

• 论 著 •

miR-199a-5p 介导的 lncRNA ANRIL 通过调节 HIF-1 α 促进多发性骨髓瘤的恶性增殖*

苏 静

绵阳市中心医院血液内科, 四川绵阳 621000

摘 要:**目的** 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)ANRIL 在多发性骨髓瘤(MM)中的生物学功能及其可能的作用机制。**方法** 采集 MM 患者与健康志愿者血浆,采用 qRT-PCR 检测 lncRNA ANRIL、微小 RNA(miR)-199a-5p 和低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)的相对表达水平。分析 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 之间的靶向作用关系,进一步分析 lncRNA ANRIL 与 miR-199a-5p 表达及 miR-199a-5p 和 HIF-1 α 表达的调控关系。敲减 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 的 mRNA 水平后,或者上调 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 表达后,采用 CCK-8 测定 U266 细胞增殖活力,流式细胞术测定细胞凋亡率,Western blot 检测 Bax、Bcl-2、caspase3 和 caspase9 蛋白表达。**结果** 与健康志愿者相比,MM 患者血浆 lncRNA ANRIL 和 HIF-1 α 表达上调。miR-199a-5p 在 MM 患者血浆中表达下调。此外,lncRNA ANRIL 可与 miR-199a-5p 相互作用。HIF-1 α 被证实是 miR-199a-5p 的一个靶点。lncRNA ANRIL 表达与 HIF-1 α 表达呈正向调控,miR-199a-5p 表达与 HIF-1 α 表达呈负向调控。下调 lncRNA ANRIL、HIF-1 α 或过表达 miR-199a-5p 可显著抑制细胞增殖,促进细胞凋亡。过表达 lncRNA ANRIL 通过调控 miR-199a-5p 促进 U266 细胞增殖。**结论** miR-199a-5p 介导的 lncRNA ANRIL 通过调节 HIF-1 α 促进 MM 的恶性增殖。

关键词:长链非编码 RNA ANRIL; 微小 RNA-199a-5p; 低氧诱导因子-1 α ; 多发性骨髓瘤; 增殖

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.19.011 **中图法分类号:**R392

文章编号:1673-4130(2022)19-2357-07 **文献标志码:**A

lncRNA ANRIL mediated by miR-199a-5p promotes the malignant proliferation of multiple myeloma by regulating HIF-1 α *

SU Jing

Department of Hematology, Mianyang Central Hospital, Mianyang, Sichuan 621000, China

Abstract: Objective To investigate the biological function and possible mechanism of long non-coding RNA(lncRNA) ANRIL in multiple myeloma(MM). **Methods** Plasma samples were collected from MM patients and healthy volunteers, and the relative expression levels of lncRNA ANRIL, microRNA (miR)-199a-5p and hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) were detected by qRT-PCR. The targeting relationship between lncRNA ANRIL, miR-199a-5p and HIF-1 α was analyzed, and the regulatory relationship between lncRNA ANRIL and the expression of miR-199a-5p, miR-199a-5p and HIF-1 α was further analyzed. After the mRNA levels of lncRNA ANRIL, miR-199a-5p and HIF-1 α were down-regulated or the expressions of lncRNA ANRIL, miR-199a-5p and HIF-1 α were up-regulated, the proliferation activity of U266 cells was determined by CCK-8, and the apoptosis rate of U266 cells was determined by flow cytometry. The protein expressions of Bax, Bcl-2, caspase3 and caspase9 were detected by Western blot. **Results** Compared with healthy volunteers, the expressions of lncRNA ANRIL and HIF-1 α were up-regulated in MM patients, the expression level of miR-199a-5p was down-regulated in the plasma of MM patients. In addition, lncRNA ANRIL could interact with miR-199a-5p. HIF-1 α was confirmed to be a target of miR-199a-5p. The expression of lncRNA ANRIL was positively regulated with HIF-1 α , and the expression of miR-199a-5p was negatively regulated with HIF-1 α . Down-regulation of lncRNA ANRIL, HIF-1 α or overexpression of miR-199a-5p could significantly inhibit cell proliferation and promote cell apoptosis. Overexpression of lncRNA ANRIL could promote the proliferation of U266 cells by regulating miR-199a-5p. **Conclusion** lncRNA ANRIL mediated by miR-199a-5p promotes the malignant proliferation of multiple myeloma by regulating HIF-1 α .

* 基金项目:四川省医学(青年创新)科研课题(S20074)。

作者简介:苏静,女,主治医师,主要从事淋巴瘤方面的研究。

nant proliferation of MM by regulating HIF-1 α .

Key words: long non-coding RNA ANRIL; miR-199a-5p; hypoxia-inducible factor-1 α ; multiple myeloma; proliferation

