

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.07.004

紫甘薯花色苷通过 circ_0003998/miR-145 轴调控乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭

马建萍^a, 宋连川^b, 赵成茂^a, 吕永^a, 李华^c, 汪学昌^c (青海省第五人民医院 a. 乳腺科; b. 病理科; c. 放疗科, 青海西宁 810000)

[摘要] **目的:** 探讨紫甘薯花色苷 (purple sweet potato anthocyanin, PSPA) 是否通过 circ_0003998/miR-145 轴调控乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭。**方法:** 选用乳腺癌 MDA-MB-231 细胞, 将其分为对照组, 200、400 和 800 $\mu\text{g/ml}$ PSPA 组, pcDNA 组、pcDNA-circ_0003998 组、si-NC 组、si-circ_0003998 组、si-circ_0003998+anti-miR-145 组、PSPA+pcDNA 组、PSPA+pcDNA-circ_0003998 组和 PSPA+anti-miR-145 组。用 qPCR 法检测细胞中 circ_0003998 和 miR-145 的表达, CCK-8 法、Transwell 小室法分别检测转染前后细胞的增殖、迁移和侵袭能力, WB 法检测细胞中 Ki-67、MMP-2 和 MMP-9 蛋白的表达。用双荧光素酶报告基因实验验证 circ_0003998 与 miR-145 的靶向关系。**结果:** 与对照组比较, 各剂量 PSPA 组 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制率、miR-145 表达水平均显著升高 (均 $P < 0.01$), Ki-67、MMP-2、MMP-9 蛋白和 circ_0003998 的表达水平、细胞迁移和侵袭细胞数均显著降低 (均 $P < 0.01$), 并呈现浓度依赖性。circ_0003998 可以靶向负调控 miR-145 的表达。敲减 circ_0003998 后, MDA-MB-231 细胞的增殖抑制率、miR-145 表达水平显著升高, Ki-67、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达水平、细胞迁移和侵袭细胞数均显著减少 (均 $P < 0.01$)。共转染 si-circ_0003998 和 anti-miR-145 则可逆转敲减 circ_0003998 表达对 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用, 过表达 circ_0003998 或抑制 miR-145 表达可逆转 PSPA 对 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。**结论:** PSPA 通过 circ_0003998/miR-145 轴抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭。

[关键词] 紫甘薯花色苷; circ_0003998; miR-145; 乳腺癌; MDA-MB-231 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭

[中图分类号] R737.9; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2021)07-0672-08

Purple sweet potato anthocyanin regulates the proliferation, migration and invasion of breast cancer MDA-MB-231 cells through circ_0003998/miR-145 axis

MA Jianping^a, SONG Lianchuan^b, ZHAO Chengmao^a, LYU Yong^a, LI Hua^c, WANG Xuechang^c (a. Department of Breast Medicine, b. Department of Pathology, c. Department of Radiotherapy, the Fifth People's Hospital of Qinghai Province, Xining 810000, Qinghai, China)

[Abstract] Objective: To investigate whether purple sweet potato anthocyanin (PSPA) regulates the proliferation, migration and invasion of breast cancer MDA-MB-231 cells through the circ_0003998/miRNA-145 axis. **Methods:** Breast cancer MDA-MB-231 cells were divided into control group, PSPA groups (200, 400, 800 $\mu\text{g/ml}$ PSPA), pcDNA group, pcDNA-circ_0003998 group, si-NC group, si-circ_0003998 group, si-circ_0003998+anti-miR-145 group, PSPA+pcDNA group, PSPA+pcDNA-circ_0003998 group and PSPA+anti-miR-145 group. The expressions of circ_0003998 and miR-145 in MDA-MB-231 cells were detected by qPCR method. The cell proliferation, migration and invasion abilities were measured by CCK-8 method and Transwell chamber method, respectively. WB was used to detect the protein expressions of Ki-67, MMP-2 and MMP-9 in cells. Dual luciferase reporter gene assay was used to analyze the targeting relationship between circ_0003998 and miR-145. **Results:** Compared with the control group, the proliferation inhibition rate and miR-145 expression level in MDA-MB-231 cells of various PSPA groups increased significantly, while the expression of circ_0003998 and protein expression levels of Ki-67, MMP-2, MMP-9, as well as the number of migrated and invaded cells were significantly reduced (all $P < 0.01$), all of which were in a concentration-dependent manner. circ_0003998 could target and negatively regulate the expression of miR-145. After inhibiting circ_0003998, the proliferation inhibition rate and the expression level of miR-145 in MDA-MB-231 cells were significantly increased, while the protein expression levels of Ki-67, MMP-2 and MMP-9, and

[基金项目] 青海省卫生计生系统科研课题资助项目 (No.2016-WJZD-10)。Project supported by the Scientific Research Project of Health and Family Planning System in Qinghai Province (No.2016-WJZD-10)

[作者简介] 马建萍 (1978—), 女, 硕士, 副主任医师, 主要从事乳腺癌治疗研究, E-mail: majianping1978@163.com

[通信作者] 汪学昌 (WANG Xuechang, corresponding author), 硕士, 副主任医师, 主要从事乳腺癌放疗研究, E-mail: 779662420@qq.com

the number of migrated and invaded cells were significantly reduced (all $P < 0.01$). After co-transfection of si-circ_0003998 and anti-miR-145, the suppression effect of circ_0003998 inhibition on the proliferation, migration and invasion of MDA-MB-231 cells were reversed. circ_0003998 overexpression or miR-145 inhibition could reverse the inhibitory effects of PSPA on the proliferation, migration and invasion of MDA-MB-231 cells. **Conclusion:** PSPA inhibits the proliferation, migration and invasion of breast cancer MDA-MB-231 cells through the circ_0003998/miR-145 axis.

