

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.02.003
网络首发 https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220104.1348.002.html(2022-01-04)

沉默 TRPM2-AS 对耐奥沙利铂的结直肠癌 细胞增殖和凋亡的影响及机制研究*

王 丹,吴丹心,杜金凤
(湖北省十堰市太和医院肿瘤科 442000)

[摘要] **目的** 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)瞬时受体电位通道 M2 反义 RNA(TRPM2-AS)对耐奥沙利铂(L-OHP)的结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响及可能机制。**方法** 采用 L-OHP 浓度递增处理结直肠癌细胞 HCT-8,获得 L-OHP 耐药细胞 HCT-8/L-OHP,RT-qPCR 法分别检测 HCT-8 和 HCT-8/L-OHP 细胞中 TRPM2-AS 与 miR-22-3p 表达。分别转染 TRPM2-AS 小干扰 RNA、miR-22-3p 模拟物,或共转染 TRPM2-AS 小干扰 RNA 与 miR-22-3p 抑制剂至 HCT-8/L-OHP 细胞,CCK-8 法和克隆形成实验检测细胞增殖,流式细胞术检测细胞凋亡,Western blot 检测细胞 cleaved-caspase3 蛋白表达。双荧光素酶报告基因实验验证 TRPM2-AS 和 miR-22-3p 调控关系。**结果** HCT-8/L-OHP 细胞中 TRPM2-AS 表达明显高于 HCT-8 细胞($P<0.05$),而 miR-22-3p 表达明显低于 HCT-8 细胞($P<0.05$)。沉默 TRPM2-AS 或过表达 miR-22-3p 后,HCT-8/L-OHP 细胞 $OD_{48\text{ h}/72\text{ h}}$ 值和克隆形成数降低($P<0.05$),而细胞凋亡率及 cleaved-caspase3 蛋白表达升高($P<0.05$)。TRPM2-AS 可靶向结合 miR-22-3p,且沉默 TRPM2-AS 促进 HCT-8/L-OHP 细胞中 miR-22-3p 表达。抑制 miR-22-3p 逆转了沉默 TRPM2-AS 对 HCT-8/L-OHP 细胞增殖和凋亡的影响。**结论** 沉默 TRPM2-AS 可能通过靶向上调 miR-22-3p 阻碍耐 L-OHP 的结直肠癌细胞增殖,并促进其凋亡,TRPM2-AS 可能是逆转结直肠癌细胞耐 L-OHP 的分子靶点。

[关键词] 结直肠癌;瞬时受体电位通道 M2 反义 RNA;miR-22-3p;奥沙利铂;细胞增殖;凋亡
[中图法分类号] R246.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)02-0192-06

Effect of silencing TRPM2-AS on proliferation and apoptosis of oxaliplatin-resistant colorectal cancer cells and its mechanism*

WANG Dan,WU Danxin,DU Jinfeng
(Department of Oncology,Shiyan Municipal Taihe Hospital,Shiyan,Hubei 442000,China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of long chain non-coding RNA (lncRNA) TRPM2-AS on the proliferation and apoptosis of oxaliplatin (L-OHP)-resistant colorectal cancer cells and its possible mechanism. **Methods** Colorectal cancer cells HCT-8 were treated with increasing concentrations of L-OHP to obtain L-OHP resistant cells HCT-8/L-OHP. RT-qPCR was used to detect the expression of TRPM2-AS and miR-22-3p in HCT-8 and HCT-8/L-OHP cells. TRPM2-AS small interfering RNA or miR-22-3p mimics was transfected into HCT-8/L-OHP cells,or TRPM2-AS small interfering RNA and miR-22-3p inhibitors were co-transfected into HCT-8/L-OHP cells,and then CCK-8 method and clone formation experiment were used to detect cell proliferation,the flow cytometry was used to detect cell apoptosis,and Western blot was used to detect the expression of cleaved-caspase3 protein in cells. The dual luciferase reporter gene experiment verified the regulatory relationship between TRPM2-AS and miR-22-3p. **Results** The expression of TRPM2-AS in HCT-8/L-OHP cells was significantly higher than that in HCT-8 cells ($P<0.05$),but the expression of miR-22-3p was significantly lower than that in HCT-8 cells ($P<0.05$). After silencing TRPM2-AS or overexpressing miR-22-3p,the $OD_{48\text{ h}/72\text{ h}}$ value and the number of clone formation of HCT-8/L-OHP cells were decreased ($P<0.05$),while the cellular apoptosis rate and the expression of cleaved-caspase3 protein were increased ($P<0.05$). TRPM2-AS could target to combined with miR-22-3p,moreover silencing TRPM2-AS promoted the expression of miR-22-3p in HCT-8/L-OHP cells. Inhibiting miR-22-3p reversed the effect of silencing TRPM2-AS on the proliferation and apoptosis of HCT-8/L-OHP cells. **Conclusion** Silencing TRPM2-AS may block the proliferation of L-OHP-resistant colorectal cancer cells and promote their apoptosis by targeting up-regulation of miR-22-3p. TRPM2-AS may be a molecular target spot to reverse the L-OHP resistance of colorectal cancer cells.

