

lncRNA MAGI1 - IT1 调节 *miR - 485 - 5p*/ *ACTG1* 轴对乳腺癌细胞生物学行为和 上皮间质转化的影响

Effects of *lncRNA MAGI1 - IT1* on biological behavior and epithelial mesenchymal transformation of breast cancer cells by regulating *miR - 485 - 5p*/*ACTG1* axis

王 峰, 王文彦, 曲更宝,
朱 强

(首都医科大学 附属北京天坛医院 普通外科,
北京 100050)

WANG Feng, WANG Wen - yan,
QU Geng - bao, ZHU Qiang

(Department of General Surgery, Beijing
Tiantan Hospital, Capital Medical
University, Beijing 100050, China)

基金项目:北京市优秀人才培养基金资助项目
(2016000021469G211);北京市青年
骨干项目基金资助项目
(2016000021469G211)

作者简介:王峰(1981 -),男,副主任医师,主要
从事乳腺肿瘤、浸润性导管癌、癌前
病变的相关研究

通信作者:王峰

MP:13801037120

E - mail:16911475@qq.com

摘要:目的 探讨长链非编码 RNA(*lncRNA*)*MAGI1 - IT1* 调节 *miR - 485 - 5p*/肌动蛋白 $\gamma 1$ (*ACTG1*)轴对乳腺癌细胞增殖、侵袭、迁移及上皮间质转化(EMT)的影响。方法 将体外培养 HCC1937 细胞分为对照组、si - *MAGI1 - IT1* 组、*miR - 485 - 5p* mimics 组、阴性共转染组和阳性共转染组。对照组正常培养,不转染;si - *MAGI1 - IT1* 组给予 si - *MAGI1 - IT1* 转染;*miR - 485 - 5p* mimics 组给予 *miR - 485 - 5p* mimics 转染;阴性共转染组给予 si - NC 和 NC - *miR - 485 - 5p* 联合转染;阳性共转染组给予 si - *MAGI1 - IT1* 和 *miR - 485 - 5p* inhibitor 联合转染。用细胞计数试剂盒 - 8 法检测细胞的增殖情况,用细胞划痕实验法检测细胞的迁移情况,用 Transwell 实验法检测细胞的侵袭情况,用实时荧光定量聚合酶链反应检测 *lncRNA MAGI1 - IT1*、*miR - 485 - 5p* 及 *ACTG1* 的表达水平,用免疫组化染色法检测增殖和 EMT 相关蛋白的表达情况。结果 对照组、si - *MAGI1 - IT1* 组、*miR - 485 - 5p* mimics 组、阴性共转染组和阳性共转染组的细胞活性(光密度值)分别为 0.89 ± 0.12 、 0.36 ± 0.05 、 0.32 ± 0.03 、 0.89 ± 0.10 和 0.85 ± 0.11 ,迁移率分别为 $(91.82 \pm 11.13)\%$ 、 $(38.40 \pm 7.64)\%$ 、 $(33.17 \pm 6.03)\%$ 、 $(92.43 \pm 10.87)\%$ 和 $(86.10 \pm 10.76)\%$,侵袭细胞数分别为 (296.50 ± 23.48) 、 (93.00 ± 17.36) 、 (76.50 ± 15.01) 、 (302.50 ± 25.32) 和 (269.00 ± 24.92) 个,*lncRNA MAGI1 - IT1* 相对表达水平分别为 0.98 ± 0.11 、 0.29 ± 0.06 、 0.96 ± 0.10 、 1.00 ± 0.12 和 0.30 ± 0.07 ,*miR - 485 - 5p* 相对表达水平分别为 0.99 ± 0.13 、 2.12 ± 0.16 、 2.20 ± 0.18 、 0.98 ± 0.15 和 1.04 ± 0.16 ,*ACTG1* 相对表达水平分别为 1.01 ± 0.12 、 0.34 ± 0.05 、 0.31 ± 0.07 、 1.02 ± 0.14 和 0.97 ± 0.11 ,增殖细胞核抗原阳性表达水平(光密度值)分别为 1.65 ± 0.16 、 0.53 ± 0.12 、 0.45 ± 0.08 、 1.64 ± 0.14 和 1.60 ± 0.17 ,细胞周期蛋白 D1 阳性表达水平(光密度值)分别为 1.53 ± 0.15 、 0.46 ± 0.11 、 0.40 ± 0.06 、 1.52 ± 0.14 和 1.48 ± 0.13 ,波形蛋白阳性表达水平(光密度值)分别为 1.49 ± 0.14 、 0.45 ± 0.07 、 0.39 ± 0.06 、 1.50 ± 0.12 和 1.45 ± 0.13 。si - *MAGI1 - IT1* 组的上述指标与对照组比较,*miR - 485 - 5p* mimics 组的上述指标(除 *lncRNA MAGI1 - IT1* 外)与对照组比较,阳性共转染组的上述指标(除 *lncRNA MAGI1 - IT1* 外)与 si - *MAGI1 - IT1* 组比较,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结论 敲低 *lncRNA MAGI1 - IT1* 可以通过上调 *miR - 485 - 5p* 来降低 *ACTG1* 表达,从而抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭及 EMT。

