

# MALAT1 通过竞争 miR-124 上调 SMYD3 并促进乳腺癌细胞增殖与迁移

徐曼丽, 王 畅, 王 楠, 何红鹏, 张同存, 罗学刚\*

(天津科技大学生物工程学院, 工业发酵微生物学教育部重点实验室, 天津市工业微生物重点实验室, 天津 300457)

**摘要** 为了探究 lncRNA MALAT1 是否会通过与组蛋白甲基化酶 SMYD3 间的相互调控对乳腺癌细胞的增殖和迁移产生影响, 采用 siRNA 敲低 MCF-7、MDA-MB-231 乳腺癌细胞中的内源性 MALAT1 后, 然后应用划痕和 MTT 法检测细胞迁移和增殖情况; 实时定量 PCR(Real time PCR)、免疫蛋白印迹(Western blot)等方法检测 si-MALAT1 对 miRNA-124、SMYD3 及其下游基因 mRNA 及蛋白质水平的影响。结果显示: siRNA 靶向敲低 MALAT1 后可降低乳腺癌细胞的迁移和增殖速度, 同时抑制 SMYD3 及其下游靶基因 N-cadherin、MYL9、MMP9、CYR61 等的转录表达, 并上调 miR-124。miR-124 的过表达可降低 SMYD3 在乳腺癌细胞中的表达, 且 MALAT1 的敲低可以缓解 miR-124 抑制剂对 SMYD3 蛋白质水平表达的促进作用。此外, 转染外源质粒使 SMYD3 过表达可激活 MALAT1 转录, 反之 siRNA 干扰 SMYD3 后则会下调 MALAT1。研究结果表明: lncRNA MALAT1 可以作为 miR-124 的 ceRNA 调控 SMYD3, 同时 SMYD3 可反馈性激活 MALAT1 的转录, 这一相互调控作用将影响到乳腺癌细胞的增殖与迁移能力。

**关键词** 乳腺癌细胞; lncRNA MALAT1; SMYD3; miR-124

中图分类号 Q786 文献标志码 A 文章编号 1000-5048(2019)03-0344-08

doi:10.11665/j.issn.1000-5048.20190311

引用本文 徐曼丽, 王畅, 王楠, 等. MALAT1 通过竞争 miR-124 上调 SMYD3 并促进乳腺癌细胞增殖与迁移[J]. 中国药科大学学报, 2019, 50(3):344-351.

Cite this article as: XU Manli, WANG Chang, WANG Nan, et al. MALAT1 upregulates SMYD3 by competition with miR-124 and promotes proliferation and migration of breast cancer cells[J]. J China Pharm Univ, 2019, 50(3):344-351.

## MALAT1 upregulates SMYD3 by competition with miR-124 and promotes proliferation and migration of breast cancer cells

XU Manli, WANG Chang, WANG Nan, HE Hongpeng, ZHANG Tongcun, LUO Xuegang\*

Key Laboratory of Industrial Fermentation Microbiology, Ministry of Education, Tianjin Key Laboratory of Industrial Microbiology, College of Biotechnology, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China

**Abstract** To investigate whether lncRNA MALAT1 affects the migration and proliferation of breast cancer cells through the regulation with histone methyltransferase SMYD3, the endogenous MALAT1 in the MCF-7 and MDA-MB-231 breast cancer cells were knocked down by siRNA, and then the migration and proliferation of cells were detected by wound healing migration and MTT assay. The effects of si-MALAT1 on the mRNA and protein levels of miRNA-124, SMYD3 and its downstream genes were detected by Real time PCR and Western blot. The results showed that siRNA-targeted knockdown of MALAT1 reduced the migration and proliferation of breast cancer cells, and inhibited the transcriptional expression of SMYD3 and its downstream genes, including N-cadherin, MYL9, MMP9 and CYR61, and up-regulated miR-124. Overexpression of miR-124 reduced the expression of SMYD3 in breast cancer cells, and knockdown of MALAT1 attenuated the promotion of SMYD3 protein expression

收稿日期 2019-03-27 \*通信作者 Tel:022-60601104 E-mail:luoxuegang@hotmail.com

基金项目 国家自然科学基金资助项目(No. 31470816); 天津市自然科学基金资助项目(No. 18JCZDJC33800); 天津市高等学校创新团队培养计划资助项目(No. TD13-5015)

by miR-124 inhibitors. In addition, SMYD3 overexpression activated MALAT1 transcription, whereas siRNA interference with SMYD3 downregulated MALAT1. These results indicate that LncRNA MALAT1 acted as a competing endogenous RNA (ceRNA) of miR-124 to regulate expression of SMYD3 in breast cancer cells, and SMYD3 can activate the transcription of MALAT1, which will affect the proliferation and migration of breast cancer cells.

