

靶向间皮素的 CAR-NK-92 对卵巢癌的作用研究

葛 瑶^{1,2}, 刘 琦², 王春燕², 刘淑鹏², 程忠平^{1,2}

摘要 目的 探讨靶向间皮素(MSLN)的嵌合抗原受体 NK-92(CAR-NK-92)细胞对卵巢癌细胞的杀伤作用。方法 通过免疫组化分析法和免疫荧光法分别检测原发性卵巢癌组织和卵巢癌细胞系 MSLN 的表达情况。使用慢病毒转染的方法构建靶向 MSLN 的 CAR-NK-92 细胞,流式细胞术检测其转染效率,并在体内和体外验证 CAR-NK-92 对卵巢癌的杀伤作用。结果 MSLN 在原发性卵巢癌组织和卵巢癌细胞系中高表达。流式细胞术检测显示靶向 MSLN 的 CAR-NK-92 纯度为 70% 左右。体内和体外实验发现靶向 MSLN 的 CAR-NK-92 细胞具有较强抗卵巢癌作用,能释放更多的细胞因子干扰素- γ 和肿瘤坏死因子- α 。结论 靶向 MSLN 的 CAR-NK-92 具有较强的体内和体外抗卵巢癌作用,为卵巢癌患者提供了潜在治疗方案。

关键词 自然杀伤细胞;嵌合抗原受体;间皮素;卵巢癌

中图分类号 R 730.51

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2022)10-1627-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.10.021

卵巢癌是妇科恶性肿瘤里致死率最高的肿瘤,大多数患者确诊时已经处于疾病晚期(III-IV 期)^[1]。目前中晚期卵巢癌患者的治疗原则是以手术治疗为主,辅以紫杉醇和铂类药物的化疗,但对于晚期复发难治的卵巢癌患者疗效有限,仍然需要寻求更有效的治疗方法^[2]。近年来,免疫细胞疗法的出现为肿瘤治疗带来了新的方向,而嵌合抗原受体修饰自然杀伤(chimeric antigen receptor engineered-natural killer, CAR-NK)细胞是免疫细胞疗法的新突破。这种特异性的基因改造使得 NK 细胞获得了特异靶向杀伤肿瘤细胞的能力。理想情况下,CAR 靶点一般为肿瘤细胞表面特异性高表达而正常细胞表面低表达的蛋白。间皮素作为一种膜表面糖蛋白,在卵巢癌中高表达,而在正常间皮组织中表达较

低^[3]。该研究构建了以间皮素为靶点的 CAR-NK-92 细胞,通过体内外实验分别验证 CAR-NK-92 细胞对卵巢癌的杀伤作用。

1 材料与方法

1.1 组织样本来源和细胞系 2 例正常卵巢组织样本和 21 例卵巢肿瘤组织样本均来自同济大学附属第十人民医院妇产科,本研究经医院医学伦理委员会批准,患者签署知情同意书。4~6 周龄雌性 SPF 级 NCG 小鼠,16~18 g,共计 12 只,购自江苏集萃药康生物科技有限公司,许可证号:SYXK(沪)2021-0012,合格证编号:NO.202144322。所有方案均经同济大学动物护理和使用委员会批准进行。人卵巢癌细胞 SKOV3、OVCAR3 及 NK-92 细胞购自中国科学院上海细胞库,保存于同济大学附属第十人民医院妇产科。OVCAR3-LUC 细胞是由荧光素酶慢病毒 pSLenti-EF1-Luc2-F2A-Puro-CMV-MCS-WPRE 转染 OVCAR3 细胞获得。

1.2 主要试剂和仪器 马血清(horse serum, HS)(货号:16050-122)和胎牛血清(foetal bovine serum, FBS)(货号:10099-141)购自美国 Gibco 公司;重组人纤维蛋白(货号:GMP-CH38)购自苏州近岸蛋白质科技股份有限公司;PE anti-DYKDDDDK Tag 抗体购自美国 Biologend 公司;抗间皮素(mesothelin, MSLN)抗体(货号:A14099)购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)试剂盒(货号:C20301)购自美国英杰生命技术有限公司;干扰素 γ (interferon- γ , IFN- γ)检测试剂盒(货号:DIF50C)和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor, TNF- α)检测试剂盒(货号:DTA00D)ELISA 试剂盒购自美国 R&D Systems 公司;D-荧光素钾盐(货号:40902ES02)购自中国翌圣生物科技股份有限公司。FACSCanto II 流式细胞仪(美国 BD 公司)。

