

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.15.003

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220420.1103.002.html\(2022-04-20\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20220420.1103.002.html(2022-04-20))

上调 lncRNA TUG1 靶向 miRNA-194-5p 促进 KIAA1199 表达对结直肠癌细胞增殖侵袭和 EMT 的影响^{*}

李海强,蒋红钢,沈徐宁,周 元[△]
(浙江省嘉兴市第一医院胃肠外科 314000)

[摘要] **目的** 探讨上调长链非编码 RNA 牛磺酸上调基因 1(lncRNA TUG1)靶向 miRNA-194-5p/KIAA1199 轴对结直肠癌细胞 SW480 增殖、侵袭和上皮间质转化(EMT)的影响。**方法** RT-qPCR 检测该院病理确诊为结直肠癌并行肿瘤切除术的 52 例患者结直肠癌组织、癌旁组织及 SW480、人正常结肠黏膜上皮细胞 NCM460 细胞中 lncRNA TUG1、miRNA-194-5p 和 KIAA1199 的表达。生物信息学软件预测 TUG1 可能结合的靶基因。分别下调 lncRNA TUG1、miRNA-194-5p 和 KIAA1199 在 SW480 细胞中的表达,RT-qPCR 检测 lncRNA TUG1、miRNA-194-5p 和 KIAA1199 的基因表达水平,CCK-8 法检测 SW480 细胞增殖能力,Transwell 实验检测细胞侵袭能力,Western blot 检测 SW480 细胞 EMT 相关蛋白表达水平。**结果** 与癌旁组织比较,结直肠癌组织 lncRNA TUG1、KIAA1199 表达水平明显上调($P<0.01$),miRNA-194-5p 表达水平明显降低($P<0.05$);与 NCM460 细胞比较,SW480 细胞中 lncRNA TUG1、KIAA1199 表达水平明显上调,miRNA-194-5p 表达水平明显降低,差异均有统计学意义($P<0.01$)。生物信息学软件预测结果显示,lncRNA TUG1 可靶向结合 miRNA-194-5p。下调 TUG1 或 KIAA1199 表达后可明显抑制 SW480 细胞增殖、侵袭及 EMT($P<0.05$),下调 miRNA-194-5p 表达可促进 SW480 细胞增殖、侵袭及 EMT($P<0.05$),上调 TUG1 通过 miRNA-194-5p 可促进 KIAA1199 表达及 SW480 细胞增殖、侵袭及 EMT。**结论** 上调 lncRNA TUG1 通过 miRNA-194-5p/KIAA1199 轴可促进 SW480 细胞增殖、侵袭和 EMT。

[关键词] 长链非编码 RNA 牛磺酸上调基因 1;微 RNA-194-5p;KIAA1199;结直肠癌;细胞增殖;侵袭
[中图法分类号] R73-37 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2022)15-2532-07

Effects of upregulated lncRNA TUG1 targeted miRNA-194-5p promoting expression of KIAA1199 on proliferation, invasion and EMT of colorectal cancer cells^{*}

LI Haiqiang, JIANG Honggang, SHEN Xuning, ZHOU Yuan[△]
(Department of Gastrointestinal Surgery, Jiaxing Municipal First Hospital,
Jiaxing, Zhejiang 314000, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the effects of up-regulation of lncRNA TUG1 targeting miR-194-5p/KIAA1199 axis on the proliferation, invasion and epithelial-mesenchymal transformation (EMT) of colorectal cancer cells. **Methods** RT-qPCR was used to detect the expressions of lncRNA TUG1, miRNA-194-5p and KIAA1199 in colorectal cancer tissues, para-cancerous tissues, SW480 and NCM460 cells of 52 patients with pathologically confirmed colorectal cancer and tumor resection in this hospital. The bioinformatics software predicted the target genes possibly binded by TUG1. The expression levels of lncRNA TUG1, miRNA-194-5p and KIAA1199 in SW480 cells were down-regulated, respectively, the gene expression levels of lncRNA TUG1, miRNA-194-5p and KIAA1199 were detected by RT-qPCR, and the proliferation ability of SW480 cells was detected by CCK-8 method, the number of cells invasion was analyzed by Transwell assay, and EMT of SW480 cells was detected by Western blot. **Results** The expression of lncRNA TUG1 and KIAA1199 in colorectal cancer tissue was significantly up-regulated ($P<0.01$), and the expression of miRNA-194-5p was significantly decreased compared with the paracancerous tissues ($P<0.05$). Compared with NCM460 cells, the expressions of lncRNA TUG1 and KIAA1199 in SW480 cells were significantly up-regulated, and the expression of miRNA-194-5p was significantly decreased, and the differences were statistically significant ($P<0.01$). The prediction results of bioinformatics software showed that lncRNA TUG1 could target miRNA-194-5p.