关键词:长链非编码 RNA *MAGI1 - IT1*; *miR - 485 - 5p*/肌动蛋白 $\gamma 1$;乳腺癌;增殖;侵袭;迁移

DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.08.005

中图分类号:R97 文献标志码:A

文章编号:1001-6821(2025)08-1072-07

Abstract: Objective To investigate the effects of long non - coding

RNA (lncRNA) *MAGI1 - IT1* on the proliferation, invasion, migration and epithelial mesenchymal transformation (EMT) of breast cancer cells by regulating the *miR - 485 - 5p/actin gamma 1 (ACTG1)* axis. **Methods** HCC1937 cells were cultured *in vitro* and randomly divided into control, si - *MAGI1 - IT1*, *miR - 485 - 5p* mimics, negative cotransfection and positive cotransfection groups. Control group was cultured normally without transfection; si - *MAGI1 - IT1* group was transfected with si - *MAGI1 - IT1*; *miR - 485 - 5p* mimics group was transfected with *miR - 485 - 5p mimics*; negative cotransfection group was transfected with si - NC and NC - *miR - 485 - 5p*; positive cotransfection group was given si - *MAGI1 - IT1* and *miR - 485 - 5p inhibitor* combined transfection. Cell proliferation was detected by cell counting kit - 8 method, cell migration was detected by cell scratch assay, cell invasion was detected by Transwell assay, and expression levels of *lncRNA MAGI1 - IT1*, *miR - 485 - 5p* and *ACTG1* were detected by real - time fluorescence quantitative polymerase chain reaction method. The expression of proliferation and EMT - related proteins were detected by immunohistochemical staining. **Results** The cell activities (optical density) of the control, si - *MAGI1 - IT1*, *miR - 485 - 5p* mimics, negative cotransfection and positive cotransfection groups were 0.89 ± 0.12 , 0.36 ± 0.05 , 0.32 ± 0.03 , 0.89 ± 0.10 and 0.85 ± 0.11 ; the migration rates were $(91.82 \pm 11.13)\%$, $(38.40 \pm 7.64)\%$, $(33.17 \pm 6.03)\%$, $(92.43 \pm 10.87)\%$ and $(86.10 \pm 10.76)\%$; the number of invasions was 296.50 ± 23.48 , 93.00 ± 17.36 , 76.50 ± 15.01 , 302.50 ± 25.32 and 269.00 ± 24.92 ; the relative expression levels of *lncRNA MAGI1 - IT1* were 0.98 ± 0.11 , 0.29 ± 0.06 , 0.96 ± 0.10 , 1.00 ± 0.12 and 0.30 ± 0.07 ; the relative expression levels of *miR - 485 - 5p* were 0.99 ± 0.13 , 2.12 ± 0.16 , 2.20 ± 0.18 , 0.98 ± 0.15 and 1.04 ± 0.16 ; the relative expression levels of *ACTG1* were 1.01 ± 0.12 , 0.34 ± 0.05 , 0.31 ± 0.07 , 1.02 ± 0.14 and 0.97 ± 0.11 ; the positive expression levels of proliferating cell nuclear antigen (optical density) were 1.65 ± 0.16 , 0.53 ± 0.12 , 0.45 ± 0.08 , 1.64 ± 0.14 and 1.60 ± 0.17 ; the positive expression levels of Cyclin D1 (optical density) were 1.53 ± 0.15 , 0.46 ± 0.11 , 0.40 ± 0.06 , 1.52 ± 0.14 and 1.48 ± 0.13 ; the positive expression levels of Vimentin (optical density) were 1.49 ± 0.14 , 0.45 ± 0.07 , 0.39 ± 0.06 , 1.50 ± 0.12 and 1.45 ± 0.13 , respectively. The above indexes in the si - *MAGI1 - IT1* group were compared with the control group, the above indexes in the *miR - 485 - 5p* mimics group (except *lncRNA MAGI1 - IT1*) were compared with the control group, the above indexes in the positive cotransfection group (except *lncRNA MAGI1 - IT1*) were compared with the si - *MAGI1 - IT1* group, the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). **Conclusion** Knockdown of *lncRNA MAGI1 - IT1* can reduce the expression of *ACTG1* by up - regulating *miR - 485 - 5p*, thereby inhibiting the proliferation, migration, invasion and EMT of breast cancer cells.

