

• 论 著 •

lncRNA CASC11 在三阴性乳腺癌中的临床意义及其与 miR-676-3p 调控的关系

徐 阳, 潘胜男[△]

南京医科大学附属淮安第一医院医学检验中心, 江苏淮安 223300

摘要:目的 探讨长链非编码 RNA(lncRNA)癌易感候选基因 11(CASC11)对三阴性乳腺癌(TNBC)细胞株 MDA-MB-231 迁移和侵袭能力的影响及其调控机制。方法 采用实时荧光定量 PCR(qPCR)检测 TNBC 组织芯片中 lncRNA CASC11 和 miR-676-3p 的表达;分析 TNBC 组织中 lncRNA CASC11 的相对表达水平与患者临床病理参数及预后的相关性;通过 Transwell 实验验证 lncRNA CASC11 与 miR-676-3p 对 TNBC 细胞株 MDA-MB-231 迁移和侵袭能力的影响;采用双荧光素酶报告实验对 lncRNA CASC11 与 miR-676-3p 之间的调控关系进行验证。结果 lncRNA CASC11 在 TNBC 组织中的表达水平异常升高($P < 0.05$),而 miR-676-3p 在 TNBC 组织中的表达水平下调($P < 0.05$);肿瘤组织中 lncRNA CASC11 的表达水平与脉管浸润、阳性淋巴结数目、淋巴结转移、远处转移、TNM 分期以及复发情况有关($P < 0.05$),并且在 TNM I 期、TNM II 期以及 TNM I ~ IV 期 TNBC 患者中,lncRNA CASC11 高表达的 TNBC 患者总体生存时间和无复发生存时间较 lncRNA CASC11 低表达的 TNBC 患者明显缩短($P < 0.05$),lncRNA CASC11 的相对表达水平是 TNBC 患者预后较差的独立危险因素;Transwell 实验表明下调 miR-676-3p 能够逆转 lncRNA CASC11 沉默介导的对 TNBC 细胞迁移和侵袭的抑制作用,双荧光素酶报告实验表明 lncRNA CASC11 能够调控 miR-676-3p。结论 lncRNA CASC11 的异常高表达与 TNBC 的发生、发展以及不良预后密切相关,其能够通过调控 miR-676-3p 诱导 TNBC 细胞的迁移和侵袭。

关键词:三阴性乳腺癌; 长链非编码 RNA; 癌易感候选基因 11; 迁移; 侵袭

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.04.017 **中图法分类号:**R446.8

文章编号:1673-4130(2023)04-0465-07

文献标志码:A

The clinical significance of lncRNA CASC11 in triple negative breast carcinoma and its relationship with miR-676-3p

XU Yang, PAN Shengnan[△]

Department of Medical Laboratory Center, Huai'an First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Huai'an, Jiangsu 223300, China

Abstract: Objective To investigate the effect of long non-coding RNA (lncRNA) cancer susceptibility candidate gene 11 (CASC11) on the migration and invasion ability of triple negative breast cancer (MDA-MB-231 cell line) and its regulatory mechanism. **Methods** Quantitative real-time PCR (qPCR) was used to detect the expression of lncRNA CASC11 and miR-676-3p in TNBC tissue chips; the correlation between the relative expression of lncRNA CASC11 in TNBC tissues and the clinicopathological parameters and prognosis of patients was analyzed. Transwell experiments were used to verify the effect of lncRNA CASC11 and miR-676-3p on the migration and invasion of MDA-MB-231 cell line, the regulatory relationship between lncRNA CASC11 and miR-676-3p was verified by qPCR and dual luciferase reporter experiments. **Results** The expression level of lncRNA CASC11 was abnormally increased in TNBC tissue ($P < 0.05$), while the expression level of miR-676-3p was down-regulated in TNBC tissue ($P < 0.05$); the expression of lncRNA CASC11 in tumor tissue was associated with vascular invasion, number of positive positive metastatic lymph nodes, lymph node metastasis, distant metastasis, TNM stage and recurrence are closely related ($P < 0.05$). Among TNBC patients with TNM I, TNM II, and TNM I - IV stages, the overall survival time and recurrence-free survival time of TNBC patients with high expression of lncRNA CASC11 were significantly shortened ($P < 0.05$). The lncRNA CASC11 expression was an independent risk factor for poor prognosis in TNBC patients. Transwell assays showed that down-regulation miR-676-3p could reverse the inhibitory effect of lncRNA CASC11 silencing-mediated migration and invasion of TNBC cells, dual luciferase reporter assays showed that lncRNA CASC11 could regulate miR-676-3p. **Conclusion** The high expression of lncRNA CASC11 is closely related to the oc-

currence, development and poor prognosis of TNBC, and it can regulate the migration and invasion of TNBC cells through miR-676-3p.

