shRNA干扰*eIF4A1*基因对胶质瘤细胞体内外生物学特征的影响

张俊文^{1,2}, 范文华¹, 方胜¹, 陈虹², 黄秉仁^{2*}, 刘福生^{1*}

1. 北京市神经外科研究所脑肿瘤研究中心, 首都医科大学附属北京天坛医院, 北京 100050;

2. 中国医学科学院基础医学研究所, 北京协和医学院基础学院, 生物化学与分子生物学系, 医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005

* 联系人, E-mail: huangbingren@hotmail.com; liufusheng@ccmu.edu.cn

收稿日期: 2019-06-17; 接受日期: 2019-08-06; 网络版发表日期: 2019-08-13

国家自然科学基金(批准号: 81672478)

摘要 胶质瘤是颅内常见的肿瘤, 其中恶性脑胶质瘤成弥漫性生长, 尽管给予手术、放疗或化疗等综合治疗, 仍极易复发, 迫切需要探索新的治疗方法. 但是胶质瘤的治疗靶点匮乏, 因此探索有效的靶点对其治疗具有重要的意义. 本研究中首先利用中国脑胶质瘤基因组图谱计划数据库(Chinese glioma genome atlas, CGGA)分析了真核生物翻译起始因子中eIF4A1与脑胶质瘤的关系. 生物信息学分析显示, eIF4A与胶质瘤病理分级相关并且在胶质瘤细胞中高表达. eIF4A1的抑制剂Silvestrol明显抑制胶质瘤细胞的增殖能力. 利用慢病毒感染胶质瘤细胞建立shRNA干扰eIF4A1基因的胶质瘤细胞株, 进行了一系列体内外生物学特征的实验, 研究结果发现, shRNA干扰eIF4A1基因后能够有效抑制胶质瘤细胞的增殖、克隆形成、细胞侵袭和迁移. 因此, 本实验研究证实eIF4A1是胶质瘤治疗的有效靶点, 为胶质瘤的临床治疗提供可靠的理论基础.

关键词 胶质瘤, eIF4A1, 增殖, 克隆形成, 侵袭, 迁移

胶质瘤起源于神经胶质细胞, 约占颅脑肿瘤总数的40%左右. 世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将胶质瘤分为I~IV级, 其中III, IV级为高级别胶质瘤. IV级胶质瘤又称胶质母细胞瘤, 是脑内侵袭性最强、死亡率最高和预后最差的颅内肿瘤, 约占成人原发性颅内恶性肿瘤的70%^[1]. 目前, 胶质瘤治疗一般采取手术切除、联合术后放疗或化疗等综合治疗方法, 但其生存期一般少于16个月, 亟待探索有效的治疗方法. 新兴的治疗方法, 如靶向性药物^[2]、抗PD-1/PD-

L1^[3]及CAR-T^[4]等对胶质瘤治疗未获得突破性进展. 因此, 考虑到胶质瘤中合适的药物靶点不多, 探索新的靶点对于脑胶质瘤的治疗具有重要的意义.

真核生物蛋白翻译过程需要多个因子的参与^[5]. 蛋白合成起始过程需要将核糖体募集到mRNA上, 而发挥此类作用的蛋白复合物是真核生物翻译起始因子eIF4F(eukaryotic translation initiation factor 4F), 该复合物是由eIF4A, eIF4E和eIF4G三个亚基组成. eIF4A属于一个被称为DEAD-box解螺旋酶蛋白家族, 其异构

引用格式: 张俊文, 范文华, 方胜, 等. shRNA干扰*eIF4A1*基因对胶质瘤细胞体内外生物学特征的影响. 中国科学: 生命科学, 2019, 49: 987–995
Zhang J W, Fan W H, Fang S, et al. Effect of knockdown of eIF4A1 by shRNA on the biological characteristics of glioma cells (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2019, 49: 987–995, doi: [10.1360/SSV-2019-0108](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0108)

