

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.16.006  
文章编号: 1005-8982 (2022) 16-0030-07

实验研究·论著

## lncRNA SNHG6通过microRNA-26b-5p对三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭的作用机制研究\*

卢宏全<sup>1</sup>, 黄国定<sup>1</sup>, 林影<sup>2</sup>, 张诚胜<sup>3</sup>

(1.海南西部中心医院 肿瘤内科, 海南 儋州 571700; 2.海南西部中心医院 神经内科, 海南 儋州 571700; 3.海南医学院第二附属医院 肿瘤内科, 海南 海口 570311)

**摘要:目的** 探究lncRNA SNHG6通过microRNA-26b-5p(miR-26b-5p)对三阴性乳腺癌(TNBC)细胞增殖、迁移、侵袭的作用机制。**方法** 体外培养人TNBC细胞系MDA-MB-231细胞,培养后分组转染。设置对照组(空载质粒转染),SNHG6敲减组(si-SNHG6慢病毒载体转染)、miR-26b-5p抑制组(空载质粒+miR-26b-5p-inhibitor转染)及共转染组(si-SNHG6慢病毒载体+miR-26b-5p-inhibitor转染)。实时荧光定量聚合酶链反应检测SNHG6及miR-26b-5p的表达,分别进行CCK-8实验、划痕实验及Transwell实验检测MDA-MB-231细胞增殖、迁移及侵袭能力,采用双荧光素酶报告实验检测SNHG6与miR-26b-5p的靶向作用。**结果** 与对照组比较,SNHG6敲减组SNHG6 mRNA表达下调( $P < 0.05$ ),miR-26b-5p mRNA表达上调( $P < 0.05$ );与对照组比较,miR-26b-5p抑制组SNHG6 mRNA表达上调( $P < 0.05$ ),miR-26b-5p mRNA表达下调( $P < 0.05$ );与SNHG6敲减组比较,miR-26b-5p抑制组和共转染组SNHG6 mRNA表达上调( $P < 0.05$ ),miR-26b-5p mRNA表达下调( $P < 0.05$ );与miR-26b-5p抑制组比较,共转染组SNHG6 mRNA表达下调( $P < 0.05$ ),miR-26b-5p mRNA表达上调( $P < 0.05$ )。对照组、SNHG6敲减组、miR-26b-5p抑制组、共转染组24 h、48 h、72 h的OD值比较,采用重复测量设计的方差分析,结果:①不同时间点OD值有差异( $F = 52.481, P = 0.000$ )。②4组OD值有差异( $F = 50.336, P = 0.000$ ),与对照组比较,SNHG6敲减组及共转染组24 h、48 h及72 h的OD值降低( $P < 0.05$ ),miR-26b-5p抑制组24 h、48 h及72 h的OD值升高( $P < 0.05$ );与SNHG6敲减组比较,miR-26b-5p抑制组和共转染组24 h、48 h及72 h的OD值升高( $P < 0.05$ );与miR-26b-5p抑制组比较,共转染组OD值降低( $P < 0.05$ )。③4组OD值变化趋势有差异( $F = 20.109, P = 0.000$ )。与对照组比较,SNHG6敲减组和共转染组划痕愈合率降低,侵袭细胞数减少( $P < 0.05$ ),miR-26b-5p抑制组划痕愈合率升高,侵袭细胞数增加( $P < 0.05$ );与SNHG6敲减组比较,miR-26b-5p抑制组和共转染组划痕愈合率升高,侵袭细胞数增加( $P < 0.05$ );与miR-26b-5p抑制组比较,共转染组划痕愈合率降低,侵袭细胞数减少( $P < 0.05$ )。且SNHG6与miR-26b-5p基因序列上存在结合位点。**结论** 敲减SNHG6通过靶向上调MDA-MB-231细胞中miR-26b-5p的表达,抑制TNBC增殖、迁移及侵袭。

**关键词:** 三阴性乳腺癌; lncRNA SNHG6; microRNA-26b-5p; 增殖; 迁移; 侵袭

**中图分类号:** R737.9

**文献标识码:** A

## The effect of lncRNA SNHG6 on proliferation, migration and invasion of triple-negative breast cancer cells by microRNA-26b-5p\*

Hong-quan Lu<sup>1</sup>, Guo-ding Huang<sup>1</sup>, Ying Lin<sup>2</sup>, Cheng-sheng Zhang<sup>3</sup>

(1. Department of Oncology, Hainan Western Central Hospital, Danzhou, Hainan 571700, China;

