

金亮,金爱,赵立智. 长链非编码 RNA LINC00152 对人脑胶质瘤裸鼠移植瘤生长的影响及机制探讨 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(11): 28-33,49.

Jin L, Jin A, Zhao LZ. Effect of long noncoding RNA LINC00152 on the growth of human glioma xenografts in nude mice and its mechanism [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(11): 28-33,49.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019. 11. 005

长链非编码 RNA LINC00152 对人脑胶质瘤裸鼠移植瘤生长的影响及机制探讨

金 亮^{1*}, 金 爱², 赵立智¹

(1.沧州市人民医院神经外科,河北 沧州 061000; 2.沧州市人民医院输血科,河北 沧州 061000)

【摘要】 目的 观察长链非编码 RNA (long noncoding RNA, LncRNA) LINC00152 过表达对人脑胶质瘤 U251 荷瘤鼠肿瘤生长的影响并对其机制进行探讨。**方法** 慢病毒转染法上调 U251 细胞 LINC00152 表达水平,设立 LINC00152 过表达组 (LV-LINC00152 组) 和空载对照组 (LV 组) 细胞,以正常 U251 细胞作为空白对照组 (control 组);qRT-PCR 检测 LINC00152 表达水平;构建 U251 荷瘤鼠模型,p-YAP 抑制剂 XMU-MP-1 进行处理,测量肿瘤体积,实验终点称量瘤重;免疫组织化学染色观察肿瘤组织 Ki67 表达;蛋白印记实验检测 YAP、p-YAP、LATS1、p-LATS1 蛋白表达。**结果** 与 LV 组相比,LV-LINC00152 组 LINC00152 表达明显上调 ($P<0.01$)。实验终点时,与 LV 组荷瘤鼠肿瘤相比,LV-LINC00152 组肿瘤体积显著增大,瘤重明显增加 ($P<0.01$);XMU-MP-1 (1 mg/kg 和 3 mg/kg) 处理明显降低 LV-LINC00152 组荷瘤鼠肿瘤体积和瘤重 ($P<0.01$),并呈剂量依赖性。LV 组肿瘤组织 Ki67 呈弱阳性表达,而 LV-LINC00152 组呈强阳性表达;XMU-MP-1 (1 mg/kg 和 3 mg/kg) 处理后二者肿瘤组织 Ki67 呈弱阳性和阳性。与 LV 组相比,LV-LINC00152 组肿瘤组织 p-YAP 和 p-LATS1 蛋白表达明显上调 ($P<0.01$);XMU-MP-1 (1 mg/kg 和 3 mg/kg) 处理可逆转 p-YAP 和 p-LATS1 蛋白表达 ($P<0.01$),并存在剂量依赖性。**结论** 长链非编码 RNA LINC00152 可诱导 YAP 磷酸化,促进脑胶质瘤生长,而 p-YAP 抑制剂 XMU-MP-1 能抑制长链非编码 RNA LINC00152 的上述生物学效应。

【关键词】 长链非编码 RNA (LncRNA); LINC00152; 脑胶质瘤; 生长; YAP 蛋白; 裸鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2019) 11-0028-06

Effect of long noncoding RNA LINC00152 on the growth of human glioma xenografts in nude mice and its mechanism

JIN Liang^{1*}, JIN Ai², ZHAO Lizhi¹

(1. Department of Neurosurgery, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou 061000, China.
2. Department of Hematology, Cangzhou People's Hospital, Cangzhou 061000)

【Abstract】 Objective To observe the effect of overexpression of a long noncoding RNA (LncRNA) LINC00152 on the tumor growth of human glioma U251 tumor-bearing mice and to explore its related mechanisms. **Methods** Lentiviral transfection upregulated the expression of LINC00152 in U251 cells. LINC00152 overexpression (LV-LINC00152 group) and empty control (LV group) cells were established, and normal U251 cells were used as the blank group (Control