**Key words** breast cancer cells; lncRNA MALAT1; SMYD3; miR-124

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31470816), the Natural Science Foundation of Tianjin (No. 18JCZDJC33800) and the Training Program for Tianjin Higher Education Innovation Team (No. TD13-5015)

乳腺癌是严重威胁女性生存的重大疾病,据 2018 年美国肿瘤学会发表的 *Global Cancer Statistics 2018* 报道,在 860 万女性肿瘤中,乳腺癌的新发率占到了 24.2%,死亡率占 15.0%,均高居第一位<sup>[1]</sup>。组蛋白甲基转移酶 SMYD3 (SET and MYND domain-containing protein 3) 可以特异性使 H3K4、H4K5、H4K20 发生组蛋白甲基化<sup>[2]</sup>,并可作为转录因子调控基因转录表达、参与信号转导过程,其过表达在包括乳腺癌在内的多种肿瘤<sup>[2-4]</sup>中具有关键的作用,此外,研究发现 SMYD3 很可能对心血管系统也有着重要的作用<sup>[5-6]</sup>。然而,目前对于 SMYD3 的功能及调控机制还并不十分清楚。

非编码 RNA (non-coding RNAs, ncRNAs) 是不编码蛋白质的 RNA。人们曾认为 ncRNA 不具有具体生理功能,然而随着研究的深入,人们逐渐发现 ncRNA 在基因转录表达调控中发挥着十分重要的作用。其中,微小 RNA (micro RNA, miRNA) 是目前被研究的最多的一类 ncRNA,其最为常见的作用机制是通过与目标 mRNA 的 3'非翻译区 (3' UTR) 结合来调节基因的表达,导致目标 mRNA 降解,蛋白质的翻译受到抑制。目前已经发现:miR-124 可通过直接靶向 SMYD3 mRNA 的 3'UTR,在转录后水平抑制 SMYD3 的表达<sup>[7]</sup>。

此外,另一类倍受研究者关注的 ncRNA 是长度为 200~1 000 个核苷酸的长链非编码 RNA (long non-coding RNAs, lncRNAs)<sup>[8]</sup>。lncRNA MALAT1 (metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1) 又称为 NEAT2 (nuclear-enriched autosomal transcript2), 属于 lncRNA 家族重要成员,其不仅在血管生成过程中<sup>[9]</sup>发挥着重要作用,而且在肿瘤中也有十分重要作用。MALAT1 在乳腺癌<sup>[10-11]</sup>、肝癌<sup>[12-13]</sup>、胃癌<sup>[14-15]</sup>、舌鳞癌<sup>[16]</sup>等恶性肿瘤中均呈现出异常的高表达,促进肿瘤细胞的迁移和增殖<sup>[17]</sup>,影响肿瘤细胞耐药<sup>[18]</sup>且与多种实体

肿瘤的不良预后相关<sup>[19-20]</sup>。然而,尽管 MALAT1 和 SMYD3 都与肿瘤的发生发展相关,但二者间是否存在内在的调控关系,迄今尚属未知。鉴于此,本课题组将对此展开分析研究。

## 1 材 料

### 1.1 试 剂

胎牛血清(天津康源生物技术有限公司);RP-MI-1640 培养基(美国 Gibco 公司);siRNA 和 miRNA mimics/inhibitor(中国 Ribobio 公司);SMYD3 一抗(英国 Abcam 公司);GAPDH 一抗(中国优抗公司);荧光二抗(美国 Li-coR 公司);Trizol 试剂、M-MLV 逆转录试剂盒(美国 Invitrogen 公司);SYBR GREEN 染料(德国 DBI 公司);青霉素、链霉素、胰酶、MTT 及 RNase A(北京索莱宝科技有限公司)。pcDNA5-T0/TAP-DEST-SMYD3 质粒由美国 OSI 制药公司 Kenneth W. Foreman 博士馈赠。PGL3-MALAT1-promoter 质粒由台湾国立成功大学的 Yi-Ching Wang 教授馈赠。PGL3-SMYD3 启动子质粒由本实验室自己构建。

### 1.2 仪 器

ABI-Step One<sup>TM</sup>型实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司);Odyssey 红外激光成像系统(美国 Li-coR Biosciences 公司)。

### 1.3 细 胞

人胃癌细胞系 MGC-803, 人乳腺癌细胞系 MCF-7、MDA-MB-231 和 T47D 均购自上海中科院,并在本实验室长期保存。

## 2 方 法

### 2.1 细胞培养

人胃癌细胞系 MGC-803, 使用 DMEM 培养基;人乳腺癌细胞系 MCF-7、MDA-MB-231 和 T47D 细胞使用 RPMI-1640 培养基, 培养基中均加入 10%

的胎牛血清、100 U/mL 青霉素、0.1 mg/mL 链霉素,在饱和水蒸气、5% CO<sub>2</sub> 恒温培养箱中进行37 °C 贴壁培养。待细胞汇合度达到70%~90%时,采用0.25%胰酶温和消化传代。

## 2.2 细胞转染

设计特异性干扰SMYD3的siRNA靶序列分别为:SMYD3-1,5'-AACATCTACCAAGCTGAAGGTG-3';SMYD3-2,5'-CAAGGATGCTGATATGCTA-3';SMYD3-3,5'-GGAAGTTGGTGTGGCCTA-3'。干扰MALAT1使用的是3个位点混合的siRNA,分别是:5'-GCCCGAGACTCTGTAAAG-3';5'-GCAGC-CCGAGACTCTGTAA-3';5'-GGGCTTCTCTTAA-CATTAA-3'。用高纯度质粒提取试剂盒提取质粒:pcDNA5-TO/TAP-DEST-SMYD3、PGL3-MALAT1-promoter以及PGL3-SMYD3启动子质粒。将胰蛋白酶消化的细胞接种于6孔培养板;次日,将孔板中换为无血清的基础培养基,用脂质体Turbofect进行对siRNA;pcDNA5-TO/TAP-DEST-SMYD3、PGL3-MALAT1-promoter以及PGL3-SMYD3启动子质粒;micro RNA mimics或micro RNA inhibitor进行转染,将待转的质粒或siRNA和脂质体按比例预混于无血清基础培养基中,静置20 min,将混合液转移至待转染的孔板中,并补充无血清的基础培养基至2 mL,置于培养箱中培养6 h,然后换成RPMI-1640完全培养基,继续培养。