Key words: hepatocellular carcinoma; long non-coding RNA; cancer susceptibility candidate gene 11; migration; invasion

三阴性乳腺癌(TNBC)指的是免疫组织化学染色报告中,雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)及人表皮生长因子受体 2(EGFR-2)均为阴性的乳腺癌亚型^[1],约占新诊断乳腺癌数量的 24%^[2],是目前乳腺癌治疗中最棘手的一类,病死率高且最容易转移和复发^[3],虽然诊断和治疗的手段有了长足的发展,但是 TNBC 患者的生存率仍然不容乐观^[4],肿瘤转移极大地降低了治疗的成功率,是肿瘤相关性死亡首要的因素^[5-6],因此,全面了解 TNBC 发生、发展的机制对于改善患者的预后意义重大。长链非编码 RNA(lncRNAs)是长度超过 200 个核苷酸且缺乏蛋白质编码功能的转录本,参与多种生理和病理过程,尤其是肿瘤领域^[7]。此外,越来越多的证据表明 lncRNA 能够通过竞争性内源 RNA(ceRNA)机制吸附微小 RNA(miRNAs)调控下游基因表达和生物学功能,例如 lncRNA BCRT1 通过 miR-1303/PTBP3 促进乳腺癌的进展^[8],lncRNA H19 通过吸附 miR-19b-3p 促进肺癌细胞铁死亡^[9]。本研究拟探讨 lncRNA 癌易感候选基因 11(CASC11)对 TNBC 细胞株 MDA-MB-231 迁移和侵袭能力的影响及其调控机制,以期对 TNBC 的转移机制研究提供新的见解。lncRNA CASC11 也有望成为 TNBC 新的治疗靶点和预后标志物。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂 实验中所使用的 132 例 TNBC 组织和配对癌旁组织的 cDNA 芯片购自上海芯超生物科技有限公司,公司与合作医院签订了合作协议,标本收集获得合作医院的伦理委员会批准并经过被研究对象及其家属同意,产品编码 HBreD132Su07,患者临床及病理资料包括年龄、性别、脉管浸润、阳性淋巴结数目、淋巴结转移、远处转移、TNM 分期以及随访资料等信息,所有患者术前均未接受任何治疗,包括放射治疗、化学治疗及靶向治疗等治疗。手术时间从 2009 年 1 月至 2016 年 9 月,随访截至 2020 年 8 月,死亡 29 例,完整资料可以在网站(<https://www.superchip.com.cn/>)上查询。胎牛血清(FBS)和 DMEM 培养基购自美国 Thermo 公司,Trizol 试剂和 Lipofectamine 2000 购自美国 Invitrogen 公司,实时荧光定量 PCR(qPCR)检测试剂盒购自日本 Takara 公司,Transwell 小室购自美国康宁公司,lncRNA CASC11 小 RNA 干扰片段(si-CASC11)、miR-676-3p 类似物(mimics)/抑制剂(inhibitor)、lncRNA CASC11 野生型和突变型双荧光素酶报告载体均由上海吉泰生物有限公司构建合成,双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国 Promega 公司,所有引物购自上海生物工程有限公司。使用 Starbase2.0(<http://starbase.sysu.edu.cn/>)以及 TCGA (<https://portal.gdc.cancer.gov>)生物

信息学数据库验证 lncRNA CASC11 与 miR-676-3p 是否存在物理学上的结合位点。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 人正常乳腺上皮细胞株(MCF-10A)以及 4 个 TNBC 细胞系(MDA-MB-231、4T1、BT549 和 HCC1937)购自中国科学院上海细胞库,将细胞培养使用含 10% FBS 的 DMEM 培养基中,放置于 5% CO₂、37 °C 的孵育箱中培养,待细胞生长至 70%~80% 密度后进行传代,选择对数生长期的细胞进行实验。

1.2.2 细胞转染和双荧光素酶报告实验 取对数生长期的 MDA-MB-231 细胞制备成单细胞悬液,均匀的接种在六孔板中,于 5% CO₂、37 °C 的孵育箱中孵育 24 h,当细胞密度达到约 70%~80%,根据试剂盒说明书进行转染。配制 A 液:将 5 μL 干扰片段或 5 μL 阴性对照加入到 250 μL 的低血清培养基中,轻柔混匀静置 5 min;B 液:将 5 μL lipofectamine 2000 加入到 250 μL 的低血清培养基中,轻柔混匀静置 5 min,将 A 液和 B 液混匀并静置 20 min,缓慢加入到相应六孔板中,继续置于 5% CO₂、37 °C 的培养箱中培养。构建含有 miR-676-3p 结合位点的野生型和突变型 lncRNA CASC11 双荧光素酶报告载体。lncRNA CASC11 突变型质粒突变的部分是与 miR-676-3p 结合的位点(Starbase 2.0 数据库预测)。使用 lipofectamine 2000 将双荧光素酶报告载体或阴性对照与 miR-676-3p mimics 共转染至 TNBC 细胞中,48 h 后测定各组荧光素酶活性。

1.2.3 qPCR 检测 lncRNA CASC11 和 miR-676-3p 的表达水平 使用 Trizol 试剂提取 TNBC 细胞系和人正常乳腺上皮细胞株中总 RNA,根据反转录试剂盒提供说明书进行反转录,分别以 GAPDH 和 U6 为内参,参照荧光定量 PCR 试剂盒说明书使用荧光定量 PCR 仪对 lncRNA CASC11 和 miR-676-3p 的表达水平进行 qPCR 检测,采用公式 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 计算 lncRNA CASC11 和 miR-676-3p 的相对表达水平,本研究所使用的引物序列见表 1。qPCR 检测 lncRNA CASC11/miR-676-3p 的反应条件:95 °C 预变性 30 s,95 °C 变性 15 s,65 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 34 s,共 35 个循环。

