DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.09.003

# 熊果酸对甲状腺乳头状癌细胞 LINC01089 及其靶基因表达的影响

伊琳[1],何亚丽[1],吕红英[1],王晓科[1,2],杨鑫[1,2],顾远晖[1,2]
(1.甘肃中医药大学,甘肃 兰州 730000;2.甘肃省人民医院,甘肃 兰州 730000)

**摘要**:目的 分析熊果酸对甲状腺乳头状癌(Papillary thyroid carcinoma,PTC)长链非编码RNA(Long chain non coding RNA,lncRNA)-LINC01089及其靶基因表达的影响。方法 LINC01089为前期通过转录组测序筛选并通过验证的差异表达lncRNA,体外常规培养甲状腺乳头状癌TPC-1细胞、正常人甲状腺细胞(Nthy-Ori3-1)。将细胞分为正常组(正常人甲状腺细胞组)、对照组(TPC-1细胞组)、不同浓度熊果酸(Ursolic acid,UA)干预组(10、20、40 μmol·L$^{-1}$)。CCK-8法检测各组甲状腺乳头状癌TPC-1细胞的存活率;划痕实验、Transwell实验检测不同浓度UA对TPC-1细胞水平、垂直迁移以及侵袭的影响作用;利用RT-qPCR法检测TPC-1细胞中LINC01089的相对表达量及熊果酸的干预作用;RT-qPCR及Western blot检测靶基因丝状伪足相关基因(Ras homolog family member F,RHOF)、4-羟基苯丙酮酸双加氧酶(4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase,HPD)的mRNA及蛋白表达水平以及熊果酸的干预作用。结果 不同浓度的UA(10、20、40、80 μmol·L$^{-1}$)作用不同时间(12~48 h)后均能抑制TPC-1细胞的增殖,当UA浓度为10~40 μmol·L$^{-1}$时,在12~24 h内随着浓度的增加和作用时间的延长,细胞的抑制效应逐渐增强,差异具有统计学意义($P<0.05$),UA处理TPC-1细胞24 h后,细胞增殖缓慢,随着UA(10、20、40 μmol·L$^{-1}$)浓度的增高,细胞出现凋亡的形态学改变;与对照组相比,UA(10、20、40 μmol·L$^{-1}$)组可抑制TPC-1细胞迁移和侵袭,呈明显浓度依赖性,差异具有统计学意义($P<0.01$)。熊果酸能不同程度上调LINC01089的表达量,下调RHOF、HPD的mRNA及蛋白表达水平。结论 熊果酸对甲状腺乳头状癌细胞具有一定的抑制作用,其机制可能通过上调LINC01089作用于靶基因RHOF发挥抑癌效应。

**关键词**:长链非编码RNA;甲状腺乳头状癌;熊果酸;基因
**中图分类号**:R285.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)09-0011-09

## Effect of Ursolic Acid on Expressions of LINC01089 and Its Target Genes in Thyroid Papillary Carcinoma Cells

YI Lin[1],HE Yali[1],LYU Hongying[1],WANG Xiaoke[1,2],YANG Xin[1,2],GU Yuanhui[1,2]
(1. Gansu University of Chinese Medicine,Lanzhou 730000,Gansu,China;
2. Gansu Provincial People's Hospital,Lanzhou 730000,Gansu,China)

**Abstract**:*Objective* To analyze the effect of ursolic acid on the expressions of long chain non coding RNA(lncRNA)-LINC01089 and its target genes in papillary thyroid carcinoma(PTC). *Method* LINC01089 was a differentially expressed lncRNA that was previously screened and verified by transcriptome sequencing in the early stage. TPC-1 cells and normal human thyroid cells(Nthy-ori3-1) were routinely cultured in vitro and were divided into normal human thyroid cell group,control group and UA groups(10,20,40 μmol·L$^{-1}$). The survival rate of TPC-1 cells in each group was detected by CCK-8 assays. Scratch and Transwell experiments were conducted to investigate the effects of different concentrations of ursolic acid on the horizontal,vertical migration and invasion of TPC-1 cells. RT qPCR method was used to detect the relative expression level of LINC01089 in TPC-1 cells and the intervention effect of ursolic acid. RT-qPCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression levels of target genes Ras Homolog Family Member F(RHOF) and 4-Hydroxyphenylpyruvate Dioxygenase

**基金项目**:国家自然科学基金项目(82160842);甘肃省自然科学基金项目(20JR10RA368,24JRRA590);甘肃省人民医院院内科研资金项目(23GSSYD-17)

**作者简介**:伊琳(1971-),女,甘肃兰州人,教授,博士研究生导师,研究方向:中西医结合心脑血管疾病。
**通讯作者**:顾远晖(1969-),男,甘肃兰州人,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:肿瘤临床及基础。E-mail:guyuanh@163.com。

(HPD) as well as the intervention effect of ursolic acid. *Results* Different concentrations of UA(10,20,40 and 80 μmol·L$^{-1}$) could inhibit the proliferation of TPC-1 cells for different periods of time(12~48 hours). When the concentration of ursolic acid was 10~40 μmol·L$^{-1}$, the inhibitory effect of the cells gradually increased with increasing of concentration and prolongation of action time within 12 and 24 hours($P<0.05$). After treating TPC-1 cells with ursolic acid for 24 hours, the cell proliferation was slow, and as the concentration of ursolic acid(10,20 and 40 μmol·L$^{-1}$) increased, morphological changed in cell apoptosis. Compared with the control group, the ursolic acid(10,20,40 μmol·L$^{-1}$) groups inhibited the migration and invasion of TPC-1 cells in a significant concentration dependent manner($P<0.01$). Ursolic acid can up-regulate the expression of LINC01089, and down-regulate the mRNA and protein expression levels of RHOF and HPD. *Conclusion* Ursolic acid has a certain inhibitory effect on thyroid papillary carcinoma cells, and its mechanism may be related with the LINC01089 and its target gene RHOF.

