doi:10.11659/jjssx.03E024035

·基础研究·

LINC00839对子宫内膜癌细胞恶性生物学行为的影响及机制

石媛媛[1],田 芬[1],周玮月[1],李美艳[1],马建彩[2],王菊荣[1] (1.邯郸市中心医院妇一科,河北 邯郸 056000;2.邯郸市中心医院产一科,河北 邯郸 056000)

[摘 要] **目的** 探究LINC00839调节miR-625-5p/胞质多聚腺苷酸化元件结合蛋白4(CPEB4)轴对子宫内膜癌细胞恶性生物学行为的影响。**方法** 获取46例子宫内膜癌患者的癌组织及癌旁组织,体外培养子宫内膜癌细胞HEC-1B、Ishikawa、RL95-2及人子宫内膜上皮细胞(HEEC),检测组织和细胞中LINC00839、miR-625-5p和CPEB4表达水平。将HEC-1B细胞分为HEC-1B组(常规培养)、sh-Ctrl组(转染sh-Ctrl)、sh-LINC00839组(转染shRNA-LINC00839)、anti-miR-625-5p组(转染shRNA-LINC00839和miR-625-5p抑制物)、anti-NC组(转染shRNA-LINC00839和inhibitor-NC)。比较各组HEC-1B细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力,并测定CPEB4和上皮-间质转化(EMT)相关蛋白表达。分析LINC00839与miR-625-5p、miR-625-5p与CPEB4的靶向关系。**结果** 子宫内膜癌组织中LINC00839、CPEB4的mRNA表达和CPEB4蛋白阳性表达率高于癌旁组织($P<0.05$),miR-625-5p表达低于癌旁组织($P<0.05$)。与HEEC细胞相比,Ishikawa、RL95-2和HEC-1B细胞中LINC00839、CPEB4 mRNA和蛋白表达升高($P<0.05$),miR-625-5p表达降低($P<0.05$)。与sh-LINC00839组、anti-NC组比较,HEC-1B组、sh-Ctrl组、anti-miR-625-5p组HEC-1B细胞的N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、CPEB4蛋白表达和24 h吸光度、迁移和侵袭细胞数升高/增加($P<0.05$),E-钙黏蛋白(E-cadherin)蛋白表达和细胞凋亡率降低($P<0.05$)。LINC00839和miR-625-5p、miR-625-5p和CPEB4之间存在结合位点,具有靶向调控关系。**结论** LINC00839与子宫内膜癌细胞恶性生物学行为有关,干扰LINC00839表达可抑制HEC-1B细胞增殖、侵袭与迁移,促进凋亡,其作用机制可能是通过调控miR-625-5p/CPEB4轴实现。

[关键词] LINC00839;miR-625-5p/CPEB4轴;子宫内膜癌;恶性生物学行为

[中图分类号] R737.33 [文献标志码] A [收稿日期] 2024-03-07

Effect and mechanism of LINC00839 on the malignant biological behavior of endometrial cancer cells

SHI Yuan-yuan[1], TIAN Fen[1], ZHOU Wei-yue[1], LI Mei-yan[1], MA Jian-cai[2], WANG Ju-rong[1] (1. First Department of Gynecology, Handan Central Hospital, Handan Hebei 056000, China; 2. First Department of Obstetrics and Gynecology, Handan Central Hospital, Handan Hebei 056000, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of LINC00839 on the malignant biological behavior of endometrial cancer cells by regulating the miR-625-5p/cytoplasmic polyadenylation element binding protein 4 (CPEB4) axis. **Methods** The cancer tissues and adjacent tissues of 46 patients with endometrial cancer were obtained, endometrial cancer cells of HEC-1B, Ishikawa and RL95-2 and human endometrial epithelial cells (HEEC) were cultured in vitro, and the expression levels of LINC00839, miR-625-5p and CPEB4 in tissues and cells were detected. HEC-1B cells were divided into the HEC-1B group (conventional culture), sh-Ctrl group (transfected with sh-Ctrl), sh-LINC00839 group (transfected with shRNA-LINC00839), anti-miR-625-5p group (transfected with shRNA-LINC00839 and miR-625-5p inhibitor), and anti-NC group (transfected with shRNA-LINC00839 and inhibitor-NC). The proliferation, apoptosis, migration and invasion abilities of HEC-1B cells in each group were compared, and the expressions of CPEB4 and epithelial-mesenchymal transition (EMT) related proteins were determined. The targeting relationships between LINC00839 and miR-625-5p, and miR-625-5p and CPEB4 were analyzed. **Results** The mRNA expression of LINC00839 and CPEB4, as well as the positive expression rate of CPEB4 protein in endometrial cancer tissues were higher than those in adjacent tissues, and the expression of miR-625-5p was lower than that in adjacent tissues ($P<0.05$). Compared with HEEC cells, the expression of LINC00839 and the mRNA and protein expression of CPEB4 in Ishikawa, RL95-2 and HEC-1B cells increased ($P<0.05$), and the expression of miR-625-5p decreased ($P<0.05$). Compared with the sh-LINC00839 group and anti-NC group, the protein expression of N-cadherin, Vimentin, and CPEB4, 24-hour absorbance, and migration and invasion cell numbers of HEC-1B cells in the HEC-1B group, sh-Ctrl group and anti-miR-625-5p group increased ($P<0.05$), while the expression of E-cadherin protein and cell apoptosis rate decreased ($P<0.05$). There were binding sites between LINC00839 and miR-625-5p, miR-625-5p and CPEB4, with targeting regulatory relationships. **Conclusion** LINC00839 is related to the malignant biological behavior of

[基金项目] 河北省2020年度医学科学研究课题计划(20200193)

[通信作者] 马建彩,E-mail:majiancai68@163.com

endometrial cancer cells, interference with LINC00839 expression can inhibit the proliferation, invasion and migration, and promote apoptosis of HEC-1B cells, and its mechanism may be achieved by regulating the miR-625-5p/CPEB4 axis.

