

胶质瘤中 LINC01152 的表达及其对胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响

李鑫¹, 刘畅^{1,2}, 薛春红¹, 王平¹, 李枫¹, 葛盈盈^{1,3}, 农蔚霞^{1,3}, 张庆梅^{1,3}, 谢小薰^{1,3}, 罗彬^{1,3}

摘要 目的 探讨长链非编码 RNA LINC01152 在胶质瘤中的表达及其对胶质瘤细胞恶性生物学行为的影响。方法 应用 LncSpA V2.0 和 GEPIA 数据库分析 LINC01152 在胶质瘤中的表达; qRT-PCR 检测 10 例正常脑组织、40 例胶质瘤组织和 5 株胶质瘤细胞系中 LINC01152 mRNA 的表达。使用 DAVID 数据库对 LINC01152 共表达基因进行 GO 和 KEGG 富集分析, 预测其功能。通过 AnnoLnc2、TargetScan、LinkedOmics 和 miRDB 数据库预测并筛选 LINC01152 相关 miRNA 和靶基因, 构建 ceRNA 调控网络。利用小干扰 RNA 在胶质瘤细胞系下调 LINC01152 表达, 通过 CCK-8 法测试、划痕愈合实验、Transwell 迁移和侵袭实验、流式细胞术、Western blot 等检测 LINC01152 对胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡等功能的影响。结果 数据库分析显示, 与其他肿瘤类型相比, LINC01152 在胶质母细胞瘤(GBM)和低级别胶质瘤(LGG)中高表达, 且高于正常脑组织。qRT-PCR 结果显示 LINC01152 mRNA 在胶质瘤组织中的表达显著高于正常脑组织($P < 0.01$)。LINC01152 的表达与 Ki-67 相关($P < 0.05$), 但与胶质瘤患者的性别、年龄、肿瘤大小、P53 蛋白、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)、6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶(MGMT)和 WHO 分级等临床参数无关。共表达基因的功能富集分析表明, LINC01152 主要参与细胞黏附和突触信号传导等生物学过程。根据预测的靶基因构建 LINC01152-miRNA-mRNA 调控网络。LINC01152 表达下调后, A172 和 U87 细胞的增殖、迁移、侵袭能力降低($P < 0.01$), 而凋亡细胞数量增加($P < 0.001$)。结论 LINC01152 在胶质瘤中高表达, 通过促进胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和抑制凋亡等途径促进胶质瘤的恶性生物学行为。

关键词 LncRNA; 胶质瘤; 恶性生物学行为

中图分类号 R 739.41

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)04-0622-08

2023-02-17 接收

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 81860445、82260554、81960453); 广西自然科学基金(编号: 2022GXNSFAA035639)

作者单位: ¹ 广西医科大学基础医学院组织学与胚胎学教研室, 南宁 530021

² 广西医科大学第一附属医院, 南宁 530021

³ 广西高校基础医学研究重点实验室, 南宁 530021

作者简介: 李鑫, 女, 硕士研究生;

罗彬, 女, 教授, 博士生导师, 责任作者, E-mail: glbinbin@sr.gxmu.edu.cn

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.017

胶质瘤是中枢神经系统最常见的原发性肿瘤之一, 因其在脑内呈侵袭性生长和肿瘤耐药性导致单纯的手术切除和放化疗效果不佳^[1-2], 仍亟需探求新疗法。近年来, 分子靶向治疗日益成为研究热点。

lncRNA 是长度大于 200 个核苷酸的长链非编码 RNA, 其表达或功能异常与疾病的发生密切相关^[3]。LINC01152 于 2019 年首次报道, 它位于人 17q24.3 染色体, 碱基长度为 3 578 bp。研究表明, LINC01152 高表达于肝癌并促进癌细胞增殖^[4], 与乳腺癌的不良预后相关^[5]。目前罕见关于 LINC01152 与胶质母细胞瘤(glioblastoma, GBM)的相关文献^[6]。为进一步探究 LINC01152 在胶质瘤中的表达及其对肿瘤细胞恶性生物学行为的影响, 现通过生物信息学分析并进行实验验证, 旨在为寻找胶质瘤潜在治疗靶点提供新思路。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集 2016—2022 年经手术切除的 40 例胶质瘤组织, 经病理科确诊, 患者术前未接受化疗、放疗或其他治疗。10 例正常脑组织来源于脑外伤和脑出血患者。组织标本离体后置于液氮中保存。组织标本与细胞实验研究经广西医科大学第一附属医院伦理委员会批准(伦理编号: 2018087)。人源胶质瘤细胞系 A172、U251、U87、SF126、SF763 购自中国科学院上海细胞库。

1.2 主要试剂 Total RNA Isolation Kit、HiScript III RT SuperMix for qPCR、ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix、CCK-8 和 Annexin V-FITC/PI 凋亡试剂盒均购自南京诺维赞生物科技股份有限公司; DMEM 培养基和血清购自加拿大 Wisent 公司; MEM/EBSS 培养基购自美国 HyClone 公司; 引物和靶向 LINC01152 的 siRNA 由生工生物(上海)公司设计与合成; Lipofectamine 3000 购自美国赛默飞公司; Transwell 小室购自美国康宁公司; 蛋白提取试剂盒购自北京索莱宝公司; N-cadherin、Vimentin、