## 2.3 MTT法

在96孔板中接种细胞,转染后置于CO<sub>2</sub>培养箱培养,并分别在相应时间,向每孔加入5 mg/mL MTT溶液10 μL,避光37 °C反应4 h后随即弃去培养基,加入DMSO 150 μL溶解甲攒结晶。在酶标仪中检测490 nm波长下的吸收度。

## 2.4 实时荧光PCR(Real-time RCR)

处理过的细胞培养24 h后,加入Trizol 1 mL,4 °C下裂解提取RNA。取总RNA 2 μg加入M-MLV及随机引物,进行逆转录得到cDNA,随后即可进行PCR。PCR所用到的引物序列为:GAPDH,上游5'-ACCCACTCCTCCACCTTGAC-3',下游5'-TCCAC-CACCTGTTGCTGTAG-3';SMYD3,上游5'-CCCAG-TATCTTGTCAATCAC-3',下游5'-ACTTCCAGT-GTGCCTTCAGITC-3';MALAT1,上游5'-AAAG-CAAGGTCTCCCCACAAG-3',下游5'-GGTCTGT-GCTAGATCAAAAGGCA-3';MYL9,上游5'-CAC-

CCACCAAGCCAAGAT-3',下游5'-TGCCCTCCAG-GTATTCGTCT-3';MMP9,上游5'-GAGCAGG-GAGACGGGTAT-3',下游5'-GGACCAACTCGT-CATCG-3';CYR61,上游5'-AGCAGCGTTCCCTTC-TAC-3',下游5'-TGAGTCCCACCCACA-3'。PCR反应条件为:95 °C预变性10 min;95 °C 15 s,60 °C 1 min,共40个循环,并以ΔΔC<sub>t</sub>法对结果进行计算。

## 2.5 免疫蛋白印迹法(Western blot)

细胞转染48 h后,用预冷的PBS冲洗细胞2~3次,加入蛋白裂解液后4 °C裂解30 min。细胞刮刀刮下皿底的细胞,收集于1.5 mL的EP管中。取蛋白裂解液40 μL加入上样缓冲液8 μL,漩涡振荡后置于100 °C沸水中10 min,离心备用。上样,蛋白经SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,然后转移到硝酸纤维素膜上。将转好的硝酸纤维素膜置于封闭液中,室温下振荡2 h,然后用相应的一抗SMYD3(兔抗人单克隆抗体;稀释度,1:1 000)、GAPDH(小鼠抗人;稀释度,1:5 000)封闭过夜。随后,将一抗弃去,PBS冲洗3次后,加入荧光二抗:山羊抗兔抗体和山羊抗鼠抗体,孵育2 h后,PBS清洗3次后,使用Odyssey扫描仪进行扫膜。

## 2.6 荧光素酶活性检测(luciferase reporter assay)

细胞接种于24孔板中,然后置于培养箱培养24 h后,预冷PBS清洗2~3次,每孔加入蛋白裂解液100 μL,置于冰上裂解30 min,随后刮取细胞,取蛋白裂解液5 μL于考马斯亮蓝G-250 200 μL的透明孔板中,置于酶标仪于595 nm检测蛋白质含量,在白板中加入蛋白裂解液50 μL,以及荧光底物,同样置于酶标仪进行检测。