多发性骨髓瘤(MM)是一种典型的血液系统恶性肿瘤,由单克隆浆细胞在骨髓微环境中异常积累引起^[1]。主要特征为骨重塑严重失衡引起的骨病变^[2]。MM是一种复杂的疾病,其潜在的分子机制尚未完全阐明,探索创新的治疗策略对于有效治疗 MM 患者至关重要。长链非编码 RNA(lncRNA)是新发现的一类功能 RNA 分子,其长度超过 200 个核苷酸,几乎不具有蛋白质编码能力^[3-4]。lncRNA 在肿瘤发生、发展和分化中发挥着重要作用^[5]。此外,lncRNA 已被证明在人类癌症中具有异常调节作用,可能作为癌症促进因子或癌症抑制因子发挥作用^[6]。lncRNA ANRIL 已在家族性黑色素瘤患者中被鉴定。有研究报道,lncRNA ANRIL 过表达是几种人类癌症的危险因素。例如,沉默 lncRNA ANRIL 通过调节白细胞介素(IL)-33/生长刺激表达基因 2(ST2)减少心肌细胞凋亡^[7]。lncRNA ANRIL 通过增强 NF- κ B 信号通路促进胃癌进展^[8]。lncRNA ANRIL 通过调节自噬途径中的微小 RNA(miRNA)-99a 和 miRNA-449a 促进血管生成和血栓形成^[9]。最近有研究发现,miR-411-3p 介导的 lncRNA ANRIL 通过调节低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)抑制 MM 的恶性增殖和肿瘤干细胞样特性^[10],表明 lncRNA ANRIL、HIF-1 α 和 MM 发展密切相关。另外有研究发现,在肿瘤发展中 lncRNA ANRIL 与 miR-199a-5p、miR-199a-5p 与 HIF-1 α 具有靶向作用,但是在 MM 中,三者是否有联系尚不明确,而且目前还没有足够的证据表明 lncRNA ANRIL 在 MM 细胞中的表达和功能。因此,本研究旨在探讨 lncRNA-ANRIL 通过诱导 HIF-1 α 对 MM 恶性增殖的影响及其作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料 从本院选取 55 例 MM 患者为研究对象,均符合人民卫生出版社出版的《血液病诊断与鉴别诊断图谱》中的诊断标准,同时选取 55 例健康志愿者作为对照。本研究经本院伦理委员会批准,所有受试者均知情同意。采集治疗前 MM 患者与健康志愿者的外周静脉血,离心后收集血浆。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染 人 MM 细胞系 U266 从美国典藏培养中心(ATCC)获得,在含有 15%胎牛血清(美国 Gibco)、1%谷氨酰胺和 1%链霉素-青霉素(美国 Invitrogen)的 RPMI-1640 培养基中培养,并置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中。过表达对照载体(mimics NC)、miR-199a-5p 过表达载体(miR-199a-5p mimics)、敲低对照载体(inhibitor NC)、miR-199a-5p 敲低载体(miR-199a-5p inhibitor)、ANRIL 阴性对照(si-

NC)、ANRIL 沉默载体(si-ANRIL)、HIF-1 α 沉默载体(si-HIF-1 α)由中国广东 RiboBio 公司合成。U266 细胞(1×10^6 个/孔)经 Lipofectamine 2000 试剂(美国 Invitrogen)转染后,接种于 6 孔板,收集转染的细胞进行后续实验。

1.2.2 双荧光素酶报告基因活性检测 miRanda 软件预测 lncRNA ANRIL 与 miR-199a-5p 之间的结合位点。TargetScan (http://www.targetscan.org/vert_72/)用于预测 miR-199a-5p 的靶位点,用荧光素酶报告基因试验验证 miR-199a-5p 与 lncRNA ANRIL 或 HIF-1 α 的结合。构建 ANRIL 野生型(wt-ANRIL)和突变型(mut-ANRIL)报告载体,并插入 psiCHECK-2。构建 HIF-1 α 野生型(wt-HIF-1 α)和突变型(mut-HIF-1 α)报告载体并插入 psiCHECK-2。报告质粒(wt-ANRIL、mut-ANRIL、wt-HIF-1 α 、mut-HIF-1 α)与 mimics NC、miR-199a-5p mimics 质粒用 Lipofectamine 2000 共转染 U266 细胞 48 h。最后,用双荧光素酶报告系统试剂盒(Promega)检测荧光素酶活性。

1.2.3 流式细胞术测定细胞凋亡 使用 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒(上海 Beyotime Biotechnology)检测 U266 细胞的凋亡。U266 细胞转染质粒后,用磷酸盐缓冲溶液(PBS)清洗,以 2 000 r/min 离心 10 min。U266 细胞重悬于结合缓冲液(500 μ L)中,然后与 Annexin V-FITC(5 μ L)和碘化丙啶(10 μ L)在 25℃条件下孵育 20 min。最后采用流式细胞仪(美国 BD Biosciences)对凋亡细胞进行区分,计算凋亡率。

1.2.4 细胞增殖活力测定 将 U266 细胞(5 000 个/孔)接种于 96 孔板,培养过夜。转染 0 h 和 48 h 后,添加 10 μ L CCK-8(日本 Dojindo)到每个孔,与细胞孵育 4 h。最后在 450 nm 波长下检测吸光度。

1.2.5 RNA 提取、逆转录和 qRT-PCR 所有的 RNA 均使用 TRIzol 试剂(美国 Invitrogen)从血浆和细胞中提取,然后用 PrimeScript RT 试剂盒按照厂家说明书(日本 Takara)将 1 μ g 总 RNA 逆转录为 cDNA。miRNA 采用 DNase I 处理样品,去除样品中的 gDNA。随后使用 miR-X miR 第一链合成试剂盒(日本 Takara)合成 cDNA。最后,利用 SYBR Premix Ex Taq II(日本 Takara)和罗氏 LightCycler 480 PCR 仪进行 qRT-PCR 反应。引物序列如下:lncRNA ANRIL-F 5'-GGACTACAGATGCACCACCAT-3';lncRNA ANRIL-R 5'-TGAGCACTGTGTCCATAGCA-3';miR-199a-5p-F 5'-GGCGCCAGTGTTCAGACTAC-3';miR-199a-5p-R 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3';HIF-