**Keywords**: long chain non coding RNA; thyroid papillary carcinoma; ursolic acid; genes

甲状腺癌(thyroid carcinoma,TC)是内分泌系统和头颈部肿瘤中最常见的恶性肿瘤[1],甲状腺乳头状癌(Papillary thyroid carcinoma,PTC)是其最主要的病理类型[2],越来越多的证据表明[3],长链非编码RNA(Long chain non coding RNA,lncRNA)与miRNA及其下游靶基因的相互调控模式与肿瘤的发生密切相关,夏枯草为中医诊治甲状腺癌文献统计研究中应用排名第一的中药[4-5],而熊果酸(Ursolic acid,UA)为夏枯草三萜类中抗肿瘤的主要活性物质[6]。本课题组前期进行了TPC患者肿瘤组织全转录组测序,研究结果发现LINC01089为TPC肿瘤组织中显著下调的差异表达基因并进行了初步验证[7],另外,生信分析发现HPD及RHOF为LINC01089的靶基因,本文在此基础上探讨熊果酸对LINC01089及相关靶基因表达的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 细胞购买 甲状腺乳头状癌TPC-1细胞、人甲状腺正常细胞Nthy-ori3-1细胞,均购自上海富衡生物科技有限公司,并在甘肃中医药大学中心实验室传代培养。本研究经甘肃省人民医院伦理委员会批准(伦理批号:2019-136)。

1.1.2 主要试剂与药品 熊果酸,纯度:95%,生产批号:LO3A6Y1,上海源叶生物科技有限公司;DMEM,批号:AF29498406,美国HyClone公司;胎牛血清,批号:504050519,上海翊圣生物科技有限公司;RHOF抗体,批号:40344、HPD抗体,批号:39897、GAPDH抗体,批号:00068668,北美Antibody Genetex公司;青霉素/链霉素双抗,批号:20200912,北京Solarbio公司;辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔二抗购自美国Immunoway公司;CCK-8试剂,批号:C8001420、细胞/组织总RNA提取试剂盒,批号:M1907651、qRT-PCR扩增及逆转录试剂盒,批号:H3001010,均购自上海翊圣生物科技有限公司;LINC01089和RHOF、HPD以及内参引物由北京博迈德公司设计合成。

1.1.3 主要仪器 细胞培养箱(日本三洋公司,SDK-8CS);酶标仪(美国BIO-RAD,Benchmark plus);倒置显微镜(日本OLYMPUS,6B40330);Real-Time PCR仪(杭州博日科技股份有限公司,FT8000);Western blot电泳仪及转膜仪(Mini-PROTEAN Tetra cell);低温高速离心机(Sigma,D-37520 Osterode)。所有仪器均由甘肃中医药大学实验室提供。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养[8]与分组 将含10%胎牛血清的DMEM培养基(含青霉素100 U/mL、链霉素100 mg·L$^{-1}$)置于37 ℃、5% $CO_2$恒温箱内培养人甲状腺乳头状癌TPC-1细胞,10%胎牛血清的RPMI-1640培养基培养甲状腺Nthy-ori3-1细胞。待细胞处于对数生长期时,用0.25% EDTA胰蛋白酶消化和传代,进行实验,本研究将细胞分为正常人甲状腺细胞组、TPC-1细胞组、UA不同剂量干预组(10、20、40、80 μmol·L$^{-1}$)。

1.2.2 CCK-8法[9]检测熊果酸对TPC-1细胞增殖的影响 收集对数生长周期的TPC-1细胞,以5×10$^4$/孔的密度接种于96孔板中,每孔100 μL,置入37 ℃,5% $CO_2$的培养箱中培养过夜,分别加入不同浓度的UA(10、20、40、80 μmol·L$^{-1}$),继续培养12、24、36、48 h后取出培养板于倒置相差显微镜下观察细胞形态,每孔加入10 μL CCK-8溶液,37 ℃继续培养孵育1 h后,取出培养板,置于酶标仪450 nm波长处测其吸光度(OD值)。计算各组细胞增殖抑制率,细胞增殖抑制率(%)=(1-实验组A值/对照组A值)×100%。

1.2.3 细胞形态学观察 倒置显微镜下,观察TPC-1细胞和不同浓度的UA(10、20、40 μmol·L$^{-1}$)干预后的TPC-1细胞的生长情况,各组细胞培养24 h后,置于倒置显微镜下观察细胞的形态与密度,并照相记录。

1.2.4 划痕实验[10]检测熊果酸对TPC-1细胞水平迁移的影响 将TPC-1细胞,以密度为5×10$^5$个/mL的TPC-1细胞每孔2 mL接种于6孔板中,置恒温箱培养24 h,细胞生长融合达80%左右时用200 μL移液器枪头均匀划痕,用PBS洗涤去除漂浮细胞,实验组加入含UA(10、20、40 μmol·L$^{-1}$)培养液,TPC-1细胞对照组更换新的DMEM完全培养液。分别于0、12、24 h观察伤口愈合情况,并在同一部位拍照,用Image J图像处理软件分别测量0、12、24 h的划痕面积并计算其迁移率。迁移率(%)=(0 h划痕面积-24 h划痕面积)/0 h划痕面积×100%,实验重复3次。

1.2.5 transwell实验[11]检测熊果酸对TPC-1细胞垂直迁移和侵袭的影响 (1)Transwell迁移实验:取对数生长期的

TPC－1 细胞，实验组加入含 UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）培养液 24 h 后收集细胞，无血清 DMEM 重悬，调整细胞浓度为 $5\times10^5$ 个/mL。

将 24 孔板放入超净台中，取出 transwell 小室，向 24 孔板中加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基 600 μL/孔，将小室放入加培养基的 24 孔板中。室温 5 min 后，上室中加入配制好的细胞悬液 200 μL/孔，每个浓度设 3 个复孔，将细胞置于 37 ℃，5% $CO_2$ 饱和湿度的恒温培养箱中培养 16 h。取出 transwell 小室，PBS 清洗 3 遍，加入 4% 的多聚甲醛 600 μL 固定 15 min 后，用 0.1% 结晶紫 200 μL 室温染色 10 min，再用 PBS 缓冲液充分清洗并瞭干小室，然后用棉签轻轻擦去上室表面和边缘处的细胞。在倒置显微镜下随机选取 3 个视野计数小室底部细胞，并计算细胞数目的均值和照相。实验重复 3 次。

（2）Transwell 侵袭实验：预先用无血清 DMEM 培养基将 50 mg/L 的 Matrigel 1∶4 稀释后，包被 Transwell 小室底部膜，4 ℃风干，水化基底膜。其余步骤同迁移实验。

