

LncRNA MEG3 对人脑胶质瘤细胞增殖、侵袭及凋亡的影响

李 佳¹, 郝玉巧², 王少华¹, 杨金亮¹, 杨铁牛¹, 张永亮¹, 胡启飞¹

摘要 **目的** 应用靶向长链非编码 RNA 母系表达基因 3 (LncRNA MEG3) 的过表达重组质粒来转染体外培养的人脑胶质瘤细胞, 从而观察其对人脑胶质瘤细胞增殖、侵袭和凋亡的影响。**方法** 应用 qRT-PCR 法检测正常脑组织细胞 (N) 和胶质瘤细胞系 U251 中 LncRNA MEG3 mRNA 的表达情况。构建 pCI-MEG3 真核过表达载体, 转染体外培养的人脑胶质瘤细胞系 U251, 作为 pCI-MEG3 过表达质粒组 (pCI-MEG3 组); 空 pCI 质粒转染体外培养的人脑胶质瘤细胞系 U251, 作为空载体 pCI 组 (pCI 组); 无质粒转染的人脑胶质瘤细胞系 U251, 作为空白对照组 (Control 组)。采用 qRT-PCR 分析 LncRNA MEG3 基因表达变化, Western blot 法分析 LncRNA MEG3 相关蛋白 MDM2 和 p53 表达变化, MTT 法和细胞克隆技术分析胶质瘤细胞增殖能力, Transwell 技术分析胶质瘤细胞侵袭能力, 流式细胞技术分析胶质瘤细胞凋亡率。**结果** 与正常脑组织细胞比较, 胶质瘤细胞中 LncRNA MEG3 mRNA 表达水平降低。体外实验显示, 与 Control 组和 pCI 组比较, pCI-MEG3 组 LncRNA MEG3 mRNA 及 p53 蛋白表达水平均有上调 ($P < 0.05$), MDM2 蛋白表达下调 ($P < 0.05$), 细胞增殖能力受到抑制 ($P < 0.01$), 细胞侵袭能力也受到抑制 ($P < 0.01$), 细胞凋亡率升高 ($P < 0.01$)。**结论** 人脑胶质瘤细胞中 LncRNA MEG3 的表达水平低于正常人脑组织细胞, 靶向 LncRNA MEG3 基因的过表达重组质粒能够增加人脑胶质瘤细胞内 LncRNA MEG3 的表达, 从而抑制胶质瘤细胞的增殖和侵袭能力, 同时增加其凋亡率。

关键词 胶质瘤; LncRNA MEG3; 增殖; 侵袭; 凋亡

中图分类号 R 739.41

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)04-0556-06
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.04.010

目前全世界范围内, 高发病率、复发率及致死率的恶性脑胶质瘤是成人中最常见的中枢神经系统肿瘤。其治疗手段是显微外科手术联合放化疗, 但总体预后仍较差, 绝大多数患者在术后 2 年内死亡, 5 年生存率不足 5%^[1-3]。因此, 肿瘤发生发展相关

分子作用机制的研究和阐明, 成为当前治疗胶质瘤的主要研究方向。而能抑制肿瘤细胞增殖、侵袭能力及加速其凋亡的抑癌基因无疑是这方面研究的重点。长链非编码 RNA (long non-coding, LncRNA) 是一类不具备编码蛋白功能的 RNA 分子, 近年来文献^[4-6]报道许多 LncRNA 在恶性肿瘤发生发展中参与调控其增殖、侵袭、凋亡等生物行为。母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, MEG3) 作为 LncRNA 的成员之一, 已有文献^[7-9]报道其具有抑癌功能, 在多种恶性肿瘤中出现缺失或表达水平下降, 而肿瘤细胞中的 LncRNA MEG3 高表达, 可以抑制肿瘤细胞的增殖能力。但目前 LncRNA MEG3 对脑胶质瘤生物学功能影响报道较少。该研究旨在探讨其对脑胶质瘤细胞增殖、侵袭及凋亡的影响。