## 2.7 数据与统计

所有实验结果均至少重复3次,数据由Graphpad Prism 5.0进行统计分析。

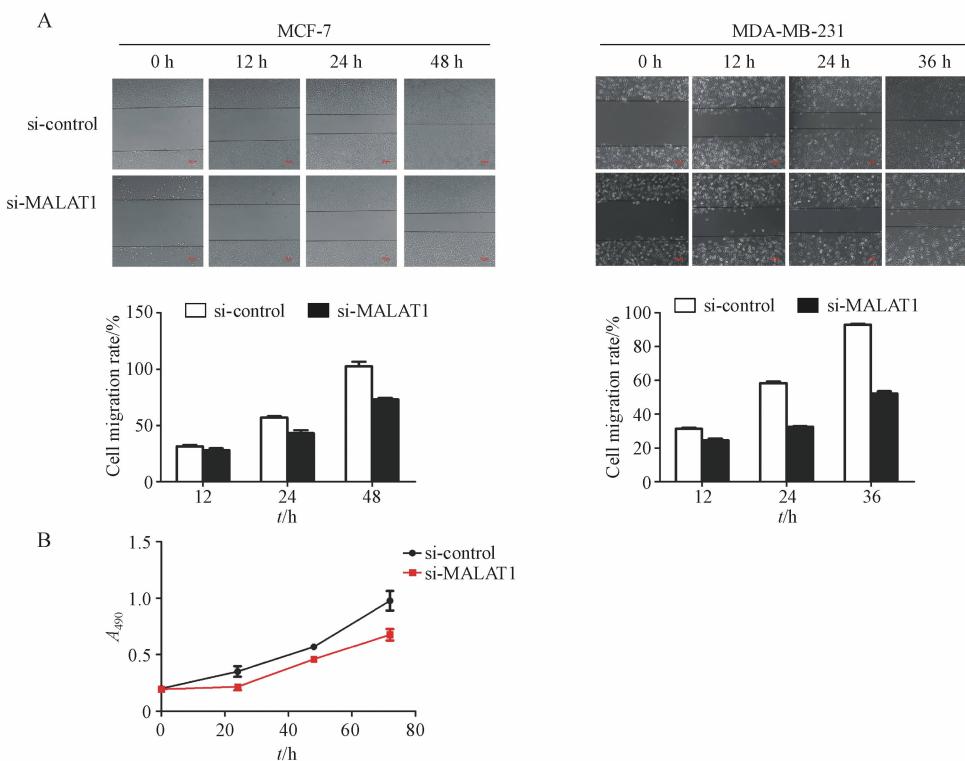
## 3 结果与分析

### 3.1 敲低MALAT1会抑制乳腺癌细胞增殖和迁移

为了探讨MALAT1是否参与乳腺癌细胞的增殖与迁移,利用siRNA技术抑制MCF-7和MDA-MB-231细胞中MALAT1内源性的表达,然后分别应用MTT法及划痕愈合实验于不同时间检测细胞增殖和迁移情况。结果如图1所示:相对于si-control转染组,转染si-MALAT1的细胞划痕愈合速度(图1-A)更加缓慢,同样的,在MCF-7细胞

中,相对于 si-control 转染组,转染 si-MALAT1 的细

胞增殖速度也更加缓慢(图 1-B)。



**Figure 1** Knockdown of MALAT1 by siRNAs inhibits proliferation and migration of breast cancer cells( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

After transfection with MALAT1-specific siRNAs ( si-MALAT1 ), the migration ability of cells was detected by a wound healing assay ( A ), and proliferation capacity was analyzed by MTT ( B )

### 3.2 敲低 MALAT1 会抑制 SMYD3 及其下游相关基因的表达

为了探究 MALAT1 与 SMYD3 在乳腺癌细胞中转录表达水平的相关性,利用特异性 siRNA 敲低 MALAT1 的转录表达,然后应用实时定量 PCR、Western blot 的方法对 MALAT1、SMYD3 及其下游基因的转录表达水平进行了检测。siRNA 特异性靶向敲除 MALAT1 的效率,如图 2-A 所示,siRNA 成功干扰 MALAT1 的表达;由图 2-B 和 2-C 可以看出,在 MCF-7 和 MDA-MB-231 细胞中, RNAi 抑制内源性 MALAT1 可使 SMYD3 的 mRNA 和蛋白质水平明显下调;在人胃癌细胞系 MGC-803 以及人乳腺癌细胞系 MCF-7、MDA-MB-231、T47D 检测 SMYD3 mRNA 的表达,由图 2-D 所示,在 MCF-7、MDA-231 和 T47D 细胞等不同的人乳腺癌细胞系中,SMYD3 均显著高表达。除此以外,进一步应用荧光素酶报告分析方法检测了在 MCF-7 细胞中, MALAT1 的干扰对 SMYD3 启动子的影响,结果显示:siRNA 特异性干扰 MALAT1 后,可以使 SMYD3

启动子驱动下荧光素酶活性呈现出一定程度的下调(图 2-E),这表明 MALAT1 可直接对 SMYD3 的启动子产生一定的转录激活作用,但较为微弱。同时实验结果也显示:在 siRNA 干扰 MALAT1 后,MYL9、MMP9、CYR61、N-cadherin 等受到 SMYD3 调控的下游基因的转录表达也均呈现出了显著的下降<sup>[4,21-22]</sup>。这些结果表明 SMYD3 的转录表达会受到 MALAT1 的调控,其中涉及到对启动子的直接转录调控作用,但很可能同时还存在其他作用机制。

### 3.3 MALAT1 作为 miR-124 的 ceRNA 调控 SMYD3 的表达

为了进一步了解 MALAT1 对 SMYD3 的调控分子机制,使用生物信息学软件 starbase 网站(<http://starbase.sysu.edu.cn/index.php>)对与 MALAT1 存在结合位点的 miRNAs 进行了分析预测。结果显示:可靶向 SMYD3 3'UTR 对 SMYD3 产生负调控作用的 miR-124 同时也可以靶向与 MALAT1 结合,提示彼此间可能会存在竞争性关系(图 3-A)。进一步的 Real-time PCR 分析发现:在 MCF-7

细胞中应用 siRNA 靶向干扰 MALAT1 后可使 miR-124 的含量增加(图 3-B),转染 miR-124 模拟物可使 SMYD3 受到抑制,反之 miR-124 抑制剂则使 SMYD3 的表达显著升高(图 3-C 和 3-D),而将 MALAT1 的 siRNA 和 miR-124 inhibitor 在 MCF-7 细胞中进行共转染后,免疫蛋白印迹检测显示在 MCF-7 细

胞中 RNAi 下调 MALAT1 可以明显缓解 miR-124 抑制剂对 SMYD3 表达的促进作用(图 3-E)。这些结果表明 MALAT1 可通过与 SMYD3 竞争 miR-124 的结合,从而间接调控了 SMYD3 的表达水平,即 MALAT1 可以作为 miR-124 的“海绵(sponge)”,以 ceRNA 的形式对 SMYD3 表达进行调控。