[基金项目] 2018 年沧州市科技计划项目 (183302129); 2016 年沧州市科技计划项目 (162302072)。

[作者简介] 金亮 (1981—), 男, 大学本科, 主治医师, 研究方向: 脑胶质瘤基础与临床研究。E-mail: jinlianghospital@163.com

group). qRT-PCR was used to detect the expression of LINC00152. A U251 tumor-bearing mouse model was established. The p-YAP inhibitor XMU-MP-1 was administered to mice and the tumor volume was measured and the tumor weight was weighed at the end of the experiment. Immunohistochemical staining was used to observe the expression of Ki67 in tumor tissues. The expressions of YAP, p-YAP, LATS1 and p-LATS1 proteins were detected by Western blotting. **Results** Compared with the LV group, the expression of LINC00152 in the LV-LINC00152 group was significantly upregulated ($P < 0.01$). End of experiment, compared with the LV tumor-bearing mice, the tumor volume and tumor weight in the LV-LINC00152 group were increased significantly ($P < 0.01$). XMU-MP-1 (1 and 3 mg/kg) treatment significantly reduced the tumor volume and tumor weight of LV-LINC00152 tumor-bearing mice in a dose-dependent manner ($P < 0.01$). Ki67 staining in the LV group was weakly positive but strongly positive in the LV-LINC00152 group. After XMU-MP-1 (1 and 3 mg/kg) treatment, Ki67 was weakly positive in the tumor tissues of the LV-LINC00152 group. Compared with the LV group, the expression of p-YAP and p-LATS1 protein in the LV-LINC00152 group was significantly upregulated ($P < 0.01$), and XMU-MP-1 (1 and 3 mg/kg) treatment reversed the p-YAP and p-LATS1 protein expression ($P < 0.01$). **Conclusions** The long noncoding RNA LINC00152 induces YAP phosphorylation to promote glioma growth, while the p-YAP inhibitor XMU-MP-1 inhibits the above biological effects of the long noncoding RNA LINC00152.

[Keywords] long noncoding RNA(LncRNA); LINC00152; glioma; growth; YAP protein; nude mouse

脑胶质瘤(brain glioma)是常见的颅内原发性恶性肿瘤,当前其主要治疗手段为手术切除联合化学治疗和放射治疗^[1]。脑胶质瘤恶性程度较高,且常规化疗药物难以通过血脑屏障,临床治疗效果往往不佳^[2]。因此,如何有效治疗脑胶质瘤是临床面临的严重挑战。LINC00152 属于长链非编码 RNA(long noncoding RNA, LncRNA),并异常表达于肝癌、胃癌及结肠癌等恶性肿瘤细胞中^[3-5]。文献报道,LINC00152 参与恶性肿瘤细胞的增殖、迁移及转移等生物学行为^[3-5]。最新研究显示,LINC00152 与脑胶质瘤临床不良预后相关,下调 LINC00152 基因表达可抑制脑胶质瘤细胞的体内生长^[6]。还有研究显示,上调 LINC00152 可促进胶质瘤细胞侵袭^[7]。这些提示,LINC00152 与胶质瘤细胞的恶性生物学行为相关,能促进脑胶质瘤的体内生长。Yes 相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)为一种转录共激活因子,主要在 Hippo 通路下游发挥细胞增殖和凋亡调控作用^[8]。但 YAP 是否参与 LINC00152 对脑胶质瘤生长的调节还未有研究报道。本研究以慢病毒转染法上调脑胶质瘤 U251 细胞 LINC00152 表达水平并建立荷瘤鼠模型,观察 LINC00152 对脑胶质瘤生长的影响及 YAP 在其中的作用。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

雄性 BALB/c nu/nu 裸鼠 60 只,SPF 级,5~6 周龄,体重 13~15 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2016-0006],质量合格证号:

No. 11400700329359。动物饲养于沧州医学高等专科学校实验动物中心 SPF 级动物房[SYXK(冀)2019-006]IVC 笼中,每笼 6 只,自由饮水、摄食,12 h 光照/12 h 黑暗,温度 20℃~25℃,相对湿度 40%~70%。体内实验通过了沧州医学高等专科学校实验动物中心动物管理和伦理委员会审批,审批号:CPH1702。按实验动物使用的 3R 原则给予人道的关怀。

