

· 基础研究 ·

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.004

lncRNA SNHG14 通过靶向 miR-433-3p 调控甲状腺癌 SW579 细胞的恶性生物学行为

马文彪, 石博, 夏蕾, 乜茹, 桑子江, 马鑫(青海省人民医院 乳甲科, 青海 西宁 810001)

[摘要] **目的:** 探讨 lncRNA SNHG14 对甲状腺癌 SW579 细胞恶性生物学行为的影响及其分子机制。**方法:** 收集 2017 年 10 月至 2018 年 12 月青海省人民医院收治的 20 例甲状腺癌患者的癌组织及癌旁组织标本, 用 qPCR 检测甲状腺癌组织和对应癌旁组织中 SNHG14 与 miR-433-3p 的表达; 根据转染物的不同, 将 SW579 细胞分为 si-NC 组(转染 si-NC)、si-SNHG14 组(转染 si-SNHG14)、miR-NC 组(转染 miR-NC)、miR-433-3p mimic 组(转染 miR-433-3p mimic)、si-SNHG14+anti-miR-NC 组(共转染 si-SNHG14 与 anti-miR-NC)和 si-SNHG14+anti-miR-433-3p 组(共转染 si-SNHG14 与 anti-miR-433-3p)。MTT 法、FCM、Transwell 实验分别检测转染后 SW579 细胞的增殖能力、细胞周期、细胞凋亡率、迁移及侵袭能力的改变; 利用双荧光素酶报告基因实验检测 SNHG14 是否可结合 miR-433-3p, qPCR 法检测 SNHG14 与 miR-433-3p 之间的相互调控关系。**结果:** SNHG14 在甲状腺癌组织中的表达高于癌旁组织($P<0.05$), 而 miR-433-3p 的表达水平低于癌旁组织($P<0.05$)。抑制 SNHG14 的表达或过表达 miR-433-3p 可使 SW579 细胞增殖能力降低($P<0.05$)、迁移与侵袭细胞数减少(均 $P<0.05$)、细胞凋亡率升高($P<0.05$)、G1 期细胞比例升高($P<0.05$)且 S 期细胞比例降低($P<0.05$)。双荧光素酶报告基因实验证明 SNHG14 可结合 miR-433-3p, 抑制 SNHG14 的表达可提高 SW579 细胞中 miR-433-3p 水平(均 $P<0.05$)。同时抑制 miR-433-3p 和 SNHG14 的表达可部分逆转后者对 SW579 细胞的增殖、凋亡、迁移和侵袭的作用(均 $P<0.05$)。**结论:** 甲状腺癌组织中 lncRNA SNHG14 呈高表达、miR-433-3p 呈低表达, lncRNA SNHG14 可通过靶向结合 miR-433-3p 促进甲状腺癌 SW579 细胞的增殖、迁移、侵袭而抑制细胞凋亡。

[关键词] 甲状腺癌; lncRNA SNHG14; miR-433-3p; SW579 细胞; 增殖; 迁移; 侵袭; 凋亡

[中图分类号] R736.1; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2022)06-0534-07

lncRNA SNHG14 regulates the malignant biological behaviors of thyroid cancer SW579 cells by targeting miR-433-3p

MA Wenbiao, SHI Bo, XIA Lei, YAO Ru, SANG Zijiang, MA Xin (Department of Breast and Thyroid, Qinghai Provincial People's Hospital, Xining 810001, Qinghai, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of lncRNA SNHG14 on the malignant biological behaviors of thyroid cancer SW579 cells and its mechanism. **Methods:** The cancer tissue and paracancerous tissue samples of 20 patients with thyroid cancer admitted to Qinghai Provincial People's Hospital from October 2017 to December 2018 were collected. The expression of SNHG14 and miR-433-3p in thyroid carcinoma tissues and corresponding paracancerous tissues was determined by qPCR. Depending on the transfectant, SW579 cells were divided into the si-NC group (transfected with si-NC), si-SNHG14 group (transfected with si-SNHG14), miR-NC group (transfected with miR-NC), and miR-433-3p mimic group (transfected with miR-433-3p mimic), si-SNHG14+anti-miR-NC group (co-transfected with si-SNHG14 and anti-miR-NC), and si-SNHG14+anti-miR-433-3p group (co-transfected with si-SNHG14 and anti-miR-433-3p). MTT method, FCM, and Transwell test were used to detect the changes in proliferation, cell cycle, apoptosis rate, migration, and invasion ability of SW579 cells after transfection, respectively. The dual-luciferase reporter gene assay was employed to analyze whether SNHG14 could bind to miR-433-3p, and the regulation relationship between SNHG14 and miR-433-3p was detected by qPCR. **Results:** Compared with the paracancerous tissues, the expression of SNHG14 in thyroid carcinoma tissues was significantly increased while the expression level of miR-433-3p was obviously decreased (all $P<0.05$). SNHG14 inhibition or miR-433-3p overexpression could reduce cell proliferation, the number of migrated and invaded cells ($P<0.05$), increase the rate of apoptosis ($P<0.05$) and the proportion of cells in the G1 phase ($P<0.05$), and decrease the proportion of cells in the S phase ($P<0.05$). Dual-luciferase reporter gene assay demonstrated that SNHG14 could bind to miR-433-3p, and inhibition of SNHG14 expression could promote the expression of miR-433-3p in SW579 cells (all $P<0.05$). Simultaneous inhibition of miR-