[Key words] purple sweet potato anthocyanin (PSPA); circ_0003998; miR-145; breast cancer; MDA-MB-231 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2021, 28(7): 672-679. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.07.004]

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤,其治疗仍然是一个医学挑战^[1]。因此,迫切需要开发经济上可持续、有效的治疗乳腺癌的药物。紫甘薯是旋花科一年或多年生草本植物,富含花青素。紫甘薯花色苷(purple sweet potato anthocyanin, PSPA)是包含有许多花色苷品种的一类化合物,其化学结构主要由花青素和芍药色素以单酰化和二乙酰化形式组成^[2]。研究^[3-4]表明,PSPA可诱导膀胱癌和肝癌细胞凋亡并抑制细胞增殖,但其在乳腺癌中的作用及其机制尚不清楚。circ_0003998已被证明在肝细胞癌组织及细胞系 HepG2、HuH7、MHCC97H 和非小细胞肺癌组织中表达上调,可作为肝癌诊断和预后的新型潜在生物标志物^[5-6]。研究^[7-8]发现,miR-145 在乳腺癌和宫颈癌组织中低表达。一些circRNA在抗肿瘤药物疗效中起着关键作用^[9]。但PSPA是否通过 circ_0003998/miR-145 轴调控乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭目前还尚未可知。本研究通过检测PSPA对乳腺癌MDA-MB-231细胞增殖、迁移和侵袭的影响,并分析 circ_0003998/miR-145 轴的作用和探讨其潜在的分子机制。

1 材料与方法

1.1 细胞系与主要试剂

乳腺癌细胞 MDA-MB-231 购自美国典藏培养物保存中心。pcDNA、pcDNA-circ_0003998、si-NC、si-circ_0003998、miR-NC、miR-145 mimics、miR-145 inhibitor (anti-miR-145) 购自广州 RiboBio 公司, TRIzol 购自美国 Invitrogen 公司, CCK-8 细胞增殖检测试剂盒购自美国 ApexBio 公司, PrimeScript RT 试剂盒、SYBR Green PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司, RIPA 缓冲液、Bradford 试剂、增强化学发光法 (ECL) 试剂购自美国 Pierce 公司, Matrigel 基质胶购自美国 BD Biosciences 公司, pGL3 荧光素酶载体购自美国 Promega 公司。

PSPA 按文献[3]进行提取,并用细胞培养基稀释成不同质量浓度(200、400、800 $\mu\text{g/ml}$)备用。

1.2 细胞培养、转染与分组

乳腺癌 MDA-MB-231 细胞在含 10% 胎牛血清 (FBS) 的达尔伯克改良的 DMEM 培养基中常规培

养。将 MDA-MB-231 细胞以 1×10^6 个/ml 的密度接种到 6 孔板中,实验分组:对照组, 200、400、800 $\mu\text{g/ml}$ PSPA 组, pcDNA 组 (转染 pcDNA)、pcDNA-circ_0003998 组 (转染 pcDNA-circ_0003998)、si-NC 组 (转染 si-NC)、si-circ_0003998 组 (转染 si-circ_0003998)、si-circ_0003998+anti-miR-145 组 (转染 si-circ_0003998+anti-miR-145)、PSPA+pcDNA 组 (转染 pcDNA+800 $\mu\text{g/ml}$ PSPA)、PSPA+pcDNA-circ_0003998 组 (转染 pcDNA-circ_0003998+800 $\mu\text{g/ml}$ PSPA)、PSPA+anti-miR-145 组 (转染 anti-miR-145+800 $\mu\text{g/ml}$ PSPA)。24 h 后按照 Thermo Fisher 制造商说明书的操作方法,使用 Lipofectamine 2000 试剂按照实验分组进行转染。转染 48 h 后进行细胞分析。另取转染 pcDNA 和 pcDNA-circ_0003998 的 MDA-MB-231 细胞,分别给予 800 $\mu\text{g/ml}$ PSPA 处理 48 h。

1.3 qPCR 法检测 MDA-MB-231 细胞中 circ_0003998 和 miR-145 的表达水平

收集各组转染后 MDA-MB-231 细胞,用 TRIzol 试剂提取细胞中总 RNA 并用 NanoDrop2000 量化。根据 PrimeScript RT 试剂盒说明书的方法,将提取的 RNA 逆转录为 cDNA。用 SYBR Green PCR 试剂盒在 ABI 7900 仪器上进行 qPCR 分析。反应条件:95 $^{\circ}\text{C}$ 3 min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 共 40 个循环。GAPDH 和 U6 分别作为 circRNA 和 miRNA 的内参。circ_0003998 引物序列:上游为 5'-TCCACAGGATCCTTATTCTGC-3', 下游为 5'-GGCTAGGGATAAATCCCCAGGA-3'; GAPDH 上游为 5'-CGCTCTCTGCTCCTCCTGTGTTC-3', 下游为 5'-ATCCGTTGACTCCGACCTTCAC-3'; miR-145 上游为 5'-GTCCAGTTTTCCAGGAATCCCT-3', 下游为 5'-TGGTGTCGTGGAGTCG-3'; U6 上游为 5'-GCTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3', 下游为 5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTTCAT-3'。通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法计算 circ_0003998 和 miR-145 的相对表达量。

1.4 CCK-8 法检测 MDA-MB-231 细胞的增殖能力

将 MDA-MB-231 细胞以每孔 4×10^5 /ml 的密度接种到 96 孔板中。根据 1.2 所述进行分组转染处理,在第 48 h 时将 10 μl CCK-8 试剂添加到每孔中,孵育 2 h 后,使用酶标仪测量 450 nm 波长处的光密度 (D) 值。细胞

