

DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2025.07.008

· 基础研究 ·

lncRNA SOX2-OT 调控 miR-215-5p/NOB1 通路抑制结直肠癌 HCT-116 细胞增殖和迁移

刘丹,程海林,罗剑锋(武汉市金银潭医院 感染科,湖北 武汉 430000)

[摘要] **目的:**探讨 lncRNA SOX2-OT 是否通过调控 miR-215-5p/NIN1/RPN12 结合蛋白 1 同源物(NOBI)信号通路抑制结直肠癌(CRC)HCT-116 细胞增殖和迁移。**方法:**收集 2022 年 6 月至 2024 年 5 月期间武汉市金银潭医院收治的 29 例 CRC 患者的癌及癌旁组织标本,以及 CRC 细胞 SW480、HCT-116、HP116 和 LoVo 及人结肠上皮细胞 HCoEpiC。qPCR 法检测 CRC 组织和细胞中 SOX2-OT、miR-215-5p 和 NOB1 mRNA 的表达水平。利用 RNA 干扰技术分别将敲低或过表达 SOX2-OT 质粒及阴性对照质粒转染至 HCT-116 细胞,实验分为对照组、si-NC 组、si-SOX2-OT 组、si-SOX2-OT + inhibitor(Inh)NC 组、si-SOX2-OT + miR-215-5p Inh 组、si-SOX2-OT + oe-NC 组、si-SOX2-OT + oe-NOB1 组。qPCR 法检测各组细胞中 SOX2-OT、miR-215-5p 和 NOB1 mRNA 表达水平,通过 MTT、划痕愈合实验、Transwell 实验和流式细胞术分别检测各组细胞的增殖、迁移、侵袭及凋亡水平,WB 法检测各组细胞中 E-cadherin、N-cadherin、vimentin、Bcl-2、BAX、PCNA、MMP-9 和 NOB1 蛋白表达水平。通过双萤光素酶报告基因实验验证 miR-215-5p 与 SOX2-OT 和 NOB1 之间的靶向关系。**结果:**CRC 组织和细胞中 SOX2-OT 和 NOB1 mRNA 均呈高表达、miR-215-5p 低表达(均 $P < 0.05$)。敲低 SOX2-OT 表达的 HCT-116 细胞中 SOX2-OT 和 NOB1 mRNA 表达水平、增殖、划痕愈合率和侵袭细胞数量,以及细胞中 N-cadherin、vimentin、Bcl-2、NOB1、PCNA 和 MMP-9 蛋白表达均显著降低(均 $P < 0.05$),miR-215-5p、细胞凋亡率、E-cadherin 和 BAX 蛋白表达均显著升高(均 $P < 0.05$)。敲低 miR-215-5p 表达或上调 NOB1 表达均可减弱敲低 SOX2-OT 表达对细胞的抑制作用(均 $P < 0.05$)。miR-215-5p 与 SOX2-OT 和 NOB1 之间存在靶向关系。**结论:**敲低 SOX2-OT 表达可促进 miR-215-5p 表达,抑制 NOB1 表达进而抑制 HCT-116 细胞的增殖、迁移、侵袭并促进细胞凋亡。

[关键词] lncRNA SOX2-OT;miR-215-5p/NOB1 轴;结直肠癌;HCT-116 细胞;增殖;迁移;侵袭

[中图分类号] R735.3¹⁴; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385x(2025) 07-0731-07

lncRNA SOX2-OT inhibits proliferation and migration of colorectal cancer HCT-116 cells via the miR-215-5p/NOB1 axis

LIU Dan, CHENG Hailin, LUO Jianfeng (Department of Infectious Diseases, Wuhan Jinyintan Hospital, Wuhan 430000, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate whether lncRNA SOX2-OT inhibits the proliferation and migration of colorectal cancer (CRC) HCT-116 cells by regulating the miR-215-5p/NIN/RPN12 binding protein 1 homolog (NOB1) signaling pathway. **Methods:** Cancerous and paired adjacent tissue samples from 29 CRC patients treated at Wuhan Jinyintan Hospital from June 2022 to May 2024 were collected, along with CRC cell lines (SW480, HCT-116, HP116, and LoVo) and normal human colon epithelial HCoEpiC cells. The mRNA expression levels of SOX2-OT, miR-215-5p, and NOB1 in CRC tissues and cells were measured using qPCR method. HCT-116 cells were transfected with SOX2-OT knockdown or overexpression plasmids and corresponding negative control plasmids using RNA interference technology, dividing the cells into control group, si-NC group, si-SOX2-OT group, si-SOX2-OT + inhibitor (Inh) NC group, si-SOX2-OT + miR-215-5p Inh group, si-SOX2-OT + oe-NC group, and si-SOX2-OT + oe-NOB1 group. The mRNA expression levels of SOX2-OT, miR-215-5p, and NOB1 in each group of cells were detected using qPCR method. MTT assay, scratch wound healing assay, Transwell chamber assay, and flow cytometry were used to measure cell proliferation, migration, invasion, and apoptosis, respectively. Western blot was applied to detect protein expression levels of E-cadherin, N-cadherin, vimentin, Bcl-2, BAX, PCNA, MMP-9, and NOB1. The targeting relationship between miR-215-5p and SOX2-OT or NOB1 was validated using dual-luciferase reporter gene assays. **Results:** SOX2-OT and NOB1 mRNA were significantly upregulated, while miR-215-5p was downregulated in both CRC tissues and cells (all $P < 0.05$). In HCT-116 cells with SOX2-OT knockdown, the expression of SOX2-OT and NOB1 mRNA, cell proliferation, wound healing rate, invasive cell number, and protein levels of N-cadherin, vimentin, Bcl-2,

