

DOI:10.13602/j.cnki.jcls.2021.09.04

· 临床研究 ·

LncRNA NPSR1-AS1 在胃癌中的表达及作用机制*

谢文杰^a, 张鹤腾^a, 唐银炳^a, 陆佳伟^a, 侯雯跻^a, 周晓东^a, 徐颖^b, 张文波^a, 于强^c, 邹晨^a (江苏大学附属人民医院 a. 普外科, b. 中心实验室, c. 神经外科, 江苏镇江 212002)

摘要:目的 探讨 LncRNA NPSR1-AS1 在胃癌(gastric cancer, GC)中的表达及临床意义,分析其对胃癌细胞生物学行为的影响和作用机制。方法 收集 86 例胃癌患者癌组织及癌旁组织,另收集 21 例胃癌患者及体检健康者血浆标本,采用实时荧光定量 PCR(RT-qPCR)检测各组 LncRNA NPSR1-AS1 的表达水平,并与患者临床病理资料进行相关性分析。siRNA 敲减 NPSR1-AS1 后,采用细胞增殖试验、Transwell 试验、流式细胞术检测癌细胞增殖、迁移、侵袭、凋亡能力,并用 RT-qPCR 检测肿瘤相关基因表达量的变化。结果 LncRNA NPSR1-AS1 在胃癌组织中的表达水平显著升高,且与肿瘤大小($t=11.02, P<0.01$)、淋巴结转移($t=2.30, P<0.05$)、TNM 分期($t=3.55, P<0.01$)、肿瘤血管或神经侵袭($t=3.10, P<0.05$)显著相关;血浆 LncRNA NPSR1-AS1 筛查胃癌的 ROC 曲线下面积(AUC^{ROC})为 0.696。LncRNA NPSR1-AS1 敲减后可使 GSK-3 β ($t=16.15, P<0.01$)和 E-cadherin($t=10.17, P<0.01$)表达上调, β -catenin($t=4.869, P<0.05$)、N-cadherin($t=3.77, P<0.05$)、Snail($t=9.372, P<0.01$)和 MMP2($t=15.57, P<0.01$)表达下调。结论 LncRNA NPSR1-AS1 敲减可抑制胃癌细胞增殖、迁移及侵袭并诱导其凋亡,其作用机制与上皮-间质转化(EMT)有关。

关键词:胃癌;长链非编码 RNA;NPSR1-AS1;上皮-间质转化

中图分类号:R446;R-33

文献标志码:A

Expression and action mechanism of LncRNA NPSR1-AS1 in gastric cancer

XIE Wenjie^a, ZHANG Heteng^a, TANG Yinbing^a, LU Jiawei^a, HOU Wenji^a, ZHOU Xiaodong^a, XU Ying^b, ZHANG Wenbo^a, YU Qiang^c, ZOU Chen^a (a. Department of General Surgery, b. Central Laboratory, c. Department of Neurosurgery, Affiliated People's Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212002, Jiangsu, China)

Abstract: Objective To investigate the expression and clinical significance of LncRNA NPSR1-AS1 in gastric cancer (GC) and its effect and action mechanism on the biological behavior of GC cells. **Methods** The tumor tissues and adjacent tissues from 86 GC patients and plasma samples from 21 GC patients and 21 healthy controls were collected, and the expression levels of LncRNA NPSR1-AS1 in these tissue and plasma samples were detected by real-time quantitative PCR (RT-qPCR). The correlations of NPSR1-AS1 levels with clinicopathological parameters were analyzed. After NPSR1-AS1 levels were knocked down with siRNA, the proliferation, migration, invasion and apoptosis of tumor cells were detected by the cell proliferation test, Transwell test and flow cytometry, and the expression levels of tumor-related genes were detected by RT-qPCR. **Results** The expression levels of NPSR1-AS1 in GC tissues increased significantly, and were significantly correlated with tumor size ($t=11.02, P<0.01$), lymph node metastasis ($t=2.30, P<0.05$), TNM stage ($t=3.55, P<0.01$) and tumor vascular or nerve invasion ($t=3.10, P<0.05$). The area under the ROC curve (AUC^{ROC}) of plasma NPSR1-AS1 expression levels for screening GC was 0.696. The knockdown of NPSR1-AS1 was able to increase the expression of GSK-3 β ($t=16.15, P<0.01$) and E-cadherin ($t=10.17, P<0.01$), and reduce the expression of β -catenin ($t=4.869, P<0.05$), N-cadherin ($t=3.77, P<0.05$), Snail ($t=9.372, P<0.01$) and MMP2 ($t=15.57, P<0.01$). **Conclusion** The knockdown of LncRNA NPSR1-AS1 can inhibit the proliferation, migration and invasion and induce the apoptosis of GC cells, and its mechanism is related to the epithelial mesenchymal transition (EMT).

