

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

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2021 年 1 月 8 日      第 29 卷      第 1 期      (Volume 29 Number 1)



## 1 / 2021

ISSN 1009-3079



《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。



## 目次

2021年1月8日 第29卷 第1期 (总第669期)

### 述评

- 1 功能性肛门直肠痛的临床诊疗进展  
韦元成, 金黑鹰, 张春霞, 张心怡, 叶晓瑞, 王灿

### 基础研究

- 7 LncRNA LINC01224/miR-513b-5p对结肠癌细胞SW1116增殖、迁移及侵袭的影响  
张兆辉, 王利民

### 临床研究

- 15 短肽型肠内营养制剂对慢性乙型肝炎合并肾功能衰竭患者的临床运用分析  
刘一宁, 马景涛, 高志远, 王宇平
- 21 经双腔引流管大容量灌洗并持续负压引流用于感染性胰腺坏死的疗效分析  
党军强, 贾亭街, 张志强, 龚新利, 王浩瑜, 任彦顺

### 文献综述

- 29 胆胰肠结合部医源性损伤的诊疗与预防  
魏玉华, 施宝民
- 34 血管紧张素-Ⅱ与急性胰腺炎  
黄子俊, 吕永才, 雷静静, 刘琦

### 临床实践

- 41 CT门静脉成像指导下内镜治疗胃底静脉曲张疗效  
宋明全, 孙学国, 李倩, 单体栋, 沈剑华, 刘福国, 江月萍

### 研究快报

- 48 正念减压疗法对新冠疫情期间老年胃食管反流病患者心理状态和睡眠质量的影响分析  
宋昌群, 张雨轶, 吴珍

## 消 息

- 6 《世界华人消化杂志》栏目设置  
14 《世界华人消化杂志》参考文献要求  
28 《世界华人消化杂志》正文要求  
33 《肠道微生物与消化系统疾病》书讯  
47 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

## 封面故事

尹安春, 教授, 主任护师, 大连医科大学博士研究生导师, 大连医科大学附属第一医院护理学科带头人, 特聘教授. 研究内容主要围绕神经系统疾病护理与康复及急危重症护理、老年护理、慢病管理、中西医结合临床护理展开, 研究成果荣获多个奖项. 尤其在2013年, 以“自体外周血干细胞移植治疗脊髓损伤的整体方案与方法”成果第一完成人获得辽宁省科技进步一等奖, 实现护理学历史上重大突破. 以第一作者/通讯作者发表学术论文120余篇, 主编及参编各种教材40余部. 中国医院协会护理管理专业委员会第二届委员会委员, 中国中西医结合学会第六届急救医学专业委员会特约委员, 大连市护理学会副理事长, 大连市护理学会神经科分委员会主任委员, 另外担任《中华护理杂志》、《世界华人消化杂志》、《中国护理管理》、《护理学报》等杂志编委.

## 本期责任人

编务 王栋梅; 送审编辑 张晗; 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 李香; 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 2021-01-08

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)

主编

党双锁, 教授, 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

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 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, 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, 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

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, 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

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,

CA 94588, 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: +86-10-85381892

《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

© 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 29 Number 1 January 8, 2021

### EDITORIAL

- 1 Clinical diagnosis and treatment of functional anorectal pain  
*Wei YC, Jin HY, Zhang CX, Zhang XY, Ye XR, Wang C*

### BASIC RESEARCH

- 7 Effects of lncRNA LINC01224/miR-513b-5p on proliferation, migration, and invasion of colon cancer SW1116 cells  
*Zhang ZH, Wang LM*

### CLINICAL RESEARCH

- 15 Clinical application of short peptide enteral nutrition preparations in patients with chronic hepatitis B and renal failure  
*Liu YN, Ma JT, Gao ZY, Wang YP*
- 21 Efficacy of large-volume lavage through a double-lumen drainage tube and continuous negative pressure drainage for infectious pancreatic necrosis  
*Dang JQ, Jia TJ, Zhang ZQ, Gong XL, Wang HY, Ren YS*

### REVIEW

- 29 Diagnosis, treatment, and prevention of iatrogenic injury at the biliary-pancreatic-enteric junction  
*Wei YH, Shi BM*
- 34 Angiotensin- II and acute pancreatitis  
*Huang ZJ, Lv YC, Lei JJ, Liu Q*

### CLINICAL PRACTICE

- 41 CT portography guided endoscopic injection of cyanoacrylate into gastric varices  
*Song MQ, Sun XG, Li Q, Shan TD, Shen JH, Liu FG, Jiang YP*

### RAPID COMMUNICATION

- 48 Effect of mindfulness-based stress reduction therapy on psychological status and sleep quality of elderly patients with gastroesophageal reflux disease during COVID-19 pandemic  
*Song CQ, Zhang YY, Wu Z*

## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 29 Number 1 January 8, 2021

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, An-Chun Yin, Professor, PhD, Chief Nurse, The First Affiliated Hospital of Dalian Medical University, No.222 Zhongshan Road, Dalian 116011, Liaoning Province, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

Assistant Editor: *Dong-Mei Wang*

Review Editor: *Han Zhang*

Production Editor: *Yan-Liang Zhang*

English Language Editor: *Tian-Qi Wang*

Proof Editor: *Xiang Li*

Layout Reviewer: *Lian-Sheng Ma*

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** January 8, 2021

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-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

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology, Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi,

Taiyuan 030001, Shanxi Province, 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

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [wjcd@wjgnet.com](mailto:wjcd@wjgnet.com)

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Telephone: +1-925-3991568

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto: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: +86-10-85381892

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2021 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.



# LncRNA LINC01224/miR-513b-5p对结肠癌细胞SW1116增殖、迁移及侵袭的影响

张兆辉, 王利民

张兆辉, 王利民, 金华市中心医院肝胆胰外科 浙江省金华市 321000

张兆辉, 主治医师, 研究方向为肝胆胰和消化.