2. Department of Neurology, Hainan Western Central Hospital, Danzhou, Hainan 571700, China;

3. Department of Oncology, The Second Affiliated Hospital of Hainan Medical University,

收稿日期: 2022-03-19

\* 基金项目: 海南省自然科学基金(No: 820QN403); 海南省卫生健康行业科研项目(No: 20A200112)

Haikou, Hainan 570311, China)

**Abstract: Objective** To explore whether long non-coding RNA (lncRNA) small nucleolar RNA host gene 6 (SNHG6) regulates cell migration and invasion via microRNA-26b-5p in triple-negative breast cancer (TNBC). **Methods** Human TNBC MDA-MB-231 cell line was cultured in vitro, followed by being grouped and transfected with different vectors. Specifically, the control group, SNHG6 knockdown group, miR-26b-5p inhibition group and co-transfection group were transfected with empty plasmids, si-SNHG6 lentiviral vector, empty plasmids together with miR-26b-5p inhibitor, and si-SNHG6 lentiviral vector together with miR-26b-5p inhibitor, respectively. The expressions of SNHG6 and miR-26b-5p were detected via qRT-PCR. The proliferation, migration and invasion abilities of MDA-MB-231 cells were detected via CCK-8 assay, scratch assay and transwell assay, respectively. The interaction between SNHG6 and miR-26b-5p was detected by dual-luciferase reporter assay. **Results** Compared with the control group, the mRNA expression of SNHG6 was down-regulated and that of miR-26b-5p was up-regulated in the SNHG6 knockdown group, while the mRNA expression of SNHG6 was up-regulated and that of miR-26b-5p was down-regulated in the miR-26b-5p inhibition group ( $P < 0.05$ ). Compared with the SNHG6 knockdown group, the mRNA expression of SNHG6 was up-regulated and that of miR-26b-5p was down-regulated in the miR-26b-5p inhibition group and the co-transfection group ( $P < 0.05$ ). Compared with the miR-26b-5p inhibition group, the mRNA expression of SNHG6 was down-regulated and that of miR-26b-5p was up-regulated in the co-transfection group ( $P < 0.05$ ). The OD values at 24 h, 48 h and 72 h were compared among the four groups, and the repeated-measures analysis of variance revealed that the OD values were different among the time points ( $F = 52.481, P = 0.000$ ) and among the groups ( $F = 50.336, P = 0.000$ ). Specifically, the OD values at 24 h, 48 h and 72 h in SNHG6 knockdown group and co-transfection group were lower than those in the control group ( $P < 0.05$ ), while they were higher in the miR-26b-5p inhibition group than those in the control group ( $P < 0.05$ ). Compared with the SNHG6 knockdown group, the OD values at 24 h, 48 h and 72 h in the miR-26b-5p inhibition group and co-transfection group were higher ( $P < 0.05$ ). The OD values were lower in the co-transfection group than those in the miR-26b-5p inhibition group ( $P < 0.05$ ). The change trends of OD values were different among the four groups ( $F = 20.109, P = 0.000$ ). Compared with the control group, the scratch healing rate was lower and the number of invasive cells was decreased in the SNHG6 knockdown group and co-transfection group ( $P < 0.05$ ), while the scratch healing rate was higher and the number of invasive cells was increased in the miR-26b-5p inhibition group ( $P < 0.05$ ). Compared with the SNHG6 knockdown group, the scratch healing rate was higher and the number of invasive cells was increased in the miR-26b-5p inhibition and the co-transfection group ( $P < 0.05$ ). Compared with the miR-26b-5p inhibition group, the scratch healing rate was lower and the number of invasive cells was decreased in the co-transfection group ( $P < 0.05$ ). In addition, there was a binding site within miR-26b-5p for SNHG6. **Conclusions** Knockdown of SNHG6 inhibits the cell proliferation, migration and invasion in TNBC by targeting and up-regulating the expression of miR-26b-5p in MDA-MB-231 cells.

**Keywords:** triple negative breast cancer; long non-coding RNA small nucleolar RNA host gene 6; microRNA-26b-5p; proliferation; migration; invasion

乳腺癌是女性常见的恶性肿瘤,其中三阴性乳腺癌(triple negative breast cancer, TNBC)是恶性程度最高的一种类型,占乳腺癌的 15% ~ 20%<sup>[1-2]</sup>。TNBC 具有发展迅速、易复发、预后较差、病死率高的特点。目前 TNBC 缺乏特异性治疗靶点,因此了解 TNBC 的发生、发展机制,寻找新的治疗靶点对于治疗 TNBC 具有重要意义<sup>[3]</sup>。长链非编码 RNA (long non-coding RNA, lncRNA) 是一种无编码蛋白功能的 RNA,近年来研究发现, lncRNA SNHG6 在转录及转录后水平上能调控基因表达,从而在肿瘤治疗中发挥重要作用<sup>[4-5]</sup>。本课题组前期发现 TNBC 组织与正