* 基金项目:2017 年湖北省科技计划项目(2017FFB6311)。 作者简介:王丹(1987—),主治医师,本科,主要从事头颈部肿瘤及消化道肿瘤的综合治疗研究。

[Key words] colorectal cancer; TRPM2-AS; miR-22-3p; oxaliplatin; cell proliferation; apoptosis

结直肠癌发病率和病死率呈增长趋势,在全部恶性肿瘤中分别位居第 3 位和第 5 位^[1]。化疗是结直肠癌的常用治疗方法,但目前结直肠癌细胞易对化疗药物如奥沙利铂(L-OHP)产生耐药性,常导致化疗失败^[2]。因此,探究影响结直肠癌耐药性的分子机制对逆转结直肠癌细胞耐药性进而提高治疗疗效、改善患者预后具有重大意义。瞬时受体电位通道 M2 反义 RNA(TRPM2-AS)是一种长链非编码 RNA(lncRNA),其在结直肠癌细胞中表达上调,可通过与 TAF15 直接相互作用增强结直肠癌细胞的增殖能力^[3],但其对耐 L-OHP 的结直肠癌细胞恶性表型的影响及机制尚未可知。Starbase 靶基因在线预测软件显示,TRPM2-AS 可能靶向结合 miR-22-3p。上调 miR-22-3p 可明显阻碍结直肠癌细胞增殖,且促进细胞凋亡^[4]。本研究通过构建耐 L-OHP 的结直肠癌细胞 HCT-8/L-OHP,旨在观察 TRPM2-AS 对 HCT-8/L-OHP 增殖和凋亡的影响及其能否靶向 miR-22-3p 发挥作用,以期为逆转结直肠癌对 L-OHP 的耐药性提供新的分子靶点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器

结直肠癌细胞系 HCT-8 购自中国科学院上海细胞库;RNA 抽提试剂盒、逆转录试剂盒和 PCR 试剂盒购自大连宝生物工程有限公司;LipofectamineTM 2000 试剂盒购自美国 Invitrogen 公司;RPMI 1640 培养液、细胞计数试剂盒-8(CCK-8)、Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒和双荧光素酶活性检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;胎牛血清(FBS)购自浙江天杭生物科技股份有限公司;PCR 引物、TRPM2-AS 小干扰 RNA(si-TRPM2-AS)、乱序无意义阴性序列(si-NC)、miR-22-3p 模拟物(mimics)、模拟对照序列(miR-NC)、miR-22-3p 抑制剂(anti-miR-22-3p)由上海吉玛制药技术有限公司合成;兔抗人活化的半胱天冬酶-3(cleaved-caspases-3)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 方法

1.2.1 构建 HCT-8/L-OHP 细胞

参照文献[5]方法,复苏 HCT-8 细胞,用含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液置于培养箱中培养。将对数期 HCT-8 细胞接种至 6 孔板中, 1.0×10^5 /孔,用含 2 μ mol/L L-OHP 培养液培养 48 h,弃培养液,常规培养液培养 12 h,传代。再次用含 2 μ mol/L L-OHP 培养液培养 48 h,弃培养液,常规培养液培养 12 h,传代。重复上述步骤,1 个浓度反复 3~4 次,逐步将 L-OHP 浓度提高至 20 μ mol/L,最终获得能耐 20 μ mol/L L-OHP 的细胞株,并将其维持培养在含 10 μ mol/L L-OHP 的完全培养液中,得到能够在含 10 μ mol/L L-OHP 的完全培养液中稳定生长的人结直肠癌耐药细胞株 HCT-8/L-OHP。

1.2.2 RT-qPCR 法检测 TRPM2-AS 和 miR-22-3p

表达

将 HCT-8 和 HCT-8/L-OHP 细胞接种至 6 孔板中, 1.0×10^5 /孔,于培养箱中培养 24 h 后,弃培养液,磷酸盐缓冲液清洗细胞 2 次, RNA 抽提试剂提取细胞中总 RNA。经逆转录生成 cDNA 后,行 PCR 扩增。扩增程序:95 $^{\circ}$ C 5 min;95 $^{\circ}$ C 10 s,60 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,共 35 个循环。引物序列:TRPM2-AS 上游引物 5'-CGTGACCAGGTTTCAGACACA-3',下游引物 5'-TGGGCAGTTTGGTTCTGGTT-3'; GAPDH 上游引物 5'-TGTTTCGTCATGGGTGTGAAC-3',下游引物 5'-ATGGCATGGACTGTGGTCAT-3'; miR-22-3p 上游引物 5'-AAGCTGCCAGTTGAA GAAGTGTAA-3',下游引物 5'-GCTGTCAACGATACGCTACGTAAC-3'; U6 上游引物 5'-CTCGCTTCGGCAGCACA-3',下游引物 5'-AACGCTTCACGAATTTGCGT-3'。分别以 GAPDH、U6 为内参, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算细胞中 TRPM2-AS、miR-22-3p 相对表达量。

1.2.3 HCT-8/L-OHP 细胞转染

将 HCT-8/L-OHP 细胞接种至 6 孔板中, 1.0×10^5 /孔。培养 12 h 后,采用 LipofectamineTM 2000 脂质体法,分别转染 si-NC(si-NC 组)、si-TRPM2-AS(si-TRPM2-AS 组)、miR-NC(miR-NC 组)、miR-22-3p mimics(miR-22-3p 组)、anti-miR-22-3p(anti-miR-22-3p 组)、共转染 si-TRPM2-AS 与 anti-miR-22-3p(si-TRPM2-AS+anti-miR-22-3p 组)。转染 24 h 后,换为含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液。再培养 24 h 后,RT-qPCR 法检测细胞中 TRPM2-AS 或 miR-22-3p 表达验证转染效果,方法同 1.2.2,并收集细胞备用。同时设置对照组(con 组),细胞不进行任何转染操作,常规培养液培养。

