

刘玮, 宗佩君, 许婷婷. LncRNA PCAT1 靶向 miR-329-3p 调控舌鳞状细胞癌细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解的机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(11): 102-107.

Liu W, Zong PJ, Xu TT. Mechanism of lncRNA PCAT1 in regulating the proliferation, migration, invasion and glutamine decomposition of tongue squamous cell carcinoma cells by targeting miR-329-3p [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(11): 102-107. doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2021.11.015

LncRNA PCAT1 靶向 miR-329-3p 调控舌鳞状细胞癌细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解的机制研究

刘 玮¹, 宗佩君², 许婷婷^{1*}

(1. 潍坊护理职业学院病理教研室, 山东 潍坊 262500; 2. 山东省潍坊市益都中心医院病理科, 山东 潍坊 262500)

【摘要】 目的 探讨长链非编码 RNA 前列腺癌相关转录物 1 (PCAT1) 调控舌鳞状细胞癌 (TSCC) 增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解的调控机制。**方法** 实时荧光定量聚合酶链反应 (qRT-PCR) 检测 TSCC 癌组织、癌旁组织、TSCC 细胞和常口腔角质细胞中 PCAT1、miR-329-3p 的表达情况。脂质体转染法将 pcDNA 组 (转染 pcDNA)、pcDNA-PCAT1 组 (转染 pcDNA-PCAT1)、miR-NC 组 (转染 miR-NC)、miR-329-3p 组 (转染 miR-329-3p mimics)、pcDNA-PCAT1+miR-NC 组 (共转染 pcDNA-PCAT1 和 miR-NC)、pcDNA-PCAT1+miR-329-3p 组 (共转染 pcDNA-PCAT1 和 miR-329-3p mimics) 转染至 UM1 细胞; 细胞计数试剂盒 (CCK-8)、迁移实验 (Transwell)、酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解产物谷氨酰胺、 α -酮戊二酸 (α -KG) 水平。双荧光素酶试验检测细胞中 PCAT1 与 miR-329-3p 之间的结合力。**结果** 与癌旁组织相比, 癌组织 PCAT1 表达明显上调, miR-329-3p 表达明显下调; 与 NHOK 组相比, UM1、CAL-27、SCC25 细胞中 PCAT1 表达均上调, miR-329-3p 表达均下调 ($P<0.05$); 与 pcDNA 组相比, pcDNA-PCAT1 组 PCAT1 表达明显上升, 细胞增殖率、细胞侵袭数和细胞迁移数均发生上调, 谷氨酰胺水平和 α -KG 水平也发生明显升高 ($P<0.05$); PCAT1 可靶向调控 miR-329-3p; 与 miR-NC 组相比, miR-329-3p 组 TSCC 细胞 miR-329-3p 表达显著升高, 细胞增殖率、细胞迁移数和细胞侵袭数均显著降低, 谷氨酰胺水平和 α -KG 水平均明显降低 ($P<0.05$); 与 pcDNA-PCAT1+miR-NC 组相比, pcDNA-PCAT1+miR-329-3p 组 PCAT1 表达显著降低, 细胞增殖率、迁移细胞数和侵袭细胞数均明显降低, 谷氨酰胺水平和 α -KG 水平也显著下调 ($P<0.05$)。**结论** PCAT1 促进 TSCC 细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解, 其机制与靶向 miR-329-3p 有关。

【关键词】 PCAT1; miR-329-3p; 舌鳞状细胞癌; 谷氨酰胺分解

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 11-0102-06

Mechanism of lncRNA PCAT1 in regulating the proliferation, migration, invasion and glutamine decomposition of tongue squamous cell carcinoma cells by targeting miR-329-3p

LIU Wei¹, ZONG Peijun², XU Tingting^{1*}

(1. Pathological Staff Room, Weifang Nursing Vocational College, Weifang 262500, China.