Keywords: LINC00839; miR-625-5p/CPEB4 axis; endometrial cancer; malignant biological behavior

子宫内膜癌是常见妇科癌症,其发病率在全球范围内呈上升趋势[1]。手术联合放化疗可提高子宫内膜癌患者的5年生存率,但对于子宫内膜癌复发和转移的防治目前尚无较好的治疗策略[2]。因此,探究子宫内膜癌发生发展的潜在分子机制对其临床诊疗具有重要价值。长链非编码RNA(long non-coding RNA,lncRNA)的失调通过调节特定的癌症相关通路促进肿瘤发生,LINC00839位于人类染色体10q11.21上,是近年来新发现的一种lncRNA,已被证实在多种癌症中上调,与患者不良预后相关,并可促进癌细胞转移[3-4]。本实验前期应用lncRNAs表达谱分析筛选得出LINC00839是与子宫内膜癌转移相关的差异表达lncRNA,但其在子宫内膜癌中的功能及相关作用机制尚不清楚。靶基因在线软件(Starbase)预测显示,LINC00839可能与miR-625-5p存在相互作用。miR-625-5p是一种肿瘤抑制因子,在子宫内膜癌中表达降低,其过表达可抑制子宫内膜癌细胞增殖、迁移和侵袭[5]。通过在线数据库(miRanda、Starbase、RNAhybrid、TargetScanHuman)预测与miR-625-5p相互作用的基因发现,胞质多聚腺苷酸化元件结合蛋白4(cytoplasmic polyadenylation element binding protein 4,CPEB4)是miR-625-5p的潜在靶点。CPEB4在肿瘤细胞的增殖中发挥重要作用,且参与肿瘤细胞的侵袭和转移[6]。据报道,CPEB4在子宫内膜癌组织和细胞中呈高表达,下调CPEB4表达可调节上皮-间质转化(epithelial-mesenchynal transition,EMT),在体内外抑制子宫内膜癌细胞的转移和生长[7]。本研究通过分析子宫内膜癌细胞系和组织中LINC00839的表达,并以miR-625-5p和CPEB4为切入点,探讨LINC00839对子宫内膜癌细胞恶性生物学行为的影响,以期为子宫内膜癌的靶向治疗提供依据。

1 材料与方法

1.1 细胞来源

人子宫内膜上皮细胞(human endometrial epithelial cells,HEEC)及人子宫内膜癌细胞HEC-1B、Ishikawa、RL95-2(批号:YS1720C、ZQ0364、YS1837C、ZQ0362)购自上海雅吉生物科技有限公司。

1.2 试剂及仪器

DMEM培养基(批号:A-CSH795)购自艾美捷科技有限公司;miR-625-5p模拟物、miR-625-5p抑制物、miR-NC、inhibitor-NC、shRNA-LINC00839及阴性对照sh-Ctrl由美国MCE公司合成;CPEB4免疫组化试剂盒、CCK-8试剂盒、Annexin V-FITC/PI试剂盒、BCA试剂盒(批号:IHC0104298、4221-1000T、S0185XL、P0011)购自上海雅吉生物科技有限公司;E-钙黏蛋白(E-cadherin)、N-钙黏蛋白(N-cadherin)、波形蛋白(Vimentin)、CPEB4、β-actin一抗及HRP标记的二抗(批号:ab287970、ab76059、ab52944、ab315332、ab252556、ab205718)购自英国Abcam公司;双荧光素酶试剂盒(批号:LF004)购自美国GC公司。qRT-PCR仪(型号:ABI PRISM® 7500)购自美国应用生物系统公司;流式细胞仪(型号:Bigfoot)、微孔板读数仪(型号:Varioskan LUX)、凝胶成像系统(型号:Invitrogen iBright)购自上海赛默飞世尔科技有限公司;BZ-X倒置显微镜购自上海基恩士有限公司。

1.3 组织样本收集

收集2023年1-10月于本院行手术切除的46例子宫内膜癌患者的癌组织和癌旁组织,冻存待用。国际妇产科联盟(international federation of gynecology and obstetrics,FIGO)分期:Ⅰ~Ⅱ期38例,Ⅲ期8例;病理类型:子宫内膜样腺癌41例,子宫癌肉瘤5例。本研究经我院医学伦理委员会批准(批准号:202212-010),患者均已签署研究知情同意书。

1.4 细胞培养

复苏HEC-1B、Ishikawa、RL95-2和HEEC细胞,并接种在DMEM培养基中,于37 ℃、5%CO_2培养箱内培养。

1.5 HEC-1B细胞转染实验

随机取对数期HEC-1B细胞分为HEC-1B组(常规培养)、sh-Ctrl组(转染sh-Ctrl)、sh-LINC00839组(转染shRNA-LINC00839)、anti-miR-625-5p组(转染shRNA-LINC00839和miR-625-5p抑制物)、anti-NC组(转染shRNA-LINC00839和inhibitor-NC)。脂质体转染法:用不含胎牛血清的细胞培养液与sh-Ctrl、shRNA-LINC00839、inhibitor-NC、miR-625-5p抑制物混合后室温孵育5 min(A液),Lipofectamine 3000转染试剂与不含胎牛血清的细胞培养液充分混合(B液),A液与B液充分混匀后室温孵育20 min,并将其加至HEC-1B细胞,转染6 h弃上清液后更换正常培养液,并继续培养48 h。

