

DOI: 10.3872/j.issn.1007-385x.2020.10.003

· 基础研究 ·

## lncRNA SNHG15 靶向 miR-153 对乳腺癌细胞线粒体途径凋亡的影响

吴超, 王彩星, 韩瑜娇, 牛桂芳(山西中医药大学 临床外科教研室, 山西 太原 030001)

**[摘要]** **目的:** 探讨 lncRNA SNHG15 靶向 miR-153 对乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响及其凋亡机制。 **方法:** 用实时荧光定量 PCR (qPCR) 检测乳腺癌细胞系 MDA-MB-231、BT-549 和 MCF-7 中 SNHG15 表达水平。将 MDA-MB-231 细胞分为对照 (Ctrl) 组、si-NC 组、si-SNHG15 组、si-SNHG15+anti-NC 组及 si-SNHG15+anti-miR-153 组, 用 MTT 法及流式细胞术分别检测细胞的增殖活力和凋亡率。用双荧光素酶报告基因实验验证 SNHG15 和 miR-153 的靶向关系。用线粒体膜电位荧光探针 (JC-1) 染色法检测细胞线粒体膜电位, 用 Western blotting 检测线粒体途径凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、caspase3、cleaved caspase3 (c-caspase3) 和 Cyt-C 的表达水平。 **结果:** SNHG15 在 3 种乳腺癌细胞中的表达水平均明显高于人正常乳腺上皮细胞 MCF10A (均  $P < 0.01$ )。SNHG15 与 miR-153 存在靶向关系。沉默 SNHG15 后, 与对照组比较, si-SNHG15 组 MDA-MB-231 细胞增殖活力明显降低、凋亡率升高、线粒体膜电位降低 (均  $P < 0.01$ ); 细胞中 Bcl-2 和 caspase3 表达降低, Bax、c-caspase3 和 Cyt-C 表达升高 (均  $P < 0.01$ )。si-SNHG15 与 anti-miR-153 共同转染 MDA-MB-231 细胞后, 可减弱 si-SNHG15 对细胞增殖、凋亡、线粒体膜电位及 Bcl-2、Bax、caspase3、c-caspase3 和 Cyt-C 表达的影响 (均  $P < 0.01$ )。 **结论:** lncRNA SNHG15 可靶向调控 miR-153 诱导 MDA-MB-231 细胞凋亡, 其机制可能与调控细胞线粒体途径凋亡有关。

**[关键词]** 长链非编码 SNHG15; miR-153; 乳腺癌; MDA-MB-231 细胞; 凋亡; 线粒体途径

**[中图分类号]** R737.9; R730.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1007-385X(2020)10-1087-06

## Effect of lncRNA SNHG15 targeting miR-153 on apoptotic of mitochondrial pathway in breast cancer cells

WU Chao, WANG Caixing, HAN Yujiao, NIU Guifang (Department of Clinical Surgery, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030001, Shanxi, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of lncRNA SNHG15 targeting miR-153 on cell viability and apoptosis of breast cancer cells and its apoptotic mechanism. **Methods:** The expression of SNHG15 in breast cancer cell lines (MDA-MB-231, BT-549 and MCF-7) were detected by Real-time fluorescent quantitative PCR (qPCR). MDA-MB-231 cells were divided into control (Ctrl) group, si-NC group, si-SNHG15 group, si-SNHG15+anti-NC group and si-SNHG15+anti-miR-153 group. Cell viability and apoptosis rate were detected by MTT and Flow cytometry, respectively. The targeting relationship between SNHG15 and miR-153 was verified by Dual luciferase report gene system. Mitochondrial membrane potential fluorescent probe (JC-1) staining method was used to detect cell mitochondrial membrane potential. The expressions of mitochondrial apoptosis-related proteins (Bcl-2, Bax, caspase3, cleaved caspase3 [c-caspase3] and Cyt-C) were detected by Western blotting. **Results:** The expression of SNHG15 in breast cancer cells was significantly higher than that in human normal mammary epithelial MCF10A cells ( $P < 0.01$ ). There was a targeting relationship between SNHG15 and miR-153. Compared with the control group, the cell viability and mitochondrial membrane potential of MDA-MB-231 cells in si-SNHG15 group were decreased, while apoptosis rate was increased (all  $P < 0.01$ ); the expressions of Bcl-2 and caspase3 were decreased while expressions of Bax, c-caspase3 and Cyt-C were increased (all  $P < 0.01$ ). However, co-transfection of si-SNHG15 and anti-miR-153 significantly attenuated the effects of si-SNHG15 on cell viability, apoptosis, mitochondrial membrane potential and expressions of Bcl-2, Bax, caspase3, c-caspase3 and Cyt-C (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** lncRNA SNHG15 can target miR-153 to induce apoptosis of MDA-MB-231 cells, and the mechanism may be related to the regulation of apoptosis of mitochondrial pathway.