1.2.4 CCK-8 法检测细胞增殖

将各组细胞接种至 96 孔板中, 2.5×10^4 /孔,分别培养 24 h、48 h 和 72 h 后,在各孔中加 10 μ L CCK-8。孵育 2 h 后,酶标仪($\lambda=450$ nm)检测光密度(OD)值。

1.2.5 克隆形成实验

将各组细胞接种至 6 孔板中, 1.0×10^4 /孔,每 2 天更换 1 次新鲜培养液。培养 14 d 后弃培养液。4% 多聚甲醛固定 30 min,结晶紫染色 15 min。PBS 清洗,显微镜观察,统计超过 50 个细胞的克隆。

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡

将各组细胞接种至 6 孔板中, 1.0×10^5 /孔,培养 48 h 后,收集细胞。将各组细胞 PBS 清洗 2 次,1 000 r/min 离心 5 min 后,弃上清液。加 500 μ L Binding Buffer 重悬细胞,加 10 μ L Annexin V-FITC,室温避光孵育 10 min。再加 5 μ L PI,混合均匀,室温避光孵育 5 min 后,流式细胞仪检测各组细胞凋亡情况。

1.2.7 Western blot 检测细胞中 cleaved-caspase3 蛋白表达

将各组细胞接种至 6 孔板中, 1.0×10^5 /孔,培养

48 h 后,收集细胞,用 RIPA 裂解液提取细胞中总蛋白。经 BCA 法检测蛋白含量后,对其定量。然后行 10% SDS-PAGE 电泳,经转膜、封闭后,分别用 cleaved-caspase3(1:1 000)、GAPDH(1:1 000)一抗孵育液在 4℃ 冰箱中孵育过夜。洗膜后,再用山羊抗兔二抗在 37℃ 摇床中孵育 1 h。再次洗膜后,加化学发光试剂,避光显影后,用凝胶成像系统曝光拍照,Image J 软件分析 cleaved-caspase3 相对于 GAPDH 的表达量。

1.2.8 双荧光素酶报告基因实验

利用 Starbase 网站对 TRPM2-AS 和 miR-22-3p 的结合位点进行预测,同时利用基因定点突变技术将其结合位点突变,分别构建含有结合位点、突变位点的野生型荧光素酶报告基因载体 (Wt-TRPM2-AS) 与突变型载体 (Mut-TRPM2-AS),该过程由上海吉玛制药技术有限公司完成。将 HCT-8/L-OHP 细胞接种至 6 孔板中 (1.0×10^5 个/孔),采用 Lipofectamine™ 2000 脂质体法,分别共转染 miR-22-3p mimics 与 Wt-TRPM2-AS、miR-NC 与 Wt-TRPM2-AS,转染 12 h 后,换为含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液。再培养 24 h,收集细胞并裂解。经 3 500 r/min 离心 5 min 后,取上清液,检测荧光素酶活性,结果以萤火虫荧光强度与海肾荧光强度的比值表示。

1.3 统计学处理

采用 SPSS22.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较用独立样本 *t* 检验,多组间比较用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