1.6 qRT-PCR检测LINC00839、miR-625-5p和CPEB4的mRNA表达

提取HEC-1B、Ishikawa、RL95-2、HEEC细胞以及子宫内膜癌组织、癌旁组织中总RNA，逆转录为cDNA。以GAPDH为LINC00839、CPEB4的内参，以U6为miR-625-5p的内参，进行qRT-PCR反应，条件：94 ℃ 2 min；94 ℃ 30 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 30 s，共40次循环。引物序列见表1。采用$2^{-\Delta\Delta Ct}$法计算LINC00839、miR-625-5p和CPEB4表达。

表1 qRT-PCR引物序列

基因	正向引物(5′-3′)	反向引物(5′-3′)
LINC00839	ATGTGACGTGCTCCTGATGG	CAGGCCACTCATGCTGTTGT
GAPDH	ACAGTCAGCCGCATCTTCTT	GACAAGCTTCCCGTTCTCAG
miR-625-5p	ACTCCAGCTGGGAGGGGGAAAGTTCTATAG	CTCAACTGGTGTCGTGGGA
U6	CTCGCTTCGGCAGCACA	AACGCTTCACGAATTTGCGT
CPEB4	TGGGGATCAGCCTCTTCATA	CAATCCGCCTACAAACACCT

1.7 免疫组化检测

将子宫内膜癌组织及癌旁组织切片，脱蜡至水后进行抗原修复，加入山羊血清工作液室温孵育15 min，加入CPEB4一抗，37 ℃孵育2 h，再分别加入生物素标记二抗和HRP标记链酶卵白素工作液，37 ℃孵育15 min，二氨基联苯胺法显色后封片观察。CPEB4蛋白主要表达于细胞质和细胞核内，呈棕黄色染色为阳性。在高倍镜下任意选取10个视野，并计算癌组织和癌旁组织中CPEB4蛋白阳性表达率。

1.8 细胞增殖和凋亡检测

CCK-8法检测细胞增殖情况：将各组HEC-1B细胞以2.5×10^4个/孔接种到96孔板，加入10 μL CCK-8溶液于37 ℃孵育3 h，微孔板读数仪在450 nm处测量吸光度。实验重复3次，每次2个平行孔。

流式细胞术检测细胞凋亡情况：各组HEC-1B细胞分别加入100 μL含Annexin V-FITC和PI的孵育缓冲液制成悬液，避光10 min，加入荧光溶液于4 ℃下避光孵育20 min，流式细胞仪分析细胞凋亡率。

1.9 细胞迁移和侵袭检测

迁移测定：Transwell室下室加入600 μL含20%胎牛血清的培养基，上室加入无血清培养基200 μL，分别将各组细胞以1×10^5个/孔接种至上室，37 ℃孵育24 h后，将穿透室膜的细胞用4%多聚甲醛固定，0.1%结晶紫染色，最后在显微镜下成像和计数。

侵袭测定：接种细胞前在Transwell室上室添加基质胶，其余步骤与迁移实验相同。

1.10 Western blot检测CPEB4和EMT相关蛋白表达

RIPA提取各组HEC-1B细胞蛋白，BCA法测定浓度，电泳、转膜后封闭。然后与E-cadherin(1∶1 000)、N-cadherin(1∶1 000)、Vimentin(1∶10 000)、CPEB4(1∶1 000)、β-actin(1∶1 000)一抗在4 ℃过夜，用二抗(1∶2 000)处理膜1 h，最后进行显色成像，分析各蛋白表达。Ishikawa、RL95-2和HEEC细胞中CPEB4蛋白表达测定方法同上。

1.11 双荧光素酶实验

使用Starbase、TargetScanHuman数据库分析LINC00839和miR-625-5p、miR-625-5p和CPEB4的关系。将miR-625-5p模拟物、miR-NC分别与构建的野生型(WT-LINC00839、WT-CPEB4)、突变型(MUT-LINC00839、MUT-CPEB4)质粒共同转染至HEC-1B细胞(WT-LINC00839+miR-625-5p组、WT-LINC00839+miR-NC组、WT-CPEB4+miR-625-5p组、WT-CPEB4+miR-NC组、MUT-LINC00839+miR-625-5p组、MUT-LINC00839+miR-NC组、MUT-CPEB4+miR-625-5p组、MUT-CPEB4+miR-NC组)，孵育48 h后，采用试剂盒检测荧光素酶活性。

1.12 统计学方法

采用SPSS 26.0统计学软件分析数据，计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间两两比较采用*SNK-q*检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

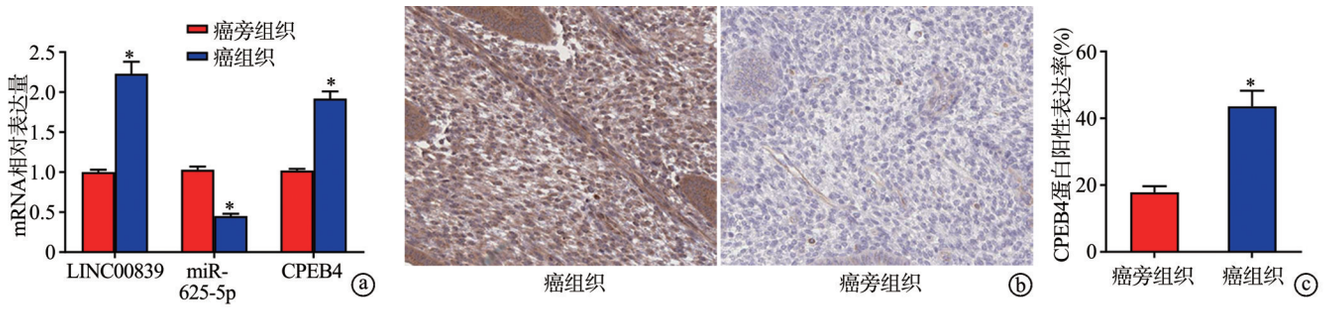
2 结果

2.1 组织中LINC00839、miR-625-5p和CPEB4表达

子宫内膜癌患者癌组织中LINC00839、CPEB4 mRNA相对表达量和CPEB4蛋白阳性表达率高于癌旁组织($P<0.05$)，miR-625-5p mRNA相对表达量低于癌旁组织($P<0.05$)，见图1。