**作者贡献分布:** 此课题由张兆辉与王利民设计; 研究过程由张兆辉与王利民操作完成; 研究所用试剂由张兆辉提供; 数据分析由王利民完成; 本文写作由张兆辉完成.

**通讯作者:** 张兆辉, 主治医师, 321000, 浙江省金华市婺城区明月街351号, 金华市中心医院肝胆胰外科. [congzhao19960515@163.com](mailto:congzhao19960515@163.com)

**收稿日期:** 2020-10-29

**修回日期:** 2020-11-16

**接受日期:** 2020-11-26

**在线出版日期:** 2021-01-08

## Effects of lncRNA LINC01224/miR-513b-5p on proliferation, migration, and invasion of colon cancer SW1116 cells

Zhao-Hui Zhang, Li-Min Wang

**Zhao-Hui Zhang, Li-Min Wang,** Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, Jinhua Central Hospital, Jinhua 321000, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Zhao-Hui Zhang, Bachelor Degree, Attending Physician, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, Jinhua Central Hospital, No. 351 Mingyue Street, Wucheng District, Jinhua 321000, Zhejiang Province, China. [congzhao19960515@163.com](mailto:congzhao19960515@163.com)

**Received:** 2020-10-29

**Revised:** 2020-11-16

**Accepted:** 2020-11-26

**Published online:** 2021-01-08

## Abstract

### BACKGROUND

The incidence and mortality of colon cancer in China are

increasing year by year. At present, the pathogenesis of colon cancer has not been elucidated. Long non-coding RNAs (lncRNAs) play an important regulatory role in the occurrence of colon cancer and other tumors mainly by competitively binding microRNAs. It is known that the lncRNA LINC01224 may play an oncogenic role in tumors, but the mechanism of LINC01224 in the development and progression of colon cancer has not been elucidated.

### AIM

To explore the effects of lncRNA LINC01224/miR-513b-5p on the proliferation, migration, and invasion of colon cancer SW1116 cells and the possible mechanism involved.

### METHODS

qRT-PCR was used to detect the expression of LINC01224 and miR-513b-5p in colon cancer and tumor adjacent tissues. si-NC, si-LINC01224, and si-LINC01224, as well as anti-miR-NC, si-LINC01224, and anti-miR-513b-5p were transfected into human colon cancer SW1116 cells. qRT-PCR was used to detect the expression of LINC01224 and miR-513b-5p in SW1116 cells. MTT assay was used to detect the cell survival rate. Flow cytometry was used to detect the cell cycle. Transwell assay was used to detect cell migration and invasion. The dual luciferase reporter assay was used to detect the targeting relationship between LINC01224 and miR-513b-5p. Western blot method was used to detect the expression of E-cadherin and N-cadherin proteins.

### RESULTS

Compared with adjacent tissues, the expression level of LINC01224 in colon cancer tissues was increased ( $P < 0.05$ ), and the expression level of miR-513b-5p was decreased ( $P < 0.05$ ). Compared with the si-NC group,

the survival rate of cells in the si-LINC01224 group was reduced ( $P < 0.05$ ), the proportion of cells in the G0-G1 phase was increased ( $P < 0.05$ ), the proportion of cells in the S phase was reduced ( $P < 0.05$ ), the numbers of migrating and invasive cells were decreased ( $P < 0.05$ ), the protein level of E-cadherin was increased ( $P < 0.05$ ), and the protein level of N-cadherin was decreased ( $P < 0.05$ ). The dual luciferase reporter assay confirmed that LINC01224 could target miR-513b-5p. Compared with the si-LINC01224 + anti-miR-NC group, the cell survival rate of cells in the si-LINC01224 + anti-miR-513b-5p group was increased ( $P < 0.05$ ), the proportion of cells in the G0-G1 phase was decreased ( $P < 0.05$ ), the proportion of cells was increased ( $P < 0.05$ ), the numbers of migrating and invasive cells were increased ( $P < 0.05$ ), the protein level of E-cadherin was decreased ( $P < 0.05$ ), and the protein level of N-cadherin was increased ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

Interfering with the expression of LINC01224 reduces the proliferation, migration, and invasion of colon cancer cells by up-regulating miR-513b-5p, and induces cell cycle arrest in G0-G1 phase.

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** LncRNA LINC01224; miR-513b-5p; Colon cancer; Proliferation; Migration; Invasion

**Citation:** Zhang ZH, Wang LM. Effects of LncRNA LINC01224/miR-513b-5p on proliferation, migration, and invasion of colon cancer SW1116 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2021; 29(1): 7-14

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i1/7.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i1.7>

## 摘要

### 背景

我国结肠癌发病率与死亡率逐年上升, 目前结肠癌的发病机制尚未阐明, LncRNA在结肠癌等肿瘤发生过程中可发挥重要调控作用, 其主要通过竞争性结合miRNA而发挥作用, 已知LncRNA LINC01224在肿瘤中可能发挥癌基因作用, 但LINC01224在结肠癌形成及发展过程中的作用机制尚未阐明。

### 目的

探讨LncRNA LINC01224/miR-513b-5p对结肠癌细胞SW1116增殖、迁移、侵袭的影响及其可能作用机制。

### 方法

采用qRT-PCR法检测癌旁组织与结肠癌组织中LINC01224、miR-513b-5p的表达量; si-NC、si-LINC01224、si-LINC01224与anti-miR-NC、si-LINC01224与anti-miR-513b-5p分别转染入结肠癌

细胞SW1116; 采用qRT-PCR法检测SW1116细胞中LINC01224、miR-513b-5p的表达量; 采用MTT实验检测细胞存活率; 应用流式细胞仪检测细胞周期; 采用Transwell小室实验检测细胞迁移及侵袭; 双荧光素酶报告实验检测LINC01224与miR-513b-5p的靶向关系; Western blot法检测E-cadherin、N-cadherin蛋白表达量。

