

DOI:10.11798/j.issn.1007-1520.202423293

· 头颈肿瘤专栏 ·

长链非编码 RNA 核富集转录体 1 促进喉鳞状细胞癌细胞迁移和侵袭的机制研究

梁冀望¹, 高小卓², 杨晓¹, 孙铭¹, 赵月皎¹

(辽宁省肿瘤医院 中国医科大学肿瘤医院 1. 头颈外科; 2. 病理科, 辽宁 沈阳 110042)

摘要: **目的** 探究长链非编码 RNA(lncRNA)核富集转录体 1(NEAT1) NEAT1 对喉鳞状细胞癌(LSCC)细胞迁移和侵袭的影响,并进一步分析 miR-429/锌指 E-盒结合同源异形盒 1(ZEB1)轴在其中发挥的作用。**方法** 慢病毒转染建立稳定敲减 lncRNA NEAT1 的 LSCC 细胞,通过 RT-qPCR 检测细胞 lncRNA NEAT1 表达以验证转染效率,通过 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力,通过 Western blot 检测细胞上皮-间充质转化(EMT)相关蛋白 N-cadherin、Vimentin、Slug 和 Snail 表达。通过生物信息学分析 miR-429 与 lncRNA NEAT1 和 ZEB1 mRNA 间的潜在结合位点,并通过双荧光素酶报告基因实验验证 miR-429 与 lncRNA NEAT1 以及 miR-429 与 ZEB1 mRNA 结合。将 miR-429 抑制剂转染敲减 lncRNA NEAT1 的 LSCC 细胞,通过 Western blot 检测细胞 ZEB1 表达。进一步检查敲减 ZEB1 对抑制 miR-429 的敲减 lncRNA NEAT1 的 LSCC 细胞迁移、侵袭和 EMT 的影响。**结果** 敲减 lncRNA NEAT1 降低 LSCC 细胞 lncRNA NEAT1 表达,抑制细胞迁移和侵袭并下调细胞 N-cadherin、Vimentin、Slug 和 Snail 表达。miR-429 与 lncRNA NEAT1 和 ZEB1 mRNA 间存在潜在结合位点,且 miR-429 与 lncRNA NEAT1 以及 miR-429 与 ZEB1 mRNA 结合。抑制 miR-429 逆转了敲减 lncRNA NEAT1 对 LSCC 细胞 ZEB1 表达的抑制作用。此外,敲减 ZEB1 逆转了抑制 miR-429 对敲减 lncRNA NEAT1 的 LSCC 细胞迁移和侵袭的促进作用及 EMT 相关蛋白 N-cadherin、Vimentin、Slug 和 Snail 表达的上调作用。**结论** lncRNA NEAT1 促进 LSCC 细胞迁移和侵袭,其机制可能与海绵化 miR-429 上调 ZEB1 表达促进 LSCC 细胞 EMT 有关。

关键词: 喉鳞状细胞癌; lncRNA NEAT1; miR-429/ZEB1 轴; 细胞迁移和侵袭; 上皮-间充质转化
中图分类号: R739.65

Mechanism research of long non-coding RNA nuclear enriched transcriptome 1 on the migration and invasion of laryngeal squamous cell carcinoma cells

LIANG Jiwang¹, GAO Xiaozhuo², YANG Xiao¹, SUN Ming¹, ZHAO Yuejiao¹

(1. Department of Head and Neck Surgery; 2. Department of Pathology, Liaoning Cancer Hospital, Cancer Hospital of China Medical University, Shenyang 110042, China)

Abstract: **Objective** To explore the effect of long non-coding RNA nuclear enriched transcriptome 1 (lncRNA NEAT1) on the migration and invasion of laryngeal squamous cell carcinoma (LSCC) cells, and further explore the role of miR-429/zinc finger E-box binding homeobox 1 (ZEB1) axis in this process. **Methods** Lentivirus transfection established LSCC cells with stable knockdown lncRNA NEAT1, and lncRNA NEAT1 expression was detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (RT-qPCR) to verify transfection efficiency. Cell migration and invasion ability were detected by transwell assay. The expressions of epithelial-mesenchymal transition (EMT) related proteins N-cadherin, Vimentin, Slug and Snail were detected by Western blot. The potential binding sites between miR-429 and lncRNA NEAT1 and ZEB1 mRNA were analyzed by bioinformatics, and the binding of miR-429 to lncRNA NEAT1 and miR-429 to ZEB1 mRNA were verified by dual luciferase reporter gene assay. LSCC cells with knockdown lncRNA NEAT1 were transfected with miR-429 inhibitors, and ZEB1 expression was detected by Western blot. The effect of knockdown ZEB1 on LSCC cell migration, invasion and EMT of miR-429 knockdown lncRNA NEAT1 was further examined. **Results** Knocking down lncRNA NEAT1 reduced lncRNA NEAT1 expression in LSCC cells, inhibited cell migration and invasion, and down-

基金项目:辽宁省自然科学基金(2023-MS-059)。

第一作者简介:梁冀望,男,博士,副主任医师。Email:liangjiwang1985@163.com

regulated the expression of N-cadherin, Vimentin, Slug, and Snail. There were potential binding sites between miR-429 and lncRNA NEAT1 and ZEB1 mRNA, and miR-429 bound to lncRNA NEAT1 and miR-429 to ZEB1 mRNA. Inhibition of miR-429 reversed the inhibitory effect of knocking down lncRNA NEAT1 on ZEB1 expression in LSCC cells. In addition, knockdown of ZEB1 reversed the inhibitory effect of miR-429 on the migration and invasion of LSCC cells with knockdown lncRNA NEAT1, as well as the upregulation of EMT related proteins N-cadherin, Vimentin, Slug, and Snail expression. **Conclusion** LncRNA NEAT1 promotes migration and invasion of LSCC cells, and the mechanism may be related to the upregulation of ZEB1 expression by sponging miR-429 and promoting EMT in LSCC cells.