1.2.6 RT－qPCR 检测熊果酸对 LINC01089 和 RHOFmRNA、HPDmRNA 表达的影响 不同浓度 UA 处理细胞 24 h 后，Trizol 法提取细胞的总 RNA，按试剂盒说明合成 cDNA。总体积 20 μL；反应条件为 25 ℃ 5min，55 ℃ 15min，85 ℃ 5min。随后用无霉无菌水稀释 5 倍的 cDNA 2 μL 作为扩增模板，反应总体积 20 μL；扩增条件为 95 ℃预变性 5 min，95 ℃ 10 s，60 ℃ 30 s，40 个循环，LINC01089 和 RHOF、HPD 以及内参引物由北京博迈德公司合成。见表 1。

表 1 双向引物序列

| 名称 | 引物序列 | 温度/（℃） | 长度/（bp） |
|---|---|---|---|
| LINC01089 | F：CAGAAGTGGAAGGAGCAGAACG | 60 | 136 |
| | R：GAAAGATTGTCCATTCGGGG | 60 | |
| RHOF | F：AGCTGAAGATCGTGATCGTGG | 60 | 227 |
| | R：CACGAGGTGGGTGTTCTGGTAG | 60 | |
| HPD | F：CCCTACTTCCTAAACTGCCCAA | 60 | 142 |
| | R：GTGTCATCCACGGACCAGAAG | 60 | |
| GAPDH | F：GGAAGCTTGTCATCAATGGAAATC | 60 | 168 |
| | R：TGATGACCCTTTTGGCTCCC | 60 | |

1.2.7 Western blot 检测熊果酸对 TPC－1 细胞中 RHOF、HPD 蛋白表达的影响 提取细胞总蛋白，测定蛋白浓度，以化学发光成像系统检测蛋白电泳条带灰度值，以 GADPH 为内参，蛋白相对表达量＝目的蛋白灰度值/GADPH 灰度值，计算蛋白相对表达量。

1.2.8 统计学方法 采用 SPSS 26.0 软件，符合正态分布的计量资料数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，两组间比较用独立样本 $t$ 检验，多组间比较用单因素方差分析，以 $P<0.05$ 或 $P<0.01$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 UA 对甲状腺乳头状癌细胞增殖的影响

CCK－8 结果表明，在一定范围内，UA 对 TPC－1 细胞具有增殖抑制作用，并呈明显的浓度及时间依赖性。与对照组相比，实验组中不同浓度的 UA（10、20、40、80 μmol·$L^{-1}$）均能抑制 TPC－1 细胞的增殖，当 UA 浓度为 10～40 μmol·$L^{-1}$时，在 12～24 h 内随着作用时间的延长，细胞的抑制效应逐渐增强，差异具有统计学意义（$P<0.05$）（表 2，插页Ⅰ图 1）。当 UA 浓度为 80 μmol·$L^{-1}$时细胞增殖几乎停止。因此后续实验中选用 10、20、40 μmol·$L^{-1}$3 个药物浓度值进行后续实验研究。

表 2 UA 对甲状腺乳头状癌 TPC－1 细胞增殖的影响（$\bar{x}\pm s$）

单位：%

| 组别 | 12 h | 24 h | 36 h | 48 h |
|---|---|---|---|---|
| TPC－1 组 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| UA10 μmol·$L^{-1}$组 | 12.10±1.37*# | 19.71±2.31*# | 21.08±3.23*# | 26.71±2.89*# |
| UA20 μmol·$L^{-1}$组 | 25.85±0.84*# | 28.54±1.79*# | 45.32±1.90*# | 60.58±3.61*# |
| UA40 μmol·$L^{-1}$组 | 58.58±0.84*# | 67.05±3.50*# | 79.26±0.41*# | 81.17±2.05* |
| UA80 μmol·$L^{-1}$组 | 79.91±2.53* | 80.03±2.21* | 81.12±1.28* | 82.06±2.30* |

注：*与 TPC－1 组比较，不同浓度 $P<0.01$；#与 TPC－1 组比较，不同时间 $P<0.05$。

### 2.2 UA 对甲状腺乳头状癌细胞形态的影响

倒置显微镜下观察（插页Ⅰ图 2），对照组 TPC－1 细胞呈梭形，边界清晰，形态相似，胞体较大，胞质均匀，贴壁生长良好，细胞排列紧密，随着作用时间的延长，形态无明显改变。与对照组相比，经不同浓度的 UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）处理 24 h 后，实验组细胞增殖缓慢，发生形态学改变，且随着 UA 浓度的增高，细胞体积逐渐变小，间隙增大，形态不规则，胞质出现空泡，核质比增大，核仁数目减少，核浓缩等细胞凋亡的形态学改变。

### 2.3 UA 对甲状腺乳头状癌细胞水平迁移的影响

划痕结果显示（如表 3、插页Ⅰ图 3、插页Ⅱ图 4），与 TPC－1 细胞组相比，各 UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）组细胞迁移率明显降低，差异有统计学意义（$P<0.01$），提示 UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）组细胞水平迁移能力明显降低，40 μmol·$L^{-1}$时最为明显。与 0 h 相比，12 和 24 h 后细胞迁移率增高，且随时间的延长迁移率逐渐增高，差异有统计学意义（$P<0.01$）。

表 3 UA 对 TPC－1 细胞水平迁移的影响（$\bar{x}\pm s$） 单位：%

| 组别 | 12 h | 24 h |
|---|---|---|
| TPC－1 组 | 22.77±1.70 | 70.22±1.52 |
| UA10 μmol·$L^{-1}$组 | 13.37±2.49* | 31.37±4.00* |
| UA20 μmol·$L^{-1}$组 | 11.60±3.13* | 17.74±2.25* |
| UA40 μmol·$L^{-1}$组 | 7.91±1.68* | 11.88±1.13* |

注：*与 TPC－1 组比较，$P<0.01$。

### 2.4 UA 对甲状腺乳头状癌细胞垂直迁移和侵袭的影响

Transwell 迁移侵袭结果显示（表 4、插页Ⅲ图 5），与 TPC－1 细胞组相比，UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）组细胞迁移、侵袭穿膜细胞数量明显减少，提示 UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）组细胞垂直迁移能力和侵袭能力明显降低，呈明显浓度依赖性，具差异有统计学意义（$P<0.01$）。

### 2.5 UA 对 LINC01089 和 RHOFmRNA、HPDmRNA 表达的影响

RT－qPCR 结果显示（表 5、插页Ⅱ图 6），与 Nthy－ori3－1

细胞组相比，LINC01089、RHOF 的 mRNA、HPD 的 mRNA 的表达水平在 TPC－1 细胞以及不同浓度的 UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）干预后差异具有统计学意义（$P<0.05$）；LINC01089 在 TPC－1 中低表达，随着 UA 浓度的升高，LINC01089 的表达量逐渐升高，具有浓度依赖性，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。RHOF mRNA 在 TPC－1 中高表达，随着 UA 浓度的升高，RHOF mRNA 的表达量逐渐降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。HPD mRNA 在 TPC－1 中低表达，UA 干预后表达量进一步降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。