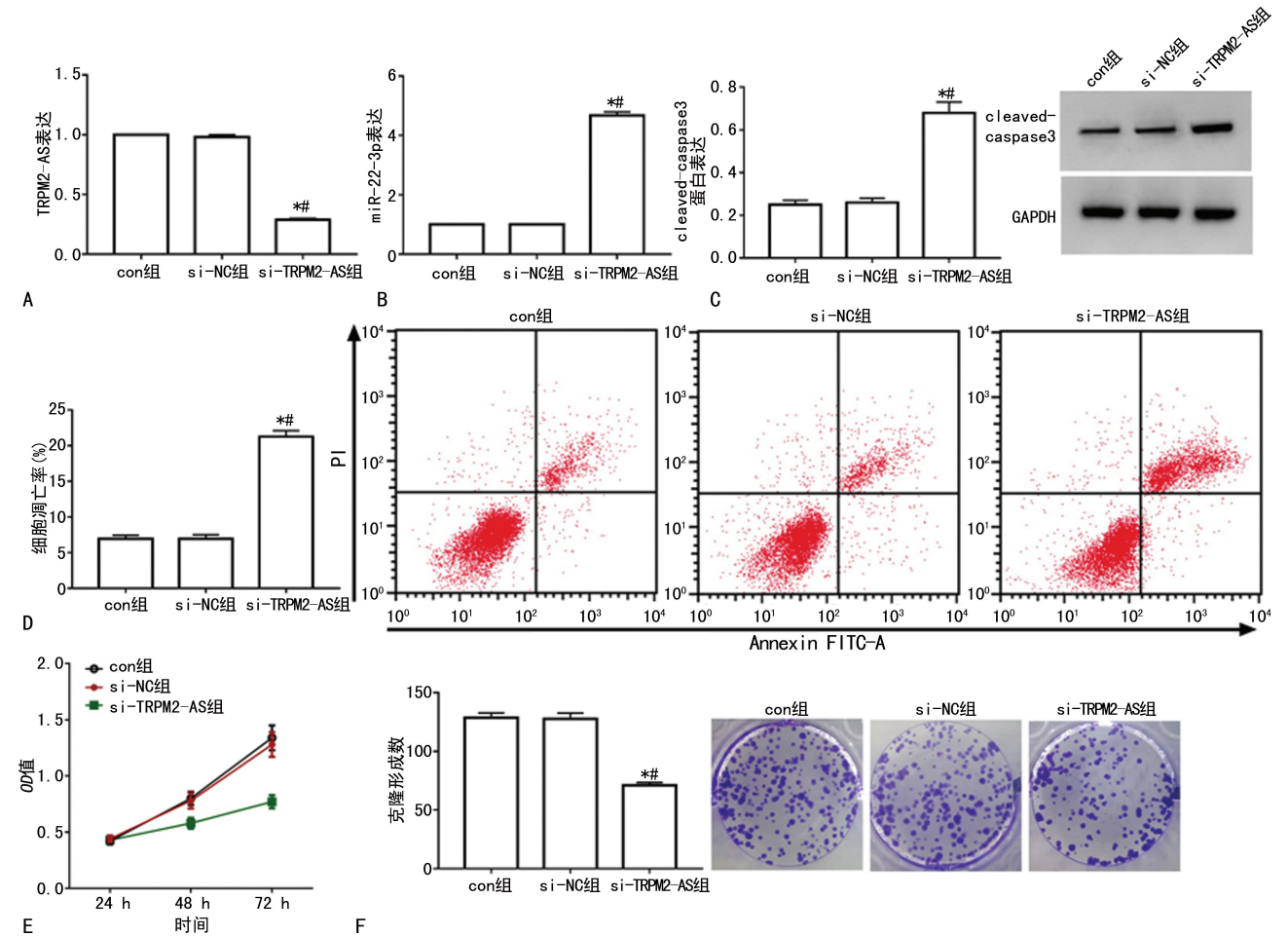
2 结 果

2.1 HCT-8/L-OHP 细胞中 TRPM2-AS 和 miR-22-3p 表达

HCT-8/L-OHP 细胞中 TRPM2-AS 表达明显高于 HCT-8 细胞 ($P < 0.05$),而 miR-22-3p 表达明显低于 HCT-8 细胞 ($P < 0.05$)。

2.2 沉默 TRPM2-AS 对 HCT-8/L-OHP 细胞增殖和凋亡的影响

si-TRPM2-AS 组细胞中 TRPM2-AS 表达明显低于 si-NC 组及 con 组 ($P < 0.05$),沉默 TRPM2-AS 的 HCT-8/L-OHP 细胞构建成功。con 组、si-NC 组和 si-TRPM2-AS 组细胞中 miR-22-3p 表达、 $OD_{48\text{ h}/72\text{ h}}$ 值、克隆形成数、细胞凋亡率及 cleaved-caspase3 蛋白表达比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 con 组和 si-NC 组比较,si-TRPM2-AS 组细胞中 $OD_{48\text{ h}/72\text{ h}}$ 值、克隆形成数降低 ($P < 0.05$),而 miR-22-3p 表达、细胞凋亡率、cleaved-caspase3 蛋白表达升高 ($P < 0.05$),见图 1。



A: si-TRPM2-AS 转染效果验证; B: 各组细胞 miR-22-3p 表达; C: 各组细胞 cleaved-caspase3 蛋白表达; D: 各组细胞凋亡情况; E: 各组细胞增殖活性; F: 各组细胞克隆形成情况; *: $P < 0.05$, 与 con 组比较; #: $P < 0.05$, 与 si-NC 组比较。

图 1 沉默 TRPM2-AS 后 HCT-8/L-OHP 细胞增殖和凋亡情况

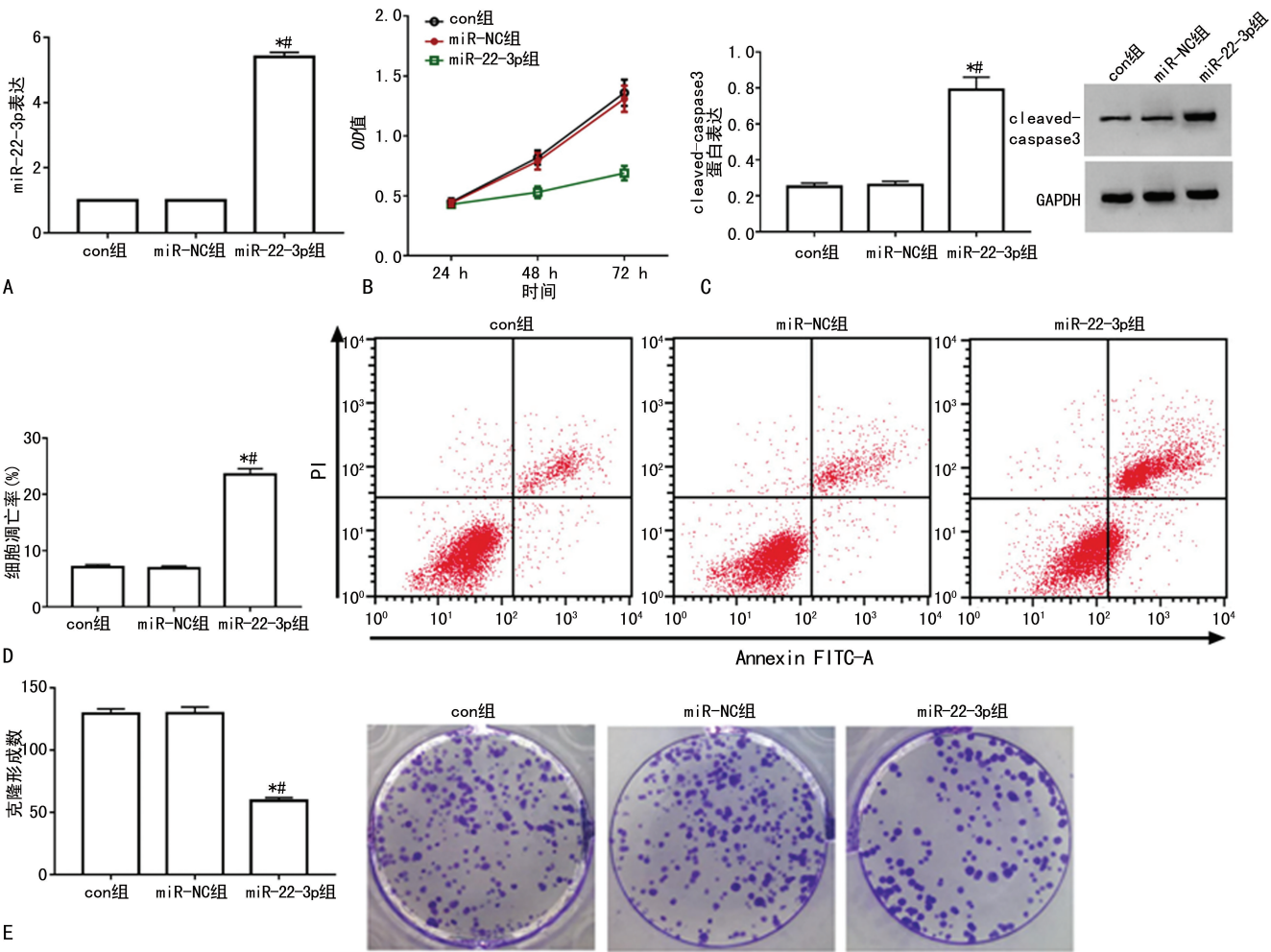
2.3 过表达 miR-22-3p 对 HCT-8/L-OHP 细胞增殖和凋亡的影响