Keywords: Laryngeal squamous cell carcinoma; LncRNA NEAT1; MiR-429/ZEB1 axis; Cell migration and invasion; Epithelial-mesenchymal transformation

喉鳞状细胞癌(laryngeal squamous cell carcinoma, LSCC)是最常见的头颈部鳞状细胞癌(head and neck squamous cell carcinoma, HNSC)^[1]。目前其主要治疗方法包括手术切除、化学治疗(简称化疗)、放射治疗(简称放疗)和免疫疗法^[2]。然而,LSCC早期的症状并不明显,大多数患者于晚期发现,其引起的呼吸和吞咽困难严重影响晚期患者的生活质量^[3]。因此,了解LSCC进展的机制并筛选潜在生物标志物对LSCC的诊断和治疗的发展是必要的。长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是由超过200个核苷酸组成且不编码蛋白的非编码RNA^[4]。LncRNA核富集转录体1(nuclear enriched abundant transcript 1, NEAT1)是由RNA聚合酶II从染色体11q13.1上的家族性肿瘤综合征多发性内分泌瘤1型基因座转录的lncRNA,其在癌症中的频繁失调并与肿瘤的转移、复发率和存活相关^[5]。近年来,lncRNA在LSCC进展中发挥的作用已广泛报道^[6]。研究表明,lncRNA NEAT1是LSCC进展的潜在生物标志物^[7]。本研究前期分析了NEAT1在HNSC患者肿瘤组织中表达情况及其表达与患者预后的相关性,UALCAN数据库分析结果显示NEAT1在HNSC患者肿瘤组织中高表达,且其高表达与HNSC患者降低的总生存期相关。然而,其参与调节LSCC进展的详细机制尚不完全清楚,有待进一步探究。本研究旨在探究lncRNA NEAT1对LSCC细胞迁移、侵袭和上皮-间充质转化(epithelial mesenchymal transition, EMT)的影响,并分析其分子机制,为lncRNA NEAT1作为LSCC诊断及治疗的生物标志物提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 主要试剂和仪器

DMEM培养基和胎牛血清购自美国Gibco公司;Lipofectamine 3000转染试剂购自美国Thermo公

司;慢病毒购自上海吉凯基因医学科技股份有限公司;RT-qPCR相关试剂均购自南京诺唯赞生物科技有限公司;Western blot相关试剂均购自上海碧云天生物技术有限公司;Western blot一抗抗体均购自美国Abcam公司;双荧光素酶报告基因实验检测试剂盒购自美国Promega公司;光学显微镜购自日本奥林巴斯公司;酶标仪购自美国BioTek公司;凝胶扫描成像系统购自美国Bio-Rad公司;普通PCR仪和荧光定量PCR仪购买自美国ABI公司;恒温细胞培养箱购自美国Thermo公司;化学发光检测仪购自美国Promega公司。

1.2 细胞培养及转染

AMC-HN-8购自中国上海中科院生物研究所,TU212细胞购自北纳生物公司细胞库。细胞均培养于含10%胎牛血清的DMEM培养基,在37℃含5%二氧化碳的环境中培养细胞,按照慢病毒和Lipofectamine 3000试剂盒说明书根据实验方案进行转染。

1.3 RT-qPCR

将总RNA提取试剂加入收集的细胞中,室温静置后加入五分之一体积的氯仿,剧烈摇晃混匀,室温静置后4℃12000g离心15min,吸取上层清液,加入等量异丙醇,颠倒混匀后加入等量异丙醇,室温静置后4℃12000g离心15min,加入75%乙醇,混匀后4℃12000g离心15min,重复上述步骤1次。弃液体后晾干沉淀,加入DEPC水溶解。检测所提RNA浓度,用逆转录试剂盒将总RNA反转录为cDNA,并以其为模板用SYBR qPCR试剂盒进行qPCR反应。以U6或GAPDH为内参,通过 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算miRNA或mRNA的相对表达量。

1.4 Transwell

将基质胶置于4℃中过夜使其充分液化,将基质胶加入Transwell小室上室,37℃孵育4h。用无血清培养基重悬收集的细胞,将其转移至上述包被基质胶或不包被基质胶的Transwell小室上室,Transwell小室下室中加入含20%胎牛血清的完全培养基,继续

培养 24 h。取出 Transwell 小室,甲醇固定 30 min, 0.1% 结晶紫染色 20 min, PBS 洗去多余染色液,棉签擦掉未迁移细胞,光学显微镜下观察并拍照。

