

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2023 年 5 月 28 日 第 31 卷 第 10 期 (Volume 31 Number 10)



10 / 2023

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议、开放获取和在线出版的学术刊物。本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊域出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录。



述评

- 389 Hedgehog/GLI与胃癌的研究进展与现状
池肇春

基础研究

- 397 circCLK3通过靶向miR-654-5p促进结直肠癌细胞增殖、迁移及侵袭的机制研究
姜丽琴, 郭赞

文献综述

- 404 生物标志物在肝细胞癌诊断与治疗中的研究进展
徐飞麒, 张哲, 胡昂, 黄东胜

临床实践

- 412 CTA诊断自发性孤立性肠系膜上动脉夹层分型及评估临床症状的价值
丁伟莉, 苏玲
- 418 结直肠癌根治术中右美托咪定结合超声引导的腹横筋膜全麻阻滞临床观察
羊瑛, 冯定祥, 王莹

病例报告

- 426 Gardner综合征1例报告
张梦璇, 刘洪娜, 郑吉敏, 申安东, 徐燕燕, 苏少慧

消 息

- 411 《世界华人消化杂志》参考文献要求
425 《代谢相关脂肪性肝病肝外并发症》书讯

封面故事

刘金华, 大连市友谊医院科研与学科发展部科研专员, 普外科副主任医师, 医学博士, 大连医科大学和锦州医科大学硕士研究生导师, 《世界华人消化杂志》编委. 从事普外科工作十余年, 熟练掌握常规疾病的诊断、治疗及目前一些医学前沿知识, 能够处理急诊、急救; 独立完成普外科一、二级手术和部分三级手术. 承担省、市、区、局医学课题6项, 有专利10项, 获得过市科技进步奖、省自然科学学术成果奖、国家创新创业大赛入围奖等, 发表SCI及中华系列文章多篇.

本期责任人

编务 张砚梁; 送审编辑 张砚梁; 组版编辑 张砚梁; 英文编辑 王天奇;
形式规范审核编辑部主任 郭旭; 最终清样审核总编辑 马连生

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2023-05-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

共同主编

党双锁, 博士, 教授, 研究员, 主任医师, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

郭晓钟, 博士, 教授, 110840, 辽宁省沈阳市, 北部战区总医院消化内科

霍丽娟, 博士, 主任医师, 030001, 山西省太原市, 山西医科大学第一医院消化内科

江学良, 博士, 教授, 250001, 山东省济南市, 山东中医药大学第二附属医院消化中心

田艳涛, 博士, 教授, 主任医师, 100021, 北京市, 国

家癌症中心/中国医学科学院北京协和医学院肿瘤医院胰胃外科

王小众, 博士, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 博士, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 博士, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

[https://www.wjgnet.com/1009-3079/
editorialboard.htm](https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm)

编辑部

王金磊, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wcjd@wjgnet.com<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com<https://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司
100025, 北京市朝阳区东四环中路
62号, 远洋国际中心D座903室
电话: +86-10-85381901

《世界华人消化杂志》是一本高质量的同行评议, 开放获取和在线出版的学术刊物. 本刊被国际检索系统《化学文摘(Chemical Abstracts, CA)》、《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica, EM)》、《文摘杂志(Abstract Journal, AJ)》、Scopus、中国知网《中国期刊全文数据库(CNKI)》、《中文科技期刊数据库(CSTJ)》和《超星期刊出版平台(Superstar Journals Database)》数据库收录.

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<https://www.baishideng.com>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者和编者之间的信息反馈交流.

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.



Contents

Volume 31 Number 10 May 28, 2023

EDITORIAL

- 389 Hedgehog/GLI and gastric cancer: Research progress and current status
Chi ZC

BASIC RESEARCH

- 397 circCLK3 regulates colorectal cancer SW620 cell proliferation, migration, and invasion by targeting miR-654-5p
Jiang LQ, Guo Y

REVIEW

- 404 Circulating biomarkers for diagnosis and management of hepatocellular carcinoma
Xu FQ, Zhang Z, Huang DS

CLINICAL PRACTICE

- 412 Value of CT angiography in diagnosis and classification of spontaneous isolated superior mesenteric artery dissection and evaluation of its clinical symptoms
Ding WL, Su L
- 418 Application of dexmedetomidine combined with ultrasound-guided transverse abdominal fascia block during radical colorectal cancer surgery under general anesthesia
Yang Y, Feng DX, Wang Y

CASE REPORT

- 426 Gardner syndrome: A case report
Zhang MX, Liu HN, Zheng JM, Shen AD, Xu YY, Su SH

Contents

World Chinese Journal of Digestology
Volume 31 Number 10 May 28, 2023

COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Jin-Hua Liu, Department of General Surgery, Affiliated Dalian Municipal Friendship Hospital of Dalian Medical University, No. 8 Sanba Square, Zhongshan District, Dalian 116001, Liaoning Province, China. 0408flower@163.com

Indexed/Abstracted by

Chemical Abstracts, EMBASE/Excerpta Medica, Abstract Journals, Scopus, CNKI, CSTJ and Superstar Journals Database.

RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Yan-Liang Zhang* Review Editor: *Yan-Liang Zhang*
Production Editor: *Yan-Liang Zhang* English Language Editor: *Tian-Qi Wang*
Proof Editor: *Xu Guo* Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993

Renamed on January 25, 1998

Publication date May 28, 2023

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

CO-EDITORS-IN-CHIEF

Shuang-Suo Dang, Professor, Department of Infectious Diseases, The Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

Xiao-Zhong Guo, Professor, Department of Gastroenterology, North Theater General Hospital, Shenyang 110840, Liaoning Province, China

Li-Juan Huo, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

Xue-Liang Jiang, Professor, Digestive Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Jinan 250001, Shandong Province, China

Yan-Tao Tian, Professor, Chief Physician, National Cancer Center/Department of Pancreatic and Gastric Surgery, Cancer Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing

100021, China

Xiao-Zhong Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

Deng-Fu Yao, Professor, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

Zong-Ming Zhang, Professor, Department of General Surgery, Beijing Electric Power Hospital, Capital Medical University, Beijing 100073, China

EDITORIAL BOARD MEMBERS

All editorial board members resources online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/editorialboard.htm>

EDITORIAL OFFICE

Jin-Lei Wang, Director

World Chinese Journal of Digestology

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton, CA 94566, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<https://www.wjgnet.com>

PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China
Telephone: +86-10-85381901

PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

COPYRIGHT

© 2023 Baishideng Publishing Group Inc. Articles published by this open access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

SPECIAL STATEMENT

All articles published in journals owned by the Baishideng Publishing Group (BPG) represent the views and opinions of their authors, but not the views, opinions or policies of the BPG, except where otherwise explicitly indicated.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at <https://www.wjgnet.com/1009-3079/Nav/36>. If you do not have web access, please contact the editorial office.

circCLK3通过靶向miR-654-5p促进结直肠癌细胞增殖、迁移及侵袭的机制研究

姜丽琴, 郭 赞

姜丽琴, 淳安县第二人民医院内科 浙江省杭州市 311719

郭赞, 杭州师范大学附属医院消化科 浙江省杭州市 310015

姜丽琴, 本科, 主治医师, 研究方向为消化内科.

作者贡献分布: 姜丽琴和郭赞对文所作贡献均等; 此课题由姜丽琴和郭赞设计; 研究过程由姜丽琴和郭赞操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由姜丽琴和郭赞提供; 数据分析由姜丽琴和郭赞完成; 本论文写作由姜丽琴和郭赞完成.

通讯作者: 郭赞, 硕士, 310015, 浙江省杭州市拱墅区温州路126号, 杭州师范大学附属医院. g010124@126.com

收稿日期: 2023-04-11

修回日期: 2023-05-06

接受日期: 2023-05-18

在线出版日期: 2023-05-28

circCLK3 regulates colorectal cancer SW620 cell proliferation, migration, and invasion by targeting miR-654-5p

Li-Qin Jiang, Yun Guo

Li-Qin Jiang, Second People's Hospital of Chun'an County, Hangzhou 311719, Zhejiang Province, China

Yun Guo, Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Yun Guo, Master, Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, No. 126 Wenzhou Road, Gongshu District, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China. g010124@126.com

Received: 2023-04-11

Revised: 2023-05-06

Accepted: 2023-05-18

Published online: 2023-05-28

Abstract

BACKGROUND

Recent studies have investigated the role of circular RNAs (circRNAs) as significant regulatory factors in the progression of multiple cancers, containing colorectal cancer (CRC). Nevertheless, the biological functions of circCLK3 in CRC and the underlying mechanisms by which it regulates CRC progression remain unclear.

AIM

To clarify the mechanism of circCLK3 regulating colorectal cancer SW620 cell proliferation, migration, and invasion.

METHODS

CRC tissues and adjacent tissues were collected, and the expression of circCLK3 and miR-654-5p was detected by qRT-PCR. SW620 cells were cultured *in vitro* and divided into the following groups: si-circCLK3 group, pcDNA-circCLK3 group, miR-654-5p group, si-circCLK3 + anti-miR-654-5p group, and corresponding negative control groups (si-NC group, pcDNA group, miR-NC group, and si-circCLK3 + anti-miR-NC group). CCK8 assay, colony formation test, scratch test, and Transwell test were used to detect cell proliferation, migration, and invasion. The interaction between circCLK3 and miR-654-5p was confirmed by dual-luciferase reporter assay. The protein expression of MMP-2 and MMP-9 was detected by Western blot.

RESULTS

circCLK3 expression was increased ($P < 0.05$), while miR-654-5p expression was decreased ($P < 0.05$) in CRC tissues. Cell viability, scratch healing rate, the protein levels of matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) and MMP-9, the number of cell clones formed, and the number of invasive

cells were decreased ($P < 0.05$) in the si-circCLK3 group. circCLK3 could negatively regulate the expression of miR-654-5p. Cell viability, scratch healing rate, the protein levels of MMP-2 and MMP-9, the number of cell clones formed and the number of invasive cells were decreased ($P < 0.05$) in the miR-654-5p group. Cell viability, scratch healing rate, the protein levels of MMP-2 and MMP-9, the number of cell clones formed, and the number of invasive cells were increased ($P < 0.05$) in the si-circCLK3 + anti-miR-654-5p group.

CONCLUSION

circCLK3 promotes CRC cell proliferation, migration, and invasion by targeting miR-654-5p.

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

Key Words: Colorectal cancer; circCLK3; miR-654-5p; Proliferation; Migration; Invasion

Citation: Jiang LQ, Guo Y. circCLK3 regulates colorectal cancer SW620 cell proliferation, migration, and invasion by targeting miR-654-5p. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2023; 31(10): 397-403
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i10/397.htm>
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i10.397>

摘要

背景

最近的研究已经表明了环状RNA(circular RNA, circRNA)在包括结直肠癌在内的多种癌症进展中的重要调节因子的作用。然而, circCLK3的生物学功能及其调控结直肠癌进展的潜在机制尚不清楚。

