

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.10.009  
文章编号: 1005-8982 (2021) 10-0041-07

实验研究·论著

## TINCR靶向microR-544a/FBXW7对 人乳腺癌细胞增殖、侵袭的影响\*

江国斌, 陈晓萍

(台州医院 乳腺甲状腺外科, 浙江 台州 318050)

**摘要:** **目的** 探讨长链非编码RNA(lncRNA)组织分化诱导非蛋白编码RNA(TINCR)靶向microRNA-544a(miR-544a)/FBXW7对人乳腺癌细胞增殖、侵袭的影响。**方法** 体外培养人乳腺癌MCF7细胞株,设置空白对照组(不转入任何载体)、TINCR NC组(pcDNA3.1空载体)和TINCR上调组(pcDNA3.1-TINCR表达载体)。采用实时荧光定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测MCF7细胞lncRNA TINCR、miR-544a相对表达量;CCK-8法检测MCF7细胞增殖情况;流式细胞术检测MCF7细胞凋亡情况;Transwell法检测MCF7细胞侵袭情况;Western blotting检测MCF7细胞FBXW7、增殖细胞核抗原(PCNA)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)蛋白相对表达量。取TINCR上调组MCF7细胞,分为miR-544a NC组(转染miR-544a NC)和miR-544a上调组(转染miR-544a mimic),验证转染效率。**结果** 空白对照组、TINCR NC组MCF7细胞lncRNA TINCR、miR-544a相对表达量、OD值、细胞凋亡率、穿膜细胞数及FBXW7、PCNA、Bax、MMP-2蛋白相对表达量比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与空白对照组、TINCR NC组比较,TINCR上调组MCF7细胞lncRNA TINCR相对表达量、细胞凋亡率及FBXW7、Bax蛋白相对表达量升高( $P < 0.05$ ),miR-544a相对表达量、OD值、穿膜细胞数及PCNA、MMP-2蛋白相对表达量降低( $P < 0.05$ )。TINCR上调组与miR-544a NC组MCF7细胞OD值、侵袭细胞数及miR-544a、FBXW7蛋白相对表达量比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。与TINCR上调组和miR-544a NC组比较,miR-544a上调组MCF7细胞OD值、侵袭细胞数及miR-544a相对表达量升高( $P < 0.05$ ),FBXW7蛋白相对表达量降低( $P < 0.05$ )。**结论** lncRNA TINCR可能通过靶向miR-544a/FBXW7,抑制人乳腺癌细胞增殖、侵袭,并促进其凋亡。

**关键词:** 乳腺癌;组织分化诱导非蛋白编码RNA;microRNA;F-box/FBXW7;增殖;侵袭  
**中图分类号:** R737.9 **文献标识码:** A

## Effects of lncRNA TINCR targeting miR-544a/FBXW7 on proliferation and invasion of human breast cancer cells\*

Guo-bin Jiang, Xiao-ping Chen

(Department of Breast and Thyroid Surgery, Taizhou hospital, Taizhou, Zhejiang 318050 China)

**Abstract: Objective** To investigate the effects of long non-coding RNA (lncRNA) tissue differentiation-inducing non-protein coding RNA (TINCR) targeting microRNA-544a (miR-544a)/F-box and WD-40 domain protein 7 (FBXW7) on the proliferation and invasion of human breast cancer cells. **Methods** Human breast cancer MCF7 cell line was cultured in vitro, and the blank control group (without any vector), TINCR NC group (pcDNA3.1 empty vector) and TINCR upregulated group (pcDNA3.1-TINCR expression vector) were set up. The expressions of lncRNA TINCR and miR-544a in MCF7 cells were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (qPCR). The proliferation of MCF7 cells was detected by cell counting kit-8 (CCK-8) method. The

收稿日期: 2020-11-05

\* 基金项目: 浙江省医学会临床科研基金项目 (No: 2018ZYC-A144)