常组织、TNBC 细胞与正常乳腺上皮细胞的 SNHG6 表达差异显著, TNBC 组织及细胞中 lncRNA SNHG6 高表达。且 microRNA-26b-5p (miR-26b-5p) 在乳腺癌等多种肿瘤细胞中的调控作用已得到证实<sup>[6-7]</sup>。因此,本文旨在探究 lncRNA SNHG6 通过 miR-26b-5p 对 TNBC 细胞行为学的影响,现报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞来源

人 TNBC 细胞系 MDA-MB-231 细胞(上海弘顺

生物科技有限公司)。

## 1.2 主要试剂及仪器

miR-26b-5p 抑制物、SNHG6 敲减的慢病毒载体(南通百奥迈科生物技术有限公司), Lipofectamine 2000 试剂(美国 Invitrogen 公司), TRIzol 试剂(上海联硕生物科技有限公司), 逆转录试剂盒(美国 Promega 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(上海一研生物科技有限公司), CCK-8 试剂盒(上海汉恒生物工程有限公司), 基质胶(美国 Corning 公司), 荧光素酶检测试剂盒(北京百奥莱博科技有限公司)。

二氧化碳培养箱(型号: 120300, 北京泽平科技有限责任公司), 倒置荧光显微镜(型号: DMi8A, 上海徠卡显微系统贸易有限公司), 生物发光检测仪(型号: lucetta 2, 北京泽平科技有限责任公司)。

## 1.3 细胞培养及分组

将 MDA-MB-231 细胞解冻至室温, 接种于 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清), 置于二氧化碳培养箱中培养, 调节 CO<sub>2</sub> 浓度为 5%, 温度为 37℃, 饱和湿度。取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞, 按 1 × 10<sup>5</sup> 个/孔的密度接种于 6 孔板上, 培养箱中培养 24 h, 待细胞密度达 70% ~ 80% 时进行转染。

分别设置对照组、SNHG6 敲减组、miR-26b-5p 抑制组、共转染组。对照组采用空载质粒进行转染, SNHG6 敲减组采用 si-SNHG6 慢病毒载体进行转染, miR-26b-5p 抑制组采用空载质粒及 miR-26b-5p-inhibitor 进行转染, 共转染组同时采用 si-SNHG6 慢病毒载体及 miR-26b-5p-inhibitor 进行转染。

## 1.5 方法

**1.5.1 细胞转染** 转染过程按照 Lipofectamine 2000 试剂盒说明书进行操作, 参照细胞分组的干预内容进行转染, 于二氧化碳培养箱中培养 48 h, 采用倒置荧光显微镜观察转染效率(绿色荧光检测)<sup>[8]</sup>。稳定转染: 转染效率 > 70%。MDA-MB-231 细胞稳定转染后, 后续所有实验均设置 4 个复孔, 各实验重复 3 次, 并取均值。

**1.5.2 qRT-PCR 检测细胞 SNHG6、miR-26b-5p mRNA 的表达** 采用 TRIzol 试剂盒提取 MDA-MB-231 细胞总 RNA, 并检测 RNA 浓度及纯度, 以 RNA 为模板, 采用逆转录试剂盒逆转录得到 cRNA, 以 U6

为内参进行 qRT-PCR, 反应体系共 20 μL: cDNA 模板 2 μL, SYBR 10 μL, 正向、反向引物各 1 μL, 纯水 6 μL。扩增条件: 95℃ 变性 20 s, 60℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 10 s, 共 40 次循环<sup>[9]</sup>。采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 法计算 SNHG6、miR-26b-5p 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	引物长度/bp
SNHG6	正向: 5'-CATCCTGATACTACGTCAAGACGT-3'	24
	反向: 5'-GTACAAGACGAAGCAGACGTCGT-3'	
miR-26b-5p	正向: 5'-TCCGAGCAGGAAGACTCAG-3'	19
	反向: 5'-AGACTGCAGGCTCTAGGT-3'	
U6	正向: 5'-CTCGAGCGCATCAGCAA-3'	17
	反向: 5'-AGACCTACTCAGACT-3'	
GADPH	正向: 5'-GAAAGCCTAACGCCACGTGCA-3'	21
	反向: 5'-GACTCCACGACACTGATACAG-3'	