增殖抑制率 = (1 - 实验组 D_{450} / 对照组 D_{450}) × 100%。

1.5 Transwell 小室法检测 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力

在预铺基质胶的 Transwell 小室中进行细胞侵袭实验。以无血清 DMEM 培养基稀释细胞, 将 5×10^4 个 MDA-MB-231 细胞加入上室中, 同时将 500 μ l 含有 10% FBS 的 DMEM 作为营养引诱剂添加到下室中。孵育 48 h 后取出 Transwell 小室, 用 4% 多聚甲醛固定穿过膜侵入的细胞, 然后将细胞用 0.1% 结晶紫染色 30 min, 在光学显微镜下计数穿膜细胞。细胞迁移实验除了上室膜上不预铺基质胶外, 其余实验方法均与侵袭实验相同。

1.6 双荧光素酶报告基因实验验证 circ_0003998 与 miR-145 的靶向关系

将包含 miR-145 结合位点的野生型 (WT) 和突变型 (MUT) circ_0003998 克隆到 pGL3 荧光素酶载体中。将 5×10^4 个 MDA-MB-231 细胞接种于 6 孔板中, 将 WT-circ_0003998 或 MUT-circ_0003998 和 miR-145 mimic 或 miR-NC 共转染 48 h 后, 用 Promega 双荧光素酶报告基因系统测定荧光素酶活性。

1.7 WB 法检测 MDA-MB-231 细胞中 Ki-67、MMP-2 和 MMP-9 的表达水平

用 RIPA 缓冲液分离出各组转染后 MDA-MB-231

细胞中的总蛋白, Bradford 法检测蛋白质的浓度。将 40 μ g 蛋白进行 10% SDS-PAGE、转膜, 5% 脱脂奶粉封闭 2 h, 加入相应的 Ki-67 (1:1 000)、MMP-2 (1:1 000)、MMP-9 (1:1 000) 一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日用 PBS 洗涤 4 次, 加入 HRP 标记的羊抗兔 IgG 二抗 (1:5 000) 室温下孵育 1 h 后, 加入 ECL 发光剂进行显影, ImageJ 软件分析蛋白条带与 GAPDH 条带灰度值的比值。

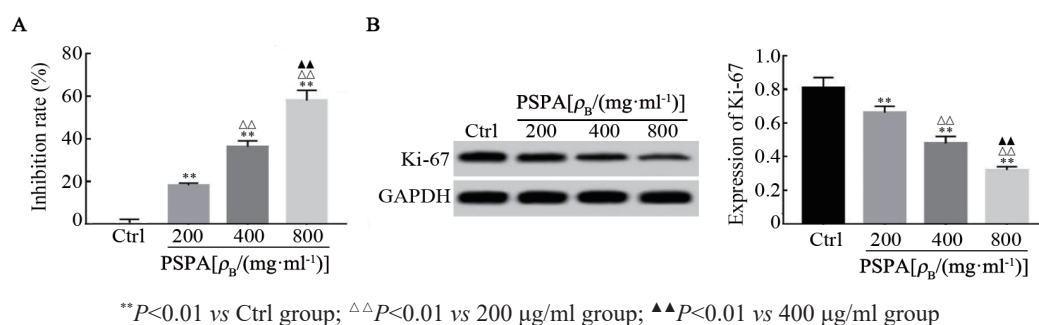
1.8 统计学处理

上述所有实验均重复 3 次。采用 SPSS22.0 统计学软件对实验数据进行统计分析, 呈正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PSPA 抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖能力

用 200、400、800 μ g/ml PSPA 分别处理细胞 48 h 后, CCK-8 法和 WB 检测结果 (图 1) 显示, 与对照组比较, 各剂量组 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制率均显著升高 (均 $P < 0.01$)、Ki-67 蛋白的表达水平均显著降低 (均 $P < 0.01$), 并呈现浓度依赖性。结果表明, PSPA 显著抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖能力。



** $P < 0.01$ vs Ctrl group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs 200 μ g/ml group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ vs 400 μ g/ml group

图1 PSPA对MDA-MB-231细胞增殖(A)和Ki-67(B)表达的影响

Fig.1 Effects of PSPA on proliferation (A) and Ki-67 expression (B) in MDA-MB-231 cells

2.2 PSPA 降低 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力

用 200、400、800 μ g/ml PSPA 分别处理细胞 48 h 后, Transwell 小室法和 WB 法检测结果 (图 2) 显示, 与对照组比较, 各剂量组 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭细胞数均显著下降、MMP-2 和 MMP-9 蛋白表达水平显著降低 (均 $P < 0.01$), 并呈现浓度依赖性, 以 800 μ g/ml 剂量组细胞最为明显。结果表明, PSPA 显著抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力。