apoptosis of MCF7 cells was detected by flow cytometry. The invasion of MCF7 cells was detected by transwell assay. The expressions of FBXW7, proliferating cell nuclear antigen (PCNA), Bcl-2-associated X protein (Bax) and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) in MCF7 cells were detected by Western blotting. The MCF7 cells from TINCR upregulated group were further divided into miR-544a NC group (transfected with miR-544a negative control) and miR-544a upregulated group (transfected with miR-544a mimic), and the transfection efficiency was determined. **Results** There was no significant difference in the relative expression levels of lncRNA TINCR and miR-544a, optical density (OD) value, apoptosis rate, number of migrated cells, or levels of FBXW7, PCNA, Bax, MMP-2 proteins between the blank control group and TINCR NC group ( $P > 0.05$ ). Compared with the blank control group and TINCR NC group, the expression level of lncRNA TINCR, apoptosis rate, and the expression levels of FBXW7 and Bax proteins in MCF7 cells in the TINCR upregulated group were higher ( $P < 0.05$ ), while the expression level of miR-544a, OD value, number of migrated cells, and the expression levels of PCNA and MMP-2 proteins were lower ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in OD value, number of invasive cells, or the expression levels of miR-544a and FBXW7 proteins in MCF7 cells between the TINCR upregulated group and the miR-544a NC group ( $P > 0.05$ ). Compared with the TINCR upregulated group and the miR-544a NC group, OD value, number of invasive cells and expression level of miR-544a in the miR-544a upregulated group were higher ( $P < 0.05$ ), while FBXW7 protein expression level was lower ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** LncRNA TINCR may target miR-544a/FBXW7 to inhibit the proliferation and invasion but to promote the apoptosis of human breast cancer cells.

**Keywords:** long non-coding RNA; tissue differentiation-inducing non-protein coding RNA; microRNA-544a; F-box and WD-40 domain protein 7; breast cancer; proliferation; invasion

乳腺癌是全球范围内常见的恶性肿瘤之一，是女性死亡的首要原因<sup>[1]</sup>。据全球癌症报告统计，2016年全球约25万人确诊为乳腺癌，占女性恶性肿瘤新发病例的29%左右<sup>[2]</sup>。近年来，乳腺癌在我国的发生率呈上升趋势，且逐渐年轻化，对我国女性生命安全造成严重威胁<sup>[3]</sup>。因此，探究乳腺癌的发生、发展机制，寻找新治疗靶点具有潜在价值。

长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 属于非编码RNA，长度>200个核苷酸，与乳腺癌等多种肿瘤的发生、发展密切相关<sup>[4-5]</sup>。组织分化诱导非蛋白编码RNA (tissue differentiation inducing non-protein coding RNA, TINCR) 属于非典型lncRNA，是体细胞组织分化及肿瘤发生、发展所需的关键lncRNA<sup>[6]</sup>。microRNA-544a (miR-544a) 在肿瘤侵袭、转移中发挥重要作用<sup>[7]</sup>。*F-box/FBXW7*是一种经典的抑癌基因，介导多种重要癌蛋白的泛素化降解，其基因表达缺失会导致原癌基因激活<sup>[8]</sup>。目前，lncRNA TINCR对乳腺癌的影响尚缺少研究。本实验通过研究过表达lncRNA TINCR靶向miR-544a/FBXW7对人乳腺癌MCF7细胞增殖、侵袭等生物学行为的影响，为寻找乳腺癌新治疗新靶点提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂与仪器

**1.1.1 主要试剂** 人乳腺癌MCF7细胞株、胎牛血清、DMEM培养基、蛋白提取试剂盒、BCA蛋白检测试剂盒、FBXW7抗体、增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA) 抗体、基质金属蛋白酶-2 (matrix metalloproteinase-2, MMP-2) 抗体、Bcl-2相关X蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax) 抗体、 $\beta$ -actin抗体 (货号: SCC-111011-1、S9030、90113、BC3640、PT0001、K004271P、K000323P、K001437M、K001435M、M1000170) 购自上海恒斐生物科技有限公司，Lipofectamine 2000转染试剂 (货号: 11668030) 购自美国Life Technologies公司，实时荧光定量聚合酶链反应 (quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR) 试剂盒 (货号: DEM202-50T) 购自北京拜尔迪生物技术有限公司，CCK-8试剂、Annexin V-FITC/PI凋亡试剂盒、羊抗兔IgG抗体 (货号: QN1293-OIR、WK304、BTN131149) 购自北京百奥莱博科技有限公司，Matrigel™基质胶 (货号: 354234) 购自广州威佳科技有限公司，pcDNA3.1空载体、化学发光试剂盒 (货号: ZY790-20、ZY-11256) 购自上海泽叶生物科技有限公司，TINCR、

miR-544a、 $\beta$ -actin 引物由上海生工生物工程股份有限公司合成。

**1.1.2 主要仪器** 恒温培养箱 (型号: MIR-162-PC/MIR-262-PC) 购自日本松下公司, 全自动酶标仪 (型号: ELX800) 购自美国 BIO-TEK 公司, 流式细胞仪 (型号: BD FACSCanto II) 购自美国 BD 公司, 显微镜 (型号: CX31) 购自日本 OLYMPUS 公司, 化学发光成像系统 (型号: ChemiDocXRS) 购自美国 Bio-Rad 公司。