1.2.4 Transwell 实验检测细胞迁移和侵袭能力 用胰蛋白酶消化并收集对数生长期细胞,用无血清培养基将每组细胞调整为 5×10^7 /mL 的悬液,取 250 μL 细胞悬液加入到上层小室中(侵袭实验在此基础上小室底部加入配套的基质胶),在下层小室中加入 500 μL 含 10% FBS 的 DMEM 培养基,于 37 °C、5%

CO₂ 培养箱中孵育 24 h,用棉签擦去小室上层未穿过膜的细胞,将小室放置于 4%多聚甲醛中 30 min,取出

晾干后进行结晶紫染色,用倒置显微镜随机挑选 5 个高倍镜视野计算穿膜细胞数并拍照。

表 1 所用引物序列

检测指标	正向引物(5'-3')	反向引物(5'-3')
lncRNA CASC11	CCTATGGAGAACCGAGACACA	CTGCTCTTTTCACTAGAGGACC
miR-676-3p	ATCTCTGTCCTACCTGACAT	GTCACCTCTATGTACATCA
GAPDH	CCATCTTCCAGGAGCGAGATC	GGCATTGCTGATGATCTTGAGG
U6	CTGGATGAGGTAAGTAT	CCTCGAAGACCTAGCTCCTT

1.3 统计学处理 本研究采用 SPSS 21.0 和 Graph-Pad Prism 7.0 软件进行统计学分析,统计学方法包括 *t* 检验、方差分析、Pearson 相关、 χ^2 检验、Fisher 精确检验、似然比检验、Cox 回归分析及 Kaplan-Meier 分析等。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义,所有实验均重复至少 3 次。

2 结 果

2.1 lncRNA CASC11 在 TNBC 中的相对表达水平及其与 TNBC 患者临床病理参数间的相关性 qPCR 结果显示,与癌旁组织相比,lncRNA CASC11 在 TNBC 组织中的相对表达水平异常升高,而 miR-676-3p 则表达下调,见表 2,差异有统计学意义($P<0.05$)。通过对 4 种 TNBC 细胞(MDA-MB-231、4T1、BT549 和 HCC1937)以及人正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 中

lncRNA CASC11 的相对表达水平进行检测,结果发现 4 种 TNBC 细胞中 lncRNA CASC11 的相对表达水平均高于人正常乳腺上皮细胞 MCF-10A,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图 1。此外,通过分析 lncRNA CASC11 的表达水平与患者临床病理间参数间的关系,结果发现,TNBC 组织中 lncRNA CASC11 的相对表达水平与 TNBC 患者脉管浸润、阳性淋巴结数目、淋巴结转移、远处转移、TNM 分期以及复发情况有关,lncRNA CASC11 相对表达水平越高,TNBC 患者有较多的肿瘤细胞脉管浸润,有较多的淋巴结及远处转移,TNM 分期更高,更易复发($P<0.05$),此外,lncRNA CASC11 相对表达水平与患者年龄、T 分期无关($P>0.05$),见表 3。

表 2 TNBC 组织和癌旁组织中 lncRNA CASC11 及 miR-676-3p 相对表达水平

检测指标	分组	相对表达水平	差值	差值的 95%CI	配对 <i>t</i> 检验	
					<i>t</i>	<i>P</i>
lncRNA CASC11	TNBC 组织	3.577±0.391	2.453	2.403~2.504	96.322	<0.05
	癌旁组织	1.123±0.155				
miR-676-3p	TNBC 组织	0.623±0.180	1.57	1.501~1.634	46.849	<0.05
	癌旁组织	2.191±0.167				

表 3 TNBC 组织中 lncRNA CASC11 相对表达水平与患者临床病理参数间的相关性[*n*(%)]

临床病理参数	<i>n</i>	lncRNA CASC11		χ^2	<i>P</i>
		低表达	高表达		
年龄(岁)				1.227	0.268
≥60	44	19(43.2)	25(56.8)		
<60	88	47(53.4)	41(46.6)		
脉管浸润				12.711	<0.001
无	117	65(55.6)	52(44.4)		
有	15	1(6.7)	14(93.3)		
阳性淋巴结数目				38.824	<0.001
1~4	102	66(64.7)	36(35.3)		
5~8	19	0(0.0)	19(100.0)		
9~12	11	0(0.0)	11(100.0)		
T 分期				2.853	0.24 ^a
T1	50	26(52.0)	24(48.0)		
T2	80	40(50.0)	40(50.0)		
T3	2	0(0.0)	2(100.0)		

续表 3 TNBC 组织中 lncRNA CASC11 相对表达水平与患者临床病理参数间的相关性[*n*(%)]

临床病理参数	<i>n</i>	lncRNA CASC11		χ^2	<i>P</i>
		低表达	高表达		
淋巴结转移				39.309	<0.001
无转移	68	52(76.5)	16(23.5)		
有转移	64	14(21.9)	50(78.1)		
远处转移				—	0.013 ^b
无转移	125	66(52.8)	59(47.2)		
有转移	7	0(0.0)	7(100.0)		
TNM 分期				64.599	<0.001
I~II期	86	65(75.6)	21(24.4)		
III~IV期	46	1(2.2)	45(97.8)		
复发情况				51.411	<0.001
无复发	95	66(69.5)	29(30.5)		
有复发	37	0(0.0)	37(100.0)		