2. Department of Pathology, Yidu Central Hospital, Weifang 262500)

【作者简介】 刘玮 (1978—), 女, 讲师, 研究方向: 病理学与病理生理学。E-mail: o1ggbo@163.com

【通信作者】 许婷婷 (1987—), 女, 副教授, 研究方向: 病理学与病理生理学。E-mail: 258776507@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the regulatory mechanism of long-chain non-coding RNA prostate cancer-related transcription 1 (PCAT1) in proliferation, migration, invasion and glutamine decomposition of tongue squamous cell carcinoma (TSCC) cells. **Methods** Real-time quantitative polymerase chain reaction was used to detect expression of PCAT1 and miR-329-3p in TSCC tissues, adjacent tissues, TSCC cells and normal oral keratinocytes. Liposomal transfection was applied to UM1 cells. Groups were the pcDNA group (transfected with pcDNA), pcDNA-PCAT1 group (transfected with pcDNA-PCAT1), miR-NC group (transfected with miR-NC), miR-329-3p group (transfected with miR-329-3p mimics), pcDNA-PCAT1 + miR-NC group (cotransfected with pcDNA-PCAT1 and miR-NC) and pcDNA-PCAT1 + miR-329-3p group (cotransfected with pcDNA-PCAT1 and miR-329-3p mimics). Cell counting kit, migration assay (Transwell) and enzyme-linked immunosorbent assay were used to assess cell proliferation, migration/invasion, and levels of glutamine decomposition products glutamate and α -ketoglutarate (α -KG). The dual luciferase assay was used to detect binding between PCAT1 and miR-329-3p in cells. **Results** Compared with adjacent tissue, expression of PCAT1 in cancer tissue was upregulated significantly and expression of miR-329-3p was downregulated significantly. Compared with NHOK cells, PCAT1 expression was upregulated and miR-329-3p expression was downregulated in UM1, CAL-27 and SCC25 cells and of ($P < 0.05$). Compared with the pcDNA group, expression of PCAT1 was significantly increased in the pcDNA-PCAT1 group, cell proliferation, invasion and migration were upregulated, and the levels of glutamate and α -KG were increased significantly ($P < 0.05$). PCAT1 targeted miR-329-3p. Compared with the miR-NC group, expression of miR-329-3p in TSCC cells of the miR-329-3p group was increased significantly cell proliferation, migration, and invasion were reduced significantly, and the levels of glutamate and α -KG were reduced significantly ($P < 0.05$). Compared with the pcDNA-PCAT1+miR-NC group, expression of PCAT1 in the pcDNA-PCAT1+miR-329-3p group was reduced significantly, cell proliferation, migration, and invasion were reduced significantly, and the levels of glutamate and α -KG were also reduced significantly ($P < 0.05$). **Conclusions** PCAT1 promotes the proliferation, migration, invasion, and glutamine decomposition of TSCC cells and its mechanism is related to targeting miR-329-3p.

【Keywords】 PCAT1; miR-329-3p; tongue squamous cell carcinoma; glutamine decomposition

舌鳞状细胞癌(tongue squamous cell carcinoma, TSCC)是口腔最常见的恶性肿瘤之一,占口腔肿瘤的 90%以上。它对人类的生命和健康构成了严重的威胁。尽管在治疗方面取得了许多进展,包括根治性手术、放疗和新辅助化疗,但 TSCC 仍与不良预后相关。由于局部侵袭性强、淋巴结转移率高,患者 5 年生存率仅为 50%左右^[1]。因此,探讨肿瘤的作用机制、寻找更有效的治疗策略非常重要。长链非编码 RNA(long non-coding RNA, LncRNA)是一种近期发现的在肿瘤中具有重要调控作用因子^[2]。前列腺癌相关转录物 1(prostate cancer-associated transcript 1, PCAT1)是其中之一,这是近 2 年新发现的一种 LncRNA。顾名思义,PCAT1 是首先在前列腺癌中发现的,其在喉癌、子宫内膜癌中均发挥促进癌症恶化作用^[3-5]。但 PCAT1 在舌鳞状细胞癌中的表达及其可能作用机制尚未可知,本研究旨在探究 PCAT1 在 TSCC 中的功能机制。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 细胞