[基金项目] 武汉市卫生健康委员会资助项目(No. WX17D19)

[作者简介] 刘丹(1977—),女,硕士,副主任医师,主要从事消化道肿瘤及感染疾病研究

[通信作者] 罗剑锋(扫码获取作者联系方式)



NOB1, PCNA, and MMP-9 were significantly reduced (all $P < 0.05$), while miR-215-5p expression, apoptosis rate, and protein levels of E-cadherin and BAX were significantly increased (all $P < 0.05$). Both miR-215-5p knockdown and NOB1 overexpression reversed the inhibitory effects of SOX2-OT knockdown on HCT-116 cells (both $P < 0.05$). miR-215-5p was validated to target SOX2-OT and NOB1. **Conclusion:** SOX2-OT knockdown upregulates miR-215-5p expression and downregulates NOB1 expression, further inhibiting the proliferation, migration, and invasion of HCT-116 cells and promoting apoptosis.

[Key words] lncRNA SOX2-OT; miR-215-5p/NOB1 axis; colorectal cancer (CRC); HCT-116 cell; proliferation; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2025, 32(7): 731-737. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2025.07.008]

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是一种常见的消化系统恶性肿瘤,据全球癌症统计数据,CRC的发病率居全球第3位、病死率位居第2位,严重威胁人类健康^[1-2]。2020年,中国CRC新发病例和病死率分别占全球的49.3%和58.3%^[2]。针对CRC的治疗主要是手术、化疗和放疗,但已发生转移的CRC患者的生存率极低^[3]。目前,CRC的发病机制尚未完全明确,因此深入其分子机制对于提升CRC的临床治疗效果具有极为重要的意义。lncRNA SOX2-OT在多种肿瘤中发挥重要作用,它能够促进非小细胞肺癌细胞增殖、迁移并抑制细胞凋亡^[4];还可通过调控其下游靶基因miRNA,促进胶质母细胞瘤细胞的恶性生物学行为,从而参与肿瘤细胞的恶性进展^[5]。研究^[6-7]表明,上调miR-215-5p表达可抑制CRC细胞的恶性生物学行为,抑制miR-215-5p表达则可促进CRC细胞恶性生物学行为,抑制乳腺癌细胞侵袭能力。NIN1/RPN12结合蛋白1同源物(NIN1/RPN12 binding protein 1 homolog, NOB1)是一种与酵母NOB1p同源的蛋白,是核糖组装、蛋白酶体生成和装配以及细胞周期调节的重要参与因子,在肿瘤进展中起关键作用。研究^[8-9]表明,敲低NOB1表达可抑制CRC细胞恶性生物学行为,可诱导血管内皮细胞凋亡。通过Starbase网站预测发现,miR-215-5p与NOB1和SOX2-OT之间均存在结合位点。因此,本研究探讨NOB1是否通过调控miR-215-5p/SOX2-OT信号通路影响CRC细胞的恶性生物学行为。

1 材料与方法

1.1 组织、细胞及主要试剂

收集2022年6月至2024年5月期间武汉市金银潭医院收治的29例CRC患者的癌组织和癌旁组织标本,所有参与者均被告知并签署知情同意书。人结肠上皮细胞HCoEpiC, CRC细胞SW480、HCT-116、HP116和LoVo细胞购自武汉原生原代生物公司。

si-NC、si-SOX2-OT、inhibitor(Inh)NC、miR-215-5p Inh、oe-NC、oe-NOB1质粒购自深圳华大基因有限公司,总RNA提取试剂盒、qPCR和MTT试剂盒、Transwell小室和细胞凋亡检测试剂盒购自杭州铭特

生物科技有限公司,PCNA、Bcl-2、BAX、E-cadherin、MMP-9、N-cadherin、NOB1、vimentin、 β -actin一抗和HRP标记的二抗均购自英国Abcam公司。

1.2 细胞分组与转染

将HCT-116细胞分为对照组(未处理)、si-NC组(转染si-NC)、si-SOX2-OT组(转染si-SOX2-OT)、si-SOX2-OT + Inh NC组(转染si-SOX2-OT和Inh NC)、si-SOX2-OT + miR-215-5p Inh组(转染si-SOX2-OT和miR-215-5p Inh)、si-SOX2-OT + oe-NC组(转染si-SOX2-OT和oe-NC)、si-SOX2-OT + oe-NOB1组(转染si-SOX2-OT和oe-NOB1)。利用Lipofectamine 2000试剂分别将相应的质粒转染到HCT-116细胞中。培养48 h后进行后续实验。

1.3 qPCR法检测CRC组织和细胞中SOX2-OT、miR-215-5p和NOB1 mRNA表达

提取CRC组织和细胞中总RNA并逆转录为cDNA,按照qPCR试剂盒说明书进行qPCR检测。引物序列:SOX2-OT正向引物为5'-GCTCGTGGCTTAGGAGATTG-3',反向引物为5'-CTGGCAAAGCATGAGGAAGT-3';NOB1正向引物为5'-GGAAGCAGAGTTTGTGTTGGGG-3',反向引物为5'-GTTGGGCAAAGGGTTTCTCC-3';GAPDH正向引物为5'-CTCCTCCTGTTCGACAGTCAGC-3',反向引物为5'-CCC AATACGACCAAATCCGTT-3';miR-215-5p正向引物为5'-GCGCGATGACCTATGAATTG-3',反向引物为5'-ATCCAGTGCAGGGTCCGAGG-3';U6正向引物为5'-GCTTCGGCAGCACATATACTAAAAT-3',反向引物为5'-CGCTTCAGAATTTGCGTGTTCAT-3'。反应条件:95 °C 30 s;95 °C 5 s;60 °C 30 s,共40个循环。以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算目的基因mRNA的相对表达量。

