

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.02.002

· 基础研究 ·

## lncRNA SNHG10 靶向调控 miR-532-3p 促进结直肠癌 SW620 细胞的侵袭和迁移

李素珍<sup>a</sup>, 赵伟锋<sup>b</sup>, 崔发财<sup>a</sup>, 郑培明<sup>a</sup> (河南省人民医院 a. 检验科; b. 肿瘤内科, 河南 郑州 450003)

**[摘要]** **目的:** 探讨 lncRNA SNHG10 在结直肠癌组织和细胞中的表达情况及其对结直肠癌细胞侵袭和迁移的影响与可能的机制。**方法:** 收集 2018 年 1 月至 2019 年 12 月在河南省人民医院行根治性结直肠癌切除术的 78 例患者的癌组织及对应癌旁组织标本, 采用 qPCR 法检测结直肠癌组织、结直肠癌细胞 (SW480、SW620、HT-29 和 LoVo) 及人正常结直肠黏膜细胞 FHC 中 lncRNA SNHG10 和 miR-532-3p 的表达水平, 并分析其与结直肠癌患者临床病理特征的关系及在组织中表达的相关性。采用双荧光素酶报告基因实验验证 lncRNA SNHG10 和 miR-532-3p 间的靶向关系。向 SW620 细胞中转染 si-SNHG10 或 miR-532-3p mimic 或共转染 si-SNHG10+miR-532-3p inhibitor, 采用 Transwell 实验检测其侵袭和迁移能力的改变, 采用 WB 法检测 E-cadherin, N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平变化。**结果:** SNHG10 在结直肠癌组织和细胞中呈高表达 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), 其表达水平与 TNM 分期和远处转移有关 (均  $P<0.05$ ); miR-532-3p 在结直肠癌组织和细胞中呈低表达, 其表达水平与 TNM 分期、淋巴结转移和远处转移有关 ( $P<0.05$  或  $P<0.01$ ), SNHG10 和 miR-532-3p 在结直肠癌组织中的表达呈负相关 ( $r=-0.225$ ,  $P=0.048$ )。双荧光素酶报告基因实验证实 SNHG10 靶向调节 miR-532-3p 的表达。下调 SNHG10 或上调 miR-532-3p 的表达后, SW620 细胞的侵袭和迁移能力显著降低 ( $P<0.01$ ), E-cadherin 蛋白表达水平升高 ( $P<0.05$ ), N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平降低 (均  $P<0.05$ )。抑制 miR-532-3p 表达后, 敲低 lncRNA SNHG10 表达对结直肠癌细胞侵袭和迁移的抑制作用被逆转 (均  $P<0.05$ )。**结论:** lncRNA SNHG10 在结直肠癌中高表达并与 TNM 分期和远处转移相关, lncRNA SNHG10 靶向调控 miR-532-3p 表达并通过 EMT 途径影响结直肠癌细胞的侵袭和转移。

**[关键词]** 结直肠癌; SW620 细胞; lncRNA SNHG10; miR-532-3p; 侵袭; 迁移

**[中图分类号]** R735.3; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2022)02-0093-08

## lncRNA SNHG10 promotes the invasion and migration of colorectal cancer SW620 cells by targeting miR-532-3p

LI Suzhen<sup>a</sup>, ZHAO Weifeng<sup>b</sup>, CUI Facai<sup>a</sup>, ZHENG Peiming<sup>a</sup> (a. Clinical Laboratory; b. Department of Oncology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of long non-coding RNA (lncRNA) small nucleolar RNA host gene 10 (SNHG10) in colorectal cancer and its effect on the invasion and migration of colorectal cancer cells and the underlying mechanism. **Methods:** From January 2018 to December 2019, 78 pairs of colorectal cancer tissue and para-cancerous tissues from the patients who had radical colorectal cancer resection in Henan Provincial People's Hospital were collected. Quantitative real-time PCR (qPCR) was performed to quantify the levels of lncRNA SNHG10 and miR-532-3p in colorectal cancer tissues, colorectal cancer cell lines (SW480, SW620, HT-29 and LoVo) and human normal colorectal mucosal FHC cells; and their correlations with the clinicopathological features of colorectal cancer patients were further analyzed. Dual-luciferase reporter gene assay was used to validate the targeted relationship between lncRNA SNHG10 and miR-532-3p. After transfection with si-SNHG10 or miR-532-3p mimic or co-transfection of si-SNHG10 and miR-532-3p inhibitor, the invasion and migration of SW620 cells were detected by Transwell assay, and the protein expression of E-cadherin, N-cadherin and vimentin were detected by WB. **Results:** SNHG10 was highly expressed in colorectal cancer tissues and cells (all  $P<0.05$ ), and its expression was related to TNM stage and distant metastasis (all  $P<0.05$ ). miR-532-3p was lowly expressed in colorectal cancer tissues and cells, and its expression was correlated with TNM stage, lymphonode metastasis and distant metastasis (all  $P<0.05$ ). The expression of SNHG10 and miR-532-3p in colorectal cancer tissues was negatively correlated ( $r=-0.225$ ,  $P=0.048$ ). Dual-luciferase reporter gene assay confirmed that SNHG10 targetedly regulated miR-532-3p. Both down-regulation of SNHG10 and up-

**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金 (No. 81802094)

**[作者简介]** 李素珍 (1963—), 女, 学士, 副主任技师, 主要从事疾病的临床生物化学诊断研究, E-mail: lisuzhenzhen1963@163.com

**[通信作者]** 郑培明, E-mail: zpm8266@163.com

regulation of miR-532-3p significantly inhibited the invasion and migration of SW620 cells (all  $P < 0.05$ ), up-regulated the expression of E-cadherin ( $P < 0.05$ ), while down-regulated the expression of N-cadherin and vimentin (all  $P < 0.05$ ). After transfection with miR-532-3p inhibitor, the inhibitory effect of knocking down the expression of lncRNA SNHG10 on the invasion and migration of colorectal cancer cells was reversed (all  $P < 0.05$ ). **Conclusions:** lncRNA SNHG10 is highly expressed in colorectal cancer and is associated with TNM stage and distant metastasis. lncRNA SNHG10 affects the invasion and metastasis of colorectal cancer cells by targeting miR-532-3p and regulating EMT-related proteins.