[基金项目] 2020 年青海省卫生健康科研课题资助项目 (No.2020-wjzdx-42)

[作者简介] 马文彪 (1971—), 男, 回族, 副主任医师, 主要从事甲状腺和乳腺恶性肿瘤研究, E-mail: mpo067@163.com

[通信作者] 石博, E-mail: borg_doctor@163.com

433-3p expression partially reversed the inhibitory effect of SNHG14 downregulation on cell proliferation, apoptosis, migration, and invasion of SW579 cells (all $P < 0.05$). **Conclusion:** lncRNA SNHG14 is highly expressed while miR-433-3p is lowly expressed in thyroid cancer tissues. lncRNA SNHG14 can promote the proliferation, migration and invasion and inhibit apoptosis of thyroid cancer SW579 cells by targeted binding to miR-433-3p.

[Key words] thyroid cancer; lncRNA SNHG14; miR-433-3p; SW579 cell; proliferation; migration; invasion; apoptosis

[Chin J Cancer Biother, 2022, 29(6): 534-540. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2022.06.004]

甲状腺癌是临床常见恶性肿瘤之一,其主要病理类型为甲状腺乳头状癌,目前临床主要采用手术与放射性碘消融等方法治疗,但其发病率仍逐年升高^[1]。早期筛查甲状腺癌并给予及时治疗有助于降低甲状腺癌病死率^[2]。研究^[3]表明,长链非编码 RNA (lncRNA) 在甲状腺癌中异常表达并可参与肿瘤发生发展过程。lncRNA SNHG14 在肺癌、卵巢癌、乳腺癌等多种肿瘤中呈高表达且发挥致癌基因作用^[4-6],但 SNHG14 对甲状腺癌细胞生物学行为的影响及其具体机制尚不清楚。本课题组利用 StarBase 数据库进行预测发现 miR-433-3p 可能是 SNHG14 的靶基因。研究^[7]表明,miR-433 在甲状腺癌细胞中呈低表达,过表达 miR-433 可抑制甲状腺癌细胞增殖。本研究主要探讨甲状腺癌组织中 SNHG14 与 miR-433-3p 的表达,采用体外细胞实验检测抑制 SNHG14 的表达对甲状腺癌 SW579 细胞的恶性生物学行为的影响及其可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 组织标本的收集及患者的临床资料

收集 2017 年 10 月至 2018 年 12 月青海省人民医院收治的 20 例甲状腺癌患者的癌组织及癌旁组织标本,均经病理证实为甲状腺癌。其中男性 10 例、女性 10 例,年龄为 50~70 岁,中位数年龄为 61.33 岁。肿瘤直径 >1 cm 者 8 例、≤1 cm 者 12 例;TNM 分期为 I 期、II 期患者共 13 例,III 期、IV 期患者共 7 例;发生淋巴结转移者 14 例,未发生淋巴结转移者 6 例;肿瘤个数为单个者 15 例、多个者 5 例;有侵犯包膜现象者 4 例,未侵犯包膜者 16 例。所有患者均签署知情同意书,本研究方案已获得青海省人民医院伦理委员会批准(批注号为 No. 2022-81)。

1.2 实验用细胞与试剂

甲状腺癌细胞 SW579 购自美国 ATCC 细胞库。SNHG14 小干扰 RNA (si-SNHG14) (5'-UCGUACUAUCUAGCUACU-3') 及其对照无意义阴性序列 (si-NC)、miR-433-3p 模拟物 (mimic) (5'-CGUACUAGUCAGUCGUA-3') 及其阴性对照 (miR-NC)、miR-433-3p 特异性寡核苷酸抑制剂 (anti-miR-433-3p) (5'-GAUCGAUCGCCGAUCGCCCAUUUUU-3') 及其阴性对照 (anti-miR-NC) 均购自广州锐博生物公

司,反转录试剂盒、SYBR Green 试剂盒均购自大连宝生物工程公司,MTT、凋亡检测试剂盒均购自美国 Sigma 公司,兔抗人 E-cadherin 抗体购自美国 CST 公司,兔抗人 caspase-3 前体 (Pro-caspase-3)、抗裂解型 caspase-3 (cleaved caspase 3, C-caspase-3)、抗 Ki67 及抗 N-cadherin 抗体均购自美国 Santa Cruz 公司,HRP 标记的羊抗兔二抗购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.3 分组及细胞转染

将生长至约 70% 汇合的 SW579 细胞在 Opti-MEM 减血清培养基中培养,利用 Lipofectamine™2000 试剂进行转染。实验分成 6 组: si-NC 组 (转染 si-NC)、si-SNHG14 组 (转染 si-SNHG14)、miR-NC 组 (转染 miR-NC)、miR-433-3p mimic 组 (转染 miR-433-3p mimic)、si-SNHG14+anti-miR-NC 组 (si-SNHG14 与 anti-miR-NC 共转染)、si-SNHG14+anti-miR-433-3p 组 (si-SNHG14 与 anti-miR-433-3p 共转染)。转染后,采用 qPCR 法检测转染后各组细胞中 SNHG14 和 miR-433-3p 的表达水平以鉴定转染后的敲减或过表达效果。