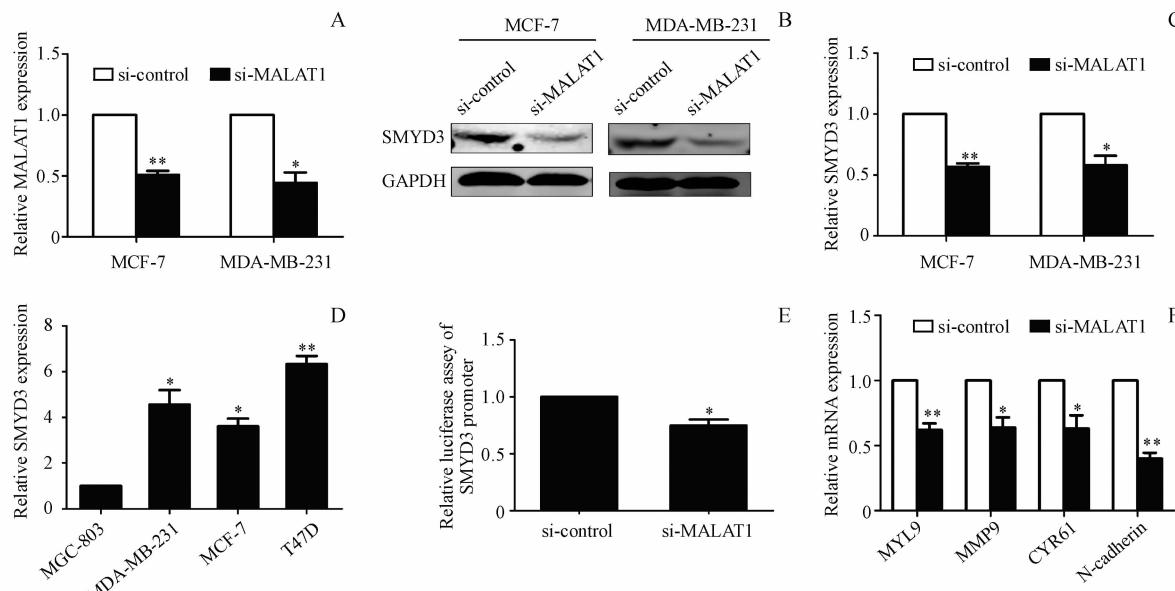


Figure 2 Knockdown of MALAT1 inhibits the expression of SMYD3 and its downstream related genes ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

A: Interference efficiency of MALAT1 was detected by Real-time PCR; B, C: Protein and mRNA expression of SMYD3 were detected by Western blot and Real-time PCR; D: mRNA level of SMYD3 in breast cancer cell lines compared with gastric cancer cell MGC-803 were analyzed by Real-time PCR; E: Effect of MALAT1 interference on the luciferase activity of SMYD3-promoter reporter was detected by luciferase assay in MCF-7 cells; F: mRNA levels of MYL9, MMP9, CYR61 and N-cadherin were determined by Real-time PCR

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group

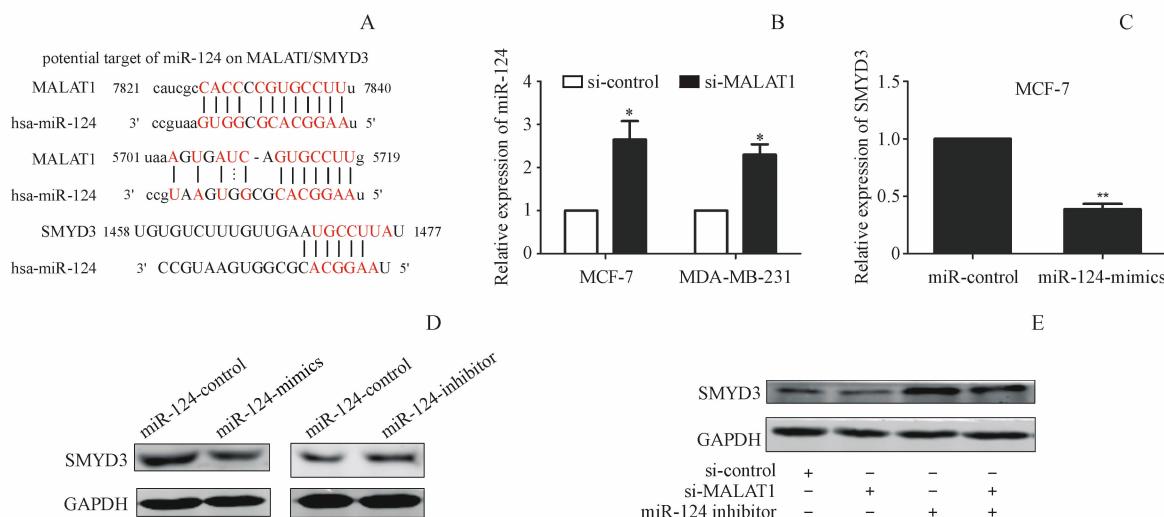


Figure 3 MALAT1 acted as a competing endogenous RNA (ceRNA) of miR-124 to regulates target gene SMYD3 expression in MCF-7 cells ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

A: Binding sites of miR-124/MALAT1 and SMYD3 3'UTR; B: After transfection with MALAT1-specific siRNAs, the miR-124 mRNA expression of MCF-7 cells was detected by Real-time PCR; C, D: After transfection with miR-124 mimics/inhibitor, SMYD3 expression of MCF-7 cells was detected by Western blot; E: After co-transfection of miR-124 inhibitor and MALAT1 siRNA, the protein expression level of SMYD3 was detected by Western blot