1 α -F 5'-ACCTATGACCTGCTTGGTGC-3'; HIF-1 α -R 5'-GGCTGTGTGCGACTGAGGAAA-3'; GAPDH-F 5'-AAATCCCATCACCATCTTCCAG-3'; GAPDH-R 5'-GAGTCCTTCCACGATACCAAAGTTG-3'。

1.2.6 Western blot U266 细胞用预冷的 PBS 洗涤,用 RIPA 裂解缓冲液进行裂解。将等量的蛋白样品通过 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,然后转移到聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜。用 5% 脱脂牛奶封闭 1.5 h 后,用一抗 [抗 caspase3 (英国 Abcam, ab32351)、抗 caspase 9 (英国 Abcam, ab32539)、抗 Bax (英国 Abcam, ab32503)、抗 Bcl-2 (英国 Abcam, ab32124)、抗 GAPDH (英国 Abcam, ab8485)] 和辣根过氧化物酶结合的二抗孵育 PVDF 膜。用 Pierce ECL Western blot (美国 Thermo Scientific) 观察条带。采用 GAPDH 作为内参。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,两组比较采用配对 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 在 MM 患者和健康志愿者血浆中的表达差异 MM 患者血浆 lncRNA ANRIL、HIF-1 α 表达高于健康志愿者 ($P < 0.05$),MM 患者血浆 miR-199a-5p 表达低于健康志愿者 ($P < 0.05$)。见图 1。

2.2 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 三者之间的关系 生物信息学软件预测了 lncRNA ANRIL 与 miR-199a-5p、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 之间的结合位点 (图 2A、2B)。荧光素酶报告基因检测显示,与 wt-ANRIL + mimics NC 组相比,wt-ANRIL + miR-199a-5p mimics 的荧光素酶活性显著降低 ($P < 0.05$); mut-ANRIL + mimics NC 组与 mut-ANRIL + miR-199a-5p mimics 组荧光素酶活性差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 2C); 与 wt-HIF-1 α + mimics NC 组相比,wt-HIF-1 α + miR-199a-5p mimics 组荧光素酶活性显著降低 ($P < 0.05$); mut-HIF-1 α + mimics NC 组与 mut-HIF-1 α + miR-199a-5p mimics 组荧光素酶活性差异无统计学意义 ($P > 0.05$, 图 2D)。进一步研究了 lncRNA ANRIL 对 miR-199a-5p、HIF-1 α 表达的调控作用,发现与 si-NC 组相比,si-ANRIL 组细胞内 HIF-1 α 相对表达量明显降低 ($P < 0.05$),与 inhibitor NC 组相比,miR-199a-5p inhibitor 组细胞内 HIF-1 α 相对表达量明显升高 ($P < 0.05$),表明 lncRNA ANRIL 表达对 HIF-1 α 表达有正向调控作用,miR-199a-5p 表达对 HIF-1 α 表达有负向调控作用 (图 2E)。

2.3 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 对 U266 细胞增殖活力的影响 分析图 3A 可知,与 si-NC 组相比,si-ANRIL 组和 si-HIF-1 α 组 U266 细胞增

殖活力明显降低 ($P < 0.05$); 与 inhibitor NC 组相比,miR-199a-5p inhibitor 组 U266 细胞增殖活力明显升高 ($P < 0.05$)。分析图 3B 可知,与 pcDNA-3.1 (+) + mimics NC 组相比,pcDNA-ANRIL + mimics NC 组 U266 细胞增殖活力明显升高 ($P < 0.05$); pcDNA-3.1 (+) + miR-199a-5p mimics 组 U266 细胞增殖活力明显降低 ($P < 0.05$); 与 pcDNA-3.1 (+) + miR-199a-5p mimics 组相比,pcDNA-ANRIL + miR-199a-5p mimics 组 U266 细胞增殖活力明显升高 ($P < 0.05$)。

2.4 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 对 U266 细胞凋亡的影响 分析图 4A、4B 可知,与 si-NC 组相比,si-ANRIL 组和 si-HIF-1 α 组 U266 细胞凋亡率明显上升 ($P < 0.05$); 与 inhibitor NC 组相比,miR-199a-5p inhibitor 组 U266 细胞凋亡率明显降低 ($P < 0.05$)。分析图 4C、4D 可知,与 pcDNA-3.1 (+) + mimics NC 组相比,pcDNA-ANRIL + mimics NC 组 U266 细胞凋亡率明显降低 ($P < 0.05$),pcDNA-3.1 (+) + miR-199a-5p mimics 组 U266 细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.05$); 与 pcDNA-3.1 (+) + miR-199a-5p mimics 组相比,pcDNA-ANRIL + miR-199a-5p mimics 组 U266 细胞凋亡率明显降低 ($P < 0.05$)。