1.4 MTT法检测各组HCT-116细胞的增殖能力

将HCT-116细胞接种于96孔板(1×10^4 个/孔)中,培养24、48 h时,分别加入10 μ L MTT溶液,作用4 h后加入150 μ L的二甲基亚砜,溶解后用酶标仪检测490 nm处的光密度(D)值。以D值表示细胞的增殖能力。

1.5 划痕愈合实验检测各组HCT-116细胞的迁移能力

将HCT-116细胞接种于6孔板(5×10^5 个/孔)中,培养过夜。用移液器吸头在细胞层上垂直划线,测量此时划痕宽度,清洗后加入无血清培养基,培养24 h后

再次测量划痕宽度,计算细胞划痕愈合率。划痕愈合率 = (0 h 划痕宽度 - 24 h 划痕宽度) / 0 h 划痕宽度 × 100。

1.6 Transwell 实验检测各组 HCT-116 细胞的侵袭能力

用基质胶包被 Transwell 上室,于上室中加入 200 μ L 密度为 5×10^5 个/mL 的细胞悬液,下室中加入 600 μ L 含 10% 胎牛血清的培养基,24 h 后取出小室,用多聚甲醛固定下室的细胞,0.1% 结晶紫溶液染色 10 min,在光学显微镜下观察并计数侵袭细胞数量。

1.7 流式细胞术检测各组 HCT-116 细胞的凋亡水平

将各组重悬后的 HCT-116 细胞以每孔 1×10^5 个细胞的密度加入 24 孔板,培养 24 h 后,加入 5 μ L 的 Annexin V-FITC 与 5 μ L 的 PI 试剂,避光染色 15 min,上流式细胞仪检测细胞的凋亡情况。

1.8 WB 法检测各组 HCT-116 细胞中 E-cadherin、N-cadherin、vimentin、BAX、PCNA、MMP-9 和 NOB1 蛋白的表达

提取 HCT-116 细胞总蛋白并定量检测,将蛋白电泳后转至 PVDF 膜,在 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h。加入稀释比例均为 1:5 000 的 Bcl-2、E-cadherin、BAX、PCNA、N-cadherin、MMP-9、NOB1、 β -actin、vimentin 一抗中处理 8 h。洗涤后,加入稀释比例为 1:1 500 的 HRP 标记羊抗兔二抗中作用 1 h,使用 ECL 法显色,用 Image-Pro Plus 软件分析蛋白条带的灰度值。

1.9 双萤光素酶报告基因实验验证 miR-215-5p 与 SOX2-OT 和 NOB1 的靶向关系

构建 SOX2-OT 野生型(WT)和突变型(MUT)载体,分别命名为 SOX2-OT-WT 和 SOX2-OT-MUT。然

后,将两个载体分别与 miR-NC 和 miR-215-5p mimic 共转染到 HCT-116 细胞中,转染 48 h 后检测萤光素酶活性。采用相同的方法构建了包含 NOB1 野生型 3'UTR 和突变型 3'UTR 的萤光素酶报告载体,分别命名为 NOB1-WT 和 NOB1-MUT,以验证 NOB1 与 miR-215-5p 之间的靶向关系。

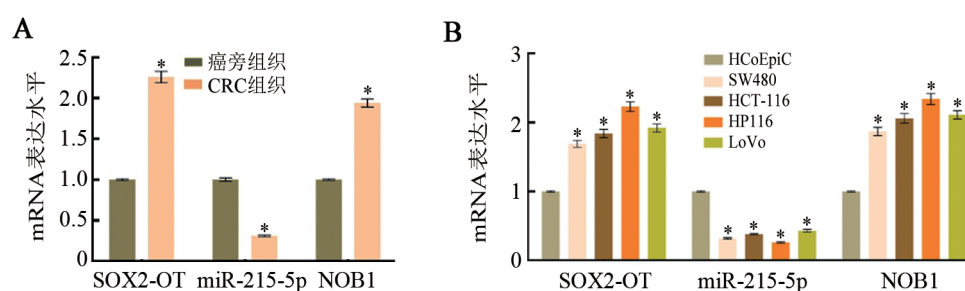
1.10 统计学处理

以上主要实验均独立重复 6 次。采用 Graphpad Prism 8.0.1 软件分析实验数据。符合正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间差异比较采用 *t* 检验,多组间差异比较采用单因素方差分析,组内两组间差异采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 CRC 组织和细胞中 SOX2-OT、NOB1 mRNA 呈高表达、miR-215-5p 呈低表达

qPCR 法检测结果(图 1)显示,与癌旁组织相比,CRC 组织中 SOX2-OT 和 NOB1 mRNA 表达水平显著升高、miR-215-5p 表达水平显著降低(均 $P < 0.05$);与人结肠上皮细胞 HCoEpiC 相比,CRC 细胞 SW480、HCT-116、HP116 和 LoVo 中 SOX2-OT 和 NOB1 mRNA 表达均显著升高、miR-215-5p 均显著降低(均 $P < 0.05$),以 HCT-116 细胞基因表达变化最显著,因此后续实验中采用该细胞。结果表明,CRC 组织和细胞中 SOX2-OT 和 NOB1 mRNA 呈高表达、miR-215-5p 呈低表达。



