

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.03.006

## LncRNA MYU 对胶质瘤细胞周期分布、增殖、转移和凋亡 以及 PI3K/Akt 信号通路的影响 \*

崔 创<sup>1</sup> 林 涛<sup>1</sup> 束 坤<sup>1</sup> 刘 卓<sup>1</sup> 王举波<sup>2△</sup>

(1 通用环球西电集团医院神经外科 陕西 西安 710077;2 西安交通大学第二附属医院神经外科 陕西 西安 710004)

**摘要 目的:**探讨长链非编码 RNA(LncRNA)MYU 对胶质瘤细胞周期分布、细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响,并初步探讨其作用机制。**方法:**实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测人脑正常胶质细胞 HEB 和胶质瘤细胞(U-251MG、A172、SHG139)中 LncRNA MYU 的表达情况。选取 SHG139 细胞,分为正常对照(NC)组、si-con 组、si-LncRNA MYU 组进行转染实验,行 RT-qPCR 检测转染效果。分别采用流式细胞术、细胞计数试剂盒(CCK-8)、Transwell 实验检测沉默 LncRNA MYU 对 SHG139 细胞周期分布和凋亡、细胞增殖、细胞迁移和侵袭的影响。蛋白免疫印迹(Western blot)法检测基质金属蛋白酶 2(MMP-2)、MMP-9、裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Cleaved caspase-3)、Cleaved caspase-9 以及磷脂酰肌醇-3-羟激酶 / 蛋白激酶 B(PI3K/Akt)信号通路相关蛋白表达情况。**结果:**LncRNA MYU 在胶质瘤细胞株中比人脑正常胶质细胞中的表达水平显著升高( $P<0.05$ ),因此选择表达量最高的 SHG139 细胞进行转染实验。沉默 LncRNA MYU 能够显著诱导 SHG139 细胞 G0-G1 期阻滞、抑制细胞增殖、迁移和侵袭并诱导细胞凋亡 ( $P<0.05$ )。沉默 LncRNA MYU 可显著抑制 MMP-2、MMP-9、p-PI3K 和 p-AKT 表达并促进 Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9 表达( $P<0.05$ )。**结论:**沉默 LncRNA MYU 可诱导胶质瘤细胞 G0-G1 期阻滞,抑制细胞增殖、迁移和侵袭,促进细胞凋亡,其机制可能与抑制 PI3K/AKT 信号通路有关。

**关键词:**LncRNA MYU;胶质瘤;细胞周期;细胞增殖;迁移;侵袭;凋亡;PI3K/Akt 信号通路

**中图分类号:**R-33;R739.41 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2024)03-428-06

## Effects of LncRNA MYU on the Cycle Distribution, Proliferation, Metastasis and Apoptosis of Glioma Cells and the PI3K/Akt Signaling Pathway\*

CUI Chuang<sup>1</sup>, LIN Tao<sup>1</sup>, SHU Kun<sup>1</sup>, LIU Zhuo<sup>1</sup>, WANG Ju-bo<sup>2△</sup>

(1 Neurosurgery Department, Xidian Group Hospital of Genertec Universal Medical, Xi'an, Shaanxi, 710077, China;

2 Neurosurgery Department, The Second Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effects of long-chain non-coding RNA (LncRNA) MYU on the cycle distribution, cell proliferation, migration, invasion, and apoptosis of glioma cells, and to preliminarily explore its mechanism of action. **Methods:** The expression of LncRNA MYU in human brain normal glial cells HEB and glioma cells (U-251MG, A172, SHG139) was detected by real-time fluorescent quantitative PCR (RT-qPCR). SHG139 cells were selected and divided into normal control (NC) group, si-con group, and si-LncRNA MYU group for transfection experiments, and RT-qPCR was applied to detect the transfection effect. The effects of silencing LncRNA MYU on the cell cycle distribution and apoptosis, cell proliferation and, cell migration and invasion of SHG139 cells were detected respectively by flow cytometry, cell counting kit (CCK-8), and Transwell experiments. Western blot was used to detect the expression of matrix metalloproteinase (MMP-2), MMP-9, Cleaved caspase-3, Cleaved caspase-9, and Phosphatidylinositol-3-hydroxykinase/protein kinase B (PI3K/Akt) signaling pathway-related proteins. **Results:** The expression of LncRNA MYU in glioma cell lines was significantly higher than that in normal human brain glial cells ( $P<0.05$ ), thereby SHG139 cells with the highest expression levels were selected for transfection experiments. Silencing LncRNA MYU can significantly induce G0-G1 phase arrest, inhibit the proliferation, migration and invasion, and induce apoptosis in SHG139 cells( $P<0.05$ ). Silencing LncRNA MYU can significantly inhibit the expression of MMP-2, MMP-9, p-PI3K and p-AKT, and promote the expression of Cleaved caspase-3 and Cleaved caspase-9( $P<0.05$ ). **Conclusions:** Silencing LncRNA MYU can induce G0-G1 phase arrest, inhibit cell proliferation, migration and invasion, and promote cell apoptosis in glioma cells, and its mechanism may be related to the inhibition of PI3K/AKT signaling pathway.