2.5 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1 α 对 U266 细胞内 Bax、Bcl-2、caspase3 和 caspase9 蛋白相对表达量的影响 分析图 5A 可知,与 si-NC 组相比,si-ANRIL 和 si-HIF-1 α 组细胞内 Bax、caspase3 和 caspase9 表达显著上调 ($P < 0.05$),Bcl-2 表达显著下调 ($P < 0.05$); 与 inhibitor NC 组相比,miR-199a-5p inhibitor 组细胞内 Bax、caspase3 和 caspase9 表达显著下调 ($P < 0.05$),Bcl-2 表达显著上调 ($P < 0.05$)。分析图 5B 可知,与 pcDNA-3.1 (+) + mimics NC 组相比,pcDNA-ANRIL + mimics NC 组细胞内 Bax、caspase3 和 caspase9 表达显著下调 ($P < 0.05$),Bcl-2 表达显著上调 ($P < 0.05$),pcDNA-3.1 (+) + miR-199a-5p mimics 组细胞内 Bax、caspase3 和 caspase9 表达显著上调 ($P < 0.05$),Bcl-2 表达显著下调 ($P < 0.05$); 与 pcDNA-3.1 (+) + miR-199a-5p mimics 组相比,pcDNA-ANRIL + miR-199a-5p mimics 组细胞内 Bax、caspase3 和 caspase9 表达显著下调 ($P < 0.05$),Bcl-2 表达显著上调 ($P < 0.05$)。

2.6 lncRNA ANRIL 通过 miR-199a-5p 对 HIF-1 α 表达的影响 与对照组相比,过表达 lncRNA ANRIL 显著促进了 HIF-1 α 表达 ($P < 0.05$),而 miR-199a-5p mimics 组与 mimics NC 组相比显著抑制了 HIF-1 α 表达 ($P < 0.05$),和 miR-199a-5p mimics 组对比,lncRNA ANRIL 过表达质粒和 miR-199a-5p mimics 同时转染细胞后显著促进了 HIF-1 α 表达 ($P < 0.05$)。见图 6。

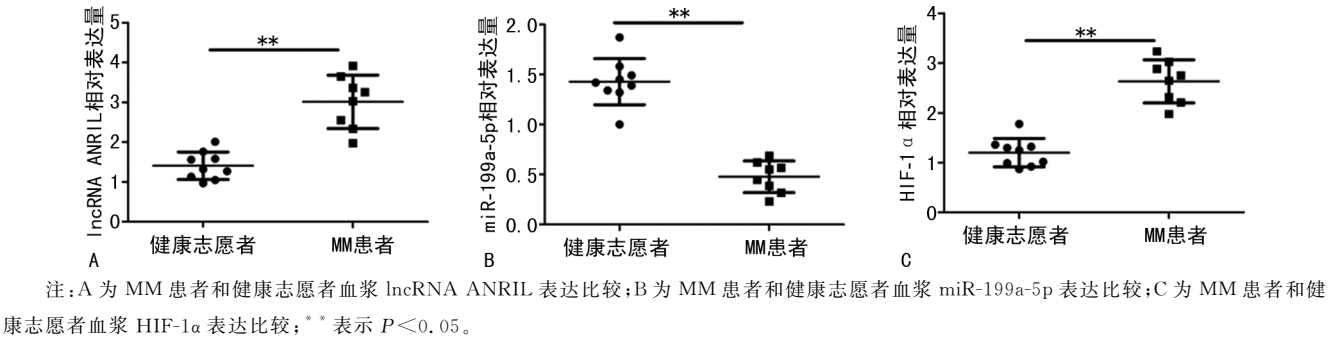


图 1 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1α 在 MM 患者和健康志愿者血浆中的表达差异

