

## 论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.02.004

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211228.1247.006.html\(2021-12-28\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211228.1247.006.html(2021-12-28))

## LncRNA XIST 通过 miR-193a-3p/RSF1 轴对骨肉瘤细胞增殖和迁移的作用研究\*

孔德海<sup>1</sup>,冯德香<sup>2△</sup>,刘峻滔<sup>3</sup>,邓明明<sup>1</sup>,付炳金<sup>1</sup>,尹刚<sup>1</sup>,朱晓东<sup>1</sup>

(1. 滨州医学院附属医院足踝外科,山东滨州 256600;2. 滨州医学院附属医院肿瘤科,山东滨州 256600;3. 滨州医学院烟台附属医院创伤骨科,山东滨州 256600)

**[摘要]** **目的** 研究长链非编码 RNA X 染色体失活特异转录本(lncRNA XIST)通过 miR-193a-3p/重构成剪切因子 1(RSF1)轴对骨肉瘤细胞增殖、迁移的作用。**方法** 收集 2017 年 9 月至 2018 年 12 月滨州医学院烟台附属医院 30 例行骨肉瘤切除术获得的癌组织和癌旁组织,RT-qPCR 检测癌组织和癌旁组织中 lncRNA XIST mRNA 表达。采用脂质体转染法将 sh-lncRNA XIST 重组质粒、空载质粒分别转至对数期生长的骨肉瘤 HOS 细胞,另取未做任何处理的 HOS 细胞为空白组。稳定转染 48 h 后,CCK-8 法检测各组细胞培养 24、48、72 h 时的吸光度(A)值,划痕实验检测培养 24 h 时细胞的融合距离,荧光素酶报告基因实验检测 lncRNA XIST、miR-193a-3p 与 RSF1 之间的作用关系,RT-qPCR 检测 lncRNA XIST、miR-193a-3p、RSF1 mRNA 表达,Western blot 检测 RSF1 蛋白表达。**结果** 骨肉瘤组织中 lncRNA XIST mRNA 表达明显高于癌旁组织,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。空白组、空载组及实验组 A 值随转染时间的延长而升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与空白组和空载组比较,实验组培养 24、48、72 h 后 A 值降低,融合距离缩短,lncRNA XIST、RSF1 mRNA 表达降低,miR-193a-3p mRNA 表达升高,RSF1 蛋白表达降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。**结论** 敲降 lncRNA XIST 可抑制骨肉瘤细胞增殖和迁移能力,可能通过 miR-193a-3p/RSF1 轴发挥作用。

**[关键词]** 骨肉瘤细胞;长链非编码 RNA;微小 RNA-193a-3p;增殖;迁移**[中图分类号]** R738.1**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)02-0198-06

## Effect of lncRNA XIST on proliferation and migration of osteosarcoma cells through miR-193a-3p/RSF1 axis\*

KONG Dehai<sup>1</sup>,FENG Dexiang<sup>2△</sup>,LIU Juntao<sup>3</sup>,DENG Mingming<sup>1</sup>,  
FU Bingjin<sup>1</sup>,YIN Gang<sup>1</sup>,ZHU Xiaodong<sup>1</sup>

(1. Department of Foot and Ankle Surgery;2. Department of Oncology, Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou, Shandong 256600, China;3. Department of Traumatology and Orthopedics, Yantai Affiliated Hospital of Binzhou Medical College, Binzhou, Shandong 256600, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the effect of long-chain non-coding RNA X chromosome inactivation specific transcripts (lncRNA XIST) on the proliferation and migration of osteosarcoma cells (HOS) through micro RNA-193a-3p (miR-193a-3p)/remodeling and spacing factor1 (RSF1) axis. **Methods** The cancer tissues and paracancerous tissues were collected from 30 cases of osteosarcoma resection in the Yantai Affiliated Hospital of Binzhou Medical College from September 2017 to December 2018. The real-time quantitative PCR (RT-qPCR) was used to detect the expression of lncRNA XIST in cancer tissues and paracancerous tissues. The liposome transfection method was used to transfer the sh-lncRNA XIST recombinant plasmid and unloaded plasmid to logarithmic growth osteosarcoma HOS cells, other HOS cells without any treatment were taken as the blank group. After 48 h of stable transfection, the CCK-8 method was used to detect the light absorption (A) value of cells in each group at 24, 48 and 72 h of culture, the scratch test was used to detect the fusion distance of cells in each group at 24 h of culture, the luciferase reporter gene assay was used to detect the relationship between lncRNA XIST, miR-193a-3p and RSF1, RT-qPCR was used to detect the expressions of lncRNA XIST, miR-