1.5 Western blot

将 RIPA 裂解液加入收集的细胞中,冰上孵育 30 min,超声破碎仪破碎细胞,4 °C 12 000 g 离心 20 min,收集上清即为总蛋白。用 BCA 试剂盒检测蛋白浓度,根据蛋白浓度用水及上样缓冲液将蛋白稀释至 2 μg/μL,沸水煮样 5 min 使蛋白充分变性。将蛋白样品加入凝胶上样孔中,恒压电泳分离蛋白。将凝胶与海绵和滤纸组成“海绵-滤纸-凝胶-PVDF 膜-滤纸-海绵”三明治形式,恒流转膜。5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h, 锌指 E-盒结合同源异形盒 1 (zinc finger E-box binding homeobox 1, ZEB1)、钙黏蛋白 (N-cadherin)、波形蛋白 (Vimentin)、Slug、Snail 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 一抗 4 °C 孵育过夜, PBST 洗膜 3 次,二抗室温孵育 1 h, PBST 洗膜 3 次, ECL 法发光。Image J 软件计算灰度值,并用目的蛋白灰度值与内参灰度值表示目的蛋白的相对表达量。

1.6 双荧光素酶报告基因实验

通过 ENCORI 在线生信分析数据库分析 miR-429 与 lncRNA NEAT1 和 ZEB1 mRNA 间的潜在结合位点。构建包含结合位点序列以及结合位点突变序列的荧光素酶报告基因质粒 NEAT1-WT、ZEB1-WT、NEAT1-MUT 和 ZEB1-MUT。将 AMC-HN-8 细

胞均匀铺板于 6 孔板中,细胞分为 8 组:①NEAT1-WT + mimics NC 组;②NEAT1-WT + miR-429mimics 组;③NEAT1-MUT + mimics NC 组;④NEAT1-MUT + miR-429mimics 组;⑤ZEB1-WT + mimics NC 组;⑥ZEB1-WT + miR-429mimics 组;⑦ZEB1-MUT + mimics NC 组;⑧ZEB1-MUT + miR-429mimics 组,分别进行转染。转染后细胞继续培养 24 h 后,弃培养基,加入裂解液,室温摇晃震荡 15 min,依次检测萤火虫荧光素酶及海肾荧光素酶活性,二者比值即为相对荧光素酶活性。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 进行计算及统计分析,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间差异采用独立样本 *t* 检验比较,多组间差异采用单因素方差分析比较,且各组间两两比较采用 Tukey 事后检验进行, $P < 0.05$ 代表差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA NEAT1 对 LSCC 细胞迁移和侵袭的影响

RT-qPCR 检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-NEAT1 组 AMC-HN-8 和 TU212 细胞 lncRNA NEAT1 水平明显降低 ($t = 22.81, P < 0.05; t = 35.17, P < 0.05$)。Transwell 实验检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-NEAT1 组 AMC-HN-8 和 TU212 细胞迁移和侵袭 ($t = 10.88, P < 0.05; t = 25.25, P < 0.05$) 能力均明显降低。见图 1。

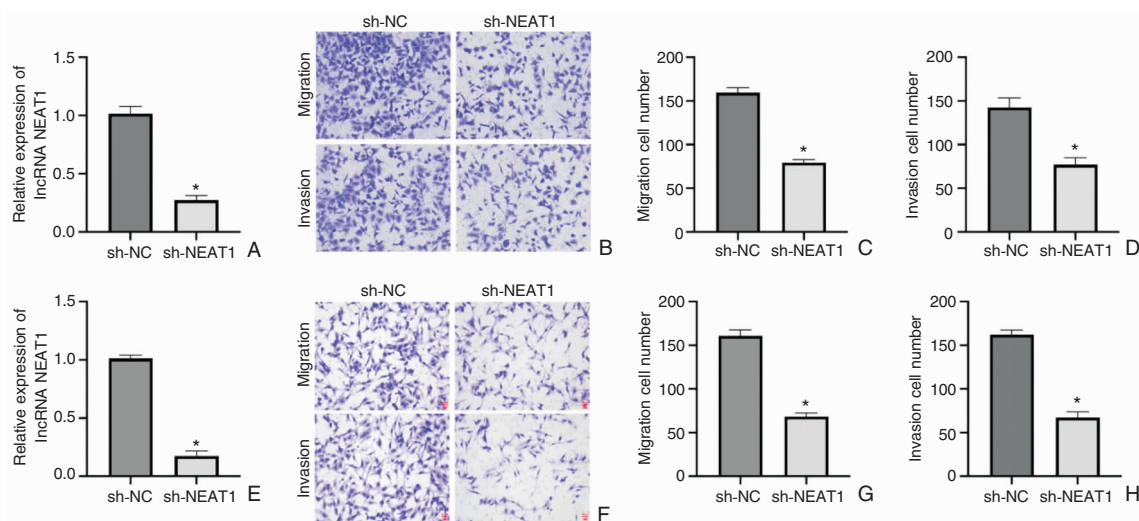


图 1 lncRNA NEAT1 对 LSCC 细胞迁移和侵袭的影响 A: RT-qPCR 检测各组 AMC-HN-8 细胞 lncRNA NEAT1 表达; B~D: Transwell 检测各组 AMC-HN-8 细胞迁移和侵袭能力 (结晶紫 $\times 200$); E: RT-qPCR 检测各组 TU212 细胞 lncRNA NEAT1 表达; F~H: Transwell 检测各组 TU212 细胞迁移和侵袭能力 (结晶紫 $\times 200$) 注: * $P < 0.05$ vs sh-NC group; lncRNA NEAT1 (长链非编码 RNA 核富集转录体 1); LSCC (喉鳞状细胞癌)。下同。