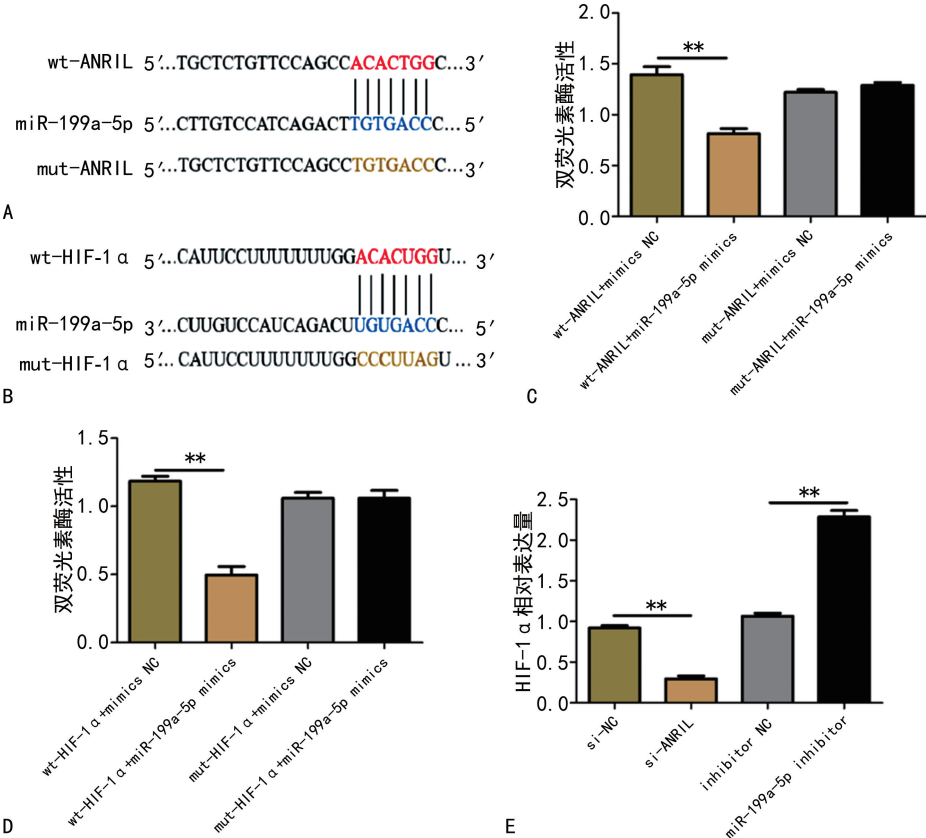


图 2 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1α 三者之间的关系

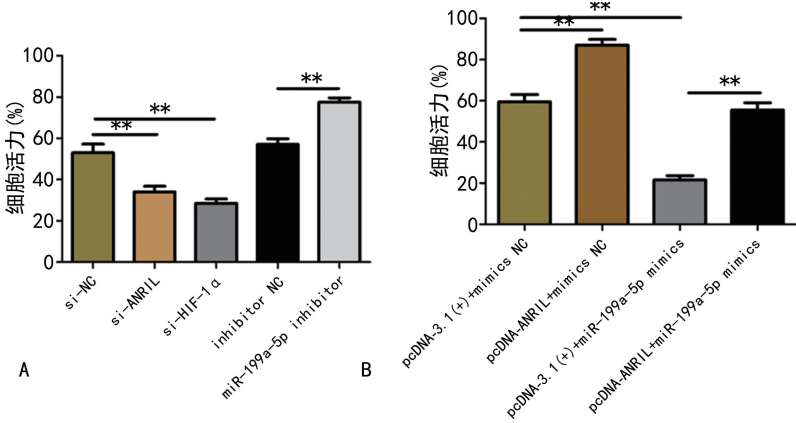
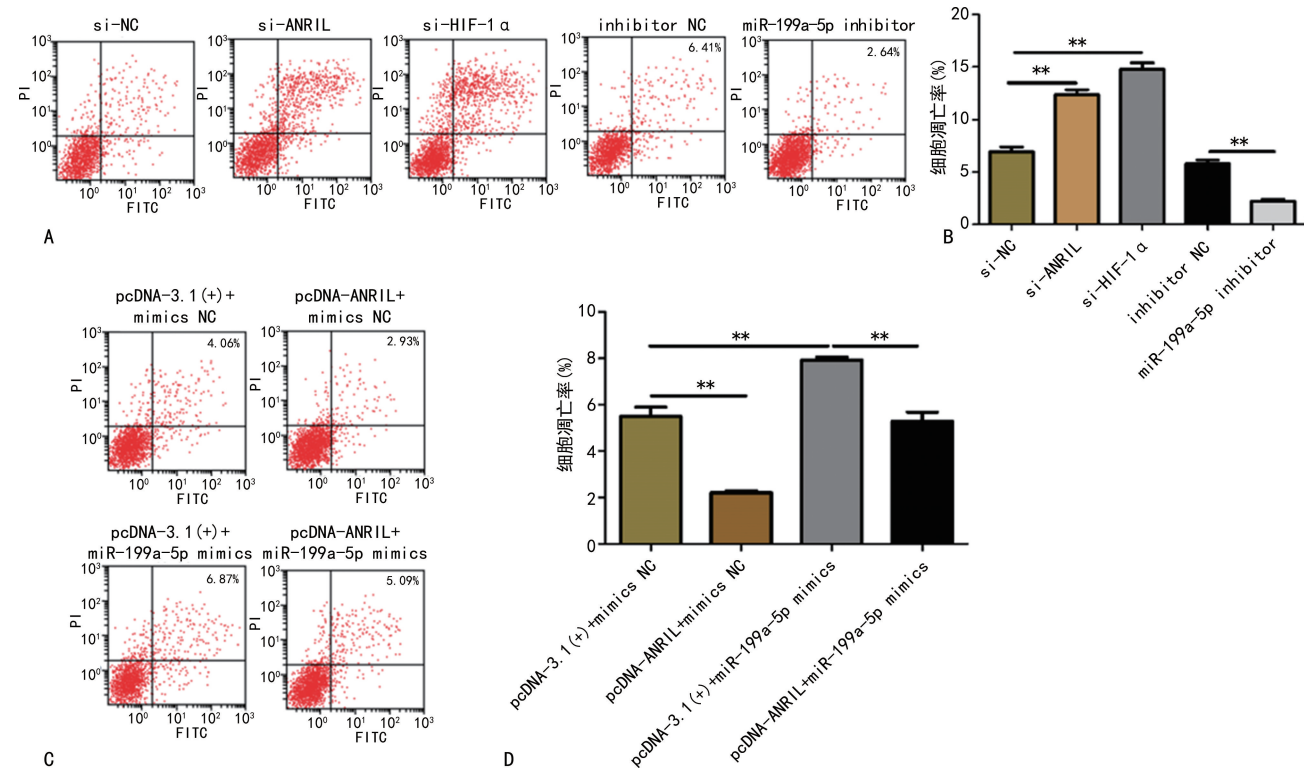
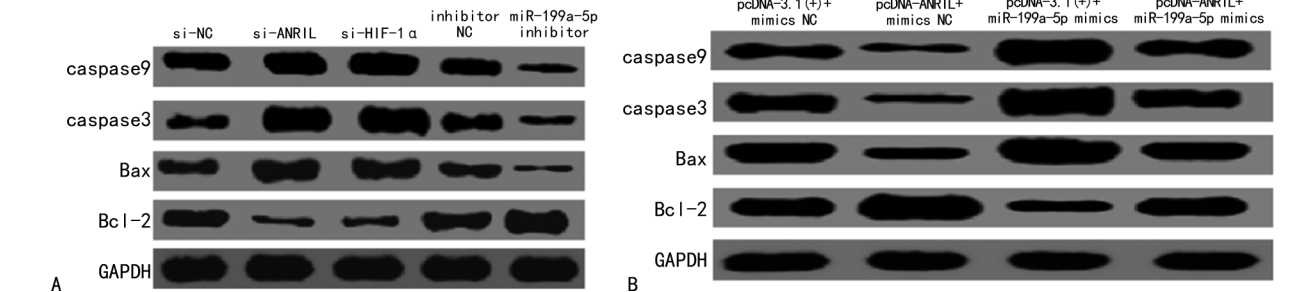