表 4 UA 对 TPC－1 细胞垂直迁移和侵袭的影响（$\bar{x}\pm s$）

单位：个

| 组别 | 细胞迁移数量 | 细胞侵袭数量 |
|---|---|---|
| TPC－1 组 | 837±20 | 986±25 |
| UA10 μmol·$L^{-1}$组 | 436±11* | 767±19* |
| UA20 μmol·$L^{-1}$组 | 332±10* | 524±14* |
| UA40 μmol·$L^{-1}$组 | 52±3* | 284±9* |

注：*与 TPC－1 组比较，$P<0.01$。

表 5 UA 对 TPC－1 细胞 LINC01089、RHOFmRNA、HPDmRNA 表达的影响（$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | $n$ | LINC01089 | RHOFmRNA | HPDmRNA |
|---|---|---|---|---|
| Nthy－ori3－1 组 | 3 | 3.32±0.10* | 0.12±0.01* | 1.91±0.24* |
| TPC－1 组 | 3 | 1.00±0.12# | 1.00±0.05# | 1.02±0.21# |
| UA10 μmol·$L^{-1}$组 | 3 | 1.46±0.15*# | 0.73±0.06*# | 0.60±0.30# |
| UA20 μmol·$L^{-1}$组 | 3 | 1.50±0.11*# | 0.31±0.04*# | 0.49±0.18*# |
| UA40 μmol·$L^{-1}$组 | 3 | 2.16±0.02*# | 0.21±0.03*# | 0.38±0.08*# |

注：#与 Nthy－ori3－1 组比较，$P<0.05$；*与 TPC－1 组比较，$P<0.05$。

### 2.6 UA 对 RHOF、HPD 蛋白表达的影响

Western blot 结果显示（表 6、图 7），与 Nthy－ori3－1 细胞组相比，RHOF 蛋白在 TPC－1 细胞中高表达，不同浓度 UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）干预后，RHOF 蛋白的表达逐渐降低（$P<0.05$），具有明显的浓度依赖性。HPD 蛋白在 TPC－1 细胞中表达降低，不同浓度 UA（10、20、40 μmol·$L^{-1}$）干预后，表达量进一步降低，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。

表 6 不同组中 RHOF、HPD 蛋白相对表达量水平（$\bar{x}\pm s$）

| 组别 | $n$ | RHOF | HPD |
|---|---|---|---|
| Nthy－ori3－1 组 | 3 | 0.25±0.02* | 0.71±0.02* |
| TPC－1 组 | 3 | 0.69±0.05# | 0.23±0.01# |
| UA10 μmol·$L^{-1}$组 | 3 | 0.52±0.02*# | 0.22±0.01# |
| UA20 μmol·$L^{-1}$组 | 3 | 0.45±0.02*# | 0.19±0.01*# |
| UA40 μmol·$L^{-1}$组 | 3 | 0.32±0.01*# | 0.13±0.01*# |

注：#与 Nthy－ori3－1 组比较，$P<0.05$；*与 TPC－1 组比较，$P<0.05$。

## 3 讨论

甲状腺癌属中医“瘿瘤”的范畴。中医认为肿瘤多为有形之肿块，为邪气聚结而成，并由此产生了“坚者削之……结者散之”的治疗原则。在中医药诊治甲状腺癌的文献统计中，排名居于首位的中药是夏枯草[4]，具有清肝明目、软坚散结的功效。研究表明，夏枯草中的三萜类具有较好的抗肿瘤作用，最

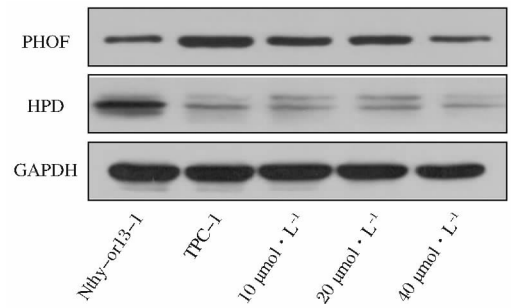



图 7 不同组中 RHOF、HPD 蛋白相对表达量水平

主要包括齐墩果酸和 UA[12]。UA 具有抗肿瘤、抗心血管疾病、抗炎等功能[13]。研究发现 UA 的抗肿瘤作用机制与下调促肿瘤生长、侵袭和转移相关基因的水平，增强凋亡基因的表达有关，并能通过调节多种细胞信号转导通路，杀灭肿瘤细胞，延缓肿瘤组织生长[14－15]。LEE N R 等[16]研究发现，UA 通过诱导活性氧依赖的自噬以剂量依赖性的方式降低食管癌细胞的存活率。通过 UA 对多种癌细胞系的细胞毒性试验发现 UA 对白血病 P－388 等多种细胞具有显著的细胞毒性作用[17－18]。在倒置显微镜下观察，与对照组相比，经 UA 干预后的 TPC－1 细胞增殖缓慢，且随着 UA 浓度的增高，出现细胞体积逐渐变小、核浓缩等形态学改变，这为进一步研究 UA 抑制 TPC－1 细胞的分子机制奠定了基础。

PTC 是一种分化型甲状腺癌，它是目前世界范围内发病率增长最快的恶性肿瘤之一[2]。随着 RNA 测序和微阵列等高通量技术的出现，越来越多的研究聚焦在了 lncRNA 与甲状腺癌中[19－20]。lncRNA 被认为是重要的表观遗传调控因子之一，可以作为信号调节器、诱饵、导向和支架，影响肿瘤细胞生长、凋亡、浸润和转移，调控癌细胞的扩散、血管内转运和转移定植[21]。现已发现了数条与甲状腺癌相关的 lncRNA，包括 BANCR、PTCSC3、NAMA、Ak023948。多项研究发现 LINC01089 在肺癌[22]、胃癌[23]、乳腺癌等多种癌细胞中差异表达。本课题组前期实验验证了 LINC01089 在 TPC－1 细胞中表达降低，提示 LINC01089 可能抑制 TPC 的发生发展[6]。本研究发现通过 UA 干预后能促进 LINC01089 的表达，随着 UA 浓度的升高，LINC01089 的表达量呈浓度依赖性升高，由此推测 UA 对 TPC 细胞的增殖、迁移和侵袭具有抑制作用，其机制可能与促进 LINC01089 的表达有关。生信分析发现 HPD 及 RHOF 为 LINC01089 的靶基因。HPD 是铁离子依赖型的非血红素加氧酶，在不同肿瘤组织中呈现不同的趋势。HPD 在肺癌组织中高表达，可促进肺癌细胞的存活及成瘤能力，增强肺癌细胞的迁移能力[24]；但在肾癌和肝癌组织中 HPD 的表达则低于正常组织[25]。本研究结果显示 HPD 在 TPC－1 细胞中低表达，推测 HPD 在 TPC 中可能起抑癌作用，但在 UA 干预后 HPD 表达量未见有上升趋势，可能与实验本身存在误差有关，也可能 UA 没有通过 HPD 基因发挥作用，需要在后续研究中进行双向重复验证；RHOF 是 Ras 相似物小分子 G 蛋白超家族中的一员，参与细胞骨架、细胞形态改变、细胞移动与黏附和 DNA 转录激