体包括eIF4A1, eIF4A2和eIF4A3. 其中eIF4A1是一个43 kD的蛋白, 能够打开RNA的高级结构, 促进mRNA与核糖体40S亚基的结合, eIF4A2主要参与microRNAs基因调控^[6]; eIF4A3与胚胎的早期发育相关^[7]. 研究发现, eIF4B和eIF4E的表达能够增强eIF4A1的活性^[8], 而肿瘤抑制子PDCD4能抑制其功能^[9]. 因此, eIF4F对含有5'非编码序列的基因翻译发挥重要功能, 且对维持正常细胞功能有着重要的作用^[10].

肿瘤细胞的存活依赖翻译复合体提高蛋白翻译速度, eIF4F在肿瘤中的高表达导致其快速生长和转移^[11,12], 因此靶向肿瘤中翻译复合体是肿瘤治疗的有效策略. 而蛋白翻译复合体中RNA解螺旋酶控制蛋白翻译的起始, 是首选的靶蛋白^[13]. 在乳腺癌中, eIF4A1, eIF4E和eIF4B都可以独立作为判断预后的指标; 但仅有eIF4A1表现出显著的时间依赖性, 进而驱动了乳腺癌的恶性发展^[14], 其可以作为雌激素受体(estrogen receptor, ER)阴性乳腺癌的有效靶点^[15]. 而子宫颈癌中eIF4A1低表达比高表达的患者有着更好的预后^[16]. 最新研究发现, 许多天然小分子能够抑制eIF4A的活性, 最著名的有Silvestrol^[17]和Hippuristanol^[18], 这些小分子抑制剂将成为肿瘤治疗的热点.

实验室前期利用酵母双杂交的方法筛选到eIF4A1能与神经生长因子受体(tropomyosin-related kinase, TrkA)相互作用, 能够抑制TrkA的泛素化, 调控神经生长因子(nerve growth factor, NGF)信号通路, 在神经系统中发挥重要的作用. 但是eIF4A1在胶质瘤中发挥何种功能, 未有相关研究. 本研究利用生物信息的方法, 发现eIF4A1在胶质瘤中高表达; 通过构建shRNA干扰eIF4A1的慢病毒载体, 感染胶质瘤细胞系U87 MG和U373 MG, 获得稳定表达的细胞株; 通过胶质瘤增殖、克隆形成、细胞侵袭和迁移实验以及胶质瘤体内成瘤实验, 探索eIF4A1在胶质瘤中的功能, 明确其是否能作为胶质瘤治疗的靶点.

1 材料与方法

1.1 材料

胶质瘤细胞系U87 MG和U373 MG, 小胶质细胞HMC-3由本实验室保存. DMEM培养基、青霉素链霉素和磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)购自美国英潍捷基公司, 胎牛血清购自杭州四季青公

司, CCK-8试剂盒购自日本同仁化学公司, Transwell小室和基质胶购自美国康宁公司. eIF4A的抑制剂Silvestrol(HY-13251)购自上海MCE公司.

1.2 细胞培养

胶质瘤细胞和小胶质细胞均培养在含5%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 µg/mL链霉素的DMEM培养基中, 两株细胞均在37℃, 5% CO₂的恒温培养箱中培养. 细胞用含0.05%胰蛋白酶消化、传代, 待细胞增殖旺盛、状态良好时进行实验.

1.3 慢病毒转染

合成sh-eIF4A1序列, 用Hpa I和Xho I酶切, 将合成的片段克隆到pLL3.7中, 测序正确后提取质粒; 同psPAX2, pRSV和pMD2.G共转染293 T细胞, 48 h收取上清液. 将病毒液加到胶质瘤细胞中, 并通过流式筛选最终获得稳定转染细胞株. 其中Sh-eIF4A1-1#序列为tgccgtaaagggtgtggctattattcaagagataatagccacacctttacggcttttttc; Sh-eIF4A1-2#序列为tggagccaagggatggacatctttcaagagaagatgtccatcccttggtcctctttttc.