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group

### 3.4 SMYD3 表达可反馈激活 MALAT1 转录

很多研究发现,在 lncRNA 调节基因转录中,时常也同时存在着靶基因对 lncRNA 的反馈式调节作用<sup>[23]</sup>。因此,本研究进一步探讨了 SMYD3 是否也会影响 MCF-7 细胞中 MALAT1 的表达。首先,如图 4-A 和 4-B,SMYD3 的 siRNA 可以成功干扰 SMYD3 的表达。实时定量 PCR 和免疫蛋白印迹分析结果显示:相对于对照组,转染特异性 siRNA 干

扰 SMYD3 后会抑制 MALAT1 的转录水平(图 4-C),反之,瞬时转染 SMYD3 的过表达质粒则会引起 MALAT1 的显著上调(图 4-D)。进而,为了确定 SMYD3 对 MALAT1 启动子转录活性是否存在影响,进行了启动子荧光素酶报告基因活性检测,结果显示 SMYD3 的过表达可以剂量依赖性的促进 MALAT1 的启动子活性(图 4-E)。

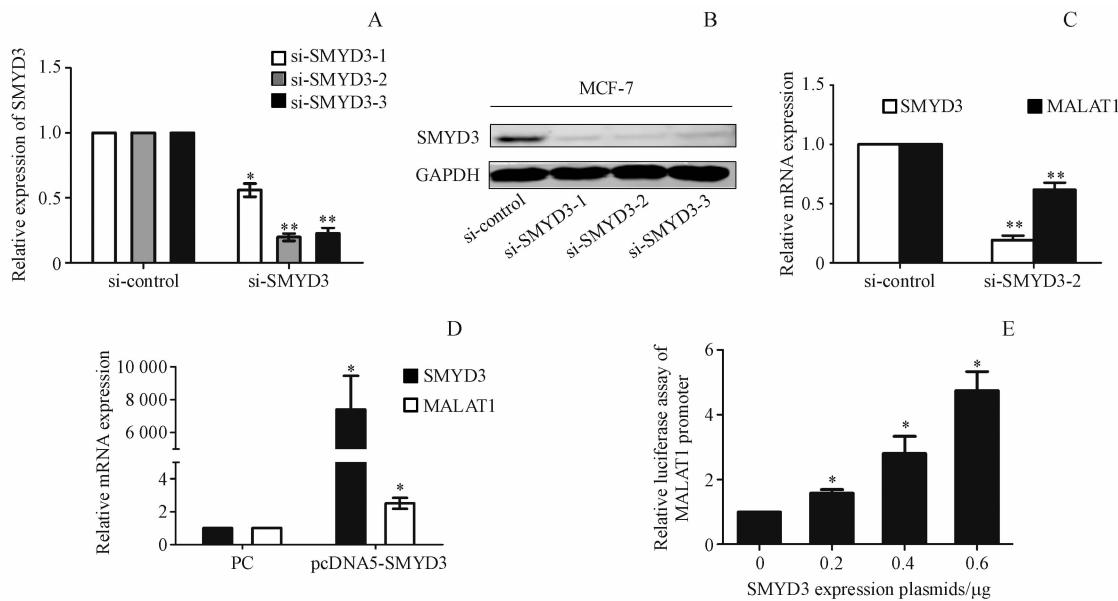


Figure 4 SMYD3 can feedback activate the transcription of MALAT1 ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

A, B: Interference efficiency of SMYD3 was detected by Real-time PCR; C, D: Effect SMYD3 overexpression and knockdown on MALAT1 mRNA level; E: Effect of SMYD3 overexpression on the luciferase activity of MALAT1-promoter reporter was detected by luciferase assay in MCF-7 cells

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs control group

## 4 讨论

表观遗传是指在基因的 DNA 序列没有发生改变的情况下,基因功能发生了可遗传的变化,并最终导致了表型的变化。其中包括 DNA 修饰、ncRNA 调控、组蛋白修饰等。目前发现,不同的表观遗传修饰之间存在着错综复杂的彼此调控关系。其中非编码 RNA 调控是通过某些机制实现对基因转录的调控,例如 miRNA 可以通过结合靶基因 mRNA 导致基因沉默,而 lncRNA 可以通过竞争性地结合 microRNA,以 ceRNA 的形式来调节靶基因表达<sup>[24-25]</sup>。

lncRNA MALAT1 广泛表达于哺乳动物正常组织,并在包括乳腺癌在内的多种肿瘤中异常表达,虽然 MALAT1 不直接编码蛋白,但其对肿瘤的增殖、凋亡、侵袭转移以及耐药等都有不同程度的影

响,发挥重要作用。如, MALAT1 的内源性缺失可以抑制宫颈癌细胞的增殖和迁移<sup>[26]</sup>。hsa-miR-125b 可以通过下调 MALAT1 的表达而抑制膀胱癌的发展<sup>[27]</sup>。MALAT1 作为 miR-106b-5p 的 ceRNA 通过 SLAIN2 增强微管移动性促进结直肠癌的侵袭和转移<sup>[17]</sup>。在口腔鳞癌中, MALAT1 可能通过调控 EMT 促进的增殖和侵袭过程<sup>[28]</sup>。在三阴性乳腺癌中 MALAT1 通过靶向 miR-129-5p 促进增殖和侵袭。异常表达的 KDM5B 通过 MALAT1 过表达和下调 hsa-miR-448 来促进侵袭性乳腺癌<sup>[29]</sup>。MALAT1 通过竞争性结合 miR-1 调节 cdc42 表达来诱导人乳腺癌细胞的迁移和侵袭<sup>[30]</sup>。在本研究中显示 RNAi 抑制 MALAT1 后使乳腺癌 MCF-7 和 MDA-MB-231 增殖和迁移能力的受到抑制,同时研究中也发现 siRNA 靶向干扰 MALAT1 后使 SMYD3 的 mRNA 和蛋白质水平也受到了抑制,且值得注