1.3 细胞培养 SKOV3、OVCAR3 培养于含 10% FBS 的 1640 培养基,NK-92 培养于添加 0.2 mmol/L 肌醇、0.1 mmol/L β -巯基乙醇、0.02 mmol/L 叶酸、200 U/ml 白细胞介素-2(interleukin-2, IL-2)、

2022-07-04 接收

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(编号:18411964100)

作者单位:¹ 安徽医科大学上海临床学院,上海 200072

² 同济大学附属第十人民医院妇产科,上海 200072

作者简介:葛 瑶,女,硕士研究生;

程忠平,男,教授,主任医师,博士生导师,责任作者,E-mail: mdcheng18@tongji.edu.cn

12.5% HS、12.5% FBS 和 1% 青霉素链霉素溶液的 MEM α 培养基中。

1.4 方法

1.4.1 CAR 载体的构建 anti-MSLN 的序列来自 GenBank: AF035617.1, CAR 的结构包含了胞内 CD137 和 CD3 ζ 信号转导结构域,中间段 CD8 的跨膜区,胞外部分 CD8 铰链区、Anti-MSLN scFv 和 Flag 结构。与此同时,构建含有 GFP 荧光蛋白的空载体作为对照。

1.4.2 MSLN-CAR-NK-92 的构建 使用包装 MSLN-CAR 载体的慢病毒转染 NK-92 细胞。转染前 1 d,使用人纤维蛋白液包板 24 孔板,4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜。转染当天用生理盐水将包板洗 2 次,再向板内加入感染复数(multiplicity of infection, MOI)70 的慢病毒悬液、NK-92 细胞及 MEM 培养基,轻轻混匀,放置培养箱 5~6 h 后补加含有 IL-2 的培养基继续培养;第 2 天 1 000 r/min 离心 5 min,换液后继续培养,第 4 天检测转染效率。

1.4.3 流式细胞术检测 CAR-NK-92 细胞的构建效率 将 CAR-NK-92 和 NK-92 细胞离心弃上清液,使用 3% 牛血清蛋白(bovine serum albumin, BSA)重悬后,孵育 20 min。使用 PE anti-DYKDDDDK Tag 流式抗体试剂进行细胞表面染色,孵育 30 min,再用 PBS 洗 2 次,上机检测。所有样本在 FACSCanto II 流式细胞仪上进行操作,使用 FlowJo 软件进行分析。

1.4.4 细胞毒性实验 把 CAR-NK-92、control-GFP (GFP 空载慢病毒转染的 NK-92)与 OVCAR3 及 SKOV3 按照效应细胞:靶细胞为 2:1 和 1:1 时共培养 4 h,检测上清液中 LDH 活性(反映细胞毒性)。阳性对照组为加入 10 μ l 裂解液的卵巢癌细胞组,靶细胞对照组为不做处理的卵巢癌细胞组,使用酶标仪检测 490 nm 处的吸光度判断各组中 LDH 的活性。NK 细胞的毒性计算公式为:裂解率(%)=(实验组吸光度-靶细胞对照组吸光度)/(靶细胞最大裂解吸光度-靶细胞对照组吸光度) \times 100%。

1.4.5 TNF- α 及 IFN- γ 的检测 将 CAR-NK-92、control-GFP (GFP 空载慢病毒转染的 NK-92)与 OVCAR3 及 SKOV3 按照效应细胞:靶细胞为 10:1 共培养 4 h,使用 ELISA 法检测上清液中 TNF- α 及 IFN- γ 的表达。

1.4.6 免疫组化分析 将组织放入液体石蜡中,冷冻包埋切片。加山羊血清 37 $^{\circ}$ C 温箱中封闭 40 min。再加入抗 MSLN 抗体(1:1 000)孵育,4 $^{\circ}$ C 冰箱过

夜。将石蜡切片放入 PBS 中洗涤后,孵育二抗(1:10 000),37 $^{\circ}$ C 温箱中放置 1 h。将石蜡切片放入 PBS 洗涤后,加 SABC 和显色剂,苏木精复染,使用正置显微镜观察。使用 ImageJ 软件对免疫组化结果进行分析。