Key words: long non - coding RNA *MAGI1 - IT1*; *miR - 485 - 5p/actin gamma 1*; breast cancer; proliferation; invasion; migration

乳腺癌是导致女性癌性死亡的主要原因,抑制癌细胞的增殖、转移及侵袭是乳腺癌治疗的关键^[1]。长链非编码 RNA (long non - coding RNA, *LncRNA*) *MAGI1 - IT1*在胃癌细胞和组织中高表达,敲低 *MAGI1 - IT1*可以破坏胃癌细胞的体内外增殖^[2]。*miR - 485 - 5p*在包括乳腺癌在内的人类癌症中异常低表达,上调 *miR - 485 - 5p*可以抑制三阴乳腺癌的体外增殖、迁移、侵袭和体内肿瘤生长、肺转移^[3]。肌动蛋白 $\gamma 1$ (actin gamma 1, *ACTG1*)是调控细胞转移的主要因子,敲低 *ACTG1*后,乳腺癌细胞增殖、迁移和侵袭受到明显抑制^[4]。YI等^[5]研究表明,*miR - 485 - 5p*可以通过下调 *ACTG1*表达,进而抑制结直肠癌生长及上皮间质转化 (epithelial - mesenchymal transition, EMT)。

本课题组通过查询 Starbase 数据库发现,*miR - 485 - 5p*与 *lncRNA MAGI1 - IT1*、*ACTG1*均存在结合位点。本研究通过体外培养人乳腺癌细胞系 HCC1937,探究 *lncRNA MAGI1 - IT1*调节 *miR - 485 - 5p/ACTG1*信号轴对乳腺癌细胞增殖、侵袭、迁移及 EMT 的影响。

材料与方法

1 材料

细胞 人乳腺癌细胞系 HCC1937、MDA - MB - 453、Hs 578T,以及人正常乳腺上皮细胞 MCF - 10A,均购自苏州海星生物科技有限公司。

试剂 一步法实时荧光定量聚合酶链反应 (real - time quantitative polymerase chain reaction,

RT-qPCR)检测试剂盒,北京凡知医学科技有限公司生产;双荧光素酶报告基因检测试剂盒,上海羽朵生物科技有限公司生产;增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、细胞周期蛋白 D1(Cyclin D1)、波形蛋白(Vimentin)、E-钙黏蛋白(E-cadherin)一抗(兔源抗人),均购自英国 Abcam 公司;免疫组化检测试剂盒(抗兔/小鼠,HRP-DAB),杭州斯达特生物科技有限公司生产。*lncRNA MAGI1-IT1* siRNA(*si-MAGI1-IT1*)、*lncRNA MAGI1-IT1* siRNA 阴性对照(*si-NC*)、*miR-485-5p inhibitor*、*miR-485-5p mimics*、*miR-485-5p* 阴性对照(*NC-miR-485-5p*)、野生型 *miR-485-5p* (WT-*miR-485-5p*)、野生型 *ACTG1* 3'-UTR 质粒(WT-*ACTG1*)、*lncRNA MAGI1-IT1* 过表达质粒(*pc-MAGI1-IT1*)、突变型 *ACTG1* 3'-UTR 质粒(MUT-*ACTG1*)、空载质粒(*pc-NC*)、突变型 *miR-485-5p* (MUT-*miR-485-5p*),均由北京欧林格生物科技有限公司生产。

仪器 H-9800 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪,苏州合惠生物科技有限公司产品;XSP-02 生物光学显微镜,上海启前电子科技有限公司产品;MB16-414 酶标仪,上海皓庄仪器有限公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养

解冻 MCF-10A、HCC1937、MDA-MB-453、Hs578T 细胞,在 37℃、5% CO₂ 含 10% 胎牛血清和 1% 双抗的 DMEM 中培养。

2.2 RT-qPCR 检测各种细胞中 *lncRNA MAGI1-IT1*、*miR-485-5p* 和 *ACTG1* 的表达水平^[5]

取传代 2 次的 MCF-10A、HCC1937、MDA-MB-453、Hs 578T 细胞,用 TRIzol 提取总 RNA,然后进行 PCR 扩增,具体实验步骤按 PCR 检测试剂盒说明书的步骤进行。*lncRNA MAGI1-IT1*、*ACTG1* 以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *GAPDH*)为内参,*miR-485-5p* 以 *U6* 内参,用 2^{-ΔΔCt} 法计算相对表达水平。

2.3 细胞分组与处置方法

取对数生长期的 HCC1937 细胞接种在 24 孔板培养,分为正常组、*si-MAGI1-IT1* 组、*miR-485-5p mimics* 组、阴性共转染组和阳性共转染组。对照组给予正常培养,不进行转染操作;其余 4 组严格按照 Lipofectamine 3000 转染试剂盒说明书的步骤进行转染操作。*si-MAGI1-IT1* 组和 *miR-485-5p mimics* 组分别将 *si-MAGI1-IT1*、*miR-485-5p mimics* 转染

到 HCC1937 细胞内;阴性共转染组将 *si-NC* 和 *NC-miR-485-5p* 联合转染到 HCC1937 细胞内;阳性共转染组将 *si-MAGI1-IT1* 和 *miR-485-5p inhibitor* 联合转染到 HCC1937 细胞内。转染 24 h 后,收集各组细胞进行后续实验。