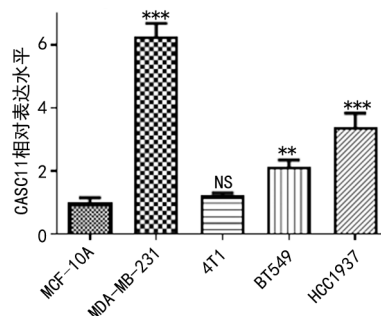
注:^a 代表似然比检验;^b 代表 Fisher 精确检验;—表示此项无数据。

2.2 lncRNA CASC11 与 TNBC 患者的总体生存时

间及无复发生存时间的相关性分析 通过生存分析发现,在 TNM I 期(27 例)、TNM II 期(59 例)、TNM I~IV 期(132 例)的 TNBC 患者中,lncRNA CASC11 高表达患者的总体生存时间较 lncRNA CASC11 低表达的患者明显缩短,差异有统计学意义(χ^2 分别为 11.32、37.81、38.35, $P < 0.05$),lncRNA CASC11 高表达患者的无复发生存时间较 lncRNA CASC11 低表达患者明显缩短,差异有统计学意义(χ^2 分别为 18.42、39.99、57.18, $P < 0.05$)。而在 TNM III 期(39 例)中,lncRNA CASC11 高表达 TNBC 患者总体生存率和无复发生存率与 lncRNA CASC11 低表达患者比较差异无统计学意义(χ^2 分别为 0.400 和 0.683, $P > 0.05$),见图 2。多因素 Cox 回归分析结果显示,TNBC 组织中 lncRNA CASC11 的表达水平是 TNBC 患者预后较差的独立危险因素($P < 0.05$)。见表 4。

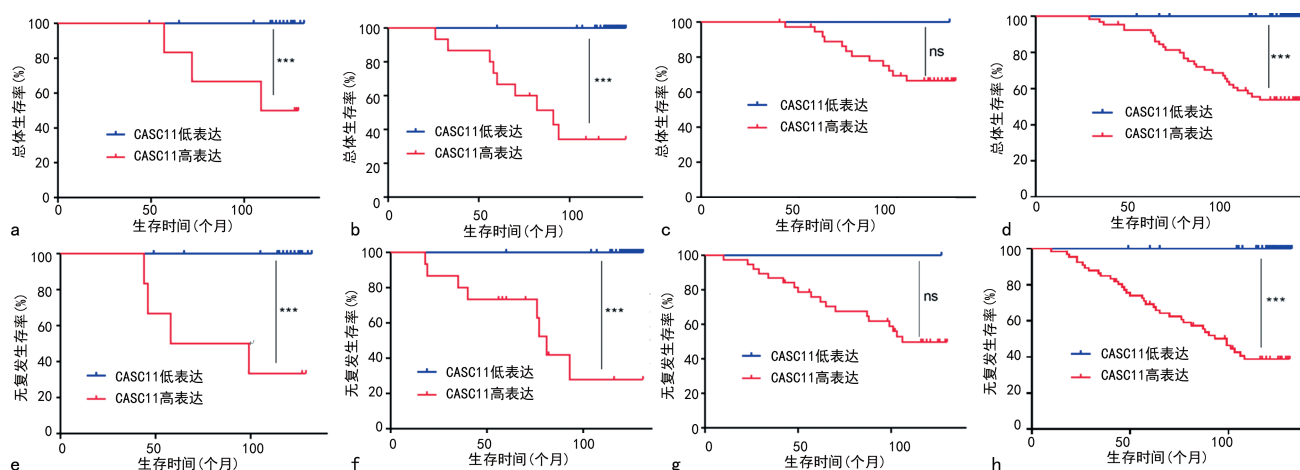
2.3 lncRNA CASC11 对 TNBC 细胞迁移和侵袭能力的影响 通过在 MDA-MB-231 细胞株中转染 3 种 si-CASC11 用于敲减 lncRNA CASC11 的表达,qPCR

检测结果发现,转染 si-CASC11-3 # 后 lncRNA CASC11 的下调效果最明显($P < 0.05$),见图 3a,因此本实验选择 si-CASC11-3 # 进行体外细胞功能实验。通过 Transwell 实验验证发现,与空白对照组和阴性对照组相比,敲减 lncRNA CASC11 后 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力明显收到抑制($P < 0.05$),见图 3b。



注:与 MCF-10A 细胞比较,** $P < 0.01$,*** $P < 0.001$,NS 表示差异无统计学意义。

图 1 lncRNA CASC11 在 TNBC 细胞株和正常细胞株中的表达水平



注:a 和 e 分别为 TNM I 期(27 例)总体生存曲线和无复发生存曲线;b 和 f 分别为 TNM II 期(59 例)总体生存曲线和无复发生存曲线;c 和 g 分别为 TNM III 期(39 例)总体生存曲线和无复发生存曲线;d 和 h 分别为 TNM I~IV 期(132 例)总体生存曲线和无复发生存曲线;TNM IV 期例数太少,无法单独分析;***表示 $P < 0.001$,ns 表示差异无统计学意义($P > 0.05$)。