## 结果

与癌旁组织比较, 结肠癌组织中LINC01224的表达水平升高( $P < 0.05$ ), miR-513b-5p的表达水平降低( $P < 0.05$ ); 与si-NC组比较, si-LINC01224组细胞存活率降低( $P < 0.05$ ), G0-G1期细胞比例升高( $P < 0.05$ ), S期细胞比例降低( $P < 0.05$ ), 迁移及侵袭细胞数减少( $P < 0.05$ ), E-cadherin蛋白水平升高( $P < 0.05$ ), N-cadherin蛋白水平降低( $P < 0.05$ ); 双荧光素酶报告实验证实LINC01224可靶向结合miR-513b-5p; 与si-LINC01224+anti-miR-NC组比较, si-LINC01224+anti-miR-513b-5p组细胞存活率升高( $P < 0.05$ ), G0-G1期细胞比例降低( $P < 0.05$ ), S期细胞比例升高( $P < 0.05$ ), 迁移及侵袭细胞数增多( $P < 0.05$ ), E-cadherin蛋白水平降低( $P < 0.05$ ), N-cadherin蛋白水平升高( $P < 0.05$ )。

## 结论

干扰LINC01224表达可通过上调miR-513b-5p而减弱结肠癌细胞增殖、迁移及侵袭能力, 并可诱导细胞周期阻滞于G0-G1期。

© The Author(s) 2021. Published by Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**关键词:** LncRNA LINC01224; miR-513b-5p; 结肠癌; 增殖; 迁移; 侵袭

**核心提要:** LINC01224在结肠癌中表达上调, 而miR-513b-5p则表达下调, LINC01224可吸附miR-513b-5p而负向调控miR-513b-5p的表达, 体外细胞实验证实干扰LINC01224表达可通过竞争性结合miR-513b-5p而调节结肠癌细胞增殖、迁移、侵袭、细胞周期过程, LINC01224可能作为结肠癌治疗的潜在靶点, 可为阐明结肠癌的发病机制及其治疗提供新方向。

**文献来源:** 张兆辉, 王利民. LncRNA LINC01224/miR-513b-5p对结肠癌细胞SW1116增殖、迁移及侵袭的影响. *世界华人消化杂志* 2021; 29(1): 7-14

**URL:** <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v29/i1/7.htm>

**DOI:** <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v29.i1.7>

## 0 引言

结肠癌是常见的一种恶性肿瘤, 我国结肠癌发病率与死亡率逐年上升, 已严重威胁人类生命安全, 目前结

肠癌发病机制尚未阐明, 已有研究证实长链非编码RNA (LncRNA)在结肠癌等肿瘤发生过程中可能发挥重要调控作用, LncRNA MALAT1通过调节miR-129-5p/HMGB1轴诱导结肠癌的发展<sup>[1]</sup>. LncRNA HOTAIR通过下调miR-34a促进结肠癌的发展<sup>[2]</sup>. LncRNA CASC15通过调节miR-4310/LGR5/Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路而促进结肠癌细胞的增殖和转移<sup>[3]</sup>. LncRNA FENDRR通过抑制SOX4而抑制结肠癌的进展<sup>[4]</sup>. LncRNA LINC01224在肝癌中呈高表达, 沉默LINC01224通过调控miR-330-5p/CHEK1表达而抑制肝癌的进展<sup>[5]</sup>. 但LINC01224在结肠癌发生及发展过程中的作用机制尚未阐明. 靶基因预测显示miR-513b-5p与LINC01224存在结合位点, miR-513b-5p通过靶向IRF2抑制睾丸胚胎癌细胞增殖<sup>[6]</sup>. 但LINC01224/miR-513b-5p对结肠癌细胞生物学行为的影响尚未阐明. 因此, 本研究主要探讨LINC01224与miR-513b-5p在结肠癌中的表达及其对结肠癌细胞SW1116增殖、迁移及侵袭的影响.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2018-05/2019-10期间本院收治的23例结肠癌患者为研究对象, 所有患者均经病理诊断为结肠癌, 其中男15例, 女8例, 年龄56-68岁, 平均年龄62.35岁 $\pm$ 5.69岁, 术中切除结肠癌组织与癌旁组织后置于-80℃超低温冰箱内保存. 本研究经本院伦理委员会批准, 所有患者知情且签署同意书. 人结肠癌细胞SW1116购自上海研卉生物科技有限公司; DMEM培养基购自美国Gibco公司; 胎牛血清、Lipofectamine2000购自美国Thermo Fisher公司; Trizol试剂购自美国Invitrogen公司; 反转录与荧光定量PCR试剂购自北京天根生化科技有限公司; si-NC、si-LINC01224、miR-NC、miR-513b-5p mimics、anti-miR-NC、anti-miR-513b-5p购自广州锐博生物科技有限公司; Transwell小室购自美国Corning公司; MTT试剂、Matrigel基质胶购自北京索莱宝科技有限公司; 兔抗人E-cadherin、N-cadherin抗体购自美国Santa Cruz公司; 辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔二抗购自武汉艾美捷科技有限公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 实验分组:** 使用不含胎牛血清的细胞培养液与si-NC、si-LINC01224、si-LINC01224+anti-miR-NC、si-LINC01224+anti-miR-513b-5p混合后室温孵育5 min (A液), Lipofectamine2000转染试剂与不含胎牛血清的细胞培养液充分混合(B液), A液与B液充分混匀后室温孵育20 min, 并将其加入SW1116细胞, 转染6 h弃上清液后更换含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素与100  $\mu$ g/mL链霉素的DMEM培养液后继续培养48 h, 分别记为si-NC组、

si-LINC01224组、si-LINC01224+anti-miR-NC组、si-LINC01224+anti-miR-513b-5p组.