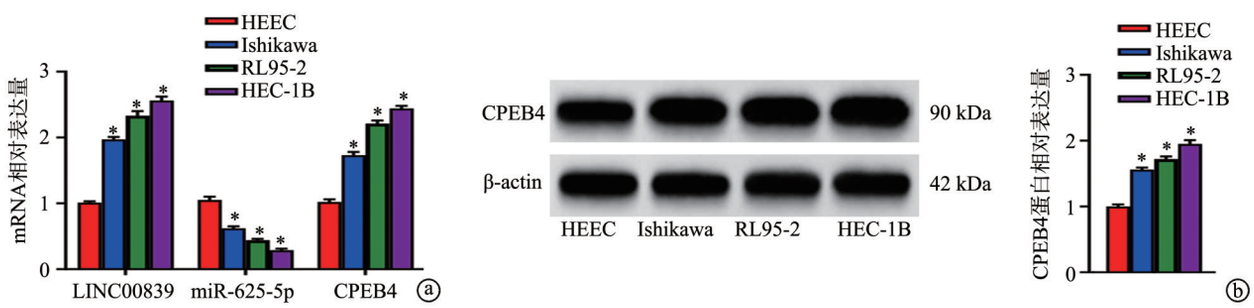
2.2 细胞中LINC00839、miR-625-5p、CPEB4表达

与HEEC细胞相比，Ishikawa、RL95-2和HEC-1B细胞中LINC00839、CPEB4 mRNA和蛋白表达均升高($P<0.05$)，miR-625-5p表达均降低($P<0.05$)。其中HEC-1B细胞中LINC00839、miR-625-5p和CPEB4表达差异最大，见图2。因此，选择HEC-1B细胞进行后续实验。



a:子宫内膜癌组织及癌旁组织中LINC00839、miR-625-5p和CPEB4的mRNA表达;b:子宫内膜癌组织及癌旁组织中CPEB4蛋白阳性表达(×200);c:癌组织及癌旁组织中CPEB4阳性表达率　*:与癌旁组织比较,$P<0.05$

图1　子宫内膜癌组织和癌旁组织中LINC00839、miR-625-5p和CPEB4的表达

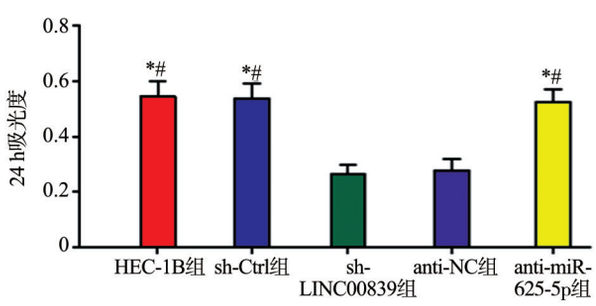


a:mRNA相对表达;b:蛋白相对表达　*:与HEEC细胞比较,$P<0.05$

图2　细胞中LINC00839、miR-625-5p、CPEB4 mRNA及蛋白表达

2.3　LINC00839对HEC-1B细胞增殖的影响

HEC-1B组、sh-Ctrl组、anti-miR-625-5p组HEC-1B细胞24 h吸光度比较差异无统计学意义($P>0.05$);sh-LINC00839组、anti-NC组24 h吸光度低于HEC-1B组、sh-Ctrl组、anti-miR-625-5p组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图3。



*:与sh-LINC00839组比较,$P<0.05$;#:与anti-NC组比较,$P<0.05$

图3　各组HEC-1B细胞增殖情况比较

2.4　LINC00839对HEC-1B细胞凋亡的影响

HEC-1B组、sh-Ctrl组、anti-miR-625-5p组HEC-1B细胞凋亡率比较差异无统计学意义($P>0.05$);sh-LINC00839组、anti-NC组HEC-1B细胞凋亡率高于HEC-1B组、sh-Ctrl组、anti-miR-625-5p组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图4。

2.5　LINC00839对HEC-1B细胞迁移和侵袭的影响

与sh-LINC00839组、anti-NC组比较,HEC-1B组、sh-Ctrl组、anti-miR-625-5p组细胞迁移和侵袭数增加,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图5。

2.6　LINC00839对HEC-1B细胞中CPEB4和EMT相关蛋白表达的影响

与sh-LINC00839组、anti-NC组比较,HEC-1B组、sh-Ctrl组、anti-miR-625-5p组HEC-1B细胞中E-cadherin蛋白表达降低,N-cadherin、Vimentin、CPEB4蛋白表达升高,差异均有统计学意义($P<0.05$),见图6。

