



中国临床医学

Chinese Journal of Clinical Medicine

ISSN 1008-6358

CN 31-1794/R

长链非编码RNA LINC00922促进胰腺导管腺癌的增殖、迁移和侵袭

匡天涛, 李剑昂, 韩序, 张磊, 楼文晖, 戎叶飞

引用本文:

匡天涛,李剑昂,韩序,张磊,楼文晖,戎叶飞. 长链非编码RNA LINC00922促进胰腺导管腺癌的增殖、迁移和侵袭[J]. 中国临床医学, 2022, 29(2): 161-165.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20212525>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

PROX1通过上皮间质转化促进非小细胞肺癌进展

PROX1 promoted the progression of non-small cell lung cancer via epithelial-mesenchymal transition

中国临床医学. 2021, 28(5): 802-807 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210443>

前列腺癌相关转录因子1在恶性肿瘤中的研究进展

Research progress of prostate cancer associated transcript-1 in malignant tumors

中国临床医学. 2019, 26(1): 126-131 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20180794>

长链非编码RNA A-30-P01019163对卵巢颗粒细胞β B2晶体蛋白表达的调控及对颗粒细胞增殖和凋亡的影响

LncRNA A-30-P01019163 regulates β B2 crystallin gene expression in ovarian granulosa cells and its effects on cell proliferation and apoptosis

中国临床医学. 2021, 28(5): 795-801 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2021.20210452>

长链非编码RNA-linc00152可能通过miR-4767影响血管内皮细胞凋亡和迁移

Long-chain non-coding RNA-linc00152 expression may play a role in apoptosis and migration of vascular endothelial cells via miR-4767

中国临床医学. 2019, 26(2): 209-214 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2019.20181007>

肝细胞核因子1B体外抑制前列腺癌细胞的增殖和迁移

Hepatocyte nuclear factor 1B suppresses the proliferation and migration of prostate cancer cells in vitro

中国临床医学. 2017, 24(2): 171-175 <https://doi.org/10.12025/j.issn.1008-6358.2017.20170208>

DOI: 10.12025/j.issn.1008-6358.2022.20212525

· 论 著 ·

长链非编码 RNA LINC00922 促进胰腺导管腺癌的增殖、迁移和侵袭



匡天涛, 李剑昂, 韩 序, 张 磊, 楼文晖, 戎叶飞*

复旦大学附属中山医院胰腺外科, 上海 200032

引用本文 匡天涛, 李剑昂, 韩 序, 等. 长链非编码 RNA LINC00922 促进胰腺导管腺癌的增殖、迁移和侵袭 [J]. 中国临床医学, 2022, 29(2): 161-165. KUANG T T, LI J A, HAN X, et al. The long non-coding RNA LINC00922 promotes the proliferation, migration and invasion of pancreatic ductal adenocarcinoma cell line [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2022, 29(2): 161-165.

[摘要] **目的** 探讨长链非编码 RNA(long non-coding RNA, lncRNA) LINC00922 在胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 组织及 PDAC 细胞系中的表达, 及对 PDAC 细胞系增殖、迁移和侵袭的影响。**方法** 利用 illumina HiSeq X Ten 高通量测序仪, 对 2015 年至 2016 年在复旦大学附属中山医院普通外科接受手术治疗的 4 例 PDAC 患者肿瘤标本及癌旁组织进行高通量测序, 建立 lncRNA 及 mRNA 表达谱, 并挑选其中在 PDAC 组织中显著高表达的 lncRNA LINC00922 做进一步研究。另选取 2015 年至 2017 年在复旦大学附属中山医院普通外科接受手术治疗的 10 例 PDAC 患者肿瘤标本及癌旁组织作为验证组, 采用实时定量反转录聚合酶链反应 (RT-qPCR) 技术验证 LINC00922 在 PDAC 中表达情况。通过 CCK-8 增殖实验、划痕实验及 Transwell 实验, 探讨 LINC00922 对 PDAC 细胞系 BxPC-3 增殖、迁移及侵袭的调控作用。采用配对 *t* 检验和独立样本 *t* 检验进行统计学分析。**结果** 高通量测序分析结果显示, PDAC 组织中有 470 个差异表达 lncRNA, 4 373 个差异表达 mRNA, 其中 LINC00922 在 PDAC 组织中显著高表达。在验证组 10 例 PDAC 及癌旁组织样本中, LINC00922 在 PDAC 组织中显著高表达 ($P < 0.05$)。CCK-8 增殖实验、划痕实验以及 Transwell 侵袭实验分别提示敲低 LINC00922 表达的 BxPC-3 PDAC 细胞增殖活力、迁移能力以及侵袭能力均显著低于阴性对照组 ($P < 0.05$)。**结论** LINC00922 在 PDAC 组织中显著高表达, 具有促进 PDAC 细胞增殖、迁移和侵袭的能力。

