

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2018.01.014

· 基础研究 ·

## lncRNA MALAT1 调控 miR-204 表达影响胰腺癌细胞的生物学行为

张小路<sup>a</sup>, 杜梅红<sup>bΔ</sup> (河南中医药大学第二附属医院 河南省中医院 a. 普外二科; b. 放射科, 河南 郑州 450002)

**[摘要]** **目的:** 探讨长链非编码 RNA (long chain non-coding RNA, lncRNA) 肺腺癌转移相关转录因子 1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1) 通过调控 miR-204 的表达影响胰腺癌细胞恶性生物学行为的作用及其可能机制。 **方法:** 收集 2016 年 10 月至 2016 年 12 月在河南省中医院 6 例胰腺癌手术切除标本及其对应的癌旁组织标本。用实时荧光定量 PCR 检测胰腺癌组织和癌旁组织、5 种胰腺癌细胞 (BxPC-3、HS-7667、PANC-1、AsPC-1 和 SW-1990) 中 lncRNA MALAT1 的表达, 双荧光素酶报告基因检测 MALAT1 与 miR-204 的相互作用, 流式细胞术分析 MALAT1 对胰腺癌细胞的细胞周期及细胞凋亡的影响; 划痕愈合实验和 Transwell 侵袭实验检测 MALAT1 和 miR-204 对胰腺癌细胞迁移和侵袭能力的影响, Western blotting 检测 MALAT1 对上皮间质转化相关蛋白的影响。 **结果:** lncRNA MALAT1 在胰腺癌组织中表达水平明显高于癌旁组织 ( $1.85 \pm 0.52$  vs  $0.34 \pm 0.12$ ,  $P < 0.05$ ), MALAT1 在 SW-1990 细胞中的表达水平最高 ( $P < 0.05$ )。lncRNA MALAT1 能与 miR-204 的 3' UTR 特异性结合, 调控 miR-204 的表达活性。抑制 MALAT1 表达后, 可诱导 SW-1990 细胞 G2/M 细胞周期停滞、促进细胞凋亡, SW-1990 细胞的迁移和侵袭能力减弱 (均  $P < 0.05$ ), 下调 SW-1990 细胞 N-cadherin、E-cadherin 和 vimentin 的表达。过表达 miR-204 可促进 SW-1990 细胞迁移和侵袭。 **结论:** lncRNA MALAT1 通过靶向调控 miR-204 表达影响胰腺癌细胞的恶性生物学行为, 在胰腺癌的发生发展过程中起重要作用。

**[关键词]** 胰腺癌; SW-1990 细胞; lncRNA MALAT1; 微小 RNA-214 (miR-204); 迁移; 侵袭

**[中图分类号]** R735.9; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2018)01-0079-06

## Long chain non-coding MALAT1 affects biological behavior of pancreatic cancer cells by regulating miR-204 expression

ZHANG Xiaolu<sup>a</sup>, DU Meihong<sup>bΔ</sup> (a. Second Department of General Surgery; b. Department of Radiology, Henan Traditional Chinese Medicine & Second Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450002, Henan, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of long-chain non-coding RNA metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 (lncRNA MALAT1) on the malignant biological behavior of pancreatic cancer cells by regulating miR-204 expression and its possible mechanisms. **Methods:** Six pairs of pancreatic cancer tissues and corresponding para-cancerous tissues were sampled during surgery from October 2016 to December 2016 in Henan Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine. qPCR was used to detect the expression of lncRNA MALAT1 in pancreatic cancer tissues, adjacent normal tissues and different pancreatic cancer cells (BxPC-3, HS-7667, PANC-1, AsPC-1 and SW-1990). Double luciferase reporter gene assay was used to detect the interaction between MALAT1 and miR-204. Flow cytometry was used to determine the effect of MALAT1 on cell cycle and apoptosis of pancreatic cancer cells. The effects of MALAT1 and miR-204 on the migration and invasion of pancreatic cancer cells were examined by Wound-healing assay and Transwell invasion assay, respectively. The effect of MALAT1 on EMT-related proteins was detected by Western blotting. **Results:** Compared with para-cancer tissue, the expression of lncRNA MALAT1 in pancreatic cancer tissues was significantly increased ( $1.85 \pm 0.52$  vs  $0.34 \pm 0.12$ ,  $P < 0.05$ ). The expression level of lncRNA MALAT1 in pancreatic cancer SW-1990 cell line was the highest ( $P < 0.05$ ). lncRNA MALAT1 could bind specifically to the 3' UTR of miR-204 to modulate the expression of miR-204. Inhibition of MALAT1 expression could induce G2/M cell cycle arrest, and thus promote SW-1990 cell apoptosis; moreover, the ability of migration