**[Key words]** lncRNA SNHG15; miR-153; breast cancer; MDA-MB-231 cell; apoptosis; mitochondrial pathway

[Chin J Cancer Biother, 2020, 27(10): 1087-1092. DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2020.10.003]

**[基金项目]** 山西省科学技术厅资助项目 (No.201803D31088)。Project supported by the Shanxi Provincial Department of Science and Technology Program (No.201803D31088)

**[作者简介]** 吴超 (1976-), 男, 硕士, 讲师、主治医师, 主要从事临床普通外科疾病的治疗研究, E-mail: hobnz34@163.com

**[通信作者]** 王彩星 (WANG Caixing, corresponding author), 副教授, 硕士生导师, 主要从事临床外科疾病的治疗研究, E-mail: 23963060@qq.com

乳腺癌是常见的妇女恶性肿瘤之一,近年来该病的发病率呈现上升趋势,严重威胁女性健康<sup>[1]</sup>。长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)是一类非编码的RNA分子,转录本长度大于200 nt, lncRNA在多数肿瘤中广泛存在,发挥癌基因或抑癌基因样作用<sup>[2-3]</sup>。lncRNA SNHG15可影响胰腺癌、甲状腺癌细胞的增殖<sup>[4-5]</sup>,而乳腺癌中关于SNHG15研究报道较少。研究<sup>[6]</sup>显示,SNHG15可靶向miR-211-3p影响乳腺癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移。微小RNA(microRNA, miRNA)是一类小单链RNA分子,长度约18~25 nt,可在转录后水平调控基因表达<sup>[7]</sup>。miR-153是miRNA家族成员之一,三阴性乳腺癌中miR-153低表达,过表达miR-153可抑制三阴性乳腺癌细胞增殖、侵袭和迁移<sup>[8]</sup>。SNHG15是否可靶向调控miR-153影响乳腺癌细胞的凋亡尚未见报道。因此,本研究通过检测乳腺癌细胞中SNHG15表达水平,观察沉默SNHG15及抑制miR-153表达后乳腺癌细胞增殖活力、凋亡率及线粒体膜电位的变化,旨在研究SNHG15是否通过靶向调控miR-153影响乳腺癌细胞的增殖与凋亡。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系、主要试剂和仪器

人乳腺癌细胞系MDA-MB-231、BT-549和MCF-7及正常乳腺上皮细胞MCF10A购自美国ATCC细胞库。

RPMI 1640培养基、胎牛血清均购自美国Gibco公司,TRIzol试剂、定量PCR试剂盒及逆转录试剂盒均购自日本TaKaRa公司,PCR引物由上海生工合成,Lipofectamine™ 2000试剂盒购自美国Invitrogen公司,四甲基偶氮唑盐比色法(methyl thiazolyl tetrazolium assay, MTT)试剂盒购自美国Sigma公司,细胞凋亡试剂盒购自美国BD公司,线粒体膜电位荧光探针(JC-1法)检测试剂盒购自上海容创生物技术有限公司,荧光素酶活性检测试剂盒购自美国Promega公司,二辛可宁酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒购自美国Pierce公司,B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma/leukemia-2, Bcl-2)、Bcl-2相关X(Bcl-2 associated X, Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(caspase 3)、裂解的caspase3(cleaved caspase3, c-caspase3)和细胞色素C(cytochrome-c, Cyt-C)抗体购自美国Abcam公司,辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的IgG购自美国GeneCopoeia公司。

### 1.2 细胞培养、转染及分组

常规复苏MCF10A、MDA-MB-231、BT-549和MCF-7细胞后,在37℃、95%饱和湿度、5%体积分数

CO<sub>2</sub>的培养箱使用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液常规培养细胞。

将对数生长期的MDA-MB-231细胞接种于6孔板(5×10<sup>5</sup>),观察细胞生长情况,当细胞汇合度达70%~80%时,用脂质体转染技术将si-NC、si-SNHG15转染进MDA-MB-231细胞,记为si-NC组、si-SNHG15组;将si-SNHG15分别与anti-NC、anti-miR-153共转染进MDA-MB-231细胞,记为si-SNHG15+anti-NC组、si-SNHG15+anti-miR-153组;不转染任何质粒的细胞作为对照(Ctrl)组。转染方法参照Lipofectamine™ 2000试剂盒,收集转染后的细胞用于后续实验。