图 2 lncRNA CASC11 表达情况与 TNBC 患者的总体生存时间和无复发生存时间相关性分析

表 4 TNBC 患者预后影响因素的 Cox 回归分析

因素	单因素分析			多因素分析		
	HR	95%CI	P	HR	95%CI	P
年龄	1.168	0.635~2.431	>0.05	—	—	—
脉管浸润	4.146	2.678~5.674	<0.05	2.002	0.868~2.885	>0.05
阳性淋巴结数目	3.358	1.487~4.792	<0.05	2.352	1.868~3.388	<0.05
T 分期	2.012	0.815~3.592	>0.05	—	—	—
淋巴结转移	4.023	2.286~5.463	<0.05	2.443	0.698~3.883	>0.05
远处转移	6.258	4.298~9.174	<0.05	4.425	2.557~6.071	<0.05
TNM 分期	8.299	3.698~12.028	<0.05	5.824	3.466~7.213	<0.05
复发情况	8.822	4.455~12.688	<0.05	3.753	2.624~6.379	<0.05
lncRNA CASC11 表达水平	12.242	8.172~15.157	<0.05	9.473	5.658~12.463	<0.05

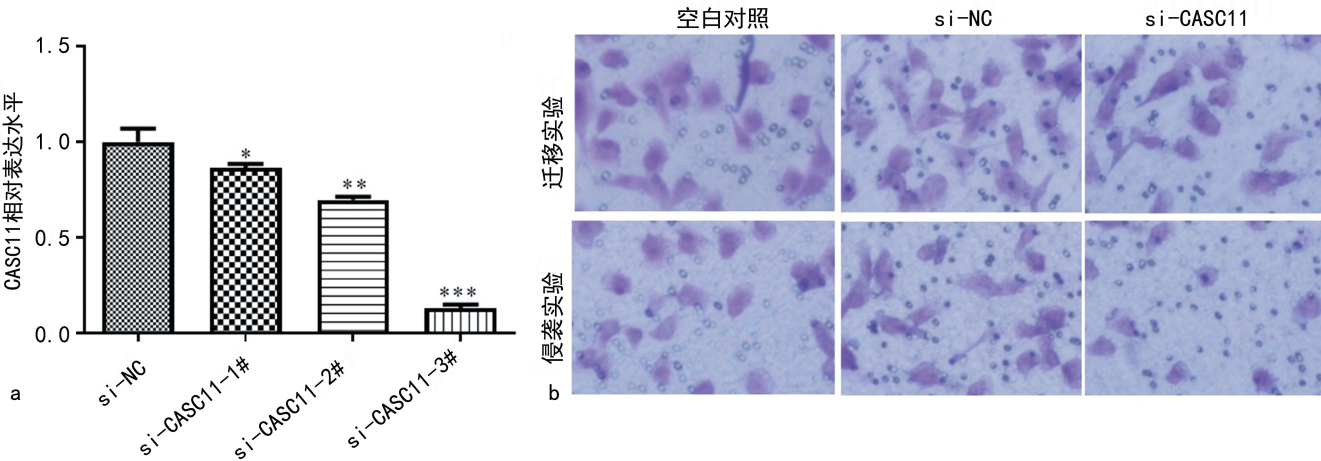
注:—表示此项无数据。

2.4 下调 miR-676-3p 能够逆转 lncRNA CASC11 沉

默介导的 TNBC 细胞迁移和侵袭的抑制 Transwell

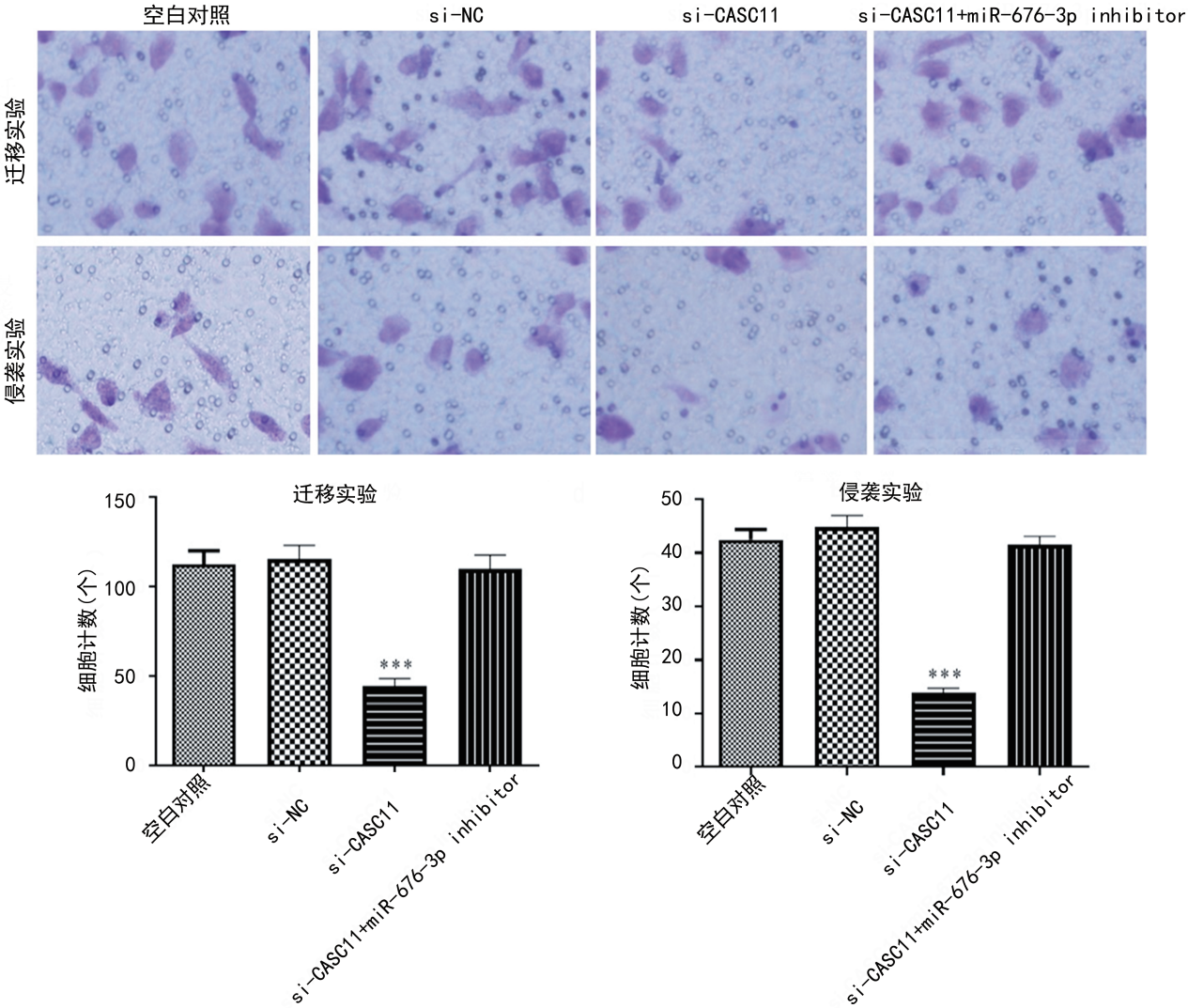
实验结果显示,与空白对照组和阴性对照组相比,转染 si-CASC11 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力。联合转染 si-CASC11 和 miR-676-3p inhibitor 后发现,与单独转染 si-CASC11 相比,联合转