1.4.7 免疫荧光实验 为了检测卵巢癌细胞系 OVCAR3 和 SKOV3 上 MSLN 的表达,依次使用 4% PFA 和 0.5% PBST 对 OVCAR3 和 SKOV3 进行固定和通透,使用 3% BSA 封闭 30 min,再使用 anti-MSLN 抗体孵育,放置 4 $^{\circ}$ C 冰箱过夜,第 2 天使用红色荧光 Cy3 二抗和 DAPI 试剂避光染色。使用激光共聚焦显微镜观察 OVCAR3 和 SKOV3 上 MSLN 的表达。

1.4.8 体内实验 小鼠饲养在无菌环境中,每天观察小鼠饮食及健康状况,每周记录一次小鼠体质量。在第 0 天时,将荧光素酶基因标记的 OVCAR3 细胞消化并用 PBS 重悬成每毫升悬液中含 2×10^6 个细胞,在 NCG 小鼠腹腔内注射细胞悬液 100 μ l。在第 4 天和第 11 天,分别向小鼠腹腔注射 1×10^7 个 CAR-NK-92 细胞或者 NK-92 细胞。在此期间,使用活体成像仪观察小鼠腹腔内肿瘤生长情况。活体成像时,将小鼠放入麻醉箱中,使用异氟烷麻醉 3 min,腹腔注射配置好的 100 μ l D-荧光素钾盐,底物注射 10 min 后进行活体成像检测。

1.5 统计学处理 采用 Prism 8.0 软件和 Excel 对所有数据进行统计学处理。实验数据均重复 3 次,结果以均数 \pm 标准差(mean \pm SD)表示。两组数据采用 *t* 检验进行比较, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 原发性卵巢癌组织和卵巢癌细胞系 MSLN 的表达 免疫组化结果显示(图 1A),MSLN 在正常卵巢组织中呈低表达或者不表达,而在卵巢癌组织中呈现高表达。为了更好地评估 MSLN 在卵巢癌组织中的表达情况,从每个样本随机选取一个视野,按照 MSLN 阳性和阴性区域所占百分比的高低绘制成柱状图(图 1B),发现 MSLN 阳性率平均占(63 \pm 18.6)%,MSLN 阴性率平均占(37 \pm 18.6)%,差异有统计学意义($t = 4.389, P < 0.001$)。这说明在原发性卵巢癌组织中,MSLN 表达量较高。免疫荧光染色法检测 SKOV3 和 OVCAR3 两种卵巢癌细胞系上 MSLN 的表达情况,使用激光共聚焦显微镜观察发现(图 1C),MSLN 在 SKOV3 和 OVCAR3 两种细

胞系表面呈现高表达。

2.2 CAR-NK-92 的制备及体外作用研究 CAR 结构(图 2A)包含了 Flag 蛋白、anti-MSLN、CD8 hinge、跨膜域及细胞内信号域 CD137 和 CD3 ζ 序列,其中 Flag 蛋白作为标签蛋白用来鉴定 CAR 的表达效率。使用 CAR 慢病毒和 GFP 空载慢病毒分别转染 NK-92 细胞,构建 CAR-NK-92 (CAR)和 control-GFP。流式细胞术检测发现 Flag 阳性的 CAR-NK-92 细胞占比 70% 左右(图 2B),说明采用的

CAR NK 转染体系可以达到较高的转染效率,获得纯度较高的 CAR-NK-92 细胞。

体外杀伤实验结果显示 CAR-NK-92、control-GFP 与卵巢癌细胞 SKOV3 和 OVCAR3 按照不同的效靶比共培养时,CAR-NK-92 细胞对靶细胞的裂解率明显强于 control-GFP 细胞,差异有统计学意义(效靶比 2 : 1; $t = 16.52, P < 0.001$)(效靶比 1 : 1; $t = 32.06, P < 0.001$)(图 2C),说明 CAR-NK-92 细胞对卵巢癌细胞起到较强的杀伤作用。