### 1.3 qPCR法检测乳腺癌细胞中SNHG15 mRNA和miR-153的表达水平

用TRIzol法提取细胞中总RNA,紫外分光光度计检测D<sub>260/280</sub>比值,其比值在1.8~2.0之间为合格的RNA样品。用逆转录试剂盒逆转录总RNA为cDNA。按照qPCR试剂盒说明设置反应体系扩增,每个样品设置5个重复孔,PCR引物序列:SNHG15 F为5'-GCATCTCTCCCACTATCTGC-3', R为5'-TGGTTTCATCTCCAGCAC-3'; GAPDH F为5'-GGTGAAGGTCGGAGTCAACG-3', R为5'-CCATGTAGTTGAGGTCAATGAAG-3'; miR-153 F为5'-CGCGCTTGCATAGTCAC-3', R为5'-GTGCAGGGTCCGAGGT3'; U6 F为5'-CTCGCTTCGGCAGCAGCACATATA-3', R为5'-CGCTTCACGAATTTGCGTGTCA-3'。PCR反应条件:95℃ 5 min, 95℃ 30 s, 60℃ 30 s; 72℃ 30 s, 共40个循环;融解曲线:95℃ 15 s, 60℃ 15 s, 95℃ 15 s。结果采用2<sup>-ΔΔCt</sup>公式处理数据,以用GAPDH为内参检测SNHG15 mRNA的相对表达水平,以U6作为内参检测miR-153的相对表达水平。

### 1.4 MTT法检测乳腺癌细胞的增殖活力

将各组细胞接种于96孔板(5×10<sup>3</sup>/孔),每组设置5个复孔。每孔中加入200 μl培养基,于培养箱中分别培养24、48和72 h,在每个时间点对细胞活力检测时,在每孔中加入10 μl MTT(5 g/L)溶液,在培养箱中继续培养4 h,吸去MTT溶液及培养基,加入150 μl/孔二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide, DMSO)显色。在酶标仪上测定波长490 nm处的D值。以D值表示细胞的增殖活力。

### 1.5 流式细胞术检测乳腺癌细胞的凋亡率

胰酶消化各组细胞,制备成密度为5×10<sup>5</sup>个/ml的单细胞悬液。取细胞悬液1 ml,离心,收集细胞沉淀,PBS洗涤细胞2次,加入400 μl结合缓冲液,再分别加入5 μl PI和5 μl Annexin V-FITC,避光室温反应15~20 min,1 h内采用流式细胞仪检测各组细胞的凋亡

率。细胞凋亡率=(早期细胞凋亡数+晚期细胞凋亡数)/总细胞数×100%。

### 1.6 双荧光素酶报告基因实验验证 SNHG15 与 miR-153 的靶向关系

利用 TargetScan、Starbase 等在线服务网站搜索 miR-153 可能的靶基因,并结合 NCBI 文献检测筛选靶基因,发现 SNHG15 与 miR-153 存在结合位点。构建 SNHG15 野生型(WT)及突变型(MUT)3'UTR 双荧光报告质粒,并与 miR-153 共转染 MDA-MB-231 细胞,依据双荧光素酶检测试剂盒说明书进行双荧光素酶报告基因实验,验证 SNHG15 和 miR-153 的靶向关系。

### 1.7 JC-1 法检测乳腺癌细胞的线粒体膜电位

取各组细胞,采用 JC-1 法检测各组细胞线粒体膜电位变化,其结果采用红/绿荧光值表示,其操作方法参照试剂盒说明书的方法。

### 1.8 Western blotting(WB)检测乳腺癌细胞中线粒体凋亡相关蛋白的表达

PBS 洗涤各组细胞,加入适量细胞裂解液,在冰上反应 30 min 后收集上清,BCA 法测定蛋白浓度。蛋白于 100 °C 变性 5 min,每孔道中上等量蛋白,进行 SDS-PAGE、转膜,用 5% 脱脂奶粉封闭膜 1 h,加入均以 1:500 稀释的 Bcl-2、Bax、caspase3、c-caspase3 和 Cyt-C 一抗,4 °C 孵育过夜。次日,加入 HRP 标记的 IgG 二抗(1:1 000),37 °C 孵育 2 h,加入 ECL 溶液进行发光、显影。用 Quantity One 软件对蛋白条带定量,以检测的目的蛋白与 GAPDH 蛋白灰度值比值为各蛋白的相对表达量。