**1.2.2 qRT-PCR检测LINC01224、miR-513b-5p的表达水平:** 采用Trizol法提取癌旁组织、结肠癌组织及各组SW1116细胞总RNA, 应用紫外分光光度计测定RNA浓度. 反转录体系: 5 $\times$ g DNA Buffer 2  $\mu$ L, 10 $\times$ King RT Buffer 2  $\mu$ L, FastKing RT Enzyme Mix 1  $\mu$ L, FQ-RT Primer Mix 2  $\mu$ L, RNA(2  $\mu$ g), RNase-Free ddH<sub>2</sub>O补足体系至20  $\mu$ L; 反应条件: 42℃ 15 min, 95℃ 3 min. 以cDNA为模板进行qRT-PCR反应, 参照荧光定量PCR试剂说明书配置反应体系与设置反应条件, 应用罗氏LightCycler480荧光定量PCR仪检测LINC01224、miR-513b-5p相对表达量. LINC01224正向引物5'-TGACACTTCTTGCCTGCAAC-3', 反向引物5'-ACTTCTGCTTCCCGAGTTCA-3'; miR-513b-5p正向引物5'-TGACACTTCTTGCCTGCAAC-3', 反向引物5'-ACTTCTGCTTCCCGAGTTCA-3'; U6正向引物5'-ATTGGAACGATACAGAGAAGATT-3', 反向引物5'-GGAACGCTTCACGAATTTG-3'; GAPDH正向引物5'-AACGGATTTGGTCGTATTG-3', 反向引物5'-GGAAGATGGTGATGGGATT-3'.

**1.2.3 MTT检测细胞增殖:** SW1116细胞( $1 \times 10^5$ 个/mL)接种于96孔板(100  $\mu$ L/孔), 每孔加入MTT溶液20  $\mu$ L后置于培养箱内孵育4 h, 弃上清后加入DMSO (150  $\mu$ L/孔), 室温孵育5 min后应用酶标仪检测各孔吸光度值并计算细胞存活率[实验组OD值/对照组OD值 $\times$ 100%].

**1.2.4 检测细胞周期:** 收集各组SW1116细胞( $1 \times 10^5$ 个/mL)后加入预冷PBS洗涤, 3000 r/min转速离心5 min后弃上清, 加入预冷PBS (500  $\mu$ L)重悬细胞, 加入预冷70%乙醇(3.5 mL), 充分混匀后置于4℃冰箱内孵育24 h, 弃上清, 采用PBS洗涤后再次弃上清, 向细胞沉淀中加入RNaseA (50  $\mu$ L)后水浴30 min (37℃), 加入PI染色液(450  $\mu$ L)染色30 min (4℃), 应用流式细胞仪检测细胞周期.

**1.2.5 Transwell实验检测细胞迁移与侵袭:** 各组SW1116细胞( $1 \times 10^5$ 个/mL)加入小室(6.5 mm 0.33 cm<sup>2</sup> 0.4  $\mu$ m 24孔板)的上室(200  $\mu$ L/孔), 下室加入含10%胎牛血清的培养液(600  $\mu$ L/孔), 将其置于培养箱内孵育24 h后使用PBS洗涤, 经过多聚甲醛(20 min)与0.1%结晶紫染液处理(10 min), 观察迁移细胞数. 使用培养液稀释Matrigel基质胶后加入小室的上室(40  $\mu$ L/孔), 将其置于培养箱内孵育5 h后加入各组SW1116细胞, 后续实验步骤同上, 观察侵袭细胞数.

**1.2.6 双荧光素酶报告基因检测LINC01224与miR-513b-5p:** LncBase v.2预测显示LINC01224与miR-513b-5p存在结合位点, 并应用基因突变技术将结合位点进行



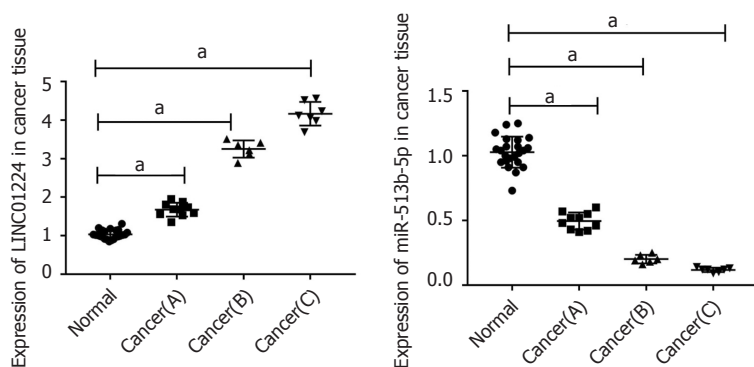


图1 LINC01224和miR-513b-5p的表达. Normal为癌旁组织, Cancer(A)、Cancer(B)、Cancer(C)分别为癌组织1、2、3分期, 其中Cancer(A)例数为10, Cancer(B)例数为6, Cancer(C)例数为7.  $^*P < 0.05$ , 与癌旁组织组相比.

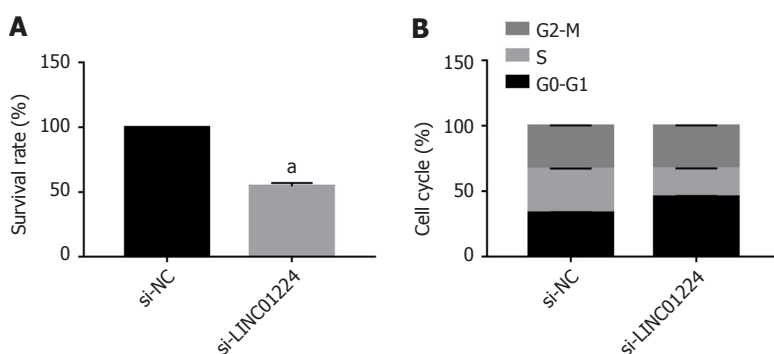


图2 干扰LINC01224对SW1116细胞存活率和细胞周期的影响. A: 干扰LINC01224抑制细胞存活; B: 干扰LINC01224影响细胞周期.  $^*P < 0.05$ , 与si-NC组相比.

突变, 含有结合位点与突变位点的序列插入荧光素酶报告基因载体分别构建野生型载体WT-LINC01224与突变型载体MUT-LINC01224, miR-NC、miR-513b-5p mimics与WT-LINC01224、MUT-LINC01224分别共转染入SW1116细胞后继续培养24 h, 收集细胞并检测荧光素酶活性.

1.2.7 Western blot检测E-cadherin、N-cadherin蛋白表达: 收集各组SW1116细胞加入适量RIPA裂解液提取细胞总蛋白, SDS-PAGE分离蛋白, 转膜、封闭(2 h), 孵育一抗稀释液(1:1000)后4 °C条件下孵育24 h, 采用TBST洗涤后孵育二抗稀释液(1:2000), 室温孵育1 h, 滴加ECL显影, 应用ImageJ软件分析各条带灰度值.