1 材料与方法

1.1 主要材料 安徽医科大学第二附属医院神经外科收集了人正常脑组织细胞; 人脑胶质瘤细胞株 U251 购自上海科学院细胞库; 培养基 DMEM、胎牛血清、胰酶消化液均购自美国 Hyclone 公司; RNA 提取试剂盒、逆转录试剂盒、脂质体 Lipofectamine 2000 及 qRT-PCR 试剂盒均购自美国 Invitrogen 公司; RIPA 裂解液、BCA 蛋白定量试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司; 抗体购自北京中杉金桥公司, 包括一抗: 兔抗人 MDM2、p53, 羊抗人 GADPH 多克隆蛋白抗体; 二抗: 辣根过氧化物酶标记的兔抗羊 IgG、羊抗兔 IgG; MTT 及细胞凋亡试剂盒均购自上海碧云天生物技术有限公司; pCI 真核表达载体购自上海艾博思生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 RNA 提取与 RT-PCR 检测细胞中 LncRNA MEG3 表达变化 将组织和细胞匀浆后, 根据试剂盒操作步骤, 采用 TRIzol 法提取细胞总 RNA, 并使用反转录试剂盒合成 cDNA。以 cDNA 模板进行 PCR 反应扩增, LncRNA MEG3 引物序列: F: 5'-ATCATCCGTCCACCTCCTTGTCTTTC-3', R: 5'-GTATGAGCATAGCAAAGGTCAGGGC-3'; 内参 GADPH 引物序列: F: 5'-AGCAAGAGCACAAGAGGAAG-3', R:

2020-09-22 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金 (编号: 1908085MH284)

作者单位: ¹安徽医科大学附属阜阳医院神经外科, 阜阳 236000

²安徽汉库医学诊断技术有限公司质量部, 阜阳 236000

作者简介: 李 佳, 男, 硕士, 副主任医师, 责任作者, E-mail: 94138282@qq.com

5'-GGTTGAGCACAGGGTACTTT-3'。应用荧光定量 PCR 仪 7900 型软件进行定量检测,利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式所得到的数值来衡量 LncRNA MEG3 mRNA 的表达强度。

1.2.2 质粒载体构建与细胞转染 将 PCR 扩增的 LncRNA MEG3 cDNA 序列亚克隆到 pCI 真核表达载体中,进而构建成 pCI-MEG3 过表达质粒。U251 细胞培养:在 DMEM 培养液(含 10^5 U/L 青霉素、10% 灭活的胎牛血清、100 mg/L 链霉素)中常规培养,且培养箱为 37 °C 恒温,5% CO_2 的饱和湿度。用 0.25% 胰酶每 2 d 消化传代一次。U251 细胞处于对数生长期时消化处理并离心(5 min、1 000 r/min),加入适量 DMEM 培养基(仅含胎牛血清、无抗生素)并计数,在培养瓶中按 5×10^5 /ml 密度接种。接种 24 h 左右待细胞长至培养板 80% 以上时进行转染。将 U251 细胞随机分 3 组,前两组用脂质体 Lipofectamine 2 000 分别转染 pCI-MEG3 组和 pCI 组,Control 组加入 PBS。经过转染 48 h 后,利用 qRT-PCR 检测 3 组细胞中 LncRNA MEG3 mRNA 的表达量,方法参照上述 1.2.1。

1.2.3 Western blot 检测 U251 细胞中 LncRNA MEG3 相关蛋白表达变化 用胰酶消化转染 48 h 后的 3 组 U251 细胞,预冷的 PBS 轻轻晃动清洗 3 次,PBS 弃净,RIPA 裂解细胞,提取 3 组细胞总蛋白,并进行蛋白定量(BCA 法)。然后根据 SDS-PAGE 上样电泳将 3 组蛋白转膜(PVDF 膜)处理,并用封闭液(含 5% 脱脂牛奶的 TBST 溶液)室温封闭 2~3 h,一抗孵育 12 h,二抗孵育 2 h。按照 Super Signal West Pico Chemiluminescent Substrate Kit 曝光显影,使用 Syngene Bio Imaging 软件进行图像分析。

1.2.4 MTT 检测细胞生长情况 将转染后的 3 组 U251 细胞接种于 96 孔板,接种密度为 1×10^4 /孔,进行常规培养。分别培养 0、12、24、48 h 后,弃去培养基,加入 MTT(5 mg/ml) 10 μ l/孔,37 °C 继续孵育,4 h 后终止培养,吸弃孔内培养液,每孔再加入分析纯的 DMSO 150 μ l,放置酶标仪振荡 5 min,用分光光度计测定 492 nm 下的吸光度值 A。纵坐标为细胞存活率,横坐标为时间,绘制细胞生长曲线。