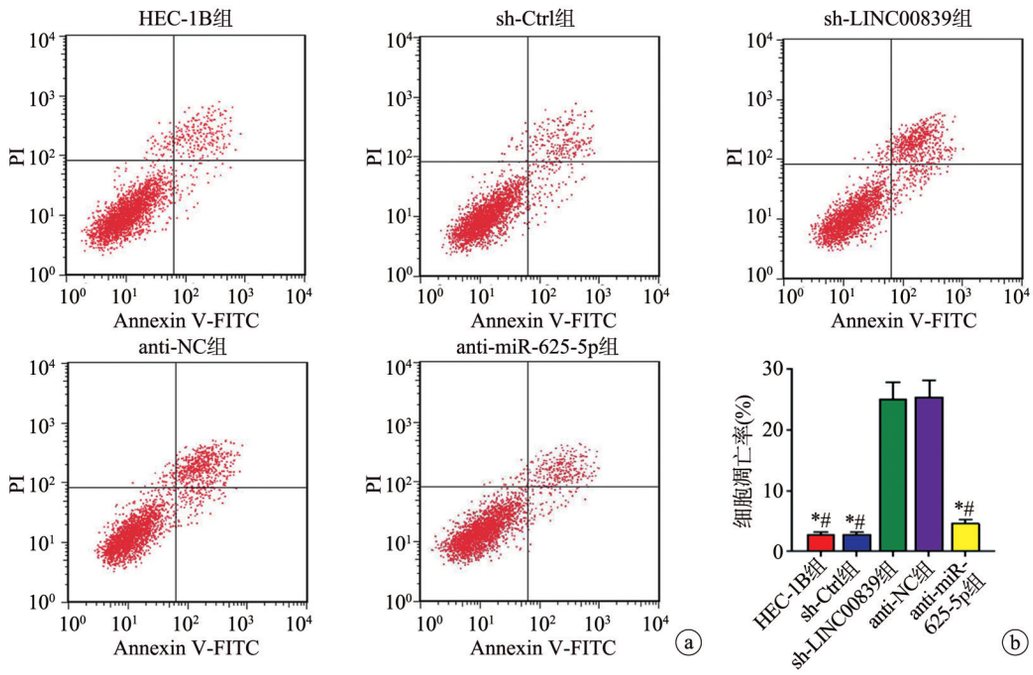
2.7　LINC00839和miR-625-5p、miR-625-5p和CPEB4之间的关系

Starbase、TargetScanHuman数据库分析表明,LINC00839和miR-625-5p、miR-625-5p和CPEB4之间存在结合位点,见图7a。WT-LINC00839+miR-625-5p组荧光素酶活性较WT-LINC00839+miR-NC组下降($P<0.05$);WT-CPEB4+miR-625-5p组荧光素酶活性较WT-CPEB4+miR-NC组下降($P<0.05$),见图7b、c。

3　讨论

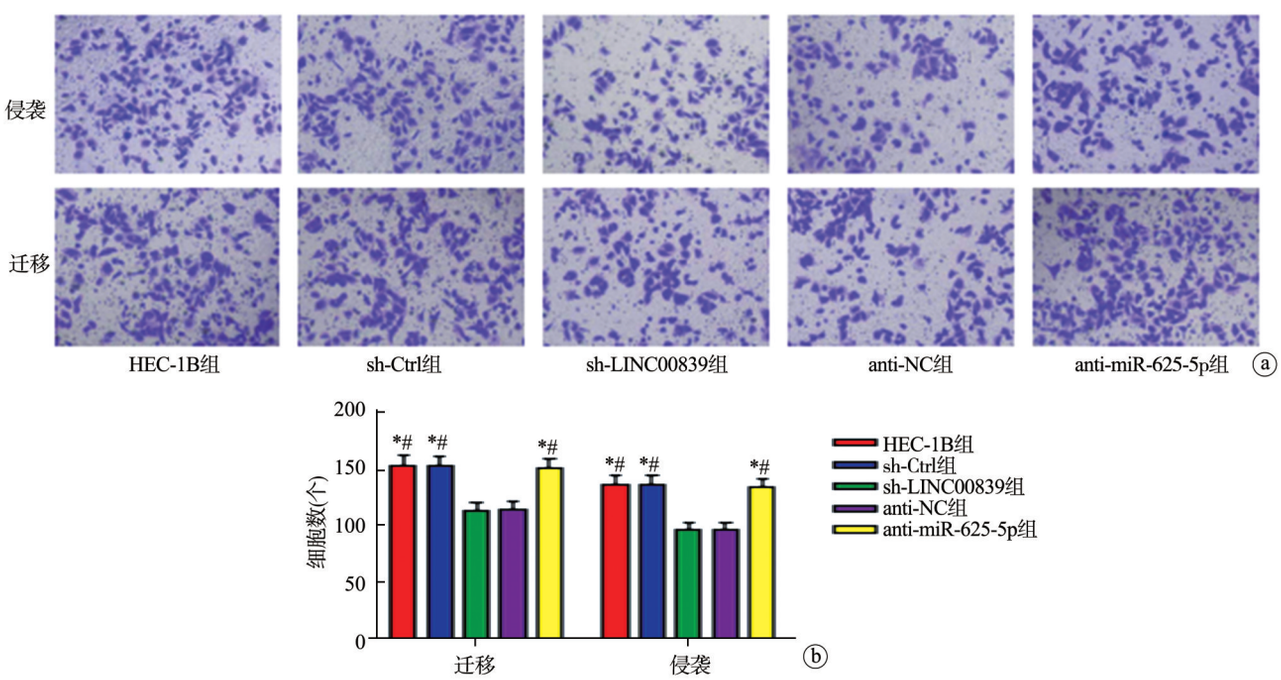
子宫内膜癌起源于子宫上皮,该病有一定的隐匿性,早期临床诊断难度大,部分患者确诊时已是中晚期[8]。目前以手术治疗为主,辅以放疗、化疗和激素等综合治疗,但预后并未得到明显改善,且放疗和/或化疗存在较大的副作用[9]。因此,需要对潜在分子机制进行分析,以期为子宫内膜癌的靶向治疗奠定基础。