2.4 RT-qPCR 检测各组 HCC1937 细胞中 *lncRNA MAGI1-IT1*、*miR-485-5p* 和 *ACTG1* 的表达水平^[5]

调整细胞密度为 1×10^7 cell · mL⁻¹,接种至 24 孔板中,按“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 3 个复孔,培养 24 h 后,按“2.2”项的方法检测各组细胞中 *lncRNA MAGI1-IT1*、*miR-485-5p* 和 *ACTG1* 的相对表达水平。

2.5 细胞计数试剂盒-8 (cell counting kit-8, CCK-8)法和集落形成实验法检测各组细胞的增殖情况^[6]

调整细胞密度为 1×10^4 cell · mL⁻¹,接种至 96 孔板中,按“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 3 个复孔,培养 24 h 后,加入 CCK-8 试剂,以酶标仪测定各组细胞光密度(optical density, OD)值。另外,调整细胞密度为 1×10^7 cell · mL⁻¹,接种至 24 孔板中,按“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 3 个复孔,培养 24 h 后,用磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)洗涤并计数,每组取约 90 个细胞接种在 24 孔板内培养 2 周,观察集落形成情况,拍照后计算各组细胞集落形成率。

2.6 细胞划痕实验法检测各组细胞的迁移情况^[4]

调整细胞密度为 1×10^7 cell · mL⁻¹,接种至 24 孔板中,按“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 3 个复孔,培养 24 h 后,在每孔中央划线,以显微镜摄取各组划痕图像后定量其面积,继续培养 24 h 后再次摄取各组细胞划痕图像后定量其面积,计算各组细胞迁移率。

2.7 Transwell 实验法检测各组细胞的侵袭情况^[4]

调整细胞密度为 1×10^7 cell · mL⁻¹,接种至 24 孔板中,按“2.3”的方法进行分组和处置,每组设 3 个复孔,培养 24 h 后,以每孔 1×10^6 个的密度接种在用基质胶包被过的 Transwell 上室内,用无血清的 RPMI-1640 基础培养基培养 3 h 后,于 Transwell 板下室中加入含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基继续培养 24 h,固定下室细胞后进行结晶紫染色,在镜下观察并计算各组细胞的侵袭细胞数。

2.8 免疫组化染色法检测各组 HCC1937 细胞增殖与 EMT 相关蛋白的阳性表达情况^[6]

调整细胞密度为 1×10^7 cell · mL⁻¹,接种至 24 孔板中,按“2.3”的方法进行分组和处置,每组设

3个复孔,培养24 h后进行固定并用3% H₂O₂孵育,封闭后孵育PCNA、Cyclin D1、Vimentin与E-cadherin一抗,然后按免疫组化检测试剂盒说明书的步骤进行操作,孵育二抗,进行免疫组化染色,镜下拍照后定量各组细胞染色后PCNA、Cyclin D1、Vimentin与E-cadherin阳性表达光密度值。

2.9 双荧光素酶报告实验验证靶向调控作用^[6]

取对数生长期的HCC1937细胞,接种在24孔板中,待细胞融合度达70%时,随机分为8组。将WT-miR-485-5p、MUT-miR-485-5p分别和pc-NC、pc-MAGI1-IT1联合转染到HCC1937细胞内,分别记为WT-miR-485-5p+pc-NC组、WT-miR-485-5p+pc-MAGI1-IT1组、MUT-miR-485-5p+pc-NC组和MUT-miR-485-5p+pc-MAGI1-IT1组;将WT-ACTG1、MUT-ACTG1分别和NC-miR-485-5p、miR-485-5p mimics联合转染到HCC1937细胞内,分别记为WT-ACTG1+NC-miR-485-5p组、WT-ACTG1+miR-485-5p mimics组、MUT-ACTG1+NC-miR-485-5p组和MUT-ACTG1+miR-485-5p mimics组。转染24 h后,严格按照双荧光素酶报告基因检测试剂盒说明书的步骤进行操作,用酶标仪检测各组细胞的双荧光素酶相对活性。

3 统计学处理

用GraphPad Prism 8.0软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间差异比较用单因素方差分析,组间多重比较用SNK-q检验。

结 果

1 各种细胞中 lncRNA MAGI1-IT1、miR-485-5p 及 ACTG1 mRNA 表达水平的比较

HCC1937、MDA-MB-453和Hs578T细胞中miR-485-5p相对表达水平均较MCF-10A细胞显著降低,lncRNA MAGI1-IT1和ACTG1 mRNA相对表达水平均较MCF-10A细胞显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见表1。其中,HCC1937细胞中lncRNA MAGI1-IT1和ACTG1 mRNA相对表达水平最高,miR-485-5p相对表达水平最低,故选择HCC1937细胞进行后续实验。