目的

探究circCLK3对结直肠癌SW620细胞增殖、迁移及侵袭的影响和潜在的分子机制。

方法

收集本院47例结直肠癌组织及癌旁组织, qRT-PCR法检测circCLK3、miR-654-5p的表达; 体外培养SW620细胞并分为: si-circCLK3组、pcDNA-circCLK3组、miR-654-5p组、si-circCLK3+anti-miR-654-5p组及相应的对照组(si-NC组、pcDNA组、miR-NC组、si-circCLK3+anti-miR-NC组); 采用CCK8、克隆形成实验、划痕实验与Transwell实验分析细胞增殖、迁移及侵袭; 采用双荧光素酶报告分析circCLK3与miR-654-5p的靶向关系; 采用Western blot检测基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-9蛋白表达。

结果

circCLK3在结直肠癌组织中高表达($P < 0.05$), 而miR-654-5p低表达($P < 0.05$); si-circCLK3可以降低细胞活

力、划痕愈合率、MMP-2和MMP-9蛋白表达、克隆形成数和侵袭细胞数($P < 0.05$); circCLK3可负向调控miR-654-5p的表达; miR-654-5p抑制细胞活力、划痕愈合率、MMP-2和MMP-9蛋白表达、克隆形成数和侵袭细胞数($P < 0.05$); 另外, si-circCLK3+anti-miR-654-5p可以促进细胞活力、划痕愈合率、MMP-2和MMP-9蛋白表达、克隆形成数和侵袭细胞数($P < 0.05$)。

结论

circCLK3靶向miR-654-5p促进结直肠癌细胞增殖、迁移及侵袭。

© The Author(s) 2023. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

关键词: 结直肠癌; circCLK3; miR-654-5p; 增殖; 迁移; 侵袭

核心提要: 我们的研究展示了circCLK3在结直肠癌组织和细胞SW620中显著高表达。功能分析表明了circCLK3下调可以抑制结直肠癌细胞SW620的增殖, 迁移, 和侵袭通过靶向miR-654-5p。

文献来源: 姜丽琴, 郭赞. circCLK3通过靶向miR-654-5p促进结直肠癌细胞增殖、迁移及侵袭的机制研究. *世界华人消化杂志* 2023; 31(10): 397-403

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v31/i10/397.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v31.i10.397>

0 引言

结直肠癌是全球癌症相关死亡的主要原因之一, 特别是远处肿瘤扩散患者的生存率较低^[1,2], 因而探究影响其发展的分子机制对于结直肠癌的治疗有重要意义。环状RNA(circular RNA, circRNA)有微小RNA(microRNA, miRNA)的反应元件并可竞争结合miRNA从而影响蛋白表达。研究显示^[3,4], 很多circRNA在结直肠癌组织中异常表达, 并参与调控了癌细胞的恶性表型。circCLK3被发现于舌鳞癌组织中高表达, 且其敲低可降低癌细胞的增殖和转移^[5]。但circCLK3在结直肠癌中表达及其可能作用机制尚未可知。StarBase预测显示circCLK3与miR-654-5p能够通过结合位点结合。研究表明^[6], miR-654-5p在结直肠癌细胞中低表达, 且其过表达可降低癌细胞的增殖和转移。但circCLK3是否可通过竞争性结合miR-654-5p而参与结直肠癌的发展尚不清楚。因此, 我们探究circCLK3是否靶向miR-654-5p而调控结直肠癌细胞增殖、迁移及侵袭。

1 材料和方法

1.1 材料 从本院招募47例结直肠癌患者, 患者年龄在19

岁-70岁之间, 男性28例, 女性19例, 已发生远处肿瘤转移的患者是24例。收集癌组织及癌旁组织并保存于-80℃。本研究获得了病人或其亲属的知情同意, 且符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。本研究经我院伦理委员会批准, 审查文件号: 2023002。

人结直肠癌细胞SW620购自美国ATCC; DMEM培养基、胎牛血清与胰蛋白酶购自美国Thermo Fisher; Lipofectamine2000、Trizol试剂、反转录、荧光定量PCR试剂盒购自美国Invitrogen; 质粒与寡核苷酸由上海吉玛合成; CCK8试剂盒与双荧光素酶检测试剂盒购自上海碧云天; Transwell小室、Matrigel基质胶购自美国BD; 兔抗人基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-9、GAPDH与二抗购自美国Abcam。

1.2 方法

1.2.1 细胞转染: SW620细胞培养于含10%胎牛血清的DMEM并置于37℃、50 mL/L CO₂培养箱。根据Lipofectamine2000说明书将si-circCLK3、pcDNA-circCLK3、miR-654-5p mimics、anti-miR-654-5p及相应的对照(si-NC、pcDNA、miR-NC、anti-miR-NC)转染入细胞。

1.2.2 qRT-PCR: 总RNA用Trizol试剂提取, 然后反转录合成cDNA。以cDNA为模板进行qRT-PCR。采用2^{-ΔΔCt}法计算相对表达量并以GAPDH或U6为内参。

1.2.3 CCK8: 细胞接种于96孔板培养48 h, 然后与CCK8溶液孵育。酶标仪检测在450 nm处的光密度(OD)值。

1.2.4 克隆形成实验: 细胞接种于6孔板培养14 d。细胞菌落用甲醇固定和结晶紫染色, 然后在显微镜下统计克隆形成数。

1.2.5 划痕实验: 细胞接种于6孔板, 待细胞长满时用20 μL枪头画出一条笔直的道痕, 然后清洗后于显微镜下拍照(0 h)。将培养板放入培养箱内继续培养24 h, 然后用ImageJ软件分析划痕愈合率。

1.2.6 Transwell: 细胞接种于预包被Matrigel基质胶的上室, 下室加入完全培养基。48 h后, 细胞经多聚甲醛固定和结晶紫染色, 在显微镜下统计侵袭细胞数。

1.2.7 双荧光素酶报告实验: 由美国Promega公司构建完成含有circCLK3与miR-654-5p结合位点的野生型载体WT-circCLK3以及含有其突变位点的突变型载体MUT-circCLK3。SW620细胞共转染miR-NC/miR-654-5p mimics和WT-circCLK3/MUT-circCLK3, 于48 h后检测相对荧光素酶活性。