Key words: gastric cancer; LncRNA; NPSR1-AS1; epithelial mesenchymal transition

据文献报道,在消化系统肿瘤中胃癌的发病率 位居前列,是癌症患者死亡的主要原因之一^[1]。

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金面上项目(81500193,81802409);中国博士后科学基金项目(2015M571703);江苏省自然科学基金面上项目(BK20161353,BK20171304);江苏省青年医学重点人才项目(QNRC2016454);江苏省卫生计生委医学科研课题(Z201617);镇江市重点研发计划社会发展面上项目(SH2017026,SH2018057,SH2018072)。

作者简介:谢文杰,1995 年生,男,硕士,研究方向:肿瘤的基因诊断及治疗。

通信作者:邹晨,主任医师,副教授,硕士研究生导师,E-mail:Tigerzou@126.com;于强,副主任医师,博士,硕士研究生导师,E-mail:1972994322@qq.com。

LncRNA 是长度大于 200 个核苷酸, 缺乏蛋白质编码能力, 与 DNA、RNA 和蛋白质相互作用, 在表观遗传、转录及转录后水平上发挥关键的调控作用^[2]。LncRNA NPSR1-AS1 主要定位于 7 号染色体 p14.3。Huang 等^[3]从 The Cancer Genome Atlas (TCGA) 数据库中分析了 149 例肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 患者的 LncRNA 表达模式以及相关的临床数据, 其认为 NPSR1-AS1 与 HCC 的预后相关, 并有望成为 HCC 治疗的靶标。此外, He 等^[4]根据微阵列分析, 认为 NPSR1-AS1 是一种缺氧反应性 LncRNA; 缺氧诱导的 NPSR1-AS1 可能通过调节 MAPK/ERK 途径来促进 HCC 细胞的增殖和糖酵解, 并有望用于 HCC 治疗^[4]。为研究 NPSR1-AS1 与胃癌的关系, 本研究检测了 NPSR1-AS1 在胃癌患者组织及血浆中的表达情况, 结合患者的临床病理资料, 分析其与 NPSR1-AS1 表达量的关系, 同时, 还进行了细胞功能学试验及实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测肿瘤相关基因的表达, 并进一步研究其作用机制, 以期临床诊疗提供实验依据。

1 资料和方法

1.1 研究对象 收集 2015 年 4 月至 2019 年 7 月于江苏大学附属人民医院普外科接受手术治疗的 86 例胃腺癌患者的癌组织及相应的癌旁组织 (距肿瘤边缘 >5 cm)。女性 24 例, 男性 62 例, 年龄 47~82 岁, 中位年龄 68 岁; 肿瘤最大径 >5 cm 者 22 例, ≤5 cm 者 64 例; 淋巴结转移阴性者 (N0) 38 例, 阳性者 (N₁₋₃) 48 例; 胃癌 TNM 分期为 I~II 期 40 例, III~IV 期 46 例。纳入标准: (1) 经病理科 2 名副主任医师联合诊断为胃腺癌; (2) 所有患者术前均未接受放疗、化疗及其他非手术的抑癌疗法。排除标准: (1) 合并其他肿瘤者; (2) 有高血压、糖尿病、心脏病、肺部疾病和免疫系统疾病者。随机选取上述胃癌患者中的 21 例 (男性 14 例, 女性 7 例, 年龄 52~76 岁), 检测血浆中 NPSR1-AS1 的表达水平。另外, 随机收集在本院体检中心体检的 21 例 (男性 12 例, 女性 9 例, 年龄 27~46 岁) 体检健康者的血浆标本作为对照组。本研究经江苏大学附属人民医院伦理委员会的批准 (批准文号: K20180016Y)。所有受试者及家属均知情同意。