2 各组 HCC1937 细胞中 lncRNA MAGI1-IT1、miR-485-5p 及 ACTG1 mRNA 表达水平的比较

对照组给予正常培养;si-MAGI1-IT1组转染si-MAGI1-IT1;miR-485-5p mimics组转染miR-485-5p mimics;阴性共转染组共转染si-NC

和NC-miR-485-5p;阳性共转染组共转染si-MAGI1-IT1和miR-485-5p inhibitor。

如表2所示:si-MAGI1-IT1组与对照组相比,细胞中miR-485-5p相对表达水平显著升高,lncRNA MAGI1-IT1和ACTG1 mRNA相对表达水平均显著降低(均 $P < 0.05$);miR-485-5p mimics组与对照组相比,细胞中lncRNA MAGI1-IT1相对表达水平无显著性差异($P > 0.05$),miR-485-5p相对表达水平显著升高,ACTG1 mRNA相对表达水平显著降低(均 $P < 0.05$);阴性共转染组的上述指标与对照组相比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);阳性共转染组与si-MAGI1-IT1组相比,细胞中lncRNA MAGI1-IT1相对表达水平无显著性差异($P > 0.05$),miR-485-5p相对表达水平显著降低,ACTG1 mRNA相对表达水平显著升高(均 $P < 0.05$)。

表 1 各种细胞中长链非编码 RNA MAGI1-IT1 (lncRNA MAGI1-IT1)、miR-485-5p 和肌动蛋白 γ 1 (ACTG1) mRNA 相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of relative expression levels of long non-coding RNA MAGI1-IT1 (lncRNA MAGI1-IT1), miR-485-5p and ACTG1 mRNA in various cells ($\bar{x} \pm s$)

Cell	n	lncRNA MAGI1-IT1	miR-485-5p	ACTG1
MCF-10A	9	0.98 ± 0.11	1.03 ± 0.14	0.99 ± 0.13
HCC1937	9	2.30 ± 0.13 *	0.27 ± 0.07 *	2.34 ± 0.19 *
MDA-MB-453	9	2.13 ± 0.16 *	0.35 ± 0.08 *	2.10 ± 0.14 *
Hs578T	9	1.92 ± 0.10 *	0.41 ± 0.09 *	1.85 ± 0.10 *

Compared with MCF-10A cell, * $P < 0.05$.

表 2 各组细胞中 lncRNA MAGI1-IT1、miR-485-5p 及 ACTG1 mRNA 相对表达水平的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Comparison of the relative expression levels of lncRNA MAGI1-IT1, miR-485-5p and ACTG1 mRNA in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	n	lncRNA MAGI1-IT1	miR-485-5p	ACTG1
Control	9	0.98 ± 0.11	0.99 ± 0.13	1.01 ± 0.12
si-MAGI1-IT1	9	0.29 ± 0.06 *	2.12 ± 0.16 *	0.34 ± 0.05 *
miR-485-5p mimics	9	0.96 ± 0.10	2.20 ± 0.18 *	0.31 ± 0.07 *
Negative cotransfection	9	1.00 ± 0.12	0.98 ± 0.15	1.02 ± 0.14
Positive cotransfection	9	0.30 ± 0.07 *	1.04 ± 0.16 #	0.97 ± 0.11 #

Control group: Normal culture, no transfection; si-MAGI1-IT1 group: Transfected with si-MAGI1-IT1; miR-485-5p mimics group: Transfected with miR-485-5p mimics; Negative cotransfection group: Co-transfected with si-NC and NC-miR-485-5p; Positive cotransfection group: Co-transfected with si-MAGI1-IT1 and miR-485-5p inhibitor; Compared with control group, * $P < 0.05$; Compared with si-MAGI1-IT1 group, # $P < 0.05$.

3 各组 HCC1937 细胞增殖、侵袭、迁移情况的比较

si - MAGI1 - IT1 组和 miR - 485 - 5p mimics 组的细胞活性、集落形成率、迁移率、侵袭细胞数均较对照组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);阴性共转染组的细胞活性、集落形成率、迁移率和侵袭细胞数均较对照组无显著性差异(均 $P > 0.05$);阳性共转染组的细胞活性、集落形成率、迁移率和侵袭细胞数均较 si - MAGI1 - IT1 组显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图 1 和表 3。

4 各组 HCC1937 细胞增殖和 EMT 相关蛋白的阳性表达情况

si - MAGI1 - IT1 组和 miR - 485 - 5p mimics 组的 PCNA、Cyclin D1、Vimentin 阳性表达水平(光密度值)均较对照组显著降低,E - cadherin 阳性表达水平(光密度值)均较对照组显著升高,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);阴性共转染组的 PCNA、Cyclin D1、Vimentin 和 E - cadherin 阳性表达水平(光密度值)均较对照组无显著性差异(均 $P > 0.05$);阳性共转染组的 PCNA、Cyclin D1 和 Vimentin 阳性表达水