人正常口腔角质细胞 NHOK、人舌鳞状细胞癌

细胞 UM1、CAL-27、SCC25 均购自美国模式培养物保存所。

1.1.2 材料

35 例 TSCC 组织及匹配的癌旁组织来自本院 2018 年 2 月~2020 年 6 月期间接受 TSCC 手术切除的患者。患者或其家属均签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

人谷氨酸盐(glutamate)ELISA 检测试剂盒购自上海卡努生物科技有限公司; α -酮戊二酸(α -ketoglutarate, α -KG)检测试剂盒购自 Abcam; 细胞计数试剂盒(cell counting kit, CCK-8)购自日本同仁化学研究中心; 实时荧光定量反转录聚合酶链反应试剂盒(Real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR)购自日本 TaKaRa; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自上海碧云天生物研究所; 实验中的质粒、DNA 和引物均由深圳默赛尔生物医学发展公司设计合成。

1.3 方法

1.3.1 细胞培养

NHOK、UM1、CAL-27、SCC25 细胞的培养所使用的培养液均为 DMEM 培养基(含有 15% 胎牛血清 + 1% 青链霉素混合液)。培养条件为: 37℃、5%

CO₂、饱和湿度的恒温培养箱中常规培养、传代。

1.3.2 分组

将收集的 TSCC 组织标记为癌组织组,癌旁组织标记为癌旁组织组;将正常培养的 NHOK、UM1、CAL-27、SCC25 细胞分别标记为 NHOK 组、UM1 组、CAL-27 组、SCC25 组;用 3 倍质粒或 DNA 量的脂质体将质粒或 DNA 转染至 UM1 细胞,具体为香江脂质体和质粒或 DNA 混合,再将混合液与 UM1 细胞共培养 8 h,添加培养液继续培养至 48 h,再用 qRT-PCR 检测转染的效率。各组细胞所转染的质粒或 DNA 为 pcDNA 组(转染 pcDNA)、pcDNA-PCAT1 组(转染 pcDNA-PCAT1)、miR-NC 组(转染 miR-NC)、miR-329-3p 组(转染 miR-329-3p mimics)、pcDNA-PCAT1+miR-NC 组(共转染 pcDNA-PCAT1 和 miR-NC)、pcDNA-PCAT1 + miR-329-3p 组(共转染 pcDNA-PCAT1 和 miR-329-3p mimics)。

1.3.3 qRT-PCR 检测 PCAT1、miR-329-3p 表达

将需要检测的细胞提取总 RNA,并反转录为 cDNA,作为模板放置在 -20℃ 保存备用。用 qRT-PCR 试剂盒检测模板中 PCAT1、miR-329-3p 表达。结果以 GAPDH、U6 为内参,2^{-ΔΔCT} 法计算 PCAT1、miR-329-3p 的相对表达水平。PCAT1,上游引物 5'-TGAGAAGAGAAATCTATTGGAACC-3',下游引物 5'-GGTTTGCTCCGCTGCTTTA-3';GAPDH,上游引物 5'-ATGGGGAAGGTGAAGGTCG-3',下游引物 5'-GGGGTCATTGATGGCAACAATA-3';miR-329-3p 上游引物 5'-GGGAACACACCTGGTTAAC-3',下游引物 5'-CAGTGCGTGTCTGCTGGAGT-3';U6 上游引物 5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3',下游引物 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGCAT-3'。

1.3.4 CCK-8 实验检测细胞增殖率

将需要检测的细胞调整至每毫升 10⁵ 个,取其中 100 μL 置于 24 孔板,按照 CCK-8 试剂盒要求操作添加反应液,在 490 nm 波长下检测细胞吸光值(A)。细胞增殖率为 $A_{\text{实验组}}/A_{\text{对照组}} \times 100\%$ 。