1.2 细胞系、试剂和仪器 胃癌细胞系 AGS (中国科学院上海细胞库)。RNA 提取试剂 (Trizol, 美国 Invitrogen 公司), 逆转录试剂盒及荧光定量 PCR 试

剂盒 (美国 Sigma 公司), 转染试剂 Lipofectamine 2000 (日本 TaKaRa 公司), siRNA-NPSR1-AS1 小干扰 RNA、阴性对照小干扰 RNA (上海吉玛公司), Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡试剂盒 (江苏碧云天公司)。Transwell 小室 (美国 Corning 公司), Matrigel 基质胶 (美国 BD 公司), NanoDrop 1000 微量紫外可见分光光度计 (德国 Eppendorf 公司), CFX96 荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司)。

1.3 RNA 提取及 RT-qPCR 采用苯酚-氯仿抽提法, 按照 Trizol 试剂说明书从胃癌组织、血浆及胃癌细胞中提取总 RNA, 并用 NanoDrop 1000 微量紫外可见分光光度计检测其浓度和纯度, 取吸光度 ($A_{260\text{nm}}/A_{280\text{nm}}$) 值为 1.9~2.1 的样本用于后续试验。按逆转录试剂盒说明书将 RNA 样本逆转录为 cDNA, 样本置于 -20 ℃ 保存。根据 GenBank 中的基因序列号, 用 Primer Premier 5.0 软件设计引物, 并送上海生工公司合成 (表 1)。根据 SYBRRT-RT-qPCR Mixture 试剂说明书配制体系, 细胞、组织和血浆 RT-qPCR 体系: 10 μL 2 × PCR Mixture, 10 μmol/L 上、下游引物各 0.4 μL, 1 μL 模板 cDNA, 8.2 μL ddH₂O。将上述体系置于 ABI 荧光定量 PCR 仪中检测, 循环参数: 95 ℃ 5 min; 95 ℃ 10 s, 59 ℃ 20 s, 72 ℃ 34 s, 共 40 次循环。72 ℃ 时采集荧光信号, 使用 7500 System Software-SDS 2.2 软件进行熔解曲线分析。细胞和组织以 β -actin 为内参基因, 血浆以 U6 为内参基因。相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算。

1.4 细胞转染 复苏胃癌 AGS 细胞, 取 1×10^5 个细胞 (每孔 200 μL) 铺于 12 孔细胞培养板中, 置于细胞培养箱 (37 ℃, 5% CO₂) 中培养, 待其细胞密度达 60%~80% 时转染。按照 Lipofectamine 2000 说明书操作, 用无血清培养基配制转染试剂及 si-RNA 工作液, 试验设 2 组, 分别为: si-NPSR1-AS1 组 (50 μL 无血清的 RPMI 1640 培养液 + 2 μL Lipofectamine 2000 + 2 μL si-NPSR1-AS1); si-NC 组 (50 μL 无血清的 RPMI 1640 培养液 + 2 μL Lipofectamine 2000 + 2 μL si-NC), 分别混匀静置 20 min 后进行转染, 4~6 h 后更换为完全培养基继续培养。

1.5 细胞生长曲线 取上述转染 48 h 后的 AGS 细胞 (si-NPSR1-AS1 组和 si-NC 组), 用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化, 重悬并计数, 以每孔 1×10^4 个的细胞密度接种于 12 孔细胞培养板, 每组设置 6 个复孔。置于细胞培养箱 (37 ℃, 5% CO₂) 中培养, 培养基

每 3 d 更换 1 次,每隔 24 h 在光学显微镜下拍照并计数,结果取均值,连续计数 5 d,根据细胞数量绘制生长曲线,并计算细胞增殖能力。

1.6 平板克隆形成试验 取上述转染 48 h 后的 AGS 细胞 (si-NPSR1-AS1 组和 si-NC 组), 用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化,重悬并计数,以每孔 1×10^3 个的细胞密度接种于 6 孔细胞培养板中,置于细胞

