

# 长链非编码 RNA MEG3 靶向 miR-21 对胶质瘤 U251 细胞增殖、侵袭和迁移的影响

徐大伟, 马鹏举, 高国军, 黄立勇, 王仲伟, 金保哲, 周文科  
(新乡医学院第一附属医院, 河南 新乡 453100)

**摘要:** [目的] 探究长链非编码 RNA 人母系表达基因 3 (maternally expressed gene 3, MEG3) 对人胶质瘤细胞 U251 增殖、侵袭和迁移能力的影响及机制。 [方法] RT-PCR 检测 MEG3 和 miR-21 在胶质瘤组织、癌旁组织中、正常星形胶质细胞 NHAs 和胶质瘤细胞 U251 中的表达; 用 pcDNA-MEG3 (pc-MEG3) 转染 U251 细胞, RT-PCR 检测 MEG3 和 miR-21 的表达; 生物信息及荧光素酶报告实验预测并验证 MEG3 和 miR-21 的关系; MTT 检测细胞增殖能力, Transwell 和划痕实验检测细胞侵袭和迁移能力; 免疫印迹检测增殖细胞核抗原 (proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、基质金属蛋白酶-2 (metalloproteinase-2, MMP-2) 和 MMP-9 的表达。 [结果] 与癌旁组织比较, MEG3 在胶质瘤组织中表达水平明显降低 ( $t=23.169, P<0.001$ ), miR-21 水平明显升高 ( $t=14.965, P=0.002$ ); 与 NHAs 组比较, U251 组细胞 MEG3 表达水平明显降低 ( $t=13.145, P<0.001$ ), miR-21 表达水平显著升高 ( $t=12.483, P<0.001$ ); pc-MEG3 能显著上调 MEG3 的表达水平并抑制 miR-21 表达 ( $t=8.129, P<0.001$ ;  $t=11.705, P<0.001$ ); miR-21 mimic 能显著促进 miR-21 表达并能降低 MEG3 野生质粒 (MEG3 wt) 的活性 ( $t=6.460, P<0.001$ ;  $t=7.742, P=0.004$ ); pc-MEG3 能显著降低 U251 细胞增殖倍数和 PCNA 的表达水平 ( $F=96.45, P<0.001$ ;  $t=5.337, P<0.001$ ), miR-21 mimic 能显著减弱 pc-MEG3 对细胞增殖及 PCNA 表达的抑制作用 ( $t=7.073, P<0.001$ ;  $t=4.609, P<0.001$ ); 同时, pc-MEG3 还能显著降低 U251 细胞的划痕闭合率和侵袭细胞数 ( $t=5.014, P<0.001$ ;  $t=10.664, P<0.001$ ), 并抑制 MMP-2 和 MMP-9 的表达 ( $t=3.360, P=0.007$ ;  $t=3.453, P=0.006$ ); miR-21 mimic 能明显减弱 pc-MEG3 对细胞侵袭、迁移及 MMP-2 和 MMP-9 表达的抑制作用 ( $t=2.498, P=0.032$ ;  $t=4.298, P=0.002$ ;  $t=4.612, P<0.001$ ;  $t=5.137, P<0.001$ )。 [结论] MEG 能通过靶向 miR-21 减弱胶质瘤 U251 细胞的增殖、侵袭和迁移能力。

**关键词:** 胶质瘤; U251; 增殖; 侵袭; 迁移

中图分类号: R739.41 文献标识码: A 文章编号: 1671-170X(2019)06-0524-07

doi: 10.11735/j.issn.1671-170X.2019.06.B007

## The Effect of Long Non-coding RNA MEG3 on Cell Proliferation, Migration and Invasion of Glioma Cell Line U251 via Targeting MiR-21

XU Da-wei, MA Peng-ju, GAO Guo-jun, HUANG Li-yong, WANG Zhong-wei, JIN Bao-zhe, ZHOU Wen-ke

(First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453100, China)

**Abstract:** [Objective] To investigate the effects and mechanism of long non-coding RNA maternally expressed gene 3 (MEG3) on cell proliferation, invasion and migration of glioma cell line U251. [Methods] The levels of MEG3 and miR-21 in normal tissue, tumor tissue, human astrocyte cell NHAs and glioma cell U251 were measured by RT-PCR. U251 cells were transferred with pcDNA-MEG3 (pc-MEG3), and the expression levels of MEG3 and miR-21 were determined by RT-PCR. Bioinformatics and luciferase reporter assay were performed for predicting and verifying the relationship of MEG3 and miR-21. Cell proliferation was determined by MTT assay, invasion and migration ability were measured by Transwell and wound healing assays. The protein levels of proliferating cell nuclear antigen (PCNA), metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9 were measured by western blot. [Results] Compared with normal tissue, the expression of MEG3 in glioma tumor tissues was decreased significantly ( $t=23.169, P<0.001$ ), but miR-21 was increased markedly ( $t=14.965, P=0.002$ ). Compared with NHAs group, the expression level of MEG3 was down-regulated in U251 group ( $t=13.145, P<0.001$ ), while expression level of miR-21 was up-regulated notably ( $t=12.483, P<0.001$ ); pcDNA-MEG3 (pc-MEG3) up-regulated the expression of MEG3, but inhibited the expression of miR-21 ( $t=8.129, P<0.001$ ;  $t=11.705, P<0.001$ ). miR-21 mimic increased the expression level of miR-21 and decreased the activity of MEG3 wild type

基金项目: 河南省科技攻关计划项目(172102310503)