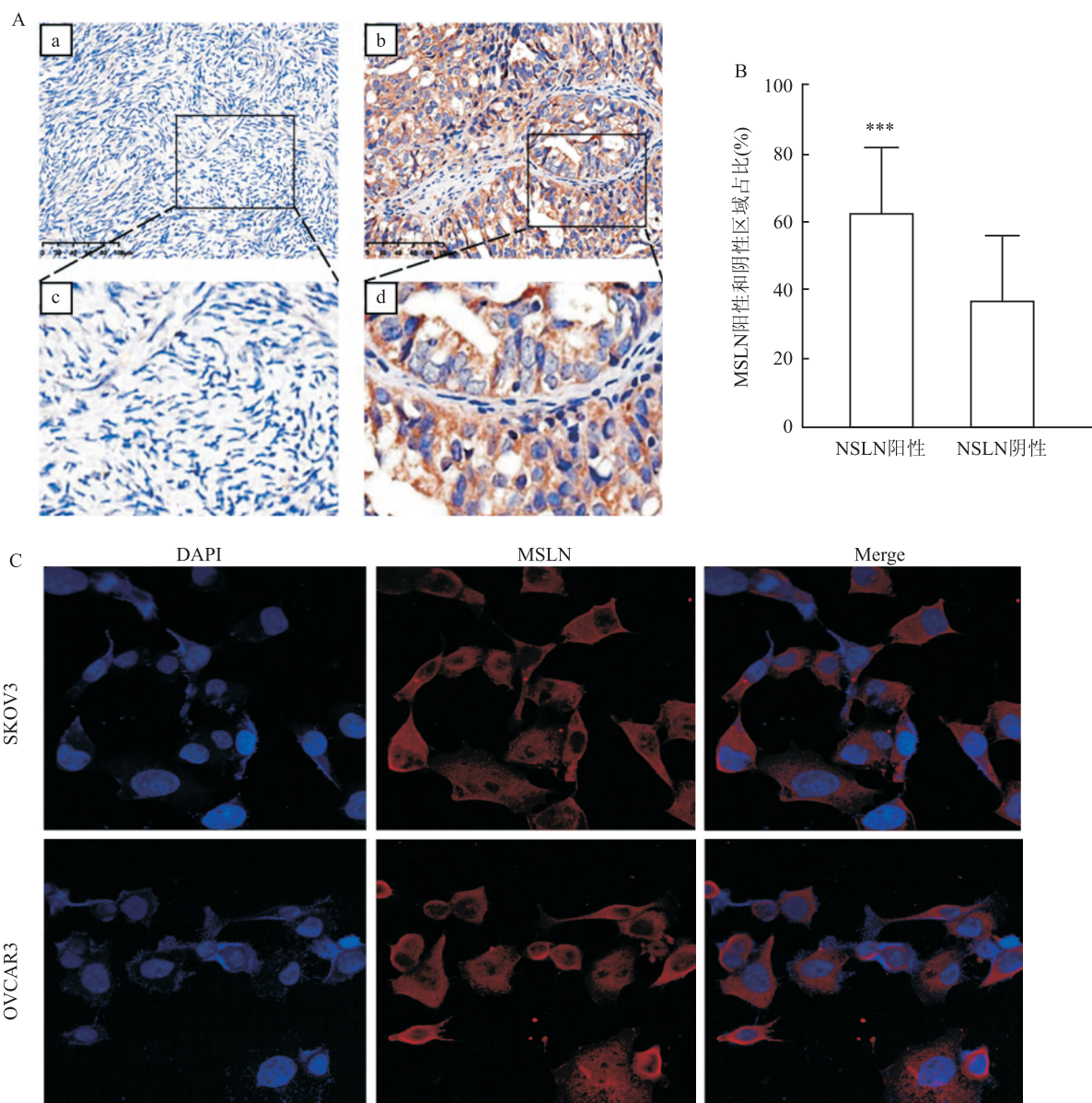


图 1 原发性卵巢癌组织和卵巢癌细胞系上 MSLN 的表达

A: 免疫组化检测卵巢癌 MSLN 的表达;a,b:MSLN 在正常卵巢组织、卵巢癌组织中的表达 $\times 200$;c,d:分别是 a,b 的局部放大图 $\times 500$; B: MSLN 在卵巢癌组织中的表达量;与 MSLN 阴性区域比较:*** $P < 0.001$; C: 激光共聚焦显微镜下观察卵巢癌细胞系 SKOV3 和 OVCAR3 表面 MSLN 的表达 $\times 630$;DAPI 标记细胞核呈蓝色荧光;Cy3 标记 MSLN 呈红色荧光;Merge 为共定位