**1.5.3 CCK-8 法检测 MDA-MB-231 细胞增殖能力** MDA-MB-231 细胞稳定转染后, 将细胞密度调整为 2 × 10<sup>4</sup> 个/mL, 在 96 孔板中, 每孔接种 0.1 mL 细胞悬液, 分别于二氧化碳培养箱中培养 24 h、48 h 和 72 h, 每孔加入 0.1 mL CCK-8 溶液, 继续培养 4 h, 采用酶标仪检测 450 nm 处光密度(optical density, OD)值, 根据 OD 值判断细胞增殖能力。

**1.5.4 划痕实验检测 MDA-MB-231 细胞迁移能力** MDA-MB-231 细胞稳定转染后, 于 6 孔板进行培养, 每孔取 2 × 10<sup>3</sup> 个细胞, 培养过夜使细胞贴壁生长, 采用移液枪头于培养孔背后垂直划线, 冲洗后继续培养, 分别于 0 h 与 24 h 取出, 观察划痕愈合情况, 拍照取样后利用 Image 软件测量划痕区宽度, 计算不同时间的划痕愈合率。划痕愈合率(%) = (d<sub>0h</sub> - d<sub>24h</sub>) / d<sub>0h</sub> × 100%<sup>[10]</sup>

**1.5.5 Transwell 实验检测 MDA-MB-231 细胞侵袭能力** MDA-MB-231 细胞稳定转染后, 制成细胞密度为 2 × 10<sup>4</sup> 个/mL 的细胞悬液, 向 Transwell 小室上室加入 50 μL 稀释的基质胶, 凝固后加入 100 μL 细胞悬液, 下室加入 500 μL DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清), 二氧化碳培养箱中培养 48 h 后, 移去培养液, 轻轻擦去上室剩余细胞, 4% 多聚甲醛固定后, 加入 0.1% 结晶紫染色, 15 min 后显微镜下观察, 记录紫色细胞数, 随机取 3 个视野的均值<sup>[11]</sup>。

**1.5.6 双荧光素酶报告实验验证 SNHG6 与 miR-**

**26b-5p 的靶向作用** 将 SNHG6 基因插入到荧光素酶基因上游, 构建 SNHG6-Wt (野生型)、SNHG6-Mut (突变型) 的双荧光素酶报告质粒, 采用 miR-26b-5p-mimics-NC 质粒及 miR-26b-5p-mimics 质粒, 与 SNHG6-Wt、SNHG6-Mut 共转染 MDA-MB-231 细胞, 最终得到 miR-26b-5p-mimics-NC-SNHG6-Wt、miR-26b-5p-mimics-NC-SNHG6-Mut、miR-26b-5p-mimics-SNHG6-Wt、miR-26b-5p-mimics-SNHG6-Mut, 4 种细胞, 并分为 4 组。转染后培养 48 h, 裂解细胞并离心, 收集上清液, 分别向上清液中加入反应液及终止液各 50  $\mu$ L, 最终采用生物发光检测仪检测荧光素酶活性<sup>[12]</sup>。

### 1.6 统计学方法

数据分析采用 SPSS 21.0 统计软件。计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 比较用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 进一步两两比较用 LSD-*t* 检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组细胞 SNHG6、miR-26b-5p mRNA 相对表达量比较

对照组、SNHG6 敲减组、miR-26b-5p 抑制组、共转染组 SNHG6 和 miR-26b-5p mRNA 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: 与对照组比较, SNHG6 敲减组 SNHG6 mRNA 表达下调 ( $P < 0.05$ ), miR-26b-5p mRNA 表达上调 ( $P < 0.05$ ); 与对照组比较, miR-26b-5p 抑制组 SNHG6 mRNA 表达上调 ( $P < 0.05$ ), miR-26b-5p mRNA 表达下调 ( $P < 0.05$ ); 与 SNHG6 敲减组

比较, miR-26b-5p 抑制组和共转染组 SNHG6 mRNA 表达上调 ( $P < 0.05$ ), miR-26b-5p mRNA 表达下调 ( $P < 0.05$ ); 与 miR-26b-5p 抑制组比较, 共转染组 SNHG6 mRNA 表达下调 ( $P < 0.05$ ), miR-26b-5p mRNA 表达上调 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组细胞 SNHG6、miR-26b-5p mRNA 相对表达量比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	SNHG6 mRNA	miR-26b-5p mRNA
对照组	1.00 $\pm$ 0.01	1.00 $\pm$ 0.01
SNHG6 敲减组	0.68 $\pm$ 0.07 <sup>①</sup>	3.26 $\pm$ 0.34 <sup>①</sup>
miR-26b-5p 抑制组	1.72 $\pm$ 0.20 <sup>①②</sup>	0.73 $\pm$ 0.07 <sup>①②</sup>
共转染组	1.15 $\pm$ 0.16 <sup>②③</sup>	1.42 $\pm$ 0.15 <sup>①②③</sup>
F 值	42.884	145.535
P 值	0.000	0.000

