

circ_0000144 在乳腺癌中的表达及其对乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭能力的影响

张洁¹, 张芳芳¹, 王靖楠², 李泽宇¹, 宋颖¹, 李娜¹

(1.河南省新乡医学院病理学系,河南 新乡 453003; 2.河南省新乡医学院三全学院,河南 新乡 453003)

摘要:目的 探究 circ_0000144 在乳腺癌组织中的表达及其对乳腺癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力的影响。

方法 通过实时荧光定量 PCR (quantitative real-time polymerase chain reaction, RT-qPCR) 实验检测 49 例乳腺癌及配对癌旁正常乳腺组织标本中的 circ_0000144 表达水平,并分析 circ_0000144 的表达水平与乳腺癌患者临床病理特征的关系;以正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 为对照,RT-qPCR 法检测乳腺癌细胞系 (T47D、MCF-7、MDA-MB-231) 中 circ_0000144 表达;以 MCF-7 细胞为研究对象,将转染 si-circ_0000144 组设为实验组 (si-circ_0000144 组),将转染 si-NC 组设为生理盐水对照组 (si-NC 组),同时设置空白对照组 (Control 组),细胞不进行任何转染操作,用常规培养基进行培养,通过 CCK-8、克隆形成实验、流式细胞术、划痕实验、Transwell 实验检测乳腺癌细胞中细胞增殖、迁移和侵袭的能力,Western blotting 法检测相关蛋白 CyclinD1、p21、Bax、Bcl-2、E-cadherin 和 N-cadherin 表达。**结果** 与癌旁正常组织比较,乳腺癌组织中 circ_0000144 表达显著升高 ($P < 0.001$),且与 TNM 分期和淋巴结转移呈密切正相关 ($P = 0.003$, $P = 0.007$);与正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 比较,乳腺癌细胞系中 circ_0000144 表达上调 ($P < 0.001$);与 Control 组或 si-NC 组比较,si-circ_0000144 组增殖、迁移和侵袭能力降低 (P 均 < 0.001),凋亡率升高 (P 均 < 0.001),CyclinD1、Bcl-2 和 N-cadherin 蛋白表达水平降低 (P 均 < 0.001),而 p21、Bax 和 E-cadherin 蛋白表达水平升高 (P 均 < 0.001)。 **结论** circ_0000144 在乳腺癌组织及细胞系中呈高表达,下调 circ_0000144 可阻碍乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭,而促进其凋亡,circ_0000144 有望成为治疗乳腺癌的分子靶点。

关键词: 乳腺癌; circ_0000144; 增殖; 凋亡; 迁移; 侵袭

中图分类号: R730

文献标志码: A

Expression of circ_0000144 in breast cancer and its effect on the proliferation, migration and invasion ability of breast cancer cells

ZHANG Jie¹, ZHANG Fangfang¹, WANG Jingnan², LI Zeyu¹, SONG Ying¹, LI Na¹

(1. Department of Pathology, Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan, China;

2. Sanquan College of Xinxiang Medical University, Xinxiang 453003, Henan, China)

Abstract: Objective To explore the expression of circ_0000144 in breast cancer tissues and its effect on the proliferation, apoptosis, migration and invasion abilities of breast cancer cells. **Methods** Quantitative real-time polymerase chain reaction (RT-qPCR) experiments were performed to detect the expression level of circ_0000144 in 49 breast cancer tissues and paired paracancerous normal breast tissue specimens and to analyze the relationship between the expression level of circ_0000144 and the clinicopathological characteristics of breast cancer patients. Normal breast epithelial cells MCF-10A were used as the control, and circ_0000144 expression was detected in breast cancer cell lines (T47D, MCF-7, MDA-MB-231) by RT-qPCR. MCF-7 cells were used as the study object, and the transfected si-circ_0000144 group was set up as the experimental group (si-circ_0000144 group), the transfected si-NC group was set as the saline control group (si-NC group), and a blank control group (Control group) was set at the same time. The cells were

cultured with conventional medium without any transfection operation. The abilities of cell proliferation, migration and invasion in breast cancer cells were detected by CCK-8, clone formation assay, flow cytometry, scratch assay and Transwell assay, and the protein expressions of CyclinD1, p21, Bax, Bcl-2, E-cadherin and N-cadherin were detected by Western blotting. **Results** The expression of circ_0000144 in breast cancer tissues was significantly elevated compared with that in normal tissues adjacent to the cancer ($P < 0.001$), and was closely positively associated with TNM stage and lymph node metastasis ($P = 0.003$, $P = 0.007$). The expressions of circ_0000144 were up-regulated in breast cancer cell lines compared to normal breast epithelial cells MCF-10A ($P < 0.001$). Compared with the Control group or si-NC group, the si-Circ_0000144 group showed reduced abilities of proliferate, migrate and invade (all $P < 0.001$), elevated apoptosis rate (both $P < 0.001$), decreased expression levels of CyclinD1, Bcl-2 and N-cadherin proteins (all $P < 0.001$), and increased expression levels of p21, Bax and E-cadherin proteins (all $P < 0.001$). **Conclusion** circ_0000144 is highly expressed in breast cancer tissues and cell lines. Down-regulation of circ_0000144 can hinder breast cancer cell proliferation, migration and invasion, and promote its apoptosis. circ_0000144 may become a molecular target for breast cancer treatment.