**[Key words]** colorectal cancer; SW620 cell; lncRNA SNHG10; miR-532-3p; invasion; migration

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(2): 93-100. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.02.002]

结直肠癌的发病率和病死率在全球恶性肿瘤中分别居于第五位和第三位<sup>[1-2]</sup>。尽管结直肠癌诊断技术和治疗策略有了显著的进步,但患者预后仍然不佳,超过一半的晚期患者因为转移和复发最终导致死亡<sup>[3]</sup>,因此深入研究结直肠癌细胞侵袭、转移的分子机制和筛选有效的生物标志物对于疾病的诊断和治疗至关重要。lncRNA 的异常表达影响细胞代谢、药物抵抗、增殖或转移等特定的生物学或病理学过程,参与肿瘤的发生和进展<sup>[4-6]</sup>,这为肿瘤的早期诊断和靶向治疗提供了新的研究方向。lncRNA 小核仁 RNA 宿主基因 10 (small nucleolar RNA host gene 10, SNHG10) 是新发现的一种非编码 RNA,在胃癌<sup>[7]</sup>、肝癌<sup>[8]</sup>、胶质瘤<sup>[9]</sup>、急性髓系白血病<sup>[10]</sup>等肿瘤中表达上调并发挥癌基因功能,然而 lncRNA SNHG10 在结直肠癌中潜在的作用机制目前尚不清楚。本研究将探讨 lncRNA SNHG10 在结直肠癌中的表达情况及其对结直肠癌细胞侵袭和迁移的作用机制,为寻找结直肠癌临床诊断和治疗的分子标志物提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 临床资料

收集 2018 年 1 月至 2019 年 12 月在河南省人民医院行根治性结直肠癌切除术的 78 例患者的癌组织及对应癌旁组织(距癌灶边缘 > 5 cm 取材)标本,手术切除后的组织标本立即用液氮冷冻并保存于 - 80℃ 冰箱。结直肠癌患者纳入标准:(1)患者术前均未接受放化疗及免疫治疗,并签署知情同意书;(2)所有患者均为首次诊断结直肠癌,且为首次进行手术;(3)所有患者临床资料完整且术后组织病理由高年资病理医师确认;(4)患者没有精神性疾病。排除标准:(1)患者伴发其他类型或部位肿瘤;(2)患者有严重器质性疾病;(3)患者患有溃疡性结肠炎、急性或慢性胃肠道炎症,以及自身免疫性疾病。本研究获得河南省人民医院医学伦理委员会批准。

### 1.2 细胞与试剂

人结直肠癌细胞(SW480、SW620、HT-29 和 LoVo)和人正常结肠上皮细胞 FHC 均购自中国科学院上海细胞库。RPMI1640 培养基、胎牛血清和

0.25% 胰蛋白酶均购自美国 Gibco 公司,双荧光素酶报告基因系统购自美国 Promega 公司,TRIzol 试剂盒、Lipofectamine™2000 均购自美国 Invitrogen 公司,SYBR Green PCR Master mix 试剂盒购自日本 TOYOBO 公司,兔抗人 E-cadherin、N-cadherin、vimentin 和 GAPDH 等多克隆抗体(一抗)及羊抗兔二抗均购自上海碧云天生物技术公司。SNHG10 小干扰 RNA (si-SNHG10) 及阴性对照 (si-NC)、miR-532-3p mimic 及阴性对照 (mimic-NC)、miR-532-3p inhibitor 及阴性对照 (inhibitor-NC) 均由上海吉凯生物技术公司设计合成;含 lncRNA SNHG10 与 miR-532-3p 结合位点的野生型/突变型重组质粒均由上海吉凯生物技术公司设计合成,序列信息见表 1。

表 1 qPCR 引物序列

基因	引物序列(5'-3')
SNHG10	F:CAAGCCTCATCAGGCCCATTT R:AGTCCACTGGTCCTGCTCTT
miR-532-3p	F:ACACAGGTTGGGATCGGTTG R:CAAACCTCAACAGGCCGGGA
GAPDH	F:GGAGCGAGATCCCTCCAAAT R:GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG
U6	F:CTCGCTTCGGCAGCACA R:AACGCTTCACGAATTTGCGT

### 1.3 细胞培养与转染

将结直肠癌细胞接种于含 10% 胎牛血清和青霉素/链霉素的 PRMI 1640 培养基中,放置在 37℃、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中培养,待细胞长满培养瓶底时用 0.25% 胰蛋白酶消化传代,取对数生长期的细胞用于实验。将 SW620 细胞以  $1 \times 10^5$  个/孔接种至 6 孔培养板,分别转染 si-SNHG10、si-NC, miR-532-3p mimic、mimic-NC, si-SNHG10 或共转染 si-SNHG10+miR-532-3p inhibitor 或 si-SNHG10+inhibitor-NC。qPCR 法检测转染后的干扰/过表达效果。