[关键词] 胰腺导管腺癌; 长链非编码 RNA; LINC00922; 增殖; 侵袭

[中图分类号] R 73-37 **[文献标志码]** A

The long non-coding RNA LINC00922 promotes the proliferation, migration and invasion of pancreatic ductal adenocarcinoma cell line

KUANG Tian-tao, LI Jian-ang, HAN Xu, ZHANG Lei, LOU Wen-hui, RONG Ye-fei*

Department of Pancreatic Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

[Abstract] **Objective** To explore the expression of long non-coding RNA LINC00922 in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) tissues and PDAC cell lines and its function on proliferation and invasion of PDAC cell lines. **Methods** Applying the illumina HiSeq X Ten to high-throughput sequence four pairs of PDAC tissues and corresponding adjacent normal tissues during 2015—2016. Establishing the lncRNA and mRNA expression profile with the sequencing results. LINC00922 was highly expressed in PDAC tissues and was selected for further study. The expression of LINC00922 was verified by the RT-qPCR with another 10 pairs of pancreatic tissues and adjacent normal tissues. The function of LINC00922 on proliferation and invasion of pancreatic cancer cell lines was explored by CCK-8 cell proliferation assay, wound-healing assay and Transwell assay. Paired samples were analyzed by paired sample *t* test, or independent sample *t* test. **Results** Through high-throughput sequencing, 470 differentially expressed lncRNA and 4 373 differentially expressed mRNA were discovered in PDAC tissues. The lncRNA LINC00922 was over-expressed in PDAC. With another 10 paired pancreatic cancer tissues and adjacent normal tissues, the expression of LINC00922

[收稿日期] 2021-11-07 **[接受日期]** 2022-01-21

[基金项目] 国家自然科学基金 (83173116). Supported by the National Natural Science Foundation of China (83173116).

[作者简介] 匡天涛, 博士, 副主任医师. E-mail: kuang.tiantao@zs-hospital.sh.cn

* 通信作者 (Corresponding author). Tel: 021-64041990, E-mail: mcryyf@163.com

was over-expressed in PDAC tissues ($P<0.05$). CCK-8 cell proliferation assay showed that the proliferation activity of BxPC-3 was suppressed by down-expressing of LINC00922 ($P<0.05$). The wound healing assay showed that pancreatic cancer cells in LINC00922 knocking-down group was significantly more slowly closing to the scratch area than the negative control group ($P<0.05$). The transwell assay showed that the number of migrating cells in LINC00922 knocking-down group was significantly lower than the negative control group ($P<0.05$). **Conclusions** LINC00922 is over-expressed in PDAC and promotes the proliferation, migration and invasion of PDAC cells.

[Key Words] pancreatic ductal adenocarcinoma; long non-coding RNA; LINC00922; proliferation; invasion

长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 由超过 200 个核苷酸构成, 且无明显蛋白质编码功能^[1]。LncRNA 在哺乳动物基因组中广泛存在, 既往 lncRNA 被认为是“转录噪音”, 而近期越来越多的研究^[2-3]提示该类 RNA 是重要的功能分子。目前研究^[4-7]提示 lncRNA 主要作用机制包括以下几个方面, (1) 信号功能: 作为信号分子调控靶基因的表达; (2) 诱饵功能: lncRNA 能诱导转录因子或蛋白质远离染色质进而抑制靶基因转录; (3) 操纵功能: lncRNA 能招募染色质修饰酶, 使其接近或远离靶基因从而发挥调控作用; (4) 脚手架功能: lncRNA 能与蛋白质聚集进而形成核蛋白复合体, 从而参与组蛋白的修饰。研究^[4-7]发现 lncRNA 在肿瘤的发生发展中具有重要作用, 而在胰腺导管腺癌 (pancreatic ductal adenocarcinoma, PDAC) 研究领域 lncRNA 的作用也越来越被重视。本研究旨在探讨 LINC00922 在 PDAC 中表达差异及其对 PDAC 细胞系增殖、迁移及侵袭的调控作用。