意的是, MALAT1 与 SMYD3 之间的调控关系未见报道。

SMYD3 已被证实在乳腺癌、肝癌、结肠癌等多种肿瘤组织中都有异常的高表达,而在相应的正常组织中表达量低<sup>[2]</sup>,这与肿瘤患者的存活率密切相关<sup>[3]</sup>。并且本课题组研究发现<sup>[32–33]</sup>,干扰 SMYD3 可抑制宫颈癌细胞的增殖与迁移;SMYD3 的过表达可上调迁移基因 MYL9,与 MRTF-A 协同促进乳腺癌发生迁移<sup>[4]</sup>。SMYD3 通过金属蛋白酶 MMP9 的表观遗传上调促进肿瘤侵袭<sup>[21]</sup>。miR-200c 可能是乳腺癌细胞迁移过程中 SMYD3 介导通路的下游负调控因子<sup>[34]</sup>。除此以外,SMYD3 可以促进乳腺癌的上皮细胞间质转化(EMT)<sup>[22]</sup>。由此可见,SMYD3 已被视为是非常有潜力的肿瘤基因治疗及药物研发新靶点之一。在本研究中也发现, MALAT1 siRNA 特异性干扰 MALAT1 后,使受 SMYD3 调控的下游相关基因(如:EMT 标志基因 N-cadherin、迁移基因 MYL9、金属蛋白酶 MMP9 等)的表达也发生了下调。

研究表明,miR-124 可通过下调肝内胆管癌细胞中 SMYD3 的表达来抑制迁移和侵袭<sup>[7]</sup>。在本研究中发现,在乳腺癌细胞中 RNAi 抑制 MALAT1 后促进了 miR-124 基因水平的表达,miR-124 也会影响 SMYD3 的表达,且 miR-124 抑制剂对 SMYD3 的促进作用可因 MALAT1 的抑制而减弱,说明 MALAT1 可能介导其中,除此以外,本研究也发现 SMYD3 可反馈激活 MALAT1 转录,这提示 SMYD3、MALAT1、miR-124 三者之间很可能会通过这种反馈式的恶性循环调节方式,加剧乳腺癌的发展进程。本研究为乳腺癌的防治提供了一些新的思路。

## 参考文献

- [1] Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries [J]. *CA Cancer J Clin*, 2018, **68**(6):394–424.
- [2] Hamamoto R, Furukawa Y, Morita M, et al. SMYD3 encodes a histone methyltransferase involved in the proliferation of cancer cells [J]. *Nat Cell Biol*, 2004, **6**(8):731–740.
- [3] Liu Y, Luo XG, Deng JY, et al. SMYD3 overexpression was a risk factor in the biological behavior and prognosis of gastric carcinoma [J]. *Tumour Biol*, 2015, **36**(4):2685–2694.
- [4] Luo XG, Zhang CL, Zhao WW, et al. Histone methyltransferase SMYD3 promotes MRTF-A-mediated transactivation of MYL9 and migration of MCF-7 breast cancer cells [J]. *Cancer Lett*, 2014, **344**(1):129–137.
- [5] Fuji T, Tsunemi S, Yamaguchi K, et al. SMYD3 is required for the development of cardiac and skeletal muscle in zebrafish [J]. *PLoS One*, 2011, **6**(8):e23491.
- [6] Tracy CM, Warren JS, Szulik M, et al. The Smyd family of methyltransferases: role in cardiac and skeletal muscle physiology and pathology [J]. *Curr Opin Physiol*, 2018, **1**:140–152.
- [7] Zeng B, Li ZH, Chen RF, et al. Epigenetic regulation of miR-124 by hepatitis C virus core protein promotes migration and invasion of intrahepatic cholangiocarcinoma cells by targeting SMYD3 [J]. *FEBS Lett*, 2012, **586**(19):3271–3278.
- [8] Zhang H, Chen ZH, Wang XX, et al. Long non-coding RNA: a new player in cancer [J]. *J Hematol Oncol*, 2013, **6**:37.
- [9] Chen HY, Meng T. Effect of LncRNA MALAT1 on proliferation and apoptosis of human umbilical vein endothelial cells [J]. *Chin J Public Health (中国公共卫生)*, 2016, **32**(10):1340–1342.
- [10] Zhao ZY, Chen CJ, Liu Y, et al. 17beta-Estradiol treatment inhibits breast cell proliferation, migration and invasion by decreasing MALAT-1 RNA level [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, **445**(2):388–393.
- [11] Arun G, Spector DL. MALAT1 long non-coding RNA and breast cancer [J]. *RNA Biol*, 2019. doi: 10.1080/15476286.2019.1592072.
- [12] Luo JH, Ren B, Keryanov S, et al. Transcriptomic and genomic analysis of human hepatocellular carcinomas and hepatoblastomas [J]. *Hepatology*, 2006, **44**(4):1012–1024.
- [13] Abbastabar M, Sarfi M, Golestani A, et al. lncRNA involvement in hepatocellular carcinoma metastasis and prognosis [J]. *Excli J*, 2018, **17**:900–913.
- [14] Wang JQ, Su LP, Chen XH, et al. MALAT1 promotes cell proliferation in gastric cancer by recruiting SF2/ASF [J]. *Biomed Pharmacother*, 2014, **68**(5):557–564.
- [15] Chang Y, Nu CY. The effect of LncRNA-MALAT1 on the hypoxia-induced gastric cancer metastasis and invasion [J]. *Mod Oncol (现代肿瘤医学)*, 2015, **23**(24):3569–3573.
- [16] Zhu MH, Zhang CY, Chen DH, et al. lncRNA MALAT1 potentiates the progression of tongue squamous cell carcinoma through regulating miR-140-5p-PAK1 pathway [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, **12**:1365–1377.
- [17] Zhuang M, Zhao SL, Jiang Z, et al. MALAT1 sponges miR-106b-5p to promote the invasion and metastasis of colorectal cancer via SLAIN2 enhanced microtubules mobility [J]. *EBioMedicine*, 2019, **41**:286–298.
- [18] Xi ZW, Si JC, Nan J. LncRNA MALAT1 potentiates autophagy-associated cisplatin resistance by regulating the microRNA30b/autophagyrelated gene 5 axis in gastric cancer [J]. *Int J Oncol*, 2019, **54**(1):239–248.
- [19] Dong YQ, Liang GJ, Yuan BQ, et al. MALAT1 promotes the pro-