### 1.4 qPCR 检测结直肠癌组织和细胞中 lncRNA SNHG10 和 miR-532-3p 的表达水平

根据 TRIzol 试剂说明书提取结直肠癌组织或细

胞的总RNA,通过紫外分光光度计检测RNA的浓度和纯度。取2  $\mu\text{g}$ 总RNA逆转录生成cDNA,反应条件为:45  $^{\circ}\text{C}$  30 min、85  $^{\circ}\text{C}$  10 min。随后在qPCR仪上以cDNA为模板进行扩增,qPCR总量为10  $\mu\text{L}$ 。反应条件为95  $^{\circ}\text{C}$ 预变性10 min,95  $^{\circ}\text{C}$  15 s,61  $^{\circ}\text{C}$  15 s,共45个循环,获取荧光信号温度为60  $^{\circ}\text{C}$ 。扩增产物量达到临界阈值时所对应的循环数为Ct值,用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算lncRNA SNHG10和miR-532-3p的相对表达量,以GAPDH和U6作为内参。

### 1.5 双荧光素酶报告基因实验验证lncRNA SNHG10和miR-532-3p间的靶向结合关系

采用Starbase v3.0软件预测lncRNA SNHG10和miR-532-3p间的靶向结合序列,分别设计合成SNHG10的野生型(WT)和突变型(MUT)结合位点序列并整合至pGL3载体,构建报告基因质粒SNHG10-WT和SNHG10-MUT。将SW620细胞以 $1\times 10^5$ 个/孔接种在12孔板中培养,当细胞汇合度达80%时,将miR-532-3p mimic或mimic-NC连同报告基因质粒共同转染结直肠癌细胞。转染48 h后,按照Promega双荧光素酶报告系统试剂盒说明书进行检测。

### 1.6 Transwell实验检测miR-532-3p和lncRNA SNHG10表达变化对SW620细胞迁移和侵袭的影响

迁移实验:向灭菌Transwell板的下室加入含10%胎牛血清的细胞培养液,各实验组细胞接种于Transwell小室并套入下室,37  $^{\circ}\text{C}$ 培养24 h,取出上室,去除未迁移细胞,用70%甲醛固定穿膜细胞30 min,常规结晶紫染色,在高倍镜下计数穿膜细胞数。侵袭实验:4  $^{\circ}\text{C}$ 溶解过夜的人工基膜(matrigel)用无血清RPMI 1640培养基按1:7的体积比例进行稀释后,加20  $\mu\text{L}$ 于Transwell小室中,置于37  $^{\circ}\text{C}$ 环境下,待其凝固后,按照迁移实验进行后续操作。

### 1.7 WB法检测miR-532-3p和lncRNA SNHG10表达变化对SW620细胞中EMT相关蛋白表达的影响

提取各组细胞总蛋白,采用BCA试剂盒测定蛋白浓度。取蛋白样品,用10% SDS-PAGE分离蛋白,然后将蛋白转移到聚偏二氟乙烯(PVDF)膜上,用5%脱脂牛奶溶液在室温下封闭2 h,TBST洗膜,加入E-cadherin一抗(1:100)、N-cadherin一抗(1:1 000)、vimentin一抗(1:800)和GAPDH一抗(1:1 000),4  $^{\circ}\text{C}$ 处理过夜,TBST漂洗,加入羊抗兔二抗(1:1 000)37  $^{\circ}\text{C}$ 处理1 h。将PVDF膜浸于1 mL显色液中避光约10 min后观察结果,用凝胶图像处理系统分析目标条带的灰度值。

### 1.8 统计学处理

应用SPSS 21.0和Graphpad prism 6.0软件进行统计学分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 $t$ 检验,多组间均数差异的比较采用单因素方差分析。采用秩和检验分析lncRNA SNHG10表达水平、miR-532-3p表达水平与患者临床病理特征的关系,采用Pearson检验分析lncRNA SNHG10和miR-532-3p在结直肠癌组织中表达的相关性。以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

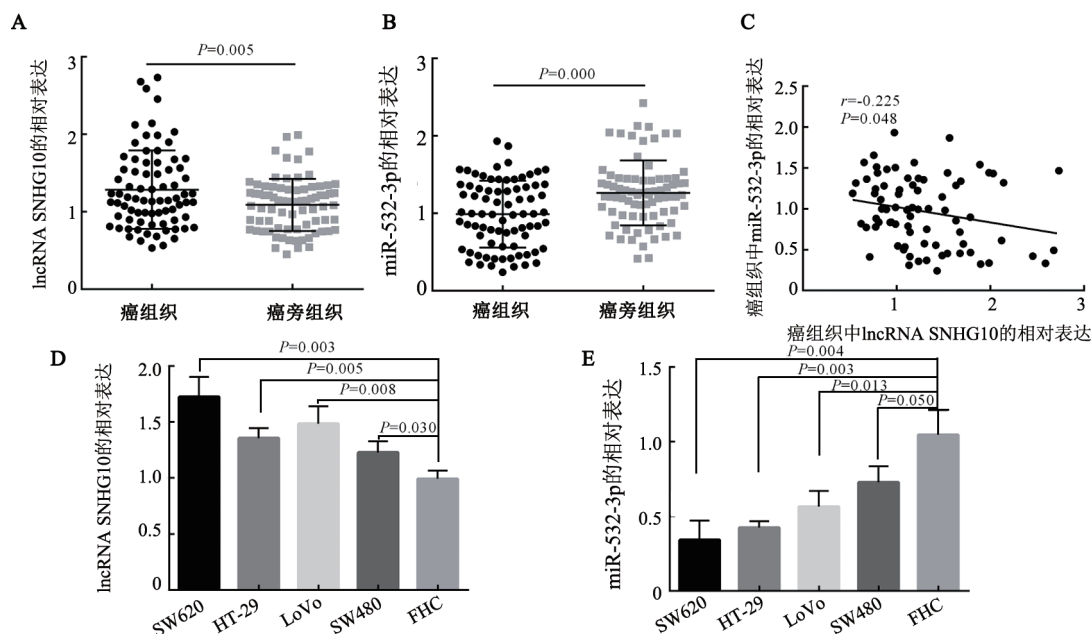
### 2.1 结直肠癌组织中lncRNA SNHG10呈高表达、miR-532-3p呈低表达