^{*} **基金项目:**国家自然科学基金项目(82002982);浙江省嘉兴市科技计划项目(2021AD30170)。 **作者简介:**李海强(1978—),副主任医师,学士,主要从事胃肠外科、胃肠肿瘤及肛肠疾病的诊治研究。 [△] **通信作者,** E-mail: yuan8422@163.com。

The down-regulated expression of TUG1 or KIAA1199 significantly inhibited the proliferation, invasion and EMT of SW480 cells ($P < 0.05$), and the down-regulated expression of miRNA-194-5p promoted the proliferation, invasion and EMT of SW480 cells ($P < 0.05$). Upregulation of TUG1 promoted KIAA1199 expression and SW480 cell development through miRNA-194-5p. **Conclusion** Upregulation of lncRNA TUG1 promotes the proliferation, invasion and EMT of SW480 cells through miRNA-194-5p/KIAA1199 axis.

[Key words] long non-coding RNA taurine upregulated gene 1; microRNA-194-5p; KIAA1199; colorectal cancer; cell proliferation; invasion

结直肠癌是全球第三大最常见的恶性肿瘤,也是癌症相关死亡的第四大主要原因^[1]。尽管在结直肠癌的诊断和治疗方面取得了很大的进展,但由于复发、转移和耐药等原因,患者的预后仍不理想^[2-3]。因此,迫切需要进一步研究结直肠癌进展的分子机制,寻找结直肠癌新的诊断和治疗靶点。长链非编码 RNA (lncRNAs) 是一组保守性较差的内源性 RNA 分子,其长度超过 200 nt,且无编码蛋白的能力^[4-5]。研究发现,lncRNA 作为调节因子参与了各种生理和病理过程,或作为癌基因或肿瘤抑制因子参与肿瘤的发生、发展^[6-7]。牛磺酸上调基因 1 (TUG1) 是一个 7.6 kb 的 lncRNA,由 22q12 染色体上的 ENSG00000253352 基因编码。TUG1 在不同癌症类型中表达明显失调。在甲状腺乳头状癌中,lncRNA TUG1 通过靶向 miRNA-145 影响甲状腺乳头状癌细胞的增殖、迁移和上皮间质转化 (EMT) 形成^[8]。在胰腺癌中,lncRNA TUG1/EZH2 轴通过海绵 miRNA-382 促进胰腺癌细胞增殖、迁移和 EMT 表型形成^[9]。在卵巢癌中,lncRNA TUG1 通过 miRNA-186-5p/ZEB1 轴促进卵巢癌细胞增殖、侵袭和干细胞增殖^[10]。然而,TUG1 是否能通过类似的机制调控结直肠癌的发生和进展仍不清楚。因此,本研究中旨在探讨 lncRNA TUG1 在结直肠癌中的表达及其影响细胞增殖、侵袭和 EMT 的作用机制,为确定结直肠癌预后的有效生物标志物和有效治疗靶点提供可能依据,也为阐明结直肠癌的病理生理基础提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 标本组织

选择本院 2018 年 5 月至 2020 年 5 月病理确诊为结直肠癌并行肿瘤切除术的患者 52 例,男 30 例,女 22 例,年龄 32~83 岁,平均 (58±8.13) 岁。选取患者切除的新鲜癌组织及匹配的癌旁组织,将其冷冻并保存在液氮中。每例患者均获得书面知情同意,并经本院伦理委员会批准。

1.1.2 细胞及试剂

结直肠癌细胞 SW480 及其人正常结肠黏膜上皮细胞 NCM460 购自中国科学院上海细胞库。改良 Eagle 培养基 (DMEM) 购自美国 HyClone 公司 (货号:SH30243.01B)。TRIzol 试剂购自美国 Invitrogen 公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及其细胞转染

SW480 及 NCM460 在含有 10% 胎牛血清 (FBS) 的 DMEM 培养基中保存。细胞株均在 5% CO₂ 培养箱,保持在 37 °C 环境下生长。消化长满的 SW480 细胞并铺于 6 孔板,所有细胞转染均按照说明书使用 Lipofectamine 3000 进行转染,培养箱中放置 48 h 后取出收集样品。

1.2.2 SW480 细胞分组

根据 SW480 细胞加入的 siRNA NC、TUG1 siRNA、KIAA1199 siRNA 序列将其分为 siRNA NC 组、TUG1 siRNA 组、KIAA1199 siRNA 组;根据 SW480 细胞转染 inhibitor 不同将其分为 inhibitor NC 组和 miRNA-194-5p inhibitor 组;根据 SW480 细胞转染 mimics 不同将其分为 pcDNA-3.1⁺ + mimics NC 组 (A 组)、pcDNA-TUG1 + mimics NC 组 (B 组)、pcDNA-3.1⁺ + miRNA-194-5p mimics 组 (C 组)、pcDNA-TUG1 + miRNA-194-5p mimics 组 (D 组)。