**[基金项目]** 河南省科技攻关项目资助 (No.142102310040)。Project supported by the Science and Technology Breakthrough Project of Henan Province (No.142102310040)

**[作者简介]** 张小路 (1976-), 男, 硕士, 主治医师, 主要从事肝胆胰脾疾病的发生机制研究及临床治疗, E-mail: happy\_lud@163.com; 杜梅红 (1979-), 女, 硕士, 主治医生, 主要从事肝胆胰脾疾病的影像学诊断及研究, E-mail: 872539628@qq.com。Δ 共同第一作者

and invasion of SW-1990 cells was weakened and EMT-related proteins (N-cadherin, E-cadherin and vimentin) were down-regulated after inhibiting the expression of MALAT1. However, over-expression of miR-204 could promote the migration and invasion of SW-1990 cells. **Conclusion:** lncRNA MALAT1 plays an important role in the development and progression of pancreatic cancer. It can regulate the malignant biological behavior of pancreatic cancer cells by targeting miR-204.

**[Key words]** pancreatic cancer; SW-1990 cell; lncRNA MALAT1; miR-204; migration; invasion

[Chin J Cancer Biother, 2018, 25(1): 79-84. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2018.01.014]

胰腺癌是一种恶性程度极高、早期发现率极低、5年存活率低于5%、预后最差的恶性肿瘤之一<sup>[1-2]</sup>。晚期胰腺癌具有高度远处转移倾向和局部浸润,而且大部分胰腺癌对化疗药物具有明显耐药<sup>[3]</sup>。因此,研究胰腺癌的发病机制和分子靶点对该病的早期诊治具有重要的临床意义。有许多研究<sup>[4-5]</sup>表明,长链非编码RNA(long chain non-coding RNA, lncRNA)是参与恶性肿瘤发生和转移的重要因子,不同类型肿瘤中有不同的转录因子在肿瘤细胞的发生和转移中扮演诱导调控的角色。肺腺癌转移相关转录因子1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, MALAT1)是一类长度为8 700 nt、高度保守的lncRNA,尽管其首先在肺腺癌中被发现,但在后续研究中发现其在多种肿瘤中表达<sup>[6]</sup>。在多数情况下, MALAT1不仅在肿瘤组织中高表达,而且其表达水平与患者临床病理参数密切相关,并可能参与调控肿瘤的进展<sup>[7]</sup>。然而MALAT1在胰腺癌中的表达及其生物学机制研究报道不多,尤其是其与下游相关miRNA靶点的相互作用机制研究。本研究通过检测MALAT1在胰腺癌组织和细胞系中的表达水平,选择适合的胰腺癌SW-1990细胞验证MALAT1和miR-204的相互关系,通过抑制MALAT1表达观察SW-1990细胞的迁移、侵袭、细胞周期和凋亡等生物学行为的变化,以及与上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)的可能联系,旨在探讨MALAT1和miR-204在胰腺癌中作用及其可能机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 标本、细胞系和主要试剂

收集2016年10月至2016年12月在河南省中医院6例胰腺癌手术切除标本及其对应的癌旁组织标本,经病理学确诊为胰腺癌。人胰腺癌细胞系BxPC-3、HS-7667、PANC-1、AsPC-1和SW-1990从武汉大学细胞研究所获得,人肾上皮细胞系293T细胞购自碧云天生物公司。RPMI 1640培养基购自美国GIBCO公司,神经钙黏素(N-cadherin)、上皮钙黏素(E-cadherin)和波形蛋白(vimentin)抗体(ab3993、ab32429和ab176662)购自美国Abcam公司,miR-204-模拟物(mimic)、NC-siRNA和MALAT1-siRNA购自上海吉

凯制药技术有限公司,实时荧光定量PCR(qPCR)引物以及RNA提取试剂盒、逆转录试剂盒、PCR试剂盒均购自上海吉玛基因有限公司。TRIzol购于Invitrogen公司。双荧光素报告基因载体购自上海吉玛基因有限公司。