qPCR检测结果(图1A、B)显示,lncRNA SNHG10在结直肠癌组织中的相对表达水平显著高于癌旁组织[(1.286 $\pm$ 0.057) vs (1.089 $\pm$ 0.038), $t=2.860$ , $P=0.005$ ],并与结直肠癌患者的TNM分期和远处转移显著相关(均 $P<0.05$ ),见表2。miR-532-3p在结直肠癌组织中的相对表达水平显著低于癌旁组织[(0.990 $\pm$ 0.049) vs (1.264 $\pm$ 0.047), $t=4.042$ , $P=0.000$ ],并与结直肠癌患者的TNM分期、淋巴结转移和远处转移显著相关(均 $P<0.05$ ),见表2。lncRNA SNHG10和miR-532-3p在结直肠癌组织中的表达呈负相关( $r=-0.225$ , $P=0.048$ ,图1C)。此外,lncRNA SNHG10在结直肠癌细胞系(SW620、SW480、HT-29、LoVo)中的表达水平显著高于FHC细胞( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ,图1D),而miR-532-3p在结直肠癌细胞系(SW620、SW480、HT-29、LoVo)中的表达水平显著低于FHC细胞( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ,图1E)。上述结果表明,lncRNA SNHG10高表达和miR-532-3p低表达可能与结直肠癌的发生发展存在密切联系。另外,由于lncRNA SNHG10在SW620细胞中有着更高的表达水平,故选择该细胞用于后续实验研究。

### 2.2 lncRNA SNHG10和miR-532-3p间存在靶向关系

Starbase v3.0软件预测结果(图2A)显示,lncRNA SNHG10和miR-532-3p间存在靶向结合位点。双荧光素酶报告实验结果(图2B)显示,将SNHG10-WT质粒与miR-532-3p mimic或mimic-NC共转染SW620细胞后,miR-532-3p mimic组的荧光活性较mimic-NC组显著降低( $t=3.295$ , $P=0.030$ ),而将SNHG10-MUT质粒与miR-532-3p mimic或mimic-NC共转染SW620细胞后,miR-532-3p mimic组的荧光活性与mimic-NC组相比无明显改变( $t=0.263$ , $P=0.895$ )。上述结果表明,miR-532-3p能够靶向结合lncRNA SNHG10。





A: lncRNA SNHG10在结直肠癌组织中呈高表达; B: miR-532-3p在结直肠癌组织中呈低表达; C: lncRNA SNHG10与miR-532-3p表达呈负相关; D: lncRNA SNHG10在结直肠癌细胞株中呈高表达; E: miR-532-3p在结直肠癌细胞株中呈低表达

图1 lncRNASNHG10和miR-532-3p分别在结直肠癌中呈高表达和低表达

表2 lncRNASNHG10和miR-532-3p在结直肠癌组织中的表达及其与临床病理特征的关系

临床病理特征	例数	SNHG10 表达	t	P	miR-532-3p 表达	t	P
性别							
男	42	1.29±0.44	0.121	0.904	0.93±0.41	1.263	0.210
女	36	1.28±0.58			1.06±0.45		
年龄/岁							
≤60	31	1.34±0.58	0.719	0.475	0.95±0.45	0.597	0.552
>60	47	1.25±0.45			1.01±0.42		
肿瘤直径/cm							
≤4	35	1.25±0.47	0.623	0.535	1.08±0.44	1.766	0.081
>4	43	1.32±0.54			0.91±0.41		
TNM 分期							
I-II期	31	1.01±0.31	4.703	0.000	1.18±0.25	3.375	0.001
III-IV期	47	1.46±0.53			0.86±0.48		
肿瘤分化程度							
高中分化	47	1.25±0.48	0.793	0.430	0.97±0.42	0.456	0.650
低分化	31	1.34±0.55			1.02±0.46		
淋巴结转移							
无	29	1.13±0.36	1.940	0.056	1.12±0.32	2.315	0.023
有	49	1.37±0.56			0.91±0.47		
远处转移							
无	44	1.02±0.31	6.517	0.000	1.11±0.33	2.770	0.008
有	34	1.63±0.50			0.84±0.50		

### 2.3 敲减 lncRNA SNHG10 表达抑制 SW620 细胞的侵袭和迁移能力

qPCR 检测结果显示(图 3A), si-SNHG10 组细胞中 lncRNA SNHG10 表达水平显著低于空白对照组和 si-NC 组 ( $P=0.002$ ,  $P=0.001$ ), 而空白对照组与