Caspase-3 和 Caspase-9 抗体购自美国 CST 公司; GAPDH 抗体和辣根过氧化物酶标记的二抗购自英国 Abcam 公司。

1.3 方法

1.3.1 生物信息学分析 LncSpA V2.0 数据库(<http://bio-bigdata.hrbmu.edu.cn/LncSpA/index.jsp>) 和 GEPIA(<http://gepia.cancer-pku.cn/>) 数据库分析 LINC01152 的表达。以相关系数 $r > 0.5$ 为标准, 通过 LncSpA V2.0 数据库获取 GBM 和低级别胶质瘤(low-grade glioma, LGG) 中 LINC01152 共表达基因, DAVID(<https://david.ncicrf.gov/>) 在线软件进行 GO 和 KEGG 富集分析, 预测胶质瘤中 LINC01152 的功能, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义, 结果以 R 语言绘制柱状图和可视化气泡图。通过 AnnoLnc2 数据库(<http://annolnc.gao-lab.org/>) 获得与 LINC01152 相互作用且 Conservation Score 排名前 5 的微小核糖核酸(miRNA), 运用欧易云在线软件(<https://cloud.oebiotech.com/task/>) 对 TargetScan(https://www.targetscan.org/vert_72/)、LinkedOmics(<http://linkedomics.org/login.php>)、miRDB(<http://mirdb.org/>) 3 个数据库中筛选获得的 LINC01152 相关 miRNA 的下游靶基因取交集, 作出韦恩图。最后通过 Cytoscape 软件绘制 LncRNA-miRNA-mRNA 调控网络图。

1.3.2 总 RNA 提取与 qRT-PCR 按照试剂盒说明书提取组织或细胞中总 RNA, 检测 RNA 纯度及浓度后将 RNA 逆转录为 cDNA, 以 cDNA 为模版进行 PCR 反应。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算基因的相对表达量, 并标准化为 GAPDH。引物见表 1。

表 1 引物扩增序列

基因	上游引物(5'-3')	下游引物(5'-3')	扩增长度(bp)
GAPDH	GCACCGTCAAGGCT	TGGTGAAGACGC	138
	GAGAAC	CAGTGGA	
	CATCCCAGGAAGAA	TGTCAAGACCAG	
LINC01152	GGAGTTG	GAGTTGAACAT	103

1.3.3 细胞培养与瞬时转染 胶质瘤细胞系 A172、U251 和 SF763 用 DMEM 培养, U87 和 SF126 用 MEM/EBSS 培养, 5 株细胞均用含 10% 胎牛血清的完全培养基培养, 置于 5% CO₂、37 °C 恒温培养箱。按 LiPofectamine 3000 说明书操作, 将 siRNA 转染至处于对数生长期的 A172 和 U87 细胞中, 48 h 后收集细胞进行 qRT-PCR 检测转染效率。见表 2。

1.3.4 CCK-8 法 将转染 24 h 后的 A172 和 U87

表 2 细胞瞬时转染小干扰序列

基因	正义链(5'-3')	反义链(5'-3')
LINC01152-1	GUCAAUGGCGUGUGA GAAATT	UUUCUCACCAGCCAUGA CTT
LINC01152-2	GAGAAGAAGGAAUA GAAATT	UUUCUAUUUCCUUCUUCU CTT
LINC01152-3	CAAAGAAACCUGAGAG CAUTT	AUGCUCUCAGGUUCUUU GTT
NC	UUCUCCGAACGUGUCA CGUTT	ACGUGACACGUUCGGAGA ATT

细胞, 以 2×10^3 个/孔的密度接种于 96 孔板。在 0、24、48、72、96 h 时, 每孔加入 10 μ l CCK-8 试剂, 置于 37 °C 孵育 2 h, 通过酶标仪在波长 450 nm 处测定其吸光度(absorbance, A) 值, 以 A 值来评判细胞增殖情况。

1.3.5 划痕愈合实验 将 A172 和 U87 细胞以 3×10^5 个/孔接种于 6 孔板中, 转染 24 h 后, 细胞汇合度达到 90% 时, 用 200 μ l 枪头垂直于孔板底部做直线划痕; PBS 液轻柔清洗 2 次除去漂浮细胞, 用含 2% 血清的培养基培养。分别在 0、12 和 24 h 于倒置显微镜下观察不同处理组细胞的划痕愈合状态, 并拍照计算伤口愈合率。

1.3.6 Transwell 实验 细胞转染 48 h 后消化细胞, 用无血清培养基重悬细胞。按每小室 3×10^4 个细胞加入到 Transwell 上室中, 小室下层加入 500 μ l 含 20% 血清的完全培养基。细胞培养 24 h 后用 4% 多聚甲醛固定细胞, 0.1% 结晶紫染色, 用湿润棉签擦去 Transwell 上室未迁移的细胞。将小室置于显微镜下, 随机挑选 5 个视野进行细胞计数并拍照。利用包被 matrigel 的 Transwell 小室进行细胞体外侵袭实验, 步骤同迁移实验。

1.3.7 流式细胞术 将转染 48 h 的贴壁细胞用不含 EDTA 的胰酶消化, 收集 3×10^5 个细胞, PBS 液清洗 2 次后, 加入 100 μ l 1 $\times$ 缓冲液 Binding Buffer, 轻轻吹匀至单细胞悬液, 分别加入 5 μ l Annexin V-FITC 和 5 μ l PI 染液, 轻轻吹匀; 避光、室温孵育 10 min 后加入 400 μ l 1 $\times$ Binding Buffer, 混匀。染色后样品在 1 h 内用流式细胞仪(BD AccuriC5, 美国 BD 公司) 检测, 采用 FlowJo 软件进行数据分析。

1.3.8 Western blot 实验 消化收集细胞, 在冰上裂解 15 min 后 4 °C、12 000 r/min 离心 30 min, 收集上清液并使用 BCA 法检测样品的蛋白浓度。样本经变性后在 12% SDS-PAGE 凝胶上样电泳, 然后转移至 PVDF 膜, 5% 脱脂牛奶溶液进行封闭。将带有蛋白质条带的 PVDF 膜放入一抗稀释液(1 : 1 000)