培养箱 (37 ℃、5% CO₂) 中培养,培养基每 3 d 更换 1 次。在培养后的第 10 天,将细胞用 PBS 冲洗 3 次,4%多聚甲醛固定细胞 30 min,0.5%结晶紫避光染色 15 min,再用 PBS 清洗 2~3 次,待自然风干后,光学显微镜下观察并计数大于 30 个细胞、集落大小为 0.4~1.0 mm 的克隆。

表 1 RT-qPCR 引物序列

基因	序列号	引物序列(5'→3')	退火温度(℃)	扩增长度(bp)
NPSR1-AS1	NC_000007.14	R: TGTGTGAGAAGTGCACGGTCC	60	164
		F: GGGGTGTGTGAGCACTCAAT		
<i>β-actin</i>	LT575466.1	R: CATTCCAAATATGAGATGCGTTGT	60	103
		F: TGTGGACTTGGGAGAGGACT		
<i>U6</i>	NC_015438.3	R: CTCGCTTCGGCAGCACA	60	94
		F: AACGCTTCACGAATTTGCGT		
<i>GSK-3β</i>	KJ206238.1	R: TGGTGCTGGACTATGTTCCG	60	180
		F: CCAACAAGAGGTTCTGCGGT		
<i>β-catenin</i>	M77013.1	R: ACGAGCTGCTATGTTCCCTG	60	177
		F: ATTGCACGTGTGGCAAGTTC		
<i>Snail</i>	NM_057384.4	R: GCTCGAAAGGCCTTCAACTG	60	150
		F: GACATGGCCTTGTAGCAGCC		
<i>E-cadherin</i>	Z35402.1	R: GGTCTGTCATGGAAGGTGCTC	60	123
		F: CAGGATCTTGGCTGAGGATGG		
<i>N-cadherin</i>	S45013.1	R: TCAACTGCAACCGTGTCTGT	60	142
		F: ATCGATCTGGCTCCTGAGCA		
<i>MMP2</i>	NC_000016.10	R: CATGGCGATGGATACCCCTT	60	158
		F: CCATCGGCGTTCCTCATCTT		

1.7 Transwell 细胞迁移和侵袭试验

1.7.1 迁移试验 取转染 48 h 后的 AGS 细胞 (si-NPSR1-AS1 组和 si-NC 组), 2.5 g/L 胰蛋白酶消化,加入无血清培养基重悬并计数,调整细胞浓度为 1×10^5 /mL。然后以每孔 200 μL 接种于 Transwell 小室上室,下室中每孔加入 750 μL 完全培养基。培养 24 h 后,4%多聚甲醛固定细胞 30 min,0.5%结晶紫染色 15 min,棉签擦去上室面残余细胞,用荧光显微镜拍照并随机计数 10 个视野 (×100) 的细胞数,结果取均值。

1.7.2 侵袭试验 取无血清培养基 44 μL 和 Matrigel 6 μL 混合稀释,滴入 Transwell 小室中包被上室膜,然后置于 24 孔细胞培养板中,置于培养箱温育 4 h。其余步骤同迁移试验。

1.8 细胞凋亡试验 取上述转染 48 h 后的 AGS 细胞 (si-NPSR1-AS1 组和 si-NC 组), 1 × Binding buffer 重悬细胞,计数并加入 PBS,调整细胞浓度为 2×10^5 /mL,依次加入 10 μL Annexin V-FITC、5 μL PI 混合,避光静置 15 min 后用流式细胞仪检测细胞凋亡率 (早期凋亡+晚期凋亡)。

1.9 统计学分析 数据均采用 SPSS 23.0 软件进

行统计分析,GraphPad Prism 7.0 软件分析制图。所有试验均独立重复 3 次,计量资料以均数±标准差表示,组间比较采用 *t* 检验。计数资料采用 χ^2 检验。生存曲线采用 Kaplan-Meier 法绘制。以 *P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