图 3 CCK-8 检测 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1α 对 U266 细胞增殖活力的影响



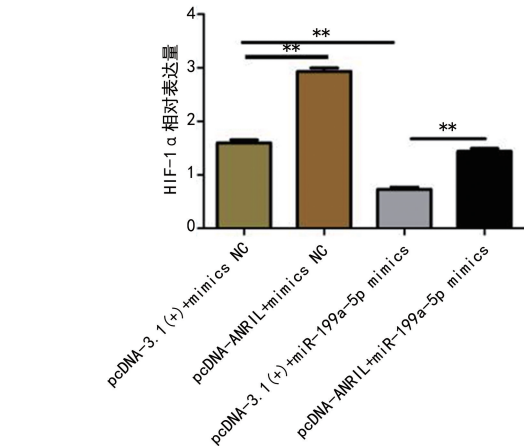
注:A 为流式细胞术检测分别下调 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1α 表达后对 U266 细胞凋亡的影响;B 为 A 中细胞凋亡率统计结果;C 为流式细胞术检测 lncRNA ANRIL 通过 miR-199a-5p 对 U266 细胞凋亡的影响;D 为 C 中细胞凋亡率统计结果; ** 表示 $P<0.05$ 。

图 4 流式细胞术检测 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1α 对 U266 细胞凋亡的影响



注:A 为 Western blot 检测分别下调 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1α 表达后对 Bax、Bcl-2、caspase3 和 caspase9 表达的影响;B 为 Western blot 检测 lncRNA ANRIL 通过 miR-199a-5p 对 Bax、Bcl-2、caspase3 和 caspase9 表达的影响。

图 5 Western blot 检测 lncRNA ANRIL、miR-199a-5p 和 HIF-1α 对 U266 细胞内 Bax、Bcl-2、caspase3 和 caspase9 蛋白表达的影响



注: ** 表示 $P<0.05$ 。
图 6 qRT-PCR 检测 lncRNA ANRIL 通过 miR-199a-5p 对 HIF-1α 表达的影响

3 讨论

已有研究表明,lncRNA 和 miRNA 的异常表达与 MM 的进展有关^[9]。前期有研究发现,lncRNA PDIA3P、lncRNA MALAT-1、lncRNA TUG1 等在 MM 患者血浆中呈高表达^[11-12],而 miR-193a、miR-29b-3p、miR-610 等呈低表达^[13]。既往研究报道,lncRNA ANRIL 在多种癌症如视网膜母细胞瘤、卵巢癌、胰腺癌中可作为癌基因发挥作用^[14-15],而 miR-199a-5p 在多种癌症如胃癌、膀胱癌、宫颈癌中可作为抑癌基因发挥功能^[16]。因此,基于 lncRNA ANRIL 和 miR-199a-5p 在癌症中的作用,笔者推测 lncRNA ANRIL/miR-199a-5p 轴可能参与调控 MM 发展。本研究发现,lncRNA ANRIL 在 MM 患者血浆中呈高表达,而 miR-199a-5p 在 MM 患者血浆中表达下调。

生物信息学软件预测 ANRIL 与 miR-199a-5p 之间存在结合位点。荧光素酶报告基因检测和转染实验进一步表明,miR-199a-5p 是 lncRNA ANRIL 直接作用的靶点,在 U266 细胞中 miR-199a-5p 表达水平受到 lncRNA ANRIL 的负调控。本研究揭示了 lncRNA ANRIL 和 miR-199a-5p 在 MM 细胞中的靶调控关系,但其具体作用机制还需进一步研究。