**Key words:**LncRNA MYU; Glioma; Cell cycle; Cell proliferation; Migration; Invasion; Apoptosis; PI3K/Akt signaling pathway

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R739.41 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2024)03-428-06

\* 基金项目:陕西省重点研发计划一般项目 - 社会发展领域(2020SF-257)

作者简介:崔创(1981-),男,硕士,主治医师,主要研究方向:神经元细胞再生,E-mail: cuichuang1921@163.com

△ 通讯作者:王举波(1980-),男,博士,副主任医师,主要研究方向:脑胶质瘤的发生发展机制,E-mail: 5195861@qq.com

(收稿日期:2023-08-21 接受日期:2023-10-13)

## 前言

胶质瘤是人脑最常见的原发肿瘤之一,约占所有恶性脑瘤的60%<sup>[1]</sup>。其中恶性胶质瘤患者的预后较差,即使经过手术、放疗、化疗等综合治疗,5年生存率仍低于5%,其中高侵袭特性是治疗成功的主要障碍<sup>[2,3]</sup>。因此,阐明胶质瘤进展的潜在机制,明确胶质瘤治疗的有效靶点,对提高胶质瘤患者治疗效果意义重大。长链非编码RNA(Long noncoding RNA, LncRNA)是一类长度大于200个核苷酸、缺乏蛋白编码功能的内源性非编码RNA,在调控基因表达和肿瘤细胞内环境平衡的各个方面以及肿瘤细胞增殖、分化、凋亡和转移中均发挥重要作用<sup>[4,5]</sup>。LncRNA MYU又叫包含VPS9域1反义RNA1(VPS9 domain containing 1 antisense RNA1,VPS9D1-AS1),其基因定位于16q24.3染色体区域。研究显示LncRNA MYU在前列腺癌中表达上调,可促进前列腺癌细胞的发生和发展<sup>[6]</sup>。此外,LncRNA MYU在结肠癌、非小细胞肺癌中也具有致癌作用<sup>[7,8]</sup>。然而,其在胶质瘤中的表达和功能却尚未有研究。本研究拟通过体外细胞实验研究LncRNA MYU在胶质瘤发生中的生物学作用,并探讨其潜在机制,以期为胶质瘤临床治疗提供新的靶点。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

人脑正常胶质细胞HEB以及胶质瘤细胞系U-251MG、SHG139和A172均购于中国科学院典型培养物保藏中心;DMEM培养基、Opti MEM无血清培养基、青链霉素双抗、胎牛血清为美国Hyclone公司产品;TRIzol试剂、脂质体转染试剂Lipofectamine 3000为美国Invitrogen公司产品;PrimeScript RT试剂盒和SYBR Premix Ex Taq为Takara公司产品;CCK-8细胞计数试剂盒、RNase为美国Sigma公司产品;Annexin V-FITC/PI双染法细胞凋亡检测试剂盒为上海贝博生物公司产品;Transwell小室为美国Corning公司产品;兔源磷脂酰肌醇-3-羟激酶(phosphatidylinositol-3-hydroxykinase, PI3K)、p-PI3K、蛋白激酶B(Protein kinase B, AKT)、p-AKT、裂解的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Cleaved caspase-3)、Cleaved caspase-9、β-actin抗体为美国CST公司产品;兔源基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase 2, MMP-2)、MMP-9抗体、山羊抗兔IgG为美国Abcam公司产品。

### 1.2 细胞培养

采用含10%胎牛血清的DMEM培养液,常规添加1%的青链霉素双抗,于37℃、5%CO<sub>2</sub>体积分数的细胞培养箱中分别培养HEB、U-251MG、SHG139和A172细胞,当细胞密度达到80%-90%时,进行传代培养。

### 1.3 RT-qPCR检测LncRNA MYU表达

采用TRIzol提取细胞的总RNA,采用PrimeScript RT试剂盒和SYBR Premix Ex Taq检测LncRNA MYU的表达水平。以GAPDH为内参,采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算从而进一步分析LncRNA MYU的表达水平。LncRNA MYU的上游引物序列为5'-AGTGGCCGTTACAGAGACA-3',下游为5'-CATGC-CAAGCTACGGGAAGG-3';β-actin的上游引物序列为5'-AGCGAGCATCCCCAAAGTT-3',下游为5'-GGGCAC-GAAGGCTCATCATT-3'。

### 1.4 细胞转染和实验分组

取对数生长期SHG139细胞,按照 $2 \times 10^5$  cells/孔接种于6孔板,当细胞密度达到60%时,按照脂质体Lipofectamine 3000使用说明书将si-con、si-LncRNA MYU分别转染SHG139,依次标记为si-con组、si-LncRNA MYU组,用Opti MEM无血清培养基培养6 h,随后更换新鲜完全细胞培养基。同时设置正常对照(NC)组。转染48 h后,按照RT-qPCR步骤检测转染效果,合格后进行后续实验。

### 1.5 CCK-8法检测细胞活力

将NC组、si-con组、si-LncRNA MYU组SHG139细胞按照 $5 \times 10^3$  cells/孔接种于96孔板。培养48 h后,每孔加入10 μL的CCK8试剂,常温孵育2 h,混匀后,全自动酶标仪检测细胞增殖活力。

### 1.6 流式细胞术检测细胞周期分布

收集NC组、si-con组、si-LncRNA MYU组SHG139细胞,用预冷的70%乙醇固定细胞。然后用0.2%的Triton X-100在4℃条件下裂解细胞30 min,离心后,用含RNase的PBS重悬细胞,加入PI染色,混匀。最后,采用流式细胞术检测G0/G1、S、G2/M期细胞比例。

### 1.7 流式细胞术检测细胞凋亡

收集NC组、si-con组、si-LncRNA MYU组SHG139细胞,调整为 $1 \times 10^6$  cells/mL的单细胞悬液。向流式管内加入100 μL细胞悬液,分别加入5 μL的Annexin V-FITC,和5 μL的PI,避光孵育15 min,补加PBS液至500 μL,轻轻混匀,1 h内用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

### 1.8 Transwell实验检测细胞迁移和侵袭

侵袭实验:收集NC组、si-con组、si-LncRNA MYU组SHG139细胞,消化后用无血清DMEM培养液制备单细胞悬液。取100 μL细胞悬液加入到Transwell上室;在下室加入500 μL含10%胎牛血清的DMEM培养液作为化学引诱剂。在37℃、5%CO<sub>2</sub>的环境中培养12 h,用棉签擦去Transwell上室未迁移细胞,PBS冲洗后,用甲醇、结晶紫溶液分别对下室膜进行固定和染色。随机选取3个视野,进行细胞计数,取均值为迁移细胞数。侵袭实验采用包被基质胶的Transwell小室,其他步骤与迁移实验相同。