与癌旁组织或 HCoEpiC 细胞相比, * $P < 0.05$ 。

图 1 CRC 组织(A)和细胞(B)中 SOX2-OT、miR-215-5p 和 NOB1 mRNA 表达比较

2.2 敲低 SOX2-OT 对 HCT-116 细胞中 SOX2-OT、miR-215-5p 和 NOB1 mRNA 表达的影响

qPCR 法检测结果(图 2A)显示,与对照和 si-NC 组相比,si-SOX2-OT 组 HCT-116 细胞中 SOX2-OT 和 NOB1 mRNA 表达均显著升高、miR-215-5p 表达显著降低(均 $P < 0.05$);与 si-SOX2-OT + Inh NC 组相比,si-SOX2-OT + miR-215-5p Inh 组细胞中 miR-215-5p 表达显著降低、NOB1 mRNA 表达显著升高(均

$P < 0.05$);与 si-SOX2-OT + oe-NC 组相比,si-SOX2-OT + oe-NOB1 组细胞 NOB1 mRNA 表达显著升高($P < 0.05$)。结果表明,敲低 SOX2-OT 表达可显著提高 miR-215-5p 表达水平,并抑制 NOB1 的表达。

2.3 敲低 SOX2-OT 抑制 HCT-116 细胞的增殖

MTT 法检测结果(图 2B)显示,与对照和 si-NC 组相比,si-SOX2-OT 组 HCT-116 细胞增殖能力显著降低(均 $P < 0.05$);与 si-SOX2-OT + Inh NC 组相比,

si-SOX2-OT + miR-215-5p Inh 组 HCT-116 细胞的增殖能力显著升高 ($P < 0.05$); 与 si-SOX2-OT + oe-NC 组相比, si-SOX2-OT + oe-NOB1 组细胞增殖能力显著升高 ($P < 0.05$)。结果表明, 敲低 SOX2-OT 表达可

显著抑制 HCT-116 细胞的增殖能力, 同时使用 miR-215-5p Inh 或过表达 NOB1 则部分削弱敲低 SOX2-OT 对细胞增殖的抑制作用。

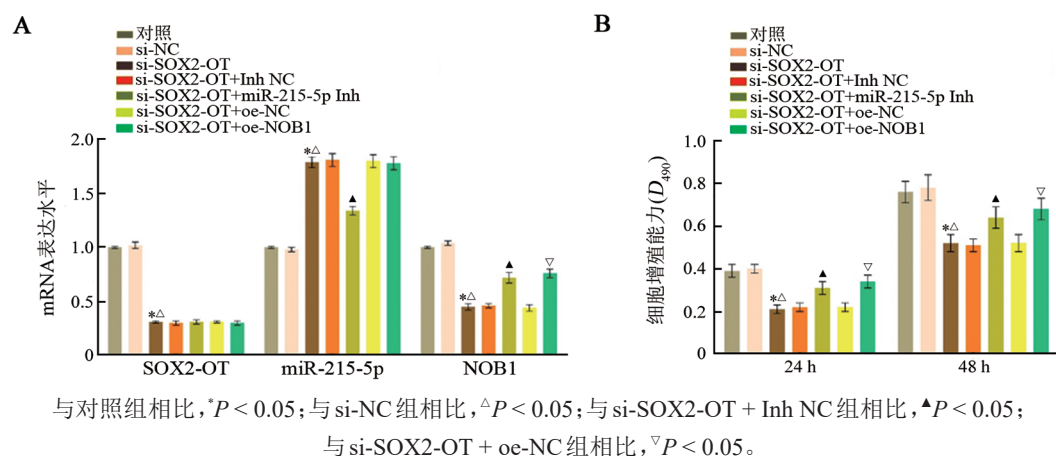


图2 敲低 SOX2-OT 对 HCT-116 细胞 SOX2-OT、miR-215-5p 和 NOB1 mRNA 表达(A)及细胞增殖(B)的影响

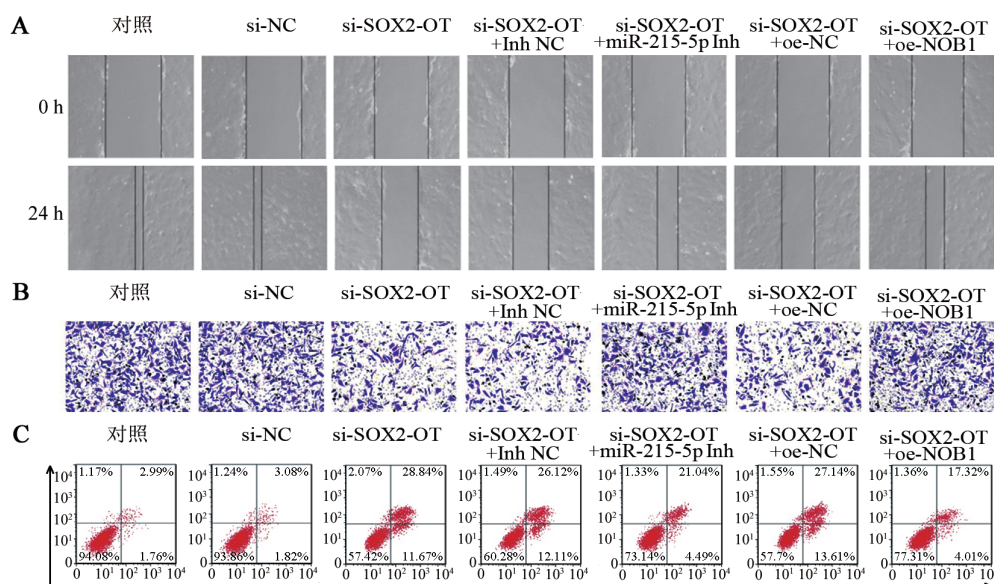
2.4 敲低 SOX2-OT 抑制 HCT-116 细胞的迁移和侵袭

划痕愈合实验和 Transwell 实验检测结果 (图 3A、B, 表 1) 显示, 与对照组和 si-NC 组相比, si-SOX2-OT 组 HCT-116 细胞划痕愈合率和侵袭数量均显著降低 (均 $P < 0.05$); 与 si-SOX2-OT + Inh NC 组相比, si-SOX2-OT + miR-215-5p inh 组划痕愈合率和侵袭数量均显著升高 (均 $P < 0.05$); 与 si-SOX2-OT + oe-NC 组相比, si-SOX2-OT + oe-NOB1 组划痕愈合率和侵袭数量均显著升高 (均 $P < 0.05$)。结果表明, 敲低 SOX2-OT 表达可显著抑制 HCT-116 细胞迁移和侵袭能力, 而同时过表达