miR-22-3p 组细胞中 miR-22-3p 表达明显高于 miR-NC 组及 con 组 ($P<0.05$), 过表达 miR-22-3p 的 HCT-8/L-OHP 细胞构建成功。con 组、miR-NC 组和 miR-22-3p 组细胞 $OD_{48\text{ h}/72\text{ h}}$ 值、克隆形成数、细胞凋亡率及 cleaved-caspase3 蛋白表达比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。与 con 组和 miR-NC 组比较, miR-22-3p 组细胞 $OD_{48\text{ h}/72\text{ h}}$ 值和克隆形成数降低 ($P<0.05$), 而细胞凋亡率及 cleaved-caspase3 蛋白

表达升高 ($P<0.05$), 见图 2。

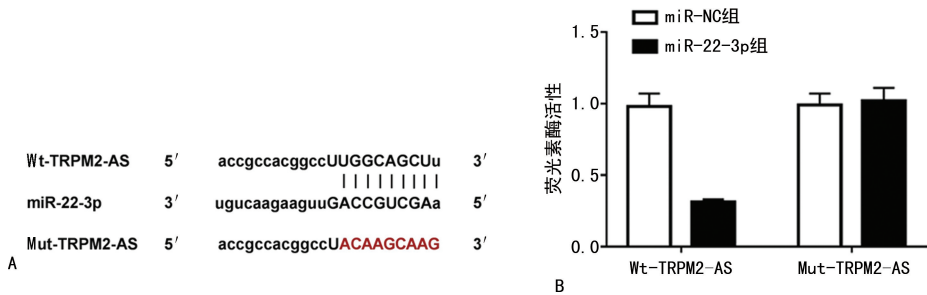
2.4 TRPM2-AS 和 miR-22-3p 靶向关系验证

Starbase 靶基因在线预测软件显示, TRPM2-AS 和 miR-22-3p 的核苷酸序列存在连续结合位点, 见图 3A。双荧光素酶报告基因实验结果显示, miR-22-3p 与 Wt-TRPM2-AS 共转染后 HCT-8/L-OHP 细胞荧光素酶活性明显降低 ($P<0.05$), 而与 Mut-TRPM2-AS 共转染后 HCT-8/L-OHP 细胞荧光素酶活性无明显变化 ($P>0.05$), TRPM2-AS 可与 miR-22-3p 靶向结合, 见图 3B。



A: miR-22-3p mimics 转染效果验证; B: 各组细胞增殖活性; C: 各组 cleaved-caspase3 蛋白表达; D: 各组细胞凋亡情况; E: 各组细胞克隆形成情况; *: $P<0.05$, 与 con 组比较; #: $P<0.05$, 与 miR-NC 组比较。

图 2 过表达 miR-22-3p 对 HCT-8/L-OHP 细胞增殖和凋亡的影响



A: TRPM2-AS 和 miR-22-3p 的互补序列; B: 荧光素酶活性检测结果。

图 3 TRPM2-AS 靶向结合 miR-22-3p

2.5 抑制 miR-22-3p 逆转沉默 TRPM2-AS 对 HCT-8/L-OHP 细胞增殖和凋亡的影响

anti-miR-22-3p 组细胞中 miR-22-3p 表达明显低于 con 组 ($P < 0.05$), 抑制 miR-22-3p 表达的 HCT-8/L-OHP 细胞构建成功。与 con 组比较, anti-miR-22-3p 组细胞 $OD_{48\text{ h}/72\text{ h}}$ 值和克隆形成数升高 ($P < 0.05$), 而细胞凋亡率及 cleaved-caspase3 蛋白表达降

低 ($P < 0.05$)。与 si-TRPM2-AS 组比较, si-TRPM2-AS+anti-miR-22-3p 组细胞 $OD_{48\text{ h}/72\text{ h}}$ 值和克隆形成数升高 ($P < 0.05$), 而细胞凋亡率及 cleaved-caspase3 蛋白表达降低 ($P < 0.05$), 见图 4。