1.3.5 Transwell 实验检测细胞迁移侵袭

将需要检测的细胞先用不含血清培养液培养 12 h,调整至每毫升 5×10^4 个。取 100 μL 细胞浸润小室上表面的膜,再去 600 μL 含血清的培养液置于下室,将小室移至 37℃ 培养箱中培养 12 h。结束后去除残余的细胞,将膜进行固定和染色,并将膜的上表面朝上封片。用显微镜进行镜检,观察细胞的数量,计数,取平均数。

1.3.6 ELISA 实验检测谷氨酸盐、α-KG 水平

收集需要检测的细胞上清液,按人谷氨酸盐(glutamate)ELISA 检测试剂盒、α-酮戊二酸(α-KG)检测试剂盒要求操作,测定其中谷氨酸盐、α-KG 的水平。结果以相对应的对照组水平为单位 1,计算检测组细胞上清中谷氨酸盐、α-KG 的水平。

1.3.7 生物信息学预测

使用生物信息学在线预测网站 starbase(<http://starbase.sysu.edu.cn>)分析 PCAT1 与 miR-329-3p 之间是否存在结合位点。

1.3.8 双荧光素酶报告实验验证 PCAT1 靶向 miR-329-3p

根据预测到的 PCAT1 结合位点用化学合成野生型 PCAT1 基因片段(含有结合位点)和突变型 PCAT1 基因片段(不含结合位点),并将其克隆至荧光载体 psiCHECK2 构建荧光素酶报告基因,并提取质粒。用脂质体将其与 miR-NC、miR-329-3p 共转染至 UM1。用双荧光素酶报告实验试剂盒检测细胞中萤火虫、海肾的荧光活性,结果以萤火虫荧光活性与海肾荧光活性之比表示 PCAT1 与 miR-329-3p 之间结合。

1.4 统计学方法

实验中所涉及的计量资料使用平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,统计分析均使用医药专用统计软件 PEMS 2.0 分析。多组数据之间比较采用单因素方差分析,总体有差异进一步采用 LSD-*t* 检验进行两两比较,两组数据比较采用独立样本 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCAT1、miR-329-3p 在 TSCC 中的表达

与癌旁组织组相比,癌组织组 PCAT1 表达明显上调,miR-329-3p 表达明显下调($P < 0.05$);与 NHOK 组相比,UM1、CAL-27、SCC25 细胞中 PCAT1 表达均上调,miR-329-3p 表达均下调($P < 0.05$),其中 UM1 细胞中 PCAT1 的表达水平相对较高,因而选用 UM1 细胞进行后续研究(表 1、表 2)。

2.2 PCAT1 对 TSCC 细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解的影响

与 pcDNA 组相比,pcDNA-PCAT1 组 PCAT1 表达明显上升,细胞增殖率、细胞侵袭数和细胞侵袭数均发生上调,谷氨酸盐水平和 α-KG 水平也发生明显升高($P < 0.05$,表 3)。

2.3 PCAT1 靶向 miR-329-3p

通过生物信息学在线预测网站 starbase (<http://starbase.sysu.edu.cn>) 预测到 PCAT1 与 miR-329-3p 之间存在互补的结合位点(图 1)。与 miR-NC 组相比,miR-329-3p 组 WT-PCAT1 细胞的荧光活性明显降低,miR-329-3p 组 UM1 细胞 PCAT1 表达显著降低($P<0.05$)(表 4、图 2)。

2.4 miR-329-3p 对 TSCC 细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解的影响

与 miR-NC 组相比,miR-329-3p 组 TSCC 细胞 miR-329-3p 表达显著升高,细胞增殖率、细胞迁移数和细胞侵袭数均显著降低,谷氨酰胺水平和 α -KG 水平均明显降低($P<0.05$,表 5)。