1.2.8 Western blot: 总蛋白用RIPA裂解液提取, 经SDS-PAGE电泳, 然后转移至PVDF膜上。膜用脱脂牛奶封闭, 然后与anti-MMP-2(1:1000)、anti-MMP-9(1:1000)与anti-GAPDH(1:2000)孵育。经二抗(1:3000)孵育后, 用ECL显

示蛋白条带并用Quantity One软件进行灰度分析。

统计学处理 数据用SPSS 21.0软件分析, 以(mean±SD)表示。独立样本t检验及单因素方差分析进行组间比较, 以P<0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 circCLK3和miR-654-5p的表达 分析显示circCLK3在结直肠癌组织中高表达(P<0.001), 而miR-654-5p低表达(P<0.001), 见图1。

2.2 circCLK3敲低影响SW620细胞增殖 结果显示, si-circCLK3可以抑制细胞活力和克隆形成数(P<0.001), 见图2。

2.3 circCLK3敲低影响SW620细胞迁移、侵袭 si-circCLK3可以抑制划痕愈合率(P<0.001)、MMP-2和MMP-9水平(P<0.001)、侵袭细胞数(P=0.002), 见图3。

2.4 circCLK3靶向miR-654-5p 软件分析结果显示circCLK3可以与miR-654-5p互补结合。双荧光素酶分析结果显示miR-654-5p可以抑制WT-circCLK3的荧光素酶活性降低(P<0.001)而不影响MUT-circCLK3的荧光素酶活性。此外, pcDNA-circCLK3可以抑制miR-654-5p的表达(P<0.001), 而si-circCLK3可以促进miR-654-5p的表达(P<0.001), 见图4。

2.5 过表达miR-654-5p影响SW620细胞增殖、迁移和侵袭 miR-654-5p可以抑制细胞活力(P=0.002)、划痕愈合率(P=0.001)、MMP-2和MMP-9水平(P<0.001)、克隆形成数(P=0.002)和侵袭细胞数(P=0.007), 见图5。

2.6 抑制miR-654-5p逆转了circCLK3敲低对SW620细胞进程的影响 si-circCLK3+anti-miR-654-5p可以促进细胞活力(P=0.001)、划痕愈合率(P=0.001)、MMP-2和MMP-9水平(P<0.001)、克隆形成数(P=0.001)、侵袭细胞数(P=0.002), 见图6。

2.7 circCLK3通过靶向miR-654-5p促进结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭 circCLK3在结直肠癌细胞中上调表达, miR-654-5p下调表达, miR-654-5p抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭, circCLK3通过海绵miR-654-5p降低miR-654-5p的水平促进结直肠癌的增殖、迁移和侵袭, 作用示意图见图7。

3 讨论

先前的研究已经表明circRNA是由3'端与5'端以共价键结合形成的一类闭合环状RNA分子, 并具有结构稳定性与组织特异性等特点。目前研究已证实circRNA参与了结直肠癌细胞增殖和转移的调控^[7,8]。另外, 大量的circRNA可作为结肠癌靶向治疗的相关靶点, 并通过靶向miRNA而正向调控靶基因的表达进而调控结直肠癌的发展^[9,10]。

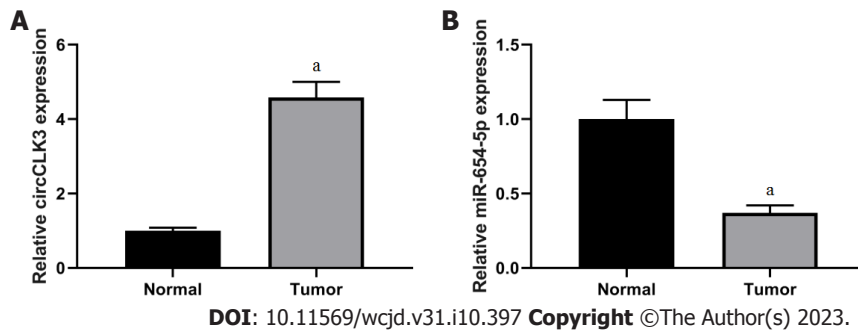


图 1 circCLK3和miR-654-5p在结直肠癌组织中的表达. A: 结直肠癌中circCLK3高表达; B: 结直肠癌中miR-654-5p低表达. ^a $P < 0.05$, 与Normal组(癌旁组织)比较.

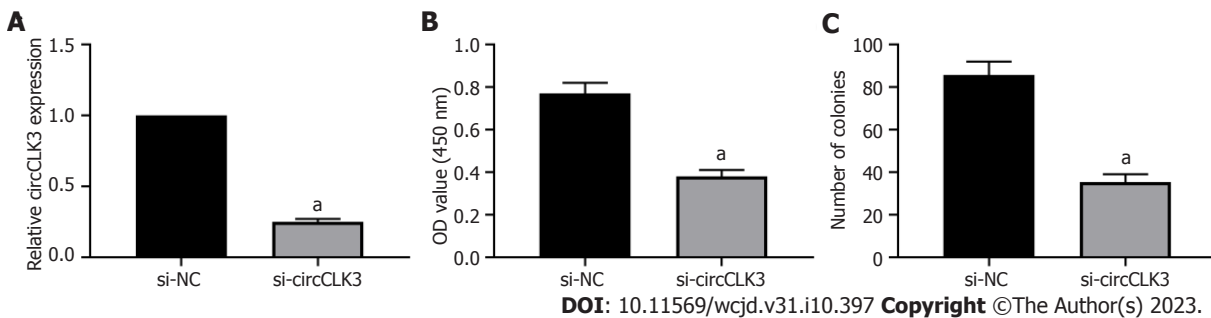


图 2 circCLK3敲低影响SW620细胞增殖. A: 干扰circCLK3转染效率的检测; B: 干扰circCLK3对结直肠癌细胞活力的影响; C: 干扰circCLK3对结直肠癌细胞克隆形成数影响. ^a $P < 0.05$, 与si-NC组比较. OD value: 光密度值.