### 1.9 统计学处理

1.3~1.8 实验均重复 3 次。所有实验数据采用 SPSS21.0 软件进行分析。正态分布的计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组中两两比较采用 SNK-*q* 检验。以  $P < 0.05$  或  $P < 0.01$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 SNHG15 在乳腺癌细胞系中高表达

qPCR 检测结果显示,SNHG15 mRNA 在乳腺癌 MDA-MB-231、BT-549 和 MCF-7 细胞中表达水平显著高于 MCF10A 细胞( $7.012 \pm 0.633$ 、 $5.987 \pm 0.574$ 、 $3.262 \pm 0.238$  vs  $1.000 \pm 0.062$ ,  $q = 23.422$ 、 $19.428$ 、 $8.813$ , 均  $P < 0.01$ ),以 MDA-MB-231 细胞中 SNHG15 表达最高( $P < 0.01$ ),所以后续实验选用该细胞。

### 2.2 沉默 SNHG15 后乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖活力降低、凋亡率升高

MTT 法和流式细胞术检测结果(图 1、表 1)显示,si-SNHG15 转染 24、48 和 72 h 后,与对照组和 si-NC 组比较,MDA-MB-231 细胞的增殖活力均降低(均  $P < 0.01$ );转染 48 h 后,MDA-MB-231 细胞的凋亡率显著升高( $P < 0.01$ )。结果表明,沉默 SNHG15 后乳腺癌 MDA-MB-231 细胞的增殖活力减弱、细胞凋亡率升高。

### 2.3 SNHG15 靶向结合 miR-153

TargetScan、StarBase 网站预测结果(图 2)显示,miR-153 与 SNHG15 3'UTR 区有潜在的结合位点。双荧光素酶报告实验检测结果显示,SNHG15-WT 与 miR-153 mimics 共转染后的荧光素酶活性明显降低( $0.253 \pm 0.023$  vs  $1.000 \pm 0.011$ ,  $t = 50.749$ ,  $P < 0.01$ ),而 SNHG15-MUT 与 miR-153 mimics 共转染后的荧光素酶活性无明显变化( $0.992 \pm 0.015$  vs  $1.000 \pm 0.015$ ,  $t = 0.653$ ,  $P > 0.05$ )。qPCR 检测结果显示,与 si-NC 组比较,si-SNHG15 组 miR-153 表达明显升高( $5.415 \pm 0.521$  vs  $1.000 \pm 0.087$ ,  $q = 20.574$ ,  $P < 0.01$ ),与 si-SNHG15+anti-NC 组比较,si-SNHG15+anti-miR-153 组 miR-153 表达明显降低( $1.526 \pm 0.102$  vs  $5.402 \pm 0.513$ ,  $q = 18.062$ ,  $P < 0.01$ )。实验结果提示,miR-153 与 SNHG15 存在靶向关系。

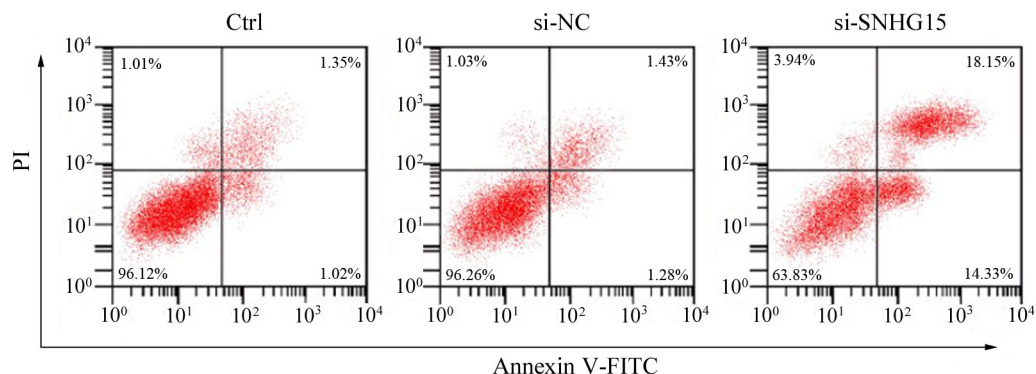


图 1 沉默 SNHG15 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞凋亡的影响

Fig.1 Effect of silencing SNHG15 on apoptosis of breast cancer MDA-MB-231 cells



表1 沉默SNHG15对乳腺癌MDA-MB-231细胞增殖活力及凋亡率的影响

Tab.1 Effect of silencing SNHG15 on the proliferation activity and apoptosis rate of breast cancer MDA-MB-231 cells