1.2.3 双荧光素酶实验分析 lncRNA TUG1 与 miRNA-194-5p 的相关性

将 SW480 细胞接种于 24 孔板 (8 000 个/孔),将含有细胞周期蛋白 D2 (CCND2) 野生型或突变 3' UTR 的 100 ng psiCHECK2 荧光素酶载体与 100 nmol/L miRNA-194-5p mimic 或 mimics NC 共转染。转染 48 h 后,按照制造商的说明进行双荧光素酶报告物检测;肾素酶信号被归一化为萤火虫荧光素酶信号用于每个个体的分析。所有实验重复 2 次。

1.2.4 CCK-8 法检测 SW480 细胞活力

采用 CCK-8 检测 SW480 细胞活力。取处于对数生长期的转染细胞,以 5×10^3 个/孔的密度将其置于 96 孔板中。在培养箱中静置 2 d 后,每个孔中加入 10 μ L CCK-8 溶液,37 °C 孵育 2 h。使用酶标仪测定 450 nm 波长的吸光度 (A) 值,所有实验均为 3 个重复。

1.2.5 Transwell 实验检测 SW480 细胞侵袭数目

使用涂有基质的 Transwell 室检测细胞侵袭。将无血清培养基中的转染细胞添加到 Transwell 室的上室中,600 μ L 含有 10% FBS 的 DMEM 培养基加入下室作为化学引诱剂。孵化后 48 h,下室中的细胞层用 5% 多聚甲醛固定 20 min,0.1% 结晶紫染色 5 min。PBS 洗涤后,在倒置显微镜下,随机选取每个样品的 5 个区域,捕捉被侵袭细胞进行计算。

1.2.6 RNA 提取、反转录及其 RT-qPCR 检测

使用 TRIzol 试剂从结直肠癌组织或细胞系中提取总 RNA,使用 NanoDrop 2000 分光光度计(Wilmington,USA)测量 RNA 的纯度和浓度,按照制造商的说明使用逆转录试剂盒进行反转录,然后在 ABI 7900Real-Time PCR 系统(Applied Biosystems,Foster City,USA)下,使用 SYBR Green Real-Time PCR Master Mix (Roche,Basel,Switzerland)进行定量,GAPDH 为内参, $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法分析结果。重复 3 次实验。引物如下,lncRNA TUG1 上游引物:5'-CCA GAC CCT CAG TGC AAA CT-3';下游引物:5'-CAA TCA GGA GGC ACA GGA C-3'。miRNA-194-5p 上游引物:5'-ACA CTC CAG CTG GGT GTA ACA GCA ACT CC-3';下游引物:5'-TGG TGT CGT GGA GTC G-3'。KIAA1199 上游引物:5'-GCT TAC CCC AAG TTC ACC GA-3';下游引物:5'-AGT GCT GCT TGG AAC TCT CC-3'。GAPDH 上游引物:5'-CAA GGT CAT CCA TGA CAA CTT TG-3';下游引物:5'-GTC CAC CAC CCT GTT GCT GTA G-3'。

1.2.7 Western blot 分析细胞内 EMT 相关蛋白和 KIAA1199 蛋白表达

(1)从结直肠癌细胞中提取蛋白,在 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上分离,然后转移到 PVDF 膜(Bio-Rad)上。将 PVDF 膜与 5%脱脂牛奶孵育 90 min,阻断非特异性结合。(2)将 PVDF 膜与一抗孵育,包括抗 E-cadherin、N-cadherin、Vimentin 和抗 GAPDH,于 4℃过夜孵育。用 Tris-HCl 盐加 Tween 缓冲液(TBST)洗涤 PVDF 膜后,用辣根过氧化物酶偶联的二抗在 37℃下孵育。最后使用 ECL-plus 检测系统对蛋白进行可视化检测。

1.3 统计学处理

数据采用 GraphPad Prism7.0 软件进行统计学分析。计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,符合正态分布的数据组间比较采用单因素方差分析,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 各组组织及细胞中 TUG1、miRNA-194-5p 及 KIAA1199 的表达水平比较

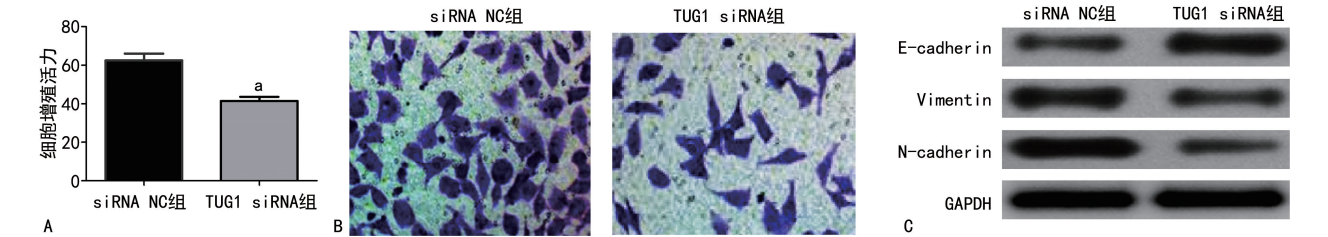
与癌旁组织比较,结肠癌组织中 TUG1 及 KIAA1199 表达水平明显升高($P<0.01$),miRNA-194-5p 表达水平明显下降($P<0.05$);与 NCM460 细胞比较,SW480 细胞中 TUG1 及 KIAA1199 表达水平明显升高($P<0.01$),miRNA-194-5p 表达水平明显下降($P<0.01$),见表 1。