Key words: Breast cancer; circ_0000144; Proliferation; Apoptosis; Migration; Invasion

侵袭和转移是乳腺癌患者复发和死亡的主要原因,寻找乳腺癌的新标记物有助于诊断、治疗和预后判断^[1-2]。研究发现不同的 circRNA 在乳腺癌中发挥的作用不同。circ_0000144 也被称为 circSLAMF6,由 SLAMF6 第一内含子反向剪接产生。circ_0000144 在膀胱癌、胃癌中表达升高,促进肿瘤发生发展^[3-5]。然而,关于 circ_0000144 在乳腺癌中的表达及对乳腺癌发生发展影响的研究论文未被检索到。本研究拟检测乳腺癌组织及细胞系中 circ_0000144 的表达,分析乳腺癌组织中 circ_0000144 表达与患者临床病理特征的关系,并以乳腺癌 MCF-7 细胞为研究对象,观察下调 circ_0000144 对乳腺癌细胞恶性表型(增殖、凋亡、迁移和侵袭)的影响。

1 资料与方法

1.1 资料

1.1.1 病例资料

收集新乡医学院第三附属医院 2017 年 5 月至 2019 年 8 月期间手术切除的 49 份乳腺癌标本,另取距癌灶边缘 5 cm 的配对癌旁组织作为对照,患者均为女性,32~68 岁,平均(51.26±7.85)岁,依据 WHO 所采用的 Scarff Bloom Richardson(SBR)标准对乳腺癌进行组织学分级,Ⅰ级 4 例,Ⅱ级 19 例,Ⅲ级 26 例;按照 TNM 临床分期(2019 年版)标准,Ⅰ期 6 例,Ⅱ期 16 例,Ⅲ期 23 例,Ⅳ期 4 例;淋巴结转移 26 例,无淋巴结转移 23 例。利用临床免疫组织化学项目 ER、PR、HER2、Ki-67 的表达结果进行分型,分为 4 个亚型:Luminal A 型 15 例,Luminal B 型 17 例,HER-2(+)型 8 例,Basal-like 型 9 例。患者术前未接受放化疗,临床资料完整,经新乡医学院

第三附属医院伦理委员会批准,批件号为 K2020-041-01。所有参与者知情同意。

1.1.2 实验细胞和主要试剂

正常乳腺上皮细胞(MCF-10A)购自武汉普诺赛生命科技有限公司;乳腺癌细胞系(T47D、MCF-7、MDA-MB-231)购自中国科学院上海细胞库;PCR 引物和小干扰 RNA 购自上海博亚生物工程有限公司;兔抗人 CyclinD1、p21、Bcl-2、Bax、E-cadherin、N-cadherin 和 GAPDH 单克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司。

1.2 方法

1.2.1 Real-time PCR 检测组织中 circ_0000144 表达

使用 Trizol 试剂,按照说明书提取组织中的总 RNA,测定 RNA 浓度,使用逆转录试剂盒进行逆转录获得 cDNA;按照 SYBR Green I Master Mix 说明书,使用 10 μL 体系,以 GAPDH 为内参进行实时荧光定量聚合酶链反应实验。引物序列如下: circ_0000144 F: 5'-GAGTGTGGCCTGTCTCAA-3', R: 5'-TTGTGCCAGTTGCCTGTAT-3'; GAPDH F: 5'-GAGGTGAAGGTCGGAGTC-3', R: 5'-GAAGATGGT-GATGGGATTTC-3'。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算乳腺癌组织中 circ_0000144 的相对表达量。

1.2.2 细胞转染

按照 Lipofectamine 2000 试剂盒说明书进行转染,转染结束后采用 Real-time PCR 法检测 MCF-7 细胞中 circ_0000144 的表达量,验证转染效果,将转染 si-circ_0000144 组设为实验组(si-circ_0000144 组),将转染 si-NC 组设为生理盐水对照组(si-NC 组),同时设置空白对照组(Control 组),细胞不进行任何转染操作,用常规培养基进行培养。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞增殖

接种适量细胞至 96 孔板,每孔 200 μL ,培养箱中培养 24、48 和 72 h 后,按照 CCK-8 试剂说明书检测细胞增殖活性。用酶标仪($\lambda = 450 \text{ nm}$)测定各孔光密度(optical density, OD)值。OD 值越大,说明细胞增殖能力越强。

1.2.4 克隆形成实验检测细胞增殖能力

接种适量细胞至 6 孔板,每隔 2 d 更换一次新鲜培养液培养,肉眼可见单克隆群落且互不接触时,终止培养。加入结晶紫观察染色情况,统计克隆数量并拍照计算。

1.2.5 流式细胞术检测细胞凋亡

接种适量细胞至 6 孔板中培养。分别加 10 μL Annexin V-FITC,混匀,避光孵育。加 5 μL PI,混匀,上机进行检测。细胞凋亡率(%)=(早期凋亡数+晚期凋亡数)/细胞总数 $\times 100\%$ 。

1.2.6 划痕实验检测细胞迁移

取经处理的对数生长期细胞,制成细胞悬液,接种适量细胞至 6 孔板中,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养,在合适时间进行划痕实验,继续培养 24 h 后取出培养板,划线处拍照观察。