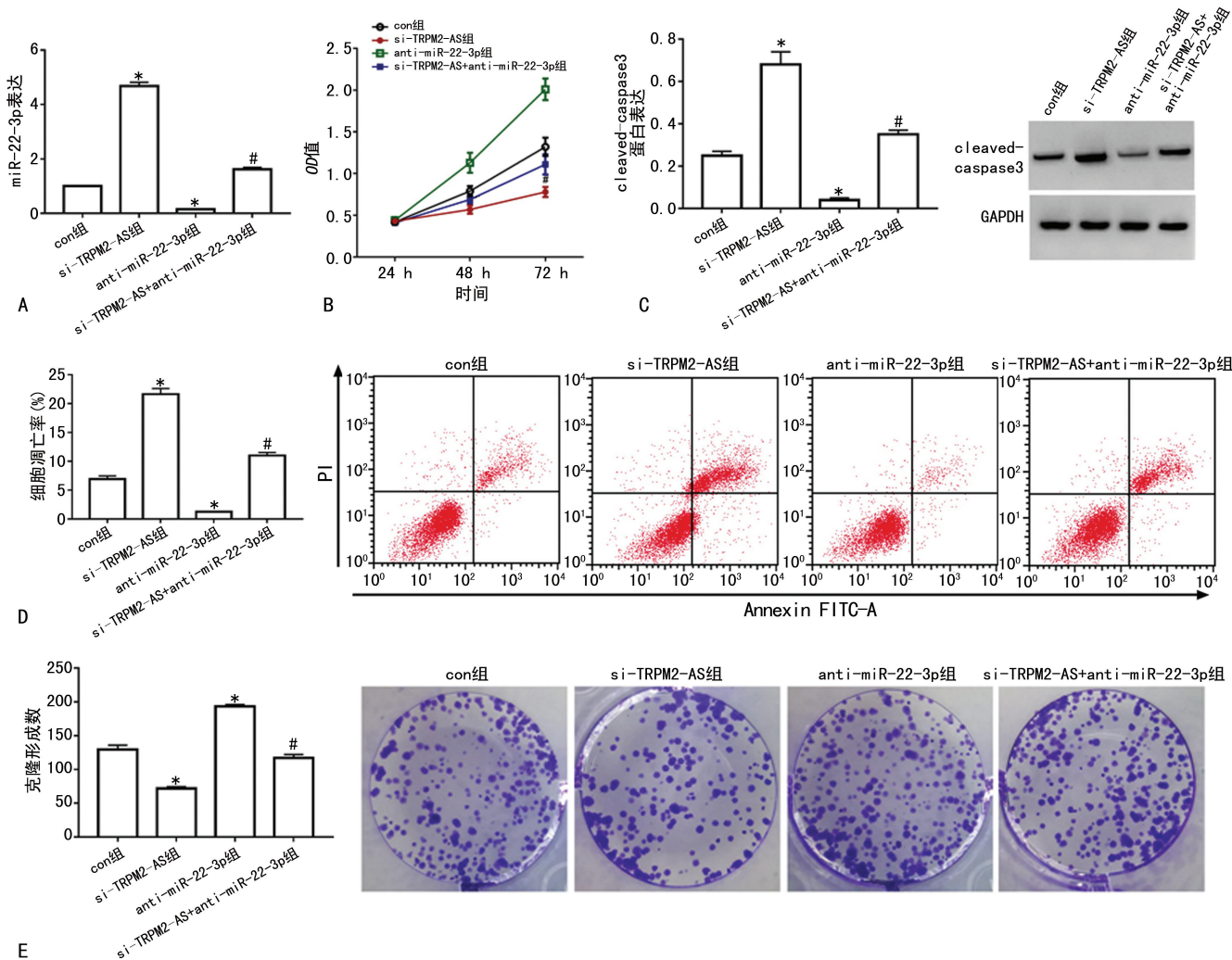


图 4 anti-miR-22-3p 转染效果验证; B: 各组细胞增殖活性; C: 各组 cleaved-caspase3 蛋白表达; D: 各组细胞凋亡情况; E: 各组细胞克隆形成情况; *: $P < 0.05$, 与 con 组比较; #: $P < 0.05$, 与 si-TRPM2-AS 组比较。

图 4 抑制 miR-22-3p 逆转沉默 TRPM2-AS 对 HCT-8/L-OHP 细胞增殖和凋亡的影响

3 讨论

化疗是结直肠癌临床治疗的常用方法, 但由于肿瘤细胞耐药性的产生降低了化疗疗效, 最终导致化疗失败。L-OHP 是结直肠癌化疗的一线药物, 降低结直肠癌细胞对 L-OHP 的化疗抗性对改善患者预后具有重要意义。lncRNA 在真核生物中广泛存在, 参与调控肿瘤细胞化疗抗性。研究表明, lncRNA MIR600HG、lncRNA PVT1-214 等多种 lncRNA 参与调控结直肠癌细胞 L-OHP 耐药性, 为逆转结直肠癌细胞 L-OHP 耐药性提供了分子靶点^[6-7]。

瞬时受体电位通道 M2 (TRPM2) 是瞬时受体电位通道 M 型的一个亚型, 在神经细胞、心肌细胞、免疫细胞等细胞中广泛表达。研究显示, TRPM2 是细胞内氧化应激感受器, 参与调控活性氧生成、炎症因子的产生及巨噬细胞功能^[8]。TRPM2-AS 是 TR-