2.5 miR-329-3p 对 PCAT1 在 TSCC 细胞调控作用的回复

与 pcDNA-PCAT1+miR-NC 组比,pcDNA-PCAT1+miR-329-3p 组 PCAT1 表达显著降低,细胞增殖率、迁移细胞数和侵袭细胞数均明显降低,谷氨酰胺水平和 α -KG 水平也显著下调($P<0.05$,表 6)。

3 讨论

PCAT1 在人类的多种癌症中均表现出促进癌症恶化的作用^[6-7],但是其在 TSCC 中是否也具有相同的促进癌症恶化作用有待探究。Huang 等^[8]在研究中报道,PCAT1 在食道鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织和细胞中的表达明显升高,下调 PCAT1 抑制 ESCC 细胞的增殖。PCAT1 通过调节 PHLPP/FKBP51/IKK α 复合物激活 AKT/NF- κ B 信号传导而促进去势抵抗性前列腺癌的发生及发展^[9]。PCAT1 通过 Wnt/ β -catenin 信号通路调节肝外胆管癌的进展^[10]。本研究发现 PCAT1 在 TSCC 组织和癌细胞中的表达均显著上调,并且过表达 PCAT1 促进癌细胞的增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解,提示 PCAT1 在 TSCC 中发挥促进癌症恶化的作用。谷氨酰胺是一种具有胺官能团的非必需氨基酸,是血液中循环最丰富的氨基酸。赖谷氨酰胺分解一直被认为是癌细胞代谢的一个标志。与正常分化的细胞不同,癌细胞已经重新编程了新陈代谢,以满足其能量需求。许多代谢途径在细胞的能量获取中占据重要地位,如葡萄糖转运,包括谷氨酰胺分解和磷酸戊糖途径^[11-12]。谷氨酰胺分解产物谷氨酰盐、 α -酮戊二酸(α -KG)是谷氨酰胺代谢的关键产物,本研究发现过表达

PCAT1 能够上调谷氨酰盐、 α -KG 的含量。

本研究还发现,PCAT1 能够吸附 miR-329-3p,推测这可能与 PCAT1 在 TSCC 中的功能有联系。据报道,大量 miRNA 在 TSCC 中表达失调^[13-14],但是仍有新发现的 miRNA 在 TSCC 中的功能尚未清楚。Chang 等^[15]报道,miR-329-3p 在胃癌组织中的表达水平明显下调,并且与患者的淋巴转移、分期和总生存期呈负相关,表明 miR-329-3p 的下调与胃癌患者的预后不良有关。Li 等^[16]发现,miR-329-3p 在宫颈癌组织和细胞系中的表达水平均降低,miR-329-3p 低表达与宫颈癌患者的组织学分级、分期和淋巴结转移呈负相关。miR-329-3p 的上调能够抑制宫颈癌细胞增殖、迁移和侵袭。并且 MAPK1 为

表 1 TSCC 组织中 PCAT1、miR-329-3p 的表达($\bar{x}\pm s$, $n=35$)

组别 Groups	前列腺癌相关转录 1 PCAT1	微小 RNA-329-3p miR-329-3p
癌旁组织组 Adjacent tissue group	0.96 $\pm$ 0.06	0.97 $\pm$ 0.07
癌组织组 Cancer tissue group	4.71 $\pm$ 0.32 *	0.32 $\pm$ 0.03 *
<i>t</i>	34.554	25.605
<i>P</i>	0.000	0.000

注:与癌旁组织组相比, * $P<0.05$ 。

Note. Compared with the adjacent tissue group, * $P<0.05$.