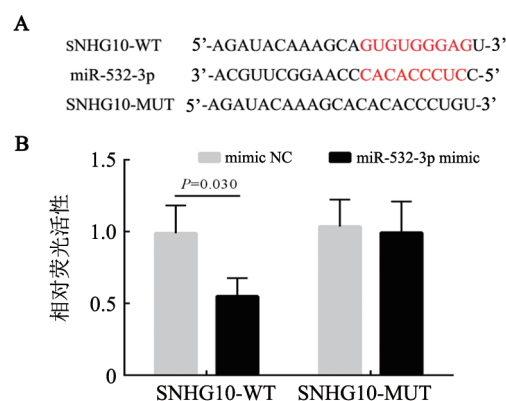
si-NC 组间表达水平无显著差异 ( $P=0.468$ ), 表明转染 si-SNHG10 能显著下调结直肠癌细胞中 SNHG10 表达。Transwell 侵袭和迁移实验结果显示(图 3B), si-SNHG10 组的侵袭和迁移细胞数均显著低于 si-NC 组 [ $156.3 \pm 18.5$  vs  $(251.3 \pm 21.1)$  个,  $t=3.383$ ,

$P=0.028$ ;  $(55.0 \pm 10.7)$  vs  $(137.7 \pm 8.4)$  个,  $t=6.076$ ,  $P=0.004$ 。此外, WB实验结果显示(图3C), si-SNHG10组 E-cadherin 蛋白表达水平较 si-NC 组显著上调 ( $P=0.003$ ), 而 N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平较 si-NC 组显著下调 ( $P=0.020$ 、 $P=0.005$ ), 表明 lncRNA SNHG10 表达下调可能通过 EMT 途径抑制 SW620 细胞的侵袭和迁移能力。

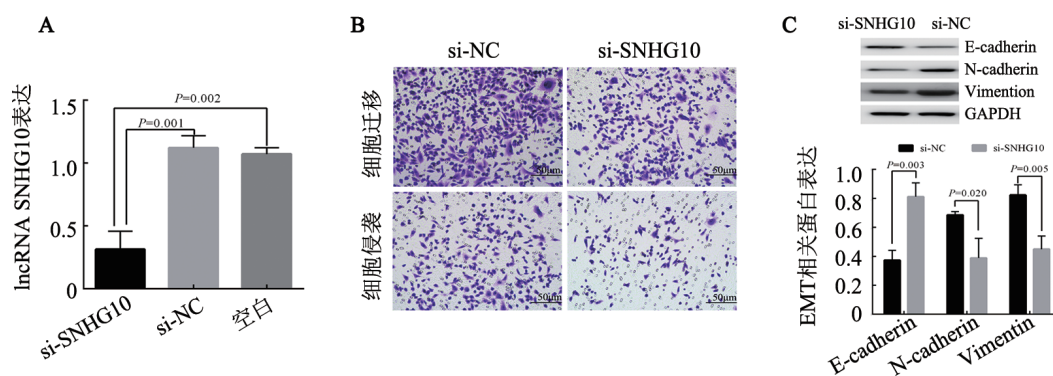
#### 2.4 上调 miR-532-3p 表达抑制 SW620 细胞的侵袭和迁移能力

qPCR 检测结果显示(图4A), miR-532-3p mimic 组细胞中 miR-532-3p 表达水平显著高于空白对照组和 mimics-NC 组 ( $P=0.002$ ,  $P=0.001$ ), 而空白对照组与 mimics-NC 组间表达水平无显著差异 ( $P=0.468$ ), 表明转染 miR-532-3p mimic 能显著上调结直肠癌细胞中 miR-532-3p 表达。Transwell 侵袭和迁移实验结果显示(图4B), miR-532-3p mimic 组的侵袭细胞数和迁移细胞数均显著低于 mimic-NC 组 [ $(109.3 \pm 10.2)$  vs  $(200.3 \pm 17.1)$  个,  $t=4.564$ ,  $P=0.010$ ;  $(56.0 \pm 5.1)$  vs  $(111.3 \pm 9.0)$  个,  $t=5.355$ ,  $P=0.006$ ]。此外, WB 实验结果显示(图4C), miR-532-3p mimic 组

E-cadherin 蛋白表达水平较 mimic-NC 组显著上调 ( $P=0.010$ ), 而 N-cadherin 和 vimentin 蛋白表达水平较 mimic-NC 组显著下调 ( $P=0.002$ 、 $P=0.019$ ), 表明 miR-532-3p 表达上调可能通过 EMT 途径抑制 SW620 细胞的侵袭和迁移能力。

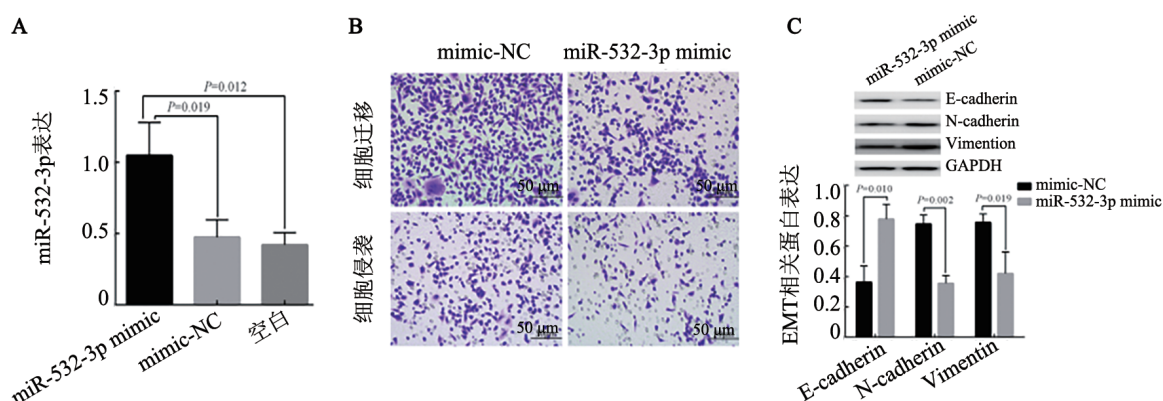


A: lncRNA SNHG10 与 miR-532-3p 结合位点; B: 相对荧光活性  
图2 双荧光素酶报告基因实验验证 lncRNA SNHG10 与 miR-532-3p 间的靶向关系