NOB1 则促进 HCT-116 细胞迁移和侵袭。

2.5 敲低 SOX2-OT 促进 HCT-116 细胞凋亡

流式细胞术检测结果 (图 3C, 表 1) 显示, 与对照组或 si-NC 组相比, si-SOX2-OT 组 HCT-116 细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.05$); 与 si-SOX2-OT + Inh NC 组相比, si-SOX2-OT + miR-215-5p Inh 组细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$); 与 SOX2-OT + oe-NC 组相比, si-SOX2-OT + oe-NOB1 组细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$)。结果表明, 敲低 SOX2-OT 表达可促进 HCT-116 细胞凋亡。



A: 划痕愈合实验检测细胞的迁移能力; B: Transwell 实验检测细胞的侵袭能力 ($\times 200$); C: 流式细胞术检测细胞的凋亡水平。

图3 下调 SOX2-OT 对 HCT-116 细胞迁移、侵袭和凋亡的影响

表1 下调SOX2-OT对各组HCT-116细胞迁移、侵袭和凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

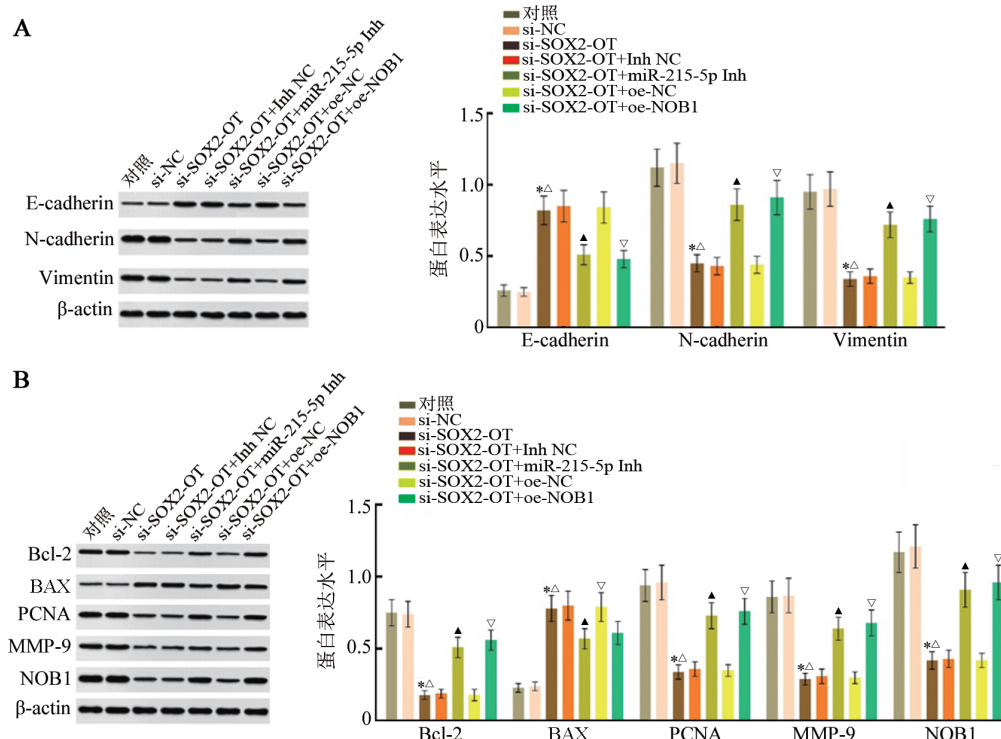
组别	划痕愈合率/%	侵袭个数/个	细胞凋亡率/%
对照	82.74 ± 6.38	161.54 ± 18.46	4.71 ± 0.58
si-NC	83.56 ± 6.42	165.47 ± 20.61	4.86 ± 0.72
si-SOX2-OT	35.62 ± 3.27 ^{*△}	63.79 ± 5.83 ^{*△}	39.63 ± 4.52 ^{*△}
si-SOX2-OT + Inh NC	34.81 ± 3.39	64.38 ± 5.74	38.76 ± 4.53
si-SOX2-OT + miR-215-5p Inh	63.92 ± 5.67 [△]	123.62 ± 14.82 [△]	25.37 ± 3.16 [△]
si-SOX2-OT + oe-NC	36.49 ± 3.86	64.23 ± 6.58	39.24 ± 4.35
si-SOX2-OT + oe-NOB1	67.23 ± 7.14 [▽]	128.14 ± 15.39 [▽]	21.64 ± 2.83 [▽]

与对照组相比, ^{*} $P < 0.05$; 与 si-NC 组相比, [△] $P < 0.05$; 与 si-SOX2-OT + Inh NC 组相比, [△] $P < 0.05$; 与 si-SOX2-OT + oe-NC 组相比, [▽] $P < 0.05$ 。