1.4 细胞增殖实验

将上述获得的胶质瘤细胞(U87 MG和U373 MG)分别接种于96孔培养板(5000个 100 µL⁻¹ 孔⁻¹), 每组设置5个复孔, 放置在恒温培养箱中继续培养; 在培养箱中孵育后的第1, 2, 3, 4, 5天时, 分别取出1块96孔板, 弃掉细胞培养液, 然后向每孔中加入100 µL基础培养基(含10 µL CCK-8溶液), 注意避免产生气泡, 以免影响OD值的读数. 将96孔板放入培养箱中继续孵育30 min~1 h. 利用酶标仪测定450 nm处的吸光度, 分析细胞的增殖情况, 实验重复检测3次. Silvestrol药物处理胶质瘤细胞实验中, 药物组加入二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)溶解的Silvestrol(终浓度为25 nmol/L), 对照组加入等体积的DMSO, 48 h后CCK-8实验检测细胞活性(方法同上).

1.5 克隆形成实验

将处于对数生长期的各组细胞用胰酶消化, PBS洗涤细胞后, 用完全培养基重悬, 制成细胞悬液, 进行细胞计数; 在6孔板中接种细胞(800~1000个细胞/孔),

每个实验组设3个复孔; 将接种好的细胞摇匀, 放置在培养箱中继续培养, 每2天进行细胞换液, 观察细胞状态, 显微镜下观察克隆形成情况和克隆大小; 待单个克隆中细胞数大于50后, 弃培养基, PBS洗细胞, 然后加入4%多聚甲醛固定, 4℃固定1 h, PBS洗细胞. 加入结晶紫染液, 洗涤细胞后拍照、克隆计数.

1.6 细胞侵袭和迁移实验

细胞迁移实验: 将处于对数生长期的U87 MG或U373 MG胶质瘤细胞消化离心后以 1×10^4 重悬于Transwell小室上层, 下室加入基础培养基, 37℃, 5% CO₂培养箱中培养12 h后取出小室, 以湿棉签擦去聚碳酸酯膜上未穿过膜的细胞, 结晶紫染色后在显微镜下观察穿膜细胞数量. 计数方法为分别在每张膜的中央及膜周部分随机选择3个不重复视野($\times 100$)计数. 细胞侵袭实验: 提前于小室的聚碳酸酯膜上铺基质胶. 铺胶方法为将80 μ L Matrigel胶均匀平铺于Transwell小室上层后, 置于37℃培养箱内培养约2 h, 待其凝固. 后加入100 μ L无血清培养基水化, 吸去培养基后即可使用. 其余步骤同迁移实验. 所有实验重复三次.

1.7 统计分析

采用SPSS22.0软件进行数据分析, 数据用均数 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示, 两组均数比较采用 t 检验, 其中*表示 $P < 0.05$, 具有统计学差异; **表示 $P < 0.01$, 差异具有显著性.

2 结果

2.1 生物信息学显示eIF4A1在胶质瘤中高表达

利用中国脑胶质瘤基因组图谱计划数据库(Chinese glioma genome atlas, CGGA)分析eIF4A1与脑胶质瘤关系. 结果显示, eIF4A1与胶质瘤的病理分级、组织学、疾病进展、患者年龄、胶质瘤1p/19q联合缺失和放疗相关, 而与IDH基因突变、化疗和患者性别无关(图1A). 在胶质瘤临床病理分级(II~IV)中, 随着病理级别的升高, eIF4A1在病理组织中的表达增强(图1B), eIF4A1的表达与胶质瘤病理级别呈正相关. Western分析eIF4A1在人脑胶质瘤细胞U87 MG, U373 MG和正常的人脑小胶质细胞HMC-3中的表达, 结果显示eIF4A1在胶质瘤细胞的表达明显高于小胶质细胞

(图1C).