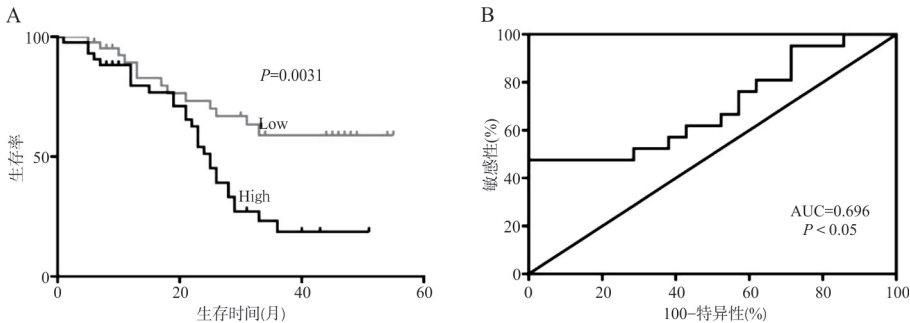
2 结果

2.1 NPSR1-AS1 在胃癌组织及血浆中的表达 RT-qPCR 结果显示,86 例胃癌组织标本中 NPSR1-AS1 的相对表达量 (3.98±0.36) 显著高于癌旁组织 (2.78±0.31),差异具有统计学意义 (*t* = 2.51, *P* < 0.05)。而 21 例胃癌患者血浆中 NPSR1-AS1 的相对表达量 (4.35±0.39) 亦显著高于 21 例体检健康者 (2.51±0.50),差异具有统计学意义 (*t* = 2.89, *P* < 0.01)。

2.2 NPSR1-AS1 在胃癌组织及血浆中的临床应用价值 NPSR1-AS1 在 86 例胃癌组织中相对表达量的中位数为 0.913,以此为界将胃癌患者分为高表达组 (*n* = 43) 和低表达组 (*n* = 43)。结合临床病理资料,分析其与 NPSR1-AS1 表达量的关系,结果显示 NPSR1-AS1 高表达与肿瘤大小 (*t* = 11.02, *P* <

0.01)、淋巴结转移($t=2.30, P<0.05$)、肿瘤血管或神经侵袭($t=3.09, P<0.01$)和 TNM 分期($t=3.55, P<0.01$)密切相关。而与性别、年龄、是否吸烟、饮酒等无显著相关性(表 2)。Kaplan-Meier 分析表明,NPSR1-AS1 高表达组患者的生存率明显低于低

表达组($HR=2.58, 95\%CI: 1.38\sim 4.71, P<0.05$, 图 1A)。胃癌患者血浆 NPSR1-AS1 水平诊断胃癌的 ROC 曲线下面积(AUC^{ROC})为 0.696, 95% CI 为 0.534~0.858, 当 cut-off 值为 9.52 时, 特异性为 90.5%, 敏感性为 47.6%。见图 1B。



注:A,NPSR1-AS1 表达与胃癌患者生存率之间的相关性;B,血浆 NPSR1-AS1 表达水平的 ROC 曲线。

图 1 NPSR1-AS1 在胃癌组织及血浆中的表达

表 2 胃癌患者组织中 NPSR1-AS1 的表达与临床病理参数的关系

参数	例数	NPSR1-AS1		χ^2	P 值
		高	低		
性别				<0.001	1.000
男	62	31	31		
女	24	12	12		
年龄(岁)				0.816	0.366
<60	13	5	8		
≥60	73	38	35		
饮酒				0.068	0.795
否	67	34	33		
是	19	9	10		
吸烟				0.244	0.621
否	64	31	33		
是	22	12	10		
分化				0.063	0.802
中	65	32	33		
低	21	11	10		
血管或神经侵袭				7.938	0.005
阴性	60	24	36		
阳性	26	19	7		
肿瘤大小(cm)				6.108	0.013
≤5	64	27	37		
>5	22	16	6		
浸润深度				0.816	0.366
T(1-2)	13	5	8		
T(3-4)	73	38	35		
淋巴结转移				6.789	0.009
N(0)	38	13	25		
N(1-3)	48	30	18		
远处转移				0.345	0.557
M(0)	83	42	41		
M(1)	3	1	2		
TNM 分期				11.965	0.001
I~II 期	40	12	28		
III~IV 期	46	31	15		