活等。Rho 家族成员在乳腺癌、胰腺癌等多种癌细胞中高表达,提示 Rho 家族成员可能成为新的肿瘤标志物[16]。LI S 等[26]研究发现肝癌组织中 RHOF 的表达明显上调,能影响细胞形态,促进肝癌细胞系的迁移、侵袭和上皮 - 间充质转化,发挥促肿瘤作用。RHOF 在 TPC - 1 细胞中高表达,随着 UA 干预浓度的增高,RHOF 的表达逐渐降低,提示 UA 对 RHOF 的表达具有抑制作用,而 RHOF 又为 LINC01089 的靶蛋白,推测 UA 可能通过上调 LINC01089 的表达,负反馈调节 RHOF 基因发挥抗肿瘤作用。见插页Ⅳ图 8。

本实验仅限于体外实验阶段,后续还需通过体内外研究及双向验证进一步说明其间的调控关系,对于甲状腺乳头状癌中具体的分子机制需要后续更深入研究,为甲状腺癌的早期诊疗及预后方面提供新的准确方法。

**参考文献**

[1] LLORET J, GANADO T, SUBHI I, et al. An attempt to reduce unnecessary surgical procedures. Can ultrasound characteristics help in differentiating adenoma vs carcinoma in follicular thyroid neoplasms? [J]. Radiologia (Engl Ed), 2023, 65(1): 22 - 31.

[2] PYARALI M, UNEEB S, ADEEL M, et al. Thyroid gland neoplasms; histopathological pitfalls as a consequence of FNAC: a tertiary care hospital experience[J]. J Pak Med Assoc, 2023, 73(1): 169 - 171.

[3] LI M, ZHAO Y, LI H M, et al. Application value of circulating LncRNA in diagnosis, treatment, and prognosis of breast cancer[J]. Funct Integr Genomics, 2023, 23(1): 61.

[4] 司富春, 侯红丽. 甲状腺腺瘤和癌的中医证型与方药分析[J]. 中医研究, 2009, 22(7): 21 - 24.

[5] 刘宇, 赵晓珍. 甲状腺癌的中医证型和用药规律分析[J]. 山西中医学院学报, 2015, 16(5): 8 - 10.

[6] KHWAZA V, ADERIBIGBE B A. Potential pharmacological properties of triterpene derivatives of ursolic acid[J]. Molecules, 2024, 29(16): 3884.

[7] 何亚丽, 毛玉娟, 申进增, 等. 长链非编码 RNA 在甲状腺乳头状癌中的表达及功能分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2021, 37(10): 1209 - 1213.

[8] 唐振宁, 丁小云, 秦少杰, 等. siRNA 干扰 CTHRC1 可体外抑制甲状腺乳头状癌 TPC - 1 细胞的增殖并诱导凋亡[J]. 南方医科大学学报, 2021, 41(4): 549 - 554.

[9] 李秀君, 刘宝利, 朱翠敏. lncRNA TUG1 通过 miR - 524 - 5p/BRAF 轴调节甲状腺乳头状癌 TPC - 1 细胞的增殖、凋亡和 EMT 进程[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2022, 29(5): 434 - 441.

[10] 连莲, 杨志坚, 杨波, 等. 槲皮素抑制 Akt/mTOR 相关糖酵解影响甲状腺癌 TPC - 1 细胞侵袭迁移的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2023, 30(11): 639 - 646, 661.

[11] 袁青领, 樊玉霞, 刘洋, 等. miR - 637 靶向 AKT3 对甲状腺乳头状癌 TPC - 1 细胞侵袭和转移能力的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2021, 56(2): 149 - 153.

[12] WU S R, FENG W H, CHEN K M, et al. Chemical composition and antioxidant activity of different parts of *Prunella vulgaris* by UPLC - Q - TOF - MS/MS and UPLC[J]. Zhongguo Zhong Yao Za Zhi, 2023, 48(17): 4569 - 4588.

[13] 盖文涛. 熊果酸对前列腺癌 DU145 细胞体外增殖、凋亡的影响及机制的研究[D]. 青岛: 青岛大学, 2017.

[14] 孙澄玥, 戚荣鑫, 张茜, 等. 熊果酸在肿瘤治疗中的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(22): 4393 - 4397.

[15] BOKHTIA R M, PHAM A M, BIHARI GUPTA K, et al. Ursolic acid conjugates: a new frontier in anticancer drug development[J]. Chembiochem, 2024, 25(20): e202400376.

[16] LEE N R, MENG R Y, RAH S Y, et al. Reactive oxygen species - mediated autophagy by ursolic acid inhibits growth and metastasis of esophageal cancer cells[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(24): 9409.

[17] CONWAY G E, ZIZYTE D, MONDALA J R M, et al. Ursolic acid inhibits collective cell migration and promotes JNK - dependent lysosomal associated cell death in glioblastoma multiforme cells[J]. Pharmaceuticals (Basel), 2021, 14(2): 91.

[18] LEE K H, LIN Y M, WU T S, et al. The cytotoxic principles of *Prunella vulgaris*, *Psychotria serpens*, and *Hyptis capitata*: ursolic acid and related derivatives[J]. Planta Med, 1988, 54(4): 308 - 311.

[19] ZOU X, GUO Z H, LI Q, et al. Long noncoding RNA LINC00460 modulates MMP - 9 to promote cell proliferation, invasion and apoptosis by targeting miR - 539 in papillary thyroid cancer[J]. Cancer Manag Res, 2020, 12: 199 - 207.