平(光密度值)均较 si - MAGI1 - IT1 组显著升高,E - cadherin 阳性表达水平(光密度值)较 si - MAGI1 - IT1 组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。结果见图 2 和表 4。

5 HCC1937 细胞中 lncRNA MAGI1 - IT1 对 miR - 485 - 5p、miR - 485 - 5p 和 ACTG1 靶向调节关系的验证

lncRNA MAGI1 - IT1 与 miR - 485 - 5p、miR - 485 - 5p 与 ACTG1 间结合位点,见图 3。WT - miR - 485 - 5p + pc - NC 组、WT - miR - 485 - 5p + pc - MAGI1 - IT1 组、MUT - miR - 485 - 5p + pc - NC 组和 MUT - miR - 485 - 5p + pc - MAGI1 - IT1 组的相对荧光素酶活性分别为 1.01 ± 0.12 、 0.32 ± 0.06 、 0.99 ± 0.14 和 1.02 ± 0.11 ;WT - miR - 485 - 5p + pc - MAGI1 - IT1 组的相对荧光素酶活性较 WT - miR - 485 - 5p + pc - NC 组显著降低($P < 0.05$),MUT - miR - 485 - 5p + pc - NC 组与 MUT - miR - 485 - 5p + pc - MAGI1 - IT1 组的相对荧光素酶活性无显著性差异($P > 0.05$)。WT - ACTG1 + NC - miR - 485 - 5p 组、WT - ACTG1 + miR - 485 - 5p mimics 组、MUT - ACTG1 + NC - miR - 485 - 5p 组和

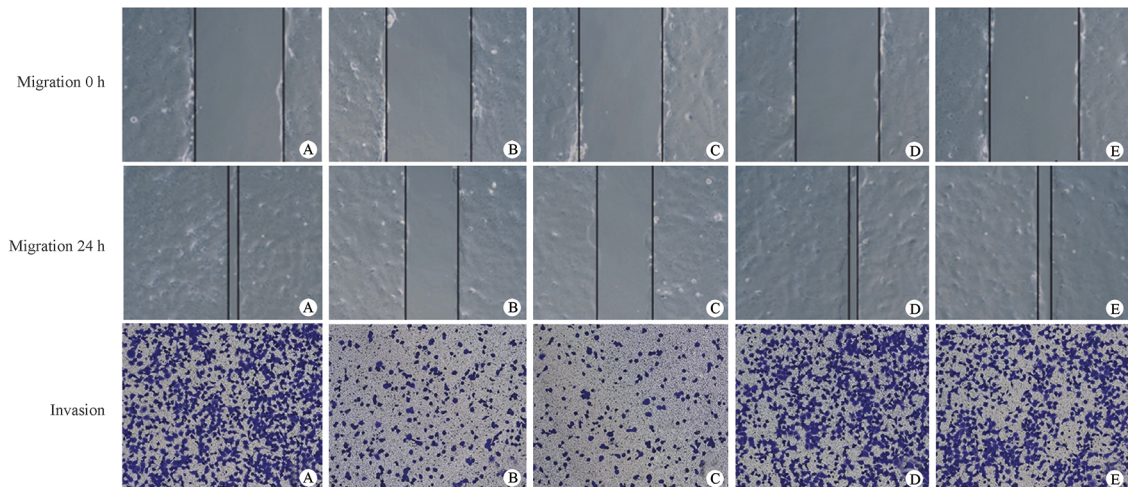


图 1 各组 HCC1937 细胞的迁移($\times 40$)和侵袭(Transwell 实验, $\times 200$)情况

Figure 1 Migration ($\times 40$) and invasion (Transwell test, $\times 200$) of HCC1937 cells in each group

A: Control group; B: si - MAGI1 - IT1 group; C: miR - 485 - 5p mimics group; D: Negative cotransfection group; E: Positive cotransfection group.

表 3 各组 HCC1937 细胞细胞活性、集落形成率、迁移率、侵袭细胞数的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of cell activity, colony formation rate, migration rate and number of invasion of HCC1937 cells in each group ($\bar{x} \pm s$)

Group	Cell activity (OD value)	Colony formation rate (%)	Migration rate (%)	Number of invasion (n)
Control	0.89 ± 0.12	100.00 ± 0.00	91.08 ± 11.13	296.50 ± 23.48
si - MAGI1 - IT1	$0.36 \pm 0.05^*$	$47.50 \pm 4.80^*$	$38.40 \pm 7.64^*$	$93.00 \pm 17.36^*$
miR - 485 - 5p mimics	$0.32 \pm 0.03^*$	$42.39 \pm 3.16^*$	$33.17 \pm 6.03^*$	$76.50 \pm 15.01^*$
Negative cotransfection	0.89 ± 0.10	103.70 ± 4.32	92.34 ± 10.87	302.50 ± 25.32
Positive cotransfection	$0.85 \pm 0.11^{\#}$	$94.90 \pm 5.45^{\#}$	$86.01 \pm 10.76^{\#}$	$269.00 \pm 24.29^{\#}$

Dose and n refer to table 2; OD: Optical density; Compared with control group, $^* P < 0.05$; Compared with si - MAGI1 - IT1 group, $^{\#} P < 0.05$.