在 4 ℃ 孵育 12 h, 洗膜后再经二抗稀释液 (1 : 5 000) 冰上避光孵育 2 h, 经 ECL 试剂反应后进行显影曝光。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 25.0 软件、GraphPad Prism 5.0 软件对实验结果进行统计分析及作图。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用独立样本 t 检验; 相关性分析采用 Pearson 卡方检验和 Yates 连续性校正。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 LINC01152 mRNA 在胶质瘤组织中的表达及临床意义 LncSpA V2.0 数据库显示, LINC01152 mRNA 在肾上腺皮质癌、乳腺癌、胆管癌、黑色素瘤等 33 种肿瘤中表达, 在 GBM 和 LGG 中表达相对较高(图 1A)。随后利用 GEPIA2 数据库分析, 结果显示, GBM 和 LGG 中 LINC01152 mRNA 表达均高于正常组织 ($P < 0.05$), 见图 1B。qRT-PCR 检测显示, 与正常脑组织样本 (1.11 ± 0.97) 相比, 在胶质瘤组织样本 (4.14 ± 2.75) 中 LINC01152 mRNA 表达升高, 差异有统计学意义 ($t = 3.356, P < 0.01$), 结果如图 1C 所示。以 LINC01152 mRNA 的表达中位数分为高表达组和低表达组研究其临床意义, 统计分析显示: LINC01152 mRNA 表达与 Ki-67 相关 ($P < 0.05$), 与胶质瘤患者的性别、年龄、肿瘤大小、P53 蛋白、胶质纤维酸性蛋白 (glial fibrillary acidic protein, GFAP)、O-6-甲基鸟嘌呤-DNA 甲基转移酶 (O-6-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)、WHO 分级等临床参数无明显相关。见表 3。

2.2 LINC01152 在胶质瘤中的功能和靶基因预测分析 通过 LncSpA V2.0 数据库对 LINC01152 进行共表达分析。在 GBM 和 LGG 中筛选出与 LINC01152 表达存在相关性的基因共计 278 个 (相关系数 $r > 0.5$), GO 和 KEGG 富集分析结果显示 LINC01152 主要参与细胞黏附、迁移和突触信号传导等生物学过程 (图 2A、B)。利用 AnnoLnc2 数据库中获得与 LINC01152 相关性得分排名前 5 的 miRNA, 分别为 has-miR-481-5p、has-miR-217、has-miR-428-3p、has-miR-129-5p 和 has-miR-437。通过 TargetScan、LinkedOmics 和 miRDB 对 miRNA 进行靶基因预测并取交集, 获得 174 个靶基因, 初步构建了 LINC01152-miRNA-mRNA 调控网络图 (图 2C、D)。

2.3 LINC01152 在胶质瘤细胞系中的表达及干扰效率 通过 qRT-PCR 检测 5 株胶质瘤细胞系中 LINC01152 mRNA 的表达情况, 结果显示 A172 和

表 3 LINC01152 表达与胶质瘤患者临床参数的关系 [n(%)]

临床参数	低表达	高表达	χ^2 值	P 值
例数	20(50)	20(50)		
性别			0.102	0.749
男	12(30.0)	11(27.5)		
女	8(20.0)	9(22.5)		
年龄(岁)			0.107	0.744
<45	13(32.5)	12(30.0)		
≥45	7(17.5)	8(20.0)		
肿瘤大小(cm)			0.100	0.752
<5	9(22.5)	10(25.0)		
≥5	11(27.5)	10(25.0)		
P53 蛋白			0	1.000
- / +	14(35.0)	14(35.0)		
++ / +++	6(15.0)	6(15.0)		
Ki-67 百分比(%)			5.013	0.025
<20	15(37.5)	8(20.0)		
≥20	5(12.5)	12(30.0)		
GFAP			0.278	0.598
- / +	19(47.5)	17(42.5)		
++ / +++	1(2.5)	3(7.5)		
MGMT			0	1.000
-	8(20.0)	8(20.0)		
+	12(30.0)	12(30.0)		
WHO 分级			1.616	0.204
I ~ II	11(27.5)	7(17.5)		
III ~ IV	9(22.5)	13(32.5)		

U87 中 LINC01152 mRNA 表达相对较高, 因此选用这两株细胞作为研究对象 (图 3A)。转染 48 h 后, 通过 qRT-PCR 验证转染效率 (图 3B), 与 siRNA-NC 组相比, siRNA-LINC01152-1 组 LINC01152 表达下调 (A172: $t = 5.21, P < 0.01$; U87: $t = 7.86, P < 0.01$), 故选用 siRNA-LINC01152-1 进行后续实验。

2.4 LINC01152 对胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响 本研究采用 CCK-8 实验分析下调 LINC01152 后对胶质瘤细胞 A172 和 U87 增殖能力的影响, 如图 4A 所示, 在 A172 和 U87 细胞中, 与 siRNA-NC 组相比, 四个时间截点的 siRNA-LINC01152-1 组细胞增殖能力均减弱, 差异有统计学意义 (A172: $P < 0.01$; U87: $P < 0.001$)。通过细胞划痕愈合实验检测胶质瘤细胞 A172 和 U87 的水平迁移能力, 下调 LINC01152 后, 分别在 12、24 h 观察到, 与 siRNA-NC 组相比, siRNA-LINC01152-1 组中愈合面积减少且差异有统计学意义 (12 h: $t_{A172} = 8.693, P < 0.001$; 24 h: $t_{A172} = 16.57, P < 0.001$; 12 h: $t_{U87} = 6.332, P < 0.01$; 24 h: $t_{U87} = 9.899, P < 0.001$), 见图 4B。Transwell 迁移实验检测胶质瘤细胞 A172 和 U87 的垂直迁移能力, 如图 4C 所示, 与 siRNA-NC 组相比, siRNA-LINC01152-1 组的细胞迁