**统计学处理** 应用SPSS 21.0统计学软件分析数据, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示且均符合正态分布, 两组间比较采用独立样本 $t$ 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 LINC01224和miR-513b-5p在结肠癌中的表达 与癌旁组织比较, 结肠癌组织中LINC01224的表达水平升高

( $P < 0.05$ ), miR-513b-5p的表达水平降低( $P < 0.05$ ), 见图1.

2.2 干扰LINC01224对SW1116增殖的影响 与si-NC组比较, si-LINC01224组细胞存活率降低( $P < 0.05$ ), G0-G1期细胞比例升高( $P < 0.05$ ), S期细胞比例降低( $P < 0.05$ ), G2-M期细胞比例比较无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见图2.

2.3 干扰LINC01224对SW1116迁移侵袭的影响 与si-NC组比较, si-LINC01224组迁移及侵袭细胞数减少( $P < 0.05$ ), E-cadherin蛋白水平升高( $P < 0.05$ ), N-cadherin蛋白水平降低( $P < 0.05$ ), 见图3.

2.4 LINC01224靶向miR-513b-5p LncBase v.2预测显示LINC01224与miR-513b-5p存在结合位点, 见图2. miR-513b-5p过表达可降低野生型载体WT-LINC01224的荧光素酶活性( $P < 0.05$ ), 而对突变型载体MUT-LINC01224的荧光素酶活性无明显影响( $P > 0.05$ ), 见图4.

2.5 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对SW1116增殖的影响 与si-LINC01224+anti-miR-NC组比较, si-LINC01224+anti-miR-513b-5p组细胞存活率升高( $P < 0.05$ ), G0-G1期细胞比例降低( $P < 0.05$ ), S期细胞比例升高( $P < 0.05$ ), G2-M期细胞比例比较无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见图5.

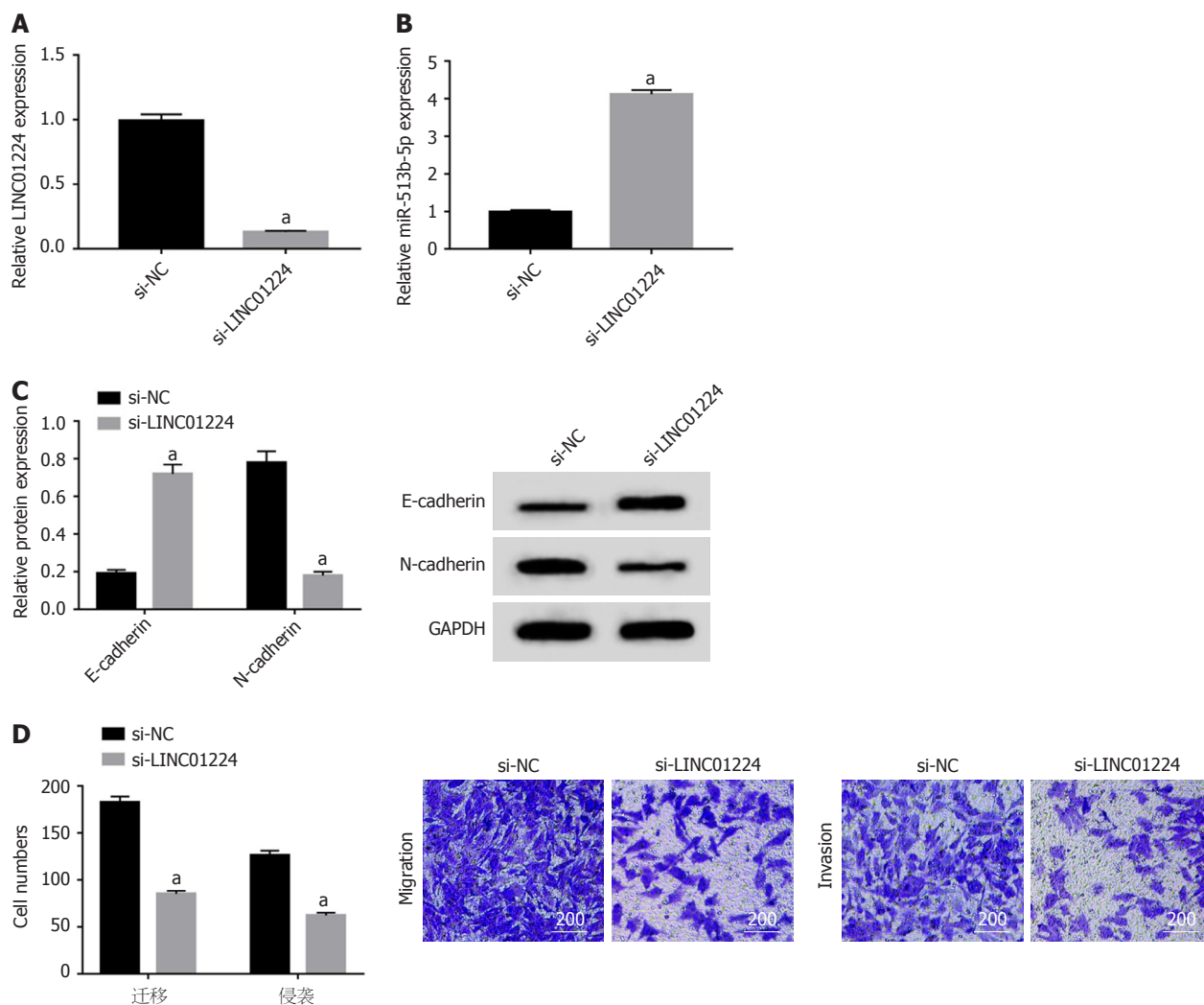


图 3 干扰LINC01224对SW1116迁移侵袭及E-cadherin、N-cadherin蛋白表达的影响。A: 干扰LINC01224处理后LINC01224表达的检测; B: 干扰LINC01224处理后miR-513b-5p表达的检测; C: 干扰LINC01224对E-cadherin、N-cadherin蛋白表达的影响; D: 干扰LINC01224抑制细胞迁移侵袭。<sup>a</sup> $P<0.05$ , 与si-NC组相比。