2.2 siRNA NC 组与 TUG1 siRNA 组 SW480 细胞的增殖、侵袭及 EMT 相关蛋白表达水平比较

与 siRNA NC 组比较,TUG1 siRNA 组 SW480 细胞内 TUG1 表达水平及细胞增殖活力明显下降($P<0.01$),细胞侵袭数目明显减少($P<0.01$);SW480 细胞内 N-cadherin、Vimentin 表达水平明显下降($P<0.01$),E-cadherin 表达水平明显升高($P<0.01$),见图 1、表 2。

表 1 各组组织及细胞中 TUG1、miRNA-194-5p 及其 KIAA1199 的表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	TUG1	miRNA-194-5p	KIAA1199
结肠癌组织	52	4.35±0.23	0.85±0.12	3.89±1.01
癌旁组织	52	1.36±0.38	1.42±0.54	1.28±0.52
<i>t</i>		2.834	2.219	2.918
<i>P</i>		0.007	0.037	0.005
SW480 细胞	10	3.24±0.27	0.45±0.06	2.87±0.92
NCM460 细胞	10	1.26±0.05	1.14±0.21	1.42±0.76
<i>t</i>		3.213	3.198	3.304
<i>P</i>		0.008	0.009	0.007



A: CCK-8 检测;B: Transwell 检测(×200);C: Western blot 检测;^a: $P<0.01$,与 siRNA NC 组比较。

图 1 siRNA NC 组与 TUG1 siRNA 组 SW480 细胞的增殖、侵袭及 EMT 相关蛋白表达

表 2 siRNA NC 组与 TUG1 siRNA 组 SW480 细胞增殖活力、侵袭数目和 EMT 相关蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s,n=10$)

组别	TUG1	增殖活力(%)	侵袭数目(个)	N-cadherin	Vimentin	E-cadherin
siRNA NC 组	1.24±0.26	62.72±8.76	83.53±9.25	1.04±0.23	0.93±0.06	0.53±0.42
TUG1 siRNA 组	0.32±0.08	41.87±7.82	25.42±8.71	0.21±0.05	0.32±0.09	1.06±0.51
<i>t</i>	3.225	3.337	3.507	3.431	3.397	3.203
<i>P</i>	0.008	0.007	0.006	0.006	0.007	0.008

2.3 lncRNA TUG1 与 miRNA-194-5p 的关系

生物学信息软件 miRcode 预测 TUG1 和 miRNA-194-5p 之间可能的结合位点,见图 2。与 TUG1 wt+mimics NC 组相比,TUG1 wt+miRNA-194-5p mimics 组细胞荧光素酶活性明显下调(1.14 ± 0.52 vs. 0.37 ± 0.08 , $t = 3.297$, $P = 0.087$),与 TUG1 mut+mimics NC 组相比,TUG1 mut+miRNA-194-5p mimics 组细胞荧光素酶活性无明显变化(1.23 ± 0.05 vs. 1.26 ± 0.12 , $t = 1.137$, $P = 0.36$)。

2.4 inhibitor NC 组与 miRNA-194-5p inhibitor 组 SW480 细胞的增殖、侵袭及 EMT 相关蛋白表达水平比较

与 inhibitor NC 组比较,miRNA-194-5p inhibitor 组 SW480 细胞内 miRNA-194-5p 表达水平明显下调($P < 0.01$),增殖活力明显上升($P < 0.05$),细胞侵袭数目明显($P < 0.01$);SW480 细胞内 N-cadherin、Vimentin 表达明显上调($P < 0.01$),E-cadherin 表达明显下调($P < 0.01$),见图 3、表 3。

2.5 4 组 SW480 细胞的增殖、侵袭及 EMT 相关蛋白表达水平比较

与 A 组比较,B 组细胞增殖活力明显升高($P < 0.01$),细胞侵袭数目明显增加($P < 0.01$),N-cadherin、Vimentin 表达水平明显升高($P < 0.01$),E-cadherin 表达水平明显下降($P < 0.01$);C 组细胞增殖活力明显下降($P < 0.01$),细胞侵袭数目明显减少($P < 0.05$),N-cadherin、Vimentin 表达明显下降($P < 0.01$),E-cadherin 表达水平明显升高($P < 0.01$)。与 C 组比较,D 组细胞增殖活力明显上升($P < 0.01$),细胞侵袭数目明显增加($P < 0.01$),N-cadherin、Vimentin 表达水平明显升高($P < 0.01$),E-cadherin 表达明显下降($P < 0.01$),见图 4、表 4。