2.3 PSPA 下调 MDA-MB-231 细胞中 circ_0003998 和上调 miR-145 表达水平

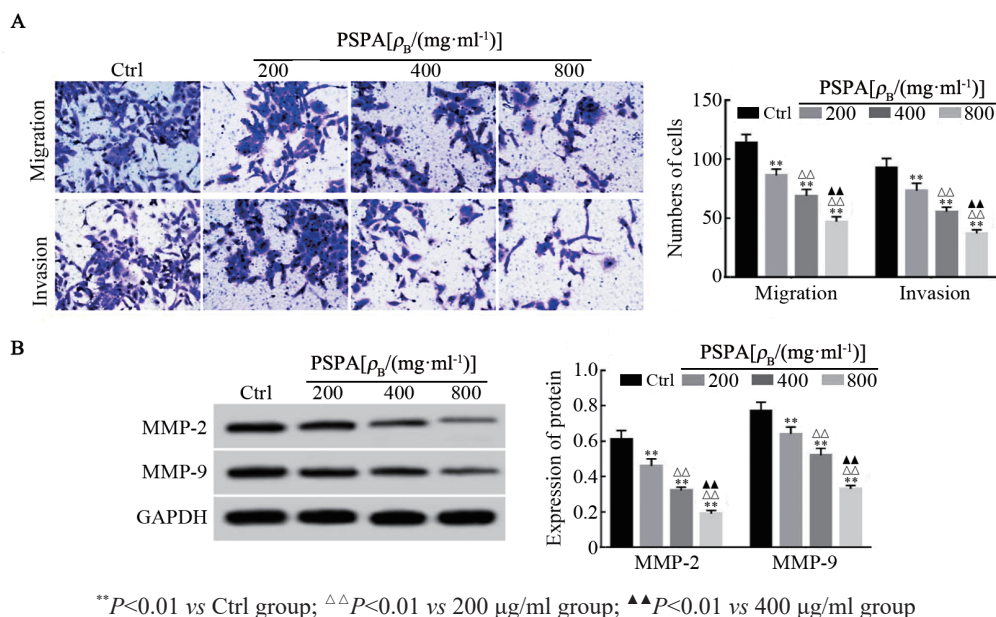
用 200、400、800 μ g/ml PSPA 分别处理细胞 48 h

后, qPCR 法检测结果 (图 3) 显示, 与对照组比较, 各剂量组 MDA-MB-231 细胞中 circ_0003998 表达水平显著降低 (均 $P < 0.01$), 而 miR-145 表达水平显著升高 (均 $P < 0.01$), 并呈现浓度依赖性。

2.4 circ_0003998 靶向调控 miR-145 的表达

在生物信息学 Circular RNA Interactome 软件中预测到 miR-145 是 circ_0003998 的潜在靶基因 (图 4A)。双荧光素酶活性检测结果 (图 4B) 显示, 共转染 miR-145 mimic 与 WT-circ_0003998 的 MDA-MB-231 细胞的荧光素酶活性显著降低 ($P < 0.01$), 而共转染 miR-145 mimic 与 MUT-circ_0003998 的 MDA-MB-231 细胞的荧光素酶活性无明显变化 ($P > 0.05$)。qPCR 法

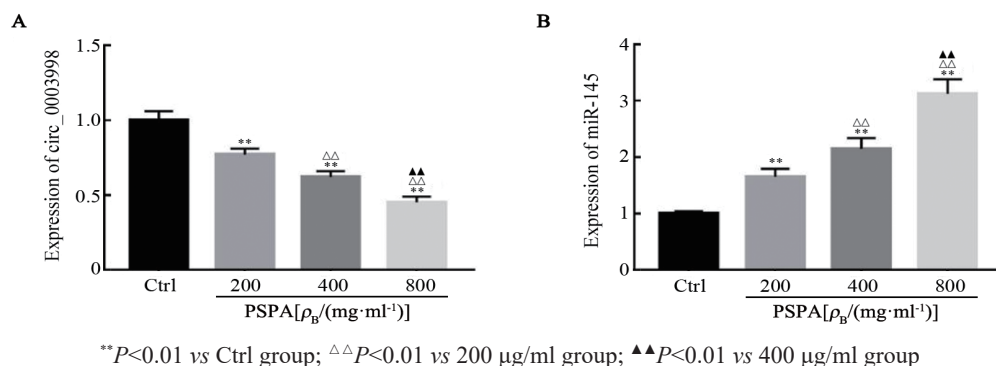
检测结果(图 4C)显示, pcDNA-circ_0003998 组细胞中 miR-145 的表达水平显著低于 pcDNA 组 ($P < 0.01$), 而 si-circ_0003998 组细胞中 miR-145 表达水平显著高于 si-NC 组 ($P < 0.01$)。



** $P < 0.01$ vs Ctrl group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs 200 $\mu\text{g/ml}$ group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ vs 400 $\mu\text{g/ml}$ group

图 2 PSPA 对 MDA-MB-231 细胞迁移、侵袭(A, $\times 200$)及其相关蛋白表达(B)的影响

Fig.2 Effects of PSPA on migration and invasion (A, $\times 200$) as well as their related protein expression (B) MDA-MB-231 cells



** $P < 0.01$ vs Ctrl group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs 200 $\mu\text{g/ml}$ group; $\Delta\Delta\Delta P < 0.01$ vs 400 $\mu\text{g/ml}$ group

图 3 PSPA 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中 circ_0003998(A)和 miR-145(B)表达的影响

Fig.3 Effects of PSPA on the expressions of CIRC_0003998 (A) and miR-145 (B) in breast cancer MDA-MB-231 cells

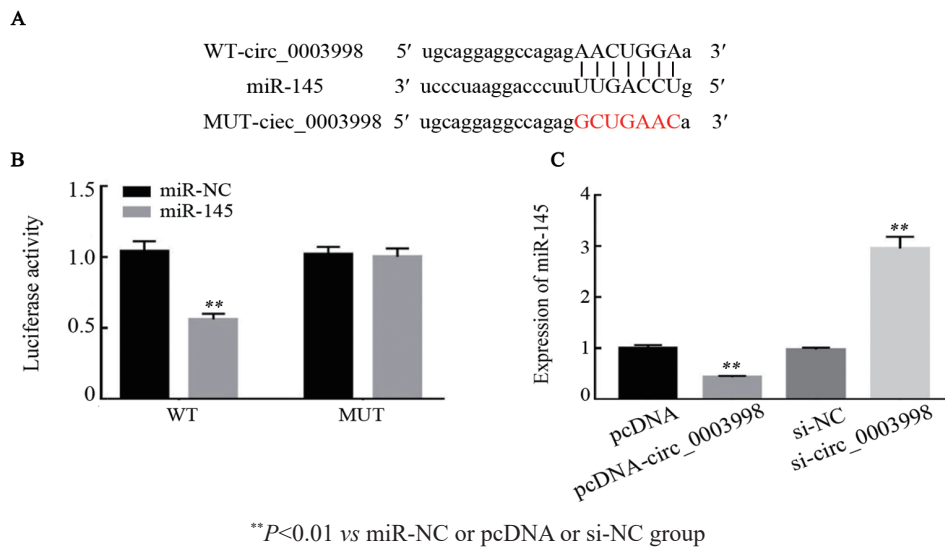
2.5 敲减 circ_0003998 降低 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭能力