1 材料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年至 2016 年在复旦大学附属中山医院普通外科接受手术治疗的 4 例 PDAC 患者肿瘤标本及癌旁组织作为高通量测序材料, 由南京世和基因公司采用 illumina HiSeq X Ten 高通量测序仪进行 RNA 高通量测序。高通量测序后, 针对每个样本, 利用 HISAT 软件将预处理序列与测序物种的参考基因组序列进行序列比对, 获得 lncRNA 及 mRNA 表达谱热点图。本研究通过复旦大学附属中山医院伦理委员会批准 (Y2019-060), 并获得患者及家属知情同意。

1.2 主要试剂及仪器 人 PDAC 细胞系 CFPAC-1、Capan-1、BxPC-3 购自中国科学院细

胞库; CCK-8 试剂盒购自英国 Abcam 公司, RT-qPCR 试剂盒、RNAiso Plus 购自日本 TaKaRa 公司, Transwell 小室购自美国康宁公司。

1.3 RNA 提取及 RT-qPCR 另选取 2015 年至 2017 年在复旦大学附属中山医院普通外科接受手术治疗的 10 例 PDAC 患者肿瘤标本及癌旁组织作为验证组。按照 RNAiso Plus 试剂盒操作步骤提取 RNA, 以及按照 RT-qPCR 试剂盒操作步骤进行反转录和 PCR 检测, 检测验证组 10 例 PDAC 组织及配对癌旁组织中 LINC00922 表达量。LINC00922 引物序列由上海生工合成, 正向引物: 5'-CTTGCTCGCTGATGCTGCCACG-3'; 反向引物: 5'-CAGGAGGCTCCAAAGACAGG-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算相对表达量。

1.4 CCK-8 实验 采用 LINC00922 敲低慢病毒和阴性对照慢病毒感染 PDAC 细胞系 BxPC-3, 获得低表达 LINC00922 的 PDAC 细胞株及阴性对照细胞株。将处于指数生长期的 PDAC 细胞 BxPC-3 接种于 96 孔板中, 每孔 10^3 个细胞, 每组设 3 个复孔, 分别孵育 24 h、48 h、72 h 后, 每孔按照 1:10 比例加入 CCK-8 检测试剂。并在 37°C 温箱孵育 1 h。用酶标仪检测 450 nm 处光密度值, 绘制细胞增殖曲线。

1.5 划痕实验 采用 LINC00922 敲低慢病毒和阴性对照慢病毒感染 PDAC 细胞系 BxPC-3, 获得低表达 LINC00922 的 PDAC 细胞株及阴性对照细胞株。将 PDAC 细胞系 BxPC-3 消化计数后, 将 1×10^5 个 PDAC 细胞接种于 6 孔板中, 待细胞贴壁生长后, 用 200 μ L 枪头垂直于培养板孔中轻划 1 条直线, 加入 2 mL 无血清培养基继续培养。分别于 0 h、12 h、24 h、36 h、48 h、60 h 及 72 h 观察细胞划痕的愈合情况。

1.6 Transwell 实验 将 BxPC-3 细胞数目稀释为 5×10^5 /mL, 将 200 μ L 细胞悬液加入 24 孔板上层

小室,将 500 μL 含有 10%FBS 的培养基加入到下层小室,孵育细胞 48 h。用 4% 甲醛固定 15 min,并用 0.5% 结晶紫染色 15 min,观察细胞侵袭情况。

1.7 统计学处理 采用 SPSS 24.0 分析数据,采用配对 t 检验和独立样本 t 检验,检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 PDAC 组织 lncRNA 及 mRNA 表达谱分析 通过高通量测序,获得 PDAC lncRNA 及 mRNA 表达谱(图 1),发现 PDAC 组织中差异表达 lncRNA