染组 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力增强。结果表明,下调 miR-676-3p 能够逆转敲减 lncRNA CASC11 介导的 TNBC 细胞迁移和侵袭的抑制作用,见图 4。



注:a表示 si-CASC11 的筛选;b表示转染 si-CASC11 能够抑制 MDA-MB-231 细胞的迁移和侵袭能力;si-NC 表示对照干扰片段;与转染 si-NC 的细胞比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$,*** $P<0.001$ 。

图 3 下调 lncRNA CASC11 对 MDA-MB-231 细胞迁移和侵袭能力的影响

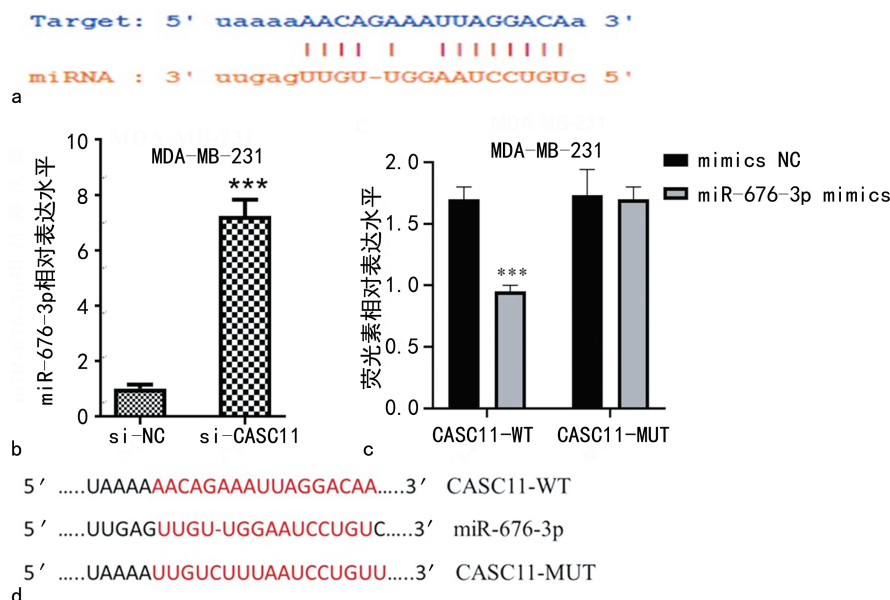


注:si-NC 表示对照干扰片段;与 si-NC 比较,*** $P<0.001$ 。

图 4 转染 si-CASC11 以及联合转染 si-CASC11 和 miR-676-3p inhibitor 对 MDA-MB-231 细胞迁移和侵袭能力的影响

2.5 lncRNA CASC11 在 TNBC 细胞中可能调控 miR-676-3p 表达 通过使用人类 miRNA 靶标预测工具 Starbase2.0 并结合 TCGA 数据库,预测 miR-676-3p 可能是 lncRNA CASC11 的靶标,见图 5a。转染 si-CASC11 干扰片段后,miR-676-3p 表达水平明显升高,见图 5b。此外,使用双荧光素酶报告实验进一步验证 lncRNA CASC11 和 miR-676-3p 之间的是