2.2 eIF4A1抑制剂Silvestrol对胶质瘤增殖的影响

eIF4A1在胶质瘤细胞中呈高表达, 为了检测这种高表达在胶质瘤中的功能, 本课题组首先利用eIF4A1的抑制剂Silvestrol处理胶质瘤细胞, 然后用CCK-8实验检测对胶质瘤细胞增殖能力的影响. 25 nmol/L Silvestrol处理胶质瘤细胞U87 MG, U373 MG和原代培养的胶质瘤细胞(primary glioma cells) 48 h后检测细胞活性. 结果显示Silvestrol能有效抑制胶质瘤细胞增殖活性(图2).

2.3 shRNA干扰eIF4A1表达的胶质瘤细胞株的构建

为了验证eIF4A1在胶质瘤细胞的功能, 本课题组建立了shRNA干扰eIF4A1表达的胶质瘤细胞株. 首先包装对照和shRNA干扰eIF4A1的慢病毒, 然后感染胶质瘤细胞U87 MG和U373 MG; 慢病毒感染3天后, 利用流式细胞仪筛选绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)阳性细胞. Western实验检测U87 MG和U373 MG阳性细胞中eIF4A1的表达水平, 结果显示, 细胞系中eIF4A1表达水平显著降低(图3), 靶点2(sh-eIF4A1-2#)敲低的效果较靶点1(sh-eIF4A1-1#)较好, 本课题组成功建立了shRNA干扰eIF4A1表达的细胞株.

2.4 shRNA干扰eIF4A1表达对胶质瘤细胞增殖能力的影响

利用上述获得的sh-Ctrl和sh-eIF4A1的胶质瘤细胞, 测定了细胞在敲低eIF4A1后对细胞生长速度的影响. 与对照细胞相比, shRNA干扰eIF4A1后U87 MG和U373 MG细胞的增殖活性明显减低(图4A和B).

2.5 shRNA干扰eIF4A1表达对胶质瘤细胞克隆形成能力的影响

为了检测细胞的群体依赖性和细胞增殖能力, 利用上述sh-Ctrl和sh-eIF4A1胶质瘤细胞, 进行了克隆形成实验(图5A). 与对照细胞相比, shRNA干扰eIF4A1后U87 MG和U373 MG细胞克隆形成能力明显降低(图5B).

图 1 CGGA数据库中分析eIF4A1与胶质瘤关系. A: CGGA数据库中eIF4A1与胶质瘤的关系; B: eIF4A1在不同级别的胶质瘤病理组织中的表达(***, $P<0.001$; ****, $P<0.001$); C: Western检测eIF4A1在胶质瘤细胞和小胶质细胞中的表达

Figure 1 Analysis of the relationship between eIF4A1 and glioma in the CGGA database. A: The relationship between eIF4A1 and glioma in the CGGA database; B: The expression of eIF4A1 in three WHO grades(***, $P<0.001$; ****, $P<0.001$); C: The expression of eIF4A1 in glioma cells and glioma cells by western blotting

2.6 shRNA干扰eIF4A1表达对胶质瘤细胞侵袭和迁移能力的影响

胶质瘤细胞具有很强的侵袭和迁移能力, 我们利

用上述sh-Ctrl和sh-eIF4A1胶质瘤细胞U87 MG和U373 MG, 进行了细胞迁移(图6A)和侵袭实验(图6B). 结果显示, shRNA干扰eIF4A1表达后细胞的侵袭和迁移能

图 2 Silvestrol抑制胶质瘤细胞增殖(*, $P<0.05$)

Figure 2 Silvestrol inhibits the proliferation of glioma cells (*, $P<0.05$)

力都受到了明显的抑制(图6C).