1.1.2 细胞株

人脑胶质瘤 U251 细胞(目录号:TCHu 58)购自中国科学院上海细胞库。

1.2 主要试剂与仪器

XMU-MP-1(货号 HY-100526)购自美国 MCE 公司;胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、MEM 培养基和磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)购自美国 Gibco 公司;Ki67 抗体(货号 sc-23900)购自美国 Santa Cruz 公司;YAP 抗体(货号 4912)、Phospho-YAP(Ser127)(货号 D9W2I)抗体(货号 13008)、Phospho-LATS1(Ser909)抗体(货号 9157)购自美国 CST 公司;LATS1 抗体购自美国 Abcam 公司(货号 ab70561);GAPDH 抗体(货号 AP0063)、抗兔 IgG-HRP 二抗(货号 BS13278)、抗鼠 IgG-HRP 二抗(货号 BS12478)购自南京巴傲得公司;HS 15(货号 42966)购自美国 Sigma-Aldrich 公司;TRIzol 和 RIPA 细胞裂解液购自上海碧云天公司;SYBR Premix Ex Taq™ II 购自大连宝生物公司;ECL 化学发光液购自美国 Millipore 公司;EnVision 法免疫组织化学试剂盒购自丹麦 Dako 公司。全波段多功能酶标仪,美国 BioTek 公司;AI600 凝胶成像仪,美国

GE 公司; FACSCalibur 流式细胞仪, 美国 BD 公司; 7300 型实时荧光定量 PCR, 美国 ABI 公司产品; Allegra 64R Centrifuge 台式高速冷冻离心机, 美国 Beckman Coulter 公司产品。

1.3 实验方法

1.3.1 慢病毒转染法构建 LINC00152 稳定表达细胞株

慢病毒转染法构建 LINC00152 过表达组 (LV-LINC00152 组) 和空载对照组 (LV 组) 细胞, 同时以正常 U251 作为空白对照组 (control 组)。将 U251 细胞以每孔 3×10^6 个接种于六孔板中, 当细胞汇合度达 50% 时进行转染。LV-LINC00152 组和 LV 组细胞更换为含 $10 \mu\text{g/mL}$ Polybrene 的 MEM 全培养基, 加入以培养基稀释好的空载和 LINC00152 包装的病毒液, 空白组细胞加入等量培养基, 37°C 、5% CO_2 过夜培养, 12 h 时更换为 MEM 全培养基, 继续培养至对数期传代, 嘌呤霉素筛选稳定表达的细胞株。

1.3.2 实时荧光定量 PCR 检测 LINC00152 表达水平

收集 LV-LINC00152 组、LV 组和对照组细胞, TRIzol 法提取细胞总 RNA, 用酶标仪对各组细胞总 RNA 浓度进行定量, 各取 $1 \mu\text{g}$ 进行反转录, 稀释反转录好的 cDNA 至 $500 \mu\text{L}$, 充分混匀备用。各引物按正向引物与反向引物 1:1 稀释, 利用 SYBR Premix Ex TaqTM II 在 ABI 7300 型实时荧光定量 PCR 系统中进行扩增, 反应条件: 95°C , 10 s; 95°C , 10 s, 60°C , 60 s, 40 个循环, 每组设置 6 个重复孔。 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法计算 LINC00152 的相对表达水平。

1.3.3 蛋白印迹检测蛋白表达

将各组动物肿瘤组织剖下, 切割 0.5 g 肿瘤组织并加入 $500 \mu\text{L}$ RIPA 细胞裂解液 (含蛋白酶抑制剂) 研磨裂解 10 min, $12\,000 \text{ r/min}$ 离心 20 min, 吸取上清液至预冷的 EP 管中, 采用 BCA 蛋白定量试剂盒定量, 制备蛋白样品。以 SDS-PAGE 电泳分离蛋白样品中的蛋白质 (上样量为 $30 \mu\text{g}$); 将分离的蛋白湿法转印至 PVDF 膜上; 转膜完成后以 5% 脱脂牛奶封闭 PVDF 膜 2 h; 然后按要求加入 YAP (1:2000)、p-YAP (1:1000)、LATS1 (1:1000)、p-LATS1 (1:1000) 或 GAPDH 抗体 (1:5000) 4°C 孵育过夜。次日, TBST 洗膜 3 次, 再加入相应的二抗 (1:5000), 室温孵育 1 h, 以 ECL 化学发光液进行显色, 凝胶成像仪进行成像, 对蛋白印迹条带进行处