通信作者: 徐大伟, 主治医师, 硕士; 新乡医学院第一附属医院神经外科, 河南省新乡市卫辉市健康路 88 号(453100); E-mail: kangqi722953@sina.com

收稿日期: 2018-08-09; 修回日期: 2018-10-23

plasmid (MEG3 wt) ( $t=6.460, P<0.001; t=7.742, P=0.004$ ). The cell growth fold and the protein level of PCNA were decreased by pc-MEG3 ( $F=96.45, P<0.001; t=5.337, P<0.001$ ), miR-21 mimic attenuated the effects of pc-MEG3 on cell proliferation and PCNA ( $t=7.073, P<0.001; t=4.609, P<0.001$ ). Meanwhile, pc-MEG3 decreased the wound healing closure rates and invasive cells notably ( $t=5.014, P<0.001; t=10.664, P<0.001$ ), and inhibited the expression of MMP-2 and MMP-9 ( $t=3.360, P=0.007; t=3.453, P=0.006$ ), while miR-21 mimic alleviated the inhibitory effects of pc-MEG3 on cell invasion, migration and the expressions of MMP-2 and MMP-9 ( $t=2.498, P=0.032; t=4.298, P=0.002; t=4.612, P<0.001; t=5.137, P<0.001$ ). [Conclusion] MEG can inhibit proliferation, invasion and migration of glioma cell line U351 by targeting miR-21.

**Subject words:** glioma; U251; proliferation; invasion; migration

胶质瘤是最常见的脑部恶性肿瘤,其发病率约占神经系统肿瘤的40%<sup>[1]</sup>。胶质瘤患者预后较差,整体平均存活时间仅15个月<sup>[2]</sup>,未经治疗的胶质瘤患者仅能存活4.5个月<sup>[3]</sup>。目前对于胶质瘤的治疗主要包括神经外科手术、放疗和化疗,但所有的治疗方法均不能改善恶性胶质瘤患者的预后<sup>[1]</sup>。研究表明,恶性胶质瘤具有较强的侵袭性和转移性,导致术后复发率较高,并且在治疗后期,患者常会出现对放疗化疗的不敏感<sup>[4-6]</sup>。因此,寻找及早诊断及治疗恶性胶质瘤的新方法都是研究热点。大量研究表明,长链非编码RNA(long non-coding RNA, LncRNA)在调控基因的表达及疾病发展过程中发挥着重要作用,包括癌症<sup>[7]</sup>。人母系表达基因3(maternally expressed gene 3, MEG3)是一类位于14q32.3染色体上的LncRNA,近年研究表明其在癌症发展过程中发挥了重要作用。研究发现,MEG3在卵巢癌、胃癌及恶性胶质瘤中均呈低表达状态,上调MEG3表达能抑制癌症的发展<sup>[8-10]</sup>。并且MEG3还可作为一种内源竞争性RNA抑制微小RNA(microRNA, miRNA)的表达而影响癌症的发展<sup>[11]</sup>。生物信息分析发现,MEG3能与miR-21靶向结合,且已有研究表明MEG3能通过靶向miR-21抑制胃癌细胞增殖和转移<sup>[12]</sup>。本文以人胶质瘤细胞株U251为研究对象,通过上调MEG3表达探究其对胶质瘤增殖、侵袭和迁移的作用及机制,以期MEG3应用于胶质瘤的诊断及靶向治疗提供新的数据支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂

人胶质瘤细胞株U251购自中国科学院典型培

养物保藏中心,人正常星形胶质细胞株NHAs购自瑞士Lonza公司。DMEM培养液、胎牛血清购自美国Gibco公司。10例胶质瘤组织和10例癌旁组织由四川大学华西医院提供。Lipofectamine™ 2000转染试剂盒、反转录试剂盒和实时定量PCR试剂盒均购自美国ThermoFisher公司。双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega生物公司。RIPA裂解液、Trizol提取试剂及BCA试剂盒购自北京索莱宝生物公司。增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、基质金属蛋白酶-2(metalloproteinase-2, MMP-2)和MMP-9一抗购自美国CST公司,二抗和内参GAPDH购自北京博士德生物公司。pcDNA-MEG3 (pc-MEG3)、miR-21 mimic和miR-21 inhibitor均由武汉汉恒生物设计合成。

### 1.2 细胞培养

用含10%胎牛血清、100U/ml青-链霉素的DMEM培养液培养人胶质瘤U251细胞和正常人星形胶质细胞,培养环境条件为37℃、5%CO<sub>2</sub>和95%空气。当细胞融合率达到85%以上时进行传代培养,以1:2的比列进行传代。

### 1.3 细胞分组及转染

将细胞接种于6孔板中,首先将细胞分为对照组(Control)、pcDNA mock组和pcDNA-MEG3组(pc-MEG3),并分别加入转染试剂、pcDNA载体和pcDNA-MEG3转染细胞,6h后更换为正常培养液继续培养。24h后R-PCR检测MEG3和miR-21的表达。

将细胞分为Control组、pc-MEG3组、miR-21 mimic组和pc-MEG3+miR-21 mimic组,分别加入转染试剂、pc-MEG3、miR-21 mimic和pc-MEG3联合miR-21 mimic转染U251细胞,转染6h更换为正常培养液继续培养24h,分别检测细胞增殖、迁移和侵