表 2 TSCC 细胞中 PCAT1、miR-329-3p 的表达($\bar{x}\pm s$, $n=9$)

组别 Groups	前列腺癌相关转录 1 PCAT1	微小 RNA-329-3p miR-329-3p
NHOK 组 NHOK group	0.99 $\pm$ 0.07	1.02 $\pm$ 0.09
UM1 组 UM1 group	5.87 $\pm$ 0.38 *	0.25 $\pm$ 0.02 *
CAL-27 组 CAL-27 group	4.96 $\pm$ 0.34 *	0.48 $\pm$ 0.04 *
SCC25 组 SCC25 group	4.37 $\pm$ 0.36 *	0.64 $\pm$ 0.05 *
<i>F</i>	413.885	299.881
<i>P</i>	0.000	0.000

注:与 NHOK 组相比, * $P<0.05$ 。

Note. Compared with the NHOK group, * $P<0.05$.

WT-PCAT1: 5' gugaAGGGGAAGCAGGUGUGUc 3'
miR-329-3p: 3' uuucUCCAAUUGGUCCACACAa 5'
MUT-PCAT1: 5' gugaUCCGGUUGGUCCACACA c 3'

图 1 PCAT1 与 miR-329-3p 之间的互补核苷酸序列

Figure 1 Complementary nucleotide sequence between PCAT1 and miR-329-3p

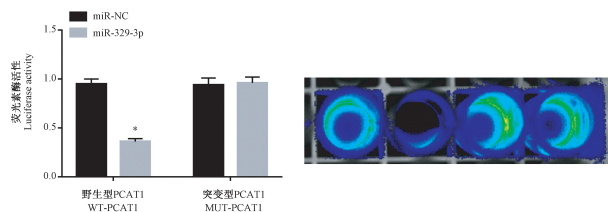


图2 荧光素酶报告实验检测荧光活性

Figure 2 Luciferase reporter assay was used to detect the fluorescence activity

表3 过表达 PCAT1 的 TSCC 细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解情况($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 3 Proliferation, migration, invasion and glutamine decomposition of TSCC cells overexpressing PCAT1

组别 Groups	前列腺癌相关 转录 1 PCAT1	增殖率 (%) Proliferation rate	迁移细胞数 (个) Number of migrating cells	侵袭细胞数 (个) Number of invasion cells	谷氨酰胺水平 Glutamate levels	α -KG 水平 α -KG levels
pcDNA 组 pcDNA group	1.00 $\pm$ 0.05	100.01 $\pm$ 2.37	99 $\pm$ 7	75 $\pm$ 5	1.01 $\pm$ 0.07	0.99 $\pm$ 0.08
pcDNA-PCAT1 组 pcDNA-PCAT1 group	3.58 $\pm$ 0.26*	143.17 $\pm$ 4.93*	147 $\pm$ 9*	96 $\pm$ 6*	1.87 $\pm$ 0.14*	1.79 $\pm$ 0.13*
<i>t</i>	29.234	78.569	12.630	8.066	16.483	15.723
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 pcDNA 组相比, * $P<0.05$ 。Note. Compared with pcDNA group, * $P<0.05$.表4 双荧光素酶报告基因实验结果及 miR-329-3p 的表达($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 4 Experimental results of dual luciferase reporter gene and expression of miR-329-3p

组别 Groups	荧光活性 Fluorescence activity		PCAT1 表达 Expression of PCAT1
	野生型载体 WT-PCAT1	突变型载体 MUT-PCAT1	
miR-NC 组 miR-NC group	0.95 $\pm$ 0.05	0.94 $\pm$ 0.07	1.01 $\pm$ 0.07
miR-329-3p 组 miR-329-3p group	0.36 $\pm$ 0.03*	0.96 $\pm$ 0.06	0.41 $\pm$ 0.03*
<i>t</i>	30.355	0.651	23.635
<i>P</i>	0.000	0.524	0.000

注:与 miR-NC 组相比, * $P<0.05$ 。Note. Compared with miR-NC group, * $P<0.05$.表5 过表达 miR-329-3p 对 TSCC 细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解的影响($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 5 Effects of overexpression of miR-329-3p on TSCC cell proliferation, migration, invasion and glutamine breakdown