### 1.9 Western blot检测MMP-2、MMP-9、Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9和PI3K/Akt信号通路相关蛋白表达

采用RIPA缓冲液提取NC组、si-con组、si-LncRNA MYU组SHG139细胞总蛋白,BCA法测定其浓度。取30 μg细胞蛋白进行凝胶电泳,然后将分离的细胞蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜上。用1%的牛血清白蛋白溶液封闭膜后,加入稀释的一抗溶液(MMP-2和MMP-9为1:500,其他均为1:1000)室温条件孵育膜1 h,洗膜后,加入稀释的二抗溶液(1:2000)室温条件孵育膜1 h。洗膜后,加入化学发光试剂显影。以目的蛋白与内参蛋白β-actin灰度值比值表示目的蛋白的表达水平。

### 1.10 统计学分析

每组均设置3个平行实验,重复3次。数据以平均±标准差( $\bar{x} \pm s$ )的形式表示。采用SPSS 21.0进行分析,采用单因素方差分析进行多组间比较,两组间两两比较采用LSD-t检验;方差不齐则采用Welch方差分析及Games-Howell事后比较进行

分析。 $P<0.05$  为组间差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 LncRNA MYU 在人脑正常胶质细胞和胶质瘤细胞中的表达

与人脑正常胶质细胞 HEB 比较, 胶质瘤细胞 U-251MG、SHG139、A172 中 LncRNA MYU 的表达水平显著升高, 且以 SHG139 的表达水平最高( $P<0.05$ ), 因此选用 SHG139 用于后续实验。见表 1。

### 2.2 沉默 LncRNA MYU 对胶质瘤细胞周期和细胞增殖的影响

与 NC 组和 si-con 组比较, si-LncRNA MYU 组 SHG139 细胞 LncRNA MYU 的表达水平显著降低( $P<0.05$ ), 提示基因沉默效率尚可; G0-G1 期细胞比例显著增加、S 期细胞比例显著降低且细胞增殖活力显著降低( $P<0.05$ )。见图 1、表 2。

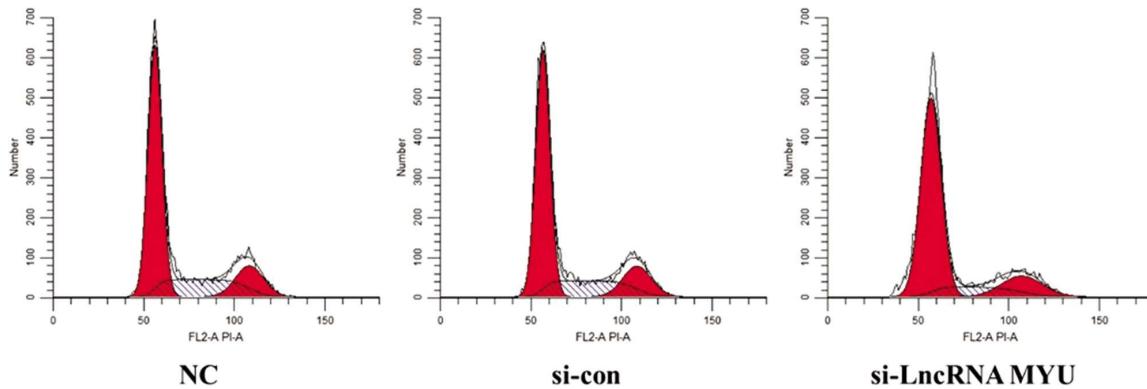


图 1 沉默 LncRNA MYU 对胶质瘤细胞周期的影响  
Fig.1 The effect of silencing LncRNA MYU on glioma cell cycle

表 2 沉默 LncRNA MYU 诱发胶质瘤细胞周期阻滞、抑制细胞增殖

Table 2 Silencing LncRNA MYU induced cell cycle arrest and inhibited cell proliferation in glioma cells

Groups	LncRNA MYU	Cell cycle(%)			Cell viability(%)
		G0-G1	S	G2-M	
NC	1.04± 0.09	61.70± 3.36	27.90± 2.91	10.41± 4.66	101.82± 6.03
si-con	1.04± 0.08	62.53± 3.38	27.74± 3.18	9.73± 3.65	100.51± 7.78
si-LncRNA MYU	0.26± 0.05 <sup>ab</sup>	71.84± 3.04 <sup>ab</sup>	18.06± 2.69 <sup>ab</sup>	10.10± 3.79	69.81± 4.58 <sup>ab</sup>
F	330.838	26.802	33.152	0.063	75.247
P	<0.001	<0.001	<0.001	0.939	<0.001

Note: a, compared with the NC group,  $P<0.05$ ; b, compared with the si-con group,  $P<0.05$ .

### 2.3 沉默 LncRNA MYU 抑制胶质瘤细胞迁移和侵袭

与 NC 组和 si-con 组比较, si-LncRNA MYU 组 SHG139 细胞的 MMP-2、MMP-9 蛋白表达水平显著降低, 且迁移和侵袭细胞数目也显著减少( $P<0.05$ )。见图 2、表 3。

### 2.4 沉默 LncRNA MYU 诱导胶质瘤细胞凋亡

与 NC 组和 si-con 组比较, si-LncRNA MYU 组 SHG139 细胞的 Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-9 蛋白表达水平显著升高, 且细胞凋亡率也显著增加( $P<0.05$ )。见图 3、表 4。

### 2.5 沉默 LncRNA MYU 抑制胶质瘤细胞 SHG139 中 PI3K/AKT 信号通路

与 NC 组和 si-con 组比较, si-LncRNA MYU 组 SHG139

表 1 LncRNA MYU 在人脑正常胶质细胞和胶质瘤细胞中的表达  
Table 1 Expression of LncRNA MYU in normal glial cells and glioma cells of the human brain

Groups	LncRNA MYU
HEB	1.02± 0.07
U-251MG	4.54± 0.41 <sup>a</sup>
SHG139	5.11± 0.46 <sup>ab</sup>
A172	3.26± 0.27 <sup>abc</sup>
F	544.572*
P	<0.001

Note: a, compared with the HEB group,  $P<0.05$ ; b, compared with the U-251MG group,  $P<0.05$ ; c, compared with the SHG139 group,  $P<0.05$ ;

\*, Welch analysis of variance.