1.4 qPCR 检测甲状腺癌组织和细胞中 SNHG14、miR-433-3p 的表达水平

采用 TRIzol 法分别提取甲状腺癌组织、癌旁组织和 6 组转染后 SW579 细胞的总 RNA,参照反转录试剂盒、SYBR Green 试剂盒说明书操作,合成 cDNA 后配制 qPCR 反应体系,以 cDNA 为模板进行 qPCR。PCR 参数:预变性 95 °C 5 min;95 °C 15 s、58 °C 30 s、72 °C 30 s,共 40 个循环;72 °C 终延伸 10 min。根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算 SNHG14、miR-433-3p 的相对表达量。SNHG14 的正向引物为 5'-GCAACCAGAGCGTGAAGAA-3',反向引物为 5'-ACCCGAGCAATGCCAGTA-3'; GAPDH 的正向引物为 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',反向引物为 5'-GGCTGTGTGTCATACTTCTCATGG-3'; miR-433-3p 的正向引物为 5'-AACGAGCTTGTGGCCGACG-3',反向引物为 5'-TGCGGCGTTTTGAACGACTGC-3'; U6 的正向引物为 5'-GTCGTCGAAACTGCTGGG-3',反向引物为 5'-TGACGCTGCGTTGGCAAGTC-3'。

1.5 MTT 法检测转染后各组 SW579 细胞的增殖能力在 96 孔板中分别接种 6 组 SW579 细胞 (3×10^3 个/

孔), 每组设置3个复孔, 于转染24、48、72 h后加入20 μL MTT溶液(5 mg/mL), 室温下放置4 h后, 加入150 μL DMSO振荡10 min, 酶标仪检测光密度(D)值, 以 D 值代表细胞增殖能力。

1.6 流式细胞术检测转染后各组SW579细胞的细胞周期和凋亡情况

细胞周期检测:取6组转染后的对数生长期SW579细胞(1×10^6 个/mL), 每200 μL 加入500 μL 预冷PBS, 加入70%乙醇3.5 mL, 离心后弃上清液, 向细胞沉淀中加入RNase A 50 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min, 加入PI染液450 μL , 4 $^{\circ}\text{C}$ 处理30 min, 应用流式细胞仪检测各组细胞周期。细胞凋亡检测:分别取6组转染后对数生长期SW579细胞, 在500 μL 结合缓冲液中悬浮, 按照凋亡检测试剂盒说明书操作, 以流式细胞仪检测各组细胞凋亡率。

1.7 Transwell实验检测转染后各组SW579细胞的迁移和侵袭能力

侵袭实验中, 取40 μL 预冷培养液稀释后的人工基膜(metrigel)平铺上室后放置5 h, 待晾干后开始实验。迁移实验则不预铺人工基膜。将200 μL 对数生长期的转染后各组的SW579细胞(5×10^4 个/mL)加至Transwell上室, 取600 μL 含10%胎牛血清的培养液加至Transwell下室, 于培养箱内培养24 h, 移除未穿膜细胞后, 用多聚甲醛固定侵袭或迁移细胞10 min, 1%结晶紫染液染色10 min, 显微镜(200倍)下观察并计数, 以随机选取的5个视野中细胞数的平均值为侵袭或迁移细胞数。

1.8 双荧光素酶报告基因实验验证SNHG14与miR-433-3p间的靶向结合

采用StarBase软件预测发现SNHG14与miR-433-3p的序列间存在结合位点。构建携带野生型SNHG14基因的载体SNHG14-WT和携带突变型SNHG14基因的载体SNHG14-MUT。取对数生长期SW579细胞, 按转染处理的不同分为4组: SNHG14-WT+miR-NC共转染组、SNHG14-WT+miR-433-3p mimic共转染组、SNHG14-MUT+miR-NC共转染组和SNHG14-MUT+miR-433-3p mimic共转染组。转染24 h后收集SW579细胞, 检测各组细胞中荧光素酶的活性水平。为进一步验证SNHG14与miR-433-3p之间的调控作用, 取对数生长期SW579细胞, 按转染处理的不同分成4组: pcDNA3.1组、pcDNA3.1-SNHG14组、si-NC组、si-SNHG14组, 转染24 h后采用qPCR法检测各组细胞中miR-433-3p的水平。

1.9 WB法检测转染后各组SW579细胞中E-cadherin、C-caspase-3、Pro-caspase-3、Ki67、N-cadherin蛋白的表达

收集6组SW579细胞, 在冰上用RIPA裂解

30 min, 进行细胞总蛋白抽提, 蛋白经SDS-PAGE常规分离、转PVDF膜后封闭2 h, 分别加入一抗E-cadherin、C-caspase3、Pro-caspase3、Ki67、N-cadherin(稀释度均为1:1 000)后在4 $^{\circ}\text{C}$ 下处理过夜, 加入二抗(稀释度为1:2 000)后在室温下处理1 h, 化学发光法曝光显影, 各条带灰度值采用ImageJ软件进行分析。

1.10 统计学处理

所有实验均独立重复3次。采用SPSS21.0统计学软件分析数据, 本研究所有数据均属于计量资料且均符合正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间比较采用独立样本 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 甲状腺癌组织中SNHG14呈高表达而miR-433-3p呈低表达