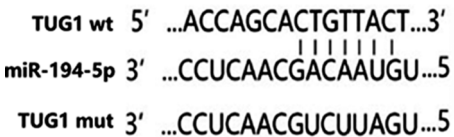
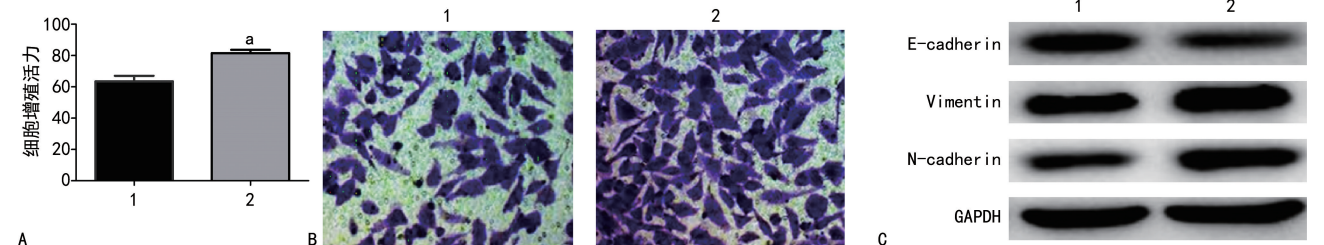


图 2 检测 lncRNA TUG1 与 miRNA-194-5p 的结合位点

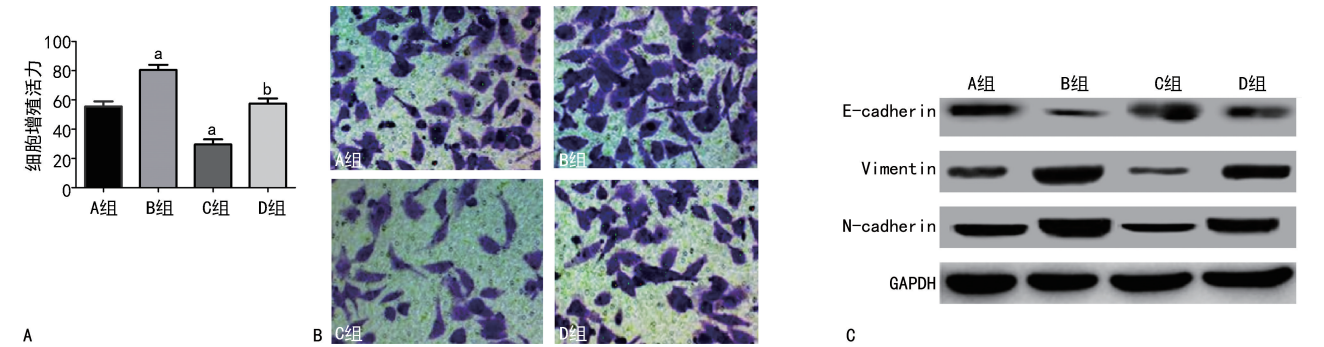


A:CCK-8 检测;B:Tranwell 检测($\times 200$);C:Western blot 检测;1:inhibitor NC 组;2:miRNA-194-5p inhibitor 组;^a: $P < 0.05$,与 inhibitor NC 组比较。

图 3 inhibitor NC 组与 miRNA-194-5p inhibitor 组 SW480 细胞的增殖、侵袭及 EMT 相关蛋白表达

表 3 inhibitor NC 组与 miRNA-194-5p inhibitor 组 SW480 细胞增殖活力、侵袭数目和 EMT 相关蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	miRNA-194-5p	增殖活力(%)	侵袭数目(个)	N-cadherin	Vimentin	E-cadherin
inhibitor NC 组	1.56 ± 0.32	60.89 ± 4.35	78.36 ± 10.36	0.53 ± 0.08	0.98 ± 0.15	1.02 ± 0.28
miRNA-194-5p inhibitor 组	0.47 ± 0.16	82.59 ± 8.92	140.58 ± 9.86	1.16 ± 0.65	1.78 ± 0.42	0.46 ± 0.21
<i>t</i>	3.197	2.017	3.297	3.232	3.219	3.301
<i>P</i>	0.009	0.021	0.008	0.008	0.008	0.007



A:CCK-8 检测;B:Transwell 检测($\times 200$);C:Western blot 检测;^a: $P < 0.01$,与 A 组比较;^b: $P < 0.01$,与 C 组比较。

图 4 4 组 SW480 细胞的增殖、侵袭及 EMT 相关蛋白表达

表 4 4 组 SW480 细胞增殖活力、侵袭数目和 EMT 相关蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s,n=10$)