A – E refer to figure 1 ;PCNA: Proliferating cell nuclear antigen.

Group	PCNA	Cyclin D1	Vimentin	E – cadherin
Control	1.65 ± 0.16	1.53 ± 0.15	1.49 ± 0.14	0.33 ± 0.05
si – MAGI1 – IT1	0.53 ± 0.12 *	0.46 ± 0.11 *	0.45 ± 0.07 *	1.00 ± 0.09 *
miR – 485 – 5p mimics	0.45 ± 0.08 *	0.40 ± 0.06 *	0.39 ± 0.06 *	1.10 ± 0.13 *
Negative cotransfection	1.64 ± 0.14	1.52 ± 0.14	1.50 ± 0.12	0.34 ± 0.06
Positive cotransfection	1.60 ± 0.17 [#]	1.48 ± 0.13 [#]	1.45 ± 0.13 [#]	0.36 ± 0.07 [#]

讨 论

MAGI1-IT1 能够刺激癌细胞的增殖能力,其在非小细胞肺癌组织和细胞中表达上调,并能预测患者预后不良,敲低 *MAGI1-IT1* 可以抑制非小细胞肺癌细胞的生长及顺铂耐药性^[7-8]。*MAGI1-IT1* 在胃癌中同样表达升高,并与患者较差的总生存期有关;敲低其表达可以在体内外破坏癌细胞增殖^[2]。此外,下调 *MAGI1-IT1* 表达还能够减弱结肠癌细胞增殖,刺激其凋亡^[9]。由此推测 *MAGI1-IT1* 可能作为一种致癌因子介导乳腺癌的发生发展。本研究发现,*lncRNA MAGI1-IT1* 在人乳腺癌细胞中表达上调,敲低 *lncRNA MAGI1-IT1* 可以抑制乳腺癌细胞的增殖、迁移、侵袭和 EMT,表明 *MAGI1-IT1* 在乳腺癌中具有致癌作用,可以作为乳腺癌的潜在治疗靶点进行开发研究。

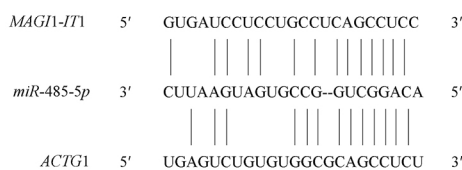


Figure 3 Binding sites of *miR-485-5p* with *lncRNA MAGI1-IT1* and *ACTG1*

miR-485-5p 在肺腺癌组织中表达下调,参与调节肺癌的恶性进展和铁死亡,在肺癌的诊断和治疗中起重要作用^[10]。研究发现,上调 *miR-485-5p* 表达可以抑制结直肠细胞的增殖、侵袭和肿瘤生长^[11]。此外,*miR-485-5p*还能够介导丛蛋白1表达来调节宫颈癌细胞的顺铂耐药性^[12]。还有研究报道,抑制*miR-485-5p*表达可以诱导上皮和间充质样表型,使癌细胞保持其生长能力,并可能导致乳腺癌转移^[13],与本研究结果相似。在本研究中,乳腺癌细胞的*miR-485-5p*表达较低,下调*miR-485-5p*表达可以减弱敲低 *lncRNA MAGI1-IT1* 对乳腺癌细胞 EMT、增殖、迁移与侵袭的抑制作用,提示敲低 *lncRNA MAGI1-IT1*抑制乳腺癌细胞 EMT、增殖、迁移与侵袭等恶性行为可能是通过上调 *miR-485-5p* 实现的。

ACTG1 是一种肌动蛋白亚型,在调节细胞增殖、迁移和侵袭中发挥关键作用,其参与癌症等多种疾病的发生和发展^[14-15]。*ACTG1* 在前列腺癌组织及细胞中高表达,可以促进肿瘤侵袭和 EMT^[16]。WANG 等^[17]研究报道,上调 *ACTG1* 可以促进胃癌细胞 EMT、迁移、侵袭和增殖。REN 等^[4]研究发现,*ACTG1* 在乳腺癌细胞和组织中上调,其表达下调可以阻止癌细胞的恶性行为。这与本研究结果一致,提示 *ACTG1* 可能参与乳腺癌的发生发展。*ACTG1* 受到 *miR-485-5p* 的调控,进而影响结直肠癌肿瘤生长和糖酵解^[5]。这说明*miR-485-5p*和 *ACTG1* 可能存在靶向关系,共同作用于乳腺癌进展。本研究发现,*lncRNA MAGI1-IT1* 与 *miR-485-5p*、*ACTG1* 与 *miR-485-5p* 均存在靶向关系,说明 *lncRNA MAGI1-IT1* 可以通过靶向 *miR-485-5p*而上调 *ACTG1* 表达,从而促进乳腺癌生物行为和 EMT。