A: 干扰效率验证; B: Transwell 实验( $\times 200$ ); C: WB 实验检测 EMT 相关蛋白表达

图3 转染 si-SNHG10 对结直肠癌细胞 SW620 侵袭和迁移能力的影响



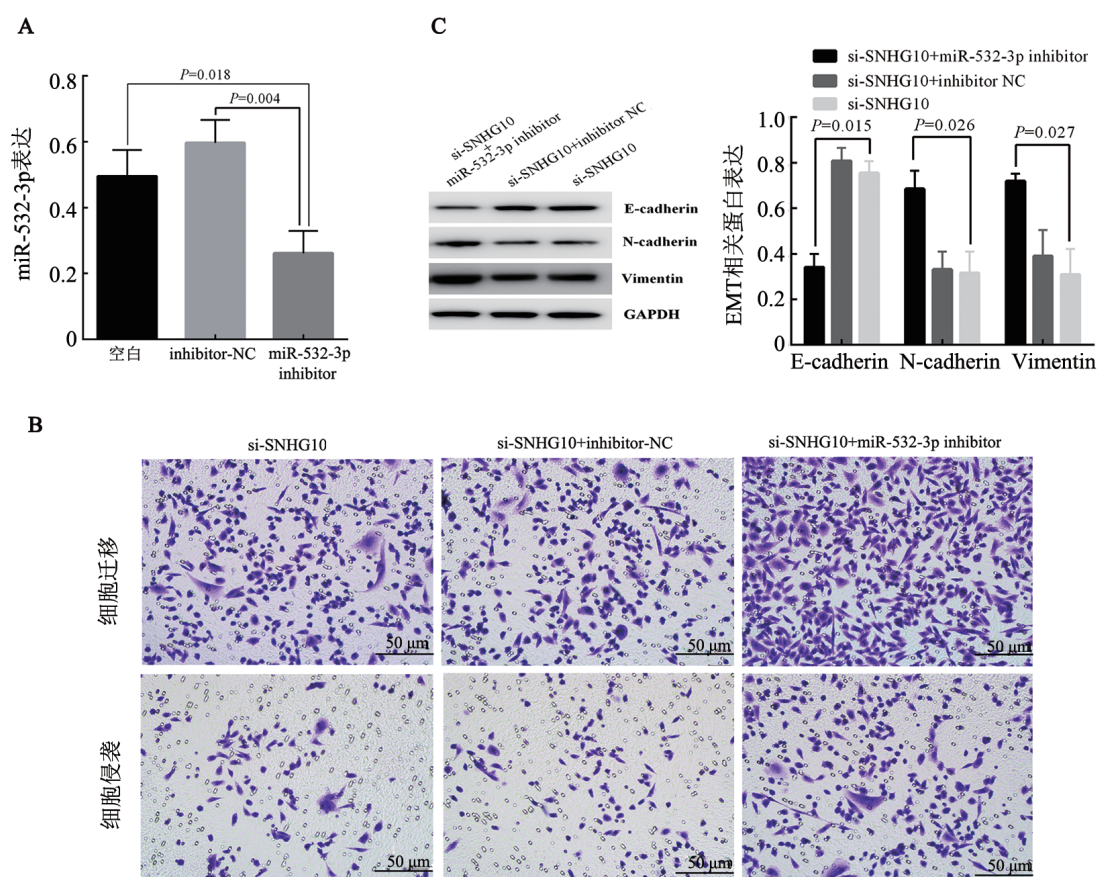
A: 过表达效率验证; B: Transwell 实验( $\times 200$ ); C: WB 实验检测 EMT 相关蛋白表达

图4 转染 miR-532-3p mimic 对 SW620 细胞侵袭和迁移能力的影响

### 2.5 抑制 miR-532-3p 表达可逆转 si-SNHG10 对结直肠癌细胞侵袭和迁移能力的抑制作用

qPCR 检测结果显示(图 5A), miR-532-3p inhibitor 组细胞中 miR-532-3p 表达水平显著低于空白对照组和 inhibitor-NC 组( $P=0.018$ ,  $P=0.004$ ), 而空白对照组与 inhibitor-NC 组间表达水平无显著差异( $P=0.176$ ), 表明转染 miR-532-3p inhibitor 能显著下调 SW620 细胞中 miR-532-3p 表达。将 si-SNHG10 和 miR-532-3p inhibitor 共同转染的 SW620 细胞作为阳性干扰组 (si-SNHG10+miR-532-3p inhibitor), 将 si-SNHG10 和 inhibitor-NC 共同转染的 SW620 细胞作为阴性对照组 1, 单独转染 si-SNHG10 的 SW620 细