越来越多的证据表明,lncRNA 在 MM 中通过与 miRNA 竞争性结合发挥作用。例如,在 MM 中,lncRNA OIP5-AS1 通过与 miR-410 竞争性结合促进细胞增殖^[17]。lncRNA CCAT1 通过与 miR-181a-5p 竞争性结合抑制 MM 细胞增殖并促进细胞凋亡^[18]。因此,揭示 lncRNA ANRIL/miR-199a-5p 的潜在机制对于了解 MM 的恶性增殖具有重要意义。为了深入研究 lncRNA ANRIL/miR-199a-5p 的作用机制,本研究中将 lncRNA ANRIL 下调质粒、miR-199a-5p 抑制剂或 lncRNA ANRIL 过表达质粒与 miR-199a-5p 模拟物共转染 U266 细胞,观察其对细胞增殖和凋亡的影响。结果发现,抑制 lncRNA ANRIL 表达可抑制细胞增殖,促进细胞凋亡,而抑制 miR-199a-5p 表达则会得到相反的结果。lncRNA ANRIL 过表达质粒协同 miR-199a-5p 模拟物共转染进一步促进细胞增殖,抑制细胞凋亡。虽然 lncRNA ANRIL/miR-199a-5p 轴在神经元损伤中的调节作用已被报道^[19],但鲜有其他报道证实 lncRNA ANRIL/miR-199a-5p 轴在调节 MM 恶性增殖中的作用,这将为 MM 治疗及复发防治提供理论指导。HIF-1 α 作为转录因子 HIF-1 的一个亚基,在缺氧反应时可受到疾病特异性 miRNA 的调控。例如,miR-199a 通过调控 HIF-1 α /血管内皮生长因子(VEGF)信号通路对非小细胞肺癌大鼠产生影响^[20]。miR-200c 下调 HIF-1 α 并抑制肺癌细胞的迁移。miR-199a-5p 是一种疾病特异性 miRNA,调控肿瘤中多种恶性生物学行为。根据以往的报道,miR-199a-5p 和 miR-495 在肺癌 UPR 通路中靶向调控 GRP78^[21]。此外,通过靶向 HIF-1 α -GSK3 β -mPTP 轴,下调 miR-199a-5p 可减弱心肌细胞缺氧/复氧诱导的细胞毒性^[22]。然而,miR-199a-5p 在 MM 中的具体作用机制尚不清楚。根据生物信息学软件的预测,HIF-1 α 是 miR-199a-5p 的一个潜在靶点。因此,miR-199a-5p 可能通过靶向调控 HIF-1 α 在 MM 中发挥作用。本研究结果显示,HIF-1 α 在 MM 患者的血浆中呈高表达。荧光素酶报告基因检测和转染实验进一步表明,HIF-1 α 是 miR-199a-5p 的靶点,在 U266 细胞中 HIF-1 α 表达受 miR-199a-5p 的负调控。因此,本研究在 U266 细胞中发现 miR-199a-5p 对 HIF-1 α 的靶调控作用。此外,HIF-1 α 表达下调

明显抑制了 U266 细胞的增殖,表明 HIF-1 α 对 U266 细胞增殖具有明显的促进作用。

综上所述,本研究结果证实了 MM 患者血浆 lncRNA ANRIL 和 HIF-1 α 表达上调,而 miR-199a-5p 表达下调。此外,lncRNA ANRIL 通过 miR-199a-5p 调控 HIF-1 α 表达,影响细胞增殖和凋亡。这提示 lncRNA ANRIL/miR-199a-5p/HIF-1 α 轴可能作为治疗 MM 的潜在靶点。

参考文献

- [1] 陈协群. 多发性骨髓瘤生物学研究与新药靶向治疗[J]. 中华血液学杂志,2013,34(4):288-289.
- [2] 谢振卿,李斯丹,徐燕,等. 多发性骨髓瘤骨病的发病机制和靶向治疗研究进展[J]. 中华血液学杂志,2012,33(3):247-249.
- [3] CAO H L, LIU Z J, HUANG P L, et al. LncRNA-RMRP promotes proliferation, migration and invasion of bladder cancer via miR-206 [J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019,23(3):1012-1021.
- [4] WEI G H, WANG X. LncRNA MEG3 inhibit proliferation and metastasis of gastric cancer via p53 signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017,21(17):3850-3856.
- [5] CHEN B, DENG S, GE T, et al. Live cell imaging and proteomic profiling of endogenous NEAT1 lncRNA by CRISPR/Cas9-mediated knock-in[J]. Protein Cell, 2020,11(9):641-660.
- [6] SUN W, SHEN N M, FU S L. Involvement of lncRNA-mediated signaling pathway in the development of cervical cancer[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019,23(9):3672-3687.
- [7] YANG J, HUANG X, HU F, et al. LncRNA ANRIL knockdown relieves myocardial cell apoptosis in acute myocardial infarction by regulating IL-33/ST2[J]. Cell Cycle, 2019,18(23):3393-3403.
- [8] DENG W, ZHANG Y, CAI J, et al. LncRNA-ANRIL promotes gastric cancer progression by enhancing NF- κ B signaling[J]. Exp Biol Med(Maywood), 2019,244(12):953-959.
- [9] ZENG R, SONG X J, LIU C W, et al. LncRNA ANRIL promotes angiogenesis and thrombosis by modulating microRNA-99a and microRNA-449a in the autophagy pathway[J]. Am J Transl Res, 2019,11(12):7441-7448.
- [10] WANG M, ZHAO H Y, ZHANG J L, et al. Dysregulation of lncRNA ANRIL mediated by miR-411-3p inhibits the malignant proliferation and tumor stem cell like property of multiple myeloma via hypoxia-inducible factor 1 α [J]. Exp Cell Res, 2020,396(1):112280-112289.
- [11] YANG X, YE H, HE M, et al. LncRNA PDIA3P interacts with c-Myc to regulate cell proliferation via induction