1.2.5 细胞克隆技术检测细胞增殖情况 将转染后的 3 组 U251 细胞接种于 6 孔板,接种密度约为 200 个/孔,加入培养液 1.5 ml/孔,放入培养箱继续培养。每 2 d 换一次液,观察细胞生长状态。7 d 后吸弃培养液,每个孔内放入多聚甲醛(4%) 1 ml 固定 30 min 后,吸弃固定液,每个孔内加入洁净的吉

姆萨染料 0.5 ml 染色细胞大约 25 min。小心弃去孔中的染料,将 6 孔板竖直缓慢在自来水中反复漂洗数次,静置晾干,置于显微镜下拍照并进行图像分析。

1.2.6 Transwell 技术检测细胞侵袭情况 配置基质胶与无血清培养基比例为 1:3 的配置液,取 50 μ l 配置溶液加至 Transwell 小室聚碳酸酯膜的上室面,置于 37 °C、5% CO_2 培养箱内,慢慢风干直至呈凝胶状态。将转染后的细胞制备单细胞悬浮液,显微镜下观察并计数,取约 1×10^5 个细胞,200 μ l 无血清培养基加入 Transwell 小室上室,下室中加入 500 μ l 含胎牛血清培养液,置于 37 °C、5% CO_2 培养箱内培养,48 h 后,取出小室,并用 PBS 轻轻漂洗 2 次,再进行 30 min 的甲醇固定,适当风干后,无菌棉签轻轻擦去上室底部膜表面上的细胞,保留下室的细胞,结晶染液染色 15 min,在显微镜下计数。

1.2.7 流式细胞技术检测细胞凋亡情况 3 组 U251 细胞转染 48 h 后,收集各组细胞,用 PBS 洗涤 2 次后加入 binding buffer(500 μ l),加入 5 μ l Annexine-FITC 和 5 μ l Propidiumiodide,轻轻吹打混匀,避光室温孵育 30 min,上机(BD 流式细胞仪)检测细胞凋亡。

1.3 统计学处理 所有计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,对所得数据用 SPSS 11.0 统计软件处理及统计学分析,两组间差异比较采用单因素方差分析或 *t* 检验法。

2 结果

2.1 qRT-PCR 检测正常脑组织细胞(N)和 U251 细胞 LncRNA MEG3 基因的表达 qRT-PCR 结果显示,在 mRNA 水平上胶质瘤 U251 细胞系中 LncRNA MEG3 的表达量低于正常脑组织细胞(N),提示 LncRNA MEG3 在胶质瘤 U251 细胞系中低表达。

2.2 qRT-PCR 检测 U251 细胞 LncRNA MEG3 基因表达变化 细胞转染 48 h 后,qRT-PCR 检测 LncRNA MEG3 转染效果显示,pCI-MEG3 组 LncRNA MEG3 的表达水平高于 Control 组($t = 9.96, P < 0.01$)和 pCI 组($t = 9.22, P < 0.01$),差异有统计学意义。见图 1。

2.3 Western blot 检测 U251 细胞 LncRNA MEG3 相关蛋白表达变化 Western blot 结果显示,3 组内参 GAPDH 蛋白的表达相近,pCI-MEG3 组 MDM2 蛋白表达低于 Control 组($t = 2.18, P < 0.05$)和 pCI 组($t = 2.29, P < 0.05$),p53 蛋白表达高

于 Control 组 ($t = 2.65, P < 0.05$) 和 pCI 组 ($t = 2.50, P < 0.05$), 差异有统计学意义。见图 2。