组别 Groups	微小 RNA-329-3p miR-329-3p	增殖率 (%) Proliferation rate	迁移细胞数 (个) Number of migrating cells	侵袭细胞数 (个) Number of invasion cells	谷氨酰胺水平 Glutamate levels	α -KG 水平 α -KG levels
miR-NC 组 miR-NC group	1.02 $\pm$ 0.07	99.15 $\pm$ 3.21	100 $\pm$ 8	76 $\pm$ 6	1.00 $\pm$ 0.06	0.97 $\pm$ 0.09
miR-329-3p 组 miR-329-3p group	3.15 $\pm$ 0.19*	68.35 $\pm$ 3.26*	71 $\pm$ 4*	48 $\pm$ 3*	0.73 $\pm$ 0.05*	0.58 $\pm$ 0.03*
<i>t</i>	31.558	20.196	9.727	12.522	10.371	12.333
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 miR-NC 组相比, * $P<0.05$ 。Note. Compared with miR-NC group, * $P<0.05$.表6 miR-329-3p 对 PCAT1 在 TSCC 细胞增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解作用的影响($\bar{x} \pm s$, $n=9$)

Table 6 Effects of miR-329-3p on the proliferation, migration, invasion and glutamine breakdown of PCAT1 in TSCC cells

组别 Groups	前列腺癌相关 转录 1 PCAT1	增殖率 (%) Proliferation rate	迁移细胞数 (个) Number of migrating cells	侵袭细胞数 (个) Number of invasion cells	谷氨酰胺水平 Glutamate levels	α -KG 水平 α -KG level
pcDNA-PCAT1+miR-NC 组 pcDNA-PCAT1+miR-NC group	0.98 $\pm$ 0.05	142.98 $\pm$ 10.02	145 $\pm$ 8	94 $\pm$ 7	1.82 $\pm$ 0.17	1.73 $\pm$ 0.16
pcDNA-PCAT1+miR-329-3p 组 pcDNA-PCAT1+miR-329-3p group	0.75 $\pm$ 0.04*	108.25 $\pm$ 6.15*	109 $\pm$ 7*	77 $\pm$ 5*	1.14 $\pm$ 0.09*	1.21 $\pm$ 0.08*
<i>t</i>	10.776	8.862	10.161	5.929	10.605	8.721
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与 pcDNA-PCAT1+miR-NC 组相比, * $P<0.05$ 。Note. Compared with pcDNA-PCAT1+miR-NC group, * $P<0.05$.

miR-329-3p 的直接靶基因,揭示了 miR-329-3p 通过直接靶向 MAPK1 发挥肿瘤抑制作用,推测其可作为治疗宫颈癌患者的新型治疗靶标。miR-329-3p/ADP 核糖基化因子 1 (ARF1) 通路可作为肿瘤蛋白 P73 反义 RNA 1 (TP73-AS1) 的下游吸附因子,参与 TP73-AS1 在宫颈癌中的致癌作用^[17]。此研究发现,miR-329-3p 在 TSCC 组织和癌细胞中的表达异常下调,进一步研究发现过表达 miR-329-3p 能够抑制癌细胞的增殖、迁移侵袭和谷氨酰胺分解,这说明 miR-329-3p 在 TSCC 中具有抑制癌症发生恶化的作用。过表达 miR-329-3p 还能够减弱 PCAT1 对 TSCC 癌细胞恶化的促进作用。本研究发现过表达 miR-329-3p 则可以抑制谷氨酰胺、 α -KG, 提示 PCAT1、miR-329-3p 能够通过谷氨酰胺分解调节 TSCC 的进展。

综上所述,PCAT1 在 TSCC 中高表达,miR-329-3p 在 TSCC 中低表达,PCAT1 可通过靶向调控 miR-329-3p 的表达而促进 TSCC 细胞增殖、迁移和侵袭,其可能作为 TSCC 治疗的潜在靶标,还可为进一步阐释 TSCC 的发病机制奠定实验基础。