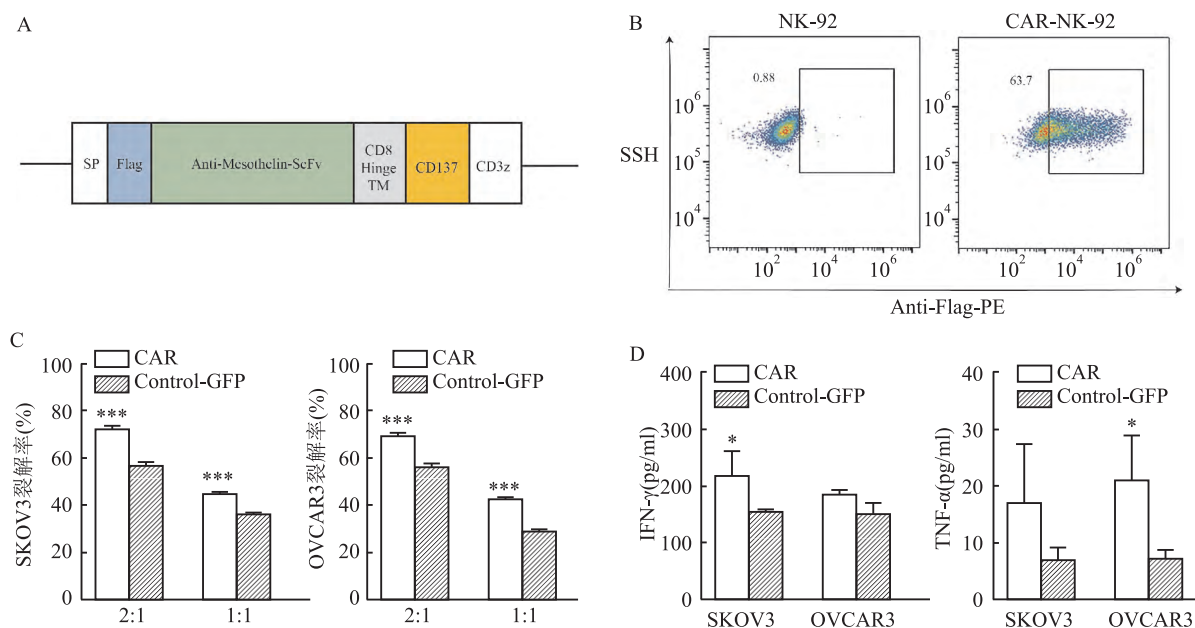


图2 CAR-NK-92的构建及体外作用分析

A: MSLN-CAR 结构示意图; B: 流式细胞术检测 CAR-NK-92 细胞所占的百分比; C: CAR-NK-92 细胞在效应细胞与靶细胞比例为 2 : 1 和 1 : 1 时对卵巢癌细胞的细胞毒作用 ($n = 3$); D: CAR-NK-92 细胞与卵巢癌细胞共培养后上清液中 IFN- γ 、TNF- α 的含量 ($n = 3$); 与 Control-GFP 组比较; * $P < 0.05$, *** $P < 0.001$

细胞因子分泌结果显示, CAR 组分泌的 IFN- γ 平均值高于 control-GFP 组分泌的平均值, 在靶细胞为 SKOV3 时, 差异有统计学意义 ($t = 3.318, P < 0.05$)。同样, CAR 组分泌的 TNF- α 平均值也高于 control-GFP 组分泌的平均值, 在靶细胞为 OVCAR3 时, 差异有统计学意义 ($t = 2.6, P < 0.05$) (图 2D), 说明 CAR NK 细胞可以分泌更多的细胞因子来发挥抗肿瘤作用。

2.3 CAR-NK-92 的体内抗肿瘤特性 小鼠生物荧光成像结果显示, 与肿瘤组小鼠和 NK-92 组小鼠相比, CAR-NK-92 组小鼠肿瘤生长较缓慢 (图 3A)。同时对生物发光成像 (bioluminescence imaging, BLI) 的数值统计显示, 与 NK-92 组相比, CAR-NK-92 组小鼠肿瘤生长速度较缓慢, 差异有统计学意义 ($t = 3.547, P < 0.001$) (图 3B), 说明 CAR-NK-92 具有较好的抗肿瘤作用。对小鼠的体质量进行统计分析显示, 在肿瘤注射的第 21 天后, 肿瘤组小鼠和 NK-92 组小鼠出现了体质量增长缓慢的趋势, 而 CAR-NK-92 组小鼠依然保持较稳定的体质量增长速度 (图 3C), 说明 CAR-NK-92 有较强的抗肿瘤作用, 可以很好地维持小鼠的状态。