转染 si-circ_0003998 后, CCK-8 法、qPCR 法等实验检测结果显示, 与对照组比较: (1) circ_0003998 表达显著降低 ($P < 0.01$, 图 5A), miR-145 表达显著升高 ($P < 0.01$, 图 5B); (2) si-circ_0003998 组 MDA-MB-231 细胞的增殖抑制率显著升高 ($P < 0.01$, 图 5C); (3) 迁移和侵袭细胞数显著减少 (均 $P < 0.01$, 图 5D); (4) Ki-67、MMP-2 和 MMP-9 表达均显著降低 (均 $P < 0.01$, 图 5E)。共转染 si-circ_0003998 和 anti-miR-145, 则可逆转敲减 circ_0003998 表达对 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用。

2.6 过表达 circ_0003998 或抑制 miR-145 表达可逆转 PSPA 对 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭能力的抑

制作用

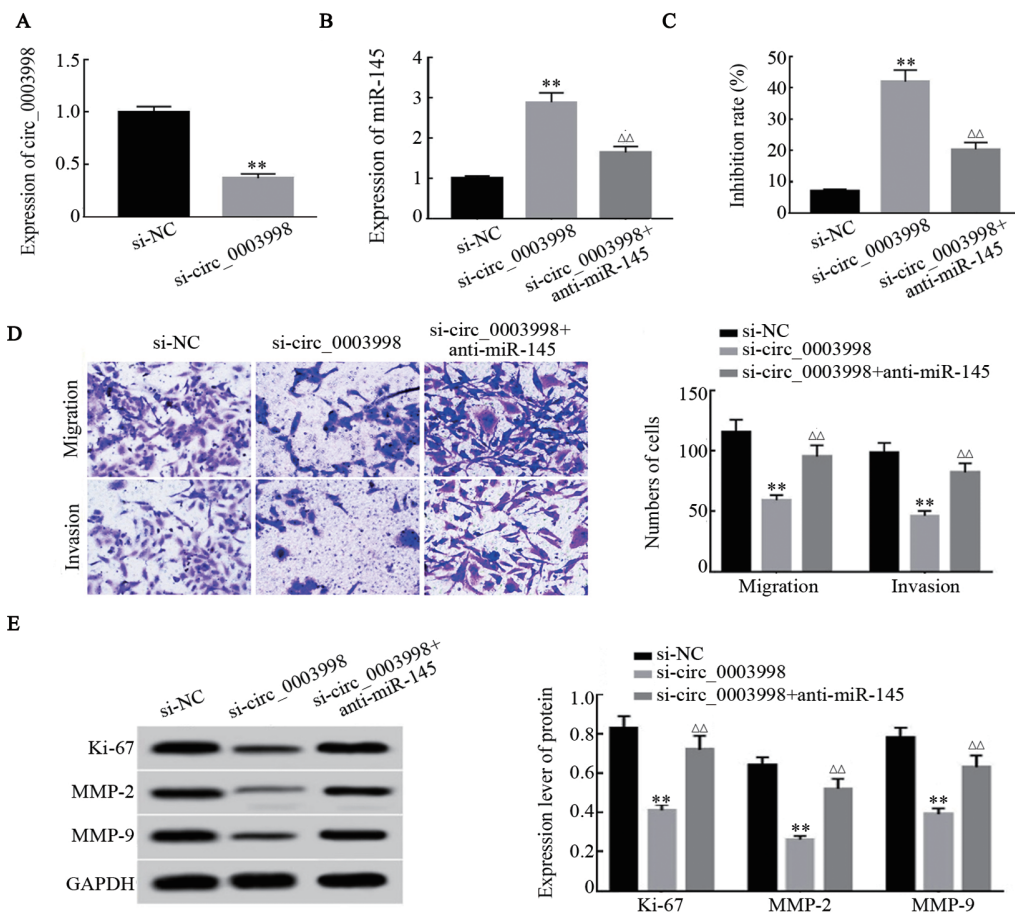
转染 pcDNA-circ_0003998 或 anti-miR-145 并给于 800 $\mu\text{g/ml}$ PSPA 处理后, qPCR 法、CCK-8 法等实验检测结果显示, 与 PSPA+pcDNA 组比较: (1) PSPA+pcDNA-circ_0003998 组 MDA-MB-231 细胞中 circ_0003998 表达显著升高 ($P < 0.01$, 图 6A); (2) PSPA+pcDNA-circ_0003998 组和 PSPA+anti-miR-145 组细胞中 miR-145 表达均显著降低 (均 $P < 0.01$, 图 6B), 细胞的增殖抑制率均显著下降 (均 $P < 0.01$, 图 6C), 迁移和侵袭细胞数均显著增多 (均 $P < 0.01$, 图 6D), 细胞中 Ki-67、MMP-2 和 MMP-9 表达均显著升高 (均 $P < 0.01$, 图 6E)。结果表明, 过表达 circ_0003998 或抑制 miR-145 表达均可逆转 PSPA 对 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭能力的抑制作用。