有 470 个, mRNA 有 4 373 个,并选取表达上调显著的 LINC00922 作为研究对象。

2.2 LINC00922 在 PDAC 中表达验证 结果(图 2A)提示,PDAC 组织中 LINC00922 表达量显著高于癌旁组织($P<0.05$)。同时使用 RT-qPCR 检测 PDAC 细胞系 CFPAC-1、Capan-1、BxPC-3 及胰腺上皮细胞 H6C7 中 LINC00922 表达量,结果(图 2B)提示,BxPC-3 中 LINC00922 表达量显著升高,H6C7 正常胰腺导管上皮细胞,并将 BxPC-3 细胞系做为后续研究对象。

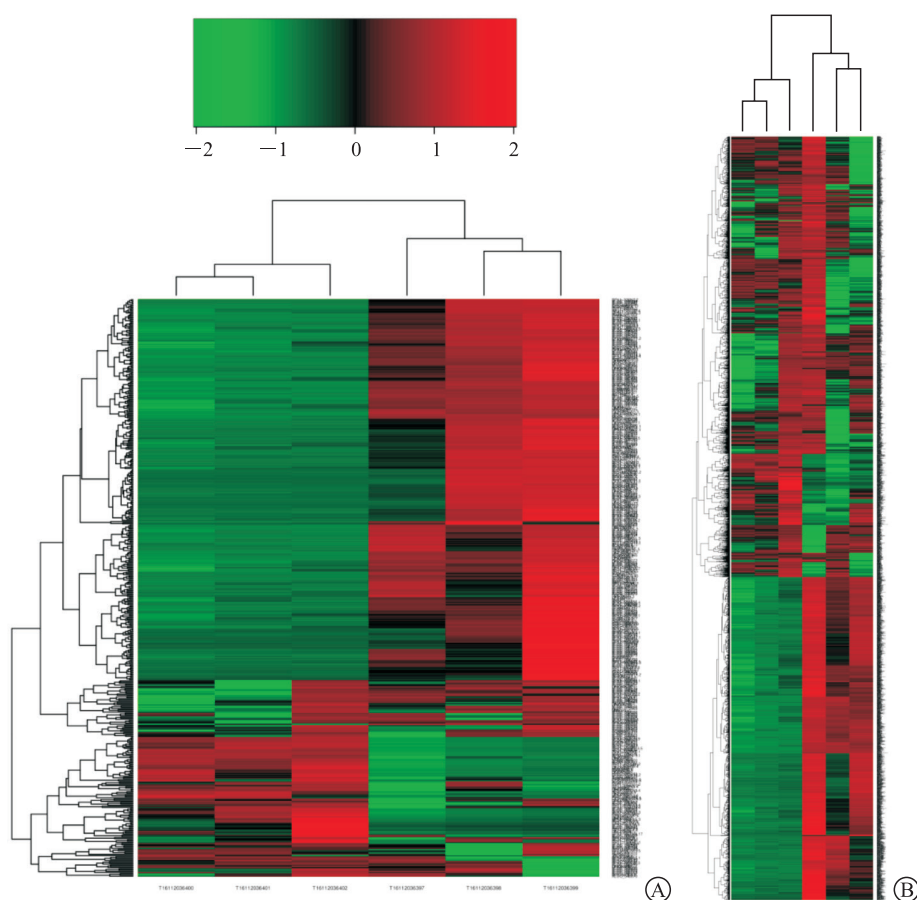


图 1 4 对胰腺癌组织与对应癌旁组织高通量测序热点图

A: 差异表达 lncRNA 聚类分析; B: 差异表达 mRNA 聚类分析。红色: 表达上调基因; 绿色: 表达下调基因。

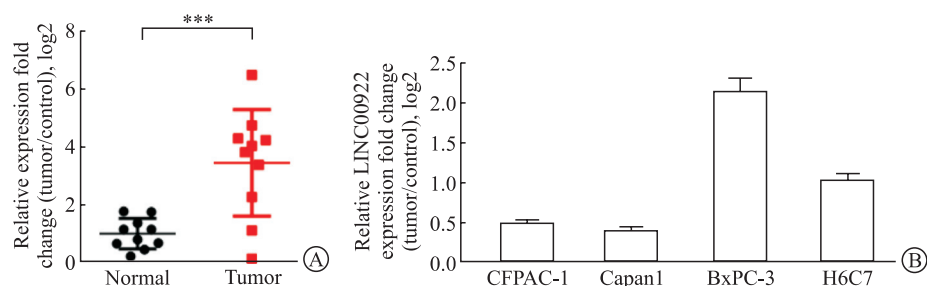


图 2 LINC00922 在 10 对胰腺癌组织和癌旁组织 (A) 及胰腺癌细胞株中表达情况 (B)

2.3 LINC00922 对 PDAC 细胞 BxPC-3 增殖能力的影响 CCK-8 实验结果 (图 3) 提示, 敲低 LINC00922 表达 PDAC 细胞 BxPC-3 增殖能力显著低于阴性对照组 ($P < 0.05$)。

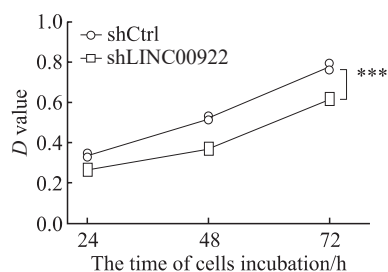


图 3 CCK-8 增殖实验