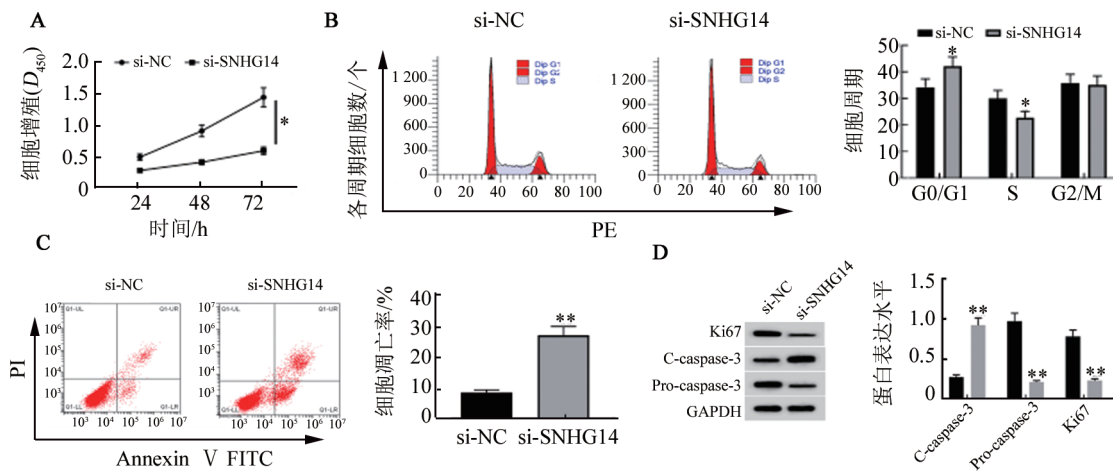
qPCR实验结果显示, 甲状腺癌组织中SNHG14的表达水平显著高于癌旁组织(0.25 ± 0.02 vs 0.86 ± 0.09 , $P < 0.01$), miR-433-3p的表达水平显著低于较癌旁组织(0.64 ± 0.06 vs 0.17 ± 0.02 , $P < 0.01$)。

2.2 敲减SNHG14可抑制SW579细胞增殖且诱导其凋亡

qPCR实验结果显示, 与si-NC组相比, si-SNHG14组SW579细胞中SNHG14的表达水平显著降低(0.36 ± 0.03 vs 0.88 ± 0.09 , $P < 0.05$)。MTT法、FCM检测结果显示, 与si-NC组相比, si-SNHG14组SW579细胞的增殖能力降低($P < 0.05$, 图1A), G1期细胞比例增加、S期细胞比例减少(均 $P < 0.01$, 图1B), 细胞凋亡率增加($P < 0.05$, 图1C)。WB法检测结果(图1D)显示, 与si-NC组相比, si-SNHG14组SW579细胞中Ki67、Pro-caspase-3蛋白表达量降低(均 $P < 0.01$), 而C-caspase-3蛋白表达量升高($P < 0.01$)。这些结果说明, 敲减SNHG14可明显抑制SW579细胞的增殖能力, 并诱导其凋亡。

2.3 敲减SNHG14表达可抑制SW579细胞的迁移、侵袭和EMT进程

Transwell实验结果(图2A)显示, 与si-NC组相比, si-SNHG14组SW579细胞的迁移细胞数[(68 ± 7.10) vs (152 ± 15.78)个, $P < 0.05$]与侵袭细胞数[(62 ± 6.33) vs (139 ± 14.21)个, $P < 0.05$]均显著减少。WB法检测结果(图2B)显示, 与si-NC组相比, si-SNHG14组SW579细胞中E-cadherin蛋白表达量显著增加(0.80 ± 0.08 vs 0.34 ± 0.03 , $P < 0.05$), N-cadherin蛋白表达量显著减少(0.27 ± 0.03 vs 0.88 ± 0.09 , $P < 0.05$)。这些结果说明, 敲减SNHG14表达可明显抑制SW579细胞的迁移、侵袭和EMT进程。