参考文献:

- [1] Calabrese L, Pietrobon G, Fazio E, et al. Anatomically-based transoral surgical approach to early-stage oral tongue squamous cell carcinoma [J]. *Head Neck*, 2020, 42(5): 1105–1109.
- [2] Sanchez CA, Kawamura Y, Yamamoto Y, et al. Emerging roles of long non-coding RNA in cancer [J]. *Cancer Sci*, 2018, 109(7): 2093–2100.
- [3] Emami NC, Kachuri L, Meyers TJ, et al. Association of imputed prostate cancer transcriptome with disease risk reveals novel mechanisms [J]. *Nat Commun*, 2019, 10(1): 3107–3117.
- [4] Zhao X, Fan Y, Lu C, et al. PCAT1 is a poor prognostic factor in endometrial carcinoma and associated with cancer cell proliferation, migration and invasion [J]. *Bosn J Basic Med Sci*, 2019, 19(3): 274–281.
- [5] Hu W, Dong N, Huang J, et al. Long non-coding RNA PCAT1 promotes cell migration and invasion in human laryngeal cancer by sponging miR-210-3p [J]. *J BUON*, 2019, 24(6): 2429–2434.
- [6] Zhang P, Liu Y, Fu C, et al. Knockdown of long non-coding RNA PCAT1 in glioma stem cells promotes radiation sensitivity [J]. *Med Mol Morphol*, 2019, 52(2): 114–122.
- [7] Zhang C, Shao S, Zhang Y, et al. LncRNA PCAT1 promotes metastasis of endometrial carcinoma through epigenetical downregulation of E-cadherin associated with methyltransferase EZH2 [J]. *Life Sci*, 2020, 243(2): 117295–117305.
- [8] Huang L, Wang Y, Chen J, et al. Long noncoding RNA PCAT1, a novel serum-based biomarker, enhances cell growth by sponging miR-326 in oesophageal squamous cell carcinoma [J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(7): 513–513.
- [9] Shang Z, Yu J, Sun L, et al. LncRNA PCAT1 activates AKT and NF- κ B signaling in castration-resistant prostate cancer by regulating the PHLPP/FKBP51/IKK α complex [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, 47(8): 4211–4225.
- [10] Zhang F, Wan M, Xu Y, et al. Long noncoding RNA PCAT1 regulates extrahepatic cholangiocarcinoma progression via the Wnt/ β -catenin-signaling pathway [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 94(1): 55–62.
- [11] Bhutia YD, Ganapathy V. Glutamine transporters in mammalian cells and their functions in physiology and cancer [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(10): 2531–2539.
- [12] Li T, Le A. Glutamine metabolism in cancer [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 2018(1063): 13–32.
- [13] Ou D, Wu Y, Liu J, et al. miRNA-335 and miRNA-182 affect the occurrence of tongue squamous cell carcinoma by targeting surviving [J]. *Oncol Lett*, 2016, 12(4): 2531–2537.
- [14] Karatas OF, Oner M, Abay A, et al. MicroRNAs in human tongue squamous cell carcinoma: From pathogenesis to therapeutic implications [J]. *Oral Oncol*, 2017, 67(4): 124–130.
- [15] Chang YH, Yin F, Fan GF, et al. Down-regulation of miR-329-3p is associated with worse prognosis in patients with cervical cancer [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(18): 4045–4049.
- [16] Li W, Liang J, Zhang Z, et al. MicroRNA-329-3p targets MAPK1 to suppress cell proliferation, migration and invasion in cervical cancer [J]. *Oncol Rep*, 2017, 37(5): 2743–2750.
- [17] Xu J, Zhang J. LncRNA TP73-AS1 is a novel regulator in cervical cancer via miR-329-3p/ARF1 axis [J]. *J Cell Biochem*, 2020, 121(1): 344–352.

[收稿日期] 2020–10–26