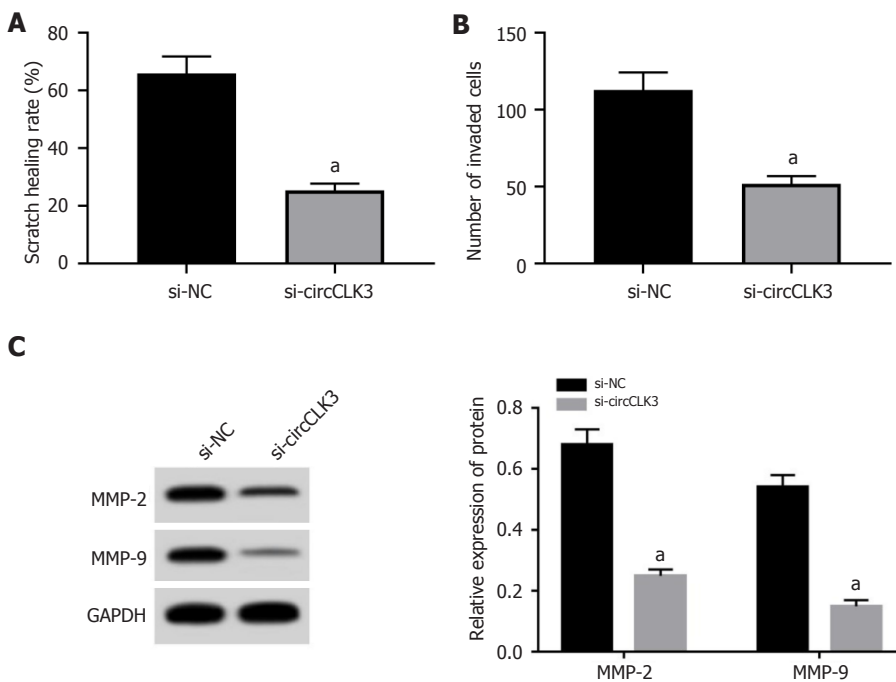
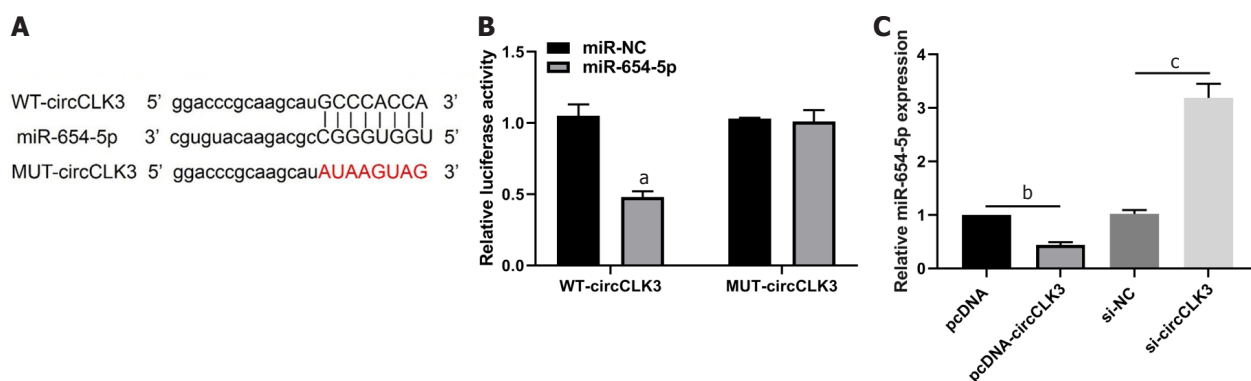


图 3 circCLK3敲低影响SW620细胞迁移、侵袭和相关蛋白表达. A: 干扰circCLK3对结直肠癌细胞迁移的影响; B: 干扰circCLK3对结直肠癌细胞侵袭的影响; C: 迁移侵袭相关蛋白表达. ^a $P < 0.05$, 与si-NC组比较. MMP-2: 基质金属蛋白酶-2; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶.

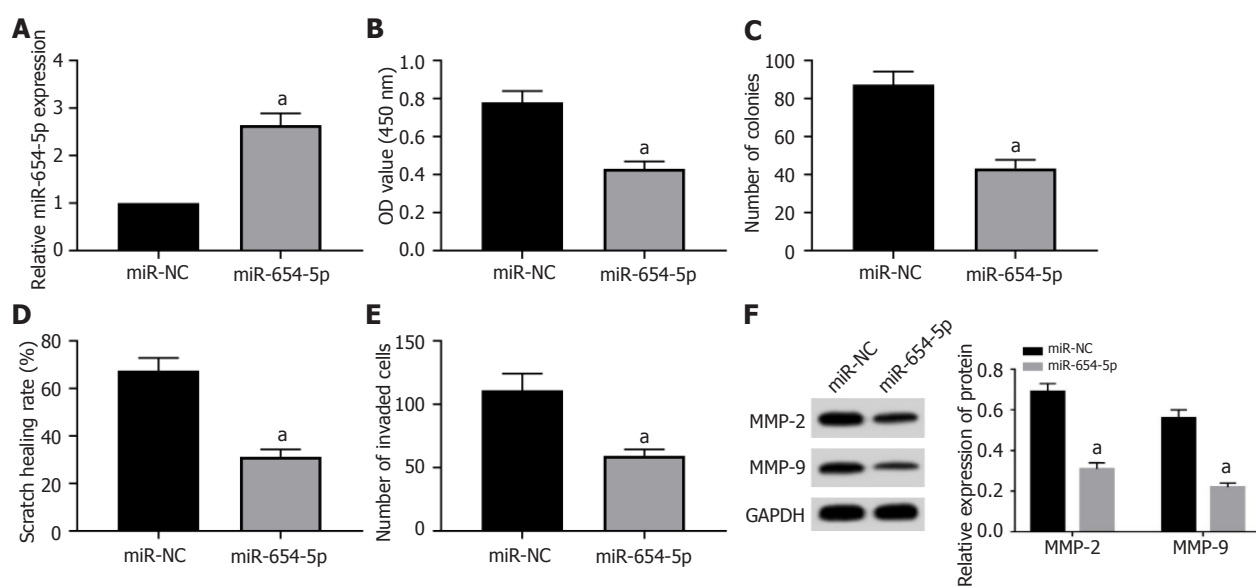
circCLK3在宫颈癌组织中高表达, 下调其表达可抑制宫颈癌细胞的增殖和转移通过靶向miR-320a/FoxM1