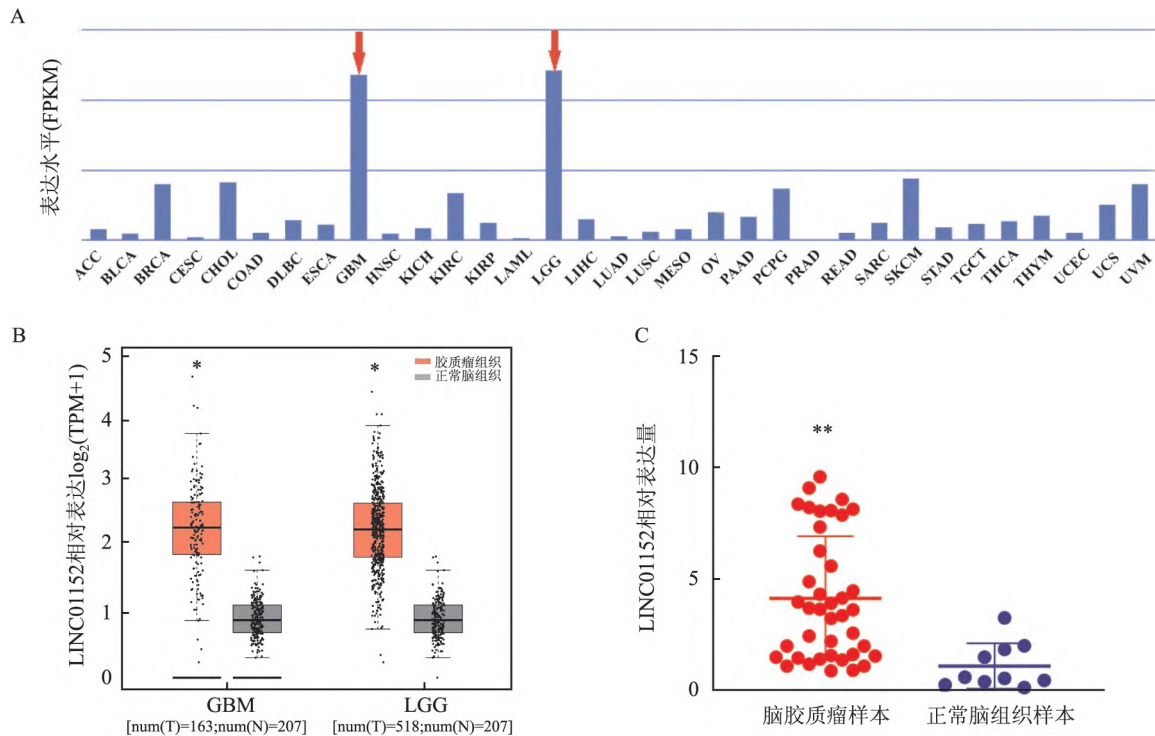


图1 LINC01152 mRNA在数据库和组织中的表达情况

A: LncSpA V2.0 数据库显示 LINC01152 在 33 种肿瘤中的表达; B: GEPIA 数据库显示 LINC01152 在 GBM、LGG 和正常脑组织中的表达; C: qRT-PCR 检测 LINC01152 在胶质瘤和正常脑组织中的表达; 与正常脑组织比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

移数目均下降,差异有统计学意义($t_{A172} = 5.127$, $P < 0.01$; $t_{U87} = 5.079$, $P < 0.01$)。在 Transwell 小室加入基质胶, siRNA-LINC01152-4 组中 A172 和 U87 细胞经小室穿透基质胶到达膜下方的肿瘤细胞明显减少,表明胶质瘤细胞的侵袭能力下降,较之 siRNA-NC 组具有显著差异($t_{A172} = 5.189$, $P < 0.01$; $t_{U87} = 7.407$, $P < 0.01$),见图 4D。通过 Western blot 实验检测间质标记物 N-cadherin 和 Vimentin 的蛋白表达,结果显示, siRNA-LINC01152-4 组中这两个蛋白的表达水平都低于 siRNA-NC 组($P < 0.05$)。见图 4E。

2.5 LINC01152 对胶质瘤细胞凋亡的影响 采用 Annexin V-FITC 和 PI 染料对胶质瘤细胞进行染色,通过流式细胞仪上机检测下调 LINC01152 后对胶质瘤细胞凋亡的影响,结果如图 5A 所示,与 siRNA-NC 组相比, siRNA-LINC01152-4 组 A172 和 U87 细胞的凋亡分数增加且差异具有统计学意义($t_{A172} = 9.29$, $P < 0.001$; $t_{U87} = 16.49$, $P < 0.001$)。为进一步证实 LINC01152 对胶质瘤细胞凋亡的影响,通过 Western blot 实验检测凋亡相关蛋白,结果显示, siRNA-LINC01152-4 组 Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白的表达水平都高于 siRNA-NC 组($P < 0.05$) (图 5B)。