理和分析, 实验重复 3 次。

1.3.4 免疫组化及结果判断

所有组织标本按 EnVision 法进行免疫组织化学实验, 参考说明书进行固定、脱水、石蜡包埋、脱蜡、切片、抗原修复、阻断内源性过氧化物酶、封闭剂孵育一抗 (1:1000)、孵育 EnVisionTM、孵育色源底物溶液和显色拍照。一抗为小鼠单克隆 Ki-67 抗体, 需 4°C 过夜, 阴性对照以 PBS 代替一抗。

Ki67 蛋白定位于细胞核, 出现棕黄色颗粒显色为阳性。随机选取 6 个高倍视野, 采用免疫组织化学评分方法半定量分析, 分别计算各视野中阳性细胞数平均百分比和染色强度。计数阳性细胞百分比, 阳性细胞数 $< 5\%$ 为 0 分, $5\% \sim 25\%$ 为 1 分, $26\% \sim 50\%$ 为 2 分, $51\% \sim 75\%$ 为 3 分, $76\% \sim 100\%$ 为 4 分。评价阳性染色强度, 无色为 0 分, 淡黄色为 1 分, 棕黄色为 2 分, 棕褐色为 3 分。最终评分为两项评分相乘: 0 分为阴性 (-), 1~4 分为弱阳性 (+), 5~8 分为阳性 (++) , 9~12 分为强阳性 (+++)。

1.3.5 肿瘤模型的建立及分组给药

于每只裸鼠右腋下接种 U251 细胞 2×10^6 个, 总体积 0.1 mL (含 0.05 mL Matrigel 胶)。接种后观察肿瘤生长情况, 最终以瘤体积 100 mm^3 左右为标准进行筛选, 剔除瘤体积过大或过小的动物, 选取合格动物纳入实验。

实验一分组: 分别以转染空载体的 LV 组细胞和过表达 LINC00152 的 LV-LINC00152 组细胞荷瘤, 筛选合格的实验动物, 前者设为 LV 组, 后者设为 LV-LINC00152 组;

实验二分组: 以 LV-LINC00152 组细胞荷瘤并筛选合格的实验动物分为生理盐水组 (normal saline 组)、XMU-MP-1 (3 mg/kg) 组和 XMU-MP-1 (1 mg/kg) 组。

将 XMU-MP-1 溶解于 HS 15 中, 并以生理盐水稀释 XMU-MP-1 溶液, 同时配制含等量 HS 15 溶剂的生理盐水作为对照。XMU-MP-1 给药剂量为 1 mg/kg 和 3 mg/kg , 每周给药 3 次, 共给药 3 周, 采用游标卡尺测量并记录肿瘤长径、短径, 按照以下公式计算肿瘤体积: 肿瘤体积 = $1/2 \times \text{长径} \times \text{短径}^2$, 瘤径测量时间分别为: 分组前测量瘤径 1 次, 首次给药后每周 3 次, 安乐死前 1 次。动物安乐死后剖下肿瘤组织并称重, 取适当肿瘤组织用于实验, 其余进行固定保存。

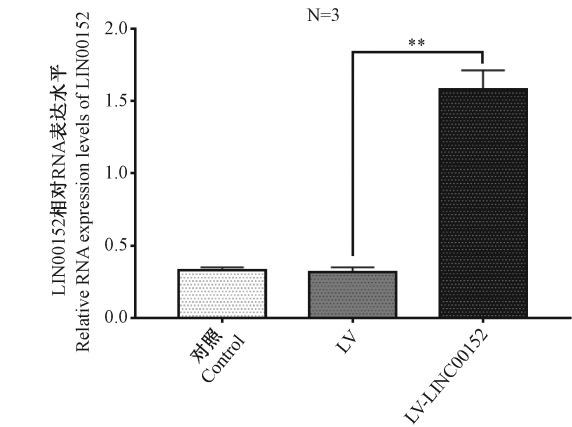
1.4 统计学方法

应用 SPSS 11.0 软件进行统计学分析,计量数据以 Shapiro-Wilk 进行正态性检验,均为正态分布,数据以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。两组间比较采用两独立样本资料的 t 检验;多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD- t 检验。检验水准 $\alpha=0.05$,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 慢病毒转染法外源性上调模型细胞 LINC00152 表达水平