PM2 的反义 RNA, 属于 lncRNA 家族成员, 其对肿瘤的发展进程具有重要调控作用。研究显示, TRPM2-AS 可促进胃癌^[9]、肝癌^[10]、神经胶质瘤^[11]、乳腺癌^[12]、非小细胞肺癌^[13] 等肿瘤细胞的恶性表型, 进而促进肿瘤的发展进程。此外, TRPM2-AS 在肺癌顺铂耐药细胞 A549/DDP 中表达升高, 敲低其表达可增强 A549/DDP 细胞对顺铂敏感性, 并诱导细胞凋亡, 为肺癌提供了新的治疗靶点^[14]。然而, 还未见 TRPM2-AS 影响结直肠癌细胞对 L-OHP 耐药性的相关报道。

本研究主要探究了 TRPM2-AS 对耐 L-OHP 的结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响, 结果显示, TRPM2-AS 在耐 L-OHP 的结直肠癌细胞中呈高表达, 沉默其表达阻碍了耐 L-OHP 的结直肠癌细胞的增殖能力, 同时加剧其细胞凋亡, 提示 TRPM2-AS 可作为逆转结直肠癌对 L-OHP 耐药性的分子靶点。caspase 级

联反应在细胞凋亡中发挥重要调控作用,其中 caspase3 是 caspase 级联反应的关键调控分子,其在受到上游凋亡信号刺激后被活化,生成 cleaved-caspase3,进而执行细胞凋亡^[15-16]。本研究结果显示,沉默 TRPM2-AS 促进了耐 L-OHP 的结直肠癌细胞中 cleaved-caspase3 蛋白表达,提示 TRPM2-AS 可能通过直接或间接调控 caspase 级联反应来影响耐 L-OHP 结直肠癌细胞凋亡。

为进一步探究 TRPM2-AS 影响耐 L-OHP 结直肠癌细胞增殖和凋亡的分子机制,本研究证实了 TRPM2-AS 可靶向结合 miR-22-3p,且沉默 TRPM2-AS 促进细胞中 miR-22-3p 表达,说明 TRPM2-AS 靶向负调控 miR-22-3p。研究显示,miR-22-3p 可分别通过抑制 YWHAZ、NFIB 和 YAP1 的表达来减弱结直肠癌、胃癌、非小细胞肺癌细胞的恶性表型,对肿瘤发展起抑制作用^[17-19];miR-22-3p 在耐 L-OHP 的胃癌组织和细胞系中均呈低表达,上调 miR-22-3p 可降低胃癌细胞 L-OHP 的耐药性,miR-22-3p 可作为逆转胃癌对 L-OHP 耐药性的分子靶点^[20]。本研究结果显示,耐 L-OHP 结直肠癌细胞中 miR-22-3p 表达降低,过表达 miR-22-3p 降低了细胞的增殖能力,并加剧了其凋亡,而抑制 miR-22-3p 具有相反作用,这提示 miR-22-3p 也参与调控结直肠癌细胞对 L-OHP 的耐药性,其也可能成为逆转结直肠癌对 L-OHP 耐药性的分子靶点。本研究还显示,抑制 miR-22-3p 逆转了沉默 TRPM2-AS 对 L-OHP 结直肠癌细胞增殖和凋亡的影响,进一步提示 TRPM2-AS 可能通过靶向负调控 miR-22-3p 来调控耐 L-OHP 结直肠癌细胞增殖和凋亡。

综上所述,TRPM2-AS 在耐 L-OHP 的结直肠癌细胞中表达升高,而 miR-22-3p 表达降低;沉默 TRPM2-AS 可阻碍耐 L-OHP 的结直肠癌细胞增殖,并促进细胞凋亡,其作用机制可能与靶向结合并负调控 miR-22-3p 有关,TRPM2-AS/miR-22-3p 轴可能为逆转结直肠癌对 L-OHP 的耐药性提供了分子靶点。但本研究尚存在不足之处,尚需对 miR-22-3p 下游靶基因及信号通路进行探究,且需要进一步在体内验证 TRPM2-AS/miR-22-3p 轴对结直肠癌 L-OHP 耐药性的影响。

参考文献

[1] 邢光远,李晓勇,陈德兴.我国结直肠肿瘤经自然腔道取标本手术的发展现状[J].中国微创外科杂志,2020,26(6):83-86.

[2] 钟文,叶磊,童磊,等.转录因子 Snail 促进结直肠癌细胞对奥沙利铂耐药的机制研究[J].安徽医药,2017,21(2):315-318.

[3] PAN L, LI Y, JIN L, et al. TRPM2-AS promotes cancer cell proliferation through control of TAF15[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2020,

120;105683.

[4] SASTRE D, BAIIOCHI J, DE SOUZA LIMA I M, et al. Focused screening reveals functional effects of microRNAs differentially expressed in colorectal cancer[J]. BMC Cancer, 2019, 19(1):1239.

[5] 徐宗斌,张逸筭,卢星榕,等.人结直肠癌耐药细胞株 HCT-8/L-OHP 的构建及 HOXB8 过表达的探讨[J].福建医科大学学报,2018,52(1):1-6.

[6] YAO Y, LI N. MIR600HG suppresses metastasis and enhances oxaliplatin chemosensitivity by targeting ALDH1A3 in colorectal cancer[J]. Biosci Rep, 2020, 40(4):BSR20200390.

[7] TONG D Y, ZOU E W, BAI L, et al. IRF-1 mediated long non-coding RNA PVT1-214 promotes oxaliplatin resistance of colorectal cancer via miR-128 inhibition[J]. J BUON, 2020, 25(5):2205-2214.