途径^[1]. circCLK3通过充当miR-455-5p的海绵分子而下调PARVA, 进而促进舌鳞状细胞癌增殖, 迁移, 和侵袭^[5].



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i10.397 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 4 circCLK3靶向miR-654-5p. A: circCLK3含有miR-654-5p的互补序列; B: 双荧光素酶报告实验; C: miR-654-5p的表达被circCLK3调控。^a $P < 0.05$, 与miR-NC组比较; ^b $P < 0.05$, 与pcDNA组比较; ^c $P < 0.05$, 与si-NC组比较。



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i10.397 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 5 过表达miR-654-5p影响SW620细胞增殖、迁移、侵袭和相关蛋白表达. A: 过表达miR-654-5p转染效率的检测; B: 过表达miR-654-5p对结直肠癌细胞活力的影响; C: 过表达miR-654-5p对结直肠癌细胞克隆形成数影响; D: 过表达miR-654-5p对结直肠癌细胞迁移的影响; E: 过表达miR-654-5p对结直肠癌细胞侵袭的影响; F: 迁移侵袭相关蛋白表达。^a $P < 0.05$, 与miR-NC组比较. MMP-2: 基质金属蛋白酶-2; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

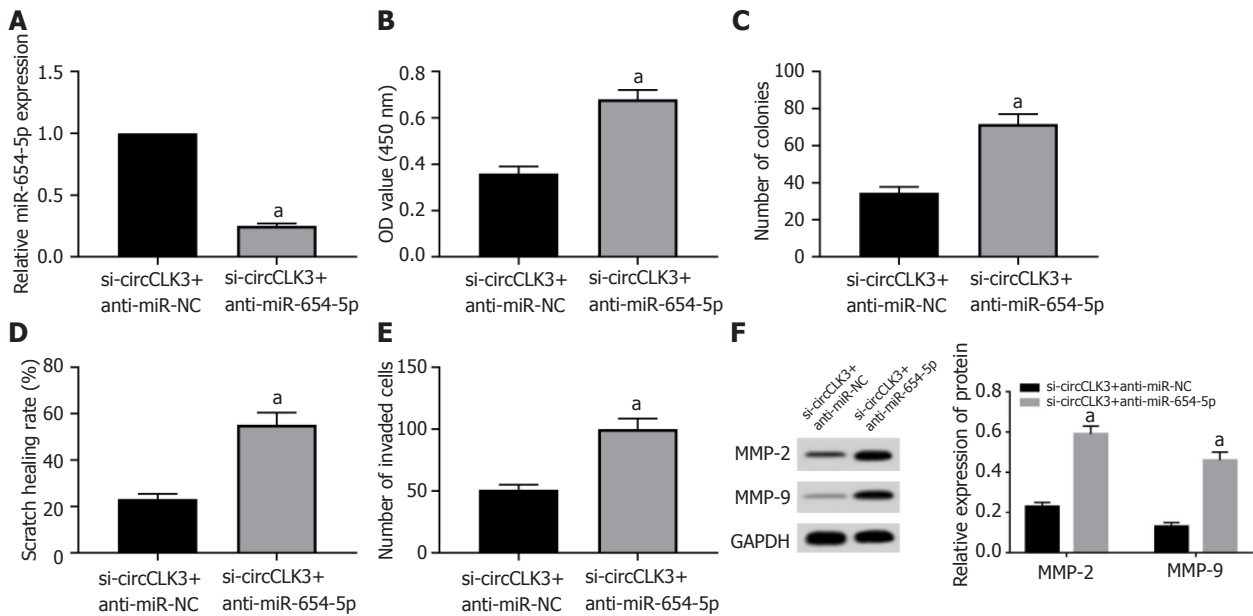
但circCLK3在结直肠癌进程中的作用尚未研究. 本研究发现, circCLK3在结直肠癌组织中高表达, 且其敲低可抑制癌细胞增殖. 这表明circCLK3具有促进结直肠癌细胞增殖的作用. MMP-2和MMP-9是基质金属蛋白酶, 被发现在结直肠癌中表达上调并促进细胞转移^[12,13]. 本研究发现, circCLK3敲低可抑制细胞迁移及侵袭, 并降低MMP-2和MMP-9表达, 表明circCLK3可以促进结直肠癌细胞迁移及侵袭.