Group	Proliferation activity (t/h)			Apoptosis rate (%)
	24	48	72	
Ctrl	0.455±0.043	0.731±0.068	0.957±0.073	3.88±0.36
si-NC	0.449±0.041	0.724±0.064	0.951±0.071	3.74±0.31
si-SNHG15	0.262±0.035*	0.522±0.051*	0.701±0.059*	36.42±4.03**
F	22.793	11.201	13.870	193.743
P	0.000	0.000	0.006	0.000

\*P<0.05, \*\*P<0.01 vs Ctrl group

SNHG15 3'UTR 5'-UGGGUCUGCGGUGACUAUGCAU-3'  
 |||||  
 miR-153 3'-CUAGUGAAAACACUGAUACGUU-5'

图2 SNHG15和miR-153的结合位点

Fig.2 Binding sites of SNHG15 and miR-153

### 2.4 SNHG15靶向miR-153对乳腺癌MDA-MB-231细胞增殖活力及凋亡率的影响

将si-SNHG15或anti-miR-153转染MDA-MB-231

细胞后,MTT法和流式细胞术检测结果(图3、表2)显示,与si-NC组比较,si-SNHG15组细胞的增殖活力明显降低、凋亡率升高(均P<0.01);与si-SNHG15+anti-NC组比较,si-SNHG15+anti-miR-153组细胞的增殖活力明显升高、凋亡率显著降低(均P<0.01)。结果表明,抑制miR-153表达后逆转了沉默SNHG15对乳腺癌MDA-MB-231增殖抑制和凋亡促进的作用。

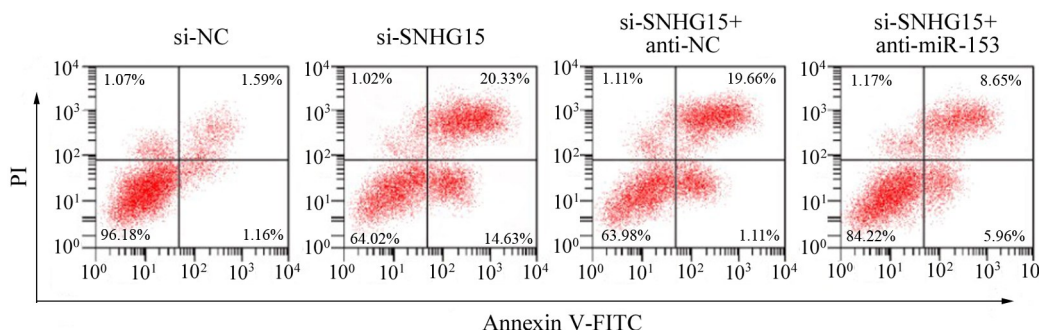


图3 SNHG15靶向miR-153对乳腺癌MDA-MB-231细胞凋亡的影响

Fig.3 Effect of SNHG15 targeting miR-153 on apoptosis of breast cancer MDA-MB-231 cells

表2 SNHG15通过靶向miR-153影响乳腺癌MDA-MB-231细胞的增殖及凋亡

Tab.2 SNHG15 affected the proliferation and apoptosis of MDA-MB-231 cells in breast cancer by targeting miR-153

Group	Proliferation (t/h)			Apoptosis rate (%)
	24	48	72	
si-NC	0.451±0.044	0.728±0.065	0.953±0.069	3.82±0.35
si-SNHG15	0.259±0.034**	0.519±0.048**	0.698±0.061**	35.98±4.12**
si-SNHG15+anti-NC	0.255±0.032	0.514±0.046	0.692±0.059	36.02±4.09
si-SNHG15+anti-miR-153	0.397±0.041 <sup>△△</sup>	0.696±0.057 <sup>△△</sup>	0.849±0.074 <sup>△△</sup>	15.78±1.03 <sup>△△</sup>
F	20.255	13.030	10.978	86.908
P	0.000	0.000	0.003	0.000

\*\*P<0.01 vs si-NC group; <sup>△△</sup>P<0.01 vs si-SNHG15+anti-NC group

### 2.5 SNHG15靶向miR-153对乳腺癌MDA-MB-231细胞膜电位的影响

JC-1染色法检测结果显示,与si-NC组比较,si-SNHG15组红/绿荧光比值明显降低(0.14±0.01 vs 0.35±0.06, q=9.900, P<0.01);与si-SNHG15+anti-NC