否存在物理学结合位点,通过构建与 miR-676-3p 具有结合位点的 lncRNA CASC11 野生型和突变型双荧光素酶报告质粒,见图 5d。“microRNA 与 lncRNA 结合验证”结果发现,与阴性对照组相比,共转染 miR-676-3p mimics 后能够抑制 lncRNA CASC11 野生型表达载体的荧光素酶活性,但 lncRNA CASC11 突变型表达载体的荧光素酶活性没有变化,见图 5c。



注:a 为通过生物信息学数据库对 lncRNA CASC11 和 miR-676-3p 的物理学结合位点进行预测;b 为敲减 lncRNA CASC11 后 miR-676-3p 的表达水平变化;c 为共转染 miR-676-3p mimics 和 lncRNA CASC11 野生型或突变型双荧光素酶报告质粒后荧光素酶活性变化;d 为 lncRNA CASC11 野生型和突变型双荧光素酶报告质粒的构建;与 mimics NC 比较,*** $P < 0.001$;WT 为野生型;MUT 为突变型。

图 5 lncRNA CASC11 在 MDA-MB-231 细胞中作为内源竞争 RNA(ceRNA)调控 miR-676-3p 表达

3 讨论

如今,TNBC 占有所有乳腺癌的比例为 15%~20%,与其他乳腺癌分子亚型相比,TNBC 更易复发转移,并且在明确诊断后总体生存率处于较低的水平^[10]。因此,阐明 TNBC 发生、发展的分子机制并寻找潜在的治疗靶点显得尤为重要。越来越多的研究表明,lncRNA 在肿瘤发生发展的过程中发挥着至关重要的作用,研究报道,lncRNA CASC11 在前列腺癌、膀胱癌、恶性胶质瘤、肺癌、神经母细胞瘤等肿瘤中异常升高,通过内源竞争 RNA(ceRNA)机制促进肿瘤的恶性生物学行为^[11-15],本研究发现,lncRNA CASC11 在 TNBC 组织和细胞中的表达异常升高,表明 lncRNA CASC11 可能参与了 TNBC 的发生。此外,lncRNA CASC11 的表达与 TNBC 脉管浸润、阳性淋巴结数、淋巴结转移、远处转移呈正相关,表明 lncRNA CASC11 促进 TNBC 侵袭及转移,肿瘤发生转移往往先浸润基底膜,突破基底膜后通过脉管或者淋巴结转移到周围或远处器官,一旦肿瘤细胞发生转移对预后会产生极为不利的影响,体外侵袭和转移实验结果验证了该推断,同样 lncRNA CASC11 与患者 TNM 分期以及复发密切相关,患者 TNM 分期高往往意味着肿瘤进展越快,肿瘤复发意味着以前对肿瘤

疗效很好的放射治疗、化学治疗及靶向治疗方案变得没有效果,恶性肿瘤细胞再次生长起来,患者预后往往不良。

生存分析结果发现,在 TNM I 期、TNM II 期和 TNM I~IV 期的 TNBC 患者中,lncRNA CASC11 高表达的 TNBC 患者总体生存率和无复发生存率均低于 lncRNA CASC11 低表达患者,此外,多因素回归分析结果表明,lncRNA CASC11 的高表达是 TNBC 患者预后不良的独立危险因素,提示 lncRNA CASC11 可能会成为 TNBC 患者潜在的预后标志物,综合以上证据表明,lncRNA CASC11 与 TNBC 的转移、复发以及不良预后密切相关,在 TNBC 的发生、发展过程中起到了至关重要的作用。

有研究报道 miR-676-3p 在神经母细胞瘤中表达水平异常下调,并能通过 ceRNA 机制调控肿瘤的发生发展进程^[16]。本实验通过生物信息学数据库发现 lncRNA CASC11 与 miR-676-3p 存在互补序列,本研究发现 miR-676-3p 在 TNBC 组织中表达水平同样异常下调,在 TNBC 细胞中敲减 lncRNA CASC11 能够促进 miR-676-3p 的表达,表明两者之间可能存在某种调控关系,体外侵袭和迁移实验结果表明下调 miR-676-3p 能够逆转 lncRNA CASC11 沉默介导的

TNBC 细胞迁移和侵袭的抑制作用, lncRNA CASC11 可能通过调控 miR-676-3p 进而促进 TNBC 细胞的侵袭和迁移能力, 双荧光素酶报告实验初步预测 lncRNA CASC11 和 miR-676-3p 可能存在物理学结合位点, 但是需要进一步的验证实验验证。

综上所述, 本研究表明 lncRNA CASC11 与 TNBC 患者脉管浸润、淋巴结转移、远处转移、TNM 分期、复发以及不良预后有关, 可能发挥癌基因的功能。此外, 体外细胞实验进一步表明 lncRNA CASC11 可能通过调控 miR-676-3p 进而促进 TNBC 细胞的侵袭和转移, 因此, lncRNA CASC11 可能会成为 TNBC 患者潜在的分子治疗靶点以及预后标志物。