[8] AKYUVA Y, NAZIROGLU M, YILDIZHAN K. Selenium prevents interferon-gamma induced activation of TRPM2 channel and inhibits inflammation, mitochondrial oxidative stress, and apoptosis in microglia[J]. Metab Brain Dis, 2021, 36(2):285-298.

[9] ZHANG X Q, JIANG Y Y, XIE Y, et al. Inhibition of gastric cancer cell apoptosis by long noncoding RNA TRPM2-AS via mitogen-activated protein kinase and activators of transduction-3[J]. J Gastroenterol Hepatol, 2021, 36(1):186-195.

[10] XU C, HUANG Q, ZHANG C, et al. Long non-coding RNA TRPM2-AS as a potential biomarker for hepatocellular carcinoma[J]. Ir J Med Sci, 2018, 187(3):621-628.

[11] BAO M H, LV Q L, SZETO V, et al. TRPM2-AS inhibits the growth, migration, and invasion of gliomas through JNK, c-Jun, and RGS4[J]. J Cell Physiol, 2020, 235(5):4594-4604.

[12] SUN T, SONG Y, YU H, et al. Identification of lncRNA TRPM2-AS/miR-140-3p/PYCR1 axis' s proliferates and anti-apoptotic effect on breast cancer using co-expression network analysis[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(6):760-773.

[13] CUI D, FENG Y, SHI K F, et al. Long non-coding RNA TRPM2-AS sponges microRNA-138-5p to activate epidermal growth factor receptor and PI3K/AKT signaling in non-small cell lung cancer[J]. Ann Transl Med, 2020, 8(20):1313-1324.

(下转第 203 页)

- [10] 陈曦,徐文娣,谭军艳,等. lncRNA XIST/miR-34a-5p/SIRT6 分子轴调控口腔鳞癌细胞的增殖及转移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2019,26(8):896-903.
- [11] LIU J,LIU Z X,WU Q N,et al. Long noncoding RNA AGPG regulates PFKFB3-mediated tumor glycolytic reprogramming[J]. Nat Commun,2020,11(1):1507.
- [12] MA Y L,WANG C Y,GUAN Y J,et al. Long noncoding RNA ROR promotes proliferation and invasion of colorectal cancer by inhibiting tumor suppressor gene NF2 through interacting with miR-223-3p[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2020,24(5):2401-2411.
- [13] GAO W,GAO J,CHEN L,et al. Targeting XIST induced apoptosis of human osteosarcoma cells by activation of NF- κ B/PUMA signal[J]. Bioengineered,2019,10(1):261-270.
- [14] XU T,JIANG W,FAN L,et al. Upregulation of long noncoding RNA Xist promotes proliferation of osteosarcoma by epigenetic silencing of P21 [J]. Oncotarget, 2017, 8 (60): 101406-101417.
- [15] PAN Y,HU J,MA J,et al. MiR-193a-3p and miR-224 mediate renal cell carcinoma progression by targeting alpha-2,3-sialyltransferase IV and the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt pathway [J]. Mol Carcinog,2018,57(8):1067-1077.
- [16] ZHUANG L K,YANG Y T,MA X,et al. Micro RNA-92b promotes hepatocellular carcinoma progression by targeting Smad7 and is mediated by long non-coding RNA XIST[J]. Cell Death Dis,2016,7(4):e2203.
- [17] XIONG Y,WANG L,LI Y,et al. The long noncoding RNA XIST interacted with miR-124 to modulate bladder cancer growth, invasion and migration by targeting androgen receptor(AR) [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 43 (1): 405-418.
- [18] WU D,NIE X,MA C,et al. RSF1 functions as an oncogene in osteosarcoma and is regulated by XIST/miR-193a-3p axis [J]. Biomed Pharmacother,2017,95:207-214.

(收稿日期:2021-05-20 修回日期:2021-09-23)

(上接第 197 页)

- [14] MA L Y,XIE X W,MA L,et al. Downregulated long non-coding RNA TRPM2-AS inhibits cisplatin resistance of non-small cell lung cancer cells via activation of p53-p66shc pathway [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2017,21(11):2626-2634.
- [15] WANG T,TANG X P,LIU Y C. LncRNA-ATB promotes apoptosis of non-small cell lung cancer cells through MiR-200a/ β -Catenin[J]. J Buon,2019,24(6):2280-2286.
- [16] SUN J G,LI X B,YIN R H,et al. LncRNA VIM-AS1 promotes cell proliferation,metastasis and epithelial-mesenchymal transition by activating the Wnt/ β -catenin pathway in gastric cancer [J]. Mol Med Rep, 2020, 22 (6): 4567-4578.
- [17] SHA Q K,CHEN L,XI J Z,et al. Long noncoding RNA LINC00858 promotes cells proliferation,migration and invasion by acting as a ceRNA of miR-22-3p in colorectal cancer[J]. Artif Cells Nanomed Biotechnol,2019,47(1):1057-1066.
- [18] ZHANG W,ZHAN F,LI D,et al. RGMB-AS1/miR-22-3p/NFIB axis contributes to the progression of gastric cancer[J]. Neoplasma,2020,67(3):484-491.
- [19] HE W L,ZHANG Y Y,XIA S L. LncRNA NNT-AS1 promotes non-small cell lung cancer progression through regulating miR-22-3p/YAP1 axis[J]. Thorac Cancer, 2020, 11 (3): 549-560.
- [20] ZHANG Z M,LI M,ZHANG Z T. LncRNA MALAT1 modulates oxaliplatin resistance of gastric cancer via sponging miR-22-3p[J]. Onco Targets Ther,2020,13:1343-1354.

(收稿日期:2021-05-23 修回日期:2021-09-08)