组比较,si-SNHG15+anti-miR-153组红/绿荧光比值明显升高(0.28±0.04 vs 0.15±0.01, q=6.128, P<0.01)。结果表明,抑制miR-153表达后逆转了沉默SNHG15对乳腺癌MDA-MB-231细胞线粒体膜电位的抑制作用。

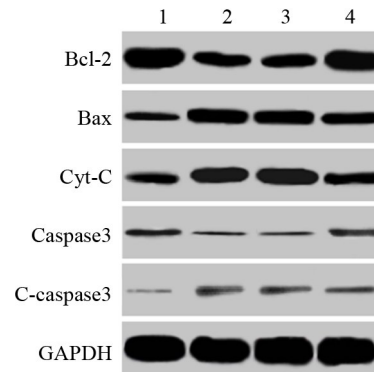
2.6 SNHG15 靶向 miR-153 对乳腺癌 MDA-MB-231 细胞线粒体凋亡相关蛋白表达的影响

WB 检测结果(图4、表3)所示, si-SNHG15 可明显下调 Bcl-2 和 caspase3 表达, 上调 Bax、c-caspase3 和 Cyt-C 表达(均  $P < 0.01$ )。si-SNHG15 与 anti-miR-153 共同转染 MDA-MB-231 细胞后, 可减弱 si-SNHG15 对 Bcl-2、Bax、caspase3、c-caspase3 和 Cyt-C 表达的影响(均  $P < 0.01$ )。

3 讨论

越来越多的研究<sup>[9-10]</sup>表明, lncRNA 在多种肿瘤组织中异常表达, 可通过转录和转录后水平影响肿瘤细胞的增殖、凋亡、衰老、分化等生物学特点, 影响肿瘤的发生发展。SNHG15 可靶向 miR-141 促进骨肉瘤细胞的增殖、侵袭和自噬<sup>[11]</sup>; 上调 SNHG15 表达通过调控基质金属蛋白酶 2(matrix metalloproteinase 2, MMP2)/MMP9 促进胃癌细胞侵袭<sup>[12]</sup>; SNHG15 通过调控 miR-486 促进周期素依赖性激酶 14(cyclin-dependent kinases 14, CDK14)表达, 从而促进非小细胞肺癌细胞的增殖和转移<sup>[13]</sup>。以上研究提示, 在肿瘤发生发展过程中 SNHG15 起重要的作用。为了验证 SNHG15 在乳腺癌中的作用, 本研究首先检测了不同

类型乳腺癌细胞中 SNHG15 的表达水平, 选择乳腺癌中 SNHG15 表达水平最高的 MDA-MB-231 细胞作为研究对象, 将 SNHG15 siRNA 转染该细胞, 其转染后细胞的增殖活力明显降低、凋亡率显著升高, 这与既往研究结果一致。



1: si-NC group; 2: si-SNHG15 group; 3: si-SNHG15+anti-NC group; 4: si-SNHG15+anti-miR-153 group

图4 SNHG15 靶向 miR-153 对乳腺癌细胞内线粒体凋亡相关蛋白表达的影响

Fig.4 Effect of SNHG15 targeting miR-153 on expression of mitochondrial apoptosis-related proteins in breast cancer cells

表3 SNHG15 通过靶向 miR-153 影响乳腺癌细胞中线粒体凋亡相关蛋白的表达

Tab.3 SNHG15 affected the expression of mitochondrial apoptosis-related proteins in breast cancer cells by targeting miR-153

Group	Bcl-2	Bax	Cyt-C	Caspase3	C-caspase3
si-NC	0.668±0.059	0.102±0.011	0.133±0.015	0.081±0.006	0.015±0.001
si-SNHG15	0.213±0.025**	0.334±0.035**	0.398±0.042**	0.032±0.002**	0.046±0.003**
si-SNHG15+anti-NC	0.220±0.027	0.329±0.032	0.407±0.045	0.028±0.002	0.041±0.003
si-SNHG15+anti-miR-153	0.554±0.055 <sup>△△</sup>	0.203±0.018 <sup>△△</sup>	0.199±0.023 <sup>△△</sup>	0.068±0.005 <sup>△△</sup>	0.027±0.002 <sup>△△</sup>
F	82.521	55.166	51.200	120.159	102.739
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