- of pentose phosphate pathway in multiple myeloma[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2018, 498(1): 207-213.
 - [12] GAO D, LV A E, LI H P, et al. LncRNA MALAT-1 elevates HMGB1 to promote autophagy resulting in inhibition of tumor cell apoptosis in multiple myeloma[J]. J Cell Biochem, 2017, 118(10): 3341-3348.
 - [13] LIU F, WANG Y L, WEI J M, et al. Upregulation of circ_0000142 promotes multiple myeloma progression by adsorbing miR-610 and upregulating AKT3 expression[J]. J Biochem, 2021, 169(3): 327-336.
 - [14] WANG K, HU Y B, ZHAO Y, et al. LncRNA ANRIL regulates ovarian cancer progression and tumor stem cell-like characteristics via miR-324-5p/Ran axis[J]. Onco Targets Ther, 2021, 14: 565-576.
 - [15] WANG L, BI R, LI L, et al. LncRNA ANRIL aggravates the chemoresistance of pancreatic cancer cells to gemcitabine by targeting inhibition of miR-181a and targeting HMGB1-induced autophagy[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(15): 19272-19281.
 - [16] WEI D, SHEN B, WANG W, et al. MicroRNA-199a-5p functions as a tumor suppressor in oral squamous cell carcinoma via targeting the IKK β /NF- κ B signaling pathway[J]. Int J Mol Med, 2019, 43(4): 1585-1596.
 - [17] YANG N, CHEN J, ZHANG H, et al. LncRNA OIP5-AS1 loss-induced microRNA-410 accumulation regulates cell proliferation and apoptosis by targeting KLF10 via activating PTEN/PI3K/AKT pathway in multiple myeloma[J]. Cell Death Dis, 2017, 8(8): e2975.
 - [18] CHEN L, HU N, WANG C, et al. Long non-coding RNA CCAT1 promotes multiple myeloma progression by acting as a molecular sponge of miR-181a-5p to modulate HOXA1 expression[J]. Cell Cycle, 2018, 17(3): 319-329.
 - [19] ZHONG W, LI Y C, HUANG Q Y, et al. LncRNA ANRIL ameliorates oxygen and glucose deprivation (OGD) induced injury in neuron cells via miR-199a-5p/CAV-1 axis[J]. Neurochem Res, 2020, 45(4): 772-782.
 - [20] WANG L M, ZHANG L L, WANG L W, et al. Influence of miR-199a on rats with non-small cell lung cancer via regulating the HIF-1 α /VEGF signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(23): 10363-10369.
 - [21] AHMADI A, KHANSARINEJAD B, HOSSEINKHANI S, et al. miR-199a-5p and miR-495 target GRP78 within UPR pathway of lung cancer[J]. Gene, 2017, 620: 15-22.
 - [22] LIU D W, ZHANG Y N, HU H J, et al. Downregulation of microRNA-199a-5p attenuates hypoxia/reoxygenation-induced cytotoxicity in cardiomyocytes by targeting the HIF-1 α -GSK3 β -mPTP axis[J]. Mol Med Rep, 2019, 19(6): 5335-5344.
- (收稿日期: 2022-01-18 修回日期: 2022-07-21)
-
- (上接第 2356 页)
- et al. LC-MS/MS analysis unravels deep oxidation of manganese superoxide dismutase in kidney cancer[J]. Int J Mol Sci, 2017, 18(2): 319.
 - [15] CHANG Y C, YAO F, TSAI E M, et al. Exogenous C8-ceramide induces apoptosis by overproduction of ROS and the switch of superoxide dismutases SOD1 to SOD2 in human lung cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(10): 3010.
 - [16] 孙军, 王炯, 闫雪波, 等. 非小细胞肺癌组织中 MnSOD、SIRT3 的表达及意义[J]. 临床与实验病理学杂志, 2018, 34(8): 860-864.
 - [17] 刘晓霞, 李卫霞, 苏镇军, 等. 晚期非小细胞肺癌病理特征及放化疗联合治疗疗效与患者血清超氧化物歧化酶的关系[J]. 癌变·畸变·突变, 2020, 32(5): 350-354.
 - [18] 马慧萍, 王荣, 孟盼盼, 等. 缺氧环境下利舒康胶囊对大鼠心肌组织的保护作用[J]. 华南国防医学杂志, 2017, 31(12): 791-794.
 - [19] MENG L, CHENG Y, TONG X, et al. Tumor oxygenation and hypoxia inducible factor-1 functional inhibition via a reactive oxygen species responsive nanoplatfrom for enhancing radiation therapy and abscopal effects[J]. ACS Nano, 2018, 12(8): 8308-8322.
 - [20] 班晨, 王钟华, 安峰. SOD、TGF- β 1、Vasohibin-1 在口腔鳞状细胞癌诊断及预后评估中的价值[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2021, 13(4): 555-558.
 - [21] 胡彬, 胡长路, 姜晓东, 等. 恶性肿瘤患者化疗前后血清 SOD 含量变化及临床意义[J]. 安徽医学, 2014, 42(4): 470-472.
 - [22] 谭亚纳, 吕杰, 魏小童, 等. 消化道恶性肿瘤患者血清 SOD 水平与肿瘤分期的关系及化疗对其的影响[J]. 实用肿瘤杂志, 2016, 31(3): 242-245.
 - [23] 王晓燕, 李卫东, 花宝金. 基于 Keap1/Nrf2/ARE 信号通路探讨芍药汤抗氧化应激抑制肠“炎-癌”转化进展的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(11): 5141-5147.
 - [24] DI S, FAN C, MA Z, et al. PERK/eIF-2 α /CHOP pathway dependent ROS generation mediates butein-induced non-small-cell lung cancer apoptosis and G₂/M phase arrest[J]. Int J Biol Sci, 2019, 15(8): 1637-1653.
 - [25] 王硕. 氧化应激与非小细胞肺癌关系的研究进展[J]. 国际生物医学工程杂志, 2020, 43(2): 156-160.
- (收稿日期: 2022-02-01 修回日期: 2022-08-01)