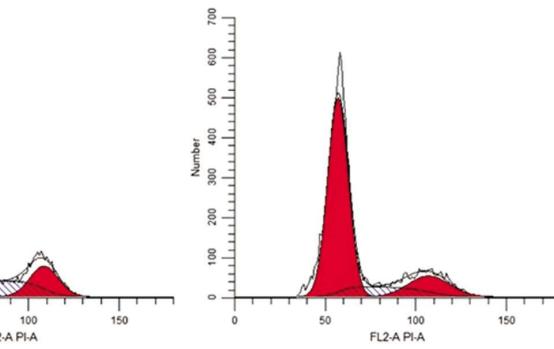


图 2 沉默 LncRNA MYU 诱发胶质瘤细胞周期阻滞、抑制细胞增殖

细胞的 PI3K 和 AKT 蛋白的表达水平无显著变化, 但 p-PI3K 和 p-AKT 蛋白的表达水平却显著降低 ( $P<0.05$ ), 提示沉默 LncRNA MYU 可抑制 PI3K/AKT 信号通路。见图 4、表 5。

## 3 讨论

胶质瘤是最常见的原发性颅内肿瘤之一, 尽管有手术和放疗等治疗手段, 胶质瘤的发病率和死亡率仍然很高。因此, 阐明这种恶性肿瘤的发病机制有助于开发更有效的治疗方法。

LncRNA 是细胞增殖、迁移、侵袭等生命活动的生物调节因子, 其表达改变可导致包括胶质瘤在内的多种人类恶性肿瘤的发生<sup>[9]</sup>。多项研究表明, LncRNA MYU 在食管鳞状细胞癌组

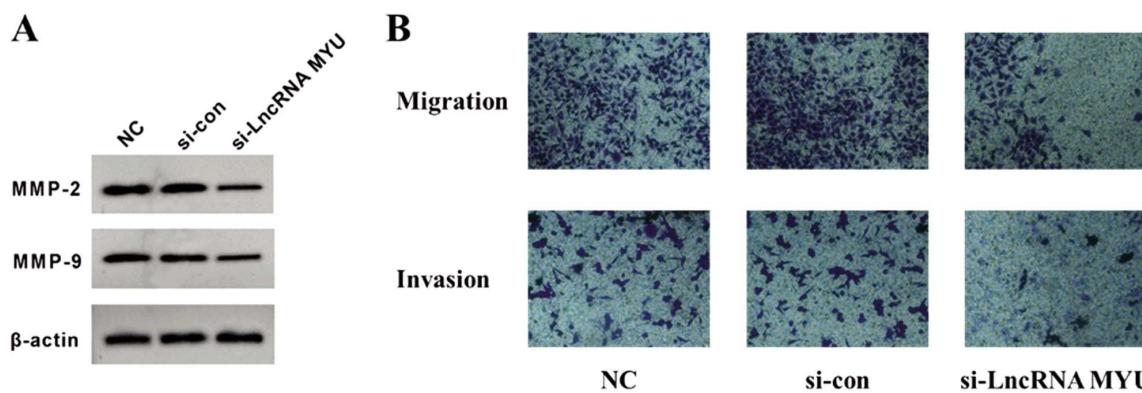


图 2 沉默 LncRNA MYU 对胶质瘤细胞 MMP-2、MMP-9 蛋白表达和细胞迁移、侵袭的影响

Fig.2 The effect of silencing LncRNA MYU on the protein expression of MMP-2 and MMP-9 and cell migration and invasion of glioma cells

表 3 沉默 LncRNA MYU 抑制胶质瘤细胞 MMP-2、MMP-9 蛋白表达和细胞迁移、侵袭

Table 3 Silencing LncRNA MYU inhibited the protein expression of MMP-2 and MMP-9 and cell migration and invasion of glioma cells

Groups	MMP-2	MMP-9	Migration	Invasion
NC	1.16± 0.08	0.87± 0.06	323.30± 18.96	117.89± 12.57
si-con	1.12± 0.09	0.83± 0.07	310.37± 23.66	109.64± 10.42
si-LncRNA MYU	0.43± 0.04 <sup>ab</sup>	0.32± 0.05 <sup>ab</sup>	123.24± 11.79 <sup>b</sup>	56.18± 8.03 <sup>ab</sup>
F	275.670	221.827	319.758	91.558
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: a, compared with the NC group, P&lt;0.05; b, compared with the si-con group, P&lt;0.05.