## 1.2 细胞培养与分组

**1.2.1 细胞培养** 将人乳腺癌 MCF7 细胞株 (上海恒斐生物科技有限公司) 放置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内, 在含 10% 胎牛血清、双抗 (青霉素、链霉素各 100 u/ml) DMEM 培养基中培养, 当细胞融合至 80% 左右时, 胰酶消化、传代。

**1.2.2 细胞分组** 取对数期 MCF7 细胞, 按  $1 \times 10^5$  个/ml 接种于 96 孔培养板, 于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养。使用 Lipofectamine 2000 转染试剂将 pcDNA3.1-TINCR 表达载体、pcDNA3.1 空载体分别转入到 MCF7 细胞, 分别作为 TINCR 上调组和 TINCR NC 组, 将未转染的 MCF7 细胞作为空白对照组。转染 24 h 后正常培养, 置入 -80℃ 冰箱冷冻保存。

## 1.3 qRT-PCR 检测 MCF7 细胞 TINCR、miR-544a 相对表达量

空白对照组、TINCR NC 组及 TINCR 上调组 MCF7 细胞培养 24 h 后提取总 RNA, 逆转录成 cDNA,  $\beta$ -actin 为内参基因。反应条件: 95℃ 预变性 15 min; 95℃ 变性 30 s, 63℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 40 s, 共计 45 个循环; 72℃ 继续延伸 10 min。以  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法计算相对表达量。引物序列见表 1。

表 1 qRT-PCR 引物序列

基因	引物序列	长度/bp
<i>lncRNA TINCR</i>	正向: 5'-ATCCTCAGTGAGTTCTCCCG-3'	106
	反向: 5'-CTTTGCCATCACTGCCATTA-3'	
<i>miR-544a</i>	正向: 5'-TGGCACCCAGCACAAT GAA-3'	298
	反向: 5'-CTAAGTCATAGTCCGCTAGAAGCA-3'	
$\beta$ -actin	正向: 5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTGT-3'	268
	反向: 5'-GCTGCTACCTTCACCGTTCC-3'	

## 1.4 CCK-8 法检测 MCF7 细胞增殖情况

空白对照组、TINCR NC 组及 TINCR 上调组 MCF7 细胞培养 48 h, 加入 CCK-8 试剂, 培养 2 h。采用全自动酶标仪检测 450 nm 处的光密度值 (optical density, OD)。

## 1.5 流式细胞术检测 MCF7 细胞凋亡情况

空白对照组、TINCR NC 组及 TINCR 上调组 MCF7 细胞培养 48 h, PBS 洗涤后使用 400  $\mu$ l  $1 \times$  结合缓冲液制备细胞悬浮液, 并调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  个/ml, 加入 5  $\mu$ l Annexin V-FITC; 15 min 后加入 10  $\mu$ l PI 孵育 1 h, 流式细胞仪测定细胞凋亡率。

## 1.6 Transwell 法检测 MCF7 细胞侵袭情况

使用 50  $\mu$ l Matrigel 基质胶 (1:8 稀释) 铺 Transwell 小室的微孔膜, 用无血清培养液将空白对照组、TINCR NC 组及 TINCR 上调组 MCF7 细胞稀释至  $2.5 \times 10^5$  个/ml, 在 Transwell 小室上层加 200  $\mu$ l, 下室加 500  $\mu$ l 含 10% 胎牛血清的培养液, 37℃、

5% CO<sub>2</sub> 条件下孵育 24 h, 擦去膜上细胞, 用 4% 多聚甲醛固定已经穿膜并黏附在微孔膜外表面的细胞 10 min, PBS 洗涤, 0.5% 结晶紫染色 20 min。在 200 倍镜的显微镜下随机选取 6 个视野, 统计穿膜细胞数, 并计算平均值。

## 1.7 Western blotting 检测 MCF7 细胞 FBXW7、PCNA、Bax、MMP-2 蛋白相对表达量

空白对照组、TINCR NC 组及 TINCR 上调组 MCF7 细胞培养 48 h, 收集细胞, 提取各组细胞总蛋白并定量。电泳分离、转膜、封闭, 加 FBXW7、PCNA、Bax、MMP-2、 $\beta$ -actin 抗体 (1:500) 孵育过夜, TBST 洗涤, 加羊抗兔 IgG 二抗 (1:1000, 辣根过氧化物酶标记) 室温孵育 1 h, 发光法显色, 拍摄图像, 分析条带灰度值, 以目的蛋白灰度值/ $\beta$ -actin 灰度值表示目的蛋白相对表达量。