\* 基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2017WS753)。 作者简介:孔德海(1984—),主治医师,硕士,主要从事骨肿瘤研究。

△ 通信作者,E-mail:e228519@163.com。

193a-3p and RSF1 mRNA in each group, Western blot was used to detect the expression of RSF1 protein. **Results** The expression level of lncRNA XIST in osteosarcoma tissues was significantly higher than that in paracancerous tissues, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The A value in the blank group, no-load group and test group was increased with the transfection time extension, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). Compared with the blank group and no-load group, the A value after 24, 48, 72 h of culture in the test group was decreased, the fusion distance was shortened, the expression of lncRNA XIST and RSF1 mRNA was decreased, the expression of miR-193a-3p mRNA was increased, the RSF1 protein was decreased, and differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Knocking down lncRNA XIST can inhibit the proliferation and migration ability of osteosarcoma cells, which may play the role through miR-193a-3p/RSF1 axis.

**[Key words]** osteosarcoma cell; long noncoding RNA; microRNA-193a-3p; proliferation; migration

骨肉瘤是从间质细胞系发展而来的一种恶性成骨性肿瘤,常发于青少年<sup>[1]</sup>。骨肉瘤可导致肌肉萎缩、骨折,影响运动系统、呼吸系统等功能,威胁患者生命安全。目前我国在骨肉瘤治疗方面取得了一定的进展,但由于骨肉瘤患者易发生早期肺转移,复发率高,因此整体治疗效果较差<sup>[2]</sup>。骨肉瘤靶向基因治疗一直是基础研究的热点,但目前仍无精确的靶向药物应用于临床,因此探究有效抑制骨肉瘤细胞增殖和迁移的基因,为骨肉瘤的治疗提供新的靶点尤为重要。长链非编码 RNA (long noncoding RNA, lncRNA) 是一类转录本超过 200 nt, 不编码蛋白的 RNA 分子,它能够在多种层面上调控基因的表达<sup>[3]</sup>。miR-193a-3p 和重构剪切因子 1 (RSF1) 是与肿瘤发生、发展相关的基因,参与细胞的多种生物学功能,且 RSF1 被认为是 miR-193a-3p 直接作用靶点, miR-193a-3p 能通过抑制 RSF1 基因表达,调控肿瘤细胞的生物学进程<sup>[4]</sup>。研究证实, lncRNA X 染色体失活特异转录本 (X chromosome inactivation specific transcripts, XIST) 能促进肿瘤的发生、发展, lncRNA XIST 在多数肿瘤中上调,并促进肿瘤向远处转移<sup>[5]</sup>。目前虽有研究发现降低 lncRNA XIST 可抑制骨肉瘤细胞增殖和迁移,但 miR-193a-3p/RSF1 轴对骨肉瘤细胞的作用研究较少<sup>[6]</sup>。因此,本文研究 lncRNA XIST 通过 miR-193a-3p/RSF1 轴对骨肉瘤细胞增殖和迁移的作用,为找到治疗骨肉瘤的精确靶点提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 组织标本和细胞株

收集 2017 年 9 月至 2018 年 12 月滨州医学院烟台附属医院 30 例骨肉瘤切除手术中的癌组织和癌旁组织,液氮中保存。收集病例标准:(1)符合骨肉瘤诊断标准,并经细胞系或病理学确诊的骨肉瘤;(2)未经任何抗肿瘤治疗;(3)经医院伦理委员会审查批准,并征得患者同意,签署知情同意书。人骨肉瘤细胞株 HOS 购自上海塞默生物科技发展有限公司。