A: The sequence of circ_0003998 contains nucleotide sequence complementary to miR-145;
 B: Dual luciferase reporter gene assay; C: circ_0003998 regulated the expression of miR-145

图4 circ_0003998 靶向调控 miR-145 的表达

Fig.4 circ_0003998 targetedly regulated the expression of miR-145

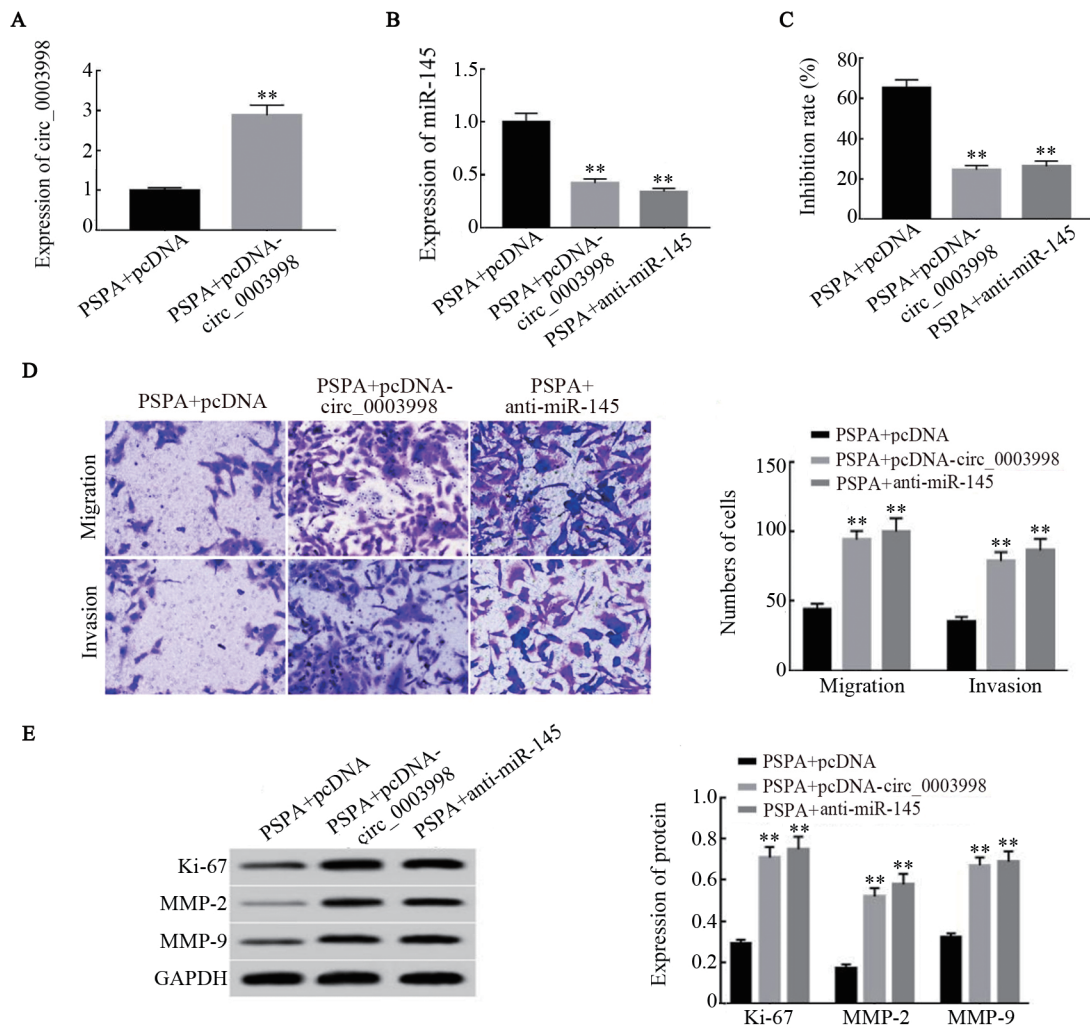


A and B: The expressions of miR-145 and circ_0003998 in cells were detected by qPCR; C: CCK-8 assay was used to detect the proliferation inhibition rate of cells; D: Transwell assay was used to assess the migration and invasion ability of cells (×200);

E: WB assay was used to detect the expression of related proteins in cells

图5 敲减 circ_0003998 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭的影响

Fig.5 Effects of circ_0003998 knockdown on proliferation, migration and invasion of breast cancer MDA-MB-231 cells



** $P < 0.01$ vs PSPA+pcDNA group

A and B: The expressions of miR-145 and circ_0003998 in cells were detected by qPCR; C: CCK-8 assay was used to detect the proliferation inhibition rate of cells; D: Transwell assay was used to assess the migration and invasion ability of cells ($\times 200$); E: WB assay was used to detect the expression of related proteins in cells

图6 过表达 circ_0003998 或抑制 miR-145 表达可逆转 PSPA 对 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用

Fig.6 Overexpression of circ_0003998 or inhibition of miR-145 reversed the inhibitory effects of PSPA on proliferation, migration and invasion of MDA-MB-231 cells