## 1.8 回复实验

取 TINCR 上调组 MCF7 细胞, 按  $1 \times 10^5$  个/ml 的

密度接种于 96 孔培养板，于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养。使用 Lipofectamine 2000 转染试剂分别将 miR-544a NC、miR-544a mimic 转入 MCF7 细胞，其分别作为 miR-544a NC 组和 miR-544a 上调组。转染 24 h 后正常培养，qRT-PCR 检测 miR-544a 相对表达量验证转染效率，CCK-8 法检测 MCF7 细胞增殖，Transwell 法检测 MCF7 细胞侵袭，Western blotting 检测 MCF7 细胞 FBXW7 蛋白相对表达量，具体步骤参照 1.3、1.4、1.6 和 1.7。

### 1.9 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示，比较用方差分析，进一步两两比较用 SNK-*q* 法， $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组 MCF7 细胞 lncRNA TINCR、miR-544a 相对表达量

空白对照组、TINCR NC 组、TINCR 上调组 MCF7 细胞 lncRNA TINCR、miR-544a 相对表达量比较，经方差分析，差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较结果：空白对照组与 TINCR NC 组比较，差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；与空白对照组和 TINCR NC 组相比，TINCR 上调组 MCF7 细胞 lncRNA TINCR 相对表达量升高 ( $P < 0.05$ )，miR-544a 相对表达量降低 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组 MCF7 细胞 lncRNA TINCR、miR-544a 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	lncRNA TINCR	miR-544a
空白对照组	1.02 ± 0.28 <sup>†</sup>	1.04 ± 0.25 <sup>†</sup>
TINCR NC 组	1.05 ± 0.33 <sup>†</sup>	0.99 ± 0.24 <sup>†</sup>
TINCR 上调组	1.84 ± 0.42	0.52 ± 0.16
F 值	10.702	10.167
P 值	0.001	0.002

注：†与 TINCR 上调组比较， $P < 0.05$ 。

### 2.2 各组 MCF7 细胞增殖情况

空白对照组、TINCR NC 组、TINCR 上调组 MCF7 细胞 OD 值分别为 (0.69 ± 0.18)、(0.78 ± 0.22) 和 (0.35 ± 0.09)，经方差分析，差异有统计学意义 ( $F = 10.414$ ,  $P = 0.001$ )。进一步两两比较结果：空白对照组与 TINCR NC 组比较，差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；与空白对照组和 TINCR NC 组相比，TINCR 上调组 MCF7 细胞 OD 值降低 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 各组 MCF7 细胞凋亡情况

空白对照组、TINCR NC 组、TINCR 上调组 MCF7 细胞凋亡率分别为 (11.17 ± 2.04)%、(10.65 ± 1.88)% 和 (46.82 ± 8.79)%，经方差分析，差异有统计学意义 ( $F = 91.083$ ,  $P = 0.000$ )。进一步两两比较结果：空白对照组与 TINCR NC 组比较，差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；与空白对照组和 TINCR NC 组相比，TINCR 上调组 MCF7 细胞凋亡率升高 ( $P < 0.05$ )。见图 1。

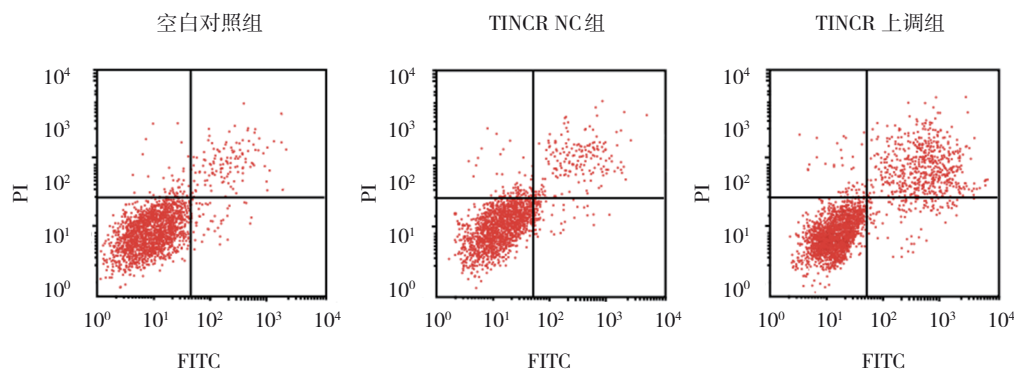


图 1 各组 MCF7 细胞流式细胞图

### 2.4 各组 MCF7 细胞侵袭情况

空白对照组、TINCR NC 组、TINCR 上调组 MCF7 细胞穿膜细胞数分别为 (224.25 ± 28.65) 个、(206.76 ± 23.92) 个和 (146.92 ± 17.55) 个，经方差分析，差异有统计学意义 ( $F = 17.402$ ,  $P = 0.000$ )。