#### 1.1.2 主要试剂和仪器

空载质粒、sh-lncRNA XIST 重组质粒、miR-

193a-3p mimic/inhibitor 购自上海吉玛制药技术有限公司;DMEM 培养基、10% 的胎牛血清 (FBS) 购自郑州九龙生物制品有限公司;Lipofectamine 2000 转染试剂盒购自上海笃玛生物科技有限公司;兔抗人 RSF1 (一抗)、山羊抗兔 RSF1 (二抗) 购自美国 CST 公司;CCK-8 试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒、TRIzol 试剂盒、BCA 蛋白定量试剂盒、SDS-PAGE 制备试剂盒购自北京智杰方远科技有限公司;DYY-4C 电泳仪购自上海巴玖实业有限公司;GE 凝胶成像仪购自苏州艾比拓生物技术有限公司;RJ17DG5033A 型酶联免疫检测仪购自南京华东电子医疗设备有限责任公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 RT-qPCR 检测骨肉瘤组织及癌旁组织中 lncRNA XIST mRNA 表达

骨肉瘤组织和癌旁组织中的总 RNA 提取采用 TRIzol 试剂盒,反转录成 cDNA 模板,参照 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒说明书进行 RT-qPCR, lncRNA XIST 引物序列见表 1。反应程序:95 °C 预变性 5 min;95 °C 变性 40 s,59 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 30 s,35 次循环。采用  $\beta$ -actin 作为内参, $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算 lncRNA XIST 的相对表达量。

#### 1.2.2 细胞培养、转染及分组

将骨肉瘤细胞株 HOS 培养于含 10% FBS、100  $\mu$ /mL 青霉素、100  $\mu$ /mL 链霉素的 DMEM 培养基中,置于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。转染前 1 d,将 HOS 细胞接种到 6 孔板中,分为 3 组,分别是空白组、空载组和实验组,每组设 5 个复孔。空白组 HOS 细胞不做任何处理,空载组和实验组按 Lipofectamine 2000 转染试剂说明书将空载质粒和 sh-lncRNA XIST 重组质粒分别转染至 HOS 细胞,继续培养 48 h 后,荧光显微镜检测细胞转染效率,转染效率大于 80% 进行后续实验。

#### 1.2.3 CCK-8 法检测细胞增殖能力

取对数期生长的各组细胞,接种于 96 孔板,调整细胞浓度为  $1 \times 10^6$  /mL,将培养板放入 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的培养箱内,观察培养 24、48、72 h,每孔加入 10  $\mu$ L 的 CCK-8 溶液,继续培养 4 h,酶联免疫检测仪测

量各孔在 450 nm 处的吸光度(A)值。

#### 1.2.4 划痕实验检测细胞迁移能力

取对数期生长的各组细胞,接种到 6 孔板内,调整细胞密度为  $5 \times 10^3$  /mL,待细胞铺满后,用  $10 \mu\text{L}$  无菌枪头在孔板上均匀划线,PBS 洗去划下的细胞,不含血清的培养基中培养 24 h。倒置显微镜拍摄 0、24 h 时细胞迁移状态,Image 图像分析计算细胞融合距离,细胞融合距离 = 初始划痕宽度 - 终末划痕宽度。

#### 1.2.5 双荧光素酶报告基因实验检测 lncRNA XIST、miR-193a-3p 与 RSF1 之间的作用关系

将 miR-193a-3p mimic/inhibitor 分别与 LncRNA XIST Wt/Mut 共转染,在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 8 h,换 0.5 mL 含 10% FBS 且不含维生素的正常 DMEM 培养基,在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  培养箱中培养 48 h,收集细胞。再将 miR-193a-3p mimic/inhibitor 分别与 RSF1 Wt/Mut 共转染细胞,操作同上。应用双荧光素酶报告基因实验检测荧光素酶,酶标仪检测萤火虫荧光素光吸收值、海肾荧光素光吸收值,以海肾荧光素光值为内参,荧光素酶活性 = 萤火虫荧光素光吸收值/海肾荧光素光吸收值。

#### 1.2.6 RT-qPCR 检测细胞 lncRNA XIST、miR-193a-3p、RSF1 mRNA 表达

取稳定转染 48 h 各组细胞,参照 TRIzol 试剂盒说明书,提取 HOS 细胞中的总 RNA,逆转录获取 cDNA 模版,参照 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒说明书设定反应体系,引物序列见表 1。反应程序:  $95^\circ\text{C}$  预变性 5 min;  $95^\circ\text{C}$  变性 30 s,  $58^\circ\text{C}$  退火 30 s,  $72^\circ\text{C}$  延伸 30 s, 35 次循环。miR-193a-3p 采用 U6 作为内参, lncRNA XIST 和 RSF1 采用  $\beta$ -actin 作为内参,  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  法计算 lncRNA XIST、miR-193a-3p、RSF1 的相对表达量。