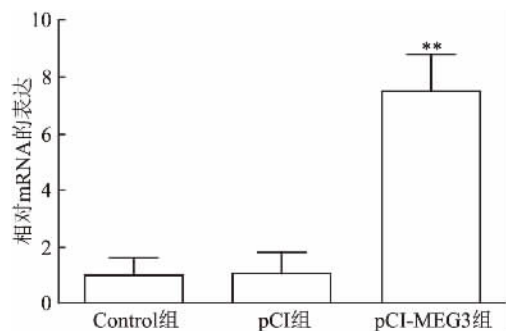


图1 转染后各组胶质瘤 U251 细胞 LncRNA MEG3 的表达情况与 Control 组和 pCI 组比较: ** $P < 0.01$

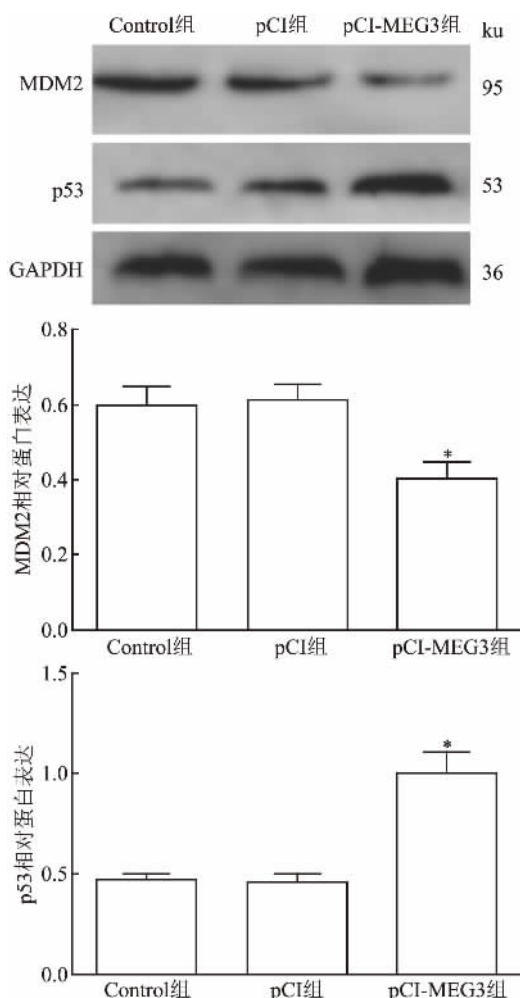


图2 转染后各组胶质瘤 U251 细胞 MDM2 和 p53 蛋白的表达情况与 Control 组和 pCI 组比较: * $P < 0.05$

2.4 MTT 法检测 LncRNA MEG3 基因对 U251 细胞增殖的影响 MTT 实验结果显示,与 Control 组和 pCI 组比较,pCI-MEG3 组在转染 12 h 后细胞生长无显著差异。转染 24 h 后,与 Control 组和 pCI 组比

较,pCI-MEG3 组细胞生长受抑制,差异有统计学意义 ($F = 10.72, P < 0.05$); 转染 48 h 后,与 Control 组和 pCI 组比较,pCI-MEG3 组细胞生长明显受抑制,差异有统计学意义 ($F = 17.94, P < 0.01$)。见图 3。

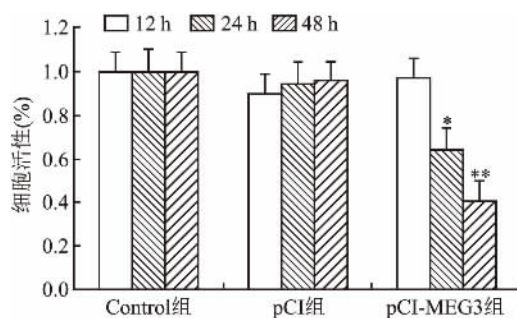


图3 转染后各组胶质瘤 U251 细胞在不同时间点增殖生长的情况与 Control 组和 pCI 组在同一时间点比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.5 细胞克隆实验检测 LncRNA MEG3 基因对 U251 细胞增殖的影响 将细胞克隆后的 6 孔板在显微镜下观察。1 周后在显微镜下观察 3 组细胞克隆增殖情况,与 Control 组和 pCI 组比较,pCI-MEG3 组细胞增殖低于 Control 组 ($t = 12.08, P < 0.01$) 和 pCI 组 ($t = 10.95, P < 0.01$), 差异有统计学意义。见图 4。