3 讨论

脑胶质瘤是常见的颅内恶性肿瘤,呈浸润性生长、肿瘤边界不清、难以完全切除、容易复发.而胶质母细胞瘤作为恶性程度最高的肿瘤之一,生长速度更快、患者预后极差.现在世界范围内缺乏有效的药物治疗胶质瘤,而目前胶质瘤也没有有效的靶点,因此寻找新的治疗靶点,对于胶质瘤的临床治疗具有重要的意义.

真核生物蛋白翻译过程需要真核翻译起始因子eIF4F的参与^[19].作为eIF4F的一个亚基,eIF4A1的作用是打开RNA的高级结构,将mRNA募集到核糖体上;eIF4E的功能是识别mRNA的5'帽子结构;而eIF4G只

图 3 建立shRNA干扰eIF4A1的胶质瘤细胞株. A: 建立shRNA干扰eIF4A1的胶质瘤细胞株; B: Western检测建立细胞株中eIF4A1表达水平

Figure 3 Establish the cell line that knocked down the expression of eIF4A1. A: Knocked-down expression of eIF4A1 in glioma cell lines; B: analysis of the expression level of eIF4A1 after transfection

图 4 shRNA干扰eIF4A1表达抑制胶质瘤细胞增殖. A: shRNA干扰eIF4A1表达后,CCK-8实验检测U87 MG细胞增殖能力; B: shRNA干扰eIF4A1表达后,CCK-8实验检测U373 MG细胞增殖能力

Figure 4 Knocking down eIF4A1 expression inhibits the proliferation of glioma cells. CCK-8 assay was performed to detect the cell proliferation in U87 MG (A) and U373 MG (B) cells after knocking down eIF4A1

图 5 shRNA干扰eIF4A1表达抑制胶质瘤细胞克隆形成。A: shRNA干扰eIF4A1后, 检测U87 MG和U373 MG细胞克隆形成能力; B: U87 MG和U373-MG细胞形成的克隆数统计。(**, $P<0.01$), 标尺: 5 mm (网络版彩图)

Figure 5 Downregulation of eIF4A1 suppresses colony formation. A: After knockdown of eIF4A1, colony formation assay was performed using U87 MG and U373 MG cells; B: the number of colonies were calculated and are depicted by bar graphs. (**, $P<0.01$), bar: 5 mm (color online)

是一个脚手架蛋白。eIF4A1和eIF4E是蛋白翻译过程的限速蛋白^[20]。eIF4A控制着蛋白翻译速度, 其在肝癌、黑色素瘤、子宫颈癌、乳腺癌和卵巢癌等多种癌症中普遍高表达, 且与预后负相关^[14]。在宫颈癌中, 敲低肿瘤细胞中eIF4F复合物中的eIF4A1能够明显延长实验动物的生存期^[21]。靶向eIF4E的药物用于治疗卵巢癌, 可以增强其他治疗药物的疗效^[22]。因此, eIF4F是众多肿瘤尤其是恶性肿瘤潜在的治疗靶点^[23], 但目前eIF4F包括eIF4A1在胶质瘤细胞中发挥何种作用及具体的功能报道较少。

该实验中, 本课题组用生物信息学的方法分析CGGA中胶质瘤患者数据发现, eIF4A1在胶质瘤尤其

是胶质母细胞瘤中显著高表达, 并且与胶质瘤的病理级别呈正相关。eIF4A1在胶质瘤细胞的表达水平要比正常的小胶质细胞的表达高(图1)。eIF4A1的抑制剂Silvestrol处理胶质瘤细胞后, 明显抑制胶质瘤细胞的增殖能力。利用慢病毒转染的方法, 构建了shRNA干扰eIF4A1表达的细胞株, 随后的实验结果显示敲低eIF4A1后胶质瘤细胞的增殖能力、克隆形成能力、细胞侵袭和迁移能力都显著降低。