3 讨论

近年来研究^[7-8]表明, lncRNAs 是肿瘤生物治疗的潜在靶标且参与细胞增殖、分化、凋亡等多种过程,但大部分 lncRNA 的功能仍然未知,有待研究。

LINC01152 是近年来新发现的 lncRNAs,本研究首先通过 LncSpA V2.0 数据库分析显示 LINC01152 在 GBM 和 LGG 中表达高于其他类型肿瘤, GEPIA 数据库分析显示,相较于正常脑组织, LINC01152 在胶质瘤组织中上调;随后在胶质瘤组织样本中进行 qRT-PCR,验证了这一结果。进一步探究 LINC01152 与临床病理参数的关系,结果显示 LINC01152 与细胞增殖相关蛋白 Ki-67 正相关。Ki-67 代表肿瘤细胞的增殖指数,能够反映肿瘤细胞增殖的活跃程度。相关文献报道,胶质瘤中 Ki-67 的阳性标记指数越高,其恶性程度越高、分级越高、预后越差^[9],因此, LINC01152 可能促进了胶质瘤细胞的增殖,可作为胶质瘤预后的辅助参考指标。其中,统计学分析尚未显示 LINC01152 表达与胶质瘤患者其他临床参数有显著相关性,其原因可能与研究样本数量偏少有关。

该研究利用 GO 和 KEGG 富集分析以探讨

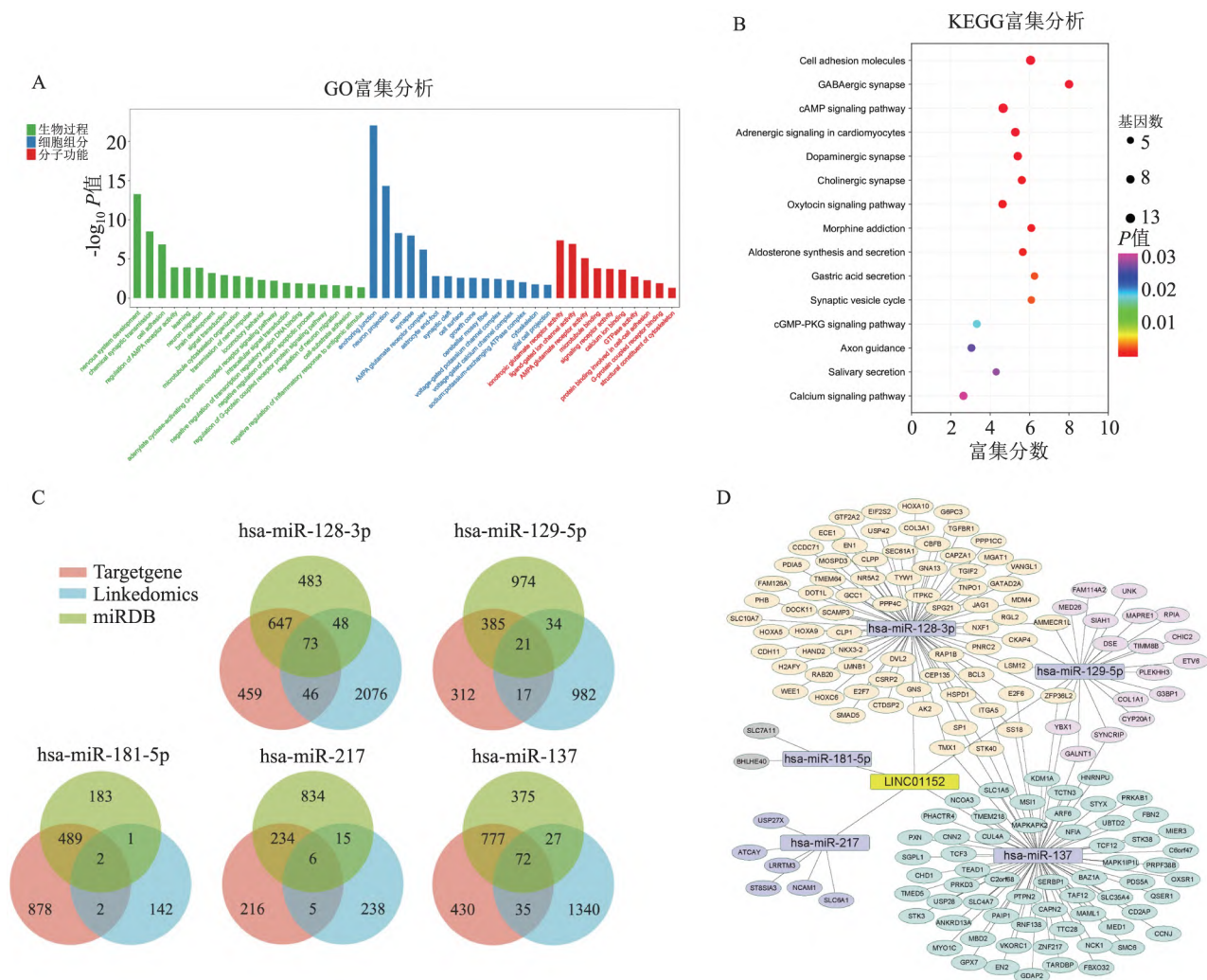


图2 LINC01152在胶质瘤中的功能和靶基因预测分析

A: 共表达基因 GO 富集分析; B: 共表达基因 KEGG 富集分析; C: 5个miRNA的靶基因预测; D: LncRNA-miRNA-mRNA 调控网络图