### 1.2 细胞培养及分组

将上述细胞置于10%胎牛血清、100 U/ml青霉素钠和100 μg/ml链霉素的RPMI 1640培养基中,在5% CO<sub>2</sub>、37 °C恒温箱中孵育。孵育72 h后,待细胞汇合度达到60%~70%时进行后续实验。将MALAT1-siRNA和NC-siRNA用Lipo2000转染进入SW-1990细胞中,稳定转染后分别命名为MALAT1-siRNA组和NC组。

### 1.3 qPCR检测胰腺癌组织和细胞系中MALAT1的表达

使用TRIzol从组织和细胞系中提取总RNA,并通过测量其在260 nm处的光密度(D)值,来定量测定总RNA的浓度。通过qPCR测定胰腺癌组织和细胞中的相对miR-204、MALAT1水平,用GAPDH作为内部对照。引物序列: MALAT1上游为5'-ACTTCTGAATGAGGCTTCAG-3',下游为5'-UGAAGCGCCGCGTGTAAACG-3'; miR-204上游为5'-ACGCGTGTAGTAGCTGCTGAG-3',下游为5'-GCGGUAUCGUAUCGUAUGCUAG-3'。反应条件:95 °C预变性10 min,95 °C变性15 s,60 °C退火32 s,循环50次后检测其熔解曲线,检测完成后,通过计算机系统自动分析各样本Ct值,然后采用2<sup>-ΔΔCt</sup>公式计算目的RNA的相对表达量。实验重复3次。

### 1.4 双荧光素酶报告基因法检测MALAT1与miR-204之间的关系

为进一步确证MALAT1能够靶向作用于miR-204,将miR-204的3'UTR区构建入荧光素酶报告基因载体,与lncMALAT1共同转染进入293T细胞。本次所用的双荧光素酶报告基因实验的载体包含两个荧光素酶报告基因:一个是海肾荧光素酶报告基因,另一个是萤火虫荧光素酶报告基因,后者作为内参对照。将上述基因的3'UTR构建到海肾荧光素酶报告基因的直接下游区,如果3'UTR能够被MALAT1识别,则该3'UTR前面的基因表达将被抑制,与内参之间的

比例会发生变化。将 293T 细胞接种在 24 孔板中,分别用报告基因载体和 miR-204 模拟物转染 24 h,后根据制造商的说明书,用双荧光素酶测定系统(Promega 公司)进行荧光素酶报告分析。

### 1.5 MTT 法检测 SW-1990 细胞的增殖

将对数生长期的 MALAT-siRNA 和 NC 组胰腺癌细胞用胰蛋白酶消化后,制成单细胞悬浮液并以  $1 \times 10^3$  细胞/孔的密度接种到 24 孔板中,设 3 个平行孔。在细胞培养 7 d 后,加入 20  $\mu$ l MTT 测定液,充分混合后在 37  $^{\circ}$ C 下孵育 4~6 h,后吸出上清液,每孔加入 150  $\mu$ l DMSO,室温下搅拌 10 min,分别在 24、48、72 和 96 h 时测定各孔波长 490 nm 处的 *D* 值,观察胰腺癌细胞的增殖情况。实验重复 3 次。

### 1.6 流式细胞术检测 SW-1990 细胞凋亡及细胞周期

将密度为  $1 \times 10^5$  细胞的 MALAT-siRNA 和 NC 组 SW-1990 细胞接种于 6 孔板内(2 ml/孔),每组均设 3 个平行孔,装于 EP 管内,在 4  $^{\circ}$ C 以  $200 \times g$  离心 15 min,弃上清液后 PBS 轻柔混匀、离心,重复洗涤 3 次。检测细胞周期时予每管加细胞固定液(含 70% 乙醇、5%FBS 和 25%PBS) 200  $\mu$ l 固定 1 h 后离心,弃上清液,继用 PBS 洗涤 2 次,方法同前,弃上清,避光条件下,每管加 100  $\mu$ l PI,静置 30 min,加 300  $\mu$ l PBS 混匀,上流式细胞仪检测。检测细胞凋亡则用 400  $\mu$ l 结合缓冲液悬浮细胞,加入 5  $\mu$ l Annexin V-FITC 混匀后于 2~8  $^{\circ}$ C 避光条件下孵育 15 min,后加入 10  $\mu$ l PI 同等条件下孵育 5 min,1 h 内上流式细胞仪检测。实验重复 3 次。