表 1 相关基因扩增引物序列

基因名称	引物序列	片段长度 (kb)
lncRNA XIST	F:5'-AGATACGAATAAGATGTGT -3'	137
	R:5'-AACAGCGTGATCTACCGT -3'	
miR-193a-3p	F:5'-GGCGAGCATAATGAACGGA -3'	96
	R:5'-GTCAGCGACAGCACCTCT -3'	
RSF1	F:5'-CCATTCGTAATTTCTTGAGT -3'	172
	R:5'-CAGTCGCTGTGCAGGACA -3'	
U6	F:5'-GAAACAGAGACGTGGTCT -3'	158
	R:5'-ATCGACGTATTTCTACGAT -3'	
$\beta$ -actin	F:5'-TAGGTGCATAATGAACGTT -3'	257
	R:5'-GTGTCGGTGACCTGCAGA -3'	

#### 1.2.7 Western blot 检测 RSF1 蛋白表达

取稳定转染 48 h 各组细胞,RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,蛋白浓度用 BCA 试剂盒检测,SDS-PAGE

电泳分离蛋白,电转法将蛋白转移至聚偏氟乙烯膜,5%的脱脂奶粉室温封闭 1 h,加入按 1:1 000 的一抗,  $4^\circ\text{C}$  培养过夜,TBST 溶液清洗 3 次,加入 1:3 000 稀释的二抗,室温孵育 1 h,TBST 再清洗 3 次,加入 ECL 反应液,凝胶成像系统采集图像并观察分析。

#### 1.3 统计学处理

采用 SPSS21.0 统计软件进行分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较采用  $t$  检验,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较进行 SNK- $q$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 癌组织与癌旁组织中 lncRNA XIST mRNA 表达

癌组织中 lncRNA XIST mRNA 表达 ( $6.27 \pm 1.88$ ) 明显高于癌旁组织 ( $3.15 \pm 0.41$ ),差异有统计学意义 ( $t = 8.881, P < 0.05$ )。

### 2.2 各组细胞 A 值

与空白组和空载组比较,培养 24、48、72 h 时,实验组的 A 值明显降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。不同时点空白组和空载组比较,差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。各组随着干预时间的延长 A 值升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ),见表 2。

表 2 各组细胞不同时点 A 值比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	24 h	48 h	72 h
空白组	$0.682 \pm 0.12$	$0.812 \pm 0.08^c$	$1.231 \pm 0.12^{cd}$
空载组	$0.671 \pm 0.06$	$0.803 \pm 0.11^c$	$1.243 \pm 0.15^{cd}$
实验组	$0.413 \pm 0.04^{ab}$	$0.614 \pm 0.08^{abc}$	$0.812 \pm 0.22^{abcd}$
F	17.935	7.531	10.594
P	$< 0.001$	0.008	0.002

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与空白组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与空载组比较;<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与 24 h 比较;<sup>d</sup>:  $P < 0.05$ ,与 48 h 比较。

### 2.3 各组细胞融合距离

空白组、空载组、实验组细胞融合距离分别为 ( $87.9 \pm 22$ )  $\mu\text{m}$ 、( $85.7 \pm 17$ )  $\mu\text{m}$ 、( $43.5 \pm 11$ )  $\mu\text{m}$ ,组间比较,差异有统计学意义 ( $F = 10.506, P = 0.002$ )。与空白组和空载组比较,实验组 24 h 时细胞融合距离明显缩短,差异有统计学意义 ( $t = 4.036, P = 0.004$ ;  $t = 4.660, P = 0.002$ ),而空白组和空载组比较,差异无统计学意义 ( $t = 0.177, P = 0.864$ ),见图 1。