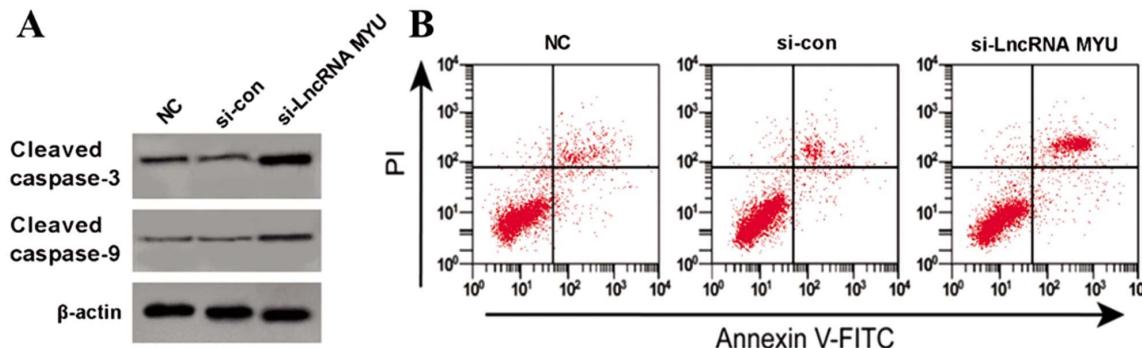


图 3 沉默 LncRNA MYU 对胶质瘤细胞 Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9 蛋白表达以及细胞凋亡的影响

Fig.3 The effect of silencing LncRNA MYU on the protein expression of Cleaved caspase-3 and Cleaved caspase-9 and cell apoptosis in glioma cells

表 4 沉默 LncRNA MYU 增加胶质瘤细胞 Cleaved caspase-3、Cleaved caspase-9 蛋白表达并促进细胞凋亡

Table 4 Silencing LncRNA MYU increased the protein expression of Cleaved caspase-3 and Cleaved caspase-9 and promoted cell apoptosis in glioma cells

Groups	Cleaved caspase-3	Cleaved caspase-9	Cell apoptosis rate(%)
NC	0.18± 0.03	0.07± 0.01	3.72± 0.50
si-con	0.16± 0.02	0.08± 0.02	4.17± 0.63
si-LncRNA MYU	0.75± 0.04 <sup>ab</sup>	0.34± 0.05 <sup>ab</sup>	13.64± 1.70 <sup>ab</sup>
F	982.695	118.817*	136.211*
P	<0.001	<0.001	<0.001

Note: a, compared with the NC group, P&lt;0.05; b, compared with the si-con group, P&lt;0.05; \*, Welch analysis of variance.

织中甚至患者血清中均表达上调,与食管鳞状细胞癌的组织病理学分级和临床分期显著相关,其高表达可导致患者的不良预后,下调 LncRNA MYU 可通过  $\beta$ -连环蛋白 ( $\beta$ -catenin) 和 c-Myc 下调 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路进而改善肿瘤细胞的增殖、

侵袭、迁移<sup>[10]</sup>;沉默 LncRNA MYU 还可通过下调波形纤维蛋白 (Vimentin)、增殖细胞核抗原 Ki-67 表达并上调 E- 钙黏蛋白 (E-cadherin) 表达,进而抑制癌细胞的增殖、迁移、侵袭<sup>[11]</sup>。LncRNA MYU 在结肠癌组织中表达上调,可与 RNA 结合蛋白

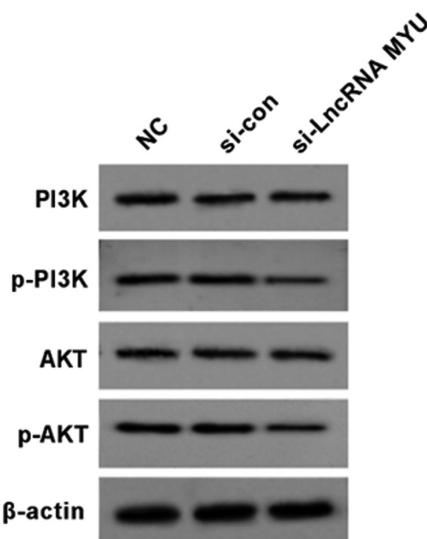


图 4 沉默 LncRNA MYU 对胶质瘤细胞 PI3K、p-PI3K、AKT 和 p-AKT 蛋白表达的影响

Fig. 4 The effect of silencing LncRNA MYU on the protein expression of PI3K, p-PI3K, AKT and p-AKT in glioma cells

不均一核糖核蛋白 K (heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K, hnRNP-K) 结合以稳定细胞分裂蛋白激酶 6 (cyclin dependent kinase 6, CDK6) 的表达水平, 从而促进细胞周期进展, 进而促进结肠癌细胞的增殖和致瘤性<sup>[7]</sup>。在卵巢癌组织中, LncRNA MYU 也表达上调, 其过表达与卵巢癌的 FIGO 分期和淋巴结转移相关; 抑制 LncRNA MYU 表达可使 miR-6827-5p 表达上调进而抑制高迁移率族 AT Hook 蛋白 1 (High Mobility Group AT Hook Protein 1, HMGA1) 表达, 从而抑制卵巢癌细胞增殖<sup>[12]</sup>。敲减 LncRNA MYU 还可降低非小细胞肺癌和子宫内膜癌细胞的增殖和转移能力, 并可诱导细胞凋亡<sup>[13,14]</sup>。另外, LncRNA MYU 在前列腺癌中也表达上调, 可通过结合 miR-184 上调 c-Myc 表达继而促进前列腺癌细胞的发生和发展<sup>[6]</sup>, 而且最新研究表明, 通过检测尿液 LncRNA MYU 水平, 有助于无创检测前列腺癌<sup>[15]</sup>。本研究结果显示: LncRNA MYU 在 3 种胶质瘤细胞系 U-251MG、SHG139、A172 中的表达水平均显著高于正常胶质细胞 HEB; 选择 LncRNA MYU 表达量最高的 SHG139 细胞进行功能分析发现, 敲减 LncRNA MYU 可抑制 SHG139 细胞的细胞周期从 G1 期向 S 期转换, 可抑制细胞的增殖活力、迁移和侵袭并促进细胞凋亡, 均与上述研究结果一致。然而, 有研究却发现, 在胃癌组织中 LncRNA MYU 的表达水平下调, LncRNA MYU 低表达与较差的整体生存情况相关<sup>[16]</sup>, 分析其与本研究结论不一致的原因可能与肿瘤的发生部位不同有关, 因此仍有必要进行进一步深入探索。

表 5 沉默 LncRNA MYU 抑制胶质瘤细胞 AKT 信号通路  
Table 5 Silencing LncRNA MYU inhibits the AKT signaling pathway in glioma cells

Groups	PI3K	p-PI3K	AKT	p-AKT
NC	0.62± 0.06	0.53± 0.06	0.47± 0.03	0.43± 0.03
si-con	0.59± 0.05	0.54± 0.07	0.45± 0.05	0.44± 0.04
si-LncRNA MYU	0.58± 0.07	0.24± 0.04 <sup>ab</sup>	0.45± 0.05	0.21± 0.03 <sup>ab</sup>
F	0.878	76.822	0.988	117.166
P	0.429	<0.001	0.387	<0.001

Note: a, compared with the NC group, P<0.05; b, compared with the si-con group, P<0.05.