注: ①与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ②与 SNHG6 敲减组比较,  $P < 0.05$ ; ③与 miR-26b-5p 抑制组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.2 各组 MDA-MB-231 细胞增殖情况比较

对照组、SNHG6 敲减组、miR-26b-5p 抑制组、共转染组 24 h、48 h、72 h 的 OD 值比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点 OD 值有差异 ( $F = 52.481, P = 0.000$ )。②4 组 OD 值有差异 ( $F = 50.336, P = 0.000$ ), 与对照组比较, SNHG6 敲减组及共转染组 24 h、48 h 及 72 h 的 OD 值降低 ( $P < 0.05$ ), miR-26b-5p 抑制组 24 h、48 h 及 72 h 的 OD 值升高 ( $P < 0.05$ ); 与 SNHG6 敲减组比较, miR-26b-5p 抑制组和共转染组 24 h、48 h 及 72 h 的 OD 值升高 ( $P < 0.05$ ); 与 miR-26b-5p 抑制组比较, 共转染组 OD 值降低 ( $P < 0.05$ )。③4 组 OD 值变化趋势有差异 ( $F = 20.109, P = 0.000$ )。见表 3。

表 3 各组不同时间点 MDA-MB-231 细胞 OD 值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	24 h	48 h	72 h
对照组	0.41 $\pm$ 0.05	0.57 $\pm$ 0.06 <sup>①</sup>	0.68 $\pm$ 0.07 <sup>①②</sup>
SNHG6 敲减组	0.15 $\pm$ 0.02 <sup>③</sup>	0.27 $\pm$ 0.03 <sup>①③</sup>	0.32 $\pm$ 0.04 <sup>①③</sup>
miR-26b-5p 抑制组	0.58 $\pm$ 0.08 <sup>③④</sup>	0.71 $\pm$ 0.07 <sup>①③④</sup>	0.84 $\pm$ 0.09 <sup>①②③④</sup>
共转染组	0.27 $\pm$ 0.04 <sup>③④⑤</sup>	0.38 $\pm$ 0.04 <sup>①③④⑤</sup>	0.44 $\pm$ 0.05 <sup>①③④⑤</sup>

注: ①与 24 h 比较,  $P < 0.05$ ; ②与 48 h 比较,  $P < 0.05$ ; ③与对照组比较,  $P < 0.05$ ; ④与 SNHG6 敲减组比较,  $P < 0.05$ ; ⑤与 miR-26b-5p 抑制组比较,  $P < 0.05$ 。

### 2.3 各组 MDA-MB-231 细胞迁移情况比较

对照组、SNHG6 敲减组、miR-26b-5p 抑制组、共

转染组划痕愈合率分别为 (29.20  $\pm$  3.81)%、(11.61  $\pm$  2.04)%、(52.18  $\pm$  6.25)% 和 (16.73  $\pm$  3.11)% , 经方差

分析,差异有统计学意义( $F=79.321, P=0.000$ )。进一步两两比较结果:与对照组比较,SNHG6 敲减组和共转染组划痕愈合率降低( $P<0.05$ ),miR-26b-5p 抑制组划痕愈合率升高( $P<0.05$ );与 SNHG6 敲减组比较,miR-26b-5p 抑制组和共转染组划痕愈合率升高( $P<0.05$ );与 miR-26b-5p 抑制组比较,共转染组划痕愈合率降低( $P<0.05$ )。见图 1。

### 2.4 各组 MDA-MB-231 细胞侵袭情况比较

对照组、SNHG6 敲减组、miR-26b-5p 抑制组、共

转染组侵袭细胞数分别为  $(78.18 \pm 8.41)$  个/HP、 $(31.84 \pm 4.66)$  个/HP、 $(108.38 \pm 11.05)$  个/HP 和  $(49.61 \pm 5.38)$  个/HP,经方差分析,差异有统计学意义( $F=73.945, P=0.000$ )。进一步两两比较结果:与对照组比较,SNHG6 敲减组及共转染组侵袭细胞数减少( $P<0.05$ ),miR-26b-5p 抑制组侵袭细胞数增加( $P<0.05$ );与 SNHG6 敲减组比较,miR-26b-5p 抑制组和共转染组侵袭细胞数增加( $P<0.05$ );与 miR-26b-5p 抑制组比较,共转染组侵袭细胞数减少( $P<0.05$ )。见图 2。