[20] SAHIN Y. LncRNA H19 is a potential biomarker and correlated with immune infiltration in thyroid carcinoma[J]. Clin Exp Med, 2023, 23(3): 841 - 851.

[21] WANG K, XU J, ZHAO L, et al. Prognostic lncRNA, miRNA, and mRNA signatures in papillary thyroid carcinoma[J]. Front Genet, 2020, 11: 805.

[22] LI X K, LV F, LI F, et al. LINC01089 inhibits tumorigenesis and epithelial - mesenchymal transition of non - small cell lung cancer *via* the miR - 27a/SFRP1/wnt/β - catenin axis[J]. Front Oncol, 2020, 10: 532581.

[23] GUO X F, LI M. LINC01089 is a tumor - suppressive lncRNA in gastric cancer and it regulates miR - 27a - 3p/TET1 axis[J]. Cancer Cell Int, 2020, 20: 507.

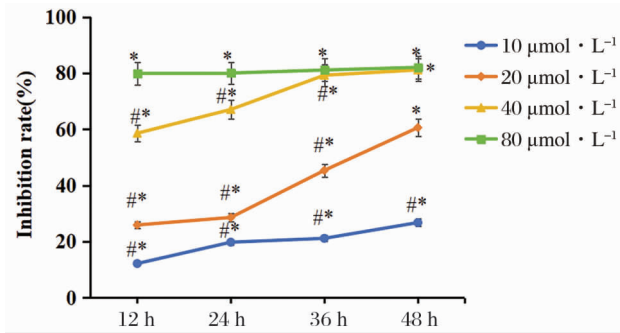
[24] SHAN C L, LU Z L, LI Z, et al. 4 - hydroxyphenylpyruvate dioxygenase promotes lung cancer growth *via* pentose phosphate pathway (PPP) flux mediated by LKB1 - AMPK/HDAC10/G6PD axis[J]. Cell Death Dis, 2019, 10(7): 525.

[25] 孔祥祯. 酪氨酸代谢酶 HPD 在肺癌发生和发展中的作用及机制研究[D]. 天津: 天津大学, 2015.

[26] LI S, LIU Y, BAI Y F, et al. Ras homolog family member F, filopodia associated promotes hepatocellular carcinoma metastasis by altering the metabolic status of cancer cells through RAB3D[J]. Hepatology, 2021, 73(6): 2361 - 2379.

# 熊果酸对甲状腺乳头状癌细胞 LINC01089 及其靶基因表达的影响

（正文见 11－15 页）




注：＊与 TPC－1 组比较，不同浓度 $P<0.01$；#与 TPC－1 组比较，不同时间 $P<0.05$。

图 1　不同浓度 UA 干预不同时间后 TPC－1 细胞的增殖抑制率

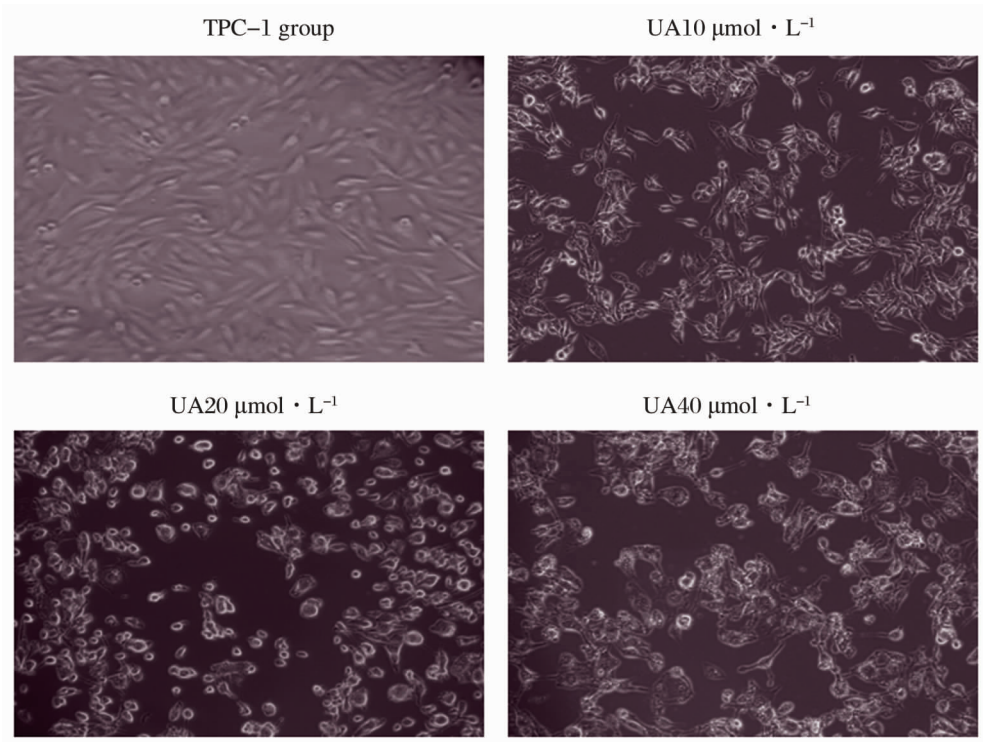
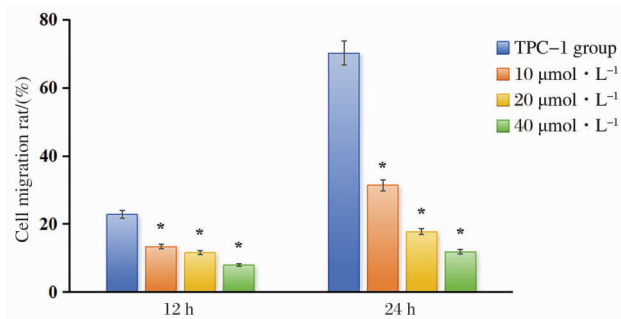