### 1.7 划痕愈合实验检测 SW-1990 细胞的迁移能力

将培养 48 h 的 MALAT-siRNA 和 NC 组 SW-1990 细胞用胰蛋白酶消化,并将细胞平铺在 6 孔板上( $1 \times 10^5$  细胞/孔),设 3 个平行孔。使用 200  $\mu$ l 无菌枪头轻划孔板,每孔划 4~5 次,尽量保证所划线处于平行状态,放置于 37  $^{\circ}$ C 恒温细胞培育箱,在 72 h 后分别用适量 PBS 冲洗孔板,显微镜下观察细胞的迁移距离。实验重复 3 次。

### 1.8 Transwell 侵袭实验检测 SW-1990 细胞的侵袭能力

使用含有 Matrigel 基质胶进行侵袭能力测定。将 MALAT-siRNA 和 NC 组约  $2 \times 10^4$  个 SW-1990 细胞接种在 Transwell 上室中,培养 24 h 后,使用甲醇固定渗透膜、结晶紫染色。在光学显微镜( $\times 40$ )下计数穿膜细胞数,取 5 个视野(用细胞计数板对穿膜细胞数进行计数)。

### 1.9 Western blotting 检测抑制 MALAT-1 表达对 SW-1990 细胞相关蛋白表达的影响

用 SDS-PAGE 分离 MALAT-siRNA 和 NC 组 SW-

1990 细胞总蛋白,并将其转移到硝酸纤维素膜。用 5% 脱脂牛奶充分封膜,并与 N-cadherin(1:1 000)、E-cadherin(1:2 000)、vimentin 抗体(1:1 000)和内参 GAPDH(1:2 000)抗体 4  $^{\circ}$ C 孵育过夜。次日 TBST 缓冲液冲洗后,用 HRP 标记的二抗(1:5 000)孵育 2 h,充分冲洗后,用增强的化学发光试剂 ECL 显影液检测目标蛋白的表达水平。实验重复 3 次。

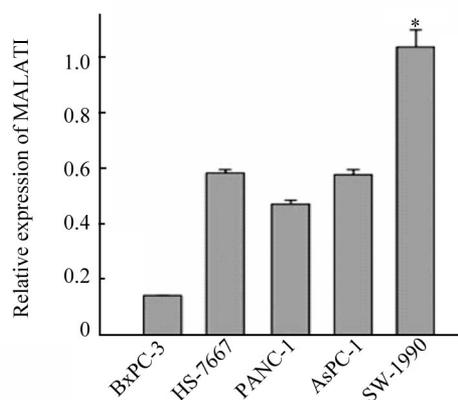
### 1.10 统计学处理

应用 SPSS 16.0 统计学软件,计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较 *t* 检验,多组间比较用 *F* 检验。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MALAT1 在胰腺癌组织和细胞系中高表达

qPCR 检测结果显示,MALAT1 在胰腺癌组织中的表达水平显著高于癌旁组织( $1.85 \pm 0.52$  vs  $0.34 \pm 0.12$ ,  $t = 11.28$ ,  $P < 0.05$ );在胰腺癌各细胞系(图 1)中,SW-1990 细胞中 MALAT1 的表达水平最高 [ $F = 12.27$ ,  $P < 0.05$ ],因此选取 SW-1990 细胞进行后续实验。



\* $P < 0.05$  vs other pancreatic cancer cell lines

图 1 MALAT1 在胰腺癌细胞株中的表达

Fig.1 Expression of MALAT1 in pancreatic cancer cell lines

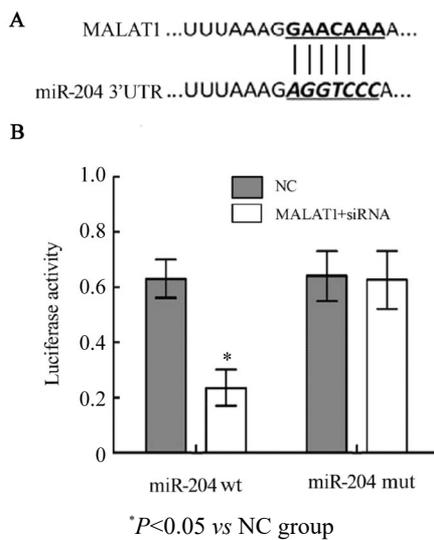
### 2.2 MALAT1 直接调控 miR-204 表达

经 TargetScan 网站预测结果(图 2A)显示, MALAT1 和 miR-204 之间有相似的结合位点,推测 MALAT1 可能对 miR-204 有一定的调控作用。双荧光素酶报告基因法检测结果(图 2B)显示,当共转染 MALAT1 进入 293T 细胞后,野生型的 miR-204 3' UTR 报告基因的相对荧光素酶活性显著受到抑制( $t = 13.15$ ,  $P > 0.05$ ),相比之下,突变型 miR-204 3' UTR 报告基因的荧光素酶活性不受 MALAT1 共转染的影响( $t = 11.83$ ,  $P < 0.05$ )。结果表明, MALAT1 可以结合 miR-204 的 3' UTR 处序列