2.2 LncRNA NEAT1 对 LSCC 细胞 EMT 相关蛋白表达的影响

Western blot 检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-NEAT1 组 AMC-HN-8 和 TU212 细胞 N-cadherin ($t = 26.87, P < 0.05; t = 5.83, P < 0.05$)、Vimentin ($t = 24.50, P < 0.05; t = 11.50, P < 0.05$)、Slug ($t = 27.26, P < 0.05; t = 15.34, P < 0.05$) 和 Snail ($t = 16.80, P < 0.05; t = 9.14, P < 0.05$) 蛋白表达水平均明显降低。见图 2。

2.3 miR-429 与 LncRNA NEAT1 和 ZEB1 间靶向关系

生物信息学分析结果显示,miR-429 与 LncRNA NEAT1 和 ZEB1 mRNA 间存在潜在结合位点。双荧光素酶报告基因实验检测结果显示,与 mimics NC 组相比,miR-429mimics 组转染 NEAT1-WT 的 AMC-HN-8 细胞相对荧光素酶活性明显降低 ($t = 29.25, P < 0.05$);与 mimics NC 组相比,miR-429mimics 组转染 NEAT1-MUT 的 AMC-HN-8 细胞相对荧光素酶活性无明显差异 ($t = 0.58, P > 0.05$)。与 mimics

NC 组相比,miR-429mimics 组转染 ZEB1-WT 的 AMC-HN-8 细胞相对荧光素酶活性明显降低 ($t = 11.89, P < 0.05$);与 mimics NC 组相比,miR-429mimics 组转染 ZEB1-MUT 的 AMC-HN-8 细胞相对荧光素酶活性无明显差异 ($t = 2.09, P > 0.05$)。见图 3。

2.4 LncRNA NEAT1 通过 miR-429 影响 LSCC 细胞 ZEB1 表达

Western blot 检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-NEAT1 组和 sh-NEAT1 + inhibitor NC 组 AMC-HN-8 ($t = 43.45, P < 0.05; t = 40.63, P < 0.05$) 和 TU212 细胞 ($t = 13.02, P < 0.05; t = 12.61, P < 0.05$) ZEB1 蛋白表达明显降低;与 sh-NEAT1 组和 sh-NEAT1 + inhibitor NC 组相比,sh-NEAT1 + miR-429 inhibitor 组 AMC-HN-8 ($t = 40.25, P < 0.05; t = 37.44, P < 0.05$) 和 TU212 细胞 ($t = 11.69, P < 0.05; t = 11.28, P < 0.05$) ZEB1 蛋白表达明显升高。见图 4。

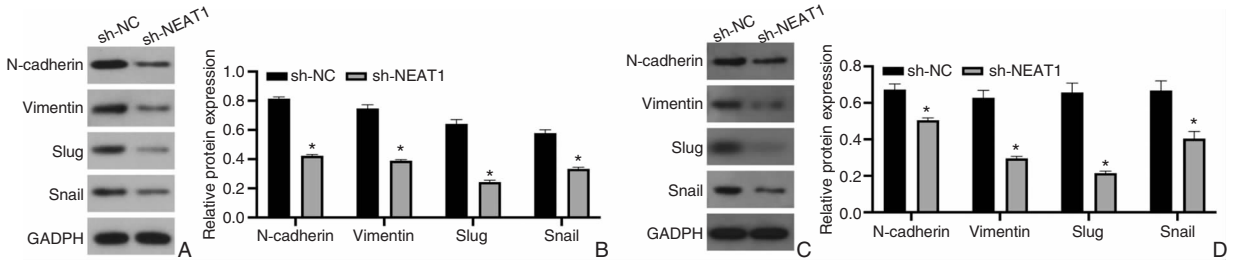


图 2 LncRNA NEAT1 对 LSCC 细胞 EMT 相关蛋白表达的影响 A、B:各组 AMC-HN-8 细胞 EMT 相关蛋白表达; C、D:各组 TU212 细胞 EMT 相关蛋白表达 注: * $P < 0.05$ vs sh-NC group;EMT(上皮-间充质转化)。下同。