2.6 敲低 SOX2-OT 对 HCT-116 细胞 E-cadherin、N-cadherin、vimentin 蛋白表达的影响

WB 法检测结果(图 4A)显示,与对照组或 si-NC 组相比, si-SOX2-OT 组 HCT-116 细胞中 N-cadherin 与 vimentin 表达显著降低、E-cadherin 表达升高(均 $P < 0.05$);与 si-SOX2-OT + Inh NC 组相比, si-SOX2-OT

+ miR-215-5p Inh 组细胞中 N-cadherin 与 vimentin 表达显著升高、E-cadherin 表达显著降低(均 $P < 0.05$);与 si-SOX2-OT + oe-NC 组相比, si-SOX2-OT + oe-NOB1 组细胞中 N-cadherin 与 vimentin 表达均显著升高、E-cadherin 表达显著降低(均 $P < 0.05$)。结果表明,敲低 SOX2-OT 表达可抑制 HCT-116 细胞 EMT 进程。



A: WB 法检测各组细胞中 E-cadherin、N-cadherin 的 vimentin 蛋白的表达水平; B: WB 法检测各组细胞中 BAX、PCNA、MMP-9、NOB1 蛋白的表达水平。与对照组相比, ^{*} $P < 0.05$; 与 si-NC 组相比, [△] $P < 0.05$; 与 si-SOX2-OT + Inh NC 组相比, [△] $P < 0.05$; 与 si-SOX2-OT + oe-NC 组相比, [▽] $P < 0.05$ 。

图4 敲减SOX2-OT对HCT-116细胞E-cadherin、N-cadherin、vimentin和Bcl-2、BAX、PCNA、MMP-9、NOB1蛋白表达的影响

2.7 各组 HCT-116 细胞 Bcl-2、BAX、PCNA、MMP-9、NOB1 蛋白表达比较

WB 法检测结果(图 4B)显示,与对照组或 si-NC 组相比, si-SOX2-OT 组 HCT-116 细胞中 Bcl-2、PCNA、MMP-9、NOB1 蛋白表达均显著降低、BAX 蛋

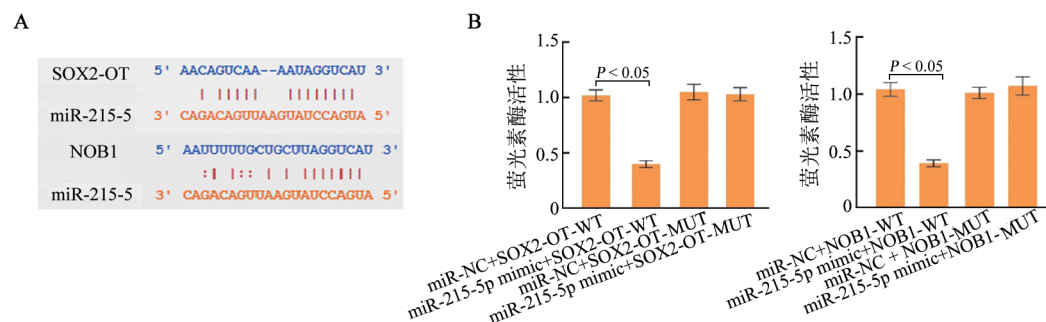
白表达显著升高(均 $P < 0.05$);与 si-SOX2-OT + Inh NC 组相比, si-SOX2-OT + miR-215-5p Inh 组细胞中 Bcl-2、PCNA、MMP-9、NOB1 蛋白表达显著升高、BAX 蛋白表达显著降低(均 $P < 0.05$)。结果表明,敲低 SOX2-OT 表达可降低 Bcl-2、PCNA、MMP-9 和

NOB1 表达水平,提高BAX 蛋白表达水平。

2.8 miR-215-5p 与 SOX2-OT 和 NOB1 之间存在靶向关系

Starbase 网站预测结果(图 5A)显示,miR-215-5p 与 NOB1 和 SOX2-OT 之间存在结合位点。双萤光素酶报告基因实验检测结果(图 5B)显示,miR-NC +

SOX2-OT-WT 组萤光素酶活性高于 miR-215-5p mimic + SOX2-OT-WT 组 ($P < 0.05$); miR-NC + NOB1-WT 组萤光素酶活性高于 miR-215-5p mimic + NOB1-WT 组 ($P < 0.05$)。结果表明,miR-215-5p 与 SOX2-OT 和 NOB1 之间存在靶向调控关系。



A: Starbase 网站预测 miR-215-5p 与 SOX2-OT 和 NOB1 的结合位点;B: 双萤光素酶报告基因实验验证 miR-215-5p 与 SOX2-OT 和 NOB1 之间的靶向关系

图5 miR-215-5p 靶向结合 SOX2-OT 与 NOB1

3 讨论

CRC 仍然是全球范围内的严重健康问题,每年约有 70 万人死亡^[10]。CRC 早期无明显症状,很难被早期发现,一旦确诊,癌细胞已发生转移;手术和化疗作为 CRC 常规治疗手段,但疗效不佳且术后易复发^[11]。虽然近年来在手术治疗技术和辅助治疗方面取得了一定进展,但 CRC 的整体预后仍然远不能令人满意^[12]。因此,深入了解 CRC 发生发展的分子机制对于未来的诊断和治疗至关重要。