### 2.4 荧光素酶报告基因实验结果

lncRNA XIST 与 miR-193a-3p 存在互补序列,过表达 miR-193a-3p 可明显抑制 lncRNA XIST-Wt 的荧光素酶活性 ( $P < 0.05$ ),对 lncRNA XIST-Mut 荧光素酶活性无抑制作用,见图 2、3。miR-193a-3p 能结合 RSF1 的 3'UTR 区域,二者结合序列与 lncRNA XIST、miR-193a-3p 结合序列部分相同,过表达 miR-193a-3p 可明显抑制 RSF1-Wt 荧光素酶活性 ( $P < 0.05$ ),见图 4、5。

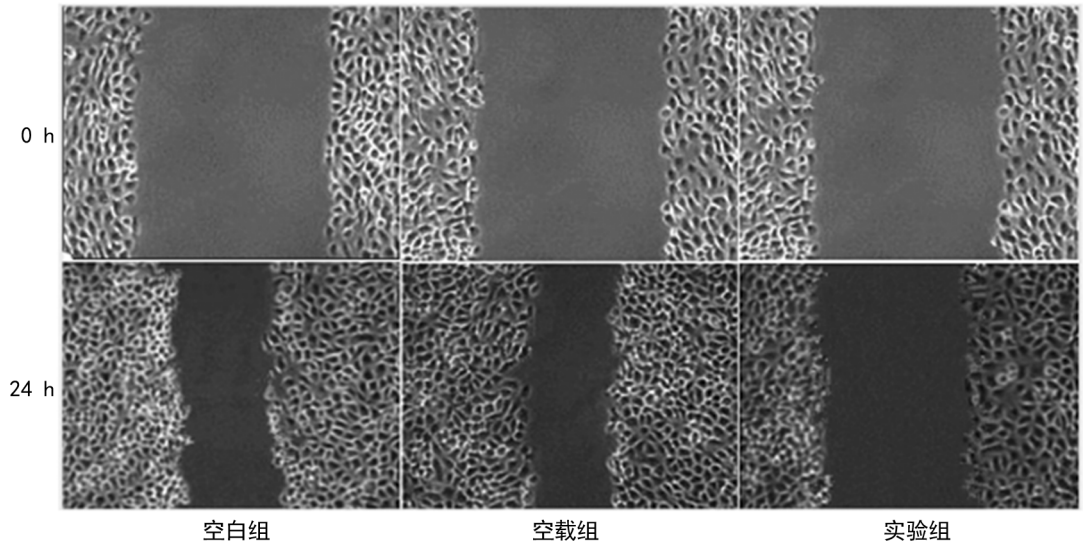


图 1 各组细胞迁移情况(×100)

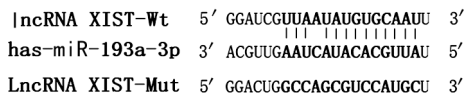
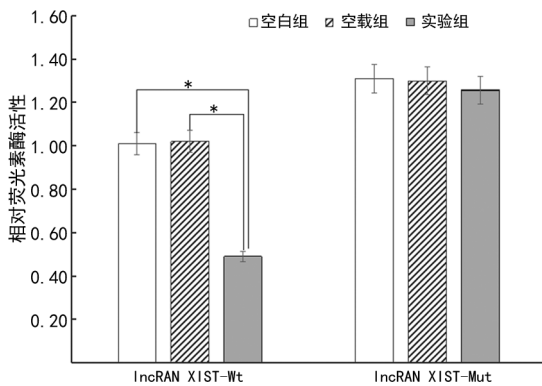


图 2 生物信息学数据库 Starbase 预测结果



\*:  $P < 0.05$ .

图 3 lncRNA XIST、miR-193a-3p 靶向作用关系

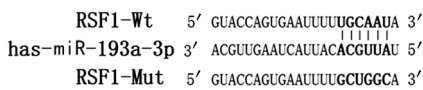
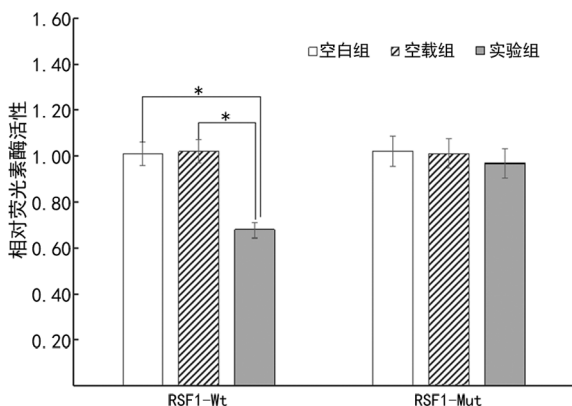


图 4 生物信息学数据库 TargetScan 分析结果



\*:  $P < 0.05$ .