总之, 本研究初步探索了eIF4A1在胶质瘤中的作用, 研究揭示, 胶质瘤细胞中敲低eIF4A1表达能够抑制胶质瘤功能, 其可能是胶质瘤治疗的靶点, 但是如何利用这个靶点治疗胶质瘤有待进一步研究。

图 6 shRNA干扰eIF4A1表达抑制胶质瘤细胞侵袭和迁移。A: shRNA干扰eIF4A1后, 检测U87 MG和U373 MG细胞迁移能力。B: shRNA干扰eIF4A1后, 检测U87 MG和U373 MG细胞侵袭能力; C: U87 MG和U373 MG细胞侵袭和迁移细胞数的统计。(*, $P<0.05$; **, $P<0.01$), 标尺: 50 μm (网络版彩图)

Figure 6 Downregulation of eIF4A1 suppresses cell migration and invasion in glioma cells. A: Transwell migration assay was performed in U87 MG and U373 MG cells. B: Matrigel invasion assay was performed in U87 MG and U373 MG cells; C: The number of migrating or invading cells in the sh-eIF4A1 group was significantly lower compared with those in the negative control (*, $P<0.05$; **, $P<0.01$). bar: 50 μm (color online)

参考文献

- Ho V K Y, Reijneveld J C, Enting R H, et al. Changing incidence and improved survival of gliomas. *Eur J Cancer*, 2014, 50: 2309–2318
- Diaz R J, Ali S, Qadir M G, et al. The role of bevacizumab in the treatment of glioblastoma. *J Neuro-oncol*, 2017, 133: 455–467

- 3 Caccese M, Indraccolo S, Zagonel V, et al. PD-1/PD-L1 immune-checkpoint inhibitors in glioblastoma: A concise review. *Crit Rev Oncol/Hematol*, 2019, 135: 128–134
- 4 Bagley S J, Desai A S, Linette G P, et al. CAR T-cell therapy for glioblastoma: Recent clinical advances and future challenges. *Neuro-Oncol*, 2018, 20: 1429–1438
- 5 Cao Y, Liu S, Liu K, et al. Molecular mechanisms relating to amino acid regulation of protein synthesis. *Nutr Res Rev*, 2019, 141: 1–9
- 6 Meijer H A, Kong Y W, Lu W T, et al. Translational repression and eIF4A2 activity are critical for microRNA-mediated gene regulation. *Science*, 2013, 340: 82–85
- 7 Miller E E, Kobayashi G S, Musso C M, et al. EIF4A3 deficient human iPSCs and mouse models demonstrate neural crest defects that underlie Richieri-Costa-Pereira syndrome. *Hum Mol Genets*, 2017, 26: 2177–2191
- 8 Feoktistova K, Tuvshintogs E, Do A, et al. Human eIF4E promotes mRNA restructuring by stimulating eIF4A helicase activity. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110: 13339–13344
- 9 Lankat-Buttgereit B, Göke R. The tumour suppressor Pcd4: Recent advances in the elucidation of function and regulation. *Biol Cell*, 2009, 101: 309–317
- 10 Walczak S, Sikorski P J, Kasprzyk R, et al. Exploring the potential of phosphotriazole 5' mRNA cap analogues as efficient translation initiators. *Org Biomol Chem*, 2018, 16: 6741–6748
- 11 Malka-Mahieu H, Newman M, Désaubry L, et al. Molecular pathways: The eIF4F translation initiation complex—new opportunities for cancer treatment. *Clin Cancer Res*, 2017, 23: 21–25
- 12 Howard C M, Bearss N, Subramaniyan B, et al. The CXCR4-LASP1-eIF4F axis promotes translation of oncogenic proteins in triple-negative breast cancer cells. *Front Oncol*, 2019, 9: 284
- 13 van Voss M R H, van Diest P J, Raman V. Targeting RNA helicases in cancer: The translation trap. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2017, 1868: 510–520
- 14 Modelska A, Turro E, Russell R, et al. The malignant phenotype in breast cancer is driven by eIF4A1-mediated changes in the translational landscape. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1603
- 15 Stoneley M, Willis A E. eIF4A1 is a promising new therapeutic target in ER-negative breast cancer. *Cell Death Differ*, 2015, 22: 524–525
- 16 Liang S, Zhou Y, Chen Y, et al. Decreased expression of EIF4A1 after preoperative brachytherapy predicts better tumor-specific survival in cervical cancer. *Int J Gynecol Cancer*, 2014, 24: 908–915
- 17 Cencic R, Carrier M, Galicia-Vázquez G, et al. Antitumor activity and mechanism of action of the cyclopenta[b]benzofuran, silvestrol. *PLoS ONE*, 2009, 4: e5223
- 18 Bordeleau M E, Mori A, Oberer M, et al. Functional characterization of IRESes by an inhibitor of the RNA helicase eIF4A. *Nat Chem Biol*, 2006, 2: 213–220
- 19 Dong Q F, Yan Z F, Li P Q, et al. Inhibition of eIF4F complex loading inhibits the survival of malignant glioma. *Oncol Rep*, 2018, 40: 2399–2407
- 20 Oblinger J L, Burns S S, Huang J, et al. Overexpression of eIF4F components in meningiomas and suppression of meningioma cell growth by inhibiting translation initiation. *Exp Neurol*, 2018, 299: 299–307
- 21 Liang S, Ju X, Zhou Y, et al. Downregulation of eukaryotic initiation factor 4A1 improves radiosensitivity by delaying DNA double strand break repair in cervical cancer. *Oncol Lett*, 2017, 14: 6976–6982
- 22 Jin J, Xiang W, Wu S, et al. Targeting eIF4E signaling with ribavirin as a sensitizing strategy for ovarian cancer. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 510: 580–586
- 23 Oblinger J L, Burns S S, Akhmeteva E M, et al. Components of the eIF4F complex are potential therapeutic targets for malignant peripheral nerve sheath tumors and vestibular schwannomas. *Neuro-Oncol*, 2016, 18: 1265–1277