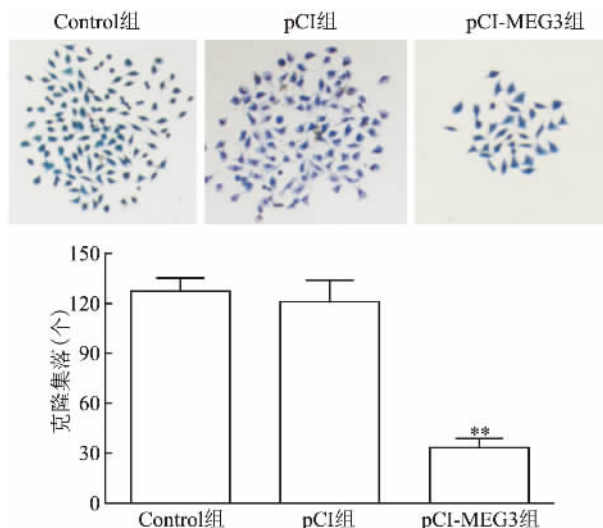


图4 转染后各组胶质瘤 U251 细胞克隆增殖的影响情况 ×100 与 Control 组和 pCI 组比较: ** $P < 0.01$

2.6 Transwell 实验检测 LncRNA MEG3 基因对 U251 细胞侵袭的影响 Transwell 实验结果显示,细胞培养 48 h 后,在显微镜下计数 3 组细胞中下室细

胞的数量。pCI-MEG3 组细胞数低于 Control 组($t = 9.44, P < 0.01$)和 pCI 组($t = 9.63, P < 0.01$), 差异有统计学意义。见图 5。

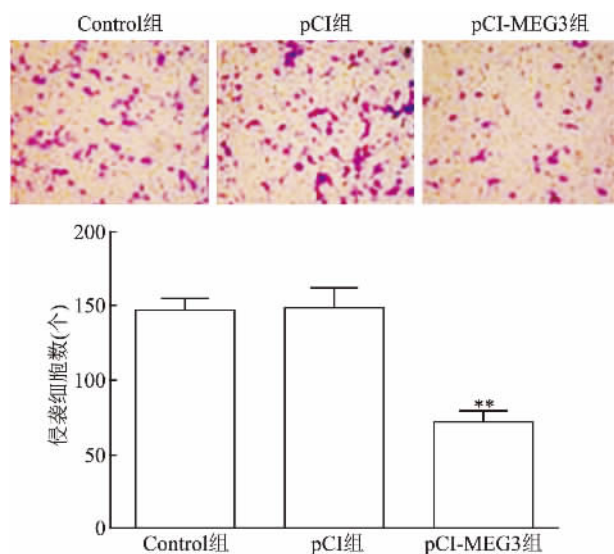


图5 转染后各组胶质瘤 U251 细胞侵袭能力的影响情况 ×400
与 Control 组和 pCI 组比较: ** $P < 0.01$

2.7 流式细胞术检测 LncRNA MEG3 基因对 U251 细胞凋亡率的影响 流式细胞术检测结果显示, 细胞培养 48 h 后, pCI-MEG3 组细胞凋亡率高于 Control 组($t = 13.17, P < 0.01$)和 pCI 组($t = 13.88, P < 0.01$), 差异有统计学意义。见图 6。