1.2.7 Transwell 检测细胞侵袭

将 Transwell 小室置于 24 孔培养板中。Matrigel 胶 1:8 稀释,包被上室底部膜的上室面,37 $^{\circ}\text{C}$,30 min。将 Control 组、si-NC 组和 si-circ_0000144 组细胞密度调整为 5.0×10^5 个/mL,以每孔 100 μL 接种至于 Transwell 小室的上室。另取含 10% FBS 的 RPMI 1640 培养液加入下室,然后置于培养箱中培养。

PBS 溶液清洗细胞,0.4% 结晶紫染色。随机选取 5 个视野,统计细胞个数。

1.2.8 Western blotting 实验检测相关蛋白的表达

提取细胞团中总蛋白及蛋白浓度的测定。蛋白上清经 SDS-PAGE 凝胶电泳后转移至硝酸纤维素膜,用 TBST 缓冲液漂洗,将洗涤后的 PVDF 膜一抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,X 线片曝光、显影、定影。利用 Image J 软件分析电泳条带灰度值。以 GAPDH 作为内参,计算 CyclinD1、p21、Bax、Bcl-2、E-cadherin 和 N-cadherin 相对于 GAPDH 的表达水平。

1.3 统计学处理

利用 SPSS 22.0 软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料采用 χ^2 检验,所有实验均重复 3 次, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳腺癌组织和细胞系中 circ_0000144 的表达水平

RT-qPCR 结果显示,乳腺癌组织中 circ_0000144 的表达水平显著高于癌旁正常乳腺组织中 circ_0000144 的表达水平($P < 0.001$);乳腺癌细胞系(T47D、MCF-7、MDA-MB-231)中 circ_0000144 的表达水平也显著高于正常乳腺上皮细胞 MCF-10A 中 circ_0000144 的表达水平(P 均 < 0.001)。此外,乳腺癌 MCF-7 细胞与 MCF-10A 细胞的 circ_0000144 表达差异最显著,因此,选择 MCF-7 细胞进行后续实验。见图 1。

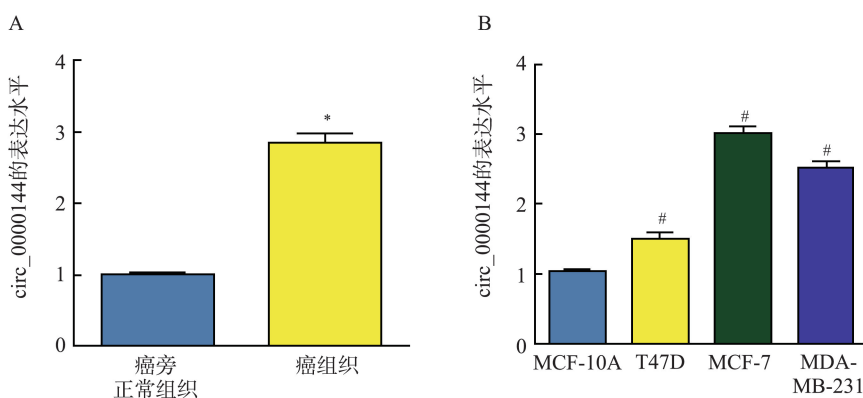


图 1 乳腺癌组织和细胞系中 circ_0000144 表达

A: 乳腺癌组织与癌旁正常组织中 circ_0000144 的表达($*P < 0.001$ vs. 癌旁正常组织); B: 乳腺癌细胞系中 circ_0000144 的表达($\#P < 0.001$ vs. MCF-10A 细胞)。

Figure 1 circ_0000144 expression levels in breast cancer tissues and cell lines

A: Expression levels of circ_0000144 in breast cancer tissues and adjacent normal tissues ($*P < 0.001$ vs. adjacent normal tissues); B: circ_0000144 expression levels in breast cancer cell lines ($\#P < 0.001$ vs. MCF-10A cells).

2.2 circ_0000144 表达与患者临床病理特征的关系

49 例乳腺癌患者中, circ_0000144 高表达 27

例,低表达 22 例;乳腺癌组织中 circ_0000144 的表达与患者肿瘤 TNM 分期和淋巴结有无转移呈密切

正相关($P=0.003, P=0.007$)。见表1。

2.3 si-circ_0000144 转染效果验证

结果显示, Control 组、si-NC 组和 si-circ_0000144 组细胞中 circ_0000144 表达水平分别为

1.00 ± 0.02 、 0.99 ± 0.02 、 0.35 ± 0.03 , si-circ_0000144 组细胞中 circ_0000144 表达水平显著低于 Control 组和 si-NC 组(P 均 <0.001), 而 Control 组与 si-NC 组比较差异无统计学意义($P=0.550$)。