袭情况。

#### 1.4 RT-PCR 检测 mRNA 表达

用 Trizol 试剂提取组织和用 pc-MEG3 或 miR-21 mimic 转染后的细胞总 RNA, 对 RNA 进行定量分析后, 用反转录试剂盒合成 cDNA, 用 PCR 仪对 cDNA 进行扩增。根据实时定量 PCR 试剂盒对其进行定量分析, 以 GAPDH 为内参, 实验所用引物采用 Primer3 Input 网站设计, 由上海生工生物工程公司合成。MEG3 Forward: 5'-CTGCCATCTACACCT-CACG-3', Reverse: 5'-CTCTCCGCCGTCTGCGCTAGGG-GCT-3'; miR-21 Forward: 5'-ACACTCCAGCTGGCTAGCTTATCAGACTGATG-3', Reverse: 5'-CTCAACTGTGTCTCGTGA-3'; GAPDH Forward: 5'-GACTCATGACCACAGTCCATGC-3'; Reverse: 5'-AGAGG CAGGG-ATGATGTTCTG-3'。

#### 1.5 荧光素酶报告实验检测 MEG3 和 miR-21 的靶向关系

生物信息预测 MEG3 和 miR-21 的靶向结合位点, 将 MEG3 序列上含有两者连续结合位点的 RNA 片段插入到含有荧光素酶的质粒中, 构建 MEG3 野生型质粒 (MEG3 wild type, MEG3 wt)。采用基因突变技术将结合位点的部分基因突变, 并插入带质粒中, 构建 MEG3 突变质粒 (MEG3 mutant, MEG3 mut)。用 miR-21 mimic 单独或联合 MEG3 wt 或 MEG3 mut 转染 U251 细胞, 检测各组细胞荧光素酶活性。

#### 1.6 MTT 检测细胞增殖

将细胞接种于 96 孔板中并分为 Control 组、pc-MEG3 组、miR-21 mimic 组和 pc-MEG3 + miR-21 mimic 组, 每组 6 个复孔。将细胞进行相应转染后, 分别连续培养 0d、1d、2d、3d 和 4d。每孔分别加入 20 $\mu$ l 的 MTT 溶液 (5mg/ml) 继续培养 4h, 4h 后洗去 MTT 溶液, 每孔加入 150 $\mu$ l 的二甲基亚砜, 混匀后, 用酶标仪于 490nm 处检测细胞吸光度, 计算细胞生长倍数。

#### 1.7 划痕实验检测细胞迁移能力

实验前用记号笔在 6 孔板背面划出多条平行直线, 使至少有 5 条平行直线穿过培养孔, 随后将细胞接种于 6 孔板内, 分为 Control 组、pc-MEG3 组、miR-21 mimic 组和 pc-MEG3 + miR-21 mimic 组, 进行相应转染后, 用 10 $\mu$ l 枪头垂直于培养板背面的直线划痕, 用磷酸盐缓冲液洗去被划下的细胞, 记录划痕宽

度, 并加入无血清培养液继续培养 24h 后, 记录各组细胞划痕宽度, 计算细胞划痕闭合率, 划痕闭合率 = (0h 划痕宽度 - 24h 划痕宽度) / 0h 划痕宽度  $\times$  100%。

#### 1.8 Transwell 检测细胞侵袭能力

将转染后的细胞接种于用 Matrigel 预包被的 Transwell 小室上层中, 种板密度为  $1 \times 10^6$  个/ml。Transwell 小室上层加入无血清的培养液, 下层加入完全培养液。24h 后用无菌棉签擦去上层未侵袭的细胞, 用结晶紫对侵袭细胞染色, 于显微镜下计数侵袭每组细胞。

#### 1.9 免疫印迹检测蛋白表达

用 RIPA 裂解液提取总蛋白, 用 BCA 试剂盒检测各组总蛋白浓度。将蛋白浓度调至一致后, 每组分别取 30 $\mu$ g 蛋白质用 10% 的 SDS-PAGE 将蛋白质分离, 截取目的蛋白并转移到 PVDF 膜。用 5% 脱脂牛奶室温封闭蛋白质 2h, 随后加入适应浓度的一抗于 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。第 2d 洗去未结合一抗, 加入二抗室温孵育 1h 后, 洗去未结合二抗, 滴加 ECL 显色液于室温曝光显影。

#### 1.10 统计学处理

采用 SPSS 19.0 对实验结果进行统计分析, 实验结果用均数  $\pm$  标准差表示, 对数据进行方差和正态分布的分析, 符合方差齐性及正态分布用单因素方差分析和 *t* 检验进行分析, 反之则用秩和检验进行分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 miR-21 和 MEG3 在胶质瘤及胶质瘤细胞 U251 中的表达

RT-PCR 实验结果表明, 与正常癌旁组织 (Normal tissue) 比较, 胶质瘤组织 MEG3 的表达水平明显降低 ( $t=23.169, P<0.001$ ), miR-21 表达水平明显升高 ( $t=14.965, P=0.002$ ); 与正常星形胶质细胞 NHAs 比较, 胶质瘤 U251 细胞 MEG3 表达水平显著降低 ( $t=13.145, P<0.001$ ), miR-21 表达水平显著升高 ( $t=12.483, P<0.001$ )。见 Figure 1。

### 2.2 MEG3 抑制 U251 细胞 miR-21 表达

如 Figure 2 所示, 与 Control 组比较, pcDNA mock 组 MEG3 和 miR-21 的表达水平无明显变化; 与 Control 组比较, pc-MEG3 组 MEG3 表达水平明显