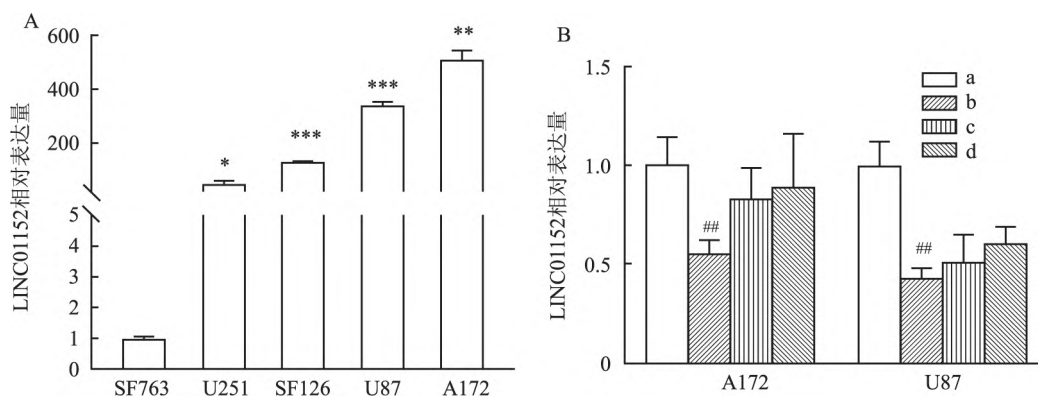


图3 LINC01152在胶质瘤细胞系中的表达及干扰效率

A: qRT-PCR 检测 5 株胶质瘤细胞系中 LINC01152 的表达; B: qRT-PCR 检测 3 个干扰序列在 A172、U87 中的干扰效率; a: siRNA-NC 组; b: siRNA-LINC01152-1 组; c: siRNA-LINC01152-2 组; d: siRNA-LINC01152-3 组; 与 SF763 细胞系比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$; 与 siRNA-NC 组比较: ## $P < 0.01$

LINC01152 在胶质瘤中的功能,结果显示其主要参与细胞黏附和突触信号传导等生物学过程。LncRNA 通过与 DNA、RNA 或蛋白结合而行使其功能,其中

LncRNA作为 miRNA 的“分子海绵”,对靶基因进行转录调控是常见的作用机制之一。本研究通过 AnnoLnc 2 数据库获得与 LINC01152 相互作用的