3 讨论

卵巢癌是一种恶性侵袭性肿瘤, 致死率较高, 因

此探索新的卵巢癌治疗策略具有重要的临床意义^[4]。MSLN 作为一种膜表面蛋白, 在卵巢癌中特异性高表达, 因此可以成为卵巢癌免疫治疗的理想靶点^[5]。在本研究中, 卵巢癌组织中都检测出了 MSLN 阳性, 而在正常卵巢组织中几乎没有 MSLN 的表达, 同时在两种卵巢癌细胞系上也检测出了 MSLN 阳性, 与之前的研究^[6]一致。本研究以间皮素为靶点, 使用慢病毒转染的方法构建了 CAR-NK-92 细胞, 具有较强的抗肿瘤作用。其中, CAR 结构中包含的 CD137 和 CD3 ζ 作为 NK 细胞上的重要分子, 对激活 NK 细胞起着重要的作用^[7]; 同时高效率的转染提高了 CAR-NK-92 细胞的纯度, 也进一步提高了 CAR-NK-92 细胞的杀伤作用^[8]。此外, 在本研究中, CAR 介导的杀伤作用伴随着更高水平的 IFN- γ 和 TNF- α 的分泌, 也进一步证实了 CAR 能够介导更强大的杀伤作用。而在荷瘤小鼠实验中, CAR 组小鼠表现出了较缓慢的肿瘤生长速度, 说明 CAR-NK-92 细胞在小鼠体内能够发挥较强的抗肿瘤作用。

NK 细胞是一群先天毒性淋巴细胞, 与 T 细胞相比具有较低的免疫原性。因此 CAR NK 被认为更有希望应用于肿瘤的临床治疗。当前 CAR NK 研究中较常使用的 NK 细胞有外周血源 NK 细胞、脐带血源 NK 细胞和 NK 细胞系。本研究选用 NK-92 细