胞作为阴性对照组 2, Transwell 侵袭和迁移实验结果显示(图 5B), 阳性对照组的侵袭细胞数较阴性对照组显著升高[(240.3±19.0) vs (130.7±12.8) 和 (117.7±10.5) 个,  $F=21.450$ ,  $P=0.002$ ], 阳性对照组的迁移细胞数较阴性对照组显著升高[(99.7±10.7) vs (47.7±5.4) 和 (54.0±4.6) 个,  $F=14.640$ ,  $P=0.005$ ], 此外, 与阴性对照组相比较, 阳性对照组中 E-cadherin 蛋白表达水平降低( $P=0.015$ )、N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平升高( $P=0.026$ ,  $P=0.027$ ), 见图 5C。上述结果表明 lncRNA SNHG10 靶向调控 miR-532-3p 表达, 并可能通过 EMT 途径参与 SW620 细胞的侵袭转移过程。



A: 干扰效率验证; B: Transwell 实验 (×200); C: WB 实验检测 EMT 相关蛋白表达  
图 5 干扰 miR-532-3p 表达逆转 si-SNHG10 对 SW620 细胞侵袭和迁移能力的抑制作用

## 3 讨论

结直肠癌早期症状隐匿, 患者出现明显临床症状时病程已进展至中晚期, 肿瘤侵袭血管和远处转移是造成患者术后生存率低的主要原因, 因此探寻可靠的生物标志物对于结直肠癌患者的早期诊断、个性化治疗和改善预后是至关重要的。越来越多的研究发现 lncRNA 通过调控与肿瘤转移密切相关的多个关键因子或多个信号通路影响结直肠癌侵袭转

移过程。例如, lncRNA PVT1 在结直肠癌组织中呈高表达, 并通过调控 E2F3/MAPK8 信号通路促进结直肠癌进展<sup>[11]</sup>; lncRNA TUG1 通过激活 Wnt/β-catenin 信号通路促进结直肠癌细胞的增殖、侵袭和转移<sup>[12]</sup>; 亮氨酸拉链肿瘤抑制基因 1 (leucine-zipper tumor suppressor 1, LTZS1) 在结直肠癌进展过程中发挥抑癌基因作用<sup>[13]</sup>, 而 lncRNA LALC 则通过招募甲基化转移酶至 LTZS1 启动子区域使其甲基化失活, 从而促进结直肠癌的肝转移<sup>[14]</sup>。



本研究结果显示,lncRNA SNHG10在结直肠癌组织及细胞中高表达,其表达水平与结直肠癌患者的TNM分期和远处转移相关,提示lncRNA过表达可能参与结直肠癌的发生和发展进程。进一步通过瞬时转染技术敲低SW620细胞中SNHG10的表达,发现细胞中E-cadherin蛋白表达上调,而N-cadherin和vimentin蛋白表达下调,细胞侵袭和转移能力得到有效抑制,表明lncRNA SNHG10在结直肠癌的进展过程中发挥癌基因功能,并通过调控EMT途径影响结直肠癌的侵袭转移过程,这与相关研究报道<sup>[15]</sup>一致。

作为ceRNA,lncRNA能发挥“miRNA分子海绵”的作用,吸附和抑制miRNA表达,影响miRNA靶基因的表达,这是其参与调控肿瘤细胞多种恶性生物学功能的重要机制。本研究结果显示,miR-532-3p在结直肠癌组织及细胞中呈低表达,其表达水平与结直肠癌患者的TNM分期、淋巴结转移和远处转移相关,miR-532-3p过表达通过调控EMT相关蛋白表达抑制结直肠癌的侵袭和迁移能力。以往的研究表明,miR-532-3p在多种类型的肿瘤中发挥抑癌基因功能,例如,miR-532-3p在甲状腺癌组织中低表达,上调其表达可抑制甲状腺细胞增殖、侵袭和迁移能力<sup>[16]</sup>;miR-532-3p靶向调控TRIAP蛋白表达抑制肾透明细胞癌的进展过程<sup>[17]</sup>;miR-532-3p在淋巴瘤组织和细胞中低表达,上调其表达可抑制淋巴瘤细胞增殖,促进细胞凋亡<sup>[18]</sup>;而在结直肠癌的研究中,GU等<sup>[19]</sup>报道miR-532-3p通过阻断ETS1/TGM2轴介导的Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路抑制结直肠癌进展;KANAAN等<sup>[20]</sup>发现,miR-532-3p在结直肠癌患者血清中表达水平显著降低,是诊断结直肠癌一种良好的生物标志物。本研究发现,lncRNA SNHG10和miR-532-3p在结直肠癌组织中的表达呈负相关,生物信息学软件和双荧光素酶报告基因实验也证实lncRNA SNHG10和miR-532-3p间存在靶向结合位点,因此推测,lncRNA SNHG10作为ceRNA吸附和抑制miR-532-3p表达是影响结直肠癌侵袭转移的重要作用机制;进一步的恢复实验验证了这一猜想,在lncRNA SNHG10表达下调的同时抑制miR-532-3p的表达,E-cadherin表达降低、N-cadherin和vimentin表达增加,si-SNHG10对结直肠癌侵袭和迁移能力的抑制作用被逆转。

综上所述,lncRNA SNHG10在结直肠癌组织中呈高表达并与结直肠癌患者的某些临床病理特征有关联,lncRNA SNHG10靶向调控miR-532-3p表达并通过EMT途径影响结直肠癌SW620细胞的侵袭和转移。