表1 乳腺癌组织中 circ_0000144 表达与患者临床病理特征的关系

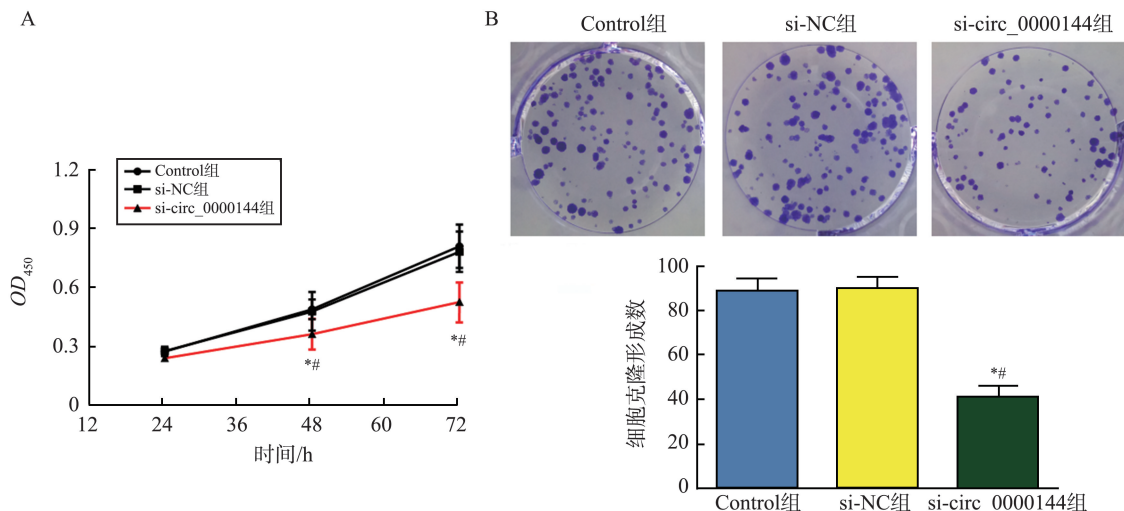
Table 1 Relationship between circ_0000144 expression in breast cancer tissues and clinicopathological features of the patients

临床病理特征	总例数($n=49$)	高表达($n=27$)	低表达($n=22$)	χ^2	P
年龄/岁				0.495	0.482
≤50	25	15	10		
>50	24	12	12		
肿瘤直径/cm				1.987	0.159
≤4	21	14	7		
>4	28	13	15		
组织学分级				0.937	0.626
I	4	2	2		
II	19	9	10		
III	26	16	10		
TNM 分期				13.811	0.003
I	6	1	5		
II	16	5	11		
III	23	17	6		
IV	4	4	0		
淋巴结转移				7.234	0.007
是	26	19	7		
否	23	8	15		
分子分型				0.100	0.752
Luminal A 型	15	7	6		
Luminal B 型	17	9	8		
HER-2(+) 型	8	5	4		
Basal-like 型	9	6	4		

2.4 下调 circ_0000144 表达对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的影响

与 Control 组或 si-NC 组比较, si-circ_0000144 组细胞的增殖能力和克隆形成能力均明显降低(P 均 <0.001); si-circ_0000144 组 p21 蛋白表达水

平明显升高($P<0.001$), Control 组与 si-NC 组间差异无统计学意义($P=0.440$); si-circ_0000144 组 CyclinD1 蛋白表达水平明显降低($P<0.001$), Control 组与 si-NC 组间差异无统计学意义($P=0.530$)。见图2。



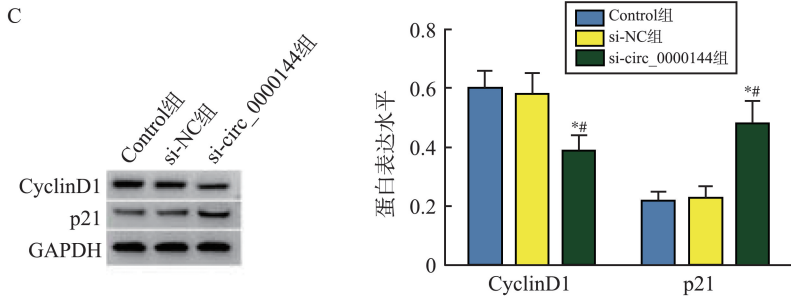


图2 下调 circ_0000144 表达对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖的影响

A: 下调 circ_0000144 表达可降低 MCF-7 细胞 OD 值; B: 下调 circ_0000144 表达减少 MCF-7 细胞克隆形成数; C: 下调 circ_0000144 表达抑制 MCF-7 细胞中 CyclinD1 蛋白表达, 而促进 p21 蛋白表达。 $P < 0.001$ vs. Control 组; $^{\#}P < 0.001$ vs. si-NC 组。

Figure 2 Effect of down-regulated circ_0000144 expression on proliferation of MCF-7 cells in breast cancer

A: Down-regulated circ_0000144 expression decreased the OD values of MCF-7 cells; B: Down-regulated circ_0000144 expression reduced the number of MCF-7 cell clones; C: Down-regulated circ_0000144 expression inhibited the expression of CyclinD1 protein in MCF-7 cells, but promoted the expression of p21 protein. $P < 0.001$ vs. Control group; $^{\#}P < 0.001$ vs. si-NC group.

2.5 下调 circ_0000144 表达对乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的影响

流式细胞术和 Western blotting 实验结果显示, 与 Control 组或 si-NC 组比较, si-circ_0000144 组 MCF-7 细胞凋亡率明显升高 (P 均 < 0.001); 细胞中

Bax 蛋白表达水平升高 ($P < 0.001$), 而 Control 组与 si-NC 组差异无统计学意义 ($P = 0.920$); Bcl-2 蛋白表达水平降低 ($P < 0.001$), 而 Control 组与 si-NC 组差异无统计学意义 ($P = 0.250$)。见图 3。