\*\* $P < 0.01$  vs si-NC group; <sup>△△</sup> $P < 0.01$  vs si-SNHG15+anti-NC group

miR-153 是 miRNA 家族一员, miR-153 可通过靶向异黏蛋白(metadherin, MTDH)抑制乳腺癌细胞上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)过程<sup>[14]</sup>; miR-153 可通过靶向包含 3 个 E6 的蛋白质羧基末端结构域同源物(homologous to the E6-associated protein carboxyl terminus domain containing 3, HECTD3)促进乳腺癌细胞凋亡<sup>[15]</sup>; SNHG15 可通过负调控 miR-153 影响胶质瘤微血管内皮细胞增殖<sup>[16]</sup>。SNHG15 是否可调控 miR-153 影响乳腺癌细胞的凋亡尚未见报道。本研究验证了 SNHG15 和 miR-153 的靶向关系。结果发现, 同时抑制 SNHG15 和 miR-153 表达可减弱抑制 SNHG15 对乳腺癌细胞增殖抑制、凋亡促进及细胞膜电位降低作用, 提示 SNHG15 可调控

miR-153 影响乳腺癌细胞的凋亡。

线粒体途径是细胞凋亡发生的途径之一。线粒体是凋亡的调控中心, 抑凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 共同影响线粒体膜电位的变化。当接收到凋亡信号时, 存在于细胞质中的 Bax 在线粒体表面重新定位, 构成穿线粒体膜的孔, 引起膜电位降低, 增加膜的通透性, 从而使 Cyt-C 等线粒体相关促凋亡因子释放出来, caspase 级联反应启动, 最终诱导细胞凋亡<sup>[17-19]</sup>。当细胞内发生凋亡时, caspase3 天冬氨酸位置被切成两段, 正常情况下 caspase3 在细胞质以酶原形式存在, 在凋亡早期 caspase3 被激活, 且被剪切成活化的 c-caspase3, 发生 caspase 级联反应而完成信号转导, 使 c-caspase3 表达增加, 从而通过线粒体途径促进细胞凋亡<sup>[20-21]</sup>。本研究结

果显示, si-SNHG15可下调 Bcl-2 和 caspase3 表达水平, 上调 Bax、c-caspase3 和 Cyt-C 表达水平, 而同时抑制 SNHG15 和 miR-153 表达可减弱抑制 SNHG15 对 Bcl-2、caspase3、Bax、c-caspase3 和 Cyt-C 表达影响, 提示 SNHG15 调控 miR-153 对乳腺癌细胞凋亡影响可能是通过线粒体途径实现的。

综上所述, 抑制 SNHG15 可诱导乳腺癌细胞凋亡, 其机制可能与靶向 miR-153 调控线粒体凋亡途径有关。本研究为 SNHG15 在乳腺癌中作用机制的探讨提供了实验基础, 提示 SNHG15 可能是一个乳腺癌诊疗的潜在靶标。