组别	增殖活力(%)	侵袭数目(个)	N-cadherin	Vimentin	E-cadherin
A 组	55.68±8.76	85.92±8.28	0.47±0.12	0.46±0.08	0.52±0.07
B 组	80.56±9.23	150.32±12.96	1.23±0.25	1.32±0.62	0.17±0.11
<i>t</i>	3.337	3.617	3.345	3.349	3.581
<i>P</i>	0.007	0.004	0.006	0.006	0.005
C 组	31.28±4.86	40.68±7.53	0.18±0.08	0.15±0.02	1.03±0.09
D 组	58.29±7.83	83.64±10.36	0.58±0.35	0.52±0.06	0.55±0.41
<i>t</i>	3.211	2.376	3.183	3.197	3.181
<i>P</i>	0.009	0.039	0.008	0.008	0.008

2.6 4 组 SW480 细胞 KIAA1199 表达水平比较

与 A 组比较,B 组细胞内 KIAA1199 基因和蛋白表达明显上调($P<0.01$),C 组细胞内 KIAA1199 基因和蛋白表达明显下调($P<0.01$);与 C 组比较,D 组细胞内 KIAA1199 基因和蛋白表达明显上调($P<0.01$),见表 5、图 5。

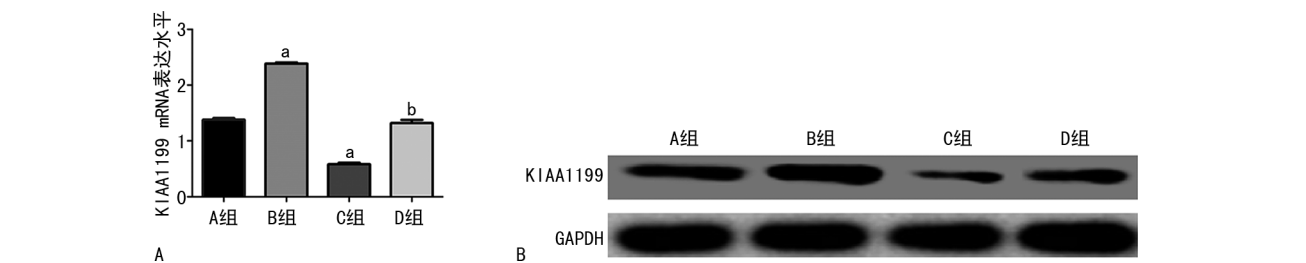
2.7 siRNA NC 组与 KIAA1199 siRNA 组 SW480 细胞的增殖、侵袭及 EMT 相关蛋白表达水平比较

与 siRNA NC 组比较,KIAA1199 siRNA 组 SW480 细胞内 KIAA1199 表达水平及细胞增殖活力明显下降($P<0.05$),细胞侵袭数目明显减少($P<0.01$);SW480 细胞内 N-cadherin、Vimentin 表达水

平明显下降($P<0.01$),E-cadherin 表达水平明显升高($P<0.01$),见图 6、表 6。

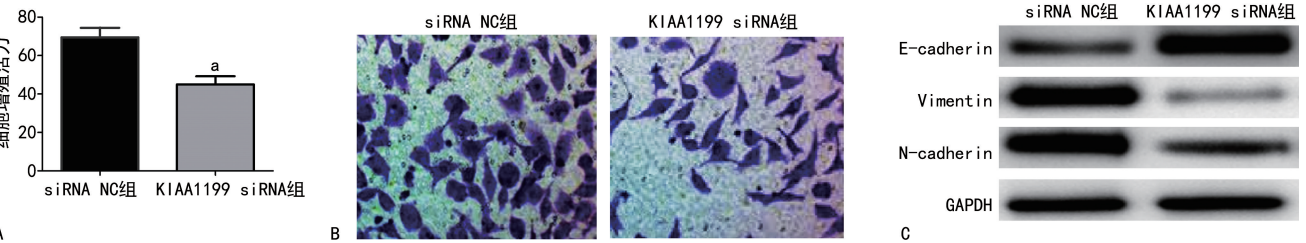
表 5 4 组 SW480 细胞 KIAA1199 基因及其蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s,n=10$)

组别	KIAA1199 基因	KIAA1199 蛋白
A 组	1.35±0.73	0.38±0.07
B 组	2.28±0.97	0.97±0.23
<i>t</i>	3.191	3.223
<i>P</i>	0.009	0.008
C 组	0.58±0.05	0.18±0.02
D 组	1.28±0.42	0.36±0.09
<i>t</i>	3.179	3.397
<i>P</i>	0.009	0.008



A:RT-qPCR 检测;B:Western blot 检测;^a: $P<0.01$,与 A 组比较;^b: $P<0.01$,与 C 组比较。

图 5 4 组 SW480 细胞 KIAA1199 表达水平



A:CCK-8 检测;B:Transwell 检测($\times 200$);C:Western blot 检测;^a: $P<0.05$,与 siRNA NC 组比较。