lncRNA参与癌症的发生和发展,LINC00839是癌症的促转移因子,已被证明与结直肠癌[10]、肺癌[11]、胶质瘤[12]、肝癌[13]等癌症的进展和患者预后不良有关。



a:流式细胞图;b:细胞凋亡定量统计图　*:与 sh-LINC00839 组比较,$P<0.05$;#:与 anti-NC 组比较,$P<0.05$

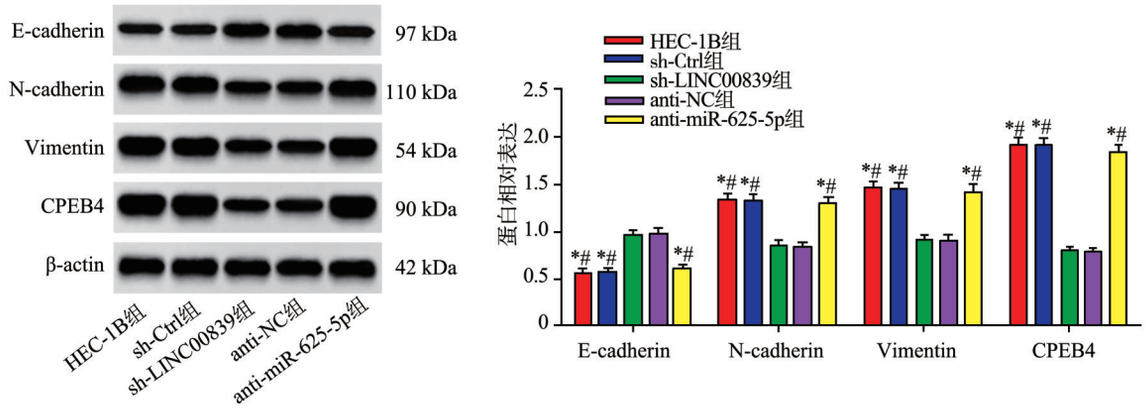
图 4　各组 HEC-1B 细胞凋亡情况比较



a:细胞迁移和侵袭实验镜下图(×200);b:迁移和侵袭细胞定量图　*:与 sh-LINC00839 组比较,$P<0.05$;#:与 anti-NC 组比较,$P<0.05$

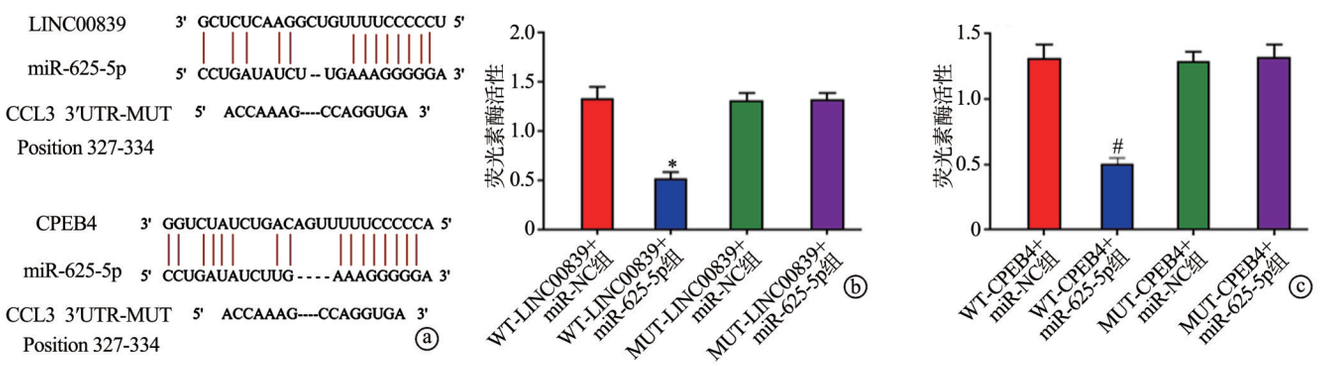
图 5　各组 HEC-1B 细胞迁移和侵袭实验

Chen 等[14]发现,LINC00839 在乳腺癌组织中表达上调,LINC00839 高表达与患者不良预后相关,且其可通过与 Lin28B 结合促进乳腺癌细胞增殖和化疗耐药。此外,LINC00839 还可以海绵化 miRNA 调控 EMT 过程,参与癌细胞的迁移与侵袭,如在神经母细胞瘤中,沉默 LINC00839 可以通过上调 miR-454-3p 抑制神经分化因子 1 的表达,抑制细胞增殖、扩散和 EMT[15]。Zhang 等[16]在体外实验中发现,LINC00839 的缺失可抑制鼻咽癌细胞的快速生长、侵袭和 EMT,LINC00839 还能通过直接海绵化 miR-454-3p 和调节 c-Met 表达来减弱癌细胞的侵袭性。本研究检测了 LINC00839 在不同子宫内膜癌细胞株及子宫内膜癌组织中的表达情况,结果显示,癌组织和细胞中 LINC00839 表达均较高,提示 LINC00839 可能在子宫内膜癌中发挥促癌作用;干扰 LINC00839 后的 HEC-1B 细胞中上皮标记物 E-cadherin 表达明显上调,间质标记物 N-cadherin、Vimentin 表



*：与 sh-LINC00839 组比较，$P<0.05$；#：与 anti-NC 组比较，$P<0.05$

图 6　各组 HEC-1B 细胞中 CPEB4 和 EMT 相关蛋白表达



a：LINC00839 和 miR-625-5p、miR-625-5p 和 CPEB4 的结合位点预测；b：LINC00839 和 miR-625-5p 间靶向关系验证；c：miR-625-5p 和 CPEB4 间靶向关系验证　*：与 WT-LINC00839+miR-NC 组比较，$P<0.05$；#：与 WT-CPEB4+miR-NC 组比较，$P<0.05$