本研究提示:敲低 *lncRNA MAGI1-IT1* 可以通过上调 *miR-485-5p* 表达来减弱 *ACTG1* 表达,从而抑制乳腺癌细胞的增殖、EMT、迁移、侵袭,最终起到明显的抗乳腺癌作用。

参考文献:

- [1] ROY M, FOWLER A M, ULANER G A, et al. Molecular classification of breast cancer [J]. *PET Clin*, 2023, 18(4): 441—458.
- [2] WANG Q, GU M, ZHUANG Y, et al. The long noncoding RNA *MAGI1-IT1* regulates the *miR-302d-3p/IGF1* axis to control gastric cancer cell proliferation [J/OL]. *Cancer Manag Res*, 2021, 13: 2959—2967. 2021-04-01 [2024-08-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33833579/>.
- [3] YANG X, YANG Y, QIAN X, et al. Long non-coding RNA *LINC01559* serves as a competing endogenous RNA accelerating

- triple-negative breast cancer progression [J]. *Biomed J*, 2022, 45(3): 512—521.
- [4] REN L, WANG L, YI X, et al. Ultrasound microbubble-stimulated *miR-145-5p* inhibits malignant behaviors of breast cancer cells by targeting *ACTG1* [J]. *Ultrasound Q*, 2024, 40(2): 136—143.
- [5] YI B, DAI K, YAN Z, et al. Circular RNA *PLCE1* promotes epithelial mesenchymal transformation, glycolysis in colorectal cancer and M2 polarization of tumor-associated macrophages [J]. *Bioengineered*, 2022, 13(3): 6243—6256.
- [6] NIE Z, XU M, ZHOU L, et al. *lncSNHG3* drives breast cancer progression by epigenetically increasing *CSNK2A1* expression level [J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(12): 5734—5750.
- [7] ZHANG G, CHEN H X, YANG S N, et al. *MAGI1-IT1* stimulates proliferation in non-small cell lung cancer by upregulating *AKT1* as a ceRNA [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(2): 691—698.
- [8] BO W, YU N, WANG X, et al. Lactate promoted cisplatin resistance in NSCLC by modulating the m6A modification-mediated *FOXO3/MAGI1-IT1/miR-664b-3p/IL-6R* axis [J/OL]. *Neoplasia*, 2024, 48: 100960. 2024-01-06 [2024-08-20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38184887/>.
- [9] 寇卫政, 王方, 赵红珂, 等. 人参皂苷 Rd 通过调控 *lncRNA MAGI1-IT1* 表达影响结肠癌 SW480 细胞的增殖和凋亡 [J]. 现代肿瘤医学, 2023, 31(18): 3371—3375.
- [10] ZHAO Y, CUI Q, SHEN J, et al. *Hsa_circ_0070440* promotes lung adenocarcinoma progression by *SLC7A11*-mediated ferroptosis [J]. *Histol Histopathol*, 2023, 38(12): 1429—1441.
- [11] BAI L, GAO Z, JIANG A, et al. *Circ_0001535* facilitates tumor malignant progression by *miR-485-5p/LASPI* axis in colorectal cancer [J]. *Balkan Med J*, 2022, 39(6): 411—421.
- [12] CHEN J, WU S, WANG J, et al. *Hsa_circ_0074269*-mediated upregulation of *TUFT1* through *miR-485-5p* increases cisplatin resistance in cervical cancer [J]. *Reprod Sci*, 2022, 29(8): 2236—2250.
- [13] MENG Q X, WANG K N, LI J H, et al. *ZNF384-ZEB1* feedback loop regulates breast cancer metastasis [J]. *Mol Med*, 2022, 28(1): 111—124.
- [14] TANG Y, PENG X, HUANG X, et al. Actin gamma 1 is a critical regulator of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Saudi J Gastroenterol*, 2022, 28(3): 239—246.
- [15] LUO J Q, YANG T W, WU J, et al. Exosomal *PGAM1* promotes prostate cancer angiogenesis and metastasis by interacting with *ACTG1* [J]. *Cell Death Dis*, 2023, 14(8): 502—516.
- [16] XIAO L, PENG H, YAN M, et al. Silencing *ACTG1* expression induces prostate cancer epithelial mesenchymal transition through *MAPK/ERK* signaling pathway [J]. *DNA Cell Biol*, 2021, 40(11): 1445—1455.
- [17] WANG H, MIN J, DING Y, et al. *MBD3* promotes epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer cells by upregulating *ACTG1* via the *PI3K/AKT* pathway [J]. *Biol Proced Online*, 2024, 26(1): 1—15.

(收稿日期 2024-11-10)