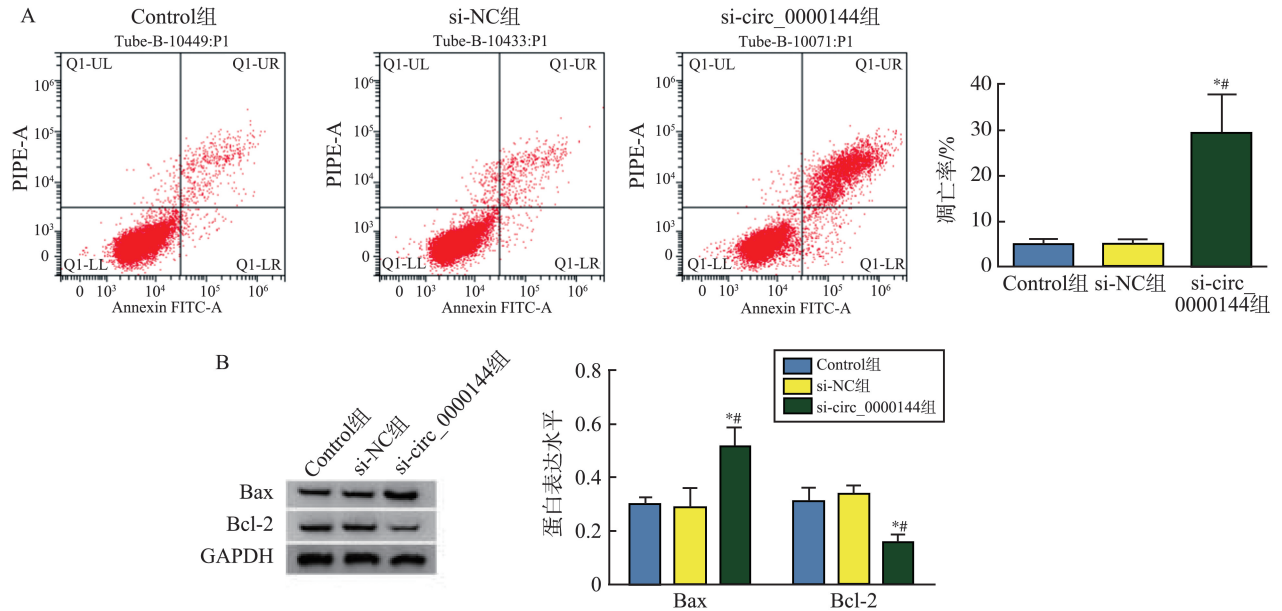


图3 下调 circ_0000144 表达对乳腺癌 MCF-7 细胞凋亡的影响

A: 下调 circ_0000144 表达后, MCF-7 细胞凋亡率升高; B: 下调 circ_0000144 表达促进 MCF-7 细胞中 Bax 蛋白表达, 而抑制 Bcl-2 蛋白表达。 $P < 0.001$ vs. Control 组; $^{\#}P < 0.001$ vs. si-NC 组。

Figure 3 Effect of down-regulating circ_0000144 expression on apoptosis of MCF-7 cells in breast cancer

A: The apoptosis rate of MCF-7 cells increased after down-regulating circ_0000144 expression; B: Down-regulation of circ_0000144 expression promoted the expression of Bax protein in MCF-7 cells, but inhibited the expression of Bcl-2 protein. $P < 0.001$ vs. Control group; $^{\#}P < 0.001$ vs. si-NC group.

2.6 下调 circ_0000144 表达对乳腺癌 MCF-7 细胞迁移和侵袭的影响

划痕实验、Transwell 和 Western blotting 检测结果显示, 与 Control 组或 si-NC 组比较, si-circ_0000144 组的迁移能力和侵袭能力均明显降低

(P 均 < 0.001); si-circ_0000144 组 E-cadherin 蛋白表达显著升高 ($P < 0.001$), Control 组与 si-NC 组间差异无统计学意义 ($P = 0.260$); N-cadherin 蛋白表达显著降低 ($P < 0.001$), Control 组与 si-NC 组间差异无统计学意义 ($P = 0.470$)。见图 4。