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的密度和组成改变是肿瘤的特点, 其僵硬和退化有助于肿瘤的增殖、迁移、侵袭以及血管生成<sup>[17]</sup>。MMPs 作为一种锌依赖性蛋白水解酶, 可通过消化基底膜和细胞外基质成分进而肿瘤的侵袭、转移中发挥关键作用<sup>[18]</sup>。有研究显示, 复发性胶质瘤患者的 MMP-2 和 MMP-9 表达水平显著高于原发性胶质瘤, MMP-2 和 MMP-9 表达增高可提示胶质瘤复发或预后较差, 而下调 MMP-2 和 MMP-9 则可降低胶质瘤细胞的迁移和侵袭能力<sup>[19,20]</sup>。本研究显示, 敲减 LncRNA MYU 后 SHG139 细胞的 MMP-2 和 MMP-9 表达水平显著降低, 说明敲减 LncRNA MYU 可能通过下调 MMP-2 和 MMP-9 蛋白水平进而抑制了胶质瘤细胞的迁移和侵袭。另外, 由于胶质瘤细胞常具有抗凋亡的特性, 因此当前抗癌治疗的目标除了抑制细胞增殖以外, 还主要包括诱导细胞凋亡<sup>[21]</sup>。促进胶质瘤细胞凋亡对于患者的病情具有积极意义, 例如在应用吉非替尼等化疗药物治疗时, 细胞凋亡的增加与增殖的减少均意味着积极的治疗效果<sup>[22]</sup>。作为重要的凋亡途径蛋白, caspase-9 和 caspase-3 分别是细胞凋亡发生的始动者和执行者, 其活化可促进细胞凋亡的发生<sup>[23]</sup>。对于胶质瘤, caspase-9 和 caspase-3 表达上调可促进胶质瘤细胞凋亡<sup>[24]</sup>, 不仅对早期凋亡具有作用, 而且也可促进晚期凋亡, 因此也间接发挥了调节胶质瘤细胞增殖的作用<sup>[25]</sup>。而且有研究显示, caspase-9 活化还可减低胶质瘤细胞对替莫唑胺的耐药性, 介导化疗时胶质瘤细胞的线粒体依赖性凋亡<sup>[26]</sup>。本研究显示, 敲减 LncRNA MYU 后 SHG139 细胞的 Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-9 表达水平显著增加, 说明敲减 LncRNA MYU 可通过促进 Cleaved caspase-3 和 Cleaved caspase-9 表达进而诱导细胞凋亡。以上结论均与功能实验的结果吻合, 充分说明 LncRNA MYU 在胶质瘤中具有癌基因的作用, 敲减 LncRNA MYU 可抑制胶质瘤的发生、发展及恶性生物学表型。

PI3K/AKT 是一条重要的细胞内信号传导通路, 与细胞增殖、转移和凋亡等多种生命进程有关。PI3K/AKT 信号通路异常与肺癌、胃癌、乳腺癌、胰腺癌等多种肿瘤的发生、发展有关<sup>[27]</sup>。研究显示, PI3K/AKT 信号通路的异常激活不仅可促进胶质瘤细胞的生长、侵袭以及耐药表型的形成, 还可抑制胶质瘤细胞

的衰老和凋亡,抑制 PI3K/AKT 信号通路则可抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力<sup>[28,29]</sup>。本研究显示,敲减 LncRNA MYU 后 SHG139 细胞的 p-PI3K 和 p-AKT 的表达水平显著降低,说明 PI3K/AKT 信号通路受到抑制。以上均提示,敲减 LncRNA MYU 的表达可能通过抑制 PI3K/AKT 信号通路进而发挥抗胶质瘤的作用。因为有研究发现,抑制 PI3K/AKT 信号通路除了可抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭以及细胞凋亡,还可降低胶质瘤细胞中的细胞外酸化率 (extracellular acidification rate, ECAR)、葡萄糖消耗、乳酸生成和 ATP 水平,继而抑制胶质瘤细胞的进展和糖酵解,且上述机制与哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路有关<sup>[30]</sup>,而且 PI3K/AKT/mTOR 信号通路活化可抑制 caspase-9 和 caspase-3 表达<sup>[24]</sup>。因此,下一步可围绕 LncRNA MYU 对胶质瘤细胞糖酵解的作用以及其调控 PI3K/AKT 的上下游分子机制展开深入研究。

综上所述,胶质瘤中 LncRNA MYU 呈高表达,敲减 LncRNA MYU 可诱导胶质瘤细胞 G0-G1 期阻滞,可抑制细胞增殖、迁移和侵袭并促进细胞凋亡。因此,LncRNA MYU 是一种潜在的胶质瘤诊疗生物标志物和治疗靶点,对其进行深入研究可能为胶质瘤的临床治疗提供新思路。