图 5 miR-193a-3p、RSF1 的靶向作用关系

### 2.5 各组细胞 lncRNA XIST、miR-193a-3p、RSF1 mRNA 表达

与空白组和空载组比较,实验组 lncRNA XIST、RSF1 mRNA 表达明显降低,miR-193a-3p mRNA 表达明显增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而空白组和空载组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 3。

表 3 各组 lncRNA XIST、miR-193a-3p、RSF1 mRNA 表达

组别	lncRNA XIST	miR-193a-3p	RSF1
空白组	1.85±0.36	0.72±0.13	1.77±0.23
空载组	1.78±0.35	0.69±0.15	1.79±0.21
实验组	0.68±0.08 <sup>ab</sup>	1.58±0.25 <sup>ab</sup>	0.75±0.12 <sup>ab</sup>
<i>F</i>	24.988	37.601	47.630
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与空白组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,与空载组比较。

### 2.6 各组细胞 RSF1 蛋白表达

空白组、空载组和实验组的 RSF1 蛋白表达分别为  $1.12 \pm 0.22$ 、 $1.08 \pm 0.17$ 、 $0.56 \pm 0.07$ ,差异有统计学意义( $F = 24.988$ ,  $P < 0.001$ )。与空白组和空载组比较,实验组 RSF1 蛋白表达明显降低,差异有统计学意义( $t = 6.392$ ,  $P < 0.001$ ;  $t = 7.541$ ,  $P < 0.001$ )。空白组和空载组比较,差异无统计学意义( $t = 0.322$ ,  $P = 0.756$ ),见图 6。

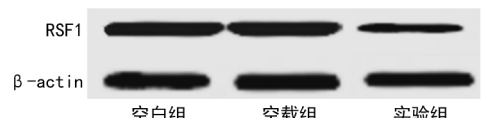


图 6 各组细胞 RSF1 蛋白表达情况

## 3 讨论

骨肉瘤是骨科常见的恶性肿瘤,起源于骨骼系统的结缔组织,好发部位是股骨远端和胫骨后端。据相关统计,在原发性恶性肿瘤中骨肉瘤是发病率较高的一种,占青少年和儿童骨癌的 56%<sup>[7-8]</sup>。骨肉瘤目前

的治疗手段包括手术治疗、化疗和保肢重建手术等多种方式相结合,随着治疗水平的不断提高,骨肉瘤患者 5 年生存率明显提高<sup>[9]</sup>。然而,当前的治疗手段也存在不少弊端,例如化疗药物会对正常组织产生毒性,导致患者出现贫血、心脏损伤等不良反应,故寻找有效治疗骨肉瘤的方法迫在眉睫。近年来,基因治疗、分子靶向治疗在骨肉瘤治疗研究中取得了较大进展,有研究发现 lncRNA XIST 对癌细胞增殖和迁移有较大影响<sup>[10]</sup>。因此,研究 lncRNA XIST 对骨肉瘤细胞的调控机制,对治疗骨肉瘤有重要意义。

lncRNA 是一类非蛋白编码转录本,大多数 lncRNA 调控肿瘤发展进程是通过抑制或促进 miRNA 表达来影响癌细胞的恶性生物学行为,lncRNA 可以结合并抑制 miRNA 活性,降低其对下游基因干扰,从而促进下游基因 mRNA 翻译,被研究证实在各种生物调控中起重要作用,且与人类的多种疾病相关<sup>[11-12]</sup>。lncRNA XIST 是 XIST 基因上游非编码区调节因子,在细胞增殖、分化方面起关键作用。GAO 等<sup>[13]</sup>研究发现,敲降 lncRNA XIST 可抑制骨肉瘤细胞的增殖,促进细胞凋亡。XU 等<sup>[14]</sup>发现敲降 lncRNA XIST 后,lncRNA XIST 能与 EZH2 结合,下调 P21 的表达,进而抑制骨肉瘤细胞的增殖、阻滞细胞周期。本研究发现,lncRNA XIST 在骨肉瘤细胞中高表达,敲降 lncRNA XIST 后 CCK-8 试验显示 A 值降低,24 h 融合距离缩短,说明敲降 lncRNA XIST 能明显抑制癌细胞增殖和迁移能力。