Effect of knockdown of eIF4A1 by shRNA on the biological characteristics of glioma cells

ZHANG JunWen^{1,2}, FAN WenHua¹, FANG Sheng¹, CHEN Hong², HUANG BingRen² & LIU FuSheng¹

1 Brain Tumor Research Center, Beijing Neurosurgical Institute, Beijing Tiantan Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100050, China;

2 National Laboratory of Medical Molecular Biology, Department of Biochemistry and Molecular Biology, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Beijing 100005, China

Glioma is a common tumor in the brain. Malignant gliomas diffusely penetrate the normal brain parenchyma. Despite treating the gliomas with surgical resection, radiotherapy, or chemotherapy, gliomas often relapse. New treatment methods for glioblastoma are urgently needed. However, the therapeutic targets of glioma are limited; therefore, exploring effective targets is of great significance for the treatment. In this study, the relationship between eIF4A1 and glioma eukaryotic translation initiation factors was first analyzed using the CGGA database. The results showed that eIF4A was associated with pathological glioma grades and was highly expressed in glioma cells. Furthermore, Silvestrol, an eIF4A1 inhibitor, inhibited the proliferation of glioma cells. A glioma cell line in which the expression of eIF4A1 was knocked down was established by lentivirus-mediated transfection. Cell proliferation, colony formation, cell invasion, and migration assays showed that glioma cells knocked down for the expression of eIF4A1 effectively inhibited glioma cell proliferation, colony formation, cell invasion, and migration. This experimental study confirmed that eIF4A1 is an effective target for the treatment of glioma, thereby providing a theoretical basis for the clinical treatment of glioma.

glioma, eIF4A1, proliferation, clone formation, invasion, migration

doi: [10.1360/SSV-2019-0108](https://doi.org/10.1360/SSV-2019-0108)