升高( $t=8.129, P<0.01$ ),但 miR-21 表达水平显著降低( $t=11.705, P<0.001$ ),差异均有统计学意义。

### 2.3 MEG3 靶向结合 miR-21

生物信息预测结果表明,MEG3 基因序列上存在连续的 miR-21 结合位点。MiR-21 inhibitor 能显著下调 U251 细胞 miR-21 的表达水平( $t=12.792, P<0.001$ ),miR-21 mimic 能显著上调 miR-21 表达水平( $t=6.460, P<0.001$ );与 MEG3 wt 组比较,MEG3 wt+miR-21mimic 组荧光素酶活性显著降低( $t=7.742, P=0.004$ );与 MEG3 wt+mimic 组比较,MEG3 mut+miR-21 mimic 组荧光素酶活性显著升高( $t=8.734, P=0.004$ )。见 Figure 3。

### 2.4 MEG3 靶向 miR-21 抑制 U251 细胞增殖

与 Control 组比较,pc-MEG3 组细胞转染 4d 后细胞增殖倍数显著降低( $F=96.45, P<0.001$ ),miR-21mimic 组细胞增殖倍数显著升高( $F=105.13, P=0.009$ ),差异均有统计学意义(Figure 4);与 pc-MEG3 组比较,pc-MEG3+miR-21 mimic 组细胞增殖倍数显著升高( $t=6.109, P=0.006$ );同时,pc-MEG3 能显著抑制细胞增殖相关蛋白 PCNA 表达( $t=5.337, P<0.001$ ),miR-21 mimic 能显著促进 PCNA 表达( $t=7.073, P<0.001$ ),并且还能显著减弱 pc-MEG3 对 PCNA 表达的抑制作用( $t=4.609, P<0.001$ )。见 Figure 5。

### 2.5 MEG3 靶向 miR-21 抑制 U251 细胞迁移

与 Control 组比较,pc-MEG3 组 U251 细胞划痕闭合率显著降低( $t=5.014, P<0.001$ ),miR-21 mimic 组细胞划痕闭合率显著升高( $t=2.978, P=0.014$ );与 pc-MEG3 组比较,pc-MEG3+miR-21 mimic 组细胞划痕闭合率显著升高( $t=2.498, P=0.032$ ),差异均有统计学意义。见 Figure 6。

### 2.6 MEG3 靶向 miR-21 抑制 U251 细胞侵袭

与 Control 组比较,pc-MEG3 组侵袭细胞数显著减少( $t=10.664, P<0.001$ ),miR-21 mimic 组侵袭细胞数明显增多( $t=4.298, P=0.002$ );与 pc-MEG3 组比

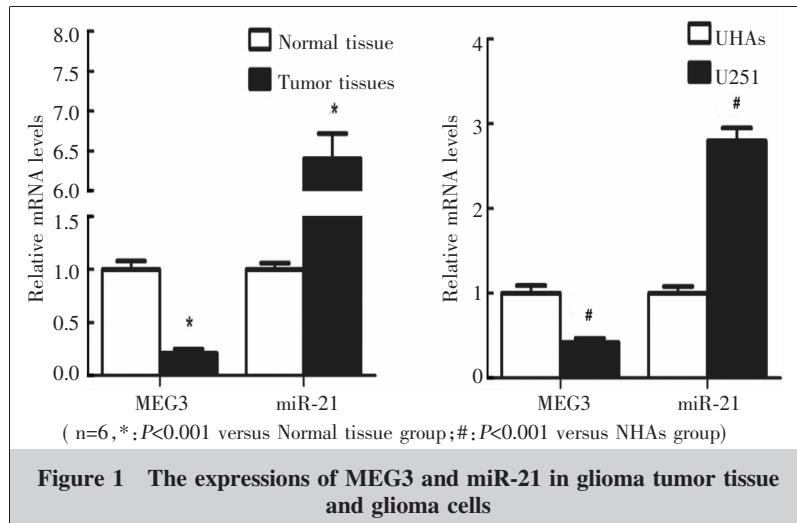


Figure 1 The expressions of MEG3 and miR-21 in glioma tumor tissue and glioma cells