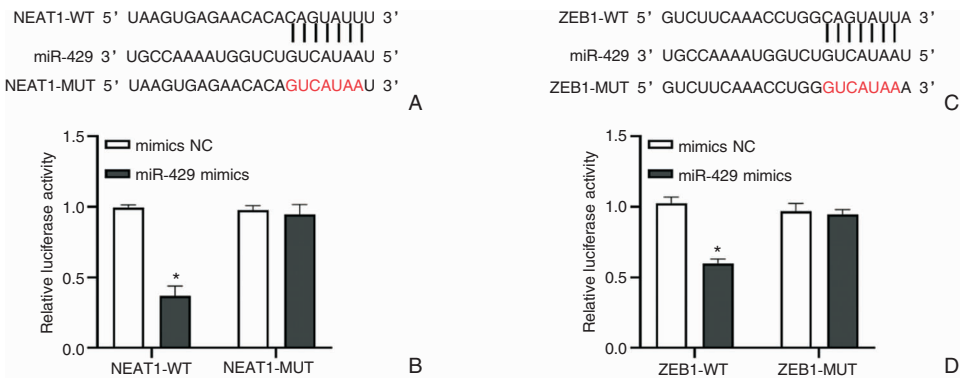


图 3 miR-429 与 LncRNA NEAT1 和 ZEB1 间靶向关系 A:NEAT1 与 miR-429 潜在结合位点; B:双荧光素酶报告基因实验验证 NEAT1 与 miR-429 结合; C:ZEB1 mRNA 与 miR-429 潜在结合位点; D:双荧光素酶报告基因实验验证 ZEB1 mRNA 与 miR-429 结合 注: * $P < 0.05$ vs mimics NC group;ZEB1(锌指 E-盒结合同源异形盒 1)。下同。

2.5 LncRNA NEAT1 通过 miR-429/ZEB1 影响 LSCC 细胞迁移和侵袭

Transwell 检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-NEAT1 组和 sh-NEAT1 + inhibitor NC 组 AMC-HN-8 ($t = 16.76, P < 0.05; t = 16.73, P < 0.05; t = 17.58, P < 0.05; t = 16.55, P < 0.05$) 和 TU212 细胞 ($t = 13.28, P < 0.05; t = 16.94, P < 0.05; t = 15.78, P < 0.05; t = 14.81, P < 0.05$) 迁移和侵袭能力明显降低;与 sh-NEAT1 组和 sh-NEAT1 + inhibitor NC 组相比,sh-NEAT1 + miR-429 inhibitor 组 AMC-HN-8 ($t = 16.78, P < 0.05; t = 15.72, P < 0.05; t = 14.81, P < 0.05; t = 15.66, P < 0.05$) 和 TU212 ($t = 15.44, P < 0.05; t = 14.28, P < 0.05; t = 17.35, P < 0.05; t = 15.61, P < 0.05$) 细胞迁移和侵袭能力明显升高;与

sh-NEAT1 + miR-429 inhibitor 组相比,sh-NEAT1 + miR-429 inhibitor + sh-ZEB1 组 AMC-HN-8 ($t = 17.88, P < 0.05; t = 18.25, P < 0.05$) 和 TU212 ($t = 15.44, P < 0.05; t = 16.27, P < 0.05$) 细胞迁移和侵袭能力明显降低。见图 5。

2.6 LncRNA NEAT1 通过 miR-429/ZEB1 影响 LSCC 细胞 EMT 相关蛋白表达

Western blot 检测结果显示,与 sh-NC 组相比,sh-NEAT1 组和 sh-NEAT1 + inhibitor NC 组 AMC-HN-8 和 TU212 细胞 N-cadherin ($t = 16.25, P < 0.05; t = 17.82, P < 0.05; t = 15.44, P < 0.05; t = 14.81, P < 0.05$)、Vimentin ($t = 17.85, P < 0.05; t = 17.12, P < 0.05; t = 16.28, P < 0.05; t = 15.34, P < 0.05$)、Slug ($t = 15.44, P < 0.05; t = 16.89, P < 0.05;$

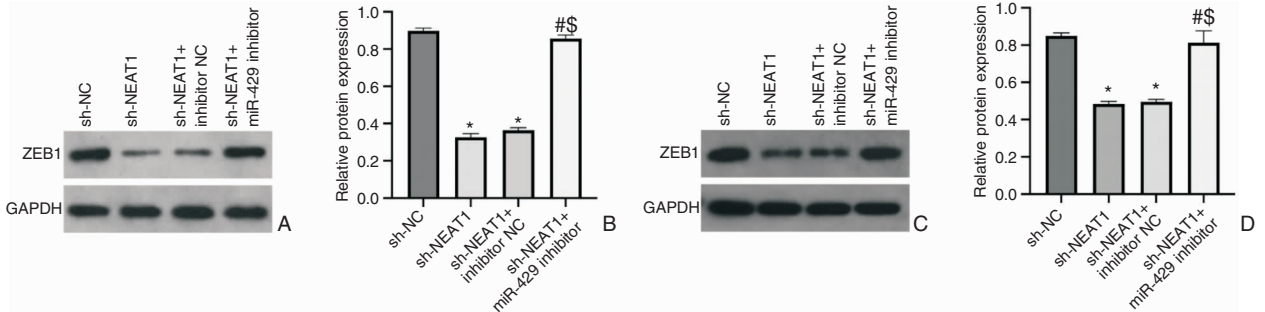


图 4 LncRNA NEAT1 通过 miR-429 影响 LSCC 细胞 ZEB1 表达 A、B:各组 AMC-HN-8 细胞 ZEB1 蛋白表达;C、D:各组 TU212 细胞 ZEB1 蛋白表达 注: * $P < 0.05$ vs sh-NC group; # $P < 0.05$ vs sh-NEAT1 group; \$ $P < 0.05$ vs sh-NEAT1 + inhibitor NC group。下同。