进一步两两比较结果：空白对照组与 TINCR NC 组比较，差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )；与空白对照组和 TINCR NC 组相比，TINCR 上调组 MCF7 细胞穿膜细胞数降低 ( $P < 0.05$ )。见图 2。



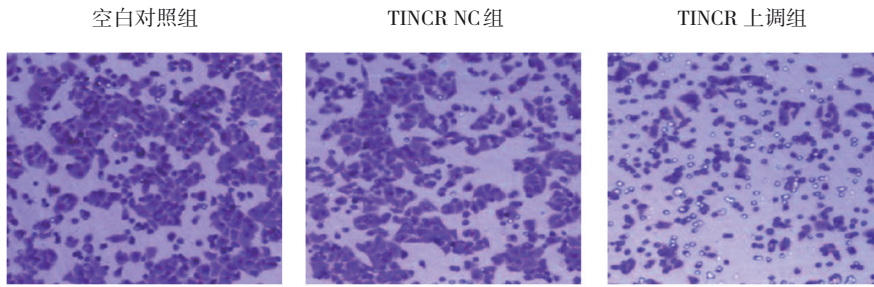


图2 空白对照组、TINCR NC 组、TINCR 上调组 MCF7 细胞侵袭情况 (× 100)

### 2.5 各组 MCF7 细胞 FBXW7、PCNA、Bax、MMP-2 蛋白相对表达量

空白对照组、TINCR NC 组、TINCR 上调组 MCF7 细胞 FBXW7、PCNA、Bax、MMP-2 蛋白相对表达量比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步

两两比较结果: 空白对照组与 TINCR NC 组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与空白对照组和 TINCR NC 组相比, TINCR 上调组 MCF7 细胞 FBXW7、Bax 蛋白相对表达量升高 ( $P < 0.05$ ), PCNA、MMP-2 蛋白相对表达量降低 ( $P < 0.05$ )。见表 3 和图 3。

表 3 各组 MCF7 细胞 FBXW7、PCNA、Bax、MMP-2 蛋白相对比表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	FBXW7 蛋白	PCNA 蛋白	Bax 蛋白	MMP-2 蛋白
空白对照组	0.52 ± 0.12 <sup>†</sup>	0.89 ± 0.26 <sup>†</sup>	0.47 ± 0.11 <sup>†</sup>	0.92 ± 0.25 <sup>†</sup>
TINCR NC 组	0.55 ± 0.15 <sup>†</sup>	0.84 ± 0.22 <sup>†</sup>	0.38 ± 0.10 <sup>†</sup>	0.97 ± 0.26 <sup>†</sup>
TINCR 上调组	0.86 ± 0.23	0.33 ± 0.08	0.93 ± 0.27	0.29 ± 0.06
F 值	7.102	14.123	16.491	19.337
P 值	0.007	0.000	0.000	0.000

注: †与 TINCR 上调组比较,  $P < 0.05$ 。

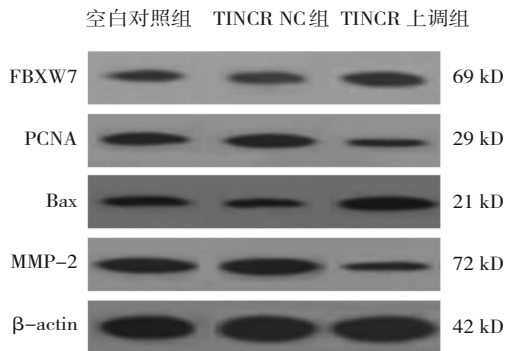


图3 各组 MCF7 细胞 FBXW7、PCNA、Bax、MMP-2 蛋白的表达

### 2.6 lncRNA TINCR 通过靶向 miR-544a 影响 MCF7 细胞增殖、侵袭及 FBXW7 蛋白的表达

TINCR 上调组、miR-544a NC 组、miR-544a 上调组 MCF7 细胞 OD 值、侵袭细胞数及 miR-544a、FBXW7 蛋白相对表达量比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。进一步两两比较结果: TINCR 上调组与 miR-544a NC 组比较, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); 与 TINCR 上调组和 miR-544a NC 组比较, miR-544a 上调组 MCF7 细胞 OD 值、侵袭细胞数及 miR-544a 相对表达量升高 ( $P < 0.05$ ), FBXW7 蛋白相对表达量降低 ( $P < 0.05$ ), 见表 4 和图 4、5。