图 2　不同浓度的 UA 处理 24 h 后 TPC－1 细胞的形态变化（x10）




注：＊与 TPC－1 组比较，$P<0.01$。

图 3　UA 对 TPC－1 细胞水平迁移的影响

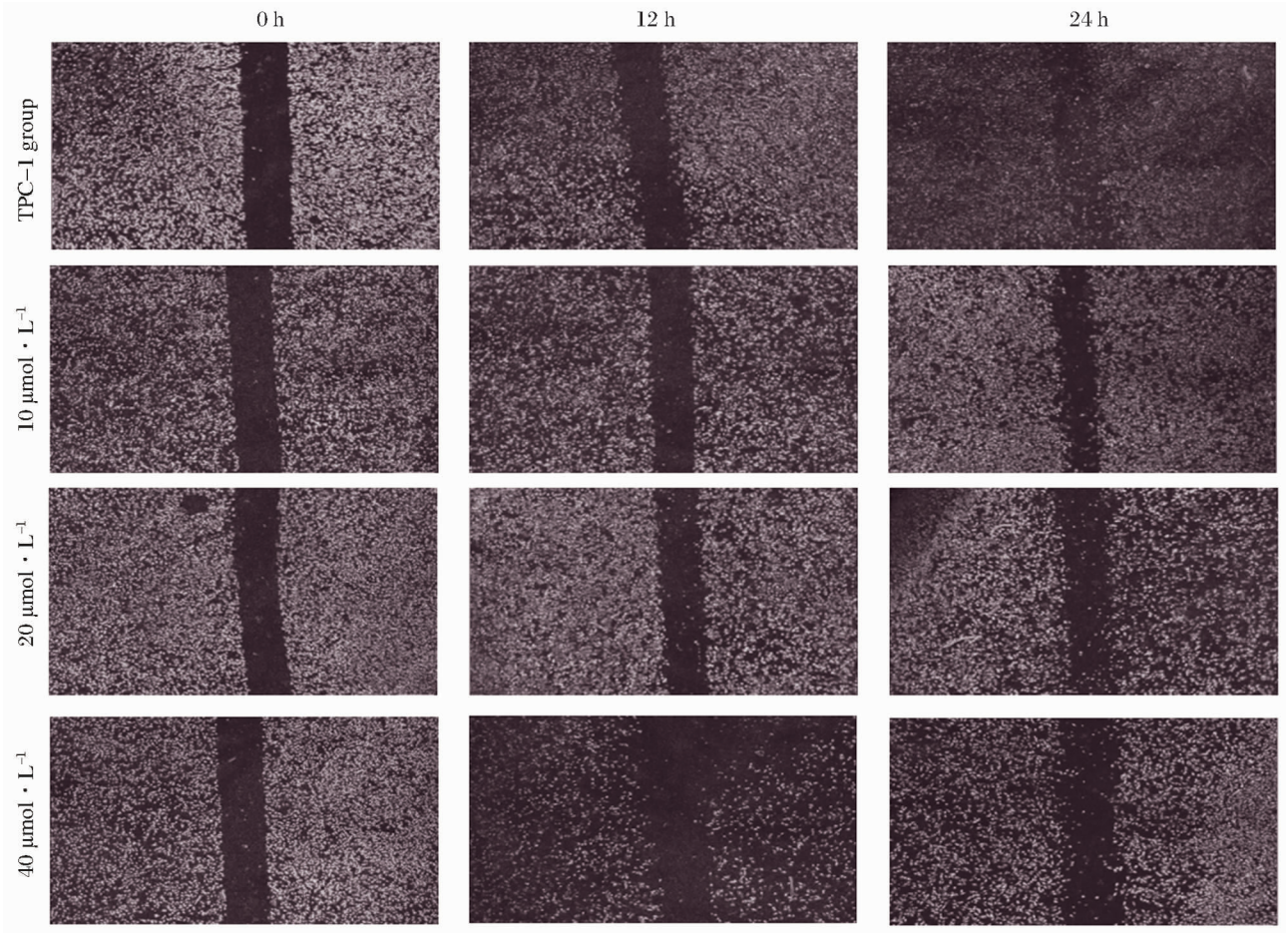
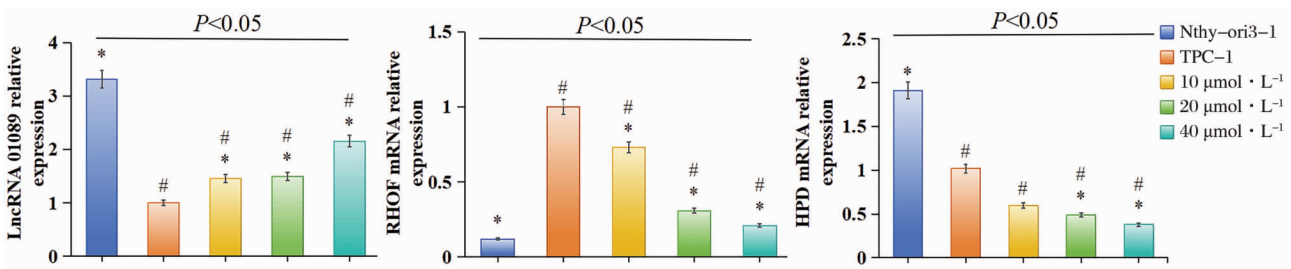