#### 参 考 文 献(References)

- [1] Morgan LL. The epidemiology of glioma in adults: a "state of the science" review[J]. Neuro Oncol, 2015, 17(4): 623-624.
- [2] Binder DC, Davis AA, Wainwright DA. Immunotherapy for cancer in the central nervous system: Current and future directions [J]. Oncoimmunology, 2015, 5(2): e1082027.
- [3] 刘楚伟. 胶质瘤患者转移相关蛋白的表达情况和生存分析研究[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2015, 42(6): 523-526.
- [4] Zhao W, Geng D, Li S, et al. LncRNA HOTAIR influences cell growth, migration, invasion, and apoptosis via the miR-20a-5p/HMGA2 axis in breast cancer [J]. Cancer Med, 2018, 7 (3): 842-855.
- [5] 脱磊, 姜宁宁, 沙莎. 长链非编码 RNA 及其与肺癌研究进展 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2018, 24(2): 146-148.
- [6] Wang J, Yang X, Li R, et al. Long non-coding RNA MYU promotes prostate cancer proliferation by mediating the miR-184/c-Myc axis[J]. Oncol Rep, 2018, 40(5): 2814-2825.
- [7] Kawasaki Y, Komiya M, Matsumura K, et al. MYU, a Target LncRNA for Wnt/c-Myc Signaling, Mediates Induction of CDK6 to Promote Cell Cycle Progression[J]. Cell Rep, 2016, 16(10): 2554-2564.
- [8] Yang L, Xu L, Wang Q, et al. Dysregulation of long non-coding RNA profiles in human colorectal cancer and its association with overall survival[J]. Oncol Lett, 2016, 12(5): 4068-4074.
- [9] Hu YW, Kang CM, Zhao JJ, et al. LncRNA PLAC2 down-regulates RPL36 expression and blocks cell cycle progression in glioma through a mechanism involving STAT1[J]. J Cell Mol Med, 2018, 22 (1): 497-510.
- [10] Ma L, Yan W, Sun X, et al. Long noncoding RNA VPS9D1-AS1 promotes esophageal squamous cell carcinoma progression via the Wnt/β-catenin signaling pathway [J]. J Cancer, 2021, 12 (22): 6894-6904.
- [11] Gu S, Qian L, Liu Y, et al. Upregulation of long non-coding RNA MYU promotes proliferation, migration and invasion of esophageal squamous cell carcinoma cells[J]. Exp Ther Med, 2021, 21(6): 644.
- [12] Wang S, Zheng Q, Wang J, et al. Long non-coding RNA MYU promotes ovarian cancer cell proliferation by sponging miR-6827-5p and upregulating HMGA1[J]. Pathol Oncol Res, 2023, 29: 1610870.
- [13] Wang X, Chen Q, Wang X, et al. ZEB1 activated-VPS9D1-AS1 promotes the tumorigenesis and progression of prostate cancer by sponging miR-4739 to upregulate MEF2D[J]. Biomed Pharmacother, 2020, 122(2): 109557-109567.
- [14] Peng TF, Zhou YJ, Zhou J, et al. Long non-coding RNA VPS9D1-AS1 enhances proliferation, invasion, and epithelial-mesenchymal transition in endometrial cancer via miR-377-3p/SGK1 [J]. Kaohsiung J Med Sci, 2022, 38 (11): 1048-1059.
- [15] Liu D, Yin H, Wang Y, et al. Development of a highly sensitive digital PCR assay to quantify long non-coding RNA MYU in urine samples which exhibited great potential as an alternative diagnostic biomarker for prostate cancer [J]. Transl Androl Urol, 2021, 10(10): 3815-3825.
- [16] Chen M, Wu X, Ma W, et al. Decreased expression of LncRNA VPS9D1-AS1 in gastric cancer and its clinical significance[J]. Cancer Biomark, 2017, 21(1): 23-28.
- [17] Najafi M, Farhood B, Mortezaee K. Extracellular matrix (ECM) stiffness and degradation as cancer drivers [J]. J Cell Biochem, 2019, 120(3): 2782-2790.
- [18] 年士艳, 冯磊. miR-548c-3p 通过调控 TRIM59 表达对肝癌细胞增殖、侵袭和迁移的影响 [J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11(4): 283-289.
- [19] Chen G, Yue Y, Qin J, et al. Plumbagin suppresses the migration and invasion of glioma cells via downregulation of MMP-2/9 expression and inaction of PI3K/Akt signaling pathway in vitro [J]. J Pharmacol Sci, 2017, 134(1): 59-67.
- [20] Zhou W, Yu X, Sun S, et al. Increased expression of MMP-2 and MMP-9 indicates poor prognosis in glioma recurrence [J]. Biomed Pharmacother, 2019, 118(2): 109369.
- [21] Zheng X, Wang Y, Wang D, et al. PSMC2 is overexpressed in glioma and promotes proliferation and anti-apoptosis of glioma cells [J]. World J Surg Oncol, 2022, 20(1): 84.
- [22] Chang CY, Pan PH, Wu CC, et al. Endoplasmic Reticulum Stress Contributes to Gefitinib-Induced Apoptosis in Glioma [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(8): 3934.
- [23] 成永忠, 姜慧琳, 金红艳. PKM2 对鼻咽癌细胞增殖凋亡糖酵解及 ROS 水平影响[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(9): 60-64.
- [24] Wang M, Zhang W, Liu Y, et al. PDIA4 promotes glioblastoma progression via the PI3K/AKT/m-TOR pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2022, 597: 83-90.
- [25] Huang YK, Chang KC, Li CY, et al. AKR1B1 Represses Glioma Cell Proliferation through p38 MAPK-Mediated Bcl-2/BAX/Caspase-3 Apoptotic Signaling Pathways [J]. Curr Issues Mol Biol, 2023, 45(4): 3391-3405.
- [26] Wu GJ, Yang ST, Chen RM. Major Contribution of Caspase-9 to Honokiol-Induced Apoptotic Insults to Human Drug-Resistant Glioblastoma Cells[J]. Molecules, 2020, 25(6): 1450. (下转第 479 页)