表 4 各组 MCF7 细胞 OD 值、侵袭细胞数及 miR-544a、FBXW7 蛋白相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	OD 值	侵袭细胞数/个	miR-544a	FBXW7 蛋白
TINCR 上调组	0.34 ± 0.07 <sup>†</sup>	160.66 ± 15.27 <sup>†</sup>	1.01 ± 0.09 <sup>†</sup>	0.83 ± 0.08 <sup>†</sup>
miR-544a NC 组	0.36 ± 0.07 <sup>†</sup>	153.84 ± 15.83 <sup>†</sup>	1.02 ± 0.08 <sup>†</sup>	0.79 ± 0.08 <sup>†</sup>
miR-544a 上调组	0.62 ± 0.08	212.93 ± 18.40	1.85 ± 0.10	0.43 ± 0.07
F 值	27.111	22.875	170.767	49.356
P 值	0.000	0.000	0.000	0.000

注: †与 TINCR 上调组比较,  $P < 0.05$ 。

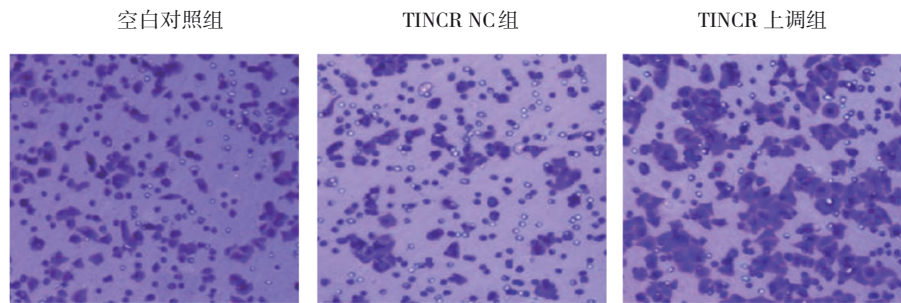


图4 TINCR上调组、miR-544a NC组、miR-544a上调组MCF7细胞侵袭情况 (×100)

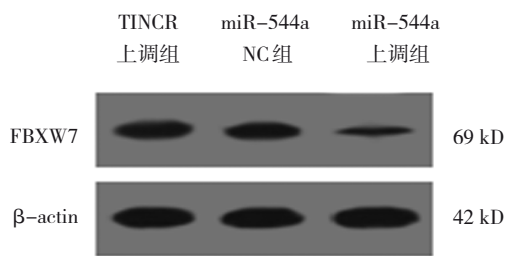


图5 各组MCF7细胞FBXW7蛋白的表达

### 3 讨论

乳腺癌在女性肿瘤中排行第1位，具有发病率高、恶性程度高、易产生耐药性及预后差等特点<sup>[9]</sup>。临床上治疗乳腺癌多采用手术、放射治疗，但容易引起并发症，影响患者生存质量<sup>[10]</sup>。目前乳腺癌发病机制尚未统一，临床上缺少治疗该病的有效靶向手段。但近年来，越来越多的研究表明乳腺癌的发生、发展与癌细胞增殖、侵袭能力有关<sup>[11]</sup>。

lncRNA是一类长度>200个核苷酸的RNA，不具有开放阅读框及蛋白质编码功能<sup>[12]</sup>。近年来研究发现，lncRNA广泛参与机体各种生理病理过程，并作为抑癌或致癌基因在癌细胞增殖、迁移过程中发挥调节作用<sup>[13-14]</sup>。lncRNA TINCR在人类分化成熟的皮肤组织中异常表达，且lncRNA TINCR可作为致癌基因或抑癌基因，参与多种肿瘤的增殖、侵袭等过程。ZHANG等<sup>[15]</sup>研究发现，lncRNA TINCR是潜在的致癌基因，上调其表达对食管鳞状癌细胞增殖、迁移、侵袭过程具有促进作用。HU等<sup>[16]</sup>研究发现，lncRNA TINCR高表达可促进肝癌细胞的浸润和转移。ZHANG等<sup>[17]</sup>研究发现，TINCR是潜在的抑癌基因，下调其表达对结直肠癌细胞增殖、转移过程具有促进作用。但TINCR在乳腺癌中发挥的作用尚不清楚。