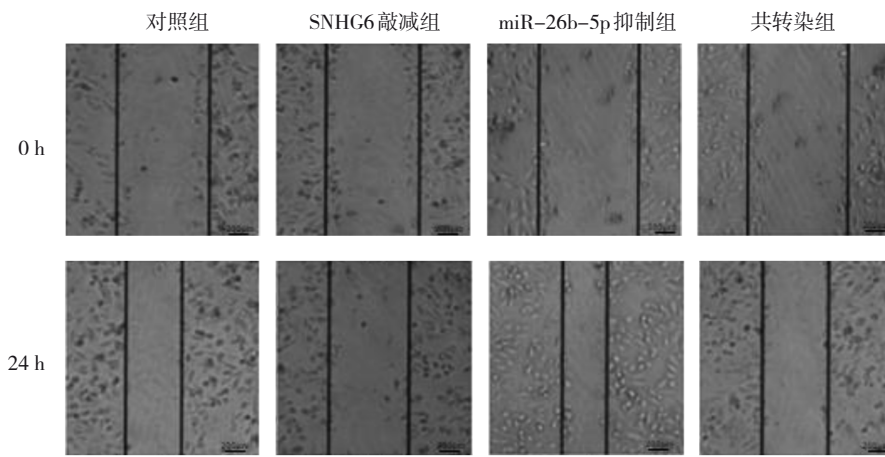


图 1 各组 MDA-MB-231 细胞迁移图

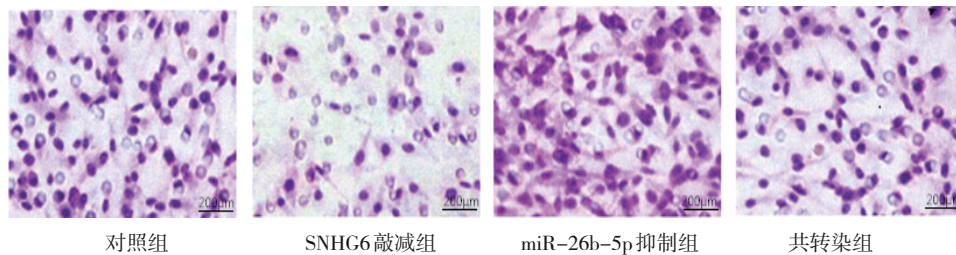


图 2 各组 MDA-MB-231 细胞侵袭情况 (0.1% 结晶紫染色  $\times 400$ )

### 2.5 双荧光素酶实验结果

miR-26b-5p-mimics-NC-SNHG6-Wt 组、miR-26b-5p-mimics-SNHG6-Wt 组荧光素酶活性分别为  $(1.01 \pm 0.07)$  和  $(0.41 \pm 0.10)$ ,经  $t$  检验,差异有统计学意义( $t=59.445, P=0.000$ ),miR-26b-5p-mimics-SNHG6-Wt 组荧光素酶活性降低。miR-26b-5p-mimics-NC-SNHG6-Mut 组、miR-26b-5p-mimics-SNHG6-Mut 组荧光素酶活性分别为  $(0.95 \pm 0.05)$  和  $(1.04 \pm 0.08)$ ,经  $t$  检验,差异无统计学意义( $t=6.843, P=0.076$ )。见图 3。

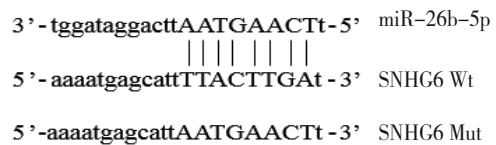


图 3 miR-26b-5p 与 SNHG6 的靶向关系

## 3 讨论

TNBC 是一种恶性程度较高的恶性肿瘤,具有发病急、预后差、病死率高的特点,其病因复杂,与性激素环境、生活方式等有一定关系<sup>[13]</sup>。目前临床主要以化疗或靶向治疗为主,化疗需要长期治