与si-NC组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

A:细胞增殖活性;B:细胞周期;C:细胞凋亡;D:增殖、凋亡相关蛋白的表达

图1 敲减SNHG14表达对SW579细胞增殖、凋亡的影响

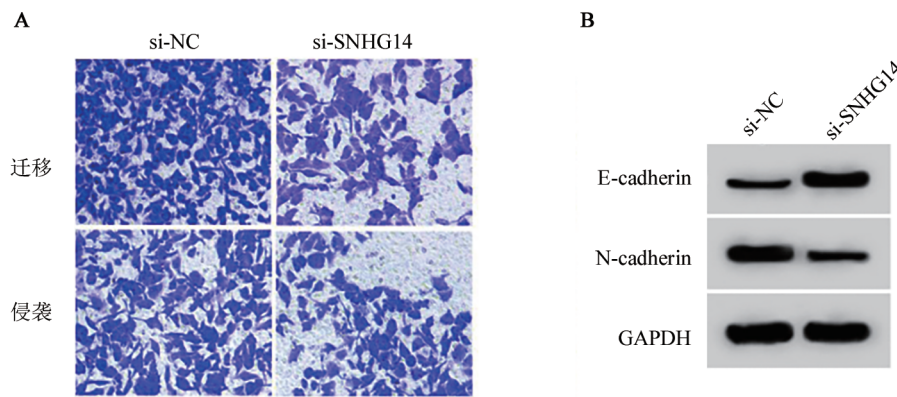


图2 敲减SNHG14表达对SW579细胞迁移和侵袭(A, $\times 200$)及EMT相关蛋白表达(B)的影响

2.4 SNHG14靶向miR-433-3p并抑制其表达

StarBase数据库数据预测结果(图3)显示,SNHG14的3' UTR存在miR-433-3p的结合位点。双荧光素报告基因实验结果显示,与SNHG14-WT+miR-NC共转染组相比,SNHG14-WT+miR-433-3p mimic共转染组荧光素酶活性显著降低(0.26 ± 0.03 vs 1.00 ± 0.10 , $P < 0.01$)。另外,qPCR检测结果显示,与pcDNA3.1组比较,pcDNA3.1-SNHG14组细胞中miR-433-3p表达明显降低(0.05 ± 0.01 vs 0.19 ± 0.02 , $P < 0.01$);与si-NC组比较,si-SNHG14组细胞中miR-433-3p明显升高(0.51 ± 0.05 vs 0.18 ± 0.02 , $P < 0.01$),这些结果说明,SNHG14可靶向结合miR-433-3p并抑制其表达。

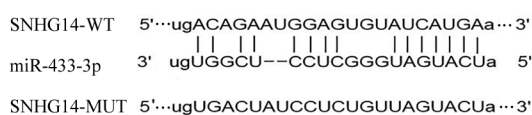
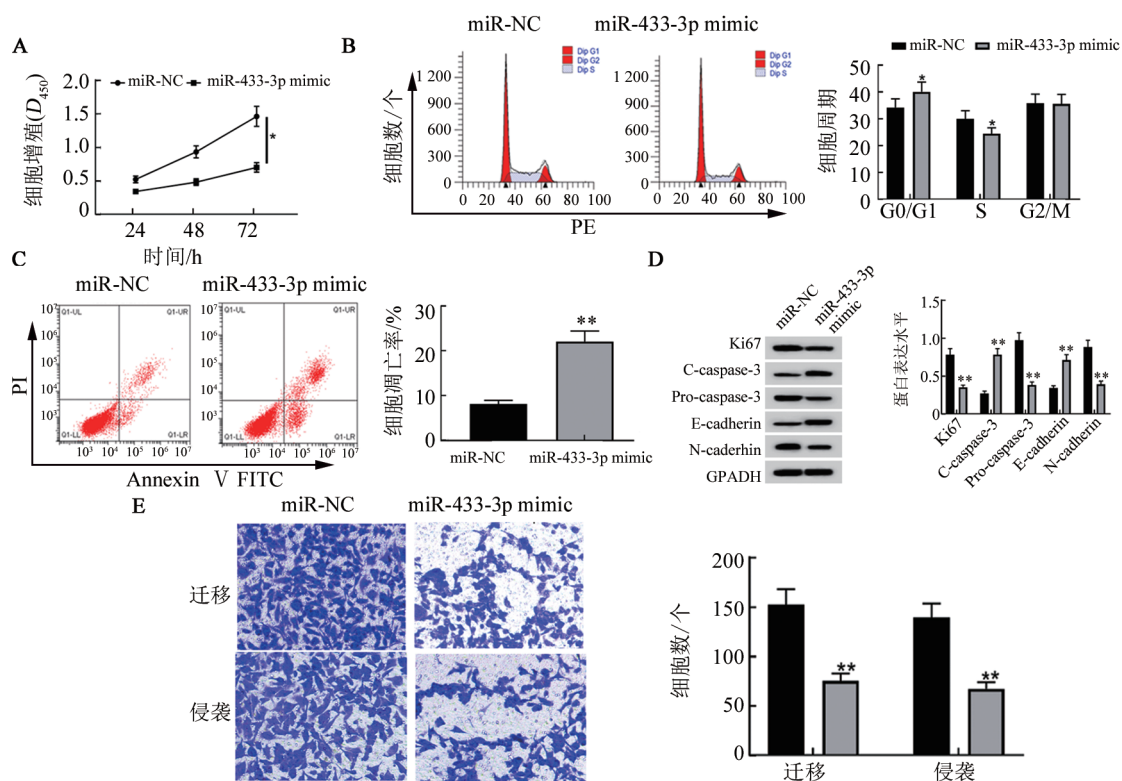