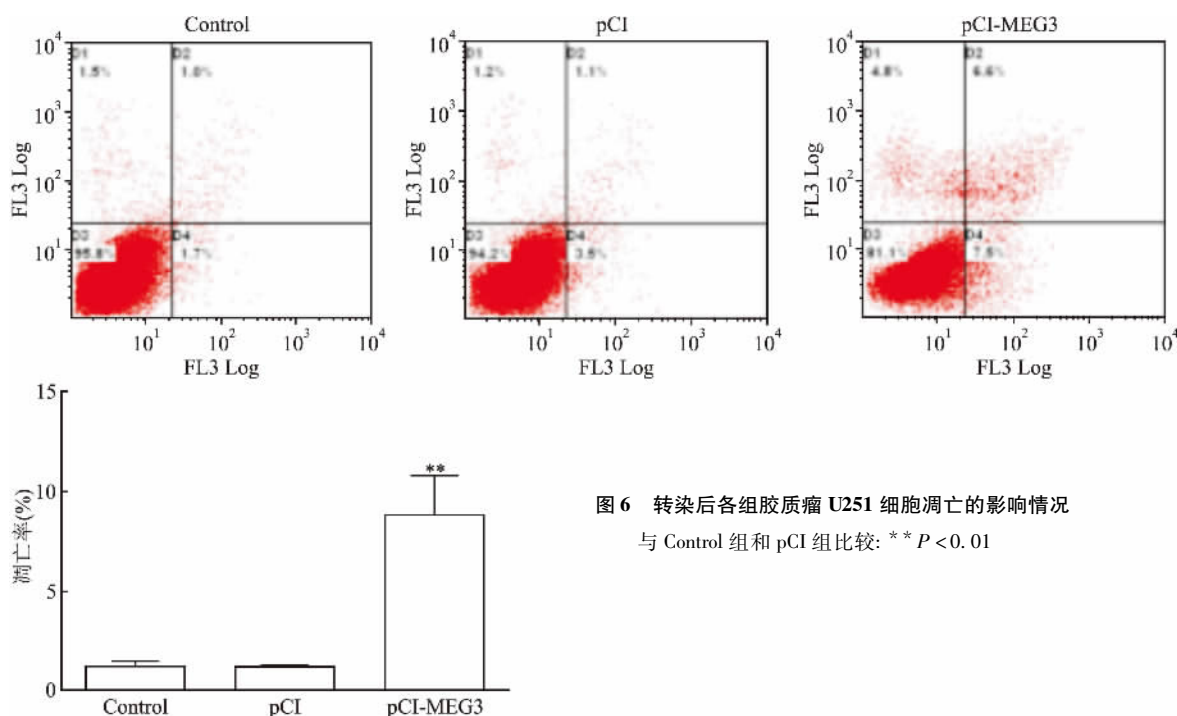


图6 转染后各组胶质瘤 U251 细胞凋亡的影响情况
与 Control 组和 pCI 组比较: ** $P < 0.01$

3 讨论

LncRNA MEG3 位于人类染色体 14q32.3 位点, 是一个全长约为 1 700 个核苷酸的母源性印记基因, 它也是第一个被发现具有肿瘤抑制作用的 LncRNA^[10]。LncRNA MEG3 在许多正常组织中高表达, 而在包括肺癌、肝癌、鼻咽癌、卵巢癌等多种恶性肿瘤组织中低表达甚至不表达^[11]。近几年有研究^[12]表明 LncRNA MEG3 在不同分期和组织学分级肿瘤中的表达存在差异, 在肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭和凋亡等生物行为中扮演重要角色, 在临床上和患者预后密切相关。因此, 目前 LncRNA MEG3 常被临床研究上选择作为抗肿瘤药物的重要分子靶点, 是控制基因治疗可行性的关键因素之一。而启动子或基因间差异甲基化区域的超甲基化可能是导致肿瘤细胞中 LncRNA MEG3 低表达或表达丢失的主要原因^[13]。同时, 有学者在文献^[14-16]中提出肿瘤细胞中的 LncRNA MEG3 高表达, 可以抑制肿瘤细胞的增殖能力, 且 LncRNA MEG3 抑制细胞增殖能力和诱导细胞凋亡部分原因可能是通过抑制 MDM2 的表达, 随后激活 p53 信号途径。

该研究借助 LncRNA MEG3 过表达重组质粒载体转染人脑胶质瘤细胞的体外实验, 来增加细胞内 LncRNA MEG3 基因表达量, 随后探讨其对胶质瘤细胞增殖、侵袭及凋亡的影响。研究结果显示, 在

mRNA 水平上胶质细胞中 LncRNA MEG3 的表达量明显低于正常脑组织细胞,提示 LncRNA MEG3 可能是脑胶质瘤的一个潜在独立的诊断标志。同时,研究结果表明 LncRNA MEG3 基因的异常表达与胶质瘤发生、发展关联紧密,过表达细胞中 LncRNA MEG3 基因后,可以抑制人脑胶质瘤细胞的增殖和侵袭能力,同时增加其凋亡率,这为脑胶质瘤临床基因治疗提供了新的思路 and 理论依据。

然而对于 LncRNA MEG3 基因仍存在许多问题需要进一步探讨和研究,如胶质瘤细胞中 LncRNA MEG3 基因的确切调控机制和调控路径、LncRNA MEG3 基因与胶质瘤发生发展相关的其他基因之间的相互作用及与 LncRNA MEG3 基因相关的体内实验结论等。进一步深入研究这些问题,能够为在基因水平上寻找新的分子靶向治疗方案奠定理论基础。