图 7　LINC00839 和 miR-625-5p、miR-625-5p 和 CPEB4 的结合位点及靶向关系验证

达下调，提示下调 LINC00839 可能抑制 HEC-1B 细胞生长、侵袭和 EMT，进而延缓子宫内膜癌发展，推测 LINC00839 可能是通过调节线粒体功能从而调控 EMT 过程和癌症进展[10,13]。

为探究 LINC00839 调控子宫内膜癌细胞恶性行为的分子机制，本研究采用靶基因在线预测软件分析 LINC00839 的下游靶 miRNA，结果显示，miR-625-5p 与 LINC00839 序列存在互补的结合位点，可能存在相互作用。miR-625-5p 可以影响多种类型癌症细胞的增殖和侵袭，如 miR-625-5p 低表达可促进宫颈癌细胞增殖和转移[17]；高表达 miR-625-5p 可抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移和侵袭，同时诱导细胞凋亡[18]；另有研究证实，miR-625-5p 在子宫内膜癌中呈低表达，过表达 miR-625-5p 可抑制子宫内膜癌细胞增殖、迁移和侵袭[5]。本研究中，子宫内膜癌组织和细胞中 miR-625-5p 表达较低，与上述研究结果一致，且干扰 LINC00839 后 HEC-1B 细胞中 miR-625-5p 表达升高，说明 miR-625-5p 可能在子宫内膜癌中充当肿瘤抑制因子。本研究结果显示，LINC00839 在子宫内膜癌组织中表达上调而 miR-625-5p 表达下调，说明 LINC00839 与 miR-625-5p 存在靶向负调控关系；进一步研究显示，抑制 miR-625-5p 表达可减弱沉默 LINC00839 对 HEC-1B 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用，提示沉默 LINC00839 可能通过靶向上调 miR-625-5p 来抑制 HEC-1B 细胞增殖、迁移和侵袭，推测 LINC00839 可能是通过与 miR-625-5p 竞争性结合，介导下游通路和相关因子表达，进而在子宫内膜癌进展中发挥作用。

为进一步明确 miR-625-5p/CPEB4 参与子宫内膜癌进展的分子机制，本研究使用在线数据库对 miR-625-5p 的靶基因进行预测，结果显示，CPEB4 是 miR-625-5p 的潜在靶点。CPEB4 能调节 mRNA 翻译和稳定性，并通过控制线粒体翻译调控线粒体蛋白质活性，调节线粒体代谢，参与细胞衰老和肿瘤细胞转移过程[19-20]。据报道，CPEB4 在卵巢癌细胞中表达升高，可与 TRAG-3/CSAG2 的 mRNA 结合，并诱导其表达，CPEB4 过表达在体外能促进卵巢癌细胞对紫杉醇的耐药性[21]。Shi 等[7]发现，CPEB4 在子宫内膜癌组织和细胞中呈高表达，下调 CPEB4 表达可调节 EMT，抑制子宫内膜癌细胞的转移和生长[7]。EMT 在子宫内膜癌的进展和转移中发挥着关键作用，子宫内膜癌细胞的侵袭和迁移能力与 EMT 过程密切相关。研究显示，抑制 EMT 过程，可降低子宫内膜癌细胞的侵袭和迁移能

力[22-23]。本研究中,子宫内膜癌组织和细胞中CPEB4的mRNA和蛋白表达均较高,与Shi等[7]的研究结果一致;干扰LINC00839后的HEC-1B细胞中,CPEB4、N-cadherin、Vimentin蛋白表达均降低,E-cadherin蛋白表达升高;而miR-625-5p表达下调可逆转HEC-1B细胞中上述蛋白表达;且双荧光素酶实验证实,miR-625-5p与CPEB4存在调控作用,因此,推测LINC00839可能通过靶向miR-625-5p调节CPEB4表达,抑制EMT进程及细胞增殖、侵袭、迁移,并诱导细胞凋亡。

综上所述,LINC00839与子宫内膜癌细胞恶性生物学行为有关,干扰LINC00839表达可抑制细胞增殖、侵袭与迁移,并诱导细胞凋亡,其作用机制可能是通过调控miR-625-5p/CPEB4轴实现。但本研究为体外实验,LINC00839能否在体内通过调节miR-625-5p/CPEB4轴参与子宫内膜癌细胞恶性生物学行为尚未得到证实,还需进一步的研究加以验证,并对LINC00839在子宫内膜癌中的其他分子机制进行探索。

[参考文献]

[1] Crosbie EJ, Kitson SJ, McAlpine JN, et al. Endometrial cancer[J]. Lancet, 2022, 399(10333): 1412-1428. doi: 10.1016/S0140-6736(22)00323-3.

[2] 中国抗癌协会妇科肿瘤专业委员会. 子宫内膜癌诊断与治疗指南(2021年版)[J]. 中国癌症杂志, 2021, 31(6): 501-512. doi: 10.19401/j.cnki.1007-3639.2021.06.08.

[3] Zheng WH, Long ZQ, Zheng ZQ, et al. m6A-enriched lncRNA LINC00839 promotes tumor progression by enhancing TAF15-mediated transcription of amine oxidase AOC1 in nasopharyngeal carcinoma[J]. J Biol Chem,2023,299(7):104873. doi:10.1016/j.jbc.2023.104873.

[4] An JX, Ma ZS, Yu WJ, et al. LINC00839 promotes the progression of gastric cancer by sponging miR-1236-3p[J]. Bull Exp Biol Med, 2022, 173(1):81-86. doi:10.1007/s10517-022-05498-z.