LIU等<sup>[18]</sup>研究表明，lncRNA TINCR是一种相互竞争的内源性RNA，可通过miR-544a将其从靶基因FBXW7中分离出来，其在肺癌中发挥抑制增殖、侵袭的作用。有研究发现，过表达miR-544a能促进乳腺癌细胞发生迁移和侵袭。FBXW7在许多癌症中发挥抑癌作用<sup>[19]</sup>。GAO等<sup>[20]</sup>研究发现，肿瘤抑制因子FBXW7可以通过促进MTDH蛋白水解来抑制乳腺癌细胞的增殖，并诱导细胞凋亡。而本研究中上调TINCR表达后，发现MCF7细胞OD值、穿膜细胞数降低，凋亡率升高，提示lncRNA TINCR对乳腺癌MCF7细胞增殖、侵袭过程具有抑制作用，且TINCR可诱导MCF7细胞凋亡。为探究TINCR对MCF7细胞的影响是否与miR-544a、FBXW7有关，本研究进一步检测miR-544a、FBXW7蛋白相对表达量。结果表明，上调TINCR表达后，MCF7细胞miR-544a相对表达量降低，FBXW7蛋白相对表达量升高，而在上调TINCR的同时上调miR-544a表达后，FBXW7蛋白相对表达量降低，同时细胞OD值、侵袭细胞数升高，提示过表达lncRNA TINCR可能是通过抑制乳腺癌MCF7细胞miR-544a表达，进而促进FBXW7表达，发挥对乳腺癌MCF7细胞增殖、侵袭的抑制作用，以及对凋亡的促进作用。进一步推测，TINCR影响MCF7细胞的机制与在肺癌类似<sup>[18]</sup>，可能通过抑制miR-544a与FBXW7结合，发挥FBXW7对乳腺癌MCF7细胞的抑制增殖、侵袭及促进细胞凋亡作用。

PCNA、Bax、MMP-2分别为参与细胞增殖、凋亡、侵袭过程的常见蛋白，在乳腺癌细胞中亦发挥作用<sup>[21-23]</sup>。本研究结果表明，与空白对照组和TINCR NC组相比，TINCR上调组MCF7细胞PCNA、MMP-2蛋白相对表达量降低，Bax蛋白相对表达量升高，提示过表达lncRNA TINCR可抑制乳腺癌

MCF7 细胞 PCNA、MMP-2 表达, 并促进 Bax 表达, 从而抑制乳腺癌 MCF7 细胞增殖、侵袭, 诱导凋亡, 推测 lncRNA TINCR 靶向 miR-544a/FBXW7 抑制乳腺癌 MCF7 细胞增殖、侵袭及促进凋亡过程可能是通过调控 PCNA、Bax、MMP-2 表达来实现的。

综上所述, lncRNA TINCR 可能通过靶向 miR-544a/FBXW7, 抑制人乳腺癌细胞的增殖、侵袭, 并促进人乳腺癌细胞凋亡。但乳腺癌发生、发展途径复杂, lncRNA TINCR 涉及的其他细胞内信号通路及其在不同乳腺癌细胞中的作用还需进一步探究, 以期更全面地评价 lncRNA TINCR 对乳腺癌的影响, 为临床治疗乳腺癌提供新的思路。

