211 在 Ec109 细胞中低表达,且与

达的基础上,过表达 miR-211 可逆转对细胞增殖、侵袭和凋亡的作用,提示 lncRNA MALAT1 可能通过抑制 miR-211 的表达来调控细胞增殖、侵袭和凋亡,从而影响 EC 的进展。

PI3K/Akt 通路与肿瘤的发生、发展密切相关,已有研究报道,该通路在多种肿瘤组织中过度表达,在肿瘤的增殖、侵袭和凋亡中均起关键作用^[14-15]。PI3K 是一种异二聚体酶,PI3K 被活化后磷酸化 PIP2,从而产生 PIP3,PIP3 逐渐增多,再募集 Akt/PKB 和 PDK1 到细胞膜,激活的 Akt 磷酸化下游底物,从而调控细胞迁移、代谢和周期进展^[16]。基质金属蛋白酶可降解细胞外基质和基底膜,诱导肿瘤扩散和转移。基质金属蛋白酶有 20 余种,其中 MMP-2 和 MMP-9 是最重要的两种^[17]。VEGF-A 是一种促进肿瘤扩增的关键因子,其高表达可促进多种肿瘤的发生、发展及转移。已有研究证实,肿瘤恶性程度和转移情况与肿瘤组织中和血清中 VEGF-A 含量呈高度正相关^[18]。研究报道,miR-211 通过激活 PI3K/Akt 通路,调节 MMP-9、MMP-2 和 VEGF-A 的活性,促进细胞侵袭和转移^[19]。本研究也发现,与对照组相比,抑制 lncRNA MALAT1 或过表达 miR-211 后,PI3K、Akt、MMP-9、MMP-2 和 VEGF-A 蛋白表达水平明显减少。与 sh-MALAT1 组相比,sh-MALAT1+miR-211 inhibitor 组的 PI3K、Akt、MMP-9、MMP-2 和 VEGF-A 蛋白表达水平明显增加。

综上所述,lncRNA MALAT1 可通过靶向 miR-

lncRNA MALAT1 存在结合位点。另一项前期研究表明,高水平的 miR-211 表达可抑制卵巢癌的发生,上调 miR-211 在阻断卵巢癌细胞周期、诱导细胞凋亡中起重要作用^[13]。本研究通过对细胞增殖、侵袭和凋亡的检测发现,过表达 miR-211 可以抑制细胞增殖、侵袭,促进细胞凋亡。在抑制 lncRNA MALAT1 表

211, 激活 PI3K/Akt 信号通路, 促进 MMP-9、MMP-2 和 VEGF-A 的表达, 从而促进细胞增殖和侵袭, 抑制细胞凋亡。

参考文献:

- [1] Li GM, Li B, Li B, et al. The role of biomechanical forces and MALAT1/miR-329-5p/PRIP signalling on glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(11):5164–5176.
- [2] Wang C, Zhang QL, Hu YH, et al. Emerging role of long non-coding RNA MALAT1 in predicting clinical outcomes of patients with digestive system malignancies: a meta-analysis[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(2):2159–2170.
- [3] Yin JH, Zeng XL, Ai ZX, et al. Construction and analysis of a lncRNA-miRNA-mRNA network based on competitive endogenous RNA reveal functional lncRNAs in oral cancer[J]. *BMC Med Genomics*, 2020, 13(1):84.
- [4] Liu S, Wang HY, Mu J, et al. MiRNA-211 triggers an autophagy-dependent apoptosis in cervical cancer cells: regulation of Bcl-2 [J]. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, 2020, 393(3):359–370.
- [5] Tao FF, Tian XX, Ruan SM, et al. miR-211 sponges lncRNA MALAT1 to suppress tumor growth and progression through inhibiting PHF19 in ovarian carcinoma[J]. *FASEB J*, 2018, 32(11):6330–6343.
- [6] Hou T, Zhou LJ, Wang LW, et al. Correction: CLCA4 inhibits bladder cancer cell proliferation, migration, and invasion by suppressing the PI3K/AKT pathway[J]. *Oncotarget*, 2019, 10(9):e1010.
- [7] Li YC, Li YN, Xu XS. The long noncoding RNA cardiac hypertrophy-related factor plays oncogenic roles in hepatocellular carcinoma by downregulating microRNA-211[J]. *J Cell Biochem*, 2019, 120(8):13361–13371.
- [8] Li GM, Li B, Li B, et al. The role of biomechanical forces and MALAT1/miR-329-5p/PRIP signalling on glucocorticoid-induced osteonecrosis of the femoral head [J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(11):5164–5176.
- [9] Qiao EQ, Yang HJ, Zhang XP. Screening of miRNAs associated with lymph node metastasis in Her-2-positive breast cancer and their relationship with prognosis [J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2020, 21(6):495–508.
- [10] Goyal B, Yadav SRM, Awasthee N, et al. Diagnostic, prognostic, and therapeutic significance of long non-coding RNA MALAT1 in cancer [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2021, 1875(2):e188502.
- [11] Li YJ, Ding YM, Ding N, et al. MicroRNA-625-5p sponges lncRNA MALAT1 to inhibit cervical carcinoma cell growth by suppressing NF- κ B signaling [J]. *Cell Biochem Biophys*, 2020, 78(2):217–225.
- [12] Gu JF, Liu SG, Pan Q, et al. Negative regulation of CDK6 expression by microRNA-126-5p and its influence on the proliferation and invasion of esophageal cancer cells [J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2020, 303(11):2811–2820.
- [13] Wang TZ, Hao DP, Yang SC, et al. miR-211 facilitates platinum chemosensitivity by blocking the DNA damage response (DDR) in ovarian cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7):495.
- [14] Su Y, Lu JX, Chen XG, et al. Long non-coding RNA HOTTIP affects renal cell carcinoma progression by regulating autophagy via the PI3K/Akt/Atg13 signaling pathway[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2019, 145(3):573–588.
- [15] Tong CH, Wang YL, Li JD, et al. Pterostilbene inhibits gallbladder cancer progression by suppressing the PI3K/Akt pathway[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1):4391.
- [16] Nunnery SE, Mayer IA. Targeting the PI3K/AKT/mTOR pathway in hormone-positive breast cancer [J]. *Drugs*, 2020, 80(16):1685–1697.
- [17] Cabral-Pacheco GA, Garza-Veloz I, Castruita-De la Rosa C, et al. The roles of matrix metalloproteinases and their inhibitors in human diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(24):9739.
- [18] Alhasan L. MiR-126 modulates angiogenesis in breast cancer by targeting VEGF-A -mRNA[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2019, 20(1):193–197.
- [19] Xia DM, Yao RQ, Zhou PY, et al. LncRNA NEAT1 reversed the hindering effects of miR-495-3p/STAT3 axis and miR-211/PI3K/AKT axis on sepsis-relevant inflammation[J]. *Mol Immunol*, 2020, 117:168–179.