[5] Wang Y, Yin L, Sun X. CircRNA hsa_circ_0002577 accelerates endometrial cancer progression through activating IGF1R/PI3K/Akt pathway[J]. J Exp Clin Cancer Res, 2020, 39(1): 169. doi: 10.1186/s13046-020-01679-8.

[6] El Nakib AM, Elsaeed M, Abdelsalam RA, et al. CYP24A1, AHR, CPEB4, TRIP13, and PIK3CA genes expression in colorectal cancer patients: novel diagnostic biomarkers[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2023, 27(17): 7946-7955. doi: 10.26355/eurrev_202309_33554.

[7] Shi R, Zhang W, Zhang J, et al. CircESRP1 enhances metastasis and epithelial-mesenchymal transition in endometrial cancer via the miR-874-3p/CPEB4 axis[J]. J Transl Med, 2022, 20(1): 139. doi: 10.1186/s12967-022-03334-6.

[8] 刘婷婷,孔为民. 2021年《国际妇产科联盟(FIGO)妇科恶性肿瘤指南》联合2022年《美国国立综合癌症网络(NCCN)指南(第1版)》解读子宫内膜癌诊治进展[J]. 中国临床医生杂志, 2022, 50(12): 1409-1413. doi: 10.3969/j.issn.2095-8552.2022.12.007.

[9] van den Heerik ASVM, Horeweg N, de Boer SM, et al. Adjuvant therapy for endometrial cancer in the era of molecular classification: radiotherapy, chemoradiation and novel targets for therapy[J]. Int J Gynecol Cancer, 2021, 31(4): 594-604. doi: 10.1136/ijgc-2020-001822.

[10] Liu X, Chen J, Zhang S, et al. LINC00839 promotes colorectal cancer progression by recruiting RUVBL1/Tip60 complexes to activate NRF1[J]. EMBO Rep, 2022, 23(9): e54128. doi: 10.15252/embr.202154128.

[11] Yu X, Jiang Y, Hu X, et al. LINC00839/miR-519d-3p/JMJD6 axis modulated cell viability, apoptosis, migration and invasiveness of lung cancer cells[J]. Folia Histochem Cytobiol, 2021, 59(4): 271-281. doi: 10.5603/FHC.a2021.0022.

[12] Yin J, Ding F, Cheng Z, et al. METTL3-mediated m6A modification of LINC00839 maintains glioma stem cells and radiation resistance by activating Wnt/β-catenin signaling[J]. Cell Death Dis, 2023, 14(7): 417. doi: 10.1038/s41419-023-05933-7.

[13] Xie Y, Lin H, Wei W, et al. LINC00839 promotes malignancy of liver cancer via binding FMNL2 under hypoxia[J]. Sci Rep, 2022, 12(1): 18757. doi: 10.1038/s41598-022-16972-z.

[14] Chen Q, Shen H, Zhu X, et al. A nuclear lncRNA Linc00839 as a Myc target to promote breast cancer chemoresistance via PI3K/AKT signaling pathway[J]. Cancer Sci, 2020, 111(9): 3279-3291. doi: 10.1111/cas.14555.

[15] Zhang Q, Wei J, Li N, et al. LINC00839 promotes neuroblastoma progression by sponging miR-454-3p to up-regulate NEUROD1[J]. Neurochem Res, 2022, 47(8): 2278-2293. doi: 10.1007/s11064-022-03613-0.

[16] Zhang FY, Li X, Huang TT, et al. LINC00839 knockdown restrains the metastatic behavior of nasopharyngeal carcinoma by sponging miR-454-3p[J]. Aging (Albany NY), 2021, 13(24): 26022-26033. doi: 10.18632/aging.203792.

[17] Wang L, Zhong Y, Yang B, et al. LINC00958 facilitates cervical cancer cell proliferation and metastasis by sponging miR-625-5p to upregulate LRRC8E expression[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(3): 2500-2509. doi: 10.1002/jcb.29472.

[18] Qi L, Sun B, Yang B, et al. CircMMP11 regulates proliferation, migration, invasion, and apoptosis of breast cancer cells through miR-625-5p/ZEB2 axis[J]. Cancer Cell Int, 2021, 21(1): 133. doi: 10.1186/s12935-021-01816-z.

[19] Zeng W, Zhang W, Tse EHY, et al. Restoration of CPEB4 prevents muscle stem cell senescence during aging[J]. Dev Cell, 2023, 58(15): 1383-1398. doi: 10.1016/j.devcel.2023.05.012.

[20] Liu H, Wei Z, Shi K, et al. miRNA-130a-3p/CPEB4 axis modulates glioblastoma growth and progression[J]. Technol Cancer Res Treat, 2023, 22(1): 15330338231218218. doi: 10.1177/15330338231218218.

[21] Zhang Y, Gan H, Zhao F, et al. CPEB4-promoted paclitaxel resistance in ovarian cancer in vitro relies on translational regulation of CSAG2[J]. Front Pharmacol, 2021, 11(1): 600994. doi: 10.3389/fphar.2020.600994.

[22] Cassier PA, Navaridas R, Bellina M, et al. Netrin-1 blockade inhibits tumour growth and EMT features in endometrial cancer[J]. Nature, 2023, 620(7973): 409-416. doi: 10.1038/s41586-023-06367-z.

[23] Lee KJ, Kim NH, Kim HS, et al. The role of ROR1 in chemoresistance and EMT in endometrial cancer cells[J]. Medicina (Kaunas), 2023, 59(5): 994. doi: 10.3390/medicina59050994.

(编辑:贺绍梅)