2.4 LINC00922 对 PDAC 细胞迁移和侵袭能力的影响 划痕实验结果 (图 4A) 提示, 敲低 LINC00922 表达的 PDAC 细胞 BxPC-3 较阴性对照细胞更慢地靠近划痕区域 (72 h, $P < 0.05$)。Transwell 实验结果 (图 4B) 显示, 敲低 LINC00922 表达组 PDAC 细胞穿膜细胞数量低于阴性对照组 ($P < 0.05$)。上述结果提示, 敲低 LINC00922 表达对 PDAC 细胞系 BxPC-3 的迁移和侵袭具有抑制作用。

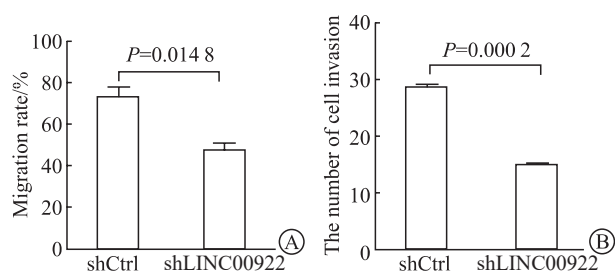


图 4 侵袭迁移实验

A: 划痕实验; B: Transwell 实验。

3 讨论

目前研究^[2-3]提示 lncRNA 具有多种生物学功能, 且越来越多的研究^[4-7]发现, lncRNA 在肿瘤的发生发展中具有重要作用, 而其在 PDAC 中的作用也越来越被重视。Deng 等^[8]研究发现, 缺氧环境可以诱导 PDAC 细胞中 lncRNA BX111 表达, 且 BX111 表达上调可以激活转录因子 ZEB1, 进而促进 PDAC 的增殖及侵袭转移。Zhang 等^[9]研究发现, 在 PDAC 组织及 PDAC 细胞系中高表达 lncRNA

PMSB8-AS1, 且高表达 PMSB8-AS1 患者预后差; 功能研究发现, PMSB8-AS1 能够促进 PDAC 细胞增殖、迁移及侵袭; 机制研究发现, PMSB8-AS1 能够与 miR-382-3p 结合, 从而下调其表达, 进而促进 STAT1 表达。Zhou 等^[10]研究发现, 在吉西他滨耐药 PDAC 细胞系中高表达 lncRNA PVT1, 且功能实验提示 PVT1 能够促进 PDAC 细胞系对吉西他滨耐药; 机制研究发现, PVT1 通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路及细胞自噬通路进而促进 PDAC 细胞对吉西他滨耐药。