2.3 NPSR1-AS1 敲减后对 AGS 细胞生物学行为的影响 转染 AGS 细胞 48 h 后经 RT-qPCR 结果证实, siRNA 的敲减效率满意, 其表达量(1.03 ± 0.01)与对照组(0.57 ± 0.02)相比, 下降了 54.5% ($t=18.92, P<0.05$, 图 2A)。细胞生长曲线及平板克隆形成试验结果表明, NPSR1-AS1 敲减后能抑制 AGS 细胞的增殖能力($t=2.789, P<0.05$, 图 2B; $t=14.00, P<0.05$, 图 2C)。Transwell 迁移和侵袭试验结果表明, NPSR1-AS1 敲减后能抑制 AGS 细胞的迁移及侵袭能力($t=25.45, P<0.05$, 图 2D)。流式细胞术检测结果显示, si-NPSR1-AS1 凋亡(早期凋亡+晚期凋亡)比例为 9.43%, 明显高于 si-NC 组的 5.22% ($t=21.45, P<0.001$, 图 2E), 表明 NPSR1-AS1 敲减可诱导 AGS 细胞的凋亡。

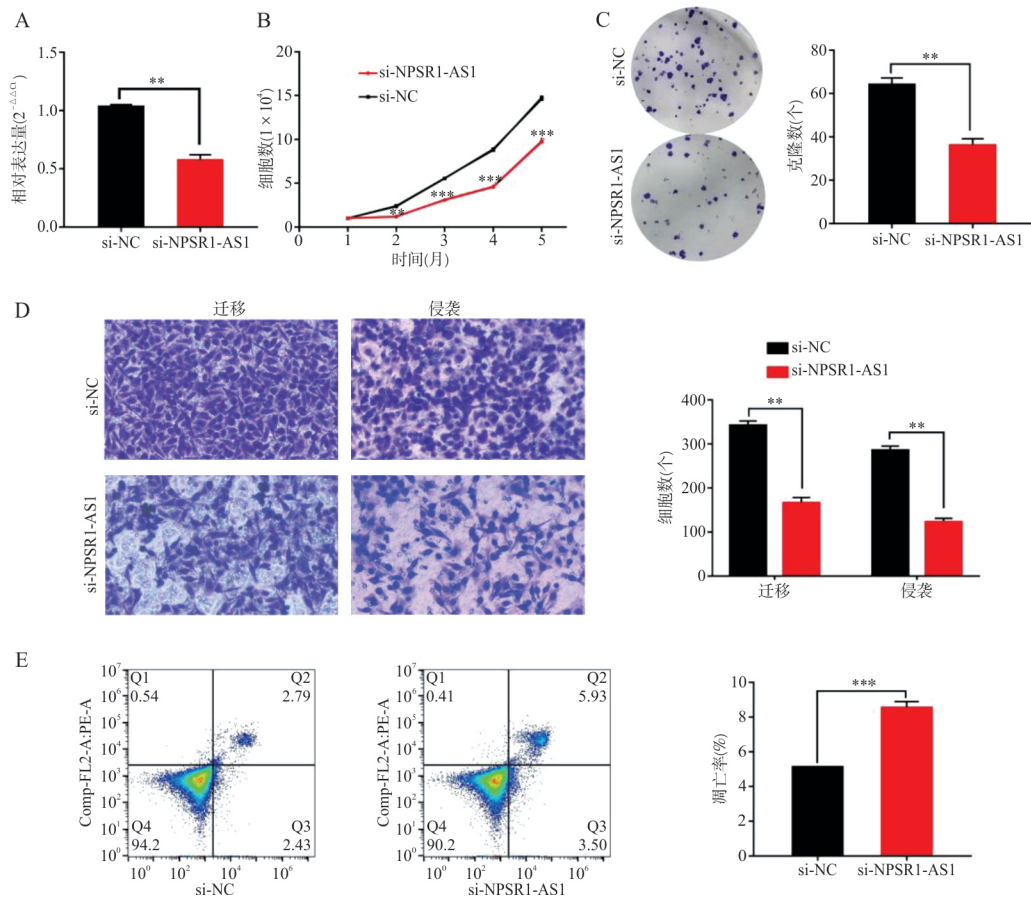
2.4 NPSR1-AS1 敲减后对肿瘤相关基因表达的影响 NPSR1-AS1 敲减后, RT-qPCR 检测肿瘤相关基因结果显示, 与对照组相比, *GSK-3β* 和 *E-cadherin* 的表达量(分别为 1.86 ± 0.05 、 1.59 ± 0.06)明显上调(t 分别为 16.15 和 10.17, P 均<0.01), 而 *β-catenin*、*N-cadherin*、*Snail* 和 *MMP2* 的表达量(分别为 0.71 ± 0.05 、 0.70 ± 0.08 、 0.39 ± 0.07 、 0.23 ± 0.04)显著下调(t 分别为 4.869、3.77 和 9.372, P 均<0.01)。