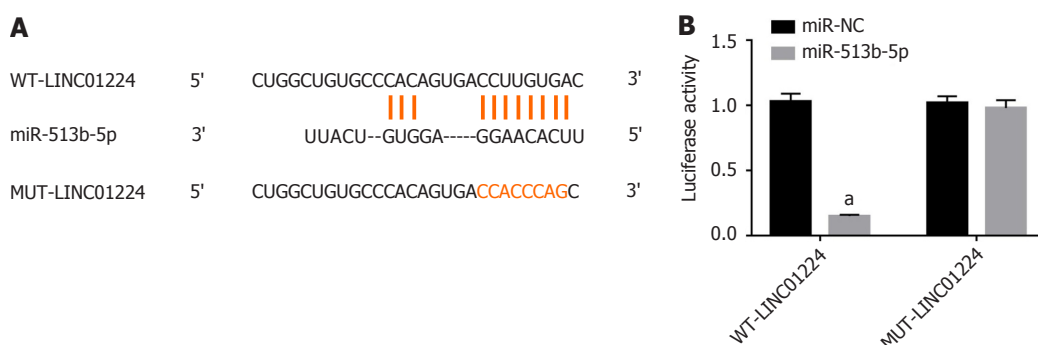


图 4 LINC01224和miR-513b-5p的互补序列及荧光素酶活性。A: LINC01224和miR-513b-5p的互补序列; B: 双荧光素酶活性实验检测荧光素酶活性。<sup>a</sup> $P<0.05$ , 与miR-NC组相比。

2.6 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对SW1116迁移侵袭的影响 与si-LINC01224+anti-miR-NC组比较, si-LINC01224+anti-miR-513b-5p组迁移及侵袭细胞数增多( $P<0.05$ ), E-cadherin蛋白水平降低( $P<0.05$ ), N-cadherin蛋白水平升高( $P<0.05$ ), 见图6。

### 3 讨论

LncRNA在结肠癌中表达上调或下调, 并可充当miRNA竞争性内源RNA分子从而调控结肠癌细胞增殖、迁移等生物学过程, 下调LncRNA AWPPH通过抑制GLUT-1而抑制结肠癌细胞的增殖<sup>[7]</sup>。LncRNA LINC00662通过与miR-

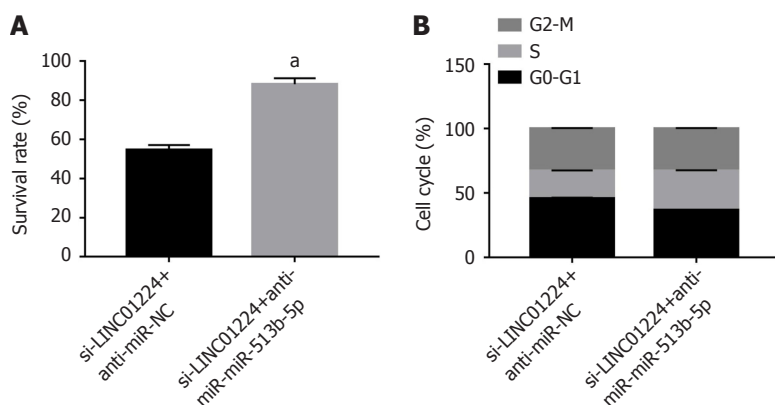


图 5 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对SW1116细胞存活率和细胞周期的影响. A: 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对细胞存活的影响; B: 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对细胞周期的影响. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与si-LINC01224+anti-miR-NC组相比.