参考文献

- [1] 许雅娣,赵兵,卞尔保,等. DNMT1 抑制剂 DC-517 对胶质瘤细胞增殖和侵袭的影响 [J]. 安徽医科大学学报, 2019, 54(11): 1692-7.
- [2] Chen X, Li D, Gao Y, et al. Long intergenic noncoding RNA 00152 promotes glioma cell proliferation and invasion by interacting with miR-146 [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(3): 1055-64.
- [3] Paolillo M, Serra M, Schinelli S. Integrins in glioblastoma: still an attractive target [J]. *Pharmacol Res*, 2016, 113(Pt A): 55-61.
- [4] Bhan A, Soleimani M, Mandal S S. Long noncoding RNA and cancer: a new paradigm [J]. *Cancer Res*, 2017, 77(15): 3965-81.
- [5] Yu W D, Wang H, He Q F, et al. Long noncoding RNAs in cancer immunity cycle [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233: 6518-22.
- [6] Chan J J, Tay Y. Noncoding RNA: RNA regulatory networks in cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(5): e1310.
- [7] Miyoshi N, Wagatsuma H, Wkana S, et al. Identification of an imprinted gene, Meg3/Gtl2 and its human homologue MEG3, first mapped on mouse distal chromosome 12 and human chromosome 14q [J]. *Gene Cells*, 2013, 5(3): 211-20.
- [8] Shen X, Bai H, Zhu H, et al. Long non-coding RNA MEG3 functions as a competing endogenous RNA to regulate HOXA1 expression by sponging miR-1481a in multiple myeloma [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 49(1): 87-100.
- [9] He Y, Luo Y, Liang B, et al. Potential applications of MEG3 in cancer diagnosis and prognosis [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(42): 73282-95.
- [10] Dong Z, Zhang A, Liu S, et al. Aberrant methylation-mediated silencing of lncRNA MEG3 functions as a ceRNA in esophageal cancer [J]. *Mol Cancer Res*, 2017, 15(7): 800-10.
- [11] Zhang W, Shi S, Jiang J, et al. LncRNA MEG3 inhibits cell epithelial-mesenchymal transition by sponging miR-421 targeting E-cadherin in breast cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 91: 312-9.
- [12] Soudyab M, Iranpour M, Ghafouri-Fard S. The role of long non-coding RNAs in breast cancer [J]. *Arch Iran Med*, 2016, 19(7): 508-17.
- [13] Gejman R, Batista D L, Zhong Y, et al. Selective loss of MEG3 expression and intergenic differentially methylated region hypermethylation in the MEG3/DLK1 locus in human clinically nonfunctioning pituitary adenomas [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008, 93(10): 4119-25.
- [14] Cao X, Zhuang S, Hu Y, et al. Associations between polymorphisms of long noncoding RNA MEG3 and risk of colorectal cancer in Chinese [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(14): 19054-9.
- [15] Ren S, Li G, Liu C, et al. Next generation deep sequencing identified a novel lncRNA n375709 associated with paclitaxel resistance in nasopharyngeal carcinoma [J]. *Oncol Rep*, 2016, 36(4): 1861-7.
- [16] 熊璟,何元春,罗海林,等. 长链非编码 RNA MEG3 对口腔鳞状细胞癌细胞增殖、侵袭及凋亡的影响 [J]. 成都医学院学报, 2019, 14(1): 31-4.

The influence of LncRNA MEG3 on proliferation, invasion and apoptosis of human glioma cells

Li Jia¹, Xi Yuqiao², Wang Shaohua¹, et al

(¹Dept of Neurosurgery, Fuyang Hospital of Anhui Medical University, Fuyang 236000;

²Dept of Quality, Anhui Hanku Medical Diagnosis Technology Co. LTD, Fuyang 236000)

Abstract Objective To observe its effect on the proliferation, invasion and apoptosis of human glioma cells by the overexpression recombinant plasmid targeting to long non-coding maternally expressed gene 3(LncRNA MEG3) gene transfects the human glioma cells *in vitro*. **Methods** The expression of LncRNA MEG3 mRNA in normal brain tissue cells(N) and glioma cell line U251 cells was detected by qRT-PCR. Eukaryotic overexpression vector of pCI-MEG3 was constructed to transfect the human glioma cell line U251 cells as pCI-MEG3 overexpression plasmid group(pCI-MEG3 group). Those transfected with empty pCI plasmid were divided into empty vector pCI group(pCI group) and those without any transfection were divided into Control group. The expression of LncRNA MEG3 gene was analyzed by qRT-PCR. The expression of MDM2 and P53 of LncRNA MEG3-related protein was confirmed by

网络出版时间: 2021-3-18 16:32 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20210317.1520.011.html>