抑制其蛋白的表达,提示MALAT1可直接调控miR-204表达及活性。

### 2.3 抑制MALAT-1表达使SW-1990细胞G2/M期停滞并促进其凋亡

流式细胞术检测结果(图3A)显示,抑制MALAT1表达后,胰腺癌SW-1990细胞的凋亡细胞数目相对增多,细胞的增殖受到一定程度抑制。细胞周期实验(图3B)显示,抑制MALAT1表达后,G2/M期细胞比例分数从(14.0±0.9)%上升到(23.9±0.7)%( $P < 0.05$ )。结果表明,抑制MALAT1表达可以诱导G2/M细胞周期停滞,进而促进胰腺癌SW-1990细胞凋亡。



A: Results of TargetScan website predicts; B: Biluciferase reporter gene method

图2 双荧光素酶实验检测MALAT1和miR-204之间的调控关系

Fig. 2 The regulatory relationship between MALAT1 and miR-204 determined by double luciferase assay

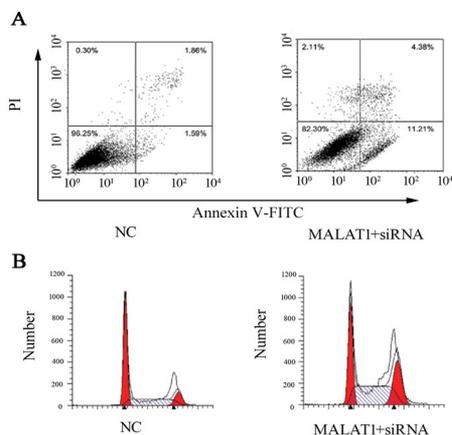


图3 MALAT1对胰腺癌SW-1990细胞凋亡(A)及细胞周期(B)的影响

Fig. 3 Effects of MALAT1 on apoptosis(A) and cell cycle(B) of pancreatic cancer SW-1990 cells

### 2.4 抑制MALAT1表达降低SW-1990细胞的迁移和侵袭能力

划痕愈合实验结果(图4A)表明,与NC细胞组比较,在72 h时,MALAT1+siRNA转染细胞组迁移距离明显减少[(0.42±0.08) vs (1.01±0.14)  $\mu\text{m}$ ,  $t=12.34$ ,  $P < 0.05$ )。Transwell实验结果(图4B)显示,抑制MALAT1表达后,SW-1990细胞穿膜细胞数明显少于NC组细胞[(42.15±6.76) vs (118.49±15.34)个,  $t=12.85$ ,  $P < 0.05$ ]。结果表明,抑制MALAT1表达可以降低胰腺癌SW-1990细胞的迁移及侵袭能力。

### 2.5 过表达miR-204促进SW-1990细胞迁移和侵袭

划痕愈合实验结果(图5A)显示,MALAT1+siRNA+miR-204-mimic组SW-1990细胞迁移距离显著大于MALAT1+siRNA组(1.08±0.21) vs (0.31±0.05)  $\mu\text{m}$ ,  $t=14.26$ ,  $P < 0.05$ )。Transwell侵袭实验结果(图5B)显示,MALAT1+siRNA+miR-204-mimic组SW-1990细胞穿膜细胞数显著多于MALAT1+siRNA组细胞[(128.33±14.65) vs (31.08±4.26)个,  $t=12.99$ ,  $P < 0.05$ ]。结果表明,过表达miR-204后可以逆转MALAT1+siRNA对SW-1990细胞迁移和侵袭的抑制作用,从侧面说明了MALAT1和miR-204之间有间接的调控关系。

### 2.6 抑制MALAT1表达下调SW-1990细胞EMT相关蛋白的表达

Western blotting检测结果(图6)显示,SW-1990细胞的N-cadherin、E-cadherin和vimentin的表达水平随着MALAT1水平的降低而下降,表明抑制MALAT1表达后可以在一定程度上下调EMT相关蛋白的表达[N-cadherin: (21.3 ± 4.2) vs (62.3 ± 5.2)  $\mu\text{g}$ ,  $P < 0.05$ ; E-cadherin: (28.4 ± 6.2) vs (84.6 ± 7.6)  $\mu\text{g}$ ,  $P < 0.05$ ; vimentin: (15.4 ± 3.8) vs (78.8 ± 6.5)  $\mu\text{g}$ ,  $P < 0.05$ ],可能参与EMT过程调控胰腺癌细胞的恶性生物学行为。