3 讨论

研究发现, LncRNA 可通过调控胃癌细胞增殖、迁移和凋亡等多种生物学行为, 直接或间接干扰基因表达, 在胃癌的发生、发展及预后中发挥重要作用^[5]。本课题组发现的 LINC01225^[6] 在胃癌组织中高表达, 并促进胃癌细胞增殖、侵袭、迁移和上皮-间

质转化(EMT)过程。Yang 等^[7]发现, LINC00665 在胃癌中的表达下调, 在胃癌进展过程中发挥抑制胃癌细胞的增殖并诱导其凋亡的作用。目前关于 NPSR1-AS1 的研究甚少, 至今还未证实其在胃癌中的作用机制。为了探讨 NPSR1-AS1 在胃癌中是否发挥促癌作用, 本研究发现 NPSR1-AS1 在胃癌患者组织及血浆中的表达水平明显升高, 其高表达与

胃癌患者肿瘤大小、淋巴结转移、肿瘤血管或神经侵袭和 TNM 分期显著相关, 并且高表达患者的术后总生存率明显降低, 表明 NPSR1-AS1 在胃癌中发挥着促癌作用并导致其不良预后。笔者通过进一步的细胞功能试验发现, NPSR1-AS1 可促进胃癌细胞的增殖、迁移和侵袭, 表明其能够促进胃癌细胞的恶性生物学行为。



注: A, NPSR1-AS1 敲减后在胃癌细胞中的表达水平; B、C, 细胞生长曲线及平板克隆试验检测 NPSR1-AS1 敲减后对 AGS 细胞增殖能力的影响; D, Transwell 试验检测 NPSR1-AS1 敲减后对 AGS 细胞迁移及侵袭能力的影响; E, 流式细胞术检测 NPSR1-AS1 敲减后对 AGS 细胞凋亡的影响。*, $P<0.01$; ***, $P<0.001$ 。

图 2 NPSR1-AS1 敲减后对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭及凋亡等生物学行为的影响

有学者发现, LncRNA 可以通过靶向不同的分子标志物直接或间接地调节 EMT 过程, 从而发挥促肿瘤作用^[8]。而 NPSR1-AS1 能否也通过 EMT 实现这一过程目前尚不清楚。本研究发现, NPSR1-AS1 敲减后 GSK-3 β 和 E-cadherin 的表达上调, 而 β -catenin、N-cadherin、Snail 和 MMP2 的表达下调, EMT 相关基因变化明显。有文献显示, GSK-3 β 是一种多功能的丝氨酸/苏氨酸激酶, 在多种细胞活动中起关键作用, 如细胞增殖、分化、凋亡和细胞周期等^[9]。在多个信号通路中, 如 Wnt/ β -catenin、PI3K/Akt、Hedgehog、Notch 等, GSK-3 β