图3 SNHG14和miR-433-3p存在互补结合位点

2.5 过表达miR-433-3p可抑制SW579细胞的增殖、迁移、侵袭和EMT进程,促进其凋亡

qPCR结果显示,与miR-NC组相比,miR-433-3p mimic组SW579细胞中miR-433-3p的表达水平明显升高(0.46 ± 0.04 vs 0.18 ± 0.02 , $P < 0.01$),说明转染实验有效地使miR-433-3p在细胞中过表达。MTT(图4A)、FCM(图4B)检测结果显示,与miR-NC组相比,过表达miR-433-3p可使SW579细胞的增殖活力减弱($P < 0.05$),G1期细胞比例增加、S期细胞比例减少(均 $P < 0.05$);WB法检测结果(图4C)显示,与miR-NC组相比,miR-433-3p mimic组SW579细胞中Ki67、Pro-caspase-3、N-cadherin蛋白表达量均显著降低(均 $P < 0.01$),C-caspase-3、E-cadherin蛋白表达量均显著升高(均 $P < 0.01$);FCM(图4D)和Transwell实验检测结果(图4E)显示,与miR-NC组相比,miR-433-3p mimic组SW579细胞的细胞凋亡率显著增加($P < 0.01$),而迁移与侵袭细胞数显著减少($P < 0.01$)。这些结果说明,过表达miR-433-3p可抑制SW579细胞的增殖、迁移、侵袭和EMT进程,且促进其凋亡。



与miR-NC组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

A: 细胞增殖活性; B: 细胞周期; C: 细胞凋亡检测; D: 增殖、凋亡、迁移、侵袭和EMT相关蛋白的表达; E: 细胞迁移、侵袭($\times 200$)

图4 过表达miR-433-3p对SW579细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭和EMT检测的影响

2.6 抑制miR-433-3p可部分逆转敲减SNHG14表达对SW579细胞生物学行为的影响

MTT、qPCR、FCM、WB和Transwell实验检测结果显示,与si-SNHG14+anti-miR-NC组相比,si-SNHG14+anti-miR-433-3p组SW579细胞的增殖水平显著升高($P < 0.05$,图5A),miR-433-3p的表达水平明显升高(0.51 ± 0.05 vs 0.26 ± 0.03 , $P < 0.01$),细胞凋亡率和G1期细胞比例减少、S期细胞比例增高(均 $P < 0.05$,图5B、C),Ki67、Pro-caspase-3、N-cadherin蛋白表达量升高而C-caspase-3、E-cadherin蛋白表达量降低(均 $P < 0.01$,图5D),迁移与侵袭细胞数明显增加($P < 0.01$,图5E)。这些实验结果说明,抑制miR-433-3p可部分逆转由敲减SNHG14表达产生的对SW579细胞生物学行为的作用。

3 讨论

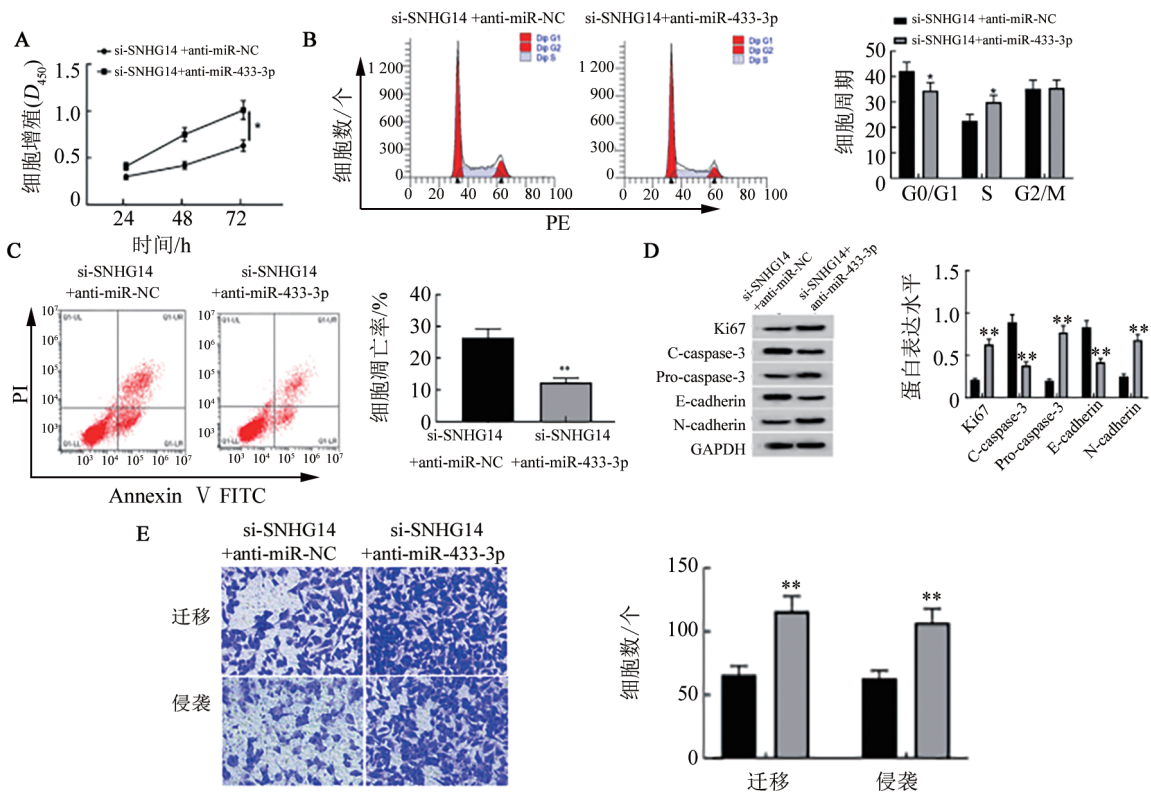
部分lncRNA在甲状腺癌中转录失调并发挥抑癌或促癌基因作用,还可通过充当miRNA的海绵分子而影响肿瘤的发生发展^[8]。既往研究^[9-10]显示,lncRNA CRNDE、lncRNA SNHG15等在甲状腺癌细胞中异常表达并影响癌细胞的生物学行为。研究^[11]显示,SNHG14在结直肠癌组织和细胞中呈高表达,而抑制其表达可通过调控miR-519b-3p/DDX5轴促进结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭;SNHG14在弥