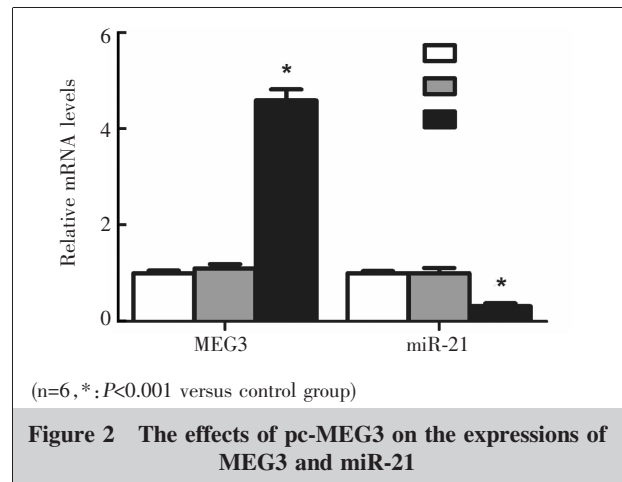


Figure 2 The effects of pc-MEG3 on the expressions of MEG3 and miR-21

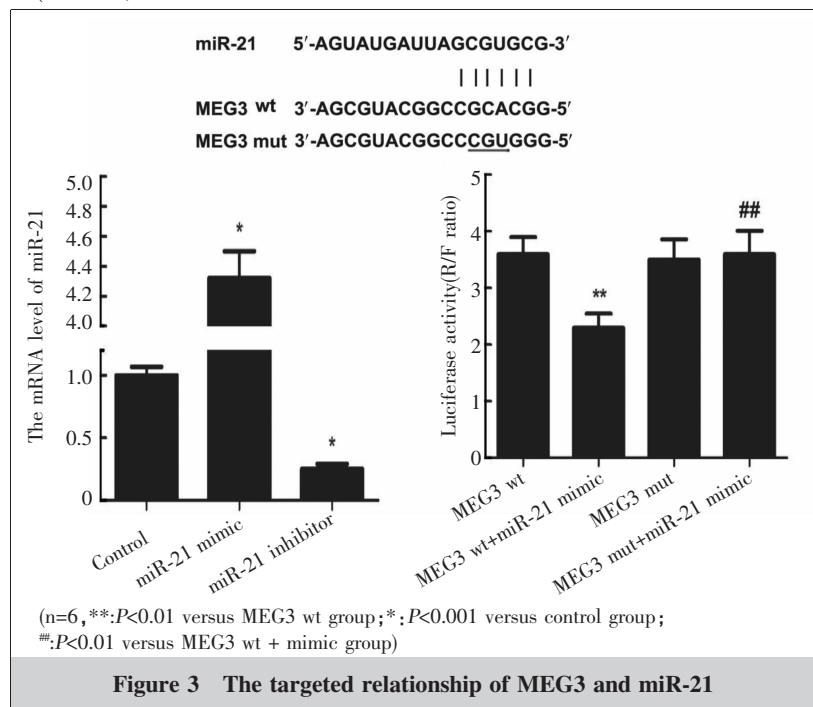


Figure 3 The targeted relationship of MEG3 and miR-21

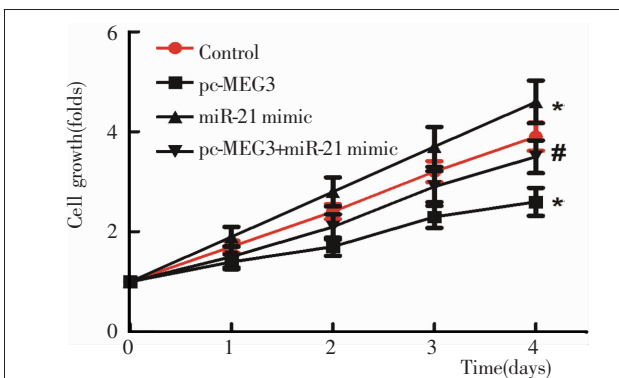
较,pc-MEG3 +miR-21 mimic 组细胞侵袭细胞数目明显增多 ( $t=8.593, P=0.008$ ), 差异均有统计学意义 (Figure 7); 此外,pc-MEG3 还能显著抑制 U251 细

胞侵袭迁移相关蛋白 MMP-2 和 MMP-9 的表达 ( $t=3.360, P=0.007; t=3.453, P=0.006$ , Figure 5), miR-21 mimic 能明显促进 MMP-2 和 MMP-9 表达 ( $t=3.098, P=0.011; t=6.490, P<0.001$ , Figure 5), 并能显著减弱 pc-MEG3 对 MMP-2 和 MMP-9 表达的抑制作用 ( $t=4.612, P<0.001; t=5.137, P<0.001$ , Figure 5)。

### 3 讨论

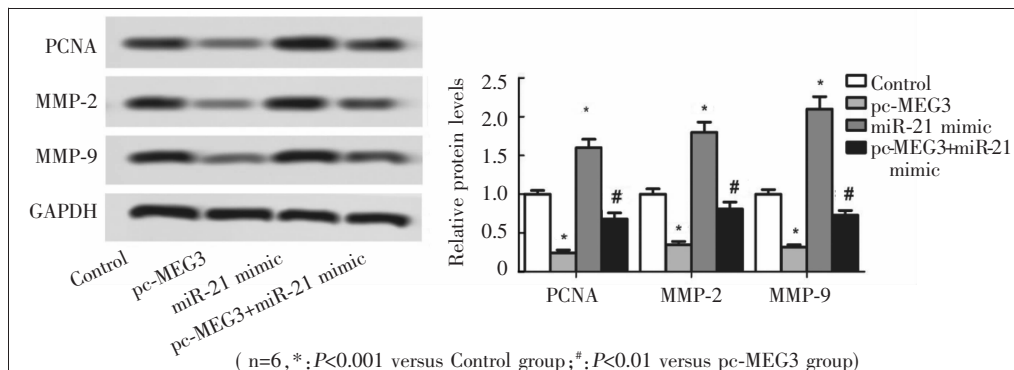
研究表明, LncRNA 在调控细胞的多种生物过程中发挥着重要作用, 包括细胞增殖、迁移、分化、凋亡及侵袭等<sup>[13]</sup>。研究发现, LncRNA 表达水平的改变是包括胶质瘤在内的多种癌症发生发展过程的常见现象, 其既可促进癌症的发展也能抑制癌症的发生及恶化<sup>[14,15]</sup>, 如 LncRNA HOTAIR 能通过促进癌细胞增殖、迁移、侵袭、

血管新生及 DNA 修复等促进乳腺癌、肺癌及胃癌等多类癌症的发展<sup>[16]</sup>, LncRNA MEG3 则能诱导癌细胞凋亡、抑制癌细胞增殖等抑制癌症的发生发展<sup>[17]</sup>。MEG3 是一类具有抑癌作用的 LncRNA, 在多种癌症中均呈低表达状态。Feng 等<sup>[18]</sup>研究发现, 上调 MEG3 的表达能显著抑制膀胱癌细胞侵袭和迁移, 同时还能增强膀胱癌细胞的化疗敏感性。并且 MEG3 低表达还与我国儿童成神经母细胞瘤的发病率呈正相关<sup>[19]</sup>。也有研究发现, MEG 在胶质瘤中表达减少, 并且还能通过抑制 PI3K/Akt 信号通路激活抑制胶质