### [参考文献]

- [1] MOUSAVI E, TAVAKOLFAR S, ALMASIRAD A, et al. In vitro and in vivo assessments of two novel hydrazide compounds against breast cancer as well as mammary tumor cells[J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, 79(6): 1195-1203. DOI:10.1007/s00280-017-3318-5.
- [2] CHEN L, YANG W J, GUO Y J, et al. Exosomal lncRNA GAS5 regulates the apoptosis of macrophages and vascular endothelial cells in atherosclerosis[J/OL]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0185406[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5612752/>. DOI: 10.1371/journal.pone.0185406.
- [3] XIN J W, JIANG Y G. Long noncoding RNA MALAT1 inhibits apoptosis induced by oxygen-glucose deprivation and reoxygenation in human brain microvascular endothelial cells[J/OL]. *Exp Ther Med*, 2017, 13(4): 1225-1234[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5377418/>. DOI: 10.3892/etm.2017.4095.
- [4] MA Z H, HUANG H, WANG J R, et al. Long non-coding RNA SNHG15 inhibits P15 and KLF2 expression to promote pancreatic cancer proliferation through EZH2-mediated H3K27me3[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(48): 84153-84167[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5663584/>. DOI: 10.18632/oncotarget.20359.
- [5] 帅勇锋, 占大钱, 王小军, 等. LncRNA SNHG15 在甲状腺癌细胞中的表达及作用[J]. *中国普通外科杂志*, 2016, 25(11): 1590-1595. DOI:10.3978/j.issn.1005-6947.2016.11.012.
- [6] KONG Q L, QIU M. Long noncoding RNA SNHG15 promotes human breast cancer proliferation, migration and invasion by sponging miR-211-3p[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 495(2): 1594-1600. DOI:10.1016/j.bbrc.2017.12.013.
- [7] YONG Y X, YANG H, LIAN J, et al. Up-regulated microRNA-199b-3p represses the apoptosis of cerebral microvascular endothelial cells in ischemic stroke through down-regulation of MAPK/ERK/EGR1 axis[J/OL]. *Cell Cycle*, 2019, 18(16): 1868-1881[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6681782/>. DOI:10.1080/15384101.2019.1632133.
- [8] SHI D, LI Y, FAN L, et al. Upregulation of miR-153 inhibits triple-negative breast cancer progression by targeting ZEB2-mediated EMT and contributes to better prognosis[J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 19611-9625. DOI: 10.2147/OTT.S223598.
- [9] LI C Y, LIANG G Y, YANG S, et al. Dysregulated lncRNA-UCA1 contributes to the progression of gastric cancer through regulation of the PI3K-Akt-mTOR signaling pathway[J/OL]. *Oncotarget*, 2017, 8(55): 93476-93491[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5706812/>. DOI:10.18632/oncotarget.19281.
- [10] 王霞, 姚玉君, 汤静, 等. lncRNA CCAT2 对宫颈癌 CaSki 细胞增殖及周期的影响[J]. *中国肿瘤生物治疗杂志*, 2020, 27(6): 640-645. DOI:10.3872/j.issn.1007-385X.2020.06.008.
- [11] LIU K, HOU Y, LIU Y K, et al. LncRNA SNHG15 contributes to proliferation, invasion and autophagy in osteosarcoma cells by sponging miR-141[J/OL]. *J Biomed Sci*, 2017, 24(1): 46[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5516387/>. DOI: 10.1186/s12929-017-0353-9.
- [12] CHEN S X, YIN J F, LIN B C, et al. Upregulated expression of long noncoding RNA SNHG15 promotes cell proliferation and invasion through regulates MMP2/MMP9 in patients with GC[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(5): 6801-6812. DOI:10.1007/s13277-015-4404-0.
- [13] JIN B, JIN H, WU H B, et al. Long non-coding RNA SNHG15 promotes CDK14 expression via miR-486 to accelerate non-small cell lung cancer cells progression and metastasis[J/OL]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(9): 7164-7172[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6001572/>. DOI:10.1002/jcp.26543.
- [14] LI W T, ZHAI L M, ZHAO C L, et al. MiR-153 inhibits epithelial-mesenchymal transition by targeting metadherin in human breast cancer[J]. *Breast Cancer Res Treat*, 2015, 150(3): 501-509. DOI: 10.1007/s10549-015-3346-y.
- [15] WU X W, LI L, LI Y, et al. MiR-153 promotes breast cancer cell apoptosis by targeting HECTD3[J/OL]. *Am J Cancer Res*, 2016, 6(7): 1563-1571[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4969405/>.
- [16] MA Y W, XUE Y X, LIU X B, et al. SNHG15 affects the growth of glioma microvascular endothelial cells by negatively regulating miR-153[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(5): 3265-3277. DOI:10.3892/or.2017.5985.
- [17] ZHANG Y, WANG Y, ZHAO Y, et al. Novel camphor-based pyrimidine derivatives induced cancer cell death through a ROS-mediated mitochondrial apoptosis pathway[J]. *RSC Advances*, 2019, 9(51): 29711-29720. DOI:10.1039/C9RA05900H.
- [18] QIAO Z, CHENG Y, LIU S Y, et al. Casticin inhibits esophageal cancer cell proliferation and promotes apoptosis by regulating mitochondrial apoptotic and JNK signaling pathways[J]. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, 2019, 392(2): 177-187. DOI:10.1007/s00210-018-1574-5.
- [19] ZHANG F T, YU X L, LIU X Q, et al. ABT-737 potentiates cisplatin-induced apoptosis in human osteosarcoma cells via the mitochondrial apoptotic pathway[J]. *Oncol Rep*, 2017, 38(4): 2301-2308. DOI: 10.3892/or.2017.5909.
- [20] HU G L, ZHANG J L, XU F F, et al. Stomatin-like protein 2 inhibits cisplatin-induced apoptosis through MEK/ERK signaling and the mitochondrial apoptosis pathway in cervical cancer cells[J/OL]. *Cancer Sci*, 2018, 109(5): 1357-1368[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5980381/>. DOI:10.1111/cas.13563.
- [21] LI J, WU D D, ZHANG J X, et al. Mitochondrial pathway mediated by reactive oxygen species involvement in  $\alpha$ -hederin-induced apoptosis in hepatocellular carcinoma cells[J/OL]. *World J Gastroenterol*, 2018, 24(17): 1901-1910[2020-04-20]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5937207/>. DOI:10.3748/wjg.v24.i17.1901.

[收稿日期] 2020-05-21

[修回日期] 2020-08-08

[本文编辑] 党瑞山