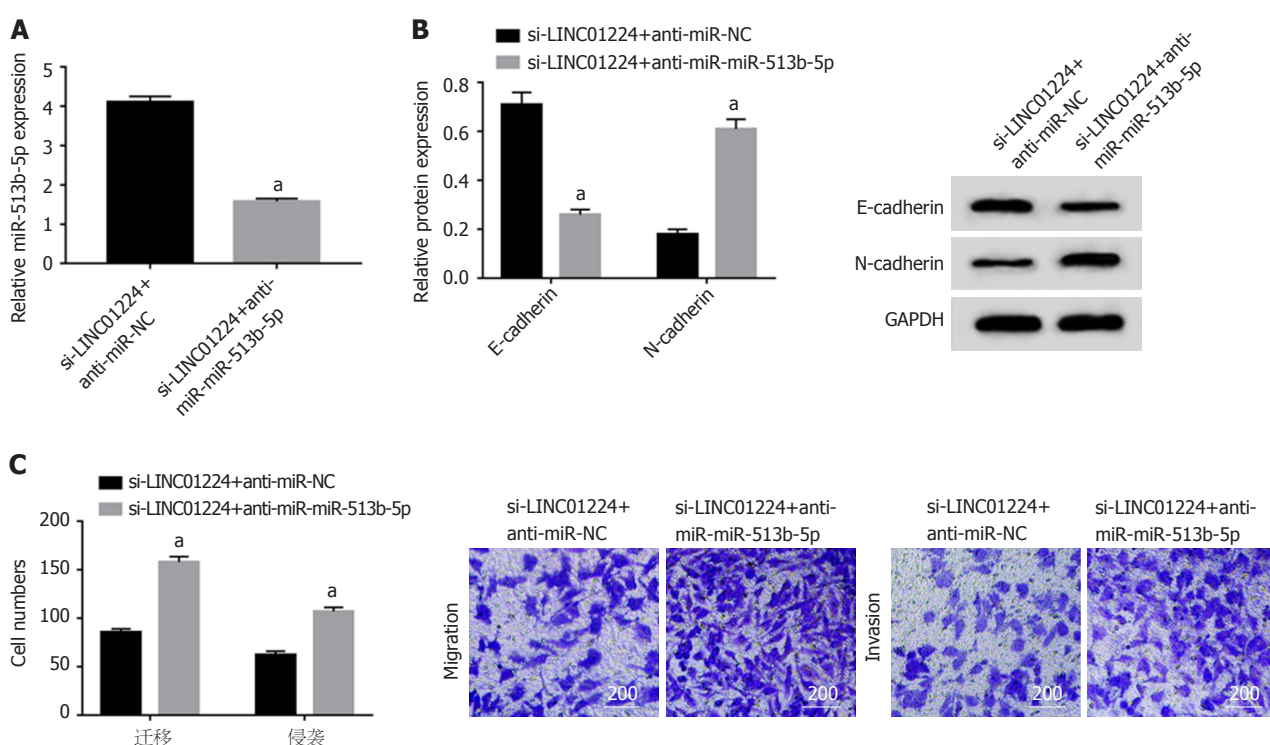


图 6 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对SW1116迁移侵袭及E-cadherin、N-cadherin蛋白表达的影响. A: 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对细胞中miR-513b-5p表达的影响; B: 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对细胞中E-cadherin、N-cadherin蛋白表达的影响; C: 抑制miR-513b-5p可逆转干扰LINC01224对细胞迁移侵袭的抑制作用. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与si-LINC01224+anti-miR-NC组相比.

340-5p竞争性结合而促进结肠癌的生长和转移<sup>[8]</sup>. LncRNA LINC00261通过充当miR-324-3p竞争性内源RNA分子而抑制结肠癌的发展<sup>[9]</sup>. LncRNA B3GALT5-AS1通过抑制miR-203而抑制结肠癌肝转移<sup>[10]</sup>. 但仍有部分LncRNA在结肠癌发生及发展过程中的作用机制尚未阐明.

LINC01224在上皮性卵巢癌中表达水平升高, 并可通过miR-485-5p介导的PAK4而促进上皮性卵巢癌的发展<sup>[11]</sup>. 本研究结果显示, 结肠癌组织中LINC01224的表达水平升高, 提示LINC01224在结肠癌发生过程中可能发挥癌基因作用. 本研究结果显示, 干扰LINC01224表达可明显降低结肠癌细胞存活率, 提高G0-G1期细胞比

例, 而降低S期细胞比例, 提示干扰LINC01224表达可抑制结肠癌细胞增殖及诱导细胞周期阻滞于G0-G1期. 上皮-间质转化(EMT)可促进结肠癌转移, 上皮细胞标志物E-cadherin表达下调可促进细胞转移, 而间充质细胞标志物N-cadherin表达上调可抑制细胞转移<sup>[12,13]</sup>. 本研究结果显示, 干扰LINC01224表达可明显减少迁移及侵袭细胞数, 并可抑制N-cadherin的表达及促进E-cadherin的表达, 提示干扰LINC01224表达可抑制结肠癌细胞迁移及侵袭.

本研究证实LINC01224可作为miR-513b-5p竞争性内源RNA分子, 并可负向调控miR-513b-5p的表达, 提示

LINC01224可能通过竞争性结合miR-513b-5p而发挥作用。研究表明miR-513b-5p表达上调可抑制乳腺癌的发生及发展<sup>[14]</sup>。上调circ\_LARP4的表达可通过调节miR-513b-5p/LARP4轴而抑制卵巢癌细胞的增殖和迁移<sup>[15]</sup>。miR-513b-5p在结肠癌组织中表达水平降低, 并可能在结肠癌发生及发展中发挥抑癌基因作用<sup>[16]</sup>。本研究结果显示, 结肠癌组织中miR-513b-5p的表达水平降低, 进一步研究显示抑制miR-513b-5p表达可降低干扰LINC01224表达对结肠癌细胞增殖、迁移及侵袭的作用。

#### 4 结论

综上所述, 结肠癌组织中LINC01224的表达水平升高, 而miR-513b-5p的表达水平降低, 干扰LINC01224表达可通过上调miR-513b-5p而抑制结肠癌细胞增殖、迁移及侵袭及诱导细胞周期阻滞于G0-G1期, LINC01224/miR-513b-5p在结肠癌发生及发展过程中可发挥重要调控作用, 并可能作为结肠癌治疗的潜在靶点。

#### 文章亮点

##### 实验背景

早期结肠癌患者临床症状不明显导致患者确诊时已失去最佳治疗时机, 目前尚缺乏结肠癌早期诊断的有效标志物, 手术、化疗等是临床治疗结肠癌的常用手段, 但患者预后很差, 随着医疗技术的进步, 分子靶向治疗成为研究重点, 但目前尚缺乏结肠癌发展相关的基因作为治疗靶点, LncRNA作为非编码RNA, 其基因序列可吸附多个miRNA而发挥癌基因或抑癌基因作用, 因而急需探寻新型LncRNA作为结肠癌治疗靶点。

##### 实验动机

LINC01224在肝癌等肿瘤中表达水平升高, 并可能作为癌基因而参与多种肿瘤发生及发展过程, 但LINC01224在结肠癌中的表达及其可能作用机制尚未阐明。同时通过靶基因预测显示miR-513b-5p与LINC01224存在结合位点, miR-513b-5p在结肠癌中表达水平降低, 因而本研究主要探究LINC01224/miR-513b-5p分子轴在结肠癌发生及发展过程中的作用机制。

##### 实验目标

验证LINC01224在结肠癌发生及发展过程中发挥癌基因作用, LINC01224可靶向调控miR-513b-5p从而参与结肠癌发生及发展过程。

##### 实验方法

采用qRT-PCR法检测结肠癌组织中LINC01224与miR-513b-5p的表达水平; 采用MTT法检测细胞增殖; 应用

流式细胞仪检测细胞周期; 采用Transwell小室实验检测细胞迁移及侵袭; 双荧光素酶报告基因实验验证LINC01224与miR-513b-5p的靶向关系。

##### 实验结果

结肠癌组织中LINC01224的表达水平升高, 而miR-513b-5p的表达水平降低, 干扰LINC01224表达可抑制结肠癌细胞增殖、迁移及侵袭及诱导细胞周期阻滞于G0-G1期; LINC01224可吸附miR-513b-5p而负向调控其表达及活性; 抑制miR-513b-5p表达可拮抗干扰LINC01224表达对结肠癌细胞周期、增殖、迁移及侵袭的作用。