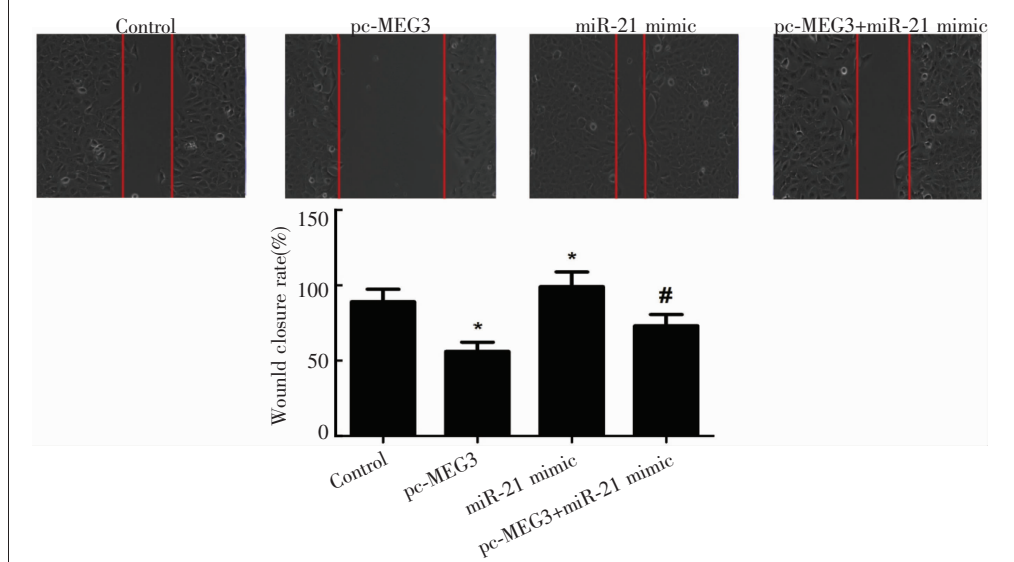
(n=6, \*:  $P<0.01$  versus control group; #:  $P<0.01$  versus pc-MEG3 group)

**Figure 4** The effect of MEG3 on cell proliferation of U251 cell



(n=6, \*:  $P<0.001$  versus Control group; #:  $P<0.01$  versus pc-MEG3 group)

**Figure 5** The effects of MEG3 on the expressions of PCNA, MMP-2 and MMP-9



(n=6, \*:  $P<0.05$  versus Control group; #:  $P<0.01$  versus pc-MEG3 group)