漫性大B细胞淋巴瘤细胞中呈高表达,敲低其表达能抑制弥漫性大B细胞淋巴瘤细胞增殖、迁移和免疫逃逸,并通过调控miR-152-3p影响弥漫性大B细胞淋巴瘤发生发展进程^[12];SNHG14通过调节miR-206/YWHAZ轴抑制宫颈癌细胞的增殖、迁移和侵袭,并促进细胞凋亡^[13];在非小细胞肺癌中,SNHG14可使miR-340海绵化而发挥致癌功能^[14]。最近的研究结果^[15]显示,SNHG14可通过调控miR-93-5p抑制甲状腺癌细胞增殖、迁移和侵袭,提示SNHG14有望成为甲状腺癌潜在标记物。本研究发现,SNHG14在甲状腺癌组织中呈高表达,敲减SNHG14可抑制甲状腺癌SW579细胞的增殖、迁移和侵袭,促进细胞凋亡,诱导细胞周期阻滞于G1期,同时下调Ki67、Pro-caspase-3、N-cadherin蛋白的表达而上调C-caspase3、E-cadherin蛋白表达。提示敲减SNHG14表达可抑制甲状腺癌SW579细胞增殖及迁移、侵袭,诱导细胞凋亡和阻滞细胞周期。

本研究使用StarBase数据库数据预测发现,SNHG14和miR-433-3p的序列上存在相互结合的位点,进一步通过双荧光素酶报告实验证实了SNHG14能够靶向调控miR-433-3p表达,而miR-433-3p在多种癌症表达下调,还可通过介导下游mRNA影响肿瘤细胞生物学过程^[16-18]。miR-433-3p通过靶向生长因子受体结合蛋白2(growth factor receptor-bound

protein 2, GRB2) 抑制食管鳞状细胞癌细胞的增殖与侵袭^[19]。人脑胶质瘤中, miR-433-3p 通过靶向调控 cAMP 反应元件结合蛋白 (cAMP-response element binding protein, CREB) 的表达而抑制胶质瘤细胞生长并增强其化疗敏感性^[20]。相关报道^[21]指出, miR-433-3p 还可作为肝细胞癌早期诊断的生物标志物。有研究^[21]显示, miR-433 在甲状腺癌中低表达, miR-433 有望成为甲状腺癌潜在标记物。本研究结

果显示, miR-433-3p 在甲状腺癌组织中呈低表达, 过表达 miR-433-3p 会抑制 SW579 细胞的增殖、迁移和侵袭细胞数相应减少, 促进细胞凋亡, 阻滞细胞周期于 G1 期, 同时下调 Ki67、Pro-caspase-3、N-cadherin 蛋白的表达而上调 C-caspase-3、E-cadherin 蛋白的表达, 说明 SNHG14 对甲状腺癌细胞生物学行为的调节作用是通过靶向 miR-433-3p 来实现。



与 si-SNHG14+anti-miR-NC 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

A: 细胞增殖活性; B: 细胞周期; C: 细胞凋亡; D: 增殖、凋亡、迁移、侵袭及 EMT 相关蛋白的表达; E: 细胞迁移、侵袭 ($\times 200$)

图 5 抑制 miR-433-3p 可逆转由敲减 SNHG14 表达所产生的对 SW579 细胞增殖、凋亡、迁移、侵袭和 EMT 进程的作用

综上所述, SNHG14 在甲状腺癌中的表达显著高于癌旁组织, 敲减 SW579 细胞中 SNHG14 的表达可通过上调 miR-433-3p 来抑制甲状腺癌细胞增殖、迁移和侵袭而促进细胞凋亡。本研究结果为进一步阐明甲状腺癌病理的分子机制和探寻其生物标志物提供了新线索。但 miR-433-3p 是否可调控相关靶基因而参与甲状腺癌发生发展过程尚需进一步探究。

[参考文献]

[1] NABHAN F, DEDHIA P H, RINGEL M D. Thyroid cancer, recent advances in diagnosis and therapy[J]. Int J Cancer, 2021, 149(5): 984-992. DOI:10.1002/ijc.33690.
 [2] EILSBERGER F, PFESTROFF A. Theranostics in thyroid cancer[J]. PET Clin, 2021, 16(3): 375-382. DOI:10.1016/j.cpet.2021.03.007.
 [3] 刘涛, 赵艳红, 王利萍, 等. 丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶激活的长链非