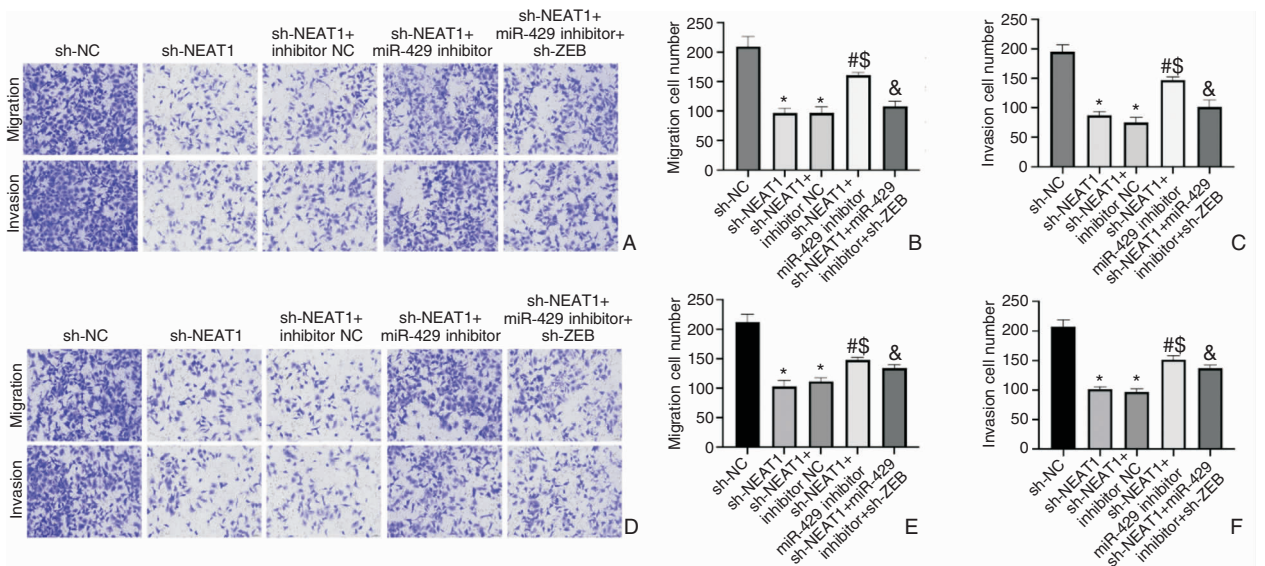


图 5 LncRNA NEAT1 通过 miR-429/ZEB1 影响 LSCC 细胞迁移和侵袭 A ~ C: 各组 AMC-HN-8 细胞迁移和侵袭能力 (结晶紫 $\times 200$); D ~ F: 各组 TU212 细胞迁移和侵袭能力 (结晶紫 $\times 200$) 下同。注: & $P < 0.05$ vs sh-NEAT1 + miR-429 inhibitor group。

$t = 17.25, P < 0.05; t = 12.31, P < 0.05$) 和 Snail ($t = 18.72, P < 0.05; t = 17.25, P < 0.05; t = 16.38, P < 0.05; t = 17.33, P < 0.05$) 蛋白表达水平明显降低; 与 sh-NEAT1 组和 sh-NEAT1 + inhibitor NC 组相比, sh-NEAT1 + miR-429 inhibitor 组 AMC-HN-8 和 TU212 细胞 N-cadherin ($t = 15.35, P < 0.05; t = 16.77, P < 0.05; t = 17.24, P < 0.05; t = 15.33, P < 0.05$)、Vimentin ($t = 18.24, P < 0.05; t = 16.39, P < 0.05; t = 15.81, P < 0.05; t = 15.65, P < 0.05$)、Slug ($t = 16.22, P < 0.05; t = 15.18, P < 0.05; t = 15.74, P < 0.05; t = 16.38, P < 0.05$) 和 Snail ($t = 14.77, P < 0.05; t = 12.25, P < 0.05; t = 12.84, P < 0.05; t = 12.91, P < 0.05$) 蛋白表达水平明显升高; 与 sh-NEAT1 + miR-429 inhibitor 组相比, sh-NEAT1 + miR-429 inhibitor + sh-ZEB1 组 AMC-HN-8 和 TU212 细胞 N-cadherin ($t = 15.33, P < 0.05; t = 16.98, P < 0.05$)、Vimentin ($t = 17.25, P < 0.05; t = 12.34, P < 0.05$)、Slug ($t = 18.57, P < 0.05; t =$

$19.33, P < 0.05$) 和 Snail ($t = 14.72, P < 0.05; t = 15.69, P < 0.05$) 蛋白表达水平明显降低。见图 6。

3 讨论

LncRNA NEAT1 在 LSCC 进展中发挥作用的相关研究较少。研究表明, lncRNA NEAT1 高表达与 LSCC 患者 T 分级、颈部淋巴结转移、临床分期、饮酒史或吸烟史以及较差的总生存率相关, 其敲除还抑制 LSCC 细胞生长^[7]。还有研究发现敲除 lncRNA NEAT1 抑制 LSCC 细胞的增殖, 诱导细胞凋亡和细胞周期 G1 期阻滞^[8]。此外, lncRNA NEAT1 还促进 LSCC 细胞的侵袭^[9]。本研究检测结果显示, 敲减 lncRNA NEAT1 抑制 LSCC 细胞迁移和侵袭能力, 并下调细胞中 EMT 相关蛋白 N-cadherin、Vimentin、Slug 和 Snail 表达, 表明 lncRNA NEAT1 不仅促进 LSCC 细胞迁移和侵袭, 还促进细胞 EMT。