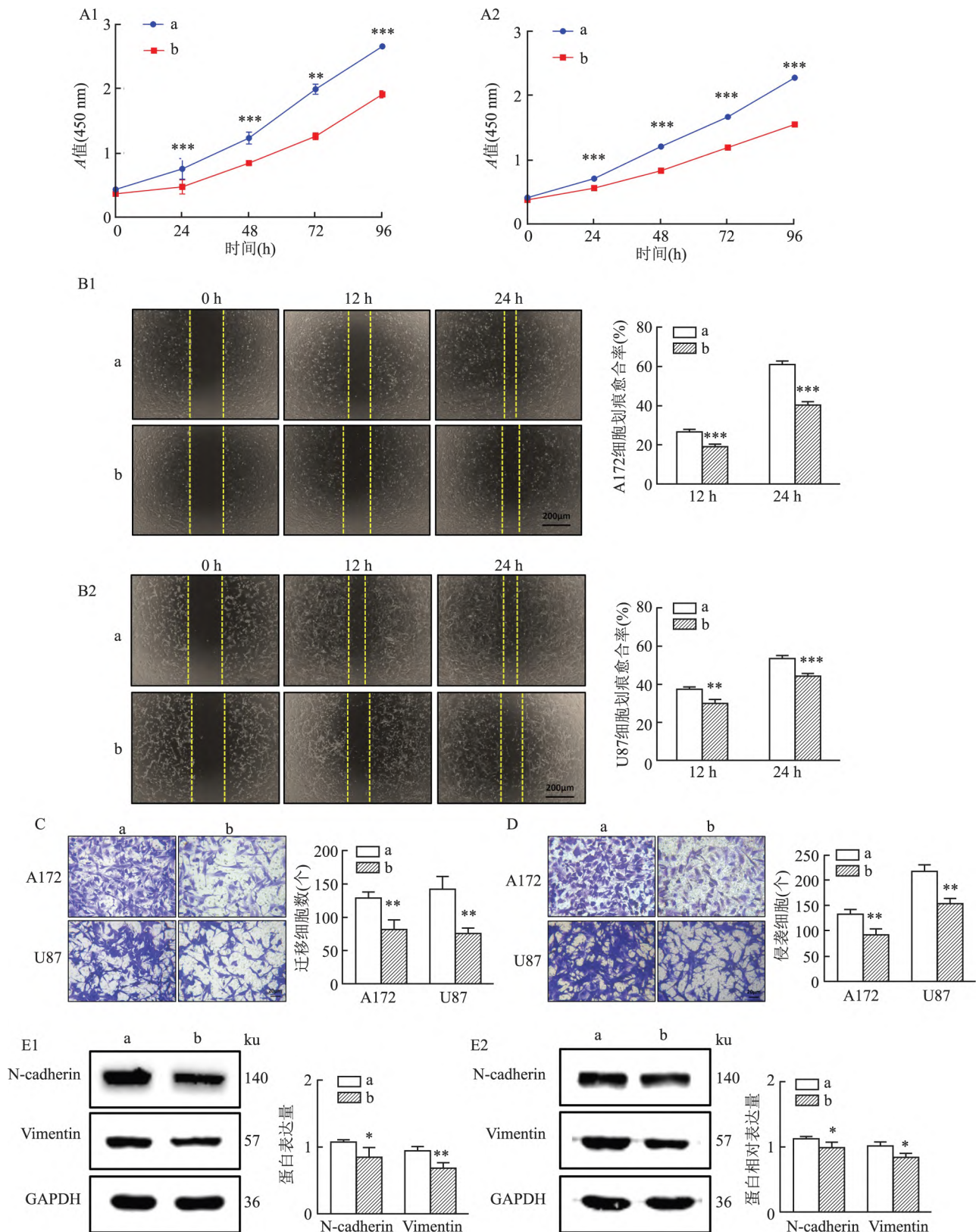


图4 LINC01152对胶质瘤细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

A: CCK-8 法检测 A172、U87 细胞增殖能力; B: 划痕愈合实验检测 A172、U87 细胞水平迁移能力及直方图统计 $\times 40$; C: Transwell 迁移实验检测 A172、U87 细胞垂直迁移能力及直方图统计 $\times 200$; D: Transwell 侵袭实验检测 A172、U87 细胞侵袭能力及直方图统计 $\times 200$; E: Western blot 检测 siRNA-NC 组和 siRNA-LINC01152-I 组中 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白的表达; 1: A172 细胞; 2: U87 细胞; a: siRNA-NC 组; b: siRNA-LINC01152-I 组; 与 siRNA-NC 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

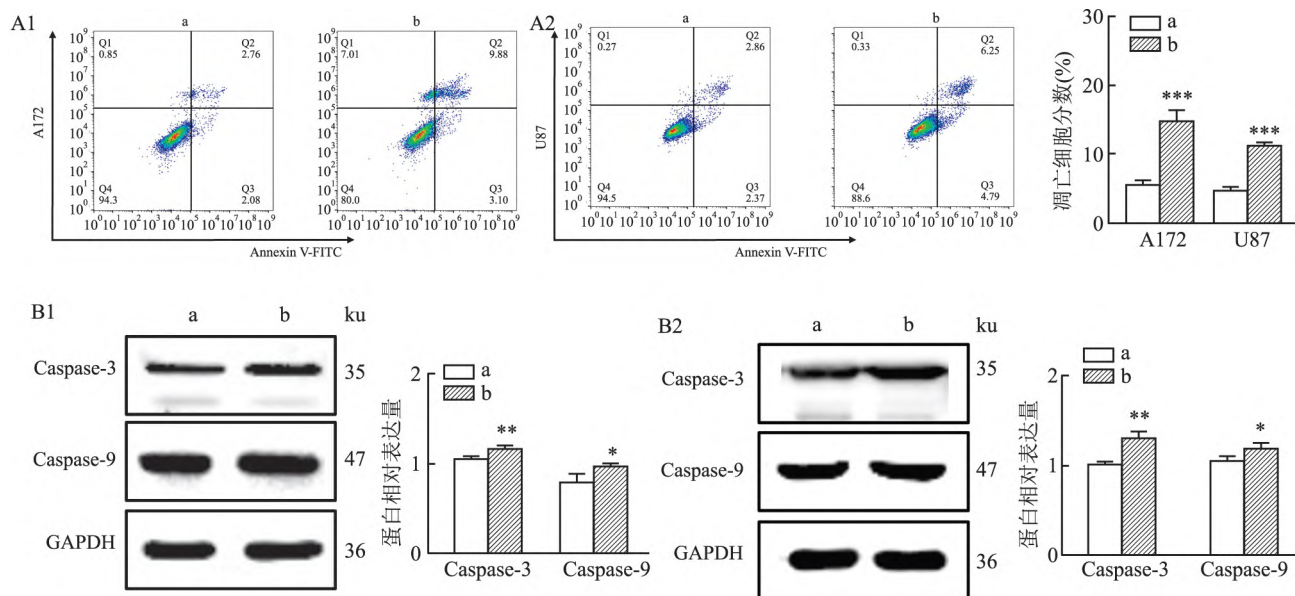


图5 LINC01152对胶质瘤细胞凋亡的影响

A: 流式细胞术检测 A172、U87 细胞凋亡及其直方图; B: Western blot 检测胶质瘤细胞中 Caspase-3 和 Caspase-9 蛋白的表达; 1: A172 细胞; 2: U87 细胞; a: siRNA-NC 组; b: siRNA-LINC01152-4 组; 与 siRNA-NC 组比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$

miRNA,选取得分靠前的 5 个 miRNA 进行下游靶基因预测,初步构建了 LncRNA-miRNA-mRNA 调控网络,为后续 LINC01152 分子机制的实验研究提供了参考依据。Chen et al.^[14] 报道 miR-128-3p 可以抑制 ITGA5 对胶质瘤细胞的促瘤作用,LINC01152 在胶质瘤中的作用仍需要进一步探究。

在体外实验中,通过 siRNA 下调 LINC01152 的表达,研究表明其能够抑制胶质瘤细胞的增殖、迁移和侵袭能力。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞转化为间质细胞并获得侵袭迁移能力的过程,上皮细胞标志物 E-cadherin 和间质性标记分子 N-cadherin、Vimentin 是 EMT 过程中的关键蛋白。由于胶质瘤细胞缺少基底膜等上皮细胞结构,胶质瘤中 E-cadherin 蛋白表达量低^[15],当下调 LINC01152 表达后,观察到 N-cadherin 和 Vimentin 蛋白表达水平下降,这提示 LINC01152 可能通过 EMT 途径参与胶质瘤细胞的迁移和侵袭。此外, LINC01152 的表达下调后能诱导胶质瘤细胞凋亡数目和凋亡蛋白表达的增加,表明 LINC01152 可能通过线粒体介导的 Caspase 酶激活途径促进细胞凋亡。目前有研究^[6]表明, LINC01152 通过 Notch 信号通路上调 MAML2 表达,从而促进多形性胶质母细胞瘤的肿瘤发生,本研究结果也证实 LINC01152 促进胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和抗凋亡等恶性生物学行为。