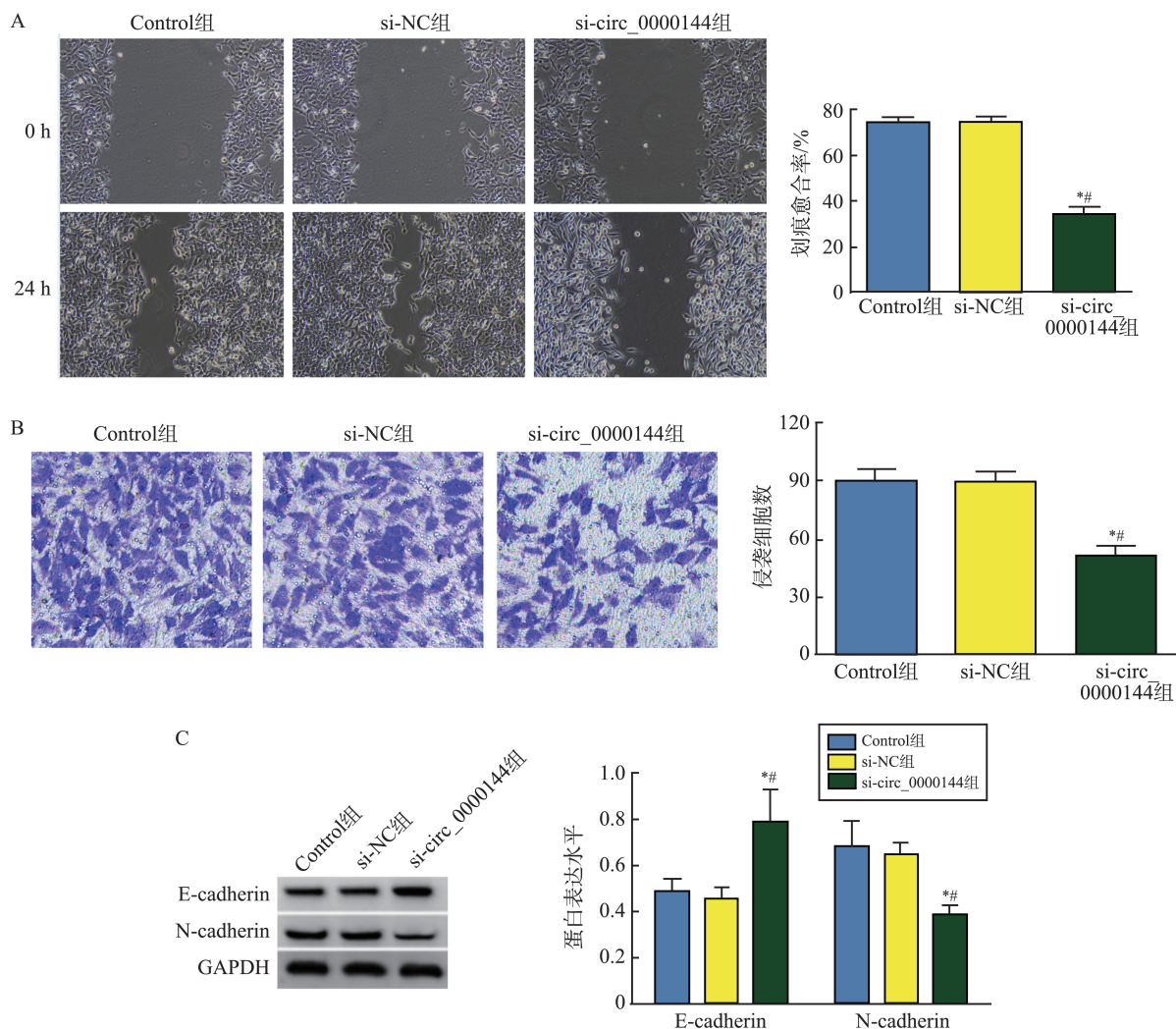


图4 下调 circ_0000144 表达对乳腺癌 MCF-7 细胞迁移和侵袭的影响

A: 下调 circ_0000144 表达降低 MCF-7 细胞划痕愈合率; B: 下调 circ_0000144 表达减少 MCF-7 细胞侵袭数; C: 下调 circ_0000144 表达促进 MCF-7 细胞中 E-cadherin 蛋白表达, 而抑制 N-cadherin 蛋白表达。* $P < 0.001$ vs. Control 组; # $P < 0.001$ vs. si-NC 组。

Figure 4 Effect of down-regulated circ_0000144 expression on migration and invasion of MCF-7 cells in breast cancer

A: Down-regulating circ_0000144 expression decreased the scratch healing rate of MCF-7 cells; B: Down-regulating circ_0000144 expression decreased the invasion number of MCF-7 cells; C: Down-regulating circ_0000144 expression promoted the expression of E-cadherin protein in MCF-7 cells, but inhibited the expression of N-cadherin protein. * $P < 0.001$ vs. Control group; # $P < 0.001$ vs. si-NC group.

3 讨论

近年来,随着高通量测序技术的发展,在结直肠癌、肺癌、胃癌、宫颈癌等多种恶性肿瘤中发现,异常表达的 circRNA 参与调控肿瘤细胞的恶性表型^[6-10]。研究显示, circ_0000144 在甲状腺癌中的表达升高,且其高表达与甲状腺癌肿瘤大小、分期及淋巴结转移均密切相关,敲除 circ_0000144 抑制了甲状腺癌细胞的生长、迁移和侵袭能力,其作为促癌基因参与甲状腺癌的发生发展进程^[11]; circ_0000144 在胃癌的细胞系中的表达也上调,促进了胃癌细胞

的增殖、迁移和侵袭,为胃癌的治疗提供新分子靶标^[12];膀胱癌组织中 circ_0000144 的表达较癌旁正常组织显著上调,且 circ_0000144 高表达的患者预后较差,敲减 circ_0000144 可阻碍体外膀胱癌细胞增殖和侵袭及体内肿瘤生长, circ_0000144 促进膀胱癌的发展进程^[13]。然而, circ_0000144 对乳腺癌发生发展的影响尚未检索到。本研究首先采用 RT-qPCR 检测了 49 例乳腺癌组织中 circ_0000144 的表达,结果显示, circ_0000144 在乳腺癌组织中的表达水平高于癌旁正常乳腺组织; circ_0000144 在乳腺癌细胞系中的表达也明显高于正常乳腺上皮细胞,提示 circ_0000144 可能对乳腺癌的发生发展也起促

进作用。

与正常细胞相比,肿瘤细胞具有很强的恶性行为,其增殖速度较快,且可无限增殖,而凋亡减少,抑制细胞增殖及诱导凋亡是治疗肿瘤的重要手段^[14]。本研究通过转染 circ_0000144 小干扰 RNA 至乳腺癌细胞中,下调其表达后,乳腺癌细胞的 OD 值及克隆形成数明显降低,而凋亡率明显升高,表明下调 circ_0000144 可有效阻碍乳腺癌细胞增殖,而促进乳腺癌细胞凋亡,提示 circ_0000144 有可能成为乳腺癌患者临床治疗的分子靶标。细胞增殖和凋亡受多种蛋白调控,CyclinD1 是促进细胞周期由 G1 期向 S 期转变、加速细胞周期进程的重要蛋白,其表达升高可促进细胞生长^[15];p21 是常见的肿瘤抑制蛋白,可负向调控肿瘤细胞的增殖能力^[16]。既往研究发现,circ_001988 在胃癌组织中表达降低,过表达 circ_001988 可通过靶向 miR-197-3p /FBXW 轴调控 CyclinD1、CCDC6 等相关蛋白的表达,进而抑制胃癌细胞增殖^[17]。在膀胱癌中,circ-ZKSCAN1 表达下调,当过表达 circ-ZKSCAN1 时,可通过抑制 miR-1178-3p 的表达促进 p21 的表达水平,从而抑制膀胱癌细胞的生长、迁移和侵袭能力,circ-ZKSCAN1/miR-1178-3p/ p21 为膀胱癌发生发展机制的阐明提供了新途径^[18]。本研究结果显示,乳腺癌细胞中下调 circ_0000144 的表达,抑制了 CyclinD1 蛋白表达,促进 p21 蛋白表达,揭示 circ_0000144 可能通过调控增殖相关蛋白的表达来促进乳腺癌细胞增殖。Bax/Bcl-2 参与调控细胞凋亡,细胞中 Bcl-2 表达增加时减弱 Bax 的促凋亡作用,减少细胞凋亡^[19]。本研究结果显示,干扰 circ_0000144 的表达后,Bcl-2 蛋白表达降低,而 Bax 蛋白表达升高,提示 circ_0000144 可能通过间接调控 Bax/Bcl-2 影响乳腺癌细胞凋亡。

抑制肿瘤细胞的迁移和侵袭可降低肿瘤的复发率和转移率^[20]。本研究结果显示,下调 circ_0000144 表达后,乳腺癌细胞划痕愈合率及侵袭数明显降低,表明下调 circ_0000144 表达对乳腺癌细胞迁移和侵袭能力起抑制作用。上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肿瘤转移的关键环节,E-cadherin 和 N-cadherin 是 EMT 过程中的重要蛋白^[21]。既往研究发现,circ_0101145 在肝细胞癌组织和细胞系中均表达上调,下调其表达可抑制肝细胞癌 EMT 过程,进而抑制肿瘤转移^[22];circ_0013958 在卵巢癌组织和细胞中高表达,通过影响卵巢癌细胞 EMT 过程,进而增强了卵巢癌细胞的迁移和侵袭能力^[23];circ_0001801 的过

表达也可影响胶质瘤细胞的 EMT 过程,进一步促进胶质瘤细胞的侵袭和转移,circ_0001801 可能成为胶质瘤治疗的分子靶标^[24]。有研究显示,E-cadherin 和 N-cadherin 在肿瘤侵袭转移中的作用相反,E-cadherin 表达下降意味着同种细胞失去黏附效应,肿瘤细胞即具备了侵袭转移的特点,是肿瘤高度侵袭性和转移的重要特征,N-cadherin 表达增高与肿瘤侵袭性增高有关^[25]。结合本实验结果,下调 circ_0000144 表达促进了乳腺癌细胞中 E-cadherin 蛋白的表达,抑制了 N-cadherin 蛋白的表达,提示 circ_0000144 可能是通过影响乳腺癌细胞 EMT,进而增强乳腺癌细胞的迁移和侵袭能力。

综上所述,本研究证实,circ_0000144 的高表达与乳腺癌的发生和发展密切相关,circ_0000144 有可能成为乳腺癌治疗的分子靶点。

参考文献:

- [1] Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries[J]. CA Cancer J Clin, 2021, 71(3): 209-249.
- [2] 董相君,李娟,孔雪,等.环状 RNA hsa_circ_0008591 对乳腺癌细胞生物学行为的影响[J].山东大学学报(医学版),2023,61(2):78-87.
DONG Xiangjun, LI Juan, KONG Xue, et al. Effects of circular RNA hsa_circ_0008591 on tumor biological behavior of breast cancer cells[J]. Journal of Shandong University (Health Sciences), 2023, 61(2): 78-87.
- [3] Wang SY, Fu SQ, Chen Q, et al. Prognostic role of circular RNAs expression in bladder carcinoma: a meta-analysis[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2020, 24(11): 692-700.
- [4] Mi LL, Lei LH, Yin XL, et al. Circ_0000144 functions as a miR-623 sponge to enhance gastric cancer progression via up-regulating GPRC5A[J]. Biosci Rep, 2020, 40(8): 1-12.
- [5] Ji F, Lang C, Gao P, et al. Knockdown of Circ_0000144 suppresses cell proliferation, migration and invasion in gastric cancer via sponging MiR-217[J]. J Microbiol Biotechnol, 2021, 31(6): 784-793.
- [6] Yang B, Wang YW, Zhang K. Interactions between circRNA and protein in breast cancer[J]. Gene, 2024, 895: 148019. doi: 10.1016/j.gene.2023.148019.
- [7] Kristensen LS, Jakobsen T, Hager H, et al. The emerging roles of circRNAs in cancer and oncology[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2022, 19(3): 188-206.
- [8] Zhang Y, Luo J, Yang W, et al. CircRNAs in colorectal

- cancer; potential biomarkers and therapeutic targets[J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(6): 353. doi: 10.1038/s41419-023-05881-2.
- [9] Li J, Zhang Q, Jiang D, et al. CircRNAs in lung cancer-role and clinical application[J]. *Cancer Lett*, 2022, 544: 215810. doi: 10.1016/j.canlet.2022.215810.
- [10] Lu JC, Ma XM, Lin JH, et al. Circ_0020123 increases ZFX expression to facilitate non-small cell lung cancer progression by sponging miR-142-3p[J]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13(5): 1687-1698.
- [11] Fan YX, Shi HY, Hu YL, et al. Circ_0000144 facilitates the progression of thyroid cancer via the miR-217/AKT3 pathway[J]. *J Gene Med*, 2020, 22(12): e3269. doi:10.1002/jgm.3269.
- [12] Wei JM, Wang JM, Gao XB, et al. Identification of differentially expressed circRNAs and a novel hsa_circ_0000144 that promote tumor growth in gastric cancer[J]. *Cancer Cell Int*, 2019, 19: 268. doi: 10.1186/s12935-019-0975-y.
- [13] Huang WP, Lu YY, Wang F, et al. Downregulation of circular RNA hsa_circ_0000144 inhibits bladder cancer progression via stimulating miR-217 and suppressing RUNX2 expression[J]. *Gene*, 2018, 678: 337-342. doi:10.1016/j.gene.2018.08.036.
- [14] 韩森吉, 李媛, 李振, 等. IL-37 通过调控 LINC01554/miR-223-3p 轴抑制卵巢癌细胞增殖、迁移和侵袭[J]. *中国免疫学杂志*, 2022, 38(13): 1607-1613.
HAN Senji, LI Yuan, LI Zhen, et al. IL-37 inhibits proliferation, migration and invasion of ovarian cancer cells by regulating LINC01554/miR-223-3p axis[J]. *Chinese Journal of Immunology*, 2022, 38(13): 1607-1613.
- [15] Benard O, Qian X, Liang HZ, et al. p21CIP1 promotes mammary cancer-initiating cells via activation of Wnt/TCF1/CyclinD1 signaling[J]. *Mol Cancer Res*, 2019, 17(7): 1571-1581.
- [16] Dai XL, Guo X, Liu JJ, et al. Circular RNA circ-GRAMD1B inhibits gastric cancer progression by sponging miR-130a-3p and regulating PTEN and p21 expression[J]. *Aging*, 2019, 11(21): 9689-9708.
- [17] Sun D, Wang G, Xiao C, et al. Hsa_circ_001988 attenuates GC progression in vitro and in vivo via sponging miR-197-3p[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(1): 612-624.
- [18] Bi JM, Liu HW, Dong W, et al. Circular RNA circ-ZK-SCAN1 inhibits bladder cancer progression through miR-1178-3p/p21 axis and acts as a prognostic factor of recurrence[J]. *Mol Cancer*, 2019, 18(1): 133. doi:10.1186/s12943-019-1060-9.
- [19] Jia XB, Zhang Q, Xu L, et al. Lotus leaf flavonoids induce apoptosis of human lung cancer A549 cells through the ROS/p38 MAPK pathway[J]. *Biol Res*, 2021, 54(1): 7. doi:10.1186/s40659-021-00330-w.
- [20] 魏闫若雪, 李梓绮, 刘春铖, 等. 结直肠癌中 SP1 的瘤内异质性表达及其临床意义[J]. *山东大学学报(医学版)*, 2024, 62(5): 89-94.
WEI Yanruoxue, LI Ziqi, LIU Chuncheng, et al. Heterogeneous expression of SP1 in colorectal cancer and its clinical significance[J]. *Journal of Shandong University (Health Sciences)*, 2024, 62(5): 89-94.
- [21] Si AF, Wang LQ, Miao K, et al. MiR-219 regulates liver cancer stem cell expansion via E-cadherin pathway[J]. *Cell Cycle*, 2019, 18(24): 3550-3561.
- [22] Jin JL, Liu H, Jin MS, et al. Silencing of hsa_circ_0101145 reverses the epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via regulation of the miR-548c-3p/LAMC2 axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 12(12): 11623-11635.
- [23] Pei C, Wang H, Shi C, et al. CircRNA hsa_circ_0013958 may contribute to the development of ovarian cancer by affecting epithelial-mesenchymal transition and apoptotic signaling pathways[J]. *J Clin Lab Anal*, 2020, 34(7): e23292. doi: 10.1002/jcla.23292.
- [24] Chen WL, Jiang L, Wang JS, et al. Circ-0001801 contributes to cell proliferation, migration, invasion and epithelial to mesenchymal transition (EMT) in glioblastoma by regulating miR-628-5p/HMGB3 axis[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(24): 10874-10885.
- [25] 张艳霞, 闫燕艳, 邓亮, 等. E-钙黏素和 N-钙黏素在胃肠道间质瘤中的表达及其临床意义[J]. *山西大同大学学报(自然科学版)*, 2023, 39(1): 80-83.
ZHANG Yanxia, YAN Yanyan, DENG Liang, et al. Expression and clinical significance of E-cadherin and N-cadherin in gastrointestinal stromal tumors[J]. *Journal of Shanxi Datong University (Natural Science Edition)*, 2023, 39(1): 80-83.

(编辑:相峰)