## 3 讨论

目前已着手研究lncRNA在各种类型肿瘤细胞中的作用,包括参与肿瘤细胞分化、发育和发展的复杂过程<sup>[9-10]</sup>。lncRNA研究也开辟了肿瘤治疗的新的研究方向。

MALAT1,也称为核富集转录物2(nuclear enrichment transcript 2, NEAT 2),是一类广泛表达参与基因调控的lncRNA,其可以选择性地剪接或干扰基因表达<sup>[11]</sup>。MALAT1在许多实体瘤中呈过表达状态,如肝细胞癌<sup>[12]</sup>、胃癌<sup>[13]</sup>和胆囊癌<sup>[14]</sup>等等,并在肿瘤的发生发展过程中起重要作用。考虑MALAT1可能参与肿瘤细胞的增殖、迁移、侵袭以及上皮间质转化

(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等多方面的生物学过程,因此本实验研究了MALAT1在胰腺癌组织中的具体作用。研究结果发现,胰腺癌组织中MALAT1表达水平显著高于癌旁组织。有研究<sup>[15]</sup>显示,MALAT1表达水平与肿瘤大小、肿瘤分期和浸润深度呈正相关。

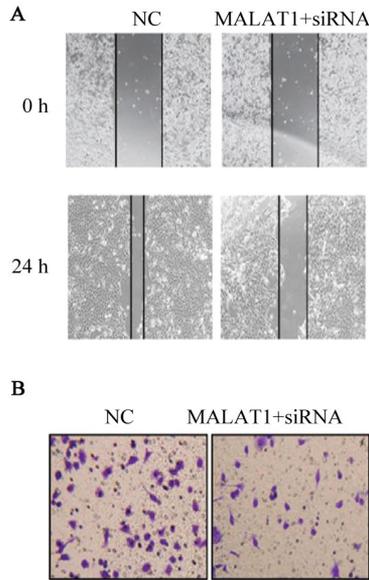


图4 MALAT1对胰腺癌SW-1990细胞迁移(A)和侵袭(B)能力的影响(结晶紫染色,×40)

Fig. 4 Effects of MALAT1 on migration(A) and invasion(B) of pancreatic cancer SW-1990 cells (Crystal violet staining,×40)

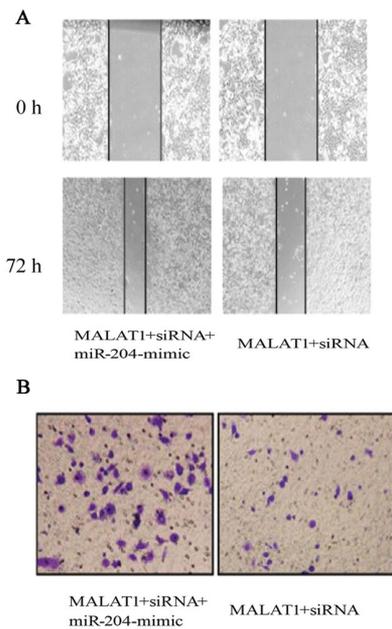


图5 过表达miR-204对胰腺癌SW-1990细胞迁移(A)和侵袭(B)的影响(结晶紫染色,×40)

Fig. 5 Effects of miR-204 over-expression on migration(A) and invasion(B) of pancreatic cancer SW-1990 cell line (Crystal violet staining, ×40)

有研究<sup>[16]</sup>指出,MALAT1的表达可参与到肿瘤细胞的发生发展过程。Li等<sup>[17]</sup>发现,MALAT1可调控胰腺癌细胞的生物学行为,且其表达水平和患者肿瘤临床分期及预后相关。基因表达数据库还支持MALAT1在肿瘤细胞信号转导中起调控作用的假说,表明抗炎、抗凋亡反应以及EMT等相关基因(如*ATK1*、*Bcl-2*和*E-cadherin*等)都可以被MALAT1激活<sup>[18-20]</sup>。上述观察结果与MALAT1在肿瘤调控领域的功能研究报道一致,表明MALAT1在调控肿瘤细胞的生物学行为中起关键作用。