3 讨论

PSPA 具有多种生物活性,包括抗氧化、抗菌、降血糖、抗肿瘤等^[10-13]。据报道^[14],PSPA 对乳腺癌 MCF-7、结肠癌 HCT-116 和宫颈癌 HeLa 细胞均具有潜在的抗增殖特性。100、300 和 500 $\mu\text{g/ml}$ PSPA 以剂量依赖方式抑制膀胱癌细胞的增殖活力,促进细胞凋亡并诱导 G2/M 期阻滞,在膀胱癌细胞中发挥抗肿瘤作用^[15]。紫甘薯台农 73 的提取物可以浓度和时间依赖方式抑制某些癌细胞的增殖,例如人乳腺癌 MCF-7 细胞、胃癌 SNU-1 细胞和结肠腺癌 WiDr 细胞,还能以浓度依赖的方式有效抑制乳腺癌 MCF-7 细胞的迁移并诱导其凋亡^[16]。然而,PSPA 在乳腺癌 MDA-MB-231 细胞中发挥的作用机制尚未明了。本

研究以 200、400、800 $\mu\text{g/ml}$ 质量浓度的 PSPA 分别处理 MDA-MB-231 细胞 48 h 后,发现该细胞的增殖、迁移和侵袭能力均被减弱,相关蛋白 Ki-67、MMP-2、MMP-9 的表达也被抑制,且这种抑制作用随 PSPA 质量浓度的增加而逐渐增强,表明 PSPA 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖和迁移的抑制作用,此结果为 PSPA 用于乳腺癌的临床治疗提供了新的依据。

共价闭合的 circRNA 通过外显子(3'和 5'末端)或前体 mRNA 内含子的反向剪接产生^[17]。研究^[18]表明,circRNA 在肿瘤中异常表达,并且在生物学过程中起着至关重要的作用。circ_0003998 在骨肉瘤组织和细胞中表达上调,下调其表达可抑制骨肉瘤细胞的增殖和侵袭^[19]。肺腺癌组织和多西他赛耐药细胞 A549/DTX 和 H1299/DTX 中的 circ_0003998 表达上

调,敲减 circ_0003998 可降低耐多西他赛肺腺癌细胞的化疗耐药性,抑制细胞增殖并促进凋亡^[20]。与邻近的正常肝组织相比,肝癌组织中 circ_0003998 的表达明显上调,且与肝癌的侵袭性相关, circ_0003998 在体外和体内均可促进肝癌细胞的上皮间质转化^[21]。上述研究表明, circ_0003998 是一种促癌因子,具有加速肿瘤发生发展的作用。在本研究中, PSPA 以浓度依赖的方式降低 MDA-MB-231 细胞中 circ_0003998 表达水平,提示 PSPA 抗乳腺癌细胞增殖和迁移的作用与下调 circ_0003998 的表达有关;体外功能实验表明,敲减 circ_0003998 表达能抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭能力,此与其他相关研究结果^[9,18]一致。

最近的研究表明了 circRNA 的关键功能,如对 miRNA 或 RNA 结合蛋白的海绵化,对蛋白质翻译、转录和剪接调控^[22-23]。研究^[19]证实, circRNA 可通过调控 miRNA 表达发挥其生物学功能,例如 circ_0003998 通过与 miR-197-3p 结合上调 Krüppel 样因子 10 的表达,从而促进骨肉瘤细胞的增殖与侵袭,并加速骨肉瘤的发展。 circ_0003998 通过靶向 miR-326 促进肺腺癌细胞化疗药物耐受性^[18]。因此推测, circ_0003998 可能通过调控某些 miRNA 的表达促进乳腺癌的进展。通过生物信息学预测, miR-145 为 circ_0003998 可能的结合靶点。 miR-145 已被鉴定为多种肿瘤中的抑癌因子,在乳腺癌中具有抑制细胞增殖和迁移的作用^[24-25]。在 MDA-MB-231 细胞中过表达 circ_0003998 可以减弱 miR-145 表达,敲减 circ_0003998 可以上调 miR-145 的表达水平,表明 circ_0003998 对 miR-145 表达具有负调控作用。敲减 circ_0003998 产生抗 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭作用可被抑制 miR-145 表达所逆转。过表达 circ_0003998 或抑制 miR-145 表达后, PSPA 对 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用,以及上调 miR-145 表达的抑制作用则均可被逆转。研究结果表明, PSPA 通过 circ_0003998/miR-145 轴发挥抑制乳腺癌 MDA-MB-231 细胞增殖、迁移和侵袭的作用。

总之,本研究结果表明 PSPA 在乳腺癌中通过抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移和侵袭发挥抗肿瘤作用,这与 circ_0003998/miR-145 轴有关,研究结果为乳腺癌的治疗方案提供了一种潜在的抗肿瘤药物。

[参考文献]