编码 RNA 对甲状腺癌细胞凋亡和自噬行为的影响[J]. 中南大学学报(医学版), 2018, 43(7): 747-753. DOI: 10.11817/j.issn.1672-7347.2018.07.008.
 [4] JIAO P F, HOU J N, YAO M Y, et al. SNHG14 silencing suppresses the progression and promotes cisplatin sensitivity in non-small cell lung cancer[J/OL]. Biomed Pharmacother, 2019, 117: 109164[2022-2-8]. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31252267/. DOI: 10.1016/j.biopha.2019.109164.
 [5] LI L, ZHANG R, LI S J. Long noncoding RNA SNHG14 promotes ovarian cancer cell proliferation and metastasis via sponging miR-219a-5p[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(10): 4136-4142. DOI:10.26355/eurrev_201905_17915.
 [6] XIE S D, QIN C, JIN L D, et al. Long noncoding RNA SNHG14 promotes breast cancer cell proliferation and invasion via sponging miR-193a-3p[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(6): 2461-2468. DOI:10.26355/eurrev_201903_17393.
 [7] 刘燕青, 张艳, 田兴德. miR-433 负性调控 PI3KCA 基因在甲状腺

- 癌中表达及作用机制[J]. 临床和实验医学杂志, 2017, 16(11): 1079-1083. DOI:10.3969/j.issn.1671-4695.2017.11.013.
- [8] 匡剑韧, 魏平. lncRNA LSINCT5 靶向结合 miR-29c 调控乳头状甲状腺癌的增殖迁移[J]. 第三军医大学学报, 2018, 40(20): 1851-1857. DOI:10.16016/j.1000-5404.201807173.
- [9] 关善斌, 黄新若, 李加伟, 等. 甲状腺乳头状癌组织中 CRNDE 的表达变化及对甲状腺癌细胞增殖、迁移、侵袭能力的影响[J]. 山东医药, 2018, 58(3): 89-92. DOI:10.3969/j.issn.1002-266X.2018.03.029.
- [10] 帅勇锋, 占大钱, 王小军, 等. lncRNA SNHG15 在甲状腺癌细胞中的表达及作用[J]. 中国普通外科杂志, 2016, 25(11): 1590-1595. DOI: 10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.012.
- [11] WANG X Y, YANG P, ZHANG D S, *et al.* lncRNA SNHG14 promotes cell proliferation and invasion in colorectal cancer through modulating miR-519b-3p/DDX5 axis[J]. J Cancer, 2021, 12(16): 4958-4970. DOI:10.7150/jca.55495.
- [12] TIAN Y Y, LI L Q, LIN G Q, *et al.* lncRNA SNHG14 promotes oncogenesis and immune evasion in diffuse large-B-cell lymphoma by sequestering miR-152-3p[J]. Leuk Lymphoma, 2021, 62(7): 1574-1584. DOI:10.1080/10428194.2021.1876866.
- [13] JI N N, WANG Y H, BAO G L, *et al.* lncRNA SNHG14 promotes the progression of cervical cancer by regulating miR-206/YWHAZ [J]. Pathol Res Pract, 2019, 215(4): 668-675. DOI: 10.1016/j.prp.2018.12.026.
- [14] ZHANG Z H, WANG Y, ZHANG W, *et al.* Long non-coding RNA SNHG14 exerts oncogenic functions in non-small cell lung cancer through acting as an miR-340 sponge[J/OL]. Biosci Rep, 2019, 39(1): BSR20180941[2022-02-10]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30254102/>. DOI:10.1042/BSR20180941.
- [15] TIAN F, YING H M, LIAO S J, *et al.* lncRNA SNHG14 promotes the proliferation, migration, and invasion of thyroid tumour cells by regulating miR-93-5p[J]. Zygote, 2022, 30(2): 183-193. DOI: 10.1017/S0967199421000319.
- [16] ZHANG J, GUO Y H, MA Y R, *et al.* miR-433-3p targets AJUBA to inhibit malignant progression of glioma[J]. Neuroimmunomodulation, 2022, 29(1): 44-54. DOI:10.1159/000518084.
- [17] YU J, ZHANG H N, ZHAO C S, *et al.* CircRNA circ_0008037 facilitates tumor growth and the Warburg effect *via* upregulating NUCKS1 by binding to miR-433-3p in non-small cell lung cancer [J]. Thorac Cancer, 2022, 13(2): 162-172. DOI: 10.1111/1759-7714.14235.
- [18] 万智双, 熊丁, 曹宸. miR-433-3p 靶向 MAPK8 对肝癌细胞 MHCC97H 增殖、凋亡和迁移的调控作用[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(1): 57-62. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2020.01.011.
- [19] SHI Q Z, WANG Y L, MU Y H, *et al.* miR-433-3p inhibits proliferation and invasion of esophageal squamous cell carcinoma by targeting GRB2[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(5): 2187-2196. DOI:10.1159/000489548.
- [20] SUN S P, WANG X Y, XU X N, *et al.* miR-433-3p suppresses cell growth and enhances chemosensitivity by targeting CREB in human glioma[J]. Oncotarget, 2017, 8(3): 5057-5068. DOI: 10.18632/oncotarget.13789.
- [21] SONG Y, WANG S, CHENG X. LINC01006 regulates the proliferation, migration and invasion of hepatocellular carcinoma cells through regulating miR-433-3p/CBX3 axis[J/OL]. Ann Hepatol, 2021, 25: 100343 [2022-2-8]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33781916/>. DOI: 10.1016/j.aohep.2021.100343.

[收稿日期] 2022-02-10

[修回日期] 2022-05-15

[本文编辑] 向正华, 沈志超