实时荧光定量 PCR 结果显示,对照组、LV 组和 LV-LINC00152 组细胞中 LINC00152 mRNA 相对表达水平分别为 (0.33 ± 0.02) 、 (0.32 ± 0.03) 和 (1.58 ± 0.13) ,对照组和 LV 组无显著性差异 ($P>0.05$);与 LV 组相比, LV-LINC00152 组 LINC00152 mRNA 相对表达水平明显上调 ($P<0.01$)。见图 1。

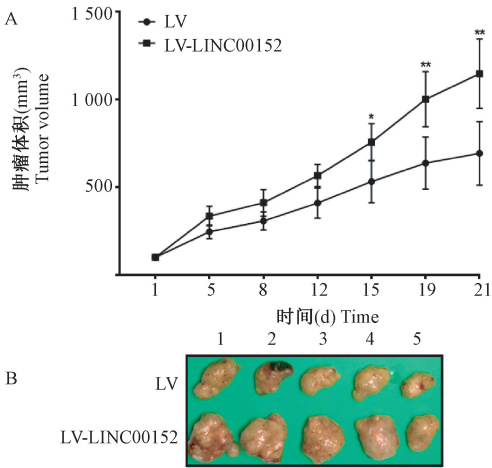


注: ** $P<0.01$ 。
图 1 对照组、LV 组和 LV-LINC00152 组 LINC00152 表达水平
Note. ** $P<0.01$ 。

Figure 1 Expression levels of LINC00152 in the control group, LV group and LV-LINC00152 group

2.2 LINC00152 促进模型细胞移植瘤生长

实验期间,各组动物生长状态良好,体重随时间逐渐增加,组间无明显差异 ($P>0.05$)。如图 2A 所示,分组给药后,随时间的增加,各组荷瘤鼠肿瘤体积逐渐增大。实验终点时,与 LV 组相比, LV-LINC00152 组肿瘤体积显著增大 ($P<0.01$)。实验终点时, LV 组和 LV-LINC00152 组瘤重分别为 (0.86 ± 0.29) g 和 (1.21 ± 0.40) g,与 LV 组相比, LV-LINC00152 组瘤重增加明显 ($P<0.01$),见图 2B。



注:A:LV 组和 LV-LINC00152 组肿瘤体积,与 LV 组相比, * $P<0.05$, ** $P<0.01$; B:LV 组和 LV-LINC00152 组肿瘤图片,1~5 为各动物组内编号。
图 2 LV 组和 LV-LINC00152 组肿瘤生长情况
Note. A, Tumor volume in the LV group and LV-LINC00152 group. Compared with the LV group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. B, Tumor images in the LV group and LV-LINC00152 group. 1-5 are serial numbers of the animals in each group.

Figure 2 Tumor growth in the LV group and LV-LINC00152 group

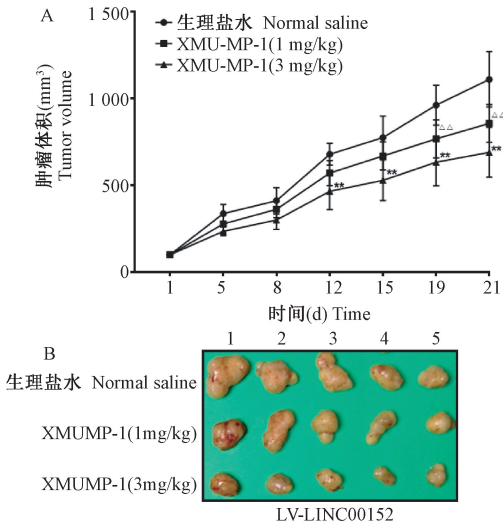
2.3 XMU-MP-1 处理抑制 LINC00152 诱导的模型细胞移植瘤生长