为进一步探究circCLK3在结直肠癌发生发展过程中的作用机制, 本研究证实circCLK3与miR-654-5p存在靶向调控作用, circCLK3可靶向结合miR-654-5p. 既往的报道显示, miR-654-5p在乳腺癌中低表达, 其过表达可降低癌细胞的生长和侵袭能力^[14]. 另外, 上调miR-654-5p可

抑制骨肉瘤细胞的增殖和转移^[15], 并降低卵巢癌细胞的生长能力^[16,17]. 此外, miR-654-5p已经被报道在结肠癌患者中是高表达, 并且它的高表达是结肠癌患者不良的预后标志物^[18]. 这可能是因为肿瘤的发生是一类极其复杂的生物学过程, 一些病例可能是因子的上调, 一些病例可能就是下调. 本研究中发现, miR-654-5p在结直肠癌组织中低表达, 其过表达可抑制结直肠癌细胞增殖和转移. 另外, anti-miR-654-5p可拮抗si-circCLK3对癌细胞增殖和转移的抑制作用, 表明circCLK3靶向miR-654-5p而促进结直肠癌发展.

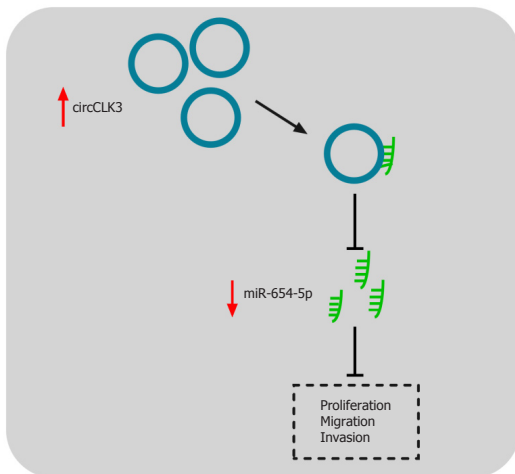
4 结论

综上所述, circCLK3在结直肠癌SW620细胞中上调, miR-



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i10.397 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 6 抑制miR-654-5p逆转了circCLK3敲低对细胞增殖、迁移、侵袭和相关蛋白表达的影响. A: miR-654-5p在结直肠癌细胞中的表达; B: 结直肠癌细胞的活力; C: 结直肠癌细胞的克隆形成数; D: 结直肠癌细胞的迁移; E: 结直肠癌细胞的侵袭; F: 迁移侵袭相关蛋白表达. $P<0.05$, 与si-circCLK3+anti-miR-NC组比较. MMP-2: 基质金属蛋白酶-2; MMP-9: 基质金属蛋白酶-9; GAPDH: 甘油醛-3-磷酸脱氢酶.



DOI: 10.11569/wcjd.v31.i10.397 Copyright ©The Author(s) 2023.

图 7 circCLK3通过靶向miR-654-5p促进结直肠癌细胞的增殖、迁移和侵袭示意图.

654-5p表达下调, 干扰circCLK3可通过靶向miR-654-5p抑制结直肠癌细胞的增殖、迁移及侵袭. 这些结果意味着靶向抑制circCLK3可能是治疗结直肠癌的有效举措, 但这些研究只局限于体外的实验, 关于circCLK3在体内是如何作用于结直肠癌以及相关的作用机制仍有待继续研究.

文章亮点

实验背景

先前的研究证实了环状RNA在包括结直肠癌在内的

多种恶性肿瘤进展中发挥了重要调节因子作用. 然而, circCLK3的功能和潜在的调控机制在结直肠癌进展尚不清楚.

实验动机

探索circCLK3是否可以调控结直肠癌的进展, 为临床治疗结直肠癌提供有效靶点.

实验目标

以miR-654-5p为切入点探索circCLK3在结直肠癌中的作用和机制, 这可能是CRC的治疗靶点.

实验方法

qRT-PCR法检测circCLK3、miR-654-5p在结直肠癌组织及癌旁组织的表达; 采用CCK8、克隆形成实验、划痕实验与Transwell实验分析细胞增殖、迁移及侵袭; 采用双荧光素酶报告分析circCLK3与miR-654-5p的靶向关系; 采用Western blot检测基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)-2、MMP-9蛋白表达。

实验结果

我们实验结果证实了circCLK3在结直肠癌中的作用和潜在的机制。数据展示了circCLK3在结直肠癌组织中高表达, 而miR-654-5p低表达; 功能实验验证 si-circCLK3可以降低细胞活力、划痕愈合率、MMP-2和MMP-9蛋白表达、克隆形成数和侵袭细胞数; circCLK3可负向调控miR-654-5p的表达; miR-654-5p抑制细胞活力、划痕愈合率、MMP-2和MMP-9蛋白表达、克隆形成数和侵袭细胞数; 另外, si-circCLK3+anti-miR-654-5p可以促进细胞活力、划痕愈合率、MMP-2和MMP-9蛋白表达、克隆形成数和侵袭细胞数。

实验结论

这次研究揭示了circCLK3在结直肠癌组织和细胞中上调, 干扰circCLK3通过促进miR-654-5p表达来抑制结直肠癌细胞增殖、迁移及侵袭。因此, 我们认为circCLK3/miR-654-5p轴可能对调节结直肠癌进展至关重要, 并且可能是结直肠癌的治疗靶点。

展望前景

本研究了circCLK3/miR-654-5p轴可以调控结直肠癌生物恶性行为, 为临床治疗CRC提供有效靶点。

5 参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Wagle NS, Jemal A. Cancer statistics, 2023. *CA Cancer J Clin* 2023; 73: 17-48 [PMID: 36633525 DOI: 10.3322/caac.21763]
- 2 Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet* 2019; 394: 1467-1480 [PMID: 31631858 DOI: 10.1016/S0140-6736(19)32319-0]
- 3 Li C, Zhou H. Circular RNA hsa_circRNA_102209 promotes the growth and metastasis of colorectal cancer through miR-761-mediated Ras and Rab interactor 1 signaling. *Cancer Med* 2020; 9: 6710-6725 [PMID: 32706154 DOI: 10.1002/cam4.3332]
- 4 Deng Q, Wang CJ, Hao R, Yang QY. Circ_0001982 accelerates the progression of colorectal cancer via sponging microRNA-144. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2021; 25: 2458 [PMID: 33829421 DOI: 10.26355/eurrev_202103_25394]
- 5 Yu H, Yu Z, Wang X, Wang D. Circular RNA circCLK3 promotes the progression of tongue squamous cell carcinoma via miR-455-