LncRNAs、微小RNAs (microRNAs, miRNAs) 和

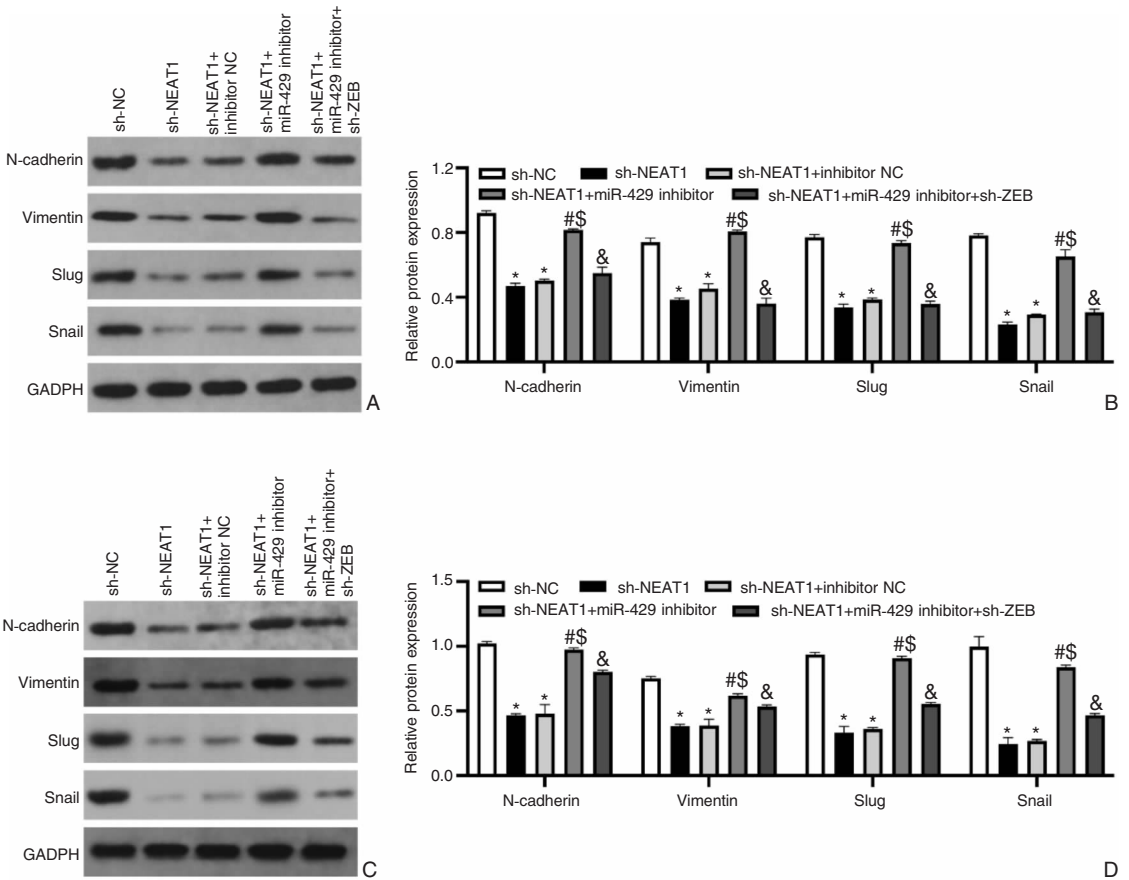


图 6 LncRNA NEAT1 通过 miR-429/ZEB1 影响 LSCC 细胞 EMT 相关蛋白表达 A、B: 各组 AMC-HN-8 细胞 EMT 相关蛋白表达; C、D: 各组 TU212 细胞 EMT 相关蛋白表达

mRNAs 之间构建的竞争性内源性 RNA 网络在多种肿瘤发展中发挥作用^[10]。最近的研究广泛报道了 lncRNA NEAT1 通过竞争性内源性 RNA 在肿瘤中发挥作用。例如, Tripathi 等^[11]发现丙型肝炎病毒诱导的 lncRNA NEAT1 通过海绵化 miR-9-5p 上调转化生长因子 β 诱导 Ig-H3 蛋白表达促进肝细胞肝癌细胞增殖。Du 等^[12]发现 lncRNA NEAT1 通过海绵化 miR-377 上调 E2F 转录因子 3 表达促进食管癌细胞增长、迁移和侵袭。Xie 等^[13]发现 lncRNA NEAT1 通过海绵化 miR-128-3p 上调去整合素和金属蛋白酶 28 表达诱导自噬,从而抑制非小细胞肺癌细胞凋亡。在 LSCC 中,研究表明,lncRNA NEAT1 通过海绵化 miR-107 上调细胞周期蛋白依赖性激酶 6 表达促进 LSCC 发展^[8]。此外,lncRNA NEAT1 还通过海绵化 miR-204-5p 上调其靶基因信号素 4B 表达促进 LSCC 发展^[9]。本研究发现 lncRNA NEAT1 存在 miR-429 的潜在结合位点,且 ZEB1 mRNA 同样存在 miR-429 的潜在结合位点,双荧光素酶报告基因实验验证了 miR-429 与 lncRNA NEAT1 和 ZEB1 mRNA 结合,抑制 miR-429 逆转了敲减 lncRNA NEAT1 对 LSCC 细胞 ZEB1 表达的抑制作用,提示 lncRNA NEAT1 可能通过海绵化 miR-429 上调 ZEB1 表达调节 LSCC 进展。