- liferation and metastasis of osteosarcoma cells by activating the PI3K/Akt pathway [J]. *Tumour Biol*, 2015, **36** (3): 1477–1486.
- [20] Pang EJ, Yang R, Fu XB, et al. Overexpression of long non-coding RNA MALAT1 is correlated with clinical progression and unfavorable prognosis in pancreatic cancer [J]. *Tumour Biol*, 2015, **36** (4): 2403–2407.
- [21] Cock-Rada AM, Medjkane S, Janski N, et al. SMYD3 promotes cancer invasion by epigenetic upregulation of the metalloproteinase MMP-9 [J]. *Cancer Res*, 2012, **72** (3): 810–820.
- [22] Fenizia C, Bottino C, Corbetta S, et al. SMYD3 promotes the epithelial-mesenchymal transition in breast cancer [J]. *Nucleic Acids Res*, 2019, **47** (3): 1278–1293.
- [23] Wang Y, Wu CQ, Zhang C, et al. TGF-beta-induced STAT3 overexpression promotes human head and neck squamous cell carcinoma invasion and metastasis through malat1/miR-30a interactions [J]. *Cancer Lett*, 2018, **436**: 52–62.
- [24] Duan GC, Zhang CL, Xu CK, et al. Knockdown of MALAT1 inhibits osteosarcoma progression via regulating the miR34a/cyclin D1 axis [J]. *Int J Oncol*, 2019, **54** (1): 17–28.
- [25] Chang SM, Hu WW. Long non-coding RNA MALAT1 promotes oral squamous cell carcinoma development via microRNA-125b/STAT3 axis [J]. *J Cell Physiol*, 2018, **233** (4): 3384–3396.
- [26] Jiang Y, Li YH, Fang SJ, et al. The role of MALAT1 correlates with HPV in cervical cancer [J]. *Oncol Lett*, 2014, **7** (6): 2135–2141.
- [27] Zuo YG, Li Y, Zhou ZY, et al. Long non-coding RNA MALAT1 promotes proliferation and invasion via targeting miR-129-5p in triple-negative breast cancer [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, **95**: 922–928.
- [28] Liu S, Zhou X, Wang XF, et al. Metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1 modulates oral squamous cell carcinoma invasion *in vitro* and *in vivo* [J]. *Chin J Clin Oncol* (中国肿瘤临床), 2015, **42** (9): 460–465.
- [29] Bamodu OA, Huang WC, Lee WH, et al. Aberrant KDM5B expression promotes aggressive breast cancer through MALAT1 overexpression and downregulation of hsa-miR-448 [J]. *BMC Cancer*, 2016, **16**: 160.
- [30] Chou JJ, Wang BY, Zheng TJ, et al. MALAT1 induced migration and invasion of human breast cancer cells by competitively binding miR-1 with cdc42 [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, **472** (1): 262–269.
- [31] Zheng LH, Zhang YH, Fu YJ, et al. Long non-coding RNA MALAT1 regulates BLCAP mRNA expression through binding to miR-339-5p and promotes poor prognosis in breast cancer [J]. *Biosci Rep*, 2019, **39** (2): 1–12.
- [32] Luo XG, Lin C, Lu YH, et al. Correlation between SMYD3 and cell proliferation and its effect on cell cycle [J]. *J China Pharm Univ* (中国药科大学学报), 2007, **38** (3): 277–282.
- [33] Luo XG, Pan H, Liu ZP, et al. The role of SMYD3 in tumorigenesis and development [J]. *Chem Life* (生命的化学), 2009, **29** (2): 247–249.
- [34] Chen DJ, Liu L, Luo XG, et al. Effect of SMYD3 on the microRNA expression profile of MCF-7 breast cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2017, **14** (2): 1831–1840.