疗, 副作用明显且疗效有限, 而 TNBC 缺乏治疗靶点, 因此寻找 TNBC 新的治疗靶点成为研究的热点<sup>[14-15]</sup>。SNHG6 在结直肠癌、肺癌及胶质瘤等癌症中异常表达, 且有研究显示, SNHG6 高表达与癌症患者的预后密切相关<sup>[16-17]</sup>。赵焱等<sup>[18]</sup>研究显示, SNHG6 在舌癌组织中高表达, 敲减舌癌细胞中 SNHG6 表达能够抑制 Tca1183 舌癌细胞增殖, 并促进细胞凋亡。因此推测 SNHG6 对 TNBC 细胞的增殖、迁移等具有一定的影响。本课题前期基础研究发现, 在多数 microRNA 中, 干扰 SNHG6 对 hsa-miR-26b-5p 的影响最明显, 因此本文旨在探究 SNHG6 通过 miR-26b-5p 调控 TNBC 的作用机制。

miR-26b-5p 在癌细胞中一般发挥抑癌基因的作用, 在卵巢癌、胰腺癌及甲状腺乳头状癌中, 对癌细胞的生物学行为均发挥一定的调控作用, 影响癌症的发展<sup>[19-21]</sup>。本研究经过前期基础实验得知, SNHG6 在 MDA-MB-231 细胞中同样高表达, 但抑制 SNHG6 的表达对调控 miR-26b-5p, 影响 MDA-MB-231 细胞的生物学行为尚不清楚。lncRNA 与 miRNA 存在某种靶向关系, 能够影响癌细胞的生物学行为。管玲玲等<sup>[22]</sup>研究显示, 抑制 miR-30-5p 的表达, 能够逆转下调 SNHG6 对乳腺癌 MCF-7 细胞的增殖、迁移及侵袭的抑制作用。在张明宝<sup>[23]</sup>的研究中, lncRNA SNHG5 能够靶向调控下游靶点 miR-132-3p, 从而促进结直肠癌细胞的增殖、转移和迁徙, 抑制结直肠癌细胞的凋亡。本研究在前期基础实验中发现, 干扰 SNHG6 对 hsa-miR-26b-5p 的影响最大, 因此通过敲减 SNHG6, 分析对 miR-26b-5p 调控作用, 以及对 TNBC 细胞生物学行为的影响。本实验结果显示, 敲减 SNHG6 能够降低 OD 值、划痕愈合率及细胞侵袭细胞数, 抑制 miR-26b-5p 能够增加 OD 值、划痕愈合率及细胞侵袭细胞数, 而敲减 SNHG6 的同时抑制 miR-26b-5p 能够进一步降低 OD 值、划痕愈合率及细胞侵袭细胞数, 表明敲减 SNHG6 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移及侵袭能力, 从而延缓 TNBC 的发展, 且进一步证实 miR-26b-5p 同样具有抑制 TNBC 细胞增殖、迁移、侵袭的能力。另外, 本研究通过双荧光素酶实验及 qRT-PCR 检测进一步证实, SNHG6 与 miR-26b-5p 基因序列上存在结合位点, SNHG6 低表达能够靶向调控 miR-26b-5p 表达升高, 抑制 MDA-MB-231 细胞的

生物学行为; 而抑制 miR-26b-5p 表达能够影响 SNHG6 的表达, 从而促进 MDA-MB-231 细胞的生物学行为。因此, 在敲减 SNHG6 及抑制 miR-26b-5p 表达的双重作用下, 抑制 miR-26b-5p 表达能够抵消掉部分敲减 SNHG6 对上调 miR-26b-5p 表达的促进作用, 从而影响 MDA-MB-231 细胞的增殖、迁移及侵袭能力。

综上所述, 敲减 SNHG6 通过靶向上调 MDA-MB-231 细胞中 miR-26b-5p 的表达, 抑制 TNBC 增殖、迁移及侵袭, 为 TNBC 新的治疗靶点提供新的研究方向。本文仅通过敲减 SNHG6, 探究 SNHG6 通过 miR-26b-5p 调节 TNBC 的作用, 未来可期通过 SNHG6 过表达或 miR-26b-5p 过表达, 进一步研究 SNHG6 对 miR-26b-5p 的靶向调控作用, 为 TNBC 的靶向治疗提供更为科学、严谨的实验研究支持。