如图 3A 所示,分组给药后,随时间的增加,各组荷瘤鼠肿瘤体积逐渐增大。实验终点时,与生理盐水组相比, XMU-MP-1 (3 mg/kg) 组和 XMU-MP-1 (1 mg/kg) 组肿瘤体积显著减小 ($P<0.01$),并呈剂量依赖性。实验终点时,生理盐水组、XMU-MP-1 (3 mg/kg) 组和 XMU-MP-1 (1 mg/kg) 组瘤重分别为 (1.08 ± 0.41) g、 (0.35 ± 0.19) g 和 (0.68 ± 0.28) g,与生理盐水组相比, XMU-MP-1 (3 mg/kg) 组和 XMU-MP-1 (1 mg/kg) 组瘤重显著减小 ($P<0.01$),并呈剂量依赖性,见图 3B。

2.4 各组肿瘤组织 Ki67 蛋白表达变化

免疫组织化学染色结果显示, LV 组肿瘤组织 Ki67 呈弱阳性表达,而 LV-LINC00152 组肿瘤组织 Ki67 呈强阳性表达。以生理盐水组作为对照, XMU-MP-1 处理 LV-LINC00152 细胞荷瘤鼠后发现,生理盐水组肿瘤组织 Ki67 呈强阳性, XMU-MP-1 (1 mg/kg) 组呈阳性,而 XMU-MP-1 (3 mg/kg) 组呈弱阳性。见图 4。

2.5 各组肿瘤组织 p-YAP 和 p-LATS1 蛋白表达变化



注:A:生理盐水组、XMU-MP-1 (3 mg/kg) 组和 XMU-MP-1 (1 mg/kg) 组肿瘤体积,与生理盐水组相比, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; B:生理盐水组、XMU-MP-1 (3 mg/kg) 组和 XMU-MP-1 (1 mg/kg) 组肿瘤图片,1~5 为各动物组内编号。

图 3 生理盐水组、XMU-MP-1 (3 mg/kg) 组和 XMU-MP-1 (1 mg/kg) 组肿瘤生长情况

Note. A, Tumor volume in the normal saline group, XMU-MP-1 (3 mg/kg) group and XMU-MP-1 (1 mg/kg) group. Compared with the normal saline group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. B, Tumor images of the normal saline group, XMU-MP-1 (3 mg/kg) group and XMU-MP-1 (1 mg/kg) group. 1-5 are serial numbers of the animals in each group.

Figure 3 Tumor growth in the normal saline, XMU-MP-1 (3 mg/kg) and XMU-MP-1 (1 mg/kg) groups

蛋白印记实验分析各组肿瘤组织 p-YAP 和 p-LATS1 蛋白表达变化,与 LV 组相比,LV-LINC00152 组肿瘤组织 p-YAP 和 p-LATS1 蛋白表达明显上调 ($P < 0.01$)。以不同浓度 XMU-MP-1 处理 LV-LINC00152 组裸鼠,结果发现与生理盐水组相比,

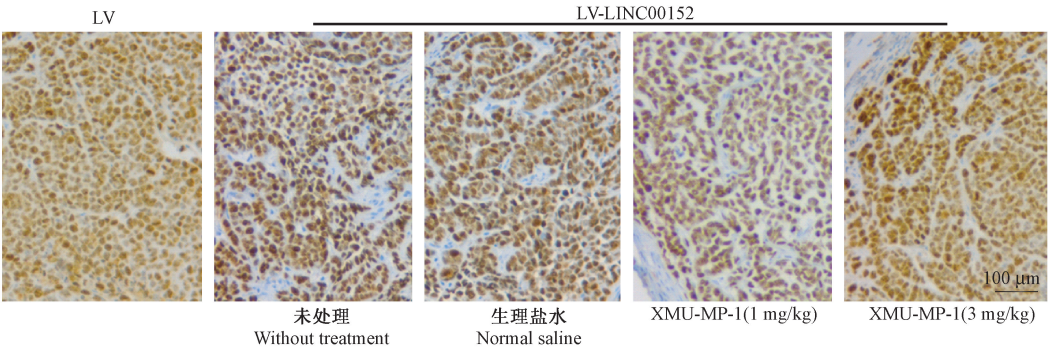


图 4 各组肿瘤组织 Ki67 蛋白表达变化(免疫组织化学染色,× 200)