##### 实验结论

LINC01224可通过靶向抑制miR-513b-5p的表达而促进结肠癌细胞增殖、迁移及侵袭。

##### 展望前景

LINC01224可能作为结肠癌靶向治疗的潜在靶点, 还可能作为临床早期诊断结肠癌的潜在生物标记物。

#### 5 参考文献

- Wu Q, Meng WY, Jie Y, Zhao H. LncRNA MALAT1 induces colon cancer development by regulating miR-129-5p/HMGB1 axis. *J Cell Physiol* 2018; 233: 6750-6757 [PMID: 29226325 DOI: 10.1002/jcp.26383]
- Peng CL, Zhao XJ, Wei CC, Wu JW. LncRNA HOTAIR promotes colon cancer development by down-regulating miRNA-34a. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23: 5752-5761 [PMID: 31298326 DOI: 10.26355/eurrev\_201907\_18312]
- Jing N, Huang T, Guo H, Yang J, Li M, Chen Z, Zhang Y. LncRNA CASC15 promotes colon cancer cell proliferation and metastasis by regulating the miR-4310/LGR5/Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Mol Med Rep* 2018; 18: 2269-2276 [PMID: 29956772 DOI: 10.3892/mmr.2018.9191]
- Liu J, Du W. LncRNA FENDRR attenuates colon cancer progression by repression of SOX4 protein. *Oncotargets Ther* 2019; 12: 4287-4295 [PMID: 31213846 DOI: 10.2147/OTT.S195853]
- Gong D, Feng PC, Ke XF, Kuang HL, Pan LL, Ye Q, Wu JB. Silencing Long Non-coding RNA LINC01224 Inhibits Hepatocellular Carcinoma Progression via MicroRNA-330-5p-Induced Inhibition of CHEK1. *Mol Ther Nucleic Acids* 2020; 19: 482-497 [PMID: 31902747 DOI: 10.1016/j.omtn.2019.10.007]
- Wang X, Zhang X, Wang G, Wang L, Lin Y, Sun F. Hsa-miR-513b-5p suppresses cell proliferation and promotes P53 expression by targeting IRF2 in testicular embryonal carcinoma cells. *Gene* 2017; 626: 344-353 [PMID: 28512062 DOI: 10.1016/j.gene.2017.05.033]
- Bai J, Xu J, Zhao J, Zhang R. Downregulation of lncRNA AWPPIH inhibits colon cancer cell proliferation by downregulating GLUT-1. *Oncol Lett* 2019; 18: 2007-2012 [PMID: 31423271 DOI: 10.3892/ol.2019.10515]
- Cheng B, Rong A, Zhou Q, Li W. LncRNA LINC00662 promotes colon cancer tumor growth and metastasis by competitively binding with miR-340-5p to regulate CLDN8/IL22 co-expression and activating ERK signaling pathway. *J Exp Clin Cancer Res* 2020; 39: 5 [PMID: 31900207 DOI: 10.1186/s13046-019-1510-7]
- Yan D, Liu W, Liu Y, Luo M. LINC00261 suppresses human



- colon cancer progression via sponging miR-324-3p and inactivating the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *J Cell Physiol* 2019; 234: 22648-22656 [PMID: 31183860 DOI: 10.1002/jcp.28831]
- 10 Wang L, Wei Z, Wu K, Dai W, Zhang C, Peng J, He Y. Long noncoding RNA B3GALT5-AS1 suppresses colon cancer liver metastasis via repressing microRNA-203. *Aging (Albany NY)* 2018; 10: 3662-3682 [PMID: 30530918 DOI: 10.18632/aging.101628]
- 11 Xing S, Zhang Y, Zhang J. LINC01224 Exhibits Cancer-Promoting Activity in Epithelial Ovarian Cancer Through microRNA-485-5p-Mediated PAK4 Upregulation. *Onco Targets Ther* 2020; 13: 5643-5655 [PMID: 32606778 DOI: 10.2147/OTT.S254662]
- 12 Yue B, Qiu S, Zhao S, Liu C, Zhang D, Yu F, Peng Z, Yan D. LncRNA-ATB mediated E-cadherin repression promotes the progression of colon cancer and predicts poor prognosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31: 595-603 [PMID: 26487301 DOI: 10.1111/jgh.13206]
- 13 Xia L, Lin J, Su J, Oyang L, Wang H, Tan S, Tang Y, Chen X, Liu W, Luo X, Tian Y, Liang J, Su Q, Liao Q, Zhou Y. Diallyl disulfide inhibits colon cancer metastasis by suppressing Rac1-mediated epithelial-mesenchymal transition. *Onco Targets Ther* 2019; 12: 5713-5728 [PMID: 31410018 DOI: 10.2147/OTT.S208738]
- 14 Muti P, Donzelli S, Sacconi A, Hossain A, Ganci F, Frixia T, Sieri S, Krogh V, Berrino F, Biagioni F, Strano S, Beyene J, Yarden Y, Blandino G. MiRNA-513a-5p inhibits progesterone receptor expression and constitutes a risk factor for breast cancer: the hOrnone and Diet in the ETiology of breast cancer prospective study. *Carcinogenesis* 2018; 39: 98-108 [PMID: 29126102 DOI: 10.1093/carcin/bgx126]
- 15 Lin W, Ye H, You K, Chen L. Up-regulation of circ\_LARP4 suppresses cell proliferation and migration in ovarian cancer by regulating miR-513b-5p/LARP4 axis. *Cancer Cell Int* 2020; 20: 5 [PMID: 31911757 DOI: 10.1186/s12935-019-1071-z]
- 16 王晓兰, 王记红, 陈旭东. MiR-513b-5p在结肠癌中的表达. *中国继续医学教育* 2016; 8: 56-57 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-9308.2016.03.036]

科学编辑: 刘继红 制作编辑: 张砚梁



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 © 2021 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注角码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……,研究<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6,7]</sup>。文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和World Journal of Gastroenterology(<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>)。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。



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](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
**https://**[www.wjgnet.com](https://www.wjgnet.com)



ISSN 1009-3079