**Figure 6** The effect of MEG3 on cell migration of U251 cell

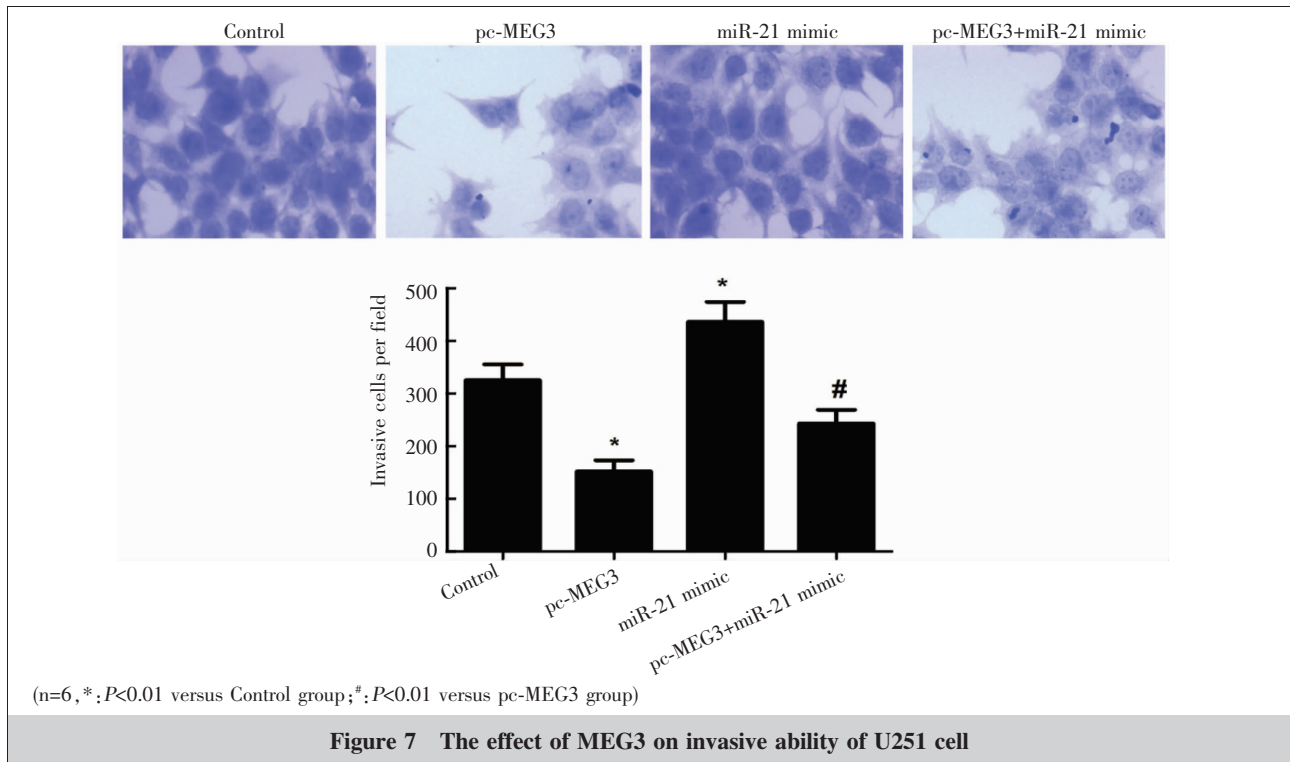


Figure 7 The effect of MEG3 on invasive ability of U251 cell

瘤细胞生长<sup>[20]</sup>。本研究首先检测了 MEG3 在胶质瘤组织及细胞中的表达情况,发现与正常癌旁组织比较,MEG3 在胶质瘤组织中的表达水平明显降低;与正常星形胶质细胞比较,MEG3 在胶质瘤细胞 U251 中的表达也显著减少。采用 pc-MEG3 上调 MEG3 的表达后发现,MEG3 能显著降低 U251 细胞的增殖倍数及细胞增殖相关蛋白 PCNA 的表达,同时还能降低 U251 细胞划痕闭合率和侵袭细胞数,抑制细胞侵袭和迁移相关蛋白 MMP-2 和 MMP-9 的表达。MMP-2 和 MMP-9 是 MMPs 家族的重要成员,主要参与细胞外基质的降解而促进细胞侵袭和迁移<sup>[21]</sup>。提示 MEG 能抑制胶质瘤 U251 细胞增殖、侵袭和迁移。

大量研究表明,LncRNA 生物学功能的发挥与其作为内源竞争性 RNA 有关,LncRNA 可竞争性的与 miRNA 结合从而阻止 miRNA 发挥其生物功能。Zhang 等<sup>[22]</sup>研究表明,上调 MEG3 在乳腺癌细胞中的表达能通过靶向抑制 miR-431 表达抑制乳腺癌细胞发生上皮间质转化,从而抑制乳腺癌细胞的增殖和侵袭。MEG 还能通过抑制 miR-21 表达抑制胃癌细胞增殖及转移,同时还能通过靶向 miR-21 增强非小细胞肺癌细胞对顺铂的化疗敏感性<sup>[12,23]</sup>。研究表明,miR-21 具有促进癌症发展的作用,在乳腺癌、胃癌、结肠癌及胶质瘤中表达均明显升高,能增强癌细

胞的存活及转移能力<sup>[24]</sup>。但 MEG3 是否能通过靶向 miR-21 影响胶质瘤的发展还少见报道。本文研究发现,上调 MEG3 在 U251 细胞中的表达能显著降低 miR-21 在胶质瘤 U251 细胞中的表达水平,并且根据生物信息学分析发现 miR-21 序列上存在连续的 MEG3 的结合位点,荧光素酶报告实验发现,miR-21 mimic 能显著减弱 MEG wt 的荧光素酶活性,但对 MEG3 mut 的荧光素酶活性无显著影响,也进一步证明 MEG3 能靶向结合 miR-21。

为了进一步证明 MEG3 抑制胶质瘤 U251 细胞增殖、侵袭和迁移的作用与靶向 miR-21 有关,本研究采用 pc-MEG3 和 miR-21 mimic 分别和共同转染 U251 细胞,发现 miR-21 能显著上调 U251 细胞生长倍数,促进 U251 细胞迁移和侵袭,这与之前 Luo 等<sup>[25]</sup>的研究结果一致。此外,miR-21 mimic 还能显著减弱 pc-MEG3 对 U251 细胞生长和 PCNA 表达的抑制作用、减弱 pc-MEG3 降低 U251 细胞迁移率、侵袭细胞数及 MMP-2 和 MMP-9 表达水平的作用,表明 miR-21 能减弱 MEG3 抑制胶质瘤 U251 细胞增殖、侵袭和迁移的作用,提示 MEG3 能通过靶向 miR-21 抑制胶质瘤 U251 细胞增殖侵袭和迁移。

综上所述,MEG3 在胶质瘤组织和细胞 U251 中表达均明显减少,上调 MEG3 表达能靶向抑制胶质

瘤 U251 细胞 miR-21 的表达。同时,上调 MEG3 表达能显著抑制胶质瘤 U251 细胞增殖、侵袭和迁移,miR-21 mimic 能显著减弱 pc-MEG3 对 U251 细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用,表明 MEG3 抑制胶质瘤细胞增殖侵袭和迁移的作用与靶向抑制 miR-21 的表达有关。本研究发现 LncRNA MEG3 抑制胶质瘤细胞增殖、侵袭和迁移的作用与调控 miR-21 表达的关系,进一步阐明了 MEG3 调控胶质瘤发展的机制,为 MEG3 应用于胶质瘤的靶向治疗提供了更多的实验数据支撑。