LINC00922 作为新近发现的促癌基因, 可促进多种肿瘤的发生发展^[11-13]。Liang 等^[11]研究发现, 在肺癌组织及肺癌细胞系中高表达 LINC00922, 可促进肺癌细胞 PC9 及 A549 增殖、迁移及侵袭; 机制研究发现, LINC00922 通过调控 miRNA-204/CXCR4 轴, 进而调控 CXCR4 表达从而促进肺癌细胞的侵袭转移。此外, Wang 等^[12]研究发现, 在卵巢癌组织及细胞系中也高表达 LINC00922, 且与卵巢癌患者预后密切相关。下调 LINC00922 表达能够抑制卵巢癌细胞的侵袭转移以及 EMT。机制研究发现, LINC00922 竞争性地结合 miR-361-3p, 进而抑制 miR-361-3p 对其靶基因 CLDN1 的调控。目前 LINC00922 在 PDAC 中表达情况以及其在 PDAC 中作用及机制仍不明。

综上所述, 本研究首次探讨 LINC00922 在 PDAC 组织中表达情况, 提示 PDAC 组织中显著高表达 LINC00922。且体外实验提示, 敲低 LINC00922 表达可以降低 PDAC 细胞系 BxPC-3 的增殖、迁移及侵袭能力。因此, LINC00922 作为 PDAC 的促癌基因具有深入研究的价值, 进一步研究将聚焦其促进 PDAC 侵袭转移的分子机制。

利益冲突: 所有作者声明均不存在利益冲突。

参考文献

- [1] HOLMES D S, MAYFIELD J E, SANDER G, et al. Chromosomal RNA: its properties[J]. Science, 1972, 177(4043): 72-74.
- [2] BRIDGES M C, DAULAGALA A C, KOURTIDIS A. LNCcation: lncRNA localization and function[J]. J Cell Biol, 2021, 220(2): e202009045.
- [3] KAZIMIERCZYK M, KASPROWICZ M K,

- KASPRZYK M E, et al. Human long noncoding RNA interactome: detection, characterization and function[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(3):1027.
- [4] BACH D H, LEE S K. Long noncoding RNAs in cancer cells[J]. *Cancer Lett*, 2018, 419:152-166.
- [5] BHAN A, SOLEIMANI M, MANDAL S S. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm[J]. *Cancer Res*, 2017, 77(15):3965-3981.
- [6] CHAN J J, TAY Y. Noncoding RNA: RNA regulatory networks in cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5):1310.
- [7] 陈猛云, 樊晓明. 长链非编码RNA在结直肠癌发生发展中的研究进展[J]. *复旦学报(医学版)*, 2021, 48(2): 267-270. CHEN M Y, FAN X M. Research progress of long non-coding RNA in the development of colorectal cancer[J]. *Fudan University Journal of Medical Sciences*, 2021, 48(2): 267-270.
- [8] DENG S J, CHEN H Y, ZENG Y, et al. Hypoxia-induced LncRNA-BX111 promotes metastasis and progression of pancreatic cancer through regulating ZEB1 transcription[J]. *Oncogene*, 2018, 37(44):5811-5828.
- [9] ZHANG H, ZHU C, HE Z W, et al. LncRNA PSMB8-AS1 contributes to pancreatic cancer progression via modulating miR-382-3p/STAT1/PD-L1 axis[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1):179.
- [10] ZHOU C F, YI C H, YI Y X, et al. LncRNA PVT1 promotes gemcitabine resistance of pancreatic cancer via activating Wnt/ β -catenin and autophagy pathway through modulating the miR-619-5p/Pygo2 and miR-619-5p/ATG14 axes[J]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1):118.
- [11] LIANG T, WANG B, LI J, et al. LINC00922 accelerates the proliferation, migration and invasion of lung cancer via the miRNA-204/CXCR4 axis[J]. *Med Sci Monit*, 2019, 25:5075-5086.
- [12] WANG L P, REN C C, XU Y J, et al. The LINC00922 aggravates ovarian cancer progression via sponging miR-361-3p[J]. *J Ovarian Res*, 2021, 14(1):77.
- [13] YE Z Y, HE Q K, WANG Q N, et al. LINC00922 promotes the proliferation, migration, invasion and EMT process of liver cancer cells by regulating miR-424-5p/ARK5[J]. *Mol Cell Biochem*, 2021, 476(10):3757-3769.

[本文编辑] 翟铖铖