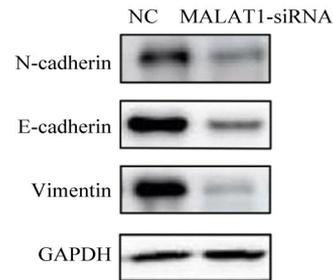


图6 抑制MALAT1表达对SW-1990细胞EMT相关蛋白表达的影响

Fig. 6 Effect of inhibiting MALAT1 expression on EMT related protein expressions in SW-1990 cells

生物信息学也支持MALAT1与miR-204之间具有相互作用,但是在胰腺癌细胞中的具体作用机制尚未明了。miRNA介导部分功能蛋白,激活不同的信号调控途径,对胰腺癌细胞的生物学行为起调控作用<sup>[21]</sup>。本研究发现miR-204作为致癌因子通过逆向调控MALAT1的表达,对胰腺癌细胞的迁移和侵袭进行双向调控。上游MALAT1调控miR-204表达,抑制胰腺癌SW-1990细胞的增殖、迁移和侵袭,有研究<sup>[22]</sup>表明,EMT相关蛋白在胰腺癌细胞发生过程中起关键作用,可诱导释放驱动肿瘤的各种生长因子进而影响细胞的增殖和凋亡。本研究结果发现,抑制MALAT1表达可以降低EMT相关蛋白(N-cadherin、E-cadherin和vimentin)的表达。此外,观察到胰腺癌SW-1990细胞在MALAT1下调后细胞形态发生变化,证实了MALAT1可以影响胰腺癌细胞的EMT过程。上述结果表明,MALAT1可以和miR-204相互作用参与胰腺癌发生发展的过程,可以作为胰腺癌的临床生物标志物和治疗靶标。

本文通过对胰腺癌细胞的恶性生物学行为的检测发现,MALAT1可以通过与miR-204相互作用调控胰腺癌细胞的EMT过程,从而促进胰腺癌细胞的凋亡,抑制其增殖、侵袭和迁移,据此笔者推测,在生理状态下,MALAT1保持相对稳定的表达状态,当受到外界干扰因素或自身微环境变化影响抑制miR-204

表达进入病理状态时,细胞自身的平衡状态受到干扰,可能引起胰腺癌细胞突变,进而诱导细胞生物学行为的改变。

总之,本实验阐明了MALAT1和miR-204在胰腺癌中发生发展中的作用,并简要阐述其通过调控EMT的作用方式及机制,其有可能为胰腺癌的早期诊断和基因靶向治疗提供一定参考意见。