综上所述,该研究初步证实 LINC01152 在胶质瘤

中高表达,能影响胶质瘤细胞的恶性生物学行为。该研究仍需扩大样本量,结合胶质瘤患者预后进行进一步分析,并通过实验深入研究 LINC01152 促进胶质瘤发生发展的分子机制,为未来开发胶质瘤靶向治疗和辅助诊断奠定基础。

参考文献

- Zhang Q, Guan G, Cheng P, et al. Characterization of an endoplasmic reticulum stress-related signature to evaluate immune features and predict prognosis in glioma. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(8): 3870-84.
- 孙立波, 卡尔保, 程梦, 等. 长链非编码 RNA FAS-AS1 对胶质瘤细胞的增殖、迁移、侵袭的影响. *安徽医科大学学报*, 2021, 56(11): 1745-9.
- Lin J Z, Lin N, Zhao W J. Identification and validation of a six-lncRNA prognostic signature with its ceRNA networks and candidate drugs in lower-grade gliomas. *Genomics*, 2020, 112(5): 2990-3002.
- Chen T, Pei J, Wang J, et al. HBx-related long non-coding RNA 01152 promotes cell proliferation and survival by IL-23 in hepatocellular carcinoma. *Biomed Pharmacother*, 2019, 115: 108877.
- Huang Z, Li J, Chen J, et al. Construction of prognostic risk model of 5-methylcytosine-related long non-coding RNAs and evaluation of the characteristics of tumor-infiltrating immune cells in breast cancer. *Front Genet*, 2021, 12: 748279.
- Wu J, Wang N, Yang Y, et al. LINC01152 upregulates MAML2 expression to modulate the progression of glioblastoma multiforme via notch signaling pathway. *Cell Death Dis*, 2021, 12(1): 115.

- [7] Wu X, Yang L, Wang J, et al. The involvement of long non-coding RNAs in glioma: from early detection to immunotherapy [J]. *Front Immunol*, 2022,13: 897754.
- [8] Zhou J, Xu N, Liu B, et al. lncRNA XLOC013218 promotes cell proliferation and TMZ resistance by targeting the PI3K/AKT pathway in glioma [J]. *Cancer Sci*, 2022,113(8): 2681–92.
- [9] 孙怡,李惠,吴颐,等. 脑胶质瘤分子标志物 IDH1、IDH2、p53 基因突变和 Ki-67 蛋白表达与病理分级临床特征的关系 [J]. *实用医学杂志*, 2018,34(9): 1455–9.
- [10] Chen J, Wang H, Wang J, et al. lncRNA NEAT1 enhances glioma progression via regulating the miR-128-3p/ITGA5 axis [J]. *Mol Neurobiol*, 2021,58(10): 5163–77.
- [11] Hu Q, Yin J, Zeng A, et al. H19 functions as a competing endogenous RNA to regulate EMT by sponging miR-130a-3p in glioma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018,50(1): 233–45.

Expression of LINC01152 in glioma and its effect on malignant biological behavior of glioma cells

Li Xin¹, Liu Chang^{1,2}, Xue Chunhong¹, Wang Ping¹, Li Feng¹, Ge Yingying^{1,3},
Nong Weixia^{1,3}, Zhang Qingmei^{1,3}, Xie Xiaoxun^{1,3}, Luo Bin^{1,3}

(¹Dept of Histology and Embryology, School of Basic Medicine Sciences, Guangxi Medical University, Nanning 530021; ²The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021; ³Key Laboratory of Basic Medical Research of Guangxi Colleges and Universities, Nanning 530021)

Abstract Objective To study the expression of long non-coding RNA LINC01152 in glioma and its influence on the malignant biological behavior of glioma cells. **Methods** LINC01152 expression in glioma was analyzed by LncSpA V2.0 and GEPIA database. qRT-PCR was applied to detect the expression of LINC01152 mRNA in 10 samples of human normal brain tissues, 40 samples of glioma tissues and 5 glioma cell lines. GO and KEGG enrichment analysis of LINC01152 co-expressed genes were performed using the DAVID database to predict the related functions. The AnoLnc2, TargetScan, LinkedOmics and miRDB databases were used to predict the LINC01152 related miRNAs and target genes to construct a ceRNA regulatory network. LINC01152 expression was knocked down in glioma cell lines by small interfering RNA (siRNA) transfection. The CCK-8 test, scratch healing experiments, Transwell, flow cytometry and Western blot experiments were used to measure the influence of LINC01152 on the proliferation, migration, invasion and apoptosis of glioma cells. **Results** Database analysis showed that compared with other tumor types, LINC01152 was highly expressed in glioblastoma (GBM) and low grade glioma (LGG), and was higher than normal brain tissue. qRT-PCR showed that the expression of LINC01152 mRNA in glioma tissues was significantly higher than that in normal brain tissues ($P < 0.01$). The expression of LINC01152 was correlated with Ki-67 ($P < 0.05$), but not with clinical parameters such as gender, age, tumor size, P53 protein, glial fibrillary acidic protein (GFAP), O-6-methylguanine-DNA methyltransferase (MGMT) and WHO grade of glioma patients. Functional enrichment analysis of co-expressed genes indicated that the LINC01152 was mainly involved in biological processes such as cell adhesion and synaptic signaling. LINC01152-miRNA-mRNA regulatory network was constructed according to predicted target genes. After down-regulation of LINC01152 expression, the proliferation, migration and invasion abilities of A172 and U87 cells decreased ($P < 0.01$), while the apoptosis of glioma cells significantly increased ($P < 0.001$). **Conclusion** LINC01152 is highly expressed in glioma, which can promote the malignant biological behavior of glioma cells by enhancing proliferation, migration as well as invasion and inhibition of apoptosis.

Key words lncRNA; glioma; malignant biological behavior