- [1] FISUSI F A, AKALA E O. Drug combinations in breast cancer therapy[J]. *Pharm Nanotechnol*, 2019, 7(1): 3-23. DOI: 10.2174/2211738507666190122111224.
- [2] LI A R, XIAO R S, HE S J, et al. Research advances of purple sweet potato anthocyanins: extraction, identification, stability, bioactivity, application, and biotransformation[J/OL]. *Molecules*, 2019, 24(21): E3816[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6864833/>. DOI:10.3390/molecules24213816.
- [3] 李卫林,季广华,章新展,等. 紫甘薯花色苷对膀胱癌 BIU87 细胞增殖的影响及其机制探讨[J]. *中华医学杂志*, 2018, 5(6): 457-459. DOI:10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.06.013.
- [4] 曹东旭,董海叶,李妍,等. 紫甘薯花色苷对人肝癌细胞 HepG2 的作用[J]. *天津科技大学学报*, 2011, 26(2): 9-12. DOI:10.13364/j.issn.1672-6510.2011.02.019.
- [5] QIAO G L, CHEN L, JIANG W H, et al. Hsa_circ_0003998 may be used as a new biomarker for the diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 5849-5860[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6650091/>. DOI:10.2147/OTT.S210363.
- [6] YU W J, JIANG H, ZHANG H H, et al. Hsa_circ_0003998 promotes cell proliferation and invasion by targeting miR-326 in non-small cell lung cancer[J/OL]. *Onco Targets Ther*, 2018, 11: 5569-5577[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6135432/>. DOI: 10.2147/OTT.S174750.
- [7] DING Y L, ZHANG C F, ZHANG J H, et al. miR-145 inhibits proliferation and migration of breast cancer cells by directly or indirectly regulating TGF- β 1 expression[J]. *Int J Oncol*, 2017, 50(5): 1701-1710. DOI:10.3892/ijo.2017.3945.
- [8] LI Q, YU X H, YANG L L. MiR-145 inhibits cervical cancer progression and metastasis by targeting WNT2B by Wnt/ β -catenin pathway[J/OL]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2019, 12(10): 3740-3751[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6949761/>.
- [9] ZHU M Z, LI M, ZHOU W J, et al. Qianggan extract improved nonalcoholic steatohepatitis by modulating lncRNA/circRNA immune ceRNA networks[J/OL]. *BMC Complement Altern Med*, 2019, 19(1): 156[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6609373/>. DOI:10.1186/s12906-019-2577-6.
- [10] 王洪云,张毅,孔秀林,等. 紫甘薯花色苷体内外抗氧化能力研究[J]. *江苏师范大学学报(自然科学版)*, 2019, 37(4): 32-36, 48. DOI: 10.3969/j.issn.2095-4298.2019.04.007.
- [11] 易军鹏,杨亚皇,李欣,等. 蒸汽爆破预处理对紫甘薯花色苷抗氧化性及抑菌性的影响[J]. *农产品加工*, 2019(19): 25-30. DOI: 10.16693/j.cnki.1671-9646(X).2019.10.007.
- [12] ZHAO J G, YAN Q Q, LU L Z, et al. In vivo antioxidant, hypoglycemic, and anti-tumor activities of anthocyanin extracts from purple sweet potato[J/OL]. *Nutr Res Pract*, 2013, 7(5): 359-365[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3796660/>. DOI:10.4162/nrp.2013.7.5.359.
- [13] ZHUANG J, LU J, WANG X, et al. Purple sweet potato color protects against high-fat diet-induced cognitive deficits through AMPK-mediated autophagy in mouse hippocampus[J]. *J Nutr Biochem*, 2019, 65: 35-45. DOI:10.1016/j.jnutbio.2018.10.015.
- [14] VISHNU V R, RENJITH R S, MUKHERJEE A, et al. Comparative study on the chemical structure and *in vitro* antiproliferative activity of anthocyanins in purple root tubers and leaves of sweet potato (*Ipomoea batatas*)[J]. *J Agric Food Chem*, 2019, 67(9): 2467-2475. DOI:10.1021/acs.jafc.8b05473.
- [15] LI W L, YU H Y, ZHANG X J, et al. Purple sweet potato anthocyanin exerts antitumor effect in bladder cancer[J]. *Oncol*

- Rep, 2018, 40(1): 73-82. DOI:10.3892/or.2018.6421.
- [16] SUGATA M, LIN C Y, SHIH Y C. Anti-inflammatory and anticancer activities of Taiwanese purple-fleshed sweet potatoes (*Ipomoea batatas* L. lam) extracts[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2015, 2015: 768093[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4609785/>. DOI:10.1155/2015/768093.
- [17] LI X, YANG L, CHEN L L. The biogenesis, functions, and challenges of circular RNAs[J]. *Mol Cell*, 2018, 71(3): 428-442. DOI:10.1016/j.molcel.2018.06.034.
- [18] 秦静, 刘丽华. 环状RNA在胃癌诊断和治疗中作用的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(1): 97-101. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2021.01.015.
- [19] WANG L, DU Z G, HUANG H, et al. Circ-0003998 promotes cell proliferative ability and invasiveness by binding to miR-197-3p in osteosarcoma[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(24): 10638-10646. DOI:10.26355/eurev_201912_19761.
- [20] YU W J, PENG W D, SHA H Y, et al. Hsa_circ_0003998 promotes chemoresistance via modulation of miR-326 in lung adenocarcinoma cells[J/OL]. *Oncol Res*, 2019, 27(5): 623-628[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7848394/>. DOI: 10.3727/096504018X15420734828058.
- [21] SONG L N, QIAO G L, YU J, et al. Hsa_circ_0003998 promotes epithelial to mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma by sponging miR-143-3p and PCBP1[J/OL]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 114[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7302140/>. DOI:10.1186/s13046-020-01576-0.
- [22] 孟德峰, 李长仔, 吴春涛. 环状RNA FBXO11 靶向miR-376a-3p/SNRPB 轴调控胃癌 SNU-1 细胞的增殖与凋亡[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2021, 28(4): 370-377. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2021.04.009.
- [23] VO J N, CIESLIK M, ZHANG Y, et al. The landscape of circular RNA in cancer[J]. *Cell*, 2019, 176(4): 869-881. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30735636/>. DOI:10.1016/j.cell.2018.12.021.
- [24] JIANG Y, WANG D, REN H, et al. MiR-145-targeted HBXIP modulates human breast cancer cell proliferation[J/OL]. *Thorax Cancer*, 2019, 10(1): 71-77[2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6312848/>. DOI:10.1111/1759-7714.12903.
- [25] ZHAO H, KANG X, XIA X, et al. miR-145 suppresses breast cancer cell migration by targeting FSCN-1 and inhibiting epithelial-mesenchymal transition[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(7): 3106-3114 [2020-12-05]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4969447/>.
- [收稿日期] 2021-02-07 [修回日期] 2021-05-30
[本文编辑] 党瑞山