槲皮素对蛛网膜下腔出血大鼠脑损伤的影响机制

薛智, 彭倩, 李璟, 缪昌峰

摘要 目的 探讨槲皮素(Que)对蛛网膜下腔出血(SAH)大鼠脑损伤的影响及机制。方法 采用颈内动脉穿刺法制备蛛网膜下腔出血大鼠模型,随机将大鼠分为假手术(Sham)组、SAH组、SAH+Que 50 mg/kg组和SAH+Que 100 mg/kg组,每组15只。造模成功30 min后,腹腔注射槲皮素,干预23 h后对各组进行Garcia神经功能评分,干湿重法检测脑组织含水量,伊文思蓝染色检测血脑屏障通透性。免疫荧光染色检测TUNEL阳性和微管相关蛋白轻链3(LC3)阳性细胞占比,Western blot检测Cleaved caspase-9、Bax、Bcl-2、Nrf2、HO-1和NQO1蛋白水平。结果 与假手术组比较,SAH组Garcia神经功能评分增高,脑组织含水量升高,伊文思蓝含量增加,TUNEL/NeuN双阳性细胞占比增加,LC3/NeuN双阳性细胞占比增加,Cleaved caspase-9和Bax蛋白表达均上调,Bcl-2、Nrf2、HO-1和NQO1蛋白表达均下调;与SAH组比较,SAH+Que 50 mg/kg和100 mg/kg组Garcia神经功能评分均降低,脑组织含水量均减少,伊文思蓝渗出均降低,TUNEL/NeuN双阳性细胞占比均减少,LC3/NeuN双阳性细胞占比均减少,Cleaved caspase-9和Bax蛋白表达均下调,Bcl-2、Nrf2、HO-1和NQO1蛋白表达均上调。结论 槲皮素可减轻蛛网膜下腔出血模型大鼠脑神经细胞损伤,改善大鼠神经功能,其机制可能与抑制细胞自噬有关。

关键词 槲皮素;自噬;蛛网膜下腔出血;脑损伤

中图分类号 R 743

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2021)04-0561-06

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2021.04.011

蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)是临床常见的一种严重的急性脑血管疾病,多发生于颅内动脉瘤、外伤、药物或其他原因^[1]。槲皮素是一种天然的黄酮类化合物,具有广泛的药理活性。之前的研究^[2]报道,槲皮素可以抑制细胞凋亡、保护神经细胞、减少氧化应激造成的脑损伤。但是关于槲皮素在蛛网膜下腔出血早期对脑损伤的作用目前的研究较少,该研究通过颈内动脉穿刺法建立SAH大鼠模型,探讨槲皮素对SAH 24 h后大鼠脑损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组 SPF级SD雄性大鼠,体重270~300 g,6~8周龄,购自上海西普尔必凯实验动物有限公司,动物合格证号SCXK(沪)2019-0012,室温23~25℃饲养,食物和水分按时摄入,昼夜节律规律。将实验大鼠随机分为Sham组、SAH组和模型+槲皮素50 mg/kg组(SAH+Que 50 mg/kg)和模型+槲皮素100 mg/kg组(SAH+Que 100 mg/kg),槲皮素用0.9%氯化钠溶液溶解,采取灌胃给药,给药体积为1 ml,持续14 d,每组15只,其中5只用于脑水肿检测,5只用于免疫组织化学

2020-09-04 接收

基金项目: 湖南省科技创新计划项目(编号: 2017SK50516)

作者单位: 湖南省人民医院(湖南师范大学附属第一医院),长沙 410000

作者简介: 薛智,男,主治医师,硕士研究生;

彭倩,女,助理研究员,硕士研究生,责任作者, E-mail: pal116@163.com

Western blot. The proliferation ability of glioma cells was analyzed by techniques of MTT and cell cloning. Transwell was used to analyze the invasion ability of glioma cells, and flow cytometry was used to analyze the apoptosis rate of glioma cells. **Results** Compared with normal brain tissue cells, the expression level of LncRNA MEG3 mRNA decreased in glioma cells. The results of vitro experiments showed that both the mRNA of LncRNA MEG3 and protein expression levels of p53 increased, and the expression levels of MDM2 protein were down-regulated ($P < 0.05$) in pCI-MEG3 group when compared with the control group and the pCI group ($P < 0.05$). Cell proliferation and cell invasion were inhibited ($P < 0.01$). The apoptosis rate increased ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of LncRNA MEG3 in human glioma cells is lower than that in the normal human brain tissue cells. Overexpression of LncRNA MEG3 in human glioma cells can increase the expression of LncRNA MEG3 thereby inhibiting the proliferation and invasion of human glioma cells and increasing the apoptosis rate.

Key words glioma; LncRNA MEG3; proliferation; attacks; apoptosis