## [参考文献]

- [1] VON HOFF D D, ERVIN T, ARENA F P, et al. Increased survival in pancreatic cancer with nab-paclitaxel plus gemcitabine[J]. *New Eng J Med*, 2013, 369(18): 1691-1703. DOI: 10.1056/NEJMoa1304369.
- [2] SON J, LYSSIIOTIS C A, YING H, et al. Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway [J]. *Nature*, 2013, 496(7443): 101-105. DOI: 10.1038/nature12040.
- [3] 于琦, 赵平, 王成锋. 胰腺癌预后相关因素分析[J]. *中国临床医生*, 2014, 2014(3): 23-26. DOI: 10.3969/j.issn.1008-1089.2014.03.009.
- [4] LI H, YU B, LI J, et al. Overexpression of lncRNA H19 enhances carcinogenesis and metastasis of gastric cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2014, 5(8): 2318-2329[2017-09-20]. <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC4039165&blobtype=pdf>. DOI: 10.18632/oncotarget.1913.
- [5] CHEETHAM S W, GRUHL F, MATTICK J S, et al. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer[J]. *Brit J Cancer*, 2013, 108(12): 2419-2425. DOI: 10.1038/bjc.2013.233.
- [6] JIAO F, HU H, HAN T, et al. Long noncoding RNA MALAT-1 enhances stem cell-like phenotypes in pancreatic cancer cells[J/OL]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(4): 6677-6693[2017-09-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4424983/>. DOI:10.3390/ijms16046677.
- [7] 张军旗, 祝德. 长链非编码 RNA MALAT1 与非小细胞肺癌患者肿瘤复发和预后的相关性研究[J]. *广西医科大学学报*, 2016, 33(3): 459-463. DOI: 10.161902/j.cnki.45-1211/r.2016.03.024.
- [8] GROTE P, WITTLER L, HENDRIX D, et al. The tissue-specific lncRNA Fendrr is an essential regulator of heart and body wall development in the mouse[J]. *Dev Cell*, 2013, 24(2): 206-214. DOI: 10.1016/j.devcel.2012.12.012.
- [9] ENGREITZ J M, PANDYA-JONES A, MCDONEL P, et al. The Xist lncRNA exploits three-dimensional genome architecture to spread across the X chromosome[J]. *Science*, 2013, 341(6147): 1237973. DOI: 10.1126/science.1237973.
- [10] YANG L, LIN C, JIN C, et al. LncRNA-dependent mechanisms of androgen receptor-regulated gene activation programs[J]. *Nature*, 2013, 500(7464): 598-602. DOI: 10.1038/nature12451.
- [11] 马丁丁, 陈艳, 王熙才. MALAT-1 在肿瘤中的作用及其机制[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2015 (4): 541-544. DOI: 10.16582/j.cnki.48-6851/r.2015.04.541.
- [12] 姚凯, 张光军, 黄忠明, 等. 长链非编码 RNAMALAT1 在肝癌中表达及功能研究[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(1): 90-96. DOI: 10.164502/j.cnki.45-1321/r.2016.03.024.
- [13] QI Y, OOI H S, WU J, et al. MALAT1 long ncRNA promotes gastric cancer metastasis by suppressing PCDH10[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(11): 12693-12703[2017-09-20]. DOI: 10.18632/oncotarget.7281.
- [14] ZHENG H T, SHI D B, WANG Y W, et al. High expression of lncRNA MALAT1 suggests a biomarker of poor prognosis in colorectal cancer[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(6): 3174-3181. DOI: 10.1047/srep38314.
- [15] WU M, LIN Z, LI X, et al. Huc cooperates with MALAT1 to aggravate liver cancer stem cells growth through telomere repeat-binding factor 2[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 36045[2017-09-20]. <http://europepmc.org/backend/ptpmcrender.fcgi?accid=PMC5080550&blobtype=pdf>. DOI: 10.1038/srep36045.
- [16] 赵斌, 吴毓婷, 黄成, 等. 沉默 MALAT1 基因对蜂毒素诱导 HepG2 细胞增殖和凋亡的影响[J]. *中国药理学通报*, 2016, 2016(2): 211-216. DOI: 10.196422/j.cnki.47-6241/r.2016.02.211.
- [17] LI L, CHEN H, GAO Y, et al. Long noncoding RNA MALAT1 promotes aggressive pancreatic cancer proliferation and metastasis via the stimulation of autophagy[J]. *Mol Cancer Ther*, 2016, 15(9): 2232-2243. DOI: 10.1158/1535-7163.
- [18] KIM G W, HONG J Y, YU S Y, et al. Integrative analyses of differential gene expression and DNA methylation of ethylbenzene-exposed workers[J]. *Bio Chip J*, 2015, 9(3): 259-267. DOI: 10.14562/biochip.7156.
- [19] SCHMIDT L H, GÖRLICH D, SPIEKER T, et al. Prognostic impact of Bcl-2 depends on tumor histology and expression of MALAT-1 lncRNA in non-small-cell lung cancer[J]. *J Thoracic Oncol*, 2014, 9(9): 1294-1304. DOI: 10.1097/JTO.0000000000000243.
- [20] HAN T, JIAO F, HU H, et al. EZH2 promotes cell migration and invasion but not alters cell proliferation by suppressing E-cadherin, partly through association with MALAT-1 in pancreatic cancer[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(10): 11194[2017-09-20]. <http://www.doc88.com/p-9743589195294.html>. DOI:10.18632/oncotarget.7156.
- [21] 刘哲, 葛春林, 龙锦, 等. MicroRNA-204 在胰腺癌组织中的表达及其对胰腺癌细胞系 BxPC3 上皮间质转化的影响[J]. *世界中医药*, 2016, 2016(B06): 1833-1834. DOI: 10.196422/j.cnki.43-5421/r.2016.06.831.
- [22] YU C C, CHEN P N, PENG C Y, et al. Suppression of miR-204 enables oral squamous cell carcinomas to promote cancer stemness, EMT traits, and lymph node metastasis[J/OL]. *Oncotarget*, 2016, 7(15): 20180[2017-09-20]. <http://www.doc88.com/p-6951371836501>. DOI: 10.18632/oncotarget.7745.

[收稿日期] 2017-09-18

[修回日期] 2017-11-21

[本文编辑] 党瑞山