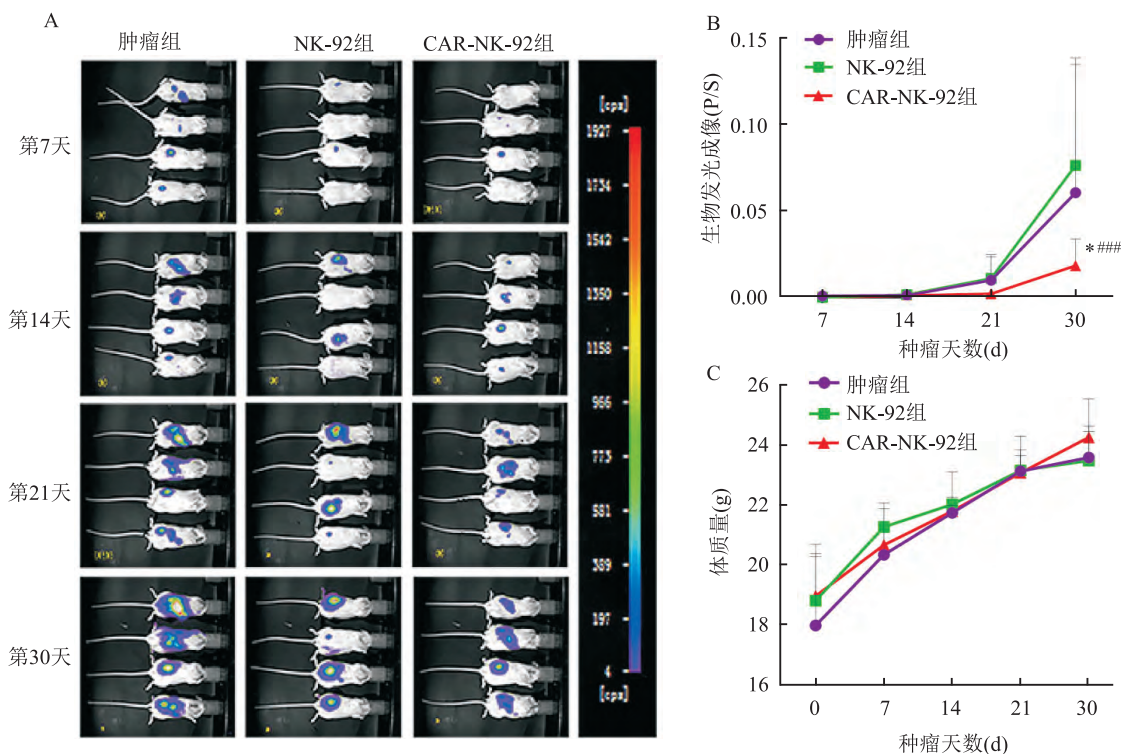


图3 小鼠体内实验验证 CAR-NK-92 对卵巢癌的作用

A: 小鼠活体成像图; B: 小鼠 BLI 数值统计图 ($n=4$); 与肿瘤组比较: * $P < 0.05$; 与 NK-92 组比较: ### $P < 0.001$; C: 小鼠体重变化图 ($n=4$)

胞系作为研究对象,因为 NK-92 细胞在体外 IL-2 刺激下,能够大量扩增,并且在表型特征上不会发生较大的改变^[9];与此同时,NK-92 细胞容易受慢病毒转染,可以得到高纯度的 CAR-NK-92 细胞^[8]。因此,CAR-NK-92 细胞在肿瘤治疗领域具有良好的应用前景。当前已经有很多国家正在积极开展 CAR-NK-92 研究,并且已经取得不错的治疗效果^[10]。但是 NK-92 细胞来源特殊,在体内不能持续增殖,因而发挥的抗肿瘤作用有限^[11]。为了解决 CAR NK 细胞在体内不能持续增殖的问题,Teng et al^[12]研究发现在 CAR 序列中添加编码 IL15 序列可以显著提高 PSCA-CAR-NK 细胞在小鼠体内的存活时间,这项研究为 CAR NK 细胞在临床上的应用提供了新的研究思路。

在本研究中,MSLN-CAR-NK-92 细胞表现出了较强的抗卵巢癌作用,可以为卵巢癌患者提供较好的治疗策略。但本实验仍然存在不足之处,包括对小鼠生存周期观察时间不足及缺少 CAR-NK-92 细胞在小鼠体内存活时间的研究。因此在后续的研究中,将进一步改进实验方案,真正建立卵巢癌患者临床可用的、安全有效的 CAR NK 细胞。

参考文献

- [1] 孙超 孙, 詹磊, 等. ASH2L 在上皮性卵巢癌中的表达及其对 SKOV3 细胞系增殖的影响[J]. 安徽医科大学学报, 2021, 56(3): 445-8.
- [2] Buechel M, Herzog T J, Westin S N, et al. Treatment of patients with recurrent epithelial ovarian cancer for whom platinum is still an option[J]. Ann Oncol, 2019, 30(5): 721-32.
- [3] Yeo D, Castelletti L, Van Zandwijk N, et al. Hitting the Bull's-eye: Mesothelin's role as a biomarker and therapeutic target for malignant pleural mesothelioma[J]. Cancers (Basel), 2021, 13(16): 3932.
- [4] Kossari M, Leary A, Scoazec J Y, et al. Ovarian cancer: A heterogeneous disease[J]. Pathobiology, 2018, 85(1-2): 41-9.
- [5] Takihata Y, Einama T, Kobayashi K, et al. Different role of MSLN and CA125 co-expression as a prognostic predictor between perihilar and distal bile duct carcinoma[J]. Oncol Lett, 2021, 21(5): 414.
- [6] Morello A, Sadelain M, Adusumilli P S. Mesothelin-targeted CARs: Driving T cells to solid tumors[J]. Cancer Discov, 2016, 6(2): 133-46.
- [7] Etxebarria I, Glez-Vaz J, Teijeira A, et al. New emerging targets in cancer immunotherapy: CD137/4-1BB costimulatory axis[J]. ESMO Open, 2020, 4(Suppl 3): e000733.
- [8] Zhang J, Zheng H, Diao Y. Natural killer cells and current appli-