研究表明,miR-193a-3p 的异常表达与多种肿瘤发生、发展有关,在胰腺癌中 miR-193a-3p 通过靶向 CCND1 基因抑制癌细胞增长,可能具有抑制癌基因的作用<sup>[15]</sup>。lncRNA 可以充当 miRNA 的前体来调节 mRNA 的稳定性,在肿瘤的诊疗中具有重大潜力。随着对 lncRNA 研究的深入,ZHUANG 等<sup>[16]</sup>发现,lncRNA XIST 可通过靶向 miR-92 抑制肝癌细胞的增殖和迁移,揭示 lncRNA XIST/miR-92b/Smad7 信号轴能调控肝癌的发展进程。另有研究显示,lncRNA XIST/miR-124/AR 信号轴在膀胱癌的细胞增殖、迁移中发挥重要作用<sup>[17]</sup>。RSF1 通过调节染色体结构参与多种细胞转录、复制过程,WU 等<sup>[18]</sup>研究发现,RSF1 在骨肉瘤细胞中高度表达,且与 miR-193a-3p 呈负相关,RSF1 被证实是 miR-193a-3p 的直接靶点,lncRNA XIST 可以抑制 miR-193a-3p,调节其下游基因 RSF1。本研究结果显示,敲降 lncRNA XIST,lncRNA XIST、RSF1 mRNA 表达降低,miR-193a-3p mRNA 表达升高,RSF1 蛋白表达降低。本研究结合双荧光素酶报告基因实验、RT-qPCR 实验发现,lncRNA XIST、miR-193a-3p 与 RSF1 之间存在靶向关系。

综上所述,敲降 lncRNA XIST 能抑制骨肉瘤细胞增殖和迁移能力,可能是通过上调 miR-193a-3p mRNA 表达,下调 RSF1 mRNA 和蛋白表达发挥作用。下一步应研究敲降 lncRNA XIST 是否存在其他调控机制来抑制骨肉瘤细胞增殖和迁移,为临床治疗骨肉瘤提供参考。

## 参考文献

- [1] 秦础强,吕玉明,赵洪普. miR-142-2p 通过 TCF7 调控骨肉瘤细胞侵袭、迁移以及凋亡的分子机制[J]. 临床和实验医学杂志,2019,18(15):1594-1597.
- [2] ZHAO C H,BAI X F,HU X H. Knockdown of lncRNA XIST inhibits hypoxia-induced glycolysis,migration and invasion through regulating miR-381-3p/NEK5 axis in nasopharyngeal carcinoma[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2020,24(5):2505-2517.
- [3] YANG X,ZHANG S,HE C,et al. METTL14 suppresses proliferation and metastasis of colorectal cancer by down-regulating oncogenic long non-coding RNA XIST[J]. Mol Cancer,2020,19(1):46.
- [4] 吴大鹏. XIST/miR-193a-3p/RSF1 调控骨肉瘤中发生发展过程的机制研究[D]. 郑州:郑州大学,2019.
- [5] 王浩,李维,谭国林. 长片段非编码 RNA XIST 可改变人鼻咽癌 HNE1 细胞对顺铂的耐药性[J]. 南方医科大学学报,2019,39(3):107-113.
- [6] SUN X,WEI B,PENG Z H,et al. Knockdown of lncRNA XIST suppresses osteosarcoma progression by inactivating AKT/mTOR signaling pathway by sponging miR-375-3p[J]. Int J Clin Exp Pathol,2019,12(5):1507-1517.
- [7] 流小舟,于沂阳,施鑫,等. 骨肉瘤复发患者的转归及影响长期生存的因素分析——一项基于多中心骨肉瘤复发患者的长期随访研究[J]. 中华骨科杂志,2018,38(18):1089-1096.
- [8] LU C,YANG M,LUO F,et al. Prediction of lncRNA-disease associations based on inductive matrix completion[J]. Bioinformatics,2018,34(19):3357-3364.
- [9] YAN M,PAN X F,LIU Y,et al. Long noncoding RNA PVT1 promotes metastasis via miR-484 sponging in osteosarcoma cells[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci,2020,24(5):2229-2238.