lncRNA 是一种不编码蛋白的长链 RNA,研究^[13]显示,其具有调控肿瘤细胞增殖、迁移的作用,敲低 SOX2-OT 表达可抑制前列腺癌细胞增殖和转移,抑制体内肿瘤生长。敲低 SOX2-OT 表达可抑制喉癌细胞的恶性生物学行为^[14]。本研究结果表明,SOX2-OT 在 CRC 组织和细胞中高表达,敲低 SOX2-OT 表达可抑制 HCT-116 细胞的恶性生物学行为。为进一步探究 SOX2-OT 影响 HCT-116 细胞的机制,本研究检测了调控癌细胞恶性生物学行为的几种蛋白。上皮间质转化(EMT)是指上皮细胞向侵袭性间充质细胞转化,可促进细胞转移和侵袭;E-cadherin 是上皮细胞标志蛋白,可维持细胞间黏附并抑制细胞迁移;N-cadherin 和 vimentin 为间充质的标志蛋白,可促进细胞的迁移^[15];MMP-9 蛋白为基质金属蛋白酶,可降解和破坏基底膜,促进细胞迁移^[16];PCNA 是为细胞核增殖抗原,具有促进细胞 DNA 合成和细胞增殖的功能;Bcl-2/BAX 是调控细胞凋亡的蛋白,Bcl-2 蛋白可降低细胞结构破坏并抑制细胞凋亡;BAX 可促进

细胞结构破坏并加速细胞凋亡^[17]。本研究结果表明,与对照组和 si-NC 组相比,敲低 SOX2-OT 表达可显著抑制 HCT-116 细胞中 N-cadherin、vimentin、Bcl-2、PCNA 和 MMP-9 蛋白表达,促进 E-cadherin 和 BAX 蛋白表达,从而抑制 HCT-116 细胞的恶性生物学行为。

lncRNA 可调控 miRNA 表达进而影响肿瘤细胞的恶性生物学行为^[14]。研究^[18]表明,miR-215-5p 过表达可抑制乳腺癌细胞 EMT 进程和脂质代谢并抑制肿瘤生长。miR-215-5p 过表达在体外可抑制 CRC 细胞恶性生物学行为,在体内可抑制肿瘤生长和肝转移^[19]。本研究结果显示,miR-215-5p 在 CRC 组织和细胞中呈低表达;敲低 SOX2-OT 表达后,miR-215-5p 表达上调,抑制 HCT-116 细胞增殖迁移和侵袭。本研究证实,miR-215-5p 和 SOX2-OT 之间存在靶向调控关系。进一步通过回复实验验证两者靶向关系,在敲低 SOX2-OT 表达的同时下调 miR-215-5p 表达,结果显示,下调 miR-215-5p 表达可部分逆转敲低 SOX2-OT 表达对 HCT-116 细胞的抑制作用。研究提示,敲低 SOX2-OT 表达可能通过促进 miR-215-5p 表达来抑制 HCT-116 细胞的恶性生物学行为。

NOB1 是一种 RNA 结合蛋白,可调控细胞增殖和蛋白酶活性。研究^[20]显示,NOB1 在卵巢癌、食管癌、CRC 等多种癌症中高表达,与肿瘤细胞的增殖、侵袭和预后不良有关;下调 NOB1 表达可抑制卵巢癌细胞恶性生物学行为^[21]和乳头状甲状腺癌的进展^[22]。本研究结果显示,NOB1 在 CRC 组织和细胞中呈高表达,其可能参与 CRC 进展。敲低 SOX2-OT 表达后,HCT-116 细胞中 miR-215-5p 表达升高、NOB1 表达水

平降低,细胞的恶性生物学行为被抑制。本研究证实,miR-215-5p 与 NOB1 之间存在靶向调控关系,敲低 SOX2-OT 表达可能促进 miR-215-5p 表达、下调 NOB1 表达,进而抑制 HCT-116 细胞的恶性生物学行为。为验证该结论,本研究设置回复实验,在敲低 SOX2-OT 表达的同时上调 NOB1 表达,结果显示,上调 NOB1 表达可减弱敲低 SOX2-OT 表达对细胞的抑制作用。总之,敲低 SOX2-OT 表达可能通过调控 miR-215-5p/NOB1 轴来抑制 HCT-116 细胞恶性进展。综上所述,敲低 SOX2-OT 表达可上调 miR-215-5p 表达,下调 NOB1 表达,进而抑制 HCT-116 细胞恶性进展。SOX2-OT/miR-215-5p/NOB1 轴可能是 CRC 的潜在治疗靶点,本实验初步揭示了其细胞水平的调控机制,后续还需通过裸鼠移植瘤模型进一步验证。

[参 考 文 献]