图 6 siRNA NC 组与 KIAA1199 siRNA 组 SW480 细胞的增殖、侵袭及 EMT 相关蛋白表达

表 6 siRNA NC 组与 KIAA1199 siRNA 组 SW480 细胞增殖活力、侵袭数目和 EMT 相关蛋白表达水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	KIAA1199	增殖活力(%)	侵袭数目(个)	N-cadherin	Vimentin	E-cadherin
siRNA NC	1.45±0.76	65.83±9.65	83.53±9.25	1.73±0.45	1.68±0.25	0.86±0.34
KIAA1199 siRNA	0.67±0.03	45.62±8.04	30.86±12.35	0.73±0.23	0.26±0.07	2.05±0.73
<i>t</i>	3.213	1.987	3.337	3.297	3.276	3.197
<i>P</i>	0.009	0.031	0.007	0.008	0.009	0.009

3 讨 论

结直肠癌是我国癌症相关死亡的第四大原因,在我国呈快速上升趋势。而局部和全身转移是结直肠癌患者预后不良的主要原因。因此,有必要探讨结直肠癌转移的分子机制。本研究结果显示,lncRNA TUG1、miRNA-194-5p 和 KIAA1199 在结直肠癌增殖、侵袭及 EMT 过程中发挥了关键作用。较高水平的 TUG1 可直接与成熟的 miRNA-194-5p 结合并作为生物海绵,从而促进结直肠癌细胞的增殖、侵袭和 EMT。此外,TUG1 可靶向 miRNA-194-5p 调控 KIAA1199 的表达。本文在 TUG1/miRNA-194-5p/KIAA1199 通路对结直肠癌细胞发展的调控机制研究中,发现 TUG1 是一种很有前途的结直肠癌治疗靶点和有用的生物标志物。

近年来,已被许多研究证实,lncRNA 的异常调节参与了几乎所有人类癌症的发病机制,表明 lncRNA 可以作为致癌基因或肿瘤抑制因子在人类癌症的发生和进展中发挥作用。TUG1 首次被发现并被认为是一种新的视网膜非编码 RNA,TUG1 可以与生长相关基因相互作用,并在各种恶性肿瘤中作为关键的致癌基因发挥作用。XU 等^[11]研究发现,lncRNA TUG1 可加重前列腺癌的进展,预测预后不良。WANG 等^[12]研究表明,lncRNA TUG1 通过 TUG1/miRNA-145-5p/trpc6 通路促进结直肠癌细胞的生长和迁移。本研究结果显示,TUG1 在结直肠癌中上调,并在结直肠癌细胞增殖、侵袭和 EMT 中发挥关键作用。此外,siRNA 下调 TUG1 在 SW480 细胞中的表达后,明显抑制了 SW480 细胞的增殖、侵袭和 EMT 发生,这些结果支持了 TUG1 沉默可有效降低结直肠癌细胞的肿瘤发生,对确定新的治疗靶点,促进结直肠癌的临床治疗具有重要意义。

TUG1 被认为通过作为 ceRNA 调控某些靶点(如 miRNA),在多种人类癌症的发生和进展中发挥作用。TUG1 作为 miRNA 海绵,可与 miRNA-29a、miRNA-128-3p、miRNA-498 等多种 miRNA 结合,进一步影响这些 miRNA 某些靶基因的表达,从而影响肿瘤细胞的生物学行为^[13-15]。本研究结果显示,TUG1 可靶向结合 miRNA-194-5p,上调 TUG1 通过 miRNA-194-5p 可促 KIAA1199 表达及 SW480 细胞增殖、侵袭及 EMT。如 miRNA-194-5p 通过靶向 E2F3 抑制膀胱癌细胞迁移和侵袭^[16]。下调 miRNA-194-5p 通过改变鼠双微体 2(MDM2)的表达诱导卵巢癌细胞对紫杉醇耐药^[17]。miRNA-194-5p 在结直肠癌细胞和肿瘤组织中的表达经常降低,并发挥抑瘤作用,这与其他癌症一致。此外,本研究数据也证实了 lncRNA TUG1 通过靶向 miRNA-194-5p 调控 KI-

AA1199 表达。有文献报道 KIAA1199 在人类癌症和癌细胞发展中起重要作用^[18]。KIAA1199 作为胃癌药物治疗新靶点具有重要的临床意义^[19]。KIAA1199 通过 PI3K-Akt 介导的 EMT 促进非小细胞肺癌的侵袭和迁移^[20]。ZHAO 等^[21]研究发现,KIAA1199 通过 PP2A/stathmin 通路调控的微管不稳定促进结直肠癌细胞转移。本研究结果显示,KIAA1199 在结直肠癌中上调,KIAA1199 siRNA 转染 SW480 细胞后,可明显抑制 SW480 细胞的恶性发展。

综上所述,TUG1 在结直肠癌中明显上调,TUG1 的激活可能参与结直肠癌的进展。在结直肠癌中,TUG1 通过作为 miRNA 海绵沉默 miRNA-194-5p 来调节 KIAA1199,从而促进结直肠癌细胞增殖、侵袭和 MET。本研究结果对于阐明 TUG1/miRNA-194-5p/KIAA1199 通路在结直肠癌发生、发展中的确切作用和分子机制有促进作用。