#### 参 考 文 献 :

- [1] MULLIEZ T, BARBÉ K, RIDDER M D. Estimating lung cancer and cardiovascular mortality in female breast cancer patients receiving radiotherapy[J]. *Radiother Oncol*, 2020, 8140(20): 30153-30155.
- [2] LEE H J, LIM H S, KI S Y, et al. Cutaneous scalp metastases of malignant phyllodes tumor of the breast[J]. *J Breast Cancer*, 2020, 23(3): 320-325.
- [3] KIM J W, GAUTAM J, KIM J E, et al. Inhibition of tumor growth and angiogenesis of tamoxifen-resistant breast cancer cells by ruxolitinib, a selective JAK2 inhibitor[J]. *Oncol Lett*, 2019, 17(4): 3981-3989.
- [4] LIU Y, YANG Y L, LI L, et al. lncRNA SNHG1 enhances cell proliferation, migration, and invasion in cervical cancer[J]. *Biochem Cell Biol*, 2018, 96(1): 38-43.
- [5] 徐曼丽, 王畅, 王楠, 等. MALAT1 通过竞争 miR-124 上调 SMYD3 并促进乳腺癌细胞增殖与迁移[J]. *中国药科大学学报*, 2019, 50(3): 344-351.
- [6] 张珊, 封国生. 长链非编码 RNA TINCR 在肿瘤中作用的研究进展[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2018, 25(1): 104-108.
- [7] 程欣怡, 余宗涛, 金丽, 等. 血浆 miRNA-544a 表达水平在肺癌诊断及治疗中的意义[J]. *肿瘤研究与临床*, 2018, 30(12): 830-837.
- [8] 杜宁, 王培礼, 王猛, 等. FBXW7 调控非小细胞肺癌上皮间质转化的作用机制[J]. *现代肿瘤医学*, 2019, 27(16): 2839-2843.
- [9] 熊荣国, 田野, 田振. 乳腺癌预后分子生物标志物的研究进展[J]. *现代肿瘤医学*, 2018, 26(19): 3150-3154.
- [10] 崔雄, 韩龙海. 人乳腺癌组织中 Wnt2 基因的表达及靶向抑制基因表达对乳腺癌细胞 MCF-7 增殖、迁移和侵袭力的影响[J]. *实用癌症杂志*, 2018, 33(7): 1053-1056.
- [11] KONG Q L, QIU M. Long noncoding RNA SNHG15 promotes human breast cancer proliferation, migration and invasion by sponging miR-211-3p[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(2): 1594-1600.
- [12] GANDHI M, GRO M, HOLLER J M, et al. The lncRNA lincNMR regulates nucleotide metabolism via a YBX1 - RRM2 axis in cancer[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 3214-3214.
- [13] SONG W G, WANG J, LIU H Y, et al. Effects of lncRNA Inc-LIF-AS on cell proliferation, migration and invasion in a human cervical cancer cell line[J]. *Cytokine*, 2019, 29(120): 165-175.
- [14] ZHANG L, LIU B, DENG Q H, et al. lncRNA BRE-AS1 acts as a tumor suppressor factor in bladder cancer via mediating STAT3[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(10): 5320-5328.
- [15] ZHANG L, LIU S K, SONG L, et al. SP1-induced up-regulation of lncRNA LUCAT1 promotes proliferation, migration and invasion of cervical cancer by sponging miR-181a[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 556-564.
- [16] HU M, HAN Y W, ZHANG Y, et al. lncRNA TINCR sponges miR-214-5p to upregulate ROCK1 in hepatocellular carcinoma[J]. *BMC Med Genet*, 2020, 21(1): DOI: 10.1186/s12881-019-0940-6.
- [17] ZHANG X X, YAO J N, SHI H L, et al. lncRNA TINCR/microRNA-107/CD36 regulates cell proliferation and apoptosis in colorectal cancer via PPAR signaling pathway based on bioinformatics analysis[J]. *Biol Chem*, 2019, 400(5): 663-675.
- [18] LIU X C, MA J, XU F, et al. TINCR suppresses proliferation and invasion through regulating miR-544a/FBXW7 axis in lung cancer[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 99(1): 9-17.
- [19] PENG Z M, CHEN Q. Research progress in the role of FBXW7 in drug resistance against non-small cell lung cancer[J]. *J Cent South Univer*, 2019, 44(4): 444-448.
- [20] GAO Z W, ZHANG H, WANG X, et al. The FBXW7 tumor suppressor inhibits breast cancer proliferation and promotes apoptosis by targeting MTDH for degradation[J]. *Neoplasma*, 2018, 65(2): 201-209.
- [21] 晋亚楠, 杜喜维, 杨瑞霞.  $\beta$ -榄香烯注射液联合甲磺酸阿帕替尼对乳腺癌细胞生长抑制作用的研究[J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(20): 2146-2150.
- [22] 刘自尧. 异乌药内酯对人乳腺癌 MCF-7 细胞的生长抑制作用及其机制研究[J]. *中草药*, 2019, 50(12): 2922-2927.
- [23] 牟成金, 潘武, 李娟. 干扰 IL-8 表达对乳腺癌细胞侵袭、迁移能力的影响[J]. *免疫学杂志*, 2018, 34(9): 765-771.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 江国斌, 陈晓萍. TINCR 靶向 microR-544a/FBXW7 对人乳腺癌细胞增殖、侵袭的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(10): 41-47.

Cite this article as: JIANG G B, CHEN X P. Effects of lncRNA TINCR targeting miR-544a/FBXW7 on proliferation and invasion of human breast cancer cells[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(10): 41-47.