- [1] LIN X T, ZHUANG S W, CHEN X, *et al.* lncRNA ITGB8-AS1 functions as a ceRNA to promote colorectal cancer growth and migration through integrin-mediated focal adhesion signaling[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(2): 688-702. DOI:10.1016/j.ymthe.2021.08.011.
- [2] ZHAO W H, DAI S P, YUE L, *et al.* Emerging mechanisms progress of colorectal cancer liver metastasis[J/OL]. *Front Endocrinol*, 2022, 13: 1081585[2024-08-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36568117/>. DOI:10.3389/fendo.2022.1081585.
- [3] MAO Y N, WANG W, YANG J W, *et al.* Drug repurposing screening and mechanism analysis based on human colorectal cancer organoids [J]. *Protein Cell*, 2024, 15(4): 285-304. DOI:10.1093/procel/pwad038.
- [4] DODANGEH F, SADEGHI Z, MALEKI P, *et al.* Long non-coding RNA SOX2-OT enhances cancer biological traits *via* sponging to tumor suppressor miR-122-3p and miR-194-5p in non-small cell lung carcinoma[J/OL]. *Sci Rep*, 2023, 13(1): 12371[2024-08-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37524903/>. DOI:10.1038/s41598-023-39000-0.
- [5] WANG H C, HU Q L, TONG Y L, *et al.* lncRNA SOX2-OT regulates miR-192-5p/RAB2A axis and ERK pathway to promote glioblastoma cell growth[J]. *Cell Cycle*, 2021, 20(19): 2010-2020. DOI:10.1080/15384101.2021.1965722.
- [6] CHENG Y, HAN X J, MO F, *et al.* Apigenin inhibits the growth of colorectal cancer through down-regulation of E2F1/3 by miRNA-215-5p[J]. *Phytomedicine*, 2021, 89: 153603[2024-08-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34175590/>. DOI:10.1016/j.phymed.2021.153603.
- [7] GAO J B, ZHU M N, ZHU X L. miRNA-215-5p suppresses the aggressiveness of breast cancer cells by targeting Sox9[J]. *FEBS Open Bio*, 2019, 9(11): 1957-1967. DOI:10.1002/2211-5463.12733.
- [8] REN Z, YAO L Q, LIU J Z, *et al.* Silencing NOB1 can affect cell proliferation and apoptosis *via* the C-Jun N-terminal kinase pathway in colorectal cancer[J]. *J Invest Surg*, 2021, 34(8): 819-825. DOI:10.1080/08941939.2019.1697401.
- [9] 陈政波, 赵刚, 罗东, 等. 柴胡皂苷 D 通过 NOB1 影响血管瘤内皮细胞凋亡[J]. *中国临床药理学杂志*, 2021, 37(20): 2790-2793. DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2021.20.018.
- [10] YANG X, ZHANG S, HE C Y, *et al.* METTL14 suppresses proliferation and metastasis of colorectal cancer by down-regulating oncogenic long non-coding RNA XIST[J/OL]. *Mol Cancer*, 2020, 19(1): 46[2024-08-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32111213/>. DOI:10.1186/s12943-020-1146-4.
- [11] 张美华, 赵文睫, 李康, 等. 茯苓酸通过调控 AKT/MDM2/p53 通路影响结直肠癌 HCT116 细胞的恶性生物学行为[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2024, 31(3): 247-252. DOI:10.3872/j.issn.1007-385x.2024.03.006.
- [12] MURPHY C C, ZAKI T A. Changing epidemiology of colorectal cancer-birth cohort effects and emerging risk factors[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2024, 21: 25-34. DOI:10.1038/s41575-023-00841-9.
- [13] SONG X F, WANG H, WU J W, *et al.* Long noncoding RNA SOX2-OT knockdown inhibits proliferation and metastasis of prostate cancer cells through modulating the miR-452-5p/HMGB3 axis and inactivating Wnt/ β -catenin pathway[J]. *Cancer Biother Radiopharm*, 2020, 35(9): 682-695. DOI:10.1089/cbr.2019.3479.
- [14] LI G, PAN C C, SUN J Q, *et al.* lncRNA SOX2-OT regulates laryngeal cancer cell proliferation, migration and invasion and induces apoptosis by suppressing miR-654[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(5): 3316-3324. DOI:10.3892/etm.2020.8577.
- [15] YANG S, ZHANG D S, SUN Q Y, *et al.* Single-cell and spatial transcriptome profiling identifies the transcription factor BHLHE40 as a driver of EMT in metastatic colorectal cancer[J]. *Cancer Res*, 2024, 84(13): 2202-2217. DOI:10.1158/0008-5472.CAN-23-3264.
- [16] CHEN G, TIAN T T, WANG F Q, *et al.* Chanling Gao suppresses colorectal cancer *via* PI3K/Akt/mTOR pathway modulation and enhances quality of survival[J]. *Environ Toxicol*, 2024, 39(3): 1107-1118. DOI:10.1002/tox.23994.
- [17] KANDHAVALU J, SUBRAMANIAN K, NAIDOO V, *et al.* A novel EGFR inhibitor, HNPML, regulates apoptosis and oncogenesis by modulating BCL-2/BAX and p53 in colon cancer[J]. *Br J Pharmacol*, 2024, 181(1): 107-124. DOI:10.1111/bph.16141.
- [18] WU C L, XU L L, PENG J, *et al.* AI-MPS obstructs EMT in breast cancer by inhibiting lipid metabolism *via* miR-215-5p/SREBP1[J/OL]. *Endocrinology*, 2022, 163(5): bqac040[2024-08-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35366327/>. DOI:10.1210/endo/bqac040.
- [19] MACHACKOVA T, VYCHYTILOVA-FALTEJSKOVA P, SOUCKOVA K, *et al.* miR-215-5p reduces liver metastasis in an experimental model of colorectal cancer through regulation of ECM-receptor interactions and focal adhesion[J/OL]. *Cancers*, 2020, 12(12): 3518[2024-08-28]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33255928/>. DOI:10.3390/cancers12123518.
- [20] 杨美平, 邓颂, 陈明倩, 等. NOB1 在宫颈癌患者中的表达及其与预后的相关性分析[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2024, 32(1): 97-101.
- [21] SHI Z K, ZHOU X, BAO M J, *et al.* miRNA-612 suppresses ovarian cancer cell tumorigenicity by downregulating NOB1[J/OL]. *Am J Transl Res*, 2022, 14(6): 3904-3914[2024-08-28]. <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9274555/>.
- [22] DONG S, XUE S, SUN Y, *et al.* MicroRNA-363-3p downregulation in papillary thyroid cancer inhibits tumor progression by targeting NOB1[J]. *J Invest Med*, 2021, 69(1): 66-74. DOI:10.1136/jim-2020-001562.

[收稿日期] 2024-08-29 [修回日期] 2025-05-05

[本文编辑] 党瑞山