## [参考文献]

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, GODING SAUER A, *et al.* Colorectal cancer statistics, 2020[J]. CA A Cancer J Clin, 2020, 70(3): 145-164. DOI:10.3322/caac.21601.
- [2] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA A Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30. DOI:10.3322/caac.21590.
- [3] PIAWAH S, VENOOK A P. Targeted therapy for colorectal cancer metastases: a review of current methods of molecularly targeted therapy and the use of tumor biomarkers in the treatment of metastatic colorectal cancer[J]. Cancer, 2019, 125(23): 4139-4147. DOI:10.1002/cncr.32163.
- [4] 李泽萌, 韩丹. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关长链非编码RNA在肿瘤进展中的功能与机制[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2020, 27(3): 315-320. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2020.03.016.
- [5] GIL N, ULITSKY I. Regulation of gene expression by cis-acting long non-coding RNAs[J]. Nat Rev Genet, 2020, 21(2): 102-117. DOI:10.1038/s41576-019-0184-5.
- [6] 李娅亨. 长链非编码RNA在宫颈癌中作用的研究进展[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2021, 28(4): 398-404. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.04.013.
- [7] YUAN X, YANG T W, XU Y, *et al.* SNHG10 promotes cell proliferation and migration in gastric cancer by targeting miR-495-3p/CTNBN1 axis[J]. Dig Dis Sci, 2021, 66(8): 2627-2636. DOI: 10.1007/s10620-020-06576-w.
- [8] LAN T, YUAN K F, YAN X K, *et al.* lncRNA SNHG10 facilitates hepatocarcinogenesis and metastasis by modulating its homolog SCARNA13 via a positive feedback loop[J]. Cancer Res, 2019, 79(13): 3220-3234. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-18-4044.
- [9] XIAO S S, ZHA Y, ZHU H Q. miR-621 may suppress cell proliferation via targeting lncRNA SNHG10 in acute myeloid leukemia[J]. Cancer Manag Res, 2021, 13: 2117-2123. DOI: 10.2147/CMAR.S269528.
- [10] JIN L D, HUANG S Q, GUAN C J, *et al.* ETS1-activated SNHG10 exerts oncogenic functions in glioma via targeting miR-532-3p/FBXL19 axis[J/OL]. Cancer Cell Int, 2020, 20(1): 589[2021-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33298070/>. DOI: 10.1186/s12935-020-01649-2.
- [11] LIU X, LI L, BAI J, *et al.* lncRNA PVT1 promotes progression of colorectal cancer by sponging miR-152-3p and regulating E2F3/MAPK8 signaling[J]. Cancer Sci, 2021, 113(1): 109-119. DOI: 10.1111/CAS.15113.
- [12] LIU Q L, ZHANG W, LUO L S, *et al.* Long noncoding RNA TUG1 regulates the progression of colorectal cancer through miR-542-3p/TRIB2 axis and Wnt/ $\beta$ -catenin pathway[J/OL]. Diagn Pathol, 2021, 16(1): 47 [2021-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34030715/>. DOI:10.1186/s13000-021-01101-7.
- [13] ZHOU W, HE M R, JIAO H L, *et al.* The tumor-suppressor gene LZTS1 suppresses colorectal cancer proliferation through inhibition of the AKT-mTOR signaling pathway[J]. Cancer Lett, 2015, 360(1): 68-75. DOI:10.1016/j.canlet.2015.02.004.
- [14] ZHANG C, WANG L, JIN C, *et al.* Long non-coding RNA lnc-LALC facilitates colorectal cancer liver metastasis via epigenetically silencing LZTS1[J/OL]. Cell Death Dis, 2021, 12(2): 224 [2021-11-12]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33637680/>.

- DOI:10.1038/s41419-021-03461-w.
- [15] ZHANG H, FANG Z H, GUO Y S, *et al.* Long noncoding RNA SNHG10 promotes colorectal cancer cells malignant progression by targeting miR-3690[J]. *Bioengineered*, 2021, 12(1): 6010-6020. DOI:10.1080/21655979.2021.1972199.
- [16] 陈鹏, 马德寿. circ\_0072088 通过调控 miR-532-3p/WEE1 轴促进甲状腺癌 IHH4 细胞的恶性生物学行为[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(6): 598-604. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.06.007.
- [17] GAO B, WANG L J, ZHANG Y B, *et al.* miR-532-3p suppresses cell viability, migration and invasion of clear cell renal cell carcinoma through targeting TROAP[J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(16): 1578-1588. DOI:10.1080/15384101.2021.1953767.
- [18] LIU Y, LI Q Y, DAI Y Z, *et al.* miR-532-3p inhibits proliferation and promotes apoptosis of lymphoma cells by targeting  $\beta$ -catenin [J]. *J Cancer*, 2020, 11(16): 4762-4770. DOI:10.7150/jca.45684.
- [19] GU C, CAI J, XU Z, *et al.* miR-532-3p suppresses colorectal cancer progression by disrupting the ETS1/TGM2 axis-mediated Wnt/ $\beta$ -catenin signaling [J/OL]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(10): 739 [2021-11-12]. DOI: 10.1038/s41419-019-1962-x.
- [20] KANAAN Z, ROBERTS H, EICHENBERGER M R, *et al.* A plasma microRNA panel for detection of colorectal adenomas: a step toward more precise screening for colorectal cancer[J]. *Ann Surg*, 2013, 258(3): 400-408. DOI: 10.1097/SLA.0b013e3182a15bcc.

[收稿日期] 2021-11-12

[修回日期] 2022-02-21

[本文编辑] 黄静怡