- 5p/PARVA axis. *Biotechnol Appl Biochem* 2022; 69: 431-441 [PMID: 33655541 DOI: 10.1002/bab.2120]
- 6 Huang F, Wu X, Wei M, Guo H, Li H, Shao Z, Wu Y, Pu J. miR-654-5p Targets HAX-1 to Regulate the Malignancy Behaviors of Colorectal Cancer Cells. *Biomed Res Int* 2020; 2020: 4914707 [PMID: 32104694 DOI: 10.1155/2020/4914707]
- 7 Li Y, Zang H, Zhang X, Huang G. circ_0136666 Facilitates the Progression of Colorectal Cancer via miR-383/CREB1 Axis. *Cancer Manag Res* 2020; 12: 6795-6806 [PMID: 32821160 DOI: 10.2147/CMAR.S251952]
- 8 Wang X, Chen Y, Liu W, Liu T, Sun D. Hsa_circ_0128846 promotes tumorigenesis of colorectal cancer by sponging hsa-miR-1184 and releasing AJUBA and inactivating Hippo/YAP signalling. *J Cell Mol Med* 2020; 24: 9908-9924 [PMID: 32681581 DOI: 10.1111/jcmm.15590]
- 9 Li H, Jin X, Liu B, Zhang P, Chen W, Li Q. CircRNA CBL11 suppresses cell proliferation by sponging miR-6778-5p in colorectal cancer. *BMC Cancer* 2019; 19: 826 [PMID: 31438886 DOI: 10.1186/s12885-019-6017-2]
- 10 Li Z, Yao H, Wang S, Li G, Gu X. CircTADA2A suppresses the progression of colorectal cancer via miR-374a-3p/KLF14 axis. *J Exp Clin Cancer Res* 2020; 39: 160 [PMID: 32799891 DOI: 10.1186/s13046-020-01642-7]
- 11 Hong H, Zhu H, Zhao S, Wang K, Zhang N, Tian Y, Li Y, Wang Y, Lv X, Wei T, Liu Y, Fan S, Liu Y, Li Y, Cai A, Jin S, Qin Q, Li H. The novel circCLK3/miR-320a/FoxM1 axis promotes cervical cancer progression. *Cell Death Dis* 2019; 10: 950 [PMID: 31831728 DOI: 10.1038/s41419-019-2183-z]
- 12 Zhang L, Zhang Y, Zhu H, Sun X, Wang X, Wu P, Xu X. Overexpression of miR-301a-3p promotes colorectal cancer cell proliferation and metastasis by targeting deleted in liver cancer-1 and runt-related transcription factor 3. *J Cell Biochem* 2019; 120: 6078-6089 [PMID: 30362160 DOI: 10.1002/jcb.27894]
- 13 Zhou T, Wu L, Wang Q, Jiang Z, Li Y, Ma N, Chen W, Hou Z, Gan W, Chen S. MicroRNA-128 targeting RPN2 inhibits cell proliferation and migration through the Akt-p53-cyclin pathway in colorectal cancer cells. *Oncol Lett* 2018; 16: 6940-6949 [PMID: 30546426 DOI: 10.3892/ol.2018.9506]
- 14 Tan YY, Xu XY, Wang JF, Zhang CW, Zhang SC. MiR-654-5p attenuates breast cancer progression by targeting EPSTI1. *Am J Cancer Res* 2016; 6: 522-532 [PMID: 27186421]
- 15 Xu XZ, Song H, Zhao Y, Zhang L. MiR-654-5p regulated cell progression and tumor growth through targeting SIRT6 in osteosarcoma. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 3517-3525 [PMID: 32329825 DOI: 10.26355/eurrev_202004_20811]
- 16 Li ZY, Wang XL, Dang Y, Zhu XZ, Zhang YH, Cai BX, Zheng L. Long non-coding RNA UCA1 promotes the progression of paclitaxel resistance in ovarian cancer by regulating the miR-654-5p/SIK2 axis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2020; 24: 591-603 [PMID: 32016960 DOI: 10.26355/eurrev_202001_20035]
- 17 Majem B, Parrilla A, Jiménez C, Suárez-Cabrera L, Barber M, Marín A, Castellví J, Tamayo G, Moreno-Bueno G, Ponce J, Matias-Guiu X, Alameda F, Romero I, Sánchez JL, Pérez-Benavente A, Moran S, Esteller M, Reventós J, Rigau M, Gil-Moreno A, Segura MF, Santamaría A. MicroRNA-654-5p suppresses ovarian cancer development impacting on MYC, WNT and AKT pathways. *Oncogene* 2019; 38: 6035-6050 [PMID: 31278368 DOI: 10.1038/s41388-019-0860-0]
- 18 Li P, Cai JX, Han F, Wang J, Zhou JJ, Shen KW, Wang LH. Expression and significance of miR-654-5p and miR-376b-3p in patients with colon cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2020; 12: 492-502 [PMID: 32368326 DOI: 10.4251/wjgo.v12.i4.492]

科学编辑: 张砚梁 制作编辑: 张砚梁





Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7041 Koll Center Parkway, Suite 160, Pleasanton,
CA 94566, USA
Telephone: +1-925-3991568
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
https://www.wjgnet.com



ISSN 1009-3079