EMT 是一个可逆的过程,其中上皮细胞失去其特性并成为间质细胞,赋予肿瘤细胞转移特性,增强侵袭,侵入周围组织,并定居远处器官^[14]。ZEB1 是调节 EMT 的主要调节因子之一,其在癌症细胞亚群中表达并影响其侵袭和与肿瘤微环境的相互作用^[15]。本研究发现敲减 ZEB1 逆转了抑制 miR-429 对敲减 lncRNA NEAT1 的 LSCC 细胞迁移和侵袭的促进作用及 EMT 相关蛋白 N-cadherin、Vimentin、Slug 和 Snail 表达的上调作用。

综上所述,本研究发现 lncRNA NEAT1 促进 LSCC 细胞迁移和侵袭,其机制可能与海绵化 miR-429 上调 ZEB1 表达促进 LSCC 细胞 EMT 有关。

参考文献:

- [1] 刘彬,彭正加,梁分凤,等. ECRG4 基因甲基化在喉鳞状细胞癌中的表达及其临床意义[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2022, 28(6): 100 - 105.
- [2] Obid R, Redlich M, Tomeh C. The treatment of laryngeal cancer[J]. Oral Maxillofac Surg Clin North Am, 2019, 31(1): 1 - 11.
- [3] Sharma Y, Mishra G, Parikh V. Quality of life in head and neck cancer patients[J]. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg, 2019,

71(Suppl 1): 927 - 932.

- [4] Pierce JB, Zhou H, Simion V, et al. Long noncoding RNAs as therapeutic targets[J]. Adv Exp Med Biol, 2022, 1363: 161 - 175.
- [5] Azizidoost S, Ghaedrahmati F, Anbiyae O, et al. Emerging roles for lncRNA-NEAT1 in colorectal cancer[J]. Cancer Cell Int, 2022, 22(1): 209.
- [6] 邓陈虎,马俭,张丙文,等. LncRNA 在喉癌发病机制中的作用及其研究进展[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2019, 25(1): 99 - 103.
- [7] Wang P, Li QY, Sun YN, et al. Long noncoding RNA NEAT1: a potential biomarker in the progression of laryngeal squamous cell carcinoma[J]. ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec, 2021, 83(6): 464 - 470.
- [8] Wang P, Wu T, Zhou H, et al. Long noncoding RNA NEAT1 promotes laryngeal squamous cell cancer through regulating miR-107/CDK6 pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2016, 35: 22.
- [9] Han L, Zheng C, Wu S. Long non-coding RNA NEAT1 promotes the malignancy of laryngeal squamous cell carcinoma by regulating the microRNA-204-5p/SEMA4B axis[J]. Oncol Lett, 2021, 22(5): 802.
- [10] Gao L, Zhao Y, Ma X, et al. Integrated analysis of lncRNA-miRNA-mRNA ceRNA network and the potential prognosis indicators in sarcomas[J]. BMC Med Genomics, 2021, 14(1): 67.
- [11] Tripathi SK, Pal A, Ghosh S, et al. LncRNA NEAT1 regulates HCV-induced hepatocellular carcinoma by modulating the miR-9-BGH3 axis[J]. J Gen Virol, 2022, 103(12): 1 - 16.
- [12] Du W, Xu P, Yin H. LncRNA NEAT1 regulates the growth, migration, and invasion of the human esophageal cancer cells via the miR-377/E2F3 axis[J]. Acta Biochim Pol, 2022, 69(4): 731 - 736.
- [13] Xie Y, Zheng ZW, He HT, et al. LncRNA NEAT1 induces autophagy through the miR-128-3p/ADAM28 axis to suppress apoptosis of nonsmall-cell lung cancer[J]. Kaohsiung J Med Sci, 2022, 38(10): 933 - 949.
- [14] Mittal V. Epithelial mesenchymal transition in tumor metastasis[J]. Annu Rev Pathol, 2018, 13: 395 - 412.
- [15] Perez-Oquendo M, Gibbons DL. Regulation of ZEB1 function and molecular associations in tumor progression and metastasis[J]. Cancers (Basel), 2022, 14(8): 1864.

(收稿日期:2023-09-10)

本文引用格式:梁冀望,高小卓,杨骁,等. 长链非编码 RNA 核富集转录体 1 促进喉鳞状细胞癌细胞迁移和侵袭的机制研究[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 2024, 30(3): 9 - 15. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202423293

Cite this article as: LIANG Jiawang, GAO Xiaozhuo, YANG Xiao, et al. Mechanism research of long non-coding RNA nuclear enriched transcriptome 1 on the migration and invasion of laryngeal squamous cell carcinoma cells[J]. Chin J Otorhinolaryngol Skull Base Surg, 2024, 30(3): 9 - 15. DOI: 10.11798/j.issn.1007-1520.202423293