参考文献

- [1] 吴秀丽,李显蓉,宋美璇,等. 结直肠癌患者术后癌因性疲乏对生活质量的的影响及干预措施的研究进展[J]. 现代临床护理,2019,18(6):76-81.
- [2] 陈秀琼,孟凡桥,熊华,等. 转移性结直肠癌抗 EGFR 治疗的耐药机制研究进展[J]. 癌变·畸变·突变,2020,32(1):67-71.
- [3] 黄天臣,冯留顺,肖建安,等. 进展期结直肠癌患者循环肿瘤细胞水平及其与患者临床特征和预后的关系[J]. 中华实验外科杂志,2018,35(12):2314-2317.
- [4] FU J,ZHAO W,GUO D,et al. LncRNA E2F-Mediated cell proliferation enhancing lncRNA regulates cancer cell behaviors and affects prognosis of gastric cancer[J]. Dig Dis Sci,2020,65(5):1348-1354.
- [5] ZONG M,FENG W,WAN L,et al. LncRNA TUG1 promotes esophageal cancer development through regulating PLK1 expression by sponging miR-1294[J]. Biotechnol Lett,2020,42(12):2537-2549.
- [6] ZHU H,SHAN Y,GE K,et al. LncRNA CYTOR promotes pancreatic cancer cell proliferation and migration by sponging miR-205-5p[J]. Pancreatolgy,2020,20(6):1139-1148.
- [7] LIU W,WANG Z,LIU L,et al. LncRNA malat1 inhibition of TDP43 cleavage suppresses IRF3-initiated antiviral innate immunity[J]. Proc Natl Acad Sci U S A,2020,117(38):

- 23695-23706.
- [8] LEI H,GAO Y,XU X. LncRNA TUG1 influences papillary thyroid cancer cell proliferation, migration and EMT formation through targeting miR-145 [J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai),2017,49(7):588-597.
- [9] ZHAO L,SUN H,KONG H,et al. The Lncrna-TUG1/EZH2 axis promotes pancreatic cancer cell proliferation, migration and EMT phenotype formation through sponging miR-382[J]. Cell Physiol Biochem,2017,42(6):2145-2158.
- [10] ZHAN F L,CHEN C F,YAO M Z. LncRNA TUG1 facilitates proliferation, invasion and stemness of ovarian cancer cell via miR-186-5p/ZEB1 axis[J]. Cell Biochem Funct,2020,38(8):1069-1078.
- [11] XU T,LIU C L,LI T,et al. LncRNA TUG1 aggravates the progression of prostate cancer and predicts the poor prognosis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2019,23(11):4698-4705.
- [12] WANG X,BAI X,YAN Z,et al. The lncRNA TUG1 promotes cell growth and migration in colorectal cancer via the TUG1-miR-145-5p-TRPC6 pathway[J]. Biochem Cell Biol,2021,99(2):249-260.
- [13] HAO W Y,GUO L W,LUO J,et al. LncRNA TUG1 promotes growth and metastasis of cholangiocarcinoma cells by inhibiting miR-29a [J]. Cancer Manag Res,2020,12(12):11103-11111.
- [14] HAO S D,MA J X,LIU Y,et al. Long non-coding TUG1 accelerates prostate cancer progression through regulating miR-128-3p/YES1 axis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2020,24(2):619-632.
- [15] JIN G,YANG Y,TUO G,et al. LncRNA TUG1 promotes tumor growth and metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by regulating XBP1 via competitively binding to miR-498[J]. Neoplasma,2020,67(4):751-761.
- [16] WANG Y,SUN G,WANG C,et al. MiR-194-5p inhibits cell migration and invasion in bladder cancer by targeting E2F3 [J]. J BUON,2018,23(5):1492-1499.
- [17] NAKAMURA K,SAWADA K,MIYAMOTO M,et al. Downregulation of miR-194-5p induces paclitaxel resistance in ovarian cancer cells by altering MDM2 expression[J]. Oncotarget,2019,10(6):673-683.
- [18] ZHANG Y,JIA S,JIANG W G. KIAA1199 and its biological role in human cancer and cancer cells (review) [J]. Oncol Rep,2014,31(4):1503-1511.
- [19] ONEYAMA M,SAKAMOTO N,OUE N,et al. Clinical significance of KIAA1199 as a novel target for gastric cancer drug therapy[J]. Anti-cancer Res,2019,39(12):6567-6573.
- [20] TANG Z,DING Y,SHEN Q,et al. KIAA1199 promotes invasion and migration in non-small-cell lung cancer (NSCLC) via PI3K-Akt mediated EMT[J]. J Mol Med (Berl),2019,97(1):127-140.
- [21] ZHAO L,ZHANG D,SHEN Q,et al. KIAA1199 promotes metastasis of colorectal cancer cells via microtubule destabilization regulated by a PP2A/stathmin pathway[J]. Oncogene,2019,38(7):935-949.

(收稿日期:2021-11-18 修回日期:2022-04-18)