均具有重要的中心枢纽作用, 进而调控疾病的进展^[10]。Wnt/ β -catenin 信号通路在 EMT 启动过程中发挥重要的调控作用, 该信号通路活化后可以通过抑制 GSK-3 β 的活性, 致使 β -catenin 不能被 GSK-3 β 磷酸化, 导致游离 β -catenin 大量入核, 而 β -catenin 在核内可以作为转录因子的亚单位, 从而诱导 EMT 的转录因子表达以激活 EMT 过程。相反, GSK-3 β 过表达后可以抑制 EMT 过程^[11]。本研究结果证实, NPSR1-AS1 敲减后 GSK-3 β 水平上调, 从而抑制了 β -catenin 及 EMT 信号。Zheng 等^[12]发现 LncRNA MALAT1 可以作为 GSK-3 β 负

调节剂,抑制 GSK-3 β 表达以降低 β -catenin 活性,从而影响结肠癌细胞的恶性行为。因此,笔者推测 NPSR1-AS1 可能通过 Wnt/ β -catenin 信号通路的激活,刺激几种与 EMT 相关的转录因子,从而促进 EMT 过程。

本课题组在前期实验发现,NPSR1-AS1 在胃癌患者组织及血浆中的表达水平升高,且与胃癌的发生和转移相关,本研究进一步探讨了 NPSR1-AS1 对胃癌细胞增殖、迁移、侵袭和凋亡的影响,但未探究细胞周期等其他生物学行为的影响。此外,NPSR1-AS1 可能通过调节 GSK-3 β 的表达水平,从而调控 Wnt/ β -catenin 信号通路以诱导肿瘤的 EMT 过程,但尚缺乏相关实验进一步证明。在后续研究中,本课题组将进一步研究 NPSR1-AS1 如何调控 GSK-3 β 的表达来影响胃癌细胞生物学行为的具体机制,以期为寻找新的胃癌治疗靶标提供更多的实验依据。

4 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: A Cancer J Clin, 2018, 68(6):394-424.

[2] Taheri M, Omrani MD, Ghafouri-Fard S. Long non-coding RNA expression in bladder cancer[J]. Biophys Rev, 2018, 10(4):1205-1213.

[3] Huang ZL, Li W, Chen QF, *et al.* Eight key long non-coding RNAs predict hepatitis virus positive hepatocellular carcinoma as prognostic targets[J]. World J Gastrointest Oncol, 2019, 11(11):983-997.

[4] He H, Chen T, Mo H, *et al.* Hypoxia-inducible long noncoding RNA NPSR1-AS1 promotes the proliferation and glycolysis of hepatocellular carcinoma cells by regulating the MAPK/ERK pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 533(4):886-892.

[5] 李希雯, 罗茜, 鞠少卿. 非编码 RNA 在胃癌中的研究与应用进展[J]. 临床检验杂志, 2020, 38(3):207-209.

[6] Xu Y, Zhang G, Zou C, *et al.* Long non-coding RNA LINC01225 promotes proliferation, invasion and migration of gastric cancer via Wnt/ β -catenin signalling pathway[J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(11):7581-7591.

[7] Yang B, Bai Q, Chen H, *et al.* LINC00665 induces gastric cancer progression through activating Wnt signaling pathway[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(3):2268-2276.

[8] Cheng JT, Wang LZ, Wang H, *et al.* Insights into biological role of LncRNAs in epithelial-mesenchymal transition[J]. Cells, 2019, 8(10):1178.

[9] Mancinelli R, Carpino G, Petrunaro S, *et al.* Multifaceted roles of GSK-3 in cancer and autophagy-related diseases[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017:4629495.

[10] Nagini S, Sophia J, Mishra R. Glycogen synthase kinases: Moonlighting proteins with theranostic potential in cancer[J]. Semin Cancer Biol, 2019, 56:25-36.

[11] McCubrey J A, Rakus D, Gizak A, *et al.* Effects of mutations in Wnt/ β -catenin, hedgehog, Notch and PI3K pathways on GSK-3 activity-Diverse effects on cell growth, metabolism and cancer[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1863(12):2942-2976.

[12] Zheng X, Ren J, Peng B, *et al.* MALAT1 overexpression promotes the growth of colon cancer by repressing β -catenin degradation[J]. Cellular Signalling, 2020, 73:109676.

(收稿日期:2021-03-29)
(本文编辑:许晓蒙)