图 4　不同浓度不同时间点的划痕比较




注：#与 Nthy－ori3－1 组比较，$P<0.05$；＊与 TPC－1 组比较，$P<0.05$。

图 6　不同浓度的 UA 处理细胞 24 h 后 LINC01089、RHOF、HPDmRNA 表达量的变化

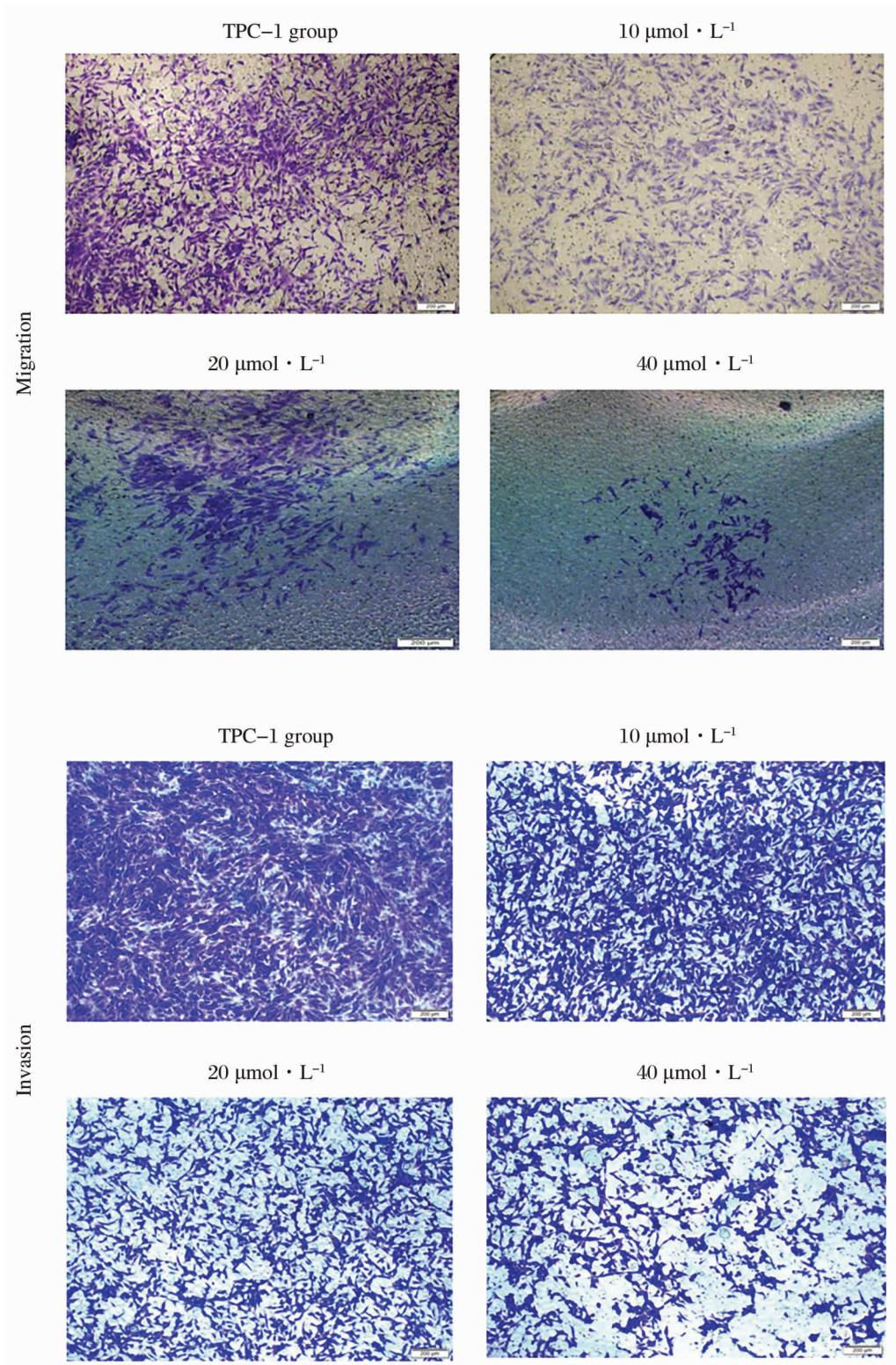



图 5 UA 对 TPC－1 细胞垂直迁移和侵袭能力的影响

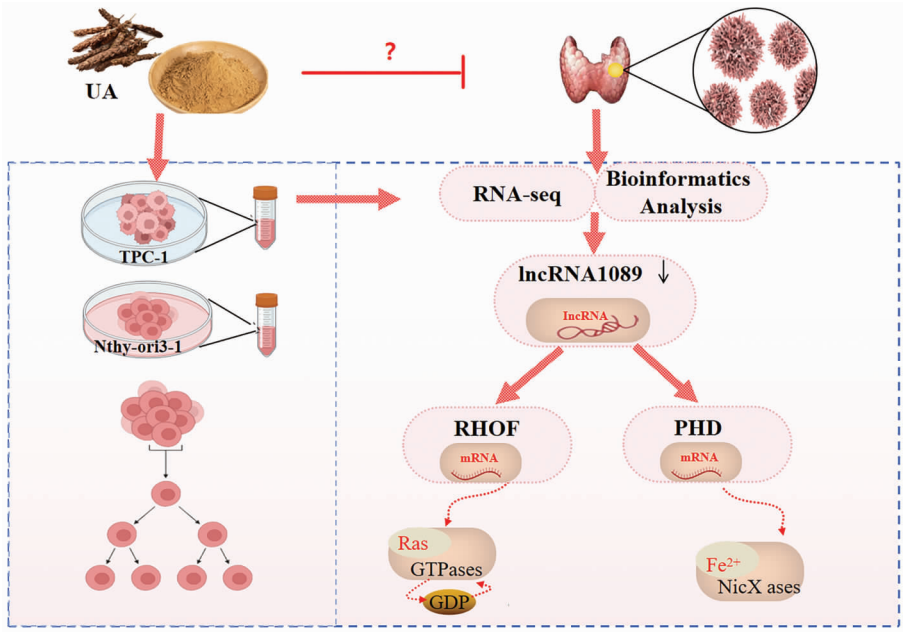



图 8　UA 对甲状腺乳头状癌的作用机制

## 白术挥发油化学成分及药理作用研究进展

（正文见 179 – 185 页）

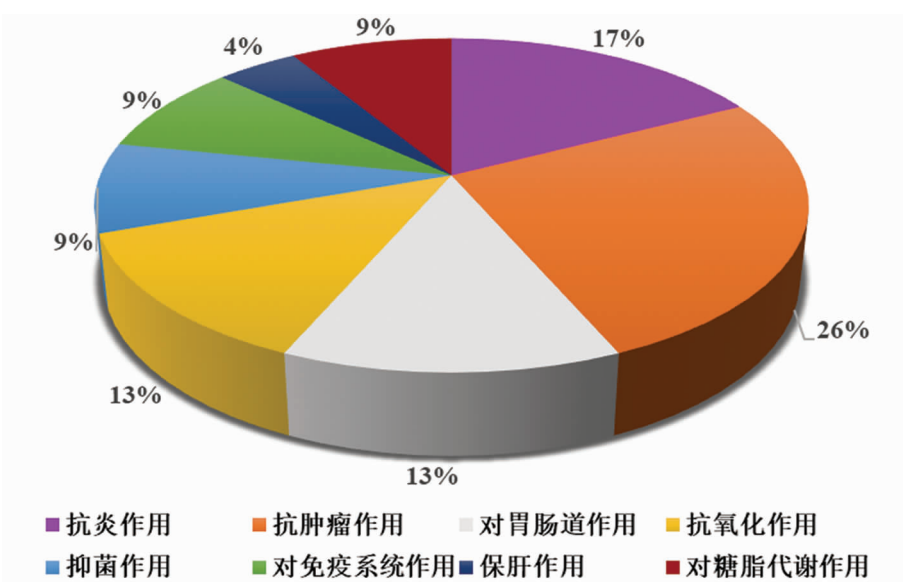



图 3　白术挥发油药理研究文献内容分布