#### 参 考 文 献 :

- [1] FOULKES W D, SMITH I E, REIS-FILHO J S. Triple-negative breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2010, 363(20): 1938-1948.
- [2] HWANG S Y, PARK S, KWON Y. Recent therapeutic trends and promising targets in triple negative breast cancer[J]. *Pharmacol Ther*, 2019, 199: 30-57.
- [3] GARRIDO-CASTRO A C, LIN N U, POLYAK K. Insights into molecular classifications of triple-negative breast cancer: improving patient selection for treatment[J]. *Cancer Discov*, 2019, 9(2): 176-198.
- [4] WANG H S, ZHANG W, ZHU H L, et al. Long noncoding RNA SNHG6 mainly functions as a competing endogenous RNA in human tumors[J]. *Cancer Cell Int*, 2020, 20: 219.
- [5] MEI J Z, LIU G J, LI R J, et al. LncRNA SNHG6 knockdown inhibits cisplatin resistance and progression of gastric cancer through miR-1297/BCL-2 axis[J]. *Biosci Rep*, 2021, 41(12): BSR20211885.
- [6] 曲强, 滕皓, 吴腾飞, 等. miR-129-5p 通过靶向 Wnt5a 抑制膀胱癌细胞的增殖和促进细胞凋亡[J]. *解剖科学进展*, 2021, 27(6): 739-742.
- [7] MENG R, FANG J, YU Y, et al. miR-129-5p suppresses breast cancer proliferation by targeting CBX4[J]. *Neoplasma*, 2018, 65(4): 572-578.
- [8] YAZGAN KARACAGLAR N N, TOPCU A, DUDAK F C, et al. Development of a green fluorescence protein (GFP) -based bioassay for detection of antibiotics and its application in milk[J]. *J Food Sci*, 2020, 85(2): 500-509.
- [9] 黄波, 李慧雯, 常诚. miR-26b-5p 通过靶向 NFE2L3 调控结直肠癌细胞生长、迁移和侵袭[J]. *实用医学杂志*, 2022, 38(2): 160-167.

- [10] 朱克鹏, 肖勋蓉, 罗义, 等. miR-944 过表达对三阴乳腺癌细胞系 MDA-MB-231 的侵袭迁移和上皮间质转化抑制作用及其机制[J]. 山东医药, 2021, 61(27): 22-26.
- [11] 张宁芳, 阳德全, 王少平. 新型微小RNA-23 对乳腺癌增殖、迁移和侵袭的影响及靶基因预测的生信分析[J]. 中华实验外科杂志, 2021, 38(11): 2156-2159.
- [12] 程龙, 徐五琴, 张鹏, 等. 下调 miR-27a 表达对三阴乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭的影响[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2020, 40(2): 188-193.
- [13] KEENAN T E, TOLANEY S M. Role of immunotherapy in triple-negative breast cancer[J]. J Natl Compr Canc Netw, 2020, 18(4): 479-489.
- [14] NAGINI S. Breast cancer: current molecular therapeutic targets and new players[J]. Anticancer Agents Med Chem, 2017, 17(2): 152-163.
- [15] WU Y, ZHANG Y J, ZHU X L, et al. The association of long non-coding RNA SNHG6 expression with clinicopathological features and prognosis in cancer[J]. Clin Lab, 2019, 65(11): 79-83.
- [16] DONG Z, LIU H L, ZHAO G L. Long noncoding RNA SNHG6 promotes proliferation and inhibits apoptosis in non-small cell lung cancer cells by regulating miR-490-3p/RSF1 axis[J]. Cancer Biother Radiopharm, 2020, 35(5): 351-361.
- [17] ZHANG Y, AN J Y, PEI Y C. LncRNA SNHG6 promotes LMO3 expression by sponging miR-543 in glioma[J]. Mol Cell Biochem, 2020, 472(1-2): 9-17.
- [18] 赵焱, 王金玲, 马镔. 敲低核仁小RNA 宿主基因 6(SNHG6) 抑制舌癌细胞的增殖及上皮间质转化[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(9): 806-811.
- [19] 曹文红. 过表达 miR-26b-5p 抑制 HMGA1 参与卵巢癌细胞上皮间质转化的机制[J]. 武警医学, 2019, 30(9): 760-763.
- [20] 陈耿煜. miR-26b-5p 和他莫西芬对甲状腺乳头状癌细胞的抑制作用[D]. 济南: 山东大学, 2018.
- [21] 王艳丽, 杨磊, 常艳敏. MiR-26b 通过抑制 p53 基因表达增强胰腺癌细胞对吉西他滨抗药性[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(22): 3073-3076.
- [22] 笄玲玲, 李晓娜, 蔡兴隆. lncRNA SNHG6 对乳腺癌细胞活性的调控及机制研究[J]. 中华内分泌外科杂志, 2020, 14(5): 365-372.
- [23] 张明宝. LncRNA SNHG5 通过 miR-132-3p/CREB5 对结直肠癌增殖、转移和迁移的影响[D]. 济南: 山东大学, 2019.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 卢宏全, 黄国定, 林影, 等. lncRNA SNHG6 通过 microRNA-26b-5p 对三阴性乳腺癌细胞增殖、迁移、侵袭的作用机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2022, 32(16): 30-36.

Cite this article as: LU H Q, HUANG G D, LIN Y, et al. The effect of lncRNA SNHG6 on proliferation, migration and invasion of triple-negative breast cancer cells by microRNA-26b-5p[J]. China Journal of Modern Medicine, 2022, 32(16): 30-36.