参考文献

- [1] SIEGEL R L, MILLER K D, JEMAL A. Cancer statistics, 2020[J]. CA Cancer J Clin, 2020, 70(1): 7-30.
- [2] BORRI F, GRANAGLIA A. Pathology of triple negative breast cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2021, 72(2): 136-145.
- [3] CAO Y, CHEN C, TAO Y, et al. Immunotherapy for triple-negative breast cancer[J]. Pharmaceutics, 2021, 13(12): 2003.
- [4] LUO S P, WU Q S, CHEN H, et al. Validation of the prognostic significance of the prognostic stage group according to the eighth edition of american cancer joint committee on cancer staging system in triple-negative breast cancer; an analysis from surveillance, epidemiology, and end results 18 database[J]. J Surg Res, 2020, 247(2): 211-219.
- [5] HE L, WICK N, GERMAN S K, et al. The role of breast cancer stem cells in chemoresistance and metastasis in triple-negative breast cancer[J]. Cancers, 2021, 13(24): 6209.
- [6] DEEPAK K G K, VEMPATI R, NAGARAJU G P, et al. Tumor microenvironment: challenges and opportunities in targeting metastasis of triple negative breast cancer[J]. Pharmacol res, 2020, 153(2): 104683.
- [7] MIRZAEI S, GHOLAMI M H, HUSHMANDI K, et al. The long and short non-coding RNAs modulating EZH2 signaling in cancer[J]. J Hematol Oncol, 2022, 15(1): 18.
- [8] LIANG Y, SONG X, LI Y, et al. LncRNA BCRT1 promotes breast cancer progression by targeting miR-1303/PTBP3 axis[J]. Mol Cancer, 2020, 19(1): 85.
- [9] ZHANG R, PAN T, XIANG Y, et al. Curcumenol triggered ferroptosis in lung cancer cells via lncRNA H19/miR-19b-3p/FTH1 axis[J]. Bioactive materials, 2022, 13(1): 23-36.
- [10] MEHRAJ U, MUSHTAQ U, MIR M A, et al. Chemokines in triple-negative breast cancer heterogeneity: New challenges for clinical implications[J]. Semin Cancer Biol, 2022, 86(2): 122-125.
- [11] CAPIK O, SANLI F, KURT A, et al. CASC11 promotes aggressiveness of prostate cancer cells through miR-145/IGF1R axis[J]. Prostate Cancer Prostatic Dis, 2021, 24(3): 891-902.
- [12] LUO H, XU C, LE W, et al. lncRNA CASC11 promotes cancer cell proliferation in bladder cancer through miRNA-150[J]. J Cell Biochem, 2019, 120(8): 13487-13493.
- [13] TONG W, HAN T C, WANG W, et al. LncRNA CASC11 promotes the development of lung cancer through targeting microRNA-302/CDK1 axis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(15): 6539-6547.
- [14] JIN J, ZHANG S, HU Y, et al. SP1 induced lncRNA CASC11 accelerates the glioma tumorigenesis through targeting FOXK1 via sponging miR-498[J]. Biomed Pharmacother, 2019, 116(1): 108968.
- [15] CHENG N, WU J, YIN M, et al. LncRNA CASC11 promotes cancer cell proliferation in hepatocellular carcinoma by inhibiting miRNA-188-5p[J]. Biosci Rep, 2019, 39(4): 20190251.
- [16] YU Z, ZHANG J, HAN J. Silencing CASC11 curbs neonatal neuroblastoma progression through modulating microRNA-676-3p/nucleolar protein 4 like (NOL4L) axis[J]. Pediatr Res, 2020, 87(4): 662-668.
- (收稿日期: 2022-06-23 修回日期: 2022-11-28)
- (上接第 464 页)
- [13] SCHNEIDER S, KADLETZ L, WIEBRINGHAUS R, et al. PD-1 and PD-L1 expression in HNSCC primary cancer and related lymph node metastasis: impact on clinical outcome[J]. Histopathology, 2018, 73(4): 573-584.
- [14] YANG F, ZENG Z, LI J, et al. PD-1/PD-L1 axis, rather than high-mobility group alarmins or CD8⁺ tumor-infiltrating lymphocytes, is associated with survival in head and neck squamous cell carcinoma patients who received surgical resection[J]. Front Oncol, 2018, 8(1): 604.
- [15] TANG M L, BAI X J, LI Y, et al. MMP-1 over-expression promotes malignancy and stem-like properties of human osteosarcoma MG-63 cells in vitro[J]. Curr Med Sci, 2018, 38(5): 809-817.
- [16] 陈雨蒙, 徐晓薇, 刘欣辰, 等. 肿瘤间质细胞对口腔癌作用的研究进展[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(7): 552-556.
- [17] 姜文佳, 汤晓庆, 汤国军, 等. 白细胞介素-37 在结直肠癌患者中的表达及其与基质金属蛋白酶-8、基质金属蛋白酶-9、血管内皮生长因子及可溶性细胞间黏附分子间的关系[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(14): 1728-1731.
- [18] 陈艳丹, 岑瑞祥, 曹伟, 等. miR-134 靶向基质金属蛋白酶 1 对喉癌细胞的增殖、凋亡、侵袭和迁移的影响[J]. 重庆医学, 2021, 50(22): 3793-3796.
- [19] 谭兆邦, 刘凤军. 肛管直肠恶性黑色素瘤 26 例临床特征及预后分析[J]. 实用癌症杂志, 2020, 35(6): 1005-1009.
- [20] 杨扬, 殷新明, 袁霞. 切缘阴性宫颈锥切术后影响宫颈上皮内肿瘤残留/复发的因素[J]. 中国性科学, 2019, 28(8): 36-40.
- (收稿日期: 2022-08-11 修回日期: 2022-12-21)