- 后运动能力、康复效果的影响 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(12): 2301-2304.
- [5] 梁芳芳, 黄沂, 苏宇虹. 穴位按摩联合穴位贴敷治疗冠心病(气虚血瘀证)PCI 术后患者临床研究 [J]. 中国中医急症, 2022, 31(12): 2119-2123.
- [6] 潘振亚, 邓昊. 冠心病患者 PCI 术后中医药治疗研究进展 [J]. 中国中医急症, 2017, 26(7): 1232-1234.
- [7] 中国医师协会急诊医师分会, 国家卫健委能力建设与继续教育中心急诊学专家委员会, 中国医疗保健国际交流促进会急诊急救分会. 急性冠脉综合征急诊快速诊治指南(2019)[J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(4): 421-428.
- [8] 中华医学会心血管病学分会介入心脏病学组, 中国医师协会心血管内科医师分会血栓防治专业委员会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国经皮冠状动脉介入治疗指南(2016)[J]. 中华心血管病杂志, 2016, 44(5): 382-400.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 68-73.
- [10] 付广芳, 吴敏, 孙靖. 冠心病 PCI 术后健康管理研究进展 [J]. 中国医药导报, 2018, 15(13): 38-41.
- [11] 张丽君, 孙胜振, 李雪梅, 等. 穴位贴敷疗法治疗冠心病研究现状 [J]. 西部中医药, 2014, 27(7): 141-142, 143.
- [12] 张萍. 人参养荣汤对冠心病 PCI 术后气虚血瘀证患者干预的临床研究[D]. 山东: 山东中医药大学, 2019.
- [13] 张辰浩, 刘冠男, 孔晓琳, 等. 801 例冠心病患者 PCI 术后中医证候及相关因素的回顾性研究[J]. 中医杂志, 2018, 59(20): 1766-1770.
- [14] 王义强, 王特, 张天时, 等. 基于数据挖掘探析中医药治疗冠心病 PCI 术后心绞痛的证治规律 [J]. 中国老年学杂志, 2023, 43(4): 776-780.
- [15] 王晓杰, 杨科. 人参养荣汤合桃红四物汤治疗冠心病心绞痛(瘀阻脉络型) 的疗效及对血清 Asprosin、NT-proBNP 和 Hcy 的影响[J]. 四川中医, 2021, 39(11): 72-74.
- [16] 李非洲, 左刚, 李泽飞, 等. 基于网络药理学的人参养荣汤治疗慢性疲劳综合征机制探索[J]. 时珍国医国药, 2021, 32(12): 2882-2885.
- [17] 蒲香蓉, 冯宇, 王茂云, 等. 人参养荣汤在恶性肿瘤治疗中的运用及研究[J]. 吉林中医药, 2017, 37(5): 505-508.
- [18] 赵倩琳, 赖颖蓉, 姜丽红. 基于网络药理学和分子对接探讨人参-红景天治疗心肌缺血 / 再灌注损伤的作用机制 [J]. 中国药理学通报, 2023, 39(5): 970-978.
- [19] 朱平先, 周洪, 李博, 等. 黄芪多糖对冠心病及血管内皮的药理作用与研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2010, 18(8): 1191-1193.
- [20] 张楠, 陶源, 李春燕, 等. 白术的化学成分及药理作用研究进展[J]. 新乡医学院学报, 2023, 40(6): 579-586.
- [21] 俞静静, 苏洁, 吕圭源. 陈皮抗心脑血管疾病相关药理研究进展[J]. 中草药, 2016, 47(17): 3127-3132.
- [22] 赵婧含, 李雪, 吴文轩, 等. 熟地黄的化学成分及药理作用研究进展[J]. 中医药学报, 2023, 51(6): 110-114.
- [23] 吕馨, 蒋蒙蒙, 朱梦姚, 等. 人参养荣汤改善阿尔兹海默症小鼠学习记忆损伤的作用[J]. 中成药, 2022, 44(12): 3823-3829.
- [24] 聂晓宇, 魏栋, 朱国斌. CD4+T 淋巴细胞亚群与冠心病关系的 Meta 分析[J]. 心肺血管病杂志, 2020, 39(10): 1244-1252.
- [25] Huo Y, Feng Q, Fan J, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor in coronary heart disease: Correlation with the T helper (Th)1/Th2 ratio, Th17/regulatory T (Treg) ratio, and major adverse cardiovascular events[J]. J Clin Lab Anal, 2023, 37(1): e24803.
- [26] 方欢乐, 张慧, 陶炎炎, 等. 基于整合药理学的当归抗动脉粥样硬化的作用机制研究[J]. 实用药物与临床, 2021, 24(2): 122-127.
- [27] 左军, 祁天立, 胡晓阳. 茜苓化学成分及现代药理研究进展 [J]. 中医药学报, 2023, 51(1): 110-114.

(上接第 433 页)

- [27] Khezri MR, Jafari R, Yousefi K, et al. The PI3K/AKT signaling pathway in cancer: Molecular mechanisms and possible therapeutic interventions[J]. Exp Mol Pathol, 2022, 127: 104787.
- [28] Liao YX, Zhang ZP, Zhao J, et al. Effects of Fibronectin 1 on Cell Proliferation, Senescence and Apoptosis of Human Glioma Cells Through the PI3K/AKT Signaling Pathway[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 48(3): 1382-1396.
- [29] Tang SL, Gao YL, Hu WZ. Knockdown of TRIM37 suppresses the proliferation, migration and invasion of glioma cells through the inactivation of PI3K/Akt signaling pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 99(1): 59-64.
- [30] Wang K, Li J, Zhou B. KIAA0101 knockdown inhibits glioma progression and glycolysis by inactivating the PI3K/AKT/mTOR pathway[J]. Metab Brain Dis, 2022, 37(2): 489-499.