- [10] 陈曦,徐文娣,谭军艳,等. lncRNA XIST/miR-34a-5p/SIRT6 分子轴调控口腔鳞癌细胞的增殖及转移[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志,2019,26(8):896-903.
- [11] LIU J,LIU Z X,WU Q N,et al. Long noncoding RNA AGPG regulates PFKFB3-mediated tumor glycolytic reprogramming[J]. *Nat Commun*,2020,11(1):1507.
- [12] MA Y L,WANG C Y,GUAN Y J,et al. Long noncoding RNA ROR promotes proliferation and invasion of colorectal cancer by inhibiting tumor suppressor gene NF2 through interacting with miR-223-3p[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2020,24(5):2401-2411.
- [13] GAO W,GAO J,CHEN L,et al. Targeting XIST induced apoptosis of human osteosarcoma cells by activation of NF- $\kappa$ B/PUMA signal [J]. *Bioengineered*,2019,10(1):261-270.
- [14] XU T,JIANG W,FAN L,et al. Upregulation of long noncoding RNA Xist promotes proliferation of osteosarcoma by epigenetic silencing of P21 [J]. *Oncotarget*,2017,8(60):101406-101417.
- [15] PAN Y,HU J,MA J,et al. MiR-193a-3p and miR-224 mediate renal cell carcinoma progression by targeting alpha-2,3-sialyltransferase IV and the phosphatidylinositol 3 kinase/Akt pathway [J]. *Mol Carcinog*,2018,57(8):1067-1077.
- [16] ZHUANG L K,YANG Y T,MA X,et al. Micro RNA-92b promotes hepatocellular carcinoma progression by targeting Smad7 and is mediated by long non-coding RNA XIST[J]. *Cell Death Dis*,2016,7(4):e2203.
- [17] XIONG Y,WANG L,LI Y,et al. The long noncoding RNA XIST interacted with miR-124 to modulate bladder cancer growth, invasion and migration by targeting androgen receptor(AR) [J]. *Cell Physiol Biochem*,2017,43(1):405-418.
- [18] WU D,NIE X,MA C,et al. RSF1 functions as an oncogene in osteosarcoma and is regulated by XIST/miR-193a-3p axis [J]. *Biomed Pharmacother*,2017,95:207-214.
- (收稿日期:2021-05-20 修回日期:2021-09-23)
- 
- (上接第 197 页)
- [14] MA L Y,XIE X W,MA L,et al. Downregulated long non-coding RNA TRPM2-AS inhibits cisplatin resistance of non-small cell lung cancer cells via activation of p53-p66shc pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2017,21(11):2626-2634.
- [15] WANG T,TANG X P,LIU Y C. LncRNA-ATB promotes apoptosis of non-small cell lung cancer cells through MiR-200a/ $\beta$ -Catenin[J]. *J Buon*,2019,24(6):2280-2286.
- [16] SUN J G,LI X B,YIN R H,et al. LncRNA VIM-AS1 promotes cell proliferation,metastasis and epithelial-mesenchymal transition by activating the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in gastric cancer [J]. *Mol Med Rep*,2020,22(6):4567-4578.
- [17] SHA Q K,CHEN L,XI J Z,et al. Long noncoding RNA LINC00858 promotes cells proliferation,migration and invasion by acting as a ceRNA of miR-22-3p in colorectal cancer[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*,2019,47(1):1057-1066.
- [18] ZHANG W,ZHAN F,LI D,et al. RGMB-AS1/miR-22-3p/NFIB axis contributes to the progression of gastric cancer[J]. *Neoplasma*,2020,67(3):484-491.
- [19] HE W L,ZHANG Y Y,XIA S L. LncRNA NNT-AS1 promotes non-small cell lung cancer progression through regulating miR-22-3p/YAP1 axis[J]. *Thorac Cancer*,2020,11(3):549-560.
- [20] ZHANG Z M,LI M,ZHANG Z T. LncRNA MALAT1 modulates oxaliplatin resistance of gastric cancer via sponging miR-22-3p[J]. *Oncotargets Ther*,2020,13:1343-1354.
- (收稿日期:2021-05-23 修回日期:2021-09-08)