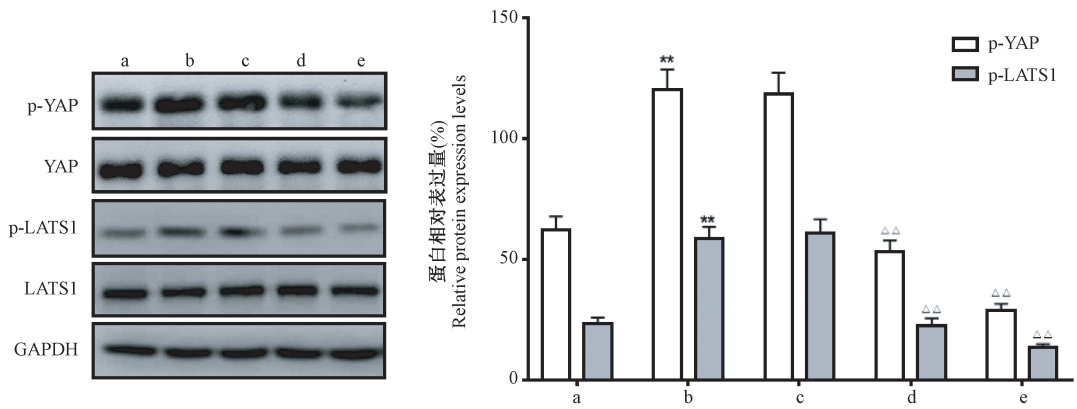
Figure 4 Changes of Ki67 protein expression in tumor tissues of each group. Immunohistochemical staining

XMU-MP-1 (3 mg/kg) 和 XMU-MP-1 (1 mg/kg) 处理后 p-YAP 和 p-LATS1 蛋白表达均显著下调 ($P < 0.01$),并存在剂量依赖性。见图 5。

3 讨论

长链非编码 RNA (long noncoding RNA, LncRNA) 是碱基组成从 200 nt 到 100 000 nt 的非编码 RNA,在细胞周期调控、表观遗传调控、转录调控及转录后调控等生物学过程中发挥重要作用,并涉及神经系统、心血管系统及恶性肿瘤等多种疾病^[9-10]。随着研究的深入,越来越多的 LncRNA 被发现与脑胶质瘤、白血病、乳腺癌、肝癌等恶性肿瘤的发生发展相关^[11-12]。LINC00152 是 LncRNA 家族的一员,异常表达于肝癌、胃癌及结肠癌等恶性肿瘤^[13-14]。最新研究显示,LINC00152 与脑胶质瘤临床不良预后相关,而下调 LINC00152 基因表达可抑制脑胶质瘤细胞的体内生长^[6]。提示,LINC00152 胶质瘤中可能发挥促癌效应,能促进脑胶质瘤细胞的体内生长。

本研究通过慢病毒转染法外源性上调脑胶质瘤 U251 细胞中 LINC00152 表达水平,嘌呤霉素筛选稳定表达 LINC00152 的细胞株。以 BALB/c 裸鼠建立脑胶质瘤 U251 荷瘤鼠模型发现,实验终点 LINC00152 过表达 U251 荷瘤鼠肿瘤体积和瘤重明显增大。提示,LINC00152 能促进 U251 荷瘤鼠肿瘤生长。这与文献报道相类似^[6]。Ki67 定位于细胞核,是目前临床常用的恶性肿瘤增殖活性衡量指标之一^[15]。本研究观察了 Ki67 的表达变化,发现 LINC00152 过表达 U251 荷瘤鼠肿瘤组织中 Ki67 表达强于对照。表明 LINC00152 能增强 U251 荷瘤鼠肿瘤组织细胞的增殖活性。重要的是,本研究还发现 U251 荷瘤鼠肿瘤组织中 p-YAP 和 p-LATS1 蛋白



注:a;LV 组;b;LV-LINC00152 组;c;LV-LINC0015 + 生理盐水组;d;LV-LINC0015 + 1 mg/kg XMU-MP-1 组;e;LV-LINC0015 + 3 mg/kg XMU-MP-1 组。与 LV 组相比, ** $P<0.01$;与 LV-LINC0015 + 生理盐水组相比, $\Delta\Delta P<0.01$ 。

图 5 各组肿瘤组织 p-YAP 和 p-LATS1 蛋白表达变化

Note. a, LV group. b, LV-LINC00152 group. c, LV-LINC0015 + normal saline group. d, LV-LINC0015 + 1 mg/kg XMU-MP-1 group. e, LV-LINC0015 + 3 mg/kg XMU-MP-1 group. Compared with the LV group, ** $P<0.01$. Compared with the LV-LINC0015 + normal saline group, $\Delta\Delta P<0.01$.