- cations of chimeric antigen receptor-modified NK-92 cells in tumor immunotherapy[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(2): 317.
- [9] Törnroos H, Hägerstrand H, Lindqvist C. Culturing the human natural killer cell line NK-92 in interleukin-2 and interleukin-15 - implications for clinical trials[J]. *Anticancer Res*, 2019, 39(1): 107 - 12.
- [10] Wang W, Jiang J, Wu C. CAR-NK for tumor immunotherapy: Clinical transformation and future prospects [J]. *Cancer Lett*, 2020, 472: 175 - 80.
- [11] Wendel P, Reindl L M, Bexte T, et al. Arming immune cells for battle: A brief journey through the advancements of T and NK cell immunotherapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2021, 13(6): 1481.
- [12] Teng K Y, Mansour A G, Zhu Z, et al. Off-the-shelf prostate stem cell antigen-directed chimeric antigen receptor natural killer cell therapy to treat pancreatic cancer [J]. *Gastroenterology*, 2022, 162(4): 1319 - 33.

Effect of CAR-NK-92 targeting MSLN on ovarian cancer

Ge Yao^{1,2}, Liu Qi², Wang Chunyan², Liu Shupeng², Cheng Zhongping^{1,2}

(¹Anhui Medical University, Shanghai Clinical College, Shanghai 200072; ²Dept of Obstetrics and Gynecology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072)

Abstract Objective To explore the killing effect of chimeric antigen receptor NK-92 (CAR-NK-92) cells targeting mesothelin (MSLN) on ovarian cancer cells. **Methods** The expression of MSLN in primary ovarian cancer tissues and ovarian cancer cell lines was detected by immunohistochemical analysis and immunofluorescence, respectively. The CAR-NK-92 cells targeting MSLN were constructed by lentiviral transfection, the transfection efficiency was detected by flow cytometry, and the killing effect of CAR-NK-92 on ovarian cancer was verified *in vivo* and *in vitro*. **Results** MSLN was highly expressed in primary ovarian cancer tissues and ovarian cancer cell lines. Flow cytometry showed that the purity of CAR-NK-92 targeting MSLN was about 70%. The experiments found that MSLN-CAR-NK-92 cells had a strong anti-ovarian cancer effect *in vivo* and *in vitro*, and could release more cytokines interferon- γ and tumor necrosis factor- α . **Conclusion** MSLN-CAR-NK-92 has strong anti-ovarian cancer effects *in vivo* and *in vitro*, providing a new potential treatment option for ovarian cancer patients.

Key words natural killer cells; chimeric antigen receptor; mesothelin; ovarian cancer

(上接第 1626 页)

Methods TMZ-resistant glioma cells U87(U87/TMZ) were constructed, qRT-PCR was used to detect the LncRNA MEG3 expression level, and MTT was used to detect the cell proliferation ability. The LncRNA MEG3 in U87/TMZ was overexpressed by liposome method (pcDNA-MEG3 group), the empty vector was transfected as the empty vector group (pcDNA group), and the conventionally cultured U87/TMZ was used as the blank group (Control group), then treated with 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ TMZ. The plasmid transfection effect was analyzed by qRT-PCR. The expression of LncRNA MEG3-related protein was confirmed by Western blot. The cell cloning experiment detects the effect of LncRNA MEG3 on cell proliferation. The effect of LncRNA MEG3 on cell invasion was tested by Transwell. The effect of LncRNA MEG3 on cell apoptosis was detected by flow cytometry. And mouse transplant tumor animal model was constructed for *in vivo* experiments. **Results** Compared with U87, the expression level of LncRNA MEG3 in U87/TMZ was lower ($P < 0.01$), and the cell viability of U87/TMZ was higher than that of U87 ($P < 0.01$). After overexpression of MEG3 combined with TMZ, compared with the Control group and the pcDNA group, the pcDNA-MEG3 group up-regulated the expression of MEG3 mRNA and p53 protein, and down-regulated the expression of MDM2 protein, and the proliferation and invasion ability of the pcDNA-MEG3 group decreased while the apoptosis ability increased ($P < 0.01$). The construction of mouse transplant tumor animal model showed that the tumor volume and mass of the pcDNA-MEG3 group were reduced compared with the pcDNA group ($P < 0.01$). **Conclusion** Overexpression of LncRNA MEG3 can attenuate the drug resistance of TMZ-resistant glioma cells.

Key words glioma; LncRNA MEG3; temozolomide; drug resistance