### 参考文献:

- [1] Liu Q,Wang XY,Qin YY,et al. SPOCD1 promotes the proliferation and metastasis of glioma cells by up-regulating PTX3[J]. *Am J Cancer Res*,2018,8(4):624-635.
- [2] Erdemeraslan L,Gravendeel LA,Rooi JD,et al. Intrinsic molecular subtypes of glioma are prognostic and predict benefit from adjuvant procarbazine,lomustine,and vincristine chemotherapy in combination with other prognostic factors in anaplastic oligodendroglial brain tumors:a report from EORTC Study 26951 [J]. *J Clin Oncol*,2013,31(3):328-336.
- [3] Chen X,Li D,Gao Y,et al. Long intergenic noncoding RNA 00152 promotes glioma cell proliferation and invasion by interacting with miR-16[J]. *Cell Physiol Biochem*,2018,46(3):1055-1064.
- [4] He ZQ,Duan H,Ke C,et al. Evaluation of cumulative prognostic score based on pretreatment plasma fibrinogen and serum albumin levels in patients with newly diagnosed high-grade gliomas [J]. *Oncotarget*,2017,8 (30): 49605-49614.
- [5] Hu B,Emdad L,Bacolod MD,et al. Astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) interacts with Akt isoform 2 to control glioma growth,survival and pathogenesis [J]. *Cancer Res*,2014,74(24):7321-7332.
- [6] Cuddapah VA,Robel S,Watkins S,et al. A neurocentric perspective on glioma invasion [J]. *Nat Rev Neurosci*,2014,15(7):455-465.
- [7] Dey BK,Mueller AC,Dutta A. Long non-coding RNAs as emerging regulators of differentiation,development,and disease[J]. *Transcription*,2014,5(4):e944014.
- [8] Sheng X,Li J,Yang L,et al. Promoter hypermethylation influences the suppressive role of maternally expressed 3, a long non-coding RNA,in the development of epithelial ovarian cancer[J]. *Oncol Rep*,2014,32(1):277-285.
- [9] Sun M,Xia R,Jin F,et al. Downregulated long noncoding RNA MEG3 is associated with poor prognosis and promotes cell proliferation in gastric cancer[J]. *Tumour Biol*,2014,35(2):1065-1073.
- [10] Tong GF,Qin N,Sun LW,et al. Long noncoding RNA MEG3 suppresses glioma cell proliferation,migration,and invasion by acting as competing endogenous RNA of miR-19a[J]. *Oncol Res*,2017,25(9):1471-1478.
- [11] Yang W,Kong D. Knockdown of lncRNA MEG3 inhibits viability,migration,and invasion and promotes apoptosis by sponging miR-127 in osteosarcoma cell [J]. *J Cell Biochem*,2018,119(1):669-679.
- [12] Dan J,Wang J,Wang Y,et al. LncRNA-MEG3 inhibits proliferation and metastasis by regulating miRNA-21 in gastric cancer[J]. *Biomed Pharmacother*,2018,99:931-938.
- [13] Yu Y,Yang J,Li Q,et al. LINC00152:a pivotal oncogenic long non-coding RNA in human cancers [J]. *Cell Prolif*,2017,50(4):e12349.
- [14] Cai Y,Yan P,Zhang G,et al. Long non-coding RNA TP73-AS1 sponges miR-194 to promote colorectal cancer cell proliferation,migration and invasion via up-regulating TGF- $\alpha$ [J]. *Cancer Biomark*,2018,23(1):145-156.
- [15] Shi Y,Wang Y,Luan W,et al. Long non-coding RNA H19 promotes glioma cell invasion by deriving miR-675 [J]. *PLoS One*,2014,9(1):e86295.
- [16] Yu X,Li Z. Long non-coding RNA HOTAIR:A novel oncogene(Review)[J]. *Mol Med Rep*,2015,12(4):5611-5618.
- [17] Zhu Y,Chen P,Gao Y,et al. MEG3 Activated by Vitamin D inhibits colorectal cancer cells proliferation and migration via regulating clusterin [J]. *Ebiomedicine*,2018,30: 148-157.
- [18] Feng SQ,Zhang XY,Fan HT,et al. Up-regulation of LncRNA MEG3 inhibits cell migration and invasion and enhances cisplatin chemosensitivity of bladder cancer cells[J]. *Neoplasma*,2018,65(6):925-932.
- [19] Zhuo ZJ,Zhang R,Zhang J,et al. Associations between lncRNA MEG3 polymorphisms and neuroblastoma risk in Chinese children[J]. *Aging*,2018,10(3):481-491.
- [20] Zhang L,Liang X,Li Y. Long non-coding RNA MEG3 inhibits cell growth of gliomas by targeting miR-93 and inactivating PI3K/AKT pathway[J]. *Oncol Rep*,2017,38(4): 2408-2416.
- [21] Akkoc A,Inan S,Sonmez G. Matrix metalloproteinase (MMP-2 and MMP-9) and steroid receptor expressions in feline mammary tumors [J]. *Biotech Histochem*,2012,87 (4):312-319.
- [22] Zhang W,Shi S,Jiang J,et al. LncRNA MEG3 inhibits cell epithelial-mesenchymal transition by sponging miR-421 targeting E-cadherin in breast cancer [J]. *Biomed Pharmacother*,2017,91:312-319.
- [23] Wang P,Chen D,Ma H,et al. LncRNA MEG3 enhances cisplatin sensitivity in non-small cell lung cancer by regulating miR-21-5p/SOX7 axis [J]. *Onco Targets Ther*,2017,10:5137-5149.
- [24] Pfeffer SR,Yang CH,Pfeffer LM. The role of miR-21 in Cancer[J]. *Drug Dev Res*,2015,76(6):270-277.
- [25] Luo G,Luo W,Sun X,et al. MicroRNA-21 promotes migration and invasion of glioma cells via activation of Sox2 and  $\beta$ -catenin signaling[J]. *Mol Med Rep*,2016,15(1): 187-193.