Figure 5 Changes of p-YAP and p-LATS1 protein expression in tumor tissues of each group

表达显著上调。LATS1 是 YAP 的上游信号靶点,当 LATS1 磷酸化后可引起下游效应物 YAP 磷酸化。文献报道,敲低脑胶质瘤 LN229 细胞中 YAP 的蛋白表达能显著抑制细胞增殖和 Ki67 蛋白表达^[16]。提示,p-YAP 参与 U251 荷瘤鼠肿瘤的增殖生长。XMU-MP-1 是研究已证实的 YAP 抑制剂,能够抑制 p-YAP 的表达^[17]。本研究进一步采用 XMU-MP-1 处理 LINC00152 过表达的 U251 荷瘤鼠。结果显示,XMU-MP-1 能显著抑制 p-YAP 和 p-LATS1 表达,同时还可抑制 TV 和瘤重的增加以及 Ki67 蛋白表达。提示,抑制 YAP 磷酸化能遏制 LINC00152 介导的 U251 荷瘤鼠肿瘤生长。

综上所述,本研究发现,LINC00152 能通过磷酸化 YAP 从而介导 U251 荷瘤鼠肿瘤生长。文献显示,在肝癌、肾癌中及膀胱癌等多种肿瘤细胞中,YAP 磷酸化后从细胞核转位至细胞质中,从而失去其直接的转录活性^[18-20]。提示本研究中 YAP 的生物学调节作用主要在细胞质中发挥。但其具体机制还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Byun HK, Kim N, Yoon HI, et al. Clinical predictors of radiation-induced lymphopenia in patients receiving chemoradiation for glioblastoma; clinical usefulness of intensity-modulated radiotherapy in the immuno-oncology era [J]. Radiat Oncol, 2019, 14(1): 51.

[2] Smith SJ, Tyler BM, Gould T, et al. Overall survival in malignant glioma is significantly prolonged by neurosurgical

delivery of etoposide and temozolomide from a thermo-responsive biodegradable paste [J]. Clin Cancer Res, 2019, 25 (16): 5094-5106.

[3] Nötzold L, Frank L, Gandhi M, et al. The long non-coding RNA LINC00152 is essential for cell cycle progression through mitosis in HeLa cells [J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 2265.

[4] Ji J, Tang J, Deng L, et al. LINC00152 promotes proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting EpCAM via the mTOR signaling pathway [J]. Oncotarget, 2015, 6 (40): 42813-42824.

[5] Yue B, Cai D, Liu C, et al. Linc00152 functions as a competing endogenous RNA to confer oxaliplatin resistance and holds prognostic values in colon cancer [J]. Mol Ther, 2016, 24 (12): 2064-2077.

[6] Wang W, Wu F, Zhao Z, et al. Long noncoding RNA LINC00152 is a potential prognostic biomarker in patients with high-grade glioma [J]. CNS Neurosci Ther, 2018, 24(10): 957-966.

[7] Reon BJ, Takao Real Karia B, Kiran M, et al. LINC00152 promotes invasion through a 3'-hairpin structure and associates with prognosis in glioblastoma [J]. Mol Cancer Res, 2018, 16 (10): 1470-1482.

[8] 梁明, 张亦磊, 范志刚, 等. 乳腺癌组织中 Yes 相关蛋白的表达及其与肿瘤侵袭转移的关系 [J]. 中华实验外科杂志, 2016, 33(4): 914-916.

[9] 鲁首男, 战铁翔, 苏志雷, 等. HOXA11-AS 在恶性肿瘤中的表达及作用研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(2): 111-115.

[10] Zhang X, Tao W. Long noncoding RNA LINC00152 facilitates the leukemogenesis of acute myeloid leukemia by promoting CDK9 through miR-193